



**T.C.
SIVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**LİPİDOMİK YAKLAŞIM KULLANILARAK
TÜBERKÜLOZ HASTALIĞI İÇİN LİPİD
BELİRTEÇLERİNİN SAPTANMASI VE TEDAVİ
SÜRESİNCE DEĞİŞEN LİPİD TÜRLEİNİN
BELİRLENMESİ**

SERKAN CAN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
FARMASÖTİK BİYOKİMYA
ANA BİLİM DALI**

SİVAS-2020

**T.C.
SIVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**LİPİDOMİK YAKLAŞIM KULLANILARAK
TÜBERKÜLOZ HASTALIĞI İÇİN LİPİD
BELİRTEÇLERİNİN SAPTANMASI VE TEDAVİ
SÜRESİNCE DEĞİŞEN LİPİD TÜRLERİNİN
BELİRLENMESİ**

SERKAN CAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**FARMASÖTİK BİYOKİMYA
ANA BİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
DR. ÖĞR. ÜYESİ SERAP ŞAHİN-BÖLÜKBAŞI**

SIVAS-2020

“Lipidomik Yaklaşım Kullanılarak Tüberküloz Hastalığı İçin Lipid Belirteçlerinin Saptanması ve Tedavi Süresince Değişen Lipid Türlerinin Belirlenmesi” adlı **Yüksek Lisans** Tezi, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Farmasötik Biyokimya** Ana Bilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan Dr. Öğr. Üyesi İsmail SARI _____

Üye Dr. Öğr. Üyesi Mehmet ATAŞ _____

Üye (Danışman) Dr. Öğr. Üyesi
Serap ŞAHİN-BÖLÜKBAŞI _____

ONAY

Bu tez çalışması, Tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Zübeyda AKIN POLAT
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MÜDÜRÜ

Bu tez, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 18.02.2015 tarihli ve 4/4 sayılı kararı ile kabul edilen Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna göre hazırlanmıştır.

KATKI BELİRTME/TEŞEKKÜR

Tez çalışmamı hazırlamaya başladığım andan itibaren desteğini esirgemeyen ve bana her konuda yardımcı olan danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Serap ŞAHİN-BÖLÜKBAŞI'na,

Çalışmalarım sırasında her zaman beni destekleyip varlığı ve güvenini daima yanımda hissettiğim sevgili eşim Fatma'ya ve çocuklarım Hüseyin Kağan, Ömer Utku ve Elis'e

Tüm hayatım ve eğitimim boyunca desteklerini hissettiğim aileme,

Bu çalışmayı hazırlarken yardımlarını esirgemeyen arkadaşlarım Derya TANDOĞAN-KURT, Dilek ÇANKAYA-DURGUN, Büşra DAŞ ve Esranur ÇEVİK-YILDIZ'a teşekkür ederim.

Ayrıca çalışmamın her aşamasındaki yardım ve desteklerinden dolayı Dr. Ömer TEKİN, Arzu Bilim ŞAHİNKAYA ve iş arkadaşlarıma teşekkürü borç bilirim.



ÖZET

LİPIDOMİK YAKLAŞIM KULLANILARAK TÜBERKÜLOZ HASTALIĞI İÇİN LİPID BELİRTEÇLERİNİN SAPTANMASI VE TEDAVİ SÜRESİNCE DEĞİŞEN LİPID TÜRLERİNİN BELİRLENMESİ

Serkan CAN
Yüksek Lisans Tezi
Farmasötik Biyokimya Ana Bilim Dalı
Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Serap ŞAHİN-BÖLÜKBAŞI
2020, 91 sayfa + xviii

Tüberküloz (TB), *Mycobacterium tuberculosis*'in (*Mtb*) neden olduğu bulaşıcı bir hastalıktır ve dünyadaki önde gelen ölüm nedenlerinden biri olmaya devam etmektedir. TB için en büyük sorun, aktif hastalığın teşhisi için kan-temelli güçlü biyobelirteçlerin bulunmamasıdır. Biyobelirteçler, normal veya patojenik süreçleri gösteren spesifik moleküllerdir. Lipitler enerji metabolizmasında, membran yapısında ve sinyal iletiminde önemli roller oynamaktadır. Lipidomik, hücrel lipitleri büyük ölçekte inceleyen yeni bir alandır ve biyomedikal bilimlerde yeni lipidomik uygulamalar ortaya çıkmaktadır. Farklı hastalıkların patogenezinde rol oynadığı bilinen lipit türleri kullanılarak yeni tedavi stratejileri geliştirilmektedir. TB hastalığında lipit metabolizmasının daha iyi anlaşılması, TB hastalığı için yeni ve daha iyi tedavilerin geliştirilmesine katkıda bulunabilecektir. Bu çalışmanın amacı, TB tanısı için potansiyel kan-temelli lipit biyobelirteçlerini tanımlamaktır. TB hastaları ile kontrollerin lipit profilleri hedeflenmemiş lipidomik yöntemle karşılaştırılmıştır. Çok değişkenli kısmi en küçük kareler ayırıcı analiz modelleri, TB ve kontroller arasında farklı lipit profillerin varlığını göstermiştir. Yağ asidi (FA), gliserofosfolipid (PG), gliserolipid (GL), sfingolipid (SP), sterol lipit (ST) ve prenol lipit (PR) dahil olmak üzere otuz dört lipit türünün TB'de farklı şekilde düzenlendiği bulunmuş ve bu lipit türleri TB için olası biyobelirteçler olabilecekleri önerilmiştir. Ayrıca, tedavi edilen TB hastalarının lipit profillerinde kontrollere göre anlamlı farklılıklar bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: Tüberküloz, Lipidomiks, Elektrosprey İyonizasyon Kütle Spektrometresi (ESI-MS), Lipid Maps

ABSTRACT

DETERMINATION OF LIPID MARKERS FOR TUBERCULOSIS AND SPECIFICATION OF CHANGED LIPID SPECIES DURING TREATMENT BY USING LIPIDOMICS APPROACH

Serkan CAN

Master Thesis

Department of Pharmaceutical Biochemistry

Supervisor: Assistant Prof. Dr. Serap ŞAHİN-BÖLÜKBAŞI

2020, 91 pages + xviii

Tuberculosis (TB) is an infectious disease caused by *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*) and remains one of the leading causes of mortality in the world. The biggest problem for TB is the absence of strong blood-based biomarkers for the diagnosis of active disease. Biomarkers are specific molecules that indicate a normal or pathogenic processes. Lipids are playing major roles in energy metabolism, membrane structure, and signal transduction. Lipidomic is a new field that examines cellular lipids on a large scale and novel applications of lipidomics in the biomedical sciences have emerged. New treatment strategies are developing by using known lipid species to play a role in the pathogenesis of different diseases. A better understanding of lipid metabolism in TB disease can contribute to the development of new and better treatments for TB disease. The objective of this study is to identify potential blood-based lipid biomarkers for the diagnosis of TB. Lipid profiles of TB patients and controls were compared with an untargeted-lipidomic method. Multivariate partial least squares differential analysis models showed the presence of different lipid profiles between TB and controls. Thirty-four lipid species, including fatty acid (FA), glycerophospholipid (PG), glycerolipid (GL), sphingolipid (SP), sterol lipid (ST) and prenol lipid (PR), have been found to be regulated differentially in TB and these lipid types have been suggested to be possible biomarkers for TB. In addition, significant differences were found in lipid profiles of treated TB patients compared to controls.

Key words: Tuberculosis, Lipidomics, Electrospray ionization-mass spectrometry (ESI-MS), Lipid Maps

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
İÇ KAPAK	i
ONAY	ii
YÖNERGE	iii
KATKI BELİRTME/TEŞEKKÜR	iv
İTHAF	v
ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xiv
KISALTMALAR DİZİNİ	xvi
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tüberküloz.....	3
2.2. Tüberkülozun Etkenleri.....	6
2.3. Tüberküloz Tedavisi.....	10
2.4. Tüberküloz Tedavisinde Kullanılan İlaçlar.....	10
2.4.1. İzonyazid (H).....	11
2.4.2. Rifampisin (R).....	11
2.4.3. Pirazinamid (Z).....	12
2.4.4. Etambutol (E).....	12
2.4.5. Amikasin (AMK), Kanamisin (KAN).....	13
2.4.6. Kapreomisin (KAP).....	13
2.4.7. Streptomisin (S).....	13
2.4.8. Etyonamid (ETH).....	14
2.4.9. Para-amino salisilik asit (PAS).....	14
2.4.10. Sikloserin (CYC), Terizidon (TRD).....	14
2.4.11. Ofloksasin (OFL), Levofloksasin (LEV), Moksifloksasin (MOKS)....	15

2.4.12. Klofazimin (KLF)	15
2.4.13. Thiasetazon (THI)	15
2.4.14. Linezolid (LNZ)	15
2.5. Lipidler	16
2.6. Bakteriyel Lipitler	18
2.7. Lipidomik	20
2.8. Biyomedikal Bilimler İçin Lipidomik Uygulamaları	22
2.8.1. Metabolik Sendrom	22
2.8.2. Nörolojik Hastalıklar	23
2.8.3. Kanser	23
2.8.4. Göz Hastalıkları	25
2.8.5. Beslenme	25
2.8.6. İlaç Keşfi	25
2.8.7. Çoklu Omiks ve Bireye Özgü Tıp	26
2.8.8. Bulaşıcı Hastalıklar	26
3. GEREÇ ve YÖNTEM	28
3.1. Kullanılan Malzemeler	28
3.2. Kullanılan Cihazlar	28
3.3. Araştırmanın Evreni/Örnekleme	28
3.4. Lipidomiks Çalışmalar	30
3.4.1. Lipid Ekstraksiyonu	30
3.4.2. İnorganik Fosfat Tayini	30
3.4.3. Ekstrakte Edilen Lipidlerin Elektrosprey İyonizasyon Kütle Spektrometresiyle (Q-TOF LC/MS; ESI-MS) Ölçümleri	30
3.4.4. Lipidler için çok değişkenli İstatistik Analizler;	30
4. BULGULAR	31
4.1. Lipid ekstraksiyonu	31
4.2. İnorganik Fosfat Tayini	31
4.3. Lipidlerin Q-TOF LC/MS; ESI-MS Analizi	31
4.4. Lipidler İçin Çok Değişkenli İstatistik Analizler;	33
5. TARTIŞMA	66

6. SONUÇ	77
7. KAYNAKLAR	79
8. ÖZGEÇMİŞ	91



ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Ükelere Göre TB Görülme Oranları (2018 Yılı)	4
Şekil 2.2. 2016-2020 Yılları Arasında DSÖ Tarafından Tanımlanan TB, TB/HIV ve MDR-TB İçin Yüksek Yük Taşıyan Ülkeler.....	5
Şekil 2.3. Türkiye’de Yıllara Göre TB İnsidansı, 2005-2016.....	5
Şekil 2.4. Verem Savaşı Dispanseri (VSD) Birimlerinde Yapılan Tanı Çalışmaları. 2005-2017	6
Şekil 2.5. Mikobakteri Hücre Duvarı Yapısı	8
Şekil 2.6. Depo ve Zar Lipitleri	17
Şekil 2.7. Lipidomiks Çalışmaların Genel Basamaklarının Gösterilmesi.....	22
Şekil 4.1. Ekstrakte Edilen Lipid Örneği	31
Şekil 4.2. Fosfor Standart Eğrisi	31
Şekil 4.3. Kontrol, Pozitif İyon Modu Spektrumu (m/z 100-1200).....	32
Şekil 4.4. TB Pozitif İyon Modu Spektrumu (m/z 100-1200)	32
Şekil 4.5. Kontrol Negatif İyon Modu Spektrumu (m/z 100-1000).....	32
Şekil 4.6. TB Negatif İyon Modu Spektrumu (m/z 100-0200).....	32
Şekil 4.7. TB Hastaları ve Kontrollerin Pozitif iyon Modu (a) Temel Bileşen Analizi (2D-PCA), (b) Kısmi En Küçük Kareler Diskriminant Analizi (2D-PLS-DA), (c) t-testi, (d) Kat Değişim (Fold change, FC) ve (e) Volcano Plot (VC) Grafikleri	34
Şekil 4.8. TB Hastaları ve Kontroller Arasında Değişen Lipid Türleri İçin VIP Skor Grafiği (Pozitif iyon modu) (p<0.05)	36
Şekil 4.9. TB hastaları ve Kontrollerin Negatif İyon Modu (a) Temel Bileşen Analizi (2D-PCA), (b) Kısmi En Küçük Kareler Diskriminant Analizi (2D-PLS-DA) (c) t-testi, (d) Kat Değişim (Fold change, FC) ve (e) Volcano Plot (VC) Grafikleri	39
Şekil 4.10. TB Hastaları ve Kontroller Arasında Değişen Lipid Türleri İçin VIP Skor Grafiği (Negatif iyon modu) (p<0.05).....	42

Şekil 4.11. Bir Aylık Tedavi Sürecini Tamamlayan TB Hastaları ve Kontrollerin Pozitif İyon Modu (a) Temel Bileşen Analizi (2D-PCA), (b) Kısmi En Küçük Kareler Diskriminant Analizi (2D-PLS-DA) (c) t-testi, (d) Kat Değişim (Fold change, FC) ve (e) Volcano Plot (VC) Grafikleri.....	47
Şekil 4.12. Bir Aylık Tedavi Sürecini Tamamlayan TB Hastaları ve Kontrollerin Negatif İyon Modu (a) Temel Bileşen Analizi (2D-PCA), (b) Kısmi En Küçük Kareler Diskriminant Analizi (2D-PLS-DA) (c) t-testi, (d) Kat Değişim (Fold change, FC) ve (e) Volcano Plot (VC) Grafikleri.....	48
Şekil 4.13. Bir Aylık Tedavi Sürecini Tamamlayan TB Hastaları ve Kontroller Arasında Anlamlı Olarak Değişen ($p<0.05$) Lipid Türleri İçin VIP Skor Grafiği, Pozitif İyon Modu	49
Şekil 4.14. Bir Aylık Tedavi Sürecini Tamamlayan TB Hastaları ve Kontroller Arasında Anlamlı Olarak Değişen ($p<0.05$) Lipid Türleri İçin VIP Skor Grafiği Negatif İyon Modu	51
Şekil 4.15. İki Aylık Tedavi Sürecini Tamamlayan TB Hastaları ve Kontrollerin Pozitif İyon Modu (a) Temel Bileşen Analizi (2D-PCA), (b) Kısmi En Küçük Kareler Diskriminant Analizi (2D-PLS-DA) (c) t-testi, (d) Kat Değişim (Fold change, FC) ve (e) Volcano Plot (VC) Grafikleri.....	52
Şekil 4.16. İki Aylık Tedavi Sürecini Tamamlayan TB Hastaları ve Kontrollerin Negatif İyon Modu (a) Temel Bileşen Analizi (2D-PCA), (b) Kısmi En Küçük Kareler Diskriminant Analizi (2D-PLS-DA) (c) t-testi, (d) Kat Değişim (Fold change, FC) ve (e) Volcano Plot (VC) Grafikleri.....	53
Şekil 4.17. İki Aylık Tedavi Sürecini Tamamlayan TB Hastaları ve Kontroller Arasında Anlamlı Olarak Değişen ($p<0.05$) Lipid Türleri İçin VIP Skor Grafiği (a) Pozitif İyon Modu (b) Negatif İyon Modu	56

Şekil 4.18. Altı Aylık Tedavi Sürecini Tamamlayan TB Hastaları ve Kontrollerin Pozitif İyon Modu (a) Temel Bileşen Analizi (2D-PCA), (b) Kısmi En Küçük Kareler Diskriminant Analizi (2D-PLS-DA) (c) t-testi, (d) Kat Değişim (Fold change, FC) ve (e) Volcano Plot (VC) Grafikleri	57
Şekil 4.19. Altı Aylık Tedavi Sürecini Tamamlayan TB Hastaları ve Kontrollerin Negatif İyon Modu (a) Temel Bileşen Analizi (2D-PCA), (b) Kısmi En Küçük Kareler Diskriminant Analizi (2D-PLS-DA) (c) t-testi, (d) Kat Değişim (Fold change, FC) ve (e) Volcano Plot (VC) Grafikleri	58
Şekil 4.20. Altı Aylık Tedavi Sürecini Tamamlayan TB Hastaları ve Kontroller Arasında Anlamlı Olarak Değişen ($p<0.05$) Lipid Türleri İçin VIP Skor Grafiği (a) Pozitif İyon Modu (b) Negatif İyon Modu	60
Şekil 4.21. Yedi Aylık Tedavi Sürecini Tamamlayan TB Hastaları ve Kontrollerin Pozitif İyon Modu (a) Temel Bileşen Analizi (2D-PCA), (b) Kısmi En Küçük Kareler Diskriminant Analizi (2D-PLS-DA) (c) t-testi, (d) Kat Değişim (Fold change, FC) ve (e) Volcano Plot (VC) Grafikleri	61
Şekil 4.22. Yedi Aylık Tedavi Sürecini Tamamlayan TB hastaları ve Kontrollerin Negatif İyon Modu (a) Temel Bileşen Analizi (2D-PCA), (b) Kısmi En Küçük Kareler Diskriminant Analizi (2D-PLS-DA) (c) t-testi, (d) Kat Değişim (Fold change, FC) ve (e) Volcano Plot (VC) Grafikleri	62
Şekil 4.23. Yedi Aylık Tedavi Sürecini Tamamlayan TB Hastaları ve Kontroller Arasında Anlamlı Olarak Değişen ($p<0.05$) Lipid Türleri İçin VIP Skor Grafiği (a) Pozitif İyon Modu (b) Negatif İyon Modu	64

TABLolar DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. İnsanda Hastalığa Neden Olan Mikobakteri Türlerinin Sınıflandırılması	7
Tablo 2.2. Tüberküloz Tedavi Rejimleri.....	16
Tablo 3.1. TB hastaları ve Kontrollerin Demografik Özellikleri	29
Tablo 4.1. TB Hastaları ve Kontroller Arasında Değişen Lipid Türleri ve Sınıfları (Pozitif İyon Modu; $p<0.05$)	35
Tablo 4.2. TB Hastaları ve Kontrollerin Pozitif İyon Modu Lipid Profil Değişimi [M+H] ⁺	37
Tablo 4.3. TB Hastaları ve Kontroller Arasında Değişen Lipid Türleri ve Sınıfları (Negatif İyon Modu; $p<0.05$)	40
Tablo 4.4. TB Hastaları ve Kontrollerin Negatif İyon Modu Lipid Profil Değişimi [M-H] ⁻	42
Tablo 4.5. TB Hastaları ve Kontroller Arasında Artış ve Azalış Gözlenen Lipid Türleri ($p<0.05$)	46
Tablo 4.6. Bir Aylık Tedavi Sürecini Tamamlayan TB Hastaları ve Kontroller Arasında Değişen Lipid Türleri ve Sınıfları (Pozitif iyon modu; $p<0.05$)	49
Tablo 4.7. Bir Aylık Tedavi Sürecini Tamamlayan TB Hastaları ve Kontroller Arasında Değişen Lipid Türleri ve Sınıfları (Negatif iyon modu; $p<0.05$)	50
Tablo 4.8. İki Aylık Tedavi Sürecini Tamamlayan TB Hastaları ve Kontroller Arasında Değişen Lipid Türleri ve Sınıfları (Pozitif iyon modu; $p<0.05$)	54
Tablo 4.9. İki Aylık Tedavi Sürecini Tamamlayan TB Hastaları ve Kontroller Arasında Değişen Lipid Türleri ve Sınıfları (Negatif iyon modu; $p<0.05$)	55

Tablo 4.10. Altı Aylık Tedavi Sürecini Tamamlayan TB Hastaları ve Kontroller Arasında Değişen Lipid Türleri ve Sınıfları (Pozitif iyon modu; $p<0.05$)	59
Tablo 4.11. Altı Aylık Tedavi Sürecini Tamamlayan TB Hastaları ve Kontroller Arasında Değişen Lipid Türleri ve Sınıfları (Negatif iyon modu; $p<0.05$)	59
Tablo 4.12. Yedi Aylık Tedavi Sürecini Tamamlayan TB Hastaları ve Kontroller Arasında Değişen Lipid Türleri ve Sınıfları (Pozitif iyon modu; $p<0.05$)	63
Tablo 4.13. Yedi Aylık Tedavi Sürecini Tamamlayan TB Hastaları ve Kontroller Arasında Değişen Lipid Türleri ve Sınıfları (Negatif iyon modu; $p<0.05$)	63
Tablo 4.14. Bir, İki, Altı ve Yedi Ay Tedavi Süreçlerini Tamalayan TB Hastaları ve Kontroller Arasında Değişen Lipid Türleri	65

KISALTMALAR/SİMGELER DİZİNİ

TB	Tüberküloz
<i>Mtb</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
ARB	Aside Dirençli Basil
HIV	İnsan Bağışıklık Yetmezliği Virüsü
AIDS	Edinsel Bağışıklık Yetmezliği Sendromu
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
MDR	Çoklu İlaç Dirençli Tüberküloz
RR-TB	Rifampisine Dirençli Tüberküloz
VSD	Verem Savaşı Dispanseri
TDM	Tüberküloz Dışı Mikobakteriler
CMI	Hücre Aracılı Bağışıklık
TNF	Tümör Nekroz Faktörü
TDT	Tüberkülin Deri Testi
AD-TB	Akciğer Dışı Tüberküloz
DGT	Doğrudan Gözetimli Tedavi
H	İzoniyazid
R	Rifampisin
Z	Pirazinamid
E	Etambutol
AMK	Amikasin
KAN	Kanamisin
KAP	Kapreomisin
S	Streptomisin
ETH	Etyonamid
PAS	Para-Amino Salisilik Asit
CYC	Sikloserin
TRD	Terizidon
OFL	Ofloksasin
LEV	Levofloksasin
MOKS	Moksifloksasin

KLF	Klofazimin
THI	Thiasetazon
LNZ	Linezolid
NAD	Nikotinamid Adenin Dinükleotid
BOS	Beyin Omurilik Sıvısı
MAC	<i>Mycobacterium avium</i> kompleks
LTA	Lipoteikoik asit
LPS	Lipopolisakkarit
LAM	Lipoarabinomannan
Gro-P	Gliserolfosfat
KDO	3-Deoksi- α -D-Manno-Octulosonik Asit
MPI	Mannosil-Fosfatidil-Myo-İnositol
MS	Kütle Spektrometresi
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans Spektrofotometresi
LSI	Lipidomics Standards Initiative
HDL	Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
LC-MS	Sıvı Kromatografi Kütle Spektrometresi
ESI / MS	Elektrosprey İyonizasyon Kütle Spektrometrisi
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
TAG	Triaçilgliserol
PIMs	Fosfatidil-Myo-İnositol Mannosid
PDIM	Phthiocerol Dimycocerosates
PCA	Esas Bileşen Analizi
PLS-DA	Kısmi En Küçük Kareler Diskriminant Analizi
PS	Fosfatidilserin
lysoPS	Lizofosfatidilserin
PE	Fosfatidiletanol
lysoPE	Lizofosfatidiletanol
pETN	Fosfoetanolamin
L-Ara4N	4-amino-L-arabinoz
PPARs	Peroksizom Proliferatör Aktive Reseptör
LD	Lipit Damlacık

MA	Mikolik Asitler
TMAP_s	Toplam Mikolik Asit Piki
T2D	Tip-2 Diyabet
Ac1PIM1	Açilfosfatidilinositolmannosid
AMR	Antimikrobiyal direnç
Q-TOF-LC/MS	Kuadropol Uçuş Zamanlı Sıvı Kütle Spektrometresi
GP	Gliserofosfolipid
GL	Gliserolipid
FA	Yağ Asidi
SP	Sfingolipid
ST	Sterol Lipid
PR	Prenol Lipid

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Tüberküloz (TB), *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*) denilen bir basille oluşan ve tedavi edilmezse ölümlerle de sonlanabilen, bulaşıcı bir hastalık olup insandan insana havayolu ile bulaşmaktadır. Tüberküloz hastalığının tam tedavisi için, bu hastalığın görüldüğü yaş grupları, sık rastlandığı bölgeler, hastaların sosyoekonomik durumları gibi epidemiyolojik özelliklerin iyi bilinmesi gerekmektedir. 2018 yılında dünya genelinde yaklaşık 1.5 milyon insanın yaşamını yitirmesine neden olan TB hastalığının görülme oranı son yıllarda azalmış olmakla birlikte, ülkemiz gibi gelişmekte olan ülkelerde halen ölümlere, iş gücü ve ekonomik kayıplara sebep olmasından dolayı önemli bir halk sağlığı sorunu olarak yerini korumaktadır.

Lipidler hücre ve doku fizyolojisinde birçok hücresel sürecin kontrolünde önemli görevler almaktadırlar. Lipid metabolizmasının düzenlenmesi, sağlığın korunması için gereklidir; bu nedenle bu sistemin düzenlenmesinin veya bu düzenlemenin bozulmasının, nörodejeneratif hastalıklar, diyabet, obezite, kardiyovasküler hastalıklar, kanser ve bulaşıcı hastalıklar gibi birçok hastalığa yol açtığı bilinmektedir. Dolayısıyla lipidlerin büyük ölçeklerde toplu olarak karakterize edilmeleri veya “*lipidomics*”, sağlık araştırmalarında yüksek öneme sahiptir. *Lipidomics*, normal ve patolojik durumlarda, biyolojik sistemlerdeki lipidlerin belirlenmesi, miktarının ölçülmesi ve aynı zamanda bu lipid türleriyle bağlantılı enzim ve gen ekspresyonları ile ilgili çalışmalarını da içeren bir bilim dalıdır.

Biyobelirteçler, normal veya patojenik bir süreçte ölçülebilen, terapötik bir müdahaleye veya aşlamaya farmakolojik bir tepki gösteren özel yapılardır. Böylece hastalık durumu, progresyon riski, tedaviye veya ilaç toksisitesine cevap verme olasılığı ve aşılama sonrası koruyucu bağışıklık hakkında bilgi sağlamaktadırlar. Hastalığa özgü lipid biyolojik belirteçlerinin keşfedilmesi ve tanımlanması, sağlıklı bireylerle spesifik bir hastalık için risk altındaki kişilerin ayırt edilmesine olanak sağlamaktadır. Böylece, klinisyenler hastalıkları daha erken teşhis edebilmektedirler. Klinik lipidomik, hücrelerde, biyopsi veya vücut sıvı örneklerinde bulunan tüm lipid molekül profillerinin elde edilmesi ile metabolizma yollarını ve ağlarını incelemek için yeni bir lipidomik alan

oluşturmaktadır. Klinik lipidomik çalışmalar, hastalık biyobelirteçlerinin tanımlanması ve geliştirilmesinde, sinyal iletiminde, metabolik süreçlerin ve moleküler mekanizmaların araştırılmasında ve ilaç hedeflerine ilişkin çalışmalarda önemli faydalar sağlamaktadır. TB hastalığı dünyada çok fazla ölüme sebep olup, tedavisi ve teşhisi için ilaç geliştirilmesi amacıyla ülkelerin hala çok büyük yatırımlar yaptığı hastalıklardan birisidir. TB hastalığı için biyobelirteç belirlenmesi, tüberküloz tedavisinde fayda sağlayabilecek yeni seçeneklerin geliştirilmesinde önemlidir.

