



İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI

**Çoklu-Omik Verilerin Bütünleşik Analizi İle Romatoid
Artrit Hastalığına Yönelik Biyobelirteçlerin Belirlenmesi**

Yüksek Lisans Tezi

Tuğçe Çelen

Ağustos 2023



İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI

**Çoklu-Omik Verilerin Bütünleşik Analizi İle Romatoid
Artrit Hastalığına Yönelik Biyobelirteçlerin Belirlenmesi**

Yüksek Lisans Tezi

Tuğçe Çelen

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Muhammed Erkan Karabekmez

Ağustos 2023

TEZ JÜRİSİ ONAYI

Tuğçe Çelen tarafından hazırlanan "Çoklu-Omik Verilerin Bütünleşik Analizi İle Romatoid Artrit Hastalığına Yönelik Biyobelirteçlerin Belirlenmesi" başlıklı bu Yüksek Lisans Tezi, Biyomühendislik Anabilim Dalı'nda hazırlanmış ve jürimiz tarafından kabul edilmiştir.

JÜRİ ÜYELERİ

İMZA

Tez Danışmanı:

Dr. Öğr. Üyesi Muhammed Erkan Karabekmez
İstanbul Medeniyet Üniversitesi

Üyeler:

Dr. Öğr. Üyesi Ümmühan Demir
İstanbul Medeniyet Üniversitesi

Prof. Dr. Semra Demokan
İstanbul Üniversitesi

Tez Savunma Tarihi: 03/08 / 2023

BEYANLAR

Yazım ve Kaynak Gösterme Kılavuzu Beyanı

Danışmanlığında yazılan bu tezin APA yazım ve kaynak gösterme kılavuzunda belirtilen kurallara uygun olarak yapılandırıldığı ve bu kılavuzun metin içi kaynak gösterme standartlarının bu tezde tutarlı olarak uygulandığı tarafımdan incelenerek teyit edilmiştir.

İmza

Dr. Öğr. Üyesi Muhammed Erkan Karabekmez

Etik İlkelerine Sadakat Beyanı

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

İmza

Tuğçe Çelen

ÖZET

Çoklu-Omik Verilerin Bütünleşik Analizi İle Romatoid Artrit Hastalığına Yönelik Biyobelirteçlerin Belirlenmesi

Çelen, Tuğçe

Yüksek Lisans Tezi, Biyomühendislik Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Muhammed Erkan Karabekmez

Ağustos 2023

Romatoid artrit (RA) kemik aşınması, eklem iltihabı, kıkırdak tahribatı ile karakterize inflamatuvar otoimmün bir hastalıktır. Çoklu-omik analizleri, transkriptom, metilom gibi çeşitli biyolojik bileşenleri aynı anda değerlendirmeyi mümkün kılarak, karmaşık hastalıkların temel nedenleri ve etkileşimleri hakkında daha kapsamlı ve bütüncül bir anlayış sağlar. Bu çalışmada çeşitli biyoinformatik analiz araçları kullanılarak RA'nın patogenezinde önemli biyobelirteçler, fonksiyonel yollar ve terapötikler belirlenmiştir. RA hastaları ve sağlıklı kontrollere ait sinovyum, PBMC, T ve B hücreleri kullanılan transkriptomik ve metilomik veri kümeleri entegre edilmiştir. Gen ifadesi farklılaşan genler (DEG) ve metilasyon yoğunluğu farklılaşan genler (DMG) tespit edilerek zenginleşim analizleri gerçekleştirilmiştir. DEG ve DMG'ler kullanılarak oluşturulan RA bağlamına özgü protein-protein etkileşim ağına anahtar düzenleyici TF'ler eklenmiş ve ağın topolojik özellikleri araştırılmıştır. Bu analizler sonucunda CD44, CASP8, TRIM22, SAMD9, FOXO3 genleri potansiyel biyobelirteçler olarak belirlenmiştir ve bu genlerin çoğunlukla RA'da hücre çoğalması, programlanmış hücre ölümü ve hücre farklılaşması ile ilgili olduğu görülmüştür. Organik maddeye tepki, kimyasal tepki, apoptotik sürecin pozitif düzenlenmesi, bağışıklık sistemi süreci vb. biyolojik süreçleriyle hücre döngüsü ile Epstein-Barr virüs enfeksiyonu yolları RA'nın patogenezinde rol oynayan önemli yollar arasında ortaya çıkmıştır. İlaç yeniden konumlandırma analizleri ile bu biyobelirteçleri hedefleyen 34 ilaç tespit edilmiştir. Bunlar arasından İnfigratinib, Bosutinib ve Selinexor ile ilgili RA'ya yönelik çalışma bulunmadığından yeniden konumlandırılan potansiyel ilaç adayları olarak önerilmiştir.

Anahtar Kelimeler: romatoid artrit, transkriptomik, metilomik, çoklu-omik analiz, veri entegrasyonu

ABSTRACT

Identification of Biomarkers for Rheumatoid Arthritis Disease by Integrated Analysis of Multi-Omic Data

Celen, Tugce

Master Thesis, Department of Bioengineering

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Muhammed Erkan Karabekmez

Ağustos 2023

Rheumatoid arthritis (RA) is an inflammatory autoimmune disease characterized by bone erosion, joint inflammation and cartilage destruction. Multi-omics analyzes makes it possible to simultaneously evaluate various biological components such as transcriptome, methylome, and provides a more comprehensive and holistic understanding of the root causes and interactions of complex diseases. In this study, important biomarkers, functional pathways and therapeutics in the pathogenesis of RA were determined using different bioinformatic analysis tools. The transcriptomic and methylomic datasets using synovium, PBMC, T and B cells from RA patients and healthy controls were integrated. Enricment analyzes were performed by detecting differential expression genes (DEG) and differential methylation genes (DMG). Common genes have been identified, both DEG and DMG. Key regulatory TFs were added to the RA context-specific protein-protein interaction network created using DEG and DMGs, and the topological properties of the network were investigated. As a result of all analyzes, CD44, CASP8, TRIM22, SAMD9, FOXO3 genes were identified as potential biomarkers and these genes were mostly related to cell proliferation, programmed cell death and cell differentiation in RA. Response to organic substance, response to chemical, positive regulation of apoptotic process, immune system process, etc. Biological processes, cell cycle and Epstein-Barr virus infection pathway have emerged among the important pathways that play a role in the pathogenesis of RA. 34 drugs targeting these biomarkers were identified by drug repositioning analyzes. Among these, Infigratinib, Bosutinib, and Selinexor have been suggested as potential repositioned drug candidates since there is no study for RA.

Keywords: rheumatoid arthritis, transcriptomics, methylomics, multi-omic analysis, data integration

ÖNSÖZ

Öncelikle tez çalışmam süresince bilgi ve deneyimlerini esirgemedi bana destek olan, sürecin başından itibaren gösterdiği ilgi ve sabırla, tezimin her aşamasında bana yol gösteren, anlayışlı davranarak motivasyonumu yükselten çok değerli danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Muhammed Erkan Karabekmez hocama,

Bu yoğun tez süresince daima yanımda olarak bana gösterdikleri anlayış, sabır ve manevi desteklerini esirgemeyen aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım

Tuğçe Çelen

Ağustos 2023

İÇİNDEKİLER

BEYANLAR

ÖZET

ABSTRACT

ÖNSÖZ

TABLO LİSTESİ xi

ŞEKİL LİSTESİ xii

KISALTMALAR xiii

1. GİRİŞ 1

1.1. Romatoid Artrit (RA) Hastalığı 1

1.2. Omik Teknolojiler 4

1.3. Çoklu Omik Teknolojiler 6

1.3.1. Çoklu Omik Veri Kümelerini İçeren Veri Tabanları 9

1.3.2. Gen Seti Zenginleştirme Analizi (GSEA) 10

1.3.3. Transkripsiyonel Faktörlerin (TF) Belirlenmesi 12

1.3.4. Protein Protein Etkileşim (PPI) Ağı Analizi ve Görselleştirme 13

1.3.5. İlaç Yeniden Konumlandırma 14

1.4. Ra'ya İlişkin Omik Çalışmalar 16

1.4.1. RA’da Omik Yaklaşımlar ve Yapılan Çalışmalar	16
1.4.2. RA’da Çoklu Omik Yaklaşımlar ve Yapılan Çalışmalar	19
2. MATERYAL VE METHOT	21
2.1. Çoklu Omik Veri Kümelerinin Belirlenmesi	21
2.1.1. Veri Kümelerinin Analizi	21
2.1.2. Tanskriptomik Çalışmalar ve Farklılaşan Gen İfadesi (DEG) Tayini	22
2.1.3. Metilomik Çalışmalar ve Farklılaşan Gen Metilasyonu (DMG) Tayini	22
2.1.4. Çoklu Omik Veri Kümelerinin Entegrasyonu	22
2.2. Fonksiyonel Zenginleştirme Analizi	23
2.2.1. Transkripsiyonel Faktörlerin ve Hedef Genlerin Analizi	23
2.2.2. PPI Ağ Analizi ve Görselleştirme	24
2.2.3. Transkripsiyonel Faktörlerin Ağ Haritasına Entegrasyonu	25
2.2.4. İlaç Yeniden Konumlandırma Analizi	26
3. BULGULAR	26
3.1. DEG’lerin ve DMG’lerin Tanımlanması	26
3.1.1. DEG’lerin ve DMG’lerin Bütünleşik Analizi	27
3.2. Fonksiyonel Zenginleştirme Analizi	28

3.2.1. Gen Ontolojisi Zenginleştirme Analizi	28
3.2.2. KEGG Yolak Zenginleştirme Analizi	30
3.2.3. Transkripsiyon Faktör ve Hedef Genlerin Tanımlanması	32
3.3. Ağ Analizi ve Görselleştirme	34
3.3.1. Protein-Protein Etkileşimi (PPI) Ağ Analizi	34
3.3.2. Transkripsiyon Faktör ve Hedef Genlerin Ağ Analizi	37
3.3.3. Yolak ve Gen Ağ Analizi	39
3.4. Potansiyel Terapötik Hedefler ve Küçük Moleküllerin Yeniden Konumlandırılması	40
4. TARTIŞMA	43
4.1. Biyobelirteçlerin Değerlendirilmesi	45
4.2. İlaç Yeniden Konumlandırma	49
KAYNAKÇA	55
EKLER	76
EK-1: Veri Kümelerinin Ayrıntılı Listesi	76
EK-2: Çoklu-Omik Veri Kümelerinin Entegre Analiz Listesi	77

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Ortak Genlerin Listesi	28
Tablo 2. g:Profilер GO Zenginleştirme Analizi	28
Tablo 3. DAVID GO Zenginleştirme Analizi	29
Tablo 4. g.Profilер KEGG Yolak Analizi	31
Tablo 5. DAVID KEGG Yolak Analizi	31
Tablo 6. TRRUST Çevrimiçi Veri Tabanından Elde Edilen Anahtar TF'ler	33
Tablo 7. STRING Veri Tabanı RA-PPI Ağının Fonksiyonel Zenginleştirme Analiz	35
Tablo 8. MCODE Eklentisi İle Belirlenen Genlerin Zenginleştirme Analizi	37
Tablo 9. Potansiyel İlaç Adayları	41

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. TRRUST Ara Yüzü	24
Şekil 2. STRING Ara Yüzü	25
Şekil 3. Metilasyon Seviyesi ve Gen İfadesi Farklılaşan Ortak Genlerin Venn Şeması	27
Şekil 4. KEGG Hücre Döngüsü Yolak Haritası	31
Şekil 5. KEGG Epstein-Barr Virüs Enfeksiyonu Yolak Haritası	32
Şekil 6. RA-PPI Ağı Görüntüsü	34
Şekil 7. RA-PPI Ağının Merkezi Etkileşime Sahip Genleri	36
Şekil 8. MCODE Eklentisi İle Belirlenen Yüksek Oranda Birbirine Bağlı Genler	36
Şekil 9. Transkripsiyonel Faktör ve Hedef Genlerinin Ağ Analizi	38
Şekil 10. Transkripsiyonel Faktörlerin Hedef Genleri Üzerindeki Düzenleyici Etkisini Gösteren Ağ Analizi	39
Şekil 11. KEGG Zenginleşme Yolakları ve Etkileşen Genleri Gösteren Ağ Haritası	40

KISALTMALAR

Adj-P	Düzeltilmiş P Değeri
BP	Biyolojik Süreç
DEG	Diferansiyel Gen İfadesi
DMG	Diferansiyel Gen Metilasyonu
DNA	Deoksiribonükleik Asit
GEO	Gen İfade Omnibus
GO	Gen Ontolojisi
GSEA	Gen Seti Zenginleştirme Analizi
KEGG	Kyoto Gen ve Genom Ansiklopedisi
MRI	Manyetik Rezonans Görüntüleme
PBMC	Periferik Kan Mononükleer Hücreleri
PPI	Protein Protein Etkileşimi
RA	Romatoid Artrit
RA-PPI	Romatoid Artrit'e Özgü Protein Protein Etkileşimi
RNA	Ribonükleik Asit
TF	Transkripsiyon Faktörü

1. GİRİŞ

1.1. Romatoid Artrit (RA) Hastalığı

Romatoid artrit (RA) hastalığının ilk semptomları 1800 yılında Landré-Beauvais tarafından fark edilmiş, 1859'da Alfred Garrod tarafından “Romatizmal Gut” olarak adlandırılmıştır. “Romatoid Artrit” terimini Archibald Garrod 1890'da yaptığı çalışmalarda bu hastalığa atıfta bulunmak için önermiştir (Entezami ve diğerleri, 2011). Romatoid artrit etiyolojisi tam olarak bilinmeyen inflamatuvar artrit ve eklemlerde sinoviyal doku iltihabına neden olan otoimmün bir hastalıktır. Genellikle eller, bilekler ve dizlerdeki eklemleri etkilerken, diğer doku ve organlar da etkilenebilir. Örneğin akciğerler, kalp ve kan damarları (Radu ve Bungau, 2021). RA’lı bir eklemden iltihaplanmadan kaynaklanan doku hasarı, ağrıya, dengesizliğe ve şekil bozukluğuna neden olabilir. Tedavi edilmezse ileride kemik aşınması, eklem iltihabı, kıkırdakta bozulma ve nihayetinde eklem stabilitesinin tamamen kaybı ile sonuçlanabilir. RA’lı hastalar semptomları kontrol altına almak ve hastalığın ilerlemesini geciktirmek için hastalık modifiye edici anti-romatizmal ilaçlar (DMARD) ile tedavi edilmelidir (Burmester ve Papa, 2017; Rindfleisch ve Muller, 2005).

RA, romatizmal inflamatuvar kas-iskelet sistemi hastalıkları arasında en sık görülen sistemik otoimmün bir hastalıktır ve dünya çapında milyonlarca insanı etkiler. Yaşla birlikte artan ve çoğunlukla 30 ila 65 yaşları arasında başlayan bu hastalık genç yaşlarda da görülebilir. Popülasyona göre değişiklik gösteren RA insidansı dünya genelinde 100.000 kişi başına yılda 10 ila 50 yeni vakadır ve kadınlarda erkeklere oranla 3 kat daha fazla görülmüştür. 1990’dan beri yapılan çalışmalara göre RA’nın prevalansı coğrafi konum, sosyoekonomik durum, cinsiyet veya çevresel faktörlere bağlı olarak değişebilir. Günümüzde RA’nın küresel prevalans oranı yaklaşık %0,5-%1

arasında değişmektedir ve kırsal alanlardan kentsel alanlara gidildikçe artış görülür (Finckh ve diğerleri, 2022; Radu ve Bungau, 2021; Chauhan ve diğerleri, 2023).

RA hastalığının klinik teşhisi, hastanın semptomlarının, fizik muayene bulgularının, laboratuvar testlerinin ve radyolojik görüntülerin bir kombinasyonuna dayanır. Semptomlar arasında ağrı, şişlik, sertlik, kızarıklık, sabah tutukluğu, yorgunluk, ateş ve genel halsizlik hissi yer alırken fizik muayene ile bu semptomların doktor eşliğinde değerlendirilmesi söz konusudur. X-ışınları, MRI ve ultrason ile hastalığın radyolojik görüntüleri elde edilir ve kesin bir tanıya varabilmek için laboratuvar testleri yapılır. Bu testler arasında RF (romatoid faktör), ACPA (anti-siklik sitrülünasyon peptid antikoru), ESH (Eritrosit sedimentasyon hızı), CRP (C-reaktif protein), TSH (Tam kan sayımı) testleri mevcuttur (Rindfleisch ve Muller, 2005; Zhao ve Li, 2018).

Romatoid artrit, hem genetik hem de çevresel faktörlerden etkilenen karmaşık bir otoimmün hastalıktır. RA'nın kesin nedenleri tam olarak anlaşılmamakla birlikte, tanımlanmış birkaç genetik risk faktörü vardır. Romatoid artrit ile ilişkili genetik risk faktörlerinden en önemlisi HLA (insan lökosit antijeni) genlerindeki D ile ilişkili HLADR01/04 allel varyasyonlarıdır. RA geliştirme riski olan diğer genler arasında PTPN22 (protein tirozin fosfataz 22) ve PADI4 (peptidil arginin deaminaz 4) tanımlanmıştır (Radu ve Bungau, 2021; McInnes ve Schett, 2017).

Diğer bir risk faktörü olan epigenetik modifikasyonların RA öncesi aşamadaki rolleri fazla bilinmese de RA'da varlığı kabul edilmiştir. RA hastalarında histon deasetilasyon enzimlerinin dengesinin bozulduğu, mikroRNA'ların düzensiz ifadesi ve bazı gen varyantlarının olduğu görülmüştür. ACPA+ bireylerde 500'den fazla diferansiyel olarak metillenmiş bölge tanımlanmış ve biyolojik olarak ilgili DNA

metilasyon değişiklikleri RA'da görülenlerle örtüşmüştür. Genetik olmayan diğer faktörlere sigara içme, hormonal faktörler, diyet ve yaşam tarzı gibi birçok örnek verilebilir (Petrovská ve diğerleri, 2021).

Romatoid artritinin patogenezi, genetik yatkınlık, çevresel tetikleyiciler, otoimmün yanıt, kronik sinovyal enflamasyon ve eklem dokularının yıkımının bir kombinasyonunu içerir. Bu süreçleri anlamak, hastalığı yönetmek için hedefe yönelik tedavilerin geliştirilmesine rehberlik etmeye yardımcı olur. Translasyon sonrası bir modifikasyonla arginin kalıntılarına sahip proteinlerin sitriline dönüşmesiyle, bağışıklık sistemi sitrulin proteinleri yabancı olarak algılar ve bir bağışıklık tepkisi oluşturur. Romatoid faktör (RF) ve anti-sitrulin protein antikorları (ACPA), bağışıklık sistemi tarafından üretilen ve RA'da en çok çalışılan otoantikorlardır. RF, immünoglobülin G'nin (IgG) Fc bölümünü hedefleyen bir immünoglobülin M (IgM) antikorudur. ACPA ise RA için daha özeldir ve sitrulin proteinleri hedefler ve sinoviyal sıvıda birikme ile immün kompleksler oluşturur (Radu ve Bungau, 2021).

RA'nın patogenezindeki diğer faktör Hava kirliliğidir. İnsanlar partikül maddeyi (PM) soluduklarında vücutlarında zararlı serbest reaktif oksijen türleri (ROS) üretilir. Bu ROS, nükleer faktör kappa B (NF-KB) proteinini aktive edebilir ve bu da T yardımcı hücre tipi 1 (Th1) özel bağışıklık hücrelerini aktive eder. Th1 hücreleri aktive edildiğinde, tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α), interlökin-1 (IL-1) ve interlökin-6 (IL-6) gibi enflamatuvar sitokinler üretirler. Bu sitokinler, dinlenen monositleri olgun dendritik hücrelere dönüştürür. Bunlar daha sonra kendi antijenlerini T lenfositlerine sunarak onların hedef dokulara hareket etmelerine ve eklem iltihabına neden olur. Ayrıca RA'nın patogenezinin bağırsak mikrobiyotası, azaltılmış ultraviyole B (UVB) radyasyonu, otofaji ve oksidatif stres de sebep olabilir (Radu ve Bungau, 2021; Mueller ve diğerleri, 2021).

1.2. Omik Teknolojiler

Omik veriler, biyolojik sistemleri hücresel düzeyde geniş ölçekte ve bütüncül bir şekilde inceleyen çeşitli tekniklerle üretilen moleküler veriler için ortak bir terimdir. Omik teknolojileri, bir hücre, doku veya organizmadaki DNA, RNA, protein veya metabolitler gibi büyük miktarda bulunan molekülleri analiz etmek için yüksek verimli yöntemler kullanır. Bu yöntemlerin entegrasyonu da sistem biyolojisinde sıkça kullanılan bir yaklaşımdır. Başlıca omik çalışmalar genomik, transkriptomik, epigenomik, proteomik ve metabolomik teknikleri kapsamaktadır (Horgan ve Kenny, 2011; Ning ve Lo, 2010).

İlk omik tekniği olan genomik, herhangi bir canlıda genleri tanımlamak ve genlerdeki mutasyonları belirlemek için tüm genom analizi yapan bir tekniktir. Böylece gen mutasyonlarının hastalıklarla olan ilişkisini belirler. Genomik teknikler DNA mikroyarray teknolojisi, birinci nesil Sanger dizileme, yeni nesil dizileme (NGS) ve üçüncü nesil uzun okuma dizileme (TGS) olarak bilinir (Dai ve diğerleri, 2022; Ivanova ve diğerleri, 2019).

Omik çalışmaların bir diğeri epigenomik çalışmalardır. Epigenomik, DNA'nın diziliminde bir değişiklik olmadan, gen ifadesini değiştirebilen mekanizmaları inceleyen bir bilim dalıdır. Amacı genetik düzenlemeleri anlamak ve bunun fenotipe nasıl yansıdığını açığa çıkarmaktır. Epigenomik, DNA metilasyonu, histon modifikasyonları ve çeşitli kodlayıcı olmayan RNA formları hakkında bilgi içerir. Günümüzde çalışılan en popüler epigenetik çalışma alanını metilomik oluşturmaktadır (Ivanova ve diğerleri, 2019; Yokus, 2013; Kim ve Lee, 2023).

DNA metilasyonu, genlerin promotör bölgelerinde bulunan CpG (sitozin-fosfat-guanin) adacıklarında meydana gelen metillenmedir. Promotör bölgenin metillenmesi

sonucu transkripsiyon faktörleri bağlanma bölgelerini tanıyamaz ve gen ifadesi bastırılır (Yokus, 2013). Metilomik teknikler arasında tüm genom bisülfıt dizilimi (BS-seq), metillenmiş DNA immünopresipitasyon dizilimi (MeDIP-seq) ve azaltılmış temsil bisülfıt dizilimi (RRBS) teknikleri yer alır (Yong ve diğerleri, 2016).

Transkriptomik çalışmalar belirli bir genomdan belirli bir zamanda kopyalanan RNA moleküllerinin ifade düzeyini ölçmeyi hedefler. Transkriptomların karşılaştırılması, farklı hücre popülasyonlarında veya farklı tedavilere yanıt olarak diferansiyel olarak ifade edilen genlerin tanımlanmasına izin verir. Transkriptomik çalışmalar için mikrodizi ve RNA dizileme teknikleri kullanılır (Mantione ve diğerleri, 2014; Lowe ve diğerleri, 2017).

