

BÖLÜM 17 / CHAPTER 17

YAPAY ZEKÂ MODELLEMESİ İLE TROMBOANJİTİS OBLİTERANS HASTALARINDA TRANSKRİPTOM PROFİLİ OLUŞTURMA

CREATING TRANSCRIPTOME PROFILING IN PATIENTS WITH THROMBOANGITIS OBLITERANS PATIENTS WITH ARTIFICIAL INTELLIGENCE MODELING

Gözde ÖZTAN*, **Nilgün BOZBUĞA****, **Halim İŞSEVER*****

*Öğr. Gör. Dr., İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji, İstanbul Tıp Fakültesi,
İstanbul, Türkiye

E-posta: gozdeoztan@yahoo.com

**Prof. Dr., İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı,
İstanbul, Türkiye

E-posta: nilgun.bozbuga@istanbul.edu.tr

***Prof. Dr., İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

E-posta: halimissever@gmail.com

DOI: 10.26650/B/ET07.2023.005.17

ÖZ

Buerger Hastalığı olarak da bilinen Tromboanjitis Obliterans (TAO); orta ve küçük boyuttaki arter, ven ve yandaş sinirlerin segmenter, inflamatuvar tutulumu ile seyreden, oluşum mekanizması halen net şekilde ortaya konulamamış olan, nonaterosklerotik periferik damar hastalığıdır. Hastalığın patofizyolojisinde tütün maruziyeti ile tetiklenebileceği öne sürülen immün süreçlerle başlayan; arter ve venlerde akut inflamasyon ve trombüs formasyonu ile karakterize bulgular yer alır. Hastalığa spesifik olarak tanımlanmış klinik, radyolojik, laboratuvar ve histopatolojik bulgular olmadığından, tanı tüm verilerin bir araya getirilmesiyle oluşturulan klinik olasılık olarak belirlenir. Geleneksel sınıflandırma algoritmalarına ek olarak yapay zekâ tekniklerine dayalı sınıflandırma yöntemlerinin tercih edilmesi mikrodizi gen ekspresyon verilerinin doğru değerlendirilmesi ve hastalıkların tanı ve tedavisinde yol gösterici olması açısından değerlidir. Bu metodoloji çalışması kapsamında, “Transkriptom Profillerinin Karşılaştırmalı Analizi” yöntemi ile elde edilen transkript verilerinden, yapay zekâ modelleri uygulanarak Buerger Hastalığının teşhisi, prognozu ve tedavisinde faydalı biyobelirteçlerin geliştirilmesi hedeflenmektedir. Transkript varyantlarının ve alternatif splicing olaylarının tespitine izin veren “Affymetrix GeneChip Gen Array” ile

gen ve ekzon seviyelerinde tüm transkriptom gen ekspresyonunun değerlendirilmesiyle araştırılacak transkriptlerin Buerger hastalığının mekanizmalarının belirlenmesine yönelik moleküler bir temel sağlanabilecektir. Aynı zamanda, ilaç varlığında ekspresyonu anlamlı değişim gösteren gen gruplarının ilişkili oldukları biyolojik süreç ve moleküler yollar gen seti zenginleştirme analizleri ile tespit edilerek, bu analizler “ConsensusPath” biyoinformatik aracı üzerinden gerçekleştirilecektir. İstatistik ve biyoinformatik analiz yöntemlerine ek olarak, Tromboanjitis Obliterans mikrodizi verisinin sınıflandırılmasında yapay zekâ tabanlı yöntemlerin tercih edilmesi veriler arasında doğrusal bağlantıların sağlanmasında önem taşımaktadır. Veri seti sınıflandırmasında genetik algoritmaya dayalı yapay zekâ modelinin kullanılarak hastalığın kesin teşhisi ve tedavi protokolünün aydınlatılması hedeflenmektedir.

Anahtar Kelimeler: Tromboanjitis obliterans, Buerger hastalığı, transkriptom, gen dizisi, yapay zekâ

ABSTRACT

Thromboangitis Obliterans (TAO), also known as Buerger’s Disease; It is a nonatherosclerotic disease peripheral vascular disease with segmental, inflammatory involvement of medium and small sized arteries, veins and accompanying nerves, the formation mechanism of which has not been clearly revealed yet. In the pathophysiology of the disease, there are findings that start with immune processes that are suggested to be triggered by tobacco exposure, and are characterized by acute inflammation and thrombus formation in arteries and veins. Since there are no clinical, radiological, laboratory and histopathological findings defined specifically for the disease, the diagnosis is determined as the clinical probability formed by combining all the data. Preferring classification methods based on artificial intelligence techniques in addition to traditional classification algorithms is valuable in terms of accurate evaluation of microarray gene expression data and guiding the diagnosis and treatment of diseases. With in the scope of this methodology study, it is aimed to develop useful biomarkers in the diagnosis, prognosis and treatment of Buerger’s Disease by applying artificial intelligence models from the transcript data obtained by the “Comparative Analysis of Transcriptome Profiles” method. With the “Affymetrix GeneChip Gene Array”, which allows the detection of transcript variants and alternative splicing events, a molecular basis will be provided for the determination of the mechanisms of Buerger’s disease of the transcripts to be investigated by evaluating the gene expression of the whole transcriptome at the gene and exon levels. At the same time, the biological processes and molecular pathways related to gene groups whose expression changes significantly in the presence of drugs will be determined by gene set enrichment analyses, and these analyzes will be performed via the “ConsensusPath” bioinformatics tool. In addition to statistical and bioinformatic analysis methods, the preference of artificial intelligence-based methods in the classification of Thrombitis Obliterans microarray data is important in ensuring linear correlations between the data. In the data set classification, it is aimed to use the artificial intelligence model based on genetic algorithm to diagnose the disease and to clarify the treatment protocol.

