



İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ  
BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI

**Transkriptom Verilerinin Protein-Protein Etkileşim  
Ağlarına Haritalanması İle İnflamatuar Bağırsak  
Hastalıklarına Özgü Alt Ağların Belirlenmesi ve İlaç  
Yeniden Konumlandırma**

Yüksek Lisans Tezi

**Şefika Feyza Maden**

Ocak 2023



İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ  
BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI

**Transkriptom Verilerinin Protein-Protein Etkileşim  
Ağlarına Haritalanması İle İnflamatuvar Bağırsak  
Hastalıklarına Özgü Alt Ağların Belirlenmesi ve İlaç  
Yeniden Konumlandırma**

Yüksek Lisans Tezi

**Şefika Feyza Maden**

Danışman

**Dr. Öğr. Üyesi Saliha Ece Acuner Zorluuysal**

Ocak 2023

## TEZ JÜRİSİ ONAYI

Şefika Feyza Maden tarafından hazırlanan " Transkriptom Verilerinin Protein-Protein Etkileşim Ağlarına Haritalanması İle İnflamatuvar Bağırsak Hastalıklarına Özgü Alt Ağların Belirlenmesi ve İlaç Yeniden Konumlandırma" başlıklı bu Yüksek Lisans Tezi, Biyomühendislik Anabilim Dalı'nda hazırlanmış ve jürimiz tarafından kabul edilmiştir.

### JÜRİ ÜYELERİ

### İMZA

#### **Tez Danışmanı:**

Dr. Öğr. Üyesi Saliha Ece Acuner Zorluuysal  
İstanbul Medeniyet Üniversitesi

#### **Üyeler:**

Dr. Öğr. Üyesi Beste Turanlı  
Marmara Üniversitesi

Doç. Dr. Nagehan Ersoy Tunalı  
İstanbul Medeniyet Üniversitesi

Tez Savunma Tarihi: 24/01/2023

## **BEYANLAR**

### **Yazım ve Kaynak Gösterme Kılavuzu Beyanı**

Danışmanlığımda yazılan bu tezin İstanbul Medeniyet Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım ve kaynak gösterme kılavuzunda belirtilen kurallara uygun olarak yapılandırıldığı ve bu kılavuzun Chicago yazım ve kaynak gösterme standartlarının bu tezde tutarlı olarak uygulandığı tarafımdan incelenerek teyit edilmiştir.

İmza

Dr. Öğr. Üyesi Saliha Ece Acuner Zorluuysal

### **Etik İkelere Sadakat Beyanı**

Hazırladığım bu tezin tamamen kendi çalışmam olduğunu, akademik ve etik kuralları gözeterek çalıştığımı ve her alıntıya kaynak gösterdiğimi beyan ederim.

İmza

Şefika Feyza Maden

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince araştırmalarımın her aşamasında bilgi, öneri ve yardımını hiçbir zaman esirgemeyerek akademik anlamda bana verdiği sonsuz motivasyon ve desteği için, birlikte yaptığımız çalışmalarda ve katıldığımız bilimsel etkinliklerde bana güvenip sorumluluk almama fırsat verdiği, zorlandığım her anda sevecen ve anlayışlı tavırlarıyla beni tekrar toparlayan danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Saliha Ece ACUNER ZORLUYSAL hocama, tez yazma sürecimde en zor anımda benden yardımlarını esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi BESTE TURANLI hocama, yine birlikte çalışmaya fırsat bulduğum ve benden bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen Doç.Dr. Nagehan ERSOY TUNALI hocama, BİLTAM’da birlikte çalıştığım Edanur AKARSU ve Ezgi KESKE’ye ve sevgilerini her daim hissettiğim, bu yoğun çalışma sürecinde bana gösterdikleri üstün sabır, sağladıkları mükemmel çalışma ortamı ve manevi desteklerini esirgemeyen canım ailem Sadiye MADEN, Feyzullah MADEN, Kadir MADEN ve Çağrı MADEN’e, ayrıca nişanlım Muhammet KILIÇ’a sonsuz teşekkürü bir borç bilirim.

## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	iii
KISALTMALAR .....	vi
TABLO LİSTESİ.....	vii
ŞEKİL LİSTESİ.....	viii
GİRİŞ .....	1
BÖLÜM I .....	5
1. LİTERATÜR ÖZETİ .....	5
1.1 İnflamatuar Bağırsak Hastalığı .....	5
1.1.1 Ülseratif Kolit (UC).....	7
1.1.2. Crohn Hastalığı (CD).....	9
1.2 Sistem Biyolojisinde Ağ tabanlı Analiz Yaklaşımı .....	10
1.2.1 Alt-Ağ Keşfi için Yaklaşımlar.....	10
1.2.2 Biyolojik Ağlar .....	13
1.2.3 Transkriptom Verisi ve Transkriptom Verisi Depolayan Veritabanları .....	15
1.3 İlaç Yeniden Konumlandırma için Hesaplamalı Yaklaşımlar.....	16
1.3.1 Ağ Tabanlı İlaç Yeniden Konumlandırma.....	17
1.3.2 Profil Tabanlı İlaç Yeniden Konumlandırma .....	18
1.3.3 Veriye Dayalı İlaç Yeniden Konumlandırma.....	19
1.4 Moleküler Kenetlenme .....	19
1.4.1 Moleküler Kenetlenme Basamakları .....	21
BÖLÜM II.....	24
2. MATERYAL VE METOT .....	24
2.1 Transkriptom Verilerinin Elde Edilmesi.....	25
2.2 Transkriptom Verisinin Analizi .....	26
2.3 Ülseratif Kolit ve Crohn Hastalığına Özgü Alt Ağların Belirlenmesi .....	26
2.4 UC ve CD hastalıklarına özgü elde edilen ağ modelleri.....	28

2.4.1 .....	Hastalığa Özgü Ağ Modüllerinin İşlevsel Zenginleştirilmesi	28
2.4.2 .....	Hastalığa Özgü Ağ Modellerinde Öne Çıkan Genlerle İlaç Yeniden Konumlandırma	28
2.4.3	Yeniden Konumlandırılan Aday İlaç-Protein Çiftlerinin Kenetlenme Çalışmaları.....	29
<b>BÖLÜM III.....</b>		<b>32</b>
<b>3. BULGULAR VE TARTIŞMA.....</b>		<b>32</b>
3.1	Ülseratif Kolit ve Crohn Hastalığına Özgü Alt Ağların Belirlenmesi .....	32
3.2	Hastalığa Özgü Alt Ağların İşlevsel Zenginleştirilmesi .....	38
3.3	Yeniden Konumlandırılan İlaçları Gruplandırma ve İlaç-Protein Çiftlerinin Kenetlenme Çalışmaları .....	41
3.4	Moleküler Kenetlenme Sonuçlarının Yapısal Analizi .....	45
<b>BÖLÜM IV .....</b>		<b>49</b>
<b>4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER .....</b>		<b>49</b>
<b>EKLER .....</b>		<b>51</b>
<b>KAYNAKÇA .....</b>		<b>55</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	Error! Bookmark not defined.	

## **KISALTMALAR**

CD: Crohn Hastalığı

CRC: Kolorektal Kanser

DEG: Diferansiyel olarak ifade edilen genleri

DNA: Deoksiribonükleik asit

FDR: Yanlış Keşif Oranı

GI: Gastrointestinal

IBD: İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı

KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes

KPM: Key Pathway Miner

PCa: Prostat Kanseri

PPE: Protein Protein Etkileşimi

PDB: Protein Veri Bankası

RNA: Ribonükleik asit

SEG: Önemli/anlamli ölçüde ifade edilen genler

UC: Ülseratif Kolit

## TABLO LİSTESİ

Tablo 1 Alt-ağ keşfi algoritmaları (Batra vd. 2017) .....	11
Tablo 2 PPE verilerini depolayan ücretsiz erişimli veritabanları (Manzoni vd. 2018) .....	14
Tablo 3 Transkriptom verilerini depolayan ücretsiz erişimli veritabanları (Manzoni vd. 2018) .....	16
Tablo 4 Bu çalışmada analiz edilen GSE126124 ve GSE3365 ifade profili mikrodizi veri kümelerinin özellikleri. ....	26
Tablo 5 UC alt-ağında ön plana çıkan bazı genler.....	33
Tablo 6 CD alt-ağında ön plana çıkan bazı genler.....	35
Tablo 7 UC için KPM ile elde yeni alt-ağ modülünün fonksiyonel analizi .....	39
Tablo 8 CD için KPM ile elde yeni alt-ağ modülünün fonksiyonel analizi .....	41
Tablo 9 UC ve CD hastalıkları için yapılan ilaç yeniden konumlandırma ortak gelen ilaçlar .....	42
Tablo 10 Ülseratif kolit için en iyi kenetlenme skoru veren ilaç .....	44
Tablo 11 Crohn hastalığı için en iyi kenetlenme skoru veren ilaç .....	45

## ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1 İnflamatuar bağırsak hastalığına sebep olan faktörler .....	6
Şekil 2 Ülseratif kolit hastalığının Montreal sınıflandırılmasına göre alt tipleri .....	8
Şekil 3 Crohn hastalığı ve Ülseratif kolitin bağırsakta tutulum bölgeleri .....	9
Şekil 4 Alt-ağ keşfi yöntemleri ile modül bulunması.....	12
Şekil 5 Bir protein-ligand kompleksi oluşturan bir protein hedefine (siyah) küçük moleküllü bir ligandın (yeşil) kenetlenmesinin şematik gösterimi ( <a href="https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Docking_representation_2.png">https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Docking_representation_2.png</a> ) .....	20
Şekil 6 İlaç tasarımında protein-ligand moleküler kenetlenmesi öncesinde, sırasında ve sonrasında takip edilebilecek prosedürler ve kullanılabilir araçlar (Maden vd. 2022 kaynağından adapte edilmiştir) .....	23
Şekil 7 İş Akışı Şeması.....	25
Şekil 8 UC ve CD PPE ağlarında ortak olan genlerin fonksiyonel zenginleştirme analizleri .....	29
Şekil 9 A. STRING veri tabanından UC için elde edilen PPE ağı (90 protein ve 406 etkileşim). B. KPM ile transkriptom verilerinin UC'ye özgü PPE ağına eşlenmesi ile elde edilen yeni alt-ağ modülü (56 protein ve 168 etkileşim).....	31
Şekil 10 A. STRING veri tabanından CD için elde edilen KKD ağı (89 protein ve 633 etkileşim). B. KPM ile transkriptom verilerinin CD'ye özgü PPI ağına eşlenmesi ile elde edilen yeni alt-ağ modülü (59 protein ve 240 etkileşim).....	34
Şekil 1 Paclitaxel İlacının Deneysel Sonucunun (yeşil) ABCB1 (PDB: 6NFI) Gen Yapısının İçinde Bulunan ZQU (Zosuquidar) Ligandıyla (kırmızı) Aynı Yerden Hedefe Bağlanması.....	47
Şekil 2 Flucloxacillin İlacının Deneysel Sonucunun (yeşil) ATM (PDB: 7SIC) Gen Yapısının İçinde Bulunan ANP (Phosphoaminophosphonic Acid-Adenylate Ester) Ligandıyla (kırmızı) Aynı Yerden Hedefe Bağlanması.....	48

## ÖZET

### **Transkriptom Verilerinin Protein-Protein Etkileşim Ağlarına Haritalanması İle İnflamatuvar Bağırsak Hastalıklarına Özgü Alt Ağların Belirlenmesi ve İlaç Yeniden Konumlandırma**

Maden, Şefika Feyza

Yüksek Lisans Tezi, Biyomühendislik Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Saliha Ece Acuner Zorluuysal

Ocak 2023

Ülseratif kolit (UC) ve Crohn hastalığı (CD) inflamatuvar bağırsak hastalığının (IBD) iki farklı alt tipidir. Bu iki bozukluk için tanı ve tedavide belirsizlikler yaşanmaktadır, bu nedenle ağ düzeyinde moleküler imzalarını ortaya çıkarmak önemlidir. Bu amaçla, GSE126124 ve GSE3365 verisetlerinden elde edilen transkriptom verilerini protein-protein etkileşim (PPE) ağlarına haritalayarak ülseratif kolit ve Crohn hastalığına özgü alt ağlar belirlendi ve biyolojik önemi analiz edildi. UC alt-ağ modülü Alzheimer hastalığı, kolorektal kanser ve prostat kanseri gibi daha çok hastalık temelli fonksiyonel özellikleri ortaya çıkarırken, CD alt-ağ modülü ise sitokin üretimi, interlökin-1 (IL-1) reseptör aktivitesi, NF-kappa B (NF-κB) sinyal yolu gibi fonksiyonel özellikleri ortaya çıkardı. Ayrıca UC ve CD için elde edilen yeni modüllerdeki genlere ilaç yeniden konumlandırma ve moleküler kenetlenme çalışmaları yapıldı. Sonuçların yapısal analizi gerçekleştirilerek UC ve CD'nin tedavisinde etkili olabilecek yeni tıbbi ajanlar önerilmiştir; UC için paclitaxel, CD için flucloxacillin. Genel olarak, bu bulgular moleküler düzeyde IBD alt tipleri arasındaki farklılıkları ortaya koyar, UC ve CD tanısını kolaylaştırabilir ve ayrıca hastalık alt tiplerine özgü potansiyel moleküler hedefler sağlayabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Ülseratif kolit, Crohn hastalığı, protein-protein etkileşim ağı, transkriptomik analiz, alt ağ analizi, moleküler kenetlenme, ilaç keşfi

## ABSTRACT

### **Identification of Inflammatory Bowel Disease-Specific Subnetworks and Drug Repositioning by Mapping Transcriptome Data to Protein-Protein Interaction Networks**

Maden, Şefika Feyza

Master's Thesis, Department of Bioengineering

Supervisor: Assist. Prof. Saliha Ece Acuner Zorluuysal

January 2023

Ulcerative colitis (UC) and Crohn's disease (CD) are two different subtypes of inflammatory bowel disease (IBD). There are uncertainties in diagnosis and treatment for these two disorders, so it is important to uncover their molecular signatures at the network level. For this purpose, subnetworks specific to ulcerative colitis and Crohn's disease were determined by mapping the transcriptome data obtained from the GSE126124 and GSE3365 datasets to protein-protein interaction (PPI) networks, and their biological significance was analyzed. The UC subnet module reveals more disease-based functional features such as Alzheimer's disease, colorectal cancer, and prostate cancer, while the CD subnetwork module reveals cytokine production, interleukin-1 (IL-1) receptor activity, NF-kappa B (NF- $\kappa$ B) revealed functional features such as the signaling pathway. In addition, drug repositioning and molecular docking studies were performed to the genes in UC- and CD-specific modules. Structural analysis of the results has been performed and new therapeutics have been proposed that may be effective in the treatment of UC and CD; Paclitaxel for UC, flucloxacillin for CD. Overall, these findings reveal differences between IBD subtypes at the molecular level, may facilitate the diagnosis of UC and CD, and also provide potential molecular targets specific to disease subtypes.

**Keywords:** Ulcerative colitis, Crohn's disease, protein-protein interaction network, transcriptomics analysis, subnetwork analysis, molecular docking, drug discovery

# GİRİŞ

İltihaplı bağırsak hastalığı (IBD), gastrointestinal sistem iltihabı ile seyreden kronik bir hastalıktır ve dünya çapında yaklaşık 6,8 milyon IBD vakası vardır (Jairath ve Feagan 2020; Meyers vd. 2020). Genetik faktörlerin hastalığın başlangıcında etkili olduğu bilimsel olarak kanıtlanmıştır, bu nedenle aile öyküsü olan bireylerin hastalığa yakalanma olasılığı yüksektir (Zhu vd. 2020). IBD, yaşamın her aşamasında gelişebilir ve ömür boyu sürebilir, bu da hastaların yaşam kalitesini önemli ölçüde azaltır (Pugliese vd. 2020). Ayrıca, IBD'li hastalarda kolon kanseri gelişme riski yüksektir (Pugliese vd. 2020). IBD'nin nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte çeşitli çevresel faktörler, genetik olarak duyarlı bireylerde hastalığın ortaya çıkmasını ve ilerlemesini tetiklemektedir. IBD, bağırsak duvarındaki tutulum yeri ve derinliği bakımından farklılık gösteren iki benzer tipte idiyopatik bağırsak hastalığı, yani ülseratif kolit (UC) ve Crohn hastalığı (CD) içerir. UC'de tutulum kalın bağırsakla sınırlıdır, CD'de ise ağızdan anüse kadar gastrointestinal sistemin herhangi bir yerinde tutulabilir (Zhu vd. 2020; Winter ve Weinstock 2020). Bu iki alt tip, çeşitli moleküler patogenezi paylaşırken, makroskopik inflamasyon paternleri klinik olarak farklıdır, UC ve CD hastaları benzer semptomlar gösterme eğiliminde olduğundan, uygun tanı ve tedavi seçenekleri belirsizliğini koruyabilir (Zhu vd. 2020). İyileştirilmiş moleküler anlayış, hastalık tipine özgü ve hatta bireye özgü hedefleri ortaya çıkarabilir (Vennou vd. 2020; Mitsialis vd. 2020); bu nedenle, ağ düzeyinde UC ve CD'nin moleküler imzalarını ortaya çıkarmak önemlidir.

Genomik çalışmalarda, epitel bariyer fonksiyonunda görev yapan genlerin ve hücresel doğuştan gelen bağışıklık ile ilgili genlerin sırasıyla UC ve CD ile özellikle ilişkili olduğu bulunmuştur (Fakhoury vd. 2014; Cohen vd. 2019). IBD1 lokusunda bulunan Nükleotit oligomerizasyon alanı 2 (NOD2) geni, CD ile ilişkilendirilmiş ilk genidir (Hugot vd. 2001). Hücrede otofaji için gerekli olan ATG16L1 ve gen aktivitesini düzenleyerek hücresel fonksiyonda yer alan STAT3 polimorfizmleri de CD ile ilişkilidir (Magalhaes vd. 2011; Zhengting Wang vd. 2014). IRF5 polimorfizmleri (Gathungu vd. 2012) ve ILR23 varyantları (Duerr vd. 2006) hem UC hem de CD ile ilişkilidir. IBD için bulunan gen lokuslarının çoğu, UC ve CD alt tipleri için aynı etki

yönünü gösterse de, bazı genlerin de yan etkileri vardır. Örneğin NOD2 ve PTPN22 genleri, CD için risk faktörü iken, UC için önemli bir koruyucu etki göstermiştir (Wawrzyniak ve Scharl 2018).

Hastalıkların karmaşık mekanizmalarını anlamak hem tanı hem de tedavi adımlarında önemlidir. Sistem biyolojisinde, biyolojik ağların analizi ile gelişen moleküler anlayış, hastalık tipine ve hatta bireye özgü hedeflere hizmet edebilir (Ran vd. 2013; He vd. 2017). Hastalığa özgü alt-ağ (sub-network) tespiti için en etkili yaklaşımlardan biri, transkriptom verilerini protein-protein etkileşimi (PPE) ağlarına entegre etme yöntemidir (He vd. 2017). Transkriptom verileri, hücre içinde ifade edilen tüm gen transkriptlerini (RNA molekülleri) içerir ve DNA'da depolanan ve kodlanan bilgiler ile fenotip arasındaki ilişkiyi temsil eder (S. Kaur 2013). PPE ağları ise organizmadaki proteinler arasındaki etkileşimler hakkında bilgi verir (Rao vd. 2014). Her organizma için farklı olan PPE ağları ve ilişkili deneysel veriler, hücresel süreçler ve hastalık durumları arasında bir köprü oluşturabilir (He vd. 2017). Transkriptom verilerinin PPE ağlarına haritalanması ile ilgili duruma göre ekspresyon seviyeleri önemli ölçüde değişen genler tarafından kodlanan proteinler belirlenebilmekte ve yeni modüller elde edilebilmektedir (He vd. 2017). Bu yaklaşım, daha önce hastalık durumuyla ilişkili olduğu bilinmeyen proteinleri ve hücresel mekanizmaları ortaya çıkarabilir. Böylece, entegre bir transkriptom ve proteom analizi yaklaşımıyla, ağ dinamiklerinin altında yatan farklı mekanizmalar vurgulanabilir (Rakshit, Rathi, ve Roy 2014; Chen vd. 2016).

Farklı koşullar altında alt ağ bulma algoritmalarının performanslarını karşılaştıran bir çalışmada KeyPathwayMiner'ın (KPM) (Alcaraz vd. 2014) yüksek performans gösterdiği bildirilmiştir (Batra vd. 2017). Kemoterapinin etkisini araştırmak (Warsow vd. 2013) ve Huntington hastalığının mekanizmasını anlamak (Alcaraz vd. 2011) için de KPM algoritması kullanılmıştır. KPM tarafından ele alınan alt ağ modüllerindeki genler, araştırılan duruma göre önemli ölçüde aktif genler olarak tanımlanır (Warsow vd. 2013).

İlaç yeniden konumlandırma, geleneksel *de novo* ilaç geliştirme yaklaşımlarına göre zamandan ve maliyetten tasarruf sağlamadaki etkinliği nedeniyle, farmasötik araştırma ve endüstrisinde mevcut ilaçlar için yeni kullanımlar keşfetme ve yeni ilaçlar

geliştirme potansiyeli nedeniyle büyük ilgi görmüştür (Ashburn ve Thor 2004; Pushpakom vd. 2019). İlacın yeniden konumlandırılması aynı zamanda ilacın başka bir amaca uygun hale getirilmesi, ilacın yeniden profillenmesi, ilacın yeniden yönlendirilmesi, ilacın yeniden atanması ve terapötik geçiş olarak da bilinmektedir (Jarada, Rokne, ve Alhadj 2020). Kanser tedavisinde kullanılan metotreksat (MTX) ilacı yeniden konumlandırma ile Crohn hastalığının tedavisi için uygun bulunmuştur (Martínez vd. 2015). Ayrıca bu yaklaşım kullanılarak; diyabet tedavisinde kullanılan metformin ilacının kolorektal, karaciğer ve pankreas kanseri insidansını azalttığı bildirilmiştir (Lee vd. 2011).

Bu tez çalışmasında, IBD alt tiplerinin (UC ve CD) ekspresyon verileri karşılaştırıldı. Ayrıca, hastalık alt tipine özgü PPE ağları belirlendi, topolojik olarak analiz edildi ve transkriptom verileri, UC ve CD'ye özgü alt ağları tanımlamak için PPE ağlarına haritalandı. Hastalığa özgü alt ağların biyolojik önemi, moleküler düzeyde IBD alt tipleri arasındaki farkları ve UC ve CD'ye özgü modüllerin biyolojik olarak işlevini anlamak için fonksiyonel zenginleştirme analizi yapıldı. UC alt-ağ modülünde RUNX3 tarafından transkripsiyonel düzenleme, Alzheimer hastalığı, kolorektal kanser ve prostat kanseri gibi daha çok hastalık temelli fonksiyonel özellikler ön plana çıkarken; CD alt-ağ modülünde ise sitokin üretimi, interlökin-1 (IL-1) reseptör aktivitesi, NF-kappa B (NF-κB) sinyal yolu gibi fonksiyonel özellikler ön plana çıktı. Genel olarak bu bulgular; IBD alt tipleri arasındaki moleküler düzeydeki farklılıkları ortaya koymak, UC ve CD teşhisini kolaylaştırmak ve ayrıca hastalık alt tiplerine özgü potansiyel moleküler imzalar tespit etmek için kullanılabilir. Son olarak UC ve CD için elde edilen yeni modüllerdeki genler ve o genlerle ilişkili olan ilaçlar ilaç yeniden konumlandırma ile belirlenerek aday ilaçlar ve hedefleri için protein-ligand kenetlenmesi çalışması yapıldı. Yapılan kenetlenme sonuçlarının yapısal analizi gerçekleştirilerek UC ve CD'nin tedavisinde etkili olabilecek yeni terapötikler önerilmiştir; UC'nin tedavisi için bir antioplastik ajan olan paclitaxel, CD'nin tedavisinde ise antienfektif ajan olan flucloxacillin. Sonuçlarımız, IBD alt tipleri UC ve CD için tanıyı kolaylaştırabilir ve potansiyel moleküler hedefler sağlayabilir.

Tezin amaçları ve bu amaçlar doğrultusunda kullanılacak yöntemlerin bu bölümde (Giriş) tanıtılmasının ardından, takip eden bölümde IBD hastalığının alt tipleri olan UC ve CD hakkında, tezde kullanılan alt ağ keşfi yöntemleri ve moleküler kenetlenme

yaklaşımları ile ilgili detaylı literatür özeti verilmiştir (Birinci Bölüm). İkinci Bölüm’de tezde kullanılan Materyal ve Metotlar tanıtılmıştır. Sonuçlar ve Tartışma (Üçüncü Bölüm) kısmında analiz sonuçları verilmiş ve sonuçların biyolojik olarak anlamları tartışılmıştır. Son olarak tez sonuçlandırılmış, temel bulgular özetlenmiş (Sonuçlar) ve geleceğe yönelik bazı deneysel çalışmalar için tavsiyeler verilmiştir (Tartışma ve Öneriler).

# BÖLÜM I

## 1. LİTERATÜR ÖZETİ

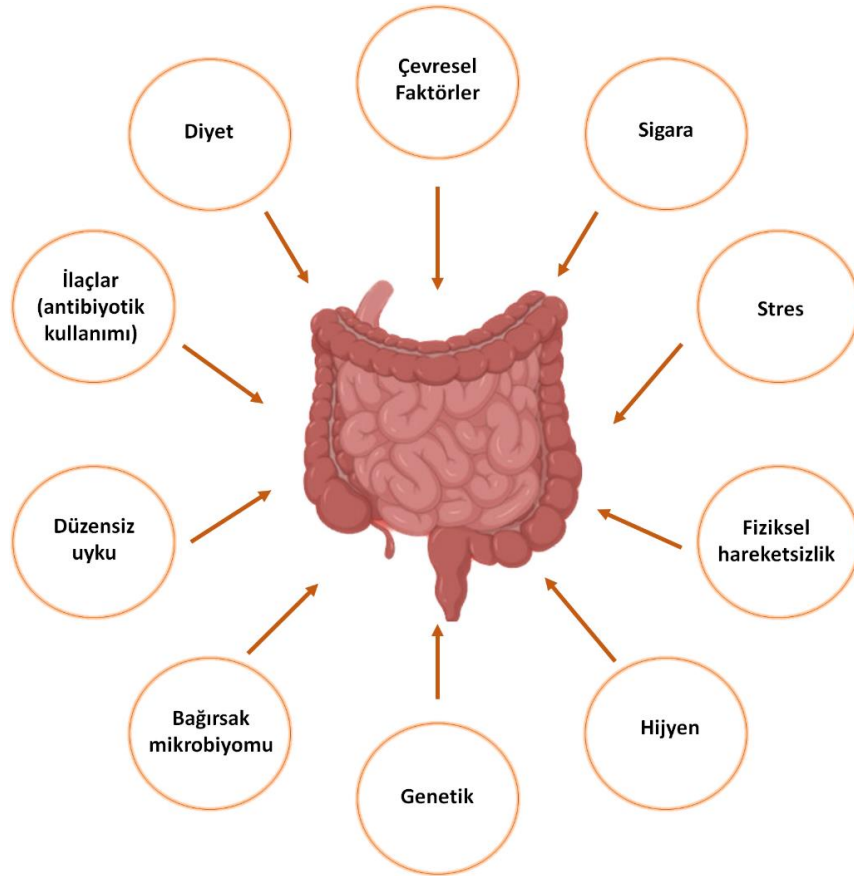
### 1.1 İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı

İnsanlarda ve hayvanlarda bulunan gastrointestinal (GI) sistem, ağızdan anüse uzanan, birçok organı içinde barındıran ve temel görevi sindirim olan önemli bir sistemdir (Cheng vd. 2010; A. Kaur ve Goggolidou 2020). Gastrointestinal kanalın mideden anüse kadar uzanan kısmı olan bağırsak, ince ve kalın bağırsak olmak üzere iki ana kısımdan oluşur. Gıda sindiriminin yanı sıra enzim ve hormon üretiminde, patojenlerle savaşmada ve vücudun su dengesini düzenlemede önemli rolü vardır (Kiela ve Ghishan 2016; A. Kaur ve Goggolidou 2020). Birçok bozukluk, kolonun düzgün çalışma yeteneğini etkiler. İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı (IBD), sindirim sisteminin kronik iltihaplanmasını içeren bozuklukları tanımlamak için kullanılan bir terimdir (Fakhoury vd. 2014; Ha ve Khalil 2015).

