T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PREEKLAMPSİLİ HASTALARIN PLASENTA VE İLGİLİ DOKULARINDAN ELDE EDİLEN RNA DİZİLERİNDEN YOLAK ANALİZİ

Fadime ARIK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Moleküler Biyoloji ve Genetik Programı

Danışman

Prof. Dr. Nehir ÖZDEMİR ÖZGENTÜRK

Ağustos, 2021

T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PREEKLAMPSİLİ HASTALARIN PLASENTA VE İLGİLİ DOKULARINDAN ELDE EDİLEN RNA DİZİLERİNDEN YOLAK ANALİZİ

Fadime ARIK tarafından hazırlanan tez çalışması 10.08.2021 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Moleküler Biyoloji ve Genetik Programı **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Nehir ÖZDEMİR ÖZGENTÜRK

Yıldız Teknik Üniversitesi

Danışman

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Nehir ÖZDEMİR ÖZGENTÜRK, Danışman
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Dr. Öğr. Üyesi Emel ORDU, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Prof. Dr. Günay ANACAK, Üye
Ege Üniversitesi _____

Danışmanım Prof. Dr. Nehir ÖZDEMİR ÖZGENTÜRK sorumluluğunda tarafımca hazırlanan Preeklampsili Hastaların Plasenta Ve İlgili Dokularindan Elde Edilen RNA Dizilerinden Yolak Analizi başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve referanslarda eksiksiz gösterdiğimi, araştırma verilerine ve sonuçlarına ilişkin çarpıtma ve/veya sahtecilik yapmadığımı, çalışmam süresince bilimsel araştırma ve etik ilkelerine uygun davrandığımı beyan ederim. Beyanımın aksinin ispatı halinde her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Fadime ARIK

İmza

Aileme…

TEŞEKKÜR

Beni sabırla dinleyen ve yol gösteren, iyi kalbi ile beni daima destekleyen, anlayış gösteren, her konuda değerli vaktini ayırıp rehberliğini ve bilgisini esirgemeyen, sayın danışmanım Prof. Dr. Nehir ÖZDEMİR ÖZGENTÜRK'e, çalışmalarımda bana yol gösteren sayın Dr. Zehra ÖMEROĞLU ULU'ya, bilimsel sohbetleriyle ufkumu genişleten ve yaratıcılığımı şekillendiren sevgili arkadaşım İsa YÜKSEL'e, bu uzun süreçte tüm heyecanımı, yorgunluğumu ve uykusuzluğumu paylaşan, bilgisayarda geçirdiğim saatler süren çalışmalarımda yemeğimi önüme getiren, evde sessiz ve verimli çalışma ortamı sağlayan, bana devam etme gücünü ve inancını daima aşılayan sevgili AİLE'me teşekkürlerimi borç bilirim.

Fadime ARIK

İmza

İÇİNDEKİLER

SİMGE LİSTESİ vii
KISALTMA LİSTESİ viii
ŞEKİL LİSTESİ ix
TABLO LİSTESİ x
ÖZET xi
ABSTRACT xiii
1 GİRİŞ 1
1.1 Literatür Özeti..... 1
1.2 Tezin Amacı..... 2
1.3 Hipotez..... 2
2 GENEL BİLGİLER 3
2.1 Preeklampsi: Bir Hamilelik Sendromu..... 3
2.2 Tüm Transkriptome Analizi ve Yeni Nesil Dizileme Yöntemi ile RNA Dizileme (RNAseq) 9
2.2.1 Diferansiyel Eksprese Edilen Genlerin Belirlenmesi..... 10
2.3 Biyoinformatik Yaklaşımlar..... 11
2.4 Gen Zenginleştirme ve Yolak Analizi..... 12
2.4.1 g:Profiler Veritabanı..... 13
2.4.2 Gene Ontolojisi Veritabanı..... 16
2.4.3 KEGG Yolak Analizi Veritabanı..... 16
2.4.4 Reactome Yolak Analizi Veritabanı..... 17
2.4.5 WikiPaths Yolak Analizi Veritabanı..... 17
2.5 Genlerin Protein Protein Etkileşimleri..... 17
2.5.1 Key Pathway Miner (KPM)..... 18
2.5.2 CYTOSCAPE Yazılımı..... 19
2.6 RStudio İstatiksel Yazılımı..... 21
3 MATERYAL VE YÖNTEM 23
3.1 RNA izolasyonu, RNA-Seq ve Diferansiyel Eksprese Edilen Genlerin Belirlenmesi..... 23
3.2 Anlamlı olarak diferansiyel exprese edilen genlerin RStudio aracılığı ile Belirlenmesi..... 24

3.3 KeyPathMiner Aracılığıyla Anlamlı olarak diferansiyel eksprese olan İlişkili Genlerin Belirlenmesi……27
3.4 g:Profiler Aracılı Anlamlı Olarak Eksprese Edilen Genlerin GO Terim ve Yolak Analizi……31
3.5 CYTOSCAPE ile Anlamlı Olarak Eksprese Edilen Genlerin Etkileşimlerinin Görselleştirilmesi…… 34
4 SONUÇ VE ÖNERİLER **36**
4.1 KeyPathMiner Aracılı Diferansiyel Eksprese Olmuş Genlerin RStudio Kullanılarak Analizi…….. 36
4.2 g:Profiler Veritabanında GO Terim Sonuçları……37
4.3 g:Profiler Veritabanında Yolak Analizi Sonuçları……..42
4.4 CYTOSCAPE 3.8.2 Aracılı Görselleştirme ve Ağ Analizi Sonuçları……..46
4.5 Tartışma ve Öneriler…… 49
KAYNAKÇA **54**
A EKLER **63**
TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR **81**

SİMGE LİSTESİ

p_{adj}	Ayarlanmış p değeri

KISALTMA LİSTESİ

AKI	Diyaliz için yeni endikasyon
BIOGRID	Etkileşim Veri Kümeleri için Biyolojik Genel Depo
COMT	Katekol- O- metiltransferaz
DEGs	Diferansiyel eksprese genler
DNA	Deoksiribonükleik asit
EcoCyc	E. coli Genleri ve Metabolizma Ansiklopedisi
EST	İfadelenmiş dizi etiketi Dizileme
FDR	Yanlış Keşif Oranı
GANPA	Gen Birliği Ağ Tabanlı Yol Analizi
GO	Gen ontolojisi
GRCm38	Mus musculus (ev faresi)
GSA	Gen Seti Analizi
GSEA	Gen Seti Zenginleştirme Analizi
GSVA	Gen Seti Varyasyon Analizi
HPID	Sağlık Planı Tanımlayıcısı
HTN	Hipertansiyon
KEGG	Kyoto Genler ve Genom Ansiklopedisi
KPM	Key Pathway Miner
LFT	Karaciğer fonksiyon testi
MetaCyc	Yaşamın Tüm Alanlarından Metabolik Yollar
MSigDb	Moleküler İmza Veritabanı
NCI / PID	Doğa yolu etkileşim veritabanı/Yolak etkileşim veritabanı
NGS	Yeni Nesil Dizileme
PRES	Posterior geri dönüşümlü ensefalopati sendromu
RNA	Ribonükleik Asit
RNA-seq	RNA Dizileme
SAGE	Gen ifadesinin seri analizi
SPIA	Sinyal Yolu Etki Analizi

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1 Preeklampsi oluşumundaki 2 aşama……...6
Şekil 2.2 DEGs belirlenmesinde iş akışı……..11
Şekil 2.3 g:Profiler veritabanı arayüzü…… 14
Şekil 2.4 g:Profiler veritabanı sorgu ayarları……... 14
Şekil 2.5 g:Profiler ilişkili yolak veritabanları……..15
Şekil 2.6 Gen Ontolojisi arayüzü…….. 16
Şekil 2.7 Cytoscape etkileşim ayarları…….. 20
Şekil 2.8 Cytoscape etkileşim ağı…….. 20
Şekil 2.9 Cytoscape ağ analizi……21
Şekil 2.10 rStudio veritabanı…… 22
Şekil 3.1 DEGs analizi için iş akışı……24
Şekil 3.2 Aşağı düzenlenen genler için sorgular……..32
Şekil 3.3 Yukarı düzenlenen genler için girilen sorgular……33
Şekil 3.4 g:Profiler veritabanı ayarları……..33
Şekil 3.5 GO terim ve yolak analizleri için seçilen kaynaklar……34
Şekil 3.6 Cytoscape aracılı genlerin etkileşimlerinin belirlenmesi……35
Şekil 4.1 Aşağı düzenlenen genlerin zenginleştiği GO terimleri……...38
Şekil 4.2 Yukarı düzenlenen genlerin zenginleştiği GO terimleri……38
Şekil 4.3 Aşağı düzenlenen genlerin zenginleştiği yolaklar……..……42
Şekil 4.4 Yukarı düzenlenen genlerin zenginleştiği yolaklar……43
Şekil 4.5 KPM-aracılı aşağı düzenlenen genlerin etkileşimleri……..47
Şekil 4.6 KPM-aracılı yukarı düzenlenen genlerin etkileşimleri……48

TABLO LİSTESİ

Tablo 4.1 Aşağı düzenlenen genlerin GO terimleri……40
Tablo 4.2 Yukarı düzenlenen genlerin GO terimleri……...41
Tablo 4.3 Aşağı düzenlenen genlerin zenginleştiği biyolojik yolaklar…… 45
Tablo 4.4 Yukarı düzenlenen genlerin zenginleştiği biyolojik yolaklar……46
Tablo 4.5 Aşağı düzenlenen genlerin etkileşim dereceleri……47
Tablo 4.6 Yukarı düzenlenen genlerin etkileşim dereceleri…….. 48

ÖZET

Preeklampsili Hastalarin Plasenta ve İlgili Dokularindan Elde Edilen RNA Dizilerinden Yolak Analizi

Fadime ARIK

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Nehir ÖZDEMİR ÖZGENTÜRK

Anne ve bebeği olumsuz etkileyerek çeşitli hastalıklara hatta ölüme bile neden olabilen preeklampsi, %2-5 oranında insidans sergilemektedir. Anjiyojenik faktörlerin moleküler düzeyde düzensizliğine dayanan bu hastalık, endotelyal hasar ve koagülopati sergiler. Böbrekteki endotel hasarı proteinüriye neden olurken, damarlarda vazokonstriksiyon disfonksiyonuna; maternal kardiyovasküler sistemi istila ederek kaçınılmaz hipertansiyona neden olur.

Bu çalışmada, normal doğum yapan ve preeklampsi hastalarınIN plasental doku, kordon, plasenta yatağı, plasenta kendisinden izole edilen RNA örneklerinden, Yeni Nesil Dizileme yöntemi ile gerçekleştirilen RNA-seq ile gen ekspresyon profilinin çıkarılması, genlerin ilişkili oldukları biyolojik yolaklar ve ağ analizlerinin belirlenmesi hedeflenmiştir. Önceki çalışmada, Yeni Nesil Dizileme yöntemi ile dizilenen RNA-seq verilerinin analizleri ve farklı ifade edilen genlerin tespiti Tuxedo Protokolü ile gerçekleştirildi. Tez kapsamında, farklı ifade edilen genlerin ileri analizi için 0.05 p_value seviyesinde inceleme yapılarak, anlamlı olarak ifadesi değişmiş genler tespit edildi. Genlerin protein-protein

etkileşimleri, RStudio kullanılarak KPM 4.0 aracılığıyla belirlendi. Yukarı ve aşağı düzenlenen ilgili genleri belirledikten sonra yolak analizi için g: PROFILER veritabanına ayrı ayrı girildi. Sonuçların GO terimleri ve genlerin hangi yollarda zenginleştirildiği saptanmıştır. CYTOSCAPE 3.8.2, ilgili genlerin düğümlerini ve bağlantılarını görselleştirmek ve KPM şablonuna göre ağ analizi yapmak için kullanıldı.

Analiz sonuçlarına göre, aşağı düzenlenen 130, yukarı düzenlenen 256 tane gen bulunmuştur. Hem yukarı regülasyonda hem de aşağı regülasyonda en çok etkileşime sahip gen APP genidir. Aşağı düzenlenen genlerin zenginleştiği yolaklar, kanserde liganda duyarlı EGFR varyantları ile sinyalleşme yolağı, CBL tarafından sinyallemenin düzenlenmesi, Beyin Türevli Nörotrofik Faktör (BDNF) sinyal yolu, Kit reseptör sinyalleme yolağı, Koronavirüs hastalığı-Covid-19, Fc epsilon RI signalleme yolağı, Nörotrofin sinyalleme yolaklarıdır. Yukarı düzenlenen genler ise Östrojen sinyal yolağı, Hücre-hücre iletişimi, Beyin türevli nörotrofik Faktör (BTNF) sinyal yolağı, Kornifiye zarfın oluşumu, Gelişimsel biyoloji, Gastrin sinyalleme yolağında zenginleşmiştir.

Anahtar kelimeler: Preeklampsi, Plasental doku, RNA dizileme, Yolak Analizi

ABSTRACT

Pathway Analysis from RNA Sequencing Obtained from Placenta and Related Tissues of Patients with Preeclampsia

Fadime ARIK

Department of Molecular Biology and Genetics

Master of Science Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Nehir ÖZDEMİR ÖZGENTÜRK

Preeclampsia causing various diseases and even death by affecting the mother and baby, has an incidence of 2-5% with based on the dysregulation of angiogenic factors, exhibits endothelial damage and coagulopathy. While endothelial damage in the kidney causes proteinuria, vasoconstriction dysfunction in vessels; It invades the maternal cardiovascular system, causing inevitable hypertension.

In this study, it was aimed to determine the gene expression profile by RNA-seq performed by the Next Generation Sequencing method and to determine the biological pathways and network analyzes to which genes are related, from RNA samples isolated from placenta and related tissues in normal delivery and preeclamptic patients. The previous study analyzed RNA-seq data sequenced by

Next Generation Sequencing and detection of differentially expressed genes by the Tuxedo Protocol. In this thesis, for the further analysis of the differentially expressed genes examining the 0.05 p_value level, and the genes with significantly changed expression were detected. KPM 4.0 using RStudio determined protein-protein interactions. After identifying the genes of upregulated and downregulated, they were separately entered into the g:Profiler database for pathway analysis. The GO terms of the results and how the genes were enriched were determined. CYTOSCAPE 3.8.2 was used to visualize nodes and interaction of genes and perform network analysis according to the KPM template.

As a result, 130 genes exhibited downregulation and 256 upregulations. The gene with the most interaction in both up-regulation and down-regulation was the APP gene. Pathways in which downregulated genes are enriched in the Signaling by ligand-responsive EGFR variant in cancer, Regulation of signaling by CBL, Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) signaling, Kit receptor signaling pathway, Coronavirus disease-Covid-19, Fc epsilon RI signaling pathway, Neurotrophin signaling pathway. Upregulated genes were enriched in the Estrogen signaling pathway, Cell-cell communication, Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) signaling, Formation of the cornified envelope, Developmental biology, Gastrin signaling pathway.

Keywords: Preeclampsia, Placental tissue, RNA Sequencing, Pathway Analysis

1
GİRİŞ

1.1 Literatür Özeti

Preeklampsi, proteinuri ve hipertansiyon ile temel belirtiler göstererek dünya çapında her yıl binlerce maternal ölüme neden olur, annenin ve fetüsün hayatlarının ileriki periyotlarında çeşitli kardiyovasküler hastalıklarla yaşamalarına sebep olarak kalıcı hasarlar bırakabilir. Annenin plasenta teslimiyle birlikte, hastalığın klinik seyri biter ve iyileşme gerçekleşir, bunun dışında kanıtlanmış kesin bir tedavi yoktur[1], [2].

Hamilelik esnasında, östrojen hormonu yardımıyla fetüsün beslenmesi için anjiyogenez ile yeni oluşan kan damarları, preeklampsi esnasında disregülasyon gösterir ve bu yolaklarda gen ekspresyon seviyesi anolmal şekilde gerçekleşir. Buna ek olarak, preeklamptik durumda hücrede artan oksidatif stres ve hücrenin maruz kaldığı reaktif oksijen türevleri döngüsünden dolayı preeklampsi daha da şiddetlenebilir[3],[4]. Bazı immünolojik faktörler de preeklampsi gelişimine çeşitli yolakları tetikleyerek katılabilir[5]. Preeklampsi gelişimine katkı sağlayan faktörlerin tespiti için, sağlıklı ve kontrol dokulardan RNA izolasyonu gerçekleştirilerek RNA-seq (RNA Dizileme) yapılır ve kontrole kıyasla farklı ifade edilen genler, web tabanlı araçlar veya yazılım araçları sayesinde istatiksel analizlerle saptanır [6]. Bu esnada kullanılabilecek yolak analiz araçları GO, KEGG, REACTOME, g:Profiler gibi yolak analiz veritabanları ve protein-protein etkileşimleri için KeyPathwayMiner, CYTOSCAPE gibi araçlar kullanılarak ilişkiye sahip genlerin bir arada bulunması ve etkileşim tiplerinin anlaşılması sağlanır [7]. Preeklampsi kompleks bir hastalık olup, meydana gelmesinde sorumlu ve keşfedilmemiş birçok gen ve yolak mecvuttur. Kompleks verilerin kolayca çalışılmasını sağlayan biyoinformatik yöntem, yazılım ve araçlar aracılığıyla, keşfedilen yeni biyobelirteçler ve yollar sayesinde, hastalığın moleküler mekanizması günden güne biraz daha aydınlatılmaktadır.

1.2 Tezin Amacı

Moleküler mekanizması tam bilinmeyen preeklampsi sendromunun, preeklamptik ve kontol hamilelerin her biri için plasenta ve ilişkili dokularından oluşturulan tek bir RNA havuzu ile RNAseq dizileme sonuçlarından yola çıkarak, preeklamptik durumda kontrole kıyasla anlamlı olarak diferasiyel eksprese edilen genlerin tespit edilmesi ve bu genlerin ilişkili olduğu biyolojik yolakların tahmin edilmesi amaçlanmıştır.

1.3 Hipotez

Preeklampsi sendromu esnasında maternal-fetal sistemine etki eden genlerin tespit edilmesi ve bu genlerin zenginleştiği yolakların keşfedilmesinde, protein-protein etkileşimlerinden yola çıkılarak, yukarı ve aşağı düzenlenen genlerin ayrı ayrı değerlendirilmesi ile, aynı düzenlemeye sahip genlerin aynı yolaklarda zenginleşme göstermesi sağlanarak, preeklampsi ile ilişkili yüksek anlamlılık seviyesinde genlerin ve yolakların tahmin edilmesi beklenmektedir.

2
GENEL BİLGİLER

2.1 Preeklampsi: Bir Hamilelik Sendromu

Anne ve bebeğin sağlığını olumsuz yönde etkileyen ve bazen meternal-fetal ölüme yol açabilen preeklampsi, hamile kadınlar arasında %2-5 oranında insidans sergilemektedir [8]. Preeklampsinin klasik tanımı multidisipliner ve biyoinformatik çalışmaların gelişmesiyle değişmiş, yeni moleküler biyobelirteçlerin keşfi ile sürekli güncellenen bir tanıma sahip olmaya başlamıştır. Anjiyojenik faktörlerin moleküler seviyede düzensizliğine dayanan bu hastalık, endotel hasarı ve koagülopati sergiler. Böbrekte endotel hasarı proteinüriye neden olurken, damarlarda vazokonstriksiyon disfonksiyonuna neden olarak maternal kardiyovasküler sistemi işgal ederek kaçınılmaz hipertansiyona neden olur. Preeklampsi, dünya çapında düşük ekonomik seviyeye sahip ülkelerde yılda yaklaşık 60.000 anne ölümüne neden olmakta ve gelişmekte olan ülkelerde hastalığın yaygınlığı her geçen gün artış göstermektedir [1]. Türkiye'de 2012-2015 yılları arasında tüm anne ölümlerinin %15,5'ini hipertansif bozuklukların oluşturduğu bildirilmiştir. Hipertansif gebeliklerde maternal mortalitenin en sık rastlanan sebebinin beyin kanaması olduğu tespit edilmiştir [9].

Preeklampsinin teşhisinde, şiddetli baş ağrıları[10], pulmoner ödem, görme bozuklukları, hipertansiyon[11], nörolojik komplikasyonlar, anormal trombosit sayısı değerleri, karaciğer fonksiyon anormallikleri, ve böbrek yetmezliği gibi semptomlar olması beklenir[12]. Hastalığın klinik tespitinde, 24 saatlik ölçümlerde idrardan kaçan protein konsantrasyonun 30 mg'nin üzerinde olması, 4-6 saat arayla yapılan tansiyon ölçümleri için, sistolik kan basıncı>=140 mmHg olmasının yanında, diyastolik kan basıncı>=90 mmHg'den yüksek olması preeklampsi tanısı için gerekli kriterlerdir [13]. Preeklampsinin mevcut bir sonlandırıcı tedavisi bulunmamakla birlikte, doğum ve plasentanın teslimi ile

hastalık son bulur. Hastalığın tedavisinde kesin bir sonuç sağlamasa da, labetalol ve magnezyum sülfat kombinasyonu hastalığın gelişimini yavaşlatmak ve gebelik süresini uzatmak amacıyla kullanılır [14]. Moleküler mekanizması tam anlaşılamasa da, vazokontriksiyon ve tromboksan yolağını inhibe ettiği veya farklı yollarla etki edebildiği düşünülerek, bazı preeklamptik durumlarda kısa süreli aspirin tedavisi kullanılabilmektedir[2].

Erken doğum ve preeklampsi ortak bazı mekanizmalara sahip olup, ilk gebeliğinde erken doğum gerçekleştiren annenin, ikinci doğumunda preeklampsi riski artmıştır [15]. Hamilelik öncesinde, kronik hipertansiyon, böbrek hastalıkları, obezite, gebelik öncesi diyabet gibi çeşitli hastalıkları olan ve ailesinde preeklampsi geçirmiş akrabalığa sahip olan kadınlarda, preeklampsiye yakalanma ihtimali artar. Doğumdan sonra maternal biyolojik sistemi, kronik hipertansiyon, felç, kalp hastalıkları gibi rahatsızlıklara uzun veya kısa süreli olarak maruz kalabilirken, preeklamptik anneden doğan bebeklerde, koroner kalp hastalığı, felç ve metabolik sendrom gibi hastalıklara yıllar sonra rastlanabilmektedir [13]. Doğumdan yıllar sonra, preeklampsili annelerin menopoz sonrası dönemde alzeimer geliştirdiği gözlenmiştir[16], ayrıca preeklamptik durumda Parkinson'da eksprese edilen protein 7 seviyesinin beklenenden daha yüksek çıktığı görülmüştür [17].

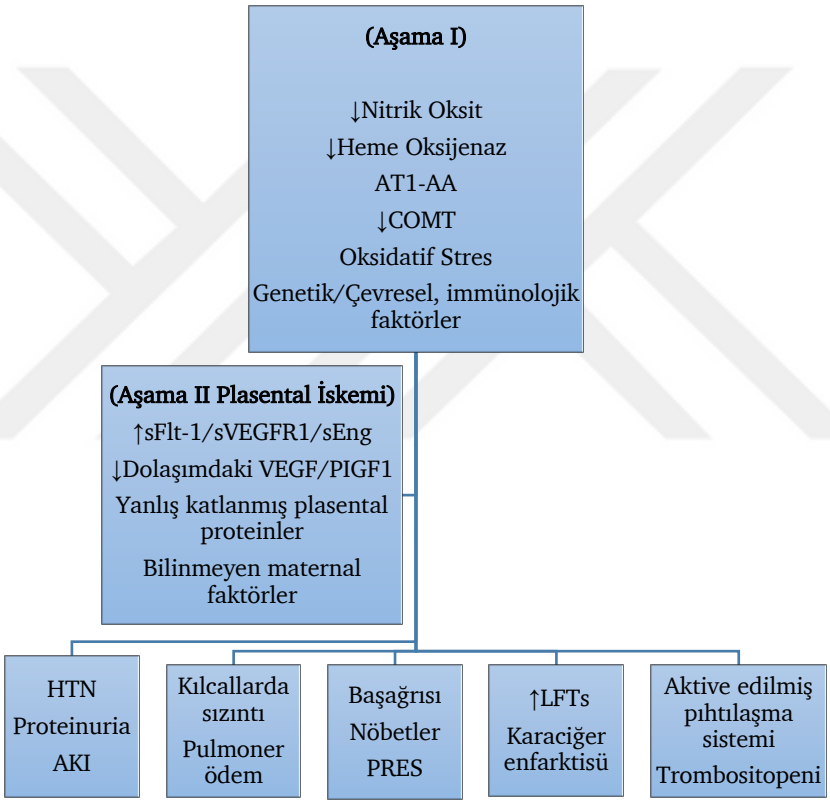
Preeklampsi, gen ekspresyon varyasyonları ve epigenetik mekanizmalar nedeniyle heterojen bir yapıya ve farklı alt kümelere sahiptir [18]. Sağlıklı bir gebelik esnasında, annede moleküler mekanizma değişikliğe uğrayarak, fetüsün gelişimini sağlamayı amaçlar. Normal bir hamilelik sırasında maternal moleküler ve genetik mekanizması %25 oranında değişime uğrarken, plasental gen ekspresyonun farklılaşması beklenir ve bu oran preeklampsinin gelişimi sırasında anormallikler gösterir. Gen ekspresyon seviyesi, hamilelik dönemine göre, hamileliğin başından ortasına ve ortasından sonuna kadar değişebilir [19]. Preeklamptik kadınlar genellikle erken doğum gerçekleştirdiği için gestasyonel yaşları normalden farklı seyreder. Gestasyonel sürenin kısalmasıyla birlikte, gen ekspresyon profilleri, DNA metilasyonları gibi moleküler seviyedeki unsurlar değişikler meydana getirir [20].

Şekil 2.1'de, preeklampsi için geliştirilmiş 2 aşamalı sürecin gösteriminde, ilk aşama, plasental disfonksiyona yol açan spinal arterin yeniden oluşumuna etki eden; Nitrik oksit, Heme oksijenaz, COMT (katekol- O- metiltransferaz) azalması, AT1-AA'te (anjiyotensin reseptörü 1), oksidatif stres'te, genetik, çevresel ve immünolojik etkilerde plasental iskemiye yol açacak şekilde değişiklikler meydana gelmesi gösterilmektedir. İkinci aşamada ise birinci aşamadaki değişiklikler sonucunda, dolaşımdaki sFlt-1/sVEGFR1/sEng (çözünür fms benzeri tirozin kinaz-1/ soluble VEGF receptor-1/ çözünür endoglin) artışı, VEGF/PIGF1 (vasküler endotelyal büyüme faktörü/plasental büyüme faktörü) azalışı meydana gelirken, plasental proteinlerde yanlış katlanma ve bilinmeyen bazı maternal faktörlerin maternal kardiyovasküler sistemine katılması gösterilmektedir. Sonuç olarak maternal sistemde, HTN (hipertansiyon), proteinuri, AKI (diyaliz için yeni endikasyon), kılcal damarlarda sızıntı, pulmoner ödem, başağrıları, nöbetler, PRES (posterior geri dönüşümlü ensefalopati sendromu), LFT (karaciğer fonksiyon testi)'nin artışı, karaciğer enfarktisü, pıhtılaşma sisteminin aktivitesi ve trombositopeni gibi fizyolojik durumlar meydana gelir [21].

Gebeliğin sürdürülmesi sırasında, spinal arterin fetal beslenme ve trofoblastik invazyon için yeniden şekillenmesi, damar duvarlarındaki düz kas kaybı ile gerçekleşir. Bu esnada VEGF, sFlt1, PIGF ve endoglin gibi büyüme faktörleri ve adezyon molekülleri salgılanır. sFlt1, tümör nekroz faktörlerini aktive ederek endotel hücrelerini etkilemelerine neden olurken [1], sftl1 ve VEGF elementleri vaskülarizasyonda rol oynar [22].

Anjiyogenez faktörleri, preeklampsinin gelişiminden sorumlu, henüz bir çoğu bilinmeyen kritik moleküllerdir. Anjiyogenezde, tümörigenezde olduğu gibi, anne ve bebek arasındaki bağlantıyı ve kan akışını sağlamak, bebeğin metabolik ve oksijen ihtiyacını karşılamak için maternal dolaşımla ilişki kuran damarlaşma süreci başlar [4], [23]. Normal gebeliklerde kan akışı plasentanın periferik bölgelerinden merkeze doğru gerçekleşirken, preeklampsinin ileri dönemlerinde merkezden perifere doğru meydana gelmektedir [24]. Vaskülarizasyon, pro-anjiyogenez ve antianjiyogenez faktörleri arasındaki dengesizlik nedeniyle

preeklampsiye neden olabilir. Preeklampside, antianjiyogenez faktörlerinden ikisi, yani çözünür endoglin (sEng) ve çözünür FMS benzeri tirozin kinaz-1 (sFlt1) ve pro-anjiyogenez faktörlerinden ikisi, yani vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) ve plasental büyüme faktörü (PIGF) aşırı üretilir. Ayrıca preeklampsi hastalarında, G yaması ve FHA alan 1 (AGGF1) faktörü ile anjiyojenik faktörün azaldığı tespit edildi [19]. Antianjiyogenez faktörleri, anjiyogenez faktörlerini etkileyerek migrasyon, invazyon ve farklılaşmayı baskılayabilir, böylece preeklampside palyatif veya iyileştirici terapötik etkiler elde edilebilir[25].



Şekil 2.1 Preeklampsi oluşumundaki 2 aşama [21].

