

## Hekimlikte Metabolomik Çalışmalara Genel Bir Bakış

Özgür YAMAN

Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Konya  
vethek\_ozguryaman@hotmail.com

### Özet

“-omik” teknolojileri (genomik, proteomik, transkriptomik ve metabolomik), klasik moleküler biyolojinin aksine, farklı kimyasallara ve toksisite tiplerine verilen hücresel cevabın tespit edilmesinde yararlanılan teknolojilerin kullanılmasına olanak sağlarlar. Böylece son derece büyük ölçekli mekanik bilgi sağlayabilirler. Metabolomikler ‘omik’ kaskadı içerisinde son aşama olarak görülmektedir. Bir hücre veya canlıdaki metabolizmanın tümüne metabolom denilmektedir. Metabolomik çalışmalarda, metabolomdaki küçük moleküllü metabolitlerin NMR (Nükleer manyetik rezonans) spektroskopisi gibi çok yönlü ve yüksek verimli teknikler kullanılarak tanımlanması ve miktarının belirlenmesi hedeflenir. Metabolitlerin düzeyleri hücresel fonksiyonların işleyiş bilgilerini yansıtır. Bunun sonucu olarak genetik veya çevresel değişikliklere bağlı hücrenin veya dokunun fenotipini tanımlar. Metabolomik çalışmalar bu özelliği ile kişiselleştirilmiş ve öngürülebilir canlı sağlığına olanak sağlamaktadır.

Geçtiğimiz on yıl içinde, tüm dünyada, metabolomik değerlendirme açısından bulaşıcı ve kronik hastalıkların patogenezi ve teşhisi, farmakoloji, beslenme, veteriner hekimlik ve tıp alanlarında kayda değer bir artış olmuştur. Bu derlemede, ‘omik’ tekniklerin genel olarak tanımlarına, ölçüm tekniklerine yer verilerek hem insan hekimliği hem de veteriner hekimlikte giderek yaygınlaşan ve gelişen metabolomik çalışmalardan bahsedilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Metabolomik, -omikler, hastalıklar

### An Overview of The Metabolomic Studies in Medicine

#### Abstract

"-omic" technologies (genomics, proteomics, transcriptomics and metabolomics), despite the conventional molecular biology, allow to benefit? the technologies which are used to determine the response of the cell to the different chemical and toxicity type. Thus, they can provide extremely large-scale mechanical knowledge. Metabolomics are seen as the last stage in the “-omic” cascade. Metabolome is called the whole metabolism in a cell or organism. Metabolomic studies of small-molecule metabolites in metabolome NMR (Nuclear magnetic resonance) spectroscopy as a versatile and at identifying and determining the amount of high-throughput techniques. Metabolite levels reflect the information about the operation of cellular function. As a consequence metabolite levels define the phenotype of the cell or tissue due to genetic or environmental change. Metabolomic studies allow to monitor personalized and foreseeable vibrant live.

Over the past ten years, all around the World, metabolomic assesment in the diagnosis and pathogenesis of chronic and infectious diseases, pharmaceutical, nutritional, veterinary and medical applications increased significantly. In this review, general description and measurement techniques of ‘omics’ are defined and presence of emerging metabolomic studies with the growing popularity both in veterinary medicine and human medicine are stated.

**Keywords:** Metabolomic, -omics, diseases

#### Giriş

1900’lü yıllarda başlayan İnsan Genom Projesi’nin, 2003 yılında tamamlanmasıyla insan vücudundaki genlerin, tüm bireylerde büyük oranda aynı olup, sadece % 0.1’inin farklı olduğu ortaya çıkarılmıştır (Venter, 2003). Hastalıklara karşı duyarlılık, hastalığın

seyri ve şiddeti ile tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde bireysel farklılıkların varlığının belirlenmesi için ‘proteomik ve transkriptomik’ adı verilen yeni araştırma alanları geliştirilmiştir. Fakat bu araştırmalardan elde edilen bilgiler de klinik fenotipleri açıklamak için yeterli olmamıştır. Bunun sebebinin ise klinik fenotipi belirleyen tüm bilgilerin hücrede oluşan ‘metabolit’lerde saklı olması ile ilgili olduğu düşünülmektedir (Bren, 2005). Metabolitlerin ve proteinlerin oluşturduğu karmaşık ağın taşıdığı bilgi, genomik bilgiden fazladır ve bu bilgi sadece genomik bilgiden yola çıkılarak aydınlatılamamaktadır (Tyers ve Mann 2003). Günümüzde herhangi bir hastalığın moleküler mekanizmasının aydınlatılmasında yalnızca genom analizinin ya da yalnızca proteom analizinin yeterli olmadığı, bunun yerine metabolomik çalışmaları da içine alan bütünsel bir değerlendirmenin daha gerçekçi sonuçlar verdiği bilinmektedir (Fiehn 2001; Ibanez ve ark., 2012).

Son yıllardaki yoğun araştırmalara rağmen, karmaşık metabolik hastalıkların gerisindeki moleküler patogenezin önemli bir kısmı hala bilinmemekte, birçok mekanizmayı kontrol eden fizyopatolojik mekanizmaların açıklanmaya çalışılması ‘omikler’ (transkriptomikler, genomikler ve lipidomikler) adı verilen geniş ölçekli çalışmalardan yararlanılmaktadır (Martel ve ark., 2012).

### **Omik Bilimlere ve İlgili Bazı Tanımlara Genel Bir Bakış**

Genetik, epigenetik, transkriptomik, proteomik ve metabolomik araştırmalar hücreler dokular ve organlarla ilişkili çoklu hastalıklarda etiyolojik süreçlerinin geniş ölçekli kesitlerini elde etme imkanı sağlamaktadır. Bunlar, geleneksel yaklaşımların ötesine geçerek bazı spesifik bozuklukların kritik biyolojik proseslerini belirlemeyi de sağlamaktadır (Meng ve ark., 2013). Omik çalışmalarda kullanılan bazı temel kavramlar şöyledir;

**Genom;** bir organizmanın kromozomlarında bulunan genetik bilginin tamamını simgeler. Genom terimi, ilk kez 1920 yılında Alman botanikçi Hans Winkler tarafından tanımlanmıştır (Başaran ve ark., 2010). **Genomik;** herhangi bir canlının bütün yapısal ve işlevsel fonksiyonlarını kodlayan tüm genlerini teker teker tanımlayarak bu genlerin birbirleri ve çevre ile etkileşim ve iletişimlerini, zaman, yer ve miktar olarak üretim ve aktivasyonlarının kontrolünü bütünsel olarak inceleyen bir bilim dalıdır. Ortaya çıkan bilgiyi bilgisayar veritabanlarında işleyen, anlamlandıran ve saklayan bilim dalı olarak tanımlanır (Siddik ve ark., 2003).

**Proteom;** belli bir zaman ve mekanda bir organizmanın sahip olduğu ve ifade ettiği tüm proteinlerdir. **Proteomik;** bu proteinlerin yapılarını, yerleşimlerini, miktarlarını, translasyon sonrası modifikasyonlarını, doku ve hücrelerdeki işlevlerini, diğer proteinlerle ve makro moleküllerle olan etkileşimini aydınlatır (De Hoog ve Mann 2004).

**Transkriptom;** belli bir zamanda bir hücre veya dokudaki gen transkriptlerinin (RNA) tümünü ifade eder. **Transkriptomik;** hücre genomundan transkripsiyonla oluşan mRNA transkriptlerinin eş zamanlı incelenmesidir. Bir örnekte bulunan RNA miktarına bağlı olarak, genlerin seçilmiş bir alt grubunun veya tamamının ekspresyon düzeyini ölçmeyi hedeflemektedir (Gündoğdu ve Karahan 2008).

**Metabolom;** bir hücre veya canlıdaki metabolizmanın tümünü birden kapsayan tanımdır. Diğer bir deyişle bir organizma içerisindeki küçük moleküllü metabolitlerin tamamını ifade eder.