Çalışmamızda hedeflenmemiş lipidomik yöntem kullanılarak TB hastalarının tüm lipid profilleri değerlendirilmiştir. Hedeflenmemiş lipidomik yöntemin hedefli lipidomik yöntemle göre avantajı, hastalıkla ilgili olarak değişebilecek olan tüm lipid türlerinin taranmasına olanak sağlamasıdır. Bu bakış açısından yola çıkarak çalışmada ilk olarak; TB hastalarından ve sağlıklı bireylerden alınan kan örneklerindeki lipid türleri hedeflenmemiş lipidomik yöntemle karşılaştırılarak, TB hastaları ile sağlıklı bireyler arasında spesifik olarak değişen lipid türlerinin belirlenmesi ve bu lipidlerin biyobelirteç olarak önerilmesi amaçlanmıştır. Çalışmanın diğer amacı ise, hedeflenmemiş lipidomik yöntem kullanılarak, TB hastalarından tedavileri süresince alınan kan örneklerindeki lipid türlerinin sağlıklı bireylerin lipid türleri ile karşılaştırılması sonucunda, tedavi süresince değişen lipid türlerinin araştırılmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

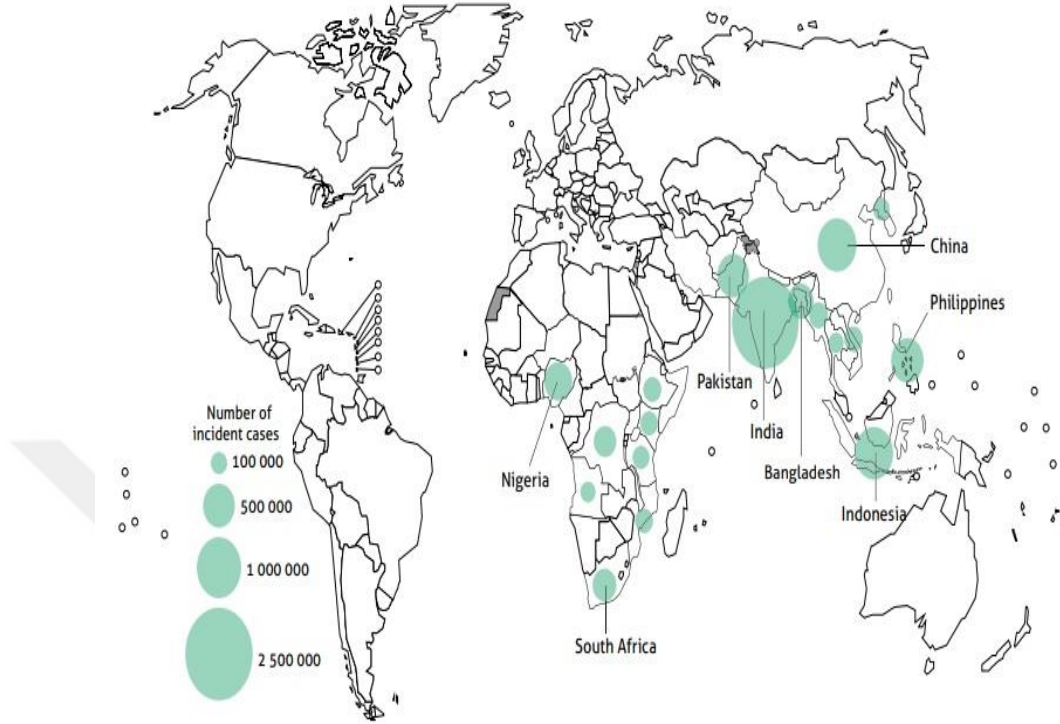
2.1. Tüberküloz

TB, eski çağlardan beri varlığını sürdüren ve dünyada hala ciddi bir sağlık sorunu olmaya devam eden enfeksiyon hastalıklardan birisidir. Başta akciğer olmak üzere tüm organlarda ortaya çıkabilen ve tedavi edilmezse ölümlerle sonuçlanabilen bir hastalıktır [1]. TB'nin tarihi hakkındaki en eski bilgiler, basil DNA'sının milattan önce 3000 yıllarında yaşamış olan bir genç kızın mumyasından PCR yöntemi kullanılarak tespit edilmesiyle elde edilmiştir [2]. Milattan önce Nil Nehri vadisinde iki büyük epidemic, milattan sonra ise Kuzey Amerika ve Avrupa'da salgınlar görülmüştür [2]. TB basili ilk kez Robert Koch tarafından 1882 yılında tanımlanmıştır. Koch, akciğerdeki bir lezyondan basili olarak kültürde çoğaltmış ve tekrar deney hayvanlarında hastalık oluşmasını sağlamıştır. Keşfettiği bu basile de *Mycobacterium tuberculosis (Mtb)* adını vermiştir [3]. *Mtb* bulaşmasında en önemli etken balgam mikroskopisi pozitif olan ve aside dirençli basil (ARB) pozitif olan hastalardır. Hasta olan kişi ile temas süresinin artması hastalığın bulaşma riskini artırmakta olup, başta aile bireyleri olmak üzere ev/iş arkadaşları, ortak paylaşım alanlarında yaşayanlar bulaşma riskini artırmaktadır [4].

TB, 2018 yılında dünya genelinde en çok ölüme sebep olan hastalıklar arasında onuncu sırada yer almış olup 10 milyon yeni TB vakası tespit edilmiştir [5]. 2018 yılında TB hastalığına bağlı olarak, HIV negatif 1.2 milyon, HIV pozitif 251 000 (toplam HIV/AIDS ölümlerinin % 33'üne karşılık gelmektedir) olmak üzere toplamda yaklaşık 1.5 milyon insan yaşamını yitirmiştir [5]. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'ne göre 2018 yılında teşhis edilen toplam tüberküloz vakalarının % 57'si on beş yaş üstü yetişkin erkeklerde görülürken, % 32'si kadınlarda ve %11'i ise on beş yaş altındaki çocuklarda görülmüştür [5].

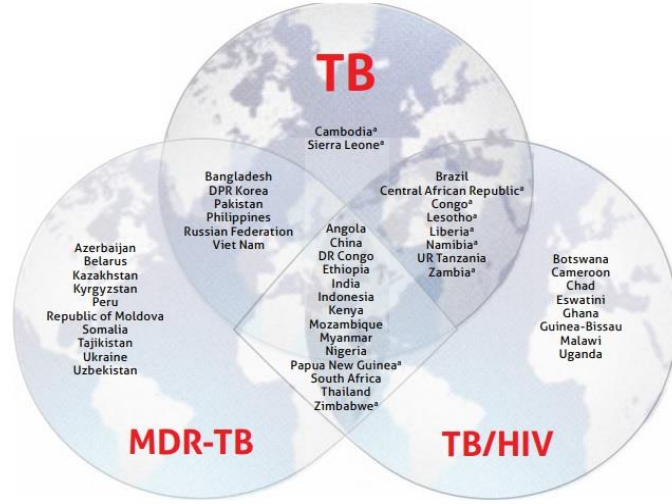
2018 yılında teşhis edilen TB vakalarının dünya genelinde bölgelere göre dağılımının; Güney-Doğu Asya (% 44), Afrika (%24), Batı Pasifik (% 18), Doğu Akdeniz (% 8), Amerika (% 3) ve Avrupa (% 3) olarak bildirilmiştir. Tüberküloz vakalarının üçte ikisinin; % 27 Hindistan, % 9 Çin, % 8 Endonezya, % 6 Filipinler, % 6 Pakistan, % 4 Nijerya, % 4 Bangladeş ve % 3 Güney Afrika olmak üzere başlıca sekiz ülkede yoğunlaştığı ve diğer yüksek

TB yükü olan ülkelerle birlikte dünyadaki toplam TB vakalarının % 87'sini oluşturdıkları bildirilmiştir (Şekil 2.1.) [5].



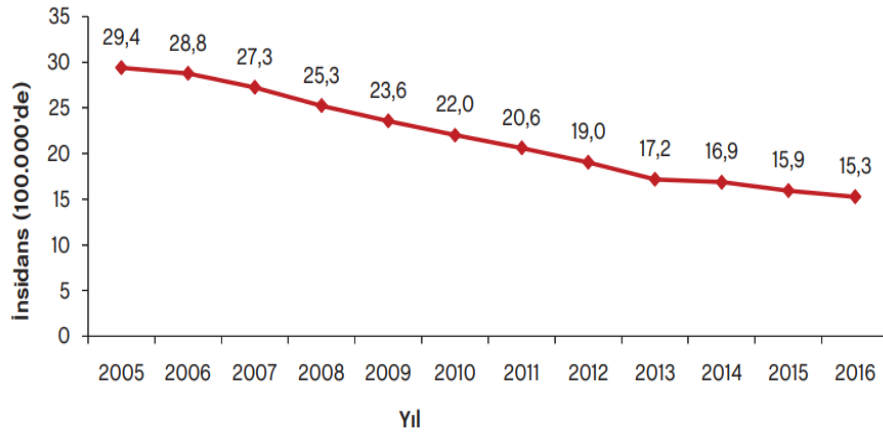
Şekil 2.1. Ülkelere Göre TB Görülme Oranları (2018 Yılı) [5].

TB tedavisinde en büyük problemlerden birisi ilaca karşı direnç gelişmesidir. Bu nedenle, ilaca dirençli TB halk sağlığı tehdidi olmaya devam etmektedir. 2018 yılında dünya genelinde yaklaşık 500 000 rifampisine dirençli yeni vaka tespit edilmiş ve bu vakaların % 78'inde çoklu ilaç-direnci bulunduğu bildirilmiştir. Hindistan (% 27), Çin (%14) ve Rusya Federasyonu (% 9)'nun ilaca karşı dirençli TB vakalarında küresel yükü oluşturan başlıca ülkeler oldukları bildirilmiştir [5]. Küresel olarak, yeni TB vakalarının % 3.4'ünün ve daha önce tedavi edilen ve çoklu- ilaca dirençli TB veya rifampisine dirençli TB (MDR/RR-TB) vakaların % 18'inin en yüksek oranlarda eski Sovyetler Birliği ülkelerinde görüldüğü rapor edilmiştir (Şekil 2.2.) [5]. 2000 yılından 2017 yılına kadar TB kaynaklı ölüm sayısında, HIV negatif ve HIV pozitif vakalardaki düşüşler sırasıyla % 29 ve % 44 olarak bildirilmiştir. Küresel olarak, TB insidansındaki ortalama düşüşün 2000-2018 döneminde yılda % 1.6 ve 2017-2018 arasında % 2.0 olduğu bildirilmiştir [5].

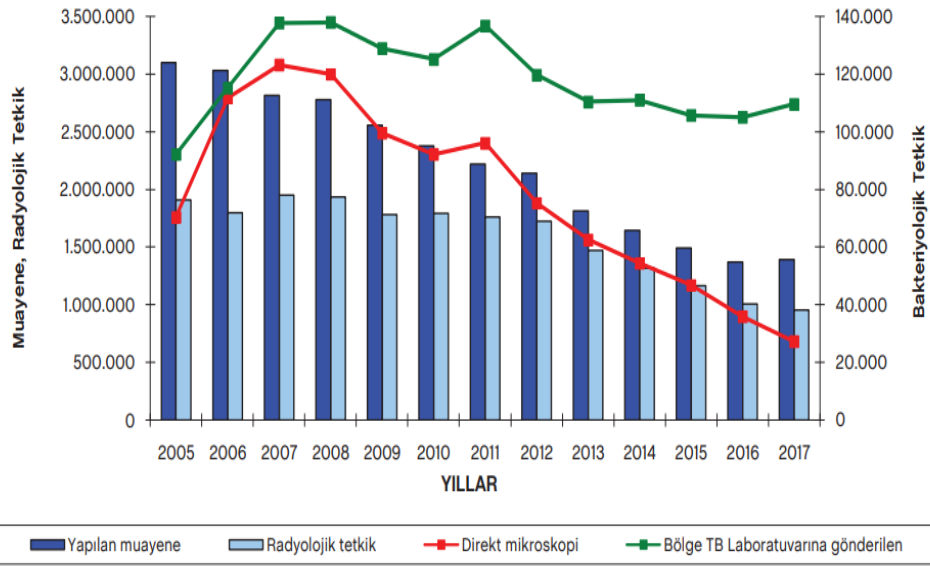


Şekil 2.2. 2016-2020 Yılları Arasında DSÖ Tarafından Tanımlanan TB, TB/HIV ve MDR-TB İçin Yüksek Yük Taşıyan Ülkeler [5].

Türkiye’de 2005-2016 yılları arasında TB insidansı yüzbinde 29.4’ten 15.3’e düşmüştür (Şekil 2.3.). Türkiye’de 2016 ve 2017 yılında TB görülme oranı yüz binde 14 olarak hesaplanmıştır. Bu hastaların % 0.1’ini HIV pozitif ve % 0.6’sını çoklu ilaca dirençli tüberküloz hastaları oluşturmaktadır. 2016 yılında 12.417 TB hasta bildirim yapılmışken 2017 yılında 12.046 hasta bildirim yapılmıştır. 2016 ve 2017 yılları için, toplam hasta sayısının % 66’sı akciğer TB olarak tespit edilmiş ve akciğer TB’lerin % 79’unun tanısı bakteriyolojik doğrulama ile konulmuştur (Şekil 2.4.). Ülkemizde, 2017 yılında teşhis konulan hastaların % 3.3’ü (2016 yılı için % 2.9’u) MDR hastalardır. Bu hastaların % 14’ünü (2016 yılı için % 16’sı) nüks MDR olan hastalar oluşturmaktadır. 2016 yılı ölüm hızı yüz binde 0.5 olarak görülmüştür [5].



Şekil 2.3. Türkiye’de Yıllara Göre TB İnsidansı, 2005-2016 [6]



Şekil 2.4. Verem Savaş Dispanseri (VSD) Birimlerinde Yapılan Tanı Çalışmaları, 2005-2017 [6]

2018 yılında 11576 hasta bildirim yapılmış ve toplam hasta sayısının % 65'i akciğer TB olarak tespit edilerek, akciğer TB'lerin % 78'inin tanısı bakteriyojik doğrulama ile konulmuştur. 2018 yılındaki TB vakalarının % 6'sının 0-14 yaş arası çocuk, % 40'ının kadın ve % 54'ünün erkek olduğu bildirilmiştir [5]. Ülkemizde, 2018 yılında teşhis konulan hastaların % 3.5'i MDR hastalardır. Bu hastaların % 12'ünü nüks MDR olan hastalar oluşturmaktadır. 2018 yılı ölüm hızı binde 0.42 olarak görülmüştür [5].

2.2. Tüberkülozun Etkenleri

Mtb bir tüberküloz kompleksi üyesidir. Bu kompleksin diğer üyeleri *M. africanum*, *M. bovis*, *M. microti*'dir. Taksonomik analizlerle beraber moleküler düzeyde ve DNA üzerinde yapılan çalışmalar kompleksteki üyelerin tek bir türden oluştuğunu göstermektedir [7].

Tüberküloz dışı mikobakteriler (TDM), 50 yılı aşkın bir süredir akciğer enfeksiyonu etkeni olarak kabul edilen organizmalar olup çevremizde çok yaygın olarak bulunmaktadır. TDM'in sebep olduğu enfeksiyon, kaviter bir hastalık olarak gözlemlenmekte ve akciğerin üst loblarında görülmektedir. Başarılı bir tedavi için 12-24 ay boyunca kombine antibiyotik tedavisi gerekmektedir (**Tablo 2.1.**) [8].

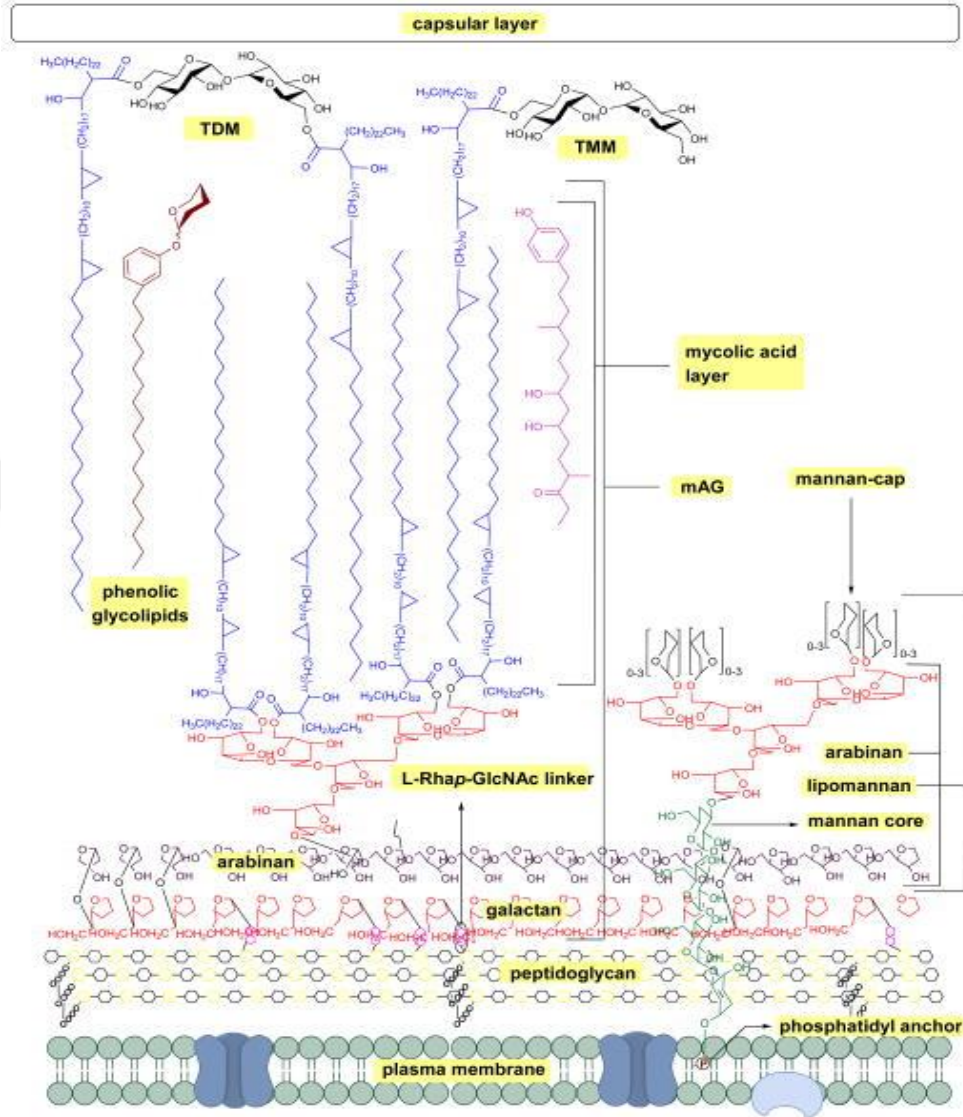
Tablo 2.1. İnsanda Hastalığa Neden Olan Mikobakteri Türlerinin Sınıflandırılması [8]

I.	II. Yavaş Üreyen Mikobakteriler			III.	
<i>Mycobacterium tuberculosis complex</i>	A. Photochromogens	B. Scotochromogens	C. Non-chromogens	Hızlı Mikobakteriler	Üreyen Mikobakteriler
<i>M. tuberculosis</i>	<i>M. kansasii</i>	<i>M. goodii</i>	<i>M. avium complex- M. avium, M. intracellulare</i>	<i>M. fortuitum</i>	
<i>M. bovis</i>	<i>M. marinum</i>	<i>M. scrofulaceum</i>	<i>M. terrae complex</i>	<i>M. chelonae</i>	
<i>M. africanum</i>			<i>M. ulcerans</i>	<i>M. abscessus</i>	
<i>M. microti</i>			<i>M. xenopi</i>		
			<i>M. simiae</i>		
			<i>M. malmoense</i>		
			<i>M. szulgai</i>		
			<i>M. asiaticum</i>		

Mikobakteri hücre duvarı bu organizma için ayırt edici özelliktedir. Hücre duvarı; hücre zarına bağlı lipopolisakkarit, lipoarabinomannan ve peptidoglikan, arabinogalaktan ve mikolik asiti içeren makromoleküllerin kovalent bağlanmasıyla oluşmaktadır [9]. Hücre duvarının ilk bölümünde peptidoglikan, arabinogalaktanın kovalent olarak bağlanması ve bu yapıya mikolik asitin eklenmesiyle oluşan yapı bulunmaktadır. İkinci bölümde alfa zincirlere bağlı uzun ve kısa zincirli yağ asitleri bulunmaktadır. Bu iki yapı içerisinde dağınık şekilde proteinler, fosfatidilinositol mannosidler, phthiocerol içeren lipitler, lipomannan ve lipoarabinomannan bulunmaktadır [10]. Mikobakteriler için kullanılan ilaçların çoğu peptidoglikan, arabinogalaktan ve mikolik asit kompleksini hedef almaktadır [11]. Mikolik asit glikolipitleri ve trehaloz dimikolat, ‘‘Kord Faktörü’’nü’’ oluşturmaktadır (Şekil 2.5.) [12].

Mikobakteri hücre duvarında bol miktarda lipid bulundurması bakteriye kendine özgü boyama özelliği kazandırmaktadır. Gram boyama ile gram pozitif olarak boyanırlar. Mikolik asit yapısından dolayı ‘‘Ziehl-Neelsen’’ veya ‘‘Kinyoun’’ gibi yöntemlerle boyandıktan sonra, asit alkol ile boyayı tekrar bırakmazlar [13]. Mikroskopi ile mikobakteri saptamak kültüre göre daha az duyarlı olmasına rağmen bakterinin varlığını teşhis etmek için en hızlı ve kolay yöntemdir. Kültürde mikobakteri varlığının saptanması için mililitrede 10-100 canlı basil gerekirken mikroskopide bu sayı 5000-10.000’e çıkmaktadır [14].

Mikobakterilerin mikroskop ile saptanması, *Mtb*'yi tüberküloz dışı mikobakterilerden ayırt etmemektedir [14].



Şekil 2.5. Mikobakteri Hücre Duvarı Yapısı [15]

Hastalığın kesin tanısı için mikobakterilerin kültür ortamında üretilmesi gerekmektedir. Mikobakterilerin izole edilip çoğalmasını sağlamak için, bakterinin hızlı ve bol üremesini sağlaması, maliyetinin ucuz olması, pigment ve kolonileşme takibinin kolay olması bakımından Lowenstein-Jensen yumurta bazlı besiyeri kullanılmaktadır [14]. Kültürler 8 hafta boyunca 37°C’de inkübe edilerek besiyerinde üreme olup olmadığı kontrol edilmektedir [14].

Tüberküloz basilleri akciğere damlacıklar halinde taşındıktan sonra enfeksiyon oluşturmaktadırlar. Hasta birey bu enfeksiyonu ortadan kaldıramazsa alveoller içerisinde bulunan basiller makrofajlar içinde çoğalarak başka dokulara göç etmekte ve orada enfeksiyon oluşturabilmektedirler. Akciğerde bulunan makrofajlar, sitokinler ve kemokinler üreterek, fagositik hücreleri çekerler ve burada tüberkül adı verilen nodüler gramulatöz yapı oluştururlar. Tüberküller lenf düğümlerine girerek lenfadenopatiye yol açabilmektedirler. Akciğer parankimi ve lenf nodu tutulumu ile oluşan lezyona Ghon kompleksi adı verilmektedir [12]. İlk enfeksiyonda basil 2 ile 10 hafta arasında hücre aracılı immün (CMI) cevabı gelişene kadar çoğalmaya devam etmektedir. Akciğerde etkili bir CMI yanıtı olmazsa, "Tümör Nekroz Faktörü (TNF)" tarafından akciğer dokusunda kazeöz nekrozlar oluşturulmaktadır [12].

Göğüs radyografileri fazla özgün olmamakla birlikte tüberküloz teşhisinde klinik karar vermede oldukça önemli rol oynamaktadır [16]. Hiler veya mediastinal lenfadenopatiler ve parankim hasarının görülmesi akciğer tüberkülozu tanısında yardımcı bulgulardır [17]. Tüberküloz teşhisinde bir diğer yöntem "Tüberkülin Deri Testi (TDT)"dir. *Mtb*'den saflaştırılarak elde edilen protein türevi, ön kol cilt altına enjekte edilmekte ve 48 ila 72 saat sonra deride meydana gelen kızarıklık ve şişmenin milimetre olarak ölçülmesiyle değerlendirilmektedir. Bu testin uygulanmasının, ölçülmesinin ve değerlendirilmesinin; eğitilmiş bir sağlık personeli tarafından yapılması gerekmektedir [18].

HIV ile enfekte hastalarda sıklıkla görülen fırsatçı enfeksiyon hastalıklarının başında TB gelmektedir. TB, HIV enfeksiyonunun herhangi bir döneminde gelişebildiği gibi çoğunlukla HIV enfeksiyonu ile aynı anda saptanmaktadır. HIV, enfeksiyonun seyrini hızlandırarak AIDS hastalığının ortaya çıkmasına sebep olmaktadır [19].

Akciğer dışı tüberküloz (AD-TB), ülkemizdeki tüberküloz hastalarının yaklaşık % 35,6'sında görülmektedir. Plevra tüberkülozu hariç AD-TB kadınlarda daha sık görülmektedir. AD-TB'nin tutulan organlara göre dağılımı: plevra TB (% 24,8), toraks dışı lenfadenit TB (% 30.2), periton/gastrointestinal sistem TB (%

5.8), genitoüriner TB (% 3.7), toraks içi lenfadenit TB (% 11.7), omurga dışı kemik-eklem TB (% 1.9), omurga kemik- eklem TB (% 4.7), miliyer TB (% 2.6), menenjit TB (% 2,9), santral sinir sistemi TB (% 0.4) ve diğer organların tüberkülozu (% 11.4) olarak bildirilmiştir [4, 20].