İnflamatuvar bağırsak hastalığı (IBD), bozulmuş bir mukoza yapısı, değişmiş bağırsak mikrobiyal bileşimi ve sistemik biyokimyasal anormallikler ile karakterize edilen, gastrointestinal sistemin kronik bir enflamatuvar durumudur (Mulder vd. 2014). IBD'nin iki ana klinik formu vardır: ülseratif kolit (UC) ve Crohn hastalığı (CD), inflamasyonun farklı klinik belirtileri ve bağırsak lokalizasyonu ile ayırt edilir (Mulder vd. 2014; Wijmenga 2005). Son on yılda, IBD küresel bir halk sağlığı sorunu olarak ortaya çıkmıştır (Kaplan 2015) ve insidans sıklığı tüm dünyada giderek artmaktadır (Y. F. Wang, Ouyang, ve Hu 2010; Khan vd. 2019).

Birçok çalışma da IBD fenotipini etkilediği düşünülen çeşitli risk faktörleri tanımlanmıştır (Y.Z. Zhang 2014). IBD'nin etiyojisi büyük ölçüde bilinmemekle birlikte, son araştırmalar, bireyin genetik duyarlılığının, çevresel faktörlerin, bağırsak mikrobiyal florasının ve bağışıklık tepkileri gibi birçok etkenin IBD'nin patogeneğinde

yer aldığını ve işlevsel olarak entegre olduğunu göstermiştir (Danese ve Fiocchi, t.y.; Kugathasan ve Fiocchi 2007; Podolsky 2002; Baumgart ve Carding 2007) (Şekil 1). Besinler bağırsak mikrobiyotasını etkileyebilir, bu sebeple beslenme alışkanlıklarının IBD'nin ortaya çıkması ve ilerlemesinde etkili olduğu düşünülmektedir (Brunner, Scheurer, ve Seibold 2007). IBD hastalarında anksiyete ve depresyon varlığı sağlıklı popülasyona göre iki kattan fazla olduğu bulunmuştur (Graff, Walker, ve Bernstein 2009). Depresyon, bozulmuş hücresel bağışıklık ve artmış inflamasyon ile ilişkili olduğundan (IL6, TNF- $\alpha$ , CRP) (Blume, Douglas, ve Evans 2011), IBD hastalarında sağlıklı popülasyona göre görülme oranı daha yüksektir (Graff, Walker, ve Bernstein 2009). Bu da, IBD hastalarının yaşam kalitesini oldukça düşürür. IBD gelişimine katkıda bulunan başka bir risk faktöründe sigaradır. Çeşitli makalelerde sigaranın UC ve CD üzerinde zıt etkilerin olduğu belirtilmiştir (Mahid vd. 2006). Sigara UC üzerinde koruyucu bir etki gösterirken, sigara içmeye devam eden CD hastalarında hastalık komplikasyonları daha şiddetlidir (Johnson, Cosnes, ve Mansfield 2005).



Şekil 3 İnflamatuar bağırsak hastalığına sebep olan faktörler

IBD tedavi seçenekleri, karmaşık ve bilinmeyen etiyojisi nedeniyle oldukça sınırlıdır ve tedavi için çok net hareket edilememektedir (Moss ve Nanda 2012). Bu uygun tedavi eksikliği, IBD'yi risk faktörü haline getirmektedir (Khan vd. 2019). İnflamatuvar bağırsak hastalığı olan bazı hastalarda, steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçlar hastalığın alevlenmesine neden olabilir (Forrest, Symmons, ve Foster 2004). Hastalarda analjezi için parasetamol kullanılması daha güvenli bir seçenektir, ancak hastalara nüks riskinin artması ihtimali anlatılarak ibuprofen gibi hafif steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçlar da kullanılmaktadır (Forrest, Symmons, ve Foster 2004; Collins ve Rhodes 2006).

Rejeneratif gen (REG) ailesi, IBD ile ilişkili inflamasyon sırasında artmış ekspresyon gösterir (Xu vd. 2019). İnsan bağırsak epitel hücreleri tarafından salgılanan OLFM4, IBD hastalarının iltihaplı mukozasında yukarı regüle edilir; ancak IBD'deki fonksiyonel rolü belirsizliğini korumuştur (Kuno vd. 2021). Beyin, akciğer, mide ve kolorektal kanserler için aday tümör süpresör gen olarak kabul edilen DMBT1 geni, IBD hastalarının iltihaplı dokularında ekspresyon artışı göstermiş ve bozulmuş DMBT1 fonksiyonunun beyin kanseri ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir (Renner vd. 2007). Ayrıca, doğal immün reseptörler olan Toll benzeri reseptörlerin (TLR) polimorfizmleri/mutasyonları doğrudan IBD ile ilişkilendirilmiştir (Y. Lu vd. 2018). IBD ve kolorektal kanserde epitelyal TLR4 aktivasyonu yukarı-regülasyon ile ilişkilendirilmiştir (Y. Lu vd. 2018).

İnflamatuvar bağırsak hastalığının tutlum bölgelerine farklılık gösteren iki alt tipi mevcuttur:

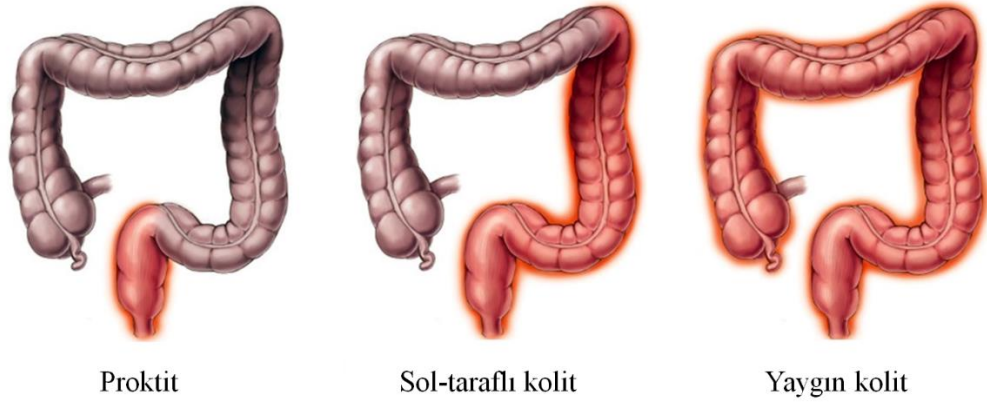
- Ülseratif kolit
- Crohn hastalığı

### **1.1.1 Ülseratif Kolit (UC)**

Ülseratif kolit (UC), distalden başlayan ve proksimale uzanarak tüm kolonu tutabilen ve tekrarlayan mukozal inflamasyon ile karakterize bir inflamatuvar bağırsak hastalığıdır (Ungaro vd. 2017; Segal, LeBlanc, ve Hart 2021). UC'nin etiyojisi tam

olarak bilinmemekle birlikte, immün yanıtı neden olan multifaktöriyel bir durum olduğu varsayılmaktadır (S.-L. Zhang, Wang, ve Miao 2017; Tatiya-aphiradee, Chatuphonprasert, ve Jarukamjorn 2018). Bağışıklık tepkisi, UC'nin başlamasında ve ilerlemesinde önemli bir rol oynar ve herhangi bir bağışıklık toleransı kaybı, iltihaplanma ile sonuçlanır (Tatiya-aphiradee, Chatuphonprasert, ve Jarukamjorn 2018). Cinsiyetin ülseratif kolit üzerinde bir etkisi yoktur (Bernstein vd. 2006; Cosnes vd. 2011). Ülseratif kolit her yaşta görülebilir, ancak hastalık en sık olarak 30-40 yaş arasında başlangıç göstermektedir (Cosnes vd. 2011; Shapiro vd. 2016). Ülseratif kolit hastalığı kanlı ishal, sık sık karın ağrısı, yorgunluk ve dışkı tutamama gibi belirtiler ile kendini gösterir (Segal, LeBlanc, ve Hart 2021).

Montreal sınıflandırmaya göre ülseratif kolit hastalığı proktit, sol-tarafalı kolit ve yaygın kolit olmak üzere üç alt grupta incelenir (Segal, LeBlanc, ve Hart 2021; Satsangi 2006) (Şekil 2). Proktit, rektumla sınırlı tutulumdur (yani, inflamasyonun proksimal boyutu rektosigmoid bileşkenin distalindedir). Sol-tarafalı kolitte tutulum kolorektumun splenik fleksuranın distalindeki bir oranıyla sınırlıdır. Yaygın kolitte ise tutulum splenik fleksiyona proksimale uzanır (Segal, LeBlanc, ve Hart 2021; Satsangi 2006) .



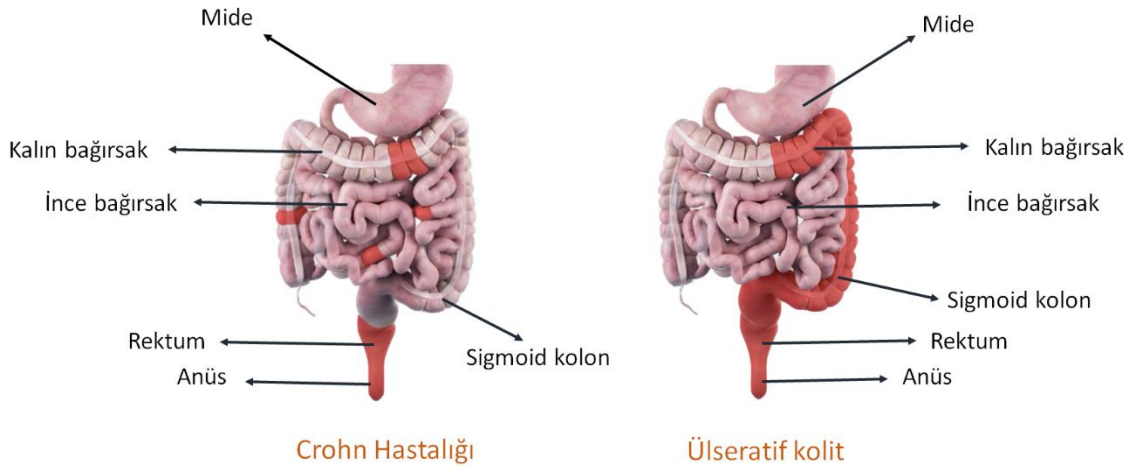
Şekil 4 Ülseratif kolit hastalığının Montreal sınıflandırılmasına göre alt tipleri

IBD-UC hastaları için yaygın olarak önerilen standart tedaviler, kortikosteroidler (Rhen ve Cidlowski 2005), amino-salisilatlar (Nugent 2001; Habens vd. 2005) ve immünoşüpresif ajanlardır (van Dieren vd. 2006). Ek olarak infliximab ve takrolimus (Ratner 2015) gibi biyolojik ajanlar sırasıyla 1998 ve 2006'dan beri UC tedavisinin bir parçası olarak kullanılmaktadır (Ogata 2006). Bu güncel tedavi kısa vadelidir ve

semptomatik komplikasyonları giderir, ancak buna immün tolerans kaybı ve ilaç direnci gibi ciddi yan etkiler eşlik eder (Triantafyllidis 2011; Khan vd. 2019).

### 1.1.2. Crohn Hastalığı (CD)

Crohn hastalığı, bağırsak hasarına ve sakatlığa yol açan, tekrarlayan semptomları olan gastrointestinal sistemin ilerleyici bir hastalığıdır (Torres vd. 2017). Terminal ileum ve kolon başta olmak üzere gastrointestinal sistemin tüm segmentleri etkilenebilir (Torres vd. 2017; Baumgart ve Carding 2007). Ülseratif kolitte tutulum kalın bağırsakla sınırlıyken, Crohn hastalığında ağızdan anüse kadar gastrointestinal sistemin herhangi bir yerinde tutulum gözlemlenebilir (Zhu vd. 2020; Winter ve Weinstock 2020) (Şekil 3).



Şekil 5 Crohn hastalığı ve Ülseratif kolitin bağırsakta tutulum bölgeleri

Crohn hastalığının genetik yatkınlık, çevresel faktörler ve bağırsak mikroflorası arasındaki etkileşimden kaynaklandığı düşünülmektedir (Torres vd. 2017). CD anormal bir mukozal bağışıklık tepkisi ve tehlikeli epitel bariyer fonksiyonu ile sonuçlanır (Torres vd. 2017). Genom çapında yapılan bir ilişkilendirme çalışmasında, IBD ile ilişkili 200'den fazla alel tanımlanmıştır ve bunların 37'si Crohn hastalığına özgü olduğu bulunmuştur (Liu vd. 2015; The International IBD Genetics Consortium (IIBDGC) vd. 2012). Hastaların yaklaşık %12'sinin ailesinde Crohn hastalığı öyküsü vardır (Moller vd. 2015). Ancak hastalık kalıtımının yalnızca %13.1'i genetik

varyasyonla açıklanır, bu da Crohn hastalığında epigenetik ve diğer genetik olmayan çevresel faktörlerinde önemli bir yeri olduğunu göstermektedir (C. Huang vd. 2015). Çocuklukta antibiyotiğe maruz kalma, sigara kullanımı Crohn hastalığı riskini artırır (Mahid vd. 2006; Ungaro vd. 2014). Sitokinlerin immün düzenleyici etkilerinin, enflamatuar yanıtın birçok yönünü kontrol ettikleri Crohn hastalığı (CD) gibi IBD'in patogenezinde de önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir (Stallmach vd. 2004).

## **1.2 Sistem Biyolojisinde Ağ tabanlı Analiz Yaklaşımı**

Sistem biyolojisinde, çeşitli ve büyük veri setlerinin bütüncül bir görünümünün elde etmesi, bu verilerin yorumlanıp bağlamsallaştırılması ve karmaşık biyolojik süreçlerin işleyiş mekanizmalarının nasıl gerçekleştiğinin anlaşılması amacıyla ağ tabanlı analiz yaklaşımı kullanılmaktadır (Kwoh ve Ng 2007). Sistem biyolojisi, sistem davranışlarını biyolojik ağların dinamik işlemleri açısından tanımlamaya çalışır (Hood vd. 2004). Ağ dinamiklerini birden fazla koşul üzerinden anlamak için bir dizi gen ekspresyon çalışması yapılmıştır (Hwang vd. 2009).

Karmaşık ağ dinamiklerini anlamak için, sistem yaklaşımlarında büyük alt ağları ayıklamak yaygındır (Hwang vd. 2009). Bu tür alt ağların oluşturulmasında ortak ortak olan adımlar:

- (i) çeşitli koşullar arasında diferansiyel olarak ifade edilen genlerin (DEG'ler) tanımlanması,
- (ii) DEG'lerin diferansiyel ifade modellerine dayalı olarak kümelenmesi,
- (iii) Ana kümelere ait genler ve bunların küresel interaktomdaki etkileşim partnerleriyle alt ağların yeniden yapılandırılması (Y. Kim vd. 2011).

### **1.2.1 Alt-Ağ Keşfi için Yaklaşımlar**

Yıllar boyunca, deneysel verilerin ağ tabanlı analizi için çeşitli yaklaşımlar önerilmiştir. Bazı yöntemler bilinen yolların puanlamasını artırmak için ağ topolojisinden yararlanırken (Komurov vd. 2012; Tarca vd. 2009; Vaske vd. 2010), diğerleri koşula özgü bir etkileşim ağını yeniden oluşturmak için deneysel

verilere güvenir (Novershtern, Regev, ve Friedman 2011; Gill, Datta, ve Datta 2010). Hastalıklar için yeni alt ağ oluşturma çalışmaları için çok sayıda yaklaşım vardır:

- (1) Agrregat Skor Optimizasyonu (ASO)
- (2) Modül kılıfı yaklaşımı (MC)
- (3) Skor yayılımı yaklaşımı (SP)
- (4) Kümeleme temelli yaklaşımlar (Clust.) (Batra vd. 2017; Alcaraz vd. 2016).

Toplam puan optimizasyon yöntemleri bireysel gen puanlarının bir özetini veya istatistiksel puanını maksimize eden alt ağları çıkarmayı hedefler, modül kapsama yaklaşımları ise mümkün olduğu kadar çok aktif örneği kapsayan genleri içeren alt ağları çıkarmayı hedefler (Alcaraz vd. 2016). Modül kapsama yaklaşımlarında aktif genleri aktif olmayan genlerden ayırmak için gerekli olan sınırlamaları kullanıcı belirlemektedir (Alcaraz vd. 2016). Yeni alt ağ oluşturmak için bu yaklaşımları temel alan birden fazla uygulama mevcuttur (Tablo 1).

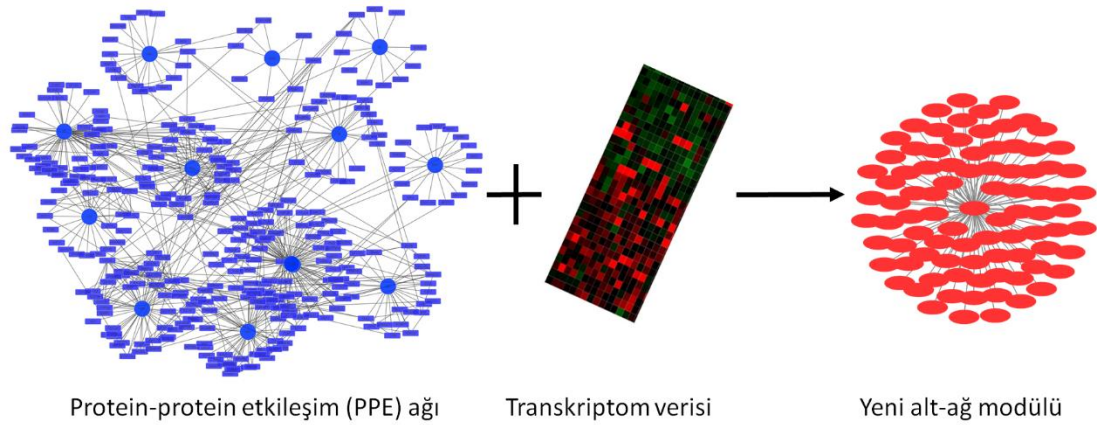
Tablo 1 Alt-ağ keşfi algoritmaları (Batra vd. 2017)

ALGORİTMA	METOT	YAZILIM
<b>BIONET*</b>	ASO	App
<b>CLUSTEX</b>	Clust.	App
<b>CMONKEY</b>	Clust.	App
<b>COSINE*</b>	SP	App
<b>GIGA*</b>	SP	App
<b>GXNA*</b>	SP	App
<b>HOTNET</b>	SP	App
<b>JACTIVEMODULES</b>	ASO	C-PL
<b>KEYPATHWAYMINER*</b>	MC	app, C-PL, WS
<b>DEGAS*</b>	MC	App
<b>MEMCOVER</b>	MC	App
<b>NETWALKER</b>	ASO	App
<b>NETWORKTRAIL</b>	ASO	WS
<b>PINNACLEZ*</b>	ASO	app, C-PL
<b>REACTOMEVIZ-MCL</b>	Clust.	C-PL
<b>REGMOD</b>	SP	App
<b>RESPONSENET</b>	ASO	WS
<b>SUBEXTRACT</b>	ASO	App
<b>TIEDIE</b>	SP	script (Python)

ASO: Agrregat Skor Optimizasyonu (Aggregate Score Optimization), SP: Skor Yayılımı (Score Propagation), MC: Modül Kılıfı (Module Cover), CLUST: Kümeleme Temelli (Clustering-based). YAZILIMIN BULUNDUĞU ORTAM: Tek-Başına Uygulama (APP), Cytoscape Eklentisi (C-PL), Web Hizmeti (WS) (BATRA VD. 2017)

*De novo* yolu zenginleştirme yöntemlerinde altın standart olmadığı için, algoritmaların performansları, seçilen veri kümesine ve problem ayarına bağlı olarak genellikle farklılık gösterir (Batra vd. 2017). 7 farklı alt-ağ keşfi aracı kullanılarak yapılan bir çalışmada Bionet ve KPM algoritmalarının diğer uygulamalara göre daha iyi performans gösterdiği belirtilmiştir (Batra vd. 2017). Tamamlayıcı bir yol zenginleştirme aracı olan KeyPathwayMiner (KPM); Cytoscape uygulaması, bağımsız bir Java uygulaması veya bir web sunucusu aracılığıyla kullanılabilir. Kemoterapinin etkisini araştırmak (Warsow vd. 2013) ve Huntington hastalığının mekanizmasını anlamak (Alcaraz vd. 2011) için de KPM algoritması kullanılmıştır. KPM tarafından ele alınan alt ağ modüllerindeki genler, araştırılan duruma göre önemli ölçüde aktif genler olarak tanımlanır (Warsow vd. 2013).

Ağ zenginleştirme analizi, anormal ağ modüllerini aydınlatmak için hesaplamalı sistem biyolojisinde ön plana çıkmaktadır. Geleneksel olarak, bu yaklaşımlar, gen ekspresyon verilerini protein-protein etkileşimi (PPE) ağları ile birleştirmeye odaklanır (Alcaraz vd. 2014). Bir alt ağ algılama analizi yapabilmek için genel olarak iki farklı türde girdiye ihtiyaç duyulur: (i) etkileşimli biyolojik ağlar; (ii) deneysel veriler (Nguyen vd. 2019) (Şekil 4). Deneysel veriler genellikle gen ve protein ekspresyonu, somatik mutasyon ve kopya sayısı değişikliği gibi yüksek verimli teknolojilerden elde edilen verilerdir (Nguyen vd. 2019).



Şekil 6 Alt-ağ keşfi yöntemleri ile modül bulunması.

## 1.2.2 Biyolojik Ağlar

DNA, RNA, proteinler ve metabolitler, yaşamın altında yatan hücrenel süreçlerin moleküler mekanizmalarında önemli rollere sahiptir (Muzio, O'Bray, ve Borgwardt 2021). Bu biyolojik varlıkların yapılarını ve etkileşimlerini incelemek, yeni ilaçların geliştirilmesi ve çeşitli hastalık yollarının keşfedilmesi için önemlidir (Muzio, O'Bray, ve Borgwardt 2021). Bu varlıkların hem yapısı hem de etkileşimleri, bir dizi düğümden oluşan bir ağ grafiği kullanılarak temsil edilebilir (Muzio, O'Bray, ve Borgwardt 2021). Ağlar, heterojen ve karmaşık biyolojik süreçlerin basit ve sezgisel bir temsilini sağlar (B. Zhang, Tian, ve Zhang 2014). Biyolojik ağlar, biyomoleküllerin işlevlerini ve etkileşimlerini görselleştirmek ve anlamak için kullanışlı temsillerdir (B. Zhang, Tian, ve Zhang 2014). Ayrıca, ağ grafik teorisi, makine öğrenimi ve derin öğrenme teknikleri kullanılarak karmaşık moleküler mekanizmaların modellenmesini ve anlaşılmasını kolaylaştırır (Muzio, O'Bray, ve Borgwardt 2021).

Biyolojik ağlar, biyolojik bir sistemdeki farklı bileşenlerin karmaşık etkileşimlerini araştırmak, modellemek, karakterize etmek ve anlamak için kavramsal ve sezgisel bir çerçeve sağlar (B. Zhang, Tian, ve Zhang 2014). Ağ bilimi, bir hücrenin iç organizasyonunu anlamak için öngörülemez olasılıklar sunarak hücre biyolojisi hakkında detaylı bilgi edinmeyi sağlar (Rakshit, Rathi, ve Roy 2014). Bir biyolojik süreci anlamak için yalnızca biyolojik varlıkların kendileri hakkında bilgiler yeterli değildir, aynı zamanda biyolojik varlıkların kendi aralarındaki ilişkiler hakkında da bilgilere ihtiyaç vardır (Muzio, O'Bray, ve Borgwardt 2021). Bu tür süreçleri temsil etmenin en iyi yolu biyolojik varlıkları ve bu varlıkların etkileşimlerinin modellenenebildiği ağ grafikleridir (Muzio, O'Bray, ve Borgwardt 2021). Deneysel yüksek verimli teknolojideki son gelişmelerle birlikte, daha düşük maliyetle daha büyük ölçüde biyolojik ağ verisi elde edilmeye başlandı (Reuter, Spacek, ve Snyder 2015). Bu verilerin mevcudiyeti, yapısına dayalı olarak yeni bir proteinin işlevini tahmin etmek veya yeni bir ilacın biyolojik yollarla nasıl etkileşime gireceğini tahmin etmek gibi birçok çalışmada biyolojik ağ analizini kullanmayı mümkün kılmaktadır (Muzio, O'Bray, ve Borgwardt 2021).

Biyolojik ağları farklı detay seviyelerinde tanımlamak mümkündür. Her biri kendi özel biyolojik ağ veri tabanı kaynaklarına sahip olan biyolojik ağlar arasında protein-

protein etkileşimi (PPE) ağları, gen düzenleyici ağlar (GRN), metabolik ağlar ve ilaç-ilaç etkileşimi (DDI) ağları bulunmaktadır (Muzio, O'Bray, ve Borgwardt 2021; B. Zhang, Tian, ve Zhang 2014).

### 1.2.2.1 Protein-Protein Etkileşim Ağları

Bir PPE ağı, proteinlerden ve bunların etkileşimlerinden oluşur (De Las Rivas ve Fontanillo 2010). PPE, iki veya daha fazla proteinin geçici olarak birbirini değiştirmek veya sinyal iletimini tetiklemek veya belirli biyolojik işlevleri yerine getirmek için bir protein kompleksi oluşturmak üzere uzun veya kısa süre birbiriyle yakın mesafeden etkileşmesiyle oluşur (B. Zhang, Tian, ve Zhang 2014). PPE'lar, hücre yapısal bileşenlerinin, yani hücre iskeletinin birleştirilmesinden transkripsiyon, translasyon ve aktif taşıma gibi işlemlere kadar değişen hemen hemen tüm hücresel işlevler için gereklidir (Raman 2010; Junker ve Schreiber 2008). PPE'lar ayrıca geçici etkileşimleri, yani kolayca oluşan ve parçalanmış protein komplekslerini içerir (Perkins vd. 2010). PPE ağlarında, düğümler proteinlere karşılık gelirken, kenarlar bağlı proteinler arasındaki etkileşimi tanımlar (Kurzbaach 2016).

PPE verileri için birincil kaynaklar bilimsel yayınlardır (Lehne ve SCDlitt 2009). Çeşitli kamuya açık veritabanları, yayınlanmış PPE verilerini toplar, farklı formatlarda depolayarak araştırmacıların kullanımına sunar (Lehne ve SCDlitt 2009). PPE verilerinin depolandığı birçok veritabanı mevcuttur (Tablo 2).

