



# Toksikolojide Toksikogenomikler ve Yeni Gelişmeler

## Toxicogenomics and New Advances in Toxicology

 Fundanur YAZICI<sup>a</sup>,  
 Sevtap AYDIN<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Farmasötik Toksikoloji AD,  
Hacettepe Üniversitesi  
Eczacılık Fakültesi,  
Ankara, TÜRKİYE

Received: 25.07.2018  
Received in revised form: 15.11.2018  
Accepted: 19.11.2018  
Available online: 05.12.2018

Correspondence:  
Sevtap AYDIN  
Hacettepe Üniversitesi  
Eczacılık Fakültesi,  
Farmasötik Toksikoloji AD, Ankara,  
TÜRKİYE/TURKEY  
sevtapay@hacettepe.edu.tr

**ÖZET** Genom, bir organizmanın içerdiği genlerin bütünüdür. Bu genlerin birbirleri ve çevre ile etkileşimini inceleyen çalışmalar genomik olarak ifade edilmektedir. Genomikler, bir organizmanın genomunun dizilişini ve analizini ilgilendiren bir genetik alandır. Omik teknolojileri altında genomik, proteomik ve metabolik teknolojilerinden söz edilmektedir. Bu tüm yeni yaklaşımlar toksisitenin öngörülmesinde, toksisite oluşumunun altında yatan moleküler olayların anlaşılmasını sağlamaktadır. Toksikogenomik ise insan sağlığı ve çevre üzerine zararlı etmenlere karşı organizmadaki gen ve protein aktivitelerinin incelendiği ve toksikoloji ve genomun bir arada yer aldığı toksikolojinin bir alt dalıdır. Gen ekspresyon mikroarray teknolojinin gelişmesiyle binlerce genin transkripsiyon seviyesi aynı anda değerlendirilebilir. DNA mikroarray analizi ve protein çipleri gibi yeni moleküler teknolojiler, binlerce gen ve proteinin aynı anda ekspresyonuna olanak sağlayarak toksisite yollarının, spesifik kimyasal ve ilaç hedeflerinin keşfini hızlandırmaktadır. Bu yeni toksikogenomik yöntemler toksikoloji alanının gelişimine de olanak sağlamıştır. Omik teknolojileri tüm transkriptom, proteom ve metabolomun incelenmesine izin vermektedir. Bu nedenle omik çalışmalarda büyük miktarda veri üretilmektedir. Bu durum, veri işleme ve veri analizi için yeni kavramları gerektirmiştir. Biyoinformatik çalışmaları bu alanda önem kazanmıştır. Bu çalışmalar ile büyük veri kümeleri içindeki ve arasındaki ilişkiler çeşitli algoritmalar ve biyoistatistiksel yöntemler ile ortaya çıkarılmaktadır. Sonuç olarak, toksikogenomik toksikolojide çok önemli bir yeri bulunmaktadır. Bu çalışmada, toksikolojide yeni toksikogenomik gelişmelerin kapsamlı olarak tartışılması amaçlanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Toksikoloji; toksikogenetik; genomlar; proteomlar; omik teknolojileri

**ABSTRACT** A genome is the whole of an organism's genes. Studies that examine the interaction of these genes with each other and with the environment are expressed as "genomics". Genomics is an area within genetics that concerns the sequencing and analysis of an organism's genome. Genomics, proteomics and metabolomics technologies are mentioned under omics technology. All these new approaches provide an understanding of the molecular events that underlie toxicity formation for the prediction of toxicity. Toxicogenomics is a subdiscipline of toxicology, where toxicology and genomics coexist, and gene and protein activities in the organism are examined against harmful agents on human health and the environment. By the development of gene expression microarray technology, thousands of genetic transcription levels can be evaluated at the same time. New molecular technologies, such as DNA microarray analysis and protein chips, accelerates the discoveries of toxic pathways, specific chemical and drug targets by enabling the simultaneous expression of thousands of genes and proteins. These new toxicogenomic methods also enable the development of the field of toxicology. Omics technology allows the investigation of all transcriptomics, proteomics and metabolomics. For this reason, large amounts of data are generated in omics studies. This requires new concepts for data processing and data analysis. Bioinformatics studies have gained importance in this area. The relations between these studies and large data sets are revealed by various algorithms and biostatistical methods. In conclusion, toxicogenomics has a very important place in toxicology. Within this review, the new toxicogenomic developments in toxicology were discussed.

**Keywords:** Toxicology; toxicogenetics; genomics; proteomics; omic technologies

**G**en ve genle ilişkili ürünler düzeyinde yapılan bilimsel çalışmaların bütünü "omik teknolojileri" olarak bilinmektedir. "Toksikogenomik" ise insan sağlığı ve çevre üzerine zararlı etmenlere karşı bir

hücre ya da dokudaki gen ve protein aktivitelerinin incelendiği bir omik dalıdır. Toksikogenomik, toksikoloji ve genomik ilişkilendirilmesiyle birlikte, 1990'lı yılların sonlarında ortaya çıkmıştır. Toksikogenomik, bilim insanlarına biyolojik sistemlerdeki kimyasalların moleküler ve hücresel etkilerinin anlaşılmasında katkı sağlayan, hızla gelişen bir alt disiplindir. Bu alan; DNA mikroarray, nükleer manyetik rezonans (NMR) ve protein ekspresyon analizi gibi teknolojileri kullanarak küresel biyolojik etkilerin değerlendirilmesini içermektedir. Mikroarray teknolojileri ise yeni bir bilimsel alt disiplin olup, toksikogenomik olarak da adlandırılmaktadır. Gen ekspresyon mikroarray teknolojisindeki gelişmeler, "chips" olarak da bilinen toplam gen ekspresyonunun değerlendirilmesinde binlerce genin transkripsiyon seviyesinin aynı anda değerlendirilmesine olanak vermektedir.<sup>1-4</sup>

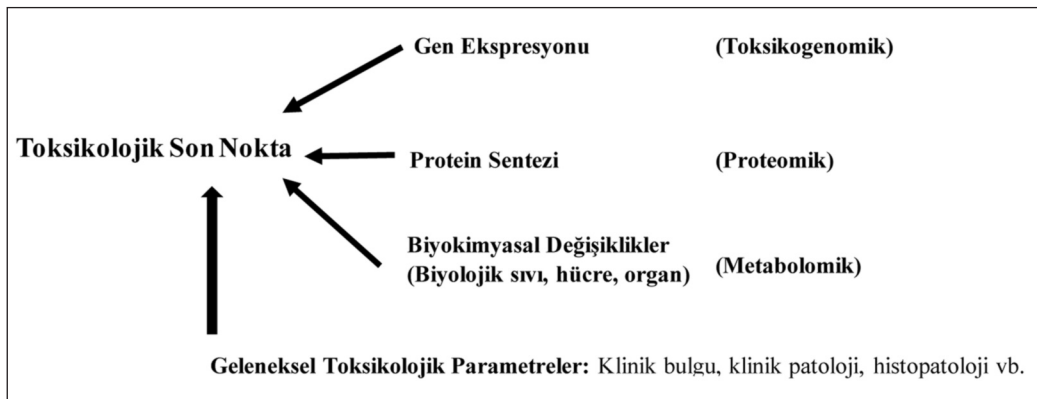
Toksikolojide kimyasal bileşenlerin genel risk değerlendirmesi; iyi tanımlanan hücresel, fizyolojik, metabolik ve morfolojik hayvan testlerine göre yapılmaktadır. Toksikolojik çalışmalarda, iki yıllık karsinogenite çalışmalarında anlamlı istatistiksel sonuçların elde edilebilmesi için, deney hayvanlarında tümör oluşturma ve insanla ilişkili risk potansiyelinin değerlendirilmesinde çok sayıda hayvana gereksinim duyulmaktadır. Sonuç olarak, güncel toksikolojik testler çok fazla zaman, emek, bileşen sentezi ve hayvan kullanımı gerektirmektedir. Bu da ilaç geliştirmede ve çevre sağlığı değerlendirmesinde azımsanmayacak derecede yatırım ihtiyacı doğurmaktadır. Bazı durumlarda hayvan testleri güvenilir bir yaklaşım sunamaya-

bilmektedir. Sürekli olarak güvenlik testi stratejileri geliştirilmesi gerekebilmektedir. Tüm bu nedenlerle toksikogenomik, kullandığı yöntemlerine bağlı olarak daha güvenilir bir yaklaşım sunabilmektedir.<sup>5</sup> Toksikogenomikteki bütünsel yaklaşımlar veya omik teknolojileri, toksikolojik çalışmaların yolunu, genellenmiş ve yorumlanmış güvenilirlik bilgilerini değiştirdiğini göstermiştir. Omik teknolojileri denildiğinde "genomik, proteomik ve metabolomik" teknolojilerinden söz edilmektedir. Tüm bu yeni yaklaşımlar toksisitenin öngörülmesinde, toksisite oluşumunun altında yatan moleküler olayların daha iyi anlaşılmasını sağlamaktadır (Şekil 1).<sup>2,6-10</sup>

Toksikogenomikte genom tabanlı teknolojinin hızlı gelişmesi ile kimyasalların ve diğer çevresel stres faktörlerinin biyolojik sistemler üzerindeki aktivitesinin anlaşılması hız kazanmıştır. Yeni toksikogenomik metodların potansiyeli ve gücü, ayrıca toksikoloji alanının gelişimine olanak sağlamıştır. Toksikogenomikte gen ve protein düzeylerinde analizler yapıldığından, toksik maddelere uzun süreli düşük dozlarda ve/veya kısa süreli yüksek dozlarda maruziyet ile oluşan istenmeyen etkilerin özellikle erken dönemde ortaya çıkarılması sağlanmaktadır.<sup>5,6,8,9</sup>

## TOKSİKOGENOMİK YÖNTEMLER

Toksikogenomik, toksik etki çalışmalarında "genomik" in (veya transkriptomik) kullanılması olarak anlaşılır iken; proteomik ve metabolomikler, genellikle toksikogenomik disiplininin daha geniş tanımını içermektedir. Protein dizilimlerinin