Keywords: Thromboangitis obliterans, Buerger’s disease, transcriptome, gene sequence, artificial intelligence

1. Giriş

Hastalıkların teşhisi, uygun tedavinin planlanması ve hastaların refahının sağlanması için belirleyicidir. Tıbbi bilgileri yorumlamak karmaşık ve bilişsel açıdan zorlayıcı bir görev olduğundan, insan hatası doğru tanılamayı engeller. Yapay zekânın uygulanması, tanısal doğruluk ve verimlilik düzeyini artırabilir. Yapay zekânın uygulanması, hastalıkların teşhisine ilişkin avantajlar sağlar. Son çalışmalarda, belirli klinik alanlardaki sağlık hizmetlerinde yapay zekânın uygulanması incelenmiştir. Jiang ve arkadaşları, tüm sağlık sektörü içindeki destek vektör makineleri ve sinir ağları gibi klasik yapay zekâ algoritmalarına odaklanmışlar (Jiang et al., 2008). Rauschert ve ark., klinik epigenetikte yapay zekâ ile ilgilenmişler bu sayede araştırmacılar, genetik ve epigenetik profillere dayalı olarak hastaların bireysel tedavi özelliklerini araştırmışlardır (Rauschert et al., 2020).

Tromboanjitis Obliterans (TAO) sıklıkla sigara içicisi genç erkeklerde görülen distal ekstremiteletin küçük ve orta büyüklükteki damarlarını etkileyen nonaterosklerotik, segmental, inflamatuvar bir hastalıktır. Tütün maruziyetinden kaçınılması dışında standardize edilmiş bir tedavi yöntemi yoktur (Piazza & Creager, 2010). Tedavide prostasiklin ve bosentan gibi çeşitli farmakolojik ajanların yanısıra ekstremiteyi tehdit edici durumlarda girişimsel ve cerrahi yöntemler kullanılıyor olsa da nüks oranı yüksek olup hastalığın kesin tedavisi net değildir. TAO'da terapötik anjiyogenezi indüklemek için gen transferinin kullanıldığını bildiren çalışmalar olmuştur. Isner ve ark., vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) intramüsküler enjeksiyonları alan hastalarda ümit verici sonuçlar elde etmişlerdir. Kim ve ark., TAO'lu yedi hastada çıplak plazmid DNA kullanarak kas içi VEGF gen transferinin güvenliğini değerlendirmişler, altı hastanın dördünde iskemik ülserin iyileştiği, yedi hastadan beşinde, enjeksiyon bölgelerinin etrafındaki kollateral damarlarda artış gösterdiğini tespit etmişlerdir. Kemik iliği mononükleer hücreleri (BM MNC'ler) ve periferik kan mononükleer hücreleri (PBMNC'ler) kullanılan hücre tedavileri, periferik arter hastalığı ve TAO'su olan hastalarda etkili sonuçlara sahiptir. Yağ dokusu insan vücudunda bol miktarda bulunur ve sürekli olarak yenilenir. Bu nedenle, bu doku ideal bir mezenkimal kök hücre (MSC) kaynağıdır. Yağ dokusundan türetilen MSC'lerin (ATMSC'ler), kemik iliği stromal hücrelerinin (BMSC'ler) özelliklerine benzer özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir (Vijayakumar et al., 2013).

TAO, T hücre aracılı hücresele immünite ve B hücre aracılı humoral immünitenin ortaklaşa neden olduğu endarterit olan yaygın bir periferik vasküler hastalıktır. TAO hastalarının vasküler endotelial hücre fonksiyonları, aralarında hücreler arası yapışma molekülü-1 (ICAM-1) ve vasküler hücre yapışma molekülü-1 (VCAM-1) ekspresyonunun kalınlaşmış vasküler endotelial hücrelerde ve bazı inflamatuvar hücrelerde artarak ciddi şekilde hasar görür. Silostazol,

trombositlerde ve düz kas hücrelerinde cAMP fosfodiesteraz aktivitesini inhibe ederek siklik adenozin monofosfat (cAMP) bozulmasını ve dönüşümünü inhibe eden bir fosfodiesteraz inhibitörüdür ve sonuçta trombositlerde ve kan damarlarında artan cAMP seviyesine yol açar. Silostazolün kan damarlarını genişletme ve trombosit agregasyonunu inhibe etme gibi önemli etkileri vardır, ancak TAO'daki rolü henüz bildirilmemiştir. Song(Song et al., 2018) ve arkadaşları, TAO hastalarında, silostazolün plazmadaki ICAM-1, VCAM-1 ve inflamatuvar faktörlerin ekspresyonu üzerindeki etkilerini ve TAO oluşumu ve gelişimindeki rollerini araştırmışlardır. Varyans analiz sonuçları, ICAM-1 ve VCAM-1 ekspresyon farklılıklarının TAO, silostazol ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermiştir ($p<0.01$). Silostazol, hastaların plazmalarında ICAM-1, VCAM-1 ve inflamatuvar faktör ekspresyonunda TAO kaynaklı anormal artışı önemli ölçüde azaltabilir. Silostazolün iyi bir TAO karşıtı etkiye sahip olduğu kanıtlanmıştır (Song et al., 2018).

