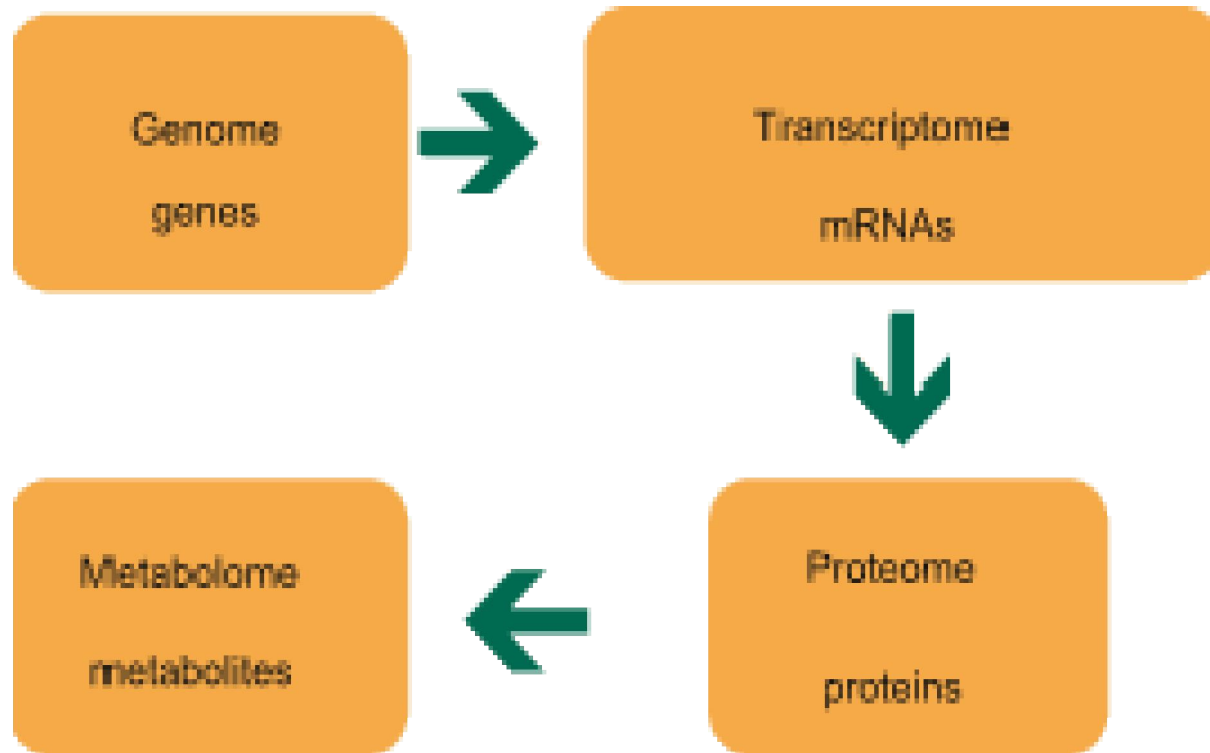


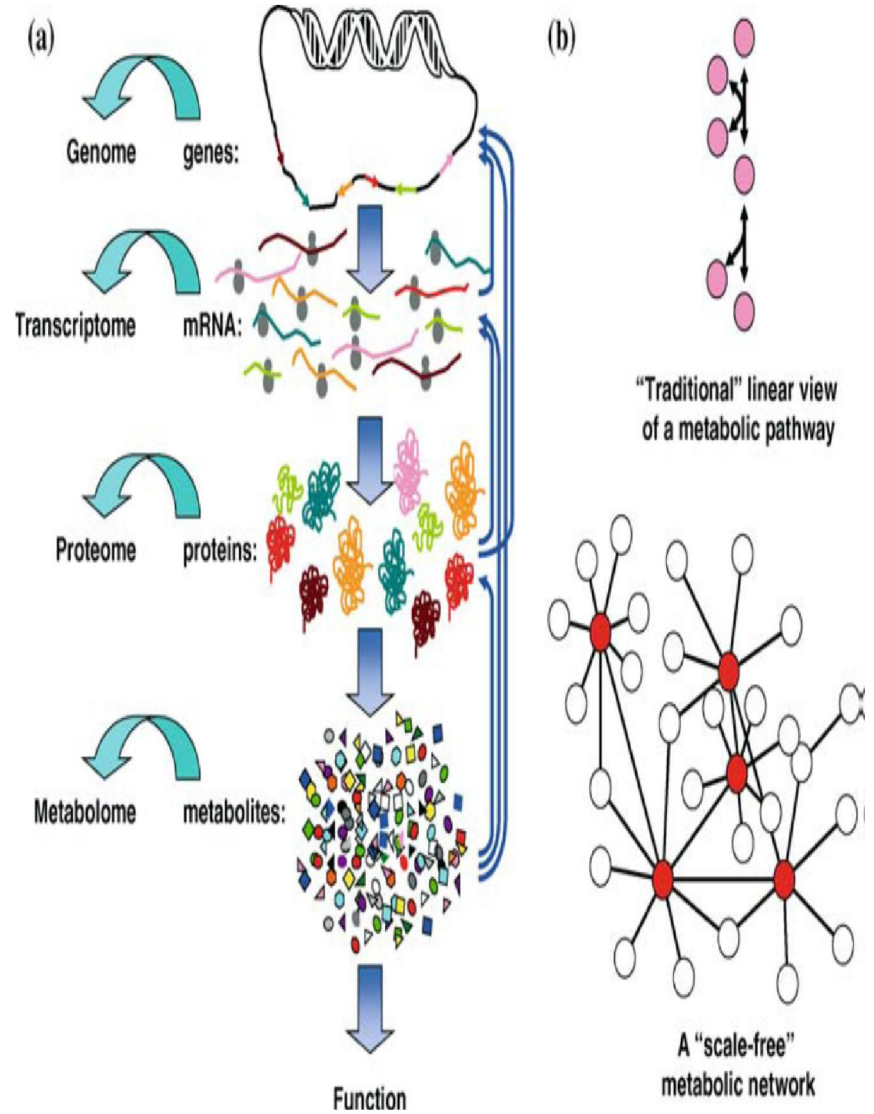
METABOLOMIK



- Metabolomik; belirli hücresel-biyokimyasal proseslerin arkalarında bıraktıkları o proseslere özgü, kimyasal parmakizlerini, özellikle de, bu proseslerin ürünü olan bütün küçük moleküllerin [metabolitlerin] profillerini inceleyen biyoteknoloji dallarıdır.
- Belirli bir zaman diliminde dokularda hücrelerde ve fizyolojik sıvılarda lipid, karbohidratlar, vitaminler, hormonlar ve diğer hücre bileşenlerinden ortaya çıkan metabolitlerin çalışılmasına metabolomik denir.