ŞEKİL 1: Toksik biyogöstergelerde toksikolojik son nokta değerlendirmesi.

bilinmesi özellikle de peptitlerin tanımlanması, 2D-elektroforez veya protein chips'lerinin kullanımı ile proteomik analizlerine olanak sağlamıştır. Böylelikle, bir biyolojik örnekteki çok sayıda protein eş zamanlı olarak belirlenebilmektedir. Metabolomik çalışmalarda ise H-NMR ve/veya sıvı kromatografisi-kütle spektrometresi [liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS/GC-MS)] kullanarak biyolojik sıvılardaki (genellikle idrar/serum) hücre içi oluşan endojen tüm metabolitler eş zamanlı olarak belirlenebilmektedir. Sonuç olarak; gen ekspresyon analizleri (genomik veya transkriptomik), protein (proteomik) ve metabolit (metabolomik) analizleri ile bütünsel bir yaklaşım sağlanmaktadır. Tüm bu teknolojilerle en sık değerlendirilen parametreler **Tablo 1**'de görülmektedir. Literatürde, kullanılan ve rapor edilmiş; lipomik, sellomik vb. başka omikler de bulunmaktadır. Ancak bunların kullanımı henüz çok yaygın değildir.<sup>2</sup>

## GENOMİK ANALİZLER

İyi tanımlanmış tanımlayıcılarıyla birlikte karakteristik dört nükleotit kodu içeren nükleik asitler (adenin, guanin, sitozin, timin), replikasyon ve transkripsiyon olaylarında yer almaktadır. Mikroarray teknolojisinde nükleik asitlerin biyolojik süreçteki bu özelliği kullanılmakta ve ilgilenilen genin tanımlanması için katı bir desteğe tutturulmuş (genellikle target olarak adlandırılmaktadır) yüksek özgüllükteki dizilimler (genellikle prop ola-

rak adlandırılmaktadır) kullanılmaktadır. Bu teknolojiye tüm temsil edilen genler için, mevcut transkript miktarı niceliksel olarak belirlenmekte ve bu nedenle bu teknik genomik ve transkriptomik olarak adlandırılmaktadır. Bu iki isim genellikle bazı farklılıklar içerirse de birbirinin yerine benzer olarak kullanılabilir.<sup>2</sup>

Genomik, herhangi bir organizmanın yapısal ve işlevsel fonksiyonlarını kodlayan tüm genlerini tanımlamaktadır. Çalışma alanlarına göre yapısal ve fonksiyonel genomik olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Yapısal genomik, genetik ve fiziksel haritalama ve DNA baz dizilerinin belirlenmesi yöntemleriyle organizmaların genetik bilgilerinin ortaya çıkarılmasını sağlamaktadır. Genom haritalama ile bir kromozomda bulunan genlerin konumları ve aralarındaki uzaklıklar belirlenip kaydedilmektedir. Bir genom haritası, ait olduğu organizmanın genomundaki önemli yerleri göstermektedir. Özellikle genetik hastalıkların saptanmasında oldukça faydalı bir yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır. Genel olarak tanımlamak gerekirse, lokalizasyonu aranan gen ile lokalizasyonu bilinen bir genetik belirleyicinin (marker) nesilden nesile birlikte kalıtsal aktarılmasının test edilmesi esasına dayanmaktadır. Fonksiyonel genomik ise genlerin ekspresyonunu, biçim, miktar ve zaman açısından genom düzeyinde ve genlerin hücresel işlevlerini sistematik bir yaklaşımla incelemektedir.<sup>1,10</sup>

**TABLO 1:** Omik teknolojisi ile değerlendirilen parametreler.

"Omikler"	Genomikler/transkriptomikler	Proteomikler	Metabonomikler/metabolomikler
Açıklama	Gen ekspresyon analizi	Protein ekspresyon analizi	Endojen metabolitlerin metabolik profilleri
Biyolojik materyal	Doku, hücre kültürü	Doku, hücre kültürü, serum, idrar	İdrar, serum
Analitik metot	Mikroarray qPCR	2D-PAGE, MS, MALDI, SELDI, DIGE	NMR, LC-MS, GC-MS
Parametre	mRNA (transkriptler)	Protein ürünleri (Posttranslasyonel modifikasyonlar dâhil)	Endojen metabolitler, küçük moleküller
Örnek	Hücre hasarından sonra ısı şoku proteinlerinin indüksiyonu	İndüktörlerle tedavi sonrası artmış P450 ekspresyonu	Eklenme ürünü oluşumu Mitokondriyal hasara bağlı Krebs döngüsünün ara ürünlerinin azaltılması
Analitlerin sayısı	>10.000	>1.000	> 500

NMR: Nükleer manyetik rezonans, LC-MS/GC-MS: Sıvı kromatografisi-kütle spektrometresi.

Transkriptom; belli bir zamanda bir hücre veya dokudaki gen transkriptlerinin (RNA) tümünü ifade etmek amacıyla kullanılan bir terimdir. Transkriptomik analiz ile hücre genomundan transkripsiyonla oluşan mRNA transkriptleri eş zamanlı incelenmektedir. Bir örnekte bulunan RNA miktarına bağlı olarak, genlerin seçilmiş bir alt grubunun veya tamamının ekspresyon düzeyinin ölçülmesi hedeflenmektedir. mRNA transkriptlerinin analiz edilmesinde başlıca kullanılan yöntemler arasında; Northern Blot, ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) ve mikroçip (Microarray) yer almaktadır.<sup>1,10-12</sup>

### PROTEOMİK ANALİZLER

Proteomik; belirli bir zamanda, belirli hücre, doku veya vücut sıvılarındaki ifade edilen tüm proteinlerin toplamı olarak tanımlanan proteom çalışmasıdır. Bu çalışmalar; proteom yapılarını, yerleşimlerini, miktarlarını, translasyon sonrası modifikasyonlarını, doku ve hücrelerdeki işlevlerini, diğer proteinlerle ve makromoleküllerle olan etkileşimini incelemektedir. Birçok proteomik platformunda ilgili örnekteki proteomun belirlenmesi sonrası protein ürününü ayırma, nicel analiz ve tanımlama işlemleri gerçekleştirilmektedir.<sup>1,13</sup>

Proteinler, nükleik asitlerden daha karmaşık bir kimyasal yapıya sahiptir ve genetik kodda olduğu gibi basit hibridizasyon işlemini engelleyen doğal biyokimyasal tamamlayıcılığı içermemektedir. Çoğu protein, sinyal peptidinin ayrılması, fosforilasyon/defosforilasyon veya glikozilasyon gibi translasyon sonrası kapsamlı değişikliklere uğramaktadır. Örneğin; kimyasal maddelere maruziyette toksisitesine bağlı bir protein değişikliği sonucu oluşan ilaç-protein kovalent bağlanması belirlenebilmektedir. Translasyon sonrası meydana gelen modifikasyonlar proteinlerin fonksiyonunu önemli ölçüde değiştirebilmektedir. Ayrıca, bazı proteinlerin aktivitesi, protein içeriği değişmeden kalmasına rağmen önemli biyolojik değişikliklere neden olan fosforilasyon/defosforilasyon ile düzenlenmektedir. Ayrıca, proteinler serum ve dokularda çok geniş aralıkta değişken düzeylerde bulunmakta; bazı proteinler yüksek oranda eksprese edilirken, diğerleri daha az miktarda bulun-

maktadır. Örneğin; serum albumin düzeyinin interlökin-6'dan çok fazla olması gibi. Bu dinamik durum proteomik teknolojilerinin üstünlüğünü öne çıkarmaktadır.<sup>1,2</sup>

Proteomik analizler, fenotip belirlemede doğru ve güvenilir bir veri sağlamaktadır. Proteomik uygulamaların hastalıkların tanı ve izlenmesi, ilaç uygulamalarında tedavi yanıtlarının gözlenmesi ve patojenik mikroorganizmalara karşı etkin ilaç ve aşı geliştirilmesinde kullanılabilecek özgül proteinlerin (yeni biyobelirteçlerin) belirlenmesi gibi alanlarda çok önemli yeri bulunmaktadır.<sup>1,2</sup>

Proteomik teknolojisi, önce örnekteki proteinlerin ayrımı ve sonra bu proteinlerin tanımlanması prensibine dayanmaktadır. İlk aşamada, örnekte bulunan ilgili proteinler uygun ayırma metodları ile ayrılmaktadır. Gerekli yazılımlar kullanılarak bu işlemde elde edilen veriler değerlendirilmekte ve ilgili proteinler belirlenmektedir. Son aşamada ise MS yöntemi ile bu proteinlerin kütleleri saptanmakta ve kesin ve doğru olarak proteinlerin tek tek tanımlanması gerçekleştirilmektedir.<sup>3,14</sup>

Örnek içerisinde az miktarda bulunan ama belirteç (marker) olabilecek proteinlerin ayrımı için çok hassas bir çalışma gerekmektedir. Proteomik teknolojisine bu proteinlerin tanımlanması, hastalığın gelişimi ile ilgisi ve bu verilerin bilgi bankalarında toplanarak değerlendirilmesi ve normal biyolojik süreçler ile hastalıkların altında yatan mekanizmaların tanımlanması amaçlanmaktadır. Sağlıklı-hasta, yaşlı-geç, kimyasala maruz grup-kontrol grup vb. iki farklı durum arasındaki ekspresyon farklılıklarının tanımlanmasını sağlamaktadır. Bu teknoloji; onkoloji, nöroloji, kardiyoloji, nefroloji, immünoloji, enfeksiyon hastalıkları ve endokrinoloji gibi birçok tıp alanında tanı ve tedavide önemli ilerlemeler sağlamaktadır.<sup>3,15</sup>