2.3. Tüberküloz Tedavisi

Antitüberküloz ilaçları ile tedavi tamamen sağlanabildiği halde tedavi önündeki en büyük engel tedaviye tam uymamaktır. Bu uyumsuzluk sonucunda enfeksiyonun yayılması ve ilaç direnci gelişimi görülebilmektedir. Tedavi uyumundaki sorunlar; tedavi süresinin uzun olması (altı ay veya daha uzun sürmesi), hastanın fiziksel veya zihinsel engelli olması, bağımlılık yapan madde kullanması vb., sebeplerdir. Tedavide başarıyı artırmak için sağlık kuruluşları tarafından doğrudan gözetimli tedavi (DGT) uygulanmaktadır. Hastanın ilacı bir sağlık görevlisi gözetiminde içirilerek tedavinin sürekliliği sağlanmaktadır [21].

Tedavi rejimleri başlangıç dönemi ve idame dönemi olmak üzere iki dönem üzerinden ele alınmaktadır. Bu dönemde kullanılacak ilacın süresi hastalık tanımına göre belirlenmektedir. Başlangıç döneminde hastalara dörtlü ilaç tedavisi uygulanmaktadır. Buradaki amaç, aktif ve hızlı çoğalan TB basillerini etkisiz hale getirmektir. Bu dönemde herhangi bir sebeple tedavinin bırakılması veya aksatılması durumunda ilaç direnci gelişmesi olasılığı yüksektir. İdame dönemi sterilizasyon dönemi olup sessiz haldeki TB basilleri temizlenmektedir. İdame dönemindeki tedavi terk durumunda nüks görülebilmektedir [4].

2.4. Tüberküloz Tedavisinde Kullanılan İlaçlar

Tüberküloz tedavisinde kullanılan ilaçlar başlıca iki grupta toplanmaktadır. Aktif tüberküloz tedavisinde nispeten daha az toksisite düzeyine sahip ve daha etkili olan İzonyazid (H), Rifampisin (R), Pirazinamid (Z) ve Etambutol (E) birinci sıra (birinci basamak) ilaçları kullanılmaktadır. Birinci sıra ilaçlara direnç gelişmesi sonucu, Amikasin (AMK), Kanamisin (KAN), Kapreomisin (KAP), Streptomisin (S), Etyonamid (ETH), Para-amino salisilik asit (PAS), Sikloserin (CYC), Terizidon (TRD), Ofloksasin (OFL), Levofloksasin (LEV),

Moksifloksasin (MOKS), Klofazimin (KLF), Thiasetazon (THI), Linezolid (LNZ) gibi ikinci sıra ilaçlar kullanılmaktadır [4, 22].

2.4.1. İzonyazid (H)

Tüberküloz tedavisinde birinci seri ilaçlar içerisinde kullanılan ve dormant (sessiz) basiller üzerine de etkili olan güçlü bir ilaçtır [23]. Etki mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte muhtemelen hücre duvarında bulunan mikolik asit sentezini inhibe etmektedir. Çoğalan basiller üzerinde kuvvetli bakterisidal etki gösterir. İzonyazid ayrıca DNA, lipit ve karbonhidrat metabolizmasını bozmakta ve nikotinamid adenin dinükleotid (NAD) sentezini engellemektedir. Mikolik asit üzerine etki ettiğinden mikobakteriler için oldukça seçicidir. Bu nedenle dar spektrumlu bir ilaçtır [4, 23]. Oral yolla alınan izonyazid sindirim sisteminde yaklaşık % 90 oranında emilmektedir. 30-120 dakika arasında serum konsantrasyonu maksimum düzeye ulaşmaktadır. Karaciğerde asetillenerek metabolize olmakta ve idrarla atılmaktadır [23]. İzonyazid için günlük doz 5 mg/kg ve maksimum 300 mg'dır. Karaciğer fonksiyon bozukluğu ve ilaca karşı aşırı duyarlılığı olan hastalarda ilaca ara verilebilir, karaciğer fonksiyon testleri ile gözlem yapılabilir [4].

2.4.2. Rifampisin (R)

Mikobakterilerin RNA Polimeraz enziminin β altbirimine bağlanarak RNA sentezini inhibe etmektedir. Bakteri RNA polimeraz β altbirimini şifreleyen gen olan *rpoB* genindeki mutasyonlara bağlı olarak ilaç direnci gelişmektedir [24, 25]. Çoğu tüberküloz suşuna karşı bakterisidal etki göstermekte olup ayrıca en kuvvetli steril edici ilaçtır. Latent (gizli) ve aktif tüberküloz tedavisinde kullanılan bir ilaçtır. Hücre içine girişi oldukça yüksek olduğundan hücre içindeki basiller için oldukça etkilidir. Hücre içi konsantrasyonu hücre dışı konsantrasyonundan beş kat fazladır [4, 24]. Oral olarak alınan rifampisin tamamina yakını emilerek, doku ve sıvılara dağılır ve beyin omurilik sıvısı (BOS) içerisine geçer. Besinlerle emilimi azaldığından yemekten en az yarım saat önce alınmalıdır. Günlük doz yetişkinlerde 10 mg/kg ve maksimum 600 mg'dır. İlacın serum konsantrasyonu 2-4 saat arasında maksimum seviyeye çıkmakta olup

yarılanma ömrü 3 saattir. Karaciğerde deasetilasyon ile metabolitleri oluşturulur. İlaça karşı aşırı duyarlılık gösteren ve karaciğer fonksiyon bozukluğu olan hastalarda dikkatli kullanılmalıdır. Tedavi sırasında uzun süren aralardan sonra yeniden tedaviye başlandığında böbrek yetmezliği, hemoliz ya da trombositopeni gibi immünolojik reaksiyonlar görülebilmektedir. Böyle durumlarda rifampisin bir daha verilmemek üzere hemen kesilmelidir [4, 24].

2.4.3. Pirazinamid (Z)

Zayıf bakterisidal olmasına karşı çok kuvvetli steril edici aktiviteye sahip olan bir ilaçtır [4]. Kazeöz lezyonların asidik ortamlarında güçlü aktivite göstermektedir. Makrofajlar içerisinde bulunan dormant (uyuyan) ve semidormant basiller üzerine etkilidir [26]. Pirazinamid tedaviyi 9-12 aydan 6 aya düşüren benzersiz özellikte bir tüberküloz ilacıdır. Güçlü sterilizasyon aktivitesi ile diğer ilaçlar tarafından öldürülemeyen tüberküloz basillerini öldürme kapasitesi vardır. TB basillerinin oluşturduğu lezyonlardaki asidik ortamın iki ayın sonunda azalması sebebiyle altı aylık tüberküloz tedavisinin ilk iki ayında kullanılmaktadır. İki aydan fazla kullanılması ek fayda sağlamamaktadır. *pncA* geninde meydana gelen mutasyon ile PZase/nicotinamidase aktivitesini kaybederek pirezinamide karşı direç gelişmektedir [27]. İlaç oral yolla alındıktan sonra hızla dokulara ve vücut sıvılarına dağılır. Plazma konsatrasyonu 2 saat içinde maksimum seviyeye çıkmaktadır ve ilacın yarılanma ömrü 10 saattir. Karaciğerde metabolize olmakta ve idrar ile atılmaktadır. Günlük doz 25 mg/kg dır. Normal dozlarda mide bulantısı yapabilen bir ilaçtır [4, 26].

2.4.4. Etambutol (E)

Mycobacterium avium kompleksi (MAC) tedavisi de dahil olmak üzere tüberküloz tedavisinde kullanılan birinci sıra ilaçlar içerisinde yer almaktadır. Etki mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte arabinozil transferaz enzimini inhibe ederek bakteri hücre duvarındaki arabinogalaktan'ın sentezini engellediği düşünülmektedir [4, 28]. Tüberküloz basiline direnç 107:1 oranında rastgele genetik mutasyonla meydana gelmektedir. Bu mutasyon ile

etambutolun inhibe edemediği arabinosil transferaz enziminde artış görölmektedir [28]. Oral yolla alınan etambutolun yaklaşık % 80'i sindirim sisteminde emilmektedir. İlacın plazma konsantrasyonu 2-4 saat içinde maksimum seviyeye çıkmaktadır. Yarılanma ömrü 3-4 saat kadardır. % 20'si direk gaita ile atılırken, plazma içerisindeki ilaç direk idrarla değişmeden ve karaciğer metabolitleri olarak atılmaktadır. Etambutolda günlük doz 15 mg/kg'dır. Tedaviye başlamadan önce ve tedavi sırasında düzenli göz muayenesi önerilmekle beraber görme keskinliği ve renk algısı bozukluklarında ilaç hemen kesilmelidir [4, 28].

2.4.5. Amikasin (AMK), Kanamisin (KAN)

Tüberküloz tedavisinde birinci sıra antitüberküloz ilaçlarına direnç karşısında kullanılmaktadırlar. İkinci sıra ilaçlar arasında yer alan ve intramüsküler veya intravenöz enjekte edilen ilaçlardır. Bakteri ribozomu 30s alt birimine geri dönüşümsüz olarak bağlanarak protein sentezini inhibe etmektedirler. Bakterisidal etki göstermektedirler [4]. Streptomisine karşı dirençli olan tüberküloz suşlarının çoğu Amikasin ve Kanamisine duyarlıdır [26]. Günlük doz 15 mg/kg'dır. Hastalarda ilaç yan etkilerine bağlı işitme kaybı, bulantı kusma, proteinüri ve elektrolit dengesizliği yapabilmektedir [4, 26].

2.4.6. Kapreomisin (KAP)

Birinci sıra antitüberküloz ilaçlarına dirençli tüberküloz suşları için etkili ikinci sıra enjekte edilebilir ilaçtır. Bakterisidal etki göstermektedir. Günlük doz 15 mg/kg'dır. İnamüsküler veya intravenöz enjekte edilerek kullanılırlar. Yan etkilerinde proteinüri sık görölmektedir. Hastaların % 20-25'inde ilaç kullanımını sonlandıracak renal toksisite görölmektedir. Kapreomisin BOS'a geçmez. Hastalarda serum elektrolit dengesi takibi ve işitme kaybı testi yapılmalıdır [4, 26].

2.4.7. Streptomisin (S)

Streptomycin, *Streptomyces griseus* adlı mantardan elde edilen, aminoglikozitler grubunda bir antibiyotiktir. TB ve gram negatif basiller üzerinde etkili bir ilaçtır. Bakterisidal etki göstermektedir. Bakterinin 30s alt birimine bağlanarak protein sentezini inhibe etmektedir [4]. Günlük doz 15

mg/kg'dır. İntramüsküler veya intravenöz olarak kullanılabilir. Streptomisinde görülen en önemli yan etki işitme bozuklukları ve ototoksisitedir. Gebelikte plasentaya geçtiği ve fetüste işitme kaybına sebep olduğu için gebelikte kullanılmaz [4, 26].

2.4.8. Etyonamid (ETH)

İzolatin etyonamide duyarlı olduğu *in vitro* ortamda test edilmesi veya *in ha* geninde mutasyon olmadığı moleküler test ile tespiti halinde ilaca dirençli TB hastalarının tedavisinde kullanılmaktadır [22]. Bakteriostatik etki göstermekte ve mikolik asit sentezini inhibe etmektedir [4]. Günlük doz 15-20 mg/kg olup maksimum 1 gram kullanılmaktadır. ETH kullanımında görülen yan etkiler arasında ağızda metalik tat, bulantı ve kusma sık görülmektedir. İlaç kullanan hastaların % 2'sinde hepatoksisite ve nörotoksisite görülmektedir. Endokrin etki olarak jinekomasti, alopesi, hipotiroidi görülür. Plasentaya geçtiği için hamilikte kullanılmaz [4, 26].

2.4.9. Para-amino salisilik asit (PAS)

Bakteriostatik etkili ilaçtır. Folik asit yolağını bloke etmektedir [4]. TB tedavisinde etkinliği sınırlı ve kötü tolere edilen bir ilaçtır. Etyonamid ile kombinasyonunda hasta iki ilacı tolere edemediği için gastrointestinal yan etkiler ve hipotrodizm görülmektedir. Bu yüzden iki ilaç birlikte kullanılmamalıdır [22]. Oral yolla alınan ilaçta günlük doz 150 mg/kg (8-12 gram/gün)'dir. Anoreksi, diyare, hipotroidi, hepatoksisite görülen yan etkileridir. Hamilelikte kullanım için yeterli çalışma bulunmamaktadır [4, 26].

2.4.10. Sikloserin (CYC), Terizidon (TRD)

Bakteriyostatik etkili ilaçtır. Alanini alanil-alanin dipeptidine çeviren enzimi inhibe ederek etkisini göstermektedir [4]. Toksisitesi yüksek bir ilaçtır. Günlük 10-15 mg/kg ve maksimum doz 1 gram olacak şekilde kullanılmaktadır. Oral yoldan alınan bu ilaç, intihar girişimi dâhil nörolojik ve psikolojik yan etkiler gösterebilmektedir. H ve ETH ile beraber kullanıldığında nörotoksisite riski artmaktadır. Gebelikte kullanım ile ilgili yeterli veri bulunmamaktadır [4, 26].

2.4.11. Ofloksasin (OFL), Levofloksasin (LEV), Moksifloksasin (MOKS)

Florokinolon grubu antibiyotiklerdir [22, 26]. DNA giraz'ı inhibe ederek bakterisidal etki göstermektedirler. OFL için günlük doz 800 mg'dır. Bu doz oral yolla alınır ve ikiye bölünerek kullanılır. LEV için günlük tek doz halinde 500-1000 mg'dır. MOKS günlük dozu 400 mg'dır. Bu ilaçlar genellikle oral yolla alınır, ihtiyaç doğması halinde intravenöz alınabilir. Bu ilaçlar nadiren bulantı, kusma, iştahsızlık, baş ağrısı, sersemlik hissi, senkop ve nadiren tendon rüptürü, periferik nöropati gibi yan etkiler gösterebilir. İyi tolere edilen ilaçlardır. Gebelikte kullanılmaması gereken ilaçlardır [4, 22, 26].

2.4.12. Klofazimin (KLF)

Mikobakterial DNA'ya bağlanıp replikasyonu engelleyen bakteriyostatik etkili bir ilaçtır. Oral yolla alınan ilacın günlük dozu 100-300 mg'dır. KLF kullanımında ışığa karşı hassasiyet, cilt renginde pembeden kahverengi-siyaha varan renk değişikliği ve gastrointestinal yan etkiler görülmektedir. Rifampisinle kullanıldığında rifampisin absorpsiyonunu azaltabilmektedir. Gebelikte kullanılmaması gereken bir ilaçtır [4].

2.4.13. Thiasetazon (THI)

Tüberküloz basillerine karşı bakteriyostatik etkiye sahiptir. Toksikitesi yüksek olan bir ilaçtır [22]. Günlük doz oral yoldan 150 mg'dır. Bulantı, kusma, ciddi cilt reaksiyonları (Steven-Johnson sendromu) görülebilmektedir. Gebelikte kullanılmayan bir ilaçtır [4].

2.4.14. Linezolid (LNZ)

Oksazolidinon bir antibiyotiktir [4]. Kullanımında kemik iliği baskılanması, optik ve periferik nöropati, gastrointestinal yan etkiler görülebildiğinden ilacın kullanımı esnasında hasta yakından takip edilmelidir. Günlük doz oral yolla 600 mg'dır. Gebelikte kullanımı hakkında yeterli bilgi bulunmamaktadır [4, 22].

TB tedavi süresi belirlenirken hasta yeni olgu ise ilk iki ay dördümlü tedavi (H, R, Z, E) ve idame olarak 4 ay ikili tedavi (H, R) olmak üzere altı ay tedavi uygulanmaktadır. Tedaviyi terkten dönen ve nüks olgularda iki ay beşli tedavi

(H, R, Z, E, S) ve bir ay dörtlü tedavi (H, R, Z, E) olmak üzere üç ay başlangıç tedavisi ve 5 ay üçlü tedavi (H, R, E) olmak üzere sekiz ay tedavi uygulanmaktadır. Tedavi başarısızlığında ise hasta ikinci kuşak ilaçlarla tedavi edilen bir merkeze yönlendirilmektedir (**Tablo 2.2.**) [4].

Tablo 2.2. Tüberküloz Tedavi Rejimleri [4]

	Hastalık Tanımı	Başlangıç dönemi	İdame dönemi	Süre
1	Yeni hasta	2 ay (H, R, Z, E)	4 ay (H, R)	6 ay
2	Tedavi terk hasta	2 ay (H, R, Z, E, S)	5 ay (H, R, E)	8 ay
	Nüks hasta	1 ay (H, R, Z, E)		
3	Başarısız tedavi	İkinci kuşak ilaçlarla tedavi edilen bir merkeze yönlendirilir		

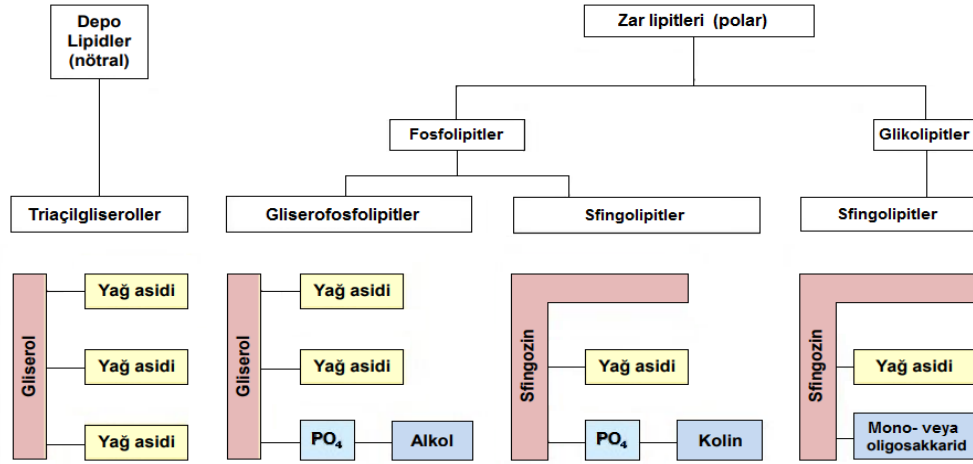
H: İzonyazid; R: Rifampisin; Z: Pirazinamid; E: Etambutol; S: Streptomisin

2.5. Lipidler

Lipitler organizmaların, başlıca enerji depo şeklini oluşturmaktadır [29]. Ayrıca lipitler hücre zarlarının temel yapı taşını oluşturmaktadırlar [30]. Lipitler hücre içi sinyal iletiminde ikincil haberciler, enzim kofaktörleri olarak ve hormonların yapısında da görev almaktadırlar. En basit yağlar triaçilgliserollerdir [29, 31]. Triaçilgliseroller bir gliserole üç yağ asidinin ester bağı ile bağlanmasıyla oluşmaktadır. Yağ asitleri hidrokarbon türevleri olup 4 - 36 karbon arasında uzunluğa sahip olabilmektedir. Karbonlar arasında çift bağ bulunmuyorsa doymuş yağ asidi olarak adlandırılmaktadır. Doymamış yağ asitlerinde bir veya daha fazla çift bağ bulunmaktadır. Karbon sayısına bağlı olarak yağ asitlerinin uzunluğu ve çift bağ sayısı, yağların sıvı veya katı olma durumunu belirlemektedir. 12 - 24 karbon sayısına kadar olan doymuş yağ asitleri oda ısısında katı iken doymamış yağ asitleri sıvı halde bulunmaktadırlar. Triaçilgliseroller omurgalılarda, adipoz dokudaki, adiposit hücrelerinde depo edilmektedirler [29]. Adiposit hücre içeriğinin % 90'dan fazlasını triaçilgliseroller oluşturmaktadır [32].

Lipitler, alt grupların kimyasal bileşime göre; yağ asitleri, gliserolipidler, gliserofosfolipidler, sfingolipidler, sakkarolipidler, poliketidler, prenil lipitleri

ve sterol lipitleri olmak üzere sekiz kategoriye ayrılmaktadır. LIPIDMAPS veri tabanı, bu sınıflandırmaya dayanarak 37.500'den fazla biyolojik lipidin yapısını içermektedir.



Şekil 2.6. Depo ve Zar Lipitleri [29].

Ökaryotik hücrelerde yapısal fosfolipitler sınıfı içerisinde gliserofosfolipitler ve sfingolipitler bulunmaktadır (**Şekil 2.6.**) [30]. İki yağ asidinin ester bağı ile gliserolün birinci ve ikinci karbon atomuna bağlanmasıyla gliserolipit oluşmaktadır. Üçüncü karbona fosfat bağlanmasıyla gliserol 3-fosfat adında fosfolipitlerin ana omurgası oluşmaktadır. Gliserole bağlanan yağ asitlerinin çeşitli olması ve fosfat grubuna çeşitli moleküllerin bağlanmasıyla çok sayıda molekül oluşturabilmektedirler. Fosfat grubunun hidrojen bağlanmasıyla fosfatidik asit, kolin ile fosfatidilkolin, serin ile fosfatidilserin, etanol ile fosfatidiletanolamin gibi gliserofosfolipitler oluşmaktadır [29].

Zar lipitleri içerisinde ikinci büyük fosfolipit sınıfı olan sfingolipitler, uzun bir amino alkol olan sfingozinin ikinci karbonunda bulunan NH₂'ye amid bağı ile yağ asidi bağlanması sonucu bütün sfingolipitlerin omurgası olan seramidi oluşturmaktadır. Seramide fosfokolin bağlanmasıyla sfingomiyelin oluşmaktadır (**Şekil 2.6.**) [29, 30]. Hayvan plazma zarında ve özellikle nöronların aksonlarında miyelin kılıfta çok miktarda sfingomiyelin bulunmaktadır [33]. Glikosfingolipitlerde seramide bağlı bir fosfat grubu bulunmamaktadır. Fosfat yerine tek bir şeker bağlanmasıyla serebrozitler, iki veya daha fazla şeker bağlanmasıyla globozitler, N-asetilnöraminik asit içeren

kompleks oligosakkaritler bağlanmasıyla gangliyozitler oluşmaktadır. Farklı oligosakkaritlerin glikosfingolipitlere bağlanmasıyla kan grupları oluşmaktadır [29].

Yapısal zar lipitleri içerisinde bulunan diğer bir lipit grubu sterollerdir. Storeller üç sikloheksan ve bir siklopentandan oluşan ve toplamda 17 karbon içeren bir steroid çekirdek bulundurmaktadır. Hayvan hücrelerindeki en önemli sterol kolesteroldür. Kolesterolün yapısı steroid çekirdeğin yapısına bir yağ asidinin bağlanmasıyla oluşmaktadır [29]. Kolesterol zar geçirgenliği ve zarın akışkanlığı için gerekli olan önemli bir lipit olup biyosentezi farklı metabolic yollarla kontrol edilmektedir [34, 35].

2.6. Bakteriyel Lipitler

Bakteriyel membranların yapısını gliserofosfolipidler oluştursa da bu membran yapısı bakterilerin türüne ve bakterilerin maruz kaldığı çevresel koşullara bağlı olarak yapısal çeşitlilik gösterebilmektedir. Son yıllarda, Gram-pozitif bakterilerde bulunan lipoteikoik asit (LTA), Gram-negatif bakterilerde lipopolisakkarit (LPS) ve mikobakterilerde bulunan lipoarabinomannan (LAM)'ın biyobelirteç olarak işlev görebildiği kanıtlanmıştır. Gram-pozitif bakterilerde LTA, bir lipit ile membrana bağlanan alditol fosfat içeren bir polimer olarak tanımlanmaktadır. Kimyasal yapıya bağlı olarak beş tip LTA bulunmaktadır (tip I – V). En iyi karakterize edilen şekli; bir glikolipid bağlantı noktası ile dallanmamış, 1-3 bağlı gliserolfosfat (Gro-P) omurga yapısı içeren ve *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pyogenes* ve *Listeria monocytogenes* gibi çok sayıda Gram pozitif bakteride bulunan tip I LTA'dır. *S. aureus* poli Gro-P'si LTA'nın, glikolipid bağlantısı gentiobiyosildiaçilgliserol Glc(β 1–6)-Glc(β 1–3)-diaçilgliserol içindeki indirgenmeyen glikozilin C-6'sı ile bağlantılıdır [36]. Tip I LTA'ların sakkaridik çekirdeği, tip II, III ve V'den farklı olduğu ileri sürülmektedir.

Gram-negatif bakterilerde LPS, dış zarın önemli bir bileşeni olarak bulunmaktadır. Molekülün toksik özelliklerinden sorumlu olan lipit A ve hidrofilik çekirdek polisakarit zinciri ve bakteriyel serotipe özgü tekrarlayan

bir hidrofobik O-antijenik oligosakkarit yan zincirini de içeren yapı, hidrofobik lipit bölümünü oluşturmaktadır. Lipid A çekirdeği, her iki karbonhidrata bağlı yağ asidi esterleri olan bir β -glukozamin-(1 \rightarrow 6)-glukozamin-1-fosfat bazı içermektedir. Açıl zincir uzunluğu ve açıl gruplarının sayısı aynı tür içinde nispeten korunurken bakteriyel türler arasında farklılık göstermektedir. İç polisakkarit çekirdek tipik olarak disakkarid çekirdeğe bağlı 1-4 arasında 3-deoksi- α -D-manno-octulosonik asit (KDO) molekülü içerir [36].