Tablo 2 PPE verilerini depolayan ücretsiz erişimli veritabanları (Manzoni vd. 2018)

Kaynak	Bağlantı
BioGrid	<a href="http://thebiogrid.org/">http://thebiogrid.org/</a>
IMEx	<a href="http://www.imexconsortium.org/">http://www.imexconsortium.org/</a>
IntAct	<a href="http://www.ebi.ac.uk/intact/">http://www.ebi.ac.uk/intact/</a>
Mentha	<a href="http://mentha.uniroma2.it/about.php">http://mentha.uniroma2.it/about.php</a>
Pathguide	<a href="http://www.pathguide.org/">http://www.pathguide.org/</a>
PSICQUIC	<a href="http://www.ebi.ac.uk/Tools/webservices/psicquic/view/main.xhtml">http://www.ebi.ac.uk/Tools/webservices/psicquic/view/main.xhtml</a>
STRING	<a href="http://string-db.org/">http://string-db.org/</a>

PSICQUIC (The Proteomics Standard Initiative Common QUery InterfaCe) (Aranda vd. 2011) veri tabanı; BioGRID (Stark 2006), MINT (Zanzoni vd. 2002), BIND (Bader vd., t.y.), IntAct (Hermjakob 2004) ve DIP (Xenarios 2000) gibi daha birçok PPE veri tabanını içinde barındıran ve kullanıcılara ücretsiz erişim sağlanan bir veri tabanıdır. PSICQUIC arayüzü, 28 sunucudan 150 milyondan fazla ikili etkileşim kanıtı sağlayan, tek bir sorgu kullanarak birden çok moleküler etkileşim bilgi kaynağının eşzamanlı olarak aranmasına olanak tanır (del-Toro vd. 2013).

STRING veri tabanı, halka açık tüm protein-protein etkileşim bilgisi kaynaklarını toplamayı, puanlamayı ve entegre etmeyi ve bunları hesaplamalı tahminlerle tamamlamayı hedefler (Szklarczyk vd. 2019). STRING veri tabanı, hem fiziksel etkileşimler hem de fonksiyonel ilişkiler dahil olmak üzere, proteinler arasındaki bilinen ve tahmin edilen tüm ilişkileri entegre etmeyi amaçlar. STRING veri tabanı 14.000'den fazla organizma bilgisi içermektedir (Szklarczyk vd. 2021).

### **1.2.3 Transkriptom Verisi ve Transkriptom Verisi Depolayan Veritabanları**

Biyolojik veriler, yüksek verimli OMICS teknolojilerinin (genomik, transkriptomik, proteomik, vb.) kullanımı ile katlanarak büyümektedir (Batra vd. 2017). Bu teknolojinin ile birlikte genlerin, proteinlerin ve metabolitlerin aktivitelerini, bunların kimyasal modifikasyonlarını (fosforilasyon, metilasyon vb.) ve mutasyonları genom ölçeğinde belirlemek mümkün kılınmaktadır (Batra vd. 2017).

Transkriptom bir hücredeki RNA (ribonükleik asit) moleküllerinin (gen transkriptleri) tümünü ifade eder (Pertea 2012). Transkriptomlar, protein kodlayan (mRNA) ve protein kodlamayan (rRNA, tRNA, snRNA vb.) RNA'lardan oluşur (Mattick ve Makunin 2006; Manzoni vd. 2018). Transkriptomu anlamak, hücre ve dokuların moleküler bileşenlerini ortaya çıkarmak, hastalıkların gelişim ve süreçlerini anlamak (moleküler yolaklarını ortaya çıkarmak) gibi birçok süreç için önemlidir (Zhong Wang, Gerstein, ve Snyder 2009). Mikrodizi (microarray) veya yeni nesil dizileme (RNA-seq) yöntemleri aracılığıyla transkriptom verileri elde edilir. RNA-mikrodizi yöntemi RNA-seq yöntemine göre daha az maliyetli olmakla birlikte RNA-seq gibi

geniş keşif çalışmaları sağlayamamaktadır (Shendure 2008; Manzoni vd. 2018). RNA-mikrodizi ve RNA-seq yöntemlerinde benzer iş akışı mevcuttur ve aşağıdaki gibidir:

- (i) Yüksek kaliteli bir RNA'nın saflaştırılması;
- (ii) RNA'nın tamamlayıcı DNA'ya (cDNA) dönüştürülmesi;
- (iii) cDNA'nın çip üzerindeki problemlere kimyasal olarak etiketlenmesi ve hibritleştirilmesi (RNA-mikrodizi) veya cDNA'nın parçalanması ve sentez yoluyla dizileme bir kitaplık oluşturulması (RNA-dizileme);
- (iv) Mikrodizi veya sekansın seçilen platform aracılığıyla çalıştırılması;
- (v) Elde edilen transkriptom verilerinin kalite kontrolünün gerçekleştirilmesi (Kukurba ve Montgomery 2015; Nagalakshmi, Waern, ve Snyder 2010; Manzoni vd. 2018).

Transkriptom çalışmaları sonucu elde edilen büyük sayısal veriler veritabanlarında depolanır (Manzoni vd. 2018). Transkriptom verilerini depolama, paylaşma ve analiz etmek için çok sayıda veritabanı mevcuttur (Manzoni vd. 2018). Gene Expression Omnibus (GEO) (Clough ve Barrett 2016), ArrayExpress (Parkinson vd. 2007) ve Expression Atlas (Petryszak vd. 2016) bu veritabanlarına örnek olarak verilebilir (Tablo 3).

Tablo 3 Transkriptom verilerini depolayan ücretsiz erişimli veritabanları (Manzoni vd. 2018)

Kaynak	Bağlantı	Veri Havuzu
<b>GEO</b>	<a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/</a>	Evet
<b>Braineac</b>	<a href="http://www.braineac.org/">http://www.braineac.org/</a>	Hayır
<b>GTEEx</b>	<a href="http://www.gtexportal.org/home/">http://www.gtexportal.org/home/</a>	Hayır
<b>ArrayExpress</b>	<a href="http://www.ebi.ac.uk/arrayexpress">www.ebi.ac.uk/arrayexpress</a>	Evet
<b>Expression Atlas</b>	<a href="http://www.ebi.ac.uk/gxa">http://www.ebi.ac.uk/gxa</a>	Hayır
<b>HBA</b>	<a href="http://hbatlas.org/">http://hbatlas.org/</a>	Hayır

### 1.3 İlaç Yeniden Konumlandırma için Hesaplamalı Yaklaşımlar

İlacın yeniden konumlandırılması ya da diğer adıyla ilacın yeniden görevlendirilmesi yaklaşımı ile; onaylanmış veya araştırma aşamasındaki ilaçların asıl tıbbi

endikasyonları dışında yeni kullanımlar bulunması hedeflenmiştir (Ashburn ve Thor 2004). İlaç yeniden konumlandırma, geleneksel ilaç geliştirme yöntemlerine kıyasla daha hızlı ve daha az maliyet gerektiren bir yöntemdir (Pushpakom vd. 2019; Breckenridge ve Jacob 2019). İlaç yeniden konumlandırma çalışmalarında kullanılan ilaçlar, halihazırda formülasyon, güvenlik değerlendirilmesi ve optimizasyon araştırmalarından geçtiği için güvenilir ve farmokinetik özelliklere sahiptir (Pushpakom vd. 2019; Ashburn ve Thor 2004).

İlaç yeniden konumlandırmak için kullanılan hesaplamalı yaklaşımlar mevcut ilaçlar için yeni endikasyonlar belirlemede kritik bir öneme sahiptir ve bu yaklaşım genel olarak DrugBank (Wishart vd. 2018), CDemBank (Seiler vd. 2007) ve PubMed (S. Kim vd. 2016) gibi veritabanlarından alınan verilere dayanır (Bahmad vd. 2022; Shim ve Liu 2014). Gen ekspresyonu, kimyasal yapı, genotip veya proteomik veriler veya elektronik sağlık kayıtları (EHR'ler) dahil olmak üzere çeşitli verilerin toplanması ve sistematik analizinin bir sonucu olarak, ilaç-hastalık bağlantıları için olası adaylar vurgulanarak ilacın yeniden konumlandırılmasına yönelik yenilikçi yaklaşımlar geliştirilebilir (Bahmad vd. 2022; Hurler vd. 2013). Ağ tabanlı, profil tabanlı ve veriye dayalı olmak üzere üç temel ilaç yeniden konumlandırma yaklaşımı vardır.

### **1.3.1 Ağ Tabanlı İlaç Yeniden Konumlandırma**

Genotipleme teknolojisindeki ilerlemeler, azalan genotipleme maliyetleri ve İnsan Genomu Projesi'nin tamamlanmasının ardından, yaygın hastalıkları etkileyen genetik varyantları bulmak için genom çapında ilişkilendirme çalışmaları (GWAS) yapılmıştır (Sanseau vd. 2012). GWAS kullanılarak, ilaçlar ve hastalık fenotipleri arasında daha önce belirlenmemiş etkileşimler belirlenebilir ve ilaç yeniden konumlandırmaya zemin hazırlar (Z.-Y. Wang ve Zhang 2013; Grover vd. 2015). İlaçlar ve bunların hedefleri hakkındaki bilgileri bütünleştiren ağ tabanlı yöntem, yeni ilaç adaylarını tahmin etmek için çeşitli verilere dayalı veya hesaplamalı algoritmalar kullanılarak ilaç-hastalık ağları oluşturur (Sanseau vd. 2012). Muhtemel aday ilaç-hedef bağlantılarına izin veren alt ağları keşfetmek için ağ tabanlı kümeleme algoritmaları kullanıldı (J. Lu vd. 2016). Ağ tabanlı algoritmalar kullanılarak yapılan ilaç yeniden

konumlandırma çalışmalarına; Alzheimer tedavisinde kullanılan donepezil ilacının Parkinson tedavisinde (Martínez vd. 2015), şizofreni tedavisinde kullanılan iloperidone ilacının hipertansiyon tedavisinde (Yu vd. 2015), Hedgehod sinyal yolunun bilinen bir inhibitörü olan vismodegib ilacının Gorlin sendromu tedavisinde (Šubelj ve Bajec 2011) kullanılması gibi örnekler verilebilir.

### **1.3.2 Profil Tabanlı İlaç Yeniden Konumlandırma**

Bu hesaplama tekniği, ilaçlar ve hastalıklar arasındaki transkriptomik profillerin karşılaştırılmasına izin veren ve yeniden konumlandırılan ilacın ilgili hastalık üzerinde etkili olup olmayacağını tahmin etmeye yardımcı olan imza tersine çevirme ilkesini (SRP) kullanır (Pushpakom vd. 2019; Lussier ve CDen 2011). Profil bazlı yaklaşımda, yeniden konumlandırılacak olan bir ilacın transkriptom imzası, tedaviden önce ve sonra bir hücre veya dokudaki diferansiyel gen ekspresyonunun karşılaştırılmasıyla belirlenir ve bu daha sonra hastalıkla ilişkili ekspresyon profiliyle karşılaştırılır (Bahmad vd. 2022).

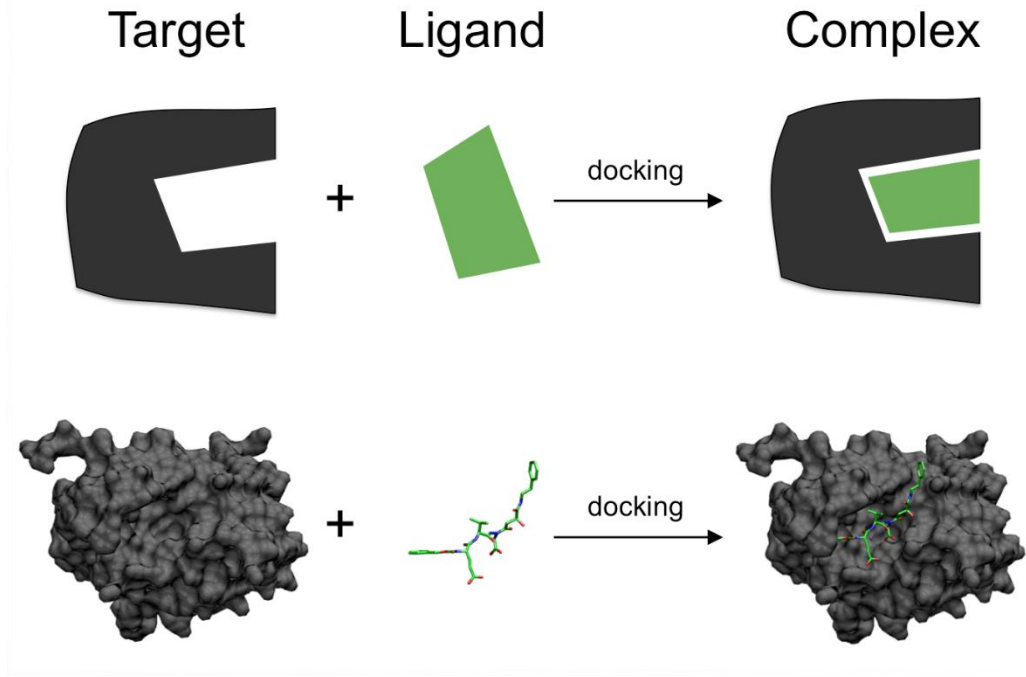
Profil tabanlı yaklaşımın ikinci türü, yapı tabanlı hesaplama stratejisidir (Bahmad vd. 2022). Benzer kimyasal yapılara sahip ilaçlar ortak biyolojik aktiviteyi paylaşabileceğinden, bu strateji ilaçlar arasında karşılaştırma yapmak ve yeni ilaç-hedef ilişkisini belirlemek için ilacın kimyasal yapılarına dayanır (Iorio vd. 2010). Bu yaklaşımda bazı protein hedeflerinin 3 boyutlu yapılarının olmaması ve makromoleküler hedef veritabanlarının olmaması sınırlayıcı etkenlerdir (Pushpakom vd. 2019). Protein yapılarını atomik doğrulukla tahmin edebilen sinir ağı tabanlı bir hesaplama modeli olan "AlphaFold" yapı tahmini sorununu ortadan kaldırmayı hedeflemiştir (Jumper vd. 2021). AlphaFold, moleküler yer değiştirme ve kriyojenik elektron mikroskobu haritalarının yorumlanması için kullanılabilir (Jumper vd. 2021).

### **1.3.3 Veriye Dayalı İlaç Yeniden Konumlandırma**

Bazı ilaç yeniden konumlandırma çalışmaları, klinik verilerin sistematik bir incelemesinden ziyade basit klinik çalışmalar veya farmakolojik analizler yoluyla yapılmıştır (Bahmad vd. 2022). Geriye dönük klinik veriler, ilacın yeniden kullanım olanaklarını keşfetmek için giderek daha popüler hale gelmektedir (Jensen, Jensen, ve Brunak 2012). Veriye dayalı yaklaşım kullanılarak; aspirin ilacı kolorektal kanser tedavisi (Bibbins-Domingo ve on behalf of the U.S. Preventive Services Task Force 2016), raloxifene ilacı ise meme kanseri tedavisi (Cavalla ve Singal 2012) için yeniden konumlandırılmıştır.

### **1.4 Moleküler Kenetlenme**

Moleküler kenetleme, ligand (örneğin bir ilaç) ve hedef (örneğin bir reseptör) arasındaki bağlanma bölgesi tamamlayıcılığını tahmin etmek için yapıya dayalı bir hesaplama stratejisidir (Kitchen vd. 2004) (Şekil 5). Minimum serbest bağlanma enerjisinin tercih edilen oryantasyonunu bularak ligandın protein ile kararlı bir kompleks oluşturmak için bağlanma afinitesini tahmin eder (Ferreira vd. 2015) (Şekil 6). Bu etkileşim, hidrojen bağı, iyonik bağ, hidrofobik ve van der Waals gibi birçok kovalent olmayan etkileşim türünü içerir (Tripathi ve Misra 2017). Moleküler kenetleme, geçici bağlanma parametrelerini belirlemek amacıyla küçük moleküllerin (ilaç adayları) biyomoleküler hedeflerine (protein, karbonhidrat ve nükleik asit gibi) bağlanma yönünü tahmin etmek için sıklıkla kullanılmaktadır (Guedes, de Magalhães, ve Dardenne 2014).



Şekil 7 Bir protein-ligand kompleksi oluşturan bir protein hedefine (siyah) küçük molekülü bir ligandın (yeşil) kenetlenmesinin şematik gösterimi (WEB 1)

Moleküler kenetlenme çalışmaları için iki tür yaklaşım vardır; simülasyon yaklaşımı ve şekil tamamlayıcılığı yaklaşımı (Agarwal ve Mehrotra 2016; Tripathi ve Misra 2017). Simülasyon yaklaşımında, ligand ve hedef moleküller bir miktar fiziksel mesafe ile ayrılır ve ardından ligandın, konformasyonel uzayında “belirli bir hareket süresinden” sonra hedef molekülün oluğuna/cebine bağlanmasına izin verilir. Hareketler, ligand yapısının dahili olarak (burulma açısı dönüşleri) veya harici olarak (dönmeler ve ötelemeler gibi katı cisim dönüşümleri) varyasyonlarını içerir. Ligandın konformasyonel limitlerindeki her hareket, “Sistemin Toplam Enerjisi” olarak hesaplanan bir enerji üretir (Lamb ve Jorgensen 1997; Mukesh ve Rakesh 2011; Agarwal ve Mehrotra 2016; Kitchen vd. 2004). Ligand ve reseptör arasındaki etkileşim, genellikle güç alanı tabanlı işlevler, ampirik puanlama işlevleri, bilgiye dayalı puanlama işlevleri, konsensüs puanlaması ve tanımlayıcı tabanlı puanlama işlevleri gibi farklı puanlama işlevleriyle minimum bağlanma serbest enerjisi açısından ölçülür (Kitchen vd. 2004; Tripathi ve Misra 2017). Şekil tamamlayıcılık yaklaşımı, ligand ve hedef arasındaki yüzey tamamlayıcılığını hesaplayan bir teknik kullanır. Ligandın hedef moleküler yüzey üzerindeki olası bağlanma özelliklerini bulmak için birkaç saniye içinde binlerce ligandın hızlı bir şekilde taranmasını içeren şekil

tamamlayıcılık yaklaşımı oldukça hızlı ve sağlamdır (Mukesh ve Rakesh 2011; Lamb ve Jorgensen 1997).

Moleküler kenetlenmenin temel metodolojisi üç şekilde kategorize edilebilir;

- (i) Esnek ligand kenetlenme: Hedefi sert molekül olarak içeren kenetlenme türüdür. Bu yaklaşım, proteinlerin konformasyonel durumlarının esnekliğini ve karmaşıklığını açıklar (Lorber ve Shoichet 1998; S.-Y. Huang ve Zou 2006). Bu metodoloji, kenetlenmede en sık kullanılandır.
- (ii) Katı cisim kenetlenmesi: Hem ligand hem de reseptör serttir ve sıkı bağlanma gösterir (Lamb ve Jorgensen 1997).
- (iii) Esnek kenetlenme: Hem ligand hem de reseptör esnektir. Ligand, aralarındaki bağ kuvvetlerini maksimize etmek için reseptörün aktif bölgesine esnek bir şekilde bağlanır (Tripathi ve Misra 2017).

Protein-protein, protein-ligand ve protein-nükleotit arasında moleküler kenetlenme çalışması yapılabilir (Rangaraju 2013). Protein-ligand etkileşimlerinin mühendisliği, biyolojideki kritik problemleri çözmek için kullanılan hesaplamalı yaklaşımlardan biridir (Allison vd. 2014). Protein-küçük molekül kenetlenmesi, yani kimyasal bileşikler ile onların hedef protein reseptörleri arasındaki etkileşimin atomik düzeyde modellenmesi, ilaç tasarımı için etkili bir araçtır. Küçük molekül ilaçların yapı tabanlı tasarımında, önemli etkileşimleri açıkça göstermek ve artan seçicilik ve etkinliğe sahip ilaçları tasarlamak için bağlanma pozunun iyi bir tahmini gereklidir (Śledź ve Caflisch 2018).

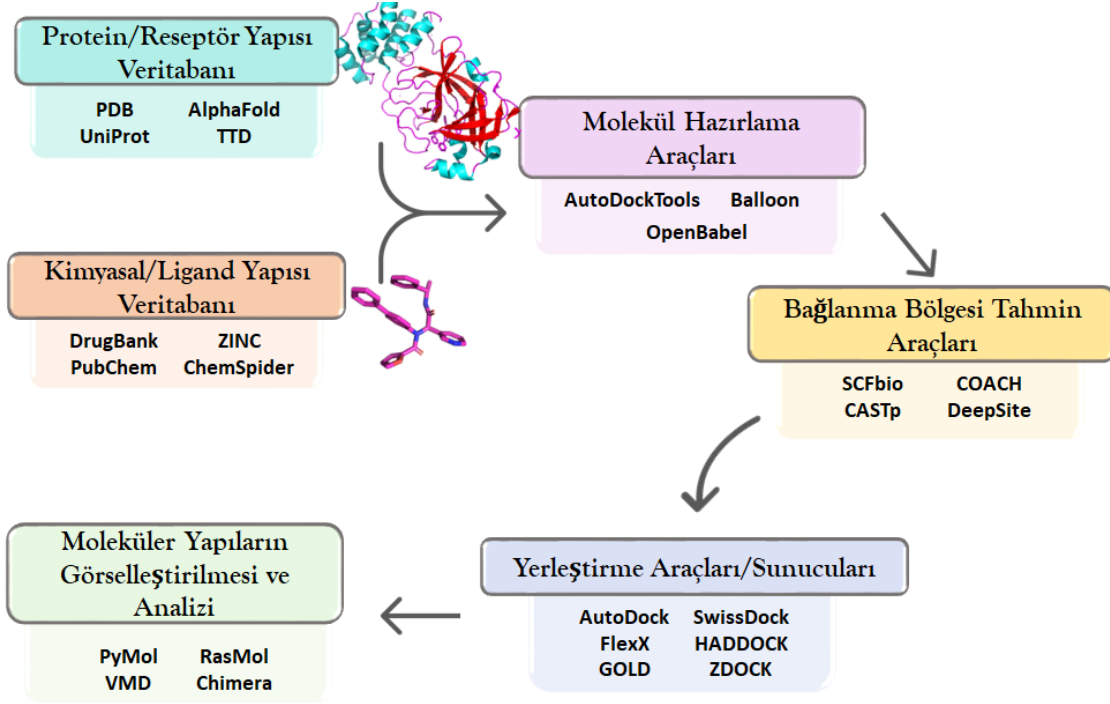
#### **1.4.1 Moleküler Kenetlenme Basamakları**

İlaç tasarımı protein-ligand moleküler kenetlenmesi öncesinde, sırasında ve sonrasında takip edilebilen adımlar şunlardır (Şekil 6);

- (i) Docking çalışmalarına başlamadan önce öncelikle en uygun protein ve ligand yapıları seçilmelidir (Guterres ve Im 2020). Hedef proteinlerin deneysel olarak belirlenmiş yapılarına erişmek için PDB, Uniprot ve Terapötik Hedef Veritabanı (TTD) gibi veritabanları vardır. Deneysel yapı

mevcut değilse, modellenen yapılar AlphaFold Veritabanından elde edilebilir veya ilgili yapı modelleme yazılımı kullanılarak modellenebilir (Maden vd. 2022). Ligand yapıları, ZINC, Pub CDEM gibi birkaç veri tabanından alınabilir veya CDemspider aracı kullanılarak çizilebilir (Chaudhary ve Mishra 2016).

- (ii) Kenetlenme yapılarının hazırlanması; Moleküler kenetlenme algoritmaları, PDB formatında (H atomları içermeyen) elde edilen yapıların ön hazırlığını gerektirebilir. Çoğunlukla su molekülleri ve varsa hetero atomlar uzaklaştırılır (McMartin ve Bohacek, t.y.; Schnecke ve Kuhn 2002).
- (iii) Bağlanma bölgesinin belirlenmesi; Bağlama yeri ile ilgili ön bilgilerle kenetlenmeyi yönlendirmek çok önemlidir. Aksi takdirde, kör kenetlenme gerçekleşir ve ligand arama alanı geniş olduğunda doğru bağlanma pozlarını tespit etmek daha zordur. Bağlanma bölgeleri bilinmediğinde kullanılacak aktif bölge tahmini için çeşitli kılavuz algoritmalar vardır. Bunlardan bazıları GRID, SurfNet, COACD, SCFbio, CASTp ve DeepSite olarak sıralanabilir (Maden vd. 2022).
- (iv) Docking algoritmalarının yetenekleri birbirinden farklı olabilir ve bu açıdan docking işlemine başlamadan önce çalışmanın amacına uygun olarak kullanılacak algoritmanın dikkatli bir şekilde seçilmesi önemlidir (Maden vd. 2022).
- (v) Kenetlenme sonrası elde edilen sonuçların görselleştirilmesi ve yapısal analizi. Bu adım için PyMol, RasMol, VMD ve Chimera gibi araçlar kullanılmaktadır.

