

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

Fakulta elektrotechniky
a komunikačních technologií

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

**FAKULTA ELEKTROTECHNIKY
A KOMUNIKAČNÍCH TECHNOLOGIÍ**

FACULTY OF ELECTRICAL ENGINEERING AND COMMUNICATION

ÚSTAV BIOMEDICÍNSKÉHO INŽENÝRSTVÍ

DEPARTMENT OF BIOMEDICAL ENGINEERING

**INTERAKCE LÉČIV UŽÍVANÝCH PŘI LÉČBĚ
SCHIZOFRENIE A JEJICH DOPROVODNÝCH PŘÍZNAKŮ**

INTERACTIONS OF DRUGS USED TO TREAT SCHIZOPHRENIA AND THEIR ACCOMPANYING
SYMPTOMS

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Jana Musilová

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Mgr. Pavlína Koščová

BRNO 2017

Bakalářská práce

bakalářský studijní obor **Biomedicínská technika a bioinformatika**

Ústav biomedicínského inženýrství

Studentka: Jana Musilová

ID: 173572

Ročník: 3

Akademický rok: 2016/17

NÁZEV TÉMATU:

Interakce léčiv užívaných při léčbě schizofrenie a jejich doprovodných příznaků

POKYNY PRO VYPRACOVÁNÍ:

1) Provedte literární rešerši léčby schizofrenie a vypracujte stručný úvod jejího současného vývoje, seznamte se s teorií grafů a analýzou (biologických) sítí. 2) Vyhledejte informace o běžně používaných lécích a důležitých proteinových interakcích dané nemoci z volně dostupných databází. 3) Sestavte síť vedlejších účinků léčiv užívaných při léčbě schizofrenie a jejich doprovodných příznaků. 4) Vypracujte analýzu a vizualizaci interakcí za využití nástroje Cytoscape a jeho vybraných pluginů. 5) Provedte statistické vyhodnocení dat a diskuzi získaných výsledků.

DOPORUČENÁ LITERATURA:

[1] SUN, J., M. ZHAO, A. H. FANOUS a Z. ZHAO. Characterization of Schizophrenia Adverse Drug Interactions through a Network Approach and Drug Classification. BioMed Research International, 2013, s. 1–10. ISSN 2314-6133, 2314-6141.

[2] FURLONG, Laura I. Human diseases through the lens of network biology. Trends in Genetics, 2013, s. 150–159. ISSN 01689525.

Termín zadání: 6.2.2017

Termín odevzdání: 2.6.2017

Vedoucí práce: Mgr. Pavlína Koščová

Konzultant:

prof. Ing. Ivo Provazník, Ph.D.
předseda oborové rady

UPOZORNĚNÍ:

Autor bakalářské práce nesmí při vytváření bakalářské práce porušit autorská práva třetích osob, zejména nesmí zasahovat nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a musí si být plně vědom následků porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení části druhé, hlavy VI. díl 4 Trestního zákoníku č. 40/2009 Sb.

ABSTRAKT

Práce se zabývá studiem interakcí antipsychotických léčiv a jejich doprovodných účinků. Stručně popisuje vědní obor vývoj léčiv (drug discovery) a příbuzné vědní disciplíny, zejména se pak zaměřuje na problematiku analýzy biologických sítí. Součástí práce je i charakterizace nemoci schizofrenie a její léčby. Cílem práce je vytvoření skriptu v jazyce R pro automatické stahování dat z volně dostupných databází a vyhledání nejvýznamnějších interakcí vybraných medikamentů a jejich cílů na základě vizualizace a analýzy sítí pomocí nástroje Cytoscape a jeho pluginů a specifikace obdobných farmakologických vlastností nejvýznamnějších léčiv.

KLÍČOVÁ SLOVA

síťová analýza, schizofrenie, antipsychotika, navrhování léčiv, Cytoscape

ABSTRACT

The thesis studies interactions and side effects of antipsychotic drugs. It describes the drug discovery and related scientific fields - especially the field of biological network analysis. The thesis also describes schizophrenia and its treatment. The aim of the work is creating script in R language for automatic data download from open source databases and a search of the most significant drug interactions in data from the open source databases, based on the visualisation and analysis of networks with Cytoscape software and its plugins, and a specification of similar pharmacological features of the most important medicaments.

KEYWORDS

network analysis, schizophrenia, antipsychotics, drug design, Cytoscape

MUSILOVÁ, J. *Interakce léčiv užívaných při léčbě schizofrenie a jejich doprovodných příznaků*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií. Ústav biomedicínského inženýrství, 2017. 47 s.
Bakalářská práce. Vedoucí práce: Mgr. Pavlína Koščová

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci na téma Interakce léčiv užívaných při léčbě schizofrenie a jejich doprovodných příznaků jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucí bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou všechny citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce.

Jako autor uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že v souvislosti s vytvořením této bakalářské práce jsem neporušila autorská práva třetích osob, zejména jsem nezasáhla nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a/nebo majetkových a jsem si plně vědoma následků porušení ustanovení § 11 a následujících zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení části druhé, hlavy VI. díl 4 Trestního zákoníku č. 40/2009 Sb.

V Brně dne

.....
(podpis autora)

PODĚKOVÁNÍ

Děkuji vedoucí bakalářské práce Mgr. Pavlíně Koščové za odbornou pomoc, trpělivost, čas, který mi věnovala a za mnoho velmi cenných rad při zpracování mé závěrečné práce.

V Brně dne

.....
(podpis autora)

OBSAH

Seznam obrázků	vi
Seznam tabulek	vii
Úvod	8
1 Vývoj léčiv	9
1.1 Sít'ová farmakologie	10
1.2 Teorie grafů.....	13
1.3 Analýza biologických sítí	16
2 Schizofrenie	18
2.1 Obecná charakteristika onemocnění	18
2.2 Léčba.....	19
2.2.1 Klasická léčba	20
2.2.2 Alternativní léčba.....	20
3 Dolování a zpracování dat	22
3.1 Databáze.....	22
3.1.1 DrugBank.....	23
3.1.2 Reactome.....	23
3.2 Výpočetní nástroje sít'ové farmakologie.....	23
3.2.1 Cytoscape.....	24
4 Sít'ová analýza léčiv scz	26
4.1 Získ dat.....	26
4.2 Vložení a vizualizace v Cytoscape	29
4.2.1 Interakční sít'	29
4.2.2 Sít' cílů	30
4.3 Analýza v Cytoscape.....	31
4.3.1 Interakční sít'	32
4.3.2 Sít' cílů	33
4.3.3 Identifikace nejvýznamnějších uzlů.....	35
4.4 Statistické vyhodnocení výsledků.....	38

4.4.1	Interakční síť	38
4.4.2	Síť cílů	39
5	Závěr	40
	Literatura	41
	Seznam použitých zkratk	44
	Obsah přiloženého CD	45

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Interaktom v lidském těle. Přejato a upraveno z [3].	9
Obrázek 2: Le Chatelierův princip biologických sítí. Přejato a upraveno z [4].	12
Obrázek 3: Ukázka sítě obsahující modul – vzájemně propojené uzly a hrany. Přejato a upraveno z [11].	12
Obrázek 4: Neorientovaný graf s danými stupni centralit. Přejato z [12].	13
Obrázek 5: Reprezentace grafu datovými strukturami. Přejato z [12].	15
Obrázek 6: Reprezentace grafů maticovým zápisem. Přejato a upraveno z [12].	15
Obrázek 7: Výskyt slova Cytoscape v článcích zveřejněných v databázi PubMed v průběhu let 2003-2016	24
Obrázek 8: Postup praktického zpracování dat	26
Obrázek 9: Ilustrační obrázek Interakční sítě s barevně odlišenými léčivy SCZ	30
Obrázek 10: Ilustrační obrázek Sítě cílů s barevně odlišenými léčivy SCZ	31
Obrázek 11: Interakční síť s vizualizovanými hodnotami centralit	33
Obrázek 12: Síť cílů s vizualizovanými hodnotami centralit	34
Obrázek 13: Chemická struktura benzenu	35
Obrázek 14: Léčivo Haloperidol a cíle, na které působí	36
Obrázek 15: Léčivo Klopazin a cíle, na které působí	36
Obrázek 16: Léčivo Ziprasidon a cíle, na které působí	37
Obrázek 17: Léčivo Imipramin a cíle, na které působí	37

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Formy schizofrenie [16]	19
Tabulka 2: Rozdělení antipsychotik II. generace [16]	20
Tabulka 3: Přehled důležitých databází s informacemi využívanými ve vědním oboru vývoj léčiv	22
Tabulka 4: Seznam léčiv SCZ a jejich ATC stažených pomocí skriptu	29
Tabulka 5: Hodnoty centralit vybraných léčiv Interakční sítě	32
Tabulka 6: Hodnoty centralit vybraných léčiv Sítě cílů	34
Tabulka 7: Pearsonův korelační koeficient pro jednotlivé kategorie léčiv Interakční sítě	39
Tabulka 8: Pearsonův korelační koeficient Sítě cílů	39

ÚVOD

Vývoj a výzkum léčiv je klíčový při rozpoznání a boji s patologiemi organismu. Dříve se k získání poznatků o medikamentech využívaly méně sofistikované metody, zejména pokus-omyl, a to až do 19. století. Zlom nastal především díky nositeli Nobelovy ceny Paulu Ehrlichovi, který rozeznával bakterie pod mikroskopem, zjišťoval jejich stav a bezpečnost. V 2. polovině 20. století nastal velký rozvoj výpočetní techniky, což umožnilo modelovat situace, které by jinak byly v reálných podmínkách obtížně zkoumatelné. Pomocí softwarů tak mohou být získávány informace s výrazně sníženým rizikem ohrožení zdraví či dokonce života jedinců.

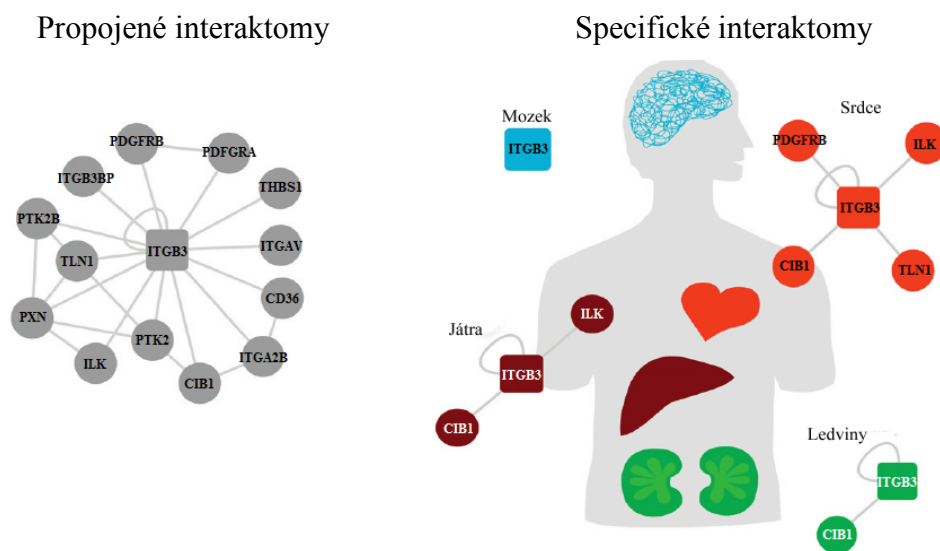
Hledání cílových molekul či zkoumání vzájemných interakcí léčiv a jejich nežádoucích účinků je podstatnou částí výzkumu onemocnění a jejich léčby. Bez tohoto výzkumu by mnohé účinky medikamentů nebyly známy, stejně jako ani jejich vzájemné vztahy, ať už pozitivní či negativní. Těchto poznatků může být využito pro hodnocení dané léčby, předejití jejímu negativnímu působení, pro zlepšení nemoci či dokonce pro její úplné vymizení.

Cílem této práce je získání teoretického základu oboru vývoje léčiv a léčby schizofrenie, automatizace sběru informací z volně dostupné databáze DrugBank pomocí vlastního skriptu v jazyce R a sestavení dvou sítí léčiv a jejich cílů k následné analýze v programu Cytoscape. První síť sestává z léčiv užívaných při léčbě schizofrenie a s nimi interagujících medikamentů. Druhá síť je tvořena vybranými léčivy a jejich cíli – proteiny. Na základě analýzy těchto vytvořených sítí je úkolem nalezení nejvýznamnějších léčiv a cílů a specifikace obdobných farmakologických vlastností určených medikamentů. Tato práce by měla přispět k lepšímu porozumění příčiny nemoci schizofrenie a zejména novým možnostem léčby s méně nežádoucími účinky a lepšími výsledky.