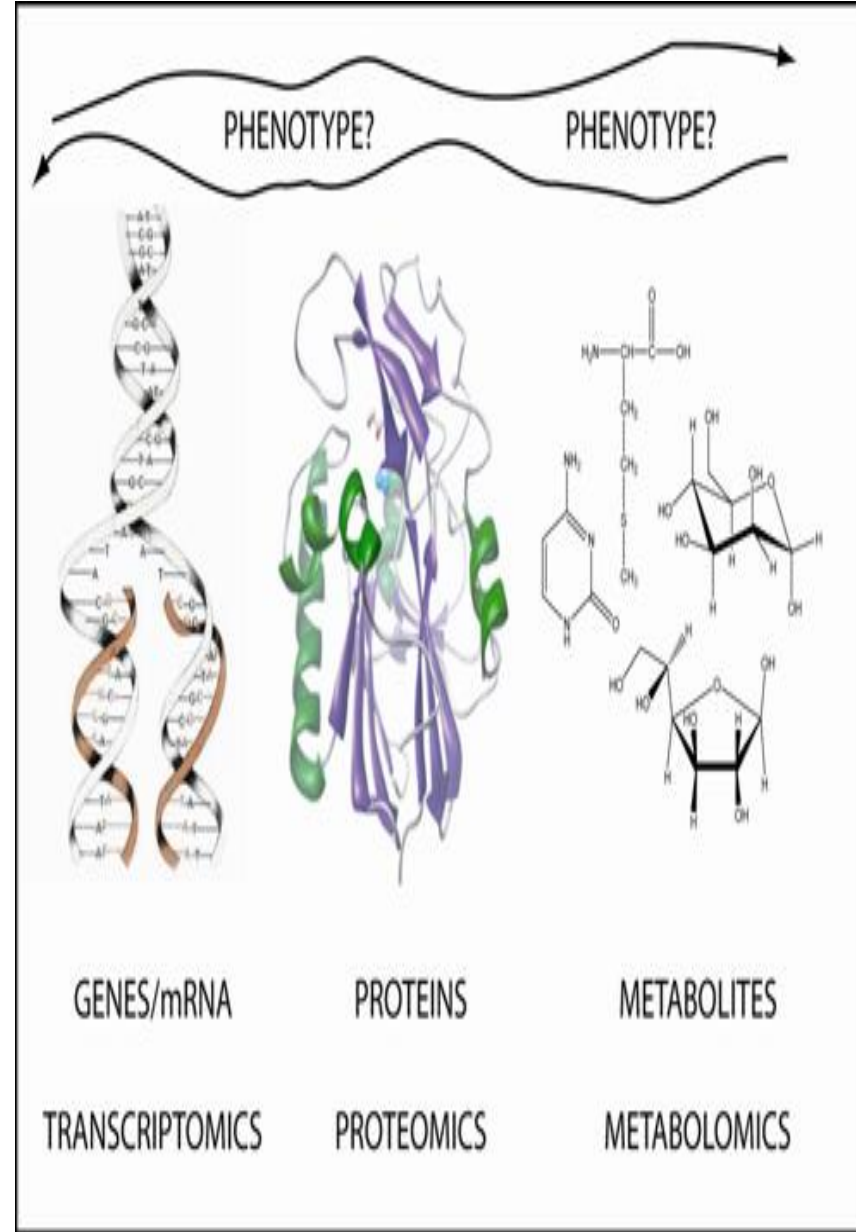
- Metabolomik adı verilen yöntem hücresel yolların'ların tek tek ortaya çıkarılmasında moleküler araçları kullanmaktadır. Sonuçta çok sayıda protein "kitaplıkları" ortaya çıkar.
- Önce genom haritası tamamlanır. Sonra beklenen proteinler biyoinformatik ile çözümlenir. Bu proteinlerin benzerlikler bazında ait oldukları aileler tahmin edilerek kümeler oluşturulur. Transporterlar, mitokondriyal proteinler, lipid metabolizması ilişkili proteinler, kanal proteinleri, membran sorting proteinler gibi.



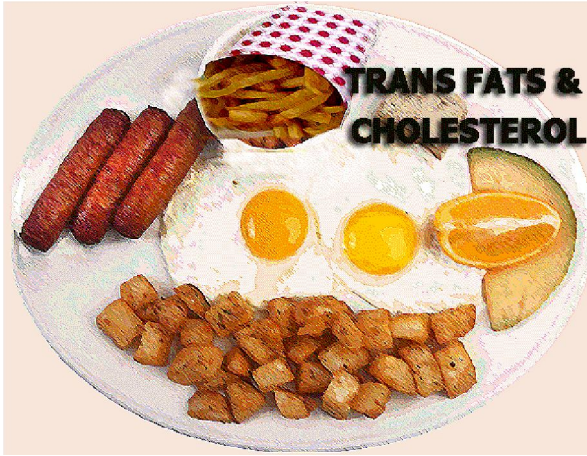
- Metabolomdaki değişiklikler, organizmanın genetik değişiklik, hastalık ve çevresel değişikliklere verdiği en son yanıttır.
- Metabolomik invaziv olmayan biyolojik belirteçler kullanarak metabolik yolların incelenmesine olanak sağlar.

- Proteomikte olduğu gibi metabolomik de hastalık belirleyicisi olan veya tedavi denetimini sađlayan metabolitleri belirlemeyi amaçlar.
- Hastanın metabolik profili ve genetik yapısına göre diyet önerilerinde bulunulmasına imkân verir.

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

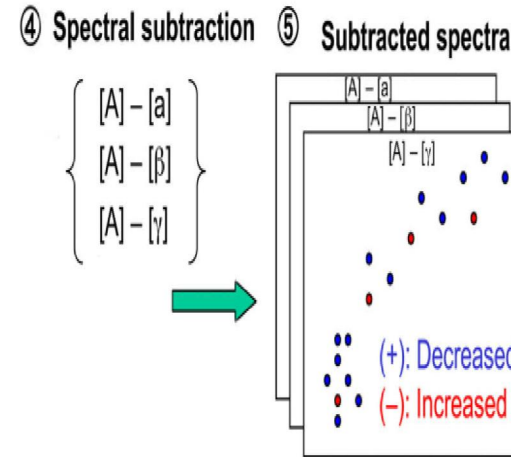
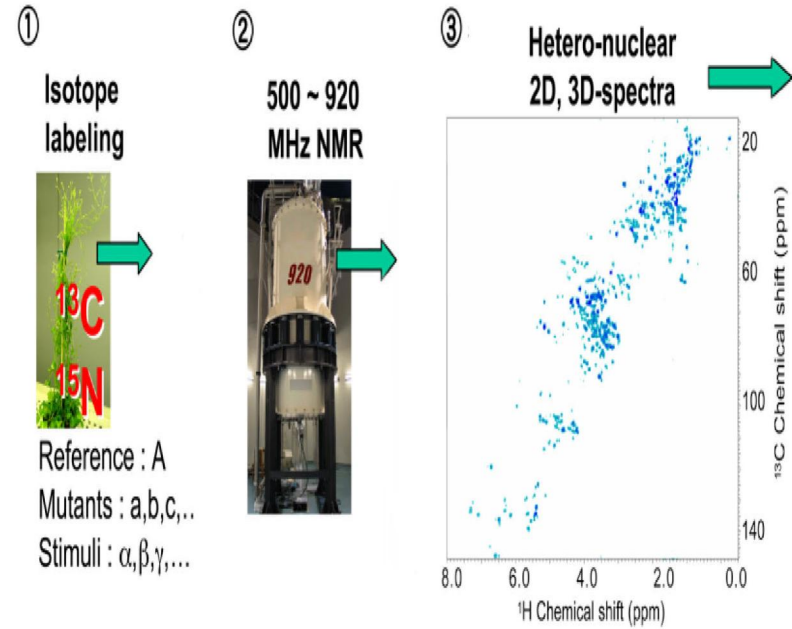


- Tek tek metabolitler aslında yıllardır hastalık teşhisinde kullanılmaktadır.