Bir hücre, doku veya organizmada ifade edilen tüm proteinlerin yapı ve fonksiyonları, protein etkileşimleri ve aktiviteleri gibi geniş kapsamlı araştırmalar proteomik alanı kapsar. Proteomik teknolojileri, proteinleri tanımlamak, ölçmek ve karakterize etmek için kullanılır. Niteliksel ve niceliksel proteomların transkripsiyon sonrası, transkriptomik ve genomik seviyelerde analiz edilmesini sağlar. Niteliksel proteomik, protein bileşimini ve ifade değişikliklerini incelemek için mikrodiziler ve iki boyutlu jel elektroforezi (2-DE) yöntemlerini kullanarak hastalık mekanizmalarına ve farklı gruplar arasındaki karşılaştırmalara ışık tutar. Öte yandan, niceliksel proteomik, hastalık mekanizmalarını, hücrel fonksiyonları ve biyobelirteç keşfini daha derinlemesine araştırır. Proteomik üç ana türü kapsar: protein ifade modellerini ve koşullar arasındaki farklılıkları inceleyen ekspresyon proteomik, proteinlerin üç boyutlu yapısını belirlemeye odaklanan yapısal proteomik ve protein-protein etkileşimleri ve hücrel sinyal yolları olmak üzere hücreler içindeki protein fonksiyonlarını ve moleküler mekanizmaları araştıran fonksiyonel proteomik. Proteomik çalışmalarda özellikle proteomik ifade için kütle spektrometrisi (MS) tekniği yaygın olarak

kullanılmaktadır. (Al-Amrani ve diğ erleri, 2021; Dai ve diğ erleri, 2022; Horgan ve Kenny, 2011).

Metabolomik  alışmalar biyolojik numunelerdeki, başlıca glikoz, amino asit ve yağ asitleri olmak üzere daha birçok metabolit profili için incelemeleri içerir. Aynı numunedeki tüm metabolitlerin miktarını ölçmeyi amaçlar. Organizmanın fenotipiyle doğrudan bağlantılı olduğundan  evre, hastalık veya beslenme gibi değişen faktörlere verilen yanıtları ölçmek için yararlı olabilir. Metabolomik çalışmalarda kullanılan en yaygın üç teknik kütle spektrometrisi (MS), nükleer manyetik rezonans (NMR) spektroskopisi ve tamamlayıcı tekniklerdir (LC-MS, GC-MS) (Gupta ve diğ erleri, 2018; Kirwan, 2013).

1.3. Çoklu Omik Teknolojiler

 ki veya daha fazla omik veri kümesini (genomik, epigenomik, transkriptomik, proteomik gibi) birleştirmeyi amaçlayan çalışmalar çoklu omik olarak isimlendirilir. Çoklu omik yaklaşımların merkezinde veri entegrasyonu yer alır. Biyolojik sistemlerin düzenlenmesi birçok seviyede kompleks bir şekilde gerçekleştiği için sistemlerin ve hastalıkların patogenezinin tek tip veri kümesi analizi ile anlaşılması zordur. Bu sebeple birden fazla çalışmanın mevcut olduğu farklı omik teknolojileri kullanarak elde edilen verileri birleştirmek ve bilgi keşfini geliştirmek için veri entegrasyonu yoluyla bunların analizi gerçekleştirilir. Böylece gelişim, farklılaşma veya hastalık durumlarının altında yatan düzenleyici mekanizmalar hakkında daha kapsamlı ve ayrıntılı bir bilgi sağlar. Çoklu omik çalışmaları, veri analizi, entegrasyonu ve görselleştirmeyi destekleyen araçlara, yöntemlere ve platformlara ihtiyaç duyar (Pinu ve diğ erleri, 2019; Krassowski ve diğ erleri, 2020; Disatham ve diğ erleri, 2023).

Karmaşık biyolojiyi bütünsel olarak anlamayı kolaylaştıran entegre yaklaşımlar, moleküllerin etkileşimini anlamak için bireysel omik verilerini sıralı veya eşzamanlı bir şekilde birleştirir. Çoklu omik yaklaşımları ağ tabanlı, Bayesci, füzyon ve benzerlik tabanlı yaklaşımlar olarak sınıflandırılabilir (Subramanian ve diğerleri, 2020).

Genomik Modellerde Veri Entegrasyonu kullanan Yol Tanıma Algoritması (PARADIGM, Pathway Recognition Algorithm using Data Integration on Genomic Models) genomik verilerin biyolojik yollar bağlamında analizi ve yorumlanması için kullanılan denetimsiz bir ağ tabanlı Bayesci yöntemdir. Bireysel numunelerdeki yollar aktivitesini anlamak için gen ifadesi ve kopya sayısı verilerini kullanır. PARADIGM, Ulusal Kanser Enstitüsü (NCI) Yol Etkileşim Veri tabanındaki (PID) yolların ağ temsilini oluşturur. Daha sonra bu ağı hastaya özgü genomik verilerle birleştirir. Faktör grafiği olarak temsil edilen ayrı bir olasılıksal modele dönüştürür. (Subramanian ve diğerleri, 2020; Huang ve diğerleri, 2017).

Entegre yaklaşımlar için kullanılan diğer bir yöntem Benzerlik Ağı Füzyonu (SNF) algoritmasıdır. Temel olarak ağ tabanlı bir yaklaşımdır ve DNA metilasyonu, mRNA ve miRNA ifade verilerini kullanır. SNF, farklı veri kaynaklarından gelen her veri için ayrı bir hasta benzerlik ağı oluşturur ve daha sonra bu ağları tek bir ağda birleştirir (Bersanelli ve diğerleri, 2016; Menyhart ve Györfy, 2021). Bu olay iki ana adımda gerçekleşir: ilk olarak her veri kaynağı için, ayrı bir benzerlik matrisi hesaplanır. Benzerlik matrisleri, evrensel kümeleri ve ağları tanımlamaya yardımcı olur. Ardından farklı benzerlik matrisleri ağ füzyon yaklaşımı kullanarak yinelemeli olarak birleştirilir. Her bir yinelemede zayıf benzerlikler ortadan kaldırılır (Huang ve diğerleri, 2017; Subramanian ve diğerleri, 2020). Özetle SNF algoritması, heterojen verileri entegre etmek için esnek ve sağlam bir çerçeve sağlar. Birden çok veri kaynağını birleştirerek, her bir kaynağın güçlü yönlerinden yararlanabilir ve zayıf yönlerini telafi

edebilir. Araştırmacıların birden fazla kaynaktan yararlanarak daha derin iç görüler elde etmelerini ve daha doğru tahminler yapmalarını sağlar. Bu iki yöntem de (PARADIGM ve SNF) hastalık alt tiplerini belirlemek için kullanılır ancak biyobelirteçlerin tanımlanmasında uygulanmaları zordur (Menyhart ve Györfy, 2021).

Louhimo ve arkadaşları, kopya sayısı değişikliği (CNV), DNA metilasyonu ve gen ifadesi verilerinin entegre analizi için CNAmet paketini geliştirmiştir. Korelasyon temelli bir yaklaşım olan CNAmet'in asıl hedefi gen ifade seviyesi artmış ve metilasyon seviyesi azalmış olan genler ile gen ifade seviyesi azalmış ve metilasyon seviyesi artmış genleri belirlemektir. CNAmet algoritması üç adımda gerçekleşir. İlk adımda, ifade değerlerine göre kopya sayısı ve metilasyon değişikliklerini ölçmek için sinyal-gürültü istatistiği kullanılan ağırlık hesaplaması yapılır. İkinci olarak puan hesaplama adımı, ağırlık değerleri, ifadesi değişen genleri gösteren bir puanla birleştirilir. Son adım ise düzeltilmiş p değerleri hesaplanan, anlamlılık değerlendirme adımıdır. CNAmet algoritmasında, tüm veri kümeleri aynı örnek kümesine sahip olmalıdır (Louhimo ve diğerleri, 2011; Subramanian ve diğerleri, 2020).

MixOmics algoritması hastalık alt tipi ve biyobelirteçlerin belirlenmesinde kullanılan denetimli ve denetimsiz Çok değişkenli bir yaklaşımdır. Bu algoritma temel bileşen analizi (PCA), kısmi en küçük kareler regresyonu (PLS) ve kanonik korelasyon analizi (CCA) gibi çok değişkenli analiz türünde bir dizi yöntemi birleştirir. Bu yöntemler değişken sayısının (genler, proteinler, metabolitler), numune sayısından (hastalar, hücreler) fazla olduğu büyük omik veri kümelerini hesaplar ve verilerdeki büyük varyasyon kaynaklarını yakalayıp yansıtarak boyut küçültme gerçekleştirir. Ayrıca aynı numuneler üzerinde ölçülen birkaç veri setini birleştiren N-entegrasyon ve farklı numuneler üzerinde ölçülen aynı değişken (omik) türleri entegre eden P-entegrasyon yöntemini içerir. MixOmics, sonuçların yorumlanmasına yardımcı olmak

için grafikler, kümelenmiş görüntü haritaları ve ağ grafikleri gibi bir dizi görselleştirme aracı sağlar (Rohart ve diğerleri, 2017).

Denetimsiz ve Bayesci bir yaklaşım olan Çoklu Omik Faktör Analizi (MOFA), aynı veya kısmen örtüşen numunelerde çoklu omik verilerinin bütünleştirici analizi için kullanılan istatistiksel bir yöntemdir. MOFA, temel değişkenlik kaynaklarını yakalayan gizli faktörler açısından yorumlanabilir verilerin düşük boyutlu bir temsiliyi çıkarır. Böylece sürekli moleküler gradyanların veya ayrı numune alt gruplarının tanımlanmasına yardımcı olur. MOFA, metilasyon, gen ifadesi ve ilaç yanıt verilerinde bilinen ve yeni klinik belirteçlerin tanımlanmasını sağlar (Argelaguet ve diğerleri, 2018).

Çoklu omik entegrasyon çalışmalarında yukarıda bahsedilen hazır yazılım araçlarının yanı sıra duruma özgü geliştirilen özel iş akışları da kullanılmaktadır. Bu yaklaşımda araştırmacıların farklı biyolojik veri setlerini birleştirmeleri ve analiz etmeleri için esnek ve kişiselleştirilmiş bir yöntem geliştirilerek süreci belirli araştırma sorularına ve deneysel tasarımlara göre düzenler. Bu özel yaklaşımlar karmaşık ilişkileri analiz ederken belirgin olmayan yeni içgörülerini farklı bağlamlarda ortaya çıkarabilir (Karabekmez ve diğerleri, 2021; Taymaz-Nikerel ve diğerleri, 2018; Kori ve Yalcin Arga, 2018; Rahman ve diğerleri, 2020).

1.3.1. Çoklu Omik Veri Kümelerini İçeren Veri Tabanları

Amerikan Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi (NCBI) tarafından oluşturulan Gen İfadesi Omnibus (GEO), mikrodizi setlerini, yeni nesil dizileme ile elde edilen DNA sekanslarını, protein dizilerini ve metilomik verileri arşivleyen çoğunlukla halka açık bir veri tabanıdır. Verileri ham veri, işlenmiş veya meta veri olarak depolar. GEO veri kayıtları seriler (GSExxx), örnekler (GSMxxx), platformlar (GPLxxx) ve DataSetler

(GDSxxx) için erişim numaraları tanımlar. Aynı zamanda iki veya daha fazla numune grubunu karşılaştırmasına olanak tanıyan bir analitik araç olan GEO2R ara yüzü sunar. GEO2R deneysel koşullar altında farklı şekilde ifade edilen genleri tanımlamak ve görselleştirmek için kullanılan R tabanlı ve çevrimiçi kullanılabilen bir analiz aracıdır. Yanlış keşif oranı yöntemi İstatistiksel olarak anlamlı genlerin keşfi ile yalancı pozitiflerin sınırlandırılması arasında iyi bir denge sağladığı için varsayılan yöntem olarak Benjamini & Hochberg yöntemi seçilir, seçenekler kısmından bu yöntem değiştirilebilir. Diferansiyel olarak ifade edilen genlerin anlamlılık düzeyi kesme noktası (düzeltilmiş p değeri) sıfıra yakın bir değer olarak seçilebilir. Analiz sonucunda gen sembolü, t-test, p-değeri vb. veriler elde edilir (Barrett ve diğerleri, 2013).

Veri kümelerini belirlerken kullanılan bir diğer veri tabanı olan ArrayExpress, Avrupa Moleküler Biyoloji Laboratuvarı'nın (EMBL) bir parçası olan Avrupa Biyoinformatik Enstitüsü (EBI) tarafından kurulmuştur. Öncelikle mikrodizi ve RNA dizileme deneyleri olmak üzere gen, doku veya hastalıkla ilgili sorgulara izin veren bir veri tabanıdır ve genomik, metilomik, transkriptomik vb. verileri arşivler (Sarkans ve diğerleri, 2021).

1.3.2. Gen Seti Zenginleştirme Analizi (GSEA)

Çoklu omik veri kümelerinin entegrasyonu yoluyla elde edilen İfade düzeyleri anlamlı bir şekilde değişmiş genlerin ve değişen ifade düzeylerinin, biyolojik açıdan işaret ettiği anlamların ortaya konulması amacıyla fonksiyonel zenginleştirme analizleri yapılır. Bu analizler için g:Profiler (Kolberg ve diğerleri, 2023), DAVID 6.8 (The Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery) (Sherman ve diğerleri, 2022), Gen Ontolojisi (GO), Kyoto Gen ve Genom Ansiklopedisi (Kyoto

Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) (Kanehisa ve Goto, 2000), Enrichr (Kuleshov ve diğerleri, 2016) gibi bazı çevrimiçi yazılım araçları kullanılır.

g:Profiler veri tabanı gen listelerinin fonksiyonel zenginleştirme analizini sağlayan bir web sunucusudur. Sunucuya <https://biit.cs.ut.ee/gprofiler/gost> adresinden erişilebilir. Belirli bir gen listesindeki gen setlerinin istatistiksel olarak anlamlı zenginleştirilmiş biyolojik süreçleri, moleküler fonksiyonları, önemli yolları, düzenleyici motifleri ve protein komplekslerini saptar. Gen listeleri, gen kimlikleri ve protein kimlikleri dâhil olmak üzere çeşitli girdi biçimlerini destekler. Gene Ontology (GO), KEGG ve Reactome (Croft ve diğerleri, 2010) gibi farklı veri tabanlarını kullanır. Tablolar, grafikler ve HTML raporları gibi farklı çıktı biçimleri sağlar (Raudvere ve diğerleri, 2019). Benzer şekilde zenginleştirme analizi yapan diğer veri tabanı olan DAVID 6.8 (<https://david.ncifcrf.gov/>), gen listelerinin işlevsel açıklamasını ve yolların analizini sağlayan web tabanlı bir biyoinformatik kaynağıdır. İnsan Retrovirolojisi ve İmmünoinformatik Laboratuvarı (LHRI) tarafından geliştirilmiştir. Girdi olarak verilen genlerin yolların analizleri, hastalıkla ilişkileri, biyolojik işlevleri, hücresel bileşenleri ve moleküler fonksiyonları hakkında bilgi verir. Bu bilgilere GO, KEGG, Reactome, OMIM, BioCarta gibi veri tabanlarından ulaşır (Dennis ve diğerleri, 2003).

Gen Ontolojisi (GO) zenginleştirme analizi, moleküler fonksiyon (MF), biyolojik süreç (BP) veya hücresel bileşenlerine (CC) dayalı olarak genlere fonksiyonel açıklamalar tanımlarken yolların zenginleştirme analizi, ilgili gen setinde temsil edilen biyolojik yolların tanımlanmasını içerir. GO moleküler fonksiyon, moleküler seviyede kataliz veya bağlanma gibi aktiviteleri tanımlarken biyolojik süreç, apoptoz veya hücre bölünmesi gibi biyolojik hedefleri tanımlar. Hücresel bileşen ise sitoplazma veya zar gibi bir gen ürününü hücre altı konumunu tanımlar (Gene Ontology Consortium, 2004). Biyolojik yolların analizi için kaynak olarak KEGG veri bankası

kullanılabilir. KEGG, Kyoto Genler ve Genomlar Ansiklopedisi (<https://www.genome.jp/kegg/>) 1995'ten beri Kanehisa Laboratuvarları tarafından geliştirilmiş entegre bir veri tabanıdır. Genler ve işlevleri, kimyasal bileşikler ve biyolojik yollar, enzimleri ve reaksiyonları içeren metabolik yollar ve ilaçlar hakkında kapsamlı bilgi sağlayan alt veri tabanları (KEGG genleri, yolları, metabolizması, DrugBank) mevcuttur. KEGG, biyolojik süreçlerin moleküler temelini anlamak, potansiyel ilaç hedeflerini belirlemek ve hastalıklar için yeni tedaviler geliştirmek için kullanılabilir (Kanehisa ve diğerleri, 2017).

1.3.3. Transkripsiyonel Faktörlerin (TF) Belirlenmesi

Regülomik, biyolojik sistemlerdeki düzenleyici ağların tanımlanmasına ve analizine odaklanan bir çalışma alanıdır. Böylece genlerin ve proteinlerin biyolojik süreçleri kontrol etmek için nasıl etkileşime girdiğini daha iyi anlaşılmasına yardımcı olur. Regülomikler, gelişme, farklılaşma, hastalık ve yaşlanma dâhil olmak üzere çok çeşitli biyolojik süreçleri incelemek için kullanılabilir (Werner, 2004; Barh ve diğerleri, 2015).

Transkripsiyon faktörleri (TF), hedef genlerin promotörlerinde bulunan özel cis düzenleyici elementlere bağlanarak gen ifadesinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. TF'lerin düzenleyici elementlere bağlanmasının yanı sıra, TF'ler ve diğer proteinler arasındaki karmaşık etkileşimler de transkripsiyonu düzenler. TF'ler, kromatin yeniden modelleme proteinleriyle etkileşime girer ve DNA'nın erişilebilirliğini düzenleyerek gen transkripsiyonunu kontrol eder. Anormal şekilde kontrol edildiğinde kansere ve diğer bozukluklara neden olabilir (Göös ve diğerleri, 2022; Alves ve diğerleri, 2014).

TRRUST v2 (Transcriptional Regulatory Relationships Unraveled by Sentence-based Text mining) Regülomik çalışmalar kapsamında transkripsiyon faktörlerin araştırılıp bunların etki ettiği genlerin belirlenmesi ve nasıl bir düzenleyici etki gösterdiğini anlamayı hedefleyen halka açık bir veri tabanıdır. TRRUST, TF'ler ve hedefleri arasındaki etkileşimleri karakterize etmek için düzenleyici ağları biriktirir. istatistiksel olarak beşten az hedef gen içeren TF'leri ve tek bir genle örtüşen TF'leri hariç tutar (Han ve diğerleri, 2018). Yanlış keşif oranı olarak Benjamini-Hochberg prosedürü kullanarak hesaplama yapar (Han ve diğerleri, 2018).

1.3.4. Protein Protein Etkileşim (PPI) Ağı Analizi ve Görselleştirme

İnteraktomik, hücre içindeki moleküler etkileşimleri inceleyen ve anlamaya çalışan bir yaklaşımdır. Bu etkileşimler tüm biyomoleküller arasında gerçekleşir ancak mevcut çalışmalar daha çok protein-protein etkileşim ağları (PPIN) üzerinde odaklanır ve bu etkileşim ağlarını analiz ederek hücresel süreçleri anlamaya çalışır (Koh ve diğerleri, 2012).

Protein-protein etkileşimlerinin incelenmesi, proteinlerin kendi aralarında nasıl davrandığını anlamayı sağlar. Proteinler, Çoğu zaman birbirleriyle geçici veya kalıcı olarak fiziksel etkileşime girerler. STRING (Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins) veri tabanı (<https://string-db.org/>) fiziksel etkileşimler ve işlevsel ilişkiler hakkında bilgi sağlayan kapsamlı bir çevrimiçi kaynak sağlar. Bilinen ve tahmin edilen protein etkileşimlerinden oluşan bir ağ oluşturmak için deneysel çalışmalar, hesaplamalı tahminler ve derlenmiş veri tabanları dahil olmak üzere birçok kaynaktan veri toplar ve entegre eder. Kullanıcılar, ilgilendikleri belirli proteinleri veya protein dizisini arayabilir ve etkileşim halindeki ortakları, fonksiyonel ilişkileri ve ilgili

yolakları hakkında bilgi alabilir (Chi ve diğeri, 2013; Szklarczyk ve diğeri, 2023; Koh ve diğeri, 2012).

Çalışılan etkileşim ağlarında anlamlı bilgiler çıkarmak için bazı görselleştirme araçları vardır. Bu araçlardan en popüler olarak kullanılan Cytoscape'dir (Smoot ve diğeri, 2011). Veri entegrasyonu ve moleküler etkileşim ağlarını görselleştirmek için geliştirilmiş açık kaynaklı bir yazılım platformudur. Etkileşim ağlarında, etkileşen varlıklar (örneğin genler, proteinler, hücreler) düğümler olarak temsil edilir ve düğümler arasındaki etkileşimler kenarlar olarak temsil edilir. Cytoscape yazılımı ağın farklı özelliklerini veya özniteliklerini vurgulamak için renkler, boyutlar ve şekiller olmak üzere düğümlerin ve kenarların görsel görünümünü özelleştirmek için seçenekler sunar. Görselleştirmeye ek olarak ağ topolojisi analizi, kümeleme algoritmaları ve yol zenginleştirme analizi için tamamlayıcı araçlar sağlar (Smoot ve diğeri, 2011; Koh ve diğeri, 2012).

1.3.5. İlaç Yeniden Konumlandırma

Günümüzde bazı terapötik alanlarda sıfırdan ilaç geliştirmek yerine piyasada var olan ilaçlar üzerinden İlaç yeniden konumlandırma çalışmaları yapılır. İlacın yeniden konumlandırılması onaylanmış veya araştırma aşamasındaki ilaçlar için yeni kullanımların belirlenmesine yönelik bir stratejidir. Bu strateji, başarısızlık riskinin daha düşük olması, denenmiş olduğu için daha güvenilir olması, zaman açısından elverişli olması ve maliyeti düşüreceği için avantaj sunar. Yeniden konumlandırma çalışmaları yapılırken hesaplamalı ve deneysel yaklaşımlar vardır. Hesaplamalı yaklaşımlar imza eşleştirme (signature matching), moleküler yerleştirme (molecular docking), genetik ilişkilendirme (genetic association), yol haritalama (pathway mapping), retrospektif klinik analiz (retrospective clinical analysis), yeni veri kaynakları (novel data sources)

yöntemlerini içeri. Deneysel yaklaşımlar ise ilgili hedef etkileşimleri belirlemek için bağlanma deneyler (binding assays to identify relevant target interactions) ve fenotipik tarama (phenotypic screening) yöntemlerini içerir (Pushpakom ve diğerleri, 2019).

İlaç yeniden konumlandırma çalışmalarında kullanılan bazı veri tabanları vardır. Bunlar, CMap (Subramanian ve diğerleri, 2017), L1000CDS (Duan ve diğerleri, 2016), Enrichr (Kuleshov ve diğerleri, 2016), DT-Web (Alaimo ve diğerleri, 2015), DGIdb (Freshour ve diğerleri, 2021) vb. halka açık veri tabanlarıdır. Enrichr veri tabanı (<https://maayanlab.cloud/Enrichr/>) kullanıcıların gen listeleri üzerinde gen seti zenginleştirme analizi (GSEA) yapmasına izin veren web tabanlı bir araçtır. Araştırmacıların verilerini transkripsiyon, yolaklar, ontolojiler, hastalıklar/ilaçlar, hücre tipleri ve diğer işlevsel açıklamalar bağlamında analiz etmelerine ve yorumlamalarına olanak tanıyan geniş bir gen seti kütüphanesi koleksiyonu sağlar. Gen seti kütüphaneleri, gen gruplarının işlevi hakkında birikmiş bilgileri düzenlemek için kullanılır. Enrichr, sonuçların yorumlanmasına yardımcı olmak için çubuk grafikler, tablolar ve küme diyagramından oluşan görsellere yer verir (Chen ve diğerleri, 2013).