KDO özellikle LPS ile ilişkilidir ve biyolojik olarak aktif lipit A'nın bakterinin hayatta kalmak için en az bir KDO kalıntısı gerektirdiği düşünülmektedir. Ancak KDO eksikliği olan *Escherichia coli* K-12 baskılayıcı suşunun varlığı, bakterinin yaşayabilmesi için KDO'nun kesinlikle gerekli olmadığını göstermektedir. KDO içeren iç çekirdek ayrıca en yaygın olanı L-glisero- α -D-manno-heptopiranoz olan heptuloz (ketoheptoz) monosakkaritler ile modifiye edilmektedir. İç çekirdek glikan kalıntıları tipik olarak fosfat içeren gruplarla, örneğin pirofosfat veya 2-amino-etilfosfat ile fosforile veya modifiye edilmektedir. LPS üzerindeki fosfat grupları, hücre zarının genel negatif yükünü arttırmakta ve yapının stabilize edilmesine yardımcı olmaktadır. Dış LPS çekirdeği, glikoz, galaktoz ve N-asetilglukozamin dahil olmak üzere daha yaygın heksozlar içermekte ve yapısal olarak iç çekirdekten daha çeşitlidir. O-antijeni, tipik olarak iki ila altı şekerden oluşan tekrarlanan bir oligosakkarit birimidir ve bakterileri farklılaştıran birincil yapısal LPS bileşenidir. Ayırt edici O-antijen yapıları, *E. coli*, *Salmonella enterica* ve *Vibrio cholera* serogruplarını tanımlamak için kullanılmıştır. *E. coli*'nin mutant türlerinde LPS, yapının O-antijen kısmından yoksun bulunmaktadır. LPS ve LTA'ya benzer şekilde, mikobakterilerdeki LAM, üçlü bir yapıya sahip hücre zarında bulunan amfipatik makromoleküllerdir. LAM, bir mannosil-fosfatidil-myo-inositol (MPI) bağlantı noktası içerir. D-mannan'ın bir α (1 \rightarrow 6)-bağlantılı D-Manp biriminin eklendiği doğrusal bir zincirine sahip polisakkarit omurga içerir. 3,5-O-bağlı α -D-Araf birimleri tarafından üretilen dallanma ile noktalanmış (1 \rightarrow 5) bağlı D-Araf birimleri ve küçük manooligosakkaritler ve fosfoinositoller içermektedir [36].

2.7. Lipidomik

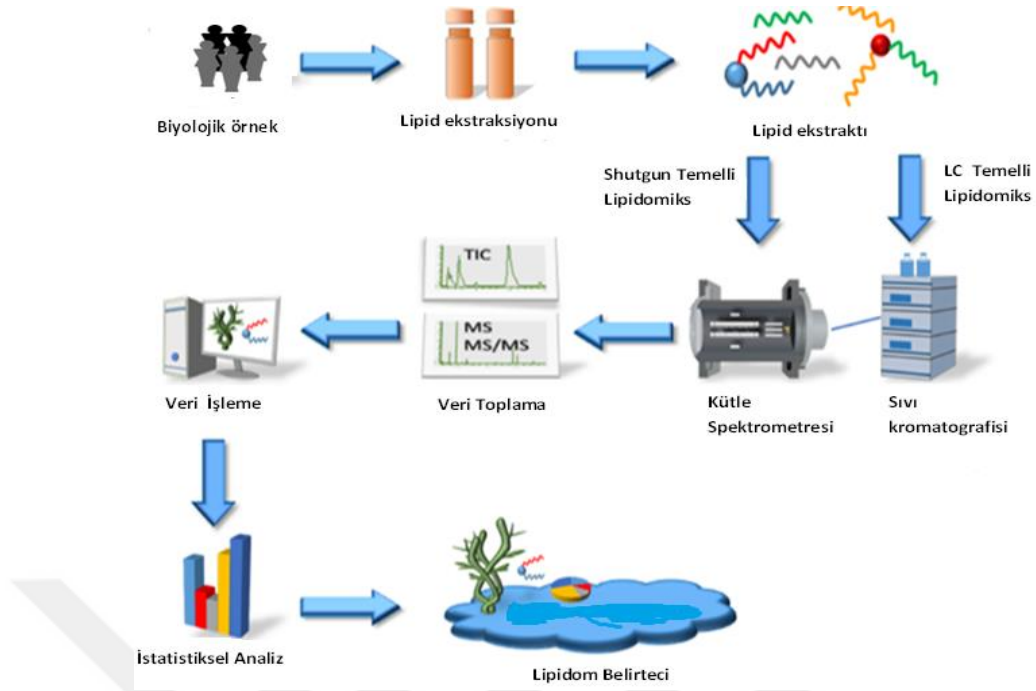
Lipidomik, lipid türlerinin tam karakterizasyonu ve gen regülasyonunu da içeren lipid metabolizması ve fonksiyonlarına katılan protein ekspresyonlarıyla ilgili çalışmaları içeren bir bilim dalı olarak tanımlanmaktadır [37]. Diğer bir deyişle lipidomik, biyolojik sistemlerdeki lipidleri belirlemek ve miktarını ölçmeyi amaçlayan bir çalışma alanıdır [38]. Sağlık ve hastalık durumlarında hücresel lipid metabolizmasını ve lipid aracılı sinyal iletimindeki değişiklikleri belirlemeye odaklanır (**Şekil 2.7.**) [39]. Araştırma amaçlarına dayanılarak lipidomik; hedeflenmiş lipidomik (hedeflenmiş lipid analizi) ve hedeflenmemiş lipidomik (evrensel lipid profillenmesi) olmak üzere iki başlık altında incelenebilmektedir [40]. Yeni analitik araçlardaki gelişmeler, çok düşük orandaki belirli lipidlerdeki değişiklikleri takip etme ve lipidomların önemli bölümlerinin anlık nicel miktarlarının alınmasına olanak sağlamıştır [41-44].

Metabolomiksin bir dalı olan lipidomik alanındaki ilk çalışmalar Han ve Gross tarafından yapılmıştır [39]. Lipidomik, patojen ve mikrobiyal numune analizlerinde de kullanılan, insan sağlığı için önemi olan ve hızla büyüyen bir araştırma alanıdır. Plazma ve idrar lipidlerinin analizi ve hücre zarı değişiklikleri kütle spektrofotometresi (MS) ile tayin edilebilmektedir. Lipit araştırmaları arttıkça, hücre çalışmalarında MS ve nükleer manyetik rezonans spektrofotometresi (NMR) yöntemlerini uygulayan araştırma gruplarının sayısı hızla artmaktadır. Bunun sonucu olarak da kapasite ve uygun analitik çalışma standartları açısından yeni analitik, istatistiksel ve bilişim yöntemlerine gereksinim duyulmaktadır [45].

1990'lardan bu yana, kütle spektrofotometresini içeren yöntemlerin gelişmesiyle lipid biyokimyası hakkındaki araştırma ve bilgiler oldukça artmıştır. Elektrosprey iyonizasyonunu, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi veya ultra performanslı sıvı kromatografisi ile bir araya getirilerek, özellikle daha önce mümkün olmayan bir hassasiyet ve seçicilik seviyesi ile lipidleri ölçme olanağını oldukça artırmıştır. Bir taşıyıcı gaz ile etkileşimlerini kullanarak izobarik lipidlerin ayrılmasını kolaylaştıran bir yöntem olarak "diferansiyel iyon hareketliliği MS analizleri" yeni yöntemler arasında görülmektedir. Bu, aynı kütle değerlerine sahip çok sayıda iyonun bulunduğu

trigliseritler gibi sınıfların analizi için popülerlik kazanmaktadır. Büyük miktarda benzer örnek setleri üzerinde hedeflenmemiş lipidomik uygulamalar yapılması epidemiyolojik çalışmalar için de kullanılmaktadır ancak genel olarak nitel sonuç verememektedir. Birçok durumda düşük bolluk ve önemli iyonları tespit edememe durumu oluşmaktadır. Diğer yandan, bir iyon kütlelerine dayanan özel hedefli lipidomik analizler, moleküler türlerin tanımlanmasına ve numunelerde tam miktarının belirlenmesine izin vermektedir. Bununla birlikte, genellikle sadece belirli lipid kategorilerine göre uyarlanabilmektedirler [45].

Lipitlerin ölçülmesi açısından kabul görmeye başlayan iki temel yöntem vardır. Bunlar yüksek çözünürlüklü, “küresel” hedeflenmemiş profillemeye ve tandem MS kullanarak onaylanmış nicel yöntemlerdir. Her iki yöntemin de artıları ve eksileri vardır. Lipitlerin lipid olmayan metabolitlere göre ölçümleri daha zor olmaktadır. Bunun nedeni, bir MS'den alınan belirli bir kütle değerinin teorik olarak birkaç farklı moleküler türü (izomer) temsil edebilmesidir. Bu durum alanda çok fazla kafa karışıklığına neden olmakta ve yeni araştırmacılar için bir sorun teşkil etmektedir. LIPID MAPS bu sorunu çözmek için Lipidomics Standards Initiative (LSI) ile birlikte çalışmaktadır. Hedeflenmemiş küresel profil oluşturma, dikkatli ve bilgili bir şekilde kullanıldığında, başlangıç verileri ve hipotez üretimi için güçlü bir metodoloji olup aynı zamanda çok sayıda örneğin analizini sağlamak için de yararlıdır. Ancak göreceli bir nicelik ve hassasiyet eksikliği gibi dezavantajları bulunmaktadır. Düşük miktarlardaki moleküllerde tür tespit edilmesi ve dikkatli bir validasyon yapılması gerekmektedir. Hedeflenmemiş lipidomik çalışmalarda izomerler çözümlenemez ve lipidler yalnızca "yığın" yapılar olarak tanımlanabilmektedir. Bununla birlikte bu yöntemin hedeflenen yöntemlere göre avantajı, tarafsız olması ve dolayısıyla yeni lipidleri bulmak için kullanılabilmesidir. Aynı zamanda tek bir seferde birkaç farklı lipid sınıfını tespit edebilmektedir. Yağ asidi bileşimlerini tanımlamak için uzun zamandır “altın standart” yöntemi olarak kabul edilen tandem MS kullanılmaktadır. Bu yöntem, bazı lipid sınıflarını 1 pg seviyelerinde tespitine olanak sağlamaktadır [45].



Şekil 2.7. Lipidomiks Çalışmalarının Genel Basamaklarının Gösterilmesi [46].

2.8. Biyomedikal Bilimler İçin Lipidomik Uygulamaları

Birçok belirli lipid molekülü farklı hastalıkların gelişmesiyle ilişkilendirilmiştir [47, 48].

2.8.1. Metabolik Sendrom

Kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, inme, karaciğer yağlanması gibi metabolik olarak ilişkili hastalıklar bütününün oluşturduğu ciddi bir sağlık sorunudur. Ayrıca, obezite oranlarındaki artış nedeniyle metabolik sendrom giderek yaygınlaşmaktadır. Lipidlerin bu hastalıklarla sıkı birlikteliği göz önüne alındığında lipidomik, mekanik çalışmalarda, risk tahmininde ve metabolik sendromla ilişkili hastalıkların terapötik izlenmesinde önemli bir rol oynayabilmektedir. Plazma ve lipoprotein fraksiyonlarının lipidomik analizi, yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) bazlı tedavilerin fayda sağlayacağına işaret etmektedir. Lipidomik yöntemin vasküler sağlık araştırmalarına ve iskemik kalp hastalığına uygulanması, bu hastalıkların patogenezinin aydınlatılmasına, biyobelirteçlerin tanımlanmasına ve oksitlenmiş lipitler de dahil olmak üzere çoklu lipit sınıflarının kapsamlı ve sistematik kantitatif analizi yoluyla terapötik yanıtların izlenmesine fayda sağlanmaktadır [49].

Lipid anormallikleri böbrek hastalarında oldukça yaygındır. Nelva ve arkadaşları, 30 ay boyunca hemodiyaliz alan kronik böbrek yetmezliği hastalarının plazma ve eritrositlerinde lipid profillerindeki değişimleri ortaya koymuşlardır [50]. Kronik glomerülonefrit hastaları ve kronik böbrek yetmezliği hastaları ile kontrollerden alınan plazma fosfolipidlerinin metabolik profillenmesi için HPLC-MS yöntemi uygulanmış ve bu hastalarda 19 fosfolipid türü olası biyobelirteç olarak saptanmıştır [51]. Böylece kronik glomerülonefrit hastaları ve kronik böbrek yetmezliği hastaları için fosfolipidlerin biyobelirteç olarak kullanılabilmesi önerilmiştir.

2.8.2. Nörolojik Hastalıklar

Beyin çok yüksek miktarda lipit içerdiğinden nörolojik bozukluklar, lipit sinyali, metabolizma ve homeostaz ile ilişkilidir. Lipidomik çalışmalar bu ilişkileri araştırmak ve bu bozuklukların erken teşhisi ve hastalığın seyri için biyobelirteçler geliştirmek için kullanılabilir [49]. Son yıllarda psikoterapideki gelişmelere rağmen duygu durum bozuklukları, Alzheimer, şizofreni gibi nöropsikiyatrik hastalıklar için ilaç geliştirilmesi hala istenilen seviyeye ulaşmamıştır. Beyin ve merkezi sinir sistemiyle ilgili hastalıklar için yeni biyobelirteçlere ve onaylanmış terapötiklere duyulan ihtiyaç her geçen gün artmaktadır [53]. Alzheimer hastalığıyla ilgili yapılan birkaç lipidomik çalışmada bu hastalıkla bağlantılı olarak değişen bazı lipid türleri belirlenmiştir [54-57]. Şizofreni ve bipolar hastalıklar, etiyojisi henüz tam olarak bilinmeyen başlıca önemli nöropsikiyatrik rahatsızlıklardır. MS-temelli yüksek verimli yöntem kullanılarak, şizofreni ve bipolar bozukluğu olan hastaların prefrontal kortekslerindeki beyaz ve gri maddenin lipid profillerindeki değişimler saptanmıştır [58]. Ayrıca otoimmün ve nörodejeneratif bir hastalık olan Multiple Skleroz hastalarının serum örneklerinde LC-MS temelli lipidomik çalışma yapılmış ve toplam LPC/PC oranında önemli oranda düşüş gözlenmiştir [59].

2.8.3. Kanser

Lipitler tümör gelişimi için gerekli olan tüm temel süreçlerde birçok anahtar rol oynamaktadırlar. Örneğin, hızla çoğalan kanser hücreleri için gerekli olan

hücre büyümesi ve metabolizmasında rol oynarlar. Esterleştirilmemiş yağ asitleri, lipit biyosentezi ve yeniden modelleme için temel yapı taşlarıdır. Kolesterol, fosfolipidler ve sfingolipidler, hücre zarlarının ana yapısal bileşenleridir. Trigliseritler, açıl CoA ve açilkarnitin ile birlikte enerji metabolizması ve ATP üretimine katılan enerji deposu olarak işlev görmektedirler. Ayrıca, lizofosfolipidler gibi biyoaktif lipitler, hücre çoğalmasını, hayatta kalmasını ve göçünü teşvik etmek için ikincil haberci olarak sinyalizasyonda önemli rol oynamaktadırlar. Benzer şekilde fosfatidilinositol ve fosforile türevlerinin hidroliz ürünleri, PI₃K/AKT sinyal yolunu aktive etmek için ikinci habercilerdir. Bu yolun insan kanserleri için kemoterapi ve radyoterapide önemli olduğu bilinmektedir [49].

Kanser hücreleri lipit metabolizmasının önemli değişikliklere uğradığı bilinmektedir. Bu nedenle lipidomik araştırmalar yeni teşhis ve tedavi fırsatları sunmaktadır. Vücut sıvılarında, lipit profillemesi tüm organizmanın genel durumunu yansıttığı için kanserlerin erken teşhisinde biyobelirteç belirlenmesinde önemli yere sahiptir. Biyobelirteçlerin tanımlanmasına ek olarak, kandaki ve diğer vücut sıvılarındaki lipitlerin kalitatif ve kantitatif değerlendirmesi, antikanser tedavisinin etkinliğinin ve toksisitesinin izlenmesinde de yararlı olabilmektedir [49].

Lipidler farklı kanserlerde, erken karsinogenezis ve kanser ilerlemesiyle ilişkilendirilmiştir. Prostat kanseri için aday biyobelirteç keşfetmek için; hastalardan ve kontrollerden alınan dondurulmuş doku ve plazma örneklerine MS-temelli hedeflenmemiş lipidomik analiz, prostat kanser hastalarının idrar fosfolipidlerine ise shotgun lipidomik analiz uygulanmış ve bazı lipid türlerindeki değişimler prostat kanserinin prognozu ve patogenezi için önemli bilgiler sağlamıştır [60-62]. İnsan epidermal büyüme faktör reseptör-2 pozitif metastatik meme kanserli hastalara ait dondurulan doku örneklerinde yapılan lipidomik analizler sonucunda bazı lipid türlerinde anlamlı değişiklikler gözlenmiştir [63]. Ayrıca, dünyadaki dağılımı ve görülme sıklığındaki giderek artan kolorektal kanserli hastaların serum metabolitlerine direk-infüzyon-ESI Fourier Dönüşüm İyon siklotron rezonans MS uygulanmış ve bazı lipid türleri biyobelirteç olarak saptanmıştır [40].

2.8.4. Göz Hastalıkları

Göz ile ilgili hastalıkları anlamak ve teşhis etmek için görme araştırmalarında ve oftalmolojide de lipidomik yöntemler kullanılmıştır. İnsan meibomian lipidleri, salgılanan gözyaşları ile karışarak gözyaşının çabuk buharlaşmasını engellemekte ve gözün hassas oküler yapısının kurumasını önlemek için ince yağlı bir tabaka oluşturmaktadır. Lipidomik, oküler yüzey hastalıklarının tanısı, seyri ve tedavisi için meibomian lipidleri tarafından oluşturulan tabakanın ve biyobelirteçlerin stabilitesi hakkında bilgi sağlamaktadır. Lipidomik ayrıca, oküler yüzey inflamasyonu hastalığını modüle etmek için ve meibomian lipidlerini yenilemek için etkili lipid bazlı tedaviyi gündeme getirmiştir. Ek olarak, ikincil haberciler ve lipid düzenleyicileri gibi lipid türevi biyoaktif moleküllerin analizine odaklanan aracı lipidomik, oftalmolojik süreçleri hedeflemektedir [49].

2.8.5. Beslenme

Lipidomik, farklı beslenme durumlarında lipidler hakkında kapsamlı sonuçlar vermesine rağmen bu aşanada uygulamaya geçilmesi henüz mümkün görünmemektedir. Lipidomik, hücresel lipidlerin yapısı, bileşimi ve işlevindeki diyete bağlı değişiklikleri anlamak için beslenme araştırmalarında etkili bir şekilde kullanılabilir. Lipidomik ayrıca, besin maddeleri ile insan metabolizması arasındaki etkileşimleri açıklamak için kullanılabilir. Diyet bileşenlerinin akut, orta vadeli ve kronik etkilerini izleyerek diyetin değerlendirebilmesi, optimize edilmesi ve sağlıklı bir yaşamı destekleyebilecek beslenme önerileri sunulabilir. Lipidomik çalışmalar, diyetteki ω -3 çoklu doymamış yağ asitlerinin faydaları altında yatan moleküler mekanizma ve enflamatuar yanıtta ω -3 ve ω -6 yağ asitlerinin düzenleyici rolü hakkında önemli bilgiler sağlamıştır. Lipidomik araştırmaların, ω -3 yağ asitleri ile ilgili olarak ilerleyen yıllarda yapılacak çalışmaların önemli bir parçası olacağı öngörülmektedir [49].

2.8.6. İlaç Keşfi

Lipidomik araştırmalar, ilaç hedef tespiti, tarama, toksisite değerlendirme, yanıt tahmini/izlenmesini ve bireye özgü tıp alanına önemli katkılar

sağlamaktadır. Örneğin, *de novo* lipogenez inhibitörler de esas önemli olan, kanserli hücreler üzerindeki proapoptotik etkileridir. Lipidomik araştırmalar, *de novo* lipit sentezini inhibe eden antikanser ilaçlarını ve yeni ilaç etkinliğini tanımlamak için kullanılabilir [49].

2.8.7. Çoklu Omiks ve Bireye Özgü Tıp

Omiks, biyomedikal bilimlerde hastalıkların moleküler olarak yeniden sınıflandırılmasında bir yön çizerek bireye özgü tıpta anahtar bir rol oynamaktadır. Sağlık ve hastalık durumundaki sistemin biyolojisini anlamak için çoklu omiks çalışmaları gerekmektedir. Farklı sistemlerin aydınlatılması, sistem tıbbının gelişimi için hastalığın çeşitli aşamalarında doğru ve sağlam biyobelirteçlerin keşfedilmesine katkıda bulunabilmektedir. Yeni biyobelirteçler, daha iyi tedavi yanıtı için risk sınıflandırmasını ve hasta seçimini geliştirebilir. Yeni nesil terapötiklerin geliştirilmesine, tedavi etkinliğinin ve terapötik önlemlere yanıtın öngörülmesine ve izlenmesine yardımcı olabilir. Metabolomik, diğer omiklerden farklı olarak, fenotiplerle yakından ilişkili ve böylece biyolojik koşullar ve hastalık durumlarıyla doğrudan bağlantılı metabolitleri ölçmektedir. Çoklu omik tekniklerinin bileşimi ile klinik uygulamalar bireye özgü tıba doğru yönelmektedir. Çoklu omiklerden toplanan veriler ile karmaşık sistemlerin simülasyona çevrilmesi, farklı bilgi alanları arasındaki boşluğu doldurarak bu geçişte önemli bir rol oynamaktadır [49].

2.8.8. Bulaşıcı Hastalıklar

TB'yi de içeren bulaşıcı hastalıklar günümüzde halen yüksek sayıda ölümlere neden olmaktadır. Bu nedenle bulaşıcı hastalıkların erken tanısı ve tedavisi için geliştirilecek yöntemler önemini korumaktadır. Lipidomik, elektrosprey iyonizasyon kütle spektrofotometrisindeki (ESI-MS) yeni çalışmalar ve yeni uygulamalarla hızla gelişen bir alana sahiptir [39]. *Mtb*'de, ESI/MS kullanılarak TDM ve *M. bovis*'ten farklı olarak, üç farklı sınıfta "alfa, keto ve metoksi" mikolik asit içerdiği tespit edilmiştir. *Mtb*'de oksijenli ortamdan farklı olarak hipoksi koşullarda bazı alfa-mikolik asitlerin ve triaçilgliserol (TAG)'ün yüksek düzeyde olduğu tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalarda bir

glikolipit olan ve bir veya birden fazla yağ asidi içeren yüzden fazla fosfatidil-*myo*-inositol mannosid (PIMs) tanımlanmıştır. *Mtb*'de bulunan ve polialkil lipit sınıfına giren phthiocerol dimycocerosates (PDIMs)'ler mikolit asitlere bağlanarak hücre zarının dış katmanını oluştururlar. PDIM lipidomik tekniklerle mikobakteri türlerinin tespitinde kullanılabilir [64].

Yapılan bir başka çalışmada, antibiyotik dirençli ve duyarlı *S. aureus*'taki lipid profilleri karşılaştırılmış ve *S. aureus*'un önemli membran lipidleri ile lipoteikoik asitin biyosentezinde önemli olan bazı lipid türlerinin, dirençli ve duyarlı izolatlar arasında önemli derecede farklı olduğu saptanmıştır [65]. Bir başka çalışmada ise; sivrisineklerde viral kontrolün sağlanması için potansiyel hedefler belirlenmesi amacıyla Zika virüsü bulaşmış sivrisinek hücrelerinde lipidomik profil araştırılmıştır. Bu çalışma sonucunda, viral replikasyonla ilişkili olarak 13 adet lipid türü tanımlanmış ve bu sonuçlar, viral transmisyon döngüsünün kırılması için daha fazla veri sağlamıştır [66].

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Kullanılan Malzemeler

Malzeme	Marka
Amonyum format	Sigma
Asetonitril	Sigma
Kloroform	Merck
Metanol	Merck
Amonyum molibdat	Merck
Hidrojen peroksit	Merck
Dimetilsülfoksit	Merck
Sülfürik Asit	Merck
Askorbik asit	Sigma
1-heptadekanoil-2-(9Z-tetradesenoyl)-sn-glisero-3-fosfokolin	Avanti® Lipid
1-steroil-2-steroil(d35)-sn-glisero-3-fosfokolin	Avanti® Lipid

3.2. Kullanılan Cihazlar

Cihaz	Marka/Model
ELISA plaka okuyucu	Biotek, Epoch
İğneli evaporatör -80 °C	Organomation Nüve
Çeker ocak	Fume
Q-TOF LC/MS kütle spektrometresi	Agilent technologies 6530
Vorteks	Velp
Santrifüj	Sigma
Azot tüpü ve regülatörü	

3.3. Araştırmanın Evreni/Örnekleme

Bu çalışmada; hasta grubu, Verem Savaş Dispanserine başvuran ve tüberküloz tanısı konulan bireylerden oluşmaktadır. Hasta sayısı etik kurul izninin çıktığı tarihten itibaren (Karar No:2017-01/12, Tarih: 17.01.2017) bir yıl içerisinde tanı alan hastaların sayısına göre belirlendi. Hastalarla ilgili olarak 'Hasta Bilgileri Formu' dolduruldu. Bu formda; hastaların tıbbi öyküleri de yer almaktadır. Herhangi bir kronik hastalığı olmayan tüberküloz hastaları çalışmaya dahil edildi. Kronik hastalığı olan veya TB tedavisinde kullanılan ilaçlar dışında ilaç kullanan TB hastaları örneklem içerisine dahil edilmedi.

Hastalar arasında cinsiyet ve yaş kriterlerinde bir kısıtlama yapılmadı (**Tablo 3.1.**). TB tanısı konulan hastalardan, herhangi bir tedaviye başlanmadan önce, 10-15 ml kan örneği steril, sitratlı tüplere alındı. TB hastalarında, tedaviye başlandıktan sonra her kontrolde tekrar 10-15 ml kan örneği steril, sitratlı tüplere alındı ve lipid izolasyonları yapıldı.

Kontrol grubunun oluşturulması; Yukarıda belirtildiği gibi etik kurul izni alınan tarihler arasında TB hastalarından ve tedavi gören TB hastalarından kan örnekleri alındıktan sonra, hastaların yaş ve cinsiyet tabloları hazırlanarak hastalar ile aynı yaş ve cinsiyet dağılımına sahip, herhangi bir kronik hastalığı olmayan ve herhangi bir ilaç kullanmayan sağlıklı bireylerden kontrol grubu oluşturuldu ve kan örnekleri alındı (**Tablo 3.1.**).