- Diyabette kan şekeri,
- Koroner kalp hastalığında kolesterol düzeyi

- Metabolomik içinde bulunulan duruma göre tüm metabolitlerdeki artma ve azalmaları belirlemeye çalışır.
- Kolesterol yüksekliği saptandığında koroner sorunu yaşanabileceği söyleyebilir, fakat bu bilgi örneğin beş farklı belirteçle daha güçlendirilirse bu sorunun neden yaşanacağı da bilinebilir.
- Bir transport proteini eksik veya çok yağ tüketiyor olabilir.
- **Metabolomik analiz sadece bilgi sunmaz, açıklamalarda da bulunur.**



Metabolomik Teknikleri

- Metabolomik, biyoloji, kimya ve matematik içeren multi-disipliner bir bilimdir. Çok değişkenli veri analiz yöntemleriyle birleştirilmiş kromatografi, moleküler spektroskopi ve kütle spektrometrisi gibi analitik tekniklere ihtiyaç vardır.

Hedef bileşik analizleri ve metabolik profilleri için;

- Gaz Kromatografisi (GS)
- Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)
- Nükleer Magnetik Rezonans (NMR)

Bu yöntemler, kromatografik ayırma yöntemlerine dayanmaktadır.

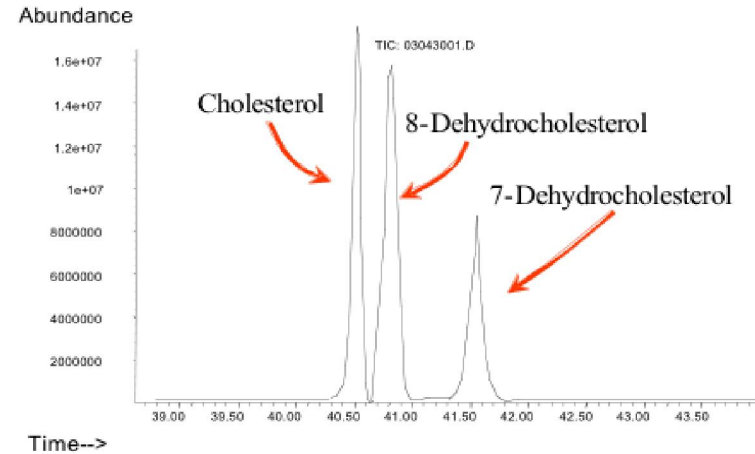
Metabolomik parmakizi'nde, örnekler, hiçbir ayırma tekniği kullanılmadan ham olarak

- NMR,
- Direk enjeksiyon kütle spektrometrisi (MS) veya
- Fourier transform infrared (FT-IR) spektroskopisi

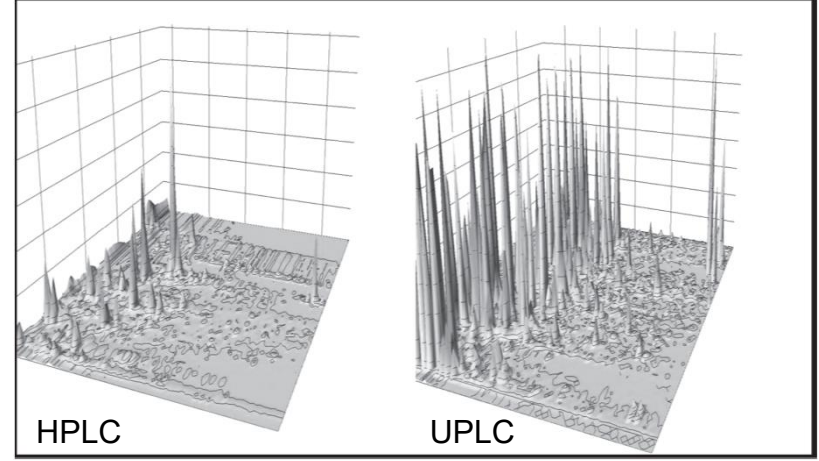
Parmakizi yöntemleri, çok değişkenli analizlerle kombine edilerek birçok veri elde edilmektedir.

Gaz Kromatografisi (GS)