'Seçeneksiz' TAO hastaları için son tedavi önerileri, vasküler endotel hücre büyüme faktörü (VEGF) veya kök hücreler, özellikle mononükleer kök hücreler ile biyolojik revaskülarizasyona dayanmaktadır. Bu tedavilerin sonuçları, uzuvları kurtarabilenler de klodikasyonun giderilmesinde etkili olmadıklarını göstermektedir. Periferik kan mononükleer hücreleri (PBMC'ler), neovaskülarizasyondaki rolleri nedeniyle dikkat çekmektedir. Fazeli ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada, TAO'da neovaskülarizasyonda rol oynayan PBMC'lerin sitokin, kemokin ve etkili moleküllerinin ekspresyonunu araştırmışlardır. TAO hastalarından ve kontrol grubundan alınan lenfositlerden, kemokin ligand 1(CXCL1) ve interlökin 8(IL-8), endotel hücre büyüme faktörü A(VEGF-A) ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS), interferon gama (IFN- γ) ve vasküler endotel büyüme faktörü reseptörü 1(VEGFR-1)'in mRNA ekspresyonları değerlendirilmiştir. CXCL1 ekspresyonu, TAO hastalarından kontrol gruplarından önemli ölçüde daha yüksek olup, IL-8, VEGFR-1 ve IFN- γ ekspresyonlarını TAO hastalarında ve sigara içenlerde içmeyenlere göre anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır. Ayrıca, iNOS ve VEGF-A ekspresyonunda hiçbir farklılık tespit edilmemiş ve TAO hastalarından alınan PBMC'lerin, arteriyogenez destekleyen sitokinleri eksprese ettiği ortaya konulmuştur (Fazeli et al., 2014).

Kanıtlar, bağışıklık sisteminin oksidatif stres, T hücresiyle ilişkili bağışıklık hasarı, IL-33 salınımı, MyD88'e bağlı TLR sinyal yolağı, sempatik ganglion iltihabı, COX inflamatuvar yolağı, IFN- γ , VEGFR1 ve HMGB1 tarafından kollateral arterlerin gelişiminin bozulması yoluyla TAO'nun geliştirilmesinde veya ilerlemesinde rol oynadığını göstermektedir. TAO'nun gelişimine katkıda bulunan moleküler yolların tanınması, hastalık sırasında bozulan immünolojik homeostazi onarabilen yeni moleküler tedavilere yol açabilir. Ayrıca, bu me-

kanizmaları hedefleyen biyolojik ajanlar, tıbbi durumlarını iyileştirmek için TAO açısından risk altındaki sigara içenler başta olmak üzere hassas popülasyonu taramak için kullanılabilir. TAO'nun daha iyi kontrol altına alınmasında, proinflatuar sitokinleri ortadan kaldırarak veya anjiyojenik moleküller kullanarak immün ortamın bir anjiyojenik yanıtı nasıl dönüştürüleceğini araştırmak gereklidir (Shapouri-Moghaddam et al., 2019).

Enfeksiyöz patojenlerin TAO gelişimindeki olası rolü, hastalık ilk kez tanımlandıktan hemen sonra düşünülmüştür. Ancak enfeksiyöz patojenlerin trombotik vaskülitteye mi neden olduğu yoksa bir tür otoimmün hastalığa mı neden oldukları henüz bilinmemektedir. TAO relapslarının yeniden enfeksiyon veya otoimmün alevlenme nedeniyle daha olası olup olmadığını araştırmak için, hem akut hem de sessiz dönemde TAO hastalarında ve cinsiyet, yaş ve sigara alışkanlığı eşleştirilmiş kontrol grubunda da toll benzeri reseptör (TLR)4, sTLR2, C-reaktif protein (CRP) ve neopterin serum seviyeleri değerlendirilmiştir. Mohareri ve arkadaşlarının çalışma sonucuna göre; TLR4, hastalığın akut fazındaki hastalarda, sessiz fazdaki hastalara göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuş olup, CRP >7 µm/mL olan hastalarda TLR4, düşük CRP'si olan hastalara göre anlamlı olarak daha yüksek olarak tespit edilmiştir. Özellikle, TAO'nun sessiz fazındaki hastalarda TLR4, kontrollerden önemli ölçüde düşük bulunmuştur. Gruplar arasında TLR2 düzeyinde anlamlı bir fark bulunmamıştır. Neopterin, sessiz faz ve kontrollere kıyasla TAO'nun akut fazında önemli ölçüde daha yüksek olduğu ortaya konmuştur (Mohareri et al., 2018).

Tıp, genetik ve biyomedikal mühendisliği başta olmak üzere birçok alanda mikrodizi gen ekspresyon verilerini sınıflandırmaya yönelik çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Geleneksel sınıflandırma algoritmalarına ek olarak yapay zekâ tekniklerine dayalı sınıflandırma yöntemlerinin tercih edilmesi mikroarray gen ekspresyon verilerinin doğru değerlendirilmesi ve hastalıkların tanı ve tedavisinde yol gösterici olması açısından değerlidir. Yapay Zekâ, Tavlama Benzetimi (*Simulated Annealing*), Uzman Sistemler (*Expert Systems*), Bilgisayarlı Görme (*Computer Vision*), Konuşma Tanıma (*Speech Recognition*), Yapay Sinir Ağları (ANN, *Artificial Neural Networks*), Bulanık Mantık (*Fuzzy Logic*), Genetik Algoritmalar (*Genetic Algorithms*), Kaotik Modelleme, Robotik ve bunların bir veya birkaçının kullanılmasıyla oluşturulan hibrit sistemler dahil olmak üzere başlıca yöntemleri içermektedir. Genetik Algoritmalar, optimizasyon ya da arama probleminde tam veya yaklaşık sonuçlar elde etmekte kullanılan sezgisel bir algoritmadır. Genetik algoritma (GA), mutasyon, kalıtım, seçim, çaprazlama vb. evrimsel biyolojideki tekniklerden yola çıkarak geliştirilmiştir.