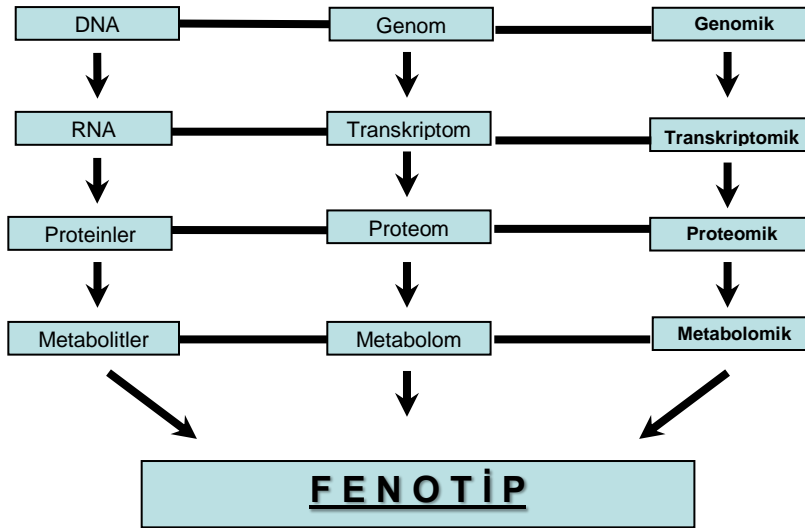
**Metabolitler,** biyokimyasal reaksiyonların ara ürünleridirler ve canlı hücre içerisinde gerçekleşen çok sayıda farklı metabolik kaskadlarda rol alan veya bu metabolik yolların işleyişi sırasında ortaya çıkan önemli kimyasal moleküllerdir. Molekül ağırlıkları 50-1500

Da arasındaki bu küçük moleküllerden bazıları, peptitler, oligonükleotidler, şekerler, nükleozidler, organik asitler, ketonlar, aldehitler, aminler, amino asitler, lipitler, steroidler, alkaloidlerdir (Griffiths ve ark., 2007).

**Metabolomikler** ise dokularda, hücrelerde ve fizyolojik sıvılarda ortaya çıkan metabolom içindeki **metabolit**lerin miktar ve değişimlerinin spektroskopi, kromatografi gibi yüksek verimli teknolojilerle eş zamanlı, kapsamlı ve sistematik tespitidir (Klein ve Shearer 2015).

Geleneksel yöntemlerin aksine, metabolomik çalışma; bir biyolojik numune içindeki binlerce küçük molekülün ölçülebilmesini sağlayabilir. Bu analitik kapasitesi ile milyonlarca veri parçaları arasından bir molekül sinyali belirlenerek matematiksel bir hesap ile sayısal bir sonuca ulaşabilmektedir (Sansone ve ark., 2007). **Metabolik profilleme**; seçilen bir biyokimyasal süreçteki seçilen metabolitlerin ya da özel bileşikler grubu metabolitlerinin nicel analizini tanımlamaktadır. Bu analiz sınırlı sayıda metabolitlerin analizini içerir.

Metabolomikler 'omik' kaskadı içerisinde son aşama olarak görülmektedir (Şekil 1).



Şekil 1. Metabolomikler 'omik' kaskadı içerisinde son aşamadadır.

**Metabolik parmak izi (metabolic fingerprinting)**: Belirli bir numune içindeki metabolit grubunun, toplam analizidir ve bireysel bilgiler içeren bu analiz sonrası oluşan tablonun adına denir.

**Metabolik ayak izi (metabolic foot printing)**: Hücreler tarafından metabolit atılımı veya alımının bir yansıması olarak hücre kültür ortamı içinde, hücre dışı metabolitlerin 'metabolik ayak izi analizi' şeklinde tanımlanmıştır (Dettmer ve ark., 2007).

Organizmanın genetik değişiklik, hastalık ve çevresel değişikliklere verdiği en son yanıt metabolomdaki değişikliklerdir. Proteomikte olduğu gibi hastalıkta belirleyici olan veya tedavide gözlem sağlayan metabolitlerin belirlenmesi amaçlanır. Hastanın metabolik profili ve genetik yapısına göre diyet önerilerinde bulunulmasına olanak 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. Diyabette kan şekeri, koroner kalp hastalığında kolesterol düzeyi gibi geleneksel metabolitler, hastalık teşhisinde yıllardır kullanılmaktadır. Metabolomikler, içinde bulunulan duruma göre tüm metabolitlerdeki artma ve azalmaları belirlemeye çalışır.

Kolesterol artışı ile koroner sorunların yaşanabileceği ifade edilebilirse de metabolomiklerle bu sorunun neden yaşanabileceği de bilinebilir. Yani metabolomik analiz ile sadece bilgi sunulmaz, aynı zamanda mekanizmalar daha kolay izah edilir (Coşkun, 2007). Bu şekilde, 'omik' tekniklerin özellikle metabolomiklerin, insanlarda beslenmeye yönelik araştırmalarda yeni teknolojilerle beraber, beslenmenin değerlendirilmesinde de yeni biyomarkırların identifikasyonu için artan ve ihtiyaç duyulan bir yaklaşımı temsil etmektedir (Giby ve Ajith 2014).

Yapılan çalışmalar genetik yapının bilinmesinin yeterli olmadığı, bunun yanı sıra protein ifadelerinin açıklanmasının pek çok hastalık için tanı, prognoz, etkili tedavi ve tedaviye yanıtın değerlendirilmesi için yetersiz kalabileceği ve metabolomik analizleri de kapsayan bütünsel yaklaşımların daha faydalı olacağı sonucuna varıldığını bildirilmiştir (Ozturk, 2015).

Metabolomik çalışmalar; metabolitlerin ayrırılmasını ve analizini sağlayan teknikler, metabolitlerin teşhis ve tanımlanmasını sağlayan yazılım-veribankası kullanımı ve istatistiksel değerlendirilmeden oluşmaktadır (Villas-Bôas ve ark., 2007).

### **Metabolomik Araştırmalarda Kullanılan Ayrım ve Analiz Teknikleri**

Ayrım teknikleri; **Gaz Kromatografisi (GC)**, **Sıvı Kromatografisi (LC)**, **Kapiler Elektroforez (CE)** ölçümlerini kapsamaktadır. Bu tekniklerin birbirine avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır.

GC'nin ayrım kapasitesinin ve kromatografik ayrımlarda tekrarlanabilirliğin yüksekliği ile sadece uçucu olmayan metabolitlerin dedeksiyonunu sağlamasıyla öne çıkmaktadır.

LC, düşük bir kromatografik ayrım kapasitesine sahip olmasına rağmen GC'ye göre daha fazla metabolitin ayrımına olanak sağlamaktadır.

CE'de ise, fazla sayıda metabolit analizine imkan sağlarken tekrarlanabilirlik, duyarlılık ve güvenilirliği düşüktür (Bajad ve ark., 2011; Garcia ve ark., 2011).

Analiz teknikleri ise **Kütle Spektrometrisi (MS)** ve **NMR Spektroskopisi**'dir.

**Kütle spektrometrisi (MS)**; GC, LC veya CE ile ayrılan metabolitlerin analizinde kullanılır. Yüksek ayrım gücüne ve kesinliğe sahip Fourier Transform Kütle Spektrometrisi (FTMS) cihazları ile başarılı sonuçlar alınabilmektedir (Takahashi ve ark., 2008). FTMS'nin metabolomik çalışmalarda kullanımına en büyük engel halen yüksek maliyete sahip olmasıdır. Bu sebeple sık kullanılmadığı bildirilmiştir (Lei ve ark., 2011).

**NMR spektroskopisi**, moleküllerin yapıları hakkında bilgi veren spektroskopik yöntemler içerisinde tartışmasız en ileri seviyede olanıdır. NMR spektroskopisi, molekül yapısının yanı sıra, moleküllerin çeşitli fiziksel özellikleri (bağ ve açılar, gerilim, molekül içi dinamik dengeler, elektron ayrılması ve kinetik veriler) hakkında önemli bilgiler veren ve kimya biliminde önemli spektrometrik bir yöntemdir (Balci 2004). <sup>1</sup>H NMR spektroskopisi teknikleri, bütün vücut sıvılarında ve ayrıca çeşitli dokularda daha hızlı ve güvenilir sonuç vermektedir. Bu teknik biyokimyasal analizlerde gün geçtikçe artan şekilde kullanılmaktadır (Ala-Korpela, 2007).

Son zamanlarda NMR ile metabolomikler, 1 µM kadar düşük konsantrasyonlardaki metabolitlerin yarı otomatik identifikasyonu ve kantifikasyonunu sağlamaktadır. Bu da bazı vücut sıvılarında 20 farklı metabolitin (*in vivo*) ve bazı dokularda 100 metabolitin (*in vitro*) belirlenebileceği anlamına gelmektedir (Zhang ve ark., 2012).