Bağlantı Haritası (CMap) veri tabanı (<https://clue.io/>) gen ifade profilleri ve ilaçlarla ilgili bilgiler sağlayan, büyük ölçekli pertürbasyon veri tabanıdır. İlaçlar, genler ve hastalıklar arasındaki ilişkileri incelemek için kullanılan genomik ve farmakoloji alanında değerli bir araçtır. Ayrıca küçük moleküllerin ilgili hedefleriyle biyokimyasal etkileşimlerini tahmin eder. CMap, benzer ifade imzalarına yol açan bozuklukları bulmaya yarayan sorgu (query) aracı, ilaçlara ait imzalar ile genlerin genetik kaybı/kazanımı arasındaki bağlantıları keşfetmeye yarayan mihenk taşı (touchstone) aracı ve veri kitaplığı (data library) vb. analiz araçlarını içerisinde barındırır. Sonuçların yorumlanmasında ısı haritası, kimyasallar ve hedeflerine ait tablo çıktıları verir (Musa ve diğerleri, 2018)

1.4. RA'ya İlişkin Omik Çalışmalar

1.4.1. RA'da Omik Yaklaşımlar ve Yapılan Çalışmalar

Omik teknolojilerinin ortaya çıkışı RA ve diğer hastalıklarla ilişkili çeşitli genetik ve epigenetik varyantların, genlerin, proteinlerin ve metabolitlerin ortaya çıkarılmasında önemli adımlardır. RA'ya özgü terapötik hedeflerin ve hastalık riskinin tahmini için omik veri kümelerinin analizi önemlidir. Bu doğrultuda yapılan bazı çalışmalar literatürde mevcuttur. Teixeira ve arkadaşları, 18 RA hastasından ve 15 sağlıklı donörden alınan periferik kan mononükleer hücrelerinden (PBMC), illumina Human-6v2 Expression BeadChips tekniğini kullanarak genom çapında gen ifade profili çıkarmak için çalışma yapmıştır. Farklılaşmış genlerin istatistiksel analizi tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılarak yapılmıştır. Yanlış keşif oranı (FDR), Benjamini-Hochberg prosedürüne göre ayarlanmıştır. Sağlıklı kontrollerle karşılaştırılan RA hastalarında önemli ölçüde farklı ifade seviyelerine sahip genlerin biyolojik süreçlerinin yorumlanması için PANTHER veri tabanından Gen Ontolojisi analizi uygulanmıştır. Çalışma sonucunda ise 339 önemli ölçüde ifade edilen gen (238 gen ifadesi azalmış ve 101 gen ifadesi artmış) bulunmuş. Kontrollere kıyasla hastalar karşılaştırıldığında ifadesi artmış genlerin biyolojik analizinde bağışıklık ve savunma sürecinin önemli rol oynadığı belirtilmiştir. İfadesi azalmış genlerin analizinde ise önemli bir süreç bulunamamıştır. Tüm örneklerde korelasyon gösteren LY96, S100A12, ORM2, ORM1 ve RPL31 ifadesi artan genler ile IL2RB, DNMT1, RUNX3 ve IRF1 ifadesi azalan genlerin gerçek zamanlı PCR ile doğrulanması gerçekleştirilmiştir. Böylece yenilikçi klinik biyobelirteçlerin tanımlanmasına katkıda bulunmuşlardır (Teixeira ve diğerleri, 2009).

Woetzel ve arkadaşları, romatoid artrit (RA) ve osteoartrit (OA) hastaları arasında ayırım yapmak için yeni bir yaklaşım açıklamıştır. Yazarlar, 20 sağlıklı kontrol, 26 OA

hastası ve 33 RA hastası olmak üzere 79 kişiden sinoviyal zar örnekleri kullanarak transkriptomik verileri analiz etmek için kurala dayalı sınıflandırma adı verilen bir yöntem kullanmıştır. Kural tabanlı sınıflandırıcılar, RA hastalarını ortalama %96 duyarlılık ve ortalama %94 özgüllükle doğru bir şekilde tanımlamışlar. Yazarlar ayrıca kural tabanlı sınıflandırıcılar tarafından tanımlanan genler arasındaki işlevsel ilişkileri analiz etmek için Pathway Studio'yu kullanmış ve gen zenginleştirme analizi için DAVID aracını kullanmıştır. Çalışma sonucunda RA sinoviyal dokusunda ifade edilen genler STAT1, GBP1, PLCG2, CSF2RB ve STK10 olarak belirlenmiş ve biyolojik yorumlarda interferon-gama ve GM-CSF'ye bağımlı yolların RA hastalarında önemli ölçüde zenginleştiğini ortaya çıkarmışlar. Tanımlanan biyobelirteçlerin, RA hastalarının teşhisi için ve klinik deneylerde hastaların sınıflandırılması ve izlenmesi için yararlı olabileceği vurgulanmıştır (Woetzel ve diğerleri, 2014).

Ye ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada RA hastaları ve sağlıklı kontrollerin periferik kanından izole edilen CD4 T hücrelerinden mikrodizi analizi yapılmıştır. Aday gen doğrulama analizi için bağımsız örneklerle t testi ve Bonferroni düzeltmesi uygulanmıştır. Elde edilen ifadesi değişmiş genlerin Gen Ontolojisi veri tabanı kullanılarak biyolojik yorumu yapılmıştır. Genler arasındaki etkileşimler ise İnsan Protein Referans Veri Tabanı (HPRD, Human Protein Reference Database) (Keshava Prasad ve diğerleri, 2009) ve Moleküler etkileşim veritabanı (MINT, Molecular INTeraction database) (Licata ve diğerleri, 2012) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tüm çalışmalar sonucunda SOCS3, CBL, IFNAR1, PIK3CA, KLF9, CSNK2A1, ZEB1, ZNF292 ve ZNF644 genleri önemli genler olarak belirlenmiştir ve RA'lı hastalardan alınan CD4 T hücrelerinin STAT3 sinyal yolunda ve Wnt sinyalinde anormal fonksiyonel ağlara sahip olduğuna dair kanıt sağlanmıştır.

Ayrıca birkaç çinko parmak transkripsiyon faktörünün anormal ifadesinin RA için potansiyel patojenik faktörler olabileceği düşünülmüştür (Ye ve diğerleri, 2015).

Pitaksalee ve arkadaşları, erken RA hastalarında farklılaşan metilasyon seviyelerini tespit etmek amacıyla çalışma yapmıştır. Yazarlar, çalışmada RA hastalarını ve sağlıklı kontrolleri karşılaştırmak için monositler, saf ve hafıza CD4+T hücrelerinden yararlanarak DNA metilasyon profili çıkarmıştır. Üç hücre tipinde de metilasyon seviyelerinin farklılaştığını görmüşler ancak en çok saf CD4+T hücrelerinde belirgin olduğunu bulmuşlardır. Saf CD4+ T-hücrelerinin daha ileri analizinde, sitokinler ve reseptörleri olmak üzere hastalıkla ilgili çeşitli yollarla ilişkili 500'den fazla genin promotöründe metilasyon seviyelerinin farklılaştığını ortaya çıkarmıştır. Bu hücrede bisülfid dizileme ve pyrosequencing (piro dizileme) yapılarak TNF-alfa geninin bir bölgesinde metilasyon seviyesinin azaldığı ve ELISA yöntemi ile erken RA'da daha önce veri bulunmayan 3 sitokin (IL21, IL34 ve RANKL) ifade seviyesindeki artış doğrulanmıştır. Yazarlar metilasyonu farklılaşan gen listesindeki 70 gen sembolünü ifadesi farklılaşan genlerle eşleştirmiş ve STRING veri tabanı kullanarak belirlediği TNF sinyali ve Th17 hücre farklılaşmasıyla ilişkili olan IL6/JAK1/STAT3 düğümünü daha ayrıntılı şekilde araştırmıştır (Pitaksalee ve diğerleri, 2020).

Julia ve arkadaşları, B hücrelerinde RA hastalığına özgü DNA metilasyon değişikliklerini belirlemek için epigenom çapında bir ilişkilendirme çalışması (EWAS) gerçekleştirmiştir. Yazarlar DNA metilasyon seviyelerini Infinium HumanMethylation450 dizisi kullanarak ölçmüş ve biyolojik yolak analizi için PLINK set tabanlı analize dayalı yeni bir ilişkilendirme yöntemi (Yol Metilasyon Analizi, PMA) geliştirmiştir. Biyolojik yolları, MSigDB veri tabanından analiz etmiştir. Çalışmalar sonucunda 64 CpG bölgesinde metilasyon seviyesinde farklılaşma gözlenmiş ve CBL sinyal yolu, CTLA-4 inhibe edici sinyal, IL-3, -5 ve GM-CSF

sinyali, JAK-STAT sinyal yolunu da içeren 6 biyolojik yolağın RA için önemli olduğunu belirtmişlerdir (Julià ve diğerleri, 2017).

1.4.2. RA’da Çoklu Omik Yaklaşımlar ve Yapılan Çalışmalar

Çoklu omik analizi, birden fazla omik verinin çoklu seviyelerde toplu analizini ifade eder ve RA’nın patogenezini anlamak için yeni fırsatlar sağlar. Yapılan çalışmalar, çoklu omik verilerinin entegre analizinin RA’da terapötik hedeflerin belirlenmesi ve biyobelirteçler hakkında yararlı bilgiler sağlar, hastalıkların daha anlamlı ve bütünsel yorumlanması için olanak tanır (Ding ve diğerleri, 2023; Ota ve Fujio, 2021). Whitaker ve arkadaşları, RA’da terapötik yaklaşımlar için aday genlere öncelik vermek üzere RA fibroblast benzeri sinoviyositlerde (RA-FLS) epigenom, transkriptom ve genom çapına bütünleştirici analiz gerçekleştirmiştir. Veri setlerinin analizinden sonra üç veri setinde çakışan çoklu kanıt genleri (MEG, multi-evidence genes) belirlediler. Yazarlar, RA ile ilgili MEG’lerde önemli ölçüde zenginleştirilmiş immünolojik yolak ve RA’da daha önce belirlenmemiş bir gen olan ELMO1 (Engulfment and cell motility protein 1) genini tanımladı. Bu genin hücre göçünü ve istilasını desteklediğini belirtti. RA’nın patogenezinde kritik rol oynayabilecek yolakları ise Hücre adezyon molekülleri (CAM’ler) yolu, Sitokin-sitokin reseptörü etkileşimi yolu, Antijen işleme ve sunum yolu, ve Jak-STAT sinyal yolu olarak tanımladılar (Whitaker ve diğerleri, 2015).

Yapılan bir başka çalışmada Fan ve arkadaşları, metillenmiş RNA immünopresipitasyon dizilimi (MeRIP-seq) ve RNA dizilimi (RNA-seq) kullanarak RA’da metilasyonu ve ifadesi farklılaşan genlerin (DMEG’ler) belirlenmesi ile Triptolide’in (TP), RA’ya karşı terapötik potansiyel hedefini analiz etmiştir. Yazarlar, RA hastalarından alınan PBMC örneklerinden MeRIP-seq analizi ile N6-metiladenozin (m6A) metilasyonunu ortaya çıkardı ve ifadesi farklılaşan genleri belirlemek için RNA-

seq analizi yaptı. Daha sonra hem m6A modifikasyonu hem de mRNA seviyelerinde büyük farklılıklar gösteren genlerin "Protein taşıma" ve "protein bağlama"da zenginleşme gösterdiğini ve KEGG yolak analizlerinde, bu DMEG'lerin öncelikle "lizozom"da zenginleştiğini belirtir. TP hedef proteinleri ve DMEG'ler arasında moleküler ağlar oluşturup TUBB2A, IGF2BP3, DYNC1I1 ve FOSL1 genlerinin TP'nin hedef proteinleri ile korele olan en ilgili genler olduğunu gösterdi. Yazarlar, gerekli doğrulamalar sonucunda IGF2BP3'ün RA tedavisi sırasında TP'nin yeni bir potansiyel hedefi olabileceğini gösterdi (Fan ve diğerleri, 2022).

Literatürde RA ile ilgili sınırlı sayıda çoklu omik yaklaşımlı çalışma mevcuttur. Var olan ve veri entegrasyonu kullanan çalışmalar ise ya bölgesel ya da belirli bir gene özeldir. Bu sebeple RA'nın geniş bir açıdan incelenmesi ve anlaşılması için literatürde yeterli çalışma olmadığı görülmüştür.

Bu çalışmanın amacı, RA hastalığının teşhisinde ve tedavisinde kullanılabilecek yeni biyobelirteçleri bulabilmek, RA'nın biyolojik aktivitesini ve yeni ilaç hedeflerini belirlemektir. Böylece RA'nın daha etkin bir şekilde tanınmasına, hastalığın seyrinin tahmin edilmesine ve kişiselleştirilmiş tedavi stratejilerinin geliştirilmesine yardımcı olabileceğimizi umuyoruz. Bu çalışmada hücre, doku ve sistem düzeyinde bütüncül bir bakış açısı ile hareket ederek farklı seviyelere ait omik verilerin (transkriptomik, metilomik, regülomik ve interaktomik) entegre analizi yoluna gidilmiştir. PBMC, sinovyum, T ve B hücreleri olmak üzere farklı biyolojik kaynaklardan elde edilen transkriptomik ve metilomik veri kümeleri ile çalışma yapılmıştır. Her veri kümesinin RA'da farklılaşan genleri tespit edilmiştir. DEG ve DMG'lerin kesişiminden elde edilen ortak gen listesinin biyolojik süreç ve yolak analizleri yapılarak RA'nın altında yatan mekanizmalar anlaşılmaya çalışılmıştır. Genlerin birbiriyle olan etkileşimleri

incelenmiş ve anatar genler belirlenmiştir. Ayrıca RA tedavisinde kullanılmayan potansiyel terapötik ilaçların yeniden konumlandırılması gerçekleştirilmiştir.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Çoklu Omik Veri Kümelerinin Belirlenmesi

Çalışmamıza öncelikle GEO'dan (Gen Expression Omnibus) Romatoid Artrit hastalığına ait veri kümelerinin taranmasıyla başlandı. Çalışmada doğrudan hasta ve sağlıklı grupların bulunduğu transkriptomik ve metilomik veri kümeleri seçildi. Herhangi bir tedavi uygulanan hastalar ve model organizma veya hücre hattı içeren örnekler hariç tutuldu. Transkriptomik çalışmalar için toplamda 94 sağlıklı kontrol(K) ve 104 RA hasta örneği içeren GSE1919 (Ungethuem ve diğerleri, 2010), GSE55235 (Woetzel ve diğerleri, 2014), GSE55457 (Woetzel ve diğerleri, 2014), GSE77298 (Broeren ve diğerleri, 2016), GSE38351 (smiljanovic ve diğerleri, 2012), GSE56649 (ye ve diğerleri, 2015), GSE4588 (Lauwerys ve diğerleri, 2006), GSE10500 (Broeren ve diğerleri, 2016) ve GSE15573 (Teixeira ve diğerleri, 2009) erişim kodlu veri kümeleri tespit edilmiştir. Metilomik çalışmalar için ise 101 sağlıklı kontrol ve 91 hasta örneği içeren GSE71841 (Guo ve diğerleri, 2017), GSE87095 (Julià ve diğerleri, 2017) ve GSE121192 (Pitaksalee ve diğerleri, 2020) erişim kodlu veri kümeleri tespit edilmiştir. Bu veri kümeleri sinoviyal doku, sinoviyal sıvı, periferik kan mononükleer hücreler (PBMC), monositler, CD4+T hücreleri, CD19+B hücreleri gibi farklı biyolojik kaynaklar içerir. Seçilen veri kümelerinin listesine ek-1'de yer verilmiştir.

2.1.1. Veri Kümelerinin Analizi

Tüm veri kümeleri, GEO'nun analitik bir aracı olan GEO2R ile analiz edildi. Her çalışma için örnekler panelinden hasta ve sağlıklı kontrol olmak üzere iki grup tanımlandı ve örnek satırları vurgulanarak ilgili gruplara atandı. Benjamini & Hochberg

yanlış keşif oranı yöntemi seçildi. Diferansiyel olarak ifade edilen genlerin anlamlılık düzeyi kesme noktası (düzeltilmiş p değeri) 0,05 olarak seçildi. Analiz edildi. İki grup arasında logaritmik kat değışimi (LogFC) yönünü belirlemek için gen ifadesi profil grafiğine bakıldı ve çalışma kaydedildi.

2.1.2. Tanskriptomik Çalışmalar ve Farklılaşan Gen İfadesi (DEG) Tayini

GEO'dan indirilen dokuz transkriptomik veri kümesi için gerekli filtrelemeler yapıldı. Yanlış pozitifliğin ortadan kaldırılması için düzeltilmiş p değeri 0,05 veya altındaki değerler olarak seçildi. LogFC değerinde bir sınırlama yapılmadı ve değerlerin yönüne göre negatif olanlar yukarı yönde ifade edilen, pozitif olanlar aşağı yönde ifade edilen genler olarak belirlendi. Farklı şekilde ifade edilen genler (DEG, differential expression gene) arasında tekrar edenler çıkarıldı ve toplam DEG sayısı belirlendi.

2.1.3. Metilomik Çalışmalar ve Farklılaşan Gen Metilasyonu (DMG) Tayini

GEO'dan indirilen üç metilomik veri kümesi için gerekli filtrelemeler yapıldı. Düzeltilmiş p değeri 0,05 veya altındaki değerler filtrelendi. Genlerin promotör bölgesi olarak kabul edilen “TSS200” ve “TSS1500” bölgelerine denk gelen genler filtrelendi. Metilasyon düzeyi farklılaşan genler (DMG, differential methylation gene) arasında tekrar edenler çıkarıldı ve toplam DMG sayısı belirlendi.

2.1.4. Çoklu Omik Veri Kümelerinin Entegrasyonu

GEO veri tabanında elde ettiğimiz gen ifadesi ve DNA metilasyon verilerinin mevcut olduğu çalışmalarda genlerin bütünleşik listesi hazırlandı. Transkriptomik veri kümelerinin her birinden elde edilen İfade düzeyi farklılaşan genler belirlenerek en az iki veri kümesinde tanımlanan DEG'ler listelendi. Aynı şekilde metilomik veri kümelerinden elde edilen metilasyon seviyesi değışen genler belirlenerek en az bir veri

kümesinde tanımlanan DMG'ler listelendi. Yapılan analizler sonucunda hipermetile olup aynı zamanda gen ifadesi azalan genler (hiper-DMG ve aşağı-DEG) ile hipometile olup aynı zamanda gen ifadesi artan genler (hipo-DMG ve yukarı-DEG) belirlendi.

2.2. Fonksiyonel Zenginleştirme Analizi

Fonksiyonel zenginleştirme analizleri açık erişimli g:Profiler ve DAVID 6.8 analiz araçları kullanılarak gerçekleştirildi. Gen listemiz belirlenen platformlara yüklendi. Biyolojik yolak analizi için kaynak olarak KEGG veri bankası kullanıldı. Gen ontolojisi (GO) zenginleştirme analizine sadece biyolojik süreç dâhil edildi ve omik verilerinin yorumlanması sağlandı. g:Profiler için düzeltilmiş P değeri (adj-p-değeri), DAVID için P değeri anlamlılık düzeyi 0,05 ve altındaki değerler olarak sınırlandırıldı. Elde edilen verilerin ayrıntılarına bulgular kısmında yer verildi.

2.2.1. Transkripsiyonel Faktörlerin ve Hedef Genlerin Analizi

Regülojik çalışmalar kapsamında transkripsiyon faktörleri (TF) araştırılıp bunların etki ettiği genler belirlendi. Bunu yaparken TRRUST v2 veri tabanı kullanıldı (Han ve diğerleri, 2018). Gen listemizi yükledikten sonra TF'ler ve onların etki ettiği genler görüntülendi. Aynı zamanda TF ve hedef arasındaki ilişkinin gen ifadesine ne yönde etki ettiği belirlendi. Düzeltilmiş p değeri 0,05'ten küçükler seçildi ve sonuçlara bulgular kısmında yer verildi. TRRUST ara yüzünde çoklu gen listesi için ayrılan panele yükleme yapıldı (şekil 1) (<https://www.grnpedia.org/trrust/>).



1. Search a gene in TRRUST database

Submit a query gene below.

Tables for [human genes](#) and [mouse genes](#) included in TRRUST.

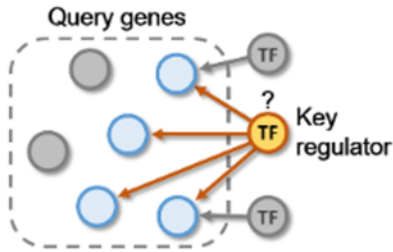
Species: ☒ Human ☐ Mouse

****Examples****

2. Find key regulators for query genes

Submit a set of genes for a function/pathway/phenotype. (Min=5, Max=500)

Each gene name must be separated by comma, tab, white space or new line.
Input format: Entrez Gene ID (79923) or Gene Symbol (NANOG)



Species: ☒ Human ☐ Mouse

****Examples****

Example gene sets

#1: 33 DEGs perturbed by ESR1 knockdown in human breast tumors.
Muthukaruppan et al., Clin Breast Cancer, 2017

Şekil 1. TRRUST Ara Yüzü

2.2.2. PPI Ağ Analizi ve Görselleştirme

Protein-protein etkileşim (PPI) ağı analizi için STRING çevrimiçi veri tabanı (Szkarczyk ve diğerleri, 2023) kullanıldı. Kümülatif gen listemiz veri tabanındaki çoklu proteinler paneline yüklendi ve analiz edildi (şekil 2) (<https://string-db.org/>). Etkileşim ağı haritasında hiç etkileşime girmemiş olan düğümler ağdan uzaklaştırıldı. Veri tabanının gerçekleştirdiği zenginleştirme analizi tablosu sonuçlara eklendi.

Protein by name >

Multiple proteins >

Proteins by sequences >

Proteins with Values/Ranks >

Protein families ("COGs") >

Pathway / Process / Disease ^{New} >

Annotate your proteome ^{New} >

Organisms >

Examples >

Random entry >

SEARCH

Multiple Proteins by Names / Identifiers

List Of Names: (one-per-line or CSV; examples: #1 #2 #3)

...

... or, upload a file:

Browse ...

Organisms:

auto-detect ▼

[Advanced Settings](#)

SEARCH

Şekil 2. *STRING* Ara Yüzü

Elde edile protein-protein etkileşim ağı ise Cytoscape programı ile görselleştirildi. Ağ haritasında düğümler olarak adlandırılan ifadesi azalan veya artan genler farklı şekilde renklendirildi. Düğüm derecelerine göre merkezi genler seçildi ve MCODE eklentisi uygulanarak yüksek oranda birbirine bağlı genler belirlendi. Belirlenen genlerin biyolojik süreç ve yolak analizi sonuçlara eklendi.

2.2.3. Transkripsiyonel Faktörlerin Ağ Haritasına Entegrasyonu

TRRUST veri tabanından çekilen transkripsiyon faktörler Cytoscape programı ile görselleştirilen PPI ağına entegre edildi. Eklenen düğümler farklı şekillerle görselleştirildi ve etkileşime girdiği hedef genleri ile bağlantılar manuel olarak kuruldu. Transkripsiyon faktörü ve genler arasında ne tür bir etkileşim olduğu farklı oklarla gösterildi ve sonuçlara bulgular kısmında yer verildi.

2.2.4. İlaç Yeniden Konumlandırma Analizi

İlaç yeniden konumlandırma analizleri CMap ve Enrichr veri tabanlarından yapıldı. CMap platformunda yapılan analiz sorgu (query) aracı ile gerçekleştirildi. Listemizdeki gen ifadesi azalan ve artan genler belirlenen ayrı panellere yüklenerek sorgu parametresi gen ifadesi (L1000) olarak ayarlandı ve analiz edildi. Enrichr platformunda yapılan analizde ise belirlediğimiz merkezi genler analiz paneline yüklendi. Hastalıklar/ilaçlar sekmesinde yer alan farklı veri tabanlarından entegre edilen ilaçlardan anlamlı olanlar seçildi. Genlerimizle etkileşime giren anlamlı ilaç hedeflerine bulgular kısmında yer verildi.