Preeklampside en önemli odaklardan biri, genetik ve immünolojik faktörlerle birlikte ortaya çıkan anormal plasentasyondur. Normal gebelikte belirli bir oranda oluşan damar duvarında meydana gelen endotel hasarı vasküler direncin azalmasına neden olur, endotel hasar preeklampsi de daha şiddetli seyreder. Preeklampsi esnasında ise anormal plasentasyon ile farklı yollar devreye girerek, azalan vasküler direnç ve artan vasküler geçirgenlik ile aktif nitrik asit yolu, serbest radikallerin ve oksitlenmiş lipidlerin maternal dolaşıma daha etkin bir

şekilde katılmasına neden olarak, oksidatif stres ve vazokonstriksiyon gibi ölümcül komplikasyonlara yol açar [13].

Preeklampsinin gelişim sürecinde etkili olan plasental hipoksi ve oksidatif stres, karşılıklı etkileşimle birbirini tetikleyerek şiddetlendirir. Preeklampsi esnasında artan süperoksit anyonları, oksidatif stresin artmasına neden olurken, artan oksidatif stres preeklampsi gelişimini tetikler. Oksidatif strese neden olan hidrojen peroksit, villöz birinci trimester trofoblastlarını etkileyerek ve miRNA mRNA'larının ekspresyon profillerini değiştirerek etkili bir şekilde preeklampsi geliştirebilir. Çalışmalar, miRNA'ların, trofoblast göçünü, istilasını, çoğalmasını ve apoptozu etkilediğini göstermektedir [26]. Preeklampsinin mi oksidatif strese, yoksa oksidatif stresin mi preeklampsiye neden olduğu anlaşılamamıştır. Ayrıca preeklampsili hastalarda oksidatif stres miktarı, plasental olmayan hücrelerden alınan örneklere göre normal değerlerin üzerinde çıkmıştır. Preeklampsi kısmen kalıtsal faktörlere dayansa da, kardiyovasküler sistem plasenta varlığında hassas tepki verir ve bazen bu yanıt immünolojik sistemlerle bile etkileşime girebilir [27].

Hamilelik sırasında immünolojik sistemin kontrolünün aktivasyonunda, doğal öldürücü hücreler immünoregülasyon sırasında rol oynarken, T hücreleri gebelik tolerasyonunda etkilidir. Maternal sistemde, hem bebeğe karşı bir bağışıklık mekanizması hem de babaya karşı bir antijen toleransı gelişebildiği saptanmıştır[22].

Çalışmalar, RNA'dan daha kararlı bir yapıya sahip olan cirRNA'ların hastalık patojenitesinde yer aldığını ve bazen miRNA'larla etkileşime girerek etki gösterdiğini ortaya çıkarmıştır[28]. Hücre farklılaşması, hücre metabolizması ve tümör oluşumu gibi süreçlerde çok önemli olan bazı IncRNA'lar, trofoblastın farklılaşmasını ve göçünü etkileyebilir. Preeklampside bazı lncRNA'ların, kesin rolü bilinmemekle birlikte, farklı şekilde eksprese edildikleri, hücresel mekanizma bozukluğunda etkili oldukları ve preeklampsi için biyobelirteç olarak önerildiği bulunmuştur [14], [29]. lncRNA'lar gen ekspresyonunu olumlu veya olumsuz yönde etkileyerek görev yapabilir. Ayrıca miRNA'larla rekabet ederek farklı gen ekspresyon süreçlerinde yer alabilirler. ceRNA'lar ile miRNA, lncRNA,

cirRNA ve mRNA'lar arasında etkileşim ağı, preeklampsinin patojenitesini anlamada kritik bağlantılardır[14].

Sağlıklı bir hamilelik sırasında, dolaşımdaki östrojen seviyesi önemli ölçüde yükselerek, maternal-fetal arayüzde değişiklikler meydana getirir ve maternal kalp hızının düzenlenmesi ve uterusa kan akışının sağlanması gibi kardiyovasküler olaylar için gerekli bir ortamı oluşturur. Hamilelik esnasında maternal sistemde meydana gelen oksidatif stres, östrojen sinyal yollarını bozarak uteroplasental sinyal yolaklarının bozulmasına neden olur [3]. Normal bir hamilelikte, insan plasentasında bebeğin gelişmesini sağlayan atardamarlar oluşur, maternal sisteme ait atardamarlar işgal edilir ve fetüs beslenir. Bu sırada plasenta, trofoblast invazyonununu sağlar ve böylece beslenme başlar. Decorin, maternal-fetal etkileşimde yer alan moleküler olaylarda kritik bir moleküldür. Anjiyogenez faktörlerini etkileyerek plasental invazyonu düzenler ve aşırı ekspresyonu preeklampsi ile ilişkilendirilmiştir. Fetal-maternal arayüzde eksprese edilen birçok molekül, trofoblast gelişimi, göç ve invazyon ve uterus-plasental denge üretir. Bu moleküller arasında büyüme faktörleri, inflamatuar sitokinler, büyüme faktörü bağlayıcı proteinler ve proteoglikanlar, lökositler ve bağışıklık hücreleri dahil olmak üzere trofoblast (otokrin) veya desidua tarafından üretilen lipit türevleri bulunur [30].

Preeklampside kandaki östrojen miktarında azalma bildirilirken [31], estrodiol türevi olan E2, DNA motifindeki FOS/JUN dimerine dolaylı olarak bağlanır ve transkripsiyonel modülasyonu etkiler[32]. Hamilelik sırasında hafif oksidatif stresin etkisinin östrojen sinyal yollarını bozduğuna dair artan kanıtlarla desteklenmiştir [3].

Farelerde yapılan bir çalışma, fetal beyin ile anne beyni arasında plasental nörotrofinlerle bir ilişki olduğunu gösterdi. Maternal beyin, rahim ve plasenta hamilelik sırasında, nörotrofinlerle etkileşim sayesinde sonrası hamileliği ve emzirmeyi desteklemek için maternal adaptasyonlara yardımcı olur. Östrojen gibi gebelik hormonlarının, beyin hipotalamik-hipofiz-gonadal ekseni ile üretimi güçlendirir [33].

2.2 Tüm Transkriptome Analizi ve Yeni Nesil Dizileme Yöntemi ile RNA Dizileme (RNAseq)

Transkriptom, bir hastalığın mekanizmasını ve hücresel gelişimi anlamak için hayati önem taşıyan, anlık bir zamanda, gelişim veya moleküler süreç için oluşan tüm transkriptlerin toplamıdır. Transkriptomun karmaşık verileri, Yeni Nesil Dizileme ile RNAseq (RNA dizileme), mikrodizileme gibi tekniklerini kullanır; ancak mikrodizileme, RNA moleküllerini ölçmek ve sınıflandırmak için sınırlı bir kapasiteye sahiptir. Yüksek çözünürlüklü RNA-seq teknikleri pratik, hızlı, tekrarlanabilir ve geniş çapta araştırılmış transkriptomu kullanabilir [34].

Kompleks traskriptom verileri, spesifik gelişimsel ve fizyolojik süreç esnasında sürekli değişiklik gösterir. Genlerin moleküler aktivitesi esnasında polimorfizmler, mutasyonlar sebebiyle meydana gelen farklılıklarla birlikte kararsız bir genetik mekanizma oluşur [33]. Hesaplamalı bilimlerin ve yazılım teknolojilerinin gelişmesiyle birlikte multidisipliner alanlar genom, epigenom ve transkriptom çalışmalarına odaklanmış, karmaşık hastalıkları karakterize etmek, kararsız genetik mekanizmayı anlamak için yeni nesil teknolojilerin uygulanması daha da kritik hale gelmiştir. Bu esnada, kodlayan ve kodlamayan RNA'lar, bir hücre veya hücre popülasyonundaki tüm RNA transkriptlerine atıfta bulunarak, transkriptom kavramına dahil edilir. İlgili dokulardan ve hücre gruplarından elde edilen tam transkriptom analizi, genlerin işlevlerini anlamaya, mutasyonları tespit etmeye, konakçı-patojen ilişkisindeki hedefleri belirlemeye, hastalıklı dokuların farklı gen ekspresyonunu ortaya çıkarmaya ve biyobelirteçleri tanımlamaya yardımcı olur [35], [36].

RNA-seq (RNA Dizileme), yeni nesil dizileme yöntemini kullanarak RNA ve transkriptom miktarı hakkında çok yönlü araştırma sağlar. Dizileme yöntemleri aracılığıyla, rRNA, miRNA, circRNA, tRNA, lncRNA, miRNA, siRNA ve diğer RNA sınıfları (örn., snRNA ve piRNA) ile ilişkili birçok değişiklik gen düzeyinde incelenebilir. Yeni nesil dizileme yöntemi (NGS), diğer dizileme yöntemlerinden daha hızlı olan, ek deney gerektirmeyen ve minimum arka plan gürültüsü ile aynı anda milyonlarca verinin analizini sağlayan gelişmiş bir yöntemdir.

Dizileme sonrasında ise, RNA-seq verilerini anlamak ve karşılaştırmalar yapmak için birçok yazılım ve web tabanlı araca ihtiyaç duyulur [37].

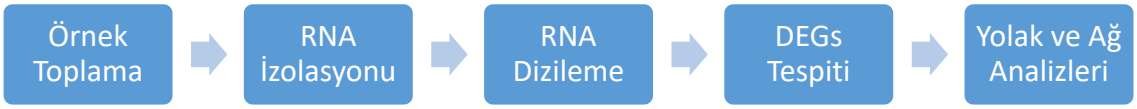
RNA-seq, teşhis edilmesi zor olan nadir hastalıkların, kanser gibi yaygın ve kompleks hastalıkların mekanizmalarındaki sorumlu genleri hızlı şekilde ve düşük maliyetlerle tespit edebilir. Yeni Nesil Dizileme (NGS) analizi, daha önce farklı bir fenotipe bağlı olan bir gendeki patojenik bir mutasyonu tanımlamak için segregasyon analizi gibi bir yöntemle birlikte kullanılabilir. NGS, çeşitli genlerden tüm genomlara kadar herhangi bir insan genom bölgesini hızlı ve hassas bir şekilde sıralayabilir [38].

RNAseq belirli bir zamanda organizmadaki RNA'nın iyileştirici ve iyi bir şekilde uygulanabilen bir dizileme türüdür. RNAseq çalışmaları 1990'lardan beri eksprese edilmiş dizi etiketi (EST) tekniği, SAGE yöntemi ve mikrodizi yoluyla gerçekleştirilmiştir. Yüksek doğrulukta, düşük maliyetli ve hızlı yanıt veren Yeni Nesil Dizileme sistemleri sıklıkla kullanılmaktadır. Yeni nesil dizileme, RNAseq verilerinin çalışılacak ve analiz edilecek RNA türüne göre bir cDNA kitaplığı oluşturması için önemli bir adımdır [6].

Dizileme teknolojilerinde, genetik veri kütüphanesi kurulur ve arkaplandaki referans genetik verilerle eşleşerek, referans veriye göre değişen gen ekspresyon seviyeleri ortaya çıkar. Araştırılmak istenilen genetik mekanizmaya göre uygun dizileme yöntemi seçilebilir; örneğin, kanserin, kalıtsal hastalıkların ve çeşitli komplikasyonların tanımlanması incelenmek isteniyorsa, ekzom dizileme yöntemi, miRNA'yı incelenecekse, miRNA mikrodizi tekniği kullanılabilir [39].

2.2.1 Diferansiyel Eksprese Edilen Genlerin Belirlenmesi

Biyolojik iki durum arasındaki moleküler düzeydeki farkın anlaşılmasında, diferansiyel eksprese edilen genlerin (kontrole kıyasla farklı olarak ifade edilen genler); log2 kat değişimi (log2FC) ve istatiksel anlamlılık seviyesini gösteren p değerinin ayarlanarak, sayısal veriler yardımıyla tespit edilmesi gerekir. İstatiksel analizler sonucunda, hastalıklı bir grubun kontrole kıyasla göre hangi genlerin hangi düzeyde ifade edildiğini, hangi genlerin yukarı veya aşağı düzenlendiğini anlayabiliriz [40].



Şekil 2.2 DEGs belirlenmesinde iş akışı

Diferansiyel eksprese genlerin (DEGs) belirlemesinde baştan sona doğru akış şeması Şekil 2.2'de gösterilmiştir. İlgili doku veya dokulardan hücreler elde edildikten sonra, RNA izolasyonu yapılarak, RNA Dizilemesi (RNA-seq) gerçekleşir. Referans veri ile numune arasında meydana gelen eşleşmeler, eksprese olan genler ve bu genlerin ne kadar seviyede ifade edildiği hakkında, bilgisayar aracılı istatiksel metotlar ile analiz edilebilecek sonuç oluşturur. Bilgisayar ortamına aktarılan veriler üzerinden, muhtemel hatalar ve arkaplan gürültülerini minimuma indirmek amacıyla filtreleme işlemi gerçekleştirilir. Ardından, kontrol ve numune grubunda diferansiyel eksprese edilmiş genler ve bu genlerin sayısal olarak ifade seviyeleri, istatiksel metotlar kullanılarak belirlenir[41],[42]. Bu aşamalardan sonra bu genlerin zenginleştikleri yolaklar ve mekanizmalar hakkında bilgi sahibi olmak amacı ile yazılım veya web tabanlı araçlar ile yolak analizleri gerçekleştirilir. Son adımda, kontrol grubuna göre farklı ifade edilen genler ve hastalık mekanizmasında önemli olabileceği tahmin edilen biyobelirteçler belirlenerek muhtemel ilaç veya tedavi hedefi belirlenebilir [43].

2.3 Biyoinformatik Yaklaşımlar

Biyoinformatik, karmaşık genetik bilginin birden fazla bakış açısı ile analiz edilip yorumlanmasını temel alan [44], karmaşık ve büyük veriler için web tabanlı veritabanları ve yazılım araçları geliştiren, disiplinler arası araştırma alanıdır [45]. Her yıl sayısı artarak literatüre katılan biyolojik verilerin analizlerindeki problemleri, hızlı ve otomatik çözebilmek için, tekrarlanabilirlik ve şeffaflık içeren, katılımcının katkısı ile güncellenebilir özel yazılım, veritabanları, algoritmalar ve metodoloji geliştirilmektedir [46].

İnsan genom projesinin yapılmasının ardından, mekanizması bilinmeyen hastalıklar için manuel olarak sonuçlara ulaşmanın zorluğu daha iyi anlaşılmış, biyoinformatik çalışmalara olan yönelim artmaya başlamıştır. Bilgisayar bilimi bu aşamadan itibaren hızlanarak verilerin daha hızlı analiz edilebildiği, binlerce bilgiye erişim sağlayabilen, arkaplanında matematiksel ve istatistiksel hesaplamaları barındıran, bilgisayar mühendisliği, moleküler biyoloji, genetik mühendisliği, tıp, kimya, biyokimya gibi çalışma alanlarının ortak paydada birleşmesini sağlayan veri tabanları oluşturmuş, karmaşık veri kümelerini basitleştirmede olanak sağlamıştır[47].

Biyoinformatik veritabanları bize, bir genin fonksiyonu, genotip ve fenotipleri [48], proteinlerin üç boyutlu yapıları ve düzeni [49] hakkında bilgi sağlayabilir; yapılan çalışmalar sonucunda ilgili hastalık veya numuneye ait gen ekspresyon bilgisinin depolanmasına, araştırılan gen ekspresyon bilgilerine ulaşabilmeye ve indirebilmeye aracılık edebilir [50], araştırılan hastalıkta normale görece difieransiyel ifade edilen genlerin tespiti ve hangi biyolojik yolaklarla etkileşimde olduğunu gösterebilir [51].

2.4 Gen Zenginleştirme ve Yolak Analizi

Gen zenginleştirme analizleri; clusterProfiler, g:Profiler, Goril, ToppGene gibi Hipergeometrik Test ve Fisher'in Kesin Testi ile istatistiksel arkaplana sahip, genlerin aşağı ve yukarı düzenlendiği biyolojik yolakların tahmin edilmesini sağlayan biyoinformatik araçlarını; GSEA, GSVA, GSA ve GLOBALTEST gibi gen kümeleri içindeki tüm genlerin ifadesini hesaplayarak fonksiyonel puan oluşturan işlevsel sınıf puanlama yöntemini; SPIA, GANPA ve CEPA gibi, hücre tipine bağlı olarak özgün gen ifadesini kullanarak yolak analizini içeren 3 ana sınıfta ele alınabilir [52].

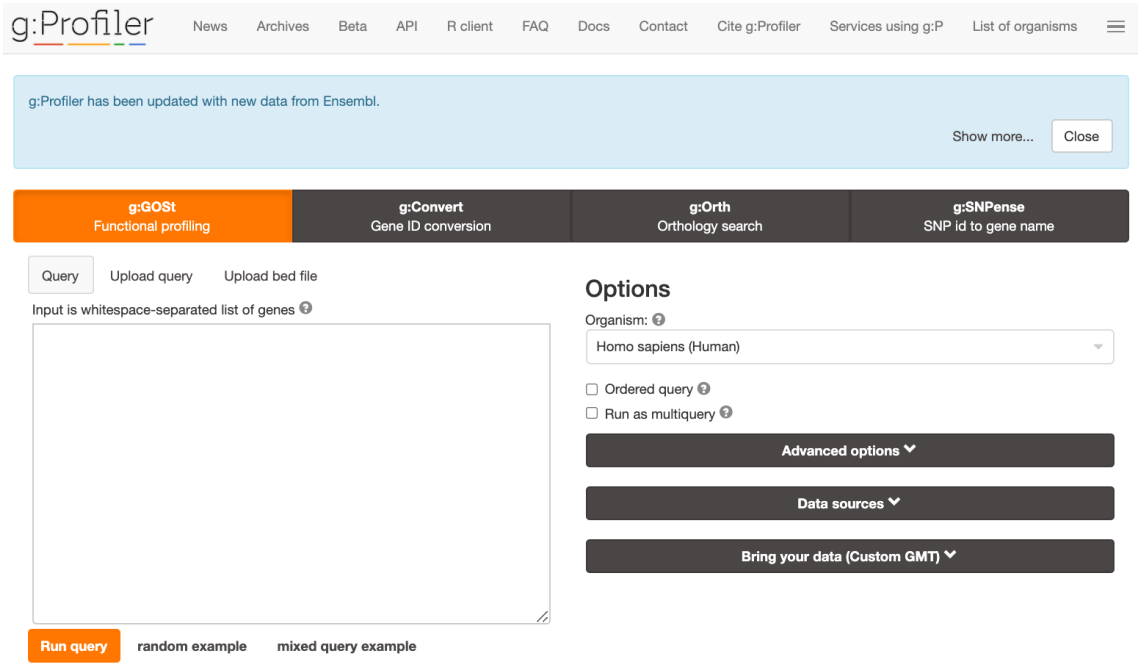
Dizileme sonrasında, numunenin gen ekspresyonunda kontrole karşı meydana gelen değişikliklerinin belirlenmesi, değişiklik gösteren bu genlerin zenginleştiği biyolojik yolların tespiti için yolak analizi kullanılmaktadır. Biyolojik moleküllerin yolaklardaki varlığını anlamak ve bu moleküllerin birbirleriyle olan ilişkilerini keşfetmek, hastalıkların moleküler kimliğindeki ilerlemeleri ve

bozuklukları anlamak için esastır. Yolak analizi için birçok veritabanı, daha önceki deneyler sonucunda elde edilen sonuçlar kapsamında referans yapıdaki verileri mevcut potansiyel altyapıları ile eşleştirerek en doğru sonuca ulaşmayı hedeflemektedir. EcoCyc, KEGG, RegulonDB, MetaCyc, STRINGDB, PANTHER, Gene Ontology, REACTOME, MSigDb, Ingenuity Knowledge, NCI PID, WikiPathways, Small Molecule Pathway DB, ConsensusPathDB, Pathway Commons gibi yolak analizi veritabanlarına, biyolojik çalışmalarda, araştırma doğasına uygun şekilde seçim yapılarak, sıklıkla başvurulmaktadır [53]. Çalışmamızda diferansiyel eksprese edilen genlerin anlaşılması için, birden fazla veritabanı ile etkileşim sağlayabilen g:Profiler veritabanını kullandık. GO (Gene Ontoloji) terimleri, KEGG yolak analizleri, Reactome yolak analizleri, WikiPathway yolak analizleri, g:Profiler aracılı olarak elde edilmiştir.

2.4.1 g:Profiler Veritabanı

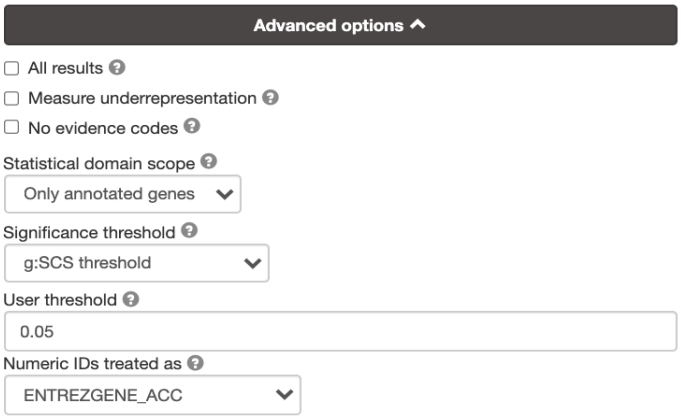
g:Profiler, araştırmalardan elde edilen omik verilerin ve gen listelerinin yorumlanabilmesi, anlamlı gen listesinin elemanlarının kümelenerek birlikte katılım gösterdiği moleküler yolların tahmin edilmesini ve yorumlanmasını sağlayan, kullanıcıya basit arayüzü sunan ve ücretsiz erişim sağlayan bir veritabanıdır. Genlerin ilişkisinin gücüne bağlı olarak istatiksel olarak yüksek puan alan sonuçlar üst sıralarda yer alır. g:Profiler içeriğindeki veritabanlarında zenginleşme gösteren genlerin istatiksel olarak yolak tahminleri görselleştirilebilir, ayrıntılı dosya indirilerek CYTOSCAPE, EncrichmentMap gibi yazılımlarla da bağlantı kurarak ileri analizler yapılabilir [7].

Arkasında hipergeometrik dağılım kullaranarak girdilerin istatiksel hesaplamalarını gerçekleştirir. g:Profiler, gen zenginleştirme analizi için birkaç veritabanı içerir. g:Profiler arayüzü g:GOST, g:Convert, g:Orth ve g:SNPense komutlarından oluşur. g:GOSt, gen setinin fonksiyonel zenginleştirme analizi için sıklıkla tercih edilir. g:Convert, ilgili gen kimliğinin otomatik olarak dönüştürülmesini sağlar. g:Profiler veritabanı web tabanlı olarak, aynı zamanda R programa dili ile kullanılabilen gProfileR (veya yeni sürüm: gprofiler2) adlı bir R paketine sahiptir [54].



Şekil 2.3 g:Profiler veritabanı arayüzü

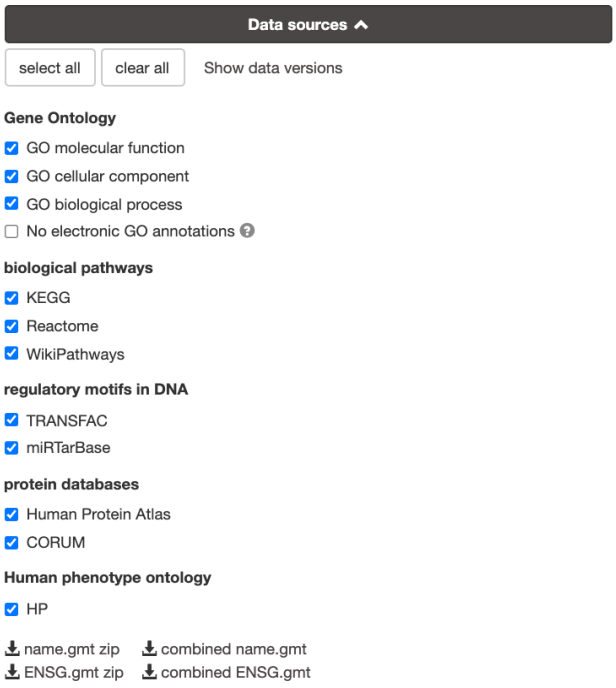
Şekil 2.3'te g:Profiler veritabanının arayüzü gösterilmektedir. 'g:Gost' sorgu kutucuğuna girilen veya 'bring your data' seçeneği ile çalışma ortamına aktarılan araştırılmak istenen gen listesi girildikten sonra, 'organism' seçeneği ile çalışılmak istenilen organizma seçilerek, ileri ayarlar, data kaynakları ve datanın gösterim türleri belirlenerek 'Run query' ile kuyruk sorgulaması gerçekleşir [55].



Şekil 2.4 g:Profiler veritabanı sorgu ayarları

Şekil 2.4'te ileri ayarlarda, bilinen tüm genlerin mi yoksa sadece açıklamaları olan genlerin mi sorgusu yapılacak belirlendikten sonra, çalışmanın 'g:SCS', 'Bonferroni Correction', 'Benjamini-Hochberg FDR' istatiksel anlamlılık

eşiklerinden biri seçilerek, eşik değerinin sayısal verisi (Ör:User threshold=0.05), ve sonuçların kimlik sorgusu seçimi yapılır (Ör:ENTREZGENE_ACC) [55].

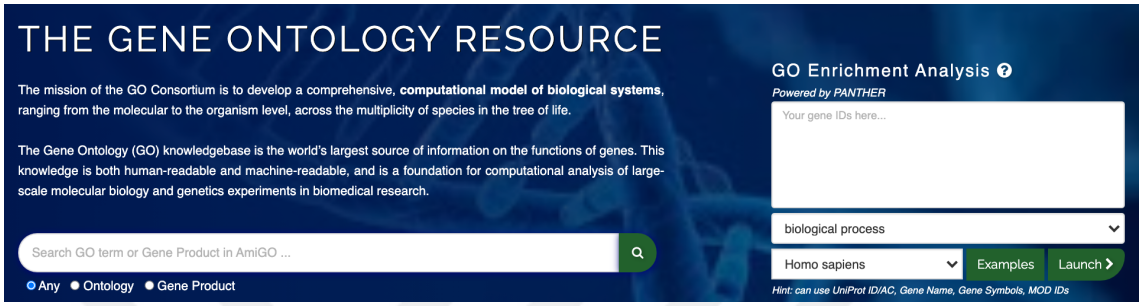


Şekil 2.5 g:Profiler ilişkili yolak veritabanları

Şekil 2.5'te kuyruk sorgusunun araştırılacağı kaynaklar, veri kaynağı (data source) seçimi ile belirlenir. Veri kaynakları, moleküler fonksiyon, hücresel bileşen ve biyolojik süreç seçimlerini içeren İnsan Fenotip Ontolojisi ve Gen Ontolojisine dayanmaktadır. g:Profiler'in verileri elde ettiği kaynaklar; KEGG, Reactome, WikiPathways'den elde edilen biyolojik yolaklara ek olarak, TRANSFAC, miRTarBase'den yer alan DNA'daki düzenleyici motifler ve protein veritabanları olan İnsan Protein Atlası ve CORUM'dur. Veriler farklı formatlarda indirilebilir ve farklı çalışma ortamlarına alınabilir. Sorgu sonucu bize Manhattan grafiği şeklinde verilerek detaylı görselleştirme seçeneği ile, kaynak veritabanı, terim ID, terim adı ve istatiksel değerler elde edilebilir [56].

2.4.2 Gene Ontolojisi Veritabanı

Genlerin moleküler fonksiyonu, biyolojik prosesleri ve hücresel bileşenler hakkında bilgi veren, gen açıklamalarını barındıran, en yaygın kullanılan biyolojik bilgi veritabanı Gene Ontolojidir. Gen Ontoloji, girdilerin ilişkili olduğu mekanizmaları sorgularken, bu mekanizmaların bağlantılı olduğu mekanizma hiyerarşisi için ağaç oluşturarak, ayrıntılı sonuçlar verebilir[57].



Şekil 2.6 Gen Ontolojisi arayüzü

Şekil 2.6'da Gene Ontolojisi veritabanın web tabanlı arayüzü gösterilmektedir. Araştırılmak istenilen genler sorgu kutucuğundan girilerek, biyolojik proses, moleküler fonksiyon veya hücresel bileşen GO kök terimlerinden biri seçilerek ve araştırılacak organizma girilerek 'Launch' tıklanır ve sonuçlara ulaşılır. Sonuçlar, bir başka yolak analizi olan PANTHER veritabanı ile etkileşimli olarak gelir. GO sorguları bize, genlerin zenginleşme gösterdikleri biyolojik yapılar, fonksiyonlar ve süreçler hakkında genel bir bilgi sağlar [58]. Çalışmamızda, Gene Ontolojisi verilerini, g:Profiler sorgusu aracılığıyla etkileşimli olarak ile elde ettik.

2.4.3 KEGG Yolak Analizi Veritabanı

KEGG, birden fazla sorgu kümesi için çeşitli altyapılar barındıran kapsamlı bir veritabanıdır. Genlerin zenginleştiği yolakların tahmininin yapılmasını sağlayan KEGG yolak analizi veritabanı, moleküler etkileşimlerin, reaksiyonların ve ağların bağlantıları sayesinde sonuçları verir.

Bünyesinde, genetik bilgi işleme, çevresel bilgi işleme, hücresel bilgi işleme, organizma sistemleri, ilaç geliştirme gibi bağlantıları barındırarak, bu bağlantılarla sorgu kümesindeki genlerin eşleşmelerini sağlayar ve olası yolakların ne olacağı konusunda tahmin sunar [66].

KEGG veritabanı, hastalık yapılarındaki moleküler ağlar ve bağlantıları, ilaç hedefleri ve yol haritataları hakkında da bilgiler içerir. Hangi hastalıkta hangi genlerin, ilaç hedeflerinin, etkileşimlerin ve moleküllerin, hastalık tabanlı oluşturulmuş haritalarla görebilir, kendi sorgumuzu girerek, ilgili hastalıkta nasıl bir biyolojik bağlantıya sahip olabileceği hakkında görselleştirme sağlar [59].