1 VÝVOJ LÉČIV

Drug discovery, volně přeloženo jako vývoj léčiv, je vědní obor spojující farmakologii, systémovou biologii, výpočetní techniku, bioinformatiku, matematiku, fyziku, chemii a další disciplíny s cílem získat co nejvíce informací jak o léčivech nově vyvíjených, tak o těch již používaných [1]. Obor se rozvíjel současně s poznáním genetické informace, biomolekul, sekvencí a možností využívat biologicko-technologické programy k výzkumu terapeutických cílů [2]. Těmito cíli jsou obvykle geny či proteiny, které jsou příčinou konkrétního onemocnění, resp. jež jsou terčem působení konkrétního léčiva.

V minulých letech panovala myšlenka, že určitá nemoc je dána jistým genem, a proto je ji třeba léčit léčivem „šitým“ na míru tohoto onemocnění. Nicméně nové poznatky o takto specifické medikaci byly zpochybněny a nyní se vědci přiklání k nahlížení na organismus jako na komplexní biologický systém s mnoha propojeními mezi jednotlivými komponenty [2]. Předpoklad blízkého vztahu mezi strukturou a biologickou funkcí těchto komponentů je využíván při sestavování sítí. Na základě systémového nazírání na tyto sítě lze z nich pak vyvozovat tzv. emergentní vlastnosti, tedy vlastnosti, které jsou patrné ze systému jako celku, ale nemusí být zřejmé z jeho jednotlivých částí. Příklad síťově propojených proteinů je uveden na Obrázku 1 [2],[3].



Obrázek 1: Interaktom¹ v lidském těle. Převzato a upraveno z [3].

¹ souhrn všech interakcí mezi bílkovinami (např. v lidském těle)

1.1 Sít'ová farmakologie

Název farmakologie vznikl složením dvou řeckých slov – léčivo (pharmakon) a věda (logos). Z medicínského a biologického hlediska se zabývá studiem farmak (látek, molekul), ať už přírodních či uměle vyrobených. Farmaka mají účinek na organismus nebo jeho část, a to především léčebný, ale také diagnostický, preventivní, nebo ovlivňující činnost organismu.

Sít'ová farmakologie, přeloženo z anglického názvu network pharmacology, je jedním z konceptů vědního oboru vývoj léčiv. Zabývá se vývojem léčiv zejména na základě analýzy biologických drah a interakcí medikamentů i terapeutických cílů. Snaží se na systémové úrovni porozumět vzájemnému působení mezi organismem a medikací [3]. Často využívá poznatky z polyfarmakologie, vědní disciplíny zabývající se léčivy interagujícími s více cíli [4]. Díky těmto znalostem může být sít'ová farmakologie využita ke zkoumání schopnosti léčiv ovlivňovat více proteinů, a tedy zkoumat léčbu komplexních chorob jakou je rakovina či cukrovka, vyvíjet nová léčiva, zvyšovat jejich účinnost, urychlit a zlevnit proces vývoje léčiv či zlepšit bezpečnost medikamentů [5].

Dle současných odhadů se v lidském interaktomu nachází 130 tisíc až 650 tisíc proteinových interakcí, i když ne všechny již byly identifikovány [3]. Výzkumem cílů léčiv bylo zjištěno, že proteiny, na které léčiva působí, mají průměrně více konekcí než většina proteinů, ale méně než bílkoviny korespondující se základními geny [6].

Pro sít'ovou farmakologii lze využít volně dostupných počítačových programů a mnoha přístupných dat v databázích či modelování *in silico*², tedy bez nutnosti ohrožení živých organismů. Tato vědecká disciplína byla využita v mnoha studiích pro výzkum léčiv, jejich interakcí, účinků či genů s nemocí spjatých. V rámci PubMed, sekce biomedicínských odborných článků databáze MEDLINE, je v květnu 2017 232 publikací zaměřených na téma sít'ová farmakologie [7]. Jedním příkladem je mapování interaktomů genových produktů leukémie, kde bylo pomocí konceptu sít'ové farmakologie zjištěno, že 37 lidských proteinů koresponduje alespoň se dvěma genovými produkty leukemie. Také byly objeveny koexistenční genetické změny v signalizačních cestách [8].

Biologické sítě umožňují kompletní systémový popis organismu sloužící ke zkoumání vztahů, predikci funkce genů či nových interakcí, detekci struktur proteinových komplexů nebo k interpretaci údajů genomických³ dat [5].

² počítačové zpracování modelující reálnou situaci

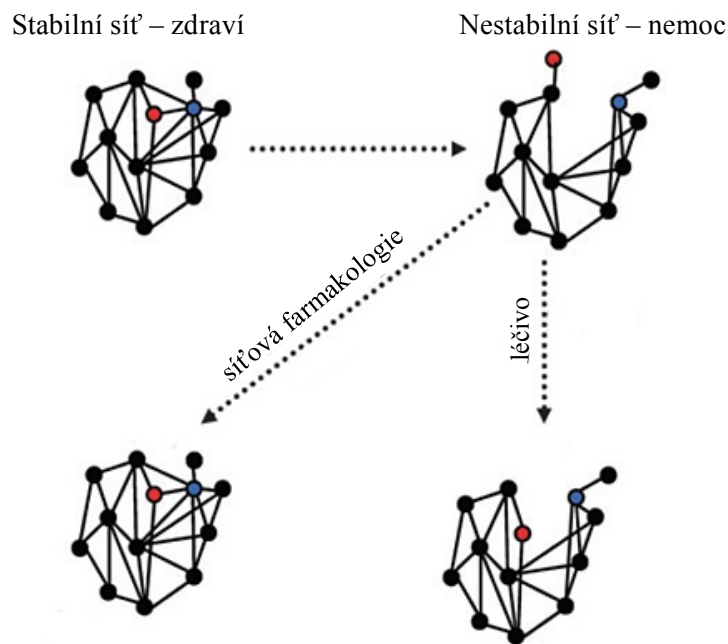
³ celková DNA obsažená v daném organismu

Obvykle vykazují vysoký stupeň robustnosti, což znamená, že i když jsou porušeny významné komponenty, dojde pouze k lokálním změnám, ale ke ztrátě globální informace nikoliv. Dokonce některé uzly⁴ dokáží přenášet informace, i pokud jsou výrazně poškozeny. Přestože jsou biologické sítě velmi tolerantní k poruchovosti, odstranění i několika málo vitálních uzlů může mít pro její funkčnost fatální následky [9].

Ke zjednodušenému znázornění biologických sítí se využívají grafy, definované jako uspořádané dvojice uzlů a hran: $G = (V, E)$, kde G značí graf, V uzly a E hrany [10]. Uzly představují proměnné, hrany zastupují spojnice mezi proměnnými. Takto vizualizovaný popis organismu je sice zjednodušený a zanedbává mnohé charakteristiky komponent, nicméně usnadňuje analýzu a modelování velmi rozsáhlých dat [11].

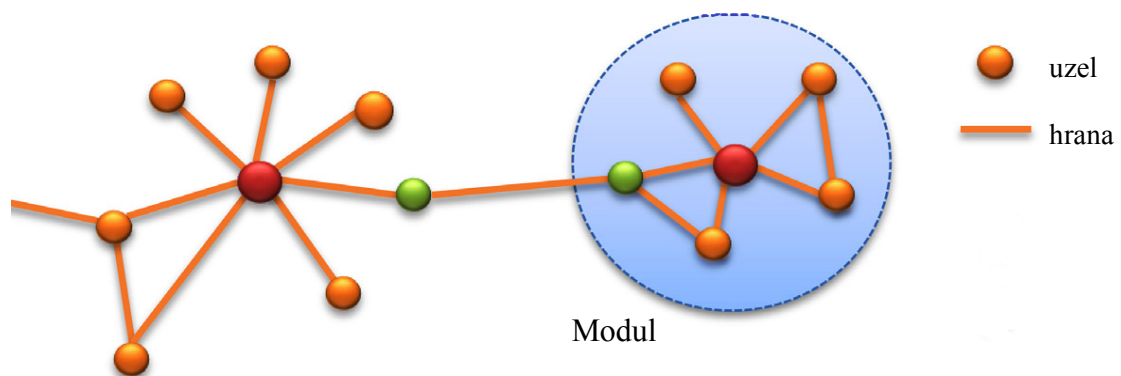
Základní poznatky týkající se výzkumu biologických sítí přinesli vědci Schilling a Le Chatelier. Schilling v roce 1999 konstatoval, že organismus udržuje konstantní rovnováhu, tedy biologická síť je stabilní, má specifickou strukturu a topologii. Pokud ale dojde k odchylce, síť se změní, přestane vykazovat stabilitu a strukturu, organismus podlehně nemoci [1]. Le Chatelier uvedl princip, který říká, že pokud dojde ke změně v organismu/síti, úlohou léčiv je navrácení stability uvedením zpět do rovnovážného stavu, nebo alespoň minimalizace vychýlení původního stavu [4]. Tento princip je dobře aplikovatelný i v síťové biologii a je zobrazený na Obrázku 2 spolu se znázorněním rekonstrukce sítě pomocí síťové farmakologie.

⁴ proměnné znázorňující geny či proteiny v biologických sítích



Obrázek 2: Le Chatelierův princip biologických sítí. Převzato a upraveno z [4].

Stěžejní je také hypotéza předpokládající komunikaci mezi proteiny podílejícími se na jedné nemoci a tvořícími takzvané moduly (*viz Obrázek 3*). Tyto moduly mohou být chápány jako skupiny podobných a vzájemně se ovlivňujících prvků. Pokud dojde k poruše určitého modulu, obvykle se dostaví choroba. Z toho vychází pojmenování „moduly nemocí“ pro poškozené moduly a „funkční moduly“ pro nepoškozené [3].



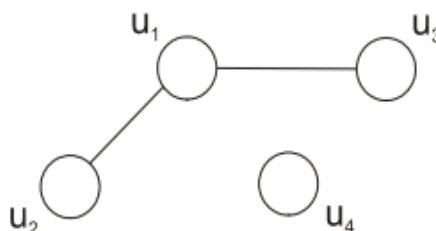
Obrázek 3: Ukázka sítě obsahující modul – vzájemně propojené uzly a hrany. Převzato a upraveno z [11].

1.2 Teorie grafů

Grafy jsou rozšířené znázorňovací prvky využívané v mnoha oblastech vědy, ale i v běžném životě. Příkladem je slavný matematický problém známý jako sedm mostů města Královce. Úkolem je najít cestu přes všechny mosty tak, aby každý byl přejit pouze jedenkrát. L. Euler v roce 1736 dokázal, že to možné není, jelikož mosty netvoří tzv. eulerovský graf, což znamená, že cestu nelze nakreslit pouze jedním tahem [12].

Pro lepší orientaci v grafech byly zavedeny pojmy stupeň uzlu, představující počet hran vycházejících z daného uzlu; nezávislá množina, což je označení pro podmnožinu uzlů mezi kterými se nevyskytují žádné hrany; souvislý graf – graf mezi jehož každými dvěma uzly existuje cesta a pro m uzlů má alespoň $m-1$ hran; uzlově ohodnocený graf neboli graf, který má v uzlech uloženy jisté údaje [10]. Příklad grafu a stupňů jeho uzlů je znázorněn na Obrázku 4.

Grafy můžeme rozlišit na orientované a neorientované. U orientovaných grafů je směr hran vyjádřen šipkami znázorňujícími cestu a hrany pak představují uspořádané dvojice uzlů. Neorientované grafy šipky nemají, jak je vidět na Obrázku 4, hrany se tedy označují jako množiny [10]. Dále existují grafy smíšené obsahující orientované i neorientované hrany [12].



$$d(u_1)=2 \quad d(u_2)=1 \quad d(u_3)=1 \quad d(u_4)=0$$

Obrázek 4: Neorientovaný graf s danými stupni centralit. Převzato z [12].

Další možné rozdělení grafů je na základě distribuce funkce $P(k)$, neboli pravděpodobnosti propojení uzlu s dalšími uzly. Do první skupiny se řadí grafy, kde vysoká k znamenají exponenciální rozložení a každý uzel má průměrně stejný počet hran, sítě tedy bývají označovány jako homogenní. Nehomogenní sítě patří do druhé skupiny, nemají charakteristické měřítko, nemohou mít exponenciální rozložení z důvodu obsahu vysoce propojených uzlů, které mají v síti velký význam. Nehomogenní sítě zahrnují dvě složky společné s reálnými sítěmi, jsou to růst a preference. Model takovýchto sítí začíná s m_0 uzly a v každém časovém kroku t je zaveden nový uzel a spojen s m již zavedených uzlů [9].