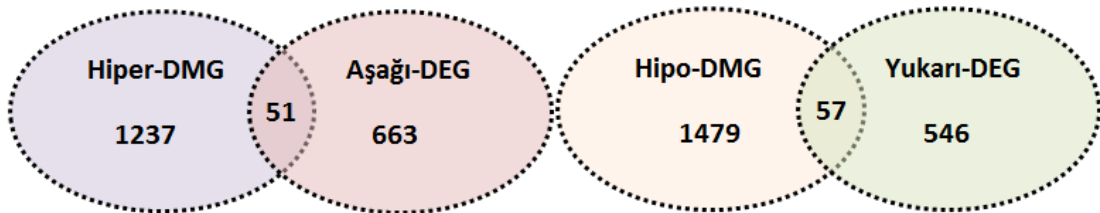
3. BULGULAR

3.1. DEG'lerin ve DMG'lerin Tanımlanması

Çalışmanın amacına uygun olarak dokuz farklı transkriptomik ve üç farklı metilomik veri seti GEO çevrimiçi veri tabanından çekildi. RA hastalarına ve sağlıklı kontrollere ait farklı dokulardan alınan örnekleri içeren profiller GEO2R analiz aracı ile analiz edildi. Her bir veri seti için düzeltilmiş p değeri 0,05'ten küçükler filtrelenerek DEG'ler ve promotör bölgedeki DMG'ler elde edildi. Transkriptomik veri kümelerinden toplam 11976 DEG tespit edildi. [GSE1919 (411 DEG), GSE55235 (2440 DEG), GSE55457 (1633 DEG), GSE77298 (131 DEG), GSE38351 (151 DEG), GSE56649 (4807 DEG), GSE4588 (805 DEG), GSE10500 (1027 DEG), GSE15573 (571 DEG)]. Bunların 5557'si ifade seviyesi artan genler, 6419'u ise ifade seviyesi azalan genler olarak listelendi. Metilomik veri kümelerinden toplamda 2908 DMG tespit edildi. [GSE71841 (1885 DMG), GSE87095 (403 DMG), GSE121192 (620 DMG)]. Bunların 1204'ü metilasyon seviyesi artan genler (hipermetile), 1704'ü ise metilasyon seviyesi azalan genler (hipometile) olarak listelendi.

3.1.1. DEG'lerin ve DMG'lerin Bütünleşik Analizi

İfadesi anlamlı şekilde değişen genlerin (DEG'lerin), gen ifadesine hangi yönde etki ettiğini anlamak için ifadesi azalan (aşağı-DEG) ve ifadesi artan (yukarı-DEG) genler tespit edildi. DEG'ler arasında tekrar eden genler çıkartıldı. Transkriptomik çalışmalardan elde edilen en az iki veri kümesinde hastalar ve normal kontroller arasında önemli ölçüde farklı şekilde ifade edilen genler listelendi. Bunlardan RA hastalarında ifade seviyesi artan 603 gen ve RA hastalarında ifade seviyesi azalan 714 gen tespit edildi. Metilomik çalışmalarda ise metilasyon seviyesi artan genler (hipermetile) ve metilasyon seviyesi azalan genler (hipometile) tespit edildi. Tekrar eden DMG'ler çıkarıldı. RA hastalarında metilasyon seviyesi en az bir veri setinde artan 1288 gen ve metilasyon seviyesi en az bir veri setinde azalan 1536 gen bulundu. Daha sonra belirlenen hipermetile genler ile ifade seviyesi azalan genlerin kesişimi alındı ve 51 gen listelendi. Aynı şekilde belirlenen hipometile genler ile ifade seviyesi artan genlerin kesişimi alındı ve 57 gen ayrıca listelendi. Elde edilen sonuçlar Venn şeması şeklinde gösterildi (şekil 3) ve tespit edilen ortak genler sembolleriyle tablo 1'de gösterildi. DEG ve DMG'lerin ortak genleri hangi veri kümesinde etkili olduğu tablo şeklinde eklerde gösterilmiştir (Ek-2).



Şekil 3. Metilasyon Seviyesi ve Gen İfadesi Farklılaşan Ortak Genlerin Venn Şeması

Tablo 1. Ortak Genlerin Listesi

Yön	Gen Sembolü
hipo-DMG ve yukarı-DEG	RALGAPB, TAPBPL, ASH2L, DOCK4, TMED5, DMTF1, FBXL17, IL15, MREG, TRAF5, ZDHHC6, RNF11, COL1A2, RABEP2, RBM4B, PAPSS2, TRIP12, LAP3, CD58, TMF1, TXNDC15, LBR, TRAPPC11, PHF11, ADNP, CD44, BUB1, CLU, TCIRG1, PTPRE, TPK1, XAF1, FYN, TRIM22, CASP8, RAD51, GCA, CCNA2, CBFA2T3, CEP135, INPP5F, ENTPD1, ABCG1, MX1, LY6E, TAP1, EIF5B, TXNDC9, PCNA, ZFC3H1, ALG6, IFIT1, SAMD9, TPM4, RAP1GDS1, FCAR, HSPB11
hiper-DMG ve aşağı-DEG	UBTF, BAIAP2, ALDH3A2, LILRA4, TCF7L2, HIF3A, CLNS1A, MAFK, DUSP7, SLC16A7, TEX261, DHX9, CDKN1C, WRNIP1, FNTA, CP, TACC2, RAP1GAP, MAST4, ITM2B, LDB3, PHKB, KCNJ4, PNMT, SKP1, PRDX6, DHCR24, TAF15, BET1L, RAB2A, EFNB2, GLP1R, SLC25A4, JOSD1, FOXJ3, ABTB2, EHBP1, SMAD7, MYH11, FOXO3, CHKA, ZFP36L1, LYST, FBXO42, TULP3, SCRIB, CAMK1D, AHNK, FAF2, ABL1, FOXO1

3.2. Fonksiyonel Zenginleştirme Analizi

3.2.1. Gen Ontolojisi Zenginleştirme Analizi

DEG ve DMG entegrasyonundan elde edilen ortak genlerin kümülatif bir listesi çıkarıldı ve toplamda 108 gen elde edildi. Bu listede yer alan genlerin biyolojik işlevlerini anlamak için g:Profilер ve DAVID 6.8 çevrimiçi analiz araçları kullanıldı. İstatistiksel olarak önemli ölçüde zenginleştirilmiş Gen Ontolojisi (GO), biyolojik süreç (BP) dikkate alınarak belirlendi. g:Profilер Gen Ontoloji BP analizi sonuçlarına göre kontrollere kıyasla hastalar karşılaştırıldığında organik maddeye tepki, kimyasal tepki, strese tepki vb. süreçlerin RA'da önemli rol oynadığı tespit edildi ve anlamlı olanlar listelendi (Tablo2).

Tablo 2. g:Profilер GO Zenginleştirme Analizi

Kategori	Terim Adı	Terim ID	Adj-P-Değeri
GO: BP	Organik maddeye tepki	GO:0010033	0,00005
GO: BP	Kimyasal tepki	GO:0042221	0,0019
GO: BP	Kimyasal uyarana hücrel tepki	GO:0070887	0,0021
GO: BP	Strese tepki	GO:0006950	0,0021
GO: BP	Organik maddeye hücrel tepki	GO:0071310	0,0095
GO: BP	Nöron ölümünün pozitif düzenlemesi	GO:1901216	0,0111

GO: BP	Uyarana tepki	GO:0050896	0,0124
GO: BP	Nitrojen bileşimine hücrel tepki	GO:1901699	0,0190
GO: BP	Protein metabolik süreci	GO:0019538	0,0232
GO: BP	Strese hücrel tepkinin düzenlenmesi	GO:0080135	0,0253
GO: BP	Hücrel lokalizasyon	GO:0051641	0,0311
GO: BP	Protein metabolik sürecinin düzenlenmesi	GO:0051246	0,0338
GO: BP	Hücrel makromolekül lokalizasyonu	GO:0070727	0,0350

DAVID Gen Ontoloji zenginleştirme analizi sonuçlarına göre ise biyolojik süreç (BP), apoptotik sürecin pozitif düzenlenmesi, apoptotik süreç ve dönüştürücü büyüme faktörü beta uyarısına hücrel yanıt önemli ölçüde zenginleşme gösteren biyolojik süreçler arasında yer alır. Anlamlı biyolojik süreçler ve bu süreçlerde etkili olan genler listelenmiştir (Tablo3).

Tablo 3. DAVID GO Zenginleştirme Analizi

Kategori	Terim Adı	Terim ID	P-Değeri	Gen Sembolü
GO: BP	Apoptotik sürecin pozitif düzenlemesi	GO:0043065	0,0023	CASP8, CAMK1D, ABL1, SCRIB, TEX261, FOXO3, CLU, FOXO1
GO: BP	Apoptotik süreç	GO:0006915	0,0061	CASP8, TRAF5, MX1, DHCR24, TCIRG1, HIF3A, XAF1, BUB1, FOXO1, ZFP36L1
GO: BP	Dönüştürücü büyüme faktörü beta uyarısına hücrel yanıt	GO:0071560	0,0064	ABL1, FYN, ZFP36L1, SMAD7
GO: BP	Hidrojen peroksit hücrel tepki	GO:0070301	0,0078	PCNA, ABL1, FYN, FOXO1
GO: BP	Peptidil-tirozin fosforilasyonunun pozitif regülasyonu	GO:0050731	0,0154	IL15, ABL1, ADNP, CD44
GO: BP	Mitotik hücre döngüsünün negatif regülasyonu	GO:0045930	0,0157	CDKN1C, ABL1, SCRIB
GO: BP	Hücre-hücre yapışması	GO:0098609	0,0210	ABL1, SCRIB, CD58, BAIAP2, CD44
GO: BP	I-kappaB kinaz/NF-kappaB sinyalinin pozitif regülasyonu	GO:0043123	0,0213	CASP8, TRAF5, ABL1, FYN, TRIM22

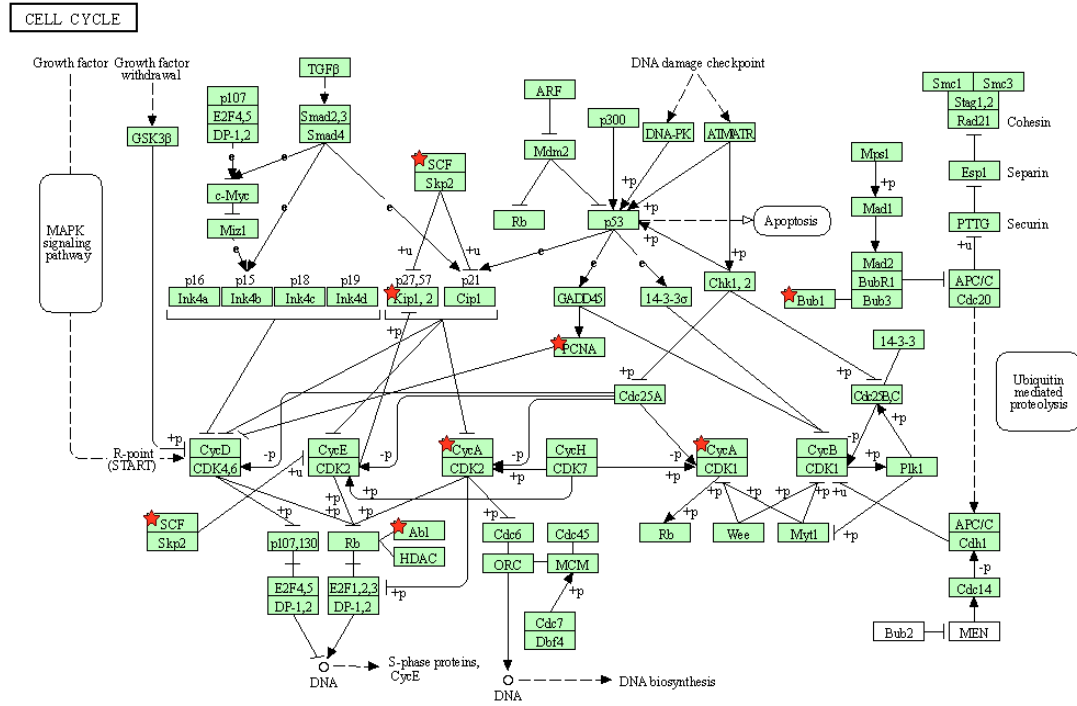
GO: BP	Zar füzyonu	GO:0061025	0,0222	GCA, MX1, BET1L
GO: BP	Virüse yanıt	GO:0009615	0,0231	MX1, IFIT1, CLU, TRIM22
GO: BP	Kan damarı gelişimi	GO:0001568	0,0252	TCF7L2, COL1A2, FOXO1
GO: BP	L-glutamata hücre sel yanıt	GO:1905232	0,0271	FYN, BAIAP2
GO: BP	Hidrojen peroksit aracılı programlanmış hücre ölümünün pozitif düzenlemesi	GO:1901300	0,0324	ABL1, FOXO3
GO: BP	Protein taşıma	GO:0015031	0,0338	RAB2A, RABEP2, TAP1, LYST, EHBP1, TMED5, BET1L
GO: BP	ER'den Golgi vezikül aracılı taşımaya	GO:0006888	0,0354	RAB2A, TRAPPC11, TEX261, TMED5
GO: BP	ERK1 ve ERK2 kaskadı	GO:0070371	0,0366	ABL1, ZFP36L1, DUSP7
GO: BP	Fibroblast proliferasyonunun pozitif regülasyonu	GO:0048146	0,0403	CCNA2, DHX9, ABL1
GO: BP	Konakçı tarafından virüse karşı savunma tepkisinin düzenlenmesi	GO:0050691	0,0430	IL15, DHX9
GO: BP	Aktifleştirilmiş T hücre çoğalması	GO:0050798	0,0430	ABL1, FYN
GO: BP	Tümör nekroz faktörüne hücre sel yanıt	GO:0071356	0,0463	DHX9, CD58, FCAR, ZFP36L1
GO: BP	Doğuştan gelen bağışıklık tepkisi	GO:0045087	0,0487	SAMD9, DHX9, MX1, WRNIP1, FYN, CLU, TRIM22, LILRA4

3.2.2. KEGG Yolak Zenginleştirme Analizi

DEG ve DMG entegrasyonundan elde edilen ortak genlerin kümülatif bir listesi g:Profiler ve DAVID çevrimiçi analiz araçlarına girildi ve önemli ölçüde zenginleştirilmiş KEGG yolları belirlendi. g:Profiler analizinde hücre döngüsü yolağında anlamlı bir zenginleşme görülmüştür (tablo 4). Zenginleştirme analizi için yüklenen gen listemizde yer alan genler arasında hücre döngüsü yolak haritasında anlamlı role sahip olan genler (BUB1,CCNA2,PCNA,CDKN1C,SKP1,ABL1) yıldız ile işaretlendi. Bu genlerin çoğunlukla yolak içinde baskılayıcı etki gösterdiği görülmüştür (şekil 4) (<https://www.genome.jp/kegg/>).

Tablo 4. *g.Profiler KEGG Yolak Analizi*

Kategori	Terim Adı	Term İD	Adj-P-Değeri	Gen Sembolü
KEGG	Hücre Döngüsü	KEGG:04110	0,0284	BUB1,CCNA2,PCNA,CDKN1C,SKP1,ABL1



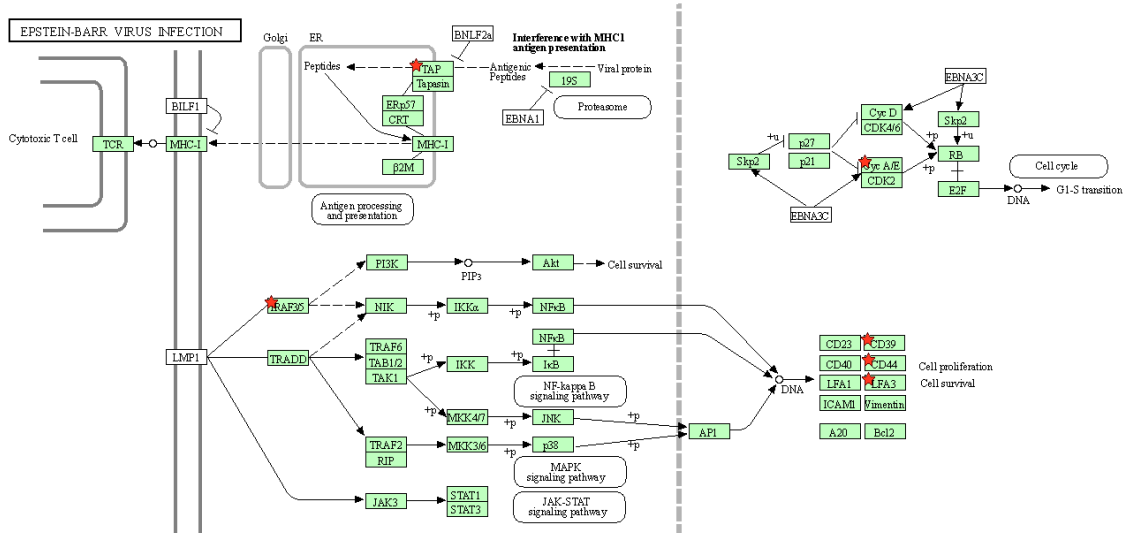
Şekil 4. *KEGG Hücre Döngüsü Yolak Haritası*

DAVID analiz sonucuna göre hücre döngüsü ve Epstein-Barr virüs enfeksiyonu yollarında RA için anlamlı bir zenginleşme görüldü. (Tablo 5). Gen listemizde bulunan genlerden Epstein-Barr virüs enfeksiyonu yolak haritasında anlamlı role sahip olan genler (CCNA2, ENTPD1, CASP8, TRAF5, TAP1, CD58, CD44) yıldız ile işaretlendi. Bu genlerin genellikle hücre çoğalması ve hücre sağ kalımı ile ilgili olduğu görülmüştür (şekil 5) (<https://www.genome.jp/kegg/>).

Tablo 5. *DAVID KEGG Yolak Analizi*

Kategori	Terim Adı	Terim ID	P-Değeri	Gen Sembolü
KEGG	Hücre döngüsü	hsa04110	0,0022	CDKN1C, CCNA2, PCNA, ABL1, BUB1, SKP1

KEGG	Epstein-Barr virüsü enfeksiyonu	hsa05169	0,0034	CCNA2, ENTPD1, CASP8, TRAF5, TAP1, CD58, CD44
KEGG	İnsan papilloma virüsü enfeksiyonu	hsa05165	0,0100	CCNA2, TCF7L2, CASP8, COL1A2, MX1, SCRIB, TCIRG1, FOXO1
KEGG	Alkolik karaciğer hastalığı	hsa04936	0,0198	ALDH3A2, TCF7L2, CASP8, FOXO3, FOXO1
KEGG	Hücre yaşlanma	hsa04218	0,0269	CCNA2, FOXO3, SLC25A4, FOXO1, ZFP36L1
KEGG	Kanserde yollar	hsa05200	0,0383	CCNA2, TCF7L2, RAD51, CASP8, IL15, TRAF5, ABL1, FOXO1, SKP1



Şekil 5. KEGG Epstein-Barr Virüs Enfeksiyonu Yolak Haritası

3.2.3. Transkripsiyon Faktör ve Hedef Genlerin Tanımlanması

DEG ve DMG entegrasyonundan elde edilen gen listemiz ile insan transkripsiyon faktörlerinin (TF) düzenleyici aktivitesini ve hedef genleri üzerindeki aktifleştirici veya engelleyici etkilerini tahmin etmek için TRRUST (Transcriptional Regulatory Relationships) çevrimiçi veri tabanı kullanıldı. EP300, TSC22D3, HDAC1, MEN1, KLF5, HOXA10, RFX1, CREBBP, TP53, YY1, MYB, MYCN, SIRT1 olmak üzere 13

TF ve bunların hedeflediği 15 gen (PCNA, RAD51, TRIM22, COL1A2, FOXO3, FOXO1, CD44, SMAD7, CASP8, MYH11, CDKN1C, IL15, CCNA2, TCF7L2, CLU) belirlendi. Süzme kriteri olarak düzeltilmiş p-değeri <0,05 olanlar alındı. Anahtar TF'ler ve etki ettiği genlere Tablo 6'da yer verilmiştir.

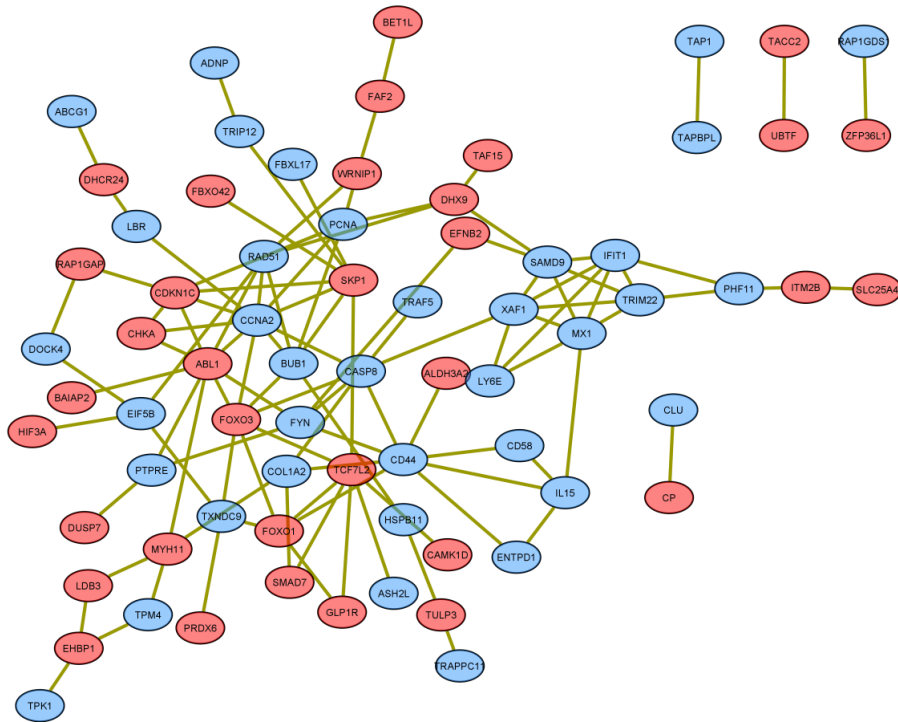
Tablo 6. TRRUST Çevrimiçi Veri Tabanından Elde Edilen Anahtar TF'ler

Anahtar TF	Açılımı	Gen Sayısı	Adj-P-Değeri	Gen Adı
EP300	E1A binding protein p300	4	0,00337	PCNA,RAD51,TRIM22,COL1A2
TSC22D3	TSC22 domain family, member 3	2	0,00337	FOXO3,FOXO1
HDAC1	histone deacetylase 1	4	0,00514	PCNA,CD44,SMAD7,COL1A2
MEN1	multiple endocrine neoplasia I	2	0,00906	RAD51,CASP8
KLF5	Kruppel-like factor 5 (intestinal)	2	0,00974	MYH11,FOXO1
HOXA10	Homeobox A10	2	0,00974	CDKN1C,IL15
RFX1	regulatory factor X, 1 (influences HLA class II expression)	2	0,00974	PCNA,COL1A2
CREBBP	CREB binding protein	2	0,0235	RAD51,TRIM22
TP53	tumor protein p53	4	0,0323	CCNA2,TRIM22,FOXO3,TCF7L2
YY1	YY1 transcription faktor	3	0,0323	COL1A2,PCNA,SMAD7
MYB	v-myb myeloblastosis viral oncogene homolog (avian)	2	0,0362	IL15,COL1A2
MYCN	v-myc myelocytomatosis viral related oncogene, neuroblastoma derived (avian)	2	0,0479	CD44,CLU
SIRT1	sirtuin 1	2	0,0499	FOXO3,COL1A2

3.3. Ağ analizi ve Görselleştirme

3.3.1. Protein-Protein Etkileşimi (PPI) Ağ Analizi

Protein-protein etkileşimi (PPI) ağ analizi, hasta ve sağlıklı bireyler arasındaki biyolojik tepkileri anlamak, proteinler arasındaki etkileşimi belirlemek için önemli bir araçtır. STRING çevrimiçi veri tabanı kullanılarak 108 gen içeren kümülatif gen listemiz analiz edildi. 108 gen arasından hiç etkileşime girmemiş olan 37 düğüm görselden uzaklaştırıldı. 71 düğüm ve 109 kenar içeren RA'ya özgü protein-protein etkileşim ağı (RA-PPI) Cytoscape programı ile görselleştirildi. Kırmızı renkli düğümler hiper-DMG ve aşağı-DEG genleri temsil ederken, mavi renkli düğümler hipo-DMG ve yukarı-DEG genleri temsil eder ve kenarlar (yeşil) iki gen arasındaki bağlantıyı gösterir. Etkileşime giren genler RA-PPI ağındadır (Şekil 6).