Proteomikte ayırım, hücresel bileşenlerin fraksiyonlanmasıyla (subselüler fraksiyonlama) ve 2D-jel elektroforeziyle veya kromatografik metodlarla yapılmaktadır. Genellikle 2D-poliakrilamid jel elektroforez [polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE)] oldukça zaman alıcı olup; hassasiyeti düşük bir işlemdir, ancak proteomik ileri tekno-

loji ürünü olarak kabul edilmektedir. Ancak, bu teknik az miktarda protein ve yüksek hidrofobik özellikli proteinler (sitokrom P450 gibi) için genellikle uygun değildir. 2D-PAGE'nin daha ileri teknolojisi olan, mikroarraydeki iki renk boyamaya benzer şekildeki 2D-difference jel elektroforez [difference gel electrophoresis (DIGE)], her biri farklı renkte işaretlenen iki örneğin 2D-PAGE ile aynı anda ayrılması ve elektroforez öncesi proteinlerin floresans işaretlenmesi aşamalarını içermektedir. 2D-DIGE nitel analize olanak sağlamakta ve ayrıca klasik 2D-PAGE'ye göre analiz aralığını ve hassaslığını artırmaktadır.<sup>2,16</sup>

Yüzeyi artırılmış lazer desorpsiyonu/iyonizasyonu [surface-enhanced laser desorption/ionization (SELDI)], MS'de protein karışımlarının analizi için kullanılan kolay bir iyonizasyon yöntemidir. Matris destekli lazer desorpsiyonu/iyonizasyonu [matrix-assisted laser desorption/ionization (MALDI)] varyasyonudur. SELDI'de kompleks karışımda proteinleri ayırmak üzere farklı fizikokimyasal özellikli yüzeyler kullanılmaktadır. İnce metal talaşların üzerine yerleştirilen emici kromatografik desteğin farklı kimyasal yüzeylerinin afinitelerine bağlı olarak, örnekteki proteinlerin adsorbe edilmesine dayanmaktadır. Bir kütle (mass) spektrum profili MALDI'deki lazer ile proteinleri ayrıştırarak tasarlanmaktadır. Az miktar örnek hacmi yeterlidir ve teknik açıdan her ne kadar tekrarlanabilirliği düşük olsa da 2D-PAGE'den daha yüksek duyarlılıkta veri sağlamaktadır.<sup>2,16</sup>

2D-PAGE'den sonra proteinlerin tanımlanması; MS yaklaşımlarla, ayrıştırılan parçacıkların kütlelerine karar vererek, genellikle ilgilenilen protein lekelerini belirleyerek gerçekleştirilmektedir. Mass spektrogramları, tanımlama amacıyla genel veri tabanıyla karşılaştırılabilmektedir. Bir parmak izi (fingerprints) özelliğine benzediğinden bu işleme "peptit fingerprinting" denmektedir. SELDI analizinden sonra, belirlenmiş olası 'belirteçlerin' belirlenmesi oldukça zordur. Gerçek proteinlerin tanımlanması için bir sonraki finger printinge veya gerçekleştirilecek olan peş peşe MS'e uygulamada izin vermesi için ilgilenilen piklerin izole edilmesi gerekmektedir.<sup>2,16</sup>

Proteomiklerde farklı bir yaklaşım ise kavram olarak DNA mikroarray'e benzeyen "protein array (protein dizisi)"in kullanımudur. En sık kullanılan protein array; antikor array (antikor dizilimi)'dir. Bu diziler ilgilenilen protein için spesifik antikorları işaretlemeye dayanmaktadır. Antikorlar, chip üzerine hibridize olmuş kompleks karışım içinde mevcut proteinleri afinitesiyle bağlayarak yakalayan katı bir destek üzerine sabitlenmektedir. Ancak, bu teknikte antikor dizilerindeki çok sayıda ilgili protein için iyi kalitede spesifik antikorları sağlamak gerekmektedir ve bunu sağlamak da zordur.<sup>2,17</sup>

### METABOLOMİK/METABONOMİK ANALİZLER

Metabolit; canlılarda metabolik olaylar sırasında kimyasal veya enzimatik reaksiyonlar sırasında oluşan ve başka bileşiklere dönüşebilen ufak kimyasal bileşiklerdir. Metabolom, biyolojik bir örnek içinde bulunan küçük moleküllü kimyasalların tümünü ifade etmektedir. Organizmanın büyüme, gelişme ve normal fonksiyon için gerekli olan ve metabolik reaksiyonlara katılabilen bir hücrede veya organizmadaki düşük molekül ağırlıklı bileşiklerin (metabolitler) bütünüdür. Bu biyolojik örnek bir hücre; hücresel organel, organ, doku, doku ekstaktı, biyolojik sıvı veya organizmanın bütünü olabilmektedir. Metabolomik; belirli bir zaman diliminde dokularda, hücrelerde ve fizyolojik sıvılarda lipit, karbohidratlar, vitaminler, hormonlar ve diğer hücre bileşenlerinden ortaya çıkan küçük moleküllü metabolitlerin yüksek verimli teknolojiler kullanılarak saptanması, miktarının belirlenmesi ve tanımlanmasıdır. Metabolomik çalışmalarını, vücut doku ve sıvılarında bulunan endojen metabolitlerin toplamıdır. Küçük moleküller peptitler, oligonükleotidler, şekerler, nükleozidler, organik asitler, ketonlar, aldehitler, aminler, aminoasitler, lipitler, steroidler, alkaloidler ve ilaçlar, insan-bakteri ürünleri gibi metabolitlerdir.<sup>1</sup>

Metabolik profildeki değişiklikler beslenme veya kimyasallara maruziyet gibi dış etmenlere organizmanın verdiği yanıtı da yansıtmaktadır. Transkriptomik ve proteomik analizler, bir hücrede gerçekleşen biyolojik olaylar hakkında kısmi bilgi verirken, metabolomik ise hücrenin işlevselliği ile ilgili daha genel ve bütünsel bir bilgi sağlamaktadır.<sup>1</sup>

Genomik ve proteomik “ne olabileceğinin”, metabolomik ise “gerçekte ne olduğunun” bilgisini vermektedir. Bu nedenle, tüm metabolitlerin ayrıntılı ve kantitatif ölçümü (metabolomik) hastalık teşhisi veya toksik ajanların fenotip üzerindeki etkilerini araştırmada en ideal yöntemdir.<sup>2</sup>

Metabolomik uygulamaları arasında; ilaç toksisitesinin belirlenmesi, klinik hastalıkların izlenmesi, terapötik uygulamaların değerlendirilmesi ve genetik modifikasyonların etkisinin anlaşılması yer almaktadır. Metabolom çalışması, proteom çalışmasına benzer zorluklara sahiptir. Çünkü hedef metabolitlerin ayrılması, miktarının belirlenmesi ve tanımlanması basit bir kimyasal hibridizasyonla gerçekleşmemektedir. Metabolitler kimyasal olarak proteinlerden daha çeşitlidir ve aynı zamanda geniş bir dinamik aralıktaki konsantrasyonlarda bulunmaktadır. Bu alandaki araştırmaların amacı, hassasiyeti kaybetmeden büyük ölçekli, yüksek verimli taramayı mümkün kılan teknolojileri geliştirmektir.<sup>1,18</sup>

Metabolomik; biyoloji, kimya ve matematik dâhil multi-disipliner bir bilimdir ve çok değişkenli veri analiz yöntemleriyle birleştirilmiş kromatografi, moleküler spektroskopi ve MS gibi analitik tekniklere ihtiyaç duymaktadır. Metabolomik çalışmalarında esas olarak iki teknoloji kullanılmaktadır. Bunlar; NMR ve çeşitli kütle spektrofotometreleridir.<sup>1,19</sup>

Gaz kromatografisi, yüksek performanslı sıvı kromatografisi, NMR gibi kromatografik ayırma yöntemlerine dayanarak hedef bileşik analizleri ve metabolik profillemesi gerçekleştirilmektedir. Parmak izi yöntemleri örnek sayısının fazla olduğu durumlarda hızlı bir şekilde profillerinin çıkarılması için kullanılmaktadır. Örnekler çözücü ekstraksiyonundan sonra, bozulmamış dokular (magic angle spinning NMR), sıvı veya yarı katı materyaller (NMR ve FT-IR) veya kuru materyaller (FT-IR) analizleri gerçekleştirilmektedir.<sup>2,20</sup>

Metabolomikler, H-NMR (proton NMR) veya bir kromatografik seperasyonla (LC veya GC) ikili olarak, MS tayin teknolojilerini kullanmaktadır. NMR spektroskopisi, analitlerin ayrılmasına dayanmayan ve yıkıcı olmayan tek tespit tekniğidir.

