

Toksikoloji Alanında Metabolomik Çalışmalar ve Önemi: Geleneksel Derleme

Metabolomic Studies and Its Importance in the Field of Toxicology: Traditional Review

^{id} Fatma Betül YOLADI^a, ^{id} Şaziye Sezin PALABIYIK YÜCELİK^{a,b}

^aAtatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Toksikoloji ABD, Erzurum, Türkiye

^bAtatürk Üniversitesi Klinik Araştırma, Geliştirme ve Tasarım Uygulama ve Araştırma Merkezi, Erzurum, Türkiye

ÖZET Bir organizmanın veya belirli bir biyolojik örneğin tüm metabolitlerinin kapsamlı nicel analizi olarak tanımlanan metabolomik, son zamanlarda oldukça sık kullanılan omik-tekniklerinden birisidir. Metabolomik, hastalıkların tanısı, patolojilerde risk faktörlerini belirleme ve ilişkilendirme, bir tedavinin etkinliğini izleme, ilaç keşfini ve geliştirmeyi kolaylaştırma, yeni biyobelirteçlerin keşfi ve kullanımı gibi çeşitli alanlara hizmet eden bir araç olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Yeni tanısal ve prognostik hastalık biyobelirteçlerinin keşfine ve karmaşık hastalıkların patolojik mekanizmalarının anlaşılmasına yönelik bütünsel bir yaklaşım sunmaktadır. Toksik etki mekanizmalarının aydınlatılması ile kimyasalların potansiyel tehlikelerini belirlemek, yeni bileşiklerin güvenlik profili değerlendirmesinin geliştirilmesi için toksikoloji çalışmalarında kendisine yer bulmuştur. Metabolomik, tehlikeli bir bileşimin potansiyel hedeflerinin hızlı bir şekilde tanımlanmasını sağlayarak hedef organlar hakkında bilgi verebilir ve genellikle belirli bir bileşimin etki mekanizmasını anlamamıza yardımcı olabilir. Toksik bir maruziyet sonucu oluşan hasarın sadece kapsamını değil, aynı zamanda onun altında yatan mekanizmaları da gösteren ve bu mekanizmalar hakkında bilgi toplamak için güçlü bir araçtır. Geleneksel olarak hayvan modellerinde ve giderek artan bir şekilde in vitro test sistemleri kullanılarak toksikolojik süreçleri incelemek için kullanılmaktadır. Bu derleme kapsamında metabolomik analizinin diğer omik yaklaşımlardan farkı, kullanılan analitik teknikler, hedeflenmiş ve hedeflenmemiş metabolomik yaklaşımlar ile kullanılan veri tabanlarından kısaca bahsedildikten sonra toksikoloji alanında güncel metabolomik kullanımını konu alan çalışmalar derlenmiştir.

ABSTRACT Metabolomic, which is defined as the comprehensive quantitative analysis of all metabolites of an organism or a particular biological sample, is one of the most frequently used omics techniques recently. Metabolomic is widely used as a tool that serves various fields such as diagnosis of diseases, identifying and associating risk factors in pathologies, monitoring the effectiveness of a treatment, facilitating drug discovery and development, discovery and use of new biomarkers. It offers a holistic approach to the discovery of new diagnostic and prognostic disease biomarkers and understanding of the pathological mechanisms of complex diseases. It has found a place in toxicology studies to identify the potential hazards of chemicals by elucidating the toxic effects mechanisms and to develop the safety profile evaluation of new compounds. Metabolomic can provide rapid identification of potential targets of a hazardous compound by providing information about target organs and often helping us to understand the mechanism of action of a particular compound. It is a powerful tool for collecting information about and pointing out not only the extent of damage caused by a toxic exposure, but also the underlying mechanisms. Metabolomic has traditionally been used in animal models and currently is being used to study toxicological processes via in vitro test systems. Within the scope of this review, the difference of metabolome analysis from other omics approaches, the analytical techniques used, targeted and non-targeted metabolomics approaches and databases used are briefly mentioned, and then the studies on the current use of metabolomics in the field of toxicology are reviewed.

Anahtar Kelimeler: Analitik toksikoloji; adli toksikoloji; omik toksikoloji; metabolom; metabolomikler

Keywords: Analytic toxicology; forensic toxicology; omics toxicology; metabolome; metabolomics

OMİK TEKNOLOJİSİ

Genomik, transkriptomik, proteomik ve metabolomik terimlerinin içerdiği “omik” son eki “bir bütün ola-

rak” anlamına gelmektedir. Kavram olarak “omik”, biyomoleküllerin bütünlüğünün incelenmesidir.^{1,2} Genomik tam bir genomun analizi, proteomik proteinlerin kapsamlı analizi, transkriptomik gen

Correspondence: Şaziye Sezin PALABIYIK YÜCELİK
Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Toksikoloji ABD, Erzurum, Türkiye
E-mail: spalabiyik@atauni.edu.tr



Peer review under responsibility of Journal of Literature Pharmacy Sciences.

Received: 29 Apr 2022

Received in revised form: 06 Nov 2022

Accepted: 16 Jan 2023

Available online: 24 Jan 2023

2630-5569 / Copyright © 2023 by Türkiye Klinikleri. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

transkriptlerinin kapsamlı analizi ve metabolomik ise bir organizmadaki tüm metabolitlerin analizini ifade eden omik teknolojileri, bir hücreyi, dokuyu veya organizmayı oluşturan moleküllerin evrensel olarak saptanmasını amaçlar.^{1,3}

Genomik, bir hücrenin veya organizmanın toplam DNA'sı olan genomunun işlevini ve yapısını analiz etmek için rekombinant DNA, DNA dizilimi ve biyoinformatik kullanarak genleri ve işlevlerini araştırır. Amaç, bireylerin belirli bir ksenobiyotiğe karşı duyarlılığını belirlemektir.^{2,3} **Transkriptom**, bir hücre veya organizmadaki toplam mRNA'dır ve translasyon sürecinde protein sentezi için şablondur. Herhangi bir anda aktif olarak ifade edilen genleri yansıtır ve moleküler biyolojik tekniklerle incelenir.² **Proteom**, belirli bir zamanda lokalizasyonları, etkileşimleri, translasyon sonrası modifikasyonları ile karakterize edilen bir hücrenin genel protein içeriği olarak tanımlanabilir.⁴ **Proteomik** herhangi bir aşamada proteinlerin ekspresyonu, yapısı, işlevleri, etkileşimleri ve modifikasyonları dâhil olmak üzere proteomun karakterizasyonudur.⁵ Metabolomik ise son zamanlarda oldukça sık kullanılan omik-tekniplerinden birisidir ve uygulaması çeşitli bilimsel alanlara genişletilmiştir.⁶ "Omik kaskadı", tüm organizmaların (genomiklerin) genom dizilimi ile başlamıştır ve tüm metabolitleri karakterize etmek amacıyla metabolom analizine kadar ulaşmıştır. Metabolomik de kaskadın en altında fenotipe en yakın bağlantı kısmında yer almaktadır.⁶

METABOLOMİK

Metabolitler, metabolizma tepkimeleri sonucunda kimyasal olarak biyolojik sıvılarda oluşan ve molekül ağırlıkları 1000 Dalton'dan daha düşük moleküllerdir ve hücrenel düzenleyici süreçlerin son ürünleridir. Bu nedenle bunların düzeyleri hücrenel durumun işlevsel olarak değerlendirilmesini sağlar.^{7,8} Metabolitler, biyokimyasal aktivitenin doğrudan göstergeleridir, dolayısıyla fenotip ile ilişkilendirilmeleri daha kolaydır. Bu bağlamda, metabolom profili veya metabolomik, klinik tanı için yaygın olarak benimsenen güçlü bir yaklaşım hâline gelmiştir.⁷ Kapsamlı metabolom profili veya "metabolomik", insan deneklerinin ve hayvan modellerinin kimyasal fenotipini tanımlar ve bu nedenle hastalık insidansını, şiddetini

ve ilerlemesini öngören biyobelirteçleri tanımlamak ve altta yatan mekanik anormalliklere yeni bir ışık tutmak için benzersiz potansiyele sahiptir.⁹