Bir genetik algoritma, kromozomları temsil etmek için bit veya karakter dizilerine (ikili dize) sahip olarak hesaplama modelini uygular. Her dizi potansiyel bir çözümü temsil eder.

GA, daha sonra gelişmiş çözümler arayan en umut verici kromozomları manipüle eder. Bir GA, üç aşamalı bir döngü boyunca çalışır. Bu döngüler, bir sorun için çözüm popülasyonu oluşturup sürdürme, birbirleriyle rekombinasyon için daha iyi çözümlerin seçilmesi ve daha zayıf çözümleri değiştirmek için onların offspringlerinin (yavruları) kullanılmasını kapsar.

2. Transkriptom Profili Oluşturma ve Yapay Zekâ Modellemesi

Tromboanjitis obliterans tanısında kullanılan hiçbir laboratuvar testi tanı koydurucu ve hastalığa özgü değildir. Bu metodoloji çalışması kapsamında; Transkriptom Profillerinin Karşılaştırmalı Analizi yöntemi ile elde edilecek transkript verilerinden, genetik algoritmaya dayalı yapay zekâ modeli uygulanarak Buerger Hastalığının tanısı, prognozu ve tedavisine yönelik anlamlı biyobelirteçlerin nasıl geliştirilebileceği hedeflenmiştir.

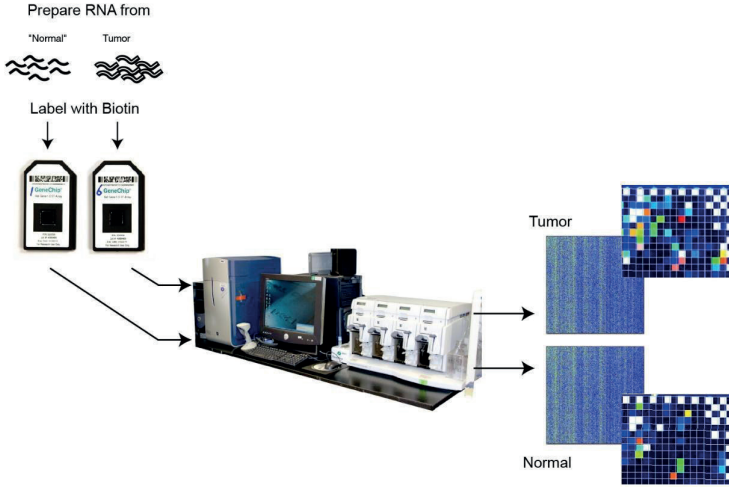
Genetik algoritması (GA); uygunluk fonksiyonunun tanımlanması, genetik kodlama ve rastgele bireylerden oluşacak şekilde başlangıç popülasyonunun belirlenmesi aşamalarını kapsar. Popülasyondaki tüm bireylerin uygunluk fonksiyonun hesaplanarak çaprazlama ve mutasyonuyla yeni neslin belirlenerek popülasyona ilave edilmesi söz konusudur. Genetik algoritma parametreleri, çaprazlama ve mutasyon olasılığı, popülasyon sayısı ve uygunluk fonksiyonunu kapsamaktadır. GA, kromozomların zaman içinde yalnızca sözde daha uyumlu versiyonlarını dikkate alır.Kromozomlar olarak kodlanan özellik alt kümeleri, bireyler olarak alınır ve kromozomların bir koleksiyonu bir popülasyon oluşturur.Kromozomlar, i konumundaki '0'ın i'inci özelliğinin seçilmediğini ve '1'in i'nci özelliğinin seçildiğini ifade ettiği ikili dizilerdir.Daha sonra her kromozoma, bir sınıflandırıcı kullanarak doğru sınıfları (gen etiketleri) tahmin etmede seçilen özelliklerin doğruluğu ile gösterilen bir uygunluk değeri verilir.Hem doğruluğa hem de seçilen özelliklerin sayısına önem verilmesini sağlayan çok amaçlı bir GA tercih edilerek çaprazlama ve mutasyonla üretilen kromozomlar yeni popülasyon oluştururlar.