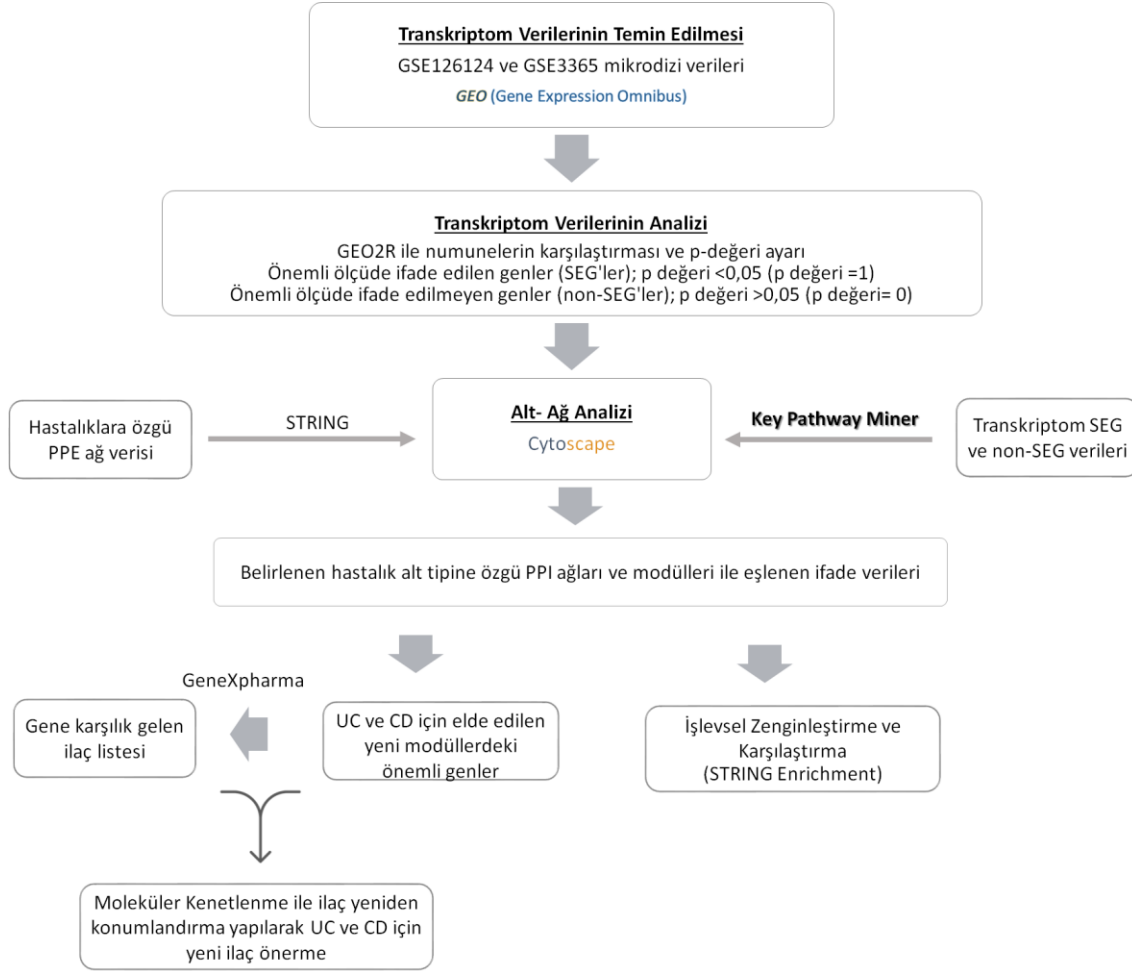


Şekil 8 İlaç tasarımında protein-ligand moleküler kenetlenmesi öncesinde, sırasında ve sonrasında takip edilebilecek prosedürler ve kullanılabilen araçlar (Maden vd. 2022 kaynağından adapte edilmiştir)

## BÖLÜM II

### 2. MATERYAL VE METOT

IBD alt tipleri olan UC ve CD için transkriptom verileri, Gene Expression Omnibus (GEO) veri tabanından (Clough ve Barrett 2016) elde edildi ve her bir alt tip için sağlıklı duruma göre (UC-sağlıklı, CD-sağlıklı) veriler GEO2R ile analiz edildi. UC ve CD için ilgili PPE verileri STRING veritabanından elde ettik. Çalışmamızda, UC ve CD'ye özgü alt ağları tanımlamak için transkriptom verilerini hastalık alt tipine özgü PPE ağlarına eşledik. PPE ağlarındaki yeni modülleri belirlemek için KeyPathwayMiner (KPM) kullanarak hastalığa özgü alt ağları elde ettik. Tüm PPE ağ analizleri ve görselleştirilmesi Cytoscape (3.8.0) uygulaması (Shannon vd. 2003) ile yapılmıştır. Daha sonra UC ve CD hastalıklarına özgü elde edilen yeni modüllerin fonksiyonel zenginleştirme analizlerini STRING Enrichment (Szklarczyk vd. 2019) kullanarak yaptık ve moleküler düzeyde IBD alt tipleri arasındaki farkları ortaya çıkarttık. Son olarak elde ettiğimiz yeni modüllerdeki genlere geneXpharma (Turanli, Gulfidan, ve Arga 2017) aracılığı ile ilaç yeniden konumlandırma yaparak gen-ilac listesi elde ettik ve bu gen-ilac çiftleri için AutoDock Vina (Morris vd. 2009) kullanarak moleküler kenetlenme çalışması yaptık. Sonuçlarımızın görselleştirilmesi ve yapısal analizini PyMol'de yaptık (Yuan, Chan, ve Hu 2017). Her adımın ayrıntıları aşağıdaki alt bölümlerde açıklanmaktadır ve UC ve CD'ye özgü alt ağların keşfi için transkriptom verileriyle kapsamlı PPE ağları analizimizin iş akışı Şekil 7'de gösterilmektedir.



Şekil 9 İş Akışı Şeması

## 2.1 Transkriptom Verilerinin Elde Edilmesi

Çalışmanın amacına uygun veriseti seçerken, mikrodizi veri kümelerinde, UC, CD ve normal (sağlıklı) gruplardan örneklerin bir arada bulunması ve her bir grup için örnek sayısının yeterli sayıda bulunmasına dikkat edilmiştir. Buna göre IBD alt türleri ülseratif kolit (UC) ve Crohn hastalığı (CD) için transkriptom verileri, GSE126124 ve GSE3365 mikrodizi veri kümeleri altında Gene Expression Omnibus (GEO) veri tabanından (Clough ve Barrett 2016) elde edildi. GSE126124 veriseti; 36 UC hasta örneği, 76 CD hasta örneği, 51 tane sağlıklı kontrol örneklerinden oluşurken, GSE3365 veriseti; 26 UC hasta örneği, 59 CD hasta örneği ve 42 tane sağlıklı kontrol örneklerinden oluşmaktadır (Tablo 4).

Tablo 4 Bu çalışmada analiz edilen GSE126124 ve GSE3365 ifade profili mikrodizi veri kümelerinin özellikleri.

Veriseti	Ülseratif kolit (UC)	Crohn hastalığı (CD)	Sağlıklı kontroller
GSE126124	36 örnek	76 örnek	51 örnek
GSE3365	26 örnek	59 örnek	42 örnek

## 2.2 Transkriptom Verisetinin Analizi

Elde edilen transkriptom veri kümeleri, R-tabanlı gen ekspresyon analizi gerçekleştirebilen bir web aracı olan GEO2R kullanılarak, UC'ye karşı sağlıklı doku ve CD'ye karşı sağlıklı doku gibi, sağlıklı durumla iki hastalık durumu karşılaştırılarak ayrı ayrı analiz edildi. GEO2R (Barrett vd. 2012) analizlerinde varsayılan olarak, yanlış keşif oranını (FDR) kontrol etmek için nicel normalleştirme ve Benjamini ve Hochberg prosedürünü uyguladık. Sınırlayıcı önemli genler ve yanlış pozitifler arasındaki iyi denge nedeniyle bu, mikrodizi verileri için en sık kullanılan ayarlamadır.

## 2.3 Ülseratif Kolit ve Crohn Hastalığına Özgü Alt Ağların Belirlenmesi

UC ve CD için hastalığa özgü PPE verilerini elde etmek için öncelikle UniProt web hizmetinde hastalık isimlerimizi aratarak ilgili olan proteinleri belirledik. Crohn hastalığı için 48 protein, ülseratif kolit için 63 protein ismi belirlendi. Bu proteinler STRING web hizmeti kullanılarak hastalıklar için protein-protein etkileşim ağı elde edildi (29 Ekim 2021). STRING veri tabanı, halka açık tüm protein-protein etkileşim bilgisi kaynaklarını toplamayı, puanlamayı ve entegre etmeyi ve bunları hesaplamalı tahminlerle tamamlamayı amaçlar (Szklarczyk vd. 2019). STRING web hizmetinden elde edilen UC ve CD PPE ağlarında ortak genlerin varlığı araştırıldı ve ortak olan genlerin biyolojik fonksiyonları Cytoscape eklentisi ClueGo fonksiyonel zenginleştirme aracı kullanarak analiz edilmiştir. ClueGO, biyolojik ağlardaki terimler ve işlevsel grupların karşılıklı ilişkilerini analiz etmek için kullanıcı dostu bir Cytoscape eklentisidir. Çeşitli esnek ayarlamalar, açıklama ağlarında gen kümelerinin kapsamlı bir şekilde keşfedilmesine izin verir. ClueGO, Gen Ontolojisi (GO)

terimlerinin yanı sıra KEGG/BioCarta yollarını entegre eder ve işlevsel olarak organize edilmiş bir GO/yol terim ağı oluşturur. Bir veya iki gen listesini analiz edebilir veya karşılaştırabilir ve işlevsel olarak gruplandırılmış terimleri kapsamlı bir şekilde görselleştirir (Bindea vd. 2009). GlueGo ile ortak genlere yapılan fonksiyonel zenginleştirmede; GO-Biological Process, KEGG ve Reactom Pathways verisetlerinde, p-değeri eşiği  $\leq 0.05$  seçilerek analiz edilmiştir. Ardından Cytoscape (Shannon vd. 2003) uygulaması içerisinde KeyPathwayMiner (KPM) (Alcaraz vd. 2016) (sürüm 5.0.1) eklentisi indirildi. Cytoscape, yüksek verimli ifade verileri ve diğer moleküler durumlarla biyomoleküler etkileşim ağlarını birleşik bir kavramsal çerçeveye entegre etmeye yönelik açık kaynaklı bir yazılım projesidir (Shannon vd. 2003). Cytoscape'in KPM eklentisi, biyolojik bir ağdaki tüm maksimum bağlı alt ağları verimli bir şekilde ortaya çıkarabilir. KPM algoritması, transkriptom verilerini, p-değerlerini "1" veya "0" olarak işler (Alcaraz vd. 2016). Bu nedenle, transkriptom veriseti analizi sonucu elde edilen p değerlerine; önemli ölçüde ifade edilen genler (SEG) için (p değeri  $<0.05$  olan genler) "1" ve anlamlı olmayan eksprese edilmiş genler (non-SEG) (p değeri  $>0.05$  olan genler) "0" atanmıştır. KPM için önemli bir parametre olan K değeri modülde kaç tane genin deneysel veride olmayıp da PPE ağından ekleneceğini gösterir. Optimal K değeri, literatürdeki bir çalışmada deneme yanılma yoluyla 5 olarak belirlenmiştir, öyle ki K değeri 5'in altındayken önemli genler kaçırılırken 5'in üzerinde yeni anlamlı gen eklenmediği gözlemlenmiştir (Alcaraz vd. 2016). Tez çalışmamızda, hastalığa özgü PPE ağları Cytoscape'e yüklendikten sonra GSE126124 ve GSE3365 veri setlerinden elde edilen genler ve p değerleri KPM için uygun formatta düzenlenerek (SEG;  $p<0.05$  ve non-SEG;  $p>0.05$ ) iki ayrı dosya olarak yüklenmiştir. K-değerinin 5 olduğu varsayılmıştır; iki kümedeki transkriptom verileri "AND" kullanılarak mantıksal olarak bağlanmış ve UC ve CD için yeni modüller elde edilecek şekilde PPE ağına haritalanmıştır.

## 2.4 UC ve CD hastalıklarına özgü elde edilen ağ modelleri

### 2.4.1 Hastalığa Özgü Ağ Modüllerinin İşlevsel Zenginleştirilmesi

KPM ile elde edilen yeni modüller, işlevsel zenginleştirme analizi için çevrimiçi, kullanıcı dostu ve kapsamlı bir veri tabanı olan STRING kullanılarak gerçekleştirildi. STRING, elde edilen alt kümeler, etkileşim ağları olarak görselleştirilebilir ve tüm genom çapında veri kümelerini girdi olarak yükleyerek gen seti zenginleştirme analizi gerçekleştirmesine olanak tanır (Szklarczyk vd. 2019). Zenginleştirme analizi için STRING, Gene Ontology ve KEGG gibi iyi bilinen sınıflandırma sistemlerini uygular, ancak aynı zamanda yüksek verimli metin madenciliğine ve ilişkilendirme ağının kendisinin hiyerarşik kümelenmesine dayalı ek, yeni sınıflandırma sistemleri sunar (Szklarczyk vd. 2019). KPM ile UC ve CD için elde edilen alt-ağ modüllerine Cytoscape üzerinden kullanılabilen STRING Enrichment (Szklarczyk vd. 2019) aracı ile fonksiyonel olarak zenginleştirme analizi yapılmıştır. Analizde kullanılması istenen veri kaynakları GO Process, KEGG ve Reactom olarak işaretlenmiş fazlalık sınırı (Redundancy cutoff) 0.5 olarak belirlenmiştir. Fazlalık filtreleme, FDR değerine göre sıralanmış zenginleştirilmiş terimlerin listesini alır ve önceki, daha iyi puanlama terimlerine çok benzeyen ve kendileri kaldırılmamış terimleri kaldırır. İki terim arasındaki benzerlik, iki terim tarafından açıklanan gen kümelerinin Jaccard indeksi ile ölçülür. Bir terim, yalnızca, zaten filtrelenmiş listede bulunan diğer herhangi bir terimle kullanıcı tarafından belirlenen fazlalık sınırından daha az Jaccard benzerliğine sahipse, filtre uygulanmış listeye eklenir (Doncheva vd. 2019) .

### 2.4.2 Hastalığa Özgü Ağ Modellerinde Öne Çıkan Genlerle İlaç Yeniden Konumlandırma

İlaç yeniden konumlandırma, mevcut ilaçlar için yeni terapötik endikasyonları belirlemek için yenilikçi bir yaklaşımdır. GeneXpharma (Turanli, Gulfidan, ve Arga 2017), hastalık-gen-ilaç üçlüsü içinde ilaçlanabilir genom üzerine hipotezler oluşturmak ve böylece ilaçların hastalıklara karşı yeniden konumlandırılmasına yardımcı olmak için tasarlanmış ve organize edilmiştir. Arama sistemi, ilaçları, genleri

veya hastalıkları kullanan çeşitli giriş noktalarını barındırır ve bu da araştırmacıların ilacı yeniden kullanma adaylarını çıkarmasına ve daha fazla değerlendirme için kolayca dışa aktarmasına olanak tanır (Turanli, Gulfidan, ve Arga 2017). GeneXpharma veritabanında, ilaç-veri seti ilişkilerinin tahminin yapılmasında; istatistiksel bağlantı yöntemi (Amelio vd. 2014) gen ekspresyon verilerine uyarlanmıştır (Denklem 1).

**Denklem 1.** İlaç-veri kümesi ilişkilerinin tahmini (Turanli, Gulfidan ve Arga, 2017)

$$P_{\alpha,\beta} = \frac{\binom{m}{x} \binom{N-m}{n-x}}{\binom{N}{n}}$$

Bu noktada,  $p_{\alpha,\beta}$  ilaç  $\alpha$ 'nın veri kümesi  $\beta$  ile ilişkisinin tahmini olasılığını açıklar.  $N$ , veri kümesi  $\beta$  'daki prob sayısıdır;  $m$  ise veri kümesi  $\beta$ 'daki toplam ilgili gen sayısıdır.  $n$ , bütün ilaç-ilaç etkileşimleri hesaba katıldığında ilaç  $\alpha$  ile etkileşime giren genlerin sayısıdır;  $x$  ise, veri seti  $\beta$ 'da ilaç  $\alpha$  ile etkileşime giren genlerin sayısıdır. Kısaca,  $m/N$  insan genomu içerisinde hastalığa bağlı genlerin oranını ve  $x / n$  ilaç  $\alpha$  ile etkileşime giren, ancak veri seti  $\beta$  ile ilişkili olan genlerin oranını yansıtır (Turanli, Gulfidan, ve Arga 2017).

UC ve CD için farklı PPE ağları ve farklı transkriptom verileriyle elde edilen alt-ağların genleriyle ilaç yeniden konumlandırma yapılmıştır. Belirlenen ilaçlardan UC ve CD için ortak olanlar ayrılarak geri kalan ilaçlar UC ve CD ile olan ilişkilerine göre gruplanmıştır. Daha önceden bu hastalıklarla ilişkilendirilmemiş olan ilaçlar için moleküler kenetlenme yapılarak ilgili sonuçlar ışığında UC ve CD hastalıkları için farklı ilaç ve tedavilerin uygulanabilirliği tartışılmıştır.

### **2.4.3 Yeniden Konumlandırılan Aday İlaç-Protein Çiftlerinin Kenetlenme Çalışmaları**

Protein-Ligand kenetlenmesinde bilgisayar yazılımları, internet sunucuları ve çeşitli algoritmaları kullanılır. Bu tez çalışmasında bunlardan biri olan AutoDock yazılımı

kullanılmıştır (Morris vd. 2009). AutoDock, küçük ligandların makromolekül hedeflerine bağlanma uyumluluğunu esnek-sert (yarı esnek) bir kenetlenme yaklaşımıyla tahmin eden ücretsiz bir yazılımdır (Morris vd. 2009). Ligandı makromolekül üzerinde belirlenen aktif bölgeye kenetlemek için ızgara (grid) tabanlı bir yöntem kullanır (Kitchen vd. 2004). AutoDockTools (<http://mgltools.scripps.edu/downloads>), protein ve ligand yapılarının ilgili formatta ve konfigürasyon dosyasında hazırlanması için gerekli grid bilgilerini üretmek ve incelemek için kullanılan kullanıcı arayüzüdür (Morris vd. 2009). AutoDock uygulamasında kenetlenme çalışmalarını yapmak için üç girdi gerekmektedir:

1) Ligand yapısı; moleküler kenetleme çalışmalarından sonra elde edilen yapıların detaylı incelenebilmesi için için ligand olarak kullanılan ilaçlarımızın üç boyutlu (3D) yapısının olması gerekmektedir. Bu nedenle moleküler kenetleme çalışmaları için 3D yapısı mevcut olan ilaçları temel aldık. Her bir ligandın 3D yapısını Drugbank veri bankasından ‘pdb’ formatında elde ettik. Autodock’un girdi olarak kullanılacak dosyaları ‘pdbqt’ formatında kabul etmesinden dolayı AutoDockTools (v1.5.6) kullanarak ligandlarımızı ‘pdbqt’ formatında kaydederek kenetlenme çalışmaları için hazır hale getirdik.

2) Protein yapısı; kenetlenme için kullanılacak olan, ilgili genlerin kodladığı protein yapılarını belirlemek için RCSB PDB (Protein Veri Bankası) kullanıldı (Parasuraman 2012). Kenetlenme için en uygun protein yapısını seçerken, yapının diğer yapılara göre daha iyi çözünürlüğe sahip olması ve mutasyonlu olmamasına dikkat edilmiştir. Ayrıca seçilen protein yapısının ligandlı olmasına dikkat edilmiş, kenetlenme sırasında bu ligand bölgesi aktif bölge bilgisi olarak kullanılmıştır. Buna göre protein isimlerini öncelikle UNIPROT’ta aratarak, organizma türü *homo sapiens* olan proteinin yapısını inceledik. Burada ilgili proteinlerin bazılarının birden fazla PDB yapıları bulunabilmektedir. Birden fazla yapısı olan proteinlerden en iyi çözünürlüğe sahip olan yapılar öncelikli olarak tercih edilerek RCSB PDB bankasında yapılar detaylı olarak incelenmiştir ve kriterlere uygun olan yapılar belirlenmiştir. Seçilen protein yapısı ‘pdb’ formatında PDB’den indirilmiş ve yapıda bulunan ligand bilgisi dosyadan silinmiştir. Daha sonra ligandı silinmiş olan protein yapısı AutoDockTools’da (v1.5.6) açılmış, ‘pdbqt’ formatında kaydedilmiştir ve ilgili ligand ile kenetlenme çalışmaları için hazır hale getirilmiştir

3) Kenetlenme parametresi; AutoDock'ta kenetlenme çalışması için ligand ve protein yapısından sonra en önemli girdi bilgisi kenetlenme parametresidir. Kenetlenme parametresi, kenetlenme çalışmalarında, ligandın protein üzerinde bağlanmasını istenilen bölgenin koordinatlarının belirlenmesini içerir. AutoDockTools (v1.5.6) da bulunan 'grid kutusu'ndan yararlanarak ligandın proteine bağlanmasını istediğimiz bölgeyi belirleyip, koordinatları oluşturduğumuz konfigürasyon dosyasında belirttik.

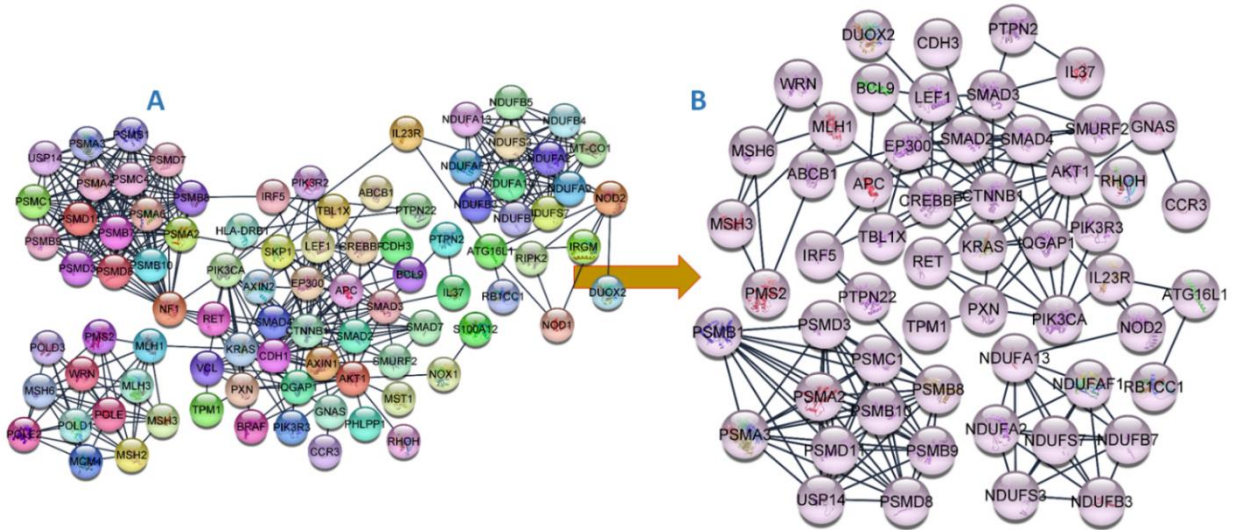
Bir önceki basamakta ilaç yeniden konumlandırma ile ülseratif kolit/Crohn hastalığı için belirlenen ilaçlardan öncelikle aynı olanlar belirlenmiş ve ayrı bir grup olarak alınmıştır. Daha sonra UC ve CD için spesifik olarak kalan ilaçlardan daha önce bu hastalıklarla ilişkilendirilmemiş olanlara moleküler kenetlenme çalışması yapılmıştır. Gruplandırılmış ilaçlar ve karşısındaki genlerin kodladığı proteinler için moleküler kenetlenme çalışmaları yapılarak elde edilecek enerji değerleri ( $\Delta G$ , kcal/mol) ve yapıların uygunluğuna göre ülseratif kolit/ Crohn hastalığına yönelik ilaç yeniden konumlandırması için en uygun ilaç adaylar belirlenecektir. Yapıların detaylı incelemesi Pymol kullanılarak yapılmıştır.

## BÖLÜM III

### 3. BULGULAR VE TARTIŞMA

#### 3.1 Ülseratif Kolit ve Crohn Hastalığına Özgü Alt Ağların Belirlenmesi

STRING sunucusundan (Version 11.5) UC ve CD'ye özgü elde edilen PPE modülleri sırasıyla 90 protein ve 406 etkileşim (Şekil 8A) (EK-1) ve 89 protein ve 633 etkileşim içermektedir (Şekil 9A) (EK-2). İki farklı hastalık için elde ettiğimiz bu PPE ağları karşılaştırıldığında 42 proteinin ortak olduğu gözlemlenmiştir ve bu proteinlerin UC ve CD'ye özel değil IBD ile ilişkili olarak ortak geldikleri düşünülmektedir. UC ve CD PPE ağlarında ortak olan genlere fonksiyonel zenginleştirme analizi yapılmıştır (Şekil 10).



Şekil 8 A. STRING veri tabanından UC için elde edilen PPE ağı (90 protein ve 406 etkileşim). B. KPM ile transkriptom verilerinin UC'ye özgü PPE ağına haritalanması ile elde edilen yeni alt-ağ modülü (56 protein ve 168 etkileşim).

UC-PPE ağına KPM aracılığıyla transkriptom verilerimizi (SEG ve non-SEG) haritaladıktan sonra UC için elde ettiğimiz yeni hastalık ağı 56 protein ve 168 etkileşim içermektedir (Şekil 8B) (EK-3).

UC için elde edilen bu modülün topolojik analizinde 5 genin (CTNNB1, VCL, MLH1, NOD2, IRF5) transkriptom verilerinde bulunmadığı ve KPM analizindeki 'K' ifadesiyle PPE verisinden atandığı gözlemlenmiştir. Ayrıca alt-ağ modülündeki genlerden 42 tanesi bir veri setinde SEG (p=1) olarak bulunurken diğer veri setinde non-SEG olarak bulunmuş, geri kalan 9 genin her iki veri setinde de SEG olduğu gözlemlenmiştir. Modülün topolojik analizinde CTNNB1 geninin hub (en fazla bağlantısallık gösteren merkez) gen olduğu belirlenmiştir (Tablo 5). UC için elde edilen yeni alt-ağ modülünde bu merkez düğümün varlığının, ancak hastalık koşullarında diferansiyel olarak ifade edilmemesinin, çeşitli hücresel süreçlerdeki hayati rolünden ve ağın ifade seviyelerindeki değişikliklere karşı dayanıklı olmamasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir (Maden ve Acuner 2021).

Tablo 5 UC alt-ağında ön plana çıkan bazı genler

Gen	Açıklama	Bağlantısallık
<b>CTNNB1</b>	Catenin beta-1	16
<b>AKT1</b>	RAC-alpha serine/threonine-protein kinase	12
<b>KRAS</b>	GTPase KRas	11
<b>EP300</b>	Histone acetyltransferase p300	11
<b>SMAD3</b>	Mothers against decapentaplegic homolog 3	10
<b>CREBBP</b>	CREB-binding protein	9
<b>SMAD2</b>	Mothers against decapentaplegic homolog 2	8
<b>PIK3CA</b>	<b>Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha isoform</b>	8
<b>VCL</b>	Vinculin	6
<b>APC</b>	Adenomatous polyposis coli protein	5

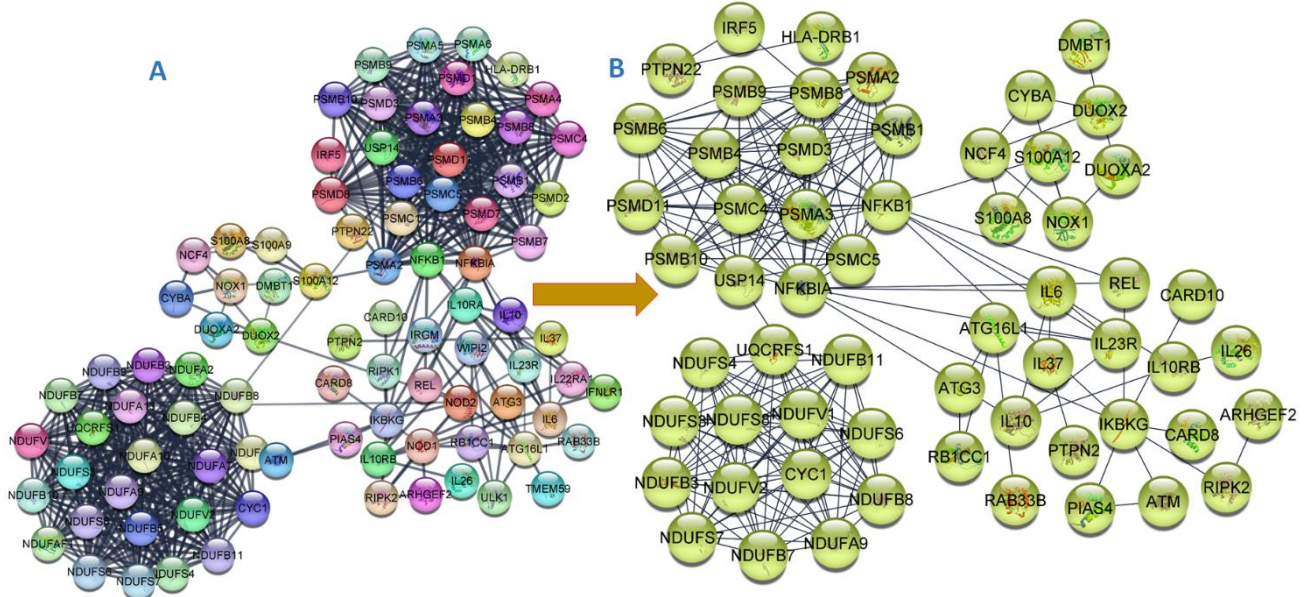
UC alt-ağ modülünde öne çıkan genlerden CTNNB1, AKT1 ve APC'nin literatürde kolorektal kanserle ilişkili genler olarak çıkması, UC'nin de kolorektal kanserle ilişkisi olduğunu düşündürmektedir. Uzun süredir devam eden ülseratif kolitin kolorektal kansere (CRC) yol açması, dünya çapında kabul edilen en ciddi ve yaşamı tehdit eden sonuçlardan biridir (Chakrabarty vd. 2017). Catenin beta-1 (beta-katenin), insanlarda CTNNB1 geni tarafından kodlanan bir proteindir. Beta-katenin, hücre-hücre adezyonunun ve gen transkripsiyonunun düzenlenmesi ve koordinasyonunda yer alan

ikili işlevli bir proteindir (MacDonald, Tamai, ve He 2009). CTNNB1'in mutasyonu ve aşırı ekspresyonu, kolorektal kanseri, akciğer kanseri ve yumurtalık kanseri dahil olmak üzere birçok kanserle ilişkilidir (Morin 1999). Beta-katenin yolağı, kolon epitelinde transkripsiyonel sinyalleşme ve hücre-hücre etkileşimlerinde merkezi bir rol oynar. Beta-katenin ve onun bağlayıcı ortakları E-cadherin ve APC'nin ekspresyonundaki değişiklikler, sporadik kolorektal kanserde sık görülen olaylardır (Aust, Chew, ve Baretton, t.y.). Yapılan bir çalışmada beta-katenin yolağındaki değişikliklerin hem UC ile ilişkili hem de sporadik kolorektal kanserlerde önemli olduğunu belirtilmiştir (Aust, Chew, ve Baretton, t.y.). APC ve KRAS genlerinin kolorektal kanserde önemli ölçüde mutasyona uğradığı belirtilmiştir (Fearon 2011). Yapılan bir çalışmada, ülseratif kolit ile ilişkili kolorektal kanserde, dikkate değer bir APC mutasyonu azlığı görüldü (Yan vd. 2019). Ayrıca, bir bekçi geni olan APC'nin mutasyonları, sporadik kolorektal kanser olan hastaların neredeyse %80'inde görülürken, kolite bağlı displazi veya karsinomu olan hastaların %30'dan azında mutant APC alelleri bulunur (Yaeger vd. 2016). Yüksek kolorektal karsinom (UHR) riski taşıyan uzun süreli UC hastalarıyla yapılan bir çalışmada; sırasıyla 18 UHR deneğinden 6'sında APC'de inaktive edici mutasyonu, 18'den 2'sinde CTNNB1 mutasyonunu ve 18 UHR deneğinden 3'ünde EP300 mutasyonunu içeren WNT sinyal yolağının etkilendiği bulunmuştur (Chakrabarty vd. 2017).