Tablo 3.1. TB hastaları ve Kontrollerin Demografik Özellikleri

		Kontrol	Hasta
TB	Yaş	38.2 ± 4.60 (17-85)	38.2 ± 4.60 (17-85)
	Cinsiyet	K:6 (% 46.2) E:7 (% 53.8)	K:6 (% 46.2) E:7 (% 53.8)
	Sayı	13	13
TB 1 ay tedavi	Yaş	28.6 ± 2.76 (20-42)	28.6 ± 2.76 (20-42)
	Cinsiyet	K:4 (% 44.4) E:5 (% 55.6)	K:4 (% 44.4) E:5 (% 55.6)
	Sayı	9	9
TB 2 ay tedavi	Yaş	30.6 ± 3.25 (18-56)	30.6 ± 3.25 (18-56)
	Cinsiyet	K:6 (% 50) E:6 (% 50)	K:6 (% 50) E:6 (% 50)
	Sayı	12	12
TB 6 ay tedavi	Yaş	28.1 ± 4.31 (18-50)	28.1 ± 4.31 (18-50)
	Cinsiyet	K:4 (% 57.1) E:3 (% 42.9)	K:4 (% 57.1) E:3 (% 42.9)
	Sayı	7	7
TB 7 ay tedavi	Yaş	39.8 ± 7.67 (23-56)	39.8 ± 7.67 (23-56)
	Cinsiyet	K:0 (% 0) E:4 (% 100)	K:0(% 0) E:4 (% 100)
	Sayı	4	4

K: Kadın, E:Erkek

3.4. Lipidomiks Çalışmalar

3.4.1. Lipid Ekstraksiyonu

Lipid ekstraksiyonu Bligh-Dyer yöntemi kullanılarak yapıldı [67]. Tüplerdeki kan örnekleri üzerine metanol, kloroform ve lipid standartları eklenerek vortekslendi. Oluşan karışım üzerine su eklendikten sonra tekrar vortekslendi ve santrifüjlenerek kloroform fazı ayrıldı. Tüpler üzerine tekrar kloroform eklenerek vortekslendi, santrifüjlendi ve kloroform fazları birleştirildi. Kloroform, azot gazı altında uzaklaştırıldı. Tüp içerisinde kalan lipidler metanol:kloroform karışımı ile çözülerek küçük cam tüplere alındı ve fosfor analizi yapılmak üzere -80°C 'ye kaldırıldı.

3.4.2. İnorganik Fosfat Tayini

Lipid ekstraktları ve sülfürik asit, 200°C de 1 saat inkübe edildikten sonra $100\ \mu\text{L}$ hidrojen peroksit eklenip tekrar 1.5 saat inkübe edildi. Her bir tüpe molibdat belirteci ve askorbik asit çözeltisi eklenip, 10 dk kaynatıldı. Örneklerin $830\ \text{nm}$ dalga boyunda absorbanları okundu ve fosfor standart eğrisinden yararlanılarak derişimleri hesaplandı [68].

3.4.3. Ekstrakte Edilen Lipidlerin Elektrosprey İyonizasyon Kütle Spektrometresiyle (Q-TOF LC/MS; ESI-MS) Ölçümleri

Lipit ekstrakt numuneleri metanol:kloroform (3:1;v/v) içinde hazırlandı. ESI-MS, Agilent technologies 6530 Accurate-Mass Q-TOF LC/MS kütle spektrometresi (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) kullanılarak; 350°C 'de, azot kurutma gazının akış hızı $8\ \text{L/dk}$ ve $30\ \text{psi}$ 'lik nebulizatör basıncında gerçekleştirildi. Örnekler; amonyum format içeren asetonitril:metanol:su mobil faz ile pozitif ve negatif iyon modunda tarandı [69-72].

3.4.4. Lipidler için çok değişkenli İstatistik Analizler;

Esas bileşen analizi (PCA) ve Kısmi En Küçük Kareler Diskriminant Analizi (PLS-DA) gibi çok değişkenli analizler MetaboAnalyst 4.0 (<http://www.metaboanalyst.ca/>) kullanılarak yapıldı [73]. İstatistiksel olarak anlamlı olan m/z değerlerine karşılık gelen lipid türleri, Lipid Maps (<http://www.lipidmaps.org/>) kullanılarak belirlendi [74].

4. BULGULAR

4.1. Lipid ekstraksiyonu

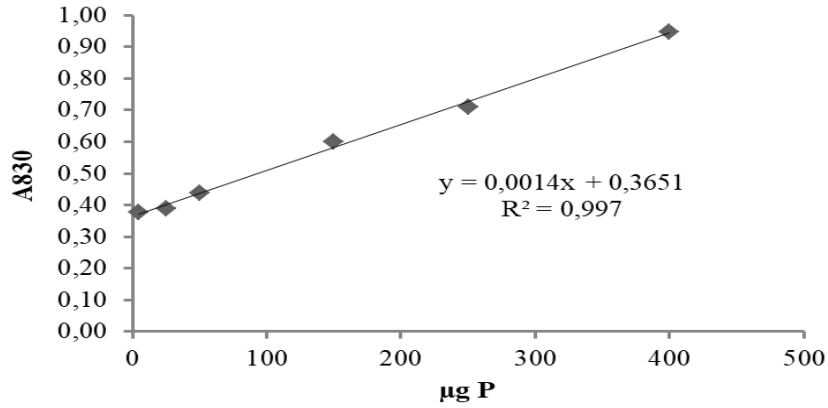
TB ve kontrollerden alınan kan örneklerinden lipid ekstraksiyonu Bligh-Dyer yöntemi kullanılarak yapıldı [67].



Şekil.4.1. Ekstrakte Edilen Lipid Örneği

4.2. İnorganik Fosfat Tayini

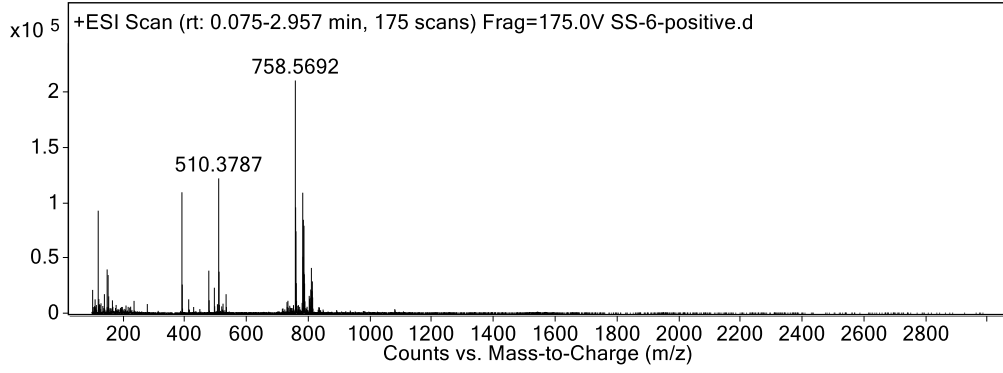
Fosfor çözeltisi kullanılarak standart eğri elde edildi (Şekil 4.2.). Bu standart eğriden yararlanılarak TB hastaları ve kontrollerden alınan kan örneklerinden Bligh-Dyer yöntemi ile ekstrakte edilen lipid örneklerinin derişim normalizasyonları yapıldı.



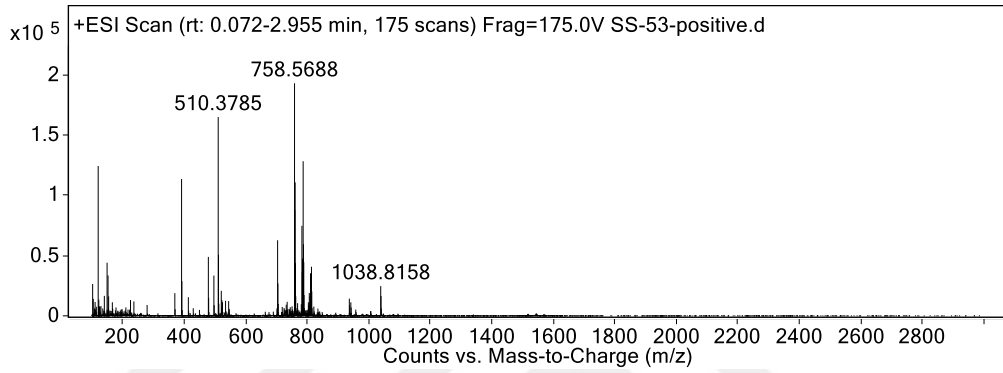
Şekil 4.2. Fosfor Standart Eğrisi

4.3. Lipidlerin Q-TOF LC/MS; ESI-MS Analizi

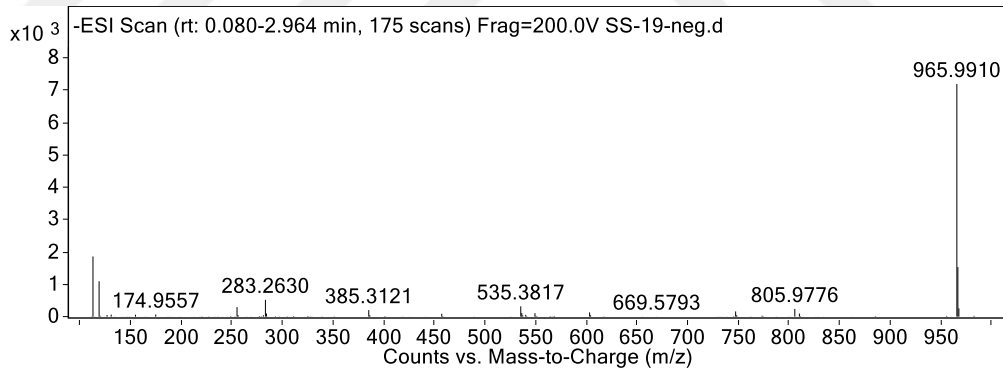
Örneklerin Agilent technologies 6530 Accurate-Mass Q-TOF LC/MS kütle spektrometresi kullanılarak pozitif ve negatif iyon modunda yapılan ESI-MS analiz spektrumları elde edilmiştir. TB hastaları ve kontrollere ait olan örneklerden elde edilen spektrumlara ait birer örnek verilmiştir (Şekil 4.3. - Şekil 4.4'te pozitif iyon modu; Şekil 4.5 ve Şekil 4.6.'da ise negatif iyon modu).



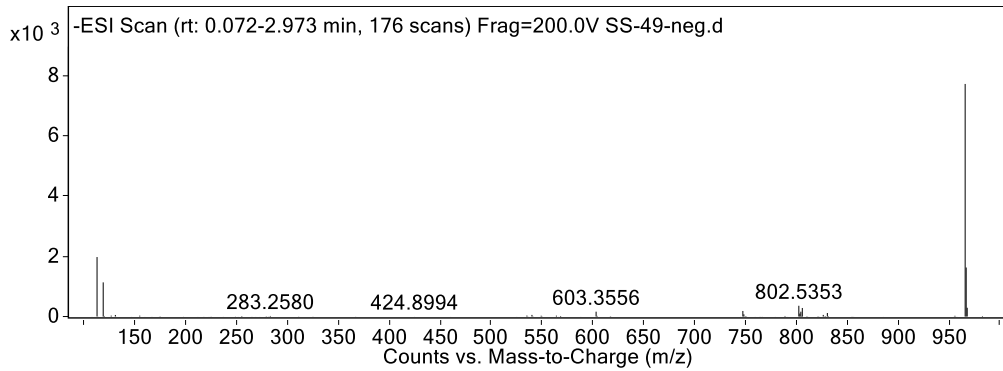
Şekil 4.3. Kontrol, Pozitif İyon Modu Spektrumu (m/z 100-1200)



Şekil 4.4. TB Pozitif İyon Modu Spektrumu (m/z 100-1200)



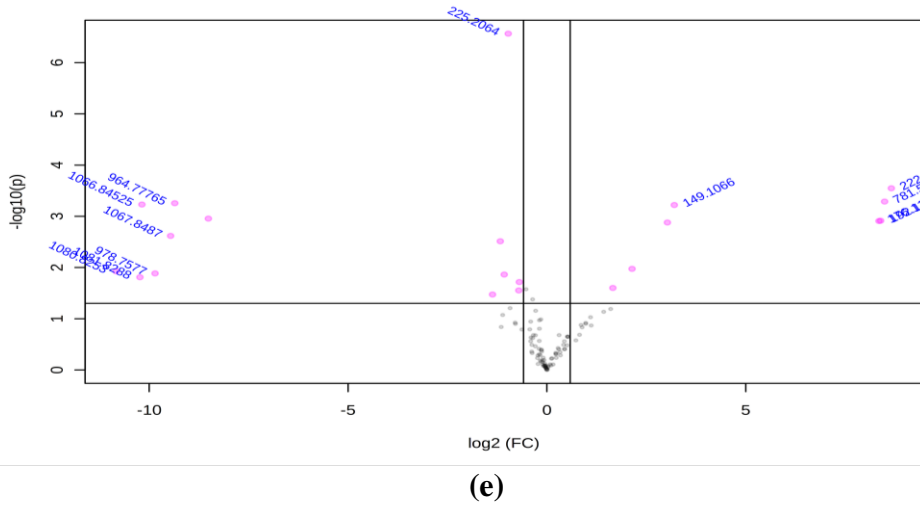
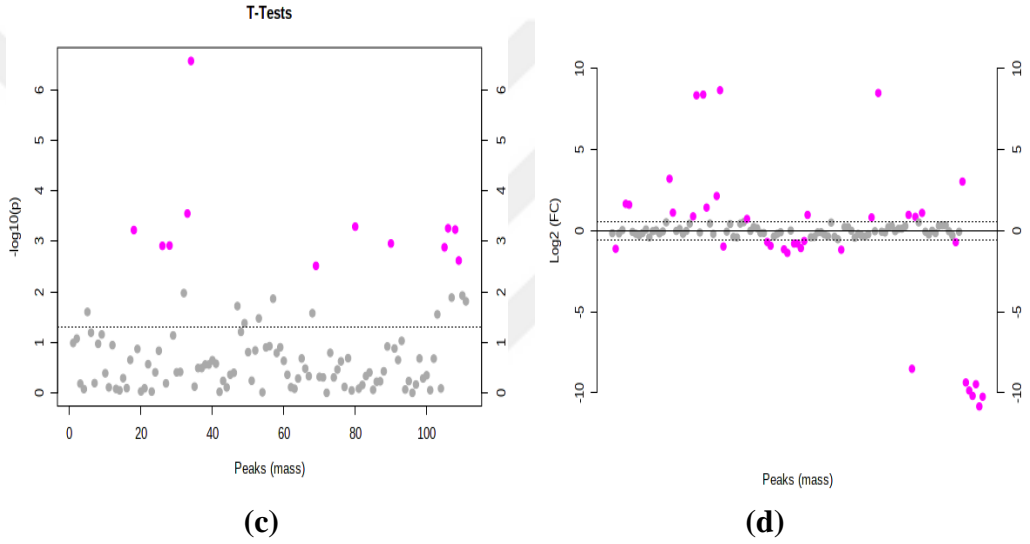
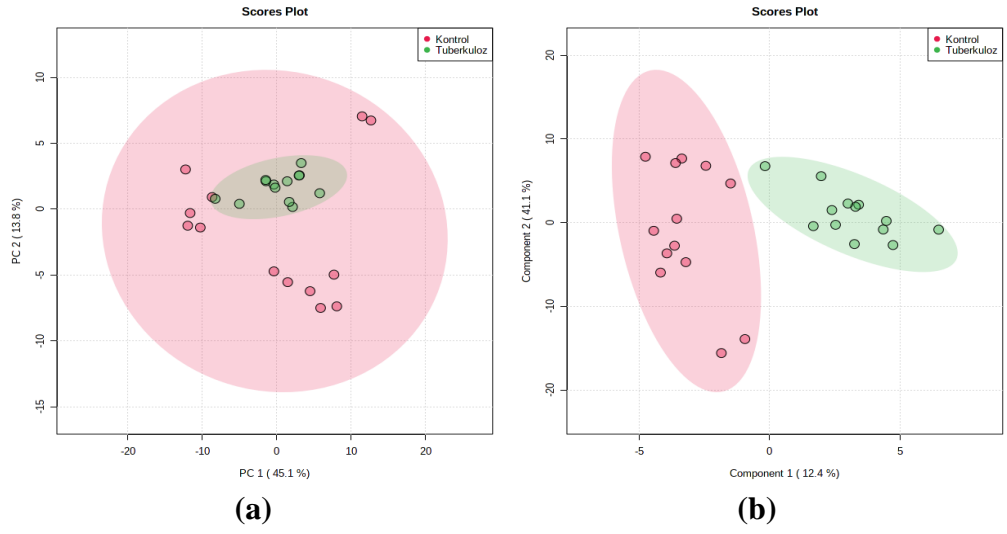
Şekil 4.5. Kontrol Negatif İyon Modu Spektrumu (m/z 100-1000)



Şekil 4.6. TB Negatif İyon Modu Spektrumu (m/z 100-1000)

4.4. Lipidler İçin Çok Değişkenli İstatistik Analizler;

ESI-MS analizi sonucunda elde edilen veriler, deneysel kısımda verilen parametreler kullanılarak MetaboAnalyst 4.0 (<http://www.metaboanalyst.ca/>) ve Lipid Maps (<http://www.lipidmaps.org/>) veri tabanları yardımıyla analiz edildi. MetaboAnalyst 4.0 (<http://www.metaboanalyst.ca/>) programı ile öncelikle çalışılan gruplar arasında fark olup olmadığı, **Şekil 4.3.–Şekil 4.6.**'daki spektrumlardan elde edilen excel verilerine Temel bileşen analizi (PCA) ve Kısmi En Küçük Kareler Diskriminant Analizi (PLS-DA) gibi çok değişkenli analizler yapılarak belirlendi (pozitif iyon modu için **Şekil 4.7. (a,b)**, **Şekil 4.11. (a,b)**, **Şekil 4.15. (a,b)**, **Şekil 4.18. (a,b)**, **Şekil 4.21. (a,b)** ve negatif iyon modu için **Şekil 4.9. (a,b)**, **Şekil 4.12. (a,b)**, **Şekil 4.16. (a,b)**, **Şekil 4.19. (a,b)**, **Şekil 4.22. (a,b)**). t-testi uygulanarak gruplar arasında farklı olan lipid türlerin ayrımı sağlandı (pozitif iyon modu için **Şekil 4.7. (c)**, **Şekil 4.11. (c)**, **Şekil 4.15. (c)**, **Şekil 4.18. (c)**, **Şekil 4.21. (c)** ve negatif iyon modu için **Şekil 4.9. (c)**, **Şekil 4.12. (c)**, **Şekil 4.16. (c)**, **Şekil 4.19. (c)**, **Şekil 4.22. (c)**). Değişkenlik kat eşiği 1.5 ve p-değeri 0.05 alınarak, gruplar arasında farklı olan lipid türlerinden (t-testi ile saptanan) bu değişkenlik oranına sahip olanlar belirlendi (pozitif iyon modu için **Şekil 4.7. (d)**, **Şekil 4.11. (d)**, **Şekil 4.15. (d)**, **Şekil 4.18. (d)**, **Şekil 4.21. (d)** ve negatif iyon modu için **Şekil 4.9. (d)**, **Şekil 4.12. (d)**, **Şekil 4.16. (d)**, **Şekil 4.19. (d)**, **Şekil 4.22. (d)**). t-testi ile kat değişimi grafiklerinin logaritması birleştirilerek gruplar arasında değişen lipid türlerinin kütle/yük (m/z) oranlarını sayısal olarak veren Volcano Plot grafiği elde edildi (pozitif iyon modu için **Şekil 4.7. (e)**, **Şekil 4.11. (e)**, **Şekil 4.15. (e)**, **Şekil 4.18. (e)**, **Şekil 4.21. (e)** ve negatif iyon modu için **Şekil 4.9. (e)**, **Şekil 4.12. (e)**, **Şekil 4.16. (e)**, **Şekil 4.19. (e)**, **Şekil 4.22. (e)**). Volcano plot grafiğinden elde edilen m/z değerleri Lipid Maps (<http://www.lipidmaps.org/>) programı ile analiz edilerek, bu m/z değerlerine karşılık gelen lipid türlerinin MS-MS doğrulanması ile yapıları ve sınıfları belirlendi (**Tablo 4.2. – 4.4.**).



Şekil 4.7. TB Hastaları ve Kontrollerin Pozitif İyon Modu **(a)** Temel Bileşen Analizi (2D-PCA), **(b)** Kısmi En Küçük Kareler Diskriminant En Küçük Kareler Diskriminant Analizi (2D-PLS-DA) **(c)** t-testi, **(d)** Kat Değişim (Fold change, FC) ve **(e)** Volcano Plot (VC) Grafikleri

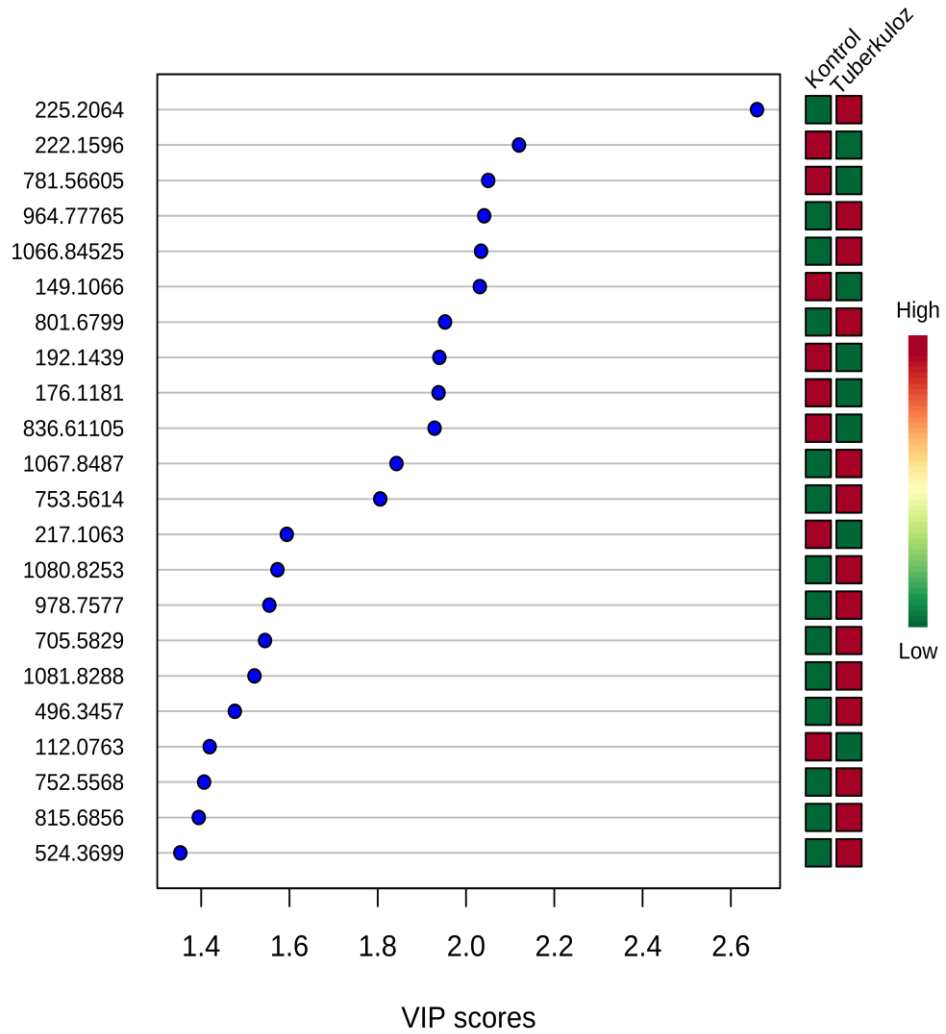
Tablo 4.1. TB Hastaları ve Kontroller Arasında Değişen Lipid Türleri ve Sınıfları (Pozitif İyon Modu; $p < 0.05$)

m/z ^a	p değeri ^a	Lipid sınıfı ^b
112,0763	0,025081	-
149,1066	0,000602	FA
176,1181	0,001237	FA
192,1439	0,001221	FA
217,1063	0,010619	FA
222,1596	0,000284	-
225,2064	2,72E-07	FA
496,3457	0,019225	GP
524,3699	0,033654	GP
705,5829	0,013723	GL, GP, SP, ST
752,5568	0,001414	GP, SP
753,5614	0,003074	GP
781,5661	0,000516	GL, GP, PR, ST
801,6799	0,00111	GL, GP, SP, ST
815,6856	0,028034	GL, GP, SP, ST
836,6111	0,001323	GL, GP, ST
964,7777	0,000556	GP
978,7577	0,013046	PR
1066,845	0,000589	GP
1067,849	0,002414	ST
1080,825	0,011873	SP
1081,829	0,015473	-

^aVolcano plot verileri ^bLipid Maps veri tabanından elde edilen lipid sınıfları FA: Yağ asidi, GL: Gliserolipid, GP: Gliserofosfolipid, SP: Sfingolipid, ST: Sterol lipid, PR: Prenol lipid.

Tablo 4.1.'de; volcano plot verilerinden elde edilen ve anlamlı olarak değişen ($p < 0.05$) 22 adet m/z değerinin Lipid Maps veri tabanından elde edilen Lipid sınıfları **Tablo 4.2.**'de ayrıntılı olarak verilmiştir. m/z değerleri 112.0763, 222.1596 ve 1081.829 olan türlerin lipid sınıfı belirlenememiştir. m/z değerleri 705.5829, 752.5568, 781.5661, 801.6799, 815.6856 ve 836.6111 olan türler ise birden farklı sınıftaki lipid türlerine karşılık gelmiştir. **Şekil 4.8.**'de y ekseninde görülen m/z değerleri TB hastaları ve kontroller arasında anlamlı olarak ($p < 0.05$) değişen lipid türlerine karşılık gelmektedir. TB hastaları kontrollerle karşılaştırıldığında, 14 lipid türünün (m/z değerleri sırasıyla; 225.2064, 964.7777, 1066.845, 801.6799, 1067.849, 753.5614, 1080.825, 978.7577, 705.5829, 1081.829, 496.3457, 752.5568, 815.856 ve 524.3699) TB hastalarında daha yüksek (kırmızı renk), 8 lipid türünün ise (m/z değerleri sırasıyla; 222.1596, 781.5661, 149.1066, 192.1439, 176.1181, 836.6111,

217.1063 ve 112.0763) TB hastalarında daha düşük düzeyde (yeşil renk) bulunduğu belirlenmiştir. m/z değeri 225.2064 olan FA, 964.77765, 1066.84525, 753.5614, 496.3457 ve 524.3699 olan GP'ler, 1067.8487 olan ST, 1080.8253 olan SP ve 978.7577 olan PR lipid türlerinin TB hastalığında kontrollerle karşılaştırıldığında daha yüksek düzeylerde buldukları belirlenmiştir. m/z değerleri 149.1066, 192.1439, 176.1181 ve 217.1063 olan FA lipid türlerinin ise TB hastalarında kontrollere göre daha düşük düzeylerde buldukları belirlenmiştir. TB hastalığına bağlı olarak artış ve azalış gösteren bu lipid türleri TB hastalığı için lipid biyobelirteçleri olarak öngörülebilmektedir.