Provázanost sítě se určuje ze stupně uzlu d , který vyjadřuje průměrnou nejkratší délku mezi dvěma danými uzly a tím určuje schopnost komunikace těchto uzlů. Pro homogenní sítě platí, že pokud dojde k poruše určitého uzlu, vzdálenost pro komunikaci mezi dalšími uzly se obecně zvýší a také může dojít až k odstranění jisté komunikační cesty. Stupeň d se s poruchami uzlů zvyšuje monotónně. To je zapříčiněno přibližně stejným počtem propojení všech uzlů, které tedy přibližně stejně přispívají k hodnotě d . Pro nehomogenní sítě průměr zůstává stejný i při různé chybovosti. Z toho vyplývá, že nedochází ani k chybám v komunikaci při poruše některého uzlu jako tomu je u sítí homogenních. Pokud ale je poškozeno 5 % a více uzlů, které jsou nejvíce propojené, a tedy i nejvýznamnější, dochází k rapidnímu zvyšování d , drastickým změnám v topologii sítě a chybám v komunikaci [9].

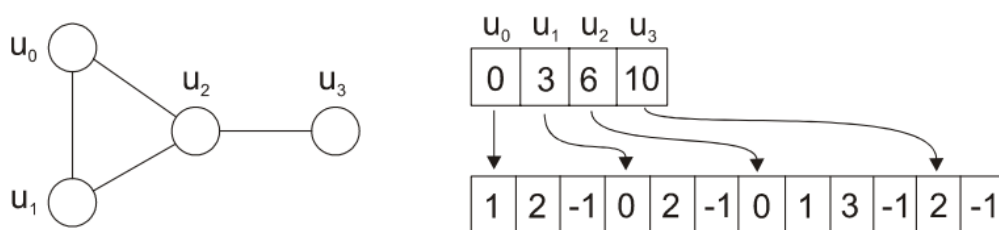
Prohledávání grafů je velmi významné, pokud je prováděna analýza všech uzlů. Existují dva možné průchody – do šířky a do hloubky. Prohledávání do šířky (BFS, angl. breadth-first search) je založeno na principu vytvoření fronty daného počtu uzlů s , $s \in V$, kam se ukládají ty uzly, které ještě nebyly pro výpočet použity a navštěvují se postupně podle pořadí ve frontě. Zároveň je počítána nejkratší vzdálenost všech uzlů od aktuálně počítaného uzlu [13].

Při prohledávání do hloubky (DFS, angl. depth-first search) se procházejí všechny uzly, ale je nutné, aby každý uzel byl projit pouze jedenkrát. K tomu slouží obvykle pomocné proměnné. Procházení uzlů probíhá postupně, z aktuálního se přechází do sousedního. Také je nutné vytvořit zásobník, což je soubor uzlů, které momentálně není možné projít. Například pokud má jistý uzel dva sousedy, jeden z nich je uložen do zásobníku a využit později, když aktuálně procházený uzel nemá souseda [12].

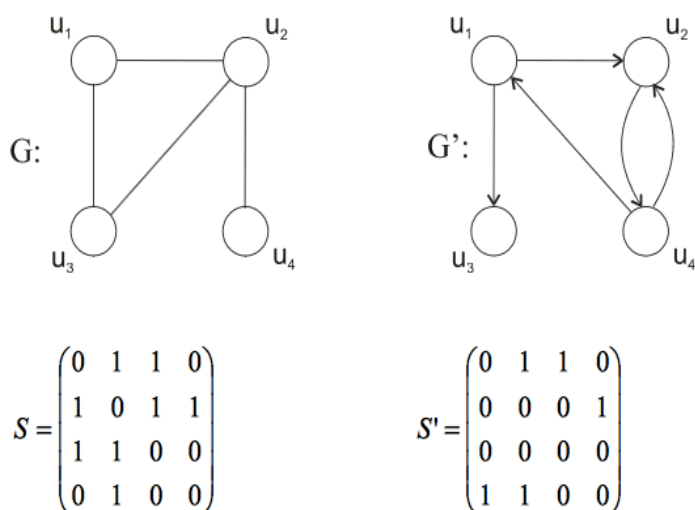
Vzdálenosti mezi uzly, tedy délky hran, jsou velmi významné hodnoty pro mnoho grafových analýz. Existuje několik možností, jak hodnoty délek hran získat. První varianta, Dijkstrův algoritmus, hledá nejkratší cestu mezi dvěma zvolenými uzly tak, že jeden z nich je zvolen jako výchozí a postupně jsou počítány délky různých cest k druhému uzlu. První vypočtená délka je uložena do proměnné a každá další hodnota délky je s proměnnou porovnávána. Je-li současná hodnota nižší než předchozí, proměnná je přepsána na aktuální délku cesty. Pokud je cílem výpočtů získání vzdáleností mezi všemi uzly, je sice možné využít již popsanou metodu a aplikovat ji na všechny uzly, ale mnohem efektivnější je algoritmus Floydův-Warshallův, který vypočítá matice vzdáleností pro všechny možné uzly a z nich poté vybírá minima odpovídající nejkratším cestám [12].

Reprezentace grafů je možná několika způsoby: diagramem (viz *Obrázek 4*), definicí (matematickým zápisem), datovými strukturami (viz *Obrázek 5*) a maticemi (viz *Obrázek 6*). První dva způsoby jsou pro zpracování objemných dat velmi náročné a neefektivní. V maticové reprezentaci pro obyčejné grafy platí, že na hlavní diagonále jsou nuly; pro neorientované grafy je matice symetrická podle hlavní diagonály a počet jedniček je roven dvojnásobku počtu hran; počet jedniček v matici orientovaného grafu odpovídá počtu hran. Datové struktury se využívají zejména v počítačových programech, i zde mohou být využity matice, častější jsou ale reprezentace pomocí polí či dynamickou datovou strukturou [12].

Ve farmakologii sítí se mnohdy vyskytují objemná a nepřehledná data, která je třeba rozlišit, aby byl možný zisk potřebných informací. To je možné například vybráním podgrafu, očíslováním či barvením grafů na základě algoritmů. [13].



Obrázek 5: Reprezentace grafu datovými strukturami. Převzato z [12].



Obrázek 6: Reprezentace grafů maticovým zápisem. Převzato a upraveno z [12].

1.3 Analýza biologických sítí

Jednou z variant, jak získat klinicky využitelná data pro diagnostiku a léčbu z velkého množství informací, je analýza biologických sítí [3] založená na myšlence, že onemocnění je důsledkem poruchy v těchto sítích. Analýza také umožňuje zhodnocení síťových vlastností genů či určení nejvýznamnějších proteinů, které jsou základem patologického stavu [5]. Analyzovat biologické sítě je sice složitější v porovnání například se sekvenčními daty, ale umožňují komplexnější porozumění problémům buněčné biologie [14].

Existuje několik typů analýz různých biologických sítí. Patří sem například analýzy interakcí proteinů, interakcí léčiv, analýza vedlejších účinků léčiv či identifikace genů způsobujících onemocnění.

Strukturní vlastnosti biologických sítí se dělí na tři oblasti. První oblast popisuje topologické vlastnosti sítě spjaté pouze s jedním uzlem, jeho významnost, hodnoty centrality a stupně. Například uzly s vysokou centralitou jsou považovány za významné, s vysokou hodnotou stupně za ty, které způsobují nemoc v případě uzlů reprezentujících geny. Druhá část je zaměřena na celou síť, zahrnuje všechny uzly a také hrany. Do poslední oblasti se řadí chování podsítě, často popisované moduly a motivy. Moduly jsou podsítě značící vysoký stupeň shlukování, motivy pak značí četnější výskyt podsítě, než jaký byl očekáván. Motivы jsou obvykle menší s počtem tří, čtyř až pěti uzlů oproti modulům, které obsahují i přes sto uzlů [14].

V mnoha případech je pro porozumění struktury a funkce sítě nezbytné uspořádání této sítě. K tomuto účelu slouží algoritmy založené na faktorizaci⁵ matic či klasifikaci. Zarovnání může být provedeno globálně či lokálně. Cílem globálního zarovnání je nalezení co nejlepšího uspořádání skrz všechny uzly současně. To je ale výpočetně a časově náročné zejména pro obsáhlá data z důvodu prohledávání celé sítě. Lokálním zarovnáním se tento problém eliminuje, jelikož algoritmy pracují pouze s nalezeným úsekem sítě, který je izomorfní, tedy velmi podobný [14].

Při síťové analýze působení léčiv existuje celá řada možností uspořádání sítí na základě různých typů uzlů a hran. Jednou z nich jsou tzv. interagující sítě, ve kterých jsou spojeny uzly léčiv s uzly cílových proteinů. Uzly cílových proteinů jsou navázány na další proteiny, které interagují s léčivem cílových proteinů a ty mohou být opět propojeny s dalšími proteiny.

⁵ rozložení na činitele

Výhodou interagujících sítí je snadné rozpoznání potencionálních příchozích a odchozích interaktorů daného uzlu, což je významné pro identifikaci komunikačních drah a regulačních motivů. Vysoce specifické biologické sítě užívané pro studium celých systémů jsou obvykle založeny na sítích interagujících, je ale nutná dobrá znalost hran a uzlů obsažených v dané síti. Poté je možno kombinovat různé úrovně organizace složitých sítí na základě domněnky, že tyto úrovně spolu souvisejí [15].

2 SCHIZOFRENIE

2.1 Obecná charakteristika onemocnění

Schizofrenie (SCZ) se řadí mezi psychotická onemocnění, psychózy. Její příčinou je narušená selektivita vnímání. To je pravděpodobně následkem zvýšené hladiny neurotransmiterů⁶ v mozku, zejména dopaminu a noradrenalinu a snížením objemu některých mozkových struktur [16]. Dosud ovšem není známo, čím je způsobena. Genetické predispozici se přisuzuje velký vliv, dále se spekuluje o vzniku z důvodu virové infekce, stresového prožitku, či nedostatečné sociální stability a interakci v dětství.

Příznaky se obvykle začnou objevovat v období puberty a ve většině případů přetrvávají po celý život. Dělí se na pozitivní a negativní, ve smyslu „přebývá a chybí“ nikoli „dobré a špatné“. Pozitivní souvisí se zvýšenou dopaminergní aktivitou a řadí se k nim halucinace (poruchy vnímání), bludy a dezorganizace (poruchy myšlení). K negativním příznakům patří zejména nízká emotivita, neschopnost prožívat radost, sociální stažení, ochuzení řeči a myšlení, porucha motoriky, osobnosti či paměti. Mezi další příznaky patří také kognitivní dysfunkce, která spočívá v narušení poznávacích schopností a je složena z měřitelných komponent [16].

Diagnostika a klasifikace

Dle 10. revize Mezinárodní klasifikace nemocí (MKN-10), tvořené Světovou zdravotnickou organizací, se SCZ diagnostikuje na základě přítomnosti příznaků rozdělených do dvou skupin, kdy pro pozitivní diagnózu musí být u pacienta přítomen alespoň jeden příznak z první skupiny, nebo alespoň dva z druhé. V první skupině se nachází například ozvučování nebo vysílání myšlenek, bludy ovlivňování či kontrolování, sluchové halucinace komentující chování nemocného. Do druhé skupiny patří mimo jiné přetrvávající halucinace vyskytující se každý den alespoň jeden měsíc, vkládání jiných myšlenek do probíhajícího myšlenkového proudu, katatonní projevy⁷, negativní symptomy [17]. Tento typ diagnostiky je označován jako deskriptivní fenomenologie [16].

Schizofrenie je klasifikována podle MKN-10 označením F 20 a dle převažující psychopatologie se dělí do dalších forem (*viz Tabulka 1*).

⁶ látka uvolňovaná neurony sloužící k přenosu nervových vzruchů

⁷ tělesné a psychické projevy, např. poruchy nálady, stereotypní pohyby

Tabulka 1: Formy schizofrenie [16]

Označení	Název	Popis
F 20.0	paranoidní schizofrenie	dominující relativně stálé, často paranoidní bludy a halucinace, poruchy nálady, vůle a řeči
F 20.1	hebefenní schizofrenie	neodpovědné a nepředvídatelné chování a emoce, inkoherentní verbální projev
F 20.2	katatonní schizofrenie	poruchy motoriky, grimasování, manýrování, stereotypie v chování a verbálním projevu
F 20.3	nediferencovaná schizofrenie	více forem symptomatologie
F 20.4	postpsychotická deprese	depresivní stav se schizofrenními poruchami v pozadí
F 20.5	reziduální schizofrenie	podivínství, zanedbávání sebe i okolí
F 20.6	simplexní schizofrenie	oploštění emotivity, postupné stažení

2.2 Léčba

Schizofrenie se řadí mezi heterogenní poruchy, to znamená, že ovlivňuje řadu psychických funkcí a liší se u každého jedince, proto není jednotná ani medikace [16]. Ve většině případů je léčena farmakologicky pomocí antipsychotik, méně často elektrokonvulzivně⁸. Další možností je alternativní léčba, o které bude zmíněno později.