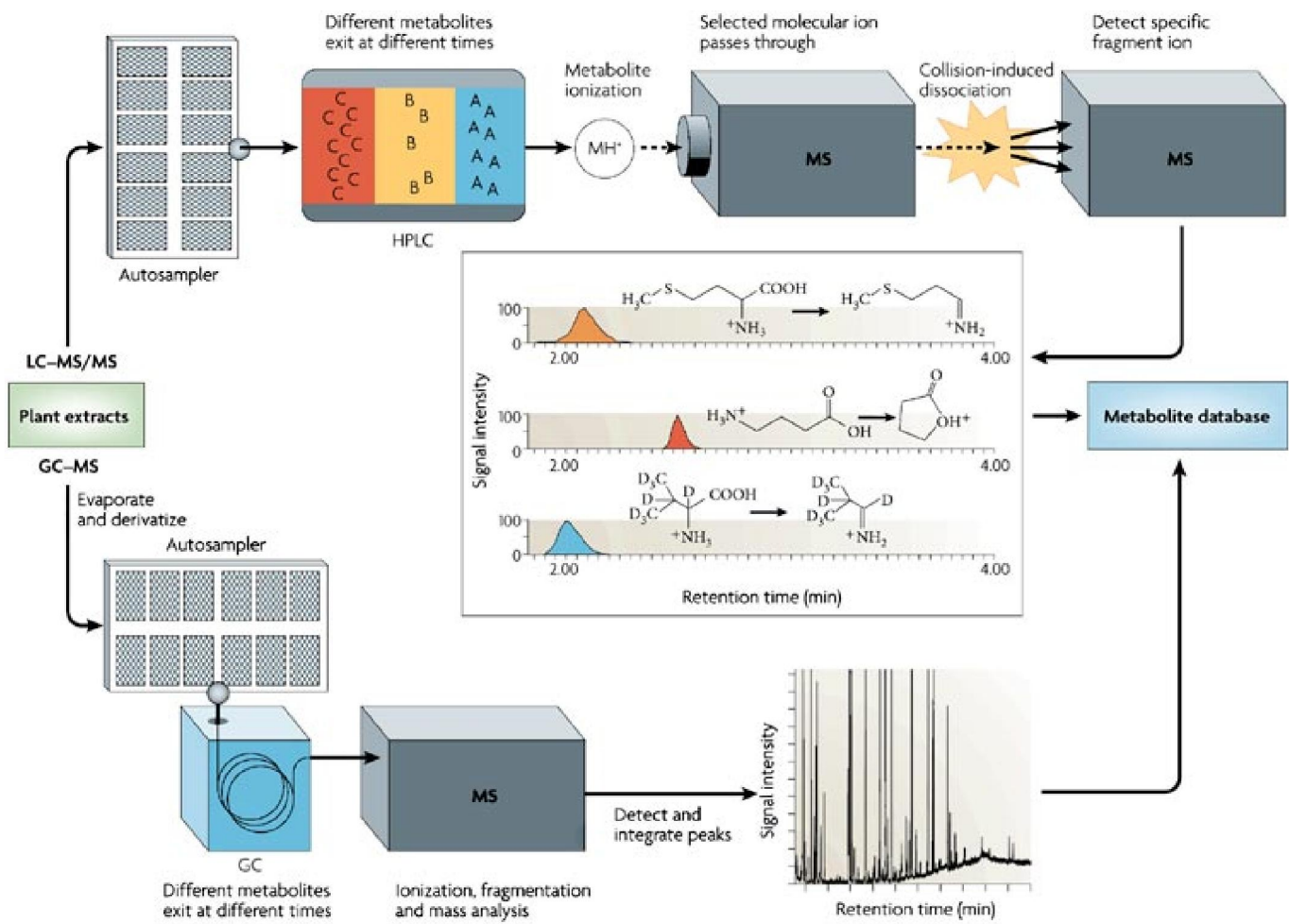
- Yüksek çözünürlüklü bileşiklerin ayrılmasını sağlar.
- Flame iyonizasyon dedektör (GC/FID) veya mass spektrofotometre (GS/MS) ile birleştirilerek kullanılabilir.
- Her iki yöntemde; hassas ve universal, organik bileşiklerin hemen hemen hiçbirinin yapı ve sınıfına bakmadan ortaya çıkaran yöntemlerdir.
- Yüksek kromatografik çözünürlük sağlar.
- Birçok biyomolekül için türevlendirmeye ihtiyaç vardır.
- Bazı büyük ve polar metabolitler GS ile analiz edilemez.



Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)



- HPLC, GS ile karşılaştırıldığında,
- Daha düşük kromatografik çözünürlüğe sahiptir.
- Tayin edilecek kimyasal bileşiklerin daha fazla sayıda ölçme potansiyeline sahiptir. (GS'de örnek sayısı sınırlıdır)
- Kullanılan çözücü, kolon ve detektör tipi maddeye uygun olmalıdır.

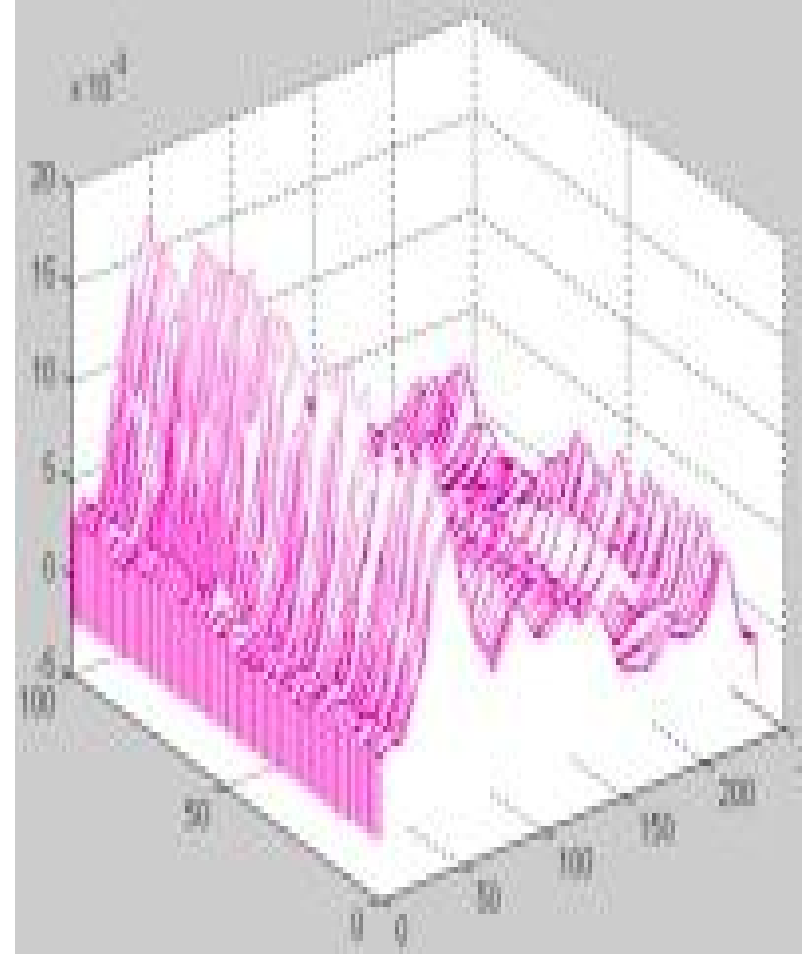


Nature Reviews | Molecular Cell Biology

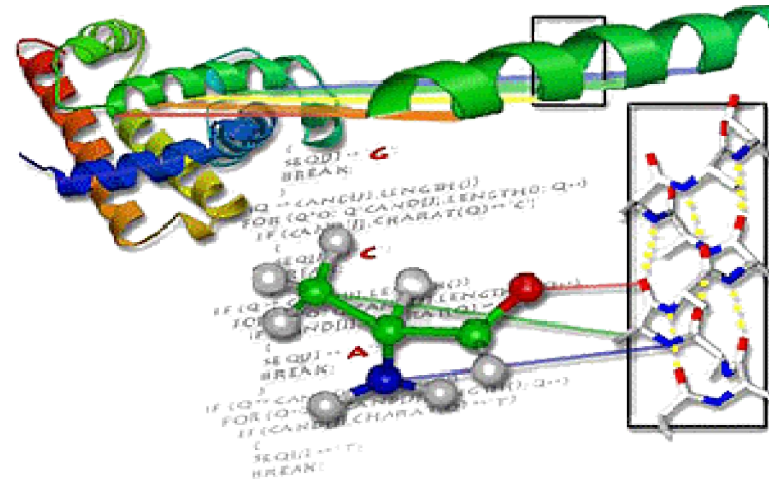
Last, Daniel and Shachar-Hill *Nature Reviews Molecular Cell Biology* **8**, 167–174 (February 2007) | doi:10.1038/nrm2098