Metabolomik, belirli bir zaman noktasında biyolojik bir sistemin (hücre, doku, organizma, vb.) metabolizmasının parçası olan küçük moleküllerin yani metabolitlerin ölçülmesini ifade eder.¹⁰ Diğer bir deyişle bir organizmanın veya belirli bir biyolojik örneğin tüm metabolitlerinin kapsamlı nicel analizidir.¹¹ Bir biyolojik sistem tarafından sentezlenen metabolitler seti ise onun "metabolomunu" oluşturur.⁸ Metabolom amino asitler, lipidler, yağ asitleri, steroidler, karbonhidratlar veya vitaminler gibi endojen molekülleri içerir.¹² Metabolomik, hastalıkların tanısı, risk faktörlerini patolojilerle ilişkilendirme, bir tedavinin etkinliğini izleme veya ilaç keşfini ve geliştirmeyi kolaylaştırma gibi çeşitli uygulamalara hizmet eden bir araç olarak artık yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.¹⁰ Metabolomik, yeni tanısal ve prognostik hastalık biyobelirteçlerinin keşfine ve karmaşık hastalıkların patolojik mekanizmalarının anlaşılmasına yönelik bütünsel bir yaklaşım sunmaktadır.¹³

Metabolomik; genomik, transkriptomik ve proteomik için tamamlayıcı olarak kabul edilmektedir.^{14,15} Bununla birlikte bu teknolojinin diğer omik teknolojilerine göre bir takım potansiyel üstünlükleri vardır.¹⁶ Metabolitlerin yapısı ve işlevi ile ilgili bilgi birikimi, genlerden ve bunlara karşılık gelen proteinlerden önemli ölçüde daha fazladır. Ayrıca metabolitlerin sayısı, gen ve proteinlerin sayısından daha azdır. Sonuç olarak herhangi bir maruziyet veya patoloji durumunda hem biyokimyasal yollarda hem de etki açısından (biyobelirteç olarak) anlamlı yorumlanabilen değişiklikler bulma olasılığı daha fazladır. Metabolom analizinin bir başka üstünlüğü ise idrar ve kan gibi vücut sıvılarında değişikliklerinin saptanabilir olmasıdır. Çok sayıda tek tek dokulardan örnek almak yerine idrar ve kan gibi noninvaziv veya daha kolay elde edilebilen örneklerle çalışılması ve bunlardan da istenilen sonucun elde edilebilmesi önemli pratik üstünlük sağlayacaktır. Bunun yanında genomik/transkriptomik ile protein düzeyinde değişikliklerle sonuçlanabilecek veya sonuçlanmayabilecek en erken değişim analiz edilirken, metabolom analizi ile toksik bir hasarın ardından bir dizi değişiklikteki son adım saptanabilir.¹⁷ Tüm bu üstünlük-

leri dışında aynı zamanda metabolom değişiklikleri patolojik süreçte çok erken ortaya çıkabilir. Bu nedenle metabolomik biyobelirteçlerinin, hastalığı semptomsuz bir aşamada bile gösterebilmesi, daha erken ve daha etkili tedavilere izin vermesi ve dolaşımıyla hasta refahının artması ve ölüm oranlarını azaltması beklenmektedir.¹⁸

METABOLOMİK ÇALIŞMALARDA KULLANILAN ANALİTİK TEKNİKLER

Metabolom analizi farklı yaklaşımlar kullanılarak gerçekleştirilebilir.¹³ Her analitik tekniğin kendi üstünlükleri ve dezavantajları vardır. Tekniğin seçimi öncelikle çalışmanın odağına ve kullanılan örneğe bağlıdır. Bununla birlikte belirli bir teknik ya da tekniklerin seçimi genellikle maliyet, erişilebilirlik ve mevcut uzmanlık tarafından belirlenir. Ancak en iyi metabolom analizi genellikle birden fazla analitik tekniğin kullanılması ile gerçekleştirilir.¹⁹ Çünkü şu anda kullanılan analitik tekniklerin hiçbiri biyolojik bir örnekte bulunan tüm metabolitleri ölçemez. Bu nedenle aynı örneği analiz etmek için birkaç tekniğin kombinasyonu, metabolom profili kapsamını artırmak için gereklidir.^{13,20} Metabolomik çalışmalar için nükleer manyetik rezonans (NMR) spektroskopisi, gaz kromatografisi-kütle spektrometresi [gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)], sıvı kromatografi-kütle spektrometresi [liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS)] en yaygın kullanılan analitik tekniklerdir.¹⁹ NMR tabanlı teknik, metabolomik tarihinin başlangıcından beri kullanılmaktadır. MS ile aynı uygulama alanlarını paylaşmakla beraber bazı üstünlüklere sahiptir; örneğe ön işlem yapmaya gerek yoktur, kimyasal türevlendirme çok azdır veya hiç gerektirmez, çok az ön işlem örnek hazırlığı ile tek bir spektrumda ölçülebilen metabolitlerin tamamının belirlenmesini sağlar ve ön işlem uygulanmamış örneklerde bile bozulmamış metabolitleri analiz edebilir. Ayrıca hedeflenmemiş bir metabolomik yaklaşımda NMR tabanlı teknik kullanıldığında bilinmeyen metabolitler tanımlanabilir.^{19,21-23} Bununla birlikte NMR'nin bazı dezavantajları da vardır; NMR için en önemli zorluk, hassasiyet eksikliğidir. LC-MS ve GC-MS ile karşılaştırıldığında, NMR spektroskopisi genellikle 10-100 kat daha az duyarlıdır.¹⁹ GC-MS analizleri her ne kadar hassasi-

yeti yüksek yani düşük derişimlerde kantitatif analize imkân tanıyan, tekrarlanabilir bir yöntem olsa da örneklerde yapılan örnek işleme ve kimyasalların türevlendirilmelerinin ortaya çıkması spektrumların yorumlanmasını zor hâle getirmektedir. LC-MS ise uçucu olmayan kimyasallar için kullanışlı olup, GC-MS yöntemini tamamlayıcı bir tekniktir. Yüksek duyarlılığı ve seçiciliği nedeniyle karmaşık karışımlardaki çok çeşitli metabolitleri analiz edebilir.²⁴ Tablo 1'de de bu tekniklerin üstünlükleri ve dezavantajlarının karşılaştırılması ayrıntılı olarak sunulmuştur.

HEDEFLENMİŞ VE HEDEFLENMEMİŞ METABOLOMİK ÇALIŞMALAR

Metabolomik çalışmalar, temelde hedeflenmiş ve hedeflenmemiş (metabolit profillemeye) olmak üzere 2 farklı gruba ayrılır. Araştırmalarda hedefli yaklaşımların kullanımı oldukça eskidir.²⁵ Hedeflenmiş metabolomik çalışmalarda, küçük bir metabolit grubunun tanımlanması ve miktarının belirlenmesi yani nitel ve nicel analiz söz konusudur. Genellikle spesifik bir yol veya biyolojik bir aktivite ile ilişkili olan bilinen az sayıdaki metabolitlerin değişikliklerine odaklanılır. Böylece metabolomun sadece çok küçük bir kısmıyla ilgilenilir ve diğer bileşenlerden gelen sinyaller yok sayılır. Böylece metabolitin nicel analizi amaçlanır.^{26,27} Hedeflenmiş metabolomik çalışmalar, genellikle belirli bir yolağın araştırılmasına odaklanan bir biyokimyasal soru veya hipotez tarafından yönlendirilir. Bu çalışmalar, ilaç metabolizmasının farmakokinetik çalışmaları ve ilaçların veya genetik modifikasyonların spesifik bir enzim üzerindeki etkisini belirlemek için faydalı olabilir.¹¹

Hedeflenmemiş metabolomik çalışmalarda ise mümkün olduğunca çok sayıda metabolitin eş zamanlı olarak metabolom profili belirlenebilir ve böylece önceden fark edilmemiş biyokimyasal yollar keşfedilebilir.^{7,27} Bu değişen, biyokimyasal yollarda artan veya azalan metabolitleri belirleme olasılığı daha fazladır.²⁷ Ayrıca biyolojik sistemler arasında karşılaştırmalar yapmak için kullanılabilir. Belirlenen metabolitlerin yapı aydınlatması, miktar tayini veya bunların varsa konsantrasyon farkının deney grupları arasında karşılaştırılabilmesini sağlar. Hedeflenmemiş metabolomik çalışmalarında meta-

TABLO 1: Metabolomik de kullanılan farklı analitik tekniklerin karşılaştırılması.²⁸⁻³¹