⁸ propouštění elektrických proudů v rozmezí 300 mA – 400 mA mozkiem pacienta po velmi krátkou dobu

2.2.1 Klasická léčba

Za klasickou léčbu je považováno podávání psychofarmak, konkrétně antipsychotik (AP) s primárním cílem omezení, ideálně úplného vymizení příznaků SCZ. Prvním léčivem vyvinutým k léčbě psychóz byl chlorpromazin, následoval stabilizátor nálady lithium a antidepresiva iproniazid a imipramin. Léčiva vyvíjená především v první části minulého století, v menší míře dodnes, jsou hromadně označována jako antipsychotika první generace. Jsou to například zmiňovaný chlorpromazin, z dalších haloperidol či flupenthixol. V 90. letech minulého století vznikla antipsychotika druhé generace, nazývaná také atypická. Mají větší efektivitu oproti AP I. generace, a také méně četné nežádoucí příznaky, zejména extrapyramidový účinek [16]. Rozdělují se do čtyř skupin podle receptorového profilu (*viz Tabulka 2*).

Tabulka 2: Rozdělení antipsychotik II. generace [16]

Kategorie	Léčivo
specifiční D ₂ a D ₃ antagonisté, substituované benzamidy	tiaprid, sulpirid, amisulpirid
antagonisté serotoninu a dopaminu (SDA)	risperidon, paliperidon, ziprasidon, sertindol
multireceptoroví antagonisté (MARTA)	klozapin, olanzapin, quetinapin, zotepin
dopaminové a serotoninové stabilizátory (DSSS)	aripiprazol

2.2.2 Alternativní léčba

Pod tímto pojmem se nachází řada léčebných metod, které se obvykle odvrací od běžné, farmakologické léčby. Patří sem zejména psychoterapie, často vycházející z dávných metod léčitelů a šamanů, využívající například hudbu, tanec či malování.

Další možností alternativní léčby je fytotherapie, tedy bylinná léčba. Byliny se u psychiatrických onemocnění nejčastěji využívají jako sedativa a hypnotika. Z nejznámějších to jsou kozlík lékařský, meduňka lékařská, levandule lékařská [17].

Dříve se k léčbě psychóz využívaly i drogy, ale po zjištění velkých negativních účinků a četného zneužívání se od nich upustilo a byly zcela zapovězeny. V posledních letech zájem o tuto léčbu opět vzrostl, zejména z důvodu možnosti testování *in silico*.

Výsledky pokusů ukázaly, že některé drogy jsou pro léčbu vhodné, dokonce mohou mít i méně špatných vlivů než klasická léčba. U schizofrenie jsou to zejména kanabidiol (CBD) [18], diethylamid kyseliny lysergové (LSD) [19], Ayahuasca, psilocybin, N,N-dimethyltryptamin (DMT), 3,4-methylendioxy-N-methylamfetamin (MDMA, extáze) a ketamin [17].

3 DOLOVÁNÍ A ZPRACOVÁNÍ DAT

3.1 Databáze

V Tabulce 3 jsou uvedeny názvy, popis a odkazy na nejznámější, velmi obsáhlé databáze s informacemi využívanými ve vědním oboru vývoj léčiv. Uvedené databáze jsou tvořeny a kontrolovány odborníky s cílem poskytnutí již získaných vědomostí dalším badatelům a jsou volně přístupné. Pro získání informací nezbytných pro tento projekt, tedy výzkum interakce léčiv užívaných při léčbě schizofrenie, byla použita databáze DrugBank, jejíž podrobnější popis se nachází v následující podkapitole.

Tabulka 3: Přehled důležitých databází s informacemi využívanými ve vědním oboru vývoj léčiv

Název	Popis	Odkaz
DrugBank	obsáhlá databáze léčiv	www.drugbank.ca
Gene Ontology	informace o genech a jejich produktech	www.geneontology.org
Guide to Pharmacology	databáze léčiv a jejich cílů	www.guidetopharmacology.org
HitPredict	databáze proteinových interakcí	hintdb.hgc.jp/http/index.html
KEGG	encyklopedie genů a genomů	www.genome.jp/kegg
PharmDB	farmakologická databáze	www.pharmdb.org
Reactome	databáze biologických drah	www.reactome.org
Sider	databáze vedlejších účinků léčiv	sideeffects.embl.de
String	databáze proteinových interakcí	www.string-db.org

3.1.1 DrugBank

The DrugBank je bioinformaticko-chemoinformatická komplexní databáze se zaměřením na informace kvantitativní, analytické a v molekulárním měřítku. Obsahuje podrobná data o tisících léků a jejich cílů, které jsou odborníky ověřována, je tedy možné považovat je za důvěryhodná [20].

Každý medikament je zařazen v jedné DrugCard, kde jsou uvedeny veškeré dostupné informace jako název, kód, popis, struktura, indikace, vedlejší účinky, interakce s jinými léčivy, cíle a další [21]. Databáze umožňuje zkoumat léčiva ve velmi rozsáhlé míře – *in silico*, zejména tvořit sítě, 3D modely, vizualizace, srovnávat podobnosti, objevovat nové sloučeniny, stanovovat cíle.

3.1.2 Reactome

Reactome je volně přístupná databáze biologických drah sloužící jako zdroj pro základní výzkum, analýzu genomu, vizualizaci drah a systémovou biologii. Na základě analýzy umožňuje ID mapování⁹, určování drah a také analýzu uživatelem dodaných dat [22].

Datový model zjednodušuje koncept reakcí jako transformace klasické biologie, entit (nukleových kyselin, malých molekul, makromolekulárních komplexů a proteinů) a interakce za vzniku komplexů. Toto zobecnění umožnilo zkoumat mnoho biologických procesů zahrnujících signalizaci, metabolismus, regulaci transkripce a další [22].

3.2 Výpočetní nástroje síťové farmakologie

Nejpodstatnějším úkolem při navrhování léčiv je zjištění jejich ideálních vlastností. Velmi užitečná je v tomto směru i analýza a vizualizace obsáhlých sítí v rámci síťové farmakologie. Data by jinak byla velmi nepřehledná a tudíž nepoužitelná. K tomuto účelu byly vytvořeny výpočetní nástroje, které na základě matematických operací přepočítávají vložená data na srozumitelné výsledky, obvykle grafy a číselné hodnoty. K volně dostupným patří například Cytoscape, VisANT, Gephi, BiologicalNetworks a další.

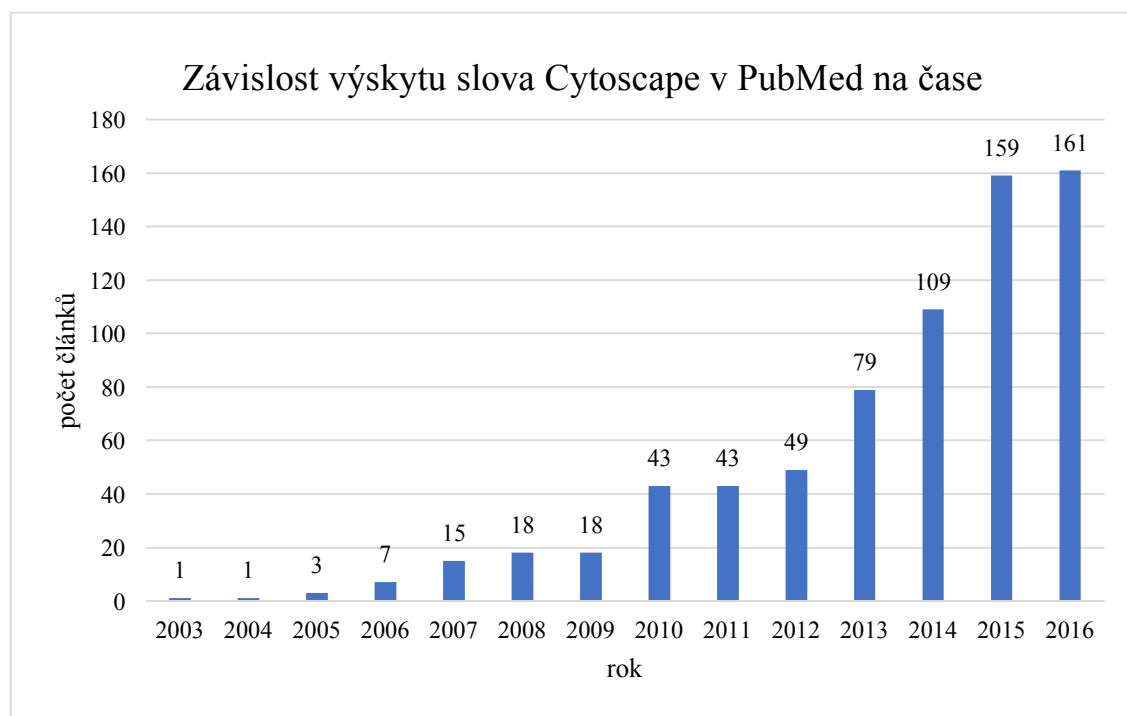
Z uvedených programů je Cytoscape často volen pro výzkum nejen biologických sítí zejména pro jeho snadné intuitivní ovládání, open source platformu či velké množství funkcí. Z těchto důvodů je Cytoscape využit i v této práci.

⁹ mapování identifikátorů

3.2.1 Cytoscape

Cytoscape je software vytvořený v programovacím jazyce Java pro operační systémy Windows, Mac OS a Linux ke komplexní vizualizaci a analýze sítí molekulárních a chemických interakcí a biologických cest. Původně byl určen pouze pro soukromé využití vědci v biologickém výzkumu, nyní je volně přístupný (open source) [23].

O častém využívání programu v biomedicínském výzkumu svědčí i fakt, že v rámci PubMed Central existuje v květnu 2017 více než 9 000 publikací vyhledaných na základě slova Cytoscape, v sekci PubMed 800 publikací [24]. Narůstající využití nástroje Cytoscape za posledních třináct let v publikovaných článcích v databázi NCBI PubMed je znázorněno na Obrázku 7. Příkladem z mnoha je výzkum podobný v této práci, Interakce nežádoucích účinků při léčbě schizofrenie [25], ve kterém jsou porovnávány interakce antipsychotik první a druhé generace s léčivy využívanými pro léčbu dalších chorob za využití analýzy biologických sítí, volně přístupných databází (například DrugBank) a programu Cytoscape.



Obrázek 7: Výskyt slova Cytoscape v článcích zveřejněných v databázi PubMed v průběhu let 2003-2016

Pluginy

Zásuvné moduly (volně přeloženo plug-in z angličtiny) jsou doplňkové programy, vytvořené v programovacím jazyce Java, sloužící pro rozšíření funkčnosti Cytoscape.

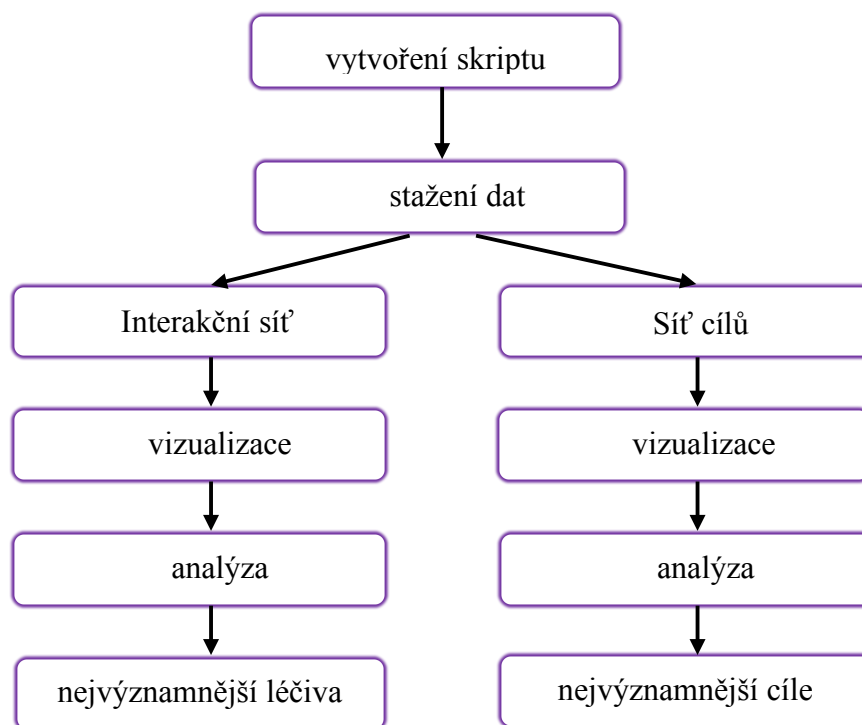
Rozšiřující programy nejsou součástí softwaru, ale je možné je obvykle zdarma stáhnout a doinstalovat. V Cytoscape App Store (dostupné z <http://apps.cytoscape.org>), internetovém obchodě, je dostupných více než 400 těchto pluginů. Slouží například pro vizualizaci, generování sítí, analýzu či import dat [26].