Daha ileri analizler için numunenin geri kazanılmasını sağlamaktadır. Nispeten az miktarda numune işlenebilir, ölçüm süreleri kısadır ve nispeten yüksek verimlilik sağlamaktadır. Kompleks bir karışımda her tür küçük molekül aynı anda ölçülebilmektedir. MS'ye dayalı tekniklere göre daha az hassas olan NMR spektroskopisi prosesi ileri-özel teknik uzmanlık gerektirmektedir, ayrıca göreceli olarak zaman alıcıdır. Ayrıca, ilgili metabolitlerin tanımlanması bir sorun teşkil edebilmektedir.<sup>1,2,20</sup>

Metabolik görüntüleme sıklıkla kullanılan diğer teknolojiler ise LC-MS veya GC-MS'dir. Kompleks örnekler sıvı veya gaz kromatografisiyle ayrılmakta ve her fraksiyonun bileşenlerinin kütleleri MS ile belirlenmektedir. Bu teknik NMR'den daha hassastır; ancak ilave olarak numune işleme gerektirmektedir ve numune sonraki analizler için geri alınmamaktadır.<sup>1,2,21</sup>

## TOPLUMSAL PROTEOMİKLER

Toplumsal proteomik; toplumun kendi içinde ve toplumlar arasında insan proteinlerinin belirlenmesi, farklılıklarının tanımlanması ve hastalığa özgül proteinlerin keşfi için yapılan geniş ölçekli çalışmaların tümünü kapsamaktadır. Standart immünoassay ölçümler ile yüzlerce proteinin konsantrasyonu belirlenebilse de yapısal değişimleri ve sağlıklı ve hasta grubundaki dağılımı ile ilgili çok az bilgi sağlanmaktadır. Toplumsal proteomiğin amacı, ilk olarak proteinlerin genel popülasyondaki sıklığını ve yapısal farklılıklarını belirlemek ve sonra bu farklılıklarla spesifik hastalıklar arasındaki ilişkiyi ortaya koymaktır.<sup>3,22</sup>

İnsan proteomunun karmaşıklığına bağlı olarak, toplumsal proteomik alanında daha ileri geniş ölçekli çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır. Toplumsal proteomik analizler ile hastalıklar, toksik etmenler veya enfeksiyonlar gibi faktörler sonucu değişen proteinlerin seviyeleri ve yapısal özelliklerinin belirlenmesi ve işlevlerinin aydınlatılması ile özellikle kanser başta olmak üzere birçok hastalığın tanı ve hedef-temelli tedavisi sağlanabilmektedir. Proteomik teknolojisi, özellikle kanserin erken tanısı için doğru ve güvenilir belirteçlerin belir-

lenmesinde önemli avantaj sağlayabilmektedir, ancak bu teknolojinin günümüzde klinikte uygulamaları henüz yaygınlaşmamıştır ve ileri çalışmalar gerektirmektedir. Proteomik teknolojisinin yaygın olarak kullanılmasında yöntemlerin standardizasyonu çok önemlidir ve ölçüm sistemlerindeki teknolojik ilerlemeler de buna katkı sağlamaktadır. Toplumsal proteomik çalışmaları ile toplumların protein haritalarının çıkarılması ve böylece proteinlerin genel populasyondaki dağılımı, yapısal farklılıkların belirlenmesi ve bu farklılıkların spesifik hastalıklarla ilişkinin ortaya konması hedeflenmektedir.<sup>3,22</sup>

### TOKSİKOGENOMİK VERİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ: BİYOİNFORMATİK VE BİYOİSTATİSTİK

Teknolojik gelişmelerle beraber biyolojik verilerin hızlı artması, bu verilerin kullanılabilir hâle getirilerek işlenmesi ihtiyacını doğurmuştur; bu durum bilgi teknolojisine dayanan, çok geniş bir çalışma alanına sahip multidisipliner bir bilim dalının ortaya çıkışını sağlamıştır. Biyoinformatik ve bilişimsel biyoloji çalışmaları, çeşitli tipteki biyolojik bilgilere kolay erişilmesini, bu bilgilerin verimli kullanımı ve yönetimi için gerekli bilgisayar yazılımlarının geliştirilmesini ve bu çalışmalar ile büyük veri kümeleri içindeki ve arasındaki ilişkilerin çeşitli algoritmalar ve biyoistatistiksel yöntemler ile açığa çıkarılmasını kapsamaktadır. Biyoinformatiğin hedefleri; hızla gelişen ve artan bilgiyi toplamak, yönetmek, dağıtmak, bilgiye en hızlı ve kolay biçimde ulaşılmasını sağlamak, çok karmaşık yapıda olan biyolojik sistemleri incelemek ve çözebilmektir.<sup>23,24</sup>

Omik analizlerinde büyük miktarlarda veri üretilmektedir. Bu yoğun veri setleri genellikle birkaç kopyadan (en fazla 3 ila 10 biyolojik kopya) ve 10 binlerce parametreden (genler, proteinler ve metabolitler) oluşmaktadır. Bu, veri işleme ve veri analizi için yeni kavramlar gerektirmiştir ve biyoinformatik yöntemlerin omik teknolojilerine uygulanmasını başlatmıştır.<sup>2,25</sup>

Bu teknolojileri istatistiksel yönden değerlendirmek kolay değildir. Çok miktarda veri, genel-

likle kullanılan normal dağılım ve değişken bağımsızlığı gibi parametrik istatistiklerin ön koşullarını yerine getirememektedir. Genler/protein grupları birlikte kontrol edilebileceğinden, değişkenler büyük oranda ilişkilendirilmekte ve farklı NMR sinyalleri ve MS pikleri bir ve aynı proteini temsil etmektedir. Bu tür çok değişkenli verilerin analizinde farklı stratejiler kullanılmaktadır.<sup>2</sup>

Yaygın olarak kullanılan tek değişkenli istatistiksel testler varyans analizi içermektedir. İkili karşılaştırma ve yanlış keşif oranlarının belirlenmesi genellikle özel yazılım kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Çok değişkenli analiz araçları; küme analizi, ana bileşen analizi ve kendi kendini düzenleyen haritalar içermektedir. Bu kontrolsüz yöntemler, gen ekspresyonu modellerinin, tedavi edilmiş/tedavi edilmemiş veya sağlıklı/hastalıklı gibi biyolojik bir anlam taşıyabilen doğal alt populasyonların ayırt edilmesine izin verip vermediğini belirlemek üzere kullanılmaktadır.<sup>2</sup>

Toksikogenomik uygulamalarda bilinmeyen bileşiklere ait verilerin değerlendirilmesi, belirteç ve/veya fingerprint özelliğindeki kanıtlayıcı veri üreten tahmini matematiksel modellere dayanmaktadır. Bu amaçla genomik ve metabolomik bilimlerinde, belirli bir toksisiteye neden olduğu bilinen model bileşikleriyle, incelenen bileşiklerin karşılaştırıldığı veri tabanları üretilmiştir. Bu uygulama türü için karmaşık denetimli ve çok değişkenli analiz yöntemleri gerekmektedir. Tahmini matematiksel modeli oluşturmak üzere kullanılan bu denetlenen yöntemlerde, model bileşiklerden elde edilen tüm sonuçların bir arada değerlendirilmesi (bir eğitim seti oluşturulmaktadır) gerekmektedir. Uygun performansı sağlamak için model oluşturulduktan ve çapraz doğrulama yapıldıktan sonra, test bileşikleri gen ifadesinin sonuçlarına veya metabolit profiline göre sınıflandırılabilir. Bu modellerin etkinliği veri tabanının büyüklüğüne ve uygun eğitim setine bağlıdır. Karmaşık veri kümelerini değerlendirirken ele alınması gereken bir diğer husus ise bunların uygun olarak standartlaştırılmasıdır. Bu deneysel koşullar, biyoinformatik ve biyoistatistiksel araçlar için de geçerlidir. Ancak, omik çalışmaların da standartlaştırılması her zaman kolay değildir. Stan-

dartlarda eksikliklerin olması, gruplar arasındaki veri değişkenliğinin varlığı ve verilerin bağımsız olarak doğrulanması söz konusu olsa da omik çalışmalarından önemli sonuçlar elde edilmektedir. Bilim dünyasında kabul edilebilir standartların geliştirilmesi gerekli görülmektedir. Metabolomik ve proteomik alanlarda benzer standardizasyon çalışmaları devam etmektedir.<sup>2,25</sup>

## TOKSİKOGENOMİĞİN TOKSİKOLOJİDEKİ UYGULAMALARI

Hayvan çalışmaları etik sorunların yanında zaman ve maliyet bakımından çok kaynak gerektirmektedir. Her ne kadar ilaç keşfi de *in vivo* deneyler önemli bir yere sahip olsa da hayvan testlerini azaltmaya yönelik girişimler aynı zamanda hayvanların refahı için de önemlidir. Gıda katkı maddeleri de dâhil olmak üzere; kozmetikler, kimyasal maddeler vb. için hayvan modeli çalışmaların tamamen kaldırılması arzu edilmektedir. Geleneksel *in vitro* sitotoksikite deneyleri ile *in vivo* koşullara uygulanacak maddelerin sayısının azaltılması sağlanmaktadır. Çalışmalar, toksisite değerlendirmesinde toksikogenomiğe dayalı *in vitro* sistemlerin önemini öne çıkarmaktadır.<sup>6</sup>

Toksikogenomik alanında ana hedefler prediktif (tahminsel) ve mekanistik araştırmalardır. İdeal sistemde ya *in vitro* bir sistem ya da kısa süreli bir hayvan çalışması amaçlanmaktadır. Ancak, bütün bir organizma ile ilgili bilgi sağlayan biyolojik olarak uygun bir hücre sistemini *in vitro* test ile oluşturmak her zaman mümkün değildir. Bu nedenle *in vivo* araştırmalar, prediktif toksikogenomik ve metabolomik çalışmalarda tercih edilmektedir.<sup>5,6</sup>

### PREDİKTİF TOKSİKOLOJİK ÇALIŞMALAR

Prediktif toksikogenomik gen, protein ve metabolit profillerinin toksik duyarlılıklarıyla diğer bileşenlerden ayırt edilmesini sağlamaktır. Prediktif toksikogenomik çalışmalar, toksik potansiyeli bilinmeyen kimyasalların ortaya çıkardığı gen ekspresyon modellerini, toksisiteyi öngörmek amacıyla toksisitesi bilinen model bileşiklerin profilleriyle karşılaştırmaktadır.<sup>5,6</sup>

Prediktif toksikogenomikte hayvan modellerinin toksikogenomiklerle birleştirilmiş *in vitro* analizlerle değiştirilmesi yaklaşımı bulunmaktadır. Bu, tarama verimini artırmak ve test edilen hayvan kullanımını ve bileşikleri azaltmak amacıyla, alternatif test sistemlerinin geliştirilmesini sağlamaktadır. Prediktif toksikogenomikte, ayrıca klasik toksisite test sonucu öncesi toksisitenin tahmin edilmesi de hedeflenmektedir. Toksikogenomiğin bu alandaki başarılı uygulaması maliyet, hayvan kullanımı ve güvenliliğin değerlendirilmesi için gereken süreyi büyük ölçüde azaltabilmektedir.<sup>5,6,26</sup>

