

Travma Sonrası Stres Bozukluğu (TSSB) Tedavisine Yönelik Moleküler Hedefler ve Yeniden Konumlandırılan İlaçlar

Elif KUBAT ÖKTEM¹¹İstanbul Medeniyet Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul

e-posta: ekoktem@outlook.com

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0913-8527>

Geliş Tarihi: 09.09.2022

Kabul Tarihi: 07.03.2023

Öz

Travma sonrası stres bozukluğu (TSSB), fiziksel hasar veya kaygı gibi zihinsel şok içeren bir kazayı takiben görülen travmanın neden olduğu zihinsel bir hastalıktır. Toplumda yaygın olmasına rağmen, TSSB'nin prognozu ve optimal terapötikleri sınırlıdır. Erken müdahale için moleküler hedefler belirsiz kaldığından, daha iyi bir TSSB patogenezinin moleküler temellerinin anlaşılması hastalık prognozunun zorluklarını karşılamak ve bu moleküler hedeflere yönelik teşhis ve tedavi için gereklidir. Strese maruz bırakılan farelerin iki farklı dokusundan elde edilen mikrodizi verilerinin işlenmesi ve analiziyle yapılan bu çalışmada, her iki tip doku için de anlatımı farklılık gösteren genler tespit edilmiş, bu genlerin zenginleştiği yolizleri bulunmuş, bu genlerin protein-protein etkileşim ağları ve bu ağlardaki hub proteinler tespit edilmiştir. Bu hastalıkta anlatımı farklılık gösteren genlerin etkilerini tersini çevirmeye yönelik her iki farklı tip doku için de ayrı ayrı yapılan ilaç yeniden konumlandırma çalışmalarının karşılaştırılması sonucunda; vorinostat, homoharringtonin ve QL-XII-47 TSSB'yi iyileştirmek için yeni ilaç adayları olarak önerilmiştir. Bu ilaçlardan vorinostat'ın, hücrede *HDAC1*, *HDAC2*, *HDAC3*, *HDAC6*, *HDAC7* ve *HDAC8* genlerini hedef aldığı tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler

TSSB; Travma Sonrası Stres Bozukluğu; Biyoinformatik; İlaç Yeniden Konumlandırma; Sistem Biyolojisi

Molecular Targets and Repositioned Drugs For the Treatment of Post Traumatic Stress Disorder (PTSD)

Abstract

Post-traumatic stress disorder (PTSD) is a mental illness caused by trauma following an accident involving physical injury or by mental shock such as anxiety. Although it is common in the population, the prognosis and optimal therapies for PTSD are limited. Because the molecular targets for early intervention remain unclear, a better understanding of the molecular basis of the pathogenesis of PTSD is essential to address the challenges of disease prognosis and to diagnose and treat these molecular targets. In this study, performed by processing and analyzing microarray data from two different tissues of mice exposed to stress, genes with differential expression for the two tissue types were identified, the signaling pathways in which these genes are enriched were found, the protein-protein interaction networks of these genes and the hub proteins in these networks were determined. As a result of comparing the drug repositioning studies performed separately for the two different tissue types to reverse the effects of differentially expressed genes, vorinostat, homoharringtonine, and QL-XII-47 were proposed as novel drugs for the treatment of PTSD. Vorinostat, one of these drugs, was also found to target *HDAC1*, *HDAC2*, *HDAC3*, *HDAC6*, *HDAC7*, and *HDAC8* genes in the cell.

Keywords

Post-Traumatic Stress Disorder; Bioinformatics; Drug Repositioning; Systems Biology

© Afyon Kocatepe Üniversitesi

1. Giriş

Travma sonrası stres bozukluğu (TSSB), fiziksel hasar veya kaygı gibi zihinsel şok içeren bir kazayı takiben görülen travmanın neden olduğu zihinsel bir hastalıktır (Stein *et al.* 2014). Bu hastalık kadınlarda,

erkeklerden iki kat daha fazla sıklıkta görülmektedir (Prajwal *et al.* 2022). TSSB, klinik olarak belirgin çalışma veya diğer günlük işlevleri yerine getirmek için azalmış zihinsel yetenek ve kendini ifade edememe ile karakterize bir psikiyatrik bozukluk

olarak tanımlanır. TSSB canlı anılar, geri dönüşler ve kabuslar ile başlar ve bu anılar zamanla kaybolmaz, yıllarca devam edebilir ve hatta yoğunlaşabilir. Bu durumu korku ve güçlü fiziksel duyular izler. TSSB'si olan kişiler anıları bastırmaya veya anıları anımsatan etkinliklerden kaçınmaya çalışırlar. Aşırı çevre uyanıklığı veya beklenmeyen gürültüye duyulan korku ile yine karakterize olan bu hastalık, bireyin kişisel, ailevi, sosyal, eğitimsel, mesleki alanlarda, hayat kalitesini azaltır (Iribarren *et al.* 2005; Rosenfield *et al.* 2018). Stres kaynaklı uyumsuz tepkiler savaş, istismar, kaza, şiddet, doğal afet mağdurlarını etkilemektedir (Muhie *et al.* 2015; Smith *et al.* 2022). Çeşitli travma türleri ve maruz kalma sürelerinin (tek veya epizodik, akut veya kronik stresli olaylar) sadece insanda (O'Donnell *et al.* 2013; van Loey *et al.* 2012) değil; aynı zamanda stress uygulanarak TSSB benzeri fenotip oluşturulan hayvan modellerinde de (Daskalakis *et al.* 2014; Jovanovic *et al.* 2013) travma sonrası stres bozukluğunu (TSSB) tetiklediği gösterilmiştir.

Bu hastalığın prevalansına bakıldığında, Amerika Birleşik Devletleri'nde nüfusun yaklaşık %8'ine TSSB teşhisi konmaktadır (Lee *et al.* 2022). TSSB'nin yaşam boyu yaygınlığı dünya çapında yaklaşık %3,9'dur (Kessler *et al.* 2005). Savaş travmasını takiben yaşam boyu TSSB yaygınlık oranları özellikle yüksek olabilir. Örneğin, Amerika Birleşik Devletleri gazileri (Vietnam ve sonraki çatışmalar) arasında bu oran yaklaşık %10 ila %30 aralığında değişir (Kang *et al.* 2003).

TSSB'si olan bireyler artmış bazal kalp hızı ve kan basıncı, daha yüksek hipertansiyon ve felç riski, değişmiş trombosit aktivitesi, artmış kan kolesterolü ve trigliserit seviyeleri ile daha yüksek oranda kardiyovasküler hastalık riskine sahiptir (Cho *et al.* 2014; Kibler, 2009; Kubzansky and Koenen, 2009; Pedersen *et al.* 2003; von Känel *et al.* 2011). Yine kalp dokusuna paralel olarak, TSSB beyin yapısındaki korku tepki devresinde anormalliklerle ilişkili heterojen durumlara sebebiyet vermektedir. Beyin bölgelerindeki fonksiyonel değişiklikler, travmatik olayların algılanma ve yorumlanmasında anormalliklere yola açıp, anksiyete bozukluklarına sebep olmaktadır (Albrechet-Souza *et al.* 2013; Antoniadis ve McDonald, 2006; Ashwell ve Ito, 2014;

Belzung *et al.* 2014; Muhie *et al.* 2015). Literatürdeki bu sonuçlar, TSSB fare modelinde kısa süreli strese maruz kalmanın kalp ve beyin dokuları üzerindeki etkilerini incelemeye ilgiyi arttırmaktadır.

Stres kaynaklı TSSB karmaşık, yeterince anlaşılmamış bir sağlık problemidir ve kronik formunda TSSB, vücuttaki birçok sistemi etkileyerek eşlik eden fiziksel hastalıklara da sebebiyet veren psikiyatrik bir hastalıktır. Toplumda yaygın olmasına rağmen, TSSB'nin prognozu ve optimal terapötikleri sınırlıdır. Birincil zorluk, hastalığın erken evrelerinin saptanması, klinik seyirleri ve sonuçlarının tahminidir. Bilinen risk faktörleri olan genetik, epigenetik, endokrin ve demografik (cinsiyet, eğitim, gelir ve sosyal statü) faktörler ve erken travma öyküsü bile bu hastalığın şiddeti veya kronikliği hakkında yeterli bilgi vermemektedir (Xue *et al.* 2015). Ayrıca, yaygın olarak uygulanan ve hekim görüşüne dayalı teşhisler nesnellikten yoksundur (Muhie *et al.* 2017). Seçici serotonin geri alım inhibitörleri olan sertralin ve paroksetin, farklı uluslararası kuruluşlar tarafından bu hastalıkta kullanılmak üzere onaylanmıştır ve bu ilaçlar genellikle olumlu sonuçlar elde etmek için psikoterapi ile birleştirilir. Ancak bu farmakolojik stratejiler sınırlı etkinlik sunar ve TSSB hastalarının yaklaşık yarısında semptomları sona erdirmez (Gasparyan *et al.* 2022).