Metabolomik tabanlı çalışmaların çok yönlü ve verimli olması nedeniyle; ilaç toksisitesi ve gen işlevi (Nicholson ve ark., 2002), beslenme (Whitfield ve ark., 2004),

mikrobiyoloji (Bundy ve ark., 2005), kanser araştırmaları (Denkert ve ark., 2006), farmakoloji (Lindon ve ark., 2006), bitki bilim (Schauer ve Fernie 2006) ve ekoloji (Viant ve ark., 2003) gibi çeşitli alanlarda kullanılmaktadır.

### **İnsan hekimliğinde yapılan bazı güncel metabolomik çalışmalar aşağıda derlenmiştir;**

Metabolomik analizler, serum, idrar, beyin omurilik sıvısı, plazma, tükürük gibi vücut sıvılarında yapılabilmektedir. Bu analizler klinik biyokimya ile, farmakoloji, pre-klinik ilaç denemeleri, toksikoloji, transplant izlemi, kanser metabolizması, yeni doğan taraması gibi alanlarında kullanılmaktadır (Bren, 2005).

Bilindiğı gibi hastalıklar var olan canlı metabolizmasını bozarlar. Sonuçta, hastalık etkenleri organizmada metabolomik parmak izleri şeklinde uzun ömürlü ve yakalanabilir değışikliklere neden olurlar. Bu durum klinik tıp ve biyomedikal alanındaki araştırmalara önemli katkılar sunmaktadır. Tıp alanında ilk metabolomik sonuçlar onlarca metaboliti kapsamak üzere; motor nöron hastalığı, depresyon (Paige ve ark., 2006), şizofreni, Alzheimer hastalığı (Han ve ark., 2002), kalp-damar ve koroner arter hastalığı, yüksek tansiyon, subaraknoid kanama, preeklampsi, Tip 2 diyabet, karaciğer kanseri, yumurtalık ve meme kanseri ile Huntington hastalığını içerir. Metabolomik imza ile toksikoloji ve farmakokinetik araştırmaları da hız kazanmıştır. Bu şekilde ilaçların metabolik yolları ve etki mekanizmaları tespit edilebilmektedir (Kaddurah ve ark., 2008).

Klinik pratikte ve hayvan deneyleri ile bazı hastalıklarda yapılmış metabolomik çalışmalardan bazıları aşağıda örneklendirilmiştir;

***Deride enflamatuvar hastalıklarda*** TNF- $\alpha$ 'nın epidermisteki etkisi transkriptomik çalışmalarla araştırılmış, immün ve inflamatuvar cevabın yanı sıra yeniden doku modellenmesinde, hücre motilitesi, hücre döngüsü ve apoptozun düzenlenmesinde rolü olduğı belirtilmiştir. Bqaşlıca molekül olduğı tanımlanan TNF- $\alpha$ 'yı hedefleyen tedaviler deri enflamatuvar hastalıklarında uygulama alanı bulmuştur (Banno ve ark., 2004).

***Unipolar ve bipolar depresyonun*** aktif bağışıklık ile ilgili yollarla karakterize olduğına dair bilgiler vardır. Nöroprogresyon; hafif nörodejeneratif süreçler, apoptozis, hücre içi sinyal disfonksiyonları, düşen nöroplastisite ve neurogenezi kapsayan sinirsel değışiklikler olarak tanımlanır. Omik tabanlı ***depresyon ve yangı*** araştırması yapan Maes ve ark. (2015); bağışıklık, O&NS (Oksitatif&Nitrozatif stres) ve neuroprogresyon ilişkili yolların depresyonun evrelemesinde, (hassasiyet, nüks, kronikleşme ve tedavi direnci) ve bunların birlikteliklerinde, birçok santral sinir sistemi (MSS) ve tıbbi bozuklukların oluşumunda rol oynadığını belirtmişlerdir. Depresyonda, bağışıklığın, O&NS ve neuroprogressif yollar ile ayarlandığını ve Janus kinaz/sinyal dönüştürücüler ve transkripsiyon aktive edicileri (JAK-STAT), Toll benzeri reseptör (TLR) kompleksi, nükleer faktör-kB (NF-kB), nükleer faktör (eritroid türevi 2)-benzeri 2 (Nrf-2), ve glikojen sentez kinaz-3 gibi hücre içi sinyal ağları ile kontrol edildiğini ortaya koymuşlardır. Depresif kadın ve erkeklerde omik tabanlı biyomarkırlarla yeni tedavi araçları geliştirilebileceğini, böylece depresyonun tedavi ve önlenmesinde geleneksel yöntemlere göre daha etkili olabileceğini ifade etmişlerdir.

***Bronkopulmoner displazi (BP)***, gen-çevre etkileşimleri sonucu oluşan kompleks bir hastalıktır. Bebeklerde en yaygın kronik akciğer hastalığıdır ve patogenezi anlamak için geliştirilmiş anlayışlar, hayvan modelleri kullanarak ve insan verileriyle ilişkilendirilerek yapılmıştır. Günümüzde bazı (A vitamini, kafein) farmakoterapötik seçeneklerin bu durumu iyileştirmek için kullanılması tercih edilirken, hala BP için özel ya da etkili bir tedavi yoktur. Bu hastalığın prognozu için yararlı ve bu hastalığa yakalanma riski olan bebekleri doğıru tespit etmek için potansiyel yeni tedavi stratejileri hedeflenmektedir. Güvenilir biyomarkırlar, hastalığın erken müdahalelerle önlenmesi veya hastalığın en aza

indirilmesi için, hastalığın başlangıç aşamasında tespit edilmesine imkan sağlayacaktır. Bu amaçla "omik" teknolojileri ile yapılan insan çalışmalarına odaklanan bazı araştırmacılar BP biyomarkırları ile ilgili bugüne kadar yapılan literatür bilgilerle potansiyel biyomarkırlar hakkında değerlendirmelerini sürdürmektedirler (Piersigilli ve Bhandari 2015).

**Koroner arter yetmezliği ve kardiyovasküler hastalıklar** ile ilgili MS/MS ile yapılan metabolomik ölçümlerle; arjinin, alanin, prolin, lösin / izolösin, valin, glutamat / glutamin, fenilalanin ve glisin gibi aminoasitler ile, serbest yağ asitleri ve özellikle uzun zincirli açilkarbinitinlerin bu hastalıklarla ilgisi olduğu göstermiştir (Shah ve ark., 2009). Metabolomik çalışmalarla birlikte kardiyovasküler hastalıklar (Wang ve ark., 2011), miyokardiyal işemi (Barba ve ark., 2008), kalp yetmezliği, atriyal fibrilasyon, ateroskleroz gibi hastalıklarla ilişkili serum metabolik profilleri belirlenmiştir (Alawieh ve ark., 2013). Karotik damarın intima ve media katmanlarının kalınlığı ve bazı aminoasitlerin varlığı, subklinik ateroskleroz ihtimalini barındırdığı bazı çalışmalarda bildirilmiştir (Hoefler ve ark., 2015). NMR tabanlı, prospektif metabolomik bir çalışmada, fenilalanin, MUFA (tekli doymamış yağ asitleri) ve PUFA (çoklu doymamış yağ asitleri)'nin koroner kalp yetmezliği için yeni biyobelirteçler olduğu ortaya koyulmuştur (Wurtz ve ark., 2015).

**Beyin tümörlerinde** yapılan metabolomik çalışmalarda, farklı beyin tümör ve kanserlerinde farklı metabolitlerin yükseldiği bulunmuştur (Griffin ve Kauppinen 2007; Griffin ve Salek 2007). Metabolomik analizler ile kardiyovasküler, metabolik ve nörodejeneratif hastalıkların gelişimi hakkında hayvan modelleri kullanılarak bilgi edinilmesi de mümkün olmuştur (Griffin, 2006).

Serum veya idrar örneklerinde günümüzde yapılan metabolomik çalışmalar, **malign tümörlerde metastazın** tespitinde ve kanser türlerinin ilerlemesinin derecelendirilmesinde etkin olarak kullanılmaktadır. Metabolomik tabanlı bir araştırmada, farklı derecelerde pankreas tümörü olan hastalarda, sağlıklı insanlara göre farklı 60 metabolit keşfedilmiştir (Nishiumi ve ark., 2010). Tedavi sürecinde kullanılan ilaçlar farmakolojik tabanlı metabolomik çalışmalar ile ilaçların kişiye özgü tedavi yanıtı ve toksisitelerini tespit edilebilmektedir (Vermeersch ve ark., 2013).