CentiScaPe je plugin vytvořený na univerzitě ve Veroně v Centru pro biomedicínské výpočty (CBMC, angl. Center for Biomedical computing) pro analýzu dat. Umožňuje identifikovat a charakterizovat významné uzly a hrany, počítat několik centralit pro neorientované grafy najednou a jednu pro orientované grafy. Také dokáže určovat významné parametry a analyzovat existující vztahy mezi poskytnutými údaji a pluginem vypočtenými hodnotami centralit [27].

Plugin CentiScaPe byl využit mimo jiné i ve výzkumu léčby ischemické choroby kardiocerebrální podáváním látek z přípravku ShengMai. Použitím pluginu byly ve vytvořené síti zjištěny na základě signálních drah a cílů konexe mezi čtyřmi účinnými látkami z přípravku a chorobou [28].

4 SÍŤOVÁ ANALÝZA LÉČIV SCZ

Na Obrázku 8 je znázorněn postup zpracování praktické části projektu, kdy jednotlivé kroky jsou popsány v následujících podkapitolách.



Obrázek 8: Postup praktického zpracování dat

4.1 Zisk dat

K sestavení sítě bylo nutné nejprve získat potřebná data, k čemuž byla využita rozsáhlá databáze DrugBank a skript vytvořený v programu R (verzi 3.3.3), který automaticky stahuje informace o jednotlivých léčích vyhledaných podle hesla „schizophrenia“. Automatické stažení je nezbytné pro získ objemných dat, jako například v tomto projektu, jelikož ruční ukládání by bylo časově velice náročné, ne-li nemožné. Skriptem je ušetřeno několik dní práce a je možno jej využít i pro stažení dat k dalším výzkumům léčiv.

V prvním kroku tvorby skriptu je nutná instalace balíčků neboli knihoven, které nejsou součástí jazyka R, ale je možné je obvykle zdarma stáhnout a do softwaru implementovat. Slouží k rozšíření funkcí programu.

Pro stažení dat z internetových stránek, tzv. scrapping, existuje balíček rvest [29], ve kterém jsou naprogramovány příkazy jako například *read_html* pro načtení zvolené webové stránky či *html_node* a *html_text* pro uložení vybrané části stránky. Tyto příkazy byly ve skriptu využity a jsou znázorněny níže v ukázce skriptu.

Balíček DescTools [30] slouží k exportu dat z R do programu Microsoft Excel či naopak a ve skriptu byl využit k tvorbě tří tabulek pomocí příkazu *XLView*. V ukázce skriptu je uveden na posledním řádku.

Při samotném stahování dat pomocí skriptu dochází k uložení všech přístupových čísel AC (angl. accession numbers) – každý medikament v databázi DrugBank má stejnou adresu URL pouze s rozdílným koncovým kódem, který odpovídá právě AC daného léčiva.

Následně probíhá stahování požadovaných informací každého léčiva. Těmito informacemi jsou název, ATC¹⁰, skupina, tabulky interakcí a cílů. Pokud se ovšem pro dané léčivo informace o interakcích a/nebo cílech a/nebo ATC v databázi DrugBank nenachází, nedojde k uložení medikamentu vůbec.

Posledním krokem je uložení dat do tří tabulek a jejich export do souboru aplikace Excel. V první tabulce jsou ukládány informace o stažených lécích jako je název, ATC a skupina. Celkem se zde nachází 45 léciv, které je možné vidět v Tabulce 4 s původními názvy staženými z databáze. Druhá tabulka obsahuje opět názvy léciv a jejich interakce. Třetí je podobná předchozí s tím rozdílem, že obsahuje informace s cíli místo s interakcemi. Zmíněné tabulky i celý skript jsou přiloženy (viz *Drugs.xlsx*, *Interactions.xlsx*, *Targets.xlsx*, *Scrapping.R*). Ukázka skriptu se nachází pod tímto textem.

¹⁰ klasifikační systém léciv (angl. Anatomical Therapeutic Chemical Classification System)

```

# ukládání DB pro pozdější stahování léčiv
for (i in 1:length(odkaz_all_drugs)){
  all_drugs <- read_html(odkaz_all_drugs[i])
  DB[a:(a+24)] <- all_drugs %>%
    html_nodes(".btn-card") %>%
  html_text()
  a = a+25}

# stahování dat jednotlivých léčiv
odkaz <- "https://www.drugbank.ca/drugs/"
for (k in 1:length(DB)){
  Drug <- read_html(paste0(odkaz,DB[k])) #stažení dat z webu
  ATC <- Drug %>% # uložení proměnné ATC
  html_node(css="tr:nth-child(50)>td>ul>li:nth-child(1)>a") %>%
    html_text()
  Int <- Drug %>% # stažení dat pro vyhodnocení podmínky IF
    html_node(css="table#drug-interactions")
  Targ <- Drug %>%
    html_node(css="table#moa-target-table")
  if (is.na(Int) == FALSE & is.na(Targ) == FALSE & is.na(ATC) ==
  FALSE){
    Name <- Drug %>% # uložení názvu léčiva
    html_node("td, strong") %>%
  html_text()

#export do Excelu
XLView(Drugs)

```

Tabulka 4: Seznam léčiv SCZ a jejich ATC stažených pomocí skriptu

Název léčiva, ATC		
Acetophenazine, N05AB07	Fluspirilene, N05AG01	Progabide, N03AG05
Amisulpride, N05AL05	Haloperidol, N05AD01	Quetiapine, N05AH04
Aripiprazole, N05AX12	Chlorpromazine, N05AA01	Remoxipride, N05AL04
Armodafinil, N06BA13	Chlorprothixene, N05AF03	Risperidone, N05AX08
Asenapine, N05AH05	Iloperidone, N05AX14	Sertindole, N05AE03
Benzoic Acid, A16AX11	Imipramine, N06AA02	Sulpiride, N05AL01
Brexpiprazole, N05AX16	Loxapine, N05AH01	Thiethylperazine, R06AD03
Bromocriptine, G02CB01	Lurasidone, N05AE05	Thiopropazine, N05AB08
Cabergoline, N04BC06	Mesoridazine, N05AC03	Thioridazine, N05AC02
Cariprazine, N05AX15	Methotrimeprazine, N05AA02	Thiothixene, N05AF04
Clomipramine, N06AA04	Molindone, N05AE02	Trazodone, N06AX05
Clozapine, N05AH02	Olanzapine, N05AH03	Trifluoperazine, N05AB06
Donepezil, N06DA02	Paliperidone, N05AX13	Triflupromazine, N05AA05
Flupentixol, N05AF01	Pergolide, N04BC02	Ziprasidone, N05AE04
Fluphenazine, N05AB02	Prasterone, A14AA07	Zuclopenthixol, N05AF05

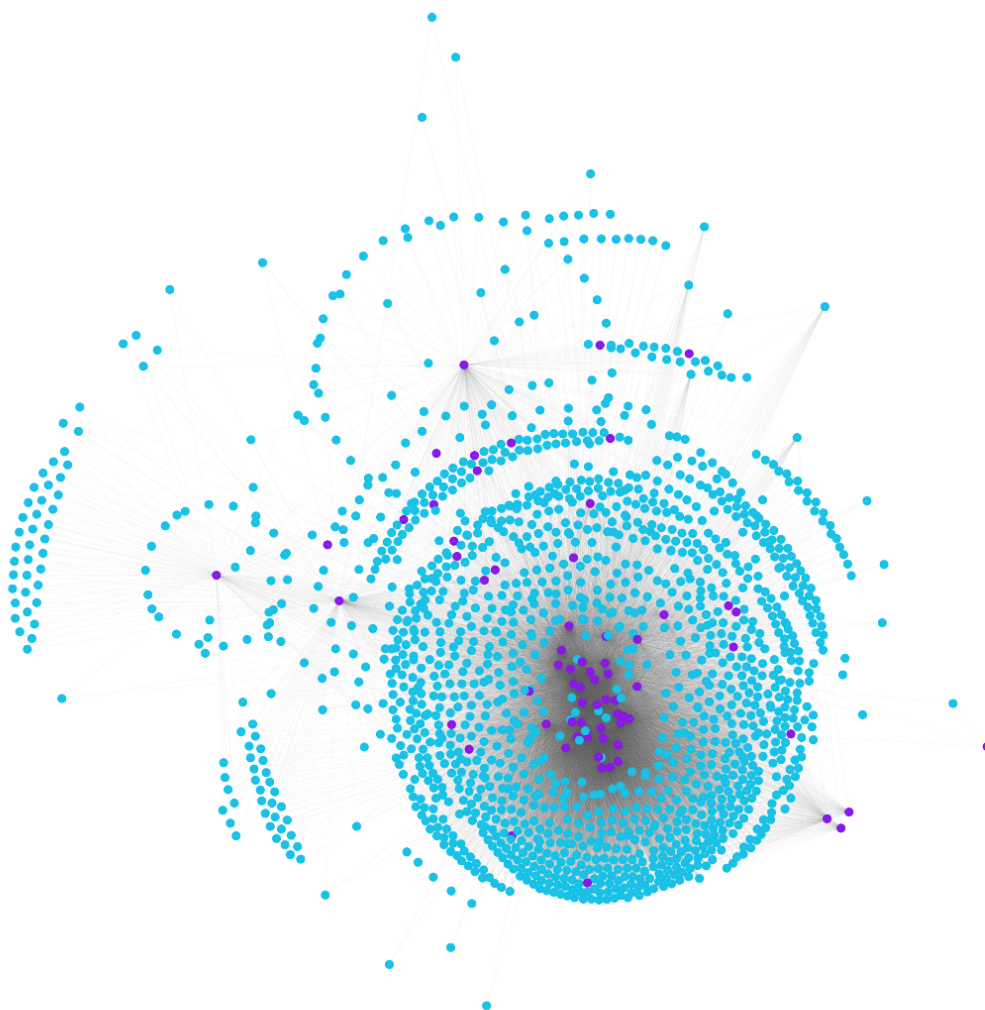
4.2 Vložení a vizualizace v Cytoscape

4.2.1 Interakční síť

Jako první byla vytvořena síť mezi vybranými farmaky SCZ a léčivy s nimi interagujícími, dále nazývána jako Interakční síť.

Pro síť bylo využito 45 medikamentů pro léčbu SCZ a 23 664 léčiv interagujících (viz Obrázek 9), čímž vzniklo celkem 1583 uzlů a 23 664 hran. Léčiva SCZ jsou odlišena fialovou barvou.

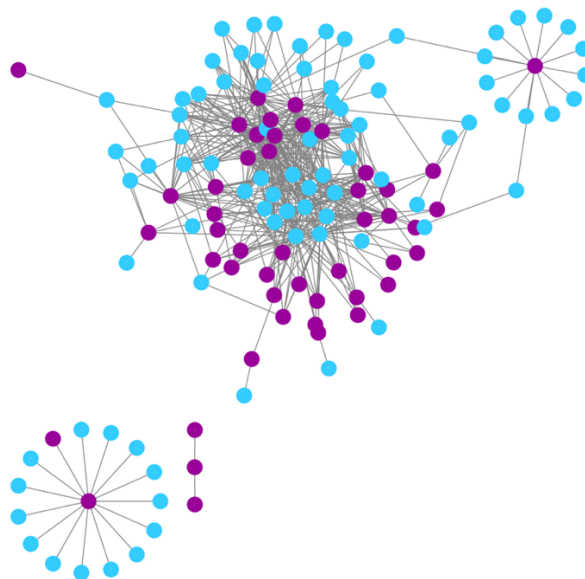
V síti je možné rozpoznat moduly, na jejichž základě lze určit množství interakcí jednoho léčiva SCZ s ostatními medikamenty a také propojenost jednotlivých modulů. Medikamenty uvedené v tabulce jsou ve zmíněném obrázku oproti ostatním farmakům odlišeny barevně.