Anlatımı farklılık gösteren yolak ve genler, önceden var olan genetik ve epigenetik faktörlerle birlikte stress kaynaklı hastalıkların başlangıcına, gelişme ve devamlılığına katkıda bulunur. Bu çalışmadaki amaç, TSSB'ye erken müdahale için moleküler hedeflerin belirlenmesi ve bu hedeflere yönelik terapötiklerin tespitidir. Bu çalışma, TSSB fenotipindeki fare örneklerinde gen ekspresyon profillerini normal fenotipteki örnekleriyle karşılaştırmak için halka açık transkriptom verilerini ve onların biyoinformatik analizlerini içermektedir. Elde edilen bulgularla, ilaç yeniden konumlandırılma çalışması yapılmıştır ve TSSB tedavisi için uygulanabilecek yeni terapötikler önerilmiştir.

2. Materyal ve Metot

2.1. Mikrodizi Verisi

Çalışma için TSSB'yi simüle eden farelerin kalp ve beyin dokularından elde edilen mikrodizi verileri kullanılmıştır. Bu veri setleri, Gene Expression Omnibus veri tabanından (NCBI-GEO), çevrimiçi olarak elde edilmiştir (Barrett *et al.* 2005). TSSB'yi simüle eden farelerin kalp dokularındaki gen ifade profillerini temsil eden GSE52866 (Cho *et al.* 2014), kontrol farelerinden dört numune ve on gün boyunca strese maruz bırakılıp 24 saat dinlendirilen dört numunedan oluşmaktadır. Farelerin beyin dokusundaki gen ifade profilleri, beş kontrol numunesinden ve on gün boyunca strese maruz bırakılıp 24 saat dinlendirilen farelerden alınan beş numunedan oluşan GSE68076 veri setinden sağlanmıştır (Muhie *et al.* 2015). Bu iki veri seti, farklı gün ve dokulardan ek örnekler içerse de, iki veri seti arasında sağlıklı birebir karşılaştırma yapabilmek için, aynı sürede strese maruz bırakılıp, dinlendirilen fareler arasında, literatüre göre travma sonrası stresten en çok etkilenen iki doku olan beyin ve kalp dokularını içeren örnekler seçilmiştir.

2.2. Anlatımı Farklılık Gösteren Gen (DEG) Analizi

Mevcut çalışmada, anlatımı farklılık gösteren genleri (DEG'ler) tanımlamak için önceden geliştirilmiş bir istatistiksel analiz yaklaşımı (Öktem *et al.* 2019) kullanılmıştır. Agilent veri setlerinden gelen veriler, R Bioconductor platformu (sürüm Rx64 3.0.2) (Gentleman *et al.* 2004) içerisindeki GEOquery paketi (Sean and Meltzer, 2007) kullanılarak işlenmiştir ve normalizasyon yöntemi olarak nicel normalizasyon yapılmıştır. Yine aynı platform üzerindeki Mikroarray Veri Seti için Doğrusal Modeller (LIMMA) paketi (Smyth *et al.* 2005), normalleştirilmiş mRNA ekspresyon seviyelerini karşılaştırmak ve DEG'leri belirlemek için kullanılmıştır. LIMMA paketi, Mikrodiziler, protein dizileri, kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (qPCR) ve diğer platformları içeren deneylerden elde edilen verilerin analizi için kullanılır. Bu paket bir dizi istatistiksel prensibi, büyük ölçekli gen ifade çalışmaları için etkili olacak şekilde bütünleştirir. Bu paket her satırın bir geni veya mevcut çalışmayla ilgili başka bir genomik özelliği temsil ettiği ve her sütunun bir RNA örneğine karşılık geldiği bir ifade değerleri matrisi üzerinde, her bir veri satırına doğrusal bir model uydurarak çalışır (Ritchie *et*

al.2015). Yanlış keşif oranını kontrol etmek için Benjamini-Hochberg düzeltmesi kullanılmıştır. DEG'lerin istatistiksel önemine karar vermeye yönelik kat değişiklikleri için 1 kesme değeri ve ayarlanmış bir p değeri için 0,05 kesme değeri kullanıldı. Fare mikrodizilerinden fare genleri, biyolojik veritabanı ağı bioDBnet: dbOrtho (<https://biodbnet-abcc.ncifcrf.gov/db/db2db.php>) ile insan orthologlarına çevrilmiştir (Mudunuri *et al.* 2009). Fare genleri arasından, insan orthologları olanlar tespit edilip, sadece bu orthologlarla sonraki analizlere devam edilmiştir. Literatürde, insandan farklı organizmaların DEG'lerinin tespit edildiği, farklı organizmaların birbirleriyle karşılaştırıldığı, ve insana yönelik ilaç yeniden konumlandırmanın yapıldığı çalışmalar mevcuttur (Alam *et al.* 2020, Öktem *et al.* 2019, Kubat Oktem *et al.*, 2022, Tarifeño-Saldivia *et al.* 2017).

2.3. Fonksiyonel Zenginleştirme Analizi

DEG'lerle önemli ölçüde ilişkili fonksiyonel anotasyonları (biyolojik süreçler, moleküler fonksiyon ve hücrenel bileşenler) belirlemek için ConsensusPathDb (Kamburov *et al.* 2011) kullanılarak yoluzi ve gen ontolojisi (GO) zenginleştirme analizleri yapılmıştır. Anotasyon kaynakları olarak KEGG (Kanehisa *et al.* 2008), Gen Ontolojisi (GO) Biyolojik Süreçler (Ashburner *et al.* 2000; Carbon *et al.* 2021) ve Reactome (Fabregat *et al.* 2016) veri tabanları kullanılmıştır. Gen ontoloji zenginleştirme analizi, (GO) aşırı temsil analizleri kullanılarak yapılmıştır. Analizler için 4. ve 5. seviyelerdeki GO terimleri taranmıştır ve $p < 0.05$ kesme değeri ile zenginleştirilmiş GO terimleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

2.4. Anlatımı Farklılık Gösteren Genler (DEG) Etrafında Protein-Protein Etkileşimi (PPI) Ağ Analizi

DEG'ler, her farklı doku tipi için ayrı bir protein-protein etkileşim ağı (PPI) oluşturmak üzere kullanılmıştır. PPI verilerini almak için BioGrid veri tabanı (sürüm 4.4.210) (Oughtred *et al.* 2019) kullanılmıştır. Elde edilen ağlar Cytoscape (sürüm 3.9.0) kullanılarak görselleştirilmiştir (Shannon *et al.* 2003). Cytoscape programındaki "Cytohubba"

eklentisi, yerel (degree) ve global (betweenness) ölçümleri dahil olmak üzere ağın topolojik özelliklerini belirlemek için kullanılmıştır (Chin *et al.* 2014).

2.5. İlaç Yeniden Konumlandırma

İlaç yeniden konumlandırma analizi, L1000CDS2 veri bankası aracılığıyla ve her doku tipinin DEG'leri girdi olarak kullanılarak, her iki tip doku için de ayrı ayrı yapılmıştır (Duan *et al.* 2016). Benzerlik değerlerini ve istatistiksel anlamlılığı belirlemek için rastgele permütasyon testleri ve Kolmogorov-Smirnov istatistikleri kullanılmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı moleküller değerlendirilmiştir. İlaç bilgileri NCBI PubChem'den alınmıştır (Kim *et al.* 2019).

2.6. Yeniden Konumlandırılmış İlaçlar için Tahmini Hedef Genlerin Belirlenmesi

Yeniden konumlandırılan ilaçlar arasında literatürde tahmini hedef genleri var olanların tespiti için daha önce yayınlanmış bir çalışmaya benzer bir yaklaşım (Chen *et al.* 2019) uygulanmıştır. 430.000 bileşik ve 9.6 milyon protein içeren bir protein-bileşik etkileşim veritabanı olan Kimyasalların Etkileşimleri için Arama Aracı (STITCH, stitch.embl.de) ile yeniden konumlandırılan ilaçlar arasından, tahmini hedef

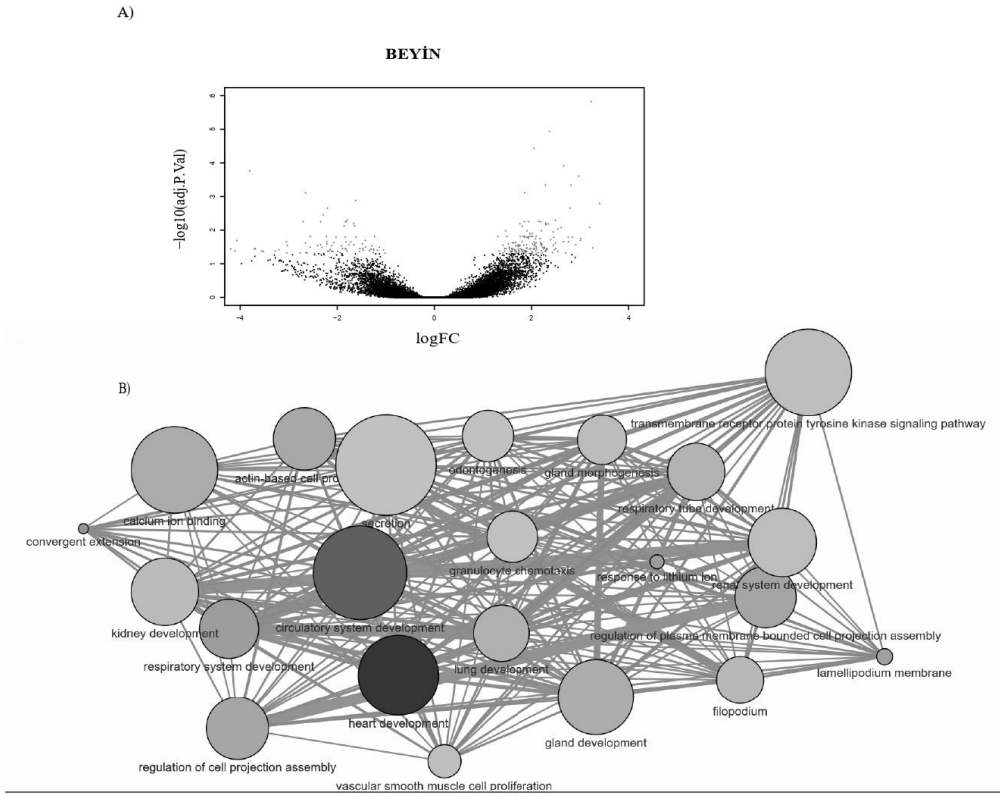
genleri var olanlar tespit edilmiştir (Szkłarczyk *et al.* 2016).