**Meme ve yumurtalık kanserinin** erken teşhisi için de idrar örneklerinde, NMR spektroskopisi ile metabolomik ölçümler yapılmıştır. Enerji metabolizması, amino asitler, ve barsak mikrobiyal metabolizması ile ilgili trikarboksilik asit döngüsünün ara maddeleri ve metabolitlerinin adı geçen hastalıklar için biyomarkır olarak kullanılabileceği tespit edilmiştir (Carolyn ve ark., 2013). Devamında yapılan güncel çalışmalar ile hastalığın oluşum mekanizması ve yeni biyomarkırlar hakkında daha ileri sonuçlar alındığı bildirilmiştir (Shajahan-Haq ve ark., 2015).

Metabolomik çalışmalar, klinik parametreler ve kan örneklerinin protein mikrodizin analizleriyle birleştirmeleri ile, **böbrek diyaliz tedavisine** başlayan hastalarda mortalite zamanı tahmin edilebilmektedir (Knickerbocke ve ark., 2007).

İşaretli bir atomun metabolitlere katılımının izini sürerek atomun hangi metabolik yollara girdiği anlaşılabilir. Bu iz sürme yöntemine **SIDMAP** (stable isotope dynamic metabolic profiling) adı verilmektedir. SIDMAP yeni doğan bebeklerin **de novo lipogenez** kullandığını ve kanser çalışmalarında işaretli-D glukoz kullanılarak **de novo** nükleik asit sentezinde bazı kanser hücrelerinin farklı pentoz fosfat yolunun farklı dokularda, farklı yönleriyle kullandıkları gösterilmiştir (Garg ve ark., 2005).

**Obezite**, son yıllarda prevalansı ve insidansı artan önemli bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. Ancak alta yatan biyokimyasal ve metabolik yollar tam olarak anlaşılmuş değildir. Metabolomik, obezite ile ilişkili biyomarkırların tanımlanması bu mekanizmaları açıklığa kavuşturulmasında yardımcı olmaktadır. Bu amaçla yapılan çalışmalarda dallı

zincirli amino asitler (DZAA), esterleşmemiş yağ asitleri, organik asitler, açilkarnitinler ve fosfolipidler obezite için potansiyel biyolojik ürünler olarak tespit edilmiştir. Bu yükseltilmiş DZAA ve diğer amino asitlerin obezite ile arasında bir ilişki olduğunu göstermektedir. Bundan başka,  $\beta$ -oksidasyon deregölasyonunun obezite gelişimi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Rauschert ve ark., 2014). Hızla kilo verilmesine neden olduğu söylenen zayıflama tabletlerinin günümüzde kullanımı oldukça popülerdir ve Çin kökenli bitkisel zayıflama tabletlerinde kullanılan aristoloşik asitin ratlarda kemik iliğinde gen düzeyinde zararlı olduğu ve gen mutasyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Bhalli ve ark., 2013).

İskelet-kas sisteminin mekanik koşullarına kolayca uyum gösterebilen üstün mekanik özelliklere sahip metal nanopartiküller ve alaşımları eklem protezi ve kemik yenileme malzemesi olarak ortopedik uygulamalarda, çene cerrahisinde dolgularda ve diş implantlarında, özellikle stent uygulamalarıyla kalp damar cerrahisinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadırlar. İnsanlar üzerinde yapılan çalışmalarda, bazı metal nanopartiküllerin sitotoksik ve genotoksik etkilere sahip olduğu ve insanlar için tehlikeli olabilecekleri gösterilmiştir. Bu çalışmalardan elde edilen bilgiler, kobalt-krom nanopartiküllerinin **sitotoksik ve genotoksik etkiye** sahip olduğu göstermiştir. Kobalt-kromdan yapılan protezlerin kullanıldığı hastalarda, protezlerin aşınması sonucu oluşan kalıntıların DNA ve kromozom hasarına neden olduğu belirtilmiştir (Sekeroğlu, 2013). Burada bahsedilen çalışmalar dışında, insan hekimliğinde yapılmış ve halen yapılmakta olan çalışmalar hakkında birçok derleme ve makale bulunmaktadır.

Endojen metabolitler gen ekspresyonunun son ürünleridir ve büyük ölçüde hücre sel sinyalin oluşumuna neden olurlar. Teorik olarak bu durum araştırılan spesifik hastalığın kimliklendirilmesinde önemli rol oynar. Böylece, metabolomik çalışmalar gelecek yıllarda ilaç araştırmalarında, ilacın etki mekanizmalarının tanımlanmasında potansiyel bir yardımcı olacaktır. Metabolomikler, spesifik biyomarkırların identifikasyonu ve daha genel bir ifade ile ‘hastalıkların biomarker profillerinin belirlenmesinde’ kullanılır. Bu yönüyle metabolomik tabanlı çalışmaların uygulamaları veteriner hekimlik için önemli bir buluş olup metabolomiklerle ilgili çalışmalar hız kazanmıştır (Witkamp, 2005; Jones ve Cheung 2007).

**Veteriner hekimlikte yapılan metabolomik çalışmalardan bazıları aşağıda örneklendirilmiştir;**

**Transisyonel hücre karsinomu (THK)**, son zamanlarda köpeklerde yaygınlaşan, farklı teşhis ve tedavi yöntemleri hakkında araştırmaların yapıldığı bir hastalıktır. THK'nin görülme oranı diğer köpek ırklarına göre İskoç Terrier ırkında 20 kat, West Highland Beyaz Terrier ve Shetland çoban köpek ırklarında 3-5 kat daha yüksek olduğunu belirtilmiş, THK olan köpeklerin idrarlarında yapılan metabolomik tabanlı araştırma da üre ve metil-guanidin metabolitleri düzeylerinde artış tespit edilmiştir (Zhang ve ark., 2012).

**Nefrotoksisite** klinik ilaç geliştirme araştırmaları sırasında gözlemlenen yaygın bir yan etkidir. Gentamisin, siklosporin ve cisplatin gibi ilaçların ratlarda normal dozda uygulamaları sırasında oluşan nefrotoksisiteyi ve buna duyarlılığı erken dönemde CE-TOF-MS (capillary electrophoresis time-of-flight mass spectrometry) yöntemi kullanılarak belirlemek için metabolomik analizler yapılmış ve 169 metabolit içerisinde 3-metilhistidin (3-MH), 3-indoksil sülfat (3-IS) ve guanidoasetat (GAA)'ın ratlardaki nefrotoksisitenin belirlenmesinde biyolojik belirteç olabileceği bildirilmiştir (Uehara ve ark., 2014).

Metabolomik profillemeye, proteomik ve transkriptomik çalışmalar ile birlikte aşı çalışmalarında da kullanılmaktadır. Bu uygulamalarda hedef bağışıklığın ne kadar sağlandığının öğrenilmesi, oluşan bağıklığın korunması ve bu amaçla aşuların tasarlanması,

devamında aşı adaylarının taranması ile ilgili alanları metabolomik çalışmalar yapılmaktadır (Gray ve ark.,2015).

***Sığırların solunum yolu hastalığı (BRD)***, dünya da yaygın olup verim düşüklüğüne ve ağır kayıplara neden olabilen önemli bir hastalık olma özelliğini korumaktadır (Cusack ve ark., 2003). Gray ve ark. (2015), buzağılarda intranasal solunum aşısının sistemik bağışıklık cevabının belirlenmesi ve takibinde plazma örneklerinde metabolomik çalışmalar yapmışlardır. Yüksek seçiciliği, kuvveti, hızı ve ölçüm doğruluğuna sahip Ultra performans LC (UPLC/MS) kütle spektroskopisi ile yapılan bu araştırmada, farklı ve yeni 12 metabolik yol tespit edilmiştir. Bu çalışmalar ile daha ucuz ve başarılı aşı uygulamaları yapmanın ve sonuçları değerlendirmenin mümkün olabileceğini bildirmişlerdir.