Mikroarrayler, temel bilimsel araştırmalarda devrim yaratmakta, genom karmaşıklığı hakkında aydınlatıcı veriler sağlamaktadırlar. Klinik araştırmalar ve klinik uygulamalarda kullanılan mikroarrayler, daha doğru teşhis ve yeni terapötiklerin geliştirilmesine yardımcı olmaktadır. Bu sayede mikroarray verilerinin standartlaştırılması ve hastanın mevcut tıbbi kayıtları ile entegre edilmesiyle daha özel ve daha başarılı tedavi imkanı sunabilirler. GeneChip teknolojisinin sağlığı geliştirmek için en büyük vaadi verdiği aşamada, bir hastanın genetik ve klinik verilerinin kombinasyonu, kişiselleştirilmiş tıbbı izin verecektir. GeneChip arrayleri, bir dizi teknolojinin, tasarım kriterlerinin ve kalite kontrol süreçlerinin birleşiminin sonucudur. Arraylere ek olarak teknoloji, standart testler ve reaktifler, enstrümantasyon (akışkan sistemi, hibridizasyon fırını ve tarayıcı) ve tek bir platform olarak geliştirilmiş veri

analizi araçlarına dayanır. GeneChip sisteminin ve üretim teknolojisinin kayda değer esnekliği, dizilerin tasarımının, tüm genom transkriptom haritalama, gen ekspresyon profili oluşturma veya özel genotipleme gibi kullanım amaçlarına göre belirlenmesine izin verir. Gen ekspresyonu dizileri için kullanılan prob seçim stratejisi, dizinin amaçlanan kullanımına göre belirlenir. GenBank, dbEST ve RefSeq gibi çeşitli kamu kaynaklarından dizileri birleştirmek için biyoinformatik teknikleri kullanılır. Genom dizi hizalamaları, yüksek kaliteli dizi verilerinin seçilmesinin yanı sıra fazlalığa sahip transkriptlerin konsolidasyonuna ve ek varyantların tanımlanmasına izin verir. Örnek diziler üzerinde tamamlayıcı DNA (cDNA) düzeneklerinin kullanılması, tüm deneysel dizi verilerine dayalı olarak daha yüksek kaliteli bir tasarımla sonuçlanır. cDNA dizi yönelimi, genetik açıklamalara, genomik splice bölge kullanımına, poliadenilasyon bölgelerine ve dizi gözlemlerine uygulanan bir olasılık modeli kullanılarak belirlenir (Dalma-Weiszhausz et al., 2006).

Affymetrix mikroarraylerde, normalleştirme prosedürleri, biyolojik kökenli olmayan sistematik varyasyon kaynaklarını düzeltmek için gereklidir. Affymetrix mikroarray verileri üç adımda normalleştirilir: a) proplar ve hedef DNA arasındaki etkileşimle ilgisi olmayan hibridizasyon etkilerini ayarlamak için arka plan düzeltmesi. b) normalleştirme, sistematik hataları ve önyargıları ortadan kaldırmak ve böylece verilerin bir diziden diğerine karşılaştırılmasına izin vermek. c) RNA transkriptinin ekspresyon seviyesini en iyi temsil eden her bir gen için tek bir değer vermek üzere bir prob setinden çoklu prob yoğunluklarını birleştirerek özetleme basamaklarını içerir (Jiang et al., 2008).

Yeni nesil transkriptom düzeyinde ekspresyon profileme araçlarından olan ve transkript varyantları ile alternatif splicing olaylarının tespitine izin veren Affymetrix GeneChip Gen arrayle Tromboanjitis Obliterans'lı hasta örnekleri için transkriptom verilerinin biyoinformatik yöntem ve araçlarla birlikte yapay zeka metodlarının kullanılmasıyla Buerger hastalığına ait transkriptomik verilerin elde edilmesi ve yeni aday biyobelirteçlerin tespit edilebilmesi hedeflenmektedir (Şekil 1).



Şekil 1: *Affymetrix* microarray teknolojisi

Affymetrix GeneChip Ekzon Array sistemiyle tüm genomun tek bir dizi üzerinde ekzon düzeyinde ekspresyon profili oluşturması sağlanır. Transkriptom Analiz Konsol yazılımı, tüm Clariom assaylerinden alınan transkriptomik verilerini hızlı bir şekilde ve kolayca analiz eder. Clariom D assayler, kodlama yapan ve kodlamayan uzun genlerin, ekzonların, ek varyantların ve nadir transkriptlerin hızlı bir şekilde keşfedilmesini ve iyi tanımlanan genlerden gen seviyesindeki işaretlerin ve yolakların kolay tanımlanmasını sağlar. Clariom assaylerde ham veriler içe aktararak gen düzeyindeki analiz parametreleri seçilir. Kaç genin farklı şekilde eksprese edildiği ve yukarı ve aşağı regüle edilmiş genlerin sayısını ve diferansiyel ekspresyona neyin sebep olduğu küresel veri özetleme raporları, gen listeleri ve Venn diyagramları, varyasyon grafiklerinin kaynakları ile tespit edilir. Transkriptom Profillerinin Karşılaştırmalı Analizi aracılığıyla klinik açıdan kullanılabilir transkript varyantların belirlenmesiyle Tromboanjitis Obliterans hastalığının moleküler mekanizmasının aydınlatılması mümkün hale gelebilecektir. Özellikle günümüzde Buerger Hastalığının tam bir tedavisi olmadığından hedefe yönelik yeni tedavilere ihtiyaç duyulması sebebiyle transkriptom datasından valide edilen yeni aday biyobelirteçlerin belirlenmesi ve genetik algoritmaya dayalı yapay zekâ modelinin tercih edilmesi bireyselleştirilmiş tıp ve tedavi açısından faydalı olacaktır.

Çözülmesi gereken açıkça tanımlanmış bir problem ve aday çözümler için bir bit dizisi gösterimi verildiğinde, basit genetik algoritma aşağıdaki gibi çalışır:

1. Rastgele oluşturulmuş bir N L-bit kromozom popülasyonu ile başlanır (bir probleme aday çözümler).

2. Popülasyondaki her x kromozomunun uygunluk $F(x)$ 'i hesaplanır.

3. N yavru oluşturulana kadar aşağıdaki (a)-(c) adımları tekrarlanır:

(a) Mevcut popülasyondan bir çift ebeveyn kromozomu seçilir, seçim olasılığı artan bir uygunluk fonksiyonu olmalıdır. Seçim “değiştirme ile” yapılır, yani aynı kromozomun ebeveyn olmak için birden fazla kez seçilebileceği anlamına gelir.