3. Bulgular ve Tartışma

3.1. TSSB'li Farelerin Farklı Dokularındaki DEG Profilleri:

TSSB'li farelerde gen ekspresyonu değişiklikleri kontrol örnekleriyle karşılaştırılarak analiz edilmiştir. Her veri seti için volkan grafikleri oluşturulmuştur (Şekil 1A ve 2A). DEG'ler <1 (aşağı düzenleme için) veya >1 (yukarı düzenleme için) kat değişimi ve ayarlanmış bir p değeri <0.05 kullanılarak belirlenmiştir.

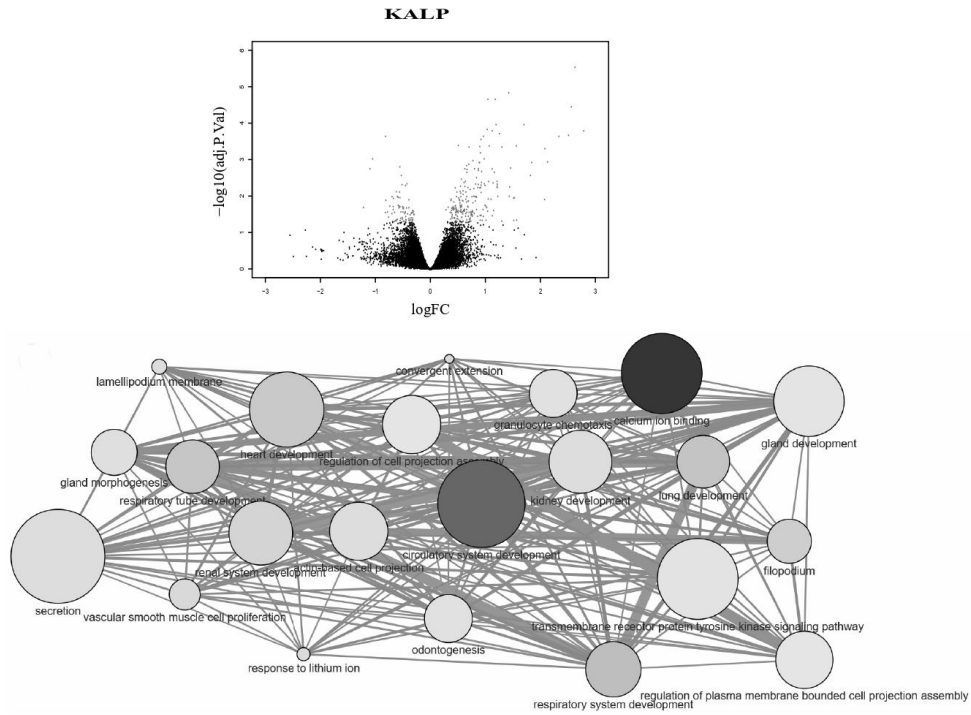
Beyin dokusu için 48'i aşağı, 76'sı yukarı doğru düzenlenen toplam 124 DEG; Kalp dokusu içinse 45'i aşağı, 137 yukarı regüle edilen olmak üzere toplam 182 DEG bulunmuştur (Ek Dosya Tablo 1 ve 2). Anlatımı farklılık gösteren bu DEG'lerin yolizi zenginleştirmelerinde, iki doku için ortak olarak "Reseptör Tirozin Kinazlarla Sinyal Verme" tespit edilmiştir (Ek Dosya Tablo 3 ve 5). Literatürde, yırtıcı ve agresif türdeşe maruz kalma gibi TSSB hayvan modellerinde, kaygı benzeri davranışlara ek olarak, beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF)-tirozin kinaz reseptörü B (TrkB) ve serotonerjik reseptörlerin değişiklikleri gözlemlenmiştir (Règue *et al.* 2019).



Şekil 1: Beyin dokusu için DEG ve gen ontolojisi zenginleştirme sonuçları A) TSSB Hastalığına özgü DEG profillerini temsil eden volkan grafikleri, B) Gen ontolojisi zenginleştirme sonuçları

Her iki dokunun gen ontoloji zenginleştirme analizleri (biyolojik süreçler, moleküler fonksiyon ve hüresel bileşenler) karşılaştırıldığında, ortak 22 adet bileşen tespit edilmiştir (Ek Dosya Tablo 4 ve 6, Şekil 1B ve 2B). Bu grafiklerde, gen ontolojisi kategorileri kavram örtüşme grafikleri olarak görselleştirilmiştir. Bu grafiklerde, her düğüm (node) boyutu (içerdiği gen sayısı) ve P değeri (düğüm rengi) olarak kodlanan ayrı bir kavramı temsil etmektedir. İki düğüm eğer üyelerini paylaşıyorlarsa bir ayırıt (edge) ile bağlanmaktadır. Ayırıt genişliği,

düğüm arasındaki göreceli örtüşmeyi (Fowlkes-Mallows indeksine karşılık) yansıtırken, ayırıt rengi (koyuluğu), kullanıcının veri bankasına girdiği genlerin sayısını ("paylaşılan genler") olarak belirtmektedir. Bu görsel, farklı kavram türleri arasındaki ilişkiler hakkında hızlı bir genel bakış sağlamaktadır. Bu bakış açısıyla, her iki dokunun zenginleştirme analizlerinin ortak olan kümesinde, kalsiyum iyonu bağlama ve dolaşım sistemi gelişimi ile ilgili genler p değeri küçüklüğü ve içerdiği gen sayısı bakımından önemli görünmektedir.



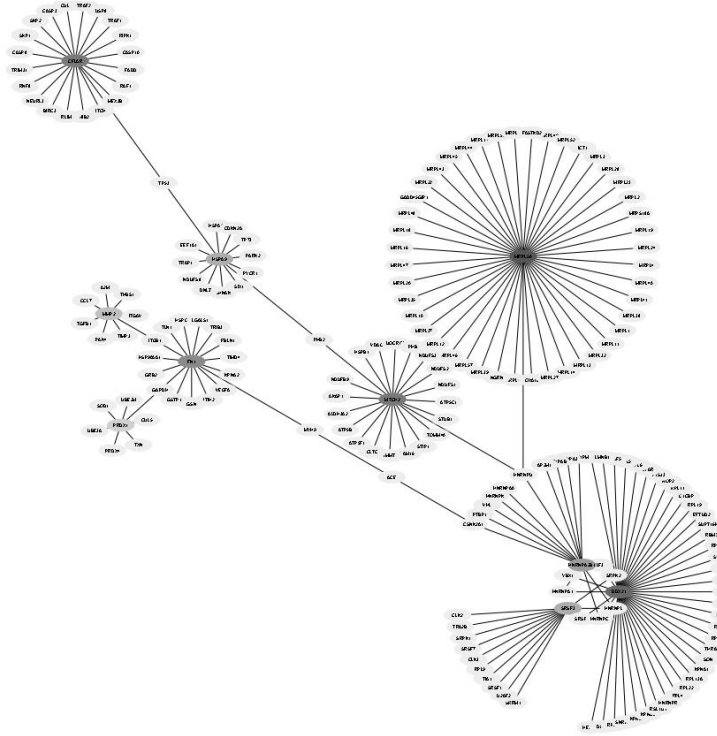
Şekil 2: Kalp dokusu için DEG ve gen ontolojisi zenginleştirme sonuçları A)TSSB Hastalığına özgü DEG profillerini temsil eden volkan grafikleri, B) Gen ontolojisi zenginleştirme sonuçları