Analitik teknik	Avantajlar	Dezavantaj
NMR	<ul style="list-style-type: none"> Hızlı Türevlendirme gerektirmez Yüksek verimli ölçüm sağlar Yüksek doğruluk ve tekrarlanabilirlik Örneğe zarar vermez, örnek gerektiğinde yeniden kullanılabilir Sıvı ve katı örneklerde çalışılabilir Tüm organik sınıfları algılar Ayrıntılı yapısal bilgi sağlar Örnekte çok az ön işlem hazırlığı Tek internal standart kullanarak tüm metabolitlerin miktar tayinine olanak sağlar Metabolit kimliği için geniş yazılım ve veri tabanları 	<ul style="list-style-type: none"> Hassasiyeti düşük (LOD ~1 µM) Pahalı ve büyük cihazlardır Daha büyük hacimli (0,5 mL) örnek gerektirir Tuzları ve inorganik iyonları tespit edemez veya tanımlayamaz Protonlanmamış bileşikler tespit edilemez MS ile karşılaştırıldığında daha az metabolit belirler Deneyimli teknisyen ihtiyacı vardır
LC-MS	<ul style="list-style-type: none"> Yüksek hassasiyet (<µM) Çoğu organik ve bazı inorganik molekülleri algılar Lipidlerin, di- ve tripeptitlerin ve diğer makromoleküllerin incelenmesi için uygundur Az miktarda örnek gerektirir Örnek hazırlama işlemi basit Doğrudan enjeksiyon yapılabilir Termolabil metabolitlerin analizini sağlar Metabolit görüntülemeye kullanılabilir Metabolomun en büyük bölümünü belirleme potansiyeline sahiptir 	<ul style="list-style-type: none"> Pahalı enstrümantasyon Fazla miktarda çözücü tüketimi Yavaş (20-30 dk/örnek) NMR veya GC-MS'den yöntem şartlarına karşı daha az dayanıklı Yeni bileşiklerin tanımlanması zor olabilir Metabolit kimliği için sınırlı sayıda yazılım ve veri tabanları Yeni bileşik tanımlamak zordur
GC-MS	<ul style="list-style-type: none"> Görece olarak ucuz Hassasiyeti yüksek (<µM) Geniş doğrusal aralık Farklı metabolit sınıflarının eş zamanlı analizini sağlar Metabolit kimliği için geniş yazılım ve veri tabanları gövdesi Çoğu organik ve bazı inorganik molekülleri algılar Daha az örnek ihtiyacı 	<ul style="list-style-type: none"> Örnek türevlendirme gerektirir Örnek hazırlama ayrıntılı Yavaş (20-30 dk/örnek) Görüntülemeye kullanılamaz Yeni bileşiklerin tanımlanması zor olabilir

NMR: Nükleer manyetik rezonans; GC-MS: Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi; LC-MS: Sıvı kromatografisi-kütle spektrometresi.

bolitlerin kimliği genellikle bilinmemektedir ve bu durum yeni metabolizma yollarının ortaya çıkmasına olanak sağlamaktadır. Aynı zamanda bu çalışmalar yeni biyobelirteç tespitini ve farklı metabolom analizlerini amaçlamaktadır.^{26,32} Hedefli metabolomik çalışmalarla karşılaştırıldığında, daha fazla sayıda değişken nedeniyle ve metabolitlerin kimliği genellikle bilinmediği için nicel olarak belirlemek mümkün değildir.³²

METABOLOMİK ÇALIŞMALARDA KULLANILAN VERİ TABANLARI VE KAYNAKLAR

Metabolom analizi ile elde edilen verileri içeren birçok veri tabanı vardır ve her biri NMR ve MS spektrometresinden metabolik yollara kadar farklı bilgilere sahiptir. Metabolik veri tabanlarının amacı, birçok metaboliti, araştırmacıların metabolom analizi ile

elde ettiği verileri kolayca tanımlanmasına ve analiz etmesine yardımcı olacak şekilde düzenlemektir. Yeni bir bilimsel çalışma alanı olan ve hâlen yeni yaklaşımların keşfedildiği metabolomik de kullanılan veri tabanları da yenidir ve gelişmeye devam etmektedir.¹⁸ Veri tabanları arasında insan metabolom veri tabanı [human metabolome database (HMDB)], MassBank, metabolit ve kimyasal varlık veri tabanı [metabolite and chemical entity database (MET-LIN)], lipid metabolitleri ve yollar stratejisi, Madison metabolomik konsorsiyumu veri tabanı ve Kyoto genler ve genom ansiklopedisi bulunmaktadır.¹⁸ MS-veriden bağımsız ana analiz yazılımı yine metabolom analizinde kullanılan bir diğer yazılımdır.³³ “Global Natural Products Social Molecular Networking”, hedeflenmemiş metabolomik veriler için kimya odaklı, topluluk küratörlüğünde, küçük mole-

küllü MS analiz ekosistemidir.³⁴ 2004 yılında, kurulan ilk metabolomik veri tabanı olan METLIN (<http://metlin.scripps.edu>) bakteriler, bitkiler ve hayvanlar da dâhil olmak üzere herhangi bir canlıdan elde edilen metabolitlerin veri deposudur.³⁵ 2005 yılında, insan dokusundaki ve biyoakışkanlardaki tüm metabolitleri bulmak ve kataloglamak için İnsan Metabolom Projesi başlatılmıştır.¹⁸ İlk olarak 2007 yılında tanımlanan HMDB (<http://hmdb.ca>), şu anda dünyanın en büyük ve en kapsamlı, organizmaya özgü metabolomik veri tabanıdır. İnsan metabolitleri, bunlarla ilişkili enzimler veya taşıyıcılar, bunların miktarı ve hastalıkla ilgili özellikleri hakkında spektroskopik, nicel, analitik ve fizyolojik bilgiler içermektedir.³⁶ HMDB sürekli olarak güncellenmekte ve genişletilmektedir.³¹

METABOLOMİK YAKLAŞIMIN TOKSİKOLOJİDE UYGULAMA ALANLARI

2000'li yılların başında, ilaç toksisitesini incelemek için yeni bir teknik olarak metabolomik yaklaşım önerilmiştir.¹¹ Kısa süre sonra, metabolom analizi ile çeşitli bileşiklere maruz kaldıktan sonra karaciğer ve böbrek toksisitesini öngörmek amacıyla Metabolomik Toksikoloji Konsorsiyumu oluşturulmuştur.³⁷ Toksikoloji alanındaki araştırmalar için metabolom analizinin yapılması bu yıllardan sonra giderek artmıştır.¹⁰ Metabolomik çalışmalar özellikle ksenobiyotiklerin toksik etki mekanizmasını aydınlatmak için toksikoloji çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır.⁶ Yeni bileşiklerin güvenlik profili değerlendirmesini geliştirmek için yeni bir araç olarak düzenleyici toksikoloji alanında da yerini bulmuştur.³⁸ Son 10 yılda büyük ilerlemeler kaydedilmiş olsa da düzenleyici amaçlar için metabolom analizinden elde edilen verilerin kullanımının doğrulanması devam etmektedir. Bir kimyasala maruz kalmaktan kaynaklanan endojen metabolit içeriğindeki değişikliklerin incelenmesi de düzenleyici toksikoloji için çeşitli bilgiler sağlayabilir.¹⁰ Yine metabolom analizinden elde edilen veriler, toksik ajanların fenotipe neden olduğu değişikliklerin değerlendirilmesinde kullanılabilir. Hem endojen patolojik durumların hem de ekzojen bileşiklerden meydana gelen toksik etkilerin biyolojik mekanizmalarının aydınlatılmasına olanak sağlar.⁶

Toksikolojide metabolomik, toksik bir maddeye maruziyet sonucu bilinen biyokimyasal yollardaki değişimleri değerlendirmek amacıyla kullanılan "omik" disiplindir. Tehlikeli bir bileşiğin organizmadaki muhtemel hedeflerinin hızlı bir şekilde tanımlanmasını sağlayarak hedef organlar hakkında bilgi verebilir ve genellikle belirli bir bileşiğin etki mekanizmasının anlaşılmasına yardımcı olabilir. Böylece ya patofizyolojik koşulları gösteren ya da ilaç tedavilerinin etkinliğinin izlenmesine yardımcı olan biyobelirteçlerin keşfedilmesine yardımcı olur.³⁸ Metabolom analizi toksik bir maruziyet sonucu oluşan hasarın sadece kapsamını değil, aynı zamanda onun altında yatan mekanizmalar hakkında da zengin bilgi sağlayan önemli çalışmalardır.³⁸ Toksikoloji alanında yapılan çalışmalarda, metabolomik çalışmaların kullanım alanlarını özetlemek gerekirse aşağıdaki gibi sıralanabilir;

- Bir ksenobiyotiğe maruziyet sonucu oluşan toksisiteyi öngörmek, toksik etki mekanizmalarını anlamak ve aydınlatmak,
- Bir ksenobiyotiğin neden olduğu toksisitede bileşiğin hedef organı hakkında fikir sahibi olmak,
- Maruziyetin göstergesi olarak yeni biyobelirteçlerin keşfine yardımcı olmak,
- Yeni sentez edilen ilaç moleküllerinin güvenilirlik profillerini değerlendirmek,
- Tüm bu veriler ışığında düzenleyici toksikoloji alanına veri sağlamak.