Şekil 6. RA-PPI Ağı Görüntüsü

Kırmızı düğümler, hiper-DMG & aşağı-DEG; Mavi düğümler, hipo-DMG & yukarı-DEG; Kenarlar (yeşil), genler arası etkileşim.

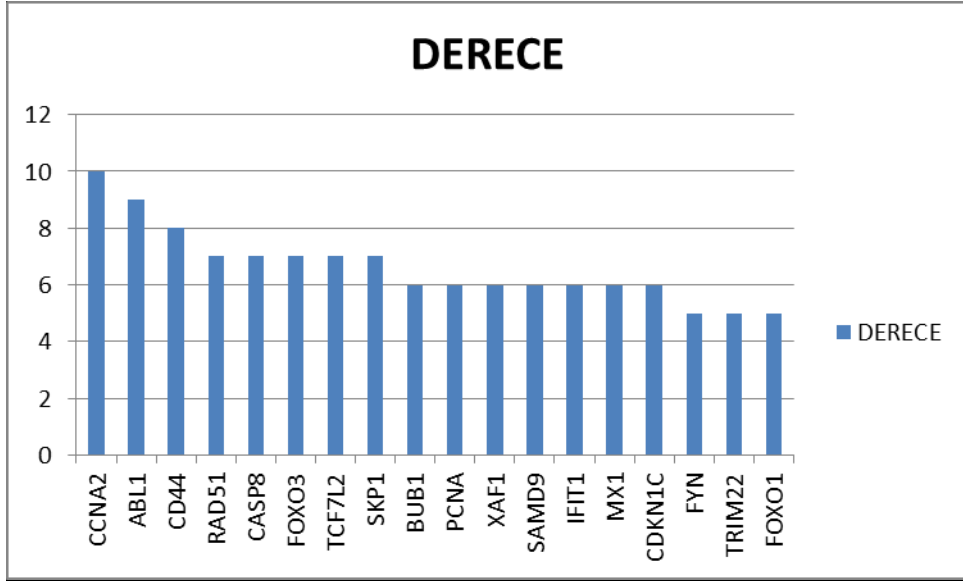
RA-PPI ağının fonksiyonel zenginleştirme analizi yapıldı. Gen ontolojisi için biyolojik işlev dikkate alınarak tabloda listelendi, bunlar arasında en fazla zenginleşme görülen strese tepki, hücresel bileşen organizasyonu, bağışıklık sistemi süreci ve hücresel süreç vb. biyolojik süreçler oldu. Yolak analizleri için ise KEGG, Reactome ve Wikipathways yolakları listelendi, bunlar hücre döngüsü, Epstein-Barr virüsü enfeksiyonu, bağışıklık sistemi gibi önemli yolaklardı. RA-PPI ağının zenginleştirme analizine göre önemli görülen biyolojik süreçlere ve yolaklara tablo 7’de yer verilmiştir.

Tablo 7. *STRING Veri Tabanı RA-PPI Ağının Fonksiyonel Zenginleştirme Analizi*

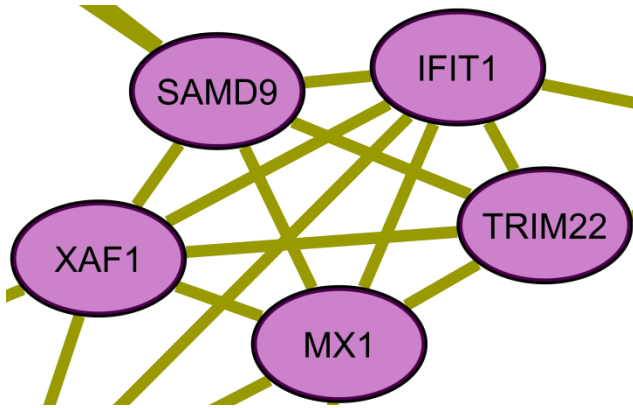
Kategori	Terim Adı	Terim ID	Yanlış keşf oranı (FDR)
GO: BP	strese tepki	GO:0006950	0,0029
GO: BP	Hücresel bileşen organizasyonu	GO:0016043	0,0162
GO: BP	Bağışıklık sistemi süreci	GO:0002376	0,0316
GO: BP	Hücresel süreç	GO:0009987	0,0316
GO: BP	Organik maddeye tepki	GO:0010033	0,0316
GO: BP	sitokine yanıt	GO:0034097	0,0316
GO: BP	Sitokin uyarısına hücresel yanıt	GO:0071345	0,0316
GO: BP	Nöron ölümünün pozitif düzenlemesi	GO:1901216	0,0333
GO: BP	Kimyasala tepki	GO:0042221	0,0370
GO: BP	Organizmalar arasındaki türler arası etkileşim	GO:0044419	0,0402
GO: BP	Vezikül aracılı taşıma	GO:0016192	0,0468
GO: BP	DNA hasarı uyarısına tepkinin düzenlenmesi	GO:2001020	0,0468
KEGG	Hücre döngüsü	hsa04110	0,0231
KEGG	Epstein-Barr virüsü enfeksiyonu	hsa05169	0,0231
Reactome	Bağışıklık sistemi	HSA-168256	0,0141
Wikipathways	Hücre döngüsü	WP179	0,0446

STRING veri tabanından çekilen RA-PPI ağında bulunan merkezi ve en yüksek etkileşime sahip 18 gen (CCNA2, ABL1, CD44, FOXO3, RAD51, TCF7L2, SKP1, CASP8, CDKN1C, BUB1, PCNA, XAF1, SAMD9, IFIT1, MX1, FYN, FOXO1, TRIM22) belirlendi. Bu genler en yüksek düğüm derecelerine göre sıralandı (Şekil 7). Ayrıca Cytoscape programından MCODE eklentisi kullanılarak yüksek oranda birbirine

bağlı 5 gen (5 düğüm, 10 kenar) seçildi, bu genler merkezi genler içerisinde var olan MX1, TRIM22, XAF1, SAMD9, IFIT1 genleridir (Şekil 8).



Şekil 7. RA-PPI Ağının Merkezi Etkileşime Sahip Genleri



Şekil 8. MCODE Eklentisi İle Belirlenen Yüksek Oranda Birbirine Bağlı Genler

Bu beş gen için tekrar zenginleştirme analizi yapıldı. Çoğunlukla zenginleşme görülen gen ontolojisi biyolojik süreçler arasında viral yaşam döğüsünün düzenlenmesi, antiviral doğuştan gelen bağışıklık tepkisi, viral sürecin düzenlenmesi gibi düzenleyici

ve savunma fonksiyonlarıyla birlikte hepatit-C KEGG yolağında da zenginleşme görüldü (Tablo 8).

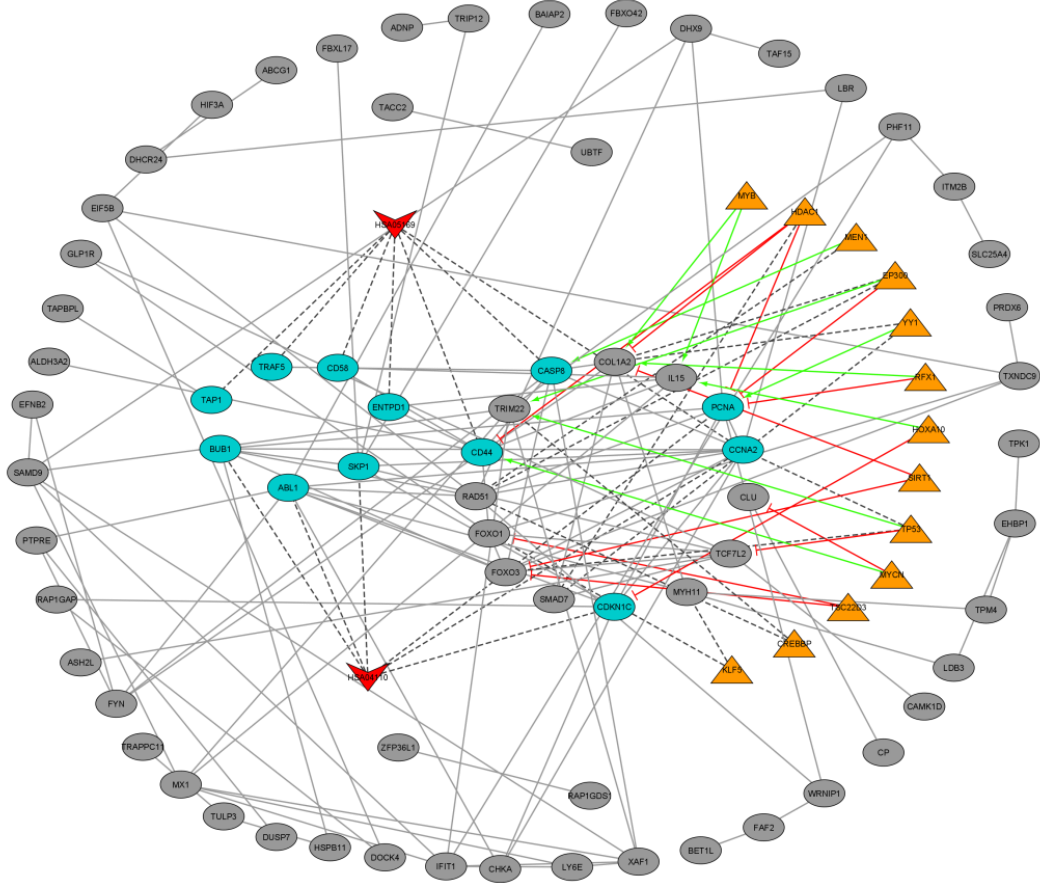
Tablo 8. MCODE Eklentisi İle Belirlenen Genlerin Zenginleştirme Analizi.

Kategori	Terim Adı	Terim ID	Adj-P-Değeri
GO: BP	viral yaşam döngüsünün düzenlenmesi	GO:1903900	0,0022
GO: BP	viral sürecin düzenlenmesi	GO:0050792	0,0034
GO: BP	antiviral doğuştan gelen bağışıklık tepkisi	GO:0140374	0,0083
GO: BP	virüse karşı savunma tepkisi	GO:0051607	0,0236
GO: BP	simbiyota savunma tepkisi	GO:0140546	0,0238
GO: BP	viral yaşam döngüsü	GO:0019058	0,0252
KEGG	Hepatit C	KEGG:05160	0,0094

3.3.2. Transkripsiyon Faktör ve Hedef Genlerin Ağ Analizi

İnsan transkripsiyon faktörleri ve bunların hedef genleri arasındaki transkripsiyonel düzenleme ilişkisini gösteren bir ağ haritası manuel olarak oluşturuldu. Anahtar TF'ler, bazı genler üzerinde etki gösterdi. Üçgen şeklindeki düğümler TF'leri ve bunların genlerle bağlantısı oklarla gösterildi. Burada bir gene birden fazla TF'nin etki ettiği anlaşılıyor ve kesikli (yeşil) oklar ile şekil 9'da gösterilmiştir. Örneğin FOXO3 genini hem TSC22D3 hem de SIRT1 TF'ü düzenler.

yolakları gösterir ve mavi renkli elips şeklindeki düğümler ise yolakların etkileşime girdiği genleri gösterir. Genlerin nasıl bir etki gösterdiği bilinmediği için kesikli gri oklarla gösterildi (şekil 11).



Şekil 11. KEGG Zenginleşme Yolakları ve Etkileşen Genleri Gösteren Ağ Haritası

Kırmızı ters üçgenler, yolaklar; mavi elipsler, genler; gri kesikli oklar, yolak-gen etkileşimi.

3.4. Potansiyel Terapötik Hedefler ve Küçük Moleküllerin Yeniden

Konumlandırılması

Merkezi genleri RA'da terapötik hedefler olarak göz önünde bulundurarak, aday ilaçları veya küçük molekülleri tanımlamak için CMap ve Enrichr platformları kullanıldı. Analiz sonucunda 34 ilaç tanımlandı (tablo 9). Bunlardan 1'i RA için onaylıdır, 1'i RA tedavisi için klinik araştırma aşamasında ve 14'ü RA için deneme

çalışması yapılan ilaçlardır. Bir ilacın ise onayı geri çekilmiştir. Geriye kalan 17 ilaç RA ile ilgili bir çalışması bulunmayan adaylardı. İnfigratinib, Bosutinib, SB-216763, Rigosertib (ON-01910), Tozasertib, AG-957 (Tyrphostin), AT-9283, ZM-323881, RN-1734, Selinexor (KPT-330), BIX-01294, H-89, IBC-293, WH-4023, HY-11007, HG-6-64-01, HG-5-113-01 ilaçları RA tedavisi için potansiyel terapötik hedefler olarak yeniden konumlandırıldı. Yeniden konumlandırılan 4 aday (WH-4023, HY-11007, HG-6-64-01, HG-5-113-01) için literatürde tedaviye yönelik herhangi bir çalışma bulunamadı.

Tablo 9. Potansiyel İlaç Adayları

İlaç Adı	Tedavi	Durum	Etki Mekanizması	RA Çalışması
İbrutinib	Kronik Lenfositik Lösemi (KLL) Mantle Hücreli Lenfoma (MCL)	Onaylı	Bruton tirozin kinaz (BTK) inhibitörü	Var
İnfigratinib	Kolanjiokarsinom	Onaylı	fibroblast büyüme faktörü reseptörüne (FGFR) özgü tirozin kinaz inhibitörü	Yok
Tofacitinib	Romatoid Artrit Ankilozan Spondilit Ülseratif Kolit	Onaylı	janus kinaz (JAK) inhibitörü	Var
Bosutinib	Kronik Miyeloid Lösemi (KML)	Onaylı	BCR-ABL ve SRC tirozin kinaz inhibitörü	Yok
Pazopanib	Yumuşak Doku Sarkomu (STS) Renal Hücreli Karsinom (RCC)	Onaylı	Çoklu Tirozin Kinaz (VEGFR, PDGFR, FGFR, LCK, c-KIT) İnhibitörü	Var
Ezetimib	Kolesterol	Onaylı	Kolesterol Emilim İnhibitörü	Var
SB-216763	Miyokardiyal Enfarktüs Alzheimer	Belirtilmemiş	Glikojen Sentaz Kinaz-3 (GSK-3) İnhibitörü	Yok
Betulinik-asit	Displastik Nevus Sendromu	Onaylı	Topoizomerez inhibitörü	Var

Rigosertib (ON-01910)	Miyelodisplastik Sendrom (MDS)	Klinik	Polo benzeri kinaz 1 (PLK-1) inhibitörü	Yok
Dasatinib	Kronik Miyeloid Lösemi (KML) Akut Lenfoblastik Lösemi (ALL)	Onaylı	BCR-ABL Tirozin Kinaz İnhibitörü	Var
Tozasertib	Katı Tümör / Kanser	Klinik	Pan-Aurora Kinaz İnhibitörü	Yok
Nilotinib	Kronik Miyeloid Lösemi (KML)	Onaylı	BCR-ABL Tirozin Kinaz İnhibitörü	Var
Tyrphostin AG-957	Kronik Miyeloid Lösemi (KML)	Belirtilmemiş	Protein Tirozin Kinaz (PTK) inhibitörü	Yok
PP2	Adenokarsinom	Belirtilmemiş	SRC İnhibitörü	Var
AT-9283	Kanser / Katı Tümör	Klinik	JAK İnhibitörü Aurora Kinaz İnhibitörü	Yok
İmatinib	Kronik Miyeloid Lösemi (KML) Akut Lenfositik Lösemi (ALL)	Onaylı	BCR-ABL Tirozin Kinaz İnhibitörü	Var
Saracatinib (AZD-0530)	Kanser Osteosarkom	Klinik	SRC Kinaz İnhibitörü	Var
Rapamisin (Sirolimus)	Organ Nakli Reddi Lenfanjiyoleiomyomatozis (LAM)	Onaylı	mTOR İnhibitörü	Var
Vorinostat	Kutanöz T-Hücreli Lenfoma (CTCL)	Onalı	Histon Deasetilaz (HDAC) inhibitörü	Var
Resveratrol	Herpes Labialis Enfeksiyonları (Uçuk)	Belirtilmemiş	Belirtilmemiş	Var
Etoposid	Testis Kanseri Küçük Hücreli Akciğer Kanseri (SCLC)	Onaylı	Topoizomerez İnhibitörü	Var
TAK-715	Romatoid Artrit (RA)	Klinik	Mitojenle Aktive Olan Protein Kinaz (MAPK) İnhibitörü	Var
ZM-323881	Belirtilmemiş	Belirtilmemiş	Vasküler Endotel Büyüme Faktörü (VEGF) Reseptör İnhibitörü	Yok
RN-1734	Belirtilmemiş	Belirtilmemiş	Geçici Reseptör Potansiyeli Vanilloid 4 (TRPV4) inhibitörü	Yok
Selinexor (KPT-330)	Multipl Miyelom	Onaylı	Exportin 1 (XPO1) inhibitörü	Yok
BIX 01294	Belirtilmemiş	Belirtilmemiş	Histon	Yok

			Metiltransferaz İnhibitörü	
H 89	Belirtilmemiş	Belirtilmemiş	Protein Kinaz A İnhibitörü	Yok
IBC 293	Belirtilmemiş	Belirtilmemiş	Belirtilmemiş	Yok
EHNA	Belirtilmemiş	Belirtilmemiş	Adenozin Deaminaz İnhibitörü	Var
WH-4023	Belirtilmemiş	Belirtilmemiş	SRC inhibitörü	Yok
HY-11007	Belirtilmemiş	Belirtilmemiş	BCR-ABL Kinaz İnhibitör	Yok
HG-6-64-01	Belirtilmemiş	Belirtilmemiş	RAF İnhibitörü	Yok
HG-5-113-01	Belirtilmemiş	Belirtilmemiş	Protein Kinase İnhibitor	Yok

4. TARTIŞMA

Romatoid artrit (RA), tam kökeni belirlenemeyen en yaygın inflamatuvar artrit tiplerinden biridir ve eklemlerdeki sinoviyal doku iltihabına neden olan otoimmün bir rahatsızlıktır (Radu ve Bungau, 2021). RA'nın ilerlemesi kemik aşınması, eklem iltihabı, kıkırdak tahribatı ve nihayetinde eklem stabilitesinin tamamen kaybı ile sonuçlanabilir (Rindfleisch ve Muller, 2005). RA'nın nüfusun ~% 1'ini etkilediği ve kadınlarda erkeklerden üç kat daha sık görüldüğü bildiriliyor. Ek olarak, RA her yaşta ortaya çıkabilir, ancak en sık 30-65 yaşları arasında görülür ve insidans oranı yaşla birlikte artar (Finckh ve diğerleri, 2022; Chauhan ve diğerleri, 2023). RA hastalığının gelişiminde hem çevresel hem de genetik faktörler rol oynar (Radu ve Bungau, 2021). RA patogenezinin tam olarak bilinmiyor olması bizi hastalığın altında yatan mekanizmaların anlaşılması amacıyla çoklu omik veri kümelerinin bütünleşik analizine sürüklüyor.

Bu çalışmada sinovyum, PBMC, T ve B hücre kaynaklarından çalışma yapılmış olan transkriptomik ve metilomik veri kümeleri kullandık. Gen ifade profili veri kümeleri ile gen metilasyon profili veri kümelerini entegre ettik. Transkriptomik veri kümelerinde

DEG'leri belirlerken kesişen ortak genleri filtrelemek veri kapsamını önemli ölçüde azaltabileceği için genlerin bütünleştirici analizi yoluna gidildi. Aynı işlemi DMG'ler için de gerçekleştirdik. Listelenen DEG'lerin ve DMG'lerin kesişiminden elde edilen 108 gen belirledik. Daha sonra bunların fonksiyonel zenginleştirme analizini yaparak RA için önemli olan biyolojik süreçleri ve önemli yolları belirledik. Çalışmamızda veri türleri arasındaki ölçek farkları, istatistiksel analiz karmaşıklığı ve biyolojik anlam çıkarma zorlukları sebebiyle genomik çalışmalar veri kümelerimize entegre edilmemiştir.

Gen ontolojisi (GO) ve KEGG yolak analiz sonuçlarımıza göre en fazla zenginleşme görülen biyolojik süreçler arasında organik maddeye tepki, kimyasal tepki, apoptotik sürecin pozitif düzenlenmesi başta olmak üzere dönüştürücü büyüme faktörü beta uyarısına hücresel yanıt, hidrojen perokside hücresel tepki ve peptidil-tirozin fosforilasyonunun pozitif regülasyonu vb. süreçler yer alır ve hücre döngüsü ile Epstein-Barr virüs enfeksiyonu RA'nın patogenezinde rol oynayan önemli yollar arasında yer alır. William ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada RA'da gözlemlenen sinoviyal fibroblastların, iltihaplı hücrelerin ve osteoklastların çoğalmasının, bu hücrelerde programlanmış hücre ölümünün (apoptoz) bastırılması ve hücre çoğalmasının ise desteklenmesi ile ilişkili olduğunu belirtmiştir (Williams ve diğerleri, 2018). Bu çalışma apoptotik süreç ve hücre döngüsü sonuçlarımızın RA'daki önemini doğrular niteliktedir. Epstein-Barr virüsü (EBV), İnsan herpes virüsü 4 (HHV-4) olarak da bilinen çift sarmallı bir DNA virüsüdür. Bağışıklığı zayıf kişilerde çeşitli kanser türlerine neden olabilir. EBV, insan proteinleriyle benzerlikler paylaşan proteinlere sahiptir ve bu, yanlışlıkla vücudun kendi dokularını hedef alan ve potansiyel olarak bir otoimmün tepkiye ve RA'ya yol açan bir bağışıklık tepkisini tetikleyebilir. Epstein-Barr nükleer antijen-1 (EBNA-1), EBV enfeksiyonu sırasında ifade edilen viral bir proteindir

ve RA'lı bazı bireylerin sinoviyal dokusunda bulunmuştur. Bu, EBV ile eklem iltihabı gelişimi arasında potansiyel bir bağlantı olduğunu düşündürmektedir (Toussiroot ve Roudier, 2007). Bazı araştırmacılar RA ilerlemesinin çevrede bulunan uçucu organik bileşikler (VOC'ler) ve sigara içimiyle ilgili olduğunu öne sürmüştür. Ve sigaranın RA üzerindeki etkisiyle ilgili birçok çalışma yapmıştır. Sigara içmenin RA hastalarında RF ve ACPA-pozitif seviyelerinin yüksek oranda çıkmasına neden olduğunu ortaya koymuştur (Baka ve diğerleri, 2009; Ogbodo ve diğerleri, 2022). Yaptığımız fonksiyonel zenginleştirme analizlerinin sonucunda organik maddeye tepki, apoptotik süreç, hücre döngüsü ve viral enfeksiyonlara tepki biyolojik süreçlerinin RA mekanizması için önemli olduğu açık bir şekilde ve literatürle uyumlu bir şekilde ortaya çıkmaktadır.