Prediktif toksikogenomikte biyogöstergeler önemli yere sahiptir. Bazı durumlarda toksikogenomiklerin mevcut toksisite biyogöstergelerinin özgüllüğünü ve/veya duyarlılığını artırdığı ("güvenilir biyobelirteç" olarak) gösterilmiştir. Örneğin; artmış serum transaminazlar (örneğin; aspartat aminotransferaz, alanin aminotransferaz) gibi karaciğer fonksiyon testleri için ilaca bağlı karaciğer hasar duyarlılığı düşüktür, toksikogenomik analizler ile karaciğer hasarı için daha güvenilir biyogöstergeler elde edilebilmektedir.<sup>5,6,26</sup>

Klasik toksisite testlerinde klinik biyokimyasal veya histopatolojik değişiklikler gibi göstergelerin belirlenemediği durumlarda; prediktif toksikogenomikte ancak daha yüksek bir doz seviyesinde oluşan toksisiteyle ilişkili değişen gen ifade sinyali varlığı ("ön-toksikite biyobelirteç" olarak) ile ön bilgi sağlanabilmektedir. Örneğin; asetaminofenin neden olduğu karaciğer hasarının erken teşhisinde gen ifade değişikliğinin klinik öneminin olması gibi.<sup>27</sup>

Toksikogenomik biyobelirteçler ("translasyonel biyobelirteç" olarak) ile klinik öncesi klasik toksisite çalışmalarında ortaya çıkmayan, ancak duyarlı hastalarda toksisiteye neden olma potansiyeline sahip olan ilaç adaylarının belirlenebileceği öngörülmektedir.<sup>6,26</sup>

### MEKANİSTİK TOKSİKOLOJİK ÇALIŞMALAR

Mekanistik çalışmalarda, genellikle mekanizmayla ilişkili genler, proteinler ve metabolitler üzerine odaklanılmakta ve bileşiğe maruz kalma ile ilgili hücresel ve moleküler mekanizmalar incelenmektedir. Hem işarete (marker) dayalı prediktif toksik



kogenomikler hem de spesifik yollara dayalı mekanistik yaklaşımlar, bu teknolojilerin ayrı bir uygulaması olan yeni ve spesifik güvenilirlik biyobelirteçlerin keşfedilmesini sağlamaktadır.<sup>2</sup>

Mekanistik analizden elde edilen bilgiler, araştırılan toksisite hakkındaki bilgiyi derinleştirmek için son derece yararlıdır. Ancak, bunun için araştırılan toksisite hakkında doğru işlevsel bilgilerin bulunması gereklidir. Aksi takdirde bu durum, bilim insanlarının bilgi odaklı ön yargıları veriye girmelerine, belirli bulguları aşırı vurgulamalarına ve belki de önemli bilgileri göz ardı etmelerine neden olmaktadır. Dolayısıyla üretilen mekanik hipotezin, uygun bir şekilde tasarlanmış ve takip edilmiş deneyleriyle de doğrulanması hayati önem taşımaktadır.<sup>2</sup>

Biyolojik validasyon için, varsayımlanmış mekanizmanın in vivo ya da in vitro başka bir biyolojik sistemde araştırılması ya da knock-ins (transfeksiyon) ya da knock-outs (RNAi) gibi moleküler biyoloji araçlarının kullanılması, araştırmacının ilgileneceği yolağın incelenen olgu ile ilişkili olup olmadığını anlamasına yardımcı olabilmektedir.<sup>6,26,28</sup>

Mekanistik toksikogenomikte kimyasal maddelerin sınıflandırılması için referans veri tabanı oluşturmak hedeflenmektedir. Mikroarray ile çok sayıda bileşiğin profillendiği göz önüne alındığında, spesifik mekanizmalara karşılık gelen farklı gen ifadeleri, aynı mekanizmaları paylaşan bileşikler grubuna dayanarak önceden belirlenebilmektedir. Daha sonra, bilinmeyen bir maddenin gen ekspresyon profili, bu imzalara karşı karşılaştırılabilmekte ve bilinmeyen madde için varsayılan mekanizmalar veya etki biçimi kabul edilebilmektedir. Klasik toksisite parametreleri tarafından tanımlanan spesifik advers etkilere yönelik spesifik değişiklikler gen ekspresyon profilleri ile ilişkili olabilmektedir. Bu şekilde fenotipik değişikliklerin ortaya çıkarılması sağlanabilmektedir. Sonuç olarak; toksisiteyi ortaya çıkaran altta yatan mekanizmaların, ilaç aday seçimi ve ilaç geliştirme kararlarının verilmesine yardımcı olduğu ve takip edilecek deneylerin tasarımını yönlendirmek için kullanılacağı de anlaşılmaktadır.<sup>6,26,28</sup>

## TOKSİKOGENOMİK UYGULAMALARDA ÖRNEKLER

Toksik etmenlere maruziyette başta karaciğer, böbrek, sinir sistemi, kardiyovasküler sistem, üreme - gelişme ve endokrin sistem dâhil pek çok sistem etkilenmektedir. Toksikogenomik uygulamalar ile bu toksik etkileri, özellikle erken dönemde ortaya çıkarmak ve riski öngörmek mümkündür.

Suter ve ark., iki 5-HT6 reseptör antagonistini (Ro 65-7199 ve Ro 66-0074) toksikogenomik kullanılarak sıçan karaciğeri üzerindeki etkisini araştırmışlardır.<sup>7</sup> Hepatik bulguların altında yatan muhtemel moleküler mekanizmalara ilişkin bilgi edinmek için, Ro 65-7199'un hepatik gen ekspresyonu üzerine akut (tek doz) ve subakut (1 hafta, günlük dozlama) uygulamasının etkisi, Affymetrix Gene Chips kullanılarak değerlendirilmiştir. Sıçan karaciğerlerinin gen ekspresyon profilleri oluşturulmuş ve her iki 5-HT6 reseptörü antagonisti ile tedavi edilip, gen ifade değişiklikleri ile ilgili farklılıklar değerlendirilmiştir. Çalışmada RT-PCR ve Western Blot yöntemleri kullanılmıştır. Sıçanların her iki bileşiğe maruz kalmasından sonra elde edilen profiller, farklı toksikolojik profillere sahip iki farmakolojik olarak yakından ilişkili bileşiğin, gen ekspresyon profillerine göre ayırt edilebildiğini açıkça göstermiştir. Ayrıca yan etkiler, toksikogenomik kullanılarak geleneksel yöntemlere göre daha önce saptanabilmiştir. Bu çalışmadaki gen ekspresyon profil analizi, her iki bileşiğin de toksisitelerine göre ayırt edilebildiğini ve mekanistik farklılıklarının olduğunu ortaya çıkarmıştır. Sonuç olarak, bu çalışma, erken zaman noktalarında karakteristik parmak izlerinin elde edilmesi ve mekanik hipotezlerin üretilmesi için bir araç olarak toksikogenomiklerin gücünü açıkça göstermektedir.<sup>7,29,30</sup>

Borlak ve ark., karaciğer biyolojisi ve hastalığı durumunda karaciğer transkripsiyon faktörlerinin düzenleyici yollar üzerine yaptığı değerlendirmeye göre; organ gelişimi ve hücre fonksiyonunda karaciğer transkripsiyon faktörlerinin önemli rolü bulunduğunu ve karaciğer spesifik gen ifadesinde birlikte hareket eden transkripsiyon faktörleri için kesin kanıtlar olduğunu göstermişlerdir.<sup>5</sup> Organ ge-

lişimi sırasında ve progenitör hücrelerde, hücrenel farklılaşma için belirli transkripsiyon faktörlerinin zamanında ifadesi gereklidir. Kök hücre imprinting ve karaciğere özgü fonksiyonları kontrol eden moleküler hedefler üzerine yapılan araştırmalar; transkripsiyon faktörleri, koaktivatörler, koruyucular, enzimler, DNA ve RNA gibi farklı moleküller arasında birçok etkileşimin keşfine yol açmıştır. Bu etkileşimlerin birçoğu, ya spesifik gen ekspresyonunun baskılanması ya da aktive edilmesi şeklindedir. Karaciğerin altı transkripsiyon faktörü ailesi HNF-1, HNF-3, HNF-4, HNF-6, C/EBP ve D bağlayıcı protein (DBP) tanımlanmıştır. Bu faktörlerin doku dağılımının analizi ve bunların hiyerarşik ilişkilerinin belirlenmesi, karaciğer transkripsiyon faktörleri ile her yerde bulunan trans-aktive edici faktörler arasında bir iş birliğinin gerekli olabileceğini ve hatta yeterli olduğu durumlarda, karaciğere özgü gen transkripsiyonunun korunması için de gerekli olabileceğini ortaya çıkarmıştır.<sup>5,31,32</sup>

Karaciğer transkripsiyon faktörlerinin hücre döngüsü kontrolünde, karsinogenezde, sirkadiyen gen regülasyonunda, karaciğer rejenerasyonunda ve apoptozda düzenleyici işlevleri bulunmaktadır. Karaciğer spesifik genlerin ifadesi, farklı kromozomlardan farklı transkripsiyon faktörlerinin zamanında ve koordineli bir ifadesini gerektirmektedir. Fonksiyonel genomikler ile yeni platform teknolojilerinin, gen regülasyonu ve fenotip ifadesinin sınırlarını açığa çıkarıp büyük ilerlemeler sağlayacağı öngörülmektedir.<sup>5,31,32</sup>

Gant ve ark. tarafından, karaciğerdeki kolestat ve steatozu anlamak üzere yapılan toksikogenomik incelemede; toksikogenomiği kullanarak sıçanlarda kolestat modelleri ile toksisite ve patolojiyi ortaya çıkarmadaki avantajlar bildirilmiştir.<sup>33</sup> Sonuç olarak, inflamasyon ve fibrozun toksikogenomik karakterizasyonu üzerine sunulan sonuçlarında, spesifik genlerin karakterize edilebildiği ve patolojik değişikliklerin miktarını belirlemek için kullanılabileceği görülmüştür. Ayrıca bu çalışmada, patolojik değişikliği ayırt eden gen ekspresyon profillerinde bazı küçük değişikliklerin meydana geldiği de gösterilmiştir.<sup>5,33,34</sup>