Maruziyet Biyobelirteçlerinin ve Toksik Etki Mekanizmalarının Belirlenmesinde Metabolom Analizinin Rolü

Toksikoloji alanında, hedeflenmemiş metabolomik yaklaşımlarının önemli hipotez üreten bir araç olduğu gösterilmiştir.³⁹ Toksik bir bileşiğe maruz kaldıktan sonra biyolojik matrislerde çok sayıda metabolitin izlenmesi, toksik etkinin daha iyi anlaşılmasını sağlayabilir.⁴⁰ Bu şekilde hedeflenmemiş metabolomik yaklaşım toksik etki biçimlerinin spesifik mekanizmalarının ve insanların ksenobiyotiklere maruz kalma durumunda maruziyet belirteçlerinin belirlenmesine katkıda bulunabilir.⁴¹ Bu tip çalışmalara pek çok örnek verilebilir. Wu ve ark., yaptıkları araştırmada, zebra balığı embriyolarının arseniğe maruz

kalmaları sonucunda oluşan 10 yeni metabolit belirlenmiştir. Böylece yüksek arsenik konsantrasyonlarına sahip ortamlarda biyobelirteç olarak kullanılabilir yeni ve önemli metabolitler tanımlanmıştır.⁴² Bi ve ark., sıçanlarda arsenik maruziyetinin ardından karaciğer hasarının biyobelirteçlerini LC-MS/MS analizi ile tanımlanmıştır. Yüz dokuz metabolit konsantrasyonu kontrol grubundakilere kıyasla önemli ölçüde değişmiş, 6 metabolik yolak seçilmiş ve 109 farklı metabolitin 13 farklı metabolitinin (fenilpruvik asit, n-asetil-1-fenilalanin, trans-sinamik asit, süksinik asit, asetil-CoA, l-malat, fosfoenolpiruvik asit, oksaloasetat, gliseraldehit 3-fosfat, tiamin, nikotinamid adenin dinükleotid, 4-ridoksik asit, pridoksin) bu yolların düzenlenmesinde muhtemelen yer aldığını göstermiştir.⁴³ Yine başka bir çalışmada; Van Vliet ve ark. sıçan primer beyin hücre kültürlerinde farklı etki mekanizmalarına sahip nörotoksik metil cıva klorür ve nöroprotektif konsantrasyonlarda beyinde uyarıcı etkili kafeinin in vitro metabolik profillerini LC-MS ile analiz etmiştir. Analiz sonucunda gama aminobütirik asit (GABA), kolin, glutamin, kreatin ve spermin, metil cıva klorür nörotoksitesisi için kabul edilen biyolojik belirteçler olarak tanımlanmıştır. Bu çalışma ile nörotoksitesite üzerine yapılacak mekanistik çalışmalarda, in vitro metabolomik çalışmalarının faydalı olabileceği ve temel oluşturabileceği sonucuna varılmıştır.⁴⁴ Gao ve ark., aflatoksin M1 (AFM1) ve okratoksin (OTA) kaynaklı hepatotoksitesiteyi belirlemek ve olası toksitesite mekanizmalarını açıklamak için fareler üzerinde metabolom analizi yapmıştır. AFM1 ve OTA'nın neden olduğu hepatotoksitesiteden etkilenen ana metabolit türünün lizofosfatidilkolin metabolitleri olduğu tespit edilmiş ve böylece metabolomik çalışmaların, metabolik değişiklikleri gösterebildiğini ve biyobelirteçleri tanımlayabildiğini bildirmişlerdir.⁴⁵ Cheng ve ark., çocukların diyetlerinde geleneksel gıdalardan organik gıdalara geçmenin bir sonucu olarak, organofosforlu pestisit (OP) toksitesiteleriyle ilgili olabilecek metabolik yollarındaki bozulmayı araştırmıştır. Bunun için sadece geleneksel yiyecekleri tüketen 23 çocuk sonbahar ve yaz olmak üzere 2 farklı mevsimde takip edilmiştir. Çocuklar ilk 3 gün normal geleneksel diyetlerini tüketmiş, ardından ardışık 5 gün boyunca çalışmanın sağladığı organik gıdalara geç-

miş ve son olarak kalan çalışma günlerinde geleneksel beslenme rejimlerine geri dönmüşlerdir. Her gün çocuklardan, yatmadan önce ve ertesi sabah olmak üzere 2 spot idrar (yatmadan önce ve uyandıktan hemen sonra) örneği toplanmıştır. İdrardaki OP, metabolit düzeylerindeki belirgin farklılıklarına dayanarak 10 çocuktan toplanan 46 spot idrar örneği analiz için seçilmiştir. Bu 10 çocuktan alınan spot idrar örneklerinin, geleneksel diyet günlerinde, organik diyet günlerinde saptanamayan OP metabolit düzeyleri içerdiği ve OP metabolit düzeylerinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca yapılan analiz sonucunda 5 metabolitin (N-asetilfenilalanin, γ -glutamiltreonin, N1-metil-2-piridon-5-karboksamid, 4-vinilfenol sülfat ve 1,6-anhidroglikoz) diyet değişimi sonucunda önemli farklılık gösterdiği bildirilmiştir. Elde edilen en önemli bulgu ise çocukların diyetlerinde organik gıdalara geçildiği zaman oksidatif stres ve inflamatuvar yanıtların ve detoksifikasyon gereksinimi azalmıştır. Bu da diyet değişikliklerini takip eden zamanlarda yapılan analizler sonucu oluşan metabolom profili ile belirlenmiştir.⁴⁶ Iturrospe ve ark., yaptıkları çalışmada, insan hepatoselüler karsinomundan türetilen HepaRG hücrelerinde, LC/MS tabanlı hedeflenmemiş metabolomik profillerini kullanarak etanol maruziyetinin hücre metabolizması üzerindeki etkilerini araştırmıştır. Etoksillenmiş fosforilkolinin sadece etanol maruziyet grubunda belirlenmesi nedeniyle bu molekülün etanol maruziyetinin potansiyel yeni bir belirteci olabileceği bildirilmiştir.⁴⁷ Ortopedide metal protezlerde kobalt (Co), krom (Cr) ve nikel (Ni) kullanılmaktadır. Bu protezler, vücutta metal salınımından sorumlu olabilir ve protez taşıyan hastalarda toksitesite oluşturabilir. Bellouard ve ark., Co, Cr ve Ni insan hepatositleri üzerindeki sitotoksitesitesini değerlendirmek ve metabolom analizi ile hücresel toksitesite mekanizmaları hakkındaki bilgileri geliştirmek amacıyla bir çalışma yapmıştır. Çalışma sonucunda Co ve Ni ile karşılaştırıldığında Cr'nin incelenen oksidatif stres, lipid metabolizması ve triptofan metabolizmasında meydana getirdiği metabolit değişiklikleri nedeniyle daha toksik olduğu vurgulanmıştır. Bu 3 metalin hücresel metabolizma üzerindeki etkisini, hedeflenmemiş bir metabolomik yaklaşımla incelemişlerdir. Yapılan bu in vitro çalışma, protez giyen hastaların kanlarında bulunma ih-

timali olan benzer şekilde düşük konsantrasyonlarda Co, Cr ve Ni'nin HepaRG hücre aktivitesi üzerindeki etkisini ortaya koymuştur.⁴⁸ Guo ve ark., metabolik profilin dinamik değişimini araştırmak için benzen maruz kalan 86 işçi ve 76 sağlıklı kontrolde bir plazma metabolomik çalışma ve ardından farelerde bir doğrulama analizi gerçekleştirmiştir. Hem benzen maruz kalan çalışanlarda hem de benzen maruz bırakılan hayvan modelinde 8 yağ asidinin (oleik asit, cis-10-heptadenoik asit, palmitoleik asit, dokosaheksaenoik asit, miristoleik asit, dodekanoik asit, miristik asit ve linoleik asit) önemli ölçüde değiştiğini bulmuştur. Bu metabolitlerin, S-fenilmerkaptirik asit ve lökositler ile önemli ölçüde ilişkili olduğu ve benzen kaynaklı lökosit sayısında düşüşe aracılık ettikleri tespit edilmiştir. Belirlenen bu yağ asitlerinin ardından potansiyel metabolik yollar araştırılmıştır. Sonuçlar benzen maruz kaldıktan sonra yağ asidi metabolizmasının güçlü bir şekilde yeniden programlandığını ve yağ asidi oksidasyonunun benzen kaynaklı hematotoksistide ana sorumlu metabolik yolak olabileceğini ortaya koymuştur.⁴⁹ Bu başlık altında örnek olarak verilen pek çok farklı toksik etkili ksenobiyotik ile yapılan in vivo ve in vitro metabolomik çalışmalar özellikle ksenobiyotik toksisitesinde etki mekanizmalarını veya yeni maruziyet belirteçlerini belirlemek için araştırmacılara önemli bilgiler sunan çalışmalardır.⁴²⁻⁴⁹