3.2. Protein-Protein Etkileşim Ağlarının Analizi

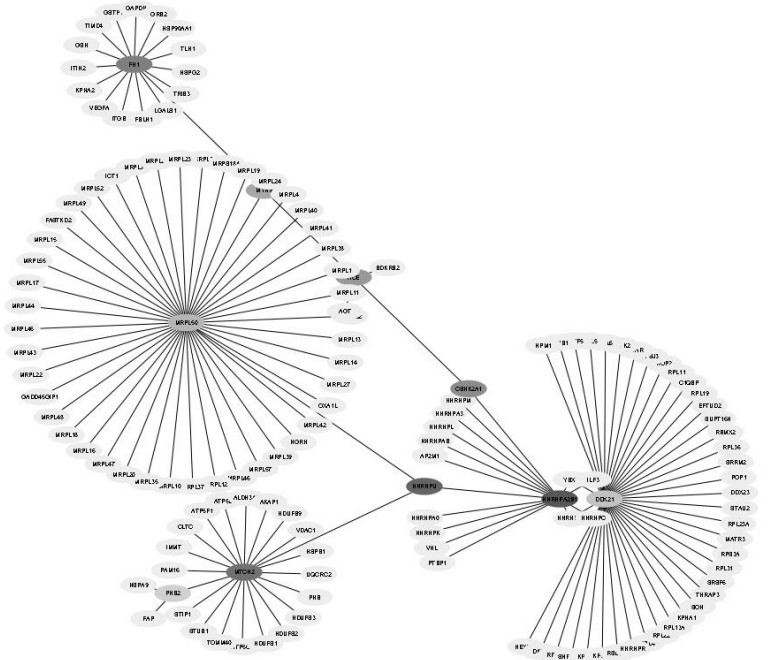
Çalışmada, iki farklı dokunun DEG'lerine dayalı protein-protein ağlarının yapısı analiz edilmiştir. Kalp dokusunun protein-protein ağı, 366 düğümden (node) ve 329 ayrıttan (edge) oluşurken, beyin dokusunun protein-protein ağı, 460 düğümden (node) ve 435 ayrıttan (edge) oluşmuştur. Beyin dokusu için degree ve betweenness

parametrelerine dayalı ortak hubları bulmaya yönelik yapılan Cytohubba analizi, ERBB3, NCOA6, BRAF, PCGF6 ve CDKN1B proteinlerini hub olarak ortaya çıkarırken, kalp dokusu için yapılan aynı analiz MRPL50, DDX21, MTCH2, FN1 ve HNRNPA2B1 proteinlerini hub olarak vermiştir (Şekil 3 ve Şekil 4). Her dokunun hub proteinleri, o dokunun DEG listesinin de ortak öğeleri olarak tespit edilmiştir.

A)

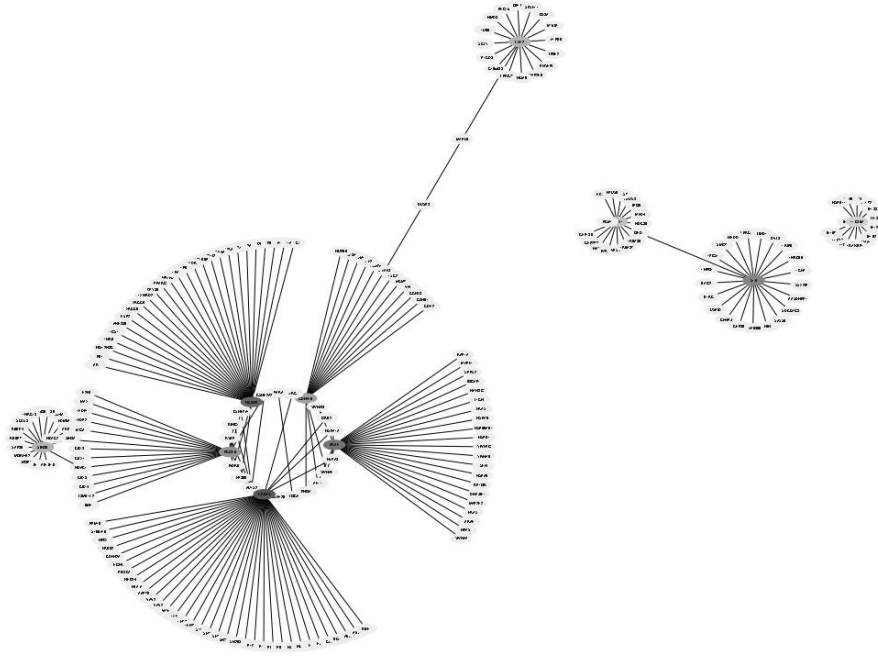


B)

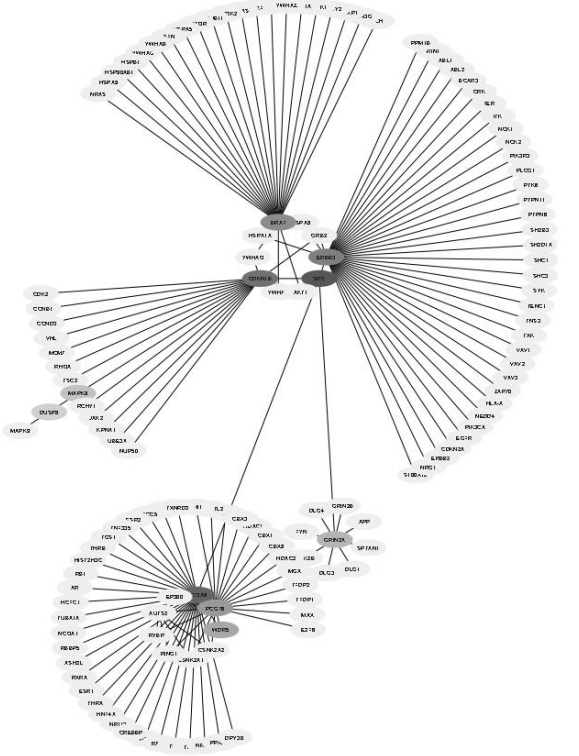


Şekil 3: Kalp dokusu için DEG tabanlı protein-protein etkileşim ağları. Her bir ağın hub'ları, A)degree B)betweenness metrikleri kullanılarak hesaplanmıştır. Hub'ların önemi renklerin daha koyulaşmasıyla doğru orantılıdır.

A)



B)



Şekil 4: Beyin dokusu için DEG tabanlı protein-protein etkileşim ağları. Her bir ağın hub'ları, A)degree B)betweenness metrikleri kullanılarak hesaplanmıştır. Hub'ların önemi renklerin daha koyulaşmasıyla doğru orantılıdır.

3.3. TSSB için Yeniden Konumlandırılmış İlaç Adayları

"ilaç yeniden konumlandırma" terimi, ABD Gıda ve ilaç idaresi tarafından halihazırda onaylanmış olan ilaçlar için yeni terapötik uygulamaların keşfini ifade etmektedir. İlaç yeniden konumlandırma, daha kısa

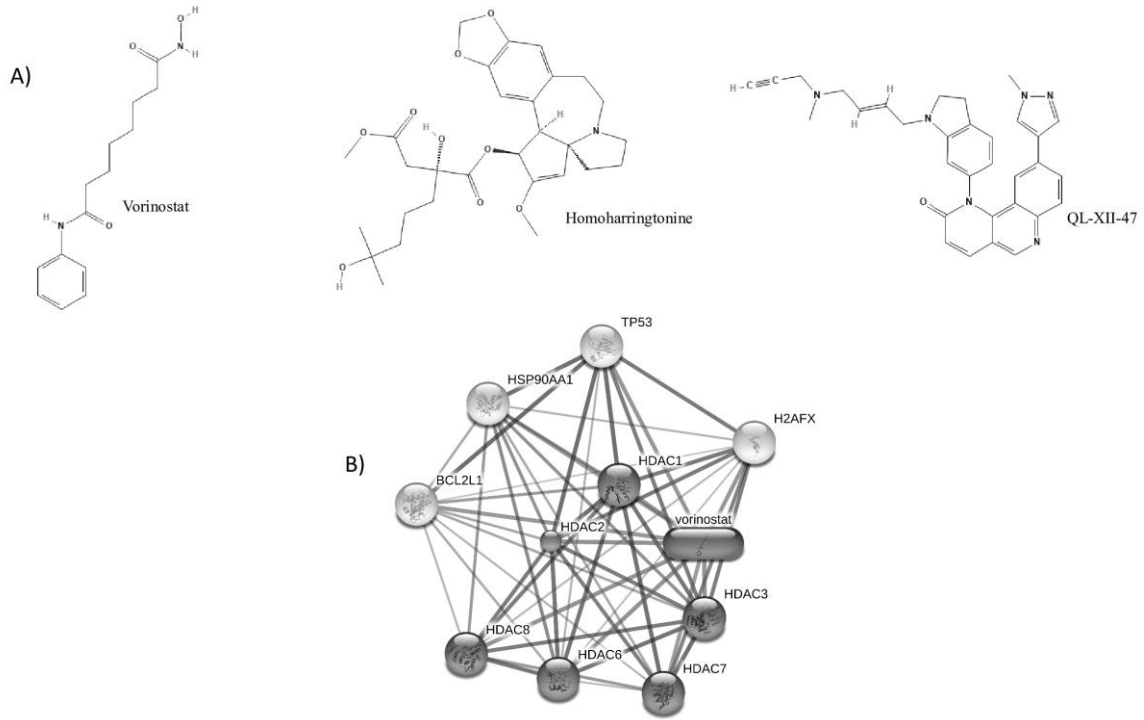
araştırma ve test süreleri ve daha düşük maliyetler nedeniyle yenilikçi ilaç geliştirmeden daha ulaşılabilir ve ekonomiktir. Ayrıca bu yöntem hastaların yeni ilaçlara daha erken ulaşmasına olanak tanımaktadır (Roder and Thomson, 2015). Bu sebeple, çalışmanın bir sonraki adımı olarak, TSSB

tedavisine yönelik ilaçların yeniden konumlandırma yöntemiyle tespiti hedeflenmiştir.