Parmakizi Yöntemleri

- Bu teknikler örnek sayısının fazla olduğu durumlarda hızlı bir şekilde profillerinin çıkarılması için kullanılmaktadır.
- Örnekler
- Çözücü ekstraksiyonundan sonra,
- Bozulmamış dokular (magic angle spinning NMR),
- Sıvı veya yarı katı materyaller (NMR ve FT-IR) veya
- Kuru materyaller (FT-IR) için

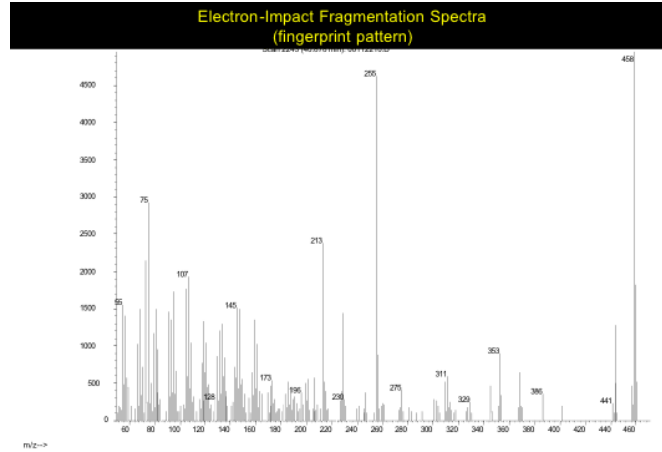


NMR



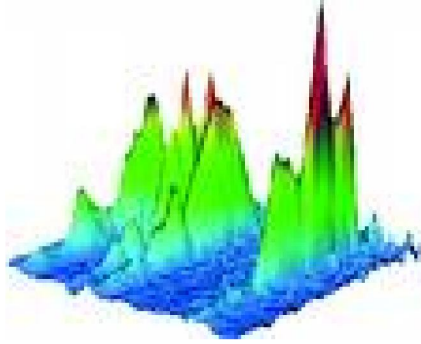
- Hidrojen içeren metabolitlerin, proton (^1H) NMR ile tespit edilmesi temeline dayanır. Sinyaller, referans bileşiklerle veya iki boyutlu NMR ile belirlenir.
- Tayin edilecek kimyasal bileşiğin ayırımına dayalı olmayan bir tayin yöntemidir.
- Örnek ileri analizler için bu teknikte geri alınabilir.
- Küçük moleküllü metabolitleri her tipi eş zamanlı olarak ölçülebilir.
- MS temeline dayalı tekniklerle karşılaştırıldığında MS daha duyarlıdır.
- NMR verileri yorumlamak kompleks karışımlarda oldukça zordur.

Direk Enjeksiyon MS

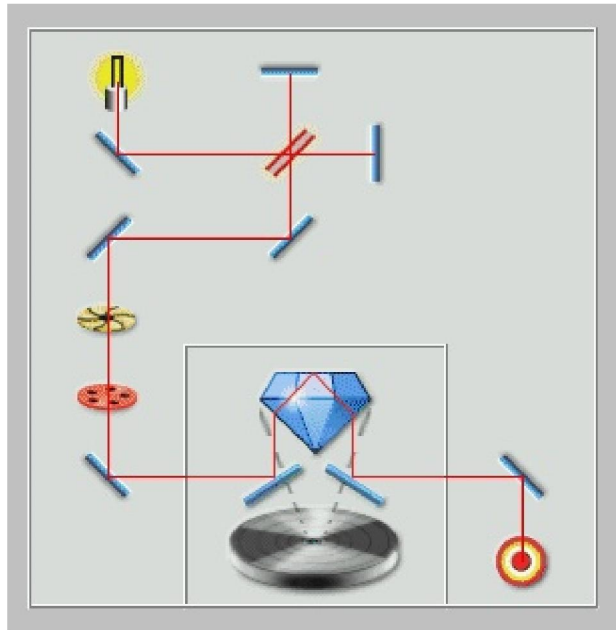
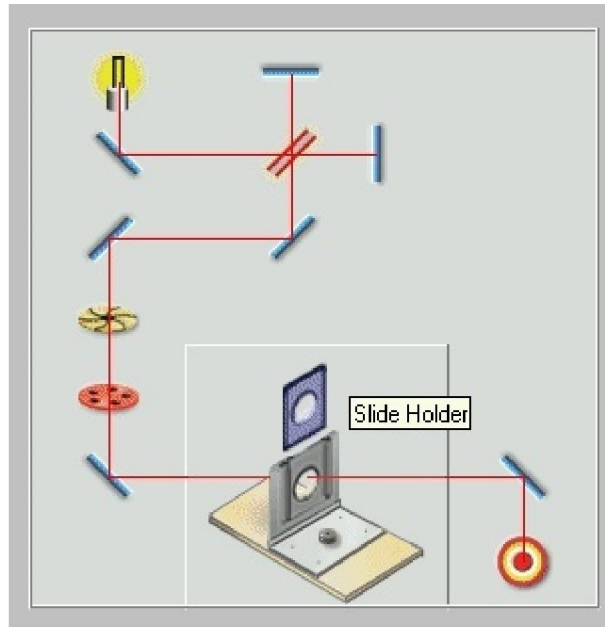


- Metabolitlerin mass profilleri, yüksek çözünürlüklü mass spektrometresine elektrosprey iyonizasyon kaynağına ham ekstraktların enjeksiyonu ile hiçbir kromatografik ayırma gerek olmadan elde edilir.

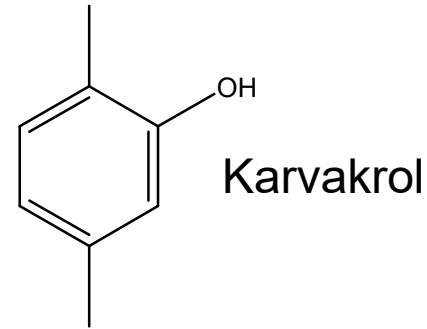
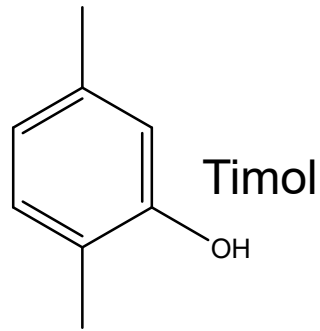
FTIR Spektroskopisi