2.4.4 Reactome Yolak Analizi Veritabanı

Reactome, web tabanlı erişime açık, genom analizlerinde yolakların tespiti ve yorumlanması için araç sağlayan kullanışlı bir veritabanıdır [67]. Kontrol ve numune arasında farklı düzenlenen gen ifadelerin etkileşime girdiği yolaklar hakkında tahmin yapar [68]. Çalışmamızda g:Profiler veritabanı kullanmıştık ve bu veritabanı, Reactome altyapısında araştırma yaparak, genlerin zenginleştiği yolakları bize gösterdi.

Reactome yolak tarayıcısına giriş yapıldığında, moleküllerin ayrıntılarını, protein, kimyasal bileşikleri, DNA/RNA diziler gibi altyapılar hakkında indirebilir veri sunar. Bir reaksiyon yolağında mevcut protein yapıları için üç boyutlu görselleştirme ve bir doku veya bir organın ifade ettiği gen ekspresyon bilgilerine erişim sağlar.

2.4.5 WikiPaths Yolak Analizi Veritabanı

WikiPathways yolak veritabanı web tabanından erişime izin veren, yolak adı, gen veya protein adı veya ilgili diğer sorgu kümeleri ile girdiler sonucunda bu girdilerini kategorik olarak tarayıp, zenginleşme gösterdiği yolaklar hakkında tahmin sağlayan bir veritabanıdır. Güncel olarak keşfedilen yeni biyolojik bilginin veri tabanına aktarılmasıyla birlikte, zamanla daha anlamlı ve kapsamlı sonuçlar elde edilir. MediaWiki yazılımını temel alarak oluşturulmuş ve tipik bir sinyal yolağı, reseptör bağlanması, fosforilasyon yolakları gibi biyolojik altyapılarda araştırma yapar [69].

2.5 Genlerin Protein Protein Etkileşimleri

Hücrede moleküller bir arada etkileşim kurarak çeşitli yolaklarda ve mekanizmalarda birlikte görev alabilirler. Bu birlikteliğin sağanması ile, karşılıklı düzenleme yoluyla, birbirlerinin üretimini veya ömrünü etkileyebilirler. Genom

verisinde, protein ağları ve protein ağlarının etkileşimleri, ortak mekanizmaların saptanabilmesi açısından önemli tahminler sunar [60]. Araştırmalar, protein yapı ve fonksiyonlarını yıllar boyunca bireysel olarak ele almış olsa da, protein protein etkileşimleri ile ilişkili yapılan biyoinformatik çalışmalar, etkileşimlere sahip proteinlerin yakın lokasyonlarda ve biyolojik yolaklarda etkili olabileceğini ihtimalini yükseltmiştir[61].

Tümevarım sürecinde, eldeki verilerden yola çıkılarak, tahmini protein yapılarındaki kaynak ve hedef yapılar, düğüm yapılar, arasındaki fiziksel veya kimyasal bağlantılara odaklanan bir çekirdek model oluşturmak hedeflenir. Çekirdek model ile bağlantılı olarak, deneylerden elde edilememiş ancak protein protein etkileşim tahminlerinin yapısına katkıda bulunabilecek yeni genler k değeri atanarak etkileşim zenginleşebilir [62].

Protein protein etkileşimlerinin ortaya çıkmasını sağlayan genellikle başvurulan veritabanları; web tabanlı veya R programlama için arayüz içererek, etkileşimleri hesaplamalı olarak tahmin eden, hiyerarşik ve tutarlı olarak sonuç veren STRING veritabanı [63], [64], çeşitli organizmalardan elde edilen protein-protein etkileşim bilgilerini içeren ve kullanıcıya sunan DIP (Etkileşen proteinler veritabanı)[65], IntAct (Açık Kaynaklı Moleküler Etkileşim Veritabanı) [66], birçok organizmaya ait binlerce biyolojik etkileşimi içeren, hesaplamalı bilimlerde yüksek doğruluk seviyesi sunan BIOGRID (Etkileşim Veri Kümeleri için Biyolojik Genel Deposu)[67], HPID (İnsan Protein Etkileşim Veritabanı)[68], CORUM [69], KeyPathwayMiner [70] gibi veritabanlarıdır. Bu tezde, genlerin protein protein etkileşimlerinin belirlenmesi için, CYTOSCAPE yazılımına aktarılabilecek sonuç verebilen KeyPathwayMiner (KPM) 4.0 kullanılmıştır [71].

2.5.1 Key Pathway Miner (KPM)

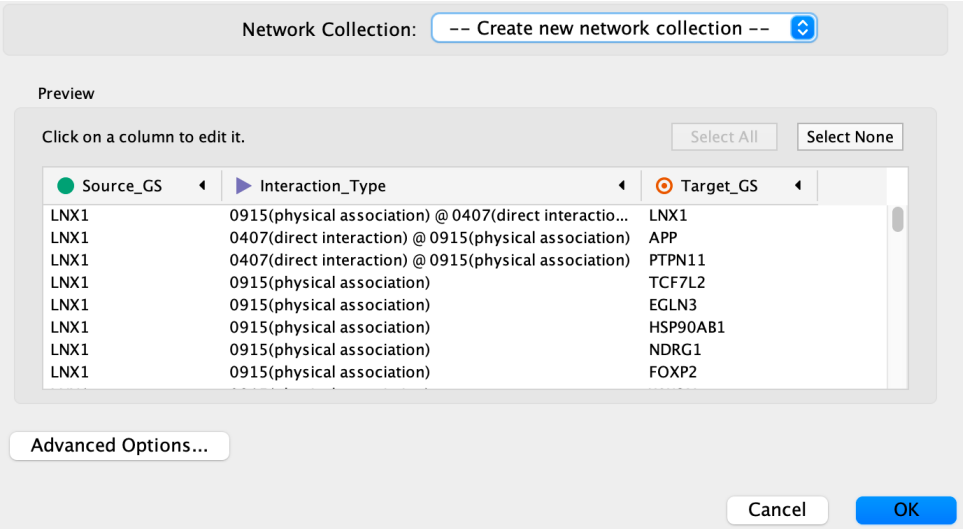
Diferansiyel ifade edilen genlerin biyolojik alt ağlarının ortaya çıkarılmasında ve farklı omik tiplerinin birleşmesinde, Key Pathway Miner (KPM) etkili bir araçtır [71]. Hastalıklarda meydana gelen anormal gen ekspresyon verisinin ne ifade ettiğini anlamak için protein protein etkileşim ağları ile birleştirmeye ihtiyaç duyulur. Key pathway miner, bir omic veri yerine, birden fazla omic veritipinin birleştirilmesini sağlayarak, protein listelerinin tek fonksiyonel analizleri yerine

etkileşimlerini incelemek için kapsamlı kullanılır. Farklı ifade edilen aktif molekül ve anahtar yolak gibi alt ağları belirleyerek, omik verilerinin sezgisel olarak taranması ve protein protein etkileşim ağında hassas istatiksel algoritmalar ile birleştirilmesi amaçtır [70].

KPM'de web tabanlı çalışabildiği gibi, ayrıntılı çalışmalar için de web sitesinde çeşitli kodlama algoritmaları ile R programlama, MATLAB gibi çeşitli programlama dillerinde kompleks verilerle çalışabilmeyi sağlar [72]. Çalışmamızda, KPM protein-protein etkileşim şablonu ile, KPM 4.0 sürümü kullanarak, R programla dili aracılığıyla çalıştık.

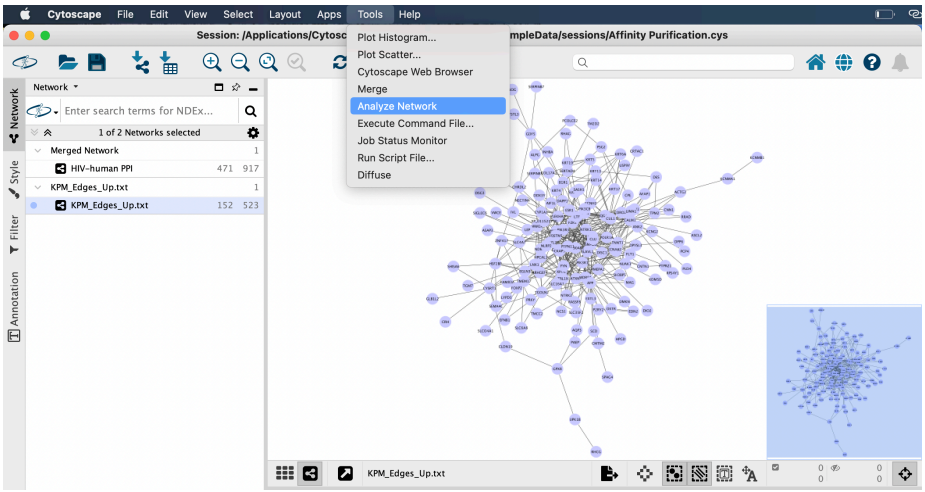
2.5.2 CYTOSCAPE Yazılımı

Cytoscape, biyolojik moleküllerin etkileşimlerini görselleştirmek ve anlamak için kullanılabilen bir yazılımdır [73]. Cytoscape, omic verilerinin kullanılması durumunda verilerin haritalanmasını ve görsel temsilini sağlar. KEGG, Reactome gibi çeşitli yol analizleri ile elde edilen sonuçların derinlemesine analizini sağlar. Kaynak ve hedef arasındaki bağlantıları görebilmek için veriler çalışma ortamına aktarılır ve görselleştirme sağlanır. Cytoscape, mevcut hataları dikkate alarak kendini sürekli olarak geliştirir ve günceller. Fonksiyonel zenginleştirme analizleri, proteomik verilerin ağ analizi, gen ekspresyon verilerinin yol analizi gibi çeşitli iş akışlarını verimli bir şekilde gerçekleştirir [70]. Biyolojik ağ modelleri, biyoinformatik çalışmaları için, moleküller arasındaki etkileşimleri anlamak ve stabilize etmek, karmaşık verileri işlemek ve analiz etmek için gelişmiş yazılım ve veritabanlarının kullanılması kaçınılmazdır. Cytoscape yazılımı biyolojik problemlere karşı çeşitli algoritmalar ve ağ hesaplamaları uygulayarak en doğru sonuca ulaşmaya çalışır. Bu süreçte, moleküler düğümlerin hiyerarşik bir ağını ve bunlara karşılık gelen kenarlarını görselleştirir [70]. Cytoscape, bir etkileşim listesi olan genlerin ve proteinlerin etkileşimlerinin görselleştirilmesini sağlar. Karmaşık biyolojik bağların keşfi ve etkileşimlerini anlamak için geçerlidir [71].



Şekil 2.7 CYTOSCAPE etkileşim ayarları

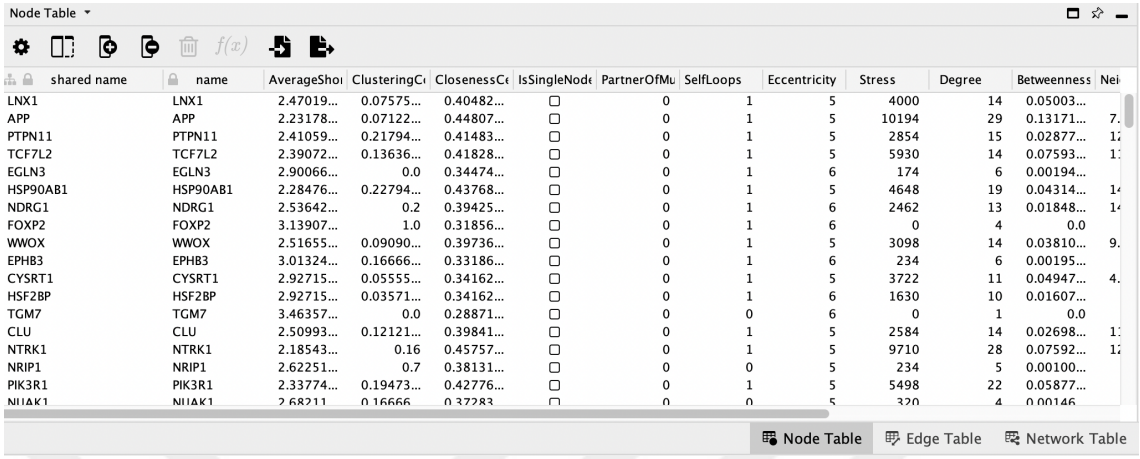
Şekil 2.7'de CYTOSCAPE yazılımına girilmekte olan protein-protein etkileşimi içeren genler listesi görülmektedir. 'Source_GS' kaynak geni göstermekte ve yeşil buton ile seçilmektedir, 'Interaction_Type' etkileşim tipini göstermekte ve listeden mor ok seçilmelidir, 'Target_GS' ise, hedef geni simgelemekte ve turuncu buton seçilmeli ve çalışma alanına alınmalıdır.



Şekil 2.8 CYTOSCAPE etkileşim ağı

Şekil 2.8'de CYTOSCAPE 3.8.2 yazılımın kurulumuyla, tezdeki KPM'de yukarı düzenlenen genlerin etkileşimlerini gösteren sonuç görülmektedir. 'Style' bölmesinden istediğimiz stil ayarlamalarını yapaziliriz, ayrıca komut oluşturarak veri üzerinde yazılım ile değişiklikler meydana getirebiliriz. En çok etkileşime

sahip olan gen, ortaya yakın yerleşmiş ve ‘Analyze Network’ ile ağı analiz ettiğimizde, genlerin etkileşimlerini bize göstermektedir.

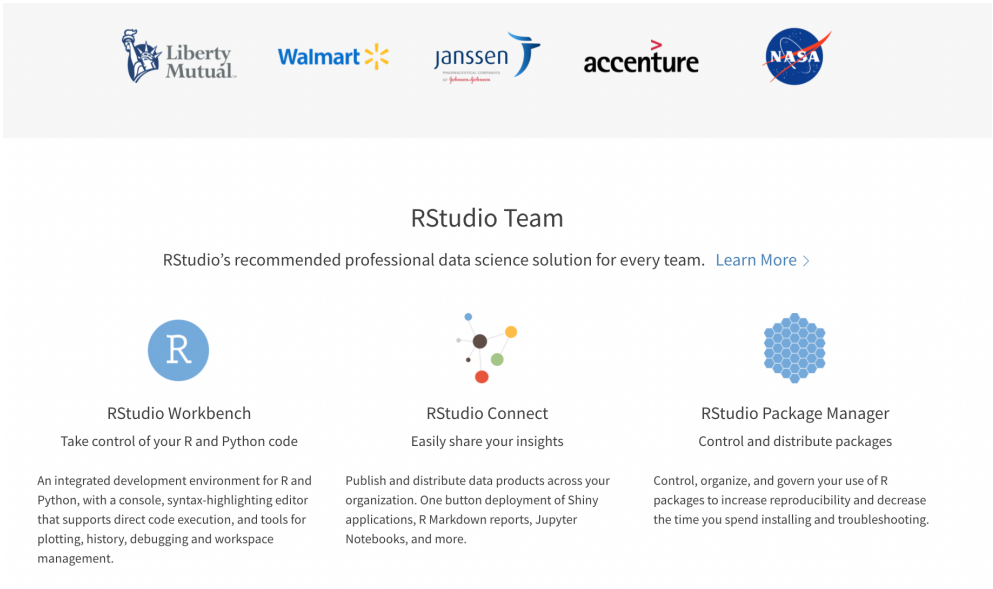


Şekil 2.9 CYTOSCAPE ağ analizi

Şekil 2.9’da analiz edilmiş örnek ağın etkileşimler ve istatiksel bağlantıları göstermektedir. Bu sonuç dışa aktarılarak, Excel çalışma ortamına alınır ve istenilen kolonlarla birlikte, ‘Degree’ kolonu alınır, bu kolon bize bu genlerin kaç tane genle etkileşimde olduğunu gösterir ve büyükten küçüğe sıralarsak, etkileşimi en büyük olan geni elde edebiliriz.

2.6 RStudio İstatiksel Yazılımı

Yolak analizlerinde, web tabanlı araçlar doğrudan kullanılabildiği gibi, bazı araçların Phyton, R gibi programlama dillerinde çeşitli algoritmalar takip edilerek istatiksel analizlerinin yapılabilmesini de mümkündür. Böylece, veri kaybını en aza indirerek, veri çerçeveleri için amaca uygun kütüphaneleri sunarak ve faydalı birçok fonksiyonu kullanarak, istatiksel olarak daha anlamlı sonuçlar elde edilebilir.



Şekil 2.10 RStudio Veritabanı

Şekilde 2.10'da, RStudio kurulumu ve güncel katkı gerçekleştirilebilen RStudio web sitesi gösterilmektedir [74].

Programlama dilleri, veribilimcilerin güncel katkılarıyla, günden güne daha doğru sonuçlara ulaşabilmeyi hedefler. R'da varolan çeşitli paketler ile, veri manipülasyonları yapılabilmektedir. Biyoinformatik çalışmalarda, transkriptom verinin karmaşası, çalışmalarda sıklıkla R programlama gibi çeşitli yazılımları kullanmaya yönelttiği için, bu tezde R programlama kullandık [75].

3
MATERYAL VE YÖNTEM

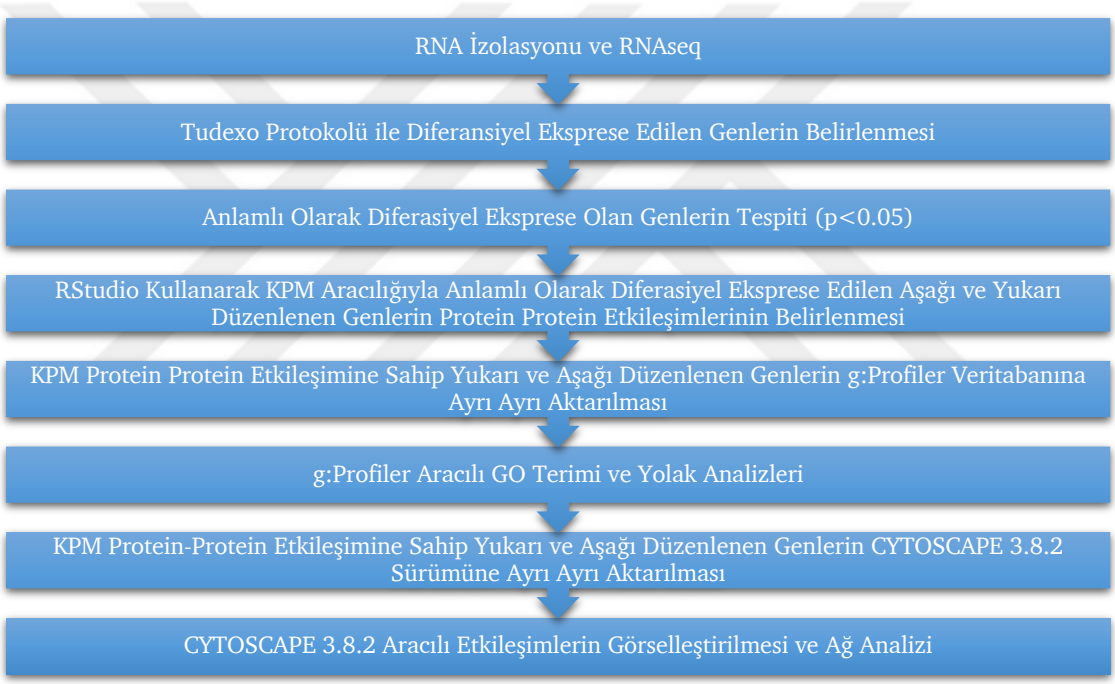
Daha önceki adımlarda preeklamptik ve sağlıklı gebelerin plasenta ve ilişki dokularından RNA izole edilmiş, kontrol ve preeklamptik durum için 2 ayrı RNAseq okuması gerçekleşmiş, Tudexo protokolü ile RNAseq verileri analiz edilmiş ve diferansiyel eksprese edilen genler belirlenmiştir. Bu tez kapsamında, diferansiyel eksprese olan genlerin verisi RStudio'ya aktarılmış, $p<0.05$ anlamlılık düzeyinde anlamlı olarak diferansiyel ifade edilen genler saptanmıştır. Anlamlı olarak diferansiyel ifade edilen genlerin RStudio aracılığıyla KPM 4.0 sürümü, Java arkaplanında çalışarak, protein protein etkileşimleri sağlandı, yukarı ve aşağı düzenlenen diferansiyel eksprese olan genler saptanmıştır. Yukarı ve aşağı regülasyon gösteren diferansiyel eksprese genlerin g:Profiler veritabanında GO terim ve yolak analizleri gerçekleşmiş, veriler CYTOSCAPE 3.8.2 yazılımına aktarılarak ağ analizi yapılmıştır (Şekil 3.1).

3.1 RNA izolasyonu, RNA-Seq ve Diferansiyel Eksprese Edilen Genlerin belirlenmesi

Çalışmada daha önceden, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi'nde, 4 preeklamptik ve 4 sağlıklı gebenin plasental doku, kordon, plasenta yatağı ve plasenta kendisinden alınan doku örneklerindeki hücrelerden RNA izolasyonu ve RNA dizileme gerçekleştirildi. Kişi başına 3 doku alınmış, sağlıklı ve control grubunun her biri için alınan toplam 12'şer doku için birer bir havuz oluşturularak 2 ayrı RNAseq yapılmıştır. Üreticinin yönergesine göre TruSeq RNA Numune Hazırlama Kiti (Illumina, San Diego, CA) tarafından RNA dizileme için gerekli olan mRNA dizileme kitaplıkları oluşturulmuştur. Pekin Genomik Enstitüsü'nde (BGI), Illumina HiSeq 4000 Dizileme Sistemi (Illumina) aracılığıyla Çift uçlu (2 x 100 bp) dizileme yapılarak, kontrol için elde edilen 49.924.174 temiz okuma ve preeklampsi için 49.777.874 temiz okuma, STAR 2.7.3a kullanılarak Ensemble veritabanındaki GRCm38 fare düzeneğiyle eşleştirildi. Gen ekspresyon seviyeleri

Kol Düğmeleri 2.2.1 ile ölçüldü ve transkript/milyon fragman haritalama yönteminin (FPKM) kilobaz başına fragmanları ile normalleştirildi. Diferansiyel olarak eksprese edilen genler (DEG'ler), Cufflinks paketinin bir parçası olan Cuffdiff ile tanımlandı.

RNAseq sonuçları Tudexo protokolü kullanılarak analiz edildikten sonra, preeklamptik durumda kontrol duruma göre diferansiyel ekspresyon gösteren 70.551 tane gen belirlenmiştir. Bu tezde kapsamında ise, diferansiyel eksprede edilmiş genlerin verisinden yola çıkarak, protein-protein etkileşimi gösteren anlamlı olarak diferansiyel eksprese olan genler elde edilmiş ve bu genlerin yolak analizleri gerçekleştirilmiş.



Şekil 3.1 DEGs analizi için iş akışı

3.2 Anlamlı olarak diferansiyel exprese edilen genlerin RStudio aracılığı ile Belirlenmesi

Preeklampside diferansiyel eksprese olan genler üzerinden anlamlı olarak diferansiyel eksprese edilen genleri saptamak için öncelikle çalışılacak kütüphaneler belirlendi. Stringr, karmaşık verilerin analiz edilmesi, büyük verilerle çalışma, veri ayıklama, tutarlı sonuçlar sağlama ve kolay çalışma ortamı sunması açısından yardımcı olur [76]. Stringi ise eksik değerlerin doğru bir

şekilde, veri kaybı olmaksızın çalışma ortamına alınması, verilerin birleştirilmesi ve ayrılması gibi durumlarda kolaylık sağlar [77]. Aşağıdaki **Adım 1** ve **Adım 2**'de, RStudio'da kompleks veri çerçeveleri ile kolay çalışma ortamı sağlaması için kullanılacak Stringr ve Stringi kütüphaneleri belirlendi;

- Diferansiyel Eksprese Edilen Genlerden Anlamlı Olarak Diferansiyel Eksprese Edilen Genlerin Belirlenmesi

Adım 1. *library(stringr)*

Adım 2. *library(stringi)*

Adım 3. *Genes_Results ← read.table("Data/gene_exp.diff", header=TRUE, sep = "\t")*

Adım 4. *Genes_Results←Genes_Results[,c("gene","value_1","value_2","log2.fold_change.","p_value")]*

Adım 5. *colnames(Genes_Results)←c("Gene_Name","C_Exp","P_Exp", "Log2FC", "pValue")*

Adım 6. *Genes_Results_Sig ← Genes_Results[Genes_Results$pValue <= 0.05,]*

Adım 7.

write.table(sort(unique(Genes_Results_Sig[(Genes_Results_Sig$C_Exp>Genes_Results_Sig$P_Exp),"Gene_Name"])), file="Output/Genes_Results_Sig_Down.txt", sep="\t", col.names=FALSE, row.names = FALSE, qmethod="double", dec = ".", quote = FALSE)

Adım 8.

write.table(sort(unique(Genes_Results_Sig[(Genes_Results_Sig$C_Exp<Genes_Results_Sig$P_Exp),"Gene_Name"])), file="Output/Genes_Results_Sig_Up.txt", sep="\t", col.names=FALSE, row.names = FALSE, qmethod="double", dec = ".", quote = FALSE)

Adım 3'te önceki çalışmada belirlenmiş olan diferansiyel eksprese edilmiş 70.551 tane genin bilgisini içeren dosya, read.table() fonksiyonu ile RStudio ortamına aktarıldı, ardından dosyaya Genes_Results adlı değişken ismi atandı. **Adım 4**'te dosya içindeki gen adlarını içeren 'gene' kolonu, kontrol ekspresyonunu gösteren 'value1', preeklamptik ekspresyonu gösteren 'value_2', kat değişimini gösteren 'log2.fold_change' ve p değerini gösteren 'p_value' sütunları seçilerek, **Adım 5**'te, bu beş sutünun isimleri sırayla 'Gene_Name', 'C_Exp', 'P_Exp', 'Log2FC' ve 'pValue' olarak değiştirildi. Kat değişimi (Fold Change), normal ve test numunesi gibi iki biyolojik durum arasındaki gen ekspresyon seviyelerinin kaç kat artmış veya azalmış olduğu hakkında veri

sağladığı için, önceki çalışmamızda preeklampsi ve kontrol arasındaki ekspresyon farklılıklarını göstermek için kullanılmıştı [78]. İstatiksel anlam bakımdan p değeri önemlidir, p <0.05'ten küçük olması istatiksel olarak anlamlı bir sonuç olarak kabul edilmektedir [79]. Çalışmamızda, kontrole kıyasla ekspresyonda artış ve azalış gösteren genler p<0.05 istatistiki anlamlılık düzeyince incelenmişti.

Adım 6'da Genes_Results dosyası içinde yer alan pValue sütunu seçilerek, p değeri <0.05 seviyesinde analiz edildi ve anlamlı olarak diferansiyel eksprese olan genler belirlendikten sonra Genes_Results_Sig adlı değişkene atandı. Genes_Results_Sig dosyası bize p<0.05 seviyesinde anlamlı olarak diferansiyel eksprese edilen tüm genleri gösterir.

Böylece 0.05 anlamlılık seviyesinde, anlamlı olarak diferasiyel eksprese edilen tüm genler belirlendi. Daha sonra KeyPathMiner protein protein etkileşimine girilmek amacıyla, yukarı ve aşağı düzenlenen diferansiyel eksprese edilen genler **Adım 7** ve **Adım 8**'de belirlendi. **Adım 7'de**, *Genes_Results_Sig* dosyasındaki *C_Exp* (kontrol ekspresyon) değerlerinin *P_Exp* (preeklamptik ekspresyon) değerlerinden büyük olduğu durum seçilerek, sadece gen adlarını içeren *Gene_Name* sütunu alınmış, *unique()* fonksiyonu ile muhtemel tekrarlar ortadan kaldırılmış, *sort()* fonksiyonu ile genler sıralanmıştır. Dosyanın *col.names* (kolon adı) ve *row.names* (satır adı) bilgileri *FALSE* girilerek, *sep*="\t komutu ile genler, sütun ve satır adı olmaksızın sadece genlerin adının altalta çıktısının alınması sağlanmıştır. Son olarak oluşan tablo, *Genes_Results_Sig_Down.txt* adı ile, daha sonra KeyPathMiner'da kullanılmak üzere, *write.table()* fonksiyonu aracılığıyla yazdırılmıştır. *Genes_Results_Sig_Down* dosyası, anlamlı olarak diferansiyel aşağı düzenlenen genlerin listesini göstermektedir. **Adım 8'de**, *Genes_Results_Sig* dosyasındaki *C_Exp* (kontrol ekspresyon) değerlerinin *P_Exp* (preeklamptik ekspresyon) değerlerinden küçük olduğu durum seçilerek, sadece gen adlarını içeren *Gene_Name* sütunu alınmış, *unique()* fonksiyonu ile muhtemel tekrarlar ortadan kaldırılmış, *sort()* fonksiyonu ile genler sıralanmıştır. Dosyanın *col.names* (kolon adı) ve *row.names* (satır adı) bilgileri *FALSE* girilerek, *sep*="\t komutu ile genler,

sütun ve satır adı olmaksızın sadece genlerin adının altalta çıktısının alınması sağlanmış, son olarak oluşan tablo, *Genes_Results_Sig_Up.txt* adı ile, daha sonra KeyPathMiner'da kullanılmak üzere, *write.table()* fonksiyonu aracılığıyla yazdırılmıştır. *Genes_Results_Sig_Up* dosyası, anlamlı olarak diferansiyel yukarı düzenlenen genlerin listesini göstermektedir.