İlaç ve Kimyasal Güvenlilik Profiline Değerlendirilmesinde Metabolom Analizinin Rolü

Toksikolojide hedeflenmemiş metabolom çalışmalarının bir başka uygulama alanı, geliştirilmekte olan ilaçların veya pestisitlerin güvenlik profilini belirleme potansiyelidir. İlaç keşfine uygulandığında, bu tür toksikolojik tarama, yeni kimyasalların potansiyel etkilerini açıklamayı amaçlar ve hedeflenmemiş metabolitler, toksikolojik değerlendirmeyi hızlandırmak için ilgili bilgileri sağlayabilir.^{11,38} Ayrıca hedeflenmemiş metabolitler, hem ilaca özgü hem de hastaya özgü değişiklikleri tanımlamaya imkân sağlar ve böylece advers (ters) ilaç reaksiyonlarının mekanizmasını anlaşılmasını da kolaylaştırır.⁵⁰ Toksikolojik çalışmalarda, hedeflenen metabolitler bir ilaç adayı molekülün farmakolojik profilini tahmin etmek için faydalı nicel veriler sağlayarak, tehli-

keli kimyasalların toksisite yollarının anlaşılmasının geliştirilmesine katkıda bulunabilir.¹⁰ Geleneksel yaklaşımda, bir ilaç geliştirme sürecindeki ilk adım, hastalığın tedavisi için umut verici hedeflerin seçilmesini ve ardından olası etkileşimler için kapsamlı tarama süreçlerini içermektedir. Bununla birlikte yeni aday hedefler artık sıklıkla, spesifik genetik değişiklikleri hastalık fenotipleri ile ilişkilendiren genomik veya transkriptomik gibi omik verilerine dayalı olarak tanımlanmaktadır.⁵¹ Hedeflenen metabolitler ayrıca ilaç toksisite mekanizmasının tanımlanması, toksikokinetik izleme ve ksenobiyotik biyoaktivasyonun profilinin çıkarılması için de yine bu ilaç adayı moleküller için bilgi sağlar.⁵²

İlaç endüstrisindeki en önemli araştırma ve geliştirme hedeflerinden biri, istenmeyen etkisi olmayan veya en az yan etkisi olan yeni ilaç adaylarının seçilmesidir. Yeni bir ilaç, klinik deneylere ulaşmadan önce metabolom çalışmaları ile de toksisite açısından taranabilirse, üretici ilaç firmaları bu çalışmaların gerektirdiği güvenilirlik analizi ile maliyetleri azaltabilir. Böylece metabolomik çalışmalar ile toksisite nedeniyle ileri klinik pratikte başarısız olması muhtemel ilaçlar, klinik öncesi gelişim aşamalarında daha kolay tanımlanabilir ve yeni ilaçların geliştirilmesi için geçen süre kısalmıştır.⁵³ Birçok geleneksel klinik toksisite biyobelirteçleri sınırlı özgüllüğe ve duyarlılığa sahiptir, çünkü bunlar genellikle yalnızca organlar büyük hasar gördükten sonra önemli ölçüde değişmiş düzeyler gösterir. Bu durum, bazen yeni bir kimyasal tarafından tetiklenen potansiyel toksisitenin tanımlanmasını engelleyebilir ve sonraki aşamalarda ilaçların farklı düzeylerde geri çekilme tedbirlerinin alınmasına yol açabilir.⁵⁴ Bu nedenle yeni toksisite biyobelirteçlerinin tanımlanması için metabolomik yaklaşımlar son yıllarda oldukça önemli bir hâle gelmiştir. García-Cañaveras ve ark., ilaca bağlı hepatotoksistenin farklı mekanizmalarını sınıflandırmak ve incelemek için MS tabanlı bir metabolomik yaklaşım geliştirmiştir. Bunun için insan kaynaklı karaciğer hücrelerinde (HepG2) steatoz, fosfolipidoz ve oksidatif stres gibi farklı mekanizmalarla hareket eden farklı hepatotoksik ilaçların metabolik profilini değerlendirmiştir. Çalışma sonucunda birkaç metabolit tanımlanmış ve her biri bir toksisite mekanizması ile ilişkilendirilmiştir.⁵⁵ Hanna ve ark.,

akut böbrek hasarına neden olabilen gentamisin ilacının uygulamasından sonra GC-MS ve LC-MS ile yeni doğan sıçanların üriner metabolomundaki değişiklikleri incelemiştir. Triptofan, kinürenik asit, ksantenik asit ve hippürik asit akut böbrek hasarının erken tespiti için potansiyel biyobelirteçler olarak tanımlanmıştır.⁵⁶ Boudonck ve ark., önceki çalışmaya benzer şekilde nefrotoksisitenin erken tanısı için gerekli biyokimyasal biyobelirteçleri göstermek için nefrotoksik olan gentamisin, sisplatin ve tobramisin ile tedavi edilen sıçanlar üzerinde GC-MS ve LC-MS'ye dayalı hedeflenmemiş bir metabolomik çalışması yapmıştır. Çalışma sonucunda sıçanların idrarında poliamin ve amino asit düzeylerinde artışlar gözlenmiş ve bu metabolitler, ilaca bağlı nefrotoksisitenin erken tanısı için potansiyel biyobelirteçler olarak belirlenmiştir.⁵⁷ İlaç adayı molekülü ile yapılacak metabolom analizlerinde yapılan bu çalışmalarla belirlenen muhtemel yollarda ve biyobelirteçlerde bir değişiklik var ise olası toksisite sonuçlarının önceden öngörülmesi sağlanacaktır. Bununla birlikte altta yatan bazı biyokimyasal süreçler hakkında ayrıntılı bilgi sahibi olmak ilaç adayı molekülün etki mekanizmasını ve hedef ile etkileşiminin tanımlanmasına yardımcı olabilir.⁵¹ Luukkonen ve ark., hidroksisteroid 17- β dehidrojenaz 13 79 gen varyantına (rs72613567:TA) sahip bireylerde, alkole bağlı olmayan steatohepatit ve siroz riskinde azalma olduğunu göstermiştir.⁵⁸ Burada özetlenen bu metabolomik çalışmalar bireye özgü ilaç geliştirme ve tedavi sürecinde önemli katkılarda bulunabilir.