Organizmanın verdiği akut inflamatuvar yanıtlar koruyucudur fakat uzun süre ve kararlı bir şekilde devam ederse **kronik inflamasyon ve organ fibrozisine** yol açabilir. Serhan ve ark. (2015), protektin ve maresin gibi pro-antiinflamatuvar çözülme artırıcı mediyatörlerin biyosentezine ve *in vivo* aksiyonlarına odaklanmışlardır. Bu yeni bioaktif aile üyesi mediyatörlerin yapı ve işlemlerinin tayini ile enfeksiyon, enflamatuvar ağrı, doku rejenerasyonu, nörodejeneratif hastalıklar, yara iyileşmesi ve diğerleri dahil olmak üzere çeşitli düzeylerde farklı pato-fizyolojik eylemlerin olma olasılığını nicel olarak ortaya çıkarmışlardır.

***Köpeklerin dejeneratif mitral kapak hastalığı (DMVD)***, köpeklerde kalp hastalığının en sık görülen şeklidir. Gaz ya da kütle spektrofotometresi ve ardından sıvı kromatografisi ile yapılan bir araştırmada hasta ve sağlıklı köpeklerin serum içindeki metabolitlerinin tanımlanması için serum ve dokuların (mitral kapak ve sol ventrikül) metabolomik ve transkriptomik analizleri yapılarak DMVD’de rol oynayan hücresel ve metabolik yolları belirlenmeye çalışılmıştır. Araştırma sonucunda bilinen 41 metabolitin yanı sıra; yağ, glikoz enerji metabolizması, oksidatif stres ve diğer yollardaki değişiklikleri temsil eden, sağlıklı ve DMVD’li köpekler arasında anlamlı farklılık oluşturan 13 bilinmeyen serum metaboliti belirlenmiştir, bunların içinden 3 metabolitin ( $\gamma$ -glutamilmethionin, oksidize glutasyon ve asimetric dimetalarjinin) etkinliği ile öne çıktığını belirtmişlerdir. Transkriptomik analizlerde ise enerji metabolizması, antioksidan işlevi, nitrik oksit sinyali ve hücre dışı matris homeostazi yollarındaki değişiklikleri temsil eden, sol ventrikül örneklerinde ekspresyona uğramış farklı 812 adet ve mitral kapak örneklerinde 263 adet transkript tespit edilmiştir. Belirlenen değişikliklerin çoğunun beslenme veya tıbbi yönetimde faydalanabileceğini ifade etmişlerdir. Bu çalışma, veteriner ve beslenme bilimlerinde çoklu omik araştırmaların bütünleştirici yaklaşımlarının, giderek artan önemine dair kanıtlar sunmaktadır (Li ve ark., 2015).

***İdiopatik Epilepsi (IE)***, köpeklerde yaygın kronik nörolojik bir bozukluk olarak tanımlanır ve (IE)’nin tahmini prevalansı %0.5-%5.7 arasındadır. Klinik olarak semptomatik epilepsi ile IE’nin ayrımlanması önemlidir. Hasta hayvanların beyin omurilik sıvılarında yapılan analizlerle, glutamik asitin IE’nin teşhisinde potansiyel bir metabolit olduğu bildirilmiştir. Askorbik asit ve trenoik asit de genel olarak epilepsi teşhisinde kullanılabilir metabolitlerdir (Hagesawa ve ark., 2014).

Yenidoğan buzağılarda yaşamın ilk ayını kapsayan dönemde tüm dünyada yüksek buzağı ölüm oranları gözlemlendiği belirtilmiştir. Kolostral transfer yetersizliği yeni doğmuş buzağı ölümlerinde önemli olmakla birlikte, stres faktörleri ve bulaşıcı hastalıklar (örneğin, ***akut ishal***) buzağı ölümlerini artıran faktörlerdir. Sütten kesilmemiş buzağılarda morbidite-mortalitenin en sık nedeninin ishal olduğu belirtilmiştir (Mee 2008; Uetake ve ark., 2013). ***Neonatal sepsis***, bir enfeksiyon ve sistemik yangının kombinasyonu olarak tanımlanır ve erken teşhisi çok önemlidir. Başoğlu ve ark. (2014), 30 günlükten küçük, klinik olarak sepsisli ve diyareli 44 hasta hayvandan alınan kan ve serum örneklerinde,



biyokimyasal profili kapsayan <sup>1</sup>H- NMR spektroskopisi analizleri yapmışlardır. Çalışmanın sonucunda; format, asetat, lizin, arjinin, sfingomiyelin, ω -3 PUFA azalırken, FAs (yağ asitleri), kreatin, 2 - metilglutarat, kolin, izopropanol, niyasinamid ve 3-hidroksibütirat seviyelerinin artmış olduğunu bildirmişlerdir. Bu sonuçlar ışığında yeni potansiyel belirteç olarak bu metabolitlerin kullanılabilmesi ifade edilmiştir.

Minamoto ve ark. (2015), *bağırsaklarında idiopatik yanginsel bağırsak hastalığı (BID)* teşhis edilmiş 10 adet köpekte yaptıkları metabolomik bir çalışmada, değişen serum metabolitleri ile oksidatif stres ve gastrointestinal fonksiyon değişimini tanımladığını bildirmişlerdir.

Sütçü ineklerde görülen *abomasum deplasmanı*, tüm dünya hayvancılığının uluslararası kabul görmüş önemli bir sorundur. Veteriner hekimlikte ilk kez abomasum deplasmanlı sütçü sığırlarda NMR tabanlı metabolomik çalışma ülkemizde yapılmış ve bu çalışmada; valin, 3 β-hidroksibütirat (BHB), alanin, glutamin, glutamat ve süksinat gibi biyokimyasal parametrelerin sağa deplasmanlı sütçü ineklerde sola deplasmanlı olanlara göre azaldığı bildirilmiştir. Sola deplasmanlı grupta BHB ve valin, glutamin, glutamat arasında pozitif korelasyon olduğu belirtilmiştir. NMR bazlı metabolomik değerlendirme olan bu çalışma ile elde edilen bilgiler, abomasum deplasmanlı sütçü sığırların metabolik durumunun aydınlatılmasına katkı sağlamıştır (Başoğlu ve ark., 2014).

*Mycobacterium bovis* etkeninin neden olduğu *sığır tüberküloz hastalığı* için, birçok ülkede sıkı gözetim ve kontrol programları uygulanmasına rağmen dünya çapında sığır popülasyonlarını etkileyen önemli bir endemik hastalıktır. Yüksek verimli fonksiyonel genomik teknolojilerin geliştirilmesi, özellikle makrofaj ve periferik kan düzeyinde, *M. bovis* enfeksiyonu hakkında detaylı transkriptomik çalışmalar yapılmasını sağlamıştır. Etkenin hangi gen düzeylerinde artma ve azalmaya yol açtığı ve periferik kan lökositleri üzerine etkileri gibi başlıklarda daha çok tanınmasına yol açmıştır (McLoughlin ve ark., 2014).

Diğer yandan yine süt işletmeleri için ekonomik kayba neden olan *mastitisin* değerlendirilmesi için araştırmacılar metabolik profillemeye önemli sonuçlar elde etmiştir. Özellikle subklinik mastitis enfeksiyonunda organik asitler hipurat ve laktat düzeylerini değerlendirerek laktatın, muhtemelen sütte bakteri varlığı ile birlikte, hipuratin ise muhtemelen bakteri büyümesine karşı bazı organik asitlerin koruyucu yeteneği ile ilişkili olduğunu rapor etmişlerdir (Klein ve ark., 2012).

Bazı araştırmacılar tarafından, T hücresi protein tirozin fosfataz (PTPN2 tarafından kodlanan TCPTP)'ın sitokin kaynaklı pankreatik beta hücre apoptozunu düzenlediğini ve *tip 1 diyabet* patogenezinde katkıda bulunabileceğini düşünülmüştür. TCPTP'nin rolünün araştırdıkları çalışmada TCPTP eksikliğinde, ratlardaki metabolitleri takip etmişlerdir. Devam eden çalışmalarla edinilen bilgilerin pankreas kanseri ve tip 1 diyabette biyolojik belirteç olarak kullanılabilmesini belirtmişlerdir (Xi ve ark., 2015).