3.3 KeyPathMiner Aracılığıyla Anlamlı olarak diferansiyel eksprese olan ilişkili genlerin belirlenmesi

İlişkiye sahip aşağı ve yukarı düzenlenen genleri belirlemek için, protein-protein etkileşimlerini elde etmeyi sağlayan KeyPathwayMiner (KPM) algoritması kullanıldı [70], [71]. RStudio aracılı olarak KPM'de protein-protein etkileşimlerini analiz etmek için mevcut protein-protein etkileşimlerini içeren referans veriyi KPM'den temin ettik. KPM referans verisinde varolan toplam protein-protein etkileşim sayısı 561.365 tanedir. **Adım 9**'da Referans dosya read.table() fonksiyonu ile okundu ve dosyaya *KPM_PPINetwork* değişken adı atandı.

- KPM 4.0 Aracılı Anlamlı Olarak Aşağı Düzenlenen Diferansiyel Eksprese Edilen Genlerin Elde Edilmesi

Adım 9.
KPM_PPINetwork←read.table("Data/9606@2019_09_16__13_43@PPI_List_Edit04_GeneSymbol_Sorting_Unique.txt", header=TRUE, sep = "\t")
Adım 10. *KPM_PPINetwork ← KPM_PPINetwork[, c("Source_GS", "Interaction_Type", "Target_GS")]*
Adım 11.
KPM_Nodes_Down←data.frame(unique(sort(Genes_Results_Sig[(Genes_Results_Sig$C_Exp>Genes_Results_Sig$P_Exp) , "Gene_Name"])), 1)
Adım 12.
write.table(KPM_Nodes_Down, file="Temp/KPM_Nodes.txt", sep="\t", col.names=TRUE, row.names = FALSE, qmethod="double", dec = ".", quote = FALSE)
Adım 13.
write.table(KPM_PPINetwork, file="Temp/KPM_PPINetwork.txt", sep="\t", col.names=TRUE, row.names = FALSE, qmethod="double", dec = ".", quote = FALSE)
Adım 14.

CMD←"java -jar -Xmx3G KPM-4.0.jar -strategy=INES -algo=ACO -K=5 -L1=0 -graphFile=Temp/KPM_PPINetwork.txt -matrix1=Temp/KPM_Nodes.txt"

Adım 15. *system(CMD, intern = TRUE, wait = TRUE)*

Adım 16.

```
File_List <- dir("results")[agrep("NODES", dir("results") )]
Result_Nodes <- read.table(paste0("results/", File_List[1]), header=FALSE, sep = "\t")
for (i in 2:length(File_List)) {Result_Nodes <- rbind.data.frame(Result_Nodes, read.table(paste0("results/", File_List[i]), header=FALSE, sep = "\t"))}
Result_Nodes_Down <- unique.data.frame(Result_Nodes)
unlink("results", recursive = TRUE)
```

Adım 10'da referans dosyayı oluşturan KPM_PPINetwork içerisindeki gerekli üç sütun olan; kaynak geni simgeleyen "Source_GS", etkileşim tipini simgeleyen "Interaction_Type" ve hedef geni simgeleyen "Target_GS" sütunları seçildi ve yine aynı dosyaya atandı. Bu adımdan sonra, *KPM_PPINetwork* adlı değişken Kaynak →Etkileşim Türü →Hedef bağlantısı içeren 3 sütundan oluşmaktadır.

Adım 11'de, anlamlı olarak diferansiyel eksprese olan genleri ifade eden *Gene_Results_Sig* adlı dosyanın C_Exp (kontrol ekspresyon) değerlerinin P_Exp (preeklamptik ekspresyon) değerlerinden büyük olduğu durum seçilmiş, sort() fonksiyonu ile sıralanarak, unique() fonksiyonu ile tekrar içermeyen veri elde edilmiş, "Gene_Name" komutu ile sadece gen adlarının gösterilmesi gerçekleşmiş ve data.frame() fonksiyonu ile oluşan veri çerçevesi, *KPM_Nodes_Down* adlı değişkene atanmıştır. **Adım 12**'de, KPM_Nodes_Down değişkeni, col.names (kolon adı) olacak, row.names (satır adı) olmayacak şekilde seçilerek, KPM_Nodes.txt dosya adıyla, write.table() fonksiyonu tarafından yazdırılmıştır. **Adım 13**'te, KPM etkleşimlerini içeren KPM_PPINetwork değişkeni, col.names (kolon adı) olacak, row.names (satır adı) olmayacak şekilde seçilerek, *KPM_PPINetwork.txt* dosya adı ile, write.table() fonksiyonu kullanılarak yazdırılmıştır. *KPM_Nodes_Down* ve *KPM_PPINetwork* değişkenleri daha sonra Java'da KPM 4.0 ile çalıştırılmak üzere elde edilmiştir.

Adım 14'te KPM 4.0'ı etkinleştirmek için web sitesinden alınan kod komutu girildi. Java'da jar dosya formatı ile 3G RAM kullanarak, ACO (Colony) algoritması aracılığıyla, K=5 (Her etkileşim için eklenebilecek maksimum gen sayısı sınırını temsil eder, en fazla 5 gen seçilmiştir) komutu CMD değişkenine

atandı. **Adım 15**'te system() fonksiyonu ile, girilen komut çalıştırılmıştır. **Adım 16'da**, 'results' dosyasındaki içinde sadece NODES (Kaynak genler /Düğüm) geçen 1. dosyayı okutulmuştur. Sonra, for döndüsü içinde, birinciden başlayıp tüm dosya boyunca rbind.data.frame() fonksiyonu aracılığıyla, Result_Nodes değişkeni ile kaynak genler birleştirilmiş, bu işlemi sırayla tüm dosya için gerçekleştirilmiştir. Aon olarak Result_Nodes'lar Result_Nodes_Down değişkenine atanmış, ardından 'results' içeriğindeki tekrarlayan ilgisiz veriler kaldırılmıştır.

- KPM 4.0 Aracılı Anlamlı Olarak Yukarı Düzenlenen Diferansiyel Eksprese Edilen Genlerin Elde Edilmesi

Adım17.

KPM_Nodes_Up←data.frame(unique(sort(Genes_Results_Sig[(Genes_Results_Sig$C_Exp<Genes_Results_Sig$P_Exp) , "Gene_Name"])), 1)

Adım 18.

write.table(KPM_Nodes_Up, file="Temp/KPM_Nodes.txt", sep="\t", col.names=TRUE, row.names = FALSE, qmethod="double", dec = ".", quote = FALSE)

Adım 19.

write.table(KPM_PPINetwork, file="Temp/KPM_PPINetwork.txt", sep="\t", col.names=TRUE, row.names = FALSE, qmethod="double", dec = ".", quote = FALSE)

Adım 20.

CMD←"java -jar -Xmx3G KPM-4.0.jar -strategy=INES -algo=ACO -K=5 -L1=0 -graphFile=Temp/KPM_PPINetwork.txt -matrix1=Temp/KPM_Nodes.txt"

Adım 21. *system(CMD, intern = TRUE, wait = TRUE)*

File_List <- dir("results")[agrep("NODES", dir("results"))]

Result_Nodes <- read.table(paste0("results/", File_List[1]), header=FALSE, sep = "\t")

Adım 22.

for (i in 2:length(File_List)) {Result_Nodes <- rbind.data.frame(Result_Nodes, read.table(paste0("results/", File_List[i]), header=FALSE, sep = "\t"))}

Result_Nodes_Up <- unique.data.frame(Result_Nodes)

unlink("results", recursive = TRUE)

Adım 17'den **Adım 22**'ye olan süreçte, bir önceki KPM 4.0 Aracılı Anlamlı Olarak Yukarı Düzenlenen Diferansiyel Eksprese Edilen Genlerin Elde Edilmesinde gerçekleştirilen adımları aynısı uygulanmış olup tek fark, aşağı düzenleme yerine yukarı düzenleme kavramının gelmesidir.

- KPM Aracılı Aşağı ve Yukarı Düzenlenen Genlerin Tekrarsız Elde edilmesi ve Protein-Protein Etkileşimlerinin Tespiti

Önceki basamaklarda, KPM Aracılı olarak aşağı ve yukarı düzenlenen genleri ve etkileşimleri elde etmek amacıyla kod dizisi çalıştırılmıştı. Ancak protein protein etkileşimleri dosyasında, ilişkisiz eşleşmeler veya kendi verimize ait dosyayı henüz oluşturamadık. **Adım 24-33** arasında, tekrarlar ve ilişkisiz veriler ortadan kaldırılarak, sadece kendi verilerimizi içeren sonuç elde edilmiştir.

Adım 24'te is.element() fonksiyonu ile, Genes_Results dosyasındaki Genler, Results_Nodes_Down'nun birinci satırındaki elemanlardan biri ise sonucu yazdırarak k değişkenine atadık, böylece KPM_Nodes_Down yani KPM'de aşağı düzenlenen anlamlı olarak değişen diferansiyel eksprese edilen genleri, sadece kolon adı olacak şekilde tam gen isimleriyle elde ettik. **Adım 25**'te aynı işlemi KPM'de yukarı düzenlenen anlamlı olarak değişen diferansiyel eksprese edilen genlerin tam listesini elde etmek için kullandık. Adım 26'da KPM protein protein etkileşimlerini gösteren KPM_PPINetwork'te bulunan Kaynak sütunu eğer Result_Nodes_Down değişkenindeki birinci sütunun elemanı olanları (is.element() fonksiyonu), k1'e atadık. Adım 27'de KPM protein protein etkileşimlerini gösteren KPM_PPINetwork'te bulunan Hedef sütunu eğer Result_Nodes_Down değişkenindeki birinci sütunun elemanı olanları (is.element() fonksiyonu) k2'e atadık. Adım 28'de k1 ve k2'den hangileri eşleşme gösteriyorsa çaprazlayarak k değişkenine atadık (which() fonksiyonu). Adım 29'da aşağı düzenlenen genlerin oluşturduğu, tekrarsız ve tam protein protein etkileşimlerini elde ederek, k değişkenini içerecek şekilde yazdırdık. Bu veri KPM aracılı anlamlı olarak aşağı düzenlenen diferansiyel eksprese edilen genlerin protein protein etkileşimlerini göstermektedir. Bu veriyi daha sonra CYTOSCAPE 3.8.2'de kullandık. Adım 30-33 arasında, aşağı düzenlenen genlerin elde edilmesindeki aynı yol izlenmiştir. Tek fark, sonuçta anlamlı olarak yukarı

düzenlenen diferansiyel eksprese edilen genlerin protein protein etkileşimlerini göstermesidir. Bu veri de daha sonra CYTOSCAPE 3.8.2'de etkileşim ağını görselleştirmek ve analiz etmek için kullanılmıştır.

Adım 24.

k←which(is.element(Genes_Results$Gene_Name,Result_Nodes_Down$V1))write.table(Genes_Results[k,], file="Output/KPM_Nodes_Down.txt", sep="\t", col.names=TRUE, row.names = FALSE, qmethod="double", dec = ".", quote = FALSE)

Adım 25.

k←which(is.element(Genes_Results$Gene_Name,Result_Nodes_Up$V1))write.table(Genes_Results[k,], file="Output/KPM_Nodes_Up.txt", sep="\t", col.names=TRUE, row.names = FALSE, qmethod="double", dec = ".", quote = FALSE)

Adım 26. *k_1← is.element(KPM_PPINetwork$Source_GS, Result_Nodes_Down$V1)*

Adım 27. *k_2 ←is.element(KPM_PPINetwork$Target_GS, Result_Nodes_Down$V1)*

Adım 28. *k ← which(k_1 & k_2)*

Adım 29.

write.table(KPM_PPINetwork[k,], file="Output/KPM_Edges_Down.txt", sep="\t", col.names=TRUE, row.names = FALSE, qmethod="double", dec = ".", quote = FALSE)

Adım 30. *k_1 ←is.element(KPM_PPINetwork$Source_GS, Result_Nodes_Up$V1)*

Adım 31. *k_2 ←is.element(KPM_PPINetwork$Target_GS, Result_Nodes_Up$V1)*

Adım 32. *k ← which(k_1 & k_2)*

Adım 33.

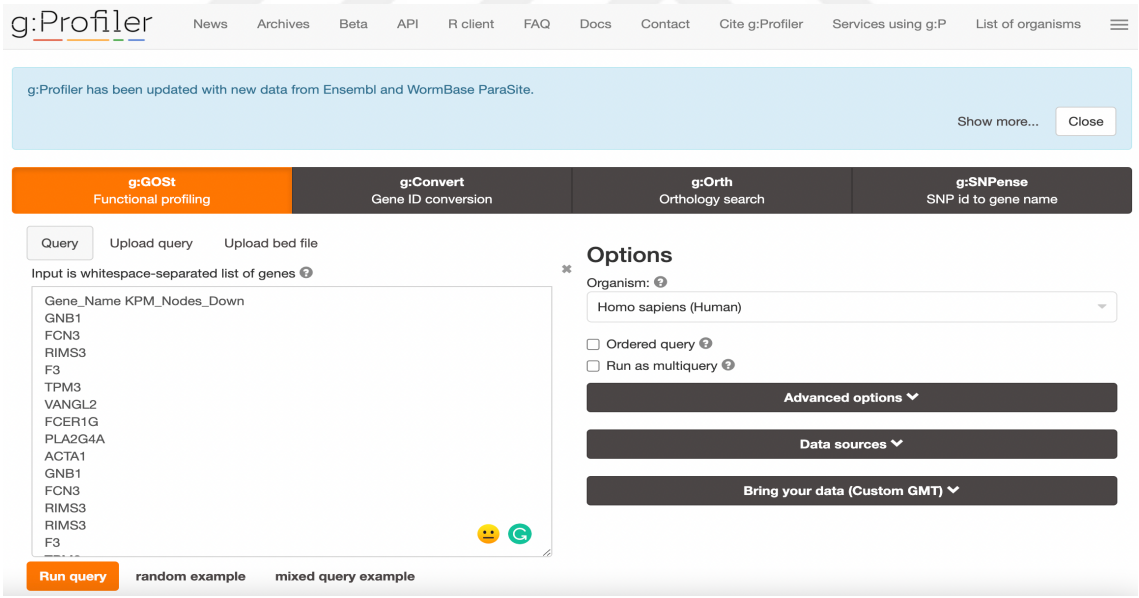
write.table(KPM_PPINetwork[k,], file="Output/KPM_Edges_Up.txt", sep="\t", col.names=TRUE, row.names = FALSE, qmethod="double", dec = ".", quote = FALSE)

3.4 g:Profiler Aracılı Anlamlı Olarak Eksprese Edilen Genlerin GO terim ve Yolak Analizi

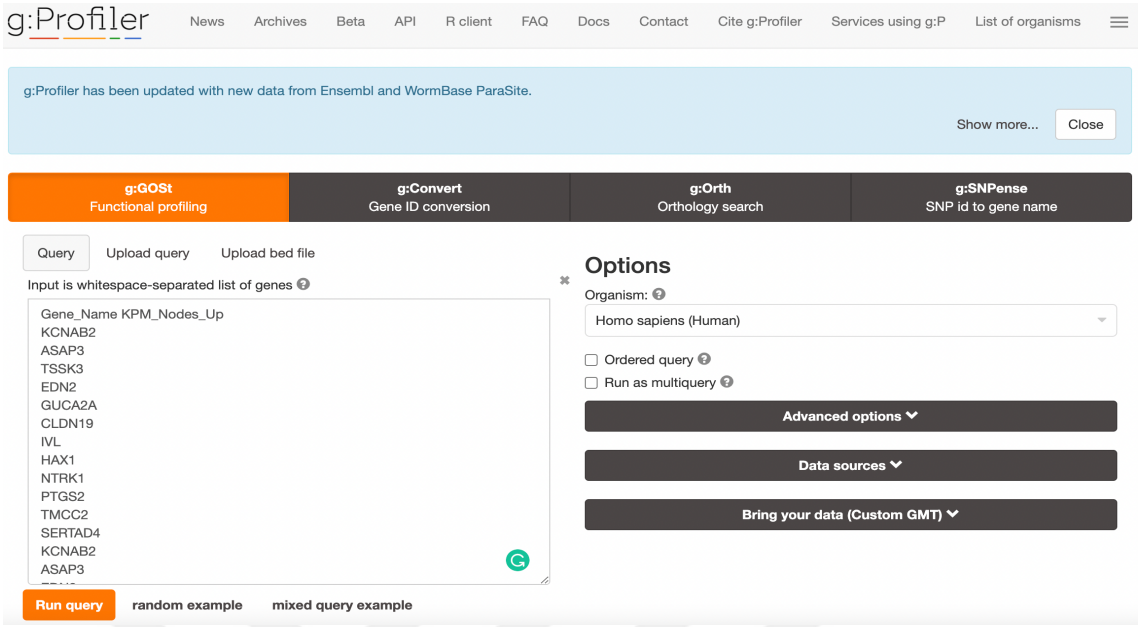
KeyPathMiner protein-protein etkileşim şablonuna göre yukarı regülasyon gösteren diferansiyel eksprese genleri simgeleyen KPM_nodes_up.txt ve aşağı regülasyon gösteren diferansiyel eksprese genleri simgeleyen KPM_nodes_down.txt dosyalarından elde edilen gen isimleleri, g: Profiler veritabanındaki (https://biit.cs.ut.ee/gprofiler) g: GOST kutusuna, GO terimleri

ve ilişkili elde etmek amacıyla, KPM 4.0 aracılı olarak elde edilen aşağı düzenlenen diferansiyel eksprese edilen genler listesi (Şekil 3.2) ve yukarı düzenlenen diferansiyel eksprese edilen genler listesi (Şekil 3.3) ayrı ayrı girildi. Bu süreçte, Homo Sapiens organizmasında, g:SCS threshold 0.05 eşik değerinde, entrez erişim numaraları ile sorgulama gerçekleşmiştir (Şekil 3.4). Sürece, Gene Ontology (GO), KEGG, Reactome, WikiPathways yolak analizleri dahil edilmiştir (Şekil 3.5).

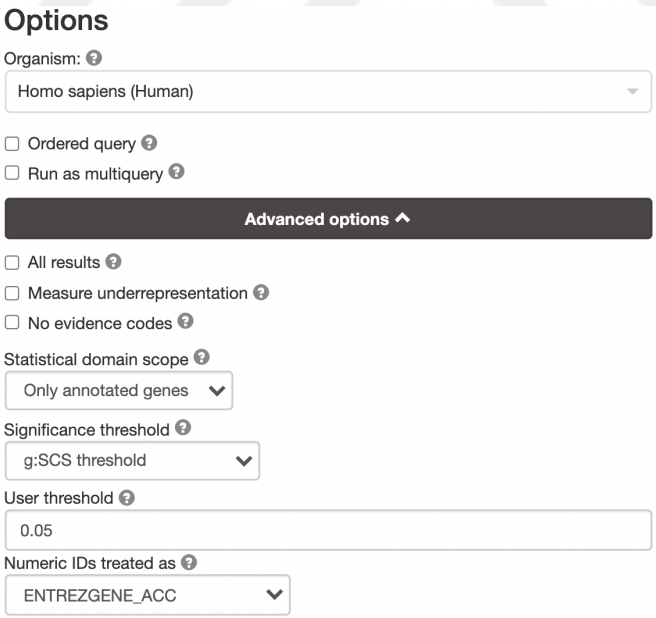
Aşağı düzenlemede 4-400 terim boyutu, yukarı düzenlemede 4-1000 terim boyutu ayarlaması yapılmıştır. Girilen kuyruk ayrı ayrı çalıştırılmış ve GO terimleri ve yolaklar elde edilmiştir. Elde edilen GO terimleri ve yolakların sonuçları cvc formatında indirilerek Excel çalışma ortamına alınmış, istatiksel anlamlılık düzeyi ve etkileşim derecelerine göre ayrı ayrı sıralanarak tablolar oluşturulmuştur.



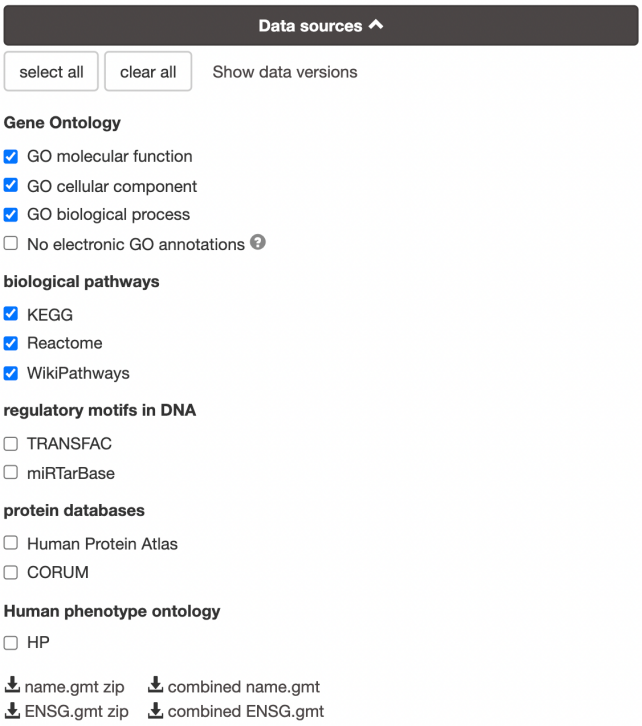
Şekil 3.2 Aşağı düzenlenen genler için sorgular



Şekil 3.3 Yukarı düzenlenen genler için girilen sorgular



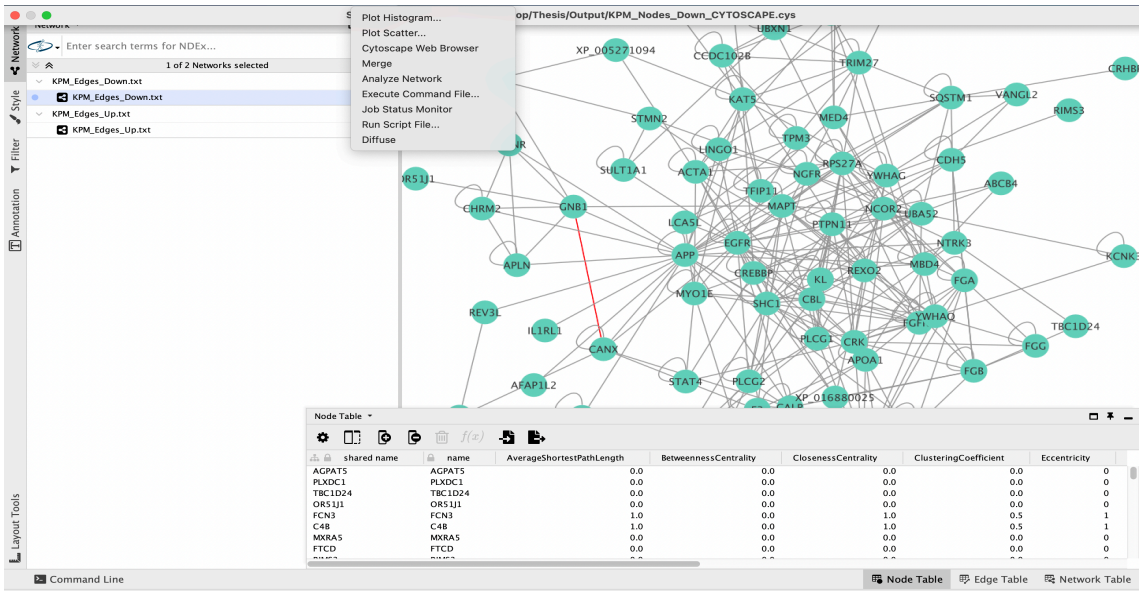
Şekil 3.4 g:Profiler veritabanı ayarları



Şekil 3.5 GO terim ve yolak analizleri için seçilen kaynaklar

3.5 CYTOSCAPE ile Anlamlı Olarak Eksprese Edilen Genlerin Etkileşimlerinin Görselleştirilmesi

KeyPathwayMiner arkaplanında etkileşimli olan diferansiyel eksprese edilen yukarı ve aşağı düzenlenen genlerin etkileşim ağı, CYTOSCAPE 3.8.2 yazılımı kullanılarak ayrı ayrı görselleştirildi [73]. Veriler üzerinde stil ve renk değişikliği yapılabilir. Ayrıca CYTOSCAPE'de ağ analizi de yapılmış ve etkileşim dereceleri belirlenmiş, ilgili sonuç cvc formatında indirilerek, Excel çalışma ortamına alınmış, gen isimleri ve derecelerinin sütunlarına göre, en çok ilişkili olandan en az ilişkili olana doğru sıralanmıştır (Şekil 3.6).



Şekil 3.6 CYTOSCAPE aracılı genlerin etkileşimlerinin belirlenmesi

4
SONUÇ VE ÖNERİLER

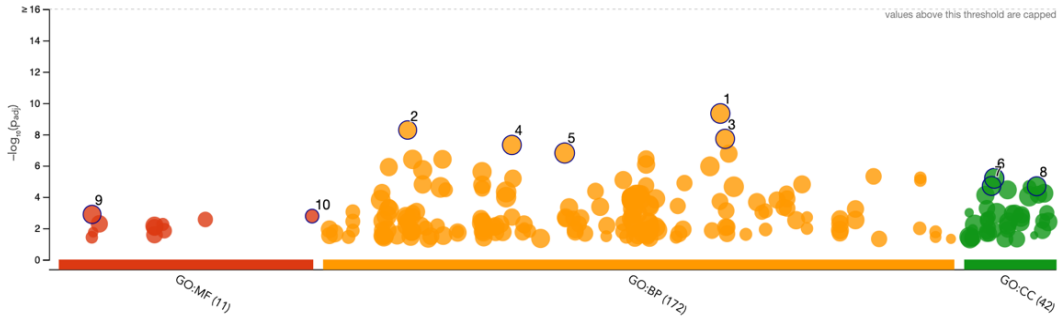
Önceki çalışmalarda elde edilen diferasiyel eksprese edilen genler üzerinden, R programlama dili ve RStudio arayüzü kullanılarak, $p<0.05$ istatiksel düzeyde anlamlı olarak diferansiyel eksprese edilen 502 tane gen belirlenmiştir. KPM 4.0 aracılı olarak protein-protein etkileşimi içeren aşağı düzenlenen diferansiyel eksprese edilmiş gen sayısı 130 tane, yukarı düzenlenen diferansiyel eksprese edilmiş gen sayısı 256 tane çıkmıştır. Aşağı düzenlenen genlerin g:Profiler yolak veritabanı analizi sonucunda diğer yolak analizlerinde aranan yollar saptanmış ve GO terimlerinde genlerin temsili sağlanmıştır. KPM'de etkileşime sahip aşağı ve yukarı düzenlenen genlerin etkileşimleri CYTOSCAPE'e aktarıldığında hem aşağı hem de yukarı düzenlenen genler arasından diğer genlerle en çok bağlantıya sahip olan gen APP olarak elde edilmiştir.

4.1 KeyPathMiner Aracılı Diferansiyel Eksprese Olmuş Genlerin RStudio Kullanılarak Analizi

Tudexo protokolü sonucunda diferansiyel eksprese edilen toplam gen sayısı 70.551 tane idi. Diferansiyel eksprese edilen genler üzerinden, $p<0.05$ istatiksel düzeyde anlamlı olarak diferansiyel eksprese edilen genler belirlendi. Sonuç olarak, 0.05 seviyesinde anlamlı olarak diferansiyel eksprese olan gen sayısı 502 tanedir. KPM şablonunda varolan toplam ilişki sayısı 561.365 idi. KeyPathMiner protein protein etkileşim şablonu ile anlamlı olarak diferansiyel eksprese edilen genler eşleştirilip, komut algoritması çalıştırıldıktan sonra, anlamlı olarak aşağı ve yukarı düzenlenen diferansiyel eksprese olan genler ayrı ayrı belirlenmiştir. Sonuç olarak, KPM 4.0 aracılı anlamlı olarak aşağı düzenlenen diferansiyel eksprese edilen gen sayısı 130 (Tablo A.1), anlamlı olarak yukarı düzenlenen diferansiyel eksprese edilen gen sayısı ise 256 tane çıkmıştır (Tablo A.2).

4.2 g:Profiler Veritabanında GO Terim Sonuçları

Anlamlı olarak yukarı ve aşağı düzenlenen diferansiyel eksprese gösteren genlerin g:Profiler veritabanı aracılığı ile GO terim ve yolak analiz sonuçları edilmiştir. g:GOST sorgusunda oluşan ilk çıktıda, Manhattan grafiği görülmektedir. X ekseni girilen değerlerin GO terim ve yolak veritabanlarına ait gruplanmalarını, Y ekseni ise, negatif log10 p_değeri ($-\log_{10}(p_{adj})$) istatiksel anlamlılık seviyesindeki zenginleştirmeleri gösterir. Kırmızı bölgeler, GO moleküler fonksiyon, turuncu bölge GO biyolojik proses, yeşil bölge ise GO hücresel bileşenleri simgeler (Şekil 4.1 ve 4.2). Aşağı düzenlenen genler 0.05 eşik değerine göre, biyolojik prosesde GO:0070887, GO:0009719, GO:0071310, GO:0032879, GO:0042221, hücresel bileşende GO:0031982, GO:0031410, GO:0097708, moleküler fonksiyonda GO:0005102, GO:1990782 Gen Ontoloji biyolojik terimlerinde oluşan istatiksel olarak en anlamlı zenginleşmelerin Manhattan grafiği gösterilmiş (Şekil 4.1), aşağı düzenlenen genlerin zenginleşme gösterdiği tüm GO terimleri Tablo A.3'te verilmiştir. Yukarı düzenlenen genlerin GO terimlerinin 0.05 eşik değerine göre dağılımları verilmiştir. Buna göre, biyolojik prosesde GO:0051239, GO:00448513, GO:0032502, GO:0012501, hücresel bileşende GO:0030054, GO:0031226, GO:0005615, GO:0071944, moleküler fonksiyonda GO:0019904, GO:0008092 terimlerinde istatiksel olarak en anlamlı zenginleşmeler meydana gelmiş (Şekil 4.2), aşağı düzenlenen genlerin zenginleştiği tüm GO terimleri Tablo A.4'te gösterilmiştir.