Adli Toksikoloji Çalışmalarında Metabolom Analizinin Rolü

Toksikogenetiğin adli incelemelerde çok önemli olduğu kabul edilir ve toksikogenetik genotipler, fenotipler ve olası spesifik değişiklikler hakkında değerli bilgiler sağlayabilir. Belirli moleküllerin bir hastalık veya ksenobiyotik sonucu değişimi yaşamı tehdit eden sonuçlara ve nihayetinde ölüme yol açabilir. Yunanca ölüm anlamındaki *Thanatos* 'dan türetilen tanatometabolomik, adli bilimde umut verici bir araştırma yaklaşımı olarak kabul edilen yeni bir kavramdır. Bir organizmadaki ölüm sonrası metabolitlerin değişimini belirlemek için metabolomik yaklaşımın kullanılması günümüzde birçok araştırmanın ilgi odağı olmuştur. Organizmada meydana gelen biyo-

lojik dalgalanmalar nedeniyle geleneksel yöntemler güvenilir sonuçlar elde etmede yetersiz kaldığı durumlarda, metabolomik bu bilim alanında büyük potansiyel göstermektedir. Adli toksikolojide metabolomik çalışmaların örneklerine rastlamak mümkündür. Adli toksikoloji başlığı altında 2 farklı alanda metabolom analizinin kullanımı karşımıza çıkmaktadır. Bunlardan bir tanesi modern toplumda giderek artan ilaç suistimali ve bağımlılığıdır.⁵⁹ Madde kullanımı, özellikle yeni psikoaktif maddeler, dünya çapında büyüyen bir sorun olması nedeniyle metabolom analizi bu noktada oldukça önemli bir araç hâline gelmektedir.⁶⁰ Diğer bir kullanım alanı ise yeni narkotik ilaçların veya kimyasallarının etki mekanizmasının keşfedilmesi ve anlaşılmasıdır.⁵⁹ Adli toksikoloji, yeni psikoaktif maddelerin tanımlanmasına yardımcı olmak için metabolomik yaklaşımını kullanmaktadır. Bu noktada ise ortaya çıkan problem belirlenen metabolomun endojen kaynaklı mı yoksa ekzojen kaynaklı bir kontaminasyon sonucu mu (örneğin örnek saklama kabı gibi) olduğudur.⁶¹

Nielsen ve ark., adli toksikoloji rutin analizi için toplanan retrospektif bir veri seti üzerinde hedeflenmemiş bir metabolomik çalışma gerçekleştirmiştir. Bu çalışmada farklı konsantrasyonlarda 3,4-metilen-dioksimetamfetamin (MDMA) için pozitif olan Danimarkalı sürücülerden alınan tam kan örnekleri, çeşitli istatistiksel yöntemler kullanılarak negatif kontrol örnekleriyle karşılaştırılmıştır. MDMA ve metabolitlerinin, uygulanan yöntemlerle pozitif olarak tanımlanması iyi bir veri analizi ile kanıtlanmıştır.⁶² Steuer ve ark., ise gama-hidroksibütirik asit (GHB) alımının yeni biyobelirteçlerini araştırmak için hedeflenmemiş metabolomik çalışma ile idrar örneklerini analiz etmiş ve GHB karnitin, GHB glisin ve GHB glutamat gibi yeni GHB metabolitleri tanımlanmıştır.⁶³ Shima ve ark., metamfetaminin akut toksisitesinin metabolizma üzerindeki etkisini araştırmak için sıçan idrarı ve plazmasındaki metabolitleri kapsamlı bir şekilde analiz etmiştir. Çalışma sonucunda metamfetamin maruziyetinin potansiyel biyobelirteçleri olarak 5-oksoprolin, sakkarik asit, urasil, 3-hidroksibütirat, adipik asit, glukoz, glukoz 6-fosfat, fruktoz 1,6-bifosfat ve fumarat belirlenmiştir.⁶⁴ Suistimal edilen maddeye bağlı yeni metabolomik yaklaşım, sadece akut madde tüketimini gösteren

biyobelirteçlere değil, aynı zamanda madde bağımlılığının yoğunluğuna veya zehirlenme düzeyinin yorumlanmasına da odaklanmaktadır. Örneğin Zheng ve ark., bir hayvan modelinde, sıçanlarda 10 günlük eroin maruziyetinin ve ardından 4 günlük kesilme sendromunun etkisini incelemek için GC-MS tabanlı metabolom analizini kullanmıştır. Metabolitlerin analizi, eroin uygulamasının periferik serumda triptofan ve 5-hidroksitriptamin düzeylerini azalttığını, ancak idrarda triptofan ve 5-hidroksiindoleasetat'ı artırdığını ortaya koymuştur. Dört gün boyunca eroinin kesilmesi, idrarda serum miyo-inositol-1-fosfat, treonat ve hidroksiprolin dışında tüm metabolitleri başlangıç değerlerine getirmiştir. Bu biyobelirteçler, birkaç gündür eroin kullanılmamış olsa bile, eroin suistimalinin potansiyel belirteçleri olarak karşımıza çıkmaktadır.⁶⁵ Bu çalışmalardan da görüldüğü üzere metabolomik çalışmaları ilaç suistimalinde de araştırmacılara özellikle madde bağımlılığının belirlenmesi konusunda önemli bilgiler sunmaktadır.

Locci ve ark., yarı sentetik bir opioid olan oksikodon ile ilişkili potansiyel endojen biyobelirteçleri belirlemek ve bu biyobelirteçlerin solunum fonksiyonu ve hipoksi ile bağlantılı olup olmadığını araştırmak için postmortem metabolom profili kullanmıştır. Oksikodon pozitif zehirlenme vakalarının postmortem metabolomu, oksikodon için pozitif ve negatif olan 2 kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Kontrollere kıyasla oksikodon için yaklaşık yarı yarıya açilkarnitin düzeyleri gözlenmiştir. Bu biyokimyasal değişiklikler, oksikodon zehirlenmelerinde potansiyel bir biyobelirteç olarak açilkarnitinlerin kullanılabilirliğini göstermiştir.⁶⁶

Son yıllarda adli toksikolojide ölüm ile cesedin bulunması arasındaki süre olan postmortem intervale (PMI) de araştırmak için de metabolom analizleri daha sık kullanılmaya başlanmıştır. Bu da adli toksikoloji alanında metabolomik yaklaşımların kullanıldığı diğer bir alandır.⁵⁹ Pesko ve ark., çeşitli zamanlarda postmortem toplanan sıçan ve insan kas dokularını, hedeflenmemiş bir metabolomik yaklaşım kullanarak analiz etmiştir. Bazı metabolitlerin (skatole, ksantin, n-asetilnöraminat, 1-metilnikotinamid, kolin fosfat ve urasil) düzeylerinin ve ayrıca çoğu proteinojenik amino asit düzeylerinin postmortem dönemde dengeli bir şekilde arttığını gözlemiştir.

Treonin, tirozin ve lisinin potansiyel PMI belirteçleri olabileceğini belirtmiştir.⁶⁷ Donaldson ve ark., GC-MS kullanarak postmortem sıçanlarda kan plazmasının metabolik bir analizini gerçekleştirmiş ve PMI tahmini için potansiyel belirteç olarak 26 metabolit (glutasyon, GABA, glioksilat, oksalat, hidroksiprolin, kreatinin, α -ketoglutarat, süksinat ve 18 amino asit gibi) belirlemiştir.⁶⁸ Dai ve ark., ise diklorvos ile zehirlenmiş sıçanlarda 72 saatlik PMI'yı araştırmak için GC-MS tabanlı bir metabolomik yaklaşım uygulamıştır ve toplam 39 metabolitin PMI ile ilişkili olduğu bulmuştur.⁶⁹ Bu çalışmalardan da görüldüğü üzere adli toksikoloji çalışmalarında da metabolomik yaklaşımının kullanılması yeni biyobelirteç keşfinde oldukça önem arz etmektedir.

SONUÇ

Metabolomik analitik kimya, kimya, moleküler biyoloji, farmasötik bilimler, toksikoloji, biyoinformatik, istatistik gibi farklı alanlarda uzmanlık gerektiren çok disiplinli bir yaklaşımdır. Toksikoloji açısından önemli olan nokta, bir metabolomik yaklaşımın mekanistik değişiklikler yol açan toksik madde maruziyetinin neden olabileceği olası biyokimyasal değişikliklerin ve muhtemel biyobelirteçlerin tanımlanmasıdır. Metabolomik teknolojisi, hastalıkları veya hastalık modellerinin ayırıcı özelliklerini ortaya koyma potansiyeline sahiptir ve ksenobiyotiklerle gözlemlenen etkileşimler için biyokimyasal temeller sağlar. Metabolomik, artık in vitro çalışmalardan karmaşık klinik çalışmalara kadar yaşam bilimleri yelpazesindeki uygulamalarla ayrı bir alan olarak kendini kanıtlamıştır. Entegre omik yaklaşımlarında bu bilimsel alanlarda birlikte kullanılması ile hastalık mekanizmalarının ve toksisite mekanizmaların ortak yönleri ortaya çıkacak ve fizyolojik yanıtın toksik yanıtla dönüştüğü belirgin bir şekilde gösterilecektir. Toksikolojik çalışmalarda, mekanizmalar ve biyobelirteçler teknolojinin şu anda bilime ışık tutan pek çok veriyi sağlayan ve yakın gelecekte en büyük kazanımların elde edileceği yerlerdir.⁷⁰ Bu derlemede de toksikoloji alanında yeni maruziyet biyobelirteçlerinin belirlenmesi, adli toksikolojideki farklı kullanım alanları, ilaç geliştirmede önemi ile ilgili metabolomik yaklaşımının kullanımı araştırılarak derlenmiştir.