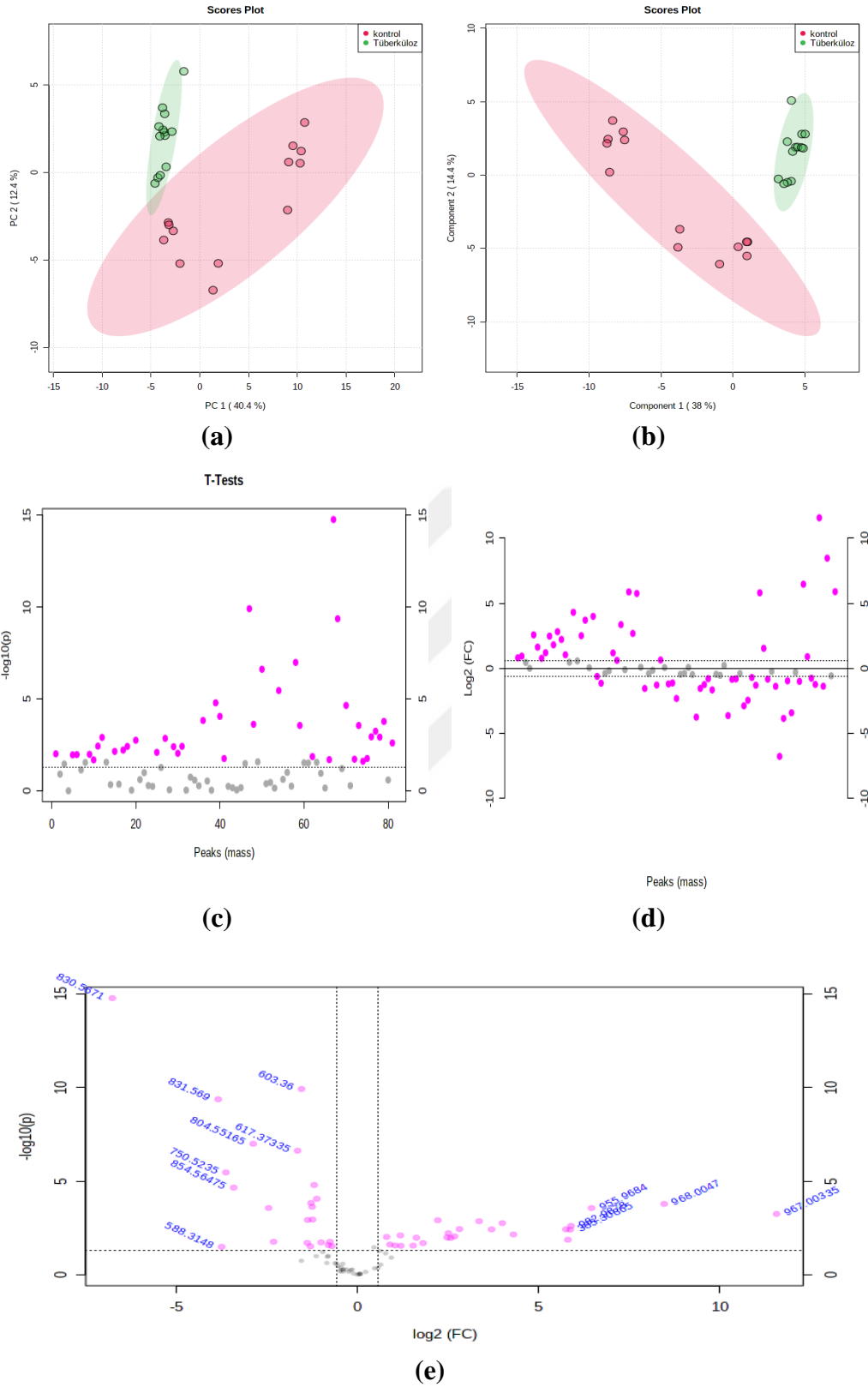
Şekil 4.8. TB Hastaları ve Kontroller Arasında Değişen Lipid Türleri İçin VIP Skor Grafiği (Pozitif iyon modu) ($p < 0.05$)

Tablo 4.2. TB Hastaları ve Kontrollerin Pozitif İyon Modu Lipid Profil Değişimi [M+H]⁺

m/z (Giriş)^a	m/z (Tam) (± 0.1)^b	Lipid Sınıfı^b	Formülü^b
149,1066	149,0808	FA	C ₆ H ₁₃ O ₄
	149,0444	FA	C ₅ H ₉ O ₅
	149,0267	FA	C ₅ H ₉ O ₃ S
	149,0081	FA	C ₄ H ₅ O ₆
	149,1172	FA	C ₇ H ₁₇ O ₃
	149,0961	FA	C ₁₀ H ₁₃ O
	149,0631	FA	C ₆ H ₁₃ O ₂ S
	149,0419	FA	C ₉ H ₉ S
176,1181	176,0553	FA	C ₆ H ₁₀ NO ₅
192,1439	192,0866	FA	C ₇ H ₁₄ NO ₅
217,1063	217,1223	FA	C ₁₄ H ₁₇ O ₂
	217,1798	FA	C ₁₂ H ₂₅ O ₃
	217,1434	FA	C ₁₁ H ₂₁ O ₄
	217,1183	FA	C ₉ H ₁₇ N ₂ O ₄
	217,014	FA	C ₁₂ H ₉ S ₂
225,2064	225,1485	FA	C ₁₃ H ₂₁ O ₃
	225,1849	FA	C ₁₄ H ₂₅ O ₂
	225,2213	FA	C ₁₅ H ₂₉ O
496,3457	496,3398	GP	C ₂₄ H ₅₁ NO ₇ P
	496,3761	GP	C ₂₅ H ₅₅ NO ₆ P
	496,267	GP	C ₂₂ H ₄₃ NO ₉ P
524,3699	524,3711	GP	C ₂₆ H ₅₅ NO ₇ P
	524,4074	GP	C ₂₇ H ₅₉ NO ₆ P
	524,3347	GP	C ₂₅ H ₅₁ NO ₈ P
	524,2983	GP	C ₂₄ H ₄₇ NO ₉ P
705,5829	705,6391	GL	C ₄₅ H ₈₅ O ₅
	705,6028	GL	C ₄₄ H ₈₁ O ₆
	705,5065	GP	C ₃₈ H ₇₄ O ₉ P
	705,5429	GP	C ₃₉ H ₇₈ O ₈ P
	705,5793	GP	C ₄₀ H ₈₂ O ₇ P
	705,4854	GP	C ₄₁ H ₇₀ O ₇ P
	705,5905	SP	C ₃₉ H ₈₂ N ₂ O ₆ P
	705,5541	SP	C ₃₈ H ₇₈ N ₂ O ₇ P
	705,6544	ST	C ₄₉ H ₈₅ O ₂
	705,5816	ST	C ₄₇ H ₇₇ O ₄
	705,6544	ST	C ₄₉ H ₈₅ O ₂

m/z (Giriş) ^a	m/z (Tam) (± 0.1) ^b	Lipid Sınıfı ^b	Formülü ^b
752,5568	752.5225	GP	C ₄₂ H ₇₅ NO ₈ P
	752.5589	GP	C ₄₃ H ₇₉ NO ₇ P
	752.6035	SP	C ₄₄ H ₈₂ NO ₈
753,5614	753,4701	GP	C ₄₁ H ₇₀ O ₁₀ P
	753,5065	GP	C ₄₂ H ₇₄ O ₉ P
	753,4912	GP	C ₃₈ H ₇₄ O ₁₂ P
	753,5429	GP	C ₄₃ H ₇₈ O ₈ P
781,5661	781,513	GL	C ₄₀ H ₇₇ O ₁₂ S
	781,5014	GP	C ₄₃ H ₇₄ O ₁₀ P
	781,5378	GP	C ₄₄ H ₇₈ O ₉ P
	781,5225	GP	C ₄₀ H ₇₈ O ₁₂ P
	781,5742	GP	C ₄₅ H ₈₂ O ₈ P
	781,4779	GP	C ₃₉ H ₇₅ O ₁₁ P ₂
	781,5765	PR	C ₅₂ H ₇₇ O ₅
	781,6129	PR	C ₅₃ H ₈₁ O ₄
	781,5977	ST	C ₄₉ H ₈₁ O ₇
801,6799	801,6967	GL	C ₅₁ H ₉₃ O ₆
	801,6368	GP	C ₄₆ H ₉₀ O ₈ P
	801,6844	SP	C ₄₆ H ₉₄ N ₂ O ₆ P
	801,6603	ST	C ₅₀ H ₈₉ O ₇
815,6856	815,7123	GL	C ₅₂ H ₉₅ O ₆
	815,616	GP	C ₄₆ H ₈₈ O ₉ P
	815,6524	GP	C ₄₇ H ₉₂ O ₈ P
	815,7	SP	C ₄₇ H ₉₆ N ₂ O ₆ P
	815,6759	ST	C ₅₁ H ₉₁ O ₇
836,6111	836,5647	GL	C ₄₃ H ₈₃ NO ₁₂ P
	836,6164	GP	C ₄₈ H ₈₇ NO ₈ P
	836,5225	GP	C ₄₉ H ₇₅ NO ₈ P
	836,5436	GP	C ₄₆ H ₇₉ NO ₁₀ P
	836,6094	SP	C ₄₄ H ₈₆ NO ₁₃
964,7777	964,7729	GP	C ₅₇ H ₁₀₇ NO ₈ P
978,7577	978,731	PR	C ₆₀ H ₁₀₁ NO ₇ P
1066,845	1066,7318	GP	C ₅₉ H ₁₀₅ NO ₁₃ P
1067,849	1067,5633	ST	C ₅₁ H ₈₇ O ₂₃
1080,825	1080,7404	SP	C ₅₆ H ₁₀₆ NO ₁₈

^aVolcano plot analizi sonucu TB hastaları ve kontrollerin karşılaştırılmasıyla anlamlı olarak değişen m/z değerleri (p < 0.05) pozitif iyon modu [M+H]⁺ ^bAnlamlı olarak değişen lipid türlerinin m/z değerlerinin Lipid Maps taraması ile doğrulanması. FA: Yağ asidi, GL: Gliserolipid, GP: Gliserofosfolipid, SP: Sfingolipid, ST: Sterol lipid, PR: Prenol lipid.



Şekil 4.9. TB hastaları ve Kontrollerin Negatif İyon Modu **(a)** Temel Bileşen Analizi (2D-PCA), **(b)** Kısmi En Küçük Kareler Diskriminant En Küçük Kareler Diskriminant Analizi (2D-PLS-DA) **(c)** t-testi, **(d)** Kat Değişim (Fold change, FC) ve **(e)** Volcano Plot (VC) Grafikleri

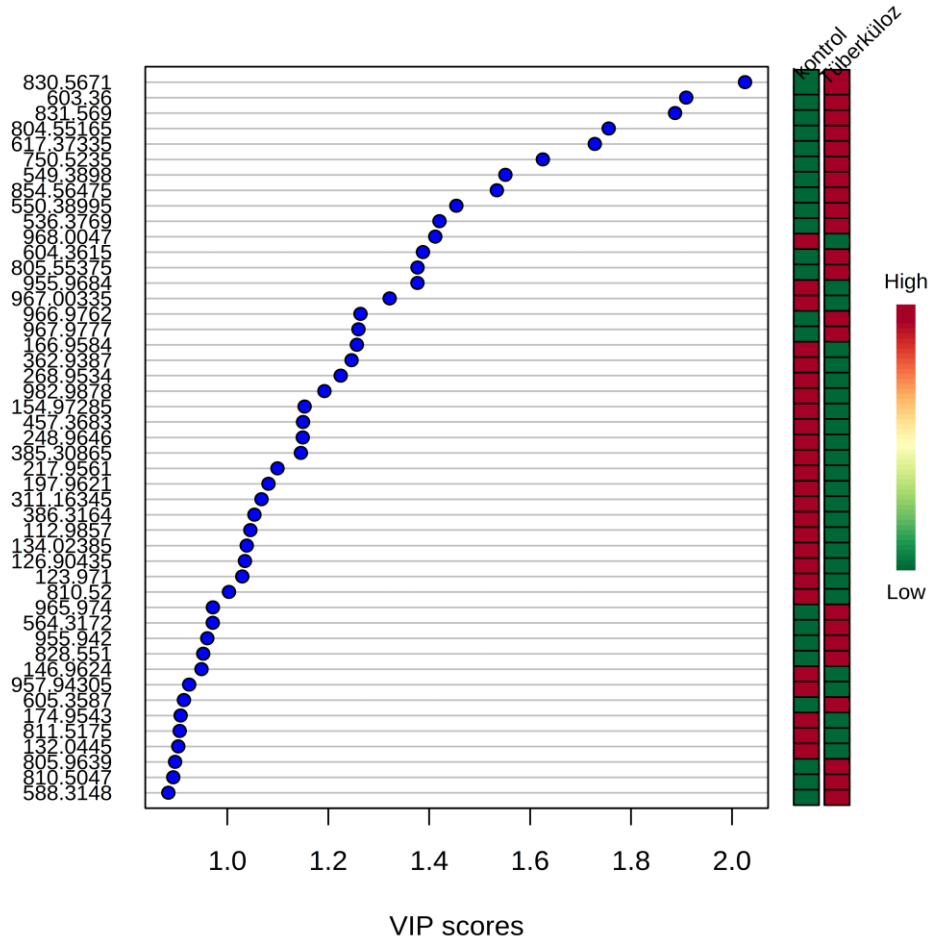
Tablo 4.3. TB Hastaları ve Kontroller Arasında Değişen Lipid Türleri ve Sınıfları (Negatif İyon Modu; p<0.05)

m/z ^a	p değeri ^a	Lipid sınıfı ^b
112,9857	0,009576	FA
123,9710	0,010927	-
126,9044	0,01047	FA
132,0445	0,028236	-
134,0239	0,010165	FA
146,9624	0,020389	FA
154,9729	0,003641	FA
166,9584	0,001229	FA
174,9543	0,027345	FA
197,9621	0,007048	-
217,9561	0,006016	FA
248,9646	0,003772	FA
268,9534	0,001751	FA, ST
311,1635	0,007942	-
362,9387	0,001383	-
385,3087	0,00391	FA, GL, ST
386,3164	0,008952	FA, ST
457,3683	0,003752	PR, ST
536,3769	0,000146	GP
549,3898	1,61E-05	FA, GL, PR, ST
550,3900	8,78E-05	GP, SP
564,3172	0,017273	GP
588,3148	0,032272	-
603,3600	1,21E-10	GP, ST, SP
604,3615	0,000235	GP
605,3587	0,02614	FA, GP, ST
617,3734	2,38E-07	FA, GP, SP, ST
750,5235	3,44E-06	GP, SP
804,5517	1,01E-07	GP, SP
805,5538	0,000273	GL, GP, ST
805,9639	0,029486	GL, GP
810,5047	0,030227	GP
810,5200	0,013496	GP
811,5175	0,02771	GP, PR
828,5510	0,019878	GP
830,5671	1,7E-15	GP
831,5690	4,29E-10	GL, GP, PR
854,5648	2,22E-05	GP
955,9420	0,018739	FA, GL
955,9684	0,000274	FA, GL
957,9431	0,024291	GL
965,9740	0,017244	FA, GL
966,9762	0,001132	--
967,0034	0,000565	--
967,9777	0,001185	GL
968,0047	0,000166	GL
982,9878	0,002459	SP

^aVolcano plot veriler ^bLipid Maps veri tabanından elde edilen lipid sınıfları. FA: Yağ asidi, GL: Gliserolipid, GP: Gliserofosfolipid, SP: Sfingolipid, ST: Sterol lipid, PR: Prenol lipid.

Tablo 4.3.'de; volcano plot analizine göre anlamlı ($p<0.05$) olarak değişen 47 adet m/z değerinin Lipid Maps veri tabanından elde edilen Lipid sınıfları **Tablo 4.4.**'de ayrıntılı olarak verilmiştir. m/z değerleri 123.9710, 132.0445, 197.9621, 311.1635, 362.9387, 588.3148, 966.9762, ve 967.0034 olan türlerin lipid sınıfı belirlenememiştir. m/z değerleri 268.9534, 385.3087, 386.3164, 457.3683, 549.3898, 550.3900, 603.3600, 605.3587, 617.3734, 750.5235, 804.5517, 805.5538, 805.9639, 811.5175, 831.5690, 955.9420, 955.9684, 965.9740 olan lipid türleri ise birden farklı sınıftaki lipid türlerine karşılık gelmiştir.

Şekil 4.10.'da y ekseninde görülen m/z değerleri TB hastaları ve kontroller arasında anlamlı olarak ($p<0.05$) değişen lipid türlerine karşılık gelmektedir. TB hastaları kontrollerle karşılaştırıldığında, 20 lipid türünün (m/z değerleri sırasıyla; 830.5671, 603.3600, 831.5690, 804.5517, 617.3734, 750.5235, 549.3898, 854.5648, 550.3900, 536.3769, 604.3615, 805.5538, 967.9777, 965.9740, 564.3172, 955.9420, 828.5510, 605.3587, 805.9639 ve 810.5047) TB hastalarında daha yüksek düzeyde (kırmızı renk), 19 lipid türünün ise (m/z değerleri sırasıyla; 968.0047, 955.9684, 166.9584, 268.9534, 982.9878, 154.9729, 457.3683, 248.9646, 385.3087, 217.9561, 386.3164, 112.9857, 134.0239, 126.9044, 810.5200, 146.9624, 957.9431, 174.9543 ve 811.5175) TB hastalarında daha düşük düzeyde (yeşil renk) bulunduğu belirlenmiştir. m/z değerleri 830.5671, 854.5648, 536.3769, 604.3615, 564.3172, 828.551 ve 810.5047 olan GP sınıfı lipid türleri ve m/z değeri 967.9777 olan GL sınıfı lipid türünün (toplam 8 lipid türü) TB hastalarında daha yüksek düzeyde buldukları saptanmıştır. m/z değerleri 968.0047 ve 957.9431 olan GL sınıfı lipid türlerinin, m/z değerleri 166.9584, 154.97285, 248.9646, 217.9561, 112.9857, 134.02385, 126.90435, 146.9624 ve 174.9543 olan FA sınıfı lipid türlerinin, m/z değeri 982.9878 olan sfingolipid ve m/z değeri 810.52 olan gliserofosfolip sınıfı lipid türlerinin ise (toplam 13 lipid türü) TB hastalarında daha düşük düzeylerde buldukları saptanmıştır. Artış ve azalışın gözleendiği bu lipidler TB hastalığı için biyobelirteç olma potansiyeline sahiptirler.



Şekil 4.10. TB Hastaları ve Kontroller Arasında Değişen Lipid Türleri İçin VIP Skor Grafiği (Negatif iyon modu) ($p < 0.05$)

Tablo 4.4. TB Hastaları ve Kontrollerin Negatif İyon Modu Lipid Profil Değişimi [M-H]⁻

m/z (Giriş) ^a	m/z (Tam) (± 0.1) ^b	Lipid Sınıfı ^b	Formülü ^b
112,9857	113,0608	FA	C ₆ H ₉ O ₂
	113,0244	FA	C ₅ H ₅ O ₃
126,90435	126,9359	FA	C ₂ HO ₂ C ₁₂
	127,0037	FA	C ₅ H ₃ O ₄
134,02385	134,0459	FA	C ₄ H ₈ NO ₄
146,9624	147,0299	FA	C ₅ H ₇ O ₅
	147,0121	FA	C ₅ H ₇ O ₃ S
	146,9935	FA	C ₄ H ₃ O ₆
	147,0485	FA	C ₆ H ₁₁ O ₂ S
	147,0274	FA	C ₉ H ₇ S
154,97285	155,0714	FA	C ₈ H ₁₁ O ₃

m/z (Giriş)^a	m/z (Tam) (± 0.1)^b	Lipid Sınıfı^b	Formülü^b
166,9584	167,0172	FA	C ₈ H ₇ O ₂ S
174,9543	175,0401	FA	C ₁₀ H ₇ O ₃
	174,9804	FA	C ₆ H ₄ O ₄ Cl
	175,0248	FA	C ₆ H ₇ O ₆
217,9561	217,8834	FA	C ₂ H ₂ NO ₁ Cl
248,9646	249,0496	FA	C ₁₀ H ₁₈ O ₂
	249,005	FA	C ₁₂ H ₉ O ₂ S ₂
311,16345	311,1864	FA	C ₁₇ H ₂₇ O ₅
	311,2592	FA	C ₁₉ H ₃₅ O ₃
	311,2228	FA	C ₁₈ H ₃₁ O ₄
	311,2017	ST	C ₂₁ H ₂₇ O ₂
385,30865	385,3112	FA	C ₂₆ H ₄₁ O ₂
	385,2232	FA	C ₂₀ H ₃₃ O ₇
	385,3072	FA	C ₂₁ H ₄₁ N ₂ O ₄
	385,3323	GL	C ₂₃ H ₄₅ O ₄
	385,2384	ST	C ₂₄ H ₃₃ O ₄
	385,3276	ST	C ₂₇ H ₄₂ F
386,3164	386,2337	FA	C ₂₃ H ₃₂ NO ₄
	386,3065	FA	C ₂₅ H ₄₀ NO ₂
	386,2912	FA	C ₂₁ H ₄₀ NO ₅
	386,2734	FA	C ₂₁ H ₄₀ NO ₃ S
	386,2371	FA	C ₂₀ H ₃₆ NO ₄ S
	386,3428	ST	C ₂₆ H ₄₄ NO
457,3683	457,3687	PR	C ₃₀ H ₄₉ O ₃
	457,3323	ST	C ₂₉ H ₄₅ O ₄
536,3769	536,3358	GP	C ₂₆ H ₅₁ NO ₈ P
	536,3722	GP	C ₂₇ H ₅₅ NO ₇ P
	536,4086	GP	C ₂₈ H ₅₉ NO ₆ P
	536,2994	GP	C ₂₅ H ₄₇ NO ₉ P
549,3898	549,4677	FA	C ₃₈ H ₆₁ O ₂
	549,4525	GL	C ₃₄ H ₆₁ O ₅
	549,4888	GL	C ₃₅ H ₆₅ O ₄
	549,3562	GP	C ₂₈ H ₅₄ O ₈ P
	549,4102	PR	C ₄₀ H ₅₃ O
	549,4161	ST	C ₃₃ H ₅₇ O ₆
550,38995	550,3514	GP	C ₂₇ H ₅₃ NO ₈ P
	550,3878	GP	C ₂₈ H ₅₇ NO ₇ P
	550,3151	GP	C ₂₆ H ₄₉ NO ₉ P
	550,4841	SP	C ₃₄ H ₆₄ NO ₄
564,3172	564,3671	GP	C ₂₈ H ₅₅ NO ₈ P
	564,4035	GP	C ₂₉ H ₅₉ NO ₇ P

m/z	m/z (Tam) (± 0.1)^b	Lipid Sınıfı^b	Formülü^b
603,36	603,4031	GP	C ₃₂ H ₆₀ O ₈ P
	603,4395	GP	C ₃₃ H ₆₄ O ₇ P
	603,294	GP	C ₂₉ H ₄₈ O ₁₁ P
	603,4508	SP	C ₃₂ H ₆₄ N ₂ O ₆ P
	603,2811	ST	C ₃₂ H ₄₃ O ₁₁
604,3615	604,4348	GP	C ₃₂ H ₆₃ NO ₇ P
	604,3984	GP	C ₃₁ H ₅₉ NO ₈ P
	604,362	GP	C ₃₀ H ₅₅ NO ₉ P
	604,3256	GP	C ₂₉ H ₅₁ NO ₁₀ P
605,3587	605,4575	FA	C ₄₀ H ₆₁ O ₄
	605,4188	GP	C ₃₂ H ₆₂ O ₈ P
	605,4552	GP	C ₃₃ H ₆₆ O ₇ P
	605,346	GP	C ₃₀ H ₅₄ O ₁₀ P
	605,3071	ST	C ₃₂ H ₄₃ O ₄ F ₆
617,37335	617,3906	FA	C ₃₂ H ₅₇ O ₁₁
	617,3516	FA	C ₂₇ H ₄₉ N ₆ O ₁₀
	617,4188	GP	C ₃₃ H ₆₂ O ₈ P
	617,4552	GP	C ₃₄ H ₆₆ O ₇ P
	617,346	GP	C ₃₁ H ₅₄ O ₁₀ P
	617,43	SP	C ₃₂ H ₆₂ N ₂ O ₇ P
	617,3695	ST	C ₃₅ H ₅₃ O ₉
750,5235	750,5079	GP	C ₄₂ H ₇₃ NO ₈ P
	750,5443	GP	C ₄₃ H ₇₇ NO ₇ P
	750,4352	GP	C ₄₀ H ₆₅ NO ₁₀ P
	750,4927	SP	C ₃₈ H ₇₃ NO ₁₁ P
	750,5889	SP	C ₄₄ H ₈₀ NO ₈
804,55165	804,5549	GP	C ₄₆ H ₇₉ NO ₈ P
	804,6277	GP	C ₄₈ H ₈₇ NO ₆ P
	804,5913	GP	C ₄₇ H ₈₃ NO ₇ P
	804,4821	GP	C ₄₄ H ₇₁ NO ₁₀ P
	804,576	GP	C ₄₃ H ₈₃ NO ₁₀ P
	804,6124	GP	C ₄₄ H ₈₇ NO ₉ P
	804,5479	SP	C ₄₂ H ₇₈ NO ₁₃
805,55375	805,6352	GL	C ₅₂ H ₈₅ O ₆
	805,5964	GP	C ₄₄ H ₈₆ O ₁₀ P
	805,5025	GP	C ₄₅ H ₇₄ O ₁₀ P
	805,6328	GP	C ₄₅ H ₉₀ O ₉ P
	805,5389	GP	C ₄₆ H ₇₈ O ₉ P
	805,4873	GP	C ₄₁ H ₇₄ O ₁₃ P
	805,5236	GP	C ₄₂ H ₇₈ O ₁₂ P
	805,5753	GP	C ₄₇ H ₈₂ O ₈ P
	805,5988	ST	C ₅₁ H ₈₁ O ₇
805,9639	805,7291	GL	C ₅₁ H ₉₇ O ₆
	805,6692	GP	C ₄₆ H ₉₄ O ₈ P