Birkaç SMAD (Mothers against decapentaplegic homolog) gen ailesinin genetik varyantları, Th17 (T yardımcı 17 hücresi) ve Treg (Düzenleyici T hücreleri) arasındaki farklılaşma dengesini değiştirerek IBD, özellikle UC gelişimine neden olabilir (Yamashita vd. 2019). Yapılan bir çalışmada UC hastalarında, normal bireylere göre, Smad2 ve Smad3 mRNA'larında önemli artışlar gözlemlenmiştir. SMAD3 geninin yukarı regülasyonu, kronik uzun hücreleri UC sonucu kanser hücrelerinin sebep olur (Shohan vd. 2018). Daha önce yapılan bir çalışma, Smad3 sinyalinin UC ile ilişkili karsinogenezi indükleyebileceğini ve uzun süredir devam eden kolitte kronik inflamasyonun, UC kaynaklı karsinogenezin onkojenik bir göstergesi olarak Psmad3L'de artışa yol açtığını bildirdi (Kawamata vd. 2011).

CD-PPE ağına KPM aracılığıyla transkriptom verilerimizi (SEG ve non-SEG) haritaladıktan sonra CD için elde ettiğimiz yeni hastalık ağı 59 protein ve 240 etkileşim içermektedir (Şekil 9B) (EK-4). CD için elde edilen bu modülün topolojik analizinde

3 genin (IL23R, RIPK2,IL37) transkriptom verilerinde bulunmadığı ve KPM analizindeki 'K' ifadesiyle PPE verisinden atandığı gözlemlenmiştir. Ayrıca alt-ağ modülündeki genlerden 44 tanesi bir veri setinde SEG (p=1) olarak bulunurken diğer veri setinde non-SEG olarak bulunmuş, geri kalan 12 genin her iki veri setinde de SEG olduğu gözlemlenmiştir. Bu genlerden NFKBIA ve NFKB1'in modüldeki hub (en fazla bağlantısallık gösteren) genler olduğu belirlenmiştir (Tablo 6).



Şekil 9 A. STRING veri tabanından CD için elde edilen KKD ağı (89 protein ve 633 etkileşim). B. KPM ile transkriptom verilerinin CD'ye özgü PPI ağına haritalanması ile elde edilen yeni alt-ağ modülü (59 protein ve 240 etkileşim).

Tablo 6 CD alt-ağında ön plana çıkan bazı genler

Gen	Açıklama	Bağlantısallık
<b>NFKBIA</b>	Nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor, alpha	18
<b>PSMA3</b>	Proteasome (prosome, macropain) subunit, alpha type, 3	14
<b>NDUFS4</b>	NADH dehydrogenase (ubiquinone) Fe-S protein 4	13
<b>IL6</b>	B-cell stimulatory factor 2	6
<b>IL23R</b>	Interleukin 23 receptor	5
<b>IL10</b>	Cytokine synthesis inhibitory factor	4
<b>NOX1</b>	NADH/NADPH mitogenic oxidase subunit P65-MOX	4
<b>ATG16L1</b>	Autophagy related 16-like 1 ( <i>S. cerevisiae</i> )	4
<b>DUOX2</b>	NADH/NADPH thyroid oxidase p138-tox	4
<b>DMBT1</b>	Surfactant pulmonary-associated D-binding protein	1

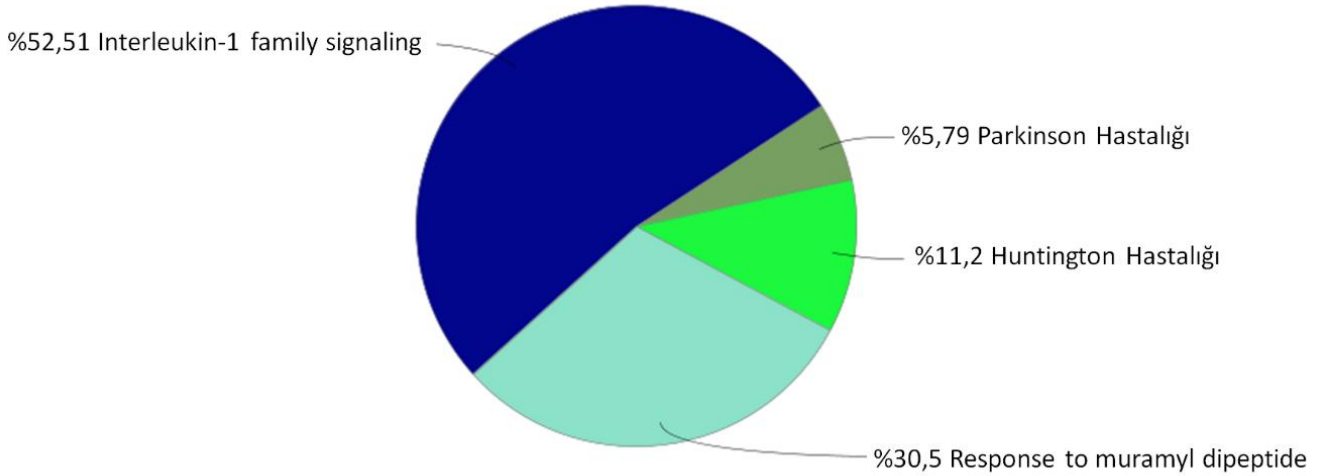
NFKB'nin aktivasyonu, CD'nin patogeneğinde çok önemli bir rol oynayabilir. NFKB, promotörlerindeki spesifik hedef sekanslara dimer olarak bağlanarak bir dizi genin

transkripsiyonunu aktive eder. En bol bulunan NFκB heterodimeri, p65 ve p50 alt birimlerinden oluşur. Bu ailenin en yaygın proteini, NFκB inhibitörü α'dır (NFKBIA) (Klein vd. 2004, 15). CD'li hastaların mukozasında yüksek düzeyde p65 alt birimi mevcuttur (Schreiber, Nikolaus, ve Hampe, t.y.; Neurath ve Pettersson 1997). CD'yi tedavi etmek için kullanılan standart ilaçlar, glukokortikoidler ve salisilatlar, etkilerini en azından kısmen NFκB'yi aşağı doğru düzenleyerek gösterirler (Ardite vd. 1998; Thiele vd., t.y.). NFκB yolağının faktörleri bu nedenle CD'ye yatkınlık için iyi aday genleri temsil eder. IRF5 polimorfizmleri (Gathungu vd. 2012) ve ILR23 varyantları (Duerr vd. 2006) hem UC hem de CD ile ilişkilidir. IBD için bulunan gen lokuslarının çoğu, UC ve CD alt tipleri için aynı etki yönünü gösterse de, bazı genlerin de yan etkileri vardır. Örneğin NOD2 ve PTPN22 genleri, CD için risk faktörü iken, UC için önemli bir koruyucu etki göstermiştir (Wawrzyniak ve Scharl 2018). Hücrede otofaji için gerekli olan ATG16L1 ve gen aktivitesini düzenleyerek hücrel fonksiyonda yer alan STAT3 polimorfizmleri de CD ile ilişkilidir (Magalhaes vd. 2011; Wang vd. 2014). IBD ve kolorektal kanserde epitelyal TLR4 aktivasyonu DUOX2'nin yukarı-regülasyonu ile ilişkilendirilmiştir (Burgueño vd. 2021). Bu tez çalışması kapsamında CD için yapılan transkriptom veri analizi sonuçlarımızda da DUOX2 yukarı-regüle olarak bulunmaktaydı. Beyin, akciğer, mide ve kolorektal kanserler için aday bir tümör baskılayıcı gen olarak kabul edilen DMBT1 geni, IBD hastalarının iltihaplı dokularında artan bir ifade göstermiştir ve bozulmuş DMBT1 fonksiyonunun Crohn hastalığının başlangıcı ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir (Renner vd. 2007).

Ortak genlere yapılan fonksiyonel zenginleştirmede, bu genlerin en ilişkili bulunduğu sonuçlar sırasıyla; IL-1 sinyal ailesi, muramyl dipeptide yanıt, Huntington hastalığı ve Parkinson hastalığıdır (Şekil 10). IL-1 ailesinin GI homeostazı veya IBD patogenezindeki rolü, hastalık durumu, gen polimorfizmlerine bağlı genetik yatkınlık, mikrobiyotadan türetilen eşlik eden uyarıcılar ve doğal antagonistlerin göreceli bolluğu gibi faktörlere bağlıdır. Ayrıca, hem CD hem de UC, farklı immünolojik profillerle ilişkilidir. CD, sağlam bir TH1 yanıtı ile karakterize edilirken, UC, bir TH2 tipi yanıtı daha çok benzeyen bir bağışıklık imzasını indükler (McEntee, Finlay, ve Lavelle 2019). Bu nedenle, IBD bağlamında belirli sitokinlerin veya diğer immünolojik faktörlerin katkılarını tartışırken, rollerinin yalnızca CD ve UC arasında değil, aynı zamanda hastalığın evresine de bağlıdır (McEntee, Finlay, ve Lavelle

2019). Muramyl dipeptide (MDP) için yapılan literatür taramasında bu bileşiğin CD hastalığı ile ilişkisi olduğu bulunmuştur. Muramyl dipeptide (MDP), periferik kan mononükleer hücrelerinin NOD2 ligandıdır (van Heel vd. 2005). CD patogenezinde yer alan enflamatuar yolların aktivasyonu için bakteri duvarı bileşiği muramil dipeptidin (MDP) rolü önemlidir. Gram-negatif ve -pozitif bakterilerin çoğunda bulunan MDP'nin bağırsak sisteminde çeşitli immünolojik tepkileri tetikleyebilmesi ve çeşitli araçlarda değişikliklere sebep olması gerçeğiyle vurgulanmaktadır (Salem vd. 2013). NOD2 dahil olmak üzere MDP yanıtının çoğu, CD ile ilişkilidir. MDP sinyalinin normalleşmesi, MDP sinyalinin CD patogenezi için patojenik önemini vurgulayan bir gerçek olan, bağırsak enflamatuar tepkisini etkileyen birkaç önemli faktörden biridir (Salem vd. 2013). Huntington hastalığı, genellikle orta yaşta başlayan ve istemsiz koreiform hareketlerin ilerlemesi, psikolojik değişim ve bunama ile karakterize otozomal dominant bir hastalıktır (Bates vd. 2015). Tez konusu kapsamında yaptığımız bir çalışmada, KPM ile alt-ağ analizinde, HTT geninin transkriptom verilerinde önemli olarak belirlenmediği (non-SEG) ancak CD için hub gen olduğunu gözlemledik (Maden ve Acuner 2021). Yapılan çalışmalarda Parkinson hastalığının (PD) sadece beyin değil, aynı zamanda bağırsak-beyin ekseninin de bir bozukluğu olduğu belirtilmiştir (Chapelet vd. 2019). Gastrointestinal (GI) semptomlar hemen hemen her Parkinson hastasında bir noktada ortaya çıkar (Edwards, Quigley, ve Pfeiffer, t.y.). Son raporlar, enterik nöropatoloji ve GI işlev bozukluğunun yanı sıra, PD hastalarının da bir dereceye kadar GI iltihabı sergilediğini göstermiştir (Rolli-Derkinderen vd. 2020). GI inflamasyonu ve PD arasındaki olası bağlantı, PD ve inflamatuvar barsak hastalığının (IBD) genetik ve epidemiyolojik olarak bağlantılı olduğunu gösteren gözlemlerle daha da güçlendirilmiştir (Rolli-Derkinderen vd. 2020). Yapılan bir çalışmada Crohn hastalığı (CD) ile ilişkili olan ve bakteriyel bileşenleri tanıyan ve nükleer faktör-kappa B'nin (NF- $\kappa$ B) aktivasyonuna aracılık eden hücre içi sinyal moleküllerini kodlayan CARD15/NOD2'ye odaklanılmıştır (Maeda vd. 2005). 220 kontrolle karşılaştırıldığında 308 sporadik PD hastasından oluşan bir grupta daha önce CD ile ilişkilendirilen 3 CARD15/NOD2 gen varyantının daha yüksek bir frekansını bulunmuştur (Bialecka vd. 2007). Hem ailesel hem de sporadik PD ile en yaygın olarak ilişkili gen olarak ortaya çıkan L $\alpha$ sin açısından zengin tekrar kinaz 2 (LRRK2) geni, genom çapında ilişkilendirme çalışmaları ile CD için ana

duyarlılık geni olarak tanımlanmıştır (Umeno vd. 2011). UC ve CD PPE ağlarında ortak olan genlerin fonksiyonel analizi sonuçlarını literatürle karşılaştırdığımızda, bu biyolojik yolların çoğunlukla CD ile ilişkilendirilmiş olduklarını gözlemledik. Bizim sonuçlarımız ışığında bu biyolojik yolların UC ile de ilişkili olabileceği ve bu özelliklerin UC için de detaylı olarak araştırılması gerektiğini göstermektedir.



Şekil 10 UC ve CD PPE ağlarında ortak olan genlerin fonksiyonel zenginleştirme analizleri

### 3.2 Hastalığa Özgü Alt Ağların İşlevsel Zenginleştirilmesi

Hastalıkların karmaşık mekanizmalarını anlamak hem tanı hem de tedavi adımlarında önemlidir. Sistem biyolojisinde, biyolojik ağların analizi ile gelişen moleküler anlayış, hastalık tipine ve hatta bireye özgü hedeflere hizmet edebilir (Ran vd. 2013; He vd. 2017). Hastalığa özgü alt-ağ (sub-network) tespiti için en etkili yaklaşımlardan biri, transkriptom verilerini protein-protein etkileşimi (PPE) ağlarına entegre etme yöntemidir (He vd. 2017). Bu yaklaşım, daha önce hastalık durumuyla ilişkili olduğu bilinmeyen proteinleri ve hücrel mekanizmaları ortaya çıkarabilir. Böylece, entegre bir transkriptom ve proteom analizi yaklaşımıyla, ağ dinamiklerinin altında yatan farklı mekanizmalar vurgulanabilir (Rakshit, Rathi, ve Roy 2014; Chen vd. 2016). UC için elde ettiğimiz PPE ağına yine hastalıkla ilgili transkriptom verileri haritalanarak elde ettiğimiz UC alt-ağ modülüne işlevsel zenginleştirme analizi yaptık (Tablo 7).

Tablo 7 UC için KPM ile elde yeni alt-ağ modülünün fonksiyonel analizi

Veri tabanı	Açıklama	FDR
<b>Reactome Pathways</b>	Transcriptional regulation by RUNX3	3.21E-24
<b>KEGG Pathways</b>	Alzheimer disease	3.59E-18
<b>KEGG Pathways</b>	Colorectal cancer	9.17E-17
<b>GO Process</b>	Cellular response to organic substance	2.35E-14
<b>Reactome Pathways</b>	PIP3 activates AKT signaling	1.44E-11
<b>KEGG Pathways</b>	Adherens junction	1.07E-9
<b>GO Process</b>	Regulation of catalytic activity	4.9E-9
<b>Reactome Pathways</b>	Complex I biogenesis	7.67E-9
<b>GO Process</b>	Cell activation	7.88E-9
<b>KEGG Pathways</b>	Prostate cancer	1.22E-8
<b>Reactome Pathways</b>	FOXO-mediated transcription	7.63E-7

UC alt-ağ modülü RUNX3 tarafından transkripsiyonel düzenleme, Alzheimer hastalığı, kolorektal kanser, prostat kanseri ve hücre aktivasyonu gibi ortak fonksiyonel özellikleri ortaya koymaktadır. RUNX proteinleri, önemli gelişim süreçlerine katılan bir transkripsiyon faktörleri ailesidir (RUNX1, 2 ve 3): RUNX3, nörojenez (Inoue vd. 2002) için gereklidir. RUNX3 ile immün aracılı bir hastalık olan ülseratif kolit arasındaki potansiyel ilişkiler bildirilmiştir (Weersma vd. 2008). UC ve Alzheimer hastalığı arasında ortak bir genetik duyarlılığa dair bazı kanıtlar vardır: interlökin-10 geninin -1082 G/A polimorfizmindeki A alelinin taşıyıcıları, artmış UC (Tedde vd. 2008) ve Alzheimer hastalığı riski altındadır (Di Bona vd. 2012). Yapılan bir çalışma da (Caini vd. 2016), UC hastaları arasında Alzheimer hastalığı riskinin arttığı ifade edilmiştir; bu da yine bizim sonuçlarımızı destekler niteliktedir. Ülseratif koliti (UC) olan hastalarda kolorektal karsinom riski yüksektir (Edwards, Quigley, ve Pfeiffer, t.y.). Kolorektal kanser (CRC), dünya çapında en sık teşhis edilen üçüncü kanserdir. Kolorektal mukozada kronik inflamasyon tarafından üretilen aşırı reaktif oksijen türleri, bu hastalığı olan hastalarda DNA hasarının ana nedeni olabilir (Lopez vd. 2018). CRC için yüksek risk faktörü olan ülseratif kolitin (UC) epitelyal displaziye, DNA hasarına ve nihayetinde kansere yol açtığı gösterilmiştir. UC'li hastaların yaklaşık %18'inde CRC gelişebilir (Huang vd. 2019). Büyük ve çok merkezli örneklere dayalı bir çalışmada, UC'si olan erkeklerin prostat kanseri (PCa) riskini önemli ölçüde artırdığı belirtilmiştir, ayrıca UC'li hastalarda CDli hastalara göre daha yüksek PCa riskinin gözlenmiştir (Ge vd. 2020). Yine bir başka çalışmada UC'li hastaların özellikle kolorektal kanser açısından yüksek risk altında olduğu

belirtilmiştir (Derikx vd. 2017). UC ve CD arasında birçok klinik semptom, epidemiyolojik ve immünolojik özellik benzer olsa da, bu iki IBD alt tipinin mikrobiyom seviyesi farklıdır ve bu, UC ve CD arasındaki PCa risk farkına yol açabilir (Pascal vd. 2017).

Transkripsiyon faktörleri (TF'ler), transkripsiyon sürecini düzenleyen ve mRNA'nın transkripsiyonel ve translasyonel modülasyonu yoluyla protein ekspresyonunu düzenleyen, ayrıca protein fonksiyonlarını düzenleyen bir protein grubudur (Mitsuyama vd. 2001). UC'li hastaların bağırsak dokusunda çeşitli transkripsiyon faktörlerinin yer aldığı bulunmuştur (C. Han vd. 2020). Forkhead transkripsiyon faktörleri (FOX) ailesi, apoptoz, hücre döngüsü, oksidatif stres ve farklılaşma gibi hücre fonksiyonlarıyla ilgili genlerin ekspresyonunun düzenlenmesinde çok önemli roller oynarlar (Accili ve Arden, t.y.). Ülseratif kolit (UC), çeşitli dokularda iltihaplanmayı teşvik ettiği bilinen bir transkripsiyon faktörünü kodlayan FOXO3a dahil olmak üzere, iltihaplanma ve doku yeniden şekillenmesi ile ilgili genlerin farklı ekspresyonu ile ilişkilidir (Min vd. 2015).

CD için elde ettiğimiz PPE ağına yine hastalıkla ilgili transkriptom verileri haritalanarak elde ettiğimiz CD alt-ağ modülüne işlevsel zenginleştirme analizi yaptık (Tablo 8). Elde edilen CD'ye özgü modül, sitokin üretimi, interlökin-1 (IL-1) reseptör aktivitesi, NF-kappa B (NF-κB) sinyal yolu gibi ortak fonksiyonel özellikleri ortaya koymaktadır. CD hastalarında, iltihaplı olmayan dokulara kıyasla iltihaplı dokularda daha fazla sitokin salınımı ve doku hasarı gözlemlendi (Sarrabayrouse vd. 2020). İnterlökin-1 (IL-1), iltihabı destekleyen sitokinlerden biridir (Charles Anthony Dinarello 2019). IL-1α ve IL-1β, benzer yapılara sahip proinflamatuvar sitokinlerdir; aynı reseptöre bağlanırlar ve ana aktif yol olarak NF-κB ile JNK gibi farklı sinyal yollarında bulunurlar (Charles A. Dinarello 2011; Garlanda, Dinarello, ve Mantovani 2013; Anka Idrissi vd. 2021). Bağışıklık yanıtının ve iltihaplanmanın düzenlenmesinde yer alan NF-κB sinyal yollarının düzensizliği, doğrudan CD hastalığı ile ilişkilidir (Shih ve Targan 2007; Buttó, Schaubeck, ve Haller 2015; Y. M. Han vd. 2017; Nissim-Eliraz vd. 2021). NF-κB'nin anormal aktivasyonunun bir sonucu olarak, bağırsakta kronik iltihaplanmaya neden olan proinflamatuvar sitokinlerin aşırı üretimi meydana gelir (Y. M. Han vd. 2017). CD hastaları için yapılan araştırmalar,

iltihaplı olmayan bölgelere kıyasla iltihaplı bölgede NF-κB-pozitif hücrelerin sayısında önemli bir artış gözlemlenmiştir (Ellis vd. 1998). NF-κB aktivasyon durumu CD'deki inflamatuvar yükü yansıtabilir: Yüksek NF-κB aktivasyonu olan CD hastaları, düşük NF-κB aktivasyonu olan hastalara kıyasla daha yüksek ileokolonik tutulum sıklığı ve daha düşük perianal tutulum sıklığı gibi spesifik klinik belirtiler göstermiştir (Y. M. Han vd. 2017).

Tablo 8 CD için KPM ile elde yeni alt-ağ modülünün fonksiyonel analizi

Veri tabanı	Açıklama	FDR
<b>Reactome Pathways</b>	Interleukin-1 family signaling	8.4E-23
<b>GO Process</b>	Interspecies interaction between organisms	2.49E-12
<b>GO Process</b>	Proteasomal ubiquitin-independent protein catabolic process	3.46E-12
<b>KEGG Pathways</b>	Spinocerebellar ataxia	4.99E-10
<b>GO Process</b>	Inflammatory response	3.55E-7
<b>GO Process</b>	Regulation of cytokine production	3.6E-7
<b>GO Process</b>	Response to muramyl dipeptide	8.01E-7
<b>KEGG Pathways</b>	NOD-like receptor signaling pathway	1.94E-6
<b>GO Process</b>	Response to bacterium	3.39E-6
<b>GO Process</b>	Regulation of interleukin-6 production	1.94E-5
<b>KEGG Pathways</b>	NF-kappa B signaling pathway	1.95E-5

Özetle, bulgularımızla paralel olarak UC'li hastalarda CD'li hastalara göre daha yüksek prostat kanseri riski gözlenmiştir (Ge vd. 2020). Yine bir başka çalışmada UC'li hastaların özellikle kolorektal kanser açısından yüksek risk altında olduğu belirtilmiştir (Derikx vd. 2017).

### 3.3 Yeniden Konumlandırılan İlaçları Gruplandırma ve İlaç-Protein Çiftlerinin Kenetlenme Çalışmaları

GeneXpharma ile ülseratif kolit ve Crohn hastalıklarının alt-ağ modüllerinde bulunan ve her iki transkriptom veri setinde de SEG olan genlere yönelik ilaç yeniden konumlandırma yapılmıştır. UC alt-ağ modülündeki genler için yapılan ilaç yeniden konumlandırma da ilaç p-değeri<0.05 olarak alındığında 439 ilaç ve 519 ilaç-gen çifti belirlendi. İlaç listesinden, genel isme sahip olan (antidepresanlar gibi...) ifadeler ve 3 boyutlu yapısı bulunmayan ilaç isimleri olmak üzere toplam 72 adet isim

kaldırıldığında 368 ilaç ve 429 ilaç-gen çifti kalmıştır. CD alt-ağ modülündeki genler için yapılan ilaç yeniden konumlandırma da ilaç p-değeri<0.05 olarak alındığında 39 ilaç ve 65 ilaç-gen çifti belirlendi. İlaç listesinden, genel isme sahip olan (antiinflamatuvar maddeler vb.) ifadeler ve 3 boyutlu yapısı bulunmayan ilaçlar olmak üzere toplam 72 adet ilaç kaldırıldığında 35 ilaç ve 58 ilaç-gen çifti kalmıştır. UC ve CD için ayrı olarak yapılan ilaç yeniden konumlandırma çalışması sonuçlarında ilaçlardan 18 tanesinin farklı hedefler içersede UC ve CD için ortak olduğu gözlenmiştir (Tablo 9).