Obrázek 9: Ilustrační obrázek Interakční sítě s barevně odlišenými léčivy SCZ

4.2.2 Síť cílů

Druhá síť byla vytvořena medikamenty uvedenými v Tabulce 4 a jejich cíli, tedy 45 léčivy SCZ a 509 cíli. Je složena ze 134 uzlů a 509 hran. Tato síť je dále nazývána Síť cílů a je zobrazena na Obrázku 10, kde léčiva SCZ jsou odlišena fialovou barvou, cíle jsou vyznačeny modře.



Obrázek 10: Ilustrační obrázek Sítě cílů s barevně odlišenými léčivy SCZ

4.3 Analýza v Cytoscape

Dále byl použit plugin CentiScaPe pro výpočet hodnot stupeň centrality (D), mezilehlost centrality (B) a blízkost (C), kdy platí: Čím vyšší hodnota, tím je uzel více propojený a významný [27]. Pro síť interakcí léčiv s léčivy s nimi interagujícími (a to i pro negativní interakce) platí, že čím je vypočtená hodnota centrality vyšší, tím je léčivo významnější, jelikož má lepší interakční potenciál a také přispívá k definici funkčního profilu kategorie léčiva [31].

Stupeň centrality D (angl. degree) je centralita udávající počet uzlů, do kterých jistý uzel vede. Umožňuje tak například snadno zjistit, jak je častý výskyt jednoho interagujícího léčiva oproti ostatním, v případě této práce například které proteiny jsou léčivy schizofrenie ovlivňovány nejčastěji.

Mezilehlost centrality B (angl. betweenness) je určena výpočtem nejkratší cesty mezi dvojicí uzlů procházející daným uzlem. Vyjadřuje globální vlastnosti sítě, konkrétně popisuje nejkratší cesty mezi dvojicemi uzlů procházejících daným uzlem. Pro graf $G := (V, E)$ s n uzly platí:

$$B_i = \frac{1}{(n-1)(n-2)} \sum_{s \neq i \neq t \in V} \frac{S_{st}(i)}{S_{st}} \quad (1)$$

kde n je počet uzlů, i aktuálně počítaný uzel, S_{st} je počet nejkratších cest z s do t a $S_{st}(i)$ je počet nejkratších cest z s do t přes i . Hodnota je normalizována počtem párů uzlů [32].

Blížkost C (angl. closeness) udává minimální počet hran nutný projít ke spojení dvou uzlů:

$$C_i = \frac{n}{\sum_{j \in V} d(i, j)} \quad (2)$$

kde $d(i, j)$ je nejkratší vzdálenost mezi uzly i a j , n je počet uzlů v síti [32].

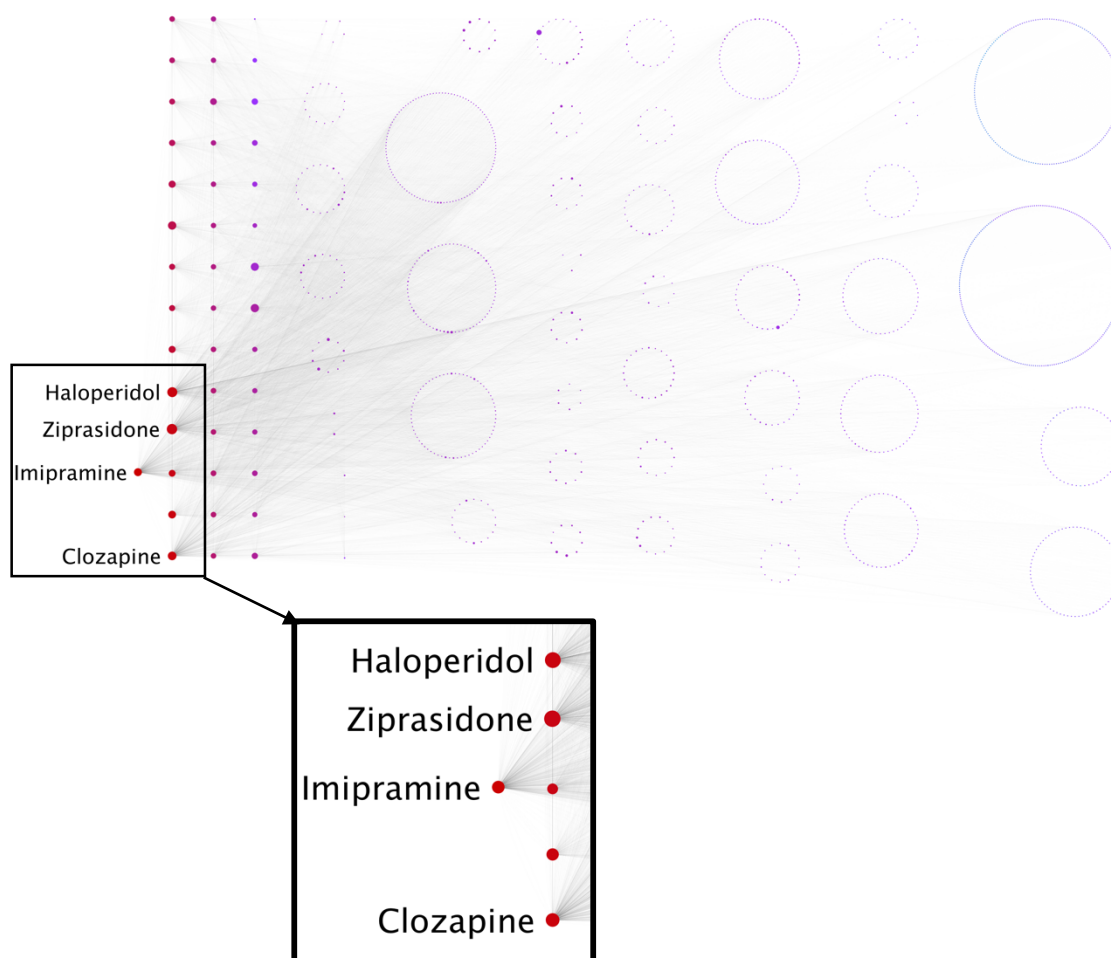
4.3.1 Interakční síť

Na základě vypočtených centralit byla vybrána léčiva s nejvyššími hodnotami všech centralit. Jsou to: Haloperidol (angl. Haloperidol), Klozapin (angl. Clozapine), Ziprasidon (angl. Ziprasidone) a Imipramin (angl. Imipramine). Vyjmenovaná léčiva a hodnoty jejich centralit se nachází v Tabulce 5, celá tabulka se nachází v příloze, stejně tak uvedená síť (viz *centiscape - interactions_vypoctene_hodnoty.xlsx, interactions.cys*).

Tabulka 5: Hodnoty centralit vybraných léčiv Interakční sítě

Název léčiva	Stupeň centrality	Mezilehlost centrality	Blížkost
Haloperidol	952	315 351	4,36E-04
Klozapin	974	228 688	4,38E-04
Ziprasidon	921	342 466	4,33E-04
Imipramin	1 018	184 351	4,45E-04

Ukázka vizualizované sítě dle centralit je na Obrázku 11. Čím je vyšší hodnota stupně centrality, tím je uzel více vlevo; čím je vyšší hodnota blízkosti, tím je uzel červenější. Velikost mezilehlosti centrality poměrově odpovídá velikosti uzlů. Léčiva uvedená v Tabulce 5 jsou zvýrazněna popisem s anglickými názvy.



Obrázek 11: Interakční síť s vizualizovanými hodnotami centralit

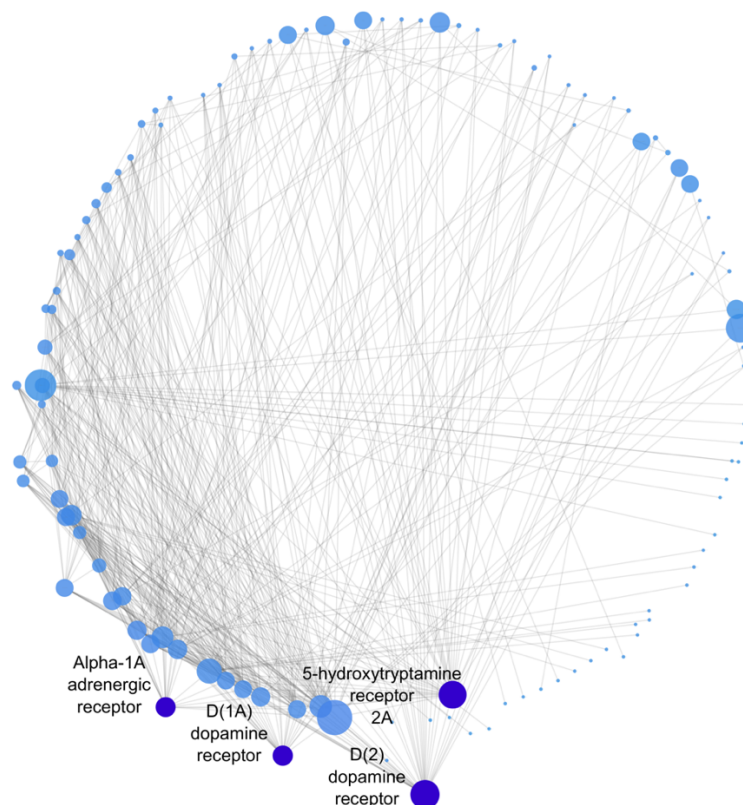
4.3.2 Síť cílů

V dalším kroku byla provedena analýza druhé sítě, Sítě cílů. Byly vypočteny tři centrality uvedené v kapitole 4.3, tedy stupeň centrality, mezilehlost centrality a blízkost. Nejvyšší hodnoty všech centralit byly vypočteny pro proteiny: D(2) dopaminový receptor (angl. D(2) dopamine receptor), D(1A) dopaminový receptor (angl. D(1A) dopamine receptor), 5-hydroxytryptaminový receptor 2A (angl. 5-hydroxytryptamin receptor 2A) a alfa-1A adrenergní receptor (angl. alfa-1A adrenergic receptor). Tyto proteiny jsou uvedeny v Tabulce 6, hodnoty centralit všech cílů jsou v příloze, stejně tak síť cílů (viz *centiscape - targets_vypoctene hodnoty.xlsx, targets.cys*).

Tabulka 6: Hodnoty centralit vybraných léčiv Sítě cílů

Název cíle	Stupeň centrality	Mezilehlost centrality	Blížkost
D(2) dopaminový receptor	38	2 180	4,48E-04
D(1A) dopaminový receptor	26	666	3,86E-04
5-hydroxytryptaminový receptor 2A	35	1 936	4,37E-04
alfa-1A adrenergní receptor	23	615	3,86E-04

Na Obrázku 12 je zobrazena Sít' cílů vizualizovaná podle velikostí jednotlivých centralit, tedy: Velikost mezilehlosti centrality poměrově odpovídá velikosti uzlů. Hodnoty blízkosti jsou odlišeny barevně, ale velikost této centrality v Síti cílů má obdobné hodnoty, proto jsou všechny uzly modré. Proteinové cíle uvedené v Tabulce 6 jsou zvýrazněny popisem s anglickými názvy a tmavší barvou.



Obrázek 12: Sít' cílů s vizualizovanými hodnotami centralit

4.3.3 Identifikace nejvýznamnějších uzlů

Cílem praktické části výzkumu je analýza dvou sítí a určení nejvýznamnějších léčiv a proteinových cílů při současné léčbě schizofrenie. Zisk těchto informací může značně napomoci při výzkumu efektivnější terapie či k lepšímu porozumění psychického onemocnění.

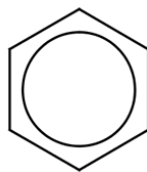
Pro obě sítě platí, že hodnoty centralit SCZ léčiv jsou výrazně vyšší než ostatních uzlů. Naprosto největší velikost centralit byla vypočtena pro léčiva Haloperidol, Klozapin, Ziprasidon a Imipramin a proteinové cíle D(2) dopaminový receptor, D(1A) dopaminový receptor, 5-hydroxytryptamin receptor 2A a alfa-1A adrenergní receptor.

Pro většinu počítaných uzlů platí, že se snižující se hodnotou stupně centrality se snižují i mezilehlost centrality a blízkost.

Jak je možno vidět v Tabulce 5 a Tabulce 6 či vizualizované na Obrázku 11 a Obrázku 12, centrality jsou na sobě lineárně závislé. Což odpovídá tomu, že méně propojenými uzly vede méně hran.

Na základě analýzy Interakční sítě lze specifikovat obdobné farmakologické vlastnosti nejvýznamnějších léčiv. Všechna léčiva patří do kategorie antipsychotikum (ATC kód N05A). Většina z nich je založena na chemické bázi benzenoidů, či azacyklických sloučenin.