Bu çalışmada, TSSB hastalık senaryosunu tersine çevirebilecek küçük molekülleri araştırmaya yönelik olarak, çalışmanın önceki analizlerinde elde edilen DEG listeleri kullanılarak, her doku tipi için ayrı ayrı ilaç yeniden konumlandırması yapılmıştır. L1000CDS2 veri bankasına beyin dokusu için 48 aşağı regüle ve 76 yukarı regüle DEG uygulanarak, hastalık senaryosunu tersine çeviren, skorlarına göre sıralanmış 50 küçük molekül tespit edilmiştir (Ek Dosya Tablo 7). Aynı analiz kalp dokusunda 45 aşağı regüle ve 137 yukarı regüle DEG için de yapılmıştır. Kalp dokusu için de skorlarına göre sıralanmış 50 adet küçük molekül tespit edilmiştir (Ek Dosya Tablo 8). TSSB'yi iyileştirmeye yönelik her doku için yeniden konumlandırılan 50'şer ilaçtan 3'ünün, homoharringtonin (PubChem ID: 285033), vorinostat (PubChem ID: 5311), ve QL-XII-47 (PubChem ID: 118346216), iki farklı doku tipi için de ortak olduğu bulunmuştur. Bu ilaçlar Şekil 5A'da iki boyutlu yapıları ile gösterilmiştir.

FDA, iki veya daha fazla tirozin kinaz inhibitörüne (TKI) dirençli olan veya tirozin kinaz inhibitörlerini kullanamayan kronik miyeloid lösemili (KML)

kişilerin tedavisi için omacetaxine mepesuccinate olarak da bilinen homoharringtonin ilacını (HHT) onaylamıştır (Alvandi *et al.* 2014). Ayrıca bu ilacın üçlü negatif meme kanserinde kanser önleyici özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir (Yakhni *et al.* 2019). Kutanöz T hücreli lenfoma tedavisi için lisanslanan ilk histon deasetilaz inhibitörü (HDI), 2006 yılında sınıf I ve II histon deasetilazların bir inhibitörü olan vorinostat (SAHA)'tır. HDI'ler meme kanseri dahil olmak üzere birkaç kanser hücrelerinin büyümesini durduran potansiyel antikanser ilaçlarıdır (Wawruszak *et al.* 2021). Bir antikanser ilacı kullanımına ek olarak, vorinostat'ın sistemik olarak uygulanmasının, kontrollere kıyasla SPS (tek uzun süreli stres) sıçanlarında korku tükenmesini önemli ölçüde arttırdığı da gösterilmiştir (Matsumoto *et al.* 2013). Ayrıca farelerde bu ilaç H3 ve H4 asetilasyon seviyelerinde önemli artışlara sebep olarak antidepresan benzeri etkiler göstermektedir (KV *et al.* 2018). Literatürdeki bu çalışmalar, bu ilacın TSSB'yi tedavi etmek için yeniden konumlandırılabilir bir ilaç olabileceğini gösterir. QL-XII-47 ile ilgili çalışmalara literatürde rastlanmamıştır.



Şekil 5: ilaç yeniden konumlandırma çalışmaları A) yeniden konumlandırılan ilaçlar B) Vorinostat'ın tahmini hedef genleri TSSB için yeniden konumlandırılan ilaçlar olan homoharringtonin, vorinostat, ve QL-XII-47, bu

3.4. Yeniden Konumlandırılmış İlaçlar için Tahmini Hedef Genler

ilaçların tahmini hedef genlerinin tespiti için analiz edilmiştir. Bu analizlerle, STITCH veri bankası kullanılarak, yeniden konumlandırılan ilaçların potansiyel mekanizmalarının taranması hedeflenmiştir. Analizlerin sonucuna göre vorinostat ilacı için, 10 adet tahmini hedef gen belirlenmiştir. Bu tahmini hedef genler *H2AFX*, *HDAC7*, *HSP90AA1*, *HDAC6*, *HDAC2*, *HDAC3*, *TP53*, *BCL2L1*, *HDAC8* ve *HDAC1*'dir. Diğer 2 ilaç, insanda gen-ilaç etkileşimleri için STITCH veri tabanında bulunamamıştır. Vorinostat, tahmini hedef genleri ile Şekil 5B'de gösterilmiştir. Vorinostat'ın tahmini hedef genleri için zenginleştirilmiş gen ontoloji terimleri Tablo 1-3'te gösterilmiştir.

Gen ontolojisi (GO) zenginleştirme analizine göre, öngörülen hedef genlerin %60'ı (10 proteinden 6'sı) biyolojik süreç kategorisinde histon H3 deasetilasyonunda; hücresel bileşen kategorisinde histon deasetilaz (HDAC) kompleksinde; ve moleküler fonksiyon kategorisinde NAD'ye bağlı histon deasetilaz aktivitesinde (H3-K14'e özgü) zenginleşmişlerdir (Şekil 5B'deki koyu renkli hub proteinler).

Travmatik bir olay, fiziksel zarar içerebilen veya aşırı derecede tehlikeli olarak algılanabilen TSSB'ye neden olabilir. Aşırı travmatik stres, TSSB hastaları tarafından normal psikolojik savunma mekanizmalarının bunaldığı noktaya kadar kendini gösterir. Kendine zarar verme ve travmatik olayı tekrar tekrar yaşama gibi davranışlar, semptomlara sadece birkaç örnektir (Bahari-Javan S *et al.* 2014). Bu süreç esnasında hastalar korkulu hatıralarına sıklıkla maruz kaldıklarında, aynı zamanda kendilerini korunmuş hissettiklerinde, korku hafızasıyla bağlantılı kaygıda azalma gözlemlenebilir (Adshead, 2000; Bisson *et al.* 2013). "Korku tükenmesi" olarak bilinen bu azalma sürecinde literatürde önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. HDAC inhibitörleri olan valproat, sodyum bütirat ve trikostatın TSSB model deney hayvanlarında korkunun yok tükenmesini kolaylaştırır (Bahari-Javan S *et al.* 2014). Dolayısıyla, HDAC inhibitör tedavisinin korkunun yok olmasını desteklediğine ve TSSB'yi tedavi etmek için yeni bir terapötik yaklaşım sunabileceğine dair güçlü kanıtlar vardır (Maddox *et al.* 2013). Bununla birlikte, HDAC'lerin korku tükenmesini nasıl organize ettiği hala belirsizdir.

Bunun ortaya çıkarılması için, HDAC'lerin hedeflediği genlere ve yolizlerine yönelik ayrıntılı *in vitro* çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Diğer ilaçlar için öngörülen hedef genler veritabanında bulunamamasına rağmen, vorinostat sonuçları, bu üç ilacın TSSB'deki etkisini ve hedef genlerini/yolizlerini araştırmaya yönelik *in vitro* ve *in vivo* analizler yapmak için cesaret vericidir.

Deneysel doğrulama eksikliği nedeniyle, bu araştırmada kullanılan ilaç yeniden konumlandırma yaklaşımı, ilaç yeniden konumlandırma kanıt düzeyi (DREL) sınıflandırmasında seviye 0 olarak yer almaktadır (Vogrinc and Kunej, 2017). Bu beş seviyeli sınıflandırmaya göre, Seviye 0, *in vitro* veya *in vivo* değerlendirmeler olmaksızın tahminlere atıfta bulunurken, Seviye 4, yeniden konumlandırılan molekül için güvenlik sınırları içindeki dozlarda iyi belgelenmiş klinik sonuçlara atıfta bulunmaktadır. Öte yandan, DREL-0 puanlı çalışmalar, ilaçların yeniden konumlandırılması için benzersiz biyoinformatik yöntemlerin kullanılmasının yanı sıra ek deneysel doğrulama için yeni bileşikler sağladıkları için göz ardı edilmemelidir. Ayrıca, literatürde çeşitli hastalıkları tahmin etmek için DREL-0 kullanan çalışmalar bulunmaktadır (Craddock *et al.* 2015; Grover *et al.* 2015; Xu and Wang, 2016; Zhang *et al.* 2015) Ek olarak, meme ve prostat kanserinde, benzer bir yaklaşım kullanılarak, yeni üretilen ilaçların etkinliğini *in vitro* hücre tahlili ile doğrulayan çalışmalar mevcuttur (Turanli, Karagoz, *et al.* 2019; Turanli, Zhang, *et al.* 2019).

4. Sonuç

Bu çalışmada yapılan TSSB hastalığının dokulardaki etkisinin sistem biyolojisi odaklı transkriptom ve biyolojik ağların bütünleştirici analizleri, hastalık temelli gen ve yol izlerini ortaya çıkarmış; TSSB için yenilikçi ve kesin tedavi yöntemlerinin inşasına yönelik potansiyel ilaç adaylarının bulunmasına ve bu ilaçların hücre içi potansiyel hedef genlerinin belirlenmesine yardımcı olmuştur. Yeniden konumlandırılan bileşiklerin TSSB üzerindeki iyileştirici etkilerini doğrulamak için ek *in vitro* ve *in vivo* deneylerin yapılması şartıyla, bu araştırma, TSSB ile bağlantılı yeni terapötiklerin keşfi yoluyla

mevcut tedavilerin etkinliğini artırma potansiyeline sahiptir.