MCODE ile elde edilen küme ve RA-PPI ağı zenginleştirme analizlerimize göre biyolojik süreçte strese tepki, hücresel bileşen organizasyonu, bağışıklık sistemi süreci, viral yaşam döngüsünün düzenlenmesi vb. süreçlerin rol oynadığını gördük. Yolak analizi sonuçlarında ise diğer yolaklara ek olarak hepatit-C yolağında da zenginleşme görüldü.

4.1. Biyobelirteçlerin Değerlendirilmesi

RA-PPI analiz sonucumuza göre ABL1, FOXO1, FOXO3, TCF7L2, CDKN1C, SKP1 genlerinin ifade seviyelerinde azalma olduğu ve CD44, RAD51, CASP8, BUB1, PCNA, XAF1, SAMD9, IFIT1, MX1, FYN, TRIM22, CCNA2 genlerinin ifade seviyelerinde artış olduğu görüldü. Bu genler arasında CD44, CASP8, SAMD9, TRIM22, FOXO3 genlerinin RA için önemli olduğu tespit edildi. CCNA2, BUB1, SKP1, CDKN1C, MX1, IFIT1 genleri ise araştırmaya değer genler olarak listelendi. Tüm bu genlerin genel olarak RA'da hücre çoğalması, programlanmış hücre ölümü ve

hücre farklılaşması ile ilgili olduğunu gördük. Bu genler RA hastalığının tanı ve tedavi süreçlerinde potansiyel biyobelirteçler olarak düşünülebilir. Burada bulunan bazı genler için RA hastalığındaki rolü tespit edilmiş çalışmalar mevcuttur.

Yapılan bir çalışmaya göre, CD44'ün RA'da uyarılmış makrofajlar ve sinoviyal dokulardaki hücreler tarafından ifade edildiği görülmüştür. CD44'e özel olarak bağlanabilen Hyaluronik asidin (HA), RA hastalarının ilaç tedavisinde kullanılarak fibroblast benzeri sinoviyositlerin (FLS'ler) çoğalmasını azalttığı ve etkilenen eklemlerin şişmesini engellediği görülmüştür. (Yang ve diğerleri, 2017; Heo ve diğerleri, 2014; Gorantla ve diğerleri, 2021). CASP8 eksikliği olan FLS'lerde, hücre tutunması, hücre yayılımı ve infilakının azaldığı ve CASP8'in baskılanmasının sinoviyal fibroblastların hücre ölümünü engellediği gösterilmiştir. RA'da CASP8 geninin otofaji ile ilişkili olduğu saptanmıştır ve otofaji mekanizmasının kontrolü, RA için önemli göstergeler ve potansiyel yeni tedavi hedefleri olarak işaret edilmiştir (Ansalone ve diğerleri, 2022; Fan ve diğerleri, 2022; Bai ve diğerleri, 2004). SAMD9 gen ifadesinin T hücre aktiveşmesi esnasında önemli derecede arttığı görülmüştür. SAMD9 yıkımının, T hücre çoğalmasını ve T hücrelerinde sitokinlerin mRNA ifadesini artırdığı görülmüştür fakat programlanmış hücre ölümü üzerinde önemli bir etkisi olmamıştır. SAMD9 gen ifadesinin bastırılmasının tümör gelişimine sebep olacağı bildirilmiştir (He ve diğerleri, 2019). TRIM22 gen ifade seviyesinin RA-FLS'lerde arttığı görülmüştür. TRIM22 geninin yıkımı hücre çoğalması, yayılımını, infilakını ve inflamatuvar sitokinlerin salınımını azaltırken hücre ölümünü artırmıştır (Wei ve diğerleri, 2022). Deng ve arkadaşları, RA-FLS'lerde PCNA gen ifadesinin artmasının, hücre çoğalmasına sebep olduğunu göstermiştir (Deng ve diğerleri, 2022). Hücre çoğalmasıyla ilgili bir gen olan CCNA2'nin RA'nın osthole (OS) ve TNF tedavisi sırasında ifadesinin azaldığı görülmüştür (Lin ve diğerleri, 2023). Sağlıklı kontrollere

kıyasla RA hastalarında FOXO ailesi üyelerinden olan FOXO1 ve FOXO3'ün azalan ifadeleri görülmüştür. RA tedavisine yönelik yapılan bir çalışmada ise bu ifade seviyelerinin artmasının hücre çoğalması ve hücre ölümü olaylarını düzenlediği bildirilmiştir (Feng ve diğerleri, 2021). BUB1, kanser hücrelerinin büyümesini ve sızmasını uyararak çeşitli tümörlerde onkojenik özellikler gösterir. RA-FLS'lerde artan BUB1 ifadesinin WJT (Wantong Jingu Tablet) tedavisi ile azaltılması FLS'lerde hücre çoğalmasını engeller (li ve diğerleri, 2020).

Sağlıklı kontroller ile RA hastalarını karşılaştırdığımızda SKP1'in ifadesinin azaldığını gördük. Ubikuitin E3 ligaz kompleksinden (SCF) biri olan SKP1 yangı, savunma sistemi, farklılaşma ve hücre ölümü sırasında farklı genlerin ifadesini düzenleyen NF- κ B sinyal yolağında yer almasına rağmen RA'daki yeri tam olarak anlayamamıştır (Kawaida ve diğerleri, 2005). RA için önemli bir yolak olan wnt/beta-katenin sinyal yolağı kemik oluşumu ve kemik yıkımında görev alır. Wnt/beta-katenin sinyal yolağında yer alan proteinlerden biri de TCF7L2'dir ve tip 2 diyabet hastalığıyla ilişkilendirilmiştir (de Sousa Rabelo ve diğerleri, 2010). Ancak TCF7L2'nin farklılaşmasının RA ile önemli bir bağlantısı olmadığı yapılan çalışmalardan anlaşılmıştır (Da Mota ve diğerleri, 2012). Çalışmamızda ifadesi azalan ve hücre döğüsüyle ilgili olan CDKN1C (cyclin-dependent kinase inhibitor 1C) ile ilgili RA'da yapılmış çok fazla çalışma olmamasına rağmen Mir204/211'in RA'daki rollerini belirlemeye yönelik bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada Mir204/211'in uyarımı ile RA'da azalan CDKN1C ifadesini düzenleyerek hücre çoğalmasını engellediği görülmüştür (Wang ve diğerleri, 2022). İnterferon (IFN) yanıt genleri olan IFIT1 ve MX1'in RA makrofajlarında artan ifadesi çalışmalarla kanıtlanmıştır. Bu genler antijen salınımını ve iltihalanmayı arttırır ve tip 1 IFN'ler RA'ya etkisi olan STAT1 sinyalini aktifleştirir (Gordon ve diğerleri, 2012). Başka bir çalışmada ise IFIT1 ifadesinin

bastırılması ile RANKL kaynaklı kemik yıkımının engellendiği görülmüştür (Xue ve diğerleri, 2022). Qiu ve arkadaşları, RAD51'in ifadesinin artmasıyla IGF1R/PI3K/AKT sinyal yolağının uyarıldığını ve böylece osteoblast varyasyonuna sebep olduğunu rapor etmiştir (Qiu ve diğerleri, 2023). Yapılan çalışmalar, FYN geninin bağışıklık düzenlemesinde önemli bir rol oynadığını, T hücre etkinleşmesi, varyasyonu ve lenfosit gelişimi ile ilgili olduğunu belirtmiştir (Jung ve diğerleri, 2021; Liu ve Chen, 2021). ABL1'in BCR tirozin kinaz ile kombinasyonunun RA'da hedef olarak rol oynadığı biliniyor ancak tek başına etkisi hakkında yapılan bir çalışma bulunamadı. Aynı şekilde yapılan bir çalışmada XAF1'in B hücrelerinde eşzamanlı metilasyon ve gen ifade değişikliği olduğu doğrulanmıştır ve RA'da oynadığı potansiyel rolleri vurgulanmıştır ancak deneysel bir çalışma yapılmamıştır (Tseng ve diğerleri, 2019).

Transkripsiyonel faktör analizimize göre anahtar TF'ler RA'da inaktifleştirici özellik göstermiştir. RA'da etkisi kanıtlanan 3 TF tespit edildi. Bunlar TSC22D3, HDAC1 ve SIRT1 TF'leridir. GILZ olarak da bilinen TSC22D3 transkripsiyon faktörü RA'nın patolojisinde yer aldığı bilinmektedir. GILZ, NFκB ve AP-1 sinyalini baskılayarak T hücrelerinde çoğalmayı engeller ve sitokin salınımını engelleyerek fibroblast benzeri sinoviyositlerde iltihaplanmaya karşı etki gösterir. Aynı zamanda RA patolojisinde önemli olan FOXO1 ve FOXO3 hedeflerini baskıladığı görülmüştür (Beaulieu ve Morand, 2011). HDAC ifadesinin susturulması RA ve diğer immün hastalıkların patolojisine katkı sağlayabilir (Vojinovic ve Damjanov, 2011) Chen ve arkadaşları yaptıkları deneylerde SMAD7 molekülünün RA'lı hastalarda nadiren görüldüğünü tespit etmiştir. RA sinovyal fibroblastlarında yüksek seviyelerde görülen HDAC1'in ifadesinin baskılanmasıyla SMAD7'de bir artış olduğunu ve SMAD7'nin RA'nın eklem hasarını iyileştirmeye yönelik sinyal yolaklarında yer aldığını belirtmiştir (Chen ve diğerleri, 2016). HDAC1'in TRRUST sonuçlarına göre diğer hedefleri (CD44,

PCNA, COL1A2) üzerinde inhibe edici etkisi olduğu gösterilmiştir ancak RA hastalığı için hangi yönde etki ettiği bulunamadı. SIRT1 otoimmün hastalıklarda hedefleri epigenetik olarak modifiye eden bir faktördür. NF-κB yolağında AP1 (activator protein-1) aktivasyonunu bastırarak T hücre etkinleşmesini ve çoğalmasını durdurur (Tao ve diğerleri, 2023). SIRT1'in FOXO3'ü deasetile ederek patolojik olayları baskıladığı ve NF-κB sinyali üzerinde inhibe edici etkisi olduğu bilinmektedir (Kong ve diğerleri, 2013). HDAC1 transkripsiyon faktörü gibi diğerlerinin de hedef genleri üzerindeki etkisi çoğunlukla bilinmesine rağmen RA için bir kanıt bulunamadı.

4.2. İlaç Yeniden Konumlandırma

RA tedavisi için yeniden konumlandırılan 17 aday ilaç belirledik. Bu ilaçlar daha önce RA'da tedaviye yönelik çalışma yapılmamış olan ilaçlardır. Bu adaylar İnfigratinib, Bosutinib, SB-216763, Rigosertib (ON-01910), Tozasertib, AG-957 (Tyrphostin), AT-9283, ZM-323881, RN-1734, Selinexor (KPT-330), BIX-01294, H-89, IBC-293, WH-4023, HY-11007, HG-6-64-01, HG-5-113-01 olarak listelendi. IBC-293 molekülünün RA tedavisinde kullanılması için engeller bulundu. Yeniden konumlandırılan WH-4023, HY-11007, HG-6-64-01, HG-5-113-01 adayları için literatürde tedavi amaçlı herhangi bir çalışma bulunamadı.

Yeniden konumlandırılan ilaçlar arasında İnfigratinib, hücre farklılaşması ve anjiyogenezde rol oynayan fibroblast büyüme faktörü reseptörü (FGFR) inhibitörüdür. Kolanjiokarsinom, ürotelyal karsinom ve diğer FGFR kaynaklı durumların tedavisi için onaylanmış bir ilaçtır. BHS697 ve CQM157 infigratinibin başlıca insan metabolitleridir. Bunlar FGFR1, FGFR2 ve FGFR3 için infigratinibinkine benzer bağlanma afinitelerine sahiptir. İnfigratinib, FGFR'yi inhibe ederek tümör hücrelerinde çoğalmayı engeller. (Kang, 2021). SRC ve BCR/ABL (breakpoint cluster region/Abelson) tirozin kinaz

inhibitörü olan Bosutinib kronik miyeloid lösemi (KML) tedavisi için kullanılır (Abbas ve Hsyu, 2016). Bosutinib, KML tedavisinde İmatinib'in hedef dışı etkiler göstermesi üzerine geliştirilmiş ve İmatinib'e direnç gösteren BCR/ABL varyasyonlarına karşı etki göstermeyi başarmıştır (Amsberg ve Schafhausen, 2013). AG-957'nin (Tyrphostin), KML hastalarından türetilen K562 hücrelerinde P210 BCR/ABL tirozin kinazı inhibe ederek hücreleri apoptoza zorladığı böylece K562 hücrelerinin büyümesini engellediği görülmüştür (Svingen ve diğerleri, 2000). Kawabata ve arkadaşları, inkretinlerin trombosit kaynaklı büyüme faktörü-BB'nin (PDGF-BB) sebep olduğu osteoblast ve osteoblast benzeri MC3T3-E1 hücre göçünde etkisini araştırmıştır. Çalışmaya göre PDGF-BB ile uyarılan ve bir inkretin olan GLP-1 (glukagon benzeri peptid-1) ile desteklenen MC3T3-E1 hücre göçü, protein kinaz A H-89 tarafından bastırılmıştır (Kawabata ve diğerleri, 2020). Önceki çalışmalar sağlıklı kontrollerle karşılaştırılan RA hastalarında PDGF ifadesinin ve protein düzeyinin daha fazla olduğunu belirtmiştir ve sinoviyal fibroblastlarda PDGF'nin bloke edilmesinin hastalığın ilerlemesini engellediği gösterilmiştir. (D'Aura Swanson ve diğerleri, 2009).

Slomiany ve arkadaşları, vasküler endotel büyüme faktöründeki (VEGF) artışın baş ve boyun skuamöz hücreli karsinom üzerindeki etkisini incelemiştir. Yazarlar, VEGF'nin artan düzeylerinin karsinomun ilerlemesiyle ilgili olduğunu görmüştür. HIF-1 α (Hipoksi ile indüklenebilir faktör-1 alfa) ifadesinin artması başta skuamöz hücreli karsinom (SCC) olmak üzere birçok kanser türünde daha saldırgan bir fenotip ve ileri düzeyde tümörle ilişkilidir. ZM-323881 tedavisinde VEGF ile uyarılan HIF-1 α protein yığılmasının SCC-9 hücrelerinde engellendiği görülmüştür (Slomiany ve diğerleri, 2006). Aynı zamanda VEGF, RA hastalarında en sık çalışılan bir tirozin kinazdır. Serum seviyeleri RA hastalığının aktivitesiyle doğru orantılıdır (D'Aura Swanson ve diğerleri, 2009). Benzer ilaç tedavilerinde de görüldüğü üzere VEGFR, PDGFR, SRC

ve BCR/ABL tirozin kinazların da dâhil olduğu birçok tirozin kinazın RA patolojisine katıldığı anlaşılmıştır (Guo ve diğerleri, 2019; D'Aura Swanson ve diğerleri, 2009). Bu sebeple bunları hedefleyen terapötiklerin RA tedavisinde potansiyel aday olarak yorumlayabiliriz.

SB-216763, glikojen sentaz kinaz-3 (GSK-3) inhibitörüdür ve aldosteron kaynaklı kalp ve böbrek hastalıklarının tedavisinde baskılayıcı olduğu görülmüştür (Zhang ve diğerleri, 2018). Yapılan bir çalışmada GSK-3 inhibitörlerinin RA sinoviyal fibroblastlarında hücre göçünü ve istilasını bastırdığı görülmüştür (Sugiura ve diğerleri, 2020). Wnt/ β -katenin sinyal yolunda GSK-3'ün etkin olması (Zhang ve diğerleri, 2023) ve Wnt sinyal yolağının RA'lı hastalarda önem taşıdığı göz önüne alındığında (de Sousa Rabelo ve diğerleri, 2010) SB-216763'ün aday ilaç olması yüksek ihtimal taşır. Plk1'in (Polo-like kinase1) bir inhibitörü olan Rigosertib (ON-01910) miyelodisplastik sendromlu (MDS) hastaların tedavisi için kullanılır. Güncel çalışmalara göre Plk1'e ek olarak PI3K–Akt yolu ve Ras-Raf sinyal kaskadında aktif olduğu belirtilmiştir (Monfort-Vengut ve de Cárcer, 2023). Tozasertib (MK-0457, VX-680), tümör ve kanser tedavilerinde kullanılan Pan-Aurora Kinaz İnhibitörüdür. MK-0457'nin yumurtalık kanseri hücrelerinde Aurora-A kinaz fosforilasyonunu azalttığı görülmüştür. Ayrıca tümör hücrelerinin büyümesini baskıladığı, hücre döngüsünde rol oynadığı ve hücre çoğalmasını engellediği rapor edilmiştir (Lin ve diğerleri, 2008). Ayrıca başka bir çalışmada Zhang ve arkadaşları, Tozasertib'in mast hücre aktivasyonunu ve MAPK sinyali ile NF- κ B yolunun aktivasyonunu inhibe ettiğini rapor etmiştir (Zhang ve diğerleri, 2020). AT-9283, kanserle ilişkili olduğu bilinen aurora kinaz inhibitörüdür. B hücreli lenfomalarda hücre çoğalmasını ve tümör büyümesini inhibe eder (Qi ve diğerleri, 2012). Multipl miyelomda (MM) hücre büyümesini ve STAT3 sinyal yolağını inhibe eder (Santo ve diğerleri, 2011). Yapılan çeşitli çalışmalardan elde edilen

sonuçlara göre BIX-01294'in otofaji ile ilişkili bir histon metiltransferaz inhibitörü olduğu anlaşıyor. G9a histon metiltransferaz'ı inhibe ederek glioma hücrelerinde otofajiyi tetikler ve EHMT2'yi (ökromatik histon lizin metiltransferaz 2) inhibe ederek diffüz büyük B hücreli lenfoma (DLBCL) hastalarında hücre çoğalmasını engeller ve hücrenin kendi kendini yok etmesini (otofajiyi) tetikler (Ciechomska ve diğerleri, 2016; Xu ve diğerleri, 2021). Liu ve arkadaşları, merkezi sinir sistemi (CNS) hastalığında TRPV4 inhibisyonunun demiyelinizasyondaki rolünü anlamaya yönelik bir çalışma yapmıştır. Yazarlar, RN-1734 tedavisinin miyelinasyonu iyileştirdiği ve glial hücrelerin sayısını azalttığı sonucuna varmıştır. Aynı zamanda RN-1734'ün TRPV4 aktivasyonunu baskılayarak NF- κ B sinyal yolunu inhibe ettiği ve böylece proinflamatuvar sitokinlerin salınımını azalttığını bildirmiştir (Liu ve diğerleri, 2018). NF- κ B sinyal yolunun baskılanması romatizmal hastalıkların tedavisi için de akılcı bir yaklaşımdır (Roman-Blas ve Jimenez, 2006).

Yapılan bir çalışmaya göre KPT-330, 11 küçük hücreli olmayan akciğer kanseri (KHDAK) hücre hattında programlanmış hücre ölümüyle ilişkili proteinlerin ifadesini tetikler. Hücre çoğalmasını baskılar ve hücre döngüsünü durdurur (Sun ve diğerleri, 2014). Selinexor (KPT-330) her ne kadar multipl miyelom tedavisi için SINE (seçici bir nükleer ihracat inhibitörü) olarak onaylanmış olsada çeşitli kanser türlerinde klinik ve preklinik denemeler yapılmıştır. Kanser hücrelerinde hücre ölümünü tetikler, hücre çoğalması ve hücre göçünü engeller (Landes ve diğerleri, 2023).

Zhou ve arkadaşları, HCA3 reseptörlerini ifade eden CHO-K1 hücrelerinde IBC-293 molekülünün uyarımı ile hücre içi Ca^{2+} 'de hızlı bir çoğalma olduğunu görmüştür. Ve HCA3 reseptörlerinin insan epidermoid hücre hattı olan A431 hücrelerinde IBC-293 uyarımı ile ERK1/2 ve MEK1/2 aktivasyonuna yol açtığı belirtilmiştir (Zhou ve diğerleri, 2012). Bu çalışmadan anlaşılabileceği gibi IBC-293 uyarıcı bir molekül olarak

kullanılmıştır. MEK-ERK yolu, hücre büyümesini, gelişimini ve canlılığını desteklemedeki önemi ile yaygın olarak bilinir. Bununla birlikte, enflamatuar ajanların üretilmesinde yer aldığı da gösterilmiştir. Romatoid artritli (RA) bireylerin sinoviyal dokusunda MEK-ERK yolunun belgelenmiş aktivasyonu göz önüne alındığından, bu da daha sonra TNF- α ve IL-6 gibi enflamatuar moleküllerin salınımını tetiklediğinden, MEK inhibitörlerinin anti-artritlik ve anti-inflamatuar özelliklere sahip olduğu söylenebilir (Yamaguchi ve diğerleri, 2012). Yapılan bu çalışmadan da anlaşılacağı gibi MEK-ERK yollarının aktifleştirilmesi RA'nın aleyhine olacağından ve IBC-293 molekülünün bu yolak üzerinde uyarıcı etkisi olduğundan molekülün kullanılması RA için yararlı olmayacaktır.

Çoklu omik veri entegrasyonuna dayalı in silico ilaç yeniden konumlandırma çalışmaları, yeni ilaç keşif adaylarını tespit etmek için yeni bir fırsat sunar. Bu çalışmada kullanılan yeniden konumlandırılan potansiyel ilaç adayları deneysel verilerle doğrulanmamıştır. Ancak RA tedavisinde daha ileri deneysel çalışmalarda değerlendirilebileceğine inanıyoruz.

İnsan hastalığına ilişkin çoğu veri analizi çalışmasında olduğu gibi bu çalışmanın da çeşitli sınırlamaları vardı. İlk olarak, bu analiz için kullanılan RA veri kümeleri GEO veri tabanından elde edildiğinden ve bu veri tabanında toplanan ilgili veri örneklerinin sayısı sınırlı olduğundan, küçük örneklem boyutu nedeniyle veri analizi yanlı olabilir. Ayrıca veri kümelerimizde biyolojik kaynak olarak PBMC, sinovyum, T ve B hücreleri gibi çeşitli kaynaklar kullanıldığından sonuçlarımızın dokuya özgü olmadığından gözden kaçırılmaması gerekmektedir. Diğer yandan araştırılan genler, yolaklar ve potansiyel ilaç adayları in vitro çalışmalar veya diğer fonksiyonel çalışmalar yoluyla doğrulanmadı. Ancak bu sonuçlar daha fazla araştırma için bir alan sundu. Ayrıca, bu veri analizinden elde edilen bulgular, romatizmal hasta örnekleri kullanılarak Western

blot ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) deneyleri ile gelecekteki doğrulamadan faydalanabilecektir.

Sonuç olarak RA hastalığının teşhisinde ve tedavisinde kullanılabilecek yeni biyobelirteçler belirledik. Bu belirteçlerden CD44, CASP8, SAMD9, TRIM22, FOXO3 genlerinin RA için önemi kanıtlanmıştır, CCNA2, BUB1, SKP1, CDKN1C, MX1, IFIT1 genlerinin ise RA için araştırılmaya değer olduğu görülmüştür. Aynı zamanda HDAC1, SIRT1 ve TSC22D3 düzenleyici faktörlerinin de önemi vurgulanmıştır. İlaç yeniden konumlandırma çalışmalarında RA ile ilgili çalışma bulunmayan İnfigratinib, Bosutinib ve Selinexor ilaçları potansiyel ilaç adayları olarak önerilmiştir. Belirlenen biyobelirteçler RA'nın patolojisinde rol oynayan mekanizmaların anlaşılmasına ve yeni ilaç hedeflerinin belirlenmesine katkıda bulundu. Böylece RA'nın daha etkin bir şekilde tanınmasına, hastalığın seyrinin tahmin edilmesine ve kişiselleştirilmiş tedavi stratejilerinin geliştirilmesine yardımcı olur.