Thum ve ark., toksikogenomiklerin kardiyovasküler toksisiteye uygulanması üzerine yaptıkları değerlendirmede; son yıllarda kardiyovasküler toksisitenin anlaşılmasında toksikogenomiklerin öneme vurgu yapmışlardır.<sup>35</sup> Küresel transkripsiyon analizi, proteomik ve metabolomik gibi yeni teknoloji platformları, kardiyovasküler araştırmalara entegre edilmiştir. Kardiyovasküler toksisiteye uygulandığı gibi, toksikogenomiklerin, mekân ve zamanın anlaşılmasına duyarlı ve spesifik biyobelirteçlerin tanımlanmasına ve ilaç geliştirme için yeni bileşiklerin daha iyi bir seçimine katkıda bulunma olasılığı yüksektir ve aynı zamanda yeni bir sınıflandırma için de kullanılabilir. Bu çalışmada, araştırmacılar, kardiyovasküler toksisiteye uygulanan yeni toksikogenomik veya toksikoproteomik yaklaşımlar ile belirli bir ilacın neden olduğu kardiyotoksisite fenotipine dayanan bir sınıflandırma kullanmışlardır. Ayrıca, halojenli aromatik hidrokarbonlar gibi çevresel kirlenici maddelerin neden olabileceği kardiyovasküler toksisitenin başlangıcındaki etkisini de tartışmışlardır. İlaç metabolize edici enzimler, taşıyıcılar ve reseptörler için belirli tek nükleotid polimorfizm [single-nucleotide polymorphism (SNP)]'lerin genlerdeki etkilerinin tanımlanmasının kardiyovasküler hastalıkların gelecekteki ilaç tedavisini daha da geliştireceğini ileri sürmüşlerdir.<sup>5,35,36</sup>

Deavall ve ark., toksikogenomiklerin endokrin sistem bozukluğuna uygulanması üzerine yaptıkları değerlendirmede; endokrin bozucuların biyolojik sistemlerle etkileşim şekillerini daha ayrıntılı olarak anlamak ve daha doğru ve gerçekçi güvenilirlik değerlendirmesi için genomiklerin nasıl bir temel oluşturduğuna odaklanmışlardır.<sup>37</sup> Endokrin bozucular, endokrin sisteminin işlevlerini değiştiren ve sonuç olarak sağlıklı bir organizmada veya soyundan gelenlerde veya (alt) popülasyonlarda olumsuz sağlık etkilerine neden olan ekzojen maddeler olarak tanımlanmıştır. İnsanlarda ve yabani türlerde endokrin bozucular ile zararlı etkileri arasında bir ilişki varlığının aydınlatılması, toksikoloji için bir sorun olmuştur. Toksikogenomik platformlar araştırmayı; sadece endokrin sistemin bozulması üzerine değil, aynı zamanda farmasötik olarak aktif endokrin modülatörler için de büyük

ölçüde ilerletme potansiyeline sahiptir. Genomiklerin temel faydası, gen ekspresyon değişikliklerini inceleyen global bir yaklaşımla elde edilebilecek bilgi derinliğidir. Bu teknolojinin gücü, veri tabanlarının ve genomik verilerinin bilgi tabanlı yorumlanmasını kolaylaştıran veri analiz yazılımlarının sürekli geliştirilmesi ile artırılmıştır. Toksikogenomiklerin kullanımı, uygun biyolojik modellerdeki transkripsiyonel etkilere dayalı olarak, varsayılan endokrin bozucular ve endokrin modülatör bileşikler için detaylı mekanistik profillerin oluşturulmasına olanak sağlamaktadır. Bu tür yaklaşımlar, toksikologların bazı önemli soruları ele almasına izin vermektedir, örneğin; endokrin bozucuların doku/tür özgülüğü için moleküler temelin ne olduğu ve farklı sınıf östrojenik bileşiklerinin farklı mekanizmalarla etkilerini indükleyip indüklediği gibi. Gen transkripsiyonu; bir hücrenin, hücre içi protein kompozisyonunu değiştirdiğinden, çevresel değişimlere uyum sağlamaya çalıştığı birincil mekanizmayı temsil etmektedir. Gen transkripsiyonunu kontrol edenler de dâhil olmak üzere, proteinlerin post-translasyonel modifikasyonu endokrin bozucular tarafından değiştirilebilmektedir. Endokrin bozucuların protein modifikasyonu üzerindeki etkilerini araştırmak için, MS'ye bağlı proteinlerin elektroforetik veya kromatografik ayrılması gibi hassas proteomik teknolojilerinin benimsenmesi gerekmektedir. Proteomik ve genomik yaklaşımların bir kombinasyonu, endokrin bozuculara hücresel yanıtın daha eksiksiz bir görüntüsünü sağlayabilmektedir. Genomik araçlarının eş zamanlı kullanımı, mevcut yöntemlerle birlikte, endokrin bozulma ile sağlık ve çevresel faktörlerin değişime maruz kalabileceği mekanizmaların daha ayrıntılı bir şekilde değerlendirilmesini kolaylaştırmaktadır.<sup>5,37,38</sup>

Hewitt ve ark., toksikogenomiğin teratojeniteye uygulanması üzerine yaptıkları değerlendirmede, geliştirilmekte olan ilaç EMD 82571'in teratojenik toksisitesinin mekanizmasının açıklanması amaçlanmıştır.<sup>39</sup> Çalışmada, sıçanlarda EMD 82571'in embriyo-fetal toksisitesi araştırılmıştır. EMD 82571'in teratojenik mekanizmasını aydınlatmak için, gen ekspresyonu profillemesini içeren iki farklı yaklaşım benimsenmiştir. İlk yaklaşım spesifik, ilgili genlere (hipotez bazlı) odaklanmaya,

ikincisi ise global gen ekspresyon analizine (Affymetrix 230A dizisi) dayanmaktadır. Genler teratojenik süreçlere ve fetal gelişime dâhil olduğu bildirilen spesifik genlere göre seçilmiştir. Diğer genler, EMD 82571'in varsayılan toksikolojik profilindeki rollerine göre seçilmiştir. Hem maternal karaciğerde hem de çeşitli embriyonik dokularda EMD 82571 ile tedavi sonrası birçok genin indüksiyonu ve baskılanması gösterilmiştir. EMD 82571'in hem maternal karaciğerde hem de hedef dokuda gen ekspresyonunda anlamlı değişikliklere neden olduğu görülmüştür. Bu değişiklikler hücresel strese bağlanmıştır. Hem maternal hayvanda hem de yavruda gen ekspresyon seviyesinde önemli değişiklikler gösterilmiştir.<sup>5,39,40</sup> Bu sonuçlar teratojenite çalışmalarında toksikogenomiklerin kullanılmasının toksik mekanizmaların açığa çıkarılmasında ve teratojenisiteyi öngörmeye ilerde önemli katkılar sağlayacağını göstermektedir.

Lühe ve ark., nefrotoksisite üzerine yaptıkları çalışmaya göre; nefrotoksik olayların araştırılması ile ilgili olarak; toksikogenomiklerin, klinik veya histopatolojik değişiklikler görülmeden önce bile böbrekte toksin kaynaklı lezyonların çok erken safhada belirlenmesini sağlayabileceğine dikkat çekilmiştir.<sup>41</sup> Böbreğin işlevsel aktivasyonuna, idrar hacmindeki değişiklikler, protein içeriği veya glomerüler filtrasyon oranı üzerindeki değişiklikler henüz gözlemlenemese bile, mRNA seviyesinde saptanabilen transkripsiyonel değişiklikler eşlik edebilmektedir. Toksine maruz bırakılan örneklerden elde edilen gen ekspresyonu modellerinin mekaniksel analizi, farklı nefrotoksikan gruplarının etki şekline ilişkin önemli bilgiler sağlamakta ve en az toksik olanı belirlemek üzere benzer toksik mekanizmalara sahip bileşiklerin sıralanmasını sağlamaktadır. Nefrotoksisitenin benzer yollarını içerdiği bilinen birkaç nefrotoksikanla maruz bırakılan örneklerden, gen ekspresyon profillerinin karşılaştırılması, bilinmeyen bileşiklerin nefrotoksik potansiyelini tahmin etmeye yardımcı olabilmektedir. Tanısal düzeyde, SNP'lerin toksikogenomik analizi, belirli bileşiklere maruziyet sonrası nefrotoksik semptomlar geliştirme riski yüksek olan kişilerin belirlenmesine yardımcı olabilmektedir. Nefrotoksik madde maruziyetine yanıt olarak mey-

dana gelen transkripsiyonel değişimler hakkında, toksikogenomikten türetilen bilgiler, histopatolojik bulgularla ve idrar örneklerinin toksikoproteomik ve toksikometabolomik analizlerinden elde edilen sonuçlarla birleştirilebilmektedir.<sup>5,41,42</sup> Bu tür kapsamlı yaklaşımlar, böbrek toksisitesinde yer alan durumlar hakkında kapsamlı bilgiler sağlama ve hem transkripsiyon hem de translasyon düzeylerini ele almaya yardımcı olmaktadır.