Benzenoidy jsou aromatické sloučeniny na bázi benzenu, jehož struktura je znázorněna na Obrázku 13. Azacykly jsou organické sloučeniny obsahující heterocyklus s alespoň jedním atomem uhlíku a dusíku, které jsou navzájem spojeny.



Obrázek 13: Chemická struktura benzenu

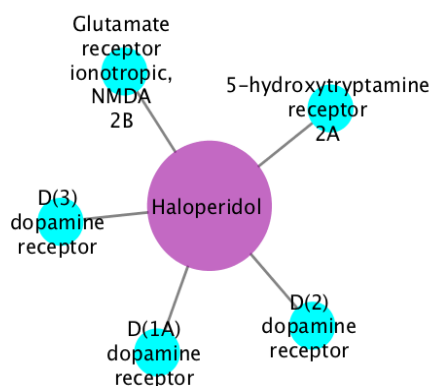
Analýzou Sítě cílů byly specifikovány nejvýznamnější proteiny pro léčbu schizofrenie: D(2) dopaminový receptor, D(1A) dopaminový receptor, 5-hydroxytryptaminový receptor 2A a alfa-1A adrenergní receptor.

Dopamin slouží jako transmitter v centrální nervové soustavě. Váže se na dopaminové receptory, které se dělí dle funkce na stimulační (D1) a inhibiční (D2).

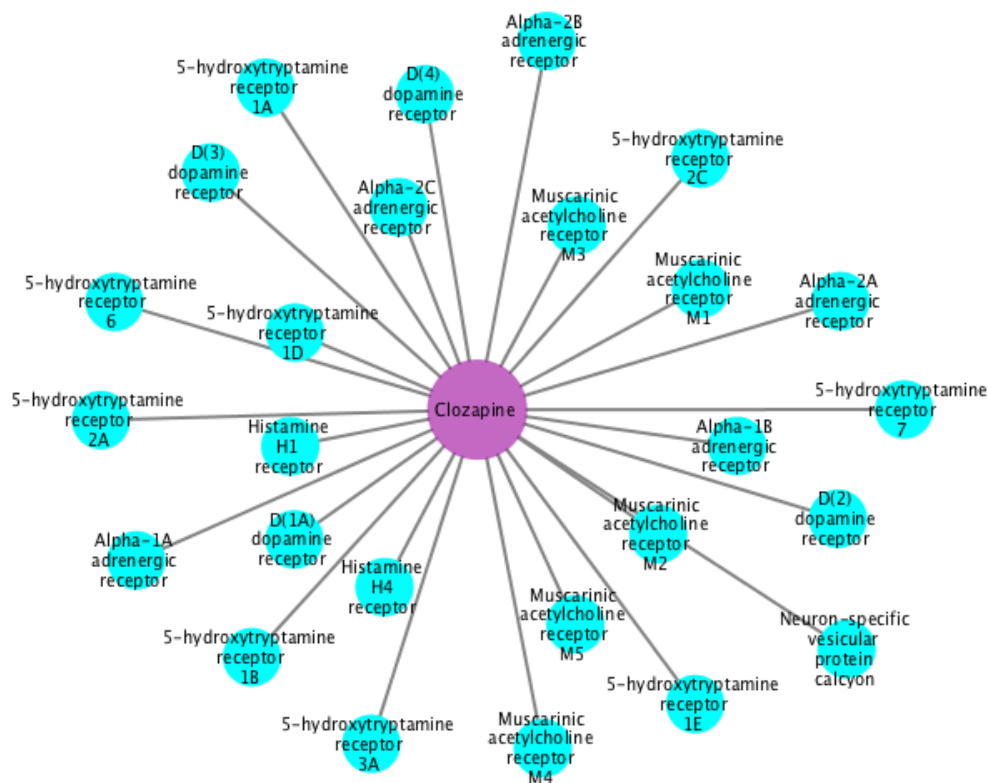
5-hydroxytryptaminový receptor 2A patří do skupiny serotoninových receptorů a patří k hlavním excitačním receptorům serotoninu [33].

Alfa-1A adrenergní receptor působí mimo jiné jako inhibitor dendrodendritických synapsí. Také působí na funkci hormonu epinefrin [34].

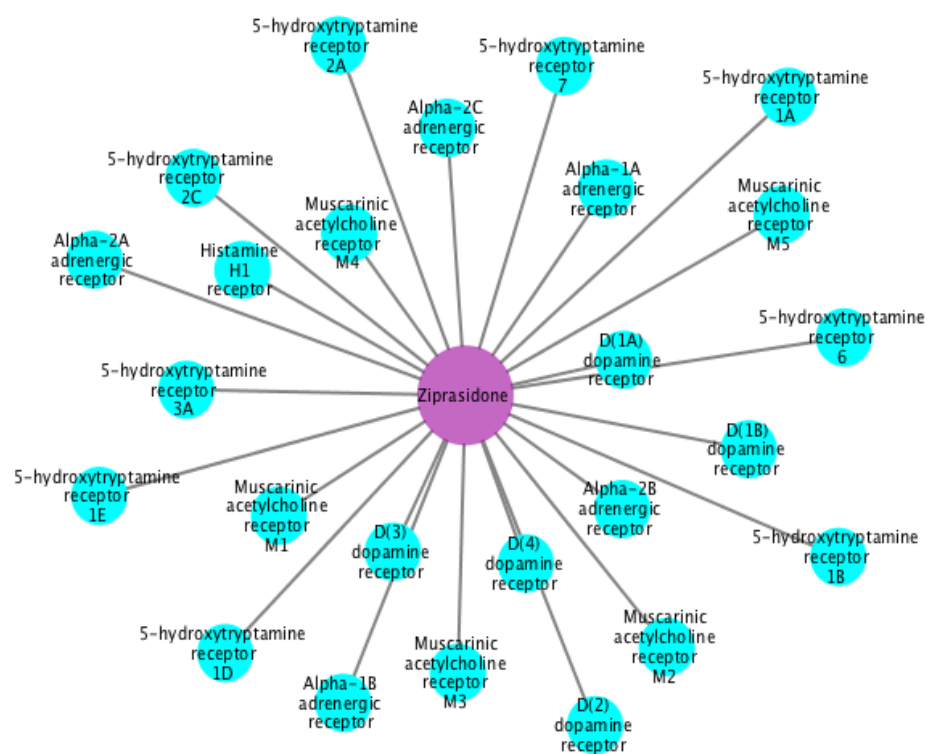
Nejvýznamnější léčiva nalezená v Interakční síti a cíle, na které působí, jsou znázorněny na Obrázku 14 až Obrázku 17. Lze vidět, že všechny medikamenty působí na všechny nejvýznamnější cíle, pouze Haloperidol nepůsobí na alfa-1A adrenergní receptor a Imipramin na D(1A) dopaminový receptor.



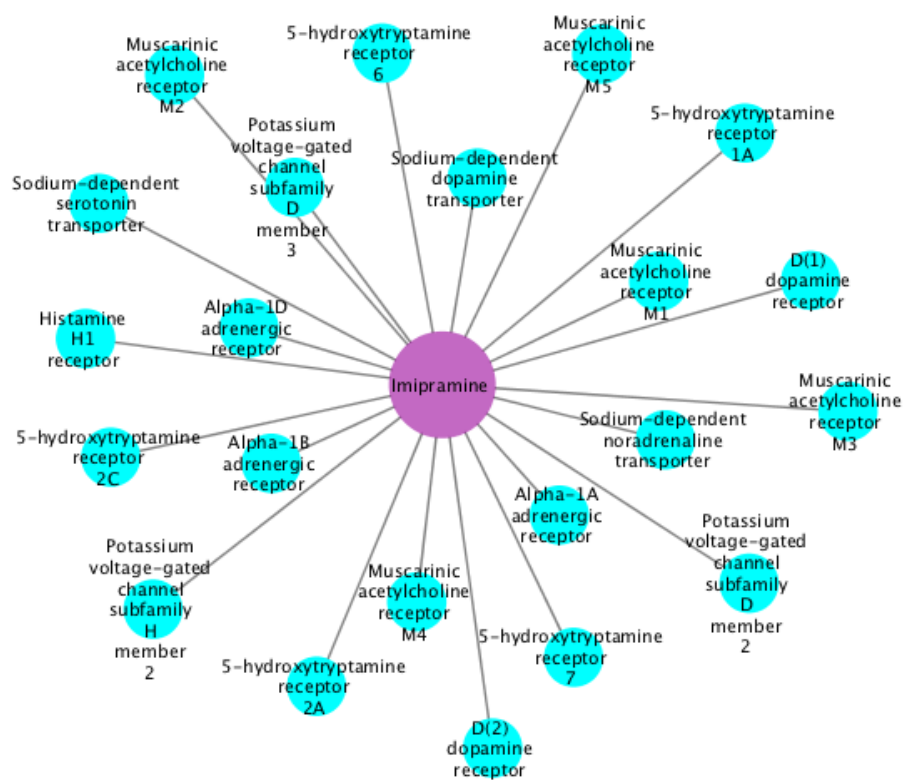
Obrázek 14: Léčivo Haloperidol a cíle, na které působí



Obrázek 15: Léčivo Klozapin a cíle, na které působí



Obrázek 16: Léčivo Ziprasidon a cíle, na které působí



Obrázek 17: Léčivo Imipramin a cíle, na které působí

4.4 Statistické vyhodnocení výsledků

Kvantitativní (neboli číselná) data je možné testovat analýzou regresní či korelační. První z analýz popisuje vztahy mezi zkoumanými daty, druhá slouží k hodnocení vztahu mezi dvěma proměnnými pomocí míry závislosti těchto proměnných [35]. Regresní analýza byla využita i ve výše zmíněném výzkumu s názvem Interakce nežádoucích účinků při léčbě schizofrenie [25].

Korelační závislost se obvykle znázorňuje dvojrozměrným bodovým grafem, kdy na každé ose je vynesena jedna proměnná. Pokud jsou body seskupeny podél určitého směru, tvoří tzv. korelační pás, což svědčí o přítomnosti jistého vztahu. Tento vztah může být pozitivní (závislost je přímá), negativní (závislost je nepřímá). Pokud graf nevykazuje znaky závislosti, jedná se o tzv. nulovou korelaci [35].

Pearsonův korelační koeficient r udává korelaci mezi dvěma proměnnými. Nabývá hodnot v intervalu $\langle -1; 1 \rangle$, kdy záporné hodnoty odpovídají negativní závislosti, kladné hodnoty pozitivní závislosti a nula nulové korelaci. Pro lineární závislost je koeficient r počítán ze vztahu:

$$r = \frac{\sum (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum (x_i - \bar{x})^2 \cdot \sum (y_i - \bar{y})^2}} \quad (3)$$

kde x_i a y_i odpovídají jednotlivým vzorkům; \bar{x} a \bar{y} vyjadřují aritmetický průměr všech vzorků pro danou proměnnou [35].

4.4.1 Interakční síť

Léčiva zpracovávaná v Interakční síti byla rozdělena na několik kategorií a to: schválená, experimentální, zakázaná, testovaná, veterinárně schválená a stažená z prodeje. Pro všechny tyto kategorie byla provedena korelace Pearsonovým korelačním koeficientem pro dvojice: stupeň centrality a mezilehlost centrality, stupeň centrality a blízkost, mezilehlost centrality a blízkost. Výsledky jsou uvedeny v Tabulce 7, a to jak pro jednotlivé kategorie, tak pro všechna léčiva současně.

Pro korelaci všech léčiv současně platí, že centrality mají lineární závislost, tj. čím více rostou hodnoty jedné proměnné, tím více se zvyšují i hodnoty druhé proměnné (viz *Obrázek 8*). Pro kategorii všechna léčiva spolu nejvíce korelují centrality stupeň a blízkost, nejméně mezilehlost a blízkost. Nejvyšší kladné korelace dosáhla dvojice stupeň a blízkost pro léčiva stažená z prodeje a experimentální. Přibližně nulovou korelaci vykazují centrality stupeň a mezilehlost a mezilehlost a blízkost pro léčiva schválená.

Záporně korelují centrality stupeň a mezilehlost pro léčiva veterinárně schválená a experimentální, které vykazují zápornou korelaci i pro mezilehlost a blízkost.

Tabulka 7: Pearsonův korelační koeficient pro jednotlivé kategorie léčiv Interakční sítě

Kategorie léčiv	Dvojice centralit		
	stupeň x mezilehlost	stupeň x blízkost	mezilehlost x blízkost
všechna	0,747	0,568	0,374
schválená	0,156	0,769	0,129
experimentální	-0,299	0,867	-0,247
zakázaná	0,375	0,867	0,284
testovaná	0,314	0,242	0,519
veterinárně schválená	-0,445	0,266	0,284
stažená z prodeje	0,595	0,953	0,612

4.4.2 Sít' cílů

Pro sít' cílů byla provedena korelace Pearsonovým korelačním koeficientem pro všechny dvojice centralit, pro všechny cíle současně. Výsledky jsou uvedeny v Tabulce 8. Kladnou korelaci vykazuje dvojice centralit stupeň a mezilehlost, mírné záporné hodnoty se vyskytují pro korelace centralit stupeň a blízkost a mezilehlost a blízkost.