KAYNAKÇA

- Abbas, R., & Hsyu, P. H. (2016). Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of bosutinib. *Clinical pharmacokinetics*, 55, 1191-1204. <https://doi.org/10.1007/s40262-016-0391-6>
- Alaimo, S., Bonnici, V., Cancemi, D., Ferro, A., Giugno, R., & Pulvirenti, A. (2015). DT-Web: a web-based application for drug-target interaction and drug combination prediction through domain-tuned network-based inference. *BMC systems biology*, 9(3), 1-11. <https://doi.org/10.1186/1752-0509-9-S3-S4>
- Al-Amrani, S., Al-Jabri, Z., Al-Zaabi, A., Alshekaili, J., & Al-Khabori, M. (2021). Proteomics: Concepts and applications in human medicine. *World journal of biological chemistry*, 12(5), 57–69. <https://doi.org/10.4331/wjbc.v12.i5.57>
- Alves, M., Dadalto, S., Gonçalves, A., de Souza, G., Barros, V., & Fietto, L. (2014). Transcription Factor Functional Protein-Protein Interactions in Plant Defense Responses. *Proteomes*, 2(1), 85–106. <https://doi.org/10.3390/proteomes2010085>
- Amsberg, G. K., & Schafhausen, P. (2013). Bosutinib in the management of chronic myelogenous leukemia. *Biologics: targets & therapy*, 7, 115–122. <https://doi.org/10.2147/BTT.S30182>
- Ansalone, C., Ainsworth, R. I., Nygaard, G., Ai, R., Prideaux, E. B., Hammaker, D., ... & Firestein, G. S. (2022). Caspase-8 Variant G Regulates Rheumatoid Arthritis Fibroblast-Like Synoviocyte Aggressive Behavior. *ACR open rheumatology*, 4(4), 288-299. <https://doi.org/10.1002/acr2.11384>
- Argelaguet, R., Velten, B., Arnol, D., Dietrich, S., Zenz, T., Marioni, J. C., ... & Stegle, O. (2018). Multi-Omics Factor Analysis—a framework for unsupervised

- integration of multi-omics data sets. *Molecular systems biology*, 14(6), e8124.
<https://doi.org/10.15252/msb.20178124>
- Bai, S., Liu, H., Chen, K. H., Eksarko, P., Perlman, H., Moore, T. L., & Pope, R. M. (2004). NF- κ B-regulated expression of cellular FLIP protects rheumatoid arthritis synovial fibroblasts from tumor necrosis factor α -mediated apoptosis. *Arthritis & Rheumatism*, 50(12), 3844-3855. <https://doi.org/10.1002/art.20680>
- Baka, Z., Buzás, E., & Nagy, G. (2009). Rheumatoid arthritis and smoking: putting the pieces together. *Arthritis research & therapy*, 11, 1-13.
<https://doi.org/10.1186/ar2751>
- Barh, D., Kamapantula, B., Jain, N., Nalluri, J., Bhattacharya, A., Juneja, L., ... & Ghosh, P. (2015). miRegulome: a knowledge-base of miRNA regulomics and analysis. *Scientific reports*, 5(1), 12832. <https://doi.org/10.1038/srep12832>
- Barrett, T., Wilhite, S. E., Ledoux, P., Evangelista, C., Kim, I. F., Tomashevsky, M., Marshall, K. A., Phillippy, K. H., Sherman, P. M., Holko, M., Yefanov, A., Lee, H., Zhang, N., Robertson, C. L., Serova, N., Davis, S., & Soboleva, A. (2013). NCBI GEO: archive for functional genomics data sets--update. *Nucleic acids research*, 41(Database issue), D991–D995. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1193>
- Beaulieu, E., & Morand, E. F. (2011). Role of GILZ in immune regulation, glucocorticoid actions and rheumatoid arthritis. *Nature Reviews Rheumatology*, 7(6), 340-348. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2011.59>
- Bersanelli, M., Mosca, E., Remondini, D., Giampieri, E., Sala, C., Castellani, G., & Milanesi, L. (2016). Methods for the integration of multi-omics data:

- mathematical aspects. BMC bioinformatics, 17 Suppl 2(Suppl 2), 15.
<https://doi.org/10.1186/s12859-015-0857-9>
- Burmester, GR ve Papa, JE (2017). Romatoid artritite yeni tedavi stratejileri. Lancet, 389 (10086), 2338-2348. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)31491-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31491-5)
- Chauhan K, Jandu JS, Brent LH, et al. Rheumatoid Arthritis. [Updated 2023 Jan 10]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441999/>
- Chen, E. Y., Tan, C. M., Kou, Y., Duan, Q., Wang, Z., Meirelles, G. V., ... & Ma'ayan, A. (2013). Enrichr: interactive and collaborative HTML5 gene list enrichment analysis tool. BMC bioinformatics, 14(1), 1-14. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-14-128>
- Chen, S. Y., Shiau, A. L., Wu, C. L., & Wang, C. R. (2016). Intraarticular overexpression of Smad7 ameliorates experimental arthritis. Scientific reports, 6(1), 35163. <https://doi.org/10.1038/srep35163>
- Chi, Y., Yang, Y., Zhou, Y., Zhou, J., Fan, B., Yu, J. Q., & Chen, Z. (2013). Protein–protein interactions in the regulation of WRKY transcription factors. Molecular plant, 6(2), 287-300. <https://doi.org/10.1093/mp/sst026>
- Ciechomska, I. A., Przanowski, P., Jackl, J., Wojtas, B., & Kaminska, B. (2016). BIX01294, an inhibitor of histone methyltransferase, induces autophagy-dependent differentiation of glioma stem-like cells. Scientific reports, 6(1), 38723. <https://doi.org/10.1038/srep38723>
- Croft, D., O'Kelly, G., Wu, G., Haw, R., Gillespie, M., Matthews, L., ... & Stein, L. (2010). Reactome: a database of reactions, pathways and biological processes.

Nucleic acids research, 39(suppl_1), D691-D697.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkq1018>

Da Mota, L. M. H., de Souza Rabelo, F., Lima, F. A. C., Lima, R. A. C., De Carvalho, J. F., Barra, G. B., & Amato, A. A. (2012). Lack of association between the CC genotype of the rs7903146 polymorphism in the TCF7L2 gene and rheumatoid arthritis. *Rev Bras Reumatol*, 52(4), 518-528.

Dai, X., Shen, L., & Lu, P. (2022). Advances and trends in omics technology development. *Frontiers in Medicine*, 1546.
<https://doi.org/10.3389/fmed.2022.911861>

D'Aura Swanson, C., Paniagua, R. T., Lindstrom, T. M., & Robinson, W. H. (2009). Tyrosine kinases as targets for the treatment of rheumatoid arthritis. *Nature Reviews Rheumatology*, 5(6), 317-324. doi:10.1038/nrrheum.2009.82

de Sousa Rabelo, F., da Mota, L. M. H., Lima, R. A. C., Lima, F. A. C., Barra, G. B., de Carvalho, J. F., & Amato, A. A. (2010). The Wnt signaling pathway and rheumatoid arthritis. *Autoimmunity reviews*, 9(4), 207-210.
<https://doi.org/10.1016/j.autrev.2009.08.003>

Deng, R., Wang, Y., Bu, Y., & Wu, H. (2022). BNIP3 mediates the different adaptive responses of fibroblast-like synovial cells to hypoxia in patients with osteoarthritis and rheumatoid arthritis. *Molecular Medicine*, 28(1), 64.
<https://doi.org/10.1186/s10020-022-00490-9>

Dennis, G., Sherman, B. T., Hosack, D. A., Yang, J., Gao, W., Lane, H. C., & Lempicki, R. A. (2003). DAVID: database for annotation, visualization, and

- integrated discovery. *Genome biology*, 4(9), 1-11. <https://doi.org/10.1186/gb-2003-4-9-r60>
- Ding, Z., Chen, W., Wu, H., Li, W., Mao, X., Su, W., ... & Lin, N. (2023). Integrative network fusion-based multi-omics study for biomarker identification and patient classification of rheumatoid arthritis. *Chinese Medicine*, 18(1), 48. <https://doi.org/10.1186/s13020-023-00750-8>
- Disatham, J., Brennan, L., Cvekl, A., & Kantorow, M. (2023). Multiomics Analysis Reveals Novel Genetic Determinants for Lens Differentiation, Structure, and Transparency. *Biomolecules*, 13(4), 693. <https://doi.org/10.3390/biom13040693>
- Duan, Q., Reid, S. P., Clark, N. R., Wang, Z., Fernandez, N. F., Rouillard, A. D., ... & Ma'Ayan, A. (2016). L1000CDS2: LINCS L1000 characteristic direction signatures search engine. *NPJ systems biology and applications*, 2(1), 1-12. <https://doi.org/10.1038/npjbsa.2016.15>
- Entezami, P., Fox, D. A., Clapham, P. J., & Chung, K. C. (2011). Historical perspective on the etiology of rheumatoid arthritis. *Hand clinics*, 27(1), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.hcl.2010.09.006>
- Fan, D. D., Tan, P. Y., Jin, L., Qu, Y., & Yu, Q. H. (2022). Bioinformatic identification and validation of autophagy-related genes in rheumatoid arthritis. *Clinical Rheumatology*, 1-10. <https://doi.org/10.1007/s10067-022-06399-2>
- Fan, D., Liu, B., Gu, X., Zhang, Q., Ye, Q., Xi, X., Xia, Y., Wang, Q., Wang, Z., Wang, B., Xu, Y., & Xiao, C. (2022). Potential Target Analysis of Triptolide Based on Transcriptome-Wide m6A Methylome in Rheumatoid Arthritis. *Frontiers in pharmacology*, 13, 843358. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.843358>

- Feng, Y., Mei, L., Wang, M., Huang, Q. ve Huang, R. (2021). 18beta-glisiretinik asidin in vitro ve in vivo romatoid artrit modellerinde anti-enflamatuar ve proapoptotik etkileri. *Farmakolojide Sınırlar*, 12, 681525. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.681525>
- Finckh, A., Gilbert, B., Hodgkinson, B., Bae, S. C., Thomas, R., Deane, K. D., ... & Lauper, K. (2022). Global epidemiology of rheumatoid arthritis. *Nature Reviews Rheumatology*, 18(10), 591-602. <https://doi.org/10.1038/s41584-022-00827-y>
- Freshour, S. L., Kiwala, S., Cotto, K. C., Coffman, A. C., McMichael, J. F., Song, J. J., ... & Wagner, A. H. (2021). Integration of the Drug–Gene Interaction Database (DGIdb 4.0) with open crowdsourcing efforts. *Nucleic acids research*, 49(D1), D1144-D1151. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa1084>
- Gene Ontology Consortium. (2004). The Gene Ontology (GO) database and informatics resource. *Nucleic acids research*, 32(suppl_1), D258-D261. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh036>
- Gorantla, S., Gorantla, G., Saha, R. N., & Singhvi, G. (2021). CD44 receptor-targeted novel drug delivery strategies for rheumatoid arthritis therapy. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 18(11), 1553-1557. <https://doi.org/10.1080/17425247.2021.1950686>
- Gordon, R. A., Grigoriev, G., Lee, A., Kalliolias, G. D., & Ivashkiv, L. B. (2012). The interferon signature and STAT1 expression in rheumatoid arthritis synovial fluid macrophages are induced by tumor necrosis factor α and counter-regulated by the synovial fluid microenvironment. *Arthritis & Rheumatism*, 64(10), 3119-3128. <https://doi.org/10.1002/art.34544>

- Göös, H., Kinnunen, M., Salokas, K., Tan, Z., Liu, X., Yadav, L., ... & Varjosalo, M. (2022). Human transcription factor protein interaction networks. *Nature Communications*, 13(1), 766. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-28341-5>
- Guo, K., Bu, X., Yang, C., Cao, X., Bian, H., Zhu, Q., ... & Zhang, D. (2019). Treatment effects of the second-generation tyrosine kinase inhibitor dasatinib on autoimmune arthritis. *Frontiers in immunology*, 9, 3133. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.03133>
- Gupta, L., Ahmed, S., Jain, A., & Misra, R. (2018). Emerging role of metabolomics in rheumatology. *International Journal of Rheumatic Diseases*, 21(8), 1468-1477. <https://doi.org/10.1111/1756-185X.13353>
- Han, H., Cho, J. W., Lee, S., Yun, A., Kim, H., Bae, D., ... & Lee, I. (2018). TRRUST v2: an expanded reference database of human and mouse transcriptional regulatory interactions. *Nucleic acids research*, 46(D1), D380-D386. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx1013>
- He, P., Wu, L. F., Bing, P. F., Xia, W., Wang, L., Xie, F. F., ... & Deng, F. Y. (2019). SAMD9 is a (epi-) genetically regulated anti-inflammatory factor activated in RA patients. *Molecular and cellular biochemistry*, 456, 135-144. <https://doi.org/10.1007/s11010-019-03499-7>
- Heo, R., Park, J. S., Jang, H. J., Kim, S. H., Shin, J. M., Suh, Y. D., ... & Park, J. H. (2014). Hyaluronan nanoparticles bearing γ -secretase inhibitor: In vivo therapeutic effects on rheumatoid arthritis. *Journal of controlled release*, 192, 295-300. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.07.057>

- Horgan, R. P., & Kenny, L. C. (2011). 'Omic' technologies: genomics, transcriptomics, proteomics and metabolomics. *The Obstetrician & Gynaecologist*, 13(3), 189-195. <https://doi.org/10.1576/toag.13.3.189.27672>
- Huang, S., Chaudhary, K., & Garmire, L. X. (2017). More Is Better: Recent Progress in Multi-Omics Data Integration Methods. *Frontiers in genetics*, 8, 84. <https://doi.org/10.3389/fgene.2017.00084>
- Ivanova, O., Richards, L. B., Vijverberg, S. J., Neerincx, A. H., Sinha, A., Sterk, P. J., & Maitland-van der Zee, A. H. (2019). What did we learn from multiple omics studies in asthma?. *Allergy*, 74(11), 2129-2145. <https://doi.org/10.1111/all.13833>
- Julià, A., Absher, D., López-Lasanta, M., Palau, N., Pluma, A., Waite Jones, L., Glossop, J. R., Farrell, W. E., Myers, R. M., & Marsal, S. (2017). Epigenome-wide association study of rheumatoid arthritis identifies differentially methylated loci in B cells. *Human molecular genetics*, 26(14), 2803-2811. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddx177>
- Jung, S. M., Park, K. S., & Kim, K. J. (2021). Deep phenotyping of synovial molecular signatures by integrative systems analysis in rheumatoid arthritis. *Rheumatology*, 60(7), 3420-3431. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/keaa751>
- Kanehisa, M., & Goto, S. (2000). KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes. *Nucleic acids research*, 28(1), 27-30. <https://doi.org/10.1093/nar/28.1.27>

- Kanehisa, M., Furumichi, M., Tanabe, M., Sato, Y., & Morishima, K. (2017). KEGG: new perspectives on genomes, pathways, diseases and drugs. *Nucleic acids research*, 45(D1), D353-D361. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw1092>
- Kang, C. (2021). Infigratinib: first approval. *Drugs*, 81, 1355-1360. <https://doi.org/10.1007/s40265-021-01567-1>
- Karabekmez, M. E., Taymaz-Nikerel, H., Eraslan, S., & Kirdar, B. (2021). Time-dependent re-organization of biological processes by the analysis of the dynamic transcriptional response of yeast cells to doxorubicin. *Molecular Omics*, 17(4), 572-582. <https://doi.org/10.1039/D1MO00046B>
- Kawabata, T., Tokuda, H., Kuroyanagi, G., Fujita, K., Sakai, G., Kim, W., Matsushima-Nishiwaki, R., Iida, H., Yata, K. I., Wang, S., Mizoguchi, A., Otsuka, T., & Kozawa, O. (2020). Incretin accelerates platelet-derived growth factor-BB-induced osteoblast migration via protein kinase A: The upregulation of p38 MAP kinase. *Scientific reports*, 10(1), 2341. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59392-7>
- Kawaida, R., Yamada, R., Kobayashi, K., Tokuhira, S., Suzuki, A., Kochi, Y., ... & Yamamoto, K. (2005). CUL1, a component of E3 ubiquitin ligase, alters lymphocyte signal transduction with possible effect on rheumatoid arthritis. *Genes & Immunity*, 6(3), 194-202. <https://doi.org/10.1038/sj.gene.6364177>
- Keshava Prasad, T. S., Goel, R., Kandasamy, K., Keerthikumar, S., Kumar, S., Mathivanan, S., ... & Pandey, A. (2009). Human protein reference database—2009 update. *Nucleic acids research*, 37(suppl_1), D767-D772. <https://doi.org/10.1093/nar/gkn892>

- Kim, U., & Lee, D. S. (2023). Epigenetic Regulations in Mammalian Cells: Roles and Profiling Techniques. *Molecules and cells*, 46(2), 86–98. <https://doi.org/10.14348/molcells.2023.0013>
- Kirwan, J. (2013). Metabolomics for the practising vet. *In Practice*, 35(8), 438-445. <https://doi.org/10.1136/inp.f5259>
- Koh, G. C., Porras, P., Aranda, B., Hermjakob, H., & Orchard, S. E. (2012). Analyzing protein–protein interaction networks. *Journal of proteome research*, 11(4), 2014-2031. <https://doi.org/10.1021/pr201211w>
- Kolberg, L., Raudvere, U., Kuzmin, I., Adler, P., Vilo, J., & Peterson, H. (2023). g: Profiler—interoperable web service for functional enrichment analysis and gene identifier mapping (2023 update). *Nucleic Acids Research*, gkad347. <https://doi.org/10.1093/nar/gkad347>
- Kong, S., Yeung, P., & Fang, D. (2013). The class III histone deacetylase sirtuin 1 in immune suppression and its therapeutic potential in rheumatoid arthritis. *Journal of Genetics and Genomics*, 40(7), 347-354. <https://doi.org/10.1016/j.jgg.2013.04.001>
- Kori, M., & Yalcin Arga, K. (2018). Potential biomarkers and therapeutic targets in cervical cancer: Insights from the meta-analysis of transcriptomics data within network biomedicine perspective. *PLoS One*, 13(7), e0200717. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200717>
- Krassowski, M., Das, V., Sahu, S. K., & Misra, B. B. (2020). State of the field in multi-omics research: from computational needs to data mining and sharing. *Frontiers in Genetics*, 11, 610798. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.610798>

- Kuleshov, M. V., Jones, M. R., Rouillard, A. D., Fernandez, N. F., Duan, Q., Wang, Z., ... & Ma'ayan, A. (2016). Enrichr: a comprehensive gene set enrichment analysis web server 2016 update. *Nucleic acids research*, 44(W1), W90-W97. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw377>
- Landes, J. R., Moore, S. A., Bartley, B. R., Doan, H. Q., Rady, P. L., & Tying, S. K. (2023). The efficacy of selinexor (KPT-330), an XPO1 inhibitor, on non-hematologic cancers: a comprehensive review. *Journal of cancer research and clinical oncology*, 149(5), 2139-2155. <https://doi.org/10.1007/s00432-022-04247-z>
- Li, Z., Qi, F., & Li, F. (2020). Identification of drug targets and potential molecular mechanisms for Wantong Jingu Tablet extract in treatment of rheumatoid arthritis: bioinformatics analysis of fibroblast-like synoviocytes. *Chinese Medicine*, 15(1), 1-13. <https://doi.org/10.1186/s13020-020-00339-5>
- Licata, L., Briganti, L., Peluso, D., Perfetto, L., Iannuccelli, M., Galeota, E., ... & Cesareni, G. (2012). MINT, the molecular interaction database: 2012 update. *Nucleic acids research*, 40(D1), D857-D861. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr930>
- Lin, X., Chen, J., Tao, C., Luo, L., He, J., & Wang, Q. (2023). Osthole regulates N6-methyladenosine-modified TGM2 to inhibit the progression of rheumatoid arthritis and associated interstitial lung disease. *MedComm*, 4(2), e219. <https://doi.org/10.1002/mco2.219>
- Lin, Y. G., Immaneni, A., Merritt, W. M., Mangala, L. S., Kim, S. W., Shahzad, M. M., Tsang, Y. T., Armaiz-Pena, G. N., Lu, C., Kamat, A. A., Han, L. Y., Spannuth, W. A., Nick, A. M., Landen, C. N., Jr, Wong, K. K., Gray, M. J., Coleman, R. L., Bodurka, D. C., Brinkley, W. R., & Sood, A. K. (2008). Targeting aurora

- kinase with MK-0457 inhibits ovarian cancer growth. *Clinical cancer research* : an official journal of the American Association for Cancer Research, 14(17), 5437–5446. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-07-4922>
- Liu, J., & Chen, N. (2021). A 9 mRNAs-based diagnostic signature for rheumatoid arthritis by integrating bioinformatic analysis and machine-learning. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*, 16(1), 1-7. <https://doi.org/10.1186/s13018-020-02180-w>
- Liu, M., Liu, X., Wang, L., Wang, Y., Dong, F., Wu, J., Qu, X., Liu, Y., Liu, Z., Fan, H., & Yao, R. (2018). TRPV4 Inhibition Improved Myelination and Reduced Glia Reactivity and Inflammation in a Cuprizone-Induced Mouse Model of Demyelination. *Frontiers in cellular neuroscience*, 12, 392. <https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00392>
- Louhimo, R., & Hautaniemi, S. (2011). CNAmets: an R package for integrating copy number, methylation and expression data. *Bioinformatics* (Oxford, England), 27(6), 887–888. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr019>
- Lowe, R., Shirley, N., Bleackley, M., Dolan, S., & Shafee, T. (2017). Transcriptomics technologies. *PLoS computational biology*, 13(5), e1005457. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1005457>
- Mantione, K. J., Kream, R. M., Kuzelova, H., Ptacek, R., Raboch, J., Samuel, J. M., & Stefano, G. B. (2014). Comparing bioinformatic gene expression profiling methods: microarray and RNA-Seq. *Medical science monitor basic research*, 20, 138–142. <https://doi.org/10.12659/MSMBR.892101>

- McInnes, I. B., & Schett, G. (2017). Pathogenetic insights from the treatment of rheumatoid arthritis. *The Lancet*, 389(10086), 2328-2337. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)31472-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31472-1)
- Menyhárt, O., & Györffy, B. (2021). Multi-omics approaches in cancer research with applications in tumor subtyping, prognosis, and diagnosis. *Computational and structural biotechnology journal*, 19, 949-960. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2021.01.009>
- Monfort-Vengut, A., & de Cárcer, G. (2023). Lights and Shadows on the Cancer Multi-Target Inhibitor Rigosertib (ON-01910.Na). *Pharmaceutics*, 15(4), 1232. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15041232>
- Mueller, A.-L., Payandeh, Z., Mohammadkhani, N., Mubarak, S. M. H., Zakeri, A., Alagheband Bahrami, A., Brockmueller, A., & Shakibaei, M. (2021). Recent Advances in Understanding the Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis: New Treatment Strategies. *Cells*, 10(11), 3017. <https://doi.org/10.3390/cells10113017>
- Musa, A., Ghoraie, L. S., Zhang, S. D., Glazko, G., Yli-Harja, O., Dehmer, M., ... & Emmert-Streib, F. (2018). A review of connectivity map and computational approaches in pharmacogenomics. *Briefings in bioinformatics*, 19(3), 506-523. <https://doi.org/10.1093/bib/bbw112>
- Ning, M., Lo, E.H. Opportunities and Challenges in Omics. *Transl. Stroke Res.* 1, 233–237 (2010). <https://doi.org/10.1007/s12975-010-0048-y>
- Ogbodo, J. O., Arazu, A. V., Iguh, T. C., Onwodi, N. J., & Ezike, T. C. (2022). Volatile organic compounds: A proinflammatory activator in autoimmune diseases.