Tablo 9 UC ve CD hastalıkları için yapılan ilaç yeniden konumlandırmada ortak gelen ilaçlar

İlaç	Kullanım Amacı	UC hedef genleri	CD hedef genleri
<b>Abacavir</b>	HIV	ABCB1	HLA-DRB1
Acetaminophen	Ateş düşürücü ajan	ABCB1	HLA-DRB1
Chloroquine	Antimalaryal	ABCB1	HLA-DRB1
Clopidogrel	Antiplatelet ajan	ABCB1	ATM, HLA-DRB1
Efavirenz	HIV	ABCB1	IL10, HLA-DRB1
Etoposide	Antineoplastik ajan	ABCB1, SMAD2, SMAD4	IL6, IL10
Gabapentin	Antikonvülsan	ABCB1	IL6
<b>Infliximab</b>	Antineoplastik ajan	ABCB1, CREBBP	HLA-DRB1, IL6, IL10, REL
Interferon Beta-1a	Antineoplastik ajan	ABCB1	HLA-DRB1
Lapatinib	Antineoplastik ajan	ABCB1, PIK3CA	HLA-DRB1
Mitoxantrone	Antineoplastik ajan	ABCB1	HLA-DRB1
Peginterferon Alfa-2b	Antineoplastik ajan	ABCB1	IL6
<b>Prednisolone</b>	Enflamatuvar durumlar ve bazı kanserleri tedavi etmek için kullanılan bir glukokortikoid	ABCB1	HLA-DRB1, IL6, IL10
Pyrazinamide	Antitüberküloz ajan	ABCB1	IL6
<b>Sulfasalazine</b>	Crohn hastalığını ve romatoid artritini tedavi etmek için kullanılan bir anti-inflamatuvar ilaçtır.	ABCB1, CREBBP	IL10
Temozolomide	Antineoplastik ajan	ABCB1	ATM
Thioguanine	Antineoplastik ajan	ABCB1	HLA-DRB1
Troglitazone	Diyabet	ABCB1	HLA-DRB1, IL6, IL10

Bu tabloda yer alan ortak ilaçlardan Infliximab, Sulfasalazine, Prednisolone ve Abacavir hali hazırda ülseratif kolit ve Crohn hastalıklarının tedavisi için kullanılmaktadırlar. Daha önce yapılan bir çalışmada, artritik şikayeti olmayan sakin IBD'si olan hastaları 4 hafta boyunca acetaminophen ile tedavi edilmiş ve yan etki olarak IBD alevlenmesi görülmemiştir (Takeuchi vd. 2006). Thiopurine türevleri azatiyoprin ve merkaptopurin, enflamatuvar barsak hastalıklarında (IBD) remisyonu sürdürmek için sıklıkla kullanılır (Crouwel vd. 2020). Troglitazon, insüline hedef hücre yanıtını iyileştirerek kan şekeri düşüren bir tiyazolidinedion antidiyabetik ajandır (Willson vd. 1996). Etki mekanizmasının, glikoz ve lipid metabolizmasının kontrolü için kritik olan bir dizi insüline duyarlı genin transkripsiyonunu düzenleyen nükleer reseptörlere (PPAR) bağlanmayı içerdiği düşünülmektedir. Troglitazon, hem PPAR $\alpha$  hem de PPAR $\gamma$  için bir ligandır (Ricote vd. 1998). İnsanlarda spesifik olmayan inflamatuvar barsak hastalıklarının tedavisinde PPAR- $\gamma$  ligandlarının kullanımına yönelik çalışmalar yapılmıştır ancak daha detaylı araştırmalar yapılması gerektiğine karar verilmiştir (Lewis vd. 2001). Yıllar sonra yapılan çalışmada rosiglitazonun (troglitazon) , hafif ila orta derecede aktif ülseratif kolit tedavisinde etkili olduğu bulunmuştur (Lewis vd. 2008). Crohn hastalığı ile ilgili kesin bir bilgi bulunmamakla birlikte bizim CD ilaç listemizde bulunması ve UC için etkili olduğu göz önüne alınırsa troglitazonun CD'de etkili olabilme ihtimali söz konusudur. Deneysel bir UC modelinde gabapentin ilacının anti-inflamatuvar aktivitesi, akut inflamatuvar ağrısı olan hastalarda bir analjezik ajan olarak ilacın klinik etkinliği ile uyumludur (Chang vd. 2014). Yapılan bir çalışmada gabapentinin deneysel kolitte antiinflamatuvar özelliklerine atfedilebilen faydalı etkiler gösterdiğini ve dolayısıyla IBD tedavisi için potansiyel bir terapötik ajan olabileceği bulunmuştur (Motavallian vd. 2021). Ancak IBD tedavisi için potansiyel olarak söylenmiş olsa da Crohn hastalığı tedavisi için herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ortak ilaç listesinde bulunan Temozolomide, Pyrazinamide, Lapatinib, Mitoxantrone, Efavirenz, Etoposide ve Clopidogrel ilaçlarının literatür taraması yapılmış ancak UC ve CD ile ilişkisi bulunamamıştır.

Tez çalışmamızda ülseratif kolit ve Crohn hastalıklarını birbirlerinden ayırt etmeyi hedeflediğimiz için UC ve CD ilaç listesinden ortak olanlar listeden çıkarılmış, geri kalan ilaçlara literatür taraması yapılarak, daha önceden UC ve CD ile

ilişkilendirilmemiş olan ilaçlar belirlenmiştir. Bu ilaçlara ilgili hedefleriyle moleküler kenetlenme yapılmış en iyi kenetlenme sonucu veren ilaçlardan UC'nin tedavisi, CD'nin tedavisi için ayrı olarak önerilmiştir.

UC ilaç listemizde, daha önceden dolaylı veya doğrudan UC tedavisi için kullanılmamış olan ilaçlar için moleküler kenetlenme çalışması yapılmıştır. UC ilaç listesinde bulunan ve daha önce UC ile herhangi bir çalışma yapılmayan toplam 73 ilaç belirlenmiştir. Bu ilaçlara kendi protein hedefleriyle moleküler kenetlenme çalışmaları yapılmıştır, kenetlenme skoru iyi olan ilk 3 ilaç Tablo 10'da verilmiştir. Paclitaxel ilacı UC için en iyi kenetlenme skorunu vermiştir (Tablo10).

Tablo 10 Ülseratif kolit için en iyi kenetlenme skoru veren ilaç

İLAÇ	KULLANIM AMACI	GEN	PROTEİN YAPISI PDB KODU	ΔG (kJ/mol)
<i>PACLITAXEL</i>	Antineoplastik ajan	ABCB1	6FN1	-10.7
<i>VINCRISTINE</i>	Lösemi, Hodgkin hastalığı	SMAD2	1DEV	-7.2
<i>CYTARABINE</i>	Lösemi	SMAD2	1DEV	-6.2

CD ilaç listemizde, daha önceden dolaylı veya doğrudan CD tedavisi için kullanılmamış olan ilaçlar için moleküler kenetlenme çalışması yapılmıştır. CD ilaç listesinde bulunan ve daha önce CD ile herhangi bir çalışma yapılmayan toplam 10 ilaç belirlenmiştir. Bu ilaçlara kendi protein hedefleriyle moleküler kenetlenme çalışmaları yapılmıştır, kenetlenme skoru iyi olan ilk 3 ilaç Tablo 11'de verilmiştir. Bu ilaçlardan Flucloxacillin ilacı CD için en iyi kenetlenme skorunu vermiştir.

Tablo 11 Crohn hastalığı için en iyi kenetlenme skoru veren ilaç

İLAC	KULLANIM AMACI	GEN	PROTEİN YAPISI PDB KODU	ΔG (kJ/mol)
<i>FLUCLOXACILLIN</i>	Antienfektif Ajan	ATM	7SIC	-9.5
<i>RIBAVIRIN</i>	Hepatit C	IL6	1N26	-5.6
<i>IBUDILAST</i>	Multipl skleroz, astım	IL10	2ILK	-4.8

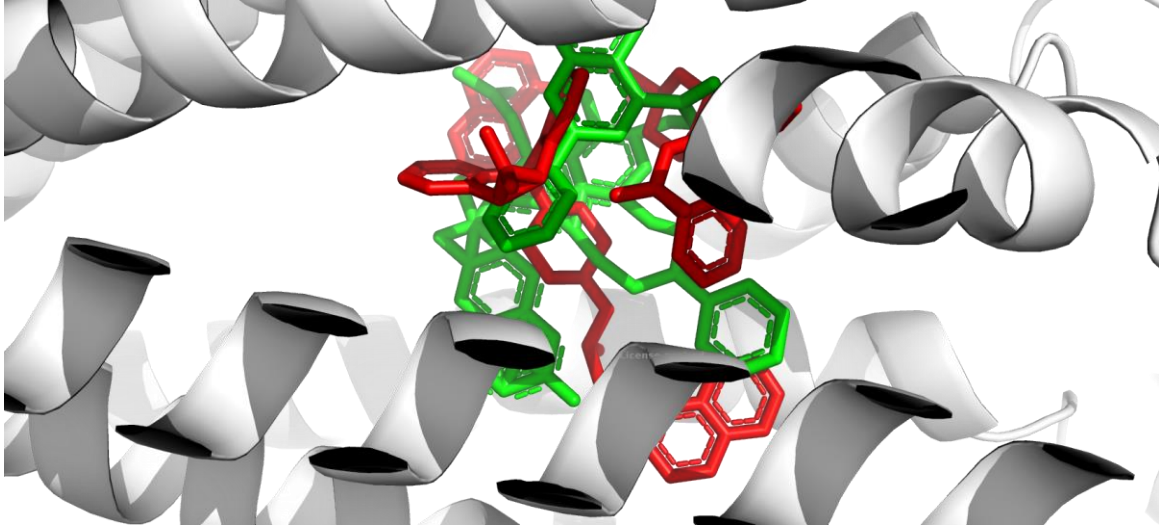
### 3.4 Moleküler Kenetlenme Sonuçlarının Yapısal Analizi

- **UC için; Paclitaxel – ABCB1**

UC için yapılan moleküler kenetlenme çalışmalarında en iyi skoru -10.7 kJ/mol ile Paclitaxel – ABCB1 ilaç-gen çifti vermiştir. Paclitaxel (DB01229), ilerlemiş yumurtalık karsinomunun, meme ve akciğer kanseri dahil diğer çeşitli kanserlerin tedavisinde birinci basamak ve sonraki tedavi olarak kullanılan taksoid bir kemoterapötik ajandır. Paclitaxel, mikrotübül büyümesinin normal işlevine müdahale eder. Colchicine gibi ilaçlar in vivo olarak mikrotübüllerin depolimerizasyonuna neden olurken, paclitaxel ters etki yaparak bunların işlevini durdurur; yapılarını hiperstabilize eder. Bu, hücrenin hücre iskeletini esnek bir şekilde kullanma yeteneğini yok eder. Spesifik olarak paclitaxel, tübülünin  $\beta$  alt birimine bağlanır. Tübülün, mikrotübüllerin "yapı taşıdır" ve paclitaxelin bağlanması bu yapı taşlarını yerinde kilitler. Ortaya çıkan mikrotübül/paclitaxel kompleksinin dağılma özelliği yoktur. Bu, hücre işlevini olumsuz etkiler çünkü mikrotübüllerin kısalması ve uzaması (dinamik kararsızlık olarak adlandırılır), hücre için bir ulaşım yolu işlevi görmeleri için gereklidir. Daha ileri araştırmalar, paclitaxelin, Bcl-2 (B-hücreli lösemi 2) adı verilen apoptozu durduran bir proteine bağlanarak ve böylece işlevini durdurarak kanser hücrelerinde programlanmış hücre ölümüne (apoptoz) neden olduğunu göstermiştir (WEB 2).

ABCB1 geni tarafından kodlanan, zarla ilişkili protein, ATP-binding cassette (ABC) taşıyıcılarının süper ailesinin bir üyesidir. ABC proteinleri, hücre dışı ve hücre içi zarlar boyunca çeşitli molekülleri taşır. ABC genleri yedi farklı alt aileye ayrılır (ABC1, MDR/TAP, MRP, ALD, OABP, GCN20, White). Bu protein, MDR/TAP alt ailesinin bir üyesidir. MDR/TAP alt ailesinin üyeleri, çoklu ilaç direnci ile ilgilidir. Bu gen tarafından kodlanan protein, geniş substrat özgüllüğüne sahip ksenobiyotik bileşikler için ATP'ye bağımlı bir ilaç akış pompasıdır. Çoklu ilaca dirençli hücrelerde ilaç birikiminin azalmasından sorumludur ve sıklıkla antikanser ilaçlara karşı direncin gelişmesine aracılık eder. Bu protein ayrıca kan-beyin bariyerinde bir taşıyıcı olarak işlev görür. Bu gendeki mutasyonlar, kolşisin direnci ve iltihaplı bağırsak hastalığı (IBD) ile ilişkilidir. Alternatif ekleme ve alternatif promotörlerin kullanımı, çoklu transkript varyantları ile sonuçlanır (WEB 3).

Autoock ile yaptığımız kenetlenme çalışmaları sonucunda oluşacak komplekslerin tahmini pozlarının yerleşmesinin gerçeğe en yakın olmasını hedefledik. Bunun için sonucumuzun üç boyutlu olarak yapısal analizini gerçekleştirdik. Kenetlenme için, ABCB1 proteinin liganlı bir yapısı olan 6FN1'in üç boyutlu yapısını kullandık. 6FN1'den kendi ligandını (ZQU; Zosuquidar) çıkartıp, paclitaxel ligandı için moleküler kenetlenme yaptık. Moleküler kenetlenme sonucumuzun doğruluğunu, 6FN1'in ligandlı yapısıyla karşılaştırarak gösterdik (Şekil 11). UC için belirlenen hedefe paclitaxel ilacını yeniden konumlandırdığımızda hedefi ile uygun olarak bağlandığını gözlemledik. Meme ve akciğer kanseri gibi çeşitli kanser tedavilerinde kullanılan paclitaxel ilacını yeniden konumlandırarak UC tedavisinde kullanımı konusunda çalışmalar yapılabileceğini öneriyoruz.



Şekil 10 Paclitaxel İlacının Deneysel Sonucunun (yeşil) ABCB1 (PDB: 6NFI) Gen Yapısının İçinde Bulunan ZQU (Zosuquidar) Ligandıyla (kırmızı) Aynı Yerden Hedefe Bağlanması

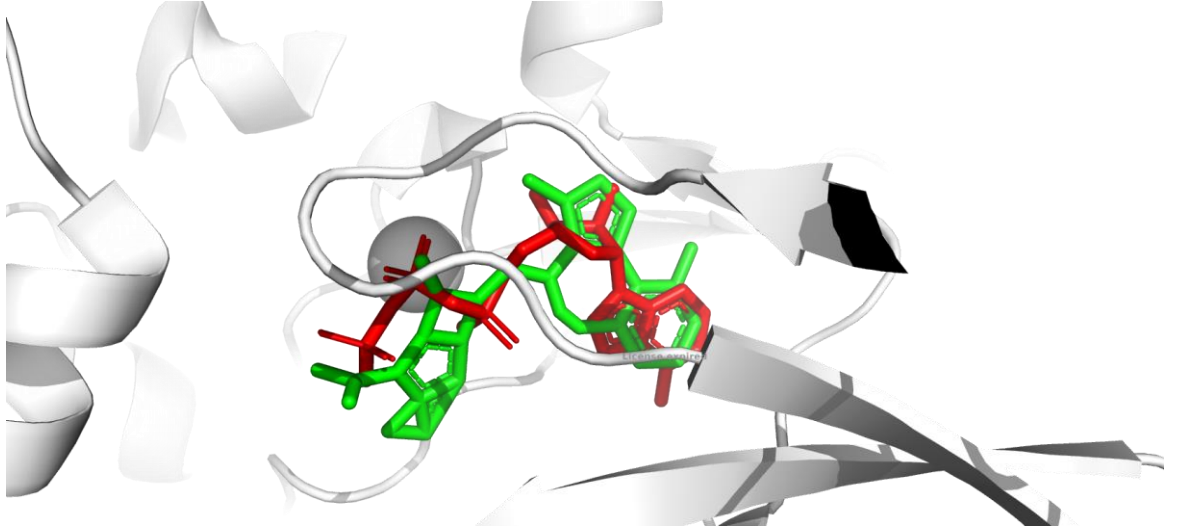
- **CD için; Flucloxacillin – ATM**

CD için yapılan moleküler kenetlenme çalışmalarında en iyi skoru -9.5 kJ/mol ile Flucloxacillin – ATM ilaç-gen çifti vermiştir. Flucloxacillin (DB00301), metisiline dirençli staphylococcus aureus'un (MRSA) neden olduğu enfeksiyonlar dışında deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarında Gram pozitif organizmalara karşı spesifik aktivite gösteren dar spektrumlu bir antibiyotiktir. Flucloxacillin, gram-pozitif ve gram-negatif aerobik ve anaerobik bakterilere karşı in vitro aktiviteye sahiptir. Flucloxacillin'in bakterisidal aktivitesi, hücre duvarı sentezinin inhibisyonundan kaynaklanır ve flucloxacillin'in penisilin bağlayıcı proteinlere (PBP'ler) bağlanması yoluyla aracılık edilir. Flucloxacillin, penisilinazlar ve sefalosporinazlar ve genişletilmiş spektrumlu beta-laktamazlar dahil olmak üzere çeşitli beta-laktamazlar tarafından hidrolize karşı kararlıdır (WEB 4).

ATM geni tarafından kodlanan protein, PI3/PI4-kinaz ailesine aittir. Bu protein, fosforile eden önemli bir hücre döngüsü kontrol noktası kinazıdır; bu nedenle, tümör baskılayıcı proteinler p53 ve BRCA1, kontrol noktası kinaz CHK2, kontrol noktası proteinleri RAD17 ve RAD9 ve DNA onarım proteini NBS1 dahil olmak üzere çok çeşitli aşağı akış proteinlerinin düzenleyicisi olarak işlev görür. ATM ve yakından ilişkili kinaz ATR'nin, DNA hasarına hücre tepkisi ve genom stabilitesi için gerekli

olan hücre döngüsü kontrol noktası sinyal yollarının ana kontrolörleri olduğu düşünülmektedir. ATM'deki mutasyonlar, otozomal resesif bir hastalık olan ataksi telanjiektazi ile ilişkilidir (WEB 5).

Autoock ile yaptığımız kenetlenme çalışmaları sonucunda oluşacak komplekslerin tahmini pozlarının yerleşmesinin gerçeğe en yakın olmasını hedefledik. Bunun için sonucumuzun üç boyutlu olarak yapısal analizini gerçekleştirdik. Kenetlenme için, ATM proteininin liganlı bir yapısı olan 7SIC'nin üç boyutlu yapısını kullandık. 7SIC'den kendi ligandını (ANP; **Phosphoaminophosphonic Acid-Adenylate Ester**) çıkartıp, flucloxacillin ligandı için moleküler kenetlenme yaptık. Moleküler kenetlenme sonucumuzun doğruluğunu, 7SIC'nin liganlı yapısıyla karşılaştırarak gösterdik (Şekil 12). CD için belirlenen hedefe flucloxacillin ilacını yeniden konumlandırdığımızda hedefi ile uygun olarak bağlandığını gözlemledik. Antienfektif olarak kullanılan flucloxacillin ilacını yeniden konumlandırarak CD tedavisinde kullanımı konusunda çalışmalar yapılabileceğini öneriyoruz.



Şekil 11 Flucloxacillin İlacının Deneysel Sonucunun (yeşil) ATM Gen Yapısının (PDB: 7SIC) İçinde Bulunan ANP (Phosphoaminophosphonic Acid-Adenylate Ester) Ligandıyla (kırmızı) Aynı Yerden Hedefe Bağlanması

## BÖLÜM IV

### 4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Hastalıkların karmaşık doğasını anlamak için kullanılacak hastalığa özgü alt ağlar (modüller) yaklaşımları elde etmek için transkriptom verilerini PPE ağlarına entegre etmek, proteinlerin ve hücrel mekanizmaların hastalıklarla önceden bilinmeyen ilişkilerini ortaya çıkarmaya yardımcı olur. IBD'nin alt tipleri olan ülseratif kolit (UC) ve Crohn Hastalığı (CD), çeşitli moleküler patogenezleri paylaşırken, makroskopik inflamasyon paternleri klinik olarak farklıdır. UC ve CD hastaları benzer semptomlar gösterme eğiliminde olduğundan, uygun tanı ve tedavi seçenekleri belirsizliğini korumaktadır. Ağ tabanlı yolak fonksiyonel zenginleştirme yöntemi ile hastalık tipine özgü ve hatta bireye özgü hedefleri ortaya çıkarmak mümkün olabilir; bu nedenle, UC ve CD'nin moleküler imzalarını ağ düzeyinde ortaya çıkarmak önemlidir. Bu çalışmada, IBD alt tiplerinin moleküler imzalarını ve önemli fonksiyonel yollarını ortaya çıkarmak için transkriptom verilerini PPE ağlarına haritalayarak UC ve CD'ye özgü alt ağlar belirlendi. Daha sonra UC ve CD'ye özgü alt ağlarda bulunan genlere ayrı ayrı ilaç yeniden konumlandırma yapıldı. UC ve CD hastalıkları için uygun ilaç-gen çiftleri seçildi ve bu seçilmiş çiftlerdeki genler tarafından kodlanan proteinler ve ilgili ilaçlar için moleküler kenetlenme çalışmaları yapıldı.

UC ve CD'ye özgü modüllerin biyolojik olarak işlevini anlamak için yapılan fonksiyonel zenginleştirme analizleri sonucunda; UC alt-ağ modülünde RUNX3 tarafından transkripsiyonel düzenleme, Alzheimer hastalığı, kolorektal kanser ve prostat kanseri gibi daha çok hastalık temelli işlevler ön plana çıktı. CD alt-ağ modülünde ise sitokin üretimi, interlökin-1 (IL-1) reseptör aktivitesi, NF-kappa B (NF-κB) sinyal yolağı gibi işlevler ön plana çıktı. UC ve CD arasında birçok klinik semptom, epidemiyolojik ve immünolojik özellik benzer olsa da, bu iki IBD alt tipinin

mikrobiyom seviyesi farklıdır. Genel olarak, bu bulgular IBD alt tipleri arasındaki moleküler düzeydeki farklılıkları ortaya koyar, UC ve CD teşhisini kolaylaştırabilir ve ayrıca hastalık alt tiplerine özgü potansiyel moleküler imzalar sağlayabilir.

İlaçların yeniden konumlandırılması, mevcut ilaçlar için yeni kullanım alanları sağlayan yenilikçi bir yaklaşımdır. Son olarak UC ve CD için elde edilen yeni modüllerdeki genler ve o genlerle ilişkili olan ilaçlar ile protein-ligand kenetlenmesi çalışması yapıldı. Yapılan kenetlenme sonuçlarının yapısal analizi gerçekleştirilerek UC ve CD'nin tedavisinde etkili olabilecek yeni t rap tikler önerilmiştir; UC'nin tedavisi için bir antenoplastik ajan olan paclitaxel, CD'nin tedavisinde ise antienfektif ajan olan flucloxacillin için çalışmalar yapılması önerilmektedir. Sonuçlarımız ile birlikte UC ve CD hastalıklarının tedavilerinde farklı t rap tikler önerilmiştir.

Bu çalışmanın devamında; UC ve CD tedavilerine yönelik olarak önerilen t rap tiklerin *in vitro* hücre hattı deneyleri yapılması önerilmektedir. İlaçların hücre kültüründe denenmesi sonrasında, UC ve CD hücre hatlarında hangi yolaklarının etkilendiğinin bulunabilmesi için mRNA dizileme yapılması da ilaçların UC ve CD  zerindeki etki mekanizmasının anlaşılması için başka bir önemli adım olacaktır. Sonuçlarımız, IBD alt tipleri UC ve CD için tanıyı kolaylaştırabilir ve potansiyel moleküler hedefler sağlayabilir.

## EKLER

### EK-1. UC için STRING'ten elde edilen PPE ağındaki genler ve bağlantısallık değerleri

Gen	Bağlantısallık				
CTNNB1	22	POLD1	11	ATG16L1	5
AKT1	21	NDUFB4	11	SMURF2	5
NF1	20	NDUFB7	11	POLD3	5
PSMB8	17	NDUFS7	11	PIK3R2	4
PSMA2	17	NDUFA2	11	PIK3R3	4
CDH1	16	NDUFA10	11	BRAF	4
PSMA4	16	NDUFB5	11	AXIN2	4
PSMC4	16	NDUFS3	11	IRF5	4
PSMD8	16	NDUFA9	11	BCL9	3
PSMA3	16	MSH2	10	NOD1	3
PSMD7	16	MSH6	10	IL23R	3
PSMB7	16	POLE	10	GNAS	3
PSMC1	16	NDUFB3	10	NOX1	2
PSMA6	16	NDUFAF1	10	IRGM	2
PSMD11	16	APC	9	CDH3	2
PSMB1	16	SKP1	9	HLA-DRB1	2
PSMD3	16	MLH1	9	PTPN22	2
PSMB10	16	WRN	9	IL37	2
PSMB9	16	MT-CO1	9	PTPN2	2
KRAS	15	VCL	8	RIPK2	2
USP14	15	SMAD7	8	TPM1	2
PIK3CA	14	MSH3	8	ABCB1	1
SMAD3	14	PXN	7	PHLPP1	1
SMAD4	14	IQGAP1	7	RHOH	1
EP300	13	NOD2	7	MST1	1
NDUFA13	12	POLE2	7	RB1CC1	1
SMAD2	11	MLH3	7	CCR3	1
AXIN1	11	PMS2	7	DUOX2	1
CREBBP	11	RET	6	S100A12	1
LEF1	11	MCM4	6		
POLD1	11	TBL1X	5		

**EK-2. CD için STRING'ten elde edilen PPE ağındaki genler ve bağlantısallık değerleri**

<b>Gen</b>	<b>Bağlantısallık</b>				
<b>NFKBIA</b>	28	<b>PSMA2</b>	23	<b>RB1CC1</b>	4
<b>NFKB1</b>	28	<b>PSMB4</b>	23	<b>ATG3</b>	4
<b>NDUFB8</b>	24	<b>PSMB7</b>	23	<b>WIPI2</b>	4
<b>NDUFA13</b>	24	<b>PSMC1</b>	23	<b>ULK1</b>	4
<b>PSMB8</b>	24	<b>PSMB9</b>	23	<b>NOX1</b>	4
<b>PSMB6</b>	24	<b>PSMB10</b>	23	<b>REL</b>	4
<b>NDUFB4</b>	23	<b>PSMD3</b>	23	<b>IL22RA1</b>	4
<b>NDUFB7</b>	23	<b>PSMC5</b>	23	<b>S100A12</b>	4
<b>NDUFS7</b>	23	<b>PSMD11</b>	23	<b>CYBA</b>	3
<b>NDUFB3</b>	23	<b>PSMA5</b>	23	<b>IFNLR1</b>	3
<b>NDUFA2</b>	23	<b>PSMA6</b>	23	<b>RIPK1</b>	3
<b>NDUFA10</b>	23	<b>PSMD2</b>	23	<b>S100A8</b>	3
<b>NDUFB5</b>	23	<b>PSMD1</b>	23	<b>S100A9</b>	3
<b>NDUFS3</b>	23	<b>PSMB1</b>	23	<b>ARHGEF2</b>	2
<b>NDUFA9</b>	23	<b>CYC1</b>	22	<b>IRGM</b>	2
<b>NDUFB10</b>	23	<b>UQCRES1</b>	22	<b>ATM</b>	2
<b>NDUFS6</b>	23	<b>NDUFAF1</b>	21	<b>PIAS4</b>	2
<b>NDUFB11</b>	23	<b>USP14</b>	21	<b>DUOXA2</b>	2
<b>NDUFB9</b>	23	<b>IKBKG</b>	11	<b>PTPN22</b>	2
<b>NDUFC2</b>	23	<b>ATG16L1</b>	10	<b>IL37</b>	2
<b>NDUFS4</b>	23	<b>NOD2</b>	10	<b>IRF5</b>	2
<b>NDUFA7</b>	23	<b>IL10</b>	8	<b>TMEM59</b>	1
<b>NDUFS8</b>	23	<b>IL6</b>	8	<b>RAB33B</b>	1
<b>NDUFV2</b>	23	<b>IL23R</b>	6	<b>CARD10</b>	1
<b>NDUFV1</b>	23	<b>IL10RB</b>	6	<b>CARD8</b>	1
<b>PSMA4</b>	23	<b>NOD1</b>	5	<b>DMBT1</b>	1
<b>PSMC4</b>	23	<b>DUOX2</b>	5	<b>HLA-DRB1</b>	1
<b>PSMD8</b>	23	<b>NCF4</b>	5	<b>IL26</b>	1
<b>PSMA3</b>	23	<b>IL10RA</b>	5	<b>PTPN2</b>	1
<b>PSMD7</b>	23	<b>RIPK2</b>	4		