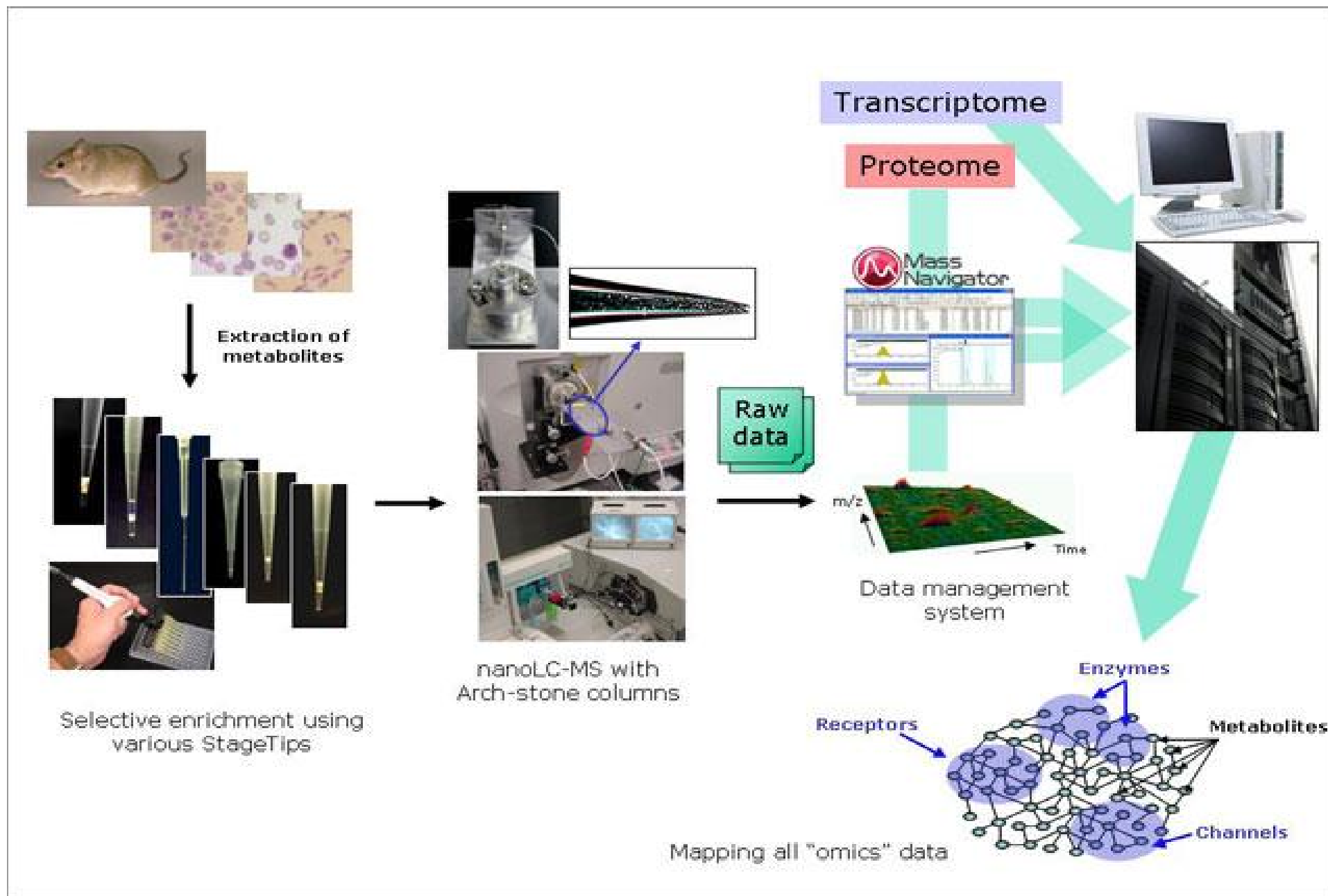
- Fonksiyonel grupların varlığını tespit eden bir yöntemdir.
- Örneklerin hazırlanması kolaydır.
- Eskiden sadece KBr tabletler ile spektrum alınabiliyordu. Yeni gelişen bir yöntem olan ATR yönteminde (Attenuated total reflectance) toz veya kurutulmuş örnek elmasın üzerine direk konur ve yansıma ölçülür.
- Diğer yöntemlere göre yorumu kolaydır.
- Ancak yapı tayini için yetersizdir.