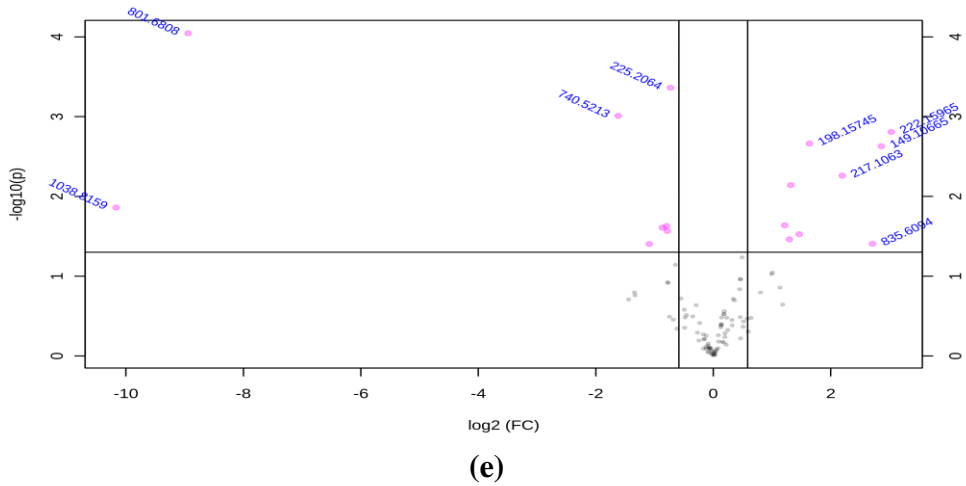
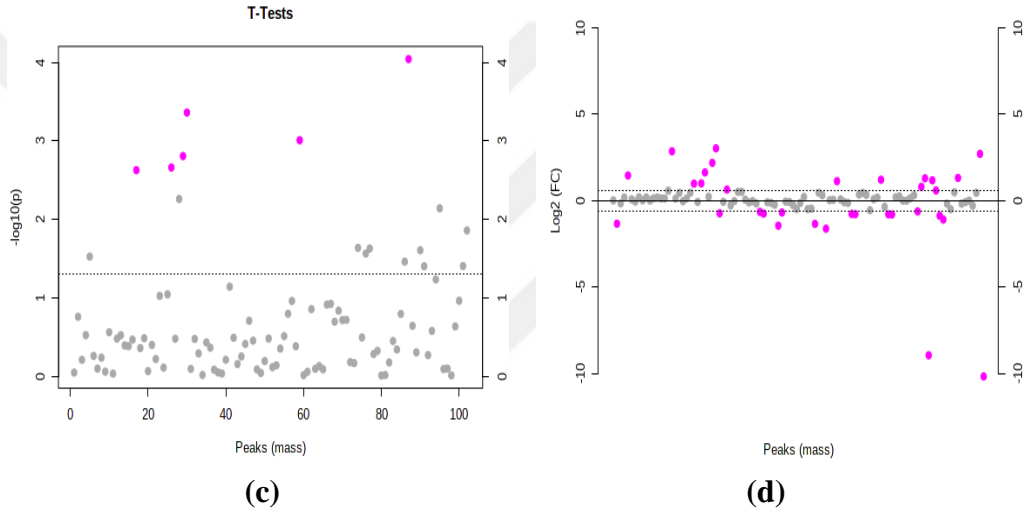
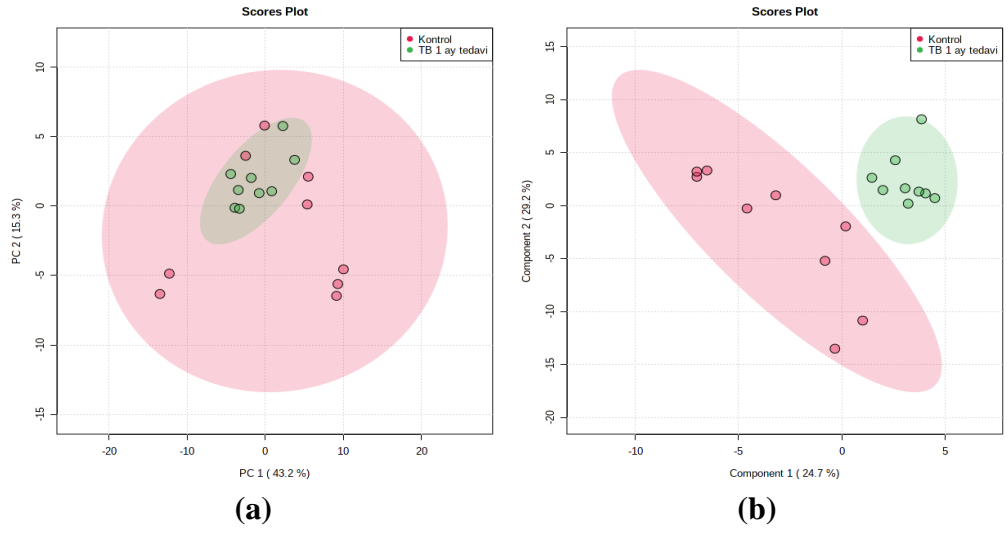
m/z (Giriş) ^a	m/z (Tam) (± 0.1) ^b	Lipid Sınıfı ^b	Formülü ^b
810,5047	810,6018	GP	C ₄₆ H ₈₅ NO ₈ P
	810,5079	GP	C ₄₇ H ₇₃ NO ₈ P
	810,5291	GP	C ₄₄ H ₇₇ NO ₁₀ P
811,5175	811,5495	GP	C ₄₅ H ₈₀ O ₁₀ P
	811,5859	GP	C ₄₆ H ₈₄ O ₉ P
	811,4486	PR	C ₄₂ H ₆₇ O ₁₅
	811,5882	PR	C ₅₃ H ₇₉ O ₆
828,551	828,5549	GP	C ₄₈ H ₇₉ NO ₈ P
	828,6488	GP	C ₄₇ H ₉₁ NO ₈ P
	828,576	GP	C ₄₅ H ₈₃ NO ₁₀ P
	828,4821	GP	C ₄₆ H ₇₁ NO ₁₀ P
	828,6124	GP	C ₄₆ H ₈₇ NO ₉ P
	828,5396	GP	C ₄₄ H ₇₉ NO ₁₁ P
830,5671	830,5705	GP	C ₄₈ H ₈₁ NO ₈ P
	830,6644	GP	C ₄₇ H ₉₃ NO ₈ P
	830,5917	GP	C ₄₅ H ₈₅ NO ₁₀ P
	830,4978	GP	C ₄₆ H ₇₃ NO ₁₀ P
	830,6281	GP	C ₄₆ H ₈₉ NO ₉ P
	830,5553	GP	C ₄₄ H ₈₁ NO ₁₁ P
831,569	831,6508	GL	C ₅₄ H ₈₇ O ₆
	831,6121	GP	C ₄₆ H ₈₈ O ₁₀ P
	831,6485	GP	C ₄₇ H ₉₂ O ₉ P
	831,5029	GP	C ₄₃ H ₇₆ O ₁₃ P
	831,5393	GP	C ₄₄ H ₈₀ O ₁₂ P
	831,6661	PR	C ₅₈ H ₈₇ O ₃
854,56475	854,6644	GP	C ₄₉ H ₉₃ NO ₈ P
	854,5705	GP	C ₅₀ H ₈₁ NO ₈ P
	854,5917	GP	C ₄₇ H ₈₅ NO ₁₀ P
	854,4978	GP	C ₄₈ H ₇₃ NO ₁₀ P
	854,6281	GP	C ₄₈ H ₈₉ NO ₉ P
955,9684	955,9791	FA	C ₆₅ H ₁₂₇ O ₃
	955,8699	GL	C ₆₂ H ₁₁₅ O ₆
957,94305	957,8856	GL	C ₆₂ H ₁₁₇ O ₆
965,974	966,1553	FA	C ₃₃ H ₄₃ N ₇ O ₁₉ P
	965,8543	GL	C ₆₃ H ₁₁₃ O ₆
968,0047	967,8699	GL	C ₆₃ H ₁₁₅ O ₆
982,9878	982,9172	SP	C ₆₄ H ₁₂₀ NO ₅

^aVolcano plot analizi sonucu TB hastaları ve kontrollerin karşılaştırılmasıyla anlamlı olarak değişen m/z değerleri ($p < 0.05$) negatif iyon modu [M-H]⁻. ^bAnlamlı olarak değişen lipid türlerinin m/z değerlerinin Lipid Maps taraması ile doğrulanması. FA: Yağ asidi, GL: Gliserolipid, GP: Gliserofosfolipid, SP: Sfingolipid, ST: Sterol lipid, PR: Prenol lipid

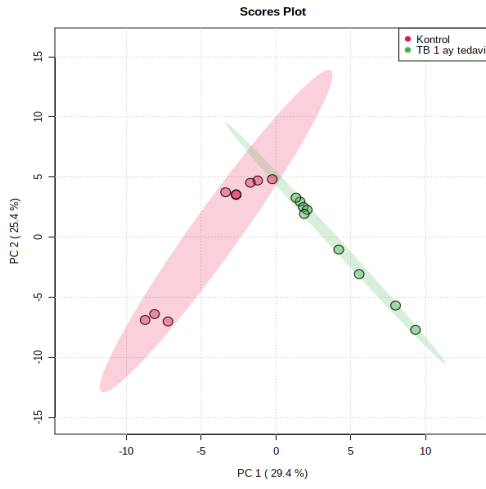
Tablo 4.5. TB Hastaları ve Kontroller Arasında Artış ve Azalış Gözlenen Lipid Türleri (p<0.05)

	FA	GP	GL	SP	ST	PR
Artış	225.2064	496.3457	967.9777	1080.8253	1067.8487	978.757
		524.3699				
		753.5614				
		964.77765				
		1066.8452				
		830.5671				
		854.5648				
		536.3769				
		604.3615				
		564.3172				
		828.551				
	810.5047					
Azalış	149.1066	810.52	968.0047	982.9878		
	176.1181		957.9431			
	192.1439					
	217.1063					
	166.9584					
	154.97285					
	248.9646					
	217.9561					
	112.9857					
	134.02385					
	126.90435					
	146.9624					
	174.9543					

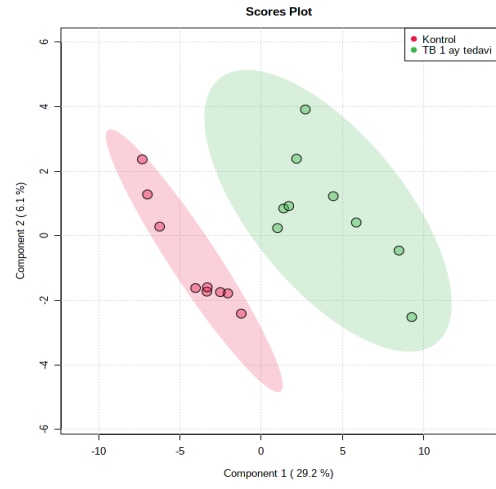
FA: Yağ asidi, GL: Gliserolipid, GP: Gliserofosfolipid, SP: Sfingolipid, ST: Sterol lipid, PR: Prenol lipid, PK: Poliketit Lipid.



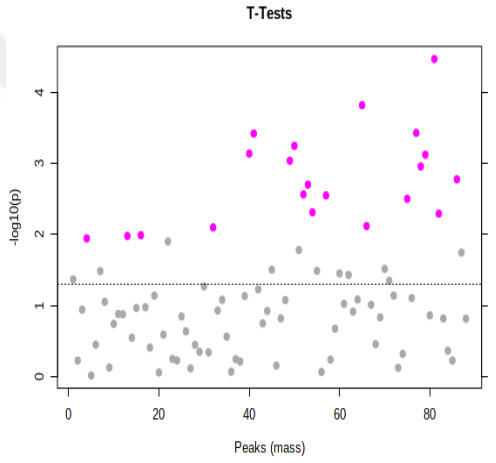
Şekil 4.11. Bir Aylık Tedavi Sürecini Tamamlayan TB Hastaları ve Kontrollerin Pozitif İyon Modu **(a)** Temel Bileşen Analizi (2D-PCA), **(b)** Kısmi En Küçük Kareler Diskriminant Analizi (2D-PLS-DA) **(c)** t-testi, **(d)** Kat Değişim (Fold change, FC) ve **(e)** Volcano Plot (VC) Grafikleri



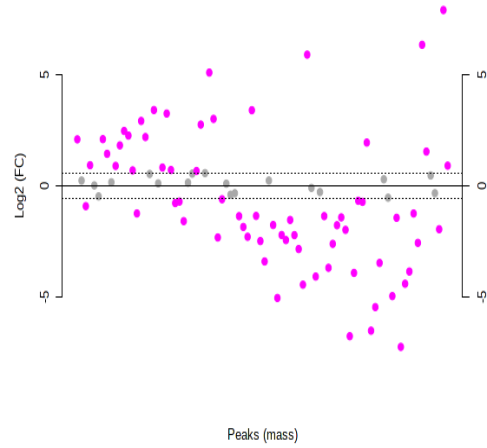
(a)



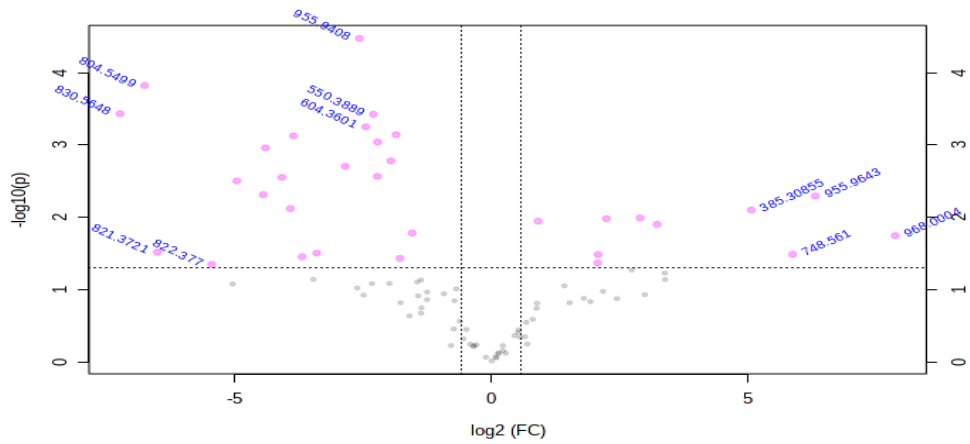
(b)



(c)



(d)



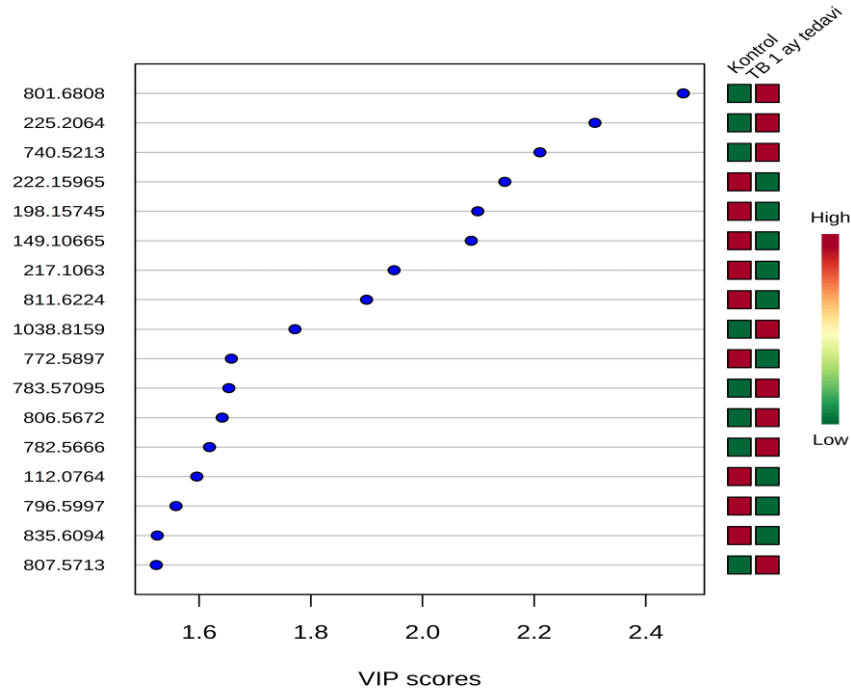
(e)

Şekil 4.12. Bir Aylık Tedavi Sürecini Tamamlayan TB Hastaları ve Kontrollerin Negatif İyon Modu (a) Temel Bileşen Analizi (2D-PCA), (b) Kısmi En Küçük Kareler Diskriminant Analizi (2D-PLS-DA) (c) t-testi, (d) Kat Değişim (Fold change, FC) ve (e) Volcano Plot (VC) Grafikleri

Tablo 4.6. Bir Aylık Tedavi Sürecini Tamamlayan TB Hastaları ve Kontroller Arasında Değişen Lipid Türleri ve Sınıfları (Pozitif iyon modu; $p < 0.05$)

m/z ^a	p değeri ^a	Lipid sınıfı ^b
112,0764	0,029775	-
149,1067	0,002352	FA
198,1575	0,002177	-
217,1063	0,005491	FA, PR
222,1597	0,001556	-
225,2064	0,000434	FA
740,5213	0,000977	GP, SP
772,5897	0,02304	GL, GP, SP
782,5666	0,027141	GP, SP
783,571	0,023488	GL, GP, SP, ST
796,5997	0,03451	GP, SP
801,6808	9,02E-05	GL, GP, SP, ST
806,5672	0,024699	GP, SP
807,5713	0,039495	GL, GP, ST
811,6224	0,007216	GL, GP, SP, ST
835,6094	0,039246	GL, GP, PR, ST
1038,816	0,01381	SP

^aVolcano plot veriler ^bLipid Maps veri tabanından elde edilen lipid sınıfları. FA: Yağ asidi, GL: Gliserolipid, GP: Gliserofosfolipid, SP: Sfingolipid, ST: Sterol lipid, PR: Prenol lipid.

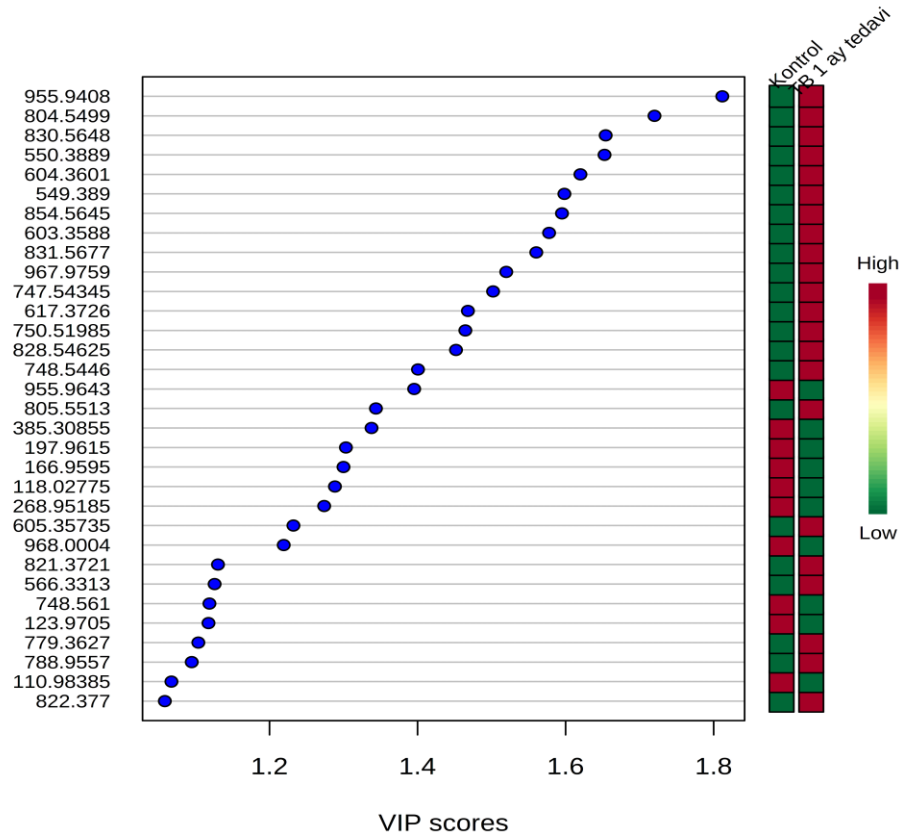


Şekil 4.13. Bir Aylık Tedavi Sürecini Tamamlayan TB Hastaları ve Kontroller Arasında Anlamlı Olarak Değişen ($p < 0.05$) Lipid Türleri İçin VIP Skor Grafiği, Pozitif İyon Modu

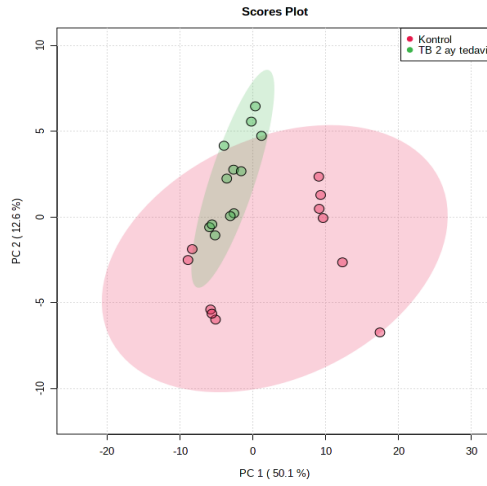
Tablo 4.7. Bir Aylık Tedavi Sürecini Tamamlayan TB Hastaları ve Kontroller Arasında Değişen Lipid Türleri ve Sınıfları (Negatif iyon modu; p<0.05)

m/z ^a	p değeri ^a	Lipid sınıfı ^b
110,9839	0,042836	FA
118,0278	0,011337	-
123,9705	0,032735	-
166,9595	0,010457	FA
197,9615	0,010215	FA
268,9519	0,01253	PK
385,3086	0,007944	FA, GL, PK, ST
549,389	0,000723	FA, GL, GP, PR, ST
550,3889	0,000377	GP, SP
566,3313	0,031264	GP
603,3588	0,000911	GP, SP, ST
604,3601	0,000562	GP
605,3574	0,016495	GP, PK, ST
617,3726	0,002721	FA, GP, SP, ST
747,5435	0,001981	GP, PK, PR
748,5446	0,004867	GP
748,561	0,032504	GP, PR
750,5199	0,002808	GP, SP
779,3627	0,035298	GP, ST
788,9557	0,037046	-
804,5499	0,000151	GP, SP
805,5513	0,007597	GL, GP, ST
821,3721	0,030473	GP, PK, PR
822,377	0,04486	GP, SP
828,5463	0,003145	GP
830,5648	0,00037	GP
831,5677	0,001099	GL, GP, PR
854,5645	0,000751	GP
955,9408	3,37E-05	FA, GL
955,9643	0,005076	FA, GL
967,9759	0,001665	GL
968,0004	0,017935	GL

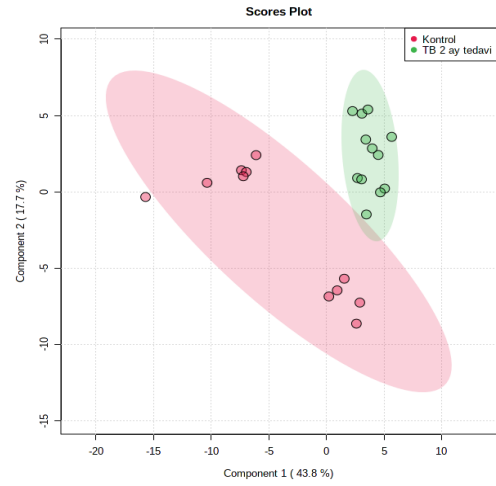
^aVolcano plot veriler ^bLipid Maps veri tabanından elde edilen lipid sınıfları. FA: Yağ asidi, GL: Gliserolipid, GP: Gliserofosfolipid, SP: Sfingolipid, ST: Sterol lipid, PR: Prenol lipid, PK: Poliketit lipid.