Tabulka 8: Pearsonův korelační koeficient Sítě cílů

Dvojice centralit		
stupeň x mezilehlost	stupeň x blízkost	mezilehlost x blízkost
0,627	-0,136	-0,080

5 ZÁVĚR

Cílem bakalářské práce bylo vypracování literární rešerše týkající se vědního oboru vývoj léčiv a nemoci schizofrenie, dále vytvoření skriptu pro automatické stahování dat k zisku informací o léčivech užívaných při této chorobě, zejména pak jejich interakcích a cílech. Na základě zpracovaných dat pomocí analýzy těchto sítí byly specifikovány obdobné farmakologické vlastnosti nejvýznamnějších léčiv a provedena statistická analýza dat pomocí Pearsonova korelačního koeficientu.

Výzkum vzájemných interakcí léčiv a jejich vedlejších účinků umožňuje získat podstatné informace o daném onemocnění a jeho léčbě, ať současné, či možné nové a lepší. Například jsme schopni rozpoznat geny, které patologii způsobují, nebo proteiny, na které nemoc působí.

Jako nejvhodnější metoda pro analýzu léčiv se ukázala síťová analýza, jelikož díky ní je možné pozorovat vzájemné vztahy mezi léky a jejich terapeutickými cíli a tím například předcházet vedlejším a nežádoucím účinkům. Tato analýza byla v projektu provedena v programu Cytoscape, který je hojně využíván k vizualizaci a analýze biologických sítí.

Výstupem práce je skript vytvořený v jazyce R a data získaná analýzou Interakční sítě a Sítě cílů. Skript slouží k automatickému stažení vybraných informací o léčivech z databáze DrugBank. Analýzou sítí byla získána nejvýznamnější léčiva a proteinové cíle určené na základě výpočtu centralit. Léčiva se nazývají Haloperidol, Klozapin, Ziprasidon a Imipramin a proteinové cíle D(2) dopaminový receptor, D(1A) dopaminový receptor, 5-hydroxytryptaminový receptor 2A a alfa-1A adrenergní receptor. Na základě určených medikamentů byla umožněna také specifikace jejich obdobných farmakologických vlastností: Všechna léčiva patří do kategorie antipsychotikum (ATC kód N05A), většina z nich je na chemické bázi benzenoidů či azacyklických sloučenin.

Výsledky práce vedou k dalšímu výzkumu zaměřujícímu se na navržení nového léčiva pro boj s psychotickým onemocněním. K tomu může být využit i skript pro automatické stažení dat, jelikož přináší značnou časovou úsporu a je možné v něm snadno změnit stahovaná data, tedy zvolená léčiva a vybrané informace o nich.

Na základě zisku více nejvýznamnějších cílů je možné zaměřit navazující výzkum na vytvoření léku působícího na více cílů současně (angl. multi-targets drug), což má nezpochybnitelnou výhodu v komfortu pro pacienta, jelikož by mohl užívat pouze jeden lék se stejným výsledkem jako má užívání několika tablet, kdy každá působí pouze na jeden cíl.

LITERATURA

- [1] Zhang W. et al. „Network pharmacology: A further description", *Network Pharmacology* 1, č. 1 (2016): 1–14, ISSN: 2415-1084
- [2] Hopkins A. et al. „Network pharmacology: the next paradigm in drug discovery", *Nature Chemical Biology* 4, č. 11 (2008): 682–90, doi:10.1038/nchembio.118
- [3] Furlong L. et al. „Human Diseases through the Lens of Network Biology", *Trends in Genetics* 29, č. 3 (2013): 150–59, doi: 10.1016/j.tig.2012.11.004
- [4] Sarath Ch. a Tzakos A. „Structure and Organization of Drug-Target Networks: Insights from Genomic Approaches for Drug Discovery", *Molecular BioSystems* 5, č. 12 (2009): 1536, doi:10.1039/b908147j
- [5] What is Network Pharmacology? *Keble College* [online]. [cit. 2016-11-09]. Dostupné z: <http://www.keble-asc.com/?id=-2165&cid=1532>
- [6] Yıldırım M. et al. „Drug—target network", *Nature Biotechnology* 25, č. 10 (2007): 1119–26, doi:10.1038/nbt1338
- [7] NCBI databases. *NCBI*. [online]. [cit. 2016-12-15]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gquery/?term=network+pharmacology>
- [8] Daakour S. et al. „Systematic Interactome Mapping of Acute Lymphoblastic Leukemia Cancer Gene Products Reveals EXT-1 Tumor Suppressor as a Notch1 and FBWX7 Common Interactor", *BMC Cancer* 16, č. 1 (2016), doi:10.1186/s12885-016-2374-2
- [9] Reka A., Jeong H., Barabasi A. „Error and attack tolerance of complex networks". *Nature* 406, č. 6794 (2000): 378–82. doi:10.1038/35019019
- [10] Hliněný P., Teorie Grafů (FI: MA010). [online]. [cit. 2016-11-10]. Dostupné z: <http://is.muni.cz/el/1433/podzim2009/MA010/um/Grafy-text09.pdf>
- [11] Pinto J. P. et al. „Targeting molecular networks for drug research", *Frontiers in Genetics* 5, č. 1 (2014), doi:10.3389/fgene.2014.00160
- [12] Večerka A. Grafy a grafové algoritmy. [online]. [cit. 2017-2-21]. Dostupné z: https://phoenix.inf.upol.cz/esf/ucebni/Grafy_a_grafove_algoritmy.pdf
- [13] Křivka Z., Masopust T. Grafové algoritmy. [online]. [cit. 2017-2-22]. Dostupné z: <http://www.fit.vutbr.cz/study/courses/GAL/public/gal-text-with-animations.pdf>

- [14] Ma X., Gao L. „Biological Network analysis: Insights into Structure and Functions“, *Briefings in Functional Genomics* 11, č. 6 (2012): 434–42, doi:10.1093/bfgp/els045
- [15] Zhao, Shan, R. Iyengar. „Systems Pharmacology: Network Analysis to Identify Multiscale Mechanisms of Drug Action“. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 52, č. 1 (2012): 505–21. doi:10.1146/annurev-pharmtox-010611-134520
- [16] Češková E. et al., *Schizofrenie a její léčba*. 3. vydání. JESSENIUS MAXDORF, 2012.
- [17] Dušek K., Večeřová-Procházková A. *Diagnostika a terapie duševních poruch*. 2. vydání. Grada Publishing, 2015.
- [18] Leweke F. M. „Cannabidiol Enhances Anandamide Signaling and Alleviates Psychotic Symptoms of Schizophrenia.“ *Translational Psychiatry* 2.3 (2012). [online]. [cit. 2016-11-16]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3316151>
- [19] Kapócs G. „Possible Role of Biochemiluminescent Photons for Lysergic Acid Diethylamide (LSD)-Induced Phosphenes and Visual Hallucinations“, *Reviews in the Neurosciences*. [online]. [cit. 2016-11-17]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27732562>
- [20] Wishart D. S., Knox C., Guo A. Ch. „DrugBank: a comprehensive resource for *in silico* drug discovery and exploration“, *Nucleic Acids Research*. [online]. [cit. 2016-11-14]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1347430/>
- [21] About DrugBank. DrugBank [online]. [cit. 2016-11-14]. Dostupné z: <http://www.drugbank.ca/about>
- [22] Croft D. et al. „Reactome: A Database of Reactions, Pathways and Biological Processes“, *Nucleic Acids Research* 39, č. 1 (2011): D691–97, doi:10.1093/nar/gkq1018
- [23] What is Cytoscape? Cytoscape [online]. [cit. 2016-11-14]. Dostupné z: http://cytoscape.org/what_is_cytoscape.html
- [24] NCBI databases. *NCBI*. [online]. [cit. 2016-12-15]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gquery/?term=cytoscape>
- [25] Jingchun Sun et al. „Characterization of Schizophrenia Adverse Drug Interactions through a Network Approach and Drug Classification“, *BioMed Research International* 2013 (2013): 1–10, doi:10.1155/2013/458989

- [26] Cytoscape App Store. *Cytoscape*. [online]. [cit. 2016-12-09]. Dostupné z: <http://apps.cytoscape.org/apps/all>
- [27] Scardoni G., M. Petterlini, a C. Laudanna. „Analyzing Biological Network Parameters with CentiScaPe“, *Bioinformatics* 25, č. 21 (1. listopad 2009): 2857–59, doi:10.1093/bioinformatics/btp517
- [28] Fang L. et al. „An integrated pathway interaction network for the combination of four effective compounds from ShengMai preparations in the treatment of cardio-cerebral ischemic diseases“, *Acta Pharmacologica Sinica*. [online]. [cit. 2016-12-1]. Dostupné z: <http://www.nature.com/aps/journal/vaop/ncurrent/full/aps201570a.html>
- [29] Wickham H. „Easily Harvest (Scrape) Web Pages“. [online]. [cit. 2017-05-20]. Dostupné z: <https://cran.r-project.org/web/packages/rvest/rvest.pdf>
- [30] Signorell A. et al. „DescTools: Tools for descriptive statistics“. [online]. [cit. 2017-05-20]. Dostupné z: <https://cran.r-project.org/package=DescTools>
- [31] Udrescu L. et al. „Clustering drug-drug interaction networks with energy model layouts: community analysis and drug repurposing“, *Scientific Reports* 6, Article number: 32745. [online]. [cit. 2017-05-13]. Dostupné z: <https://www.nature.com/articles/srep32745>
- [32] Nacher J. C., Schwartz J. „A Global View of Drug-Therapy Interactions“. *BMC Pharmacology* 8, č. 1 (2008): 5. doi:10.1186/1471-2210-8-5
- [33] Wolf K. et al. „Partially Defective Store Operated Calcium Entry and Hem(ITAM) Signaling in Platelets of Serotonin Transporter Deficient Mice“. *PLoS ONE*, 11(1). [online]. [cit. 2017-05-16]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4723080/>
- [34] Bronwyn E. et al. „Quantification of Functional Selectivity at the Human α_{1A} -Adrenoceptor“. *Molecular Pharmacology February 2011*, 79 (2) 298-307. [online]. [cit. 2017-05-16]. Dostupné z: <http://molpharm.aspetjournals.org/content/79/2/298.long>
- [35] Bedáňová I., et al. *Základy statistiky pro studující veterinární medicíny a farmacie*. 1. vydání. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2007.

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

AC	Přístupové číslo (angl. accession number)
AP	Antipsychotika
B	Mezilehlost centrality (angl. betweenness)
C	Blízkost (angl. closeness)
BFS	Prohledávání do šířky (angl. breadth-first search)
CBD	Kanabidiol
CBMC	Centrum pro biomedicínské výpočty (angl. Center for Biomedical computing)
D	Stupeň centrality (angl. degree)
DFS	Prohledávání do hloubky (angl. depth-first search)
DMT	N,N-dimethyltryptamin
DSSS	Dopaminové a serotoninové stabilizátory
LSD	Diethylamid kyseliny lysergové
MARTA	Multireceptorová antagonisté
MDMA	3,4-methylendioxy-N-methylamfetamin
MKN-10	Mezinárodní klasifikace nemocí, 10. revize
r	Pearsonův korelační koeficient
SDA	Antagonisté serotoninu a dopaminu
SCZ	Schizofrenie

OBSAH PŘILOŽENÉHO CD

Interakce léčiv užívaných při léčbě schizofrenie a jejich doprovodných příznaků.pdf

– bakalářská práce

Scrapping.R – skript pro automatické stažení dat v R, verze 3.3.3

Drugs.xlsx – tabulka stažených léčiv a informací o nich

Interactions.xlsx – tabulka interakcí vybraných léčiv

Targets.xlsx – tabulka cílů vybraných léčiv

interactions.cys – Interakční síť podle vypočtených centralit v Cytoscape, verze 3.5.0

targets.cys – Síť cílů podle vypočtených centralit v Cytoscape, verze 3.5.0

centiscape - interactions_vypoctene hodnoty.xlsx – tabulka vypočtených hodnot centralit pro Interakční síť a jejich korelací

centiscape - targets_vypoctene hodnoty.xlsx – tabulka vypočtených hodnot centralit pro Síť cílů a jejich korelací

čti_mě.rtf – soubor obsahující obsah CD