Çizelge 1. Vorinostat'ın tahmini hedef genleri için zenginleştirilmiş biyolojik süreç gen ontolojisi (gen setindeki sayı > 5)

#pat hway ID	pathway description	matching proteins in the network (labels)
GO.0 0439 33	macromolecular complex subunit organization	H2AFX,HDAC1,HDAC2,HDA C3,HDAC6,HDAC7,HDAC8,H SP90AA1,TP53
GO.0 0068 07	nitrogen compound metabolic process	H2AFX,HDAC1,HDAC2,HDA C3,HDAC6,HDAC7,HDAC8,H SP90AA1,TP53
GO.0 0313 23	regulation of cellular metabolic process	BCL2L1,H2AFX,HDAC1,HDA C2,HDAC6,HDAC7,HDAC8,H SP90AA1,TP53
GO.0 0063 25	chromatin organization	H2AFX,HDAC1,HDAC2,HDA C3,HDAC6,HDAC7,HDAC8,T P53
GO.0 0512 76	chromosome organization	H2AFX,HDAC1,HDAC2,HDA C3,HDAC6,HDAC7,HDAC8,T P53
GO.0 0069 96	organelle organization	H2AFX,HDAC1,HDAC2,HDA C3,HDAC6,HDAC7,HDAC8,H SP90AA1
GO.0 0485 83	regulation of response to stimulus	BCL2L1,H2AFX,HDAC1,HDA C2,HDAC3,HDAC6,HDAC7,H SP90AA1
GO.0 0511 71	regulation of nitrogen compound metabolic process	H2AFX,HDAC1,HDAC2,HDA C6,HDAC7,HDAC8,HSP90AA 1,TP53
GO.0 0903 04	nucleic acid metabolic process	H2AFX,HDAC1,HDAC2,HDA C3,HDAC6,HDAC7,HDAC8,T P53
GO.0 0447 10	single-organism metabolic process	H2AFX,HDAC1,HDAC2,HDA C3,HDAC6,HDAC7,HDAC8,H SP90AA1
GO.0 0485 22	positive regulation of cellular process	H2AFX,HDAC1,HDAC2,HDA C3,HDAC6,HDAC7,HSP90AA 1,TP53
GO.0 0071 54	cell communication	BCL2L1,HDAC1,HDAC2,HDA C3,HDAC6,HDAC7,HSP90AA 1,TP53
GO.0 0070 49	cell cycle	BCL2L1,H2AFX,HDAC1,HDA C3,HDAC8,HSP90AA1,TP53
GO.0 0335 54	cellular response to stress	BCL2L1,H2AFX,HDAC2,HDA C3,HDAC6,HSP90AA1,TP53
GO.0 0485 84	positive regulation of response to stimulus	BCL2L1,H2AFX,HDAC2,HDA C3,HDAC6,HSP90AA1,TP53
GO.1 9025 89	single-organism organelle organization	HDAC1,HDAC2,HDAC3,HDA C6,HDAC7,HDAC8,HSP90AA 1
GO.0 0063 51	transcription, DNA-templated	HDAC1,HDAC2,HDAC3,HDA C6,HDAC7,HDAC8,TP53
GO.0 0313 25	positive regulation of cellular metabolic process	H2AFX,HDAC1,HDAC2,HDA C3,HDAC6,HSP90AA1,TP53
GO.0 0487 31	system development	BCL2L1,H2AFX,HDAC1,HDA C2,HDAC7,HSP90AA1,TP53
GO.0 0709 32	histone H3 deacetylation	HDAC1,HDAC2,HDAC3,HDA C6,HDAC7,HDAC8

GO.0 0801 35	regulation of cellular response to stress	BCL2L1,H2AFX,HDAC3,HDA C6,HSP90AA1,TP53
GO.0 0001 22	negative regulation of transcription from RNA polymerase II promoter	HDAC1,HDAC2,HDAC3,HDA C7,HDAC8,TP53
GO.0 0224 02	cell cycle process	BCL2L1,H2AFX,HDAC3,HDA C8,HSP90AA1,TP53
GO.0 0458 92	negative regulation of transcription, DNA-templated	HDAC1,HDAC2,HDAC6,HDA C7,HDAC8,TP53
GO.0 0430 67	regulation of programmed cell death	BCL2L1,HDAC1,HDAC2,HDA C3,HDAC6,TP53
GO.0 0098 91	positive regulation of biosynthetic process	HDAC1,HDAC2,HDAC3,HDA C6,HSP90AA1,TP53
GO.0 0511 73	positive regulation of nitrogen compound metabolic process	H2AFX,HDAC1,HDAC2,HDA C3,HSP90AA1,TP53
GO.0 0226 07	cellular component assembly	H2AFX,HDAC3,HDAC6,HDA C7,HSP90AA1,TP53
GO.0 0440 85	cellular component biogenesis	H2AFX,HDAC3,HDAC6,HDA C7,HSP90AA1,TP53
GO.0 0071 66	cell surface receptor signaling pathway	BCL2L1,HDAC1,HDAC2,HDA C3,HDAC7,HSP90AA1
GO.0 0096 53	anatomical structure morphogenesis	BCL2L1,HDAC1,HDAC2,HDA C7,HSP90AA1,TP53
GO.0 0313 24	negative regulation of cellular metabolic process	BCL2L1,HDAC1,HDAC2,HDA C6,HDAC7,HDAC8
GO.0 0328 79	regulation of localization	BCL2L1,HDAC3,HDAC6,HDA C7,HDAC8,TP53
GO.0 0099 66	regulation of signal transduction	BCL2L1,HDAC1,HDAC2,HDA C3,HDAC6,HDAC7

Çizelge 2. Vorinostat'ın tahmini hedef genleri için zenginleştirilmiş moleküler fonksiyon gen ontolojisi (gen setindeki sayı > 5)

#pat hway ID	pathway description	matching proteins in your network (labels)
GO.0 0055 15	protein binding	BCL2L1,H2AFX,HDAC1,HDAC2,H DAC3,HDAC6,HDAC7,HDAC8,HS P90AA1,TP53
GO.0 0198 99	enzyme binding	BCL2L1,H2AFX,HDAC1,HDAC2,H DAC3,HDAC6,HDAC7,HSP90AA 1,TP53
GO.0 0167 87	hydrolase activity	HDAC1,HDAC2,HDAC3,HDAC6,H DAC7,HDAC8,HSP90AA1
GO.0 0320 41	NAD-dependent histone deacetylase activity (H3-K14 specific)	HDAC1,HDAC2,HDAC3,HDAC6,H DAC7,HDAC8
GO.0 0081 34	transcription factor binding	HDAC1,HDAC2,HDAC3,HDAC7,H DAC8,TP53

Çizelge 3. Vorinostat'ın tahmini hedef genleri için zenginleştirilmiş hücresel bileşen gen ontolojisi (gen setindeki sayı > 5)

#pat hway ID	pathway description	matching proteins in your network (labels)
GO.0 0432 34	protein complex	BCL2L1,H2AFX,HDAC1,HDAC2,HDAC3,HDAC6,HDAC7,HDAC8,TP53
GO.0 0056 54	nucleoplasm	H2AFX,HDAC1,HDAC2,HDAC3,HDAC6,HDAC8,HSP90AA1,TP53
GO.0 0319 81	nuclear lumen	BCL2L1,HDAC1,HDAC2,HDAC3,HDAC6,HDAC8,HSP90AA1,TP53
GO.0 0444 51	nucleoplasm part	HDAC1,HDAC2,HDAC3,HDAC6,HDAC7,HDAC8,TP53
GO.0 0058 29	cytosol	BCL2L1,HDAC1,HDAC3,HDAC6,HDAC8,HSP90AA1,TP53
GO.0 0432 32	intracellular non-membrane-bounded organelle	BCL2L1,HDAC1,HDAC2,HDAC3,HDAC6,HDAC8,TP53
GO.0 0001 18	histone deacetylase complex	HDAC1,HDAC2,HDAC3,HDAC6,HDAC7,HDAC8

5. Kaynaklar

Adshead, G. (2000). Psychological therapies for post-traumatic stress disorder. *The British Journal of Psychiatry*, **177**, 144–148.

Alam, T., Agrawal, S., Severin, J., Young, R. S., Andersson, R., Arner, E., Hasegawa, A., Lizio, M., Ramilowski, J. A., Abugessaisa, I., Ishizu, Y., Noma, S., Tarui, H., Taylor, M. S., Lassmann, T., Itoh, M., Kasukawa, T., Kawaji, H., Marchionni, L., ... de Hoon, M. J. L. (2020). Comparative transcriptomics of primary cells in vertebrates. *Genome Research*, **30(7)**, 951–961.

Albrechet-Souza, L., Carvalho, M. C., and Brandão, M. L. (2013). D1-like receptors in the nucleus accumbens shell regulate the expression of contextual fear conditioning and activity of the anterior cingulate cortex in rats. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, **16(5)**, 1045–1057.