Veteriner hekimlik ve hayvan sağlığı açısından bir diğer önemli konu da *gebelikten laktasyona geçiş süreci* olan periparturient periyot olup bu süreç önemli metabolik adaptasyonlara sahne olur. Bu dönemde karbonhidrat ve lipid metabolizmasında ciddi değişimler gözlenir. Ruminantlarda, pozitif enerji balansı sırasında temel glikoneojenik substrat propiyonattır. Oysa negatif enerji balansı sırasında öncelikle yağlar ve sonra da alanin, glikojenik substrattır. Non-ruminantlarda glikoneogenezis yolu, transkripsiyonel ve post transkripsiyonel düzeyde glukagon, insülin ve büyüme hormonu gibi hormonlarla sıkı sıkıya düzenlenmiştir. Mitokondriyal pirüvat karboksilaz (PC) ve sitozolik fosfoenol pirüvat karboksikinaz 1 (PCK1) enzimleri glikoneogenezis kontrolünde anahtar rol oynarlar. Fakat propiyonat metabolizması ve aktivasyonuna katılan diğer enzimler (propionil CoA karboksilaz, alfa polipeptid ve metilmalonil-CoA mutaz) ya da pirüvat

oksidasyonu kontrolünde yer alan enzimlerin (pirüvat dehidro kinaz, izozim 4 ve pirüvat dehidrogenaz alfa 1) tüm proseslerde önemli olduğu çalışmalarla bildirilmiştir (Khan ve ark., 2014).

İnsanlarda olduğu gibi, hayvan sağlığını ve verimini etkileyen **obezite**, veteriner hekimlikte de metabolomik çalışmalarla daha iyi tanınmaya çalışılmaktadır. NMR tabanlı metabolomik bir diğer çalışmada serotonin, betain, pipekolik asit, ürik asit de dâhil olmak üzere pek çok metabolit seviyeleri pozitif ya da negatif balans ve obezite ile ilişkili hastalıkların ilişkili olduğunu ortaya çıkarmıştır. Bu metabolitlerin temelinde, yüksek yağ içerikli diyet ile uyarılan obezite ile ilişkili metabolik yol vardır ve bunların obezite ve hiperlipidemik diyetin neden olduğu hastalıkların anlaşılmasında kullanılabileceği ifade edilmiştir (Kim ve ark., 2011).

Obez tavşanlarda borun etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada borun, enerji durumunu iyileştirici, oksidatif stresi azaltıcı ve lipid profili düzenleyici etkilerle karaciğer ve visceral yağ birikiminin önlenmesinde etkili olup (Başoğlu ve ark., 2010), NMR bazlı değerlendirmeler sonucunda en dikkat çekici değişikliklerin alanin, metionin, pirüvik asit ve keratin gibi metabolitlerde olduğunu belirtmişlerdir (Başoğlu ve ark., 2011).

Yine *in vitro*, hayvan ve insan deneyleri ile borun, beslenme miktarlarında kemik büyümesi, merkezi sinir sistemi fonksiyonu, artritik semptomların hafifletilmesi, hormon etkisinin kolaylaştırılması ve bazı tip kanser riskinin azaltılmasında faydalı olduğu ortaya ayrıca okside nikotinamid adenin dinükleotid (NAD<sup>+</sup>)'e güçlü bir şekilde bağlanarak ilgili reaksiyonları etkilediği bildirmiştir (Nielsen, 2014).

Yüksek proteinli ve enerjili diyetle beslenmiş tavşanlarda farklı bor bileşiklerinin ilk kez tavşanların içme sularına (30mg/L) ilave edilmiş ve bunların etkileri metabolomik ve transkriptomik yaklaşımla değerlendirilmiştir. NMR tabanlı yapılan çalışmanın metabolomik değerlendirme ayağında, susuz boraks verilen grupta 2 kat, borik asit verilen grupta 3 kat olmak üzere 'asetat' miktarlarının arttığı tespit edilmiştir (Baspınar ve ark., 2015).

Biyobelirteç ve tedavi arayışları içerisinde borun etkileri hakkında yapılan diğer çalışmalarda ise borik asidin, SLC4A2 ve SLC4A3'ün (insan anyon değiştirici genler) ekspresyon seviyelerini artırdığı (Akbas ve Aydın 2012), yine borun ratlarda, hormonal ve lipid metabolizmasını etkilediği ve **hepatoselüler kanser tedavisinde** potansiyel rolü olduğuna dikkat çekilmektedir (Zafar ve Ali 2013).

## Sonuç

Metabolomik çalışmalar; geleneksel yöntemlere göre hızlı, ucuz, güvenilir ve yüksek verimli olması nedeniyle birçok alanda araştırma yöntemi olarak hayat bulmuştur. Yüksek verimli teknolojiler kullanılarak yapılan bu analizlerin, veteriner hekimlikte de son 10 yılda artarak etkinliğini sürdürdüğü görülmektedir. Yapılan çalışmalarla birlikte yeni metabolik yollar, yeni ilaç ve ilaç denemeleri için yeni biyomarkırlar geliştirilebilecektir. Bu durum, gelecekte birçok hastalığın seyri, teşhisi, tedavisi, tedaviye yanıt, tedavi sonrası sürecin takibi hakkında daha iyi sonuçlar doğuracaktır. Koruyucu hekimlik uygulamalarına da hizmet ederek belki de rutin bir analiz ve öngörü yöntemi haline dönüşecektir. Metabolomik çalışma yöntemlerinin geliştirilmesi ve çalışmalara devam edilmesi, halk sağlığı ve hayvan sağlığı açısından daha verimli ve sürdürülebilir sonuçlar sağlayacaktır.

## Kaynakça

- Akbas F., Aydin Z. (2012). Boric acid increases the expression levels of human anion exchanger genes SLC4A2 and SLC4A3. *Genetics and Molecular Research*. (11): 847-854
- Ala-Korpela, M. (2007). Potential role of body fluid H NMR metabonomics as a prognostic and diagnostic tool. *Expert. Reva. Mol. Diagn.* 6: 761-773
- Alawieh A., Kobaiassy F. H., Kurban, M., Nemer, G. (2013). Metabolomics in cardiovascular diseases: Biomarkers Quest. *J. Data Mining Genomics Proteomics* S2: e001
- Bajad, S., Shulaev, V. (2011). LC-MS-based metabolomics. *Methods Mol. Biol.* 708: 213-228
- Balcı, M. (2004). Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi, ikinci basım, Ankara, ODTÜ Yayıncılık. 240-245
- Banno, T., Gazel, A., Blumenberg, M. (2004). Effects of tumor necrosis factor-alpha (TNF alpha) in epidermal keratinocytes revealed using global transcriptional profiling. *J. Biol. Chem.* 279: 32633-32642
- Barba, I., de León, G., Martín, E., Cuevas, A., Aguade, S., et al. (2008). Nuclear magnetic resonance-based metabolomics predicts exercise-induced ischemia in patients with suspected coronary artery disease. *Magn. Reson. Med.* 60: 27-32
- Basoglu, A., Baspınar, N., Ozturk, S. A., Akalin, P. P. (2010). Effects of boron administration on hepatic steatosis, hematological and biochemical profiles in obese rabbits. *Trace Elements and Electrolytes*. 27: 225-231
- Basoglu, A., Baspınar, N., Ozturk, S. A., Akalin, P. P. (2011). Effects of long-term boron administrations on highenergy diet-induced obesity in rabbits: NMR-based metabonomic evaluation. *J. Anim. Vet. Adv.*10(12): 1512-1515
- Basoglu A., Baspınar N., Tenori L., Hu X., Yildiz R. (2014). NMR based metabolomics evaluation in neonatal calves with acute diarrhea and suspected sepsis: A new approach for biomarker/S. *Metabolomics*. 4:134
- Basoglu, A., Baspınar, N., Coskun, A. (2014). Nuclear magnetic resonance based metabolomic evaluation in dairy cows with displaced abomasum. *Turk J. Vet. Anim. Sci.* 38: 323-330
- Başaran, E., Aras, S., Cansaran-Duman, D. (2010). Genomik, proteomik, metabolomik kavramlarına genel bakış ve uygulama alanları. *Turk Hij. Deney Biyol. Derg.* 67: 85-96
- Baspınar, N., Basoglu, A., Ozdemir, O., Ozel, C., Terzi, F., Yaman, O. (2015). Effects of boron compounds in rabbits fed high protein and energy Diet: A Metabolomic and Transcriptomic Approach. *WASET International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering*. 9,5: 519-524
- Bhalli, J. A., Ding, W., Shaddock, J. G., Pearce, M. G. (2013). *Mutation Research*. 753(2): 82-92
- Bundy, J. G., Willey, T. L., Castell, R. S., Ellar, D. J., Brindle, K. M. (2005). Discrimination of pathogenic clinical isolates and laboratory strains of *Bacillus cereus* by NMR-based metabolomic profiling. *FEMS Lett.* 242:127-136
- Bren, L. (2005). Metabolomics: working toward personalized medicine. *FDA Consum.* 39: 28-33
- Carolyn, S., Helen, S., Tiffany, W., Kelly, D., Alexandra, S., Valerie, C., Wylam, F., Michael, S. (2013). Urine metabolite analysis offers potential early diagnosis of ovarian and breast cancers. *Clin. Cancer Res.* 16(23): 5835-5841
- Coşkun, T. (2007). *Nutrisyonel Genomik, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*. 50: 47-66
- Cusack, P. M. V., McMeniman, N., Lean, I. J. (2003). The medicine and epidemiology of bovine respiratory disease in feedlots. *Aust. Vet. J.* 81: 480-487
- De Hoog, C. L., Mann, M. (2004). *Proteomics. Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* 5: 267-2693
- Denkert, C., Budczies, J., Kind, T., Weichert, W., Tablack, P., Sehouli, J., Niesporek, S., Konsgen, D., Diel, M., Fiehn, O. (2006). Mass spectrometry-based metabolic profiling reveals different metabolite patterns in invasive ovarian carcinomas and ovarian borderline tumors. *Cancer Res.* 66:10795-10804
- Dettmer, K., Aronov, P. A., Hammock, B. D. (2007). Mass spectrometry-based metabolomics. *Mass spectrometry reviews*. 26(1):51-78
- Dunn W. B., Broadhurst D. I., Deepak S. M., Buch M. H., McDowell G., Spasic I., et al. (2007) Serum metabolomics reveals many novel metabolic markers of heart failure, including pseudouridine and 2-oxoglutarate. *Metabolomics*. 3: 413-426
- Fiehn, O. (2001). Combining genomics, metabolome analysis, and biochemical modelling to understand metabolic networks. *Comparative and Functional Genomics*. 2: 155-168