(b) p_c olasılığı ile (çaprazlama olasılığı), rastgele seçilen bir noktada (tek tip olasılıkla seçilmiş) çifti çaprazlayarak iki yavru oluşturulur. Çaprazlama gerçekleşmezse, ilgili ebeveynlerinin tam kopyaları olan iki yavru oluşturulur.

(c) Her lokustaki iki yavru p_m (mutasyon olasılığı) ile mutasyona uğratılır ve elde edilen kromozomlar yeni popülasyona yerleştirilir.

4. Mevcut popülasyon yeni popülasyonla değiştirilir.

5. 2. adıma gidilir (Mitchell, 1995).

Bu sürecin her yinelemesine “jenerasyon” denir. Bir GA, tipik açıdan, “çalışma” olarak adlandırılan 50 ila 500 veya daha fazla nesil için yinelenir. Bir çalışmanın sonunda, popülasyonda genellikle bir veya daha fazla uygun kromozom bulunur. Rastgelelik, her çalışmada büyük bir rol oynadığından, farklı rastgele sayıda döle sahip iki çalışma, genellikle farklı ayrıntılı davranışlar üretecektir. Popülasyonun büyüklüğü ve çaprazlama ile mutasyon olasılıkları gibi doldurulması gereken bir takım ayrıntılar vardır ve algoritmanın başarısı genellikle büyük ölçüde bu ayrıntılara bağlıdır (Mitchell, 1995).

3. Sonuç

TAO, küçük ve orta büyüklükteki ekstremitelerin damarlarını etkileyen aterosklerotik olmayan trombotikoklüzif bir vaskülitir. TAO'nun açık bir etiyolojisi veya patogenezi kanıtlanmamıştır ve daha etkili tedavilere ihtiyaç vardır (Mousazadeh et al., 2019). Akut faz lezyonları, kan damarlarının duvarlarında daha az iltihaplanma ile tıkaçıcı, oldukça hücresel, inflamatuvar bir trombüs içerir. Polimorfonükleer lökositler, mikro apseler ve çok çekirdekli dev hücreler bulunabilir. TAO olağandışı yerlerde ortaya çıktığında, tanı ancak histopatolojik inceleme akut faz lezyonunu tanımladığında yapılmalıdır. Hastalığın orta evresinde, arterlerde ve damarlarda trombüsün ilerleyici organizasyonu vardır. Kan damarlarında sadece organize trombüs ve fibrozis bulunduğu, faz son aşama olarak kabul edilir (Arkkila, 2006). Literatür çalışmalarından elde edilen verilere göre; TAO'nun risk faktörleri sigara, gen faktörleri

ve periodontal hastalıklarından oluşmaktadır. TAO'nun altında yatan mekanizmalar arasında oksidatif stres, bağıışıklık, hemodinamik değışiklikler, iltihaplanma yer almaktadır. Ayrıca, periodontal hastalıklar ve TAO arasında genetik faktörler ve sigara ilişkisi açısından benzerlikler olduğu tespit edilmiştir. TAO tedavi seçeneklerinden ilaç, endovasküler müdahale, revaskülarizasyon cerrahisi ve otolog hücre tedavisi yer almaktadır. Ayrıca, TLR4'ün anahtar ajan olarak immün sinyal yollarını aktive edebildiği ve otoimmün sitokin ekspresyonunu indükleyebildiği TAO gelişiminde enfeksiyonların otoimmüniteyi tetikleyebileceğine dair bir hipotez ileri sürülmektedir (Mousazadeh et al., 2019).

Son yirmi yılda, kök hücre temelli tedavi, periferik vasküler hastalıkta terapötik anjiyogenez şeklinde klinik etkinlik göstermiştir. Hayvan modellerinde immünomodülasyonun yanı sıra anjiyogenezin indüklenmesi için hücre tedavisinin kullanımı, insan klinik deneylerinde yavaş yavaş ilerlemiştir. Kök hücre bazlı tedavinin anjiyojenik ve immünomodülatör potansiyelleri, TAO'nun insan klinik denemelerinde gösterilmiş olsa da, hala birçok zorlukları bulunmaktadır. Yakın gelecekte bu hücre tedavilerinin başarısını belirleyecek olan faktörler şunlardır: (I) hücre temelli tedavinin mekanizmasını ve terapötik potansiyellerini anlamak; (II) büyük ölçekli ve yenilenebilir bir otolog hücre kaynağı oluşturmak; (III) in vivo hücre potensini geliştirmek için biyomateryal stratejileri geliştirmek; (IV) optimal doza, etkin uygulama yoluna ve uygulama sıklığına karar vermek ve terapötik müdahale sırasında nikotin maruziyetinin kesilmesini daha da teşvik etmektir (Dash et al., 2020).