Alvandi, F., Kwitkowski, V. E., Ko, C. W., Rothmann, M. D., Ricci, S., Saber, H., Ghosh, D., Brown, J., Pfeiler, E., Chikhale, E., Grillo, J., Bullock, J., Kane, R., Kaminska, E., Farrell, A. T., and Pazdur, R. (2014). U.S. food and drug administration approval summary: omacetaxine mepesuccinate as treatment for chronic myeloid leukemia. *Oncologist*, **19**, 94–99.

Antoniadis, E. A., and McDonald, R. J. (2006). Fornix, medial prefrontal cortex, nucleus accumbens, and mediodorsal thalamic nucleus: Roles in a fear-based context discrimination task. *Neurobiology of Learning and Memory*, **85(1)**, 71–85.

Ashburner, M., Ball, C. A., Blake, J. A., Botstein, D., Butler, H., Cherry, J. M., Davis, A. P., Dolinski, K., Dwight, S. S., Eppig, J. T., Harris, M. A., Hill, D. P., Issel-Tarver, L., Kasarskis, A., Lewis, S., Matese, J. C., Richardson, J. E., Ringwald, M., Rubin, G. M., and Sherlock, G. (2000). Gene ontology: Tool for the unification of biology. *In Nature Genetics*, **25(1)**, 25–29.

Ashwell, R., and Ito, R. (2014). Excitotoxic lesions of the infralimbic, but not prelimbic cortex facilitate reversal of appetitive discriminative context conditioning: The role of the infralimbic cortex in context generalization. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, **8(FEB)**.

Bahari-Javan, S., Sananbenesi, F., and Fischer, A. (2014). Histone-acetylation: a link between Alzheimer's disease and post-traumatic stress disorder?. *Frontiers in neuroscience*, **8**, 160.

Barrett, T., Suzek, T. O., Troup, D. B., Wilhite, S. E., Ngau, W.-C., Ledoux, P., Rudnev, D., Lash, A. E., Fujibuchi, W., and Edgar, R. (2005). NCBI GEO: mining millions of expression profiles—database and tools. *Nucleic Acids Research*, **33(suppl_1)**, D562–D566.

Belzung, C., Turiault, M., and Griebel, G. (2014). Optogenetics to study the circuits of fear- and depression-like behaviors: a critical analysis. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, **122**, 144–157.

Bisson, J. I., Roberts, N. P., Andrew, M., Cooper, R., and Lewis, C. (2013). Psychological therapies for chronic post-traumatic stress disorder (PTSD) in adults. *The Cochrane database of systematic reviews*, **2013(12)**, CD003388.

Carbon, S., Douglass, E., Good, B. M., Unni, D. R., Harris, N. L., Mungall, C. J., Basu, S., Chisholm, R. L., Dodson, R. J., Hartline, E., Fey, P., Thomas, P. D., Albou, L. P., Ebert, D., Kesling, M. J., Mi, H., Muruganujan, A., Huang, X., Mushayahama, T., ... Elser, J. (2021). The Gene Ontology resource: Enriching a GOld mine. *Nucleic Acids Research*, **49(D1)**, D325–D334.

Chen, Y. T., Xie, J. Y., Sun, Q., and Mo, W. J. (2019). Novel drug candidates for treating esophageal carcinoma: A study on differentially expressed genes, using

- connectivity mapping and molecular docking. *International Journal of Oncology*, **54(1)**, 152–166.
- Chin, C.-H., Chen, S.-H., Wu, H.-H., Ho, C.-W., Ko, M.-T., and Lin, C.-Y. (2014). cytoHubba: identifying hub objects and sub-networks from complex interactome. *BMC Systems Biology*, **8 Suppl 4(Suppl 4)**, S11.
- Cho, J. H. , Lee, I. , Hammamieh, R. , Wang, K. , Baxter, D. , Scherler, K. , Etheridge, A. , Kulchenko, A. , Gautam, A. , Muhie, S. , Chakraborty, N. , Galas, D. J. , Jett, M. , and ood, L. (2014). Molecular evidence of stress-induced acute heart injury in a mouse model simulating posttraumatic stress disorder. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **111(8)**, 3188–3193.
- Craddock, T. J. A., Harvey, J. M., Nathanson, L., Barnes, Z. M., Klimas, N. G., Fletcher, M. A., and Broderick, G. (2015). Using gene expression signatures to identify novel treatment strategies in gulf war illness. *BMC Medical Genomics*, **8(1)**, 36.
- Daskalakis, N. P., Cohen, H., Cai, G., Buxbaum, J. D., and Yehuda, R. (2014). Expression profiling associates blood and brain glucocorticoid receptor signaling with trauma-related individual differences in both sexes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **111(37)**, 13529–13534.
- Fabregat, A., Sidiropoulos, K., Garapati, P., Gillespie, M., Hausmann, K., Haw, R., Jassal, B., Jupe, S., Korninger, F., McKay, S., Matthews, L., May, B., Milacic, M., Rothfels, K., Shamovsky, V., Webber, M., Weiser, J., Williams, M., Wu, G., ... D'Eustachio, P. (2016). The Reactome pathway Knowledgebase. *Nucleic Acids Research*, **44(D1)**, D481-7.
- Gasparyan, A., Navarro, D., Navarrete, F., and Manzanares, J. (2022). Pharmacological strategies for post-traumatic stress disorder (PTSD): From animal to clinical studies. *Neuropharmacology*, **218**, 109211.
- Gentleman, R. C., Carey, V. J., Bates, D. M., Bolstad, B., Dettling, M., Dudoit, S., Ellis, B., Gautier, L., Ge, Y., & Gentry, J. (2004). Bioconductor: open software development for computational biology and bioinformatics. *Genome Biology*, **5(10)**, 1–16.
- Grover, M. P., Ballouz, S., Mohanasundaram, K. A., George, R. A., Goscinski, A., Crowley, T. M., Sherman, C. D. H., and Wouters, M. A. (2015). Novel therapeutics for coronary artery disease from genome-wide association study data. *BMC Medical Genomics*, **8(2)**, S1.
- Iribarren, J., Prolo, P., Neagos, N., and Chiappelli, F. (2005). Post-Traumatic Stress Disorder: Evidence-Based Research for the Third Millennium. *ECAM*, **2(4)**, 503–512.
- Jovanovic, T., Sakoman, A. J., Kozarić-Kovačić, D., Meštrović, A. H., Duncan, E. J., Davis, M., and Norrholm, S. D. (2013). Acute stress disorder versus chronic posttraumatic stress disorder: inhibition of fear as a function of time since trauma. *Depression and anxiety*, **30(3)**, 217–224.
- Kamburov, A., Pentchev, K., Galicka, H., Wierling, C., Lehrach, H., and Herwig, R. (2011). ConsensusPathDB: Toward a more complete picture of cell biology. *Nucleic Acids Research*, **39(SUPPL. 1)**, D712-7.
- Kanehisa, M., Araki, M., Goto, S., Hattori, M., Hirakawa, M., Itoh, M., Katayama, T., Kawashima, S., Okuda, S., Tokimatsu, T., and Yamanishi, Y. (2008). KEGG for linking genomes to life and the environment. *Nucleic Acids Research*, **36 (Database issue)**, D480-4.
- Kang, H. K., Natelson, B. H., Mahan, C. M., Lee, K. Y., and Murphy, F. M. (2003). Post-Traumatic Stress Disorder and Chronic Fatigue Syndrome-like Illness among Gulf War Veterans: A Population-based Survey of 30,000 Veterans. *American Journal of Epidemiology*, **157(2)**, 141–148.
- Kessler R.C., Berglund P., Demler O., Jin R., Merikangas K.R., Walters E.E. (2005). Lifetime Prevalence and Age-of-Onset Distributions of DSM-IV Disorders in the National Comorbidity Survey Replication. *Arch Gen Psychiatry*, **62(6)**, 593–602.
- Kibler, J. L. (2009). Posttraumatic stress and cardiovascular disease risk. *Journal of Trauma and Dissociation*, **10(2)**, 135–150.
- Kim, S., Chen, J., Cheng, T., Gindulyte, A., He, J., He, S., Li, Q., Shoemaker, B. A., Thiessen, P. A., Yu, B., Zaslavsky, L., Zhang, J., and Bolton, E. E. (2019). PubChem 2019 update: Improved access to chemical data. *Nucleic Acids Research*, **47(D1)**, D1102–D1109.
- Kubat Oktem, E., Aydin, B., Yazar, M., Arga, K.Y. (2022). Integrative Analysis of Motor Neuron and Microglial Transcriptomes from SOD1G93A Mice Models Uncover Potential Drug Treatments for ALS. *Journal of Molecular Neuroscience*, **72(11)**, 2360-2376.
- Kubzansky, L. D., and Koenen, K. C. (2009). Is posttraumatic stress disorder related to development of heart disease? An update. *Cleveland Clinic Journal of Medicine*, **76(SUPPL.2)**, S60-5.