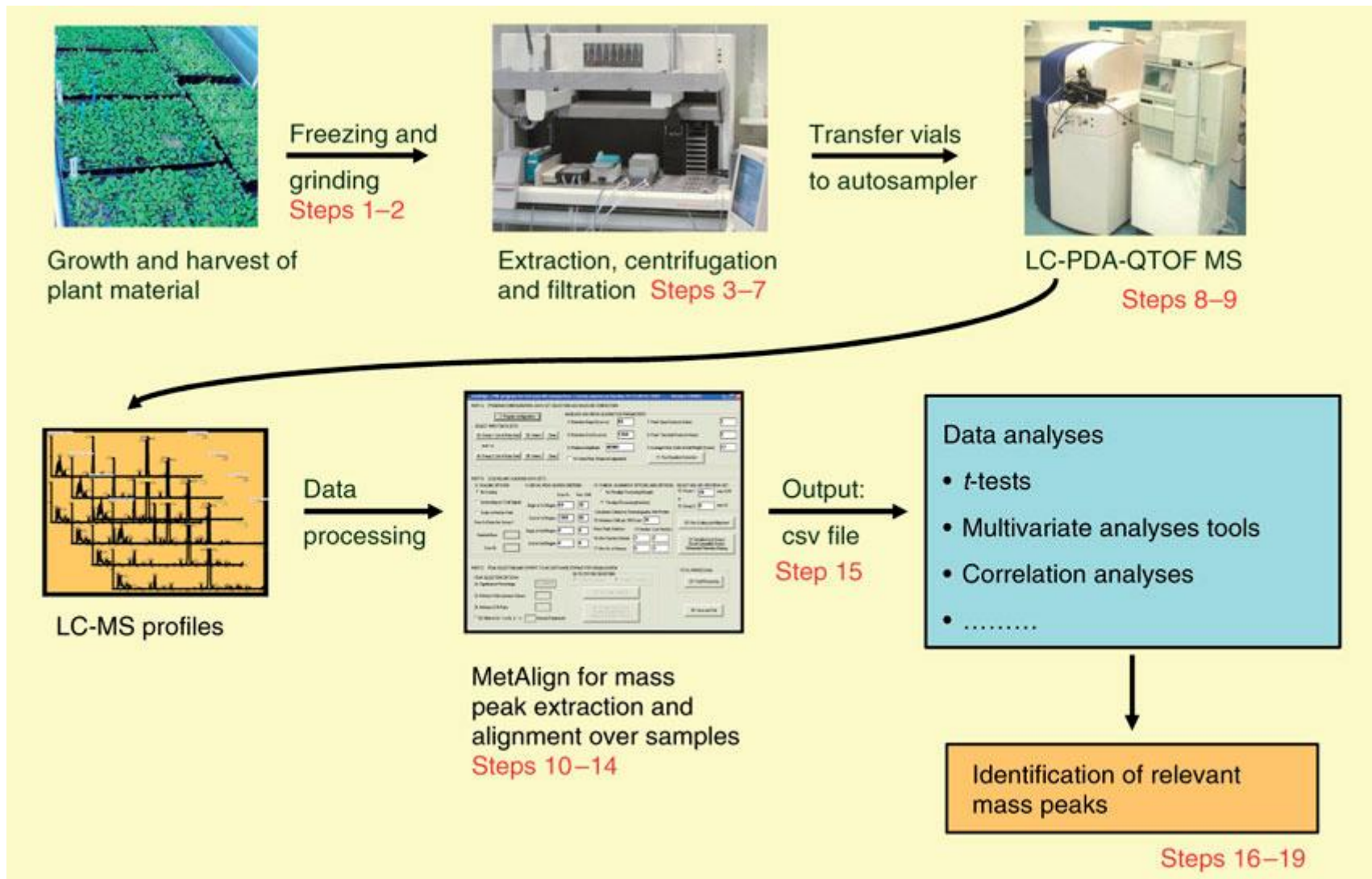


- LC/MS; diğer yöntemlerle iyi karakterize edilmemiş bileşiklerin tespitinde kullanılır.
- LC/MS/MS;. Yeni veya nadir metabolitlerin yapısının tayininde veya bilinen metabolitlerin karakterizasyonunda şüpheli durumlarda kesin yapısal bilgi sağlar.



- LC-NMR; bilinmeyen bileşiklerin yapısal karakterizasyonu için kullanılır.