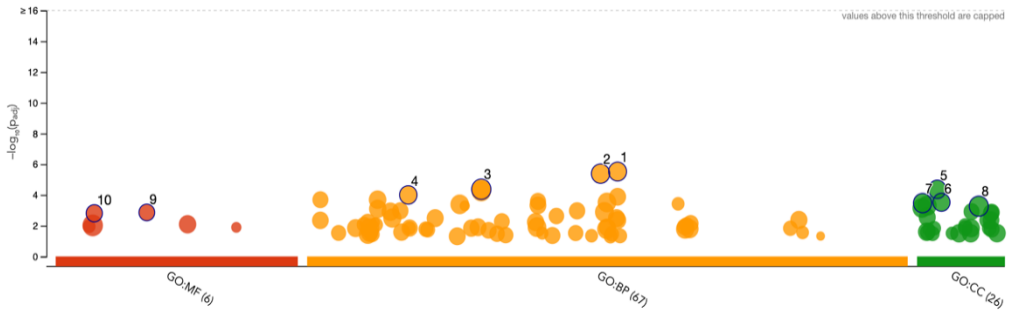


ID	Source	Term ID	Term Name	p_{adj} (query_1)
1	GO:BP	GO:0070887	cellular response to chemical stimulus	4.618×10^{-10}
2	GO:BP	GO:0009719	response to endogenous stimulus	5.239×10^{-9}
3	GO:BP	GO:0071310	cellular response to organic substance	1.920×10^{-8}
4	GO:BP	GO:0032879	regulation of localization	4.730×10^{-8}
5	GO:BP	GO:0042221	response to chemical	1.548×10^{-7}
6	GO:CC	GO:0031982	vesicle	6.376×10^{-6}
7	GO:CC	GO:0031410	cytoplasmic vesicle	1.970×10^{-5}
8	GO:CC	GO:0097708	intracellular vesicle	2.059×10^{-5}
9	GO:MF	GO:0005102	signaling receptor binding	1.295×10^{-3}
10	GO:MF	GO:1990782	protein tyrosine kinase binding	1.667×10^{-3}

version e104_eg51_p15_3922dba
date 16.06.2021 11:49:40
organism hsapiens

g:Profiler

Şekil 4.1 Aşağı düzenlenen genlerin zenginleştiği GO terimleri



ID	Source	Term ID	Term Name	p_{adj} (query_1)
1	GO:BP	GO:0051239	regulation of multicellular organismal process	2.996×10^{-6}
2	GO:BP	GO:0048513	animal organ development	4.087×10^{-6}
3	GO:BP	GO:0032502	developmental process	4.225×10^{-5}
4	GO:BP	GO:0012501	programmed cell death	9.892×10^{-5}
5	GO:CC	GO:0030054	cell junction	4.276×10^{-5}
6	GO:CC	GO:0031226	intrinsic component of plasma membrane	2.965×10^{-4}
7	GO:CC	GO:0005615	extracellular space	3.361×10^{-4}
8	GO:CC	GO:0071944	cell periphery	5.355×10^{-4}
9	GO:MF	GO:0019904	protein domain specific binding	1.366×10^{-3}
10	GO:MF	GO:0008092	cytoskeletal protein binding	1.547×10^{-3}

version e104_eg51_p15_3922dba
date 16.06.2021 11:56:19
organism hsapiens

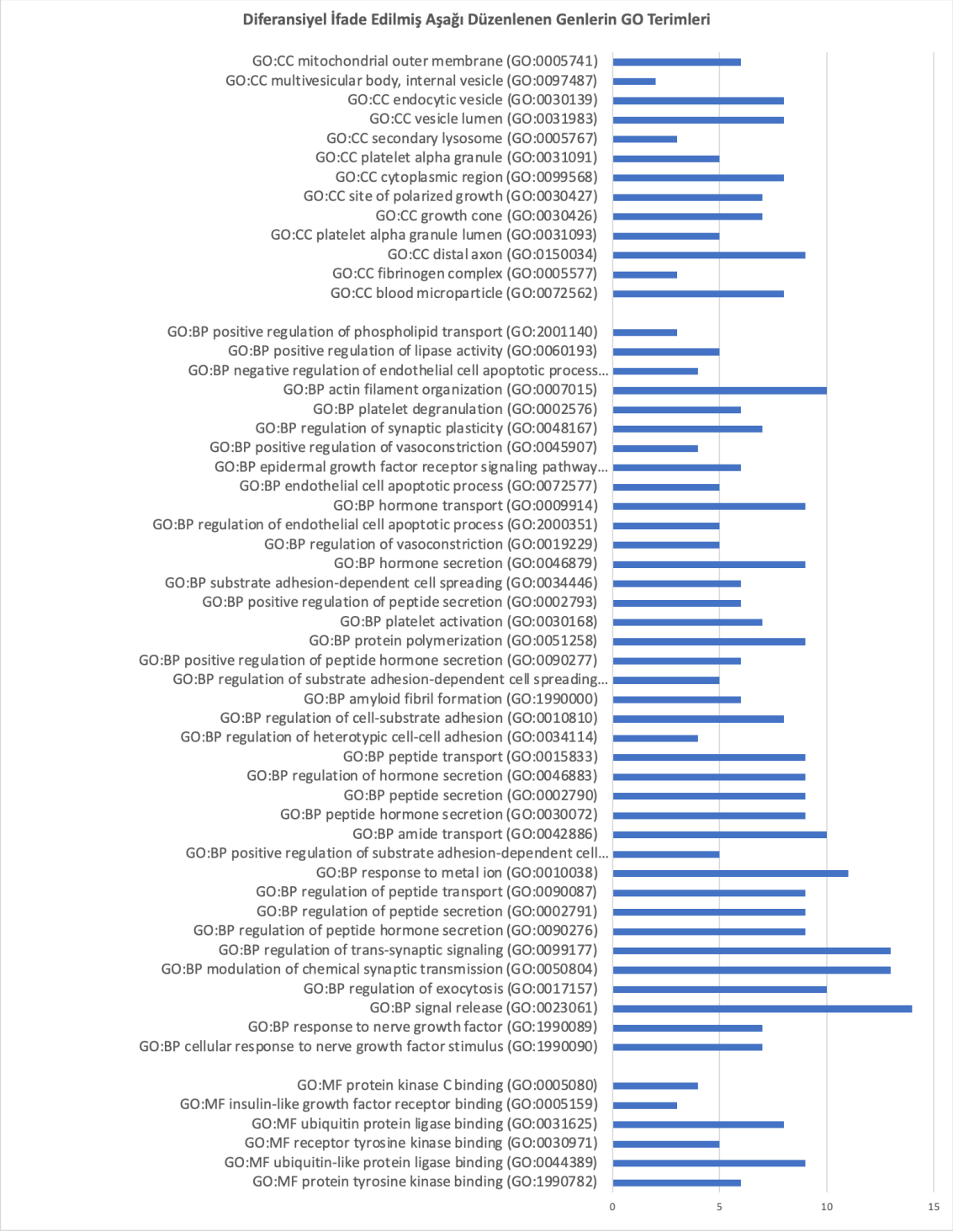
g:Profiler

Şekil 4.2 Yukarı düzenlenen genlerin zenginleştiği GO terimleri

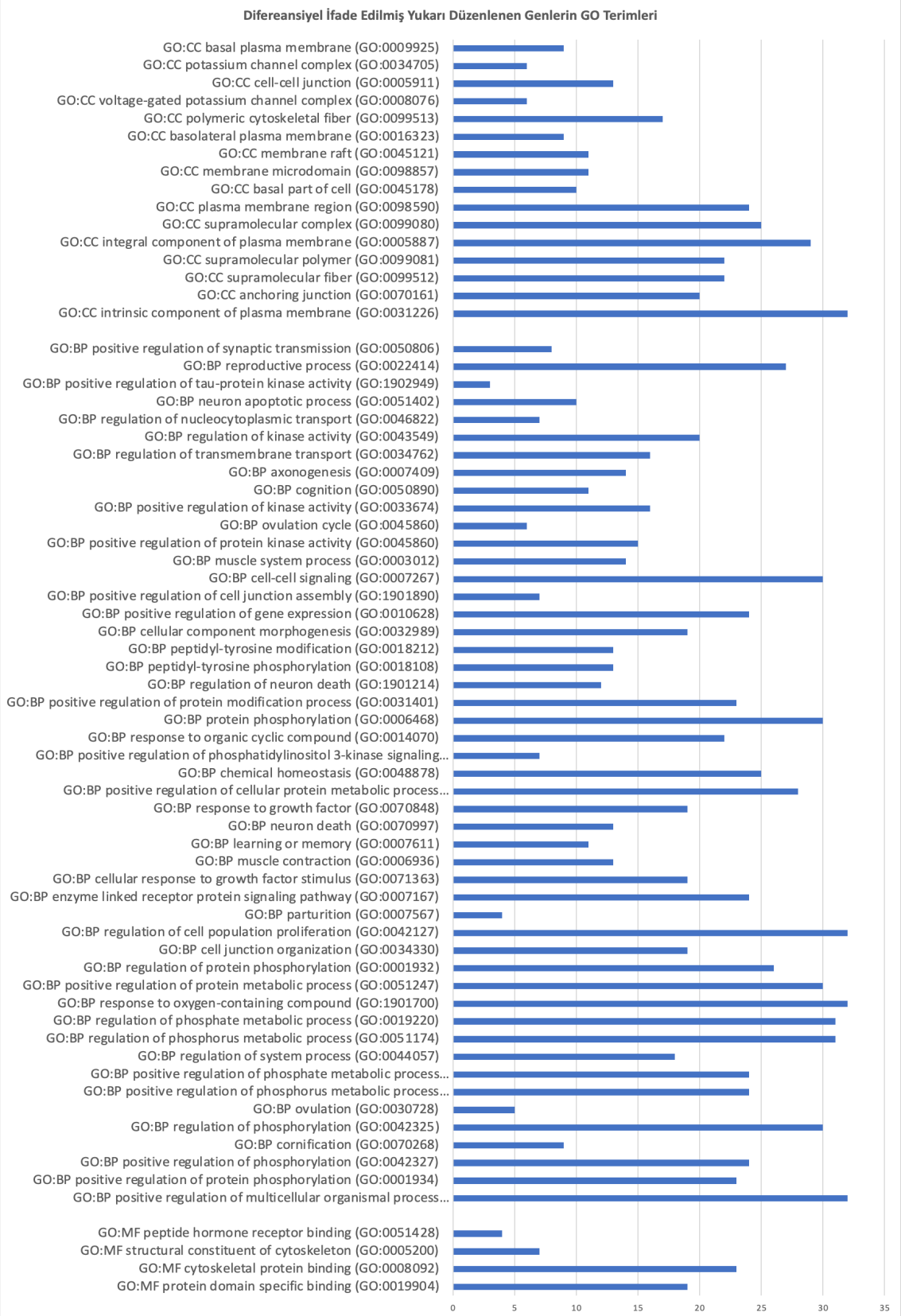
Aşağı düzenlenen genler için GO terimlerinin biyolojik, gen sayılarına göre karşılaştırmaları, GO 3 kök terim doğrultusunda, biyolojik proses, hücresel

bileşen ve moleküler fonksiyonda zenginleşmeleri tabloda gösterilmiştir. X ekseni gen sayılarını gösterirken Y ekseni GO terimlerini göstermektedir (Tablo 4.1 ve Tablo 4.2). Ayrıntılı olarak incelendiğinde, GO veritabanı altyapısında hücresel bileşende (GO:CC) distal akson (GO:0150034), biyoloji prosesde (GO:BP) signal salınımı (GO:0023061), trans-sinaptik sinyal düzenlenmesi (GO:0099177), kimyasal sinaptik iletimin modülasyonu (GO:0050804), moleküler fonksiyonda(GO:MF) ubikuitin benzeri protein ligaz bağlanması (GO:0044389), ubikuitin protein ligaz bağlanması (GO:0031625) terimlerinde daha fazla sayıda gen temsil edilmiştir (Tablo 4.1).

Tablo 4.1 Aşağı düzenlenen genlerin GO terimleri

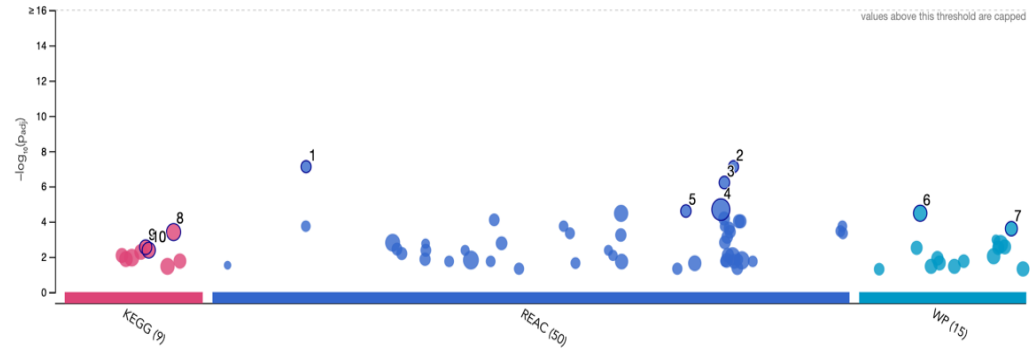


Tablo 4.2 Yukarı düzenlenen genlerin GO terimleri



Anlamlı olarak yukarı düzenlenen diferansiyel eksprese olan genlerin GO terimlerinin içerdiği gen sayılarına göre karşılaştırmaları gösterilmiştir (4.2). En yüksek sayıda gen içeriğine sahip olanlar, hücresel bileşen (GO:CC) olarak plazma zarının iç bileşeni (GO:0031226), plazma zarının tamamlayıcı bileşeni (GO:0005887), biyolojik proseste (GO:BP) hücre popülasyonu proliferasyonunun düzenlenmesi (GO:0042127), oksijen içeren bileşiğe cevap (GO:1901700), çok hücreli organizma sürecinin pozitif düzenlenmesi (GO:0051240), moleküler fonksiyonda (GO:MF) hücre iskeleti protein bağlanması (GO:0008092) terimlerinde görülmüştür (Tablo 4.2).

4.3 g:Profiler Veritabanında Yolak Analizi Sonuçları



ID	Source	Term ID	Term Name	p_{adj} (query_1)
1	REAC	REAC:R-HSA-1236382	Constitutive Signaling by Ligand-Responsive EGFR Cancer Variants	7.586×10^{-8}
2	REAC	REAC:R-HSA-5637815	Signaling by Ligand-Responsive EGFR Variants in Cancer	7.586×10^{-8}
3	REAC	REAC:R-HSA-1643713	Signaling by EGFR in Cancer	6.037×10^{-7}
4	REAC	REAC:R-HSA-162582	Signal Transduction	2.056×10^{-5}
5	REAC	REAC:R-HSA-912631	Regulation of signaling by CBL	2.496×10^{-5}
6	WP	WP:WP2380	Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) signaling pathway	3.327×10^{-5}
7	WP	WP:WP304	Kit receptor signaling pathway	2.505×10^{-4}
8	KEGG	KEGG:05171	Coronavirus disease - COVID-19	3.896×10^{-4}
9	KEGG	KEGG:04664	Fc epsilon RI signaling pathway	2.799×10^{-3}
10	KEGG	KEGG:04722	Neurotrophin signaling pathway	4.136×10^{-3}

version	e104_eg51_p15_3922dba
date	16.06.2021 11:45:43
organism	hsapiens

g:Profiler

Şekil 4.3 Aşağı düzenlenen genlerin zenginleştiği yolaklar

Diferansiyel eksprese edilen genlerin zenginleştiği yolakların tahmini dağılımı ve yolak veritabanlarına göre kümelenmesi gösterilmiştir (Şekil 4.3 ve Şekil 4.4). Aşağı düzenlenen diferansiyel eksprese edilen genlerde 0.05 eşik değerinde en anlamlı zenginleşmeler REAC:R-HSA-1236382, REAC:R-HSA-5637815, REAC:R-HSA-1643713, REAC:R-HSA-162582, REAC:R-HSA-912631, WP:WP2380,

WP:WP304, KEGG:05171, KEGG:04664, KEGG:04722 şeklindedir (Şekil 4.3). Yukarı düzenlenen diferansiyel eksprese edilen genlerde ise 0.05 eşik değerine göre en anlamlı zenginleşmeler, REAC:R-HSA-1500931, REAC:R-HSA-6809371, REAC:R-HSA-1266738, KEGG:04915, WP:WP2380, WP:WP4659 şeklindedir (Şekil 4.4).



ID	Source	Term ID	Term Name	p_{adj} (query_1)
1	REAC	REAC:R-HSA-1500931	Cell-Cell communication	1.077×10^{-4}
2	REAC	REAC:R-HSA-6809371	Formation of the cornified envelope	1.140×10^{-3}
3	REAC	REAC:R-HSA-1266738	Developmental Biology	9.206×10^{-3}
4	KEGG	KEGG:04915	Estrogen signaling pathway	2.409×10^{-4}
5	WP	WP:WP2380	Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) sig...	1.122×10^{-2}
6	WP	WP:WP4659	Gastrin Signaling Pathway	1.700×10^{-2}

version	e104_eg51_p15_3922dba
date	16.06.2021 23:08:23
organism	hsapiens

g:Profiler

Şekil 4.4 Yukarı düzenlenen genlerin zenginleştiği yolaklar

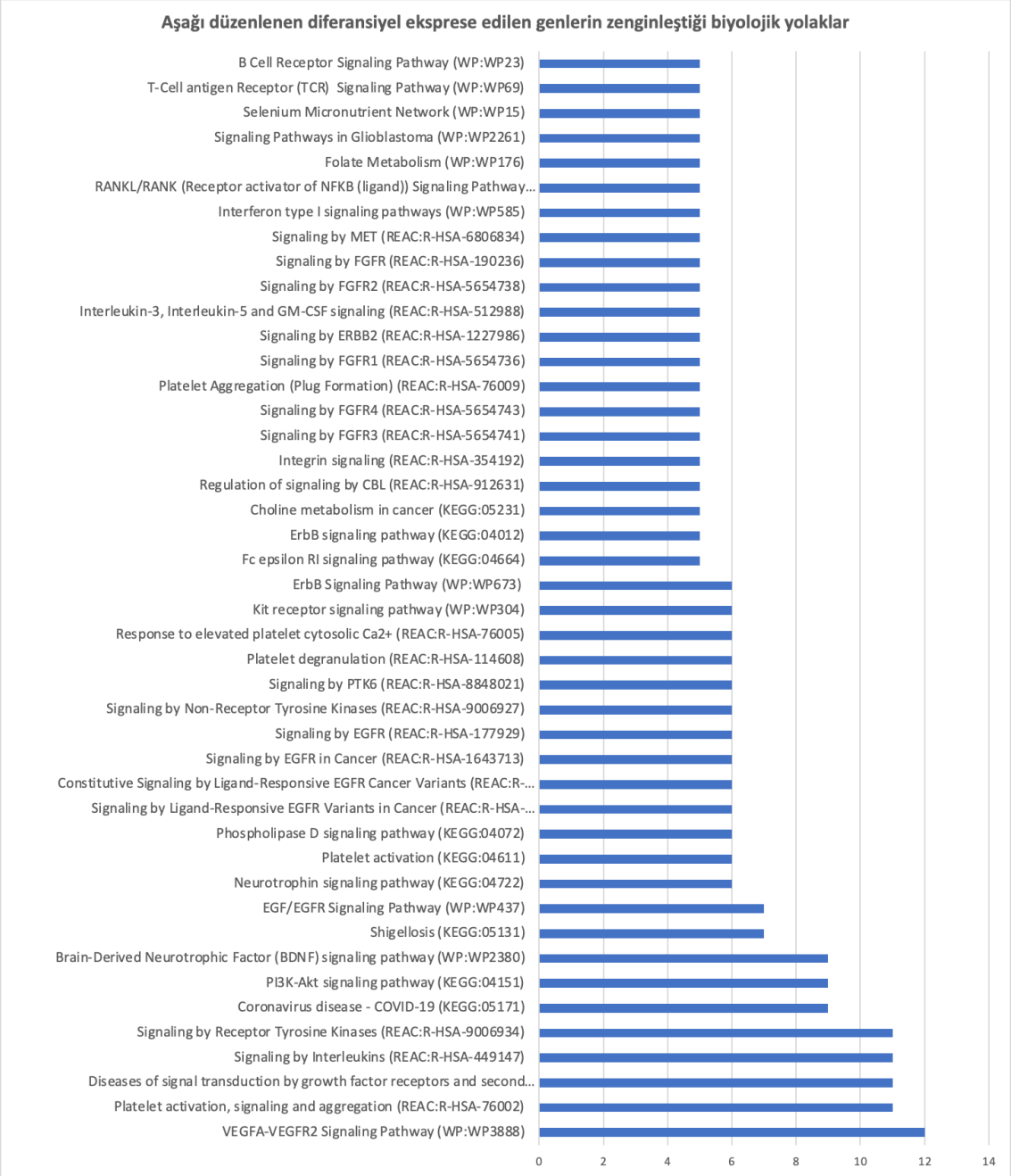
Ayrıntılı olarak incelendiğinde aşağı düzenlenen genler için en anlamlı zenginleşmeler Reactome yolak veritabanında; Liganda Duyarlı EGFR Kanser Varyantları Tarafından Yapısal Sinyalleme (REAC:R-HSA-1236382), Kanserde Liganda Duyarlı EGFR Varyantları Tarafından Sinyalleme (REAC:R-HSA-5637815), Kanserde EGFR ile Sinyalleme (REAC:R-HSA-1643713), CBL tarafından sinyallemenin düzenlenmesi (REAC:R-HSA-912631), WikiPathway veritabanında; Beyin Türevli Nörotrofik Faktör (BDNF) sinyal yolu (WP:WP2380), Kit reseptör sinyalleme yolağı (WP:WP304), COVID-19, tromboz ve antikoagülasyon (WP:WP4927), VEGFA-VEGFR2 sinyalleme yolağında (WP:WP3888), KEGG yolak veritabanında; Coronovirüs hastalığı COVID-19 (KEGG:05171), Fc epsilon RI signalleme yolağı (KEGG:04664), Nörotrofin sinyalleme yolağı (KEGG:04722), gerçekleşmiştir (Şekil 4.3 ve Tablo A.5).

Terim boyutu 4-400 olacak şekilde, aşağı düzenlenen genler için anlamlı tüm yolaklar gösterilmiştir (Tablo A.5).

Şekil 4.4'te Yukarı düzenlenen diferansiyel eksprese edilen genlerin zenginleştiği yolakların tahmini dağılımı verilmiştir. İstatiksel olarak en anlamlı zenginleşmeler, Reactome'da Hücre-hücre etkileşimleri (REAC:R-HSA-1500931), Kornifiye zarfın oluşumu (REAC:R-HSA-6809371), gelişimsel biyoloji (REAC:R-HSA-1266738), KEGG'de estrojen sinyalleme yolağı (KEGG:04915), WikiPathway'de Beyin türevli nörotrofik faktör (BDNF) sinyal yolu (WP:WP2380), Gastrin sinyalleme yolağında (WP:WP4659)'de gerçekleşmiştir (Şekil 4.4). Terim boyutu 4-1000 olacak şekilde, yukarı düzenlenen genlerin zenginleştiği tüm yolaklar gösterilmiştir (Tablo A.6).

Tablo 4.3'te, aşağı düzenlenen diferansiyel eksprese edilen genlerin zenginleştiği biyolojik yolaktaki gen sayısı en az 5 olacak şekilde gösterilmiştir. Buna göre, en çok sayıda genle etkileşim kuran yolaklar, VEGFA-VEGFR2 Sinyalleme yolağı (WP:WP3888), Trombosit aktivasyonu, sinyalizasyon ve agregasyon (REAC:R-HSA-76002), Büyüme faktörü reseptörleri ve ikinci haberciler tarafından sinyal iletimi hastalıkları (REAC:R-HSA-5663202), İnterlökinler tarafından sinyalleme (REAC:R-HSA-449147), Reseptör tirozin kinazlarla sinyalleme (REAC:R-HSA-9006934), Koronavirüs hastalığı - COVID-19 (KEGG:05171) , PI3K-Akt sinyal yolu (KEGG:04151), Beyin türevli nörotrofik faktör (BDNF) sinyal yolağı(WP:WP2380), Şigelloz (KEGG:05131), EGF/EGFR sinyal yolu (WP:WP437) şeklindedir (Tablo 4.3).

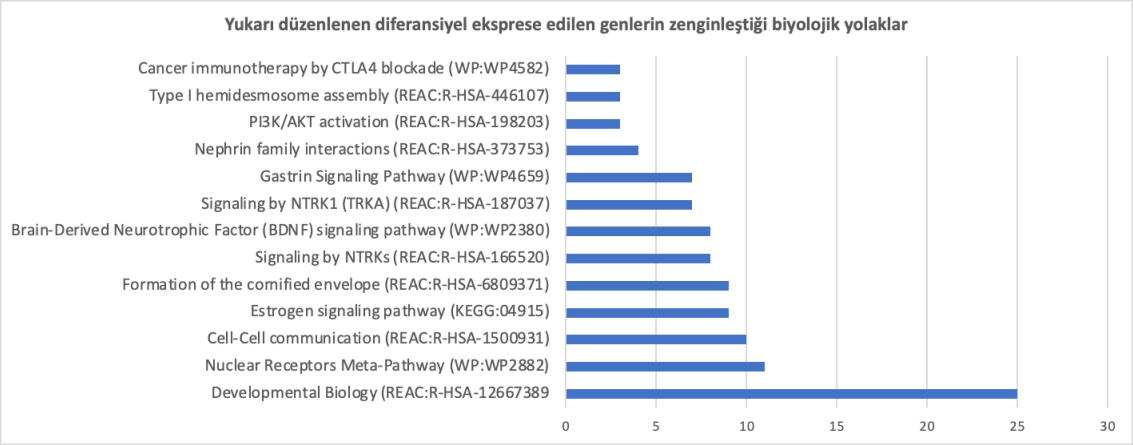
Tablo 4.3 Aşağı düzenlenen genlerin zenginleştiği biyolojik yolaklar



Tablo 4.4'te yukarı düzenlenen diferansiyel eksprese edilen genlerin zenginleştiği biyolojik yolaktaki temsil edilen gen sayısı en az 3 olacak şekilde gösterilmiştir. En çok sayıda gen içeren yolaklar, Gelişimsel biyoloji (REAC:R-HSA-12667389), Nükleer reseptörler meta yolu (WP:WP2882), Hücre-hücre iletişimi (REAC:R-HSA-1500931), Östrojen sinyal yolu (KEGG:04915), Kornifiye zarfın oluşumu (REAC:R-HSA-6809371), NTRK'ler tarafından sinyal verme

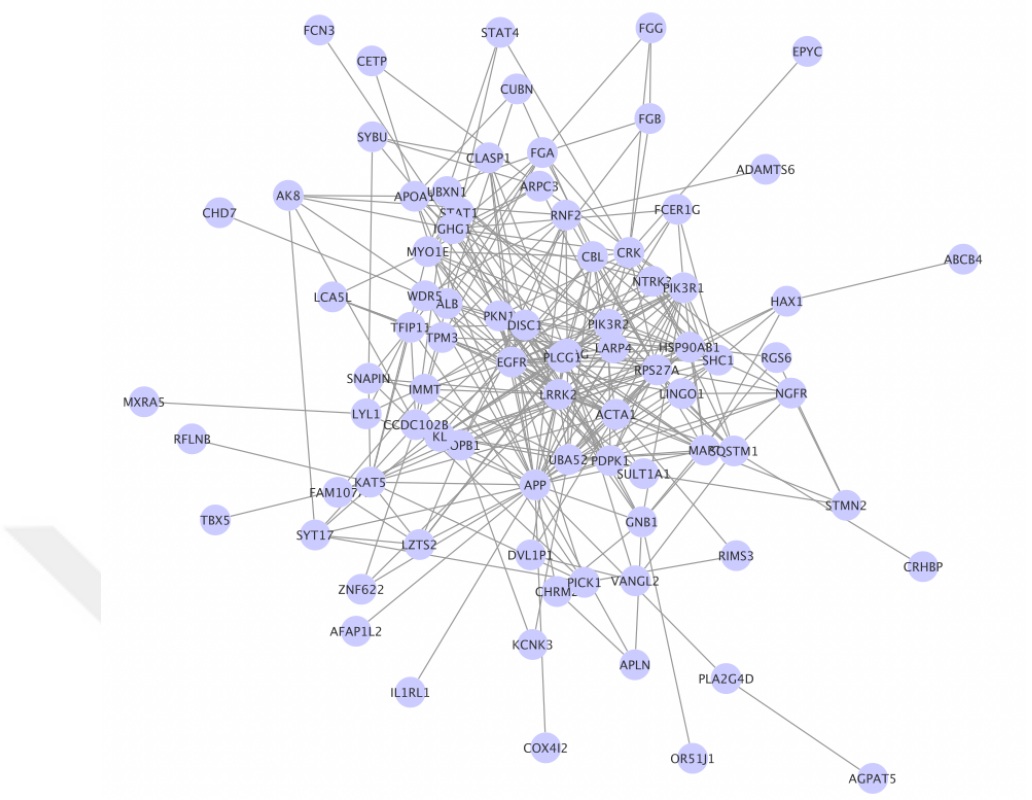
(REAC:R-HSA-166520), Beyin türevli nörotrofik faktör (BDNF) sinyal yolu (WP:WP2380) şeklindedir.