- Garcia, A., Barbas, C. (2011). Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)-based metabolomics. *Methods Mol. Biol.* 708:191-204
- Garg, M., Bassilian, S., Bell, C., et al. (2005). Hepatic de novo lipogenesis in stable low-birth-weight infants during exclusive breast milk feedings and during parenteral nutrition. *J. Parenter. Enteral. Nutr.* 29: 81-86
- Giby, V. G., Ajith, T. A. (2014). Role of adipokines and peroxisome proliferator-activated receptors in non alcoholic fatty liver disease. *World J. Hepatol.* 27; 6(8): 570-579
- Gray, D. W., Welsh, M. D., Doherty, S., et al. (2015). Identification of systemic immune response markers through metabolomic profiling of plasma from calves given an intra-nasally delivered respiratory vaccine. *Veterinary Research.* 46: 47
- Griffin, J. L., Kauppinen, R. A. (2007). A metabolomics perspective of human brain tumours. *FEBS. J.* 274:1132-1139
- Griffin, J. L., Salek, R. M. (2007). Metabolomic applications to neuroscience: more challenges than chances? *Expert. Rev. Proteomics.* 4(4): 435-437
- Griffin, J. L. (2006). Understanding mouse models of disease through metabolomics. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 10: 309-315
- Griffiths, W. J., Karu, K., Hornshaw, M., Woffendin, G., Wang, Y. (2007). Metabolomics and metabolite profiling: past heroes and future developments. *Eur. J. Mass. Spectrom.* 13: 45-50
- Guhad, F. (2005). Introduction to the 3Rs (refinement, reduction, and replacement). *Contemp. Top. Lab. Anim. Sci.* 44: 58-59
- Gündoğdu, A. K., Karahan, A. G. (2008). Nutrigenomik teknolojileri. *SDÜ Mühendislik Mimarlık Fakültesi Dergisi*, 33 (4): 183-191
- Hagesawa, T., Sumita, M., Horitani, Y., Tamai, R., Tanaka, K., Komori, M, Takenaka, S. (2014). Gas chromatography-mass spectrometry-based metabolic profiling of cerebrospinal fluid from epileptic dogs. *The Journal of Veterinary Medical Science.* 76(4): 517-522
- Han, X., Holtzman, M. D., McKeel, W. D., Kelley, J., Morris, J. C. (2002). Substantial sulfatide deficiency and ceramide elevation in very early Alzheimer's disease: potential role in disease pathogenesis. *J. Neurochem.* 82: 809-818
- Hoefler, I. E., Steffens, S., Ala-Korpela, M., Bäck, M., Badimon, L., Bochaton-Piallat, M. L., Boulanger, C. M., Caligiuri, G., Dimmeler, S., Egido, J., Evans, P. C., Guzik, T., Kwak, B. R., Landmesser, U., Mayr, M., Monaco, C., Pasterkamp, G., Tuñón, J., Weber, C. (2015). Novel methodologies for biomarker discovery in atherosclerosis. *Eur. Heart J. Jun 5. pii: ehv236.* (Epub ahead of print)
- Ibanez, C., Valdes, A., Garcia-Canas, V., Simo, C., Celebier, M., Rocamora-Reverte, L., et. al. (2012). Global Foodomics strategy to investigate the health benefits of dietary constituents. *J. Chromatogr. A.* 1248: 139-153
- Jones, O., Cheung, V. (2007). 'An introduction to metabolomics and its potential application in veterinary science'. *Comparative Medicine.* 57: 436-442
- Kaddurah-Daouk, R., Kristal, B. S., Weinshilboum, R. M. (2008). *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 48: 653-683
- Khan, M. J., Jacometo, C. B., Graugnard, D. E., Corrêa, M. N., Schmitt, E., Cardoso, F., Loor, J. J. (2014). Overfeeding dairy cattle during late-pregnancy alters hepatic PPAR $\alpha$ -regulated pathways including hepatokines: Impact on metabolism and peripheral insulin sensitivity. *Gene. Regul. Syst. Bio.* 3; 8: 97-111
- Kim, H. J., Kim, J. H., Noh, S., Hur, H. J., Sung, M. J., Hwang, J. T., Park, H. J, Yang, H. J., Kim, M. S., Kwon, D. Y., Yoon, S. H. (2011). Metabolomic analysis of livers and serum from high-fat diet induced obese mice. *J. Proteome Res.* 10(2): 722-731
- Klein, M. S., Shearer, J. (2015). "Metabolomics and Type 2 Diabetes: Translating basic research into clinical application." *Journal of Diabetes Research.* Article ID 824814. (in press)
- Klein, M. S., Buttchereit, N., Miemczyk, S. P., Immervoll, A. K., Louis, C., Wiedemann, S., Junge, W., et al. (2012). NMR metabolomic analysis of dairy cows reveals milk glycerophosphocholine to phosphocholine ratio as prognostic biomarker for risk of ketosis. *J. Proteome Res.* 11: 1373-1381
- Knickerbocker, T., Chen, J. R., Thadhani, R., MacBeath, G. (2007). An integrated approach to prognosis using protein microarrays and non parametric methods. *Mol. Syst. Biol.* 3: 123
- Lei, Z., Huhman, D. V., Sumner, L. W. (2011). Mass spectrometry strategies in metabolomics. *J. Biol. Chem.* 286: 25435-25442