Finansal Kaynak

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

Çıkar Çatışması

Bu çalışma ile ilgili olarak yazarların ve/veya aile bireylerinin çıkar çatışması potansiyeli olabilecek bilimsel ve tıbbi komite üyeliği veya üyeleri ile ilişkisi, danışmanlık, bilirkişilik, herhangi

bir firmada çalışma durumu, hissedarlık ve benzer durumları yoktur.

Yazar Katkıları

Fikir/Kavram: Şaziye Sezin Palabıyık Yücelik; **Tasarım:** Şaziye Sezin Palabıyık Yücelik, Fatma Betül Yoladı; **Denetleme/Danışmanlık:** Şaziye Sezin Palabıyık Yücelik; **Veri Toplama ve/veya İşleme:** Şaziye Sezin Palabıyık Yücelik, Fatma Betül Yoladı; **Analiz ve/veya Yorum:** Şaziye Sezin Palabıyık Yücelik, Fatma Betül Yoladı; **Kaynak Taraması:** Şaziye Sezin Palabıyık Yücelik, Fatma Betül Yoladı; **Makalenin Yazımı:** Şaziye Sezin Palabıyık Yücelik, Fatma Betül Yoladı; **Eleştirel İnceleme:** Şaziye Sezin Palabıyık Yücelik.

KAYNAKLAR

- Fröhlich E. Role of omics techniques in the toxicity testing of nanoparticles. *J Nanobiotechnology*. 2017;15(1):84. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Griffin JL, Shoccoor JP. Metabolic profiles of cancer cells. *Nat Rev Cancer*. 2004;4(7):551-61. [Crossref] [PubMed]
- Horgan RP, Kenny LC. 'Omic' technologies: genomics, transcriptomics, proteomics and metabolomics. *Obstet Gynecol*. 2011;13(3):189-95. [Crossref]
- Aslam B, Basit M, Nisar MA, Khurshid M, Rasool MH. Proteomics: technologies and their applications. *J Chromatogr Sci*. 2017;55(2):182-96. [Crossref] [PubMed]
- Domon B, Aebersold R. Mass spectrometry and protein analysis. *Science*. 2006;312(5771):212-7. [Crossref] [PubMed]
- Zaitso K, Hayashi Y, Kusano M, Tsuchihashi H, Ishii A. Application of metabolomics to toxicology of drugs of abuse: A mini review of metabolomics approach to acute and chronic toxicity studies. *Drug Metab Pharmacokinet*. 2016;31(1):21-6. [Crossref] [PubMed]
- Patti GJ, Yanes O, Siuzdak G. Innovation: metabolomics: the apogee of the omics trilogy. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2012;13(4):263-9. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Fiehn O. Metabolomics—the link between genotypes and phenotypes. *Plant Mol Biol*. 2002;48(1-2):155-71. [Crossref] [PubMed]
- Newgard CB. Metabolomics and Metabolic Diseases: Where Do We Stand? *Cell Metab*. 2017;25(1):43-56. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Olesti E, González-Ruiz V, Wilks MF, Bocard J, Rudaz S. Approaches in metabolomics for regulatory toxicology applications. *Analyst*. 2021;146(6):1820-34. [Crossref] [PubMed]
- Nicholson JK. Global systems biology, personalized medicine and molecular epidemiology. *Mol Syst Biol*. 2006;2:52. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Castillo-Peinado LS, Luque de Castro MD. Present and foreseeable future of metabolomics in forensic analysis. *Anal Chim Acta*. 2016;925:1-15. [Crossref] [PubMed]
- Segers K, Declercq S, Mangelings D, Heyden YV, Eeckhaut AV. Analytical techniques for metabolomic studies: a review. *Bioanalysis*. 2019;11(24):2297-318. [Crossref] [PubMed]
- Griffin JL, Bollard ME. Metabonomics: its potential as a tool in toxicology for safety assessment and data integration. *Curr Drug Metab*. 2004;5(5):389-98. [Crossref] [PubMed]
- Lindon JC, Holmes E, Bollard ME, Stanley EG, Nicholson JK. Metabonomics technologies and their applications in physiological monitoring, drug safety assessment and disease diagnosis. *Biomarkers*. 2004;9(1):1-31. [Crossref] [PubMed]
- Bilello JA. The agony and ecstasy of "OMIC" technologies in drug development. *Curr Mol Med*. 2005;5(1):39-52. [Crossref] [PubMed]
- van Ravenzwaay B, Cunha GC, Leibold E, Looser R, Mellert W, Prokoudine A, et al. The use of metabolomics for the discovery of new biomarkers of effect. *Toxicol Lett*. 2007;172(1-2):21-8. [Crossref] [PubMed]
- Ren S, Hinzman AA, Kang EL, Szczesniak RD, Lu LJ. Computational and statistical analysis of metabolomics data. *Metabolomics*. 2015;11(6):1492-513. [Crossref]
- Emwas AH, Roy R, McKay RT, Tenori L, Saccenti E, Gowda GAN, et al. NMR spectroscopy for metabolomics research. *Metabolites*. 2019;9(7):123. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Szeremeta M, Pietrowska K, Niemcunowicz-Janica A, Kretowski A, Ci-borowski M. Applications of metabolomics in forensic toxicology and forensic medicine. *Int J Mol Sci*. 2021;22(6):3010. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Bain JR, Stevens RD, Wenner BR, Ilkayeva O, Muoio DM, Newgard CB. Metabolomics applied to diabetes research: moving from information to knowledge. *Diabetes*. 2009;58(11):2429-43. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Guenec AL, Giraudeau P, Caldarelli S. Evaluation of fast 2D NMR for metabolomics. *Anal Chem*. 2014;86(12):5946-54. [Crossref] [PubMed]
- Takis PG, Ghini V, Tenori L, Turano P, Luchinat C. Uniqueness of the NMR approach to metabolomics. *Trends Analyt Chem*. 2019;120:115300. [Crossref]
- Weckwerth W, Morgenthal K. Metabolomics: from pattern recognition to biological interpretation. *Drug Discov Today*. 2005;10(22):1551-8. [Crossref] [PubMed]
- Roessner U, Bowne J. What is metabolomics all about? *Biotechniques*. 2009;46(5):363-5. [Crossref] [PubMed]
- Ryan D, Robards K. Metabolomics: The greatest omics of them all? *Anal Chem*. 2006;78(23):7954-8. [Crossref] [PubMed]
- Oldiges M, Lütz S, Pflug S, Schroer K, Stein N, Wiendahl C. Metabolomics: current state and evolving methodologies and tools. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2007;76(3):495-511. [Crossref] [PubMed]
- Araújo AM, Carvalho F, Guedes de Pinho P, Carvalho M. Toxicometabolomics: small molecules to answer big toxicological questions. *Metabolites*. 2021;11(10):692. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Wishart DS. Metabolomics: applications to food science and nutrition research. *Trends Food Sci Technol*. 2008;19(9):482-93. [Crossref]
- Robertson DG. Metabonomics in toxicology: a review. *Toxicol Sci*. 2005;85(2):809-22. [Crossref] [PubMed]
- Bujak R, Struck-Lewicka W, Markuszewski MJ, Kalisz R. Metabolomics for laboratory diagnostics. *J Pharm Biomed Anal*. 2015;113:108-20. [Crossref] [PubMed]
- Naz S, Vallejo M, García A, Barbas C. Method validation strategies involved in non-targeted metabolomics. *J Chromatogr A*. 2014;1353:99-105. [Crossref] [PubMed]