**EK-3. Alt-ağ analizi sonrası elde edilen UC modülündeki genler ve bağlantısallık değerleri**

<b>Gen</b>	<b>Bağlantısallık</b>		
<b>CTNNB1</b>	16	<b>NDUFS7</b>	6
<b>AKT1</b>	12	<b>APC</b>	5
<b>PSMB8</b>	11	<b>MLH1</b>	5
<b>EP300</b>	11	<b>MSH6</b>	4
<b>KRAS</b>	11	<b>NOD2</b>	4
<b>SMAD4</b>	11	<b>IQGAP1</b>	4
<b>PSMA3</b>	10	<b>MSH3</b>	4
<b>PSMC1</b>	10	<b>TBL1X</b>	4
<b>PSMB10</b>	10	<b>IRF5</b>	4
<b>PSMB1</b>	10	<b>IL23R</b>	3
<b>PSMD11</b>	10	<b>PMS2</b>	3
<b>USP14</b>	10	<b>BCL9</b>	3
<b>PSMD8</b>	10	<b>PIK3R3</b>	3
<b>PSMB9</b>	10	<b>ATG16L1</b>	3
<b>PSMD3</b>	10	<b>WRN</b>	3
<b>PSMA2</b>	10	<b>RET</b>	3
<b>SMAD3</b>	10	<b>SMURF2</b>	3
<b>CREBBP</b>	9	<b>GNAS</b>	2
<b>LEF1</b>	8	<b>PTPN2</b>	2
<b>SMAD2</b>	8	<b>IL37</b>	2
<b>PIK3CA</b>	8	<b>ABCB1</b>	1
<b>NDUFA13</b>	7	<b>CDH3</b>	1
<b>VCL</b>	6	<b>DUOX2</b>	1
<b>NDUFAF1</b>	6	<b>TPM1</b>	1
<b>NDUFB3</b>	6	<b>RHOH</b>	1
<b>NDUFA2</b>	6	<b>CCR3</b>	1
<b>NDUFB7</b>	6	<b>RB1CC1</b>	1
<b>NDUFS3</b>	6	<b>PTPN22</b>	1

**EK-4. Alt-ağ analizi sonrası elde edilen CD modülündeki genler ve bağlantısallık değerleri**

<b>Gen</b>	<b>Bağlantısallık</b>		
<b>NFKBIA</b>	18	<b>IL6</b>	6
<b>NFKB1</b>	18	<b>IL23R</b>	5
<b>PSMB8</b>	15	<b>ATG16L1</b>	4
<b>PSMB6</b>	15	<b>IL10</b>	4
<b>PSMC5</b>	14	<b>NCF4</b>	4
<b>PSMC4</b>	14	<b>NOX1</b>	4
<b>NDUFB8</b>	14	<b>DUOX2</b>	4
<b>PSMB10</b>	14	<b>REL</b>	3
<b>PSMB1</b>	14	<b>S100A12</b>	3
<b>PSMA2</b>	14	<b>IL10RB</b>	3
<b>PSMA3</b>	14	<b>CYBA</b>	3
<b>PSMD11</b>	14	<b>IL37</b>	2
<b>PSMB9</b>	14	<b>DUOXA2</b>	2
<b>PSMB4</b>	14	<b>PTPN22</b>	2
<b>PSMD3</b>	14	<b>PIAS4</b>	2
<b>NDUFB11</b>	13	<b>RB1CC1</b>	2
<b>NDUFB3</b>	13	<b>ATG3</b>	2
<b>NDUFB7</b>	13	<b>S100A8</b>	2
<b>NDUFV2</b>	13	<b>RIPK2</b>	2
<b>NDUFS3</b>	13	<b>ATM</b>	2
<b>UQCRRS1</b>	13	<b>IRF5</b>	2
<b>NDUFS4</b>	13	<b>PTPN2</b>	1
<b>NDUFV1</b>	13	<b>RAB33B</b>	1
<b>NDUFS6</b>	13	<b>DMBT1</b>	1
<b>NDUFS7</b>	13	<b>ARHGEF2</b>	1
<b>CYC1</b>	13	<b>CARD8</b>	1
<b>NDUFS8</b>	13	<b>CARD10</b>	1
<b>NDUFA9</b>	13	<b>HLA-DRB1</b>	1
<b>USP14</b>	12	<b>IL26</b>	1
<b>IKBKG</b>	8		

## KAYNAKÇA

- Agarwal, Shweta, ve Ranjana Mehrotra. 2016. “An Overview of Molecular Docking”.
- Alcaraz, Nicolas, Hande Küçük, Jochen Weile, Anil Wipat, ve Jan Baumbach. 2011. “KeyPathwayMiner: Detecting Case-Specific Biological Pathways Using Expression Data”. *Internet Mathematics* 7 (4): 299-313. <https://doi.org/10.1080/15427951.2011.604548>.
- Alcaraz, Nicolas, Markus List, Martin Dissing-Hansen, Marc Rehmsmeier, Qihua Tan, Jan Mollenhauer, Henrik J. Ditzel, ve Jan Baumbach. 2016. “Robust de Novo Pathway Enrichment with KeyPathwayMiner 5”. *F1000Research* 5 (Haziran): 1531. <https://doi.org/10.12688/f1000research.9054.1>.
- Alcaraz, Nicolas, Josch Pauling, Richa Batra, Eudes Barbosa, Alexander Junge, Anne GL Christensen, Vasco Azevedo, Henrik J Ditzel, ve Jan Baumbach. 2014. “KeyPathwayMiner 4.0: Condition-Specific Pathway Analysis by Combining Multiple Omics Studies and Networks with Cytoscape”. *BMC Systems Biology* 8 (1): 99. <https://doi.org/10.1186/s12918-014-0099-x>.
- Allison, Brittany, Steven Combs, Sam DeLuca, Gordon Lemmon, Laura Mizoue, ve Jens Meiler. 2014. “Computational Design of Protein-Small Molecule Interfaces”. *Journal of Structural Biology* 185 (2): 193-202. <https://doi.org/10.1016/j.jsb.2013.08.003>.
- Amelio, I, M Gostev, R A Knight, A E Willis, G Melino, ve A V Antonov. 2014. “DRUGSURV: A Resource for Repositioning of Approved and Experimental Drugs in Oncology Based on Patient Survival Information”. *Cell Death & Disease* 5 (2): e1051-e1051. <https://doi.org/10.1038/cddis.2014.9>.
- Aranda, Bruno, Hagen Blankenburg, Samuel Kerrien, Fiona S L Brinkman, Arnaud Ceol, Emilie Chautard, Jose M Dana, vd. 2011. “PSICQUIC and PSIScore: Accessing and Scoring Molecular Interactions”. *Nature Methods* 8 (7): 528-29. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1637>.

Ashburn, Ted T., ve Karl B. Thor. 2004. “Drug Repositioning: Identifying and Developing New Uses for Existing Drugs”. *Nature Reviews Drug Discovery* 3 (8): 673-83. <https://doi.org/10.1038/nrd1468>.

Aust, Daniela E, Karen Chew, ve Gustavo B Baretton. t.y. “Altered Distribution of  $\beta$ -Catenin, and Its Binding Proteins E-Cadherin and APC, in Ulcerative Colitis–Related Colorectal Cancers”. *Modern Pathology*.

Bader, Gary D, Ian Donaldson, Cheryl Wolting, B F Francis Ouellette, Tony Pawson, ve Christopher W V Hogue. t.y. “BIND—The Biomolecular Interaction Network Database”.

Bahmad, Hisham F., Timothy Demus, Maya M. Moubarak, Darine Daher, Juan Carlos Alvarez Moreno, Francesca Polit, Olga Lopez, vd. 2022. “Overcoming Drug Resistance in Advanced Prostate Cancer by Drug Repurposing”. *Medical Sciences* 10 (1): 15. <https://doi.org/10.3390/medsci10010015>.

Barrett, Tanya, Stephen E. Wilhite, Pierre Ledoux, Carlos Evangelista, Irene F. Kim, Maxim Tomashevsky, Kimberly A. Marshall, vd. 2012. “NCBI GEO: Archive for Functional Genomics Data Sets—Update”. *Nucleic Acids Research* 41 (D1): D991-95. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1193>.

Batra, Richa, Nicolas Alcaraz, Kevin Gitzhofer, Josch Pauling, Henrik J. Ditzel, Marc Hellmuth, Jan Baumbach, ve Markus List. 2017. “On the Performance of de Novo Pathway Enrichment”. *Npj Systems Biology and Applications* 3 (1): 6. <https://doi.org/10.1038/s41540-017-0007-2>.

Baumgart, Daniel C, ve Simon R Carding. 2007. “Inflammatory Bowel Disease: Cause and Immunobiology”. *The Lancet* 369 (9573): 1627-40. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)60750-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)60750-8).

Bernstein, Charles N, Andre Wajda, Lawrence W Svenson, Adrian MacKenzie, Mieke Koehoorn, Maureen Jackson, Richard Fedorak, David Israel, ve James F Blanchard. 2006. “The Epidemiology of Inflammatory Bowel Disease in Canada: A Population-Based Study”. *The American Journal of Gastroenterology* 101 (7): 1559-68. <https://doi.org/10.1111/j.1572-0241.2006.00603.x>.

Bibbins-Domingo, Kirsten ve on behalf of the U.S. Preventive Services Task Force. 2016. "Aspirin Use for the Primary Prevention of Cardiovascular Disease and Colorectal Cancer: U.S. Preventive Services Task Force Recommendation Statement". *Annals of Internal Medicine* 164 (12): 836. <https://doi.org/10.7326/M16-0577>.

Blume, Joshua, Steven D. Douglas, ve Dwight L. Evans. 2011. "Immune Suppression and Immune Activation in Depression". *Brain, Behavior, and Immunity* 25 (2): 221-29. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2010.10.008>.

Breckenridge, Alasdair, ve Robin Jacob. 2019. "Overcoming the Legal and Regulatory Barriers to Drug Repurposing". *Nature Reviews Drug Discovery* 18 (1): 1-2. <https://doi.org/10.1038/nrd.2018.92>.

Brunner, Brigitt, Ulrich Scheurer, ve Frank Seibold. 2007. "Differences in Yeast Intolerance Between Patients with Crohn's Disease and Ulcerative Colitis". *Diseases of the Colon & Rectum* 50 (1): 83-88. <https://doi.org/10.1007/s10350-006-0749-1>.

Cavalla, David, ve Chaim Singal. 2012. "Retrospective Clinical Analysis for Drug Rescue: For New Indications or Stratified Patient Groups". *Drug Discovery Today* 17 (3-4): 104-9. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2011.09.019>.

Chakrabarty, Sanjiban, Vinay Koshy Varghese, Pranoy Sahu, Pradyumna Jayaram, Bhadravathi M Shivakumar, Cannanore Ganesh Pai, ve Kapaettu Satyamoorthy. 2017. "Targeted Sequencing-Based Analyses of Candidate Gene Variants in Ulcerative Colitis-Associated Colorectal Neoplasia". *British Journal of Cancer* 117 (1): 136-43. <https://doi.org/10.1038/bjc.2017.148>.

Chaudhary, Kamal Kumar, ve Nidhi Mishra. 2016. "A Review on Molecular Docking: Novel Tool for Drug Discovery".

Chen, Chen, Hong Shen, Li-Guo Zhang, Jian Liu, Xiao-Ge Cao, An-Liang Yao, Shao-San Kang, vd. 2016. "Construction and Analysis of Protein-Protein Interaction Networks Based on Proteomics Data of Prostate Cancer". *International Journal of Molecular Medicine* 37 (6): 1576-86. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2016.2577>.

Cheng, Leo K., Gregory O'Grady, Peng Du, John U. Egbuji, John A. Windsor, ve Andrew J. Pullan. 2010. "Gastrointestinal System". *WIREs Systems Biology and Medicine* 2 (1): 65-79. <https://doi.org/10.1002/wsbm.19>.

Clough, Emily, ve Tanya Barrett. 2016. "The Gene Expression Omnibus Database". İçinde *Statistical Genomics*, editör Ewy Mathé ve Sean Davis, 1418:93-110. *Methods in Molecular Biology*. New York, NY: Springer New York. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3578-9\\_5](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3578-9_5).

Cohen, Louis J., Judy H. Cho, Dirk Gevers, ve Hiutung Chu. 2019. "Genetic Factors and the Intestinal Microbiome Guide Development of Microbe-Based Therapies for Inflammatory Bowel Diseases". *Gastroenterology* 156 (8): 2174-89. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2019.03.017>.

Collins, Paul, ve Jonathan Rhodes. 2006. "Ulcerative Colitis: Diagnosis and Management". *BMJ* 333 (7563): 340-43. <https://doi.org/10.1136/bmj.333.7563.340>.

Cosnes, Jacques, Corinne Gower-Rousseau, Philippe Seksik, ve Antoine Cortot. 2011. "Epidemiology and Natural History of Inflammatory Bowel Diseases". *Gastroenterology* 140 (6): 1785-1794.e4. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2011.01.055>.

Danese, Silvio, ve Claudio Fiocchi. t.y. "Etiopathogenesis of Inflammatory Bowel Diseases".

De Las Rivas, Javier, ve Celia Fontanillo. 2010. "Protein-Protein Interactions Essentials: Key Concepts to Building and Analyzing Interactome Networks". Editör Fran Lewitter. *PLoS Computational Biology* 6 (6): e1000807. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1000807>.

Dieren, Jolanda M. van, Ernst J. Kuipers, Janneke N. Samsom, Edward E. Nieuwenhuis, ve Janneke C. van der Woude. 2006. "Revisiting the Immunomodulators Tacrolimus, Methotrexate, and Mycophenolate Mofetil: Their Mechanisms of Action and Role in the Treatment of IBD": *Inflammatory Bowel Diseases* 12 (4): 311-27. <https://doi.org/10.1097/01.MIB.0000209787.19952.53>.

Duerr, Richard H., Kent D. Taylor, Steven R. Brant, John D. Rioux, Mark S. Silverberg, Mark J. Daly, A. Hillary Steinhardt, vd. 2006. "A Genome-Wide Association Study Identifies *IL23R* as an Inflammatory Bowel Disease Gene". *Science* 314 (5804): 1461-63. <https://doi.org/10.1126/science.1135245>.

Fakhoury, Marc, Hani Al-Salami, Rebecca Negrulj, ve Armin Mooranian. 2014. "Inflammatory Bowel Disease: Clinical Aspects and Treatments". *Journal of Inflammation Research*, Haziran, 113. <https://doi.org/10.2147/JIR.S65979>.

Fearon, Eric R. 2011. "Molecular Genetics of Colorectal Cancer". *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease* 6 (1): 479-507. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-011110-130235>.

Ferreira, Leonardo, Ricardo dos Santos, Glaucius Oliva, ve Adriano Andricopulo. 2015. "Molecular Docking and Structure-Based Drug Design Strategies". *Molecules* 20 (7): 13384-421. <https://doi.org/10.3390/molecules200713384>.

Forrest, K., D. Symmons, ve P. Foster. 2004. "Systematic Review: Is Ingestion of Paracetamol or Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs Associated with Exacerbations of Inflammatory Bowel Disease?: SYSTEMATIC REVIEW: PARACETAMOL, NSAIDS AND RELAPSE IN IBD". *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 20 (10): 1035-43. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2004.02270.x>.

Gathungu, G, C K Zhang, W Zhang, ve J H Cho. 2012. "A Two-Marker Haplotype in the *IRF5* Gene Is Associated with Inflammatory Bowel Disease in a North American Cohort". *Genes & Immunity* 13 (4): 351-55. <https://doi.org/10.1038/gene.2011.90>.

Gill, Ryan, Somnath Datta, ve Susmita Datta. 2010. "A Statistical Framework for Differential Network Analysis from Microarray Data". *BMC Bioinformatics* 11 (1): 95. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-11-95>.

Graff, Lesley A., John R. Walker, ve Charles N. Bernstein. 2009. "Depression and Anxiety in Inflammatory Bowel Disease: A Review of Comorbidity and Management": *Inflammatory Bowel Diseases* 15 (7): 1105-18. <https://doi.org/10.1002/ibd.20873>.

Grover, Mani P, Sara Ballouz, Kaavya A Mohanasundaram, Richard A George, Andrzej Goscinski, Tamsyn M Crowley, Craig D H Sherman, ve Merridee A Wouters. 2015. “Novel Therapeutics for Coronary Artery Disease from Genome-Wide Association Study Data”. *BMC Medical Genomics* 8 (S2): S1. <https://doi.org/10.1186/1755-8794-8-S2-S1>.

Guedes, Isabella A., Camila S. de Magalhães, ve Laurent E. Dardenne. 2014. “Receptor–Ligand Molecular Docking”. *Biophysical Reviews* 6 (1): 75-87. <https://doi.org/10.1007/s12551-013-0130-2>.

Guterres, Hugo, ve Wonpil Im. 2020. “Improving Protein-Ligand Docking Results with High-Throughput Molecular Dynamics Simulations”. *Journal of Chemical Information and Modeling* 60 (4): 2189-98. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.0c00057>.

Ha, Francis, ve Hanan Khalil. 2015. “Crohn’s Disease: A Clinical Update”. *Therapeutic Advances in Gastroenterology* 8 (6): 352-59. <https://doi.org/10.1177/1756283X15592585>.

Habens, F., N. Srinivasan, F. Oakley, D. A. Mann, A. Ganesan, ve G. Packham. 2005. “Novel Sulfasalazine Analogues with Enhanced NF-KB Inhibitory and Apoptosis Promoting Activity”. *Apoptosis* 10 (3): 481-91. <https://doi.org/10.1007/s10495-005-1877-0>.

He, Hao, Dongdong Lin, Jigang Zhang, Yu-ping Wang, ve Hong-wen Deng. 2017. “Comparison of Statistical Methods for Subnetwork Detection in the Integration of Gene Expression and Protein Interaction Network”. *BMC Bioinformatics* 18 (1): 149. <https://doi.org/10.1186/s12859-017-1567-2>.

Hermjakob, H. 2004. “IntAct: An Open Source Molecular Interaction Database”. *Nucleic Acids Research* 32 (90001): 452D - 455. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh052>.

Hood, Leroy, James R. Heath, Michael E. Phelps, ve Biaoyang Lin. 2004. “Systems Biology and New Technologies Enable Predictive and Preventative Medicine”. *Science* 306 (5696): 640-43. <https://doi.org/10.1126/science.1104635>.

Huang, Chengrui, Talin Haritunians, David T. Okou, David J. Cutler, Michael E. Zwick, Kent D. Taylor, Lisa W. Datta, vd. 2015. “Characterization of Genetic Loci

That Affect Susceptibility to Inflammatory Bowel Diseases in African Americans”. *Gastroenterology* 149 (6): 1575-86. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2015.07.065>.

Huang, Sheng-You, ve Xiaoqin Zou. 2006. “Ensemble Docking of Multiple Protein Structures: Considering Protein Structural Variations in Molecular Docking”. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics* 66 (2): 399-421. <https://doi.org/10.1002/prot.21214>.

Hugot, Jean-Pierre, Mathias Chamaillard, Habib Zouali, Suzanne Lesage, Jean-Pierre Cézard, Jacques Belaiche, Sven Almer, vd. 2001. “Association of NOD2 Leucine-Rich Repeat Variants with Susceptibility to Crohn’s Disease”. *Nature* 411 (6837): 599-603. <https://doi.org/10.1038/35079107>.

Hurle, M R, L Yang, Q Xie, D K Rajpal, P Sanseau, ve P Agarwal. 2013. “Computational Drug Repositioning: From Data to Therapeutics”. *Clinical Pharmacology & Therapeutics* 93 (4): 335-41. <https://doi.org/10.1038/clpt.2013.1>.

Hwang, Daehee, Inyoul Y Lee, Hyuntae Yoo, Nils Gehlenborg, Ji-Hoon Cho, Brianne Petritis, David Baxter, vd. 2009. “A Systems Approach to Prion Disease”. *Molecular Systems Biology* 5 (1): 252. <https://doi.org/10.1038/msb.2009.10>.

Jairath, Vipul, ve Brian G Feagan. 2020. “Global Burden of Inflammatory Bowel Disease”. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology* 5 (1): 2-3. [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(19\)30358-9](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(19)30358-9).

Jarada, Tamer N., Jon G. Rokne, ve Reda Alhaji. 2020. “A Review of Computational Drug Repositioning: Strategies, Approaches, Opportunities, Challenges, and Directions”. *Journal of Cheminformatics* 12 (1): 46. <https://doi.org/10.1186/s13321-020-00450-7>.

Jensen, Peter B., Lars J. Jensen, ve Søren Brunak. 2012. “Mining Electronic Health Records: Towards Better Research Applications and Clinical Care”. *Nature Reviews Genetics* 13 (6): 395-405. <https://doi.org/10.1038/nrg3208>.

Johnson, G. J., J. Cosnes, ve J. C. Mansfield. 2005. “Review Article: Smoking Cessation as Primary Therapy to Modify the Course of Crohn’s Disease”. *Alimentary*

*Pharmacology and Therapeutics* 21 (8): 921-31. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2005.02424.x>.

Jumper, John, Richard Evans, Alexander Pritzel, Tim Green, Michael Figurnov, Olaf Ronneberger, Kathryn Tunyasuvunakool, vd. 2021. “Highly Accurate Protein Structure Prediction with AlphaFold”. *Nature* 596 (7873): 583-89. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03819-2>.

Junker, Björn H., ve Falk Schreiber, ed. 2008. *Analysis of Biological Networks*. Wiley Series on Bioinformatics. Hoboken, N.J: Wiley-Interscience.

Kaplan, Gilaad G. 2015. “The Global Burden of IBD: From 2015 to 2025”. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 12 (12): 720-27. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2015.150>.

Kaur, Amandip, ve Paraskevi Goggolidou. 2020. “Ulcerative Colitis: Understanding Its Cellular Pathology Could Provide Insights into Novel Therapies”. *Journal of Inflammation* 17 (1): 15. <https://doi.org/10.1186/s12950-020-00246-4>.

Kaur, S. 2013. “Genomics”. İçinde *Brenner’s Encyclopedia of Genetics*, 310-12. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374984-0.00642-2>.

Kawamata, Seiji, Koichi Matsuzaki, Miki Murata, Toshihito Seki, Katsuyoshi Matsuoka, Yasushi Iwao, Toshifumi Hibi, ve Kazuichi Okazaki. 2011. “Oncogenic Smad3 Signaling Induced by Chronic Inflammation Is an Early Event in Ulcerative Colitis-Associated Carcinogenesis”. *Inflammatory Bowel Diseases* 17 (3): 683-95. <https://doi.org/10.1002/ibd.21395>.

Khan, Israr, Naeem Ullah, Lajia Zha, Yanrui Bai, Ashiq Khan, Tang Zhao, Tuanjie Che, ve Chunjiang Zhang. 2019. “Alteration of Gut Microbiota in Inflammatory Bowel Disease (IBD): Cause or Consequence? IBD Treatment Targeting the Gut Microbiome”. *Pathogens* 8 (3): 126. <https://doi.org/10.3390/pathogens8030126>.

Kiela, Pawel R., ve Fayed K. Ghishan. 2016. “Physiology of Intestinal Absorption and Secretion”. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 30 (2): 145-59. <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2016.02.007>.

Kim, Sunghwan, Paul A. Thiessen, Evan E. Bolton, Jie Chen, Gang Fu, Asta Gindulyte, Lianyi Han, vd. 2016. "PubChem Substance and Compound Databases". *Nucleic Acids Research* 44 (D1): D1202-13. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv951>.

Kim, Yongsoo, Taek-Kyun Kim, Yungu Kim, Jiho Yoo, Sungyong You, Inyoul Lee, George Carlson, Leroy Hood, Seungjin Choi, ve Daehee Hwang. 2011. "Principal Network Analysis: Identification of Subnetworks Representing Major Dynamics Using Gene Expression Data". *Bioinformatics* 27 (3): 391-98. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq670>.

Kitchen, Douglas B., Hélène Decornez, John R. Furr, ve Jürgen Bajorath. 2004. "Docking and Scoring in Virtual Screening for Drug Discovery: Methods and Applications". *Nature Reviews Drug Discovery* 3 (11): 935-49. <https://doi.org/10.1038/nrd1549>.

Komurov, Kakajan, Serkan Dursun, Serkan Erdin, ve Prahlad T Ram. 2012. "NetWalker: A Contextual Network Analysis Tool for Functional Genomics". *BMC Genomics* 13 (1): 282. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-282>.

Kugathasan, Subra, ve Claudio Fiocchi. 2007. "Progress in Basic Inflammatory Bowel Disease Research". *Seminars in Pediatric Surgery* 16 (3): 146-53. <https://doi.org/10.1053/j.sempedsurg.2007.04.002>.

Kukurba, Kimberly R., ve Stephen B. Montgomery. 2015. "RNA Sequencing and Analysis". *Cold Spring Harbor Protocols* 2015 (11): pdb.top084970. <https://doi.org/10.1101/pdb.top084970>.

Kuno, Reiko, Go Ito, Ami Kawamoto, Yui Hiraguri, Hady Yuki Sugihara, Sayaka Takeoka, Sayaka Nagata, vd. 2021. "Notch and TNF- $\alpha$  Signaling Promote Cytoplasmic Accumulation of OLFM4 in Intestinal Epithelium Cells and Exhibit a Cell Protective Role in the Inflamed Mucosa of IBD Patients". *Biochemistry and Biophysics Reports* 25 (Mart): 100906. <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2020.100906>.

Kurzbach, Dennis. 2016. "Network Representation of Protein Interactions: Theory of Graph Description and Analysis: Theory of Network Representation of Protein Interactions from NMR Chemical Shift and Relaxation Data". *Protein Science* 25 (9): 1617-27. <https://doi.org/10.1002/pro.2963>.

Kwoh, C. K., ve P. Y. Ng. 2007. “Genetic Studies of Diseases: Network Analysis Approach for Biology”. *Cellular and Molecular Life Sciences* 64 (14): 1739-51. <https://doi.org/10.1007/s00018-007-7053-7>.

Lamb, Michelle L, ve William L Jorgensen. 1997. “Computational Approaches to Molecular Recognition”. *Current Opinion in Chemical Biology* 1 (4): 449-57. [https://doi.org/10.1016/S1367-5931\(97\)80038-5](https://doi.org/10.1016/S1367-5931(97)80038-5).

Lee, Meei-Shyuan, Chih-Cheng Hsu, Mark L Wahlqvist, Hsin-Ni Tsai, Yu-Hung Chang, ve Yi-Chen Huang. 2011. “Type 2 Diabetes Increases and Metformin Reduces Total, Colorectal, Liver and Pancreatic Cancer Incidences in Taiwanese: A Representative Population Prospective Cohort Study of 800,000 Individuals”. *BMC Cancer* 11 (1): 20. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-11-20>.

Liu, Jimmy Z, Suzanne van Sommeren, Hailiang Huang, Siew C Ng, Rudi Alberts, Atsushi Takahashi, Stephan Ripke, vd. 2015. “Association Analyses Identify 38 Susceptibility Loci for Inflammatory Bowel Disease and Highlight Shared Genetic Risk across Populations”. *Nature Genetics* 47 (9): 979-86. <https://doi.org/10.1038/ng.3359>.