Mousazadeh ve ark., TAO'daki sempatik ganglionların (SG) iltihabının içerideki enfeksiyöz bir patojen tarafından mı tetiklendiğini yoksa reaktif steril bir inflamasyon mu olduğunu belirlemeyi amaçlamışlardır. Yüksek mobilite grup kutusu 1 (HMGB1), toll benzeri reseptör 4 (TLR4), toll benzeri reseptör 9 (TLR9) ve ileri glikasyon son ürünlerinin (RAGE) reseptör gen ekspresyonu, TAO hastaları ve hiperhidrozlu kontrol grubunun SG dokularının tamamlayıcı DNA'sı (cDNA) üzerinde gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu ile değerlendirilmiş ve Pfaffl yöntemi ile analiz edilmiştir. HMGB1 ve TLR9'un gen ekspresyonu, TAO hastalarının SG'sinde sırasıyla yaklaşık 25 ve 2 kat artış göstermiştir. Ancak TLR4 veya RAGE'nin gen ekspresyonunda herhangi bir değışiklik tespit edilmemiştir. TAO hastalarının SG'sindeki iltihabın daha büyük olasılıkla steril bir iltihaplanma olduğu ve tetikleyicisinin mitokondriyal DNA (mtDNA) olabileceği görülmektedir. Sigaradaki kadmiyum, hücre sitoplazmasına mtDNA salınımının indüklenmesinden sorumlu olabilir (Mousazadeh et al., 2019). Ek olarak, HMGB1'in yüksek ekspresyonu TAO patogenezinde rol oynayabilir ve hem hastalığın klinik tezahüründen hem de görüntüleme bulgularından sorumlu olabilir. HMGB1, TAO için tedavi protokolleri için bir hedef olarak kabul edilebilir (Li et al., 2020).

Yapay zekâ, normalde insan zekâsı gerektiren görevleri gerçekleştirebilen bilgisayar sistemlerinin geliştirilmesidir. Yapay zekâ yazılım ve donanımındaki, özellikle derin öğrenme algoritmaları ve grafik işleme birimlerindeki gelişmeler, tıbbi yapay zekâ uygulamalarında son zamanlarda hızla artan bir ilgiye yol açmıştır (Mirbabaie et al., 2021). Klinik tanılamada, yapay zekâ tabanlı bilgisayarlı görme yaklaşımları, görüntü tabanlı tanılamada devrim yaratmaya hazırlanırken, diğer yapay zekâ alt türleri, çeşitli tanı yöntemlerinde benzer vaatler göstermeye başlamıştır. Klinik genomik gibi bazı alanlarda, büyük ve karmaşık genomik veri kümelerini işlemek için derin öğrenme olarak bilinen belirli bir yapay zekâ algoritması türü kullanılır. Ortak karmaşık insan fenotiplerini tahmin etmede nihai klinik karar destek aracı olarak yapay zekâ algoritmalarının faydası oldukça etkilidir. Modern DNA dizileme teknolojisi, genomik verilerin tek tip ve ölçekte üretilmesine izin verir, ancak fenotip verilerinin toplanması, çok sayıda veri toplama modu gerektirir ve toplama bölgeleri arasında yavaş, pahalı ve oldukça değişken olma eğilimindedir. Yapay zekâ teknolojisinin herhangi bir klinik tanı yönteminde geniş çapta kabul görmesi için makine yanlılığının yorumlanabilirliği ve tanımlanması esastır (Dias & Torkamani, 2019).

Mikroarray verileri, altında çeşitli genetik nedenlerin olabileceğinin düşünüldüğü hastalıkların tanısında etkin bir role sahiptir. Hastalığın türüne bağlı gen ekspresyonlarının tespit edilerek, herhangi bir kişinin hastalıklı gene sahip olup olmadığı yüksek bir yüzdeyle belirlenebilir. Hastalığın tanısı ve prognozunun tespitinde, mikroarray gen ekspresyonları üzerinde yüksek performanslı sınıflandırma tekniklerinin kullanılması büyük önem arz etmektedir. Mikroarray verilerinin sınıflandırılmasında yüksek başarı oranları elde etmek için istatistiksel yöntemlere ilave olarak yapay zekâ tabanlı yöntemlerin de kullanılması gereklidir. Genotipleri fenotiplerle eşleştirmek amacıyla transkriptom analizi tercih edilmektedir. Hücrelerdeki transkriptomun hücresel fonksiyonlarının ve gen ekspresyon durumlarının daha kesin bir şekilde açıklanmasında yapay zekâ yöntemlerine başvurmak gerekebilmektedir. Çalışma metodolojimize göre, Tromboanjitis Obliterans teşhisinde tercih edilen yapay zekâ algoritmalarının kullanılmasının yeni aday biyobelirteçlerin tespit edilmesi ve aynı zamanda kişiye özgü tedavinin sunulmasında önemli bir kaynak oluşturabileceği görüşündeyiz. Yapay zekânın teşhis sürecindeki önemi artmaya devam edeceğinden, bu yapay zekâ yöntemlerinin araştırmalarda daha sık yer alacağı, araştırmacılar ve uygulayıcılar için büyük ilgi uyandıracığını öngörmekteyiz.