- Li, Q., Freeman, L. M., Rush, J. E., Huggins, G. S., Kennedy, A. D., Labuda, J. A., Laflamme, D. P., Hannah, S. S. (2015). Veterinary medicine and multi-omics research for future nutrition targets: Metabolomics and transcriptomics of the common degenerative mitral valve disease in dogs. *OMICS*. Jul 8 (Epub ahead of print)
- Lindon, J. C., Holmes, E., Nicholson, J. K. (2006). Metabonomics techniques and applications to pharmaceutical research & development. *Pharmacol. Res.* 23: 1075–1088
- Maes, M., Noto, C., Brietzke, E. (2015). Omics-based depression and inflammation research. *Rev. Bras. Psiquiatr.* 37(1): 1-2
- Martel, C., Esposti, D. D., Bouchet, A., Brenner, C., Lemoine, A. (2012). Non-alcoholic steatohepatitis: new insights from omics studies. *Curr. Pharm. Biotechnol.* 13 (5): 726-735
- McLoughlin, K. E., Nalpas, N. C., Rue-Albrecht, K., Browne, J. A., Magee, D. A., Killick, K. E., Park, S. D. E., Hokamp, K., Meade, K. G., O'Farrelly, C., Gormley, E., Gordon, S. V. MacHugh, D. E. (2014). RNA-seq transcriptional profiling of peripheral blood leukocytes from cattle infected with *Mycobacterium bovis*. *Front. Immunol.* 5: 396
- Mee, J. F. (2008). Newborn dairy calf management. *Vet. Clin. North. Am. Food. Anim. Pract.* 24: 1-17.
- Meng, Q., Mäkinen, V. P., Luk, H., Yang, X. (2013). Systems biology approaches and applications in obesity, diabetes, and cardiovascular diseases. *Curr. Cardiovasc. Risk. Rep.* 7(1): 73-83
- Minamoto, Y., Otoni, C. C., Steelman, S. M., Büyükleblebici, O., Steiner, J. M., Jergens, A. E., Suchodolski, J. S. (2015). Alteration of the fecal microbiota and serum metabolite profiles in dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. *Gut Microbes.* 6(1): 33-47
- Nielsen, F. H. (2009). Boron deprivation decreases liver S-adenosylmethionine and spermidine and increases plasma homocysteine and cysteine in rats. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology.* 23: 204–213
- Nielsen, F. H. (2014). Update on human health effects of boron. *J. Trace Elem. Med. Biol.* pp: S0946-672X (14) 00128-X
- Nishiumi, S., Shinohara, M., Ikeda, A., Yoshie, T., Hatano, N., Kakuyama, S., Mizuno, S., Sanuki, T., Kutsumi, H., Fukusaki, E., Azuma, T., Takenawa, T., Yoshida, M. (2010). Serum metabolomics as a novel diagnostic approach for pancreatic cancer. *Metabolomics.* 6: 518-528
- Ozturk, S. A. (2015). The clinical Approach to metabolomics and proteomics concepts. *Turkiye Klinikleri J. Vet. Sci. Intern Med-Special Topics.* 1(1): 31-39
- Paige, L. A., Mitchell, M. W., Krishnan, K. R., Kaddurah-Daouk, R., Steffens, D. C. (2006). A preliminary metabolomic analysis of older adults with and without depression. *Int. J. Geriatr. Psychiatry.* 22: 418–23
- Pawa, S., Ali, S. (2006). Boron ameliorates fulminant hepatic failure by counteracting the changes associated with the oxidative stress. *Chem. Biol. Interact.* 160 (2): 89-98
- Piersigilli, F., Bhandari, V. (2015). Biomarkers in neonatology: The new "omics" of bronchopulmonary dysplasia. *J. Matern Fetal Neonatal Med.* 2: 1-24
- Rauschert, S., Uhl, O., Koletzko, B., Hellmuth, C. (2014). Metabolomic biomarkers for obesity in humans: a short review. *Ann. Nutr. Metab.* 64 (3-4): 314-324
- Salih, H. B., Ferah, B. (2013). Genomik, Proteomik kavramlarına genel bakış ve uygulama alanları. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 39 (1): 65-69
- Sansone, S. A., Fan, T., Goodacre, R., et al. (2007). The metabolomics standards initiative. *Nat. Biotech.* 25: 846-847
- Schauer, N., Fernie, A. R. (2006). Plant metabolomics: towards biological function and mechanism. *Trends. Plant. Sci.* 11: 508–516
- Serhan, C. N., Dalli, J., Colas, R. A., Winkler, J. W., Chiang, N. (2015). Protectins and maresins: New pro-resolving families of mediators in acute inflammation and resolution bioactive metabolome. *Biochim. Biophys. Acta.* 1851(4): 397-413
- Sekeroğlu, Z. (2013). From nanotechnology to nanogenotoxicology: genotoxic effect of cobalt-chromium nanoparticles. *Turk Hij. Den. Biyol. Derg.* 70 (1): 33-42
- Shah, S. H., Hauser, E. R., Bain, J. R., Muehlbauer, M. J., Haynes, C., et al. (2009). High heritability of metabolomic profiles in families burdened with premature cardiovascular disease. *Mol. Syst. Biol.* 5: 258
- Shajahan-Haq, A., Cheema, S. M., Clarke, R. (2015). Application of metabolomics in drug resistant breast cancer. *Research Metabolites.* 5: 100-118

- Siddik, Y. B., Gurkan, H., Guz, U., Aygun, B. (2003). "A new modeling method of the ECG signals based on the use of an optimized predefined functional database". *Acta Cardiologica. Int. J. Cardiol.* 58 (3): 59-61
- Takahashi, H., Kai, K., Shinbo, Y., Tanaka, K., Ohta, D., Oshima, T., et al. (2008). Metabolomics approach for determining growth-specific metabolites based on fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* 391: 2769-2782
- Tyers, M., Mann, M. (2003). From genomics to proteomics. *Nature*, 422: 193-197
- Uehara, T., Horinouchi, T., Morikawa, Y., Tonomura, Y., Minami, K., Ono, A., Yamate, J., Yamada, H., Ohno, Y., Urushidani, T. (2014). Identification of metabolomic biomarkers for drug-induced acute kidney injury in rats. *J. Appl. Toxicol.* 34: 1087-1095
- Uetake, K. (2013). Newborn calf welfare: a review focusing on mortality rates. *Anim. Sci. J.* 84: 101-105
- Venter, D. (2003). A part of the human genome sequence. *Science.* 299: 1183-1184
- Vermeersch, K. A., Styczynski, M. P. (2013). Applications of metabolomics in cancer research. *J. Carcinog.* 12:9
- Viant, M. R., Rosenblum, E. S., Tjeerdema, R. S. (2003). NMR-based metabolomics: a powerful approach for characterizing the effects of environmental stressors on organism health. *Environ. Sci. Technol.* 37: 4982-4989
- Villas-Bôas, S. G.; Roessner, U.; Hansen, M.; Smedsgaard, J., Nielsen, J. (2007). *Metabolome analysis: An Introduction.* Wiley-Interscience, New Jersey, USA. 320p
- Wang, Z., Klipfell, E., Bennett, B. J., Koeth, R., Levison, B. S., et al. (2011). Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease. *Nature.* 472: 57-63
- Whitfield, P. D., German, A. J., Noble, P. J. (2004). Metabolomics: an emerging post-genomic tool for nutrition. *Br. J. Nutr.* 92: 549-555
- Willenberg, I., Ostermann, A. I., Schebb, N. H. (2015). Targeted metabolomics of the arachidonic acid cascade: current state and challenges of LC-MS analysis of oxylipins. *Anal. Bioanal. Chem.* 407 (10): 2675-2683
- Witkamp, R. F. (2005). Genomics and systems biology—how relevant are the developments to veterinary pharmacology, toxicology and therapeutics? *J. Vet. Pharmacol. Therapeut.* 28: 235-245
- Wurtz, P. et al. (2015). Metabolite profiling and cardiovascular event risk: a prospective study of 3 population-based cohorts. *Circulation.* 131: 774-785
- Xi, Y., Liu, S., Bettaieb, A., Matsuo, K., Matsuo, I., Hosein, E., Chahed, S., Wiede, F., Zhang, S., Zhang, Z-Y., Kulkarni, R. N., Tiganis, T., Haj, F G. (2015). "Pancreatic T cell protein-tyrosine phosphatase deficiency affects beta-cell function in mice". *Diabetologia.* 58: 122-131
- Zafar, H., Ali, S. (2013). Boron inhibits the proliferating cell nuclear antigen index, molybdenum containing proteins and ameliorates oxidative stress in hepatocellular carcinoma. *Arch. Biochem. Biophys.* 15, 529 (2): 66-74
- Zhang, A., Sun, H., Wang, P., Han, Y., Wang, X. (2012). Recent and potential developments of biofluid analyses in metabolomics. *J. Proteomics.* 2, 75 (4): 1079-1088
- Zhang, H., Wu, L., Xu, C., Cheng, Xia, Sun, L., Shu, S. (2013). Plasma metabolomic profiling of dairy cows affected with ketosis using gas chromatography/mass spectrometry. *BMC Veterinary Research.* 9: 186
- Zhang, J., Wei, S., Liu, L., Nagana Gowda, G. A., Bonney, P., Stewart, J., Knapp, D. W., Raftery, D. (2012). NMR-based metabolomics study of canine bladder cancer. *Biochim. Biophys. Acta.* 1822 (11): 1807-1814