Birçok kalp hastalığında kalp fonksiyon bozukluğunun altında yatan moleküler sebepler tam olarak bilinmemektedir. Günümüzde toksikogenomik, proteomik teknolojisi ile hasta, kalpteki protein ekspresyonlarındaki değişiklikleri göstermekte ve kalpte işlev bozukluğuna sebep olan hücre içi mekanizmalara yeni bir bakış açısı sağlamaktadır. Benzer şekilde, böbrek hastalıklarının tanı ve tedavisinde proteomik analizi ile hastalıkla ilgili biyobelirteçler belirlenebilmektedir. Bu örnekler artırılabilir. Çünkü hastalıkların tanı ve hedefe yönelik tedavisi amacıyla proteomik çalışmalar her geçen gün artmaktadır.<sup>3,43</sup>

Erken kanser tanısında proteomik teknolojinin kullanımı ile kanser tanısı için yeni biyobelirteçlerin tanımlanması ve bu biyobelirteç moleküllerin analizi ile erken kanser tanısında önemli adımlar atılmıştır. Günümüzde tek bir biyobelirteç analizleri ile yapılan kanser tanısının özgüllük ve hassasiyeti yeterli değildir. Proteomik teknolojisi kullanılarak tek biyobelirteç analizinde karşılaşılan bu problem, çoklu biyobelirteç analizi ile ortadan kaldırılabilir ve böylece oldukça yüksek bir özgüllük ve duyarlılıkla erken dönemde kanser tanısı mümkün olabilmektedir. Bu amaçla kanser ve normal doku proteinleri karşılaştırılarak, farklı olan proteinler belirlenmekte ve sonra bu proteinlerden belirteç olarak öngörülmesi değeri en iyi olanları belirlenmekte ve saflaştırılması yapılmaktadır. Erken kanser tanısında proteomik teknolojinin yer aldığı ilk çalışma over kanserleri ile ilgilidir ve bunu pek çok araştırma çalışması izlemiştir. Over kanserlerini belirlemek için sık kullanılan bir marker olan Ca 125, ileri evre over kanserlerinde %80 pozitif olmasına rağmen; evre I over kanserlerinde %50-60 pozitifdir. Ca 125'in tek marker olarak pozitif öngörülmesi değeri [positive

predictive values (PPV)] %30-35 arasındadır. SELDI-TOF MS teknolojisi kullanılarak evre I over kanserleri bile %100 duyarlılık, %95 özgüllük ve %94 PPV ile belirlenebilmektedir.<sup>5,44</sup>

Hepatoselüler kanserleri belirlemede alfa fetoprotein %73 duyarlılık ve %71 özgüllükle saptanabilmektedir. SELDI-TOF MS ile %79 duyarlılık ve %86 özgüllükle hepatoselüler kanserler belirlenebilmektedir. Ayrıca, SELDI-TOF MS'nin küçük tümörleri belirlemede klasik belirteçlerden daha iyi sonuç verdiği görülmüştür. SELDI-TOF MS ile %97,2 duyarlılık ve %94,4 özgüllükle pankreas kanseri ve %93,3 duyarlılık ve %96,7 özgüllükle akciğer kanseri tanısı konulabilmektedir.<sup>3,15,44</sup>

## İLAÇ GELİŞTİRMEDE TOKSİKOGENOMİĞİN ÖNEMİ

Bir toksik maddeye maruziyet sonrası oluşan gen ekspresyonundaki değişikliklerin toksikogenomik ile incelenmesi; hayvan deneyleri ile ortaya çıkarılmayan, ancak insanda toksik etki oluşturan maddelerin belirlenmesini ve olası zararlı etkilerinin öngörülmesini sağladığı gibi ilaç geliştirilmesine de katkı sağlamaktadır.

İn vivo ve in vitro testlerde yeni kimyasal maddelerin maruziyeti ile ortaya çıkan gen ekspresyon profillerinin incelenmesi ile ilaç geliştirme sürecinin birçok alanını etkilemesi beklenmektedir. İlk olarak, ilaçların etki mekanizmalarına ilişkin daha spesifik bilgi vererek ilaç-geliştirme sürekliliğinde katkı sağlamaktadır ve ilaç geliştirme yollarının kalitesini etkileyebilmektedir. Diğer taraftan bu durum işlemin verimliliğini artırabilmektedir; çünkü toksikogenomik bilgi, ilaç keşfinde kullanılan hedef belirleme ve karakterizasyon yöntemlerini tamamlamakta ve ilaç geliştirme sırasında hedef dışı bileşiklerin elimine edilmesini sağlamaktadır. Toksikogenomikler, ilaç geliştirme sürecinin herhangi bir aşamasında uygulanabilmektedir. Bunlar; i. Erken veya geç keşif fazlarında ilaç aday seçimi için moleküler konfigürasyonunun geliştirilmesi, ii. İnsanlarda ve hayvanlarda hedef organ patolojilerinin mekanizmalarının daha iyi anlaşılması, iii. Geç prelinik süreçte subkronik veya kronik toksisite için kısa dönem biyobe-

lirteçler geliştirmek, iv. İnsanlarda Faz II ve Faz III klinik çalışmalarında ortaya çıkması muhtemel olan, ilaçla ilişkili etkiler için güçlü öngörüsöl biyobelirteçler geliştirmektedir.<sup>8,45,46</sup>

## SONUÇ

Toksikogenomik, temel olarak kimyasal maddelerin advers (zıt) etkilerinin çalışılmasında, genomik, proteomik ve metabolomik teknolojileri olarak bilinen genomik teknolojilerinin uygulanması olarak tanımlanmaktadır. Tüm bu yeni yaklaşımlar toksisite oluşumunun altında yatan moleküler olayların anlaşılmasında çok önemli bir yere sahiptir.<sup>2</sup> Omik çalışmalarda büyük miktarda veri üretilmektedir. Bu teknolojinin gücü, veri tabanlarının ve genomik verilerinin bilgi tabanlı yorumlanmasını kolaylaştıran veri analiz yazılımlarının sürekli geliştirilmesi ile artırılmıştır. Bu, veri işleme ve veri analizi için biyoinformatik yöntemlerin omik teknolojilerine uygulanmasını başlatmıştır.<sup>4,23,24</sup>

Toksikogenomik kullanımındaki ana hedefler prediktif (öngörüsöl) ve mekanistik araştırmalardır. Prediktif toksikogenomik çalışmalarda, toksik potansiyeli bilinmeyen kimyasal maddelerin neden olabileceği gen ekspresyon modelleri, toksisitesi bilinen model bileşiklerin profilleriyle karşılaştırılıp toksisitenin öngörülmesi sağlanmaktadır. Mekanistik analizlerde ise genellikle bileşiğe maruz kalma ile ilgili hücre ve moleküler mekanizmalar incelenmektedir.<sup>2,4,5</sup>

Birçok hastalıkta işlevsel bozuklukların altında yatan moleküler nedenler tam olarak bilinmemektedir. Günümüzde omik teknolojileri ile hasta dokularındaki (böbrek, kalp, karaciğer) protein ekspresyonlarındaki değişiklikler gösterilmekte, biyobelirteçler tanımlanmakta ve fonksiyon bozukluğuna sebep olan hücre içi mekanizmaların aydınlatılması sağlanmaktadır. Hastalıkların tanı ve tedavisinde toksikogenomik çalışmalar her geçen gün artmaktadır. Örneğin; nefrotoksik olayların araştırılması ile ilgili olarak, toksikogenomikler ile klinik veya histopatolojik değişiklikler gözlenmeden önce bile, böbrekte hastalıkla ilişkili lezyonları çok erken bir dönemde belirleyebilmek mümkün olabilmektedir. Kardiyotoksik olayların araştırılmasında kalpteki protein ekspresyonla-

rındaki değişiklikler gösterilmekte ve kalpte fonksiyon bozukluğuna sebep olan hücre içi mekanizmalar aydınlatılabilmektedir. Erken kanser tanısında proteomik teknolojisinin kullanımı ile yeni biyobelirteçlerin tanımlanması ve bu biyobelirteç moleküllerin analizi ile önemli adımlar atılmaktadır.

Toksikogenomik çalışmalar, ilaç geliştirilmesinde önemli bir yere sahiptir. Yeni kimyasal maddeye maruz bırakılan deney hayvanlarında veya hücre kültürlerinde ortaya çıkan gen ekspresyon profillerinin incelenmesi, aday ilaç moleküllerinin geliştirilmesinde önemli rol oynamaktadır.

Kimyasal, biyolojik ve fiziksel etmenlere maruziyet, başta insan olmak üzere canlı organizmalar üzerinde istenmeyen sonuçlara neden olabilmektedir. Bu maruziyet sonucunda başta hedef organlar olmak üzere pek çok sistem etkilenebilmektedir. Sonuç olarak, toksik etkilerin altında yatan mekanizmaların gen ve protein düzeylerinde saptanmasını kolaylaştırdığı ve bu etkilerin erken dönemde ortaya çıkarılmasını sağladığı için toksikogenomik uygulamaların toksikolojide ve ilaç geliştirilmesinde büyük ilerlemeler sağlayabileceği düşünölmektedir.

### Finansal Kaynak

*Bu çalışma sırasında, yapılan araştırma konusu ile ilgili doğrudan bağlantısı bulunan herhangi bir ilaç firmasından, tıbbi alet, gereç ve malzeme sağlayan ve/veya üreten bir firma veya herhangi bir ticari firmadan, çalışmanın değerlendirme sürecinde, çalışma ile ilgili verilecek kararı olumsuz etkileyebilecek maddi ve/veya manevi herhangi bir destek alınmamıştır.*

### Çıkar Çatışması

*Bu çalışma ile ilgili olarak yazarların ve/veya aile bireylerinin çıkar çatışması potansiyeli olabilecek bilimsel ve tıbbi komite üyeliği veya üyeleri ile ilişkisi, danışmanlık, bilirkişilik, herhangi bir firmada çalışma durumu, hissedarlık ve benzer durumları yoktur.*

### Yazar Katkıları

**Fikir/Kavram:** Fundanur Yazıcı, Sevtap Aydın; **Tasarım:** Sevtap Aydın; **Denetleme/Danışmanlık:** Fundanur Yazıcı, Sevtap Aydın; **Analiz ve/veya Yorum:** Fundanur Yazıcı, Sevtap Aydın; **Kaynak Taraması:** Fundanur Yazıcı, Sevtap Aydın; **Makalenin Yazımı:** Fundanur Yazıcı, Sevtap Aydın; **Eleştirel İnceleme:** Sevtap Aydın; **Kaynaklar ve Fon Sağlama:** Sevtap Aydın.