Lorber, David M., ve Brian K. Shoichet. 1998. “Flexible Ligand Docking Using Conformational Ensembles: Flexible Ligand Docking”. *Protein Science* 7 (4): 938-50. <https://doi.org/10.1002/pro.5560070411>.

Lu, Jing, Lei Chen, Jun Yin, Tao Huang, Yi Bi, Xiangyin Kong, Mingyue Zheng, ve Yu-Dong Cai. 2016. “Identification of New Candidate Drugs for Lung Cancer Using Chemical–Chemical Interactions, Chemical–Protein Interactions and a K-Means Clustering Algorithm”. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* 34 (4): 906-17. <https://doi.org/10.1080/07391102.2015.1060161>.

Lu, Yue, Xinrui Li, Shanshan Liu, Yifan Zhang, ve Dekai Zhang. 2018. “Toll-like Receptors and Inflammatory Bowel Disease”. *Frontiers in Immunology* 9 (Ocak): 72. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00072>.

MacDonald, Bryan T., Keiko Tamai, ve Xi He. 2009. “Wnt/ $\beta$ -Catenin Signaling: Components, Mechanisms, and Diseases”. *Developmental Cell* 17 (1): 9-26. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2009.06.016>.

Maden, Sefika Feyza, Sezer, Selin, Acuner, Saliha. "Fundamentals of Molecular Docking and Comparative Analysis of Protein–Small-Molecule Docking Approaches" In *Molecular Docking - Recent Advances*, edited by Erman Istifli. London: IntechOpen, 2022. 10.5772/intechopen.105815

Maden, Sefika Feyza, ve Saliha Ece Acuner. 2021. "Mapping Transcriptome Data to Protein–Protein Interaction Networks of Inflammatory Bowel Diseases Reveals Disease-Specific Subnetworks". *Frontiers in Genetics* 12 (Ağustos): 688447. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.688447>.

Magalhaes, Joao G, Matthew T Sorbara, Stephen E Girardin, ve Dana J Philpott. 2011. "What Is New with Nods?" *Current Opinion in Immunology* 23 (1): 29-34. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2010.12.003>.

Mahid, Suhail S., Kyle S. Minor, Roberto E. Soto, Carlton A. Hornung, ve Susan Galandiuk. 2006. "Smoking and Inflammatory Bowel Disease: A Meta-Analysis". *Mayo Clinic Proceedings* 81 (11): 1462-71. <https://doi.org/10.4065/81.11.1462>.

Manzoni, Claudia, Demis A Kia, Jana Vandrovцова, John Hardy, Nicholas W Wood, Patrick A Lewis, ve Raffaele Ferrari. 2018. "Genome, Transcriptome and Proteome: The Rise of Omics Data and Their Integration in Biomedical Sciences". *Briefings in Bioinformatics* 19 (2): 286-302. <https://doi.org/10.1093/bib/bbw114>.

Martínez, Víctor, Carmen Navarro, Carlos Cano, Waldo Fajardo, ve Armando Blanco. 2015. "DrugNet: Network-Based Drug–Disease Prioritization by Integrating Heterogeneous Data". *Artificial Intelligence in Medicine* 63 (1): 41-49. <https://doi.org/10.1016/j.artmed.2014.11.003>.

Mattick, John S., ve Igor V. Makunin. 2006. "Non-Coding RNA". *Human Molecular Genetics* 15 (suppl\_1): R17-29. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddl046>.

McMartin, Colin, ve Regine S Bohacek. t.y. "QXP: Powerful, Rapid Computer Algorithms for Structure-Based Drug Design".

Meyers, Travis J., Adam B. Weiner, Rebecca E. Graff, Anuj S. Desai, Lauren Folgosa Cooley, William J. Catalona, Stephen B. Hanauer, vd. 2020. "Association between Inflammatory Bowel Disease and Prostate Cancer: A Large-scale, Prospective,

Population-based Study”. *International Journal of Cancer* 147 (10): 2735-42. <https://doi.org/10.1002/ijc.33048>.

Mitsialis, Vanessa, Sarah Wall, Peng Liu, Jose Ordovas-Montanes, Tamar Parment, Marko Vukovic, Dennis Spencer, vd. 2020. “Single-Cell Analyses of Colon and Blood Reveal Distinct Immune Cell Signatures of Ulcerative Colitis and Crohn’s Disease”. *Gastroenterology* 159 (2): 591-608.e10. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.04.074>.

Moller, Frederik Trier, Vibeke Andersen, Jan Wohlfahrt, ve Tine Jess. 2015. “Familial Risk of Inflammatory Bowel Disease: A Population-Based Cohort Study 1977–2011”. *American Journal of Gastroenterology* 110 (4): 564-71. <https://doi.org/10.1038/ajg.2015.50>.

Morin, Patrice J. 1999. “ $\beta$ -Catenin Signaling and Cancer”. *BioEssays* 21 (12): 1021-30. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-1878\(199912\)22:1<1021::AID-BIES6>3.0.CO;2-P](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-1878(199912)22:1<1021::AID-BIES6>3.0.CO;2-P).

Morris, Garrett M., Ruth Huey, William Lindstrom, Michel F. Sanner, Richard K. Belew, David S. Goodsell, ve Arthur J. Olson. 2009. “AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated Docking with Selective Receptor Flexibility”. *Journal of Computational Chemistry* 30 (16): 2785-91. <https://doi.org/10.1002/jcc.21256>.

Moss, Alan ve Nanda. 2012. “Update on the Management of Ulcerative Colitis: Treatment and Maintenance Approaches Focused on MMX&reg; Mesalamine”. *Clinical Pharmacology: Advances and Applications*, Temmuz, 41. <https://doi.org/10.2147/CPAA.S26556>.

Mukesh, Bachwani, ve Kumar Rakesh. 2011. “MOLECULAR DOCKING: A REVIEW”.

Mulder, Daniel J., Angela J. Noble, Christopher J. Justinich, ve Jacalyn M. Duffin. 2014. “A Tale of Two Diseases: The History of Inflammatory Bowel Disease”. *Journal of Crohn’s and Colitis* 8 (5): 341-48. <https://doi.org/10.1016/j.crohns.2013.09.009>.

Muzio, Giulia, Leslie O'Bray, ve Karsten Borgwardt. 2021. "Biological Network Analysis with Deep Learning". *Briefings in Bioinformatics* 22 (2): 1515-30. <https://doi.org/10.1093/bib/bbaa257>.

Nagalakshmi, Ugrappa, Karl Waern, ve Michael Snyder. 2010. "RNA-Seq: A Method for Comprehensive Transcriptome Analysis". *Current Protocols in Molecular Biology* 89 (1). <https://doi.org/10.1002/0471142727.mb0411s89>.

Nguyen, Hung, Sangam Shrestha, Duc Tran, Adib Shafi, Sorin Draghici, ve Tin Nguyen. 2019. "A Comprehensive Survey of Tools and Software for Active Subnetwork Identification". *Frontiers in Genetics* 10 (Mart): 155. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00155>.

Novershtern, N., A. Regev, ve N. Friedman. 2011. "Physical Module Networks: An Integrative Approach for Reconstructing Transcription Regulation". *Bioinformatics* 27 (13): i177-85. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr222>.

Nugent, S G. 2001. "Intestinal Luminal PH in Inflammatory Bowel Disease: Possible Determinants and Implications for Therapy with Aminosalicylates and Other Drugs". *Gut* 48 (4): 571-77. <https://doi.org/10.1136/gut.48.4.571>.

Ogata, H. 2006. "A Randomised Dose Finding Study of Oral Tacrolimus (FK506) Therapy in Refractory Ulcerative Colitis". *Gut* 55 (9): 1255-62. <https://doi.org/10.1136/gut.2005.081794>.

Parkinson, H., M. Kapushesky, M. Shojatalab, N. Abeygunawardena, R. Coulson, A. Farne, E. Holloway, vd. 2007. "ArrayExpress--a Public Database of Microarray Experiments and Gene Expression Profiles". *Nucleic Acids Research* 35 (Database): D747-50. <https://doi.org/10.1093/nar/gkl995>.

Perkins, James R., Ilhem Diboun, Benoit H. Dessailly, Jon G. Lees, ve Christine Orengo. 2010. "Transient Protein-Protein Interactions: Structural, Functional, and Network Properties". *Structure* 18 (10): 1233-43. <https://doi.org/10.1016/j.str.2010.08.007>.

Pertea, Mihaela. 2012. "The Human Transcriptome: An Unfinished Story". *Genes* 3 (3): 344-60. <https://doi.org/10.3390/genes3030344>.

Petryszak, Robert, Maria Keays, Y. Amy Tang, Nuno A. Fonseca, Elisabet Barrera, Tony Burdett, Anja Füllgrabe, vd. 2016. “Expression Atlas Update—an Integrated Database of Gene and Protein Expression in Humans, Animals and Plants”. *Nucleic Acids Research* 44 (D1): D746-52. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1045>.

Podolsky, Daniel K. 2002. “Inflammatory Bowel Disease”. *The New England Journal of Medicine*.

Pugliese, Daniela, Alessandro Armuzzi, Federica Castri, Roberta Benvenuto, Antonella Mangoni, Luisa Guidi, Antonio Gasbarrini, Gian Lodovico Rapaccini, Federica I. Wolf, ve Valentina Trapani. 2020. “TRPM7 Is Overexpressed in Human IBD-Related and Sporadic Colorectal Cancer and Correlates with Tumor Grade”. *Digestive and Liver Disease* 52 (10): 1188-94. <https://doi.org/10.1016/j.dld.2020.05.027>.

Pushpakom, Sudeep, Francesco Iorio, Patrick A. Eyers, K. Jane Escott, Shirley Hopper, Andrew Wells, Andrew Doig, vd. 2019. “Drug Repurposing: Progress, Challenges and Recommendations”. *Nature Reviews Drug Discovery* 18 (1): 41-58. <https://doi.org/10.1038/nrd.2018.168>.

Rakshit, Hindol, Nitin Rathi, ve Debjani Roy. 2014. “Construction and Analysis of the Protein-Protein Interaction Networks Based on Gene Expression Profiles of Parkinson’s Disease”. Editör Sheila Fleming. *PLoS ONE* 9 (8): e103047. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103047>.

Raman, Karthik. 2010. “Construction and Analysis of Protein–Protein Interaction Networks”. *Automated Experimentation* 2 (1): 2. <https://doi.org/10.1186/1759-4499-2-2>.

Ran, Jihua, Hui Li, Jianfeng Fu, Ling Liu, Yanchao Xing, Xiumei Li, Hongming Shen, vd. 2013. “Construction and Analysis of the Protein-Protein Interaction Network Related to Essential Hypertension”. *BMC Systems Biology* 7 (1): 32. <https://doi.org/10.1186/1752-0509-7-32>.

Rangaraju, Avinash. 2013. “01 A REVIEW ON MOLECULAR DOCKING – Novel Tool in Drug Design and Analysis”.

- Rao, V. Srinivasa, K. Srinivas, G. N. Sujini, ve G. N. Sunand Kumar. 2014. "Protein-Protein Interaction Detection: Methods and Analysis". *International Journal of Proteomics* 2014 (Şubat): 1-12. <https://doi.org/10.1155/2014/147648>.
- Ratner, Mark. 2015. "IL-17–Targeting Biologics Aim to Become Standard of Care in Psoriasis". *Nature Biotechnology* 33 (1): 3-4. <https://doi.org/10.1038/nbt0115-3>.
- Renner, Marcus, Gaby Bergmann, Inge Krebs, Caroline End, Stefan Lyer, Frank Hilberg, Burkhard Helmke, vd. 2007. "DMBT1 Confers Mucosal Protection In Vivo and a Deletion Variant Is Associated With Crohn's Disease". *Gastroenterology* 133 (5): 1499-1509. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2007.08.007>.
- Reuter, Jason A., Damek V. Spacek, ve Michael P. Snyder. 2015. "High-Throughput Sequencing Technologies". *Molecular Cell* 58 (4): 586-97. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.05.004>.
- Rhen, Turk, ve John A. Cidlowski. 2005. "Antiinflammatory Action of Glucocorticoids — New Mechanisms for Old Drugs". *New England Journal of Medicine* 353 (16): 1711-23. <https://doi.org/10.1056/NEJMra050541>.
- Sanseau, Philippe, Pankaj Agarwal, Michael R Barnes, Tomi Pastinen, J Brent Richards, Lon R Cardon, ve Vincent Mooser. 2012. "Use of Genome-Wide Association Studies for Drug Repositioning". *Nature Biotechnology* 30 (4): 317-20. <https://doi.org/10.1038/nbt.2151>.
- Satsangi, J. 2006. "The Montreal Classification of Inflammatory Bowel Disease: Controversies, Consensus, and Implications". *Gut* 55 (6): 749-53. <https://doi.org/10.1136/gut.2005.082909>.
- Schnecke, Volker, ve Leslie A. Kuhn. 2002. "Virtual Screening with Solvation and Ligand-Induced Complementarity". İçinde *Virtual Screening: An Alternative or Complement to High Throughput Screening?*, editör Gerhard Klebe, 20:171-90. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. [https://doi.org/10.1007/0-306-46883-2\\_10](https://doi.org/10.1007/0-306-46883-2_10).
- Segal, Jonathan P, Jean-Frédéric LeBlanc, ve Ailsa L Hart. 2021. "Ulcerative Colitis: An Update". *Clinical Medicine* 21 (2): 135-39. <https://doi.org/10.7861/clinmed.2021-0080>.

Seiler, K. P., G. A. George, M. P. Happ, N. E. Bodycombe, H. A. Carrinski, S. Norton, S. Brudz, vd. 2007. "ChemBank: A Small-Molecule Screening and Cheminformatics Resource Database". *Nucleic Acids Research* 36 (Database): D351-59. <https://doi.org/10.1093/nar/gkm843>.

Shannon, Paul, Andrew Markiel, Owen Ozier, Nitin S. Baliga, Jonathan T. Wang, Daniel Ramage, Nada Amin, Benno Schwikowski, ve Trey Ideker. 2003. "Cytoscape: A Software Environment for Integrated Models of Biomolecular Interaction Networks". *Genome Research* 13 (11): 2498-2504. <https://doi.org/10.1101/gr.1239303>.

Shapiro, Jason M., Helga Zoega, Samir A. Shah, Renee M. Bright, Meaghan Mallette, Heather Moniz, Stacey A. Grabert, vd. 2016. "Incidence of Crohn's Disease and Ulcerative Colitis in Rhode Island: Report from the Ocean State Crohn's and Colitis Area Registry". *Inflammatory Bowel Diseases* 22 (6): 1456-61. <https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000000745>.

Shendure, Jay. 2008. "The Beginning of the End for Microarrays?" *Nature Methods* 5 (7): 585-87. <https://doi.org/10.1038/nmeth0708-585>.

Shim, Joong Sup, ve Jun O. Liu. 2014. "Recent Advances in Drug Repositioning for the Discovery of New Anticancer Drugs". *International Journal of Biological Sciences* 10 (7): 654-63. <https://doi.org/10.7150/ijbs.9224>.

Shohan, Mojtaba, Milad Sabzevary-Ghahfarokhi, Nader Bagheri, Hedayatollah Shirzad, Ghorbanali Rahimian, Amin Soltani, Mahdi Ghatreh-Samani, vd. 2018. "Intensified Th9 Response Is Associated with the Immunopathogenesis of Active Ulcerative Colitis". *Immunological Investigations* 47 (7): 700-711. <https://doi.org/10.1080/08820139.2018.1486411>.

Śledź, Paweł, ve Amedeo Caflisch. 2018. "Protein Structure-Based Drug Design: From Docking to Molecular Dynamics". *Current Opinion in Structural Biology* 48 (Şubat): 93-102. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2017.10.010>.

Stallmach, Andreas, Thomas Giese, Carsten Schmidt, Bianca Ludwig, Ina Mueller-Molaian, ve Stefan C. Meuer. 2004. "Cytokine/Chemokine Transcript Profiles Reflect

Mucosal Inflammation in Crohn's Disease". *International Journal of Colorectal Disease* 19 (4): 308-15. <https://doi.org/10.1007/s00384-003-0554-4>.

Stark, C. 2006. "BioGRID: A General Repository for Interaction Datasets". *Nucleic Acids Research* 34 (90001): D535-39. <https://doi.org/10.1093/nar/gkj109>.

Šubelj, Lovro, ve Marko Bajec. 2011. "Unfolding Communities in Large Complex Networks: Combining Defensive and Offensive Label Propagation for Core Extraction". *Physical Review E* 83 (3): 036103. <https://doi.org/10.1103/PhysRevE.83.036103>.

Szklarczyk, Damian, Annika L Gable, David Lyon, Alexander Junge, Stefan Wyder, Jaime Huerta-Cepas, Milan Simonovic, vd. 2019. "STRING V11: Protein-Protein Association Networks with Increased Coverage, Supporting Functional Discovery in Genome-Wide Experimental Datasets". *Nucleic Acids Research* 47 (D1): D607-13. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1131>.

Szklarczyk, Damian, Annika L Gable, Katerina C Nastou, David Lyon, Rebecca Kirsch, Sampo Pyysalo, Nadezhda T Doncheva, vd. 2021. "The STRING Database in 2021: Customizable Protein-Protein Networks, and Functional Characterization of User-Uploaded Gene/Measurement Sets". *Nucleic Acids Research* 49 (D1): D605-12. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa1074>.

Tarca, Adi Laurentiu, Sorin Draghici, Purvesh Khatri, Sonia S. Hassan, Pooja Mittal, Jung-sun Kim, Chong Jai Kim, Juan Pedro Kusanovic, ve Roberto Romero. 2009. "A Novel Signaling Pathway Impact Analysis". *Bioinformatics* 25 (1): 75-82. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btn577>.

Tatiya-aphiradee, Nitima, Waranya Chatuphonprasert, ve Kanokwan Jarukamjorn. 2018. "Immune Response and Inflammatory Pathway of Ulcerative Colitis". *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology* 30 (1): 1-10. <https://doi.org/10.1515/jbcpp-2018-0036>.

The International IBD Genetics Consortium (IIBDGC), Luke Jostins, Stephan Ripke, Rinse K. Weersma, Richard H. Duerr, Dermot P. McGovern, Ken Y. Hui, vd. 2012. "Host-Microbe Interactions Have Shaped the Genetic Architecture of Inflammatory Bowel Disease". *Nature* 491 (7422): 119-24. <https://doi.org/10.1038/nature11582>.

- Toro, Noemi del-, Marine Dumousseau, Sandra Orchard, Rafael C. Jimenez, Eugenia Galeota, Guillaume Launay, Johannes Goll, vd. 2013. "A New Reference Implementation of the PSICQUIC Web Service". *Nucleic Acids Research* 41 (W1): W601-6. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt392>.
- Torres, Joana, Saurabh Mehandru, Jean-Frédéric Colombel, ve Laurent Peyrin-Biroulet. 2017. "Crohn's Disease". *The Lancet* 389 (10080): 1741-55. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)31711-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)31711-1).
- Triantafyllidis, John. 2011. "Current and Emerging Drugs for the Treatment of Inflammatory Bowel Disease". *Drug Design, Development and Therapy*, Nisan, 185. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S11290>.
- Tripathi, Anushree, ve Krishna Misra. 2017. "Molecular Docking: A Structure-Based Drug Designing Approach".
- Turanli, Beste, Gizem Gulfidan, ve Kazim Yalcin Arga. 2017. "Transcriptomic-Guided Drug Repositioning Supported by a New Bioinformatics Search Tool: GeneXpharma". *OMICS: A Journal of Integrative Biology* 21 (10): 584-91. <https://doi.org/10.1089/omi.2017.0127>.
- Ungaro, Ryan, Charles N Bernstein, Richard Gearry, Anders Hviid, Kaija-Leena Kolho, Matthew P Kronman, Souradet Shaw, Herbert Van Kruiningen, Jean-Frédéric Colombel, ve Ashish Atreja. 2014. "Antibiotics Associated With Increased Risk of New-Onset Crohn's Disease But Not Ulcerative Colitis: A Meta-Analysis". *American Journal of Gastroenterology* 109 (11): 1728-38. <https://doi.org/10.1038/ajg.2014.246>.
- Ungaro, Ryan, Saurabh Mehandru, Patrick B Allen, Laurent Peyrin-Biroulet, ve Jean-Frédéric Colombel. 2017. "Ulcerative Colitis". *The Lancet* 389 (10080): 1756-70. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)32126-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)32126-2).
- Vaske, Charles J., Stephen C. Benz, J. Zachary Sanborn, Dent Earl, Christopher Szeto, Jingchun Zhu, David Haussler, ve Joshua M. Stuart. 2010. "Inference of Patient-Specific Pathway Activities from Multi-Dimensional Cancer Genomics Data Using PARADIGM". *Bioinformatics* 26 (12): i237-45. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq182>.

Vennou, Konstantina E., Daniele Piovani, Panagiota I. Kontou, Stefanos Bonovas, ve Pantelis G. Bagos. 2020. “Multiple Outcome Meta-Analysis of Gene-Expression Data in Inflammatory Bowel Disease”. *Genomics* 112 (2): 1761-67. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2019.09.019>.

Wang, Yu Fang, Qin Ouyang, ve Ren Wei Hu. 2010. “Progression of Inflammatory Bowel Disease in China”. *Journal of Digestive Diseases* 11 (2): 76-82. <https://doi.org/10.1111/j.1751-2980.2010.00421.x>.

Wang, Zhengting, Bin Xu, Hongxin Zhang, Rong Fan, Jie Zhou, ve Jie Zhong. 2014. “Association between STAT3 Gene Polymorphisms and Crohn’s Diseasesusceptibility: A Case–Control Study in a Chinese Han Population”. *Diagnostic Pathology* 9 (1): 104. <https://doi.org/10.1186/1746-1596-9-104>.

Wang, Zhong, Mark Gerstein, ve Michael Snyder. 2009. “RNA-Seq: A Revolutionary Tool for Transcriptomics”. *Nature Reviews Genetics* 10 (1): 57-63. <https://doi.org/10.1038/nrg2484>.

Wang, Zhong-Yi, ve Hong-Yu Zhang. 2013. “Rational Drug Repositioning by Medical Genetics”. *Nature Biotechnology* 31 (12): 1080-82. <https://doi.org/10.1038/nbt.2758>.

Warsow, Gregor, Stephan Struckmann, Claus Kerkhoff, Toralf Reimer, Nadja Engel, ve Georg Fuellen. 2013. “Differential Network Analysis Applied to Preoperative Breast Cancer Chemotherapy Response”. Editör Alberto de la Fuente. *PLoS ONE* 8 (12): e81784. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0081784>.

Wawrzyniak, Marcin, ve Michael Scharl. 2018. “Genetics and Epigenetics of Inflammatory Bowel Disease”. *Swiss Medical Weekly*, Eylül. <https://doi.org/10.4414/smw.2018.14671>.

Wijmenga, Cisca. 2005. “Expressing the Differences between Crohn Disease and Ulcerative Colitis”. *PLoS Medicine* 2 (8): e230. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0020230>.

Winter, Michael W., ve Joel V. Weinstock. 2020. "Inflammatory Bowel Disease". İçinde *The Autoimmune Diseases*, 871-94. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812102-3.00046-4>.

Wishart, David S, Yannick D Feunang, An C Guo, Elvis J Lo, Ana Marcu, Jason R Grant, Tanvir Sajed, vd. 2018. "DrugBank 5.0: A Major Update to the DrugBank Database for 2018". *Nucleic Acids Research* 46 (D1): D1074-82. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx1037>.

WEB 1, [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Docking\\_representation\\_2.png](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Docking_representation_2.png)

WEB 2, <https://go.drugbank.com/drugs/DB01229>

WEB 3, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/5243>

WEB 4, <https://go.drugbank.com/drugs/DB00301>

WEB 5, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/472>

Xenarios, I. 2000. "DIP: The Database of Interacting Proteins". *Nucleic Acids Research* 28 (1): 289-91. <https://doi.org/10.1093/nar/28.1.289>.

Xu, Xin, Hirokazu Fukui, Ying Ran, Xuan Wang, Yoshihito Inoue, Nobuhiko Ebisudani, Heihachiro Nishimura, vd. 2019. "The Link between Type III Reg and STAT3-Associated Cytokines in Inflamed Colonic Tissues". *Mediators of Inflammation* 2019 (Kasım): 1-10. <https://doi.org/10.1155/2019/7859460>.

Yaeger, Rona, Manish A. Shah, Vincent A. Miller, Judith R. Kelsen, Kai Wang, Zachary J. Heins, Jeffrey S. Ross, vd. 2016. "Genomic Alterations Observed in Colitis-Associated Cancers Are Distinct From Those Found in Sporadic Colorectal Cancers and Vary by Type of Inflammatory Bowel Disease". *Gastroenterology* 151 (2): 278-287.e6. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2016.04.001>.

Yamashita, Arisa, Tatsuo Inamine, Shota Suzuki, Sayaka Fukuda, Miki Unoike, Yuka Kawafuchi, Haruhisa Machida, Hajime Isomoto, Kazuhiko Nakao, ve Kazuhiro Tsukamoto. 2019. "Genetic Variants of SMAD2/3/4/7 Are Associated with Susceptibility to Ulcerative Colitis in a Japanese Genetic Background". *Immunology Letters* 207 (Mart): 64-72. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2019.01.007>.

Yan, Pengguang, Yanan Wang, Xiangchen Meng, Hong Yang, Zhanju Liu, Jiaming Qian, Weixun Zhou, ve Jingnan Li. 2019. “Whole Exome Sequencing of Ulcerative Colitis–Associated Colorectal Cancer Based on Novel Somatic Mutations Identified in Chinese Patients”. *Inflammatory Bowel Diseases* 25 (8): 1293-1301. <https://doi.org/10.1093/ibd/izz020>.

Yu, Liang, Jianbin Huang, Zhixin Ma, Jing Zhang, Yapeng Zou, ve Lin Gao. 2015. “Inferring Drug-Disease Associations Based on Known Protein Complexes”. *BMC Medical Genomics* 8 (S2): S2. <https://doi.org/10.1186/1755-8794-8-S2-S2>.

Zanzoni, Andreas, Luisa Montecchi-Palazzi, Michele Quondam, Gabriele Ausiello, Manuela Helmer-Citterich, ve Gianni Cesareni. 2002. “MINT: A Molecular INTeraction Database”. *FEBS Letters* 513 (1): 135-40. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(01\)03293-8](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(01)03293-8).

Zhang, Bai, Ye Tian, ve Zhen Zhang. 2014. “Network Biology in Medicine and Beyond”. *Circulation: Cardiovascular Genetics* 7 (4): 536-47. <https://doi.org/10.1161/CIRCGENETICS.113.000123>.

Zhang, Sai-Long, Shu-Na Wang, ve Chao-Yu Miao. 2017. “Influence of Microbiota on Intestinal Immune System in Ulcerative Colitis and Its Intervention”. *Frontiers in Immunology* 8 (Kasım): 1674. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01674>.

Zhang, Yi-Zhen. 2014. “Inflammatory Bowel Disease: Pathogenesis”. *World Journal of Gastroenterology* 20 (1): 91. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i1.91>.

Zhu, Yi, HongGang Jiang, ZhiHeng Chen, BoHao Lu, Jin Li, ve XuNing Shen. 2020. “Genetic Association between IL23R Rs11209026 and Rs10889677 Polymorphisms and Risk of Crohn’s Disease and Ulcerative Colitis: Evidence from 41 Studies”. *Inflammation Research* 69 (1): 87-103. <https://doi.org/10.1007/s00011-019-01296-y>.