Frontiers in Immunology, 13, 928379.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.928379>

Ota, M., & Fujio, K. (2021). Multi-omics approach to precision medicine for immune-mediated diseases. *Inflammation and regeneration*, 41, 1-6.
<https://doi.org/10.1186/s41232-021-00173-8>

Petrovská, N., Prajzlerová, K., Vencovský, J., Šenolt, L., & Filková, M. (2021). The pre-clinical phase of rheumatoid arthritis: from risk factors to prevention of arthritis. *Autoimmunity Reviews*, 20(5), 102797.
<https://doi.org/10.1016/j.autrev.2021.102797>

Pinu, F. R., Beale, D. J., Paten, A. M., Kouremenos, K., Swarup, S., Schirra, H. J., & Wishart, D. (2019). Systems Biology and Multi-Omics Integration: Viewpoints from the Metabolomics Research Community. *Metabolites*, 9(4), 76.
<https://doi.org/10.3390/metabo9040076>

Pitaksalee, R., Burska, A. N., Ajaib, S., Rogers, J., Parmar, R., Mydlova, K., Xie, X., Droop, A., Nijjar, J. S., Chambers, P., Emery, P., Hodgett, R., McInnes, I. B., & Ponchel, F. (2020). Differential CpG DNA methylation in peripheral naïve CD4⁺ T-cells in early rheumatoid arthritis patients. *Clinical epigenetics*, 12(1), 54. <https://doi.org/10.1186/s13148-020-00837-1>

Pushpakom, S., Iorio, F., Eyers, P. et al. Drug repurposing: progress, challenges and recommendations. *Nat Rev Drug Discov* 18, 41–58 (2019).
<https://doi.org/10.1038/nrd.2018.168>

Qi, W., Liu, X., Cooke, L. S., Persky, D. O., Miller, T. P., Squires, M., & Mahadevan, D. (2012). AT9283, a novel aurora kinase inhibitor, suppresses tumor growth in

- aggressive B-cell lymphomas. *International journal of cancer*, 130(12), 2997-3005. <https://doi.org/10.1002/ijc.26324>
- Qiu, M., Xie, Y., Tu, L., Zhao, M., Yang, M., Fang, L., & Gu, J. (2023). Overexpressed RAD51 promoted osteogenic differentiation by activating IGF1R/PI3K/AKT pathway in osteoblasts. *Acta Biochimica Polonica*, 70(1), 31-36. https://doi.org/10.18388/abp.2020_5971
- Radu A-F, Bungau SG. Management of Rheumatoid Arthritis: An Overview. *Cells*. 2021; 10(11):2857. <https://doi.org/10.3390/cells10112857>
- Rahman, M. R., Petralia, M. C., Ciurleo, R., Bramanti, A., Fagone, P., Shahjaman, M., ... & Nicoletti, F. (2020). Comprehensive analysis of RNA-seq gene expression profiling of brain transcriptomes reveals novel genes, regulators, and pathways in autism spectrum disorder. *Brain sciences*, 10(10), 747. <https://doi.org/10.3390/brainsci10100747>
- Raudvere, U., Kolberg, L., Kuzmin, I., Arak, T., Adler, P., Peterson, H., & Vilo, J. (2019). g: Profiler: a web server for functional enrichment analysis and conversions of gene lists (2019 update). *Nucleic acids research*, 47(W1), W191-W198. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz369>
- Rindfleisch, J. A., & Muller, D. (2005). Diagnosis and management of rheumatoid arthritis. *American family physician*, 72(6), 1037–1047.
- Rohart, F., Gautier, B., Singh, A., & Lê Cao, K. A. (2017). mixOmics: An R package for 'omics feature selection and multiple data integration. *PLoS computational biology*, 13(11), e1005752. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1005752>

- Roman-Blas, J. A., & Jimenez, S. A. (2006). NF- κ B as a potential therapeutic target in osteoarthritis and rheumatoid arthritis. *Osteoarthritis and cartilage*, 14(9), 839-848. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2006.04.008>
- Santo, L., Hideshima, T., Cirstea, D., Bandi, M., Nelson, E. A., Gorgun, G., ... & Raje, N. (2011). Antimyeloma activity of a multitargeted kinase inhibitor, AT9283, via potent Aurora kinase and STAT3 inhibition either alone or in combination with lenalidomide. *Clinical cancer research*, 17(10), 3259-3271. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-10-3012>
- Sarkans, U., Füllgrabe, A., Ali, A., Athar, A., Behrangi, E., Diaz, N., Fexova, S., George, N., Iqbal, H., Kurri, S., Munoz, J., Rada, J., Papatheodorou, I., & Brazma, A. (2021). From ArrayExpress to BioStudies. *Nucleic acids research*, 49(D1), D1502–D1506. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa1062>
- Sherman, B. T., Hao, M., Qiu, J., Jiao, X., Baseler, M. W., Lane, H. C., ... & Chang, W. (2022). DAVID: a web server for functional enrichment analysis and functional annotation of gene lists (2021 update). *Nucleic acids research*, 50(W1), W216-W221. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac194>
- Slomiany, M. G., Black, L. A., Kibbey, M. M., Day, T. A., & Rosenzweig, S. A. (2006). IGF-1 induced vascular endothelial growth factor secretion in head and neck squamous cell carcinoma. *Biochemical and biophysical research communications*, 342(3), 851-858. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2006.02.043>
- Smoot, M. E., Ono, K., Ruscheinski, J., Wang, P. L., & Ideker, T. (2011). Cytoscape 2.8: new features for data integration and network visualization. *Bioinformatics*, 27(3), 431-432. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq675>

- Subramanian, A., Narayan, R., Corsello, S. M., Peck, D. D., Natoli, T. E., Lu, X., ... & Golub, T. R. (2017). A next generation connectivity map: L1000 platform and the first 1,000,000 profiles. *Cell*, 171(6), 1437-1452. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.10.049>
- Subramanian, I., Verma, S., Kumar, S., Jere, A., & Anamika, K. (2020). Multi-omics Data Integration, Interpretation, and Its Application. *Bioinformatics and biology insights*, 14, 1177932219899051. <https://doi.org/10.1177/1177932219899051>
- Sugiura, T., Kamino, H., Nariai, Y., Murakawa, Y., Kondo, M., Kawakami, M., ... & Urano, T. (2020). Screening of a panel of low molecular weight compounds that inhibit synovial fibroblast invasion in rheumatoid arthritis. *The Journal of Immunology*, 205(12), 3277-3290. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1901429>
- Sun, H., Hattori, N., Chien, W., Sun, Q., Sudo, M., Ding, L., ... & Koeffler, H. P. (2014). KPT-330 has antitumour activity against non-small cell lung cancer. *British journal of cancer*, 111(2), 281-291. <https://doi.org/10.1038/bjc.2014.260>
- Svingen, P. A., Tefferi, A., Kottke, T. J., Kaur, G., Narayanan, V. L., Sausville, E. A., & Kaufmann, S. H. (2000). Effects of the bcr/abl kinase inhibitors AG957 and NSC 680410 on chronic myelogenous leukemia cells in vitro. *Clinical cancer research*, 6(1), 237-249.
- Szklarczyk, D., Kirsch, R., Koutrouli, M., Nastou, K., Mehryary, F., Hachilif, R., Gable, A. L., Fang, T., Doncheva, N. T., Pyysalo, S., Bork, P., Jensen, L. J., & von Mering, C. (2023). The STRING database in 2023: protein-protein association networks and functional enrichment analyses for any sequenced genome of interest. *Nucleic acids research*, 51(D1), D638–D646. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac1000>

- Tao, Z., Jin, Z., Wu, J., Cai, G., & Yu, X. (2023). Sirtuin family in autoimmune diseases. *Frontiers in immunology*, 14, 1186231.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1186231>
- Taymaz-Nikerel, H., Karabekmez, M. E., Eraslan, S., & Kırdar, B. (2018). Doxorubicin induces an extensive transcriptional and metabolic rewiring in yeast cells. *Scientific reports*, 8(1), 13672. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-31939-9>
- Teixeira, V. H., Olaso, R., Martin-Magniette, M. L., Lasbleiz, S., Jacq, L., Oliveira, C. R., Hilliquin, P., Gut, I., Cornelis, F., & Petit-Teixeira, E. (2009). Transcriptome analysis describing new immunity and defense genes in peripheral blood mononuclear cells of rheumatoid arthritis patients. *PloS one*, 4(8), e6803.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006803>
- Toussiro, E., & Roudier, J. (2007). Pathophysiological links between rheumatoid arthritis and the Epstein–Barr virus: an update. *Joint Bone Spine*, 74(5), 418-426. <https://doi.org/10.1016/j.jbspin.2007.05.001>
- Tseng, C. C., Lin, Y. Z., Lin, C. H., Li, R. N., Yen, C. Y., Chan, H. C., ... & Yen, J. H. (2019). Next-generation sequencing profiles of the methylome and transcriptome in peripheral blood mononuclear cells of rheumatoid arthritis. *Journal of Clinical Medicine*, 8(9), 1284. <https://doi.org/10.3390/jcm8091284>
- Vojinovic, J., & Damjanov, N. (2011). HDAC inhibition in rheumatoid arthritis and juvenile idiopathic arthritis. *Molecular Medicine*, 17(5), 397-403.
<https://doi.org/10.2119/molmed.2011.00030>
- Wang, Q. S., Fan, K. J., Teng, H., Chen, S., Xu, B. X., Chen, D., & Wang, T. Y. (2022). Mir204 and Mir211 suppress synovial inflammation and proliferation in

- rheumatoid arthritis by targeting Ssrp1. *Elife*, 11, e78085.
<https://doi.org/10.7554/eLife.78085>
- Wei, Y., Huang, X., Ma, Y., & Dai, L. (2022). FOXC1-mediated TRIM22 regulates the excessive proliferation and inflammation of fibroblast-like synoviocytes in rheumatoid arthritis via NF- κ B signaling pathway. *Molecular Medicine Reports*, 26(4), 1-11. <https://doi.org/10.3892/mmr.2022.12820>
- Werner, T. (2004). Proteomics and regulomics: the yin and yang of functional genomics. *Mass spectrometry reviews*, 23(1), 25-33.
<https://doi.org/10.1002/mas.10067>
- Whitaker, J. W., Boyle, D. L., Bartok, B., Ball, S. T., Gay, S., Wang, W., & Firestein, G. S. (2015). Integrative omics analysis of rheumatoid arthritis identifies non-obvious therapeutic targets. *PloS one*, 10(4), e0124254.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124254>
- Williams, B., Dharmapatni, A., & Crotti, T. (2018). Intracellular apoptotic pathways: a potential target for reducing joint damage in rheumatoid arthritis. *Inflammation Research*, 67, 219-231. <https://doi.org/10.1007/s00011-017-1116-5>
- Woetzel, D., Huber, R., Kupfer, P., Pohlers, D., Pfaff, M., Driesch, D., Häupl, T., Koczan, D., Stiehl, P., Guthke, R., & Kinne, R. W. (2014). Identification of rheumatoid arthritis and osteoarthritis patients by transcriptome-based rule set generation. *Arthritis research & therapy*, 16(2), R84.
<https://doi.org/10.1186/ar4526>
- Xu, L., Gao, X., Yang, P., Sang, W., Jiao, J., Niu, M., Liu, M., Qin, Y., Yan, D., Song, X., Sun, C., Tian, Y., Zhu, F., Sun, X., Zeng, L., Li, Z., & Xu, K. (2021).

- EHMT2 inhibitor BIX-01294 induces endoplasmic reticulum stress mediated apoptosis and autophagy in diffuse large B-cell lymphoma cells. *Journal of Cancer*, 12(4), 1011–1022. <https://doi.org/10.7150/jca.48310>
- Xue, Y., Zhao, C., & Liu, T. (2022). Interferon-induced protein with tetratricopeptide repeats 1 (IFIT1) accelerates osteoclast formation by regulating signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) signalling. *Bioengineered*, 13(2), 2285-2295. <https://doi.org/10.1080/21655979.2021.2024333>
- Yamaguchi, T., Kakefuda, R., Tanimoto, A., Watanabe, Y., & Tajima, N. (2012). Suppressive effect of an orally active MEK1/2 inhibitor in two different animal models for rheumatoid arthritis: a comparison with leflunomide. *Inflammation Research*, 61, 445-454. <https://doi.org/10.1007/s00011-011-0431-5>
- Yang, M., Feng, X., Ding, J., Chang, F., & Chen, X. (2017). Nanotherapeutics relieve rheumatoid arthritis. *Journal of Controlled Release*, 252, 108-124. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2017.02.032>
- Ye, H., Zhang, J., Wang, J., Gao, Y., Du, Y., Li, C., Deng, M., Guo, J., & Li, Z. (2015). CD4 T-cell transcriptome analysis reveals aberrant regulation of STAT3 and Wnt signaling pathways in rheumatoid arthritis: evidence from a case-control study. *Arthritis research & therapy*, 17(1), 76. <https://doi.org/10.1186/s13075-015-0590-9>
- Yokus, B. Epigenom ve Epigenetik. *Dicle Üniv Vet Fak Derg* 2013, 1(2), 5-13.
- Yong, WS., Hsu, FM. & Chen, PY. Profiling genome-wide DNA methylation. *Epigenetics & Chromatin* 9, 26 (2016). <https://doi.org/10.1186/s13072-016-0075-3>

- Zhang, L. N., Ji, K., Sun, Y. T., Hou, Y. B., & Chen, J. J. (2020). Aurora kinase inhibitor tozasertib suppresses mast cell activation in vitro and in vivo. *British journal of pharmacology*, 177(12), 2848–2859. <https://doi.org/10.1111/bph.15012>
- Zhang, N., Shen, H., Chen, B., Hu, H., Liu, C., Chen, Y., & Cong, W. (2023). The recent progress of peptide regulators for the Wnt/ β -catenin signaling pathway. *Frontiers in Medicine*, 10, 1164656. <https://doi.org/10.3389/fmed.2023.1164656>
- Zhang, Y. D., Ding, X. J., Dai, H. Y., Peng, W. S., Guo, N. F., Zhang, Y., Zhou, Q. L., & Chen, X. L. (2018). SB-216763, a GSK-3 β inhibitor, protects against aldosterone-induced cardiac, and renal injury by activating autophagy. *Journal of cellular biochemistry*, 119(7), 5934–5943. <https://doi.org/10.1002/jcb.26788>
- Zhao, J., & Li, Z. G. (2018). The challenges of early diagnosis and therapeutic prediction in rheumatoid arthritis. *International Journal of Rheumatic Diseases*, 21(12), 2059-2062. <https://doi.org/10.1111/1756-185X.13459>
- Zhou, Q., Li, G., Deng, X. Y., He, X. B., Chen, L. J., Wu, C., ... & Zhou, N. M. (2012). Activated human hydroxy-carboxylic acid receptor-3 signals to MAP kinase cascades via the PLC-dependent PKC and MMP-mediated EGFR pathways. *British journal of pharmacology*, 166(6), 1756-1773. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2012.01875.x>

EKLER

Ek-1: Veri Kümelerinin Ayrıntılı Listesi

Erişim Kodu	Deney Türü	Örnek Sayısı	Örnek Kaynağı	Veri Tipi	Referans
GSE1919	Transkriptomik	5 RA/5 K	Sinoviyal Doku	Affymetrix HG_U95A Array	(Ungethuem ve diğerleri, 2010)
GSE4588	Transkriptomik	16 RA/23 K	CD4+T/CD19+B hüç.	Affymetrix HG_U133 Plus 2.0 Array	(Lauwerys ve diğerleri, 2006)
GSE10500	Transkriptomik	5 RA/3 K	Sinoviyal Sıvı	Affymetrix HG_U95 Version 2 Array	(Broeren ve diğerleri, 2016)
GSE15573	Transkriptomik	18 RA/15 K	PBMC	Illumina H-6 v2.0 expression beadchip	(Teixeira ve diğerleri, 2009)
GSE38351-GPL96	Transkriptomik	8 RA/12K	PBM-monosit	Affymetrix HG_U133A Array	(Smiljanovic ve diğerleri, 2012)
GSE55235	Transkriptomik	10 RA/10 K	Sinoviyal Doku	Affymetrix HG_U133A Array	(Woetzel ve diğerleri, 2014)
GSE55457	Transkriptomik	13 RA/10 K	Sinoviyal Doku	Affymetrix HG_U133A Array	(Woetzel ve diğerleri, 2014)
GSE56649	Transkriptomik	13 RA/9 K	CD4+T hüç.	Affymetrix HG_U133 Plus 2.0 Array	(Ye ve diğerleri, 2015)
GSE77298	Transkriptomik	16 RA/7 K	Sinoviyum	Affymetrix HG_U133 Plus 2.0 Array	(Broeren ve diğerleri, 2016)
GSE71841	Metilomik	12 RA/12 K	CD4+T hüç.	Illumina HumanMethylation450 BeadChip	(Guo ve diğerleri, 2017)
GSE87095	Metilomik	49 RA/73 K	CD19+B hüç.	Illumina HumanMethylation450 BeadChip	(Julià ve diğerleri, 2017)
GSE121192	Metilomik	30 RA/16 K	PBMC	Illumina HumanMethylation450 BeadChip	(Pitaksalee ve diğerleri, 2020)

Ek-2: Çoklu-Omik Veri Kümelerinin Entegre Analiz Listesi

	Metilomik			Transkriptomik								
MASTER LİST	GSE71841	GSE87095	GSE121192	GSE10500	GSE15573	GSE1919	GSE38351	GSE4588	GSE55235	GSE55457	GSE56649	GSE77298
UBTF	hiper		hiper	aşağı						aşağı		
BAIAP2	hiper		hiper	aşağı					aşağı	aşağı		
ALDH3A2	hiper		hiper	aşağı							aşağı	
LILRA4	hiper						aşağı				aşağı	
TCF7L2	hiper								aşağı	aşağı	aşağı	
HIF3A	hiper								aşağı	aşağı	aşağı	
CLNS1A	hiper			aşağı							aşağı	
MAFK	hiper							aşağı		aşağı		
DUSP7	hiper			aşağı						aşağı		
SLC16A7	hiper								aşağı	aşağı	aşağı	
TEX261	hiper				aşağı					aşağı		
DHX9	hiper									aşağı	aşağı	
CDKN1C	hiper				aşağı						aşağı	
WRNIP1	hiper				aşağı						aşağı	
FNTA	hiper				aşağı						aşağı	
CP	hiper								aşağı		aşağı	
TACC2		hiper	hiper						aşağı	aşağı		aşağı
RAP1GAP			hiper							aşağı	aşağı	
MAST4			hiper			aşağı			aşağı			
ITM2B			hiper	aşağı						aşağı	aşağı	
LDB3			hiper							aşağı		aşağı
PHKB			hiper	aşağı							aşağı	
KCNJ4			hiper						aşağı	aşağı		
PNMT			hiper						aşağı	aşağı		
SKP1			hiper						aşağı		aşağı	
PRDX6			hiper						aşağı	aşağı	aşağı	
DHCR24			hiper			aşağı			aşağı			
TAF15			hiper	aşağı	aşağı				aşağı	aşağı	aşağı	
BET1L			hiper		aşağı					aşağı	aşağı	
RAB2A			hiper							aşağı	aşağı	

EFNB2			hiper						aşağı	aşağı		
GLP1R			hiper				aşağı			aşağı		
SLC25A4			hiper						aşağı	aşağı		
JOSD1			hiper		aşağı			aşağı				
FOXJ3			hiper		aşağı				aşağı	aşağı		
ABTB2			hiper						aşağı	aşağı		
EHBP1			hiper			aşağı			aşağı	aşağı		
SMAD7			hiper		aşağı			aşağı	aşağı			
MYH11			hiper			aşağı			aşağı	aşağı		
FOXO3			hiper			aşağı			aşağı			
CHKA			hiper						aşağı	aşağı		
ZFP36L1			hiper						aşağı	aşağı	aşağı	
LYST			hiper							aşağı	aşağı	
FBXO42			hiper						aşağı		aşağı	
TULP3			hiper	aşağı					aşağı			
SCRIB			hiper		aşağı						aşağı	
CAMK1D			hiper						aşağı		aşağı	
AHNAK			hiper						aşağı		aşağı	
FAF2			hiper		aşağı						aşağı	
ABL1			hiper	aşağı	aşağı				aşağı			
FOXO1			hiper			aşağı			aşağı			
RALGAPB	hipo	hipo								yukarı	yukarı	
TAPBPL	hipo	hipo							yukarı	yukarı		
ASH2L	hipo							yukarı		yukarı		
DOCK4	hipo								yukarı		yukarı	
TMED5	hipo			yukarı				yukarı				
DMTF1	hipo								yukarı		yukarı	
FBXL17	hipo							yukarı			yukarı	
IL15	hipo			yukarı		yukarı			yukarı	yukarı		
MREG	hipo								yukarı	yukarı		
TRAF5	hipo								yukarı		yukarı	
ZDHHC6	hipo									yukarı	yukarı	
RNF11	hipo			yukarı							yukarı	
COL1A2	hipo					yukarı			yukarı			
RABEP2	hipo								yukarı	yukarı		
RBM4B	hipo								yukarı	yukarı		
PAPSS2	hipo								yukarı	yukarı		

TRIP12	hipo				yukarı						yukarı	
LAP3	hipo								yukarı	yukarı		
CD58	hipo								yukarı		yukarı	
TMF1	hipo			yukarı					yukarı	yukarı	yukarı	
TXNDC15	hipo							yukarı		yukarı		
LBR	hipo								yukarı		yukarı	
TRAPPC11	hipo							yukarı			yukarı	
PHF11	hipo								yukarı	yukarı		
ADNP	hipo									yukarı	yukarı	
CD44	hipo			yukarı		yukarı			yukarı		yukarı	
BUB1	hipo								yukarı	yukarı		yukarı
CLU	hipo			yukarı							yukarı	
TCIRG1	hipo								yukarı		yukarı	
PTPRE	hipo			yukarı					yukarı		yukarı	
TPK1	hipo								yukarı	yukarı		
XAF1	hipo							yukarı	yukarı			
FYN	hipo			yukarı							yukarı	
TRIM22	hipo								yukarı	yukarı	yukarı	
CASP8	hipo					yukarı			yukarı		yukarı	
RAD51	hipo								yukarı	yukarı		
GCA	hipo							yukarı	yukarı			
CCNA2	hipo								yukarı	yukarı	yukarı	
CBFA2T3	hipo								yukarı	yukarı		
CEP135	hipo								yukarı	yukarı		
INPP5F	hipo			yukarı							yukarı	
ENTPD1	hipo								yukarı	yukarı		
ABCG1	hipo								yukarı	yukarı	yukarı	
MX1	hipo								yukarı	yukarı		
LY6E	hipo								yukarı			yukarı
TAP1	hipo			yukarı		yukarı			yukarı	yukarı		
EIF5B	hipo			yukarı							yukarı	
TXNDC9	hipo							yukarı	yukarı			
PCNA		hipo				yukarı			yukarı			
ZFC3H1		hipo						yukarı			yukarı	
ALG6		hipo								yukarı	yukarı	
IFIT1		hipo						yukarı	yukarı			
SAMD9		hipo						yukarı		yukarı		

TPM4			hipo								yukarı	yukarı
RAP1GDS1			hipo					yukarı	yukarı			
FCAR			hipo	yukarı			yukarı			yukarı		
HSPB11			hipo							yukarı	yukarı	