Affymetrix GeneChip sisteminden alınan verilere dayanarak Buerger hastalarına ait örnekler arasında gen ekspresyonundaki değişiklikler saptanarak transkriptiferansiyel ekspresyon verilerinden, araştırma düzeyindeki veri modellerinin değişmiş veya değişmemiş olarak sınıflandırılmasına dayanan karşılaştırmalı transkriptom profili oluşturulur. Bunun için,

Buerger hastalığında farklı şekilde eksprese edilen çoklu transkriptler belirlenir. Varsayılan mRNA hedefleri üzerindeki kümeleme ve yolak analizleri, farklı zenginleştirme modelleri gösterilerek, bu transkriptlerin, Buerger hastaları için tanısal ve prognostik tahminler için biyobelirteçler olarak hizmet etmelerinin klinik potansiyeli ortaya konulur. Buerger hastalığının tedavisi kesin mümkün olmadığından, hastalara en iyi tedavi seçeneğinin sunulması için yeni tanısal biyobelirteçler ve terapötik hedefler belirlemek zorunludur. Buerger hastalığında transkriptlerin rollerinin belirlenmesi, muhtemelen yeni teşhis belirteçlerinin ve erken aşamalarda terapötik müdahalelerin tanımlanmasını kolaylaştıracaktır. Sonuç olarak, elde edilen transkript verilerinin yapay zekâ algoritmalarıyla değerlendirilmesi, yardımcı tanı, prognostik tahmin ve Buerger hastalığı yönetiminde hasta sınıflandırması gibi klinik uygulamalar için biyobelirteçler olarak kullanılma imkanı sunacaktır.

Kaynakça / References

- Arkkila, P. E. T. (2006). Thromboangiitis obliterans (Buerger's disease). *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 1(14). <https://doi.org/10.1186/1750-1172-1-14>
- Dalma-Weiszhausz, D. D., Warrington, J., Tanimoto, E. Y., & Miyada, C. G. (2006). The affymetrix GeneChip platform: an overview. *Methods Enzymol*, 410, 3-28. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(06\)10001-4](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(06)10001-4)
- Dash, B. C., Peyvandi, H., Duan, K., Richardson, E., Ndon, S. U., Gabrick, K. S., Faz, A. A., Persing, J. A., Dardik, A., & Hsia, H. C. (2020). Stem Cell Therapy for Thromboangiitis Obliterans (Buerger's Disease). *Processes*, 8(11), 1408. <https://doi.org/10.3390/pr8111408>
- Dias, R., & Torkamani, A. (2019). Artificial intelligence in clinical and genomic diagnostics. *Genome Med*, 11(1), 70. <https://doi.org/10.1186/s13073-019-0689-8>
- Fazeli, B., Rafatpanah, H., Ravari, H., Hosseini, R. F., & Rezaee, S. A. (2014). Investigation of the expression of mediators of neovascularization from mononuclear leukocytes in thromboangiitis obliterans. *Vascular*, 22(3), 174-180. <https://doi.org/10.1177/1708538113477068>
- Jiang, N., Leach, L. J., Hu, X., Potokina, E., Jia, T., Druka, A., Waugh, R., Kearsey, M. J., & Luo, Z. W. (2008). Methods for evaluating gene expression from Affymetrix microarray datasets. *BMC Bioinformatics*, 9, 284. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-9-284>
- Li, M. D., Wang, Y. F., Yang, M. W., Hong, F. F., & Yang, S. L. (2020). Risk Factors, Mechanisms and Treatments of Thromboangiitis Obliterans: An Overview of Recent Research. *Curr Med Chem*, 27(35), 6057-6072. <https://doi.org/10.2174/0929867326666190816233042>
- Mirbabaie, M., Stieglitz, S., & Frick, N. R. J. (2021). Artificial intelligence in disease diagnostics: A critical review and classification on the current state of research guiding future direction. *Health and Technology*, 11, 693-731. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s12553-021-00555-5>
- Mitchell, M. (1995). Genetic algorithms: An overview. *Complexity* 1(1), 31-39.
- Mohareri, M., Mirhosseini, A., Mehraban, S., & Fazeli, B. (2018). Thromboangiitis obliterans episode: autoimmune flare-up or reinfection? *Vasc Health Risk Manag*, 14, 247-251. <https://doi.org/10.2147/VHRM.S172047>
- Mousazadeh, B., Sharebani, H., Taheri, H., Valizadeh, N., & Fazeli, B. (2019). Unexpected inflammation in the sympathetic ganglia in thromboangiitis obliterans: more likely sterile or infectious induced inflammation? *Clin Mol Allergy*, 17, 10. <https://doi.org/10.1186/s12948-019-0114-2>

- Piazza, G., & Creager, M. A. (2010). Thromboangiitis obliterans. *Circulation*, *121*(16), 1858-1861. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.110.942383>
- Rauschert, S., Raubenheimer, K., Melton, P. E., & Huang, R. C. (2020). Machine learning and clinical epigenetics: a review of challenges for diagnosis and classification. *Clin Epigenetics*, *12*(1), 51. <https://doi.org/10.1186/s13148-020-00842-4>
- Shapouri-Moghaddam, A., Saeed Modaghegh, M. H., Rahimi, H. R., Ehteshamfar, S. M., & Tavakol Afshari, J. (2019). Molecular mechanisms regulating immune responses in thromboangiitis obliterans: A comprehensive review. *Iran J Basic Med Sci*, *22*(3), 215-224. <https://doi.org/10.22038/ijbms.2019.31119.7513>
- Song, F., Ji, B., & Chen, T. (2018). Cilostazol on the expression of ICAM-1, VCAM-1 and inflammatory factors in plasma in patients with thromboangiitis obliterans. *Exp Ther Med*, *16*(3), 2349-2354. <https://doi.org/10.3892/etm.2018.6436>
- Vijayakumar, A., Tiwari, R., & Kumar Prabhuswamy, V. (2013). Thromboangiitis Obliterans (Buerger's Disease)-Current Practices. *Int J Inflam*, *2013*, 156905. <https://doi.org/10.1155/2013/156905>