Tablo 4.4 Yukarı düzenlenen genlerin zenginleştiği biyolojik yolaklar



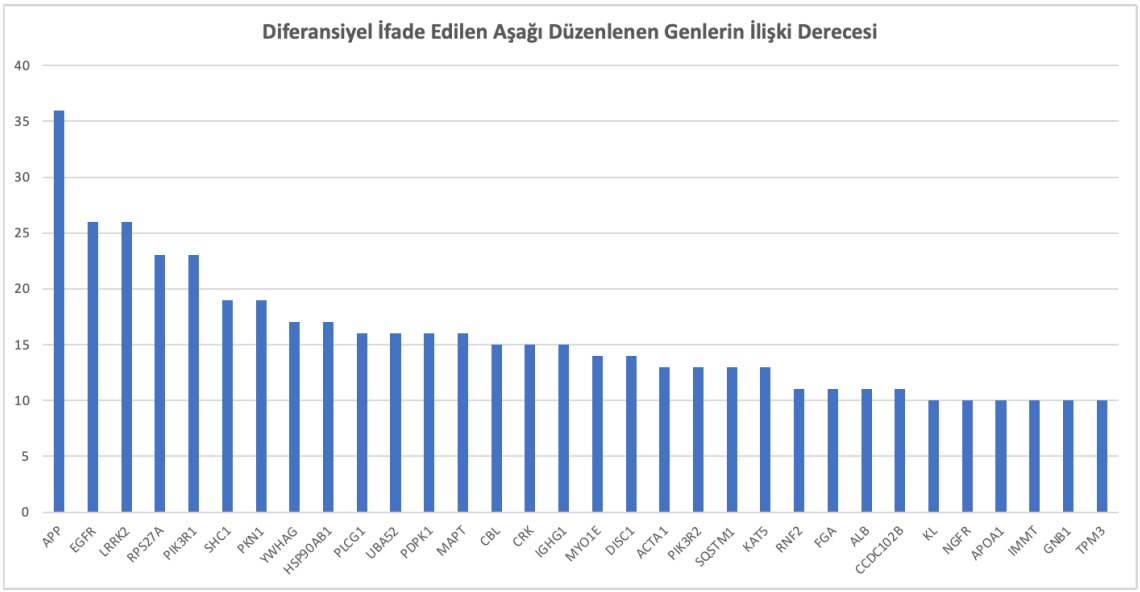
4.4 CYTOSCAPE 3.8.2 Aracılı Görselleştirme ve Ağ Analizi Sonuçları

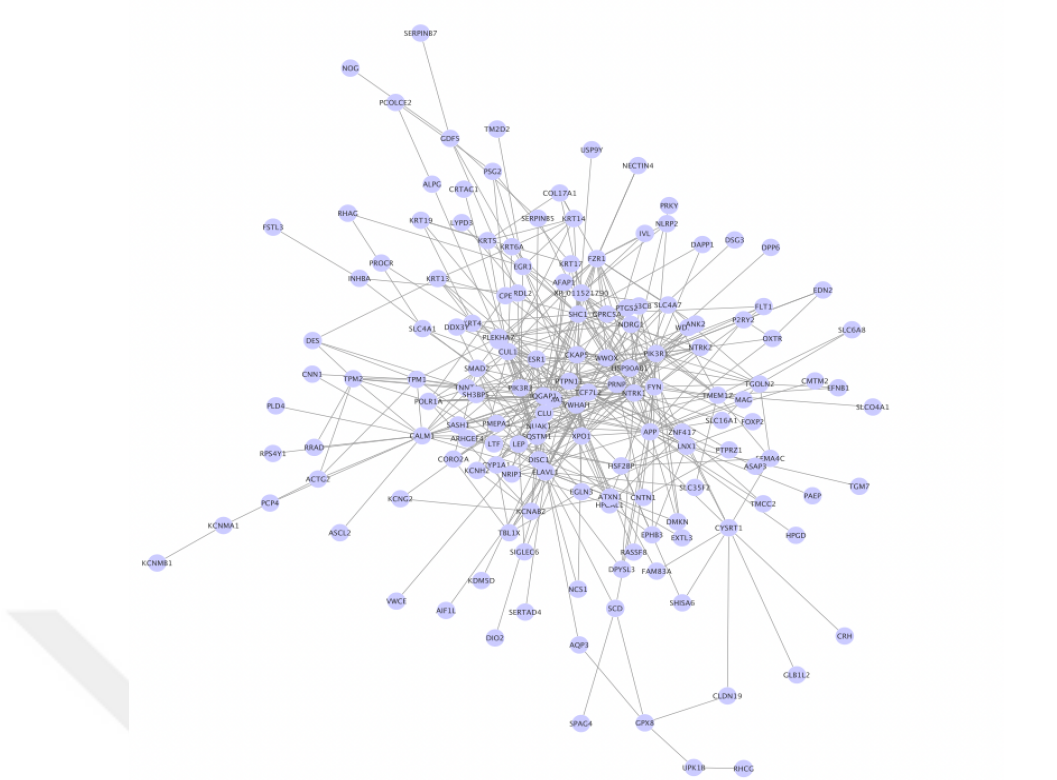
Şekil 4.5'te anlamlı olarak aşağı düzenlenen diferansiyel eksprese edilen genlerin bağlantılarının CYTOSCAPE 3.8.2 yazılımı ile görselleştirilmişitir. 130 tane aşağı düzenlenen genden CYTOSCAPE'te birbiriyle etkileşim gösteren 83 tane gen belirlenmiştir. Tablo 4.5'te etkileşim derecesi (sayısı) en az 5 olan genler gösterilmektedir. APP geni diğer genlerle en çok etkileşim ağına sahip gendir. İlişkili derecesine göre genler sırayla APP, EGFR, LRRK2, RPS27A, PIK3R1, SHC1, PKN1, YWHAG, HSP90AB1, PLCG1, UBA52, PDPK1, MAPT, CBL, CRK, IGHG1, MYO1E, DISC1, ACTA1, PIK3R2, SQSTM1, KAT5, RNF2, FGA, ALB, CCDC102B, KL, NGFR, APOA1, IMMT, GNB1, TPM3, COPB1, LZTS2, TFIP11, WDR5, PICK1, NTRK3, FCER1G, STAT1, UBXN1, SNAPIN, SYT17, CLASP1, AK8, ARPC3, FGB, CUBN, HAX1, ZNF622, LINGO1, CHRM2, APLN, SULT1A1, STAT4, DVL1P1, FGG, LYL1, LARP4, STMN2, CETP, KCNK3, SYBU, LCA5L, COX4I2, RGS6, VANGL2, FAM107A, FCN3, PLA2G4D, RIMS3, RFLNB, TBX5, IL1RL1, AFAP1L2, CHD7, ADAMTS6, ABCB4, CRHBP, EPYC, OR51J1, MXRA5 ve AGPAT5 şeklindedir.



Şekil 4.5 KPM-aracılı aşağı düzenlenen genlerin etkileşimleri

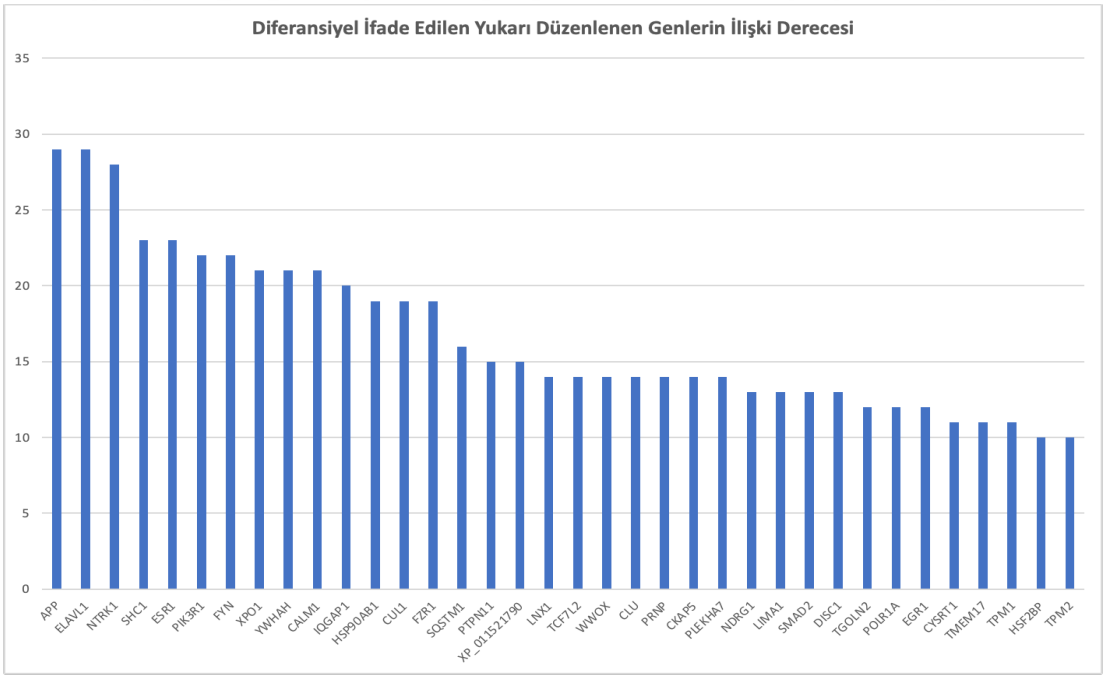
Tablo 4.5 Aşağı düzenlenen genlerin etkileşim dereceleri





Şekil 4.6 KPM-aracılı yukarı düzenlenen genlerin etkileşimleri

Tablo 4.6 Yukarı düzenlenen genlerin etkileşim dereceleri



Şekil 4.6'te anlamlı olarak yukarı düzenlenen diferansiyel eksprese edilen genlerden ilişkileri CYTOSCAPE 3.8.2 yazılımı ile belirlenmiş sonuçları görülmektedir. 256 tane genin birbiriyle etkileşime sahip olan toplam gen sayısı

152 tane olup, etkileşime girmeyenler dışlanmıştır. Tablo etkileşim derecesi(sayısı) en az 10 olan genleri göstermektedir. Bu genlerden en çok etkileşim derecesine sahip olan gen, APP genidir (Tablo 4.6). Genler etkileşim derecesine göre sırayla APP,ELAVL1, NTRK1, SHC1, ESR1, PIK3R1, FYN, XPO1, YWHAH, CALM1, IQGAP1, HSP90AB1, CUL1, FZR1, SQSTM1, PTPN11, XP_011521790, LNX1, TCF7L2, WWOX, CLU, PRNP, CKAP5, PLEKHA7, NDRG1, LIMA1, SMAD2, DISC1, TGOLN2, POLR1A, EGR1, CYSRT1, TMEM17, TPM1, HSF2BP, TPM2, PIK3R3, ATXN1, FOS, KCNAB2, KRT14, NTRK2, TNNT1, TBL1X, ZNF417, HPCAL1, KRT17, KRT5, GDF5, EGLN3, EPHB3, PTGS2, OXTR, CYP1A1, KRT19, KRT13, KRT4, FLT1, PIK3CB, LEP, KCNH2, SLC4A7, COL17A1, CNTN1, KRT6A, DES, NRIP1, SLC16A1, SLC4A1, LTF, DPYSL3, IVL, GPRC5A, PMEPA1, INHBA, FOXP2, NUAK1, SH3BP5, SCD, TMCC2, P2RY2, CHRDL2, ARHGEF4, WDR91, NECTIN4, KCNG2, CORO2A, FAM83A, PTPRZ1, PSG2, AFAP1, SEMA4C, EFNB1, ACTG2, AQP3, KCNMA1, GPX8, ALPG, MAG, NLRP2, HPGD, CPE, SERPINB5, DDX3Y, SASH1, ANK2, EXTL3, DIO2, EDN2, ASAP3, DPP6, NOG, KCNMB1, SPAG4, RHCG, FSTL3, RASSF8, DMKN, RHAG, NCS1, DAPP1, SIGLEC6, SLC6A8, CNN1, RRAD, SLC35F2, CLDN19, SHISA6, PCOLCE2, UPK1B, TGM7, PAEP, CMTM2, KDM5D, CRTAC1, PRKY, VWCE, USP9Y, TM2D2, ASCL2, RPS4Y1, PCP4, PLD4, DSG3, LYPD3, CRH, SERTAD4, AIF1L, GLB1L2, PROCR, SLCO4A1 ve SERPINB7 şeklindedir.

4.5 Tartışma ve Öneriler

Çalışma kapsamında, anlamlı olarak ifade edilen genler ve bu genlerin sahip oldukları etkileşim ağı elde edildi. Ayrıca, yukarı düzenlenen genler ile aşağı düzenlenen genler ayrı sorgular olarak girilerek, aynı yolaklarda kümelenmeleri sağlandı. Elde edilen önemli genler, aşağı düzenlenen yolaklarda, diğer genlerle en çok etkileşime sahip olan APP geni olarak elde edilmiş, daha sonra sırasıyla, EGFR, LRRK2, RPS27A, PIK3R1 genleri en çok etkileşime sahip çıkmıştır. Yukarı düzenlenen yolaklarda, yine APP geni en çok etkileşim kurarken, daha sonra sırayla APP, ELAVL1, NTRK1 genleri en çok etkileşime sahip çıkmıştır.

Yolak analizleri sonucunda, aşağı düzenlenen genler, Liganda duyarlı EGFR kanser varyantları tarafından yapısal sinyalleme, Kanserde liganda duyarlı EGFR

varyantları tarafından sinyalleme, Kanserde EGFR ile sinyalleme, CBL tarafından sinyallemenin düzenlenmesi, Beyin türevli nörotrofik faktör (BDNF) sinyal yolu, Kit reseptör sinyalleme yolağı, COVID-19, tromboz ve antikoagülasyon, VEGFA-VEGFR2 sinyalleme yolağı, Coronovirüs hastalığı COVID-19, Fc epsilon RI signalleme yolağı, Nörotrofin sinyalleme yolaklarında ekspresyon göstermişlerdir.

Yukarı düzenlenen genler, Reactome'da Hücre-hücre etkileşimleri, Kornifiye zarfın oluşumu, Gelişimsel biyoloji (REAC:R-HSA-1266738), estrojen sinyalleme yolağı, Beyin Türevli Nörotrofik Faktör (BDNF) sinyal yolu, Gastrin sinyalleme yolağı şeklindedir.

Aşağı düzenlenen genlerin zenginleştiği yolaklardan hem Liganda duyarlı EGFR kanser varyantları tarafından yapısal sinyalleme (REAC:R-HSA-1236382) yolağı, Kanserde liganda duyarlı EGFR varyantları tarafından sinyalleme (REAC:R-HSA-5637815), Kanserde EGFR ile sinyalleme (REAC:R-HSA-1643713) yolaklarında zenginleşmeler meydana gelmişti. EGFR-ASI'lerin preeklamptik plasentadaki ekspresyonu düşük olarak çıkmıştır [80]. Çalışmamızda da EGFR ile ilişkili mevcut 3 yolakta aşağı düzenleme sergilenmiştir.

CBL, aynı zamanda bir proto-onkogen olup, bir çok kanser türünde mutasyona uğramıştır ve en fazla testislerde ve lenf düğümlerinde gen ekspresyonu gösterir [81]. CBL mekanizmasında, immünolojik yolaklarda etki göstererek, PIK3K'yı negatif yolla düzenler [82]. Gebeliğin erken dönemlerinde plasental villüslerde bulunan fagositoz gerçekleştirerek makrofaj gibi davranan hofbauer hücreleri, villöz oluşumunda etki eden Spyr proteinleri ile ilişkili c-CBL'yi ifade ederek, plasental gelişimde mühim bir rol edindikleri belirlenmiştir [83]. Çalışmamızda ise CBL tarafından sinyallemenin düzenlenmesi aşağı düzenlenen diferansiyel eksprese edilen genlerle temsil edilmiştir.

Beyin ve akciğerde en geniş ekspresyona sahip olan nörotrofin BDNF[84], nöronların gelişimi, büyümesi ve plastisitesi sağlamada görevli olup, alzeimer, huntington, depresyon gibi hastalıklarda etki gösterir [85]. BDNF konsantrasyonu preeklamptik durumda azalan konsantrasyon göstermiş, AnxA1 aracılı olarak preeklampsiye etki edebileceği belirlenmiştir [86]. BDNF Beyin

türevli nörotrofik faktör (BDNF) sinyal yolu çalışmamızda aşağı düzenlenen genler ile temsil edilmişti.

Proto-onkogen olan, erişkin akciğerinde ve serebellumda geniş ekspresyon gösteren Kit[87], Fms benzeri tirozin kinaza benzerlik gösteren, mast hücre gelişimi, gametogenez gerçekleştirebilen, çeşitli kanser metabolizmalarına katılan sitokin reseptörüdür [88]. Kit reseptör sinyalleme yolağı preeklampside aşağı düzenlenen genlerle zenginleşmiştir.

Gebeliğin hemen öncesi veya sonrasında maruz kalınan COVID-19 hastalarda preeklampsi oluşma riskine olan etkisi artan çalışmalarla anlaşılmaya başlamıştır[89]. Covid-19'a maruz kalan gebe kadınların daha erken doğum yaptığı, preeklampsi geliştirdiği veya prenatal ölümlerin meydana geldiği gözlenmiştir, bu konuda biyolojik bilgi oldukça azdır [90]. Covid-19'a sahip hamile kadınlarla, preeklampsiye sahip kadınlara benzer semptomlar gösterdiği gibi moleküler düzeyde birbirlerinden ayırt edilebilir, moleküler mekanizmaların aydınlatılması preeklamptik gebelerin doğru teşhisi alabilmesi için önem taşır [91]. Çalışmamızda ise, Covid-19 ile ilişkili yolaklarda aşağı düzenlenen genler temsil edilmiştir, tromboz ve antikoagülasyon ile ilişki gösteren aşağı düzenlenen genler bu yolaklarda zenginleşme gösterdi.

Yeni damar yollarının oluşum sürecine katılarak anjiyogenez meydana getiren VEGFA-VEGFR2 sinyalleme yolağında [92], çalışmamız kapsanında aşağı düzenlenen genler zenginleşme göstermiştir. Literatürde VEGFA'nın preeklamptik plasenta dokularında azalan ekspresyon sergilediği için [93], , çalışmamızdaki sonucu desteklemektedir.

Fc epsilon RI, mast gücreleri için temel bir reseptör olup [94], sitokin velerin ve bağışıklık cevabı oluşturan moleküllerin sentezini sağlar, iltihaplı dokularda ise yukarı düzenleme göstermiştir[95]. Çalışmamızda bu reseptöre ilişkin yolak aşağı düzenlenmiştir, literatürde ise Fc epsilın RI sinyalleme yolağının preeklampsi çalışmasına dair bir sonuç görülememiştir.

Nörotrofinler, gelişim esnasında sinir hücrelerinin sağkalımı ve gelişimi için önemli moleküller olup[96], preeklamptik plazmada düşmüştür [86], çalışmamızda benzer şekilde nörotrofin sinyal yolaklarında aşağı düzenleme ortaya çıkmıştır.

Çalışmamızda hücre-hücre etkileşimlerindeki yolaklar yukarı düzenlenmiştir. Preeklampsi esnasında hücre-hücre etkileşimlerinde zoukluklar meydana gelebilir [97]

Kornifiye zarfın oluşumu (REAC:R-HSA-6809371), epidermisde ve hücre ölümlerinin fazlalaşarak bir keranosit yapılar meydana getirir[98]. Oksidatif stres kornifiye zarfın meydana gelmesinde tetikleyicidir ve epidermisin bariyerindeki, geçirgenliği artırır[99]. Çalışmamızda kornifiye zarfın oluşumundaki yolaklar yukarı düzenlenmiştir.

Mide asitinin ve pankreas enzimlerinin salınımını sağlayan gastrin [100], preeklampsi ile ilgili çalışılmış bir sonucu olmasa da, gebelik hipertansiyonuna katkıda bulunduğu saptanmıştır[101]. Çalışmamızda ise bu değişiklik yukarı düzenlenerek kendisini göstermiştir.

Yukarı düzenlenen genlerin zenginleştiği yolaklardan estrojen sinyalleme yolağı ve beyin türevli nörotrofik faktör (BDNF) sinyal yolağındaki zenginleşmeler, aşağı düzenlenen genlerin nörotrofin sinyalleme yolağı ve beyin türevli nörotrofik faktör (BDNF) sinyal yolundaki zenginleşmeler, hastalığın nörolojik yolaklarla olan bağına dikkat çekmektedir.

APP geninin hem yukarı düzenlemede hem de aşağı düzenlemede en çok etkileşim derecesine sahip olan gen olduğu belirlenmiştir. APP geni daha önceki çalışmalarda en çok alzheimer hastalığı ile ilişkilendirilmiş olup amiloid plakanın yapısında yer alır. Aşağı düzenlenen yolaklarda LRRK2 genindeki mutasyonlar Parkinson-8 hastalığı ile ilişkilendirilmiştir [102, p. 2]. Ayrıca NTRK1 nöron alttiplerinin belirlenmesinde rol oynarken[48], ELAVL1 kanser gibi yolakların yanı sıra testis ve beyinde de ifade edilir[104]. Önceki çalışmalara göre, preeklampsi ile ilgili yapılan çalışmalarda, preeklampsili hastalarda parkinson'a ait protein 7 fazla ifade edilmiştir[17]. Buna ek olarak önceki çalışmalar bazı preeklampsi hastaları hayatlarının ileriki aşamalarında alzeimer gelişmiş [16], preekampsili havyan modellerinde ise hastalık depresyon, epilepsi ve çeşitli kognitif süreçlerle ilişkilendirilmiştir [105].

RPS27A, nörodejenaratif hastalıkları kontrol etmesinin yanı sıra [106], yumutalıklarda da ifade edilen bir gendir[107]. Literatürde preeklampsinin

estrojen ile ilişkisini kuvvetlendiren çeşitli çalışmalar mecvuttur. Östrojen hamilelik süresinde damar oluşumunun devam ettirilmesi ve bebeğin beslenmesinde oldukça önemlidir. Östrojen gibi gebelik hormonları, beyin hipotalamik-hipofiz-gonadal ekseni ile üretimi güçlendirir [33].

KAYNAKÇA

[1] Z. Armaly, J. E. Jadaon, A. Jabbour, and Z. A. Abassi, 'Preeclampsia: Novel Mechanisms and Potential Therapeutic Approaches', *Front. Physiol.*, vol. 9, p. 973, 2018, doi: 10.3389/fphys.2018.00973.

[2] C. Stern *et al.*, 'Low Dose Aspirin in high-risk pregnancies: The volatile effect of acetylsalicylic acid on the inhibition of platelets uncovered by G. Born's light transmission aggregometry', *J. Reprod. Immunol.*, vol. 145, p. 103320, Jun. 2021, doi: 10.1016/j.jri.2021.103320.

[3] X.-Q. Hu, R. Song, and L. Zhang, 'Effect of Oxidative Stress on the Estrogen-NOS-NO-KCa Channel Pathway in Uteroplacental Dysfunction: Its Implication in Pregnancy Complications', *Oxid. Med. Cell. Longev.*, vol. 2019, p. 9194269, 2019, doi: 10.1155/2019/9194269.

[4] A. S. Sahay, D. P. Sundrani, and S. R. Joshi, 'Regional changes of placental vascularization in preeclampsia: A review', *IUBMB Life*, vol. 67, no. 8, pp. 619–625, 2015, doi: https://doi.org/10.1002/iub.1407.

[5] T. E. C. Kieffer, S. A. Scherjon, M. M. Faas, and J. R. Prins, 'Lower activation of CD4+ memory T cells in preeclampsia compared to healthy pregnancies persists postpartum', *J. Reprod. Immunol.*, vol. 136, p. 102613, Nov. 2019, doi: 10.1016/j.jri.2019.102613.

[6] R. Hrdlickova, M. Toloue, and B. Tian, 'RNA-Seq methods for transcriptome analysis', *Wiley Interdiscip. Rev. RNA*, vol. 8, no. 1, Jan. 2017, doi: 10.1002/wrna.1364.

[7] J. Reimand *et al.*, 'Pathway enrichment analysis and visualization of omics data using g:Profiler, GSEA, Cytoscape and EnrichmentMap', *Nat. Protoc.*, vol. 14, no. 2, pp. 482–517, Feb. 2019, doi: 10.1038/s41596-018-0103-9.

[8] L. C. Poon *et al.*, 'The International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) initiative on pre-eclampsia: A pragmatic guide for first-trimester screening and prevention', *Int. J. Gynaecol. Obstet. Off. Organ Int. Fed. Gynaecol. Obstet.*, vol. 145 Suppl 1, pp. 1–33, May 2019, doi: 10.1002/ijgo.12802.

[9] B. Keskinkılıç *et al.*, 'Maternal mortality due to hypertensive disorders in pregnancy, childbirth, and the puerperium between 2012 and 2015 in Turkey: A nation-based study', *J. Turk. Ger. Gynecol. Assoc.*, vol. 18, no. 1, pp. 20–25, Mar. 2017, doi: 10.4274/jtgga.2016.0244.

[10] A.-S. Chao, Y.-L. Chen, Y.-L. Chang, A. Chao, S.-Y. Su, and T.-H. Wang, 'Severe pre-eclamptic women with headache: is posterior reversible encephalopathy syndrome an associated concurrent finding?', *BMC Pregnancy Childbirth*, vol. 20, p. 336, Jun. 2020, doi: 10.1186/s12884-020-03017-4.

[11] R. D'Souza and J. Kingdom, 'Preeclampsia', *CMAJ Can. Med. Assoc. J.*, vol. 188, no. 16, p. 1178, Nov. 2016, doi: 10.1503/cmaj.151551.

[12] H. R. Turbeville and J. M. Sasser, 'Preeclampsia beyond pregnancy: long-term consequences for mother and child', *Am. J. Physiol. - Ren. Physiol.*, vol. 318, no. 6, pp. F1315–F1326, Jun. 2020, doi: 10.1152/ajprenal.00071.2020.

[13] J. Uzan, M. Carbonnel, O. Piconne, R. Asmar, and J.-M. Ayoubi, 'Pre-eclampsia: pathophysiology, diagnosis, and management', *Vasc. Health Risk Manag.*, vol. 7, pp. 467–474, 2011, doi: 10.2147/VHRM.S20181.

[14] Y. Xu *et al.*, 'Downregulated lncRNA HOXA11-AS Affects Trophoblast Cell Proliferation and Migration by Regulating RND3 and HOXA7 Expression in PE', *Mol. Ther. Nucleic Acids*, vol. 12, pp. 195–206, Sep. 2018, doi: 10.1016/j.omtn.2018.05.007.

[15] S. Rasmussen, C. Ebbing, and L. M. Irgens, 'Predicting preeclampsia from a history of preterm birth', *PLoS ONE*, vol. 12, no. 7, p. e0181016, Jul. 2017, doi: 10.1371/journal.pone.0181016.

[16] K. B. Miller, V. M. Miller, and J. N. Barnes, 'Pregnancy History, Hypertension, and Cognitive Impairment in Postmenopausal Women', *Curr. Hypertens. Rep.*, vol. 21, no. 12, p. 93, Nov. 2019, doi: 10.1007/s11906-019-0997-9.

[17] T. Yang, J. Yan, Q. Han, Q. Zhang, and Q. Liao, 'Expression and significance of Parkinson disease protein 7 in placental, serum and umbilical cord blood in preeclampsia', *Ginekol. Pol.*, vol. 91, no. 12, Art. no. 12, 2020, doi: 10.5603/GP.a2020.0131.

[18] K. Leavey, S. L. Wilson, S. A. Bainbridge, W. P. Robinson, and B. J. Cox, 'Epigenetic regulation of placental gene expression in transcriptional subtypes of preeclampsia', *Clin. Epigenetics*, vol. 10, p. 28, 2018, doi: 10.1186/s13148-018-0463-6.

[19] L. Uusküla *et al.*, 'Mid-gestational gene expression profile in placenta and link to pregnancy complications', *PloS One*, vol. 7, no. 11, p. e49248, 2012, doi: 10.1371/journal.pone.0049248.

[20] I. A. Lian, M. Langaas, E. Moses, and Å. Johansson, 'Differential gene expression at the maternal-fetal interface in preeclampsia is influenced by gestational age', *PloS One*, vol. 8, no. 7, p. e69848, 2013, doi: 10.1371/journal.pone.0069848.

[21] E. Phipps, D. Prasanna, W. Brima, and B. Jim, 'Preeclampsia: Updates in Pathogenesis, Definitions, and Guidelines', *Clin. J. Am. Soc. Nephrol. CJASN*, vol. 11, no. 6, pp. 1102–1113, Jun. 2016, doi: 10.2215/CJN.12081115.

[22] S. Tsai *et al.*, 'Transcriptional profiling of human placentas from pregnancies complicated by preeclampsia reveals disregulation of sialic acid acetylesterase and immune signalling pathways', *Placenta*, vol. 32, no. 2, pp. 175–182, Feb. 2011, doi: 10.1016/j.placenta.2010.11.014.

[23] L.-F. An, S.-Q. Chi, J. Zhang, H.-B. Wang, and W.-X. Ouyang, 'Expression of angiogenic factor with G patch and FHA domains 1 (AGGF1) in placenta from patients with preeclampsia', *Folia Histochem. Cytobiol.*, vol. 58, no. 2, pp. 83–89, 2020, doi: 10.5603/FHC.a2020.0016.