33. Tsugawa H, Cajka T, Kind T, Ma Y, Higgins B, Ikeda K, et al. MS-DIAL: data-independent MS/MS deconvolution for comprehensive metabolome analysis. *Nat Methods*. 2015;12(6):523-6. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
34. Leao TF, Clark CM, Bauermeister A, Elijah EO, Gentry EC, Husband M, et al. Quick-start infrastructure for untargeted metabolomics analysis in GNPS. *Nat Metab*. 2021;3(7):880-82. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
35. Smith CA, O'Maille G, Want EJ, Qin C, Trauger SA, Brandon TR, et al. METLIN: a metabolite mass spectral database. *Ther Drug Monit*. 2005;27(6):747-51. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
36. Wishart DS, Jewison T, Guo AC, Wilson M, Knox C, Liu Y, et al. HMDB 3.0--the human metabolome database in 2013. *Nucleic Acids Res*. 2013;41(Database issue):D801-7. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
37. Lindon JC, Nicholson JK, Holmes E, Antti H, Bollard ME, Keun H, et al. Contemporary issues in toxicology the role of metabolomics in toxicology and its evaluation by the COMET project. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2003;187(3):137-46. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
38. Ramirez T, Daneshian M, Kamp H, Bois FY, Clench MR, Coen M, et al. Metabolomics in toxicology and preclinical research. *ALTEX*. 2013;30(2):209-25. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
39. González-Riano C, Dudzik D, Garcia A, Gil-de-la-Fuente A, Gradillas A, Godzien J, et al. Recent developments along the analytical process for metabolomics workflows. *Anal Chem*. 2020;92(1):203-26. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
40. van Ravenzwaay B, Herold M, Kamp H, Kapp MD, Fabian E, Looser R, et al. Metabolomics: a tool for early detection of toxicological effects and an opportunity for biology based grouping of chemicals-from QSAR to QBAR. *Mutat Res*. 2012;746(2):144-50. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
41. Pourchet M, Debrauwer L, Klanova J, Price EJ, Covaci A, Caballero-Casero N, et al. Suspect and non-targeted screening of chemicals of emerging concern for human biomonitoring, environmental health studies and support to risk assessment: From promises to challenges and harmonisation issues. *Environ Int*. 2020;139:105545. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
42. Wu SY, Phan NN, Ho SH, Lai YH, Tsai CH, Yang CH, et al. Metabolomic assessment of arsenite toxicity and novel biomarker discovery in early development of zebrafish embryos. *Toxicol Lett*. 2018;290:116-22. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
43. Bi D, Shi M, Hu Q, Wang H, Lou D, Zhang A, et al. LC/MS/MS-based liver metabolomics to identify chronic liver injury biomarkers following exposure to arsenic in rats. *Biol Trace Elem Res*. 2022;200(10):4355-69. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
44. van Vliet E, Morath S, Eskes C, Linge J, Rappsilber J, Honegger P, et al. A novel in vitro metabolomics approach for neurotoxicity testing, proof of principle for methyl mercury chloride and caffeine. *Neurotoxicology*. 2008;29(1):1-12. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
45. Gao YN, Wu CQ, Wang JQ, Zheng N. Metabolomic analysis reveals the mechanisms of hepatotoxicity induced by aflatoxin M1 and ochratoxin A. *Toxins (Basel)*. 2022;14(2):141. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
46. Cheng Q, Liu QQ, Li K, Chang CH, Lu CA. Assessing dietary pesticide intake and potential health effects: the application of global metabolomics analysis. *J Agric Food Chem*. 2022;70(13):4086-91. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
47. Iturrospe E, da Silva KM, Robeyns R, van de Lavoie M, Boeckmans J, Vanhaecke T, et al. Metabolic signature of ethanol-induced hepatotoxicity in heparg cells by liquid chromatography-mass spectrometry-based untargeted metabolomics. *J Proteome Res*. 2022;21(4):1153-66. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
48. Bellouard M, Gasser M, Lenglet S, Gilardi F, Bararpour N, Augsburger M, et al. Toxicity and metabolomic impact of cobalt, chromium, and nickel exposure on HepaRG hepatocytes. *Chem Res Toxicol*. 2022;35(5):807-16. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
49. Guo X, Zhang L, Wang J, Zhang W, Ren J, Chen Y, et al. Plasma metabolomics study reveals the critical metabolic signatures for benzene-induced hematotoxicity. *JCI Insight*. 2022;7(2):e154999. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
50. Wang P, Shehu AI, Ma X. The opportunities of metabolomics in drug safety evaluation. *Curr Pharmacol Rep*. 2017;3(1):10-5. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
51. Alarcon-Barrera JC, Kostidis S, Ondo-Mendez A, Giera M. Recent advances in metabolomics analysis for early drug development. *Drug Discov Today*. 2022;27(6):1763-73. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
52. Li F, Lu J, Ma X. Profiling the reactive metabolites of xenobiotics using metabolomic technologies. *Chem Res Toxicol*. 2011;24(5):744-51. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
53. Kumar B, Prakash A, Ruhela RK, Medhi B. Potential of metabolomics in pre-clinical and clinical drug development. *Pharmacol Rep*. 2014;66(6):956-63. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
54. Beger RD, Sun J, Schnackenberg LK. Metabolomics approaches for discovering biomarkers of drug-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2010;243(2):154-66. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
55. García-Ca-averas JC, Castell JV, Donato MT, Lahoz A. A metabolomics cell-based approach for anticipating and investigating drug-induced liver injury. *Sci Rep*. 2016;6:27239. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
56. Hanna MH, Segar JL, Teesch LM, Kasper DC, Schaefer FS, Brophy PD. Urinary metabolomic markers of aminoglycoside nephrotoxicity in newborn rats. *Pediatr Res*. 2013;73(5):585-91. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
57. Boudonck KJ, Mitchell MW, Németh L, Keresztes L, Nyska A, Shinar D, et al. Discovery of metabolomics biomarkers for early detection of nephrotoxicity. *Toxicol Pathol*. 2009;37(3):280-92. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
58. Luukkonen PK, Tukiainen T, Juuti A, Salmakorpi H, Haridas PAN, Niemelä O, et al. Hydroxysteroid 17-β dehydrogenase 13 variant increases phospholipids and protects against fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease. *JCI Insight*. 2020;5(5):e132158. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
59. Dawidowska J, Krzyżanowska M, Markuszewski MJ, Kaliszán M. The application of metabolomics in forensic science with focus on forensic toxicology and time-of-death estimation. *Metabolites*. 2021;11(12):801. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
60. United Nations Office on Drugs and Crime. World Drug Report 2017 Pre-Briefing to the Member States. 2018. [Cited: May 12, 2022]. Available from: [[Link](#)]
61. Keen B, Cawley A, Reedy B, Fu S. Metabolomics in clinical and forensic toxicology, sports anti-doping and veterinary residues. *Drug Test Anal*. 2022;14(5):794-807. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
62. Nielsen KL, Telving R, Andreassen MF, Hasselstrøm JB, Johannsen M. A metabolomics study of retrospective forensic data from whole blood samples of humans exposed to 3,4-methylenedioxymethamphetamine: a new approach for identifying drug metabolites and changes in metabolism related to drug consumption. *J Proteome Res*. 2016;15(2):619-27. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
63. Steuer AE, Raeber J, Steuer C, Boxler MI, Dombierer DA, Bosch OG, et al. Identification of new urinary gamma-hydroxybutyric acid markers applying untargeted metabolomics analysis following placebo-controlled administration to humans. *Drug Test Anal*. 2019;11(6):813-23. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
64. Shima N, Miyawaki I, Bando K, Horie H, Zaito K, Katagi M, et al. Influences of methamphetamine-induced acute intoxication on urinary and plasma metabolic profiles in the rat. *Toxicology*. 2011;287(1-3):29-37. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
65. Zheng T, Liu L, Aa J, Wang G, Cao B, Li M, et al. Metabolic phenotype of rats exposed to heroin and potential markers of heroin abuse. *Drug Alcohol Depend*. 2013;127(1-3):177-86. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
66. Elmsjö A, Söderberg C, Jakobsson G, Green H, Kronstrand R. Postmortem metabolomics reveal acylcarnitines as potential biomarkers for fatal oxycodone-related intoxication. *Metabolites*. 2022;12(2):109. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
67. Pesko BK, Weidt S, McLaughlin M, Wescott DJ, Torrance H, Burgess K, et al. Postmortomics: the potential of untargeted metabolomics to highlight markers for time since death. *OMICS*. 2020;24(11):649-59. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
68. Donaldson AE, Lamont IL. Metabolomics of post-mortem blood: identifying potential markers of post-mortem interval. *Metabolomics*. 2015;11(1):237-45. [[Crossref](#)]
69. Dai X, Fan F, Ye Y, Lu X, Chen F, Wu Z, et al. An experimental study on investigating the postmortem interval in dichlorvos poisoned rats by GC/MS-based metabolomics. *Leg Med (Tokyo)*. 2019;36:28-36. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
70. Robertson DG, Watkins PB, Reilly MD. Metabolomics in toxicology: preclinical and clinical applications. *Toxicol Sci*. 2011;120 Suppl 1:S146-70. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]