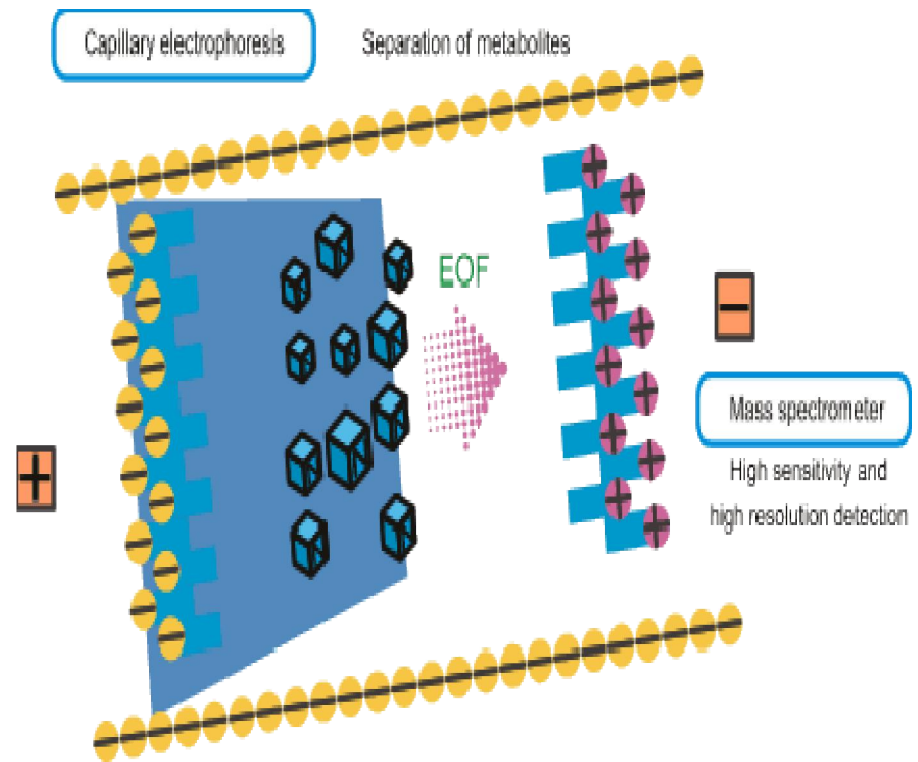


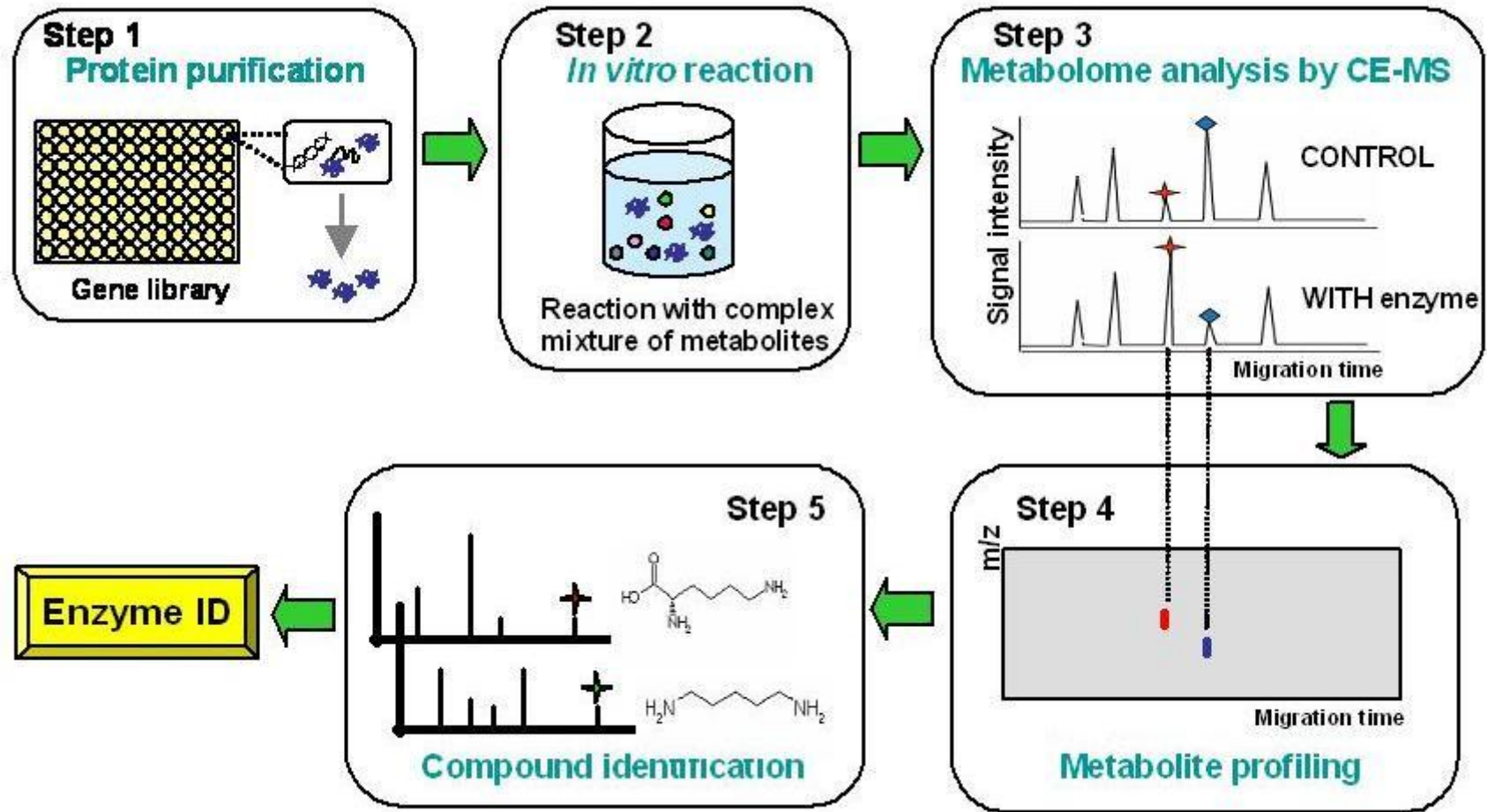


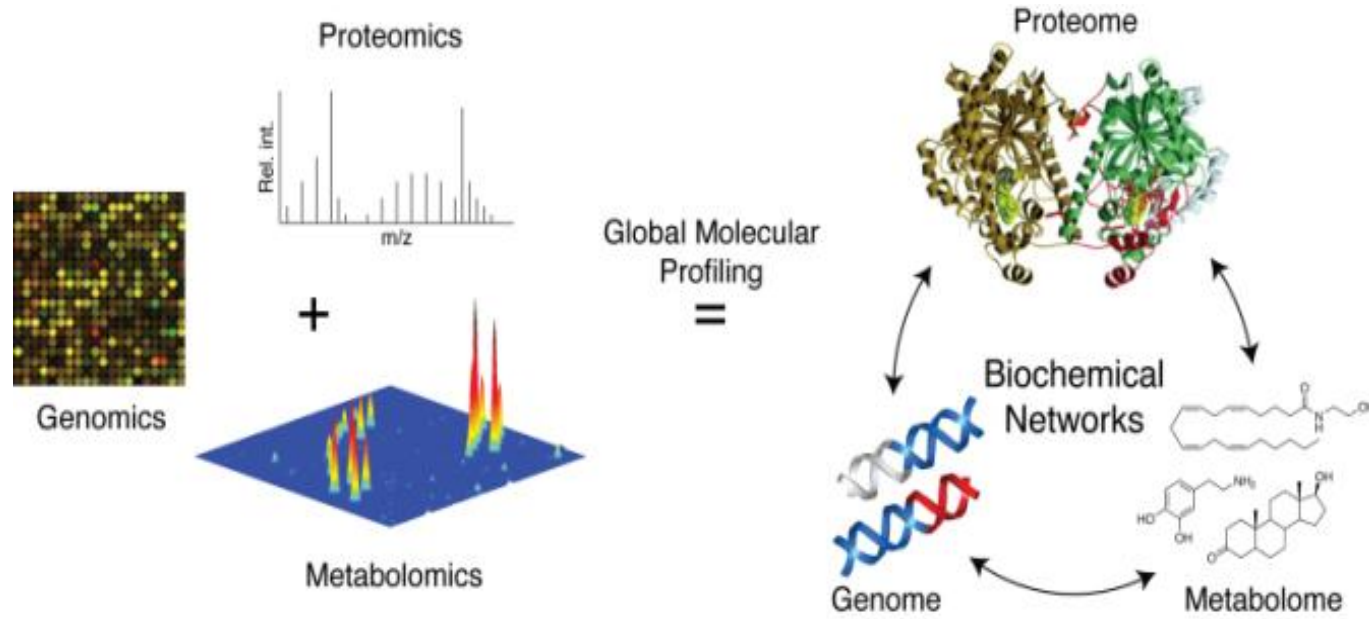
Kapilar Elektroferez (CE)

- Şimdiye kadar, metabolit profilleri için CE, oldukça az sayıda yayında kullanılmıştır.
- MS ile birleştirilerek kullanılmaktadır.
- HPLC'den ayırma hızı yüksektir.
- GC'ye göre metabolit sınıflarının daha geniş alanda kullanımı için uygundur.

CE-MS







- **Toksikoloji;** metabolik profili, bir kimyasalın toksik yapıya saldırması sonucu meydana gelen fizyoloji değişimlerin tespit edilmesinde kullanılabilir. Değişiklikler gözlenmesi, karaciğer veya böbreğe özel yara gibi, özel hastalık belirtileriyle ilişkilendirilebilir. İlaç sanayi için önemlidir.

- **İşlevsel Genomik;** metabolomik gen delesyonu veya insersiyonu gibi genetik manipulasyonların sebep olduğu fenotipteki değişikliklerin belirlenmesinde kullanılan önemli bir araçtır.
- **Nutrigenomik;** insan beslenmesi ile ilgili olarak genomik, transkriptomik, proteomik ve metabolomik terimlerinin genelleştirilmesidir.

- Diyet ve yaşam tarzı seçimlerinin bireylerin işlevlerini hücre, doku ve moleküler düzeyde ve toplum düzeyinde nasıl etkilediğini inceler.
- Yaş, cinsiyet, vücut kompozisyonu ve genetik gibi endojen faktörler tarafından belirli vücut sıvıları etkilenmektedir. Diyet ve ilaç gibi egzogen aktörlerde metabolik profili etkilemektedir.

Figure 3 Potential benefits of genomics, proteomics and metabolomics for the patient

Patient		Genomics	Proteomics	Metabolomics
Susceptibility	Predisposition	● ● ●	●	●
	Environmental Factors	●	● ● ●	● ● ●
	Risk	● ●	● ●	● ●
	Prevention	●	● ●	● ●
Diagnosis	Early Diagnosis	●	● ● ●	● ● ●
	Differential D Stratification	● ●	● ● ●	● ● ●
Treatment	Choice	●	● ● ●	● ● ●
	Response	●	● ● ●	● ● ●
	Alternatives	●	● ●	● ●
Aftercare	Side Effects	●	● ●	● ●
	Monitoring	●	● ● ●	● ● ●
	Prevention	●	● ●	● ●

KAYNAKLAR

- www.inovasyon.org/getfile.asp?file=AYK.CBTD181.pdf
- <http://genotyping.wordpress.com/2007/07/24/genetikdeki-donusum-genomik-ve-proteomik/>
- <http://www.biomics.se/metabolomics/index.php>
- <http://www.nutrition.tum.de/en/seite5.htm>
- <http://en.wikipedia.org/wiki/Metabolite>
- http://www.ich.ucl.ac.uk/services_and_facilities/lab_services/mass_spectrometry/metabolomics/GC_MS.html
- Goodacre, R., 2005. Metabolomics-the way forward. Metabolomics, 1 (1): 1-2.
- Coşkun, T., 2007. Nütrisyonel Genomik. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi, 50: 47-66.
- Schmidt C.W., 2004. Metabolomics: what's happening downstream of DNA. Environ Health Persp, 112: 411-415.
- Dettmer K., Hammock B.D., 2004. Metabolomics – a new exciting field within the “omics” sciences. Environ Health Persp, 112: 396-397.