[24] E. Jauniaux, J. Hempstock, N. Greenwold, and G. J. Burton, 'Trophoblastic Oxidative Stress in Relation to Temporal and Regional Differences in Maternal Placental Blood Flow in Normal and Abnormal Early Pregnancies', *Am. J. Pathol.*, vol. 162, no. 1, pp. 115–125, Jan. 2003, Accessed: May 13, 2021. [Online]. Available: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1851128/

[25] D. Dong, Y. Khoong, Y. Ko, and Y. Zhang, 'microRNA-646 inhibits angiogenesis of endothelial progenitor cells in pre-eclamptic pregnancy by targeting the VEGF-A/HIF-1α axis', *Exp. Ther. Med.*, vol. 20, no. 3, pp. 1879–1888, Sep. 2020, doi: 10.3892/etm.2020.8929.

[26] C. E. Cross, M. F. Tolba, C. M. Rondelli, M. Xu, and S. Z. Abdel-Rahman, 'Oxidative Stress Alters miRNA and Gene Expression Profiles in Villous First Trimester Trophoblasts', *BioMed Res. Int.*, vol. 2015, p. 257090, 2015, doi: 10.1155/2015/257090.

[27] P. Yang *et al.*, 'Abnormal oxidative stress responses in fibroblasts from preeclampsia infants', *PloS One*, vol. 9, no. 7, p. e103110, 2014, doi: 10.1371/journal.pone.0103110.

[28] M. Jiang, G. E. Lash, X. Zhao, Y. Long, C. Guo, and H. Yang, 'CircRNA-0004904, CircRNA-0001855, and PAPP-A: Potential Novel Biomarkers for the Prediction of Preeclampsia', *Cell. Physiol. Biochem. Int. J. Exp. Cell. Physiol. Biochem. Pharmacol.*, vol. 46, no. 6, pp. 2576–2586, 2018, doi: 10.1159/000489685.

[29] X. Luo and X. Li, 'Long Non-Coding RNAs Serve as Diagnostic Biomarkers of Preeclampsia and Modulate Migration and Invasiveness of Trophoblast Cells', *Med. Sci. Monit. Int. Med. J. Exp. Clin. Res.*, vol. 24, pp. 84–91, Jan. 2018, doi: 10.12659/msm.907808.

[30] P. K. Lala and P. Nandi, 'Mechanisms of trophoblast migration, endometrial angiogenesis in preeclampsia: The role of decorin', *Cell Adhes. Migr.*, vol. 10, no. 1–2, pp. 111–125, Mar. 2016, doi: 10.1080/19336918.2015.1106669.

[31] J. Wan *et al.*, 'The reduction in circulating levels of estrogen and progesterone in women with preeclampsia', *Pregnancy Hypertens.*, vol. 11, pp. 18–25, Jan. 2018, doi: 10.1016/j.preghy.2017.12.003.

[32] S. C. Hewitt and K. S. Korach, 'Estrogen Receptors: New Directions in the New Millennium', *Endocr. Rev.*, vol. 39, no. 5, pp. 664–675, Oct. 2018, doi: 10.1210/er.2018-00087.

[33] S. K. Behura, A. M. Kelleher, and T. E. Spencer, 'Evidence for functional interactions between the placenta and brain in pregnant mice', *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.*, vol. 33, no. 3, pp. 4261–4272, Mar. 2019, doi: 10.1096/fj.201802037R.

[34] A. Casamassimi, A. Federico, M. Rienzo, S. Esposito, and A. Ciccodicola, 'Transcriptome Profiling in Human Diseases: New Advances and Perspectives', *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 18, no. 8, Jul. 2017, doi: 10.3390/ijms18081652.

[35] Z. Jiang *et al.*, 'Whole transcriptome analysis with sequencing: methods, challenges and potential solutions', *Cell. Mol. Life Sci. CMLS*, vol. 72, no. 18, pp. 3425–3439, Sep. 2015, doi: 10.1007/s00018-015-1934-y.

[36] I. S. Yang and S. Kim, 'Analysis of Whole Transcriptome Sequencing Data: Workflow and Software', *Genomics Inform.*, vol. 13, no. 4, pp. 119–125, Dec. 2015, doi: 10.5808/GI.2015.13.4.119.

[37] Y. Han, S. Gao, K. Muegge, W. Zhang, and B. Zhou, 'Advanced Applications of RNA Sequencing and Challenges', *Bioinforma. Biol. Insights*, vol. 9s1, p. BBI.S28991, Jan. 2015, doi: 10.4137/BBI.S28991.

[38] A. Fernández-Marmiesse, S. Gouveia, and M. L. Couce, 'NGS Technologies as a Turning Point in Rare Disease Research, Diagnosis and Treatment', *Curr. Med. Chem.*, vol. 25, no. 3, pp. 404–432, Jan. 2018, doi: 10.2174/0929867324666170718101946.

[39] Z. Wang, M. Gerstein, and M. Snyder, 'RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics', *Nat. Rev. Genet.*, vol. 10, no. 1, pp. 57–63, Jan. 2009, doi: 10.1038/nrg2484.

[40] A. McDermaid, B. Monier, J. Zhao, B. Liu, and Q. Ma, 'Interpretation of differential gene expression results of RNA-seq data: review and integration', *Brief. Bioinform.*, vol. 20, no. 6, pp. 2044–2054, Aug. 2018, doi: 10.1093/bib/bby067.

[41] R. Kamps *et al.*, 'Next-Generation Sequencing in Oncology: Genetic Diagnosis, Risk Prediction and Cancer Classification', *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 18, no. 2, Jan. 2017, doi: 10.3390/ijms18020308.

[42] 'NGS Food Screening for Species Identification - TR'. //www.thermofisher.com/tr/en/home/industrial/food-beverage/food-authenticity-labeling/ngs-food-screening-species-identification.html (accessed Jun. 17, 2021).

[43] P. Sanchis *et al.*, 'Analysis workflow of publicly available RNA-sequencing datasets', *STAR Protoc.*, vol. 2, no. 2, p. 100478, Jun. 2021, doi: 10.1016/j.xpro.2021.100478.

[44] P. Hogeweg, 'The Roots of Bioinformatics in Theoretical Biology', *PLoS Comput. Biol.*, vol. 7, no. 3, p. e1002021, Mar. 2011, doi: 10.1371/journal.pcbi.1002021.

[45] G. R. Oliver, S. N. Hart, and E. W. Klee, 'Bioinformatics for Clinical Next Generation Sequencing', *Clin. Chem.*, vol. 61, no. 1, pp. 124–135, Jan. 2015, doi: 10.1373/clinchem.2014.224360.

[46] R. C. Gentleman *et al.*, 'Bioconductor: open software development for computational biology and bioinformatics', *Genome Biol.*, vol. 5, no. 10, p. R80, 2004, doi: 10.1186/gb-2004-5-10-r80.

[47] M. Polat and A. Karahan, 'Multidisipliner Yeni Bir Bilim Dalı: Biyoinformatik ve Tıpta Uygulamaları', *SDÜ Tıp Fakültesi Derg.*, vol. 16, no. 3, Art. no. 3, Nov. 2009, doi: 10.17343/sdutfd.11012.

[48] 'About OMIM'. https://omim.org/about (accessed Jun. 28, 2021).

[49] R. P. D. Bank, 'RCSB PDB: Homepage'. https://www.rcsb.org/ (accessed Jun. 28, 2021).

[50] 'GEO Overview - GEO - NCBI'. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/info/overview.html (accessed Jun. 28, 2021).

[51] B. Wu and S. Xi, 'Bioinformatics analysis of differentially expressed genes and pathways in the development of cervical cancer', *BMC Cancer*, vol. 21, no. 1, p. 733, Jun. 2021, doi: 10.1186/s12885-021-08412-4.

[52] D. Bu *et al.*, 'KOBAS-i: intelligent prioritization and exploratory visualization of biological functions for gene enrichment analysis', *Nucleic Acids Res.*, no. gkab447, Jun. 2021, doi: 10.1093/nar/gkab447.

[53] M. A. García-Campos, J. Espinal-Enríquez, and E. Hernández-Lemus, 'Pathway Analysis: State of the Art', *Front. Physiol.*, vol. 6, 2015, doi: 10.3389/fphys.2015.00383.

[54] J. Reimand *et al.*, 'g:Profiler—a web server for functional interpretation of gene lists (2016 update)', *Nucleic Acids Res.*, vol. 44, no. Web Server issue, pp. W83–W89, Jul. 2016, doi: 10.1093/nar/gkw199.

[55] 'g:Profiler – a web server for functional enrichment analysis and conversions of gene lists'. https://biit.cs.ut.ee/gprofiler/gost (accessed Jun. 16, 2021).

[56] U. Raudvere *et al.*, 'g:Profiler: a web server for functional enrichment analysis and conversions of gene lists (2019 update)', *Nucleic Acids Res.*, vol. 47, no. W1, pp. W191–W198, Jul. 2019, doi: 10.1093/nar/gkz369.

[57] 'The Gene Ontology Resource: 20 years and still GOing strong', *Nucleic Acids Res.*, vol. 47, no. Database issue, pp. D330–D338, Jan. 2019, doi: 10.1093/nar/gky1055.

[58] 'Gene Ontology Resource', *Gene Ontology Resource*. http://geneontology.org/ (accessed Jun. 28, 2021).

[59] 'KEGG PATHWAY Database'. https://www.genome.jp/kegg/pathway.html (accessed Jun. 17, 2021).

[60] D. Szklarczyk *et al.*, 'The STRING database in 2017: quality-controlled protein–protein association networks, made broadly accessible', *Nucleic Acids Res.*, vol. 45, no. Database issue, pp. D362–D368, Jan. 2017, doi: 10.1093/nar/gkw937.

[61] C. J. Shin, S. Wong, M. J. Davis, and M. A. Ragan, 'Protein-protein interaction as a predictor of subcellular location', *BMC Syst. Biol.*, vol. 3, p. 28, 2009, doi: 10.1186/1752-0509-3-28.

[62] P. Liu, L. Yang, D. Shi, and X. Tang, 'Prediction of Protein-Protein Interactions Related to Protein Complexes Based on Protein Interaction Networks', *BioMed Res. Int.*, vol. 2015, 2015, doi: 10.1155/2015/259157.

[63] L. Yu, S. Cao, J. Li, B. Han, H. Zhong, and R. Zhong, 'Prognostic value and immune infiltration of a novel stromal/immune score-related P2RY12 in lung adenocarcinoma microenvironment', *Int. Immunopharmacol.*, vol. 98, p. 107734, Jun. 2021, doi: 10.1016/j.intimp.2021.107734.

[64] D. Szklarczyk *et al.*, 'STRING v10: protein-protein interaction networks, integrated over the tree of life', *Nucleic Acids Res.*, vol. 43, no. Database issue, pp. D447-452, Jan. 2015, doi: 10.1093/nar/gku1003.

[65] I. Xenarios, D. W. Rice, L. Salwinski, M. K. Baron, E. M. Marcotte, and D. Eisenberg, 'DIP: the Database of Interacting Proteins', *Nucleic Acids Res.*, vol. 28, no. 1, pp. 289–291, Jan. 2000, Accessed: Jun. 28, 2021. [Online]. Available: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC102387/.

[66] S. Kerrien *et al.*, 'The IntAct molecular interaction database in 2012', *Nucleic Acids Res.*, vol. 40, no. Database issue, pp. D841–D846, Jan. 2012, doi: 10.1093/nar/gkr1088.

[67] R. Oughtred *et al.*, 'The BioGRID interaction database: 2019 update', *Nucleic Acids Res.*, vol. 47, no. D1, pp. D529–D541, Jan. 2019, doi: 10.1093/nar/gky1079.

[68] K. Han, B. Park, H. Kim, J. Hong, and J. Park, 'HPID: the Human Protein Interaction Database', *Bioinforma. Oxf. Engl.*, vol. 20, no. 15, pp. 2466–2470, Oct. 2004, doi: 10.1093/bioinformatics/bth253.

[69] M. Giurgiu *et al.*, 'CORUM: the comprehensive resource of mammalian protein complexes—2019', *Nucleic Acids Res.*, vol. 47, no. Database issue, pp. D559–D563, Jan. 2019, doi: 10.1093/nar/gky973.

[70] M. List, N. Alcaraz, M. Dissing-Hansen, H. J. Ditzel, J. Mollenhauer, and J. Baumbach, 'KeyPathwayMinerWeb: online multi-omics network enrichment', *Nucleic Acids Res.*, vol. 44, no. Web Server issue, pp. W98–W104, Jul. 2016, doi: 10.1093/nar/gkw373.

[71] N. Alcaraz *et al.*, 'KeyPathwayMiner 4.0: condition-specific pathway analysis by combining multiple omics studies and networks with Cytoscape', *BMC Syst. Biol.*, vol. 8, p. 99, Aug. 2014, doi: 10.1186/s12918-014-0099-x.

[72] 'KeyPathwayMiner'. https://keypathwayminer.compbio.sdu.dk/keypathwayminer/ (accessed Jun. 28, 2021).

[73] D. Otasek, J. H. Morris, J. Bouças, A. R. Pico, and B. Demchak, 'Cytoscape Automation: empowering workflow-based network analysis', *Genome Biol.*, vol. 20, no. 1, p. 185, Dec. 2019, doi: 10.1186/s13059-019-1758-4.

[74] ‘RStudio | Open source & professional software for data science teams’. https://rstudio.com/ (accessed Jun. 28, 2021).

[75] Y. Liu *et al.*, ‘Methylation-eQTL Analysis in Cancer Research’, *Bioinforma. Oxf. Engl.*, Jun. 2021, doi: 10.1093/bioinformatics/btab443.

[76] H. Wickham, ‘stringr: modern, consistent string processing’, *R J.*, vol. 2, no. 2, p. 38, 2010, doi: 10.32614/RJ-2010-012.

[77] M. Gagolewski (<https://orcid.org/0000-0003-0637-6028>), B. Tartanus, and others (stringi source code); IBM, Unicode, I. and others (ICU4C source code, and U. C. D. stringi author details, *stringi: Character String Processing Facilities*. 2021. Accessed: Jun. 16, 2021. [Online]. Available: https://CRAN.R-project.org/package=stringi

[78] D. Dembélé and P. Kastner, ‘Fold change rank ordering statistics: a new method for detecting differentially expressed genes’, *BMC Bioinformatics*, vol. 15, no. 1, p. 14, Jan. 2014, doi: 10.1186/1471-2105-15-14.

[79] S. Greenland *et al.*, ‘Statistical tests, P values, confidence intervals, and power: a guide to misinterpretations’, *Eur. J. Epidemiol.*, vol. 31, pp. 337–350, 2016, doi: 10.1007/s10654-016-0149-3.

[80] Z.-M. Zhao and J. Jiang, ‘Lowly expressed EGFR-AS1 promotes the progression of preeclampsia by inhibiting the EGFR-JAK/STAT signaling pathway’, *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.*, vol. 22, no. 19, pp. 6190–6197, Oct. 2018, doi: 10.26355/eurrev_201810_16024.

[81] ‘CBL Cbl proto-onkogen [Homo sapiens (insan)] - Gen - NCBI’. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/867#gene-expression (accessed Jun. 29, 2021).

[82] ‘Reactome | Regulation of signaling by CBL’. https://reactome.org/content/detail/R-HSA-912631 (accessed Jun. 29, 2021).

[83] E. Y. Anteby *et al.*, ‘Human Placental Hofbauer Cells Express Sprouty Proteins: a Possible Modulating Mechanism of Villous Branching’, *Placenta*, vol. 26, no. 6, pp. 476–483, Jul. 2005, doi: 10.1016/j.placenta.2004.08.008.

[84] PubChem, ‘BDNF - brain derived neurotrophic factor (human)’. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/gene/BDNF/human (accessed Jun. 29, 2021).

[85] ‘Beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) sinyal yolu (Homo sapiens) - WikiPathways’. https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP2380 (accessed Jun. 29, 2021).

[86] L. O. Perucci, É. L. M. Vieira, A. L. Teixeira, K. B. Gomes, L. M. Dusse, and L. P. Sousa, ‘Decreased plasma concentrations of brain-derived neurotrophic factor in preeclampsia’, *Clin. Chim. Acta Int. J. Clin. Chem.*, vol. 464, pp. 142–147, Jan. 2017, doi: 10.1016/j.cca.2016.11.034.

[87] ‘Kit KIT proto-onkogen reseptörü tirozin kinaz [Mus musculus (ev faresi)] - Gen - NCBI’. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/16590 (accessed Jun. 29, 2021).

[88] ‘Kit reseptörü sinyal yolu (Homo sapiens) - WikiPathways’. https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP304 (accessed Jun. 29, 2021).

[89] E. T. Patberg and A. M. Vintzileos, ‘Reply to “COVID-19 infection just before or during early pregnancy and the possible risk of placenta accreta spectrum or preeclampsia”’, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, p. S000293782100689X, Jun. 2021, doi: 10.1016/j.ajog.2021.06.055.

[90] D. Di Mascio *et al.*, ‘Outcome of coronavirus spectrum infections (SARS, MERS, COVID-19) during pregnancy: a systematic review and meta-analysis’, *Am. J. Obstet. Gynecol. MFM*, vol. 2, no. 2, p. 100107, May 2020, doi: 10.1016/j.ajogmf.2020.100107.

[91] M. Mendoza *et al.*, ‘Preeclampsia-like syndrome induced by severe COVID-19: a prospective observational study’, *Bjog*, p. 10.1111/1471-0528.16339, Jun. 2020, doi: 10.1111/1471-0528.16339.

[92] ‘VEGFA-VEGFR2 sinyal yolu (Homo sapiens) - WikiPathways’. https://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP3888 (accessed Jun. 29, 2021).

[93] Z. Xueya *et al.*, ‘Exosomal encapsulation of miR-125a-5p inhibited trophoblast cell migration and proliferation by regulating the expression of VEGFA in preeclampsia’, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 525, no. 3, pp. 646–653, May 2020, doi: 10.1016/j.bbrc.2020.02.137.

[94] S. Klemm and J. Ruland, ‘Inflammatory signal transduction from the Fc epsilon RI to NF-kappa B’, *Immunobiology*, vol. 211, no. 10, pp. 815–820, 2006, doi: 10.1016/j.imbio.2006.07.001.

[95] S. Kraft and T. Bieber, ‘Fc epsilon ri-mediated activation of transcription factors in antigen-presenting cells’, *Int. Arch. Allergy Immunol.*, vol. 125, no. 1, pp. 9–15, May 2001, doi: 10.1159/000053791.

[96] L. F. Reichardt, ‘Neurotrophin-regulated signalling pathways’, *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, vol. 361, no. 1473, pp. 1545–1564, Sep. 2006, doi: 10.1098/rstb.2006.1894.

[97] L. Brodowski, B. Schröder-Heurich, C. A. Hubel, T. H. Vu, C. S. von Kaisenberg, and F. von Versen-Höynck, ‘Role of vitamin D in cell-cell interaction of fetal endothelial progenitor cells and umbilical cord endothelial cells in a preeclampsia-like model’, *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, vol. 317, no. 2, pp. C348–C357, Aug. 2019, doi: 10.1152/ajpcell.00109.2019.

[98] E. Candi, R. Schmidt, and G. Melino, ‘The cornified envelope: a model of cell death in the skin’, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, vol. 6, no. 4, pp. 328–340, Apr. 2005, doi: 10.1038/nrm1619.

[99] M. Rinnerthaler, J. Bischof, M. K. Streubel, A. Trost, and K. Richter, 'Oxidative stress in aging human skin', *Biomolecules*, vol. 5, no. 2, pp. 545–589, Apr. 2015, doi: 10.3390/biom5020545.

[100] Q. Zeng, L. Ou, W. Wang, and D.-Y. Guo, 'Gastrin, Cholecystokinin, Signaling, and Biological Activities in Cellular Processes', *Front. Endocrinol.*, vol. 11, p. 112, Mar. 2020, doi: 10.3389/fendo.2020.00112.

[101] Y. Jin, W. Sha, X. Gao, and E. Li, 'A clinical study on TCM differentiation of symptoms and signs in pregnancy hypertension syndrome', *J. Tradit. Chin. Med. Chung Tsa Chih Ying Wen Pan*, vol. 16, no. 4, pp. 252–259, Dec. 1996.

[102] R. Watanabe *et al.*, 'The In Situ Structure of Parkinson's Disease-Linked LRRK2', *Cell*, vol. 182, no. 6, pp. 1508-1518.e16, Sep. 2020, doi: 10.1016/j.cell.2020.08.004.

[103] R. K. Quinn, H. R. Drury, R. Lim, R. J. Callister, and M. A. Tadros, 'Differentiation of Sensory Neuron Lineage During the Late First and Early Second Trimesters of Human Foetal Development', *Neuroscience*, vol. 467, pp. 28–38, May 2021, doi: 10.1016/j.neuroscience.2021.05.018.

[104] A. Buresi, E. Canali, L. Bonnaud, and S. Baratte, 'Delayed and asynchronous ganglionic maturation during cephalopod neurogenesis as evidenced by Sof-elav1 expression in embryos of Sepia officinalis (Mollusca, Cephalopoda)', *J. Comp. Neurol.*, vol. 521, no. 7, pp. 1482–1496, May 2013, doi: 10.1002/cne.23231.

[105] S. B. Gumusoglu, A. S. S. Chilukuri, D. A. Santillan, M. K. Santillan, and H. E. Stevens, 'Neurodevelopmental Outcomes of Prenatal Preeclampsia Exposure', *Trends Neurosci.*, vol. 43, no. 4, pp. 253–268, Apr. 2020, doi: 10.1016/j.tins.2020.02.003.

[106] N. Khayer, M. Mirzaie, S.-A. Marashi, and M. Jalessi, 'Rps27a might act as a controller of microglia activation in triggering neurodegenerative diseases', *PloS One*, vol. 15, no. 9, p. e0239219, 2020, doi: 10.1371/journal.pone.0239219.

[107] 'RPS27A ribosomal protein S27a [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI'. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/6233#gene-expression (accessed Jun. 15, 2021).

A

EKLER

Tablo A.1 KPM 4.0 aracılı anlamlı olarak aşağı düzenlenen diferansiyel eksprese genlerin listesi

Gene_Name	C_Exp	T_Exp	Log2FC	pValue
GNB1	441.388	490.699	0.152792	0.74815
FCN3	766.306	261.921	-154.879	0.04875
RIMS3	133.316	0.487795	-145.051	0.0488
SNAPIN	223.377	238.422	0.0940343	0.8233
TPM3	51.052	508.416	-0.00595864	0.9902
HAX1	139.609	17.029	0.286602	0.5831
VANGL2	22.485	0.87895	-135.511	0.04245
FCER1G	70.697	34.512	-103.455	0.033
RNF2	60.069	656.879	0.129008	0.8111
ACTA1	211.952	0.252102	-307.166	0.11765
GNB1	422.315	474.863	0.169192	0.72715
FCN3	699.094	370.353	-0.916586	0.17955
RIMS3	116.534	0.758824	-0.618917	0.27825
RIMS3	0.730568	0.217763	-174.626	0.3555
TPM3	501.945	521.453	0.0550084	0.90235
HAX1	106.413	124.506	0.22654	0.6548
VANGL2	22.514	110.584	-102.568	0.08735
FCER1G	601.377	367.639	-0.709979	0.14545
ACTA1	212.341	0.375844	-249.818	0.04085
CUBN	210.561	0.673882	-164.367	0.07555
LZTS2	116.909	102.066	-0.19589	0.76875
AFAP1L2	642.924	417.648	-0.622359	0.2509
CUBN	133.352	0.264428	-233.429	0.02795
AFAP1L2	602.847	299.321	-10.101	0.03895
OR51J1	0	0	0	1

COPB1	839.708	105.216	0.325395	0.87935
UBXN1	210.216	224.655	0.0958427	0.83775
KAT5	21.639	226.877	0.0682742	0.8845
CBL	857.318	107.796	0.330397	0.4935
OR51J1	0.800789	0	#AD?	0.04525
UBXN1	215.412	237.609	0.141489	0.75695
KAT5	424.616	69.077	0.702046	0.73485
APOA1	0.573736	0.353099	-0.700314	0.7422
LRRK2	0.561708	0.634515	0.175834	0.8338
LARP4	598.476	659.907	0.14097	0.7347
EPYC	199.532	401.659	-231.258	0.0019
LRRK2	1.285	0.757392	-0.762652	0.5407
LARP4	590.918	654.948	0.148423	0.7489
EPYC	167.428	387.704	-211.052	0.00255
TBX5	70.602	28.838	-129.174	0.01855
KL	92.653	443.613	-106.254	0.026
KL	104.624	542.078	-0.948643	0.0428
RGS6	0.638849	0.199291	-16.806	0.01745
RGS6	0	0	0	1
IGHG1	430.487	191.558	-116.819	0.04175
RGS6	0.802084	0.292774	-145.397	0.2483
IGHG1	893.796	352.768	-134.122	0.03955
LINGO1	263.605	152.927	-0.785533	0.19985
PLA2G4D	0.0525303	0.015896	-172.448	1
MYO1E	150.833	123.834	-0.284549	0.79095
LINGO1	300.149	126.904	-124.194	0.0277
NTRK3	197.385	0.447108	-214.232	0.03255
PDPK1	695.279	901.244	0.374326	0.5006
SULT1A1	276.217	107.189	-136.565	0.1659
CETP	903.133	365.245	-130.607	0.02265
SYT17	206.397	139.894	-0.561091	0.58715
SULT1A1	345.287	0.644966	-24.205	0.01585
CETP	611.583	253.821	-126.874	0.0325
RFLNB	732.185	371.227	-0.979908	0.05005
MAPT	217.189	0.874137	-131.302	0.0438
NGFR	526.454	200.624	-139.181	0.01535
RFLNB	848.868	401.758	-107.921	0.0226

CRK	136.115	141.034	0.0512157	0.9109
MAPT	212.537	0.922117	-120.469	0.06365
CCDC102B	609.775	212.185	-152.296	0.0455
PKN1	131.141	134.359	0.0349788	0.93185
UBA52	247.84	230.102	-0.107136	0.8454
LYL1	418.272	413.596	-0.0162216	0.97035
PKN1	123.976	134.881	0.12163	0.78065
UBA52	0.899898	100.276	0.156141	0.9194
KCNK3	909.116	483.805	-0.910039	0.05925
RPS27A	198.024	190.235	-0.0578916	0.8948
IMMT	127.003	133.101	0.0676523	0.88845
CLASP1	479.331	492.575	0.0393211	0.94465
STAT1	0.32179	144.351	216.538	0.55505
KCNK3	931.857	491.462	-0.923028	0.0377
IMMT	164.541	185.371	0.171968	0.686
IL1RL1	346.501	152.499	-118.406	0.01155
CLASP1	36.574	481.442	0.396543	0.43525
STAT1	158.536	19.713	0.314334	0.52845
STAT4	580.337	221.744	-138.799	0.0356
COX4I2	299.308	142.706	-106.858	0.07505
PLCG1	875.068	105.472	0.269397	0.7489
COX4I2	301.901	130.242	-121.288	0.0228
PLCG1	0.990312	0.4677	-10.823	0.697
PLCG1	0.671238	0.293065	-119.561	0.66785
PLCG1	0.88719	0.365885	-127.785	0.66195
APP	129.722	123.921	-0.0660119	0.90345
LCA5L	0.633852	0.241901	-138.973	0.02615
PICK1	557.231	485.677	-0.19828	0.6907
TFIP11	688.728	698.652	0.0206411	0.97315
FAM107A	54.883	250.944	-112.899	0.0295
ALB	0.261056	0	#AD?	1
FGB	196.291	0.4418	-215.153	0.03335
FGA	2.May	0.0834714	-46.182	0.1999
FGG	754.116	0.814999	-320.992	0.0493
FGB	316.498	0.227565	-379.785	0.1967
FGB	120.938	0.269297	-2.167	0.27545
FGA	16.118	0.194321	-305.216	0.03985

FGG	889.378	152.738	-254.173	0.00175
ZNF622	361.107	411.858	0.18972	0.74205
PIK3R1	105.749	139.585	0.400499	0.4242
CRHBP	127.954	631.478	-101.883	0.04175
SQSTM1	158.324	187.442	0.243569	0.69685
ZNF622	Nis.78	531.637	0.153431	0.7873
ADAMTS6	100.757	538.742	-0.903212	0.02945
PIK3R1	758.414	115.021	0.600846	0.19035
CRHBP	829.257	439.178	-0.917015	0.1036
HSP90AB1	110.472	133.278	0.270763	0.59645
HSP90AB1	115.847	136.222	0.233747	0.65735
EGFR	529.104	641.291	0.277427	0.6522
YWHAG	209.497	259.284	0.307602	0.47845
CHRM2	0.594429	0.0889791	-273.997	0.02015
YWHAG	207.981	26.677	0.359147	0.41555
ABCB4	0.674758	0.017723	-525.067	0.01215
CHRM2	0.689982	0.215406	-16.795	0.5109
AGPAT5	940.063	418.283	-116.828	0.01625
CHD7	326.328	148.889	-113.208	0.03885
STMN2	109.229	0.33272	-171.498	0.1145
SYBU	0.929509	112.228	0.271897	0.7686
CHD7	328.602	305.891	-0.103323	0.88935
SYBU	17.579	0.675848	-137.908	0.04575
WDR5	433.099	455.655	0.0732456	0.88125
AK8	0.708588	0.677235	-0.0652889	0.93915
WDR5	472.591	451.388	-0.0662222	0.8917
MXRA5	370.104	124.652	-157.003	0.0087
MXRA5	0.735869	0.409083	-0.847054	0.6317
APLN	180.069	639.462	-149.362	0.0014
MXRA5	232.208	0.793226	-154.961	0.0042
APLN	198.356	821.098	-127.247	0.006