- KV, A., Madhana, R. M., JS, I. C., Lahkar, M., Sinha, S., and Naidu, V. G. M. (2018). Antidepressant activity of vorinostat is associated with amelioration of oxidative stress and inflammation in a corticosterone-induced chronic stress model in mice. *Behavioural Brain Research*, **344**, 73–84.
- Lee, D.H. , Lee, J.Y. , Hong, D.Y. , Lee, E.C. , Park, S.W. , and Lee, M.R., Oh, J.S. (2022). Neuroinflammation in Post-Traumatic Stress Disorder. *Biomedicines*, **10**, 953.
- Maddox, S. A., Schafe, G. E., and Ressler, K. J. (2013). Exploring epigenetic regulation of fear memory and biomarkers associated with post-traumatic stress disorder. *Frontiers in Psychiatry*, **4(JUL)**, 1-62.
- Matsumoto, Y., Morinobu, S., Yamamoto, S., Matsumoto, T., Takei, S., Fujita, Y., and Yamawaki, S. (2013). Vorinostat ameliorates impaired fear extinction possibly via the hippocampal NMDA-CaMKII pathway in an animal model of posttraumatic stress disorder. *Psychopharmacology*, **229(1)**, 51–62.
- Mudunuri, U., Che, A., Yi, M., and Stephens, R. M. (2009). bioDBnet: The biological database network. *Bioinformatics*, **25(4)**, 555–556.
- Muhie, S., Gautam, A., Chakraborty, N., Hoke, A., Meyerhoff, J., Hammamieh, R., and Jett, M. (2017). Molecular indicators of stress-induced neuroinflammation in a mouse model simulating features of post-traumatic stress disorder. *Translational Psychiatry*, **7(5)**, e1135.
- Muhie, S., Gautam, A., Meyerhoff, J., Chakraborty, N., Hammamieh, R., and Jett, M. (2015). Brain transcriptome profiles in mouse model simulating features of post-traumatic stress disorder. *Molecular Brain*, **8(1)**.
- O'Donnell, M. L., Varker, T., Creamer, M., Fletcher, S., McFarlane, A. C., Silove, D., Bryant, R. A., and Forbes, D. (2013). Exploration of Delayed-Onset Posttraumatic Stress Disorder After Severe Injury. *Psychosomatic Medicine*, **75(1)**, 68–75.
- Öktem, E. K., Yazar, M., Gulfidan, G., and Arga, K. Y. (2019). Cancer Drug Repositioning by Comparison of Gene Expression in Humans and Axolotl (*Ambystoma mexicanum*) During Wound Healing. *OMICS A Journal of Integrative Biology*, **23(8)**, 389–405.
- Oughtred, R., Stark, C., Breitkreutz, B.-J., Rust, J., Boucher, L., Chang, C., Kolas, N., O'Donnell, L., Leung, G., and McAdam, R. (2019). The BioGRID interaction database: 2019 update. *Nucleic Acids Research*, **47(D1)**, D529–D541.
- Pedersen, S. S., Middel, B., and Larsen, M. L. (2003). Posttraumatic stress disorder in first-time myocardial infarction patients. *Heart and Lung: Journal of Acute and Critical Care*, **32(5)**, 300–307.
- Prajwal P, Inban P, Natarajan B, Mitra S, Tango T, Ahmed A, Bansode S, Almushawah AA. (2022). Current Treatments of Post-traumatic Stress Disorder and Amygdala Ablation as a Potential Cutting-Edge Therapy in Its Refractory Cases. *Cureus*, **14(11)**, e31943.
- Règue, M., Poilbout, C., Martin, V., Franc, B., Lanfumey, L., and Mongeau, R. (2019). Increased 5-HT_{2C} receptor editing predisposes to PTSD-like behaviors and alters BDNF and cytokines signaling. *Translational Psychiatry*, **9(100)**.
- Ritchie, M. E., Phipson, B., Wu, D., Hu, Y., Law, C. W., Shi, W., & Smyth, G. K. (2015). Limma powers differential expression analyses for RNA-sequencing and microarray studies. *Nucleic Acids Research*, **43(7)**, e47.
- Roder, C., and Thomson, M. J. (2015). Auranofin: Repurposing an Old Drug for a Golden New Age. *Drugs in R and D*, **15(1)**, 13–20.
- Rosenfield, P. J., Stratyner, A., Tufekcioglu, S., Karabell, S., McKelvey, J., and Litt, L. (2018). Complex PTSD in ICD-11: A Case Report on a New Diagnosis. *Journal of Psychiatric Practice*, **24(5)**, 364–370.
- Sean, D., and Meltzer, P. S. (2007). GEOquery: A bridge between the Gene Expression Omnibus (GEO) and BioConductor. *Bioinformatics*, **23(14)**, 1846–1847.
- Shannon, P., Markiel, A., Ozier, O., Baliga, N. S., Wang, J. T., Ramage, D., Amin, N., Schwikowski, B., and Ideker, T. (2003). Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome Research*, **13(11)**, 2498–2504.
- Smith EJT, Gasper WJ, Schneider PA, Finlayson E, Walter LC, Covinsky KE, Conte MS, Iannuzzi JC. (2022). Cognitive Impairment is Common in a Veterans Affairs Population with Peripheral Arterial Disease. *Ann Vasc Surg*, **S0890-5096(22)00892-5**.
- Smyth, G.K. (2005). limma: Linear Models for Microarray Data. In: Gentleman, R., Carey, V.J., Huber, W., Irizarry, R.A., Dudoit, S. (eds) *Bioinformatics and Computational Biology Solutions Using R and Bioconductor*. *Statistics for Biology and Health*. Springer, New York, NY.

- Stein, D. J., McLaughlin, K. A., Koenen, K. C., Atwoli, L., Friedman, M. J., Hill, E. D., Maercker, A., Petukhova, M., Shahly, V., van Ommeren, M., Alonso, J., Borges, G., de Girolamo, G., de Jonge, P., Demyttenaere, K., Florescu, S., Karam, E. G., Kawakami, N., Matschinger, H., Okoliyski, M., ... Kessler, R. C. (2014). DSM-5 and ICD-11 definitions of posttraumatic stress disorder: investigating "narrow" and "broad" approaches. *Depression and anxiety*, **31(6)**, 494–505.
- Szklarczyk, D., Santos, A., von Mering, C., Jensen, L. J., Bork, P., and Kuhn, M. (2016). STITCH 5: Augmenting protein-chemical interaction networks with tissue and affinity data. *Nucleic Acids Research*, **44(D1)**, D380–D384.
- Tarifeño-Saldivia, E., Lavergne, A., Bernard, A., Padamata, K., Bergemann, D., Voz, M. L., Manfroid, I., & Peers, B. (2017). Transcriptome analysis of pancreatic cells across distant species highlights novel important regulator genes. *BMC Biology*, **15(1)**, 21.
- Turanli, B., Karagoz, K., Bidkhorji, G., Sinha, R., Gatza, M. L., Uhlen, M., Mardinoglu, A., and Arga, K. Y. (2019). Multi-omic data interpretation to repurpose subtype specific drug candidates for breast cancer. *Frontiers in Genetics*, **10 (MAY)**, 420.
- Turanli, B., Zhang, C., Kim, W., Benfeitas, R., Uhlen, M., Arga, K. Y., and Mardinoglu, A. (2019). Discovery of therapeutic agents for prostate cancer using genome-scale metabolic modeling and drug repositioning. *EBioMedicine*, **42**, 386–396.
- van Loey, N. E., van de Schoot, R., and Faber, A. W. (2012). Posttraumatic Stress Symptoms after Exposure to Two Fire Disasters: Comparative Study. *PLoS ONE*, **6(7)**, e41532.
- Vogrinč, D., and Kunej, T. (2017). Drug repositioning: computational approaches and research examples classified according to the evidence level. *Discoveries*, **5(2)**, e75.
- von Känel, R., Hari, R., Schmid, J. P., Wiedemar, L., Guler, E., Barth, J., Saner, H., Schnyder, U., and Begré, S. (2011). Non-fatal cardiovascular outcome in patients with posttraumatic stress symptoms caused by myocardial infarction. *Journal of Cardiology*, **58(1)**, 61–68.
- Wawruszak, A., Borkiewicz, L., Okon, E., Kukula-Koch, W., Afshan, S., and Halasa, M. (2021). Vorinostat (SAHA) and breast cancer: An overview. *Cancers*, **13(18)**, 4700.
- Xu, R., and Wang, Q. Q. (2016). A genomics-based systems approach towards drug repositioning for rheumatoid arthritis. *BMC Genomics*, **17**, 518.
- Xue, C., Ge, Y., Tang, B., Liu, Y., Kang, P., Wang, M., and Zhang, L. (2015). A meta-analysis of risk factors for combat-related PTSD among military personnel and veterans. *PLoS ONE*, **10(3)**, e0120270.
- Yakhni, M., Briat, A., el Guerrab, A., Furtado, L., Kwiatkowski, F., Miot-Noirault, E., Cachin, F., Penault-Llorca, F., and Radosevic-Robin, N. (2019). Homoharringtonine, an approved anti-leukemia drug, suppresses triple negative breast cancer growth through a rapid reduction of anti-apoptotic protein abundance. *American Journal of Cancer Research*, **9(5)**, 1043–1060.
- Zhang, M., Luo, H., Xi, Z., and Rogaeva, E. (2015). Drug repositioning for diabetes based on "omics" data mining. *PLoS ONE*, **10(5)**, e0126082.