## KAYNAKLAR

- Başaran E, Aras S, Duman D. [Overview of genomic, proteomic and metabolomic terms and their application areas]. *Türk Hij Den Biyol Derg.* 2010;67(2):85-96.
- Suter-Dick L, Singer T. Methods in toxicology. In: Greim H, Snyder R, eds. *Toxicology and Risk Assessment: A Comprehensive Introduction.* 1<sup>st</sup> ed. West Sussex: John Wiley & Sons; 2008. p.437-49.
- Kurban S, Mehmetoğlu İ. [Proteomic]. *Yeni Tıp Dergisi.* 2010;27(2):70-5.
- Hamadeh HK, Amin RP, Paules RS, Afshari CA. An overview of toxicogenomics. *Curr Issues Mol Biol.* 2002;4(2):45-56.
- Borlak J. Application of toxicogenomic: case studies. *Handbook of Toxicogenomics.* 1<sup>st</sup> ed. Weinheim: Wiley-VCH; 2005. p.325-486. [Crossref]
- Chen M, Zhang M, Borlak J, Tong W. A decade of toxicogenomic research and its contribution to toxicological science. *Toxicol Sci.* 2012;130(2):217-28. [Crossref]
- Suter L, Haiker M, De Vera MC, Albertini S. Effect of two 5-HT<sub>6</sub> receptor antagonists on the rat liver: a molecular approach. *Pharmacogenomics J.* 2003;3(6):320-34. [Crossref]
- Castle AL, Carver MP, Mendrick DL. Toxicogenomics: a new revolution in drug safety. *Drug Discov Today.* 2002;7(13):728-36. [Crossref]
- Waters MD, Olden K, Tennant RW. Toxicogenomic approach for assessing toxicant-related disease. *Mut Res.* 2003;544(2-3):415-24. [Crossref]
- Yuluğ İ. [Human genom project]. *Avrasya Dosyası Moleküler Biyoloji ve Gen Teknolojileri Özel.* 2002;8(3):7-23.
- Stanton LW. Methods to profile gene expression. *Trends Cardiovasc Med.* 2001;11(2):49-54. [Crossref]
- Schena M, Shalon D, Davis RW, Brown PO. Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. *Science.* 1995;270(5235):467-70. [Crossref]
- Özcengiz G. [Proteomic: The most powerful technology of the post-genomic period]. *METU Newsletter.* 2007;15:13-9.
- Mikšik I. Coupling of CE-MS for protein and peptide analysis. *J Sep Sci.* 2018 Sep 20. Doi: 10.1002/jssc.201800817. [Epub ahead of print]. [Crossref]
- Nedelkov D, Kiernan UA, Niederkofler EE, Tubbs KA, Nelson RW. Population proteomics: the concept, attributes, and potential for cancer biomarker research. *Mol Cell Proteomics.* 2006;5(10):1811-8. [Crossref]
- Meleady P. Two-dimensional gel electrophoresis and 2D-DIGE. *Methods Mol Biol.* 2018;1664:3-14. [Crossref]
- Huang Y, Zhu H. Protein array-based approaches for biomarker discovery in cancer. *Genomics Proteomics Bioinformatics.* 2017;15(2):73-81. [Crossref] [PMC]
- Venter JC. A part of the human genome sequence. *Science* 2003;299(5610):1183-4. [Crossref]
- German JB, Hammock BD, Watkins SM. Metabolomics: building on a century of biochemistry to guide human health. *Metabolomics.* 2005;1(1):3-9. [Crossref] [PMC]
- Zacharias HU, Altenbuchinger M, Gronwald W. Statistical analysis of NMR metabolic fingerprints: established methods and recent advances. *Metabolites.* 2018;8(3). [Crossref] [PMC]
- Blaženović I, Kind T, Ji J, Fiehn O. Software tools and approaches for compound identification of LC-MS/MS data in metabolomics. *Metabolites.* 2018;8(2). [Crossref] [PMC]
- Nedelkov D. Population proteomics: investigation of protein diversity in human populations. *Proteomics.* 2008;8(4):779-86. [Crossref] [PubMed]
- Atalay RÇ. [Why bioinformatics?]. *Avrasya Dosyası Moleküler Biyoloji ve Gen Teknolojileri Özel.* 2002;8(3):129-41.
- Baxevanis AD, Ouellette BFF. *Bioinformatics: A Practical Guide to the Analysis of Genes and Proteins.* 2<sup>nd</sup> ed. New York: John Wiley & Sons Inc; 2001. p.470. [Crossref]
- Barel G, Herwig R. Network and pathway analysis of toxicogenomics data. *Front Genet.* 2018;9:484. [Crossref]
- Suter L, Babiss LE, Wheeldon EB. Toxicogenomics in predictive toxicology in drug development. *Chem Biol.* 2004;11(2):161-71. [Crossref]
- Gao Y, Cao Z, Yang X, Abdelmegeed MA, Sun J, Chen S, et al. Proteomic analysis of acetaminophen-induced hepatotoxicity and identification of heme oxygenase 1 as a potential plasma biomarker of liver injury. *Proteomics Clin Appl.* 2017;11(1-2). [Crossref]
- Rouquié D, Heneweir M, Botham J, Ketelslegers H, Markell L, Pfister T, et al. Contribution of new technologies to characterization and prediction of adverse effects. *Crit Rev Toxicol.* 2015;45(2):172-83. [Crossref]
- Leclercq I, Horsmans Y, Desager JP, Delzenne N, Geubel AP. Reduction in hepatic cytochrome P-450 is correlated to the degree of liver fat content in animal models of steatosis in the absence of inflammation. *J Hepatol.* 1998;28(3):410-6. [Crossref]
- Omičinski CJ, Hassett C, Costa P. Developmental expression and in situ localization of the phenobarbital-inducible rat hepatic mRNAs for cytochromes CYP2B1, CYP2B2, CYP2C6, and CYP3A1. *Mol Pharmacol.* 1990;38(4):462-70.
- Barlev NA, Candau R, Wang L, Darpino P, Silverman N, Berger SL. Characterization of physical interactions of the putative transcriptional adaptor, ADA2, with acidic activation domains and TATA-binding protein. *J Biol Chem.* 1995;270(33):19337-44. [Crossref]
- Zhong W, Mirkovitch J, Darnell JE Jr. Tissue-specific regulation of mouse hepatocyte nuclear factor 4 expression. *Mol Cell Biol.* 1994;14(11): 7276-84. [Crossref]
- Gant TW, Baus PR, Clothier B, Riley J, Davies R, Judah DJ, et al. Gene expression profiles associated with inflammation, fibrosis, and cholestasis in mouse liver after griseofulvin. *EHP Toxicogenomics.* 2003;111(1T):37-43. [Crossref]
- Gant TW, Greaves P, Smith AG, Gescher A. Toxicogenomics applied to understanding cholestasis and steatosis in the liver. In: Borlak J, ed. *Handbook of Toxicogenomics.* 1<sup>st</sup> ed. Weinheim: Wiley-VCH; 2005. p.369-94. [Crossref]
- Thum T, Borlak J. Toxicogenomics applied to cardiovascular toxicity. In: Borlak J, ed. *Handbook of Toxicogenomics.* 1<sup>st</sup> ed. Weinheim: Wiley-VCH; 2005. p.395-412. [Crossref]
- Arrell DK, Neverova I, Van Eyk JE. Cardiovascular proteomics: evolution and potential. *Circ Res.* 2001;88(8):763-73. [Crossref]
- Deavall DG, Moggs JG, Orphanides G. Toxicogenomics applied to endocrine disruption. In: Borlak J, ed. *Handbook of Toxicogenomics.* 1<sup>st</sup> ed. Weinheim: Wiley-VCH; 2005. p.413-33. [Crossref]
- Waters KM, Safe S, Gaido K. Differential gene expression in response to methoxychlor and estradiol through ERalpha, ERbeta, and AR in reproductive tissues of female mice. *Toxicol Sci.* 2001;63(4):47-56. [Crossref]
- Hewitt PG, Kramer PJ, Borlak J. Toxicogenomics applied to teratogenicity studies. In: Borlak J, ed. *Handbook of Toxicogenomics.* 1<sup>st</sup> ed. Weinheim: Wiley-VCH; 2005. p.435-69. [Crossref]
- Rosen MB, Chernoff N. 5-Aza-2'-deoxycytidine-induced cytotoxicity and limb reduction defects in the mouse. *Teratology.* 2002;65(4):180-90. [Crossref]
- Lühe A, Hildebrand H. Toxicogenomics applied to nephrotoxicity. In: Borlak J, ed. *Handbook of Toxicogenomics.* 1<sup>st</sup> ed. Weinheim: Wiley-VCH; 2005. p.471-86. [Crossref]
- Katsuma S, Shiojima S, Hirasawa A, Takagaki K, Kaminishi Y, Koba M, et al. Global analysis of differentially expressed genes during progression of calcium oxalate nephrolithiasis. *Biochem Biophys Res Commun.* 2002;296(3):544-52. [Crossref]
- McGregor E, Dunn MJ. Proteomics of the heart: unraveling disease. *Circ Res.* 2006;98(3):309-21. [Crossref]
- Wulfkuhle JD, Liotta LA, Petricoin EF. Proteomic applications for the early detection of cancer. *Nat Rev Cancer.* 2003;3(4):267-75. [Crossref]
- Qin C, Tanis KQ, Podtelezhnikov AA, Glaab WE, Sistare FD, DeGeorge JJ. Toxicogenomics in drug development: a match made in heaven? *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2016;12(8):847-9. [Crossref]
- Alexander-Dann B, Pruteanu LL, Oerton E, Sharma N, Berindan-Neagoe I, Módos D, et al. Developments in toxicogenomics: understanding and predicting compound-induced toxicity from gene expression data. *Mol Omics.* 2018;14(4): 218-36. [Crossref]