Tablo A.2 KPM 4.0 aracılı anlamlı olarak yukarı düzenlenen diferansiyel eksprese genlerin listesi

Gene_Name	C_Exp	T_Exp	Log2FC	pValue
KCNAB2	0.831346	164.275	0.982591	0.03105
ASAP3	356.886	87.581	129.516	0.00865
EDN2	0.211469	115.696	245.182	0.2965
CLDN19	28.019	703.788	132.874	0.0059
IVL	0.693914	480.951	279.306	0.0041
NTRK1	0.538143	0.324471	-0.729901	1
PTGS2	10.786	23.584	112.865	0.121
TMCC2	0.703902	374.463	241.138	0.00255
SERTAD4	180.548	400.642	114.993	0.0395
KCNAB2	0.675015	101.355	0.586426	0.4816
ASAP3	568.599	128.021	11.709	0.0167
EDN2	0.0933826	111.533	357.817	0.02
CLDN19	276.244	685.445	13.111	0.0107
SLC16A1	120.616	222.093	0.88074	0.0471
IVL	0.712644	538.939	291.887	0.0039
NECTIN4	121.887	274.089	11.691	0.0142
PTGS2	0.828113	230.979	147.986	0.03325
TMCC2	0.75945	5.013	272.265	0.0023
SCD	272.784	541.424	0.989	0.0426
COL17A1	616.221	387.819	265.387	5,00E-05
TCF7L2	654.966	119.667	0.869536	0.0484
KCNMA1	144.447	363.501	133.142	0.0026
CRTAC1	0.163291	109.436	274.457	0.0376
SCD	275.304	475.133	0.787308	0.1097
COL17A1	131.036	795.123	260.122	6,00E-04
ASCL2	597.536	174.618	154.711	0.00545
CKAP5	59.228	592.204	-0.000184026	0.9972
VWCE	13.113	489.831	190.128	0.00455
P2RY2	222.071	516.731	121.839	0.04975
CHRDL2	110.864	326.107	155.655	0.0908
SLC35F2	42.318	696.601	0.719063	0.1673
GLB1L2	10.224	334.682	171.083	0.01775
ASCL2	465.401	124.506	141.967	0.00965

PLEKHA7	708.958	710.713	0.00356622	0.99355
CKAP5	676.661	638.198	-0.0844295	0.8575
VWCE	254.779	585.808	120.118	0.03805
P2RY2	216.077	349.371	0.69321	0.2425
CHRDL2	108.101	323.038	157.933	0.0334
SLC35F2	359.012	730.121	10.241	0.0462
GLB1L2	126.792	256.717	101.771	0.25415
GPRC5A	19.093	395.418	105.034	0.08585
RASSF8	419.139	780.272	0.896547	0.02015
CNTN1	0.514063	157.949	161.944	0.03965
KRT6A	52.038	215.441	204.966	2,00E-04
KRT5	334.107	131.096	197.224	0.00045
KRT4	0.419913	483.592	352.563	0.01015
NUAK1	257.744	415.991	0.690613	0.4084
PTPN11	102.894	127.068	0.304439	0.6072
GPRC5A	163.042	388.728	125.351	0.01475
CNTN1	0.504198	164.809	170.873	0.36915
CNTN1	0.525088	155.682	156.797	0.22695
LIMA1	170.639	250.377	0.553157	0.21345
KRT6A	521.097	210.875	201.676	0.00015
KRT5	369.239	137.328	1.895	0.00045
NUAK1	0.755688	188.757	132.067	0.0309
FLT1	931.726	268.578	152.737	0.5152
FLT1	112.865	535.867	224.728	0.06855
FLT1	168.303	724.7	210.632	0.0251
EGLN3	463.841	179.476	195.209	0.005
EGLN3	0.0782173	0.850003	344.191	0.48675
FOS	889.883	721.853	302.002	5,00E-05
CALM1	165.923	220.471	0.410075	0.48865
PLD4	123.849	263.891	109.136	0.03095
EGLN3	75.246	211.823	149.317	0.0118
FOS	658.839	555.723	307.637	5,00E-05
DIO2	20.416	102.183	232.338	5,00E-05
TPM1	105.861	221.54	10.654	0.0314
RHCG	0.188355	120.666	26.795	0.09455
IQGAP1	546.291	584.824	0.0983319	0.8455
TGM7	0	0.92565	Inf	0.00835

CYP1A1	0	0.740829	Inf	5,00E-05
RHCG	0.0738442	0.594344	300.874	0.0341
CMTM2	0	0.578523	Inf	0.01805
RRAD	733.199	13.164	0.844325	0.10125
WWOX	238.114	260.943	0.132086	0.8691
RRAD	487.527	132.075	143.781	0.0126
SHISA6	0.0429357	0.899764	43.893	0.0117
KRT19	128.625	297.518	120.981	0.02805
KRT14	336.002	112.449	174.272	0.00445
KRT17	517.335	151.962	155.454	0.0051
SLC4A1	35.668	75.318	107.837	0.30705
SLC4A1	223.911	533.036	125.131	0.0314
NOG	422.046	139.949	172.943	0.00185
SHISA6	0.0857914	0.882073	336.199	0.28625
KRT13	345.412	260.512	291.496	5,00E-05
KRT19	138.692	308.345	115.266	0.0158
KRT14	360.791	119.197	172.412	0.0032
KRT17	515.523	154.716	158.551	0.00555
SLC4A1	298.771	632.094	10.811	0.059
NOG	373.988	135.009	185.199	0.00125
DSG3	0.195192	0.933181	225.726	0.0351
SERPINB5	0.298799	171.672	252.241	0.0372
SERPINB7	102.678	343.364	174.161	0.0389
KCNG2	0.304296	0.920048	159.623	0.28115
DSG3	0.174683	0.930184	241.278	0.1917
DSG3	0.256119	172.801	275.422	0.35405
SMAD2	126.009	155.401	0.302473	0.627
SERPINB5	0.578196	291.109	233.193	0.04905
SERPINB7	125.934	361.358	152.076	0.07995
KCNG2	0.077542	0.796117	335.993	0.0423
FSTL3	464.817	227.527	22.913	9,00E-04
CNN1	252.029	690.525	145.411	0.00115
MAG	0.093416	0.980226	339.137	0.02495
DMKN	331.309	199.225	-0.733779	0.66635
PSG2	595.11	689.549	0.212496	0.9369
LYPD3	954.541	226.293	124.531	0.00855
NLRP2	115.405	270.297	122.784	0.01015

TNNT1	0.776611	144.162	0.892429	0.5302
FSTL3	418.104	202.973	227.935	0.00035
ELAVL1	112.534	113.899	0.0173843	0.96835
CNN1	27.703	777.531	148.886	0.00105
MAG	0.115545	0.683471	256.443	0.2885
DMKN	186.023	395.293	108.744	0.0482
PSG2	699.254	754.09	0.108919	0.9542
LYPD3	808.758	16.378	101.798	0.04185
SIGLEC6	347.226	694.815	100.075	0.0328
NLRP2	16.061	311.971	0.957848	0.09385
TNNT1	0.546303	247.178	217.778	0.01325
HPCAL1	150.216	271.163	0.852125	0.0581
ACTG2	96.296	248.942	137.026	0.00745
TGOLN2	186.343	209.986	0.172331	0.70915
POLR1A	16.651	196.265	0.237196	0.67005
SEMA4C	10.Şub	221.197	114.246	0.01525
SEMA4C	124.378	102.526	-0.278739	0.6999
DES	557.476	198.789	183.425	9,00E-04
ALPG	0.518864	159.195	161.736	0.04715
HPCAL1	106.225	214.163	101.159	0.03975
XPO1	329.039	37.692	0.195998	0.65765
TMEM17	0.705709	0.532235	-0.40701	0.73125
ACTG2	120.149	311.832	137.594	0.00715
TGOLN2	223.789	25.484	0.187451	0.6781
POLR1A	239.082	147.958	-0.692315	0.3366
SEMA4C	122.057	21.997	0.849752	0.06395
ARHGEF4	0.808225	359.155	215.178	0.03565
PRNP	183.764	168.135	-0.128236	0.77395
PROCR	252.816	566.684	116.446	0.04945
SPAG4	127.093	384.704	159.787	0.03985
PMEPA1	192.122	435.756	118.149	0.02225
SLCO4A1	297.448	918.811	162.713	0.01205
PRNP	164.857	155.602	-0.0833535	0.852
GDF5	0	0.0201983	Inf	1
SPAG4	109.417	334.806	161.348	0.0927
PMEPA1	240.526	459.389	0.933524	0.0996
NRIP1	0.189863	0.776874	203.273	0.52395

NRIP1	116.253	104.733	-0.150554	0.8733
PCP4	317.406	132.255	205.892	0.031
NRIP1	103.866	340.179	171.157	0.00035
APP	129.722	123.921	-0.0660119	0.90345
PCP4	149.859	793.738	240.506	0.03835
HSF2BP	0.0661294	0.147335	115.574	1
OXTR	242.891	102.953	208.361	2,00E-04
SLC4A7	356.274	747.954	106.996	0.0752
LTF	0.712615	345.529	227.761	0.01385
PCOLCE2	849.683	127.447	0.584901	0.23535
EPHB3	138.753	341.985	130.142	0.04135
OXTR	2.309	11.251	228.471	0.00035
SH3BP5	176.115	388.239	114.042	0.03905
SLC4A7	200.208	397.875	0.990813	0.0498
LTF	0.717753	258.029	184.597	0.01995
UPK1B	301.385	121.442	20.106	0.0018
PIK3CB	920.708	18.151	0.979231	0.0327
PCOLCE2	788.997	18.865	125.762	0.0328
EPHB3	160.901	280.885	0.803803	0.1467
LNX1	283.694	0.513989	-246.453	0.5103
DAPP1	370.834	793.518	109.749	0.0364
ANK2	0.224674	0.592403	139.875	0.01875
CPE	40.061	844.322	10.756	0.03435
HPGD	543.827	116.762	110.235	0.042
AFAP1	254.725	626.503	129.838	0.0057
LNX1	103.154	954.189	-0.112448	0.85115
DAPP1	346.516	88.634	135.494	0.01645
ANK2	0.294773	149.795	234.531	0.41685
ANK2	0.59375	0.555531	-0.0959885	0.95245
HPGD	103.55	226.466	112.897	0.01985
GPX8	111.435	117.115	0.071729	0.89755
PIK3R1	105.749	139.585	0.400499	0.4242
EGR1	180.127	736.925	20.325	0.0019
KCNMB1	346.378	972.583	148.947	0.03745
SQSTM1	158.324	187.442	0.243569	0.69685
GPX8	726.832	975.017	0.423804	0.37525
PIK3R1	758.414	115.021	0.600846	0.19035

EGR1	236.808	107.633	218.433	5,00E-05
DPYSL3	380.929	754.185	0.985396	0.03095
KCNMB1	126.415	314.801	131.627	0.0251
ATXN1	405.475	371.903	-0.124686	0.83945
ATXN1	144.133	150.198	0.0594647	0.9626
ATXN1	0.612136	0.697759	0.188878	0.9082
HSP90AB1	110.472	133.278	0.270763	0.59645
RHAG	0.21841	0.878618	20.082	0.26095
FYN	891.266	722.998	-0.301865	0.52705
SASH1	0.816429	160.104	0.971608	0.6405
SASH1	526.584	110.019	106.302	0.0152
ESR1	0.43708	0.391589	-0.158558	1
ESR1	223.524	232.898	0.0592694	0.91595
ATXN1	261.181	251.512	-0.0544218	0.9229
HSP90AB1	115.847	136.222	0.233747	0.65735
RHAG	0	0.623187	Inf	0.0109
FYN	111.753	94.413	-0.24326	0.58615
SASH1	508.074	987.123	0.958193	0.04155
FOXP2	0.327538	111.228	176.379	0.00815
PTPRZ1	0.118853	0.719699	259.821	0.02715
LEP	472.165	464.688	32.989	5,00E-05
WDR91	152.392	185.773	0.285748	0.421
CUL1	12.044	142.178	0.239379	0.58465
KCNH2	0.433625	160.379	188.697	0.28345
KCNH2	0.578937	20.907	185.251	0.1583
DPP6	0.236467	0.715585	159.748	0.0398
INHBA	608.575	181.777	157.867	0.0122
FOXP2	0.772015	130.549	0.757896	0.68865
LEP	438.228	424.641	327.649	5,00E-05
WDR91	503.902	101.715	101.331	0.03615
CUL1	111.447	136.084	0.288144	0.54405
KCNH2	0.650863	212.079	170.417	0.04085
CLU	196.906	475.377	127.157	0.00735
EXTL3	223.969	545.628	128.462	0.0094
FAM83A	0.0747207	0.806889	343.279	0.02555
NDRG1	251.356	523.095	105.734	0.0249
CLU	30.995	686.968	114.821	0.01895

EXTL3	337.745	60.003	0.829098	0.0703
TM2D2	143.001	637.639	215.671	1,00E-04
CRH	249.86	558.707	116.097	0.0486
FAM83A	0.0575526	0.746524	369.724	0.14025
NDRG1	329.898	58.204	0.8191	0.0748
AQP3	559.113	126.019	117.243	0.02075
TPM2	962.085	201.542	106.685	0.03655
NTRK2	0.220401	24.006	344.519	0.0011
CORO2A	0.913627	159.765	0.806271	0.307
NCS1	102.457	228.138	115.489	0.0638
AIF1L	704.252	139.414	0.98521	0.0324
PAEP	414.943	140.208	175.658	2,00E-04
CYSRT1	0.116022	0.578391	231.764	0.1967
AQP3	678.571	161.823	125.385	0.0094
TPM2	906.239	179.916	0.989361	0.0246
NTRK2	0.239611	338.731	382.138	0.0022
CORO2A	0.53385	136.812	135.768	0.042
NCS1	100.428	252.288	132.891	0.03315
AIF1L	751.133	158.166	10.743	0.0159
PAEP	336.935	109.869	170.525	0.00045
TBL1X	759.944	81.278	0.0969717	0.82855
TBL1X	168.189	189.388	0.17126	0.9188
EFNB1	969.058	18.414	0.926146	0.03565
SLC6A8	874.903	188.915	111.055	0.02455
TBL1X	78.999	941.904	0.253746	0.58755
EFNB1	975.264	164.794	0.756796	0.10505
SLC6A8	0.769588	250.003	169.979	0.6139
RPS4Y1	0.30322	42.6	713.435	0.02835
PRKY	0	139.976	Inf	0.0387
USP9Y	0.0912072	413.477	550.252	0.00085
DDX3Y	0.0184437	97.752	904.986	0.0112
KDM5D	0.0179929	293.668	735.061	0.22255
RPS4Y1	106.295	344.187	501.705	0.00535
PRKY	0	0.723961	Inf	0.1305
PRKY	0	0.855475	Inf	0.11145
PRKY	0.0215493	174.634	634.055	0.23875
DDX3Y	0.0961601	869.624	649.881	0.0272

KDM5D	0.0238568	298.959	69.694	0.0045

Tablo A.3 Aşağı düzenlenen diferansiyel eksprese edilen genlerin zenginleştiği GO terimleri

source	term_name	term_id
GO:MF	protein tyrosine kinase binding	GO:1990782
GO:MF	ubiquitin-like protein ligase binding	GO:0044389
GO:MF	receptor tyrosine kinase binding	GO:0030971
GO:MF	ubiquitin protein ligase binding	GO:0031625
GO:MF	insulin-like growth factor receptor binding	GO:0005159
GO:MF	protein kinase C binding	GO:0005080
GO:BP	cellular response to nerve growth factor stimulus	GO:1990090
GO:BP	response to nerve growth factor	GO:1990089
GO:BP	signal release	GO:0023061
GO:BP	regulation of exocytosis	GO:0017157
GO:BP	modulation of chemical synaptic transmission	GO:0050804
GO:BP	regulation of trans-synaptic signaling	GO:0099177
GO:BP	regulation of peptide hormone secretion	GO:0090276
GO:BP	regulation of peptide secretion	GO:0002791
GO:BP	regulation of peptide transport	GO:0090087
GO:BP	response to metal ion	GO:0010038
GO:BP	positive regulation of substrate adhesion-dependent cell spreading	GO:1900026
GO:BP	amide transport	GO:0042886
GO:BP	peptide hormone secretion	GO:0030072
GO:BP	peptide secretion	GO:0002790
GO:BP	regulation of hormone secretion	GO:0046883
GO:BP	peptide transport	GO:0015833
GO:BP	regulation of heterotypic cell-cell adhesion	GO:0034114
GO:BP	regulation of cell-substrate adhesion	GO:0010810
GO:BP	amyloid fibril formation	GO:1990000
GO:BP	regulation of substrate adhesion-dependent cell spreading	GO:1900024
GO:BP	positive regulation of peptide hormone secretion	GO:0090277
GO:BP	protein polymerization	GO:0051258
GO:BP	platelet activation	GO:0030168
GO:BP	positive regulation of peptide secretion	GO:0002793
GO:BP	substrate adhesion-dependent cell spreading	GO:0034446
GO:BP	hormone secretion	GO:0046879
GO:BP	regulation of vasoconstriction	GO:0019229
GO:BP	regulation of endothelial cell apoptotic process	GO:2000351

GO:BP	hormone transport	GO:0009914
GO:BP	endothelial cell apoptotic process	GO:0072577
GO:BP	epidermal growth factor receptor signaling pathway	GO:0007173
GO:BP	positive regulation of vasoconstriction	GO:0045907
GO:BP	regulation of synaptic plasticity	GO:0048167
GO:BP	platelet degranulation	GO:0002576
GO:BP	actin filament organization	GO:0007015
GO:BP	negative regulation of endothelial cell apoptotic process	GO:2000352
GO:BP	positive regulation of lipase activity	GO:0060193
GO:BP	positive regulation of phospholipid transport	GO:2001140
GO:CC	blood microparticle	GO:0072562
GO:CC	fibrinogen complex	GO:0005577
GO:CC	distal axon	GO:0150034
GO:CC	platelet alpha granule lumen	GO:0031093
GO:CC	growth cone	GO:0030426
GO:CC	site of polarized growth	GO:0030427
GO:CC	cytoplasmic region	GO:0099568
GO:CC	platelet alpha granule	GO:0031091
GO:CC	secondary lysosome	GO:0005767
GO:CC	vesicle lumen	GO:0031983
GO:CC	endocytic vesicle	GO:0030139
GO:CC	multivesicular body, internal vesicle	GO:0097487
GO:CC	mitochondrial outer membrane	GO:0005741

Tablo A.4 Yukarı düzenlenen diferansiyel eksprese edilen genlerin zenginleştiği GO terimleri

source	term_name	term_id
GO:MF	protein domain specific binding	GO:0019904
GO:MF	cytoskeletal protein binding	GO:0008092
GO:MF	structural constituent of cytoskeleton	GO:0005200
GO:MF	peptide hormone receptor binding	GO:0051428
GO:BP	positive regulation of multicellular organismal process	GO:0051240
GO:BP	positive regulation of protein phosphorylation	GO:0001934
GO:BP	positive regulation of phosphorylation	GO:0042327
GO:BP	cornification	GO:0070268
GO:BP	regulation of phosphorylation	GO:0042325
GO:BP	ovulation	GO:0030728
GO:BP	positive regulation of phosphorus metabolic process	GO:0010562
GO:BP	positive regulation of phosphate metabolic process	GO:0045937
GO:BP	regulation of system process	GO:0044057

GO:BP	regulation of phosphorus metabolic process	GO:0051174
GO:BP	regulation of phosphate metabolic process	GO:0019220
GO:BP	response to oxygen-containing compound	GO:1901700
GO:BP	positive regulation of protein metabolic process	GO:0051247
GO:BP	regulation of protein phosphorylation	GO:0001932
GO:BP	cell junction organization	GO:0034330
GO:BP	regulation of cell population proliferation	GO:0042127
GO:BP	parturition	GO:0007567
GO:BP	enzyme linked receptor protein signaling pathway	GO:0007167
GO:BP	cellular response to growth factor stimulus	GO:0071363
GO:BP	muscle contraction	GO:0006936
GO:BP	learning or memory	GO:0007611
GO:BP	neuron death	GO:0070997
GO:BP	response to growth factor	GO:0070848
GO:BP	positive regulation of cellular protein metabolic process	GO:0032270
GO:BP	chemical homeostasis	GO:0048878
GO:BP	positive regulation of phosphatidylinositol 3-kinase signaling	GO:0014068
GO:BP	response to organic cyclic compound	GO:0014070
GO:BP	protein phosphorylation	GO:0006468
GO:BP	positive regulation of protein modification process	GO:0031401
GO:BP	regulation of neuron death	GO:1901214
GO:BP	peptidyl-tyrosine phosphorylation	GO:0018108
GO:BP	peptidyl-tyrosine modification	GO:0018212
GO:BP	cellular component morphogenesis	GO:0032989
GO:BP	positive regulation of gene expression	GO:0010628
GO:BP	positive regulation of cell junction assembly	GO:1901890
GO:BP	cell-cell signaling	GO:0007267
GO:BP	muscle system process	GO:0003012
GO:BP	positive regulation of protein kinase activity	GO:0045860
GO:BP	ovulation cycle	GO:0042698
GO:BP	positive regulation of kinase activity	GO:0033674
GO:BP	cognition	GO:0050890
GO:BP	axonogenesis	GO:0007409
GO:BP	regulation of transmembrane transport	GO:0034762
GO:BP	regulation of kinase activity	GO:0043549
GO:BP	regulation of nucleocytoplasmic transport	GO:0046822
GO:BP	neuron apoptotic process	GO:0051402
GO:BP	positive regulation of tau-protein kinase activity	GO:1902949
GO:BP	reproductive process	GO:0022414
GO:BP	positive regulation of synaptic transmission	GO:0050806
GO:CC	intrinsic component of plasma membrane	GO:0031226
GO:CC	anchoring junction	GO:0070161

GO:CC	supramolecular fiber	GO:0099512
GO:CC	supramolecular polymer	GO:0099081
GO:CC	integral component of plasma membrane	GO:0005887
GO:CC	supramolecular complex	GO:0099080
GO:CC	plasma membrane region	GO:0098590
GO:CC	basal part of cell	GO:0045178
GO:CC	membrane microdomain	GO:0098857
GO:CC	membrane raft	GO:0045121
GO:CC	basolateral plasma membrane	GO:0016323
GO:CC	polymeric cytoskeletal fiber	GO:0099513
GO:CC	voltage-gated potassium channel complex	GO:0008076
GO:CC	cell-cell junction	GO:0005911
GO:CC	potassium channel complex	GO:0034705
GO:CC	basal plasma membrane	GO:0009925

Tablo A.5 Aşağı düzenlenen diferansiyel eksprese edilen genlerin zenginleştiği biyolojik yolaklar

Aşağı düzenlenen diferansiyel eksprese edilen genlerin zenginleştiği biyolojik yolaklar

KEGG	Coronavirus disease - COVID-19	KEGG:05171
KEGG	Fc epsilon RI signaling pathway	KEGG:04664
KEGG	Neurotrophin signaling pathway	KEGG:04722
KEGG	Platelet activation	KEGG:04611
KEGG	ErbB signaling pathway	KEGG:04012
KEGG	PI3K-Akt signaling pathway	KEGG:04151
KEGG	Phospholipase D signaling pathway	KEGG:04072
KEGG	Choline metabolism in cancer	KEGG:05231
KEGG	Shigellosis	KEGG:05131
REAC	Signaling by Ligand-Responsive EGFR Variants in Cancer	REAC:R-HSA-5637815
REAC	Constitutive Signaling by Ligand-Responsive EGFR Cancer Variants	REAC:R-HSA-1236382
REAC	Signaling by EGFR in Cancer	REAC:R-HSA-1643713
REAC	Regulation of signaling by CBL	REAC:R-HSA-912631
REAC	Platelet activation, signaling and aggregation	REAC:R-HSA-76002
REAC	Signaling by EGFR	REAC:R-HSA-177929
REAC	Integrin signaling	REAC:R-HSA-354192
REAC	Signaling by Non-Receptor Tyrosine Kinases	REAC:R-HSA-9006927

REAC	Signaling by PTK6	REAC:R-HSA-8848021
REAC	Constitutive Signaling by EGFRvIII	REAC:R-HSA-5637810
REAC	Signaling by EGFRvIII in Cancer	REAC:R-HSA-5637812
REAC	NF-kB is activated and signals survival	REAC:R-HSA-209560
REAC	p75NTR recruits signalling complexes	REAC:R-HSA-209543
REAC	Signaling by FGFR3	REAC:R-HSA-5654741
REAC	p130Cas linkage to MAPK signaling for integrins	REAC:R-HSA-372708
REAC	Signaling by FGFR4	REAC:R-HSA-5654743
REAC	p75NTR signals via NF-kB	REAC:R-HSA-193639
REAC	NRIF signals cell death from the nucleus	REAC:R-HSA-205043
REAC	Platelet Aggregation (Plug Formation)	REAC:R-HSA-76009
REAC	Signaling by FGFR1	REAC:R-HSA-5654736
REAC	Signaling by ERBB2	REAC:R-HSA-1227986
REAC	Diseases of signal transduction by growth factor receptors and second messengers	REAC:R-HSA-5663202
REAC	Interleukin-3, Interleukin-5 and GM-CSF signaling	REAC:R-HSA-512988
REAC	FLT3 signaling by CBL mutants	REAC:R-HSA-9706377
REAC	Downstream signal transduction	REAC:R-HSA-186763
REAC	FLT3 signaling in disease	REAC:R-HSA-9682385
REAC	PTK6 Regulates RTKs and Their Effectors AKT1 and DOK1	REAC:R-HSA-8849469
REAC	HDL remodeling	REAC:R-HSA-8964058
REAC	EGFR downregulation	REAC:R-HSA-182971
REAC	Signaling by FGFR2	REAC:R-HSA-5654738
REAC	Pexophagy	REAC:R-HSA-9664873
REAC	Signaling by Interleukins	REAC:R-HSA-

		449147
REAC	FLT3 Signaling	REAC:R-HSA-9607240
REAC	Signaling by NTRK3 (TRKC)	REAC:R-HSA-9034015
REAC	Signaling by Receptor Tyrosine Kinases	REAC:R-HSA-9006934
REAC	Signaling by FGFR	REAC:R-HSA-190236
REAC	Spry regulation of FGF signaling	REAC:R-HSA-1295596
REAC	GRB2:SOS provides linkage to MAPK signaling for Integrins	REAC:R-HSA-354194
REAC	InlB-mediated entry of Listeria monocytogenes into host cell	REAC:R-HSA-8875360
REAC	Signaling by ERBB2 ECD mutants	REAC:R-HSA-9665348
REAC	Signaling by MET	REAC:R-HSA-6806834
REAC	Platelet degranulation	REAC:R-HSA-114608
REAC	Negative regulation of FLT3	REAC:R-HSA-9706369
REAC	Response to elevated platelet cytosolic Ca2+	REAC:R-HSA-76005
REAC	Signaling by NOTCH3	REAC:R-HSA-9012852
REAC	Regulation of TLR by endogenous ligand	REAC:R-HSA-5686938
REAC	Listeria monocytogenes entry into host cells	REAC:R-HSA-8876384
WP	Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) signaling pathway	WP:WP2380
WP	Kit receptor signaling pathway	WP:WP304
WP	COVID-19, thrombosis and anticoagulation	WP:WP4927
WP	VEGFA-VEGFR2 Signaling Pathway	WP:WP3888
WP	ErbB Signaling Pathway	WP:WP673
WP	Interferon type I signaling pathways	WP:WP585
WP	RANKL/RANK (Receptor activator of NFKB (ligand)) Signaling Pathway	WP:WP2018
WP	EGF/EGFR Signaling Pathway	WP:WP437
WP	Folate Metabolism	WP:WP176
WP	IL-2 Signaling Pathway	WP:WP49
WP	Signaling Pathways in Glioblastoma	WP:WP2261
WP	Selenium Micronutrient Network	WP:WP15
WP	T-Cell antigen Receptor (TCR) Signaling Pathway	WP:WP69
WP	B Cell Receptor Signaling Pathway	WP:WP23
WP	Blood Clotting Cascade	WP:WP272

Tablo A.6 Yukarı düzenlenen diferansiyel eksprese edilen genlerin zenginleştiği biyolojik yolaklar

Yukarı düzenlenen diferansiyel eksprese dilen genlerin zenginleştiği biyolojik yolaklar		
KEGG	Estrogen signaling pathway	KEGG:04915
REAC	Cell-Cell communication	REAC:R-HSA-1500931
REAC	Formation of the cornified envelope	REAC:R-HSA-6809371
REAC	Developmental Biology	REAC:R-HSA-1266738
REAC	Signaling by NTRKs	REAC:R-HSA-166520
REAC	Nephrin family interactions	REAC:R-HSA-373753
REAC	PI3K/AKT activation	REAC:R-HSA-198203
REAC	Signaling by NTRK1 (TRKA)	REAC:R-HSA-187037
REAC	Type I hemidesmosome assembly	REAC:R-HSA-446107
WP	Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) signaling pathway	WP:WP2380
WP	Gastrin Signaling Pathway	WP:WP4659
WP	Cancer immunotherapy by CTLA4 blockade	WP:WP4582
WP	Nuclear Receptors Meta-Pathway	WP:WP2882

TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR

Konferans Bildirileri

1. F. Arık, Z. Ömeroğlu Ulu, K. Hamzaoğlu, R. Madazlı, N. Özdemir Özgentürk, "Determination of The Gene Expression Profile In The Placenta And Related Tissues Of Patients With Preeclampsia By RNA Sequencing" II. INTERNATIONAL ANKARA MULTIDISCIPLINARY STUDIES CONGRESS-PROCEEDINGS BOOK, ss 283-303, 7-8 Haziran 2021, www.izdas.org/books.