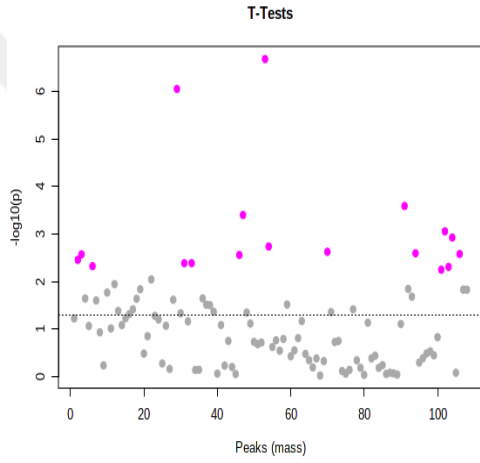
Şekil 4.14. Bir Aylık Tedavi Sürecini Tamamlayan TB Hastaları ve Kontroller Arasında Anlamlı Olarak Değişen ($p < 0.05$) Lipid Türleri İçin VIP Skor Grafiği Negatif İyon Modu



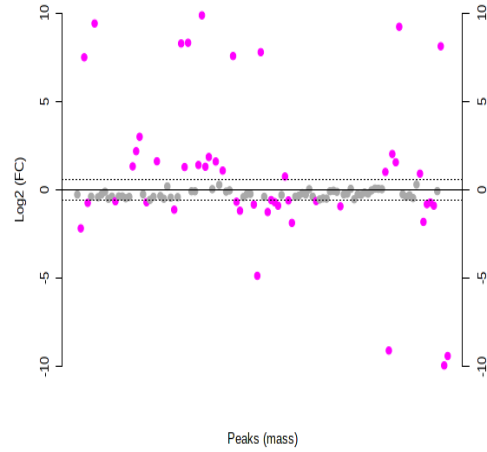
(a)



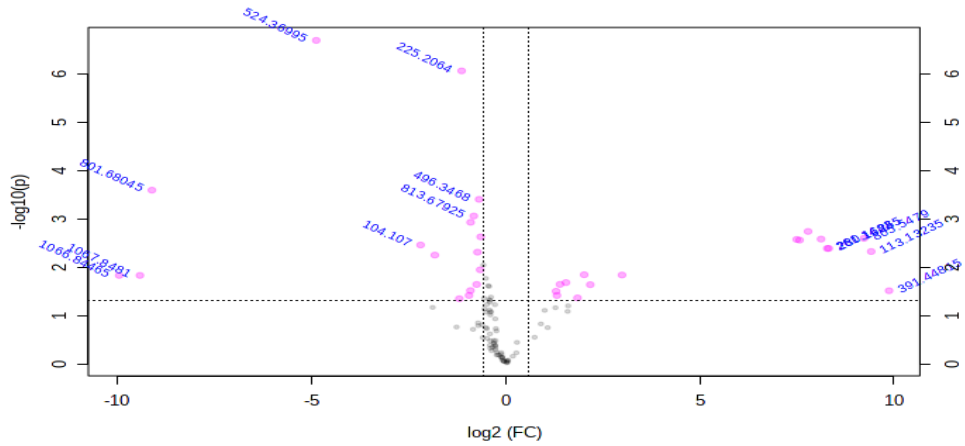
(b)



(c)

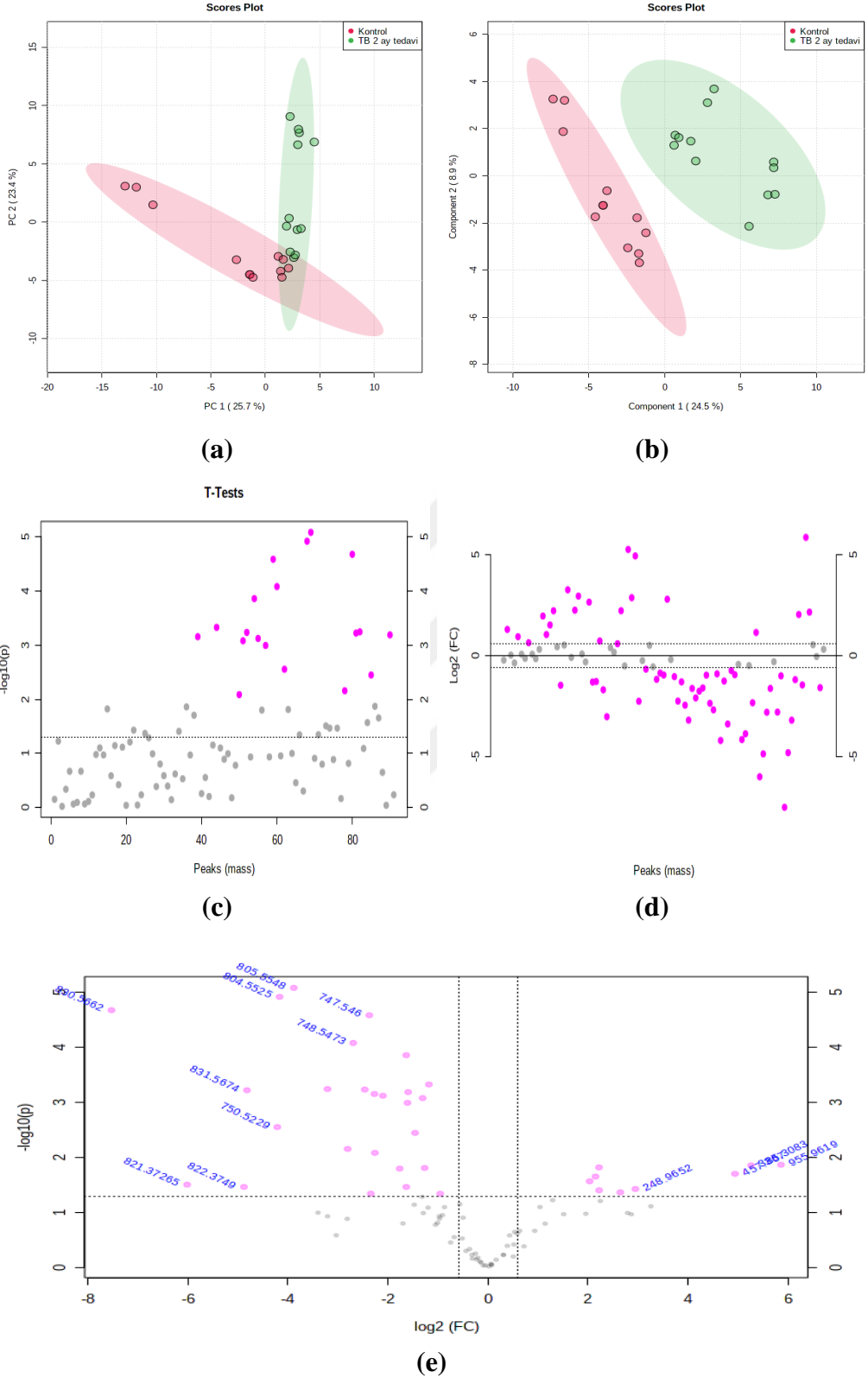


(d)



(e)

Şekil 4.15. İki Aylık Tedavi Sürecini Tamamlayan TB Hastaları ve Kontrollerin Pozitif İyon Modu (a) Temel Bileşen Analizi (2D-PCA), (b) Kısmi En Küçük Kareler Diskriminant Analizi (2D-PLS-DA) (c) t-testi, (d) Kat Değişim (Fold change, FC) ve (e) Volcano Plot (VC) Grafikleri



Şekil 4.16. İki Aylık Tedavi Sürecini Tamamlayan TB Hastaları ve Kontrollerin Negatif İyon Modu **(a)** Temel Bileşen Analizi (2D-PCA), **(b)** Kısmi En Küçük Kareler Diskriminant Analizi (2D-PLS-DA) **(c)** t-testi, **(d)** Kat Değişim (Fold change, FC) ve **(e)** Volcano Plot (VC) Grafikleri

Tablo 4.8. İki Aylık Tedavi Sürecini Tamamlayan TB Hastaları ve Kontroller Arasında Değişen Lipid Türleri ve Sınıfları (Pozitif iyon modu; p<0.05)

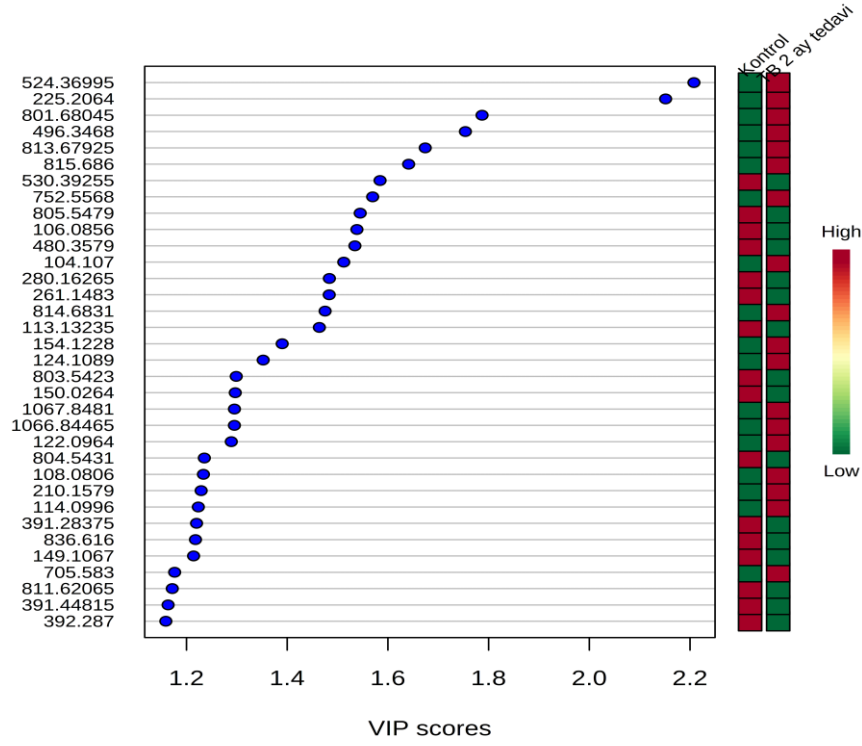
m/z ^a	p değeri ^a	Lipid sınıfı ^b
104,107	0,003488	FA
106,0856	0,002677	FA
108,0806	0,022844	-
113,1324	0,004757	FA
124,1089	0,011362	-
149,023	0,038601	FA
149,1067	0,023105	FA
150,0264	0,01459	-
225,2064	8,71E-07	FA
261,1483	0,004112	FA, PK, PR
280,1627	0,004102	FA
391,2838	0,022754	FA, PK, PR, ST
391,4482	0,0308	FA
392,287	0,03161	FA
393,29	0,043379	FA, GP, PK, ST
480,3579	0,002764	FA, GP, PK, SP
496,3468	0,000396	GP
497,3543	0,045093	FA, GP, ST
524,37	2,04E-07	FA, GP, SP
530,3926	0,001829	GP
705,583	0,03058	GL, GP, SP, ST
752,5568	0,002363	GP, SP
766,5495	0,038534	GP
801,6805	0,000256	GP, SP, ST
803,5423	0,014395	FA, GP, ST
804,5431	0,020893	GP, PK
805,5479	0,002541	FA, GL, GP
812,6057	0,005644	GL, GP, SP
813,6793	0,000876	GL, GP, PR, SP, ST
814,6831	0,004909	GL, GP, SP
815,686	0,001184	GL, GP, SP, ST
836,6162	0,002631	GL, GP, SP
1066,845	0,014861	GP
1067,848	0,01486	ST

^aVolcano plot veriler ^bLipid Maps veri tabanından elde edilen lipid sınıfları. FA: Yağ asidi, GL: Gliserolipid, GP: Gliserofosfolipid, SP: Sfingolipid, ST: Sterol lipid, PR: Prenol lipid.

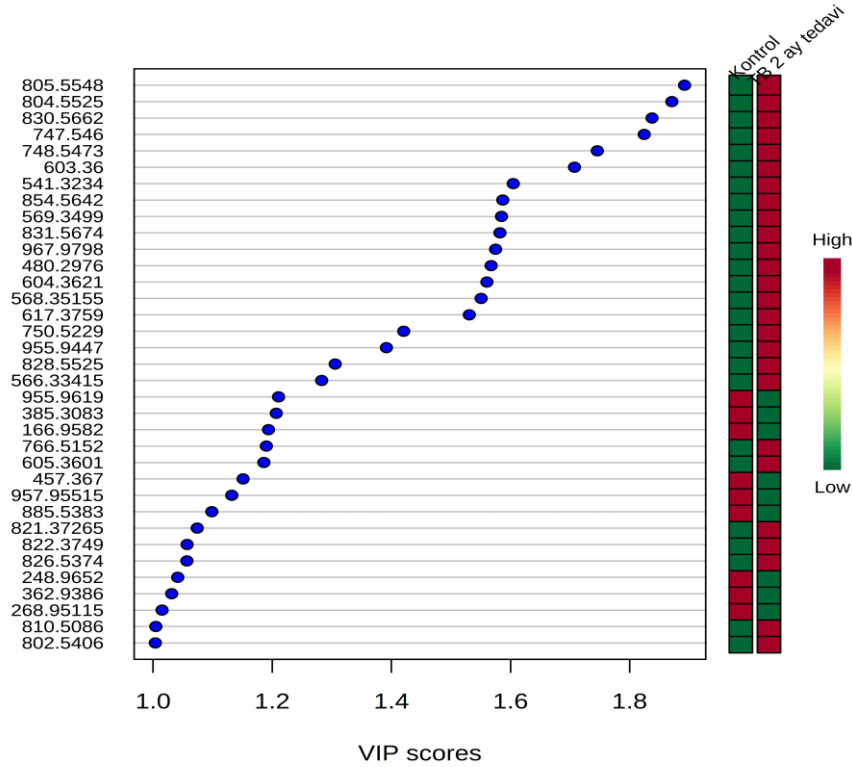
Tablo 4.9. İki Aylık Tedavi Sürecini Tamamlayan TB Hastaları ve Kontroller Arasında Değişen Lipid Türleri ve Sınıfları (Negatif iyon modu; p<0.05)

m/z ^a	p değeri ^a	Lipid sınıfı ^b
166,9582	0,015125	FA, PK
248,9652	0,037307	FA
268,9512	0,042927	PK
362,9386	0,039398	FA, PK
385,3083	0,013896	FA, GL, PK, ST
457,367	0,019795	PR, ST
480,2976	0,0007	FA, GP
541,3234	0,00047	FA, GP
566,3342	0,008234	GP
568,3516	0,000832	GP
569,3499	0,000582	FA, GP, PK, PR
603,36	0,000138	GP, SP, ST
604,3621	0,000754	GP
605,3601	0,015902	FA, GP, PK, ST
617,3759	0,001015	FA, GP, SP, ST
747,546	2,59E-05	GP, PK, PR
748,5473	8,28E-05	GP, PR
750,5229	0,002797	GP, SP
766,5152	0,01548	GP
802,5406	0,045539	GP, PK
804,5525	1,2E-05	GP, SP
805,5548	8,23E-06	GL, GP, ST
810,5086	0,04534	GP
821,3727	0,031139	GP, PK, PR
822,3749	0,034228	GP, SP
826,5374	0,034294	GP
828,5525	0,006979	GP
830,5662	2,1E-05	GP
831,5674	0,000599	GP, PR
854,5642	0,000569	GP
885,5383	0,027062	GL, GP, PK, ST
955,9447	0,003568	FA, GL
955,9619	0,013549	FA, GL
957,9552	0,022213	GL
967,9798	0,000647	GL

^aVolcano plot veriler ^bLipid Maps veri tabanından elde edilen lipid sınıfları. FA: Yağ asidi, GL: Gliserolipid, GP: Gliserofosfolipid, SP: Sfingolipid, ST: Sterol lipid, PR: Prenol lipid.

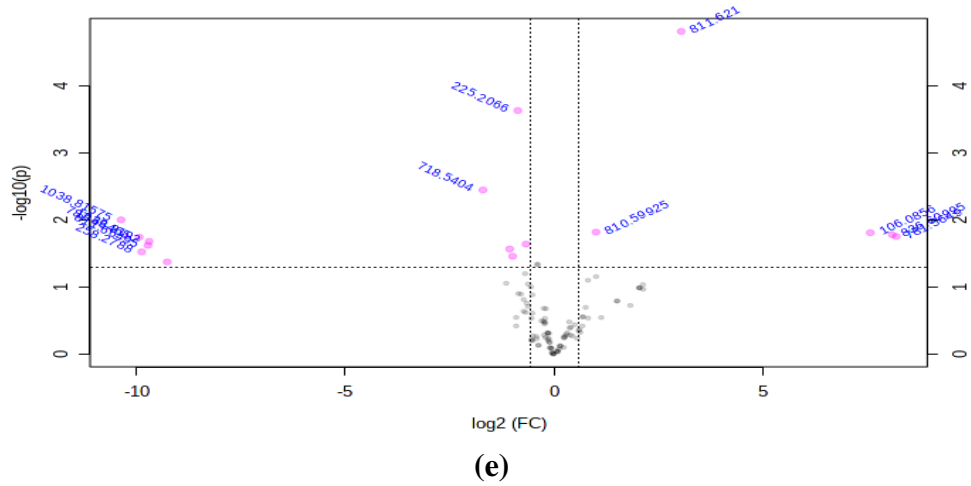
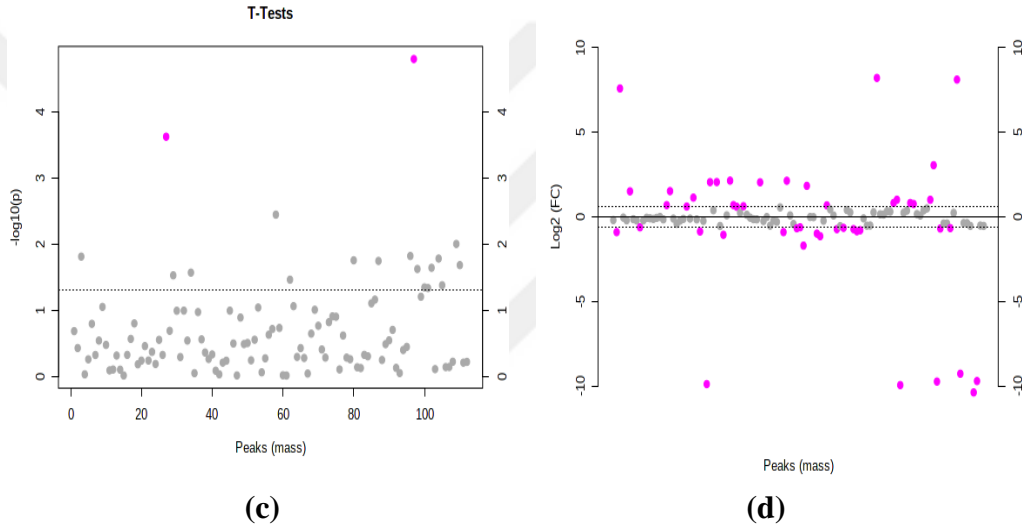
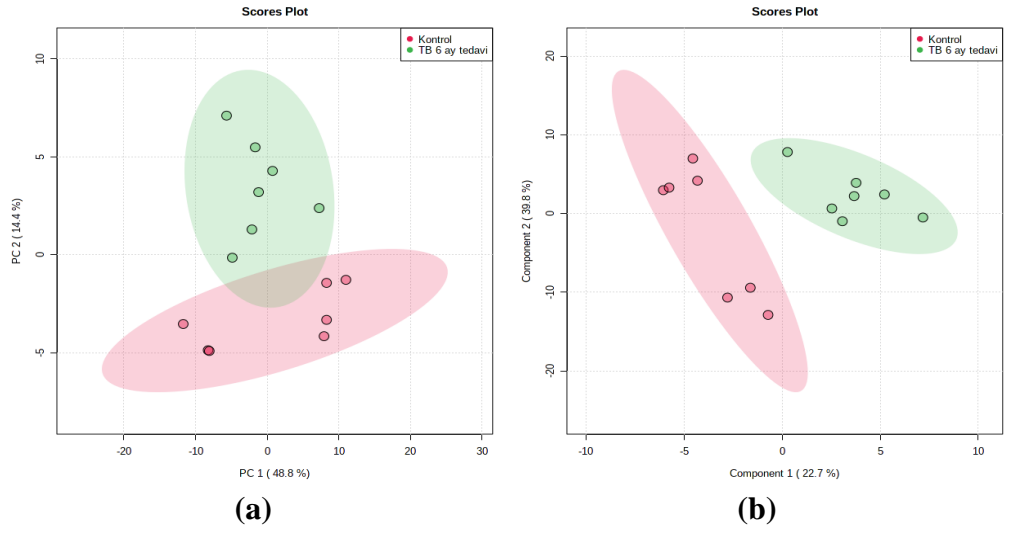


(a)

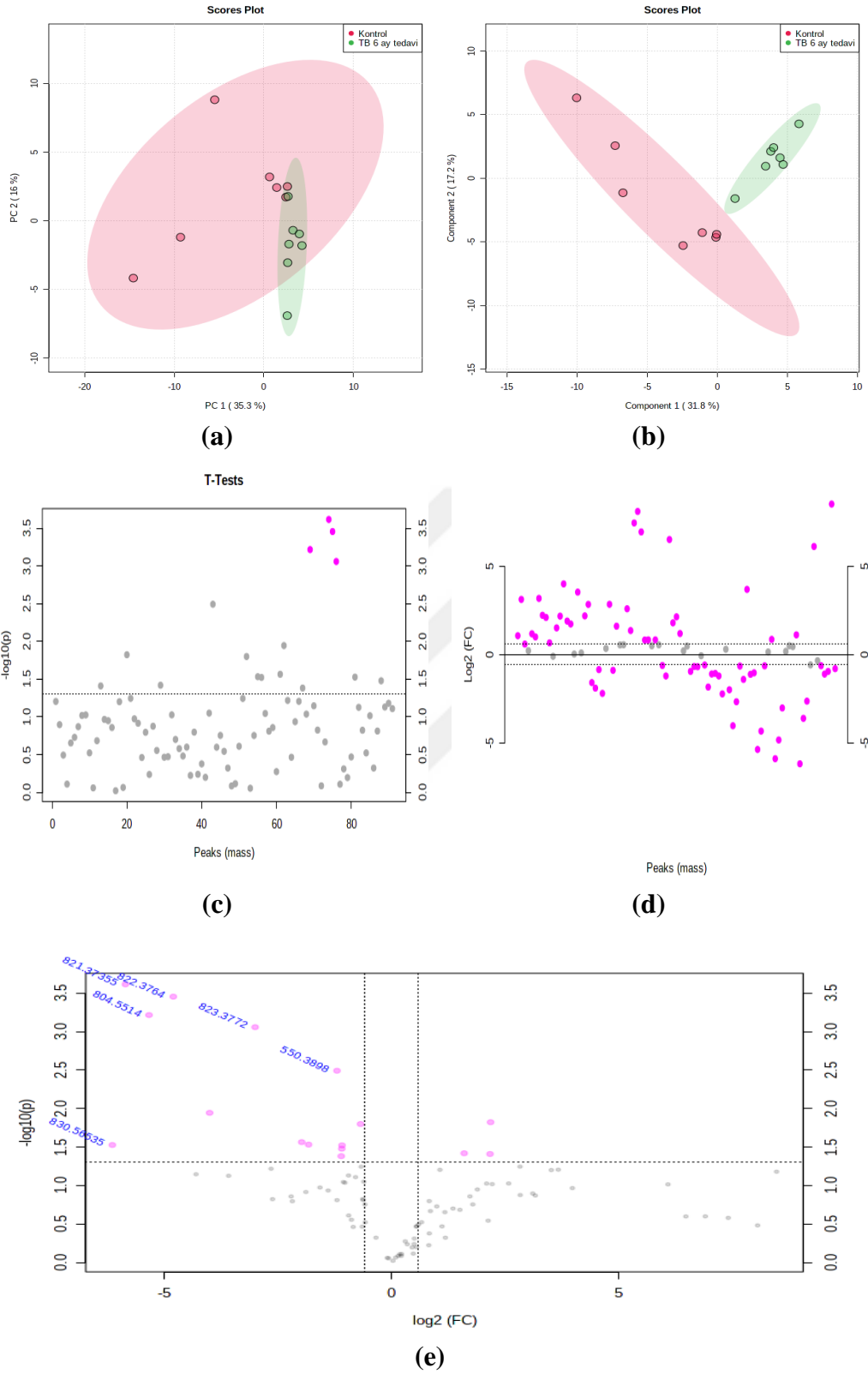


(b)

Şekil 4.17. İki Aylık Tedavi Sürecini Tamamlayan TB Hastaları ve Kontroller Arasında Anlamlı Olarak Değişen ($p < 0.05$) Lipid Türleri İçin VIP Skor Grafiği (a) Pozitif İyon Modu (b) Negatif İyon Modu



Şekil 4.18. Altı Aylık Tedavi Sürecini Tamamlayan TB Hastaları ve Kontrollerin Pozitif İyon Modu **(a)** Temel Bileşen Analizi (2D-PCA), **(b)** Kısmi En Küçük Kareler Diskriminant Analizi (2D-PLS-DA) **(c)** t-testi, **(d)** Kat Değişim (Fold change, FC) ve **(e)** Volcano Plot (VC) Grafikleri



Şekil 4.19. Altı Aylık Tedavi Sürecini Tamamlayan TB hastaları ve Kontrollerin Bireylerin Negatif İyon Modu **(a)** Temel Bileşen Analizi (2D-PCA), **(b)** Kısmi En Küçük Kareler Diskriminant Analizi (2D-PLS-DA) **(c)** t-testi, **(d)** Kat Değişim (Fold change, FC) ve **(e)** Volcano Plot (VC) Grafikleri

Tablo 4.10. Altı Aylık Tedavi Sürecini Tamamlayan TB Hastaları ve Kontrollerin Arasında Değişen Lipid Türleri ve Sınıfları (Pozitif iyon modu; $p < 0.05$)

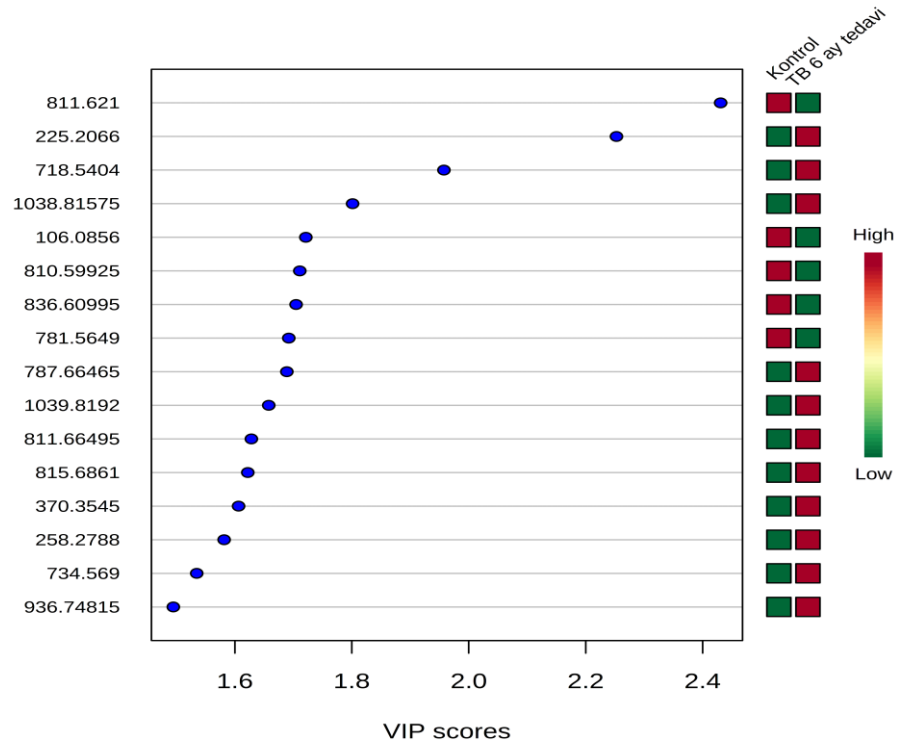
m/z^a	p değeri ^a	Lipid sınıfı ^b
106,0856	0,015412	FA
225,2066	0,00023572	FA
258,2788	0,029629	FA
370,3545	0,026926	FA, SP
718,5404	0,0035682	GP, PK, SP
734,569	0,034481	GP
781,5649	0,017537	GL, GP, PR, ST
787,66465	0,017924	FA, GL, GP, PR, SP, ST
810,59925	0,015086	GP, SP
811,621	1,5702E-05	GL, GP, SP, ST
811,66495	0,023723	GL, GP, SP, ST
815,6861	0,022763	GP, SP, ST
836,60995	0,016506	GL, GP, SP
936,74815	0,041875	FA, PK
1038,81575	0,00992	SP
1039,8192	0,020743	GL, SP

^aVolcano plot veriler ^bLipid Maps veri tabanından elde edilen lipid sınıfları. FA: Yağ asidi, GL: Gliserolipid, GP: Gliserofosfolipid, SP: Sfingolipid, ST: Sterol lipid, PR: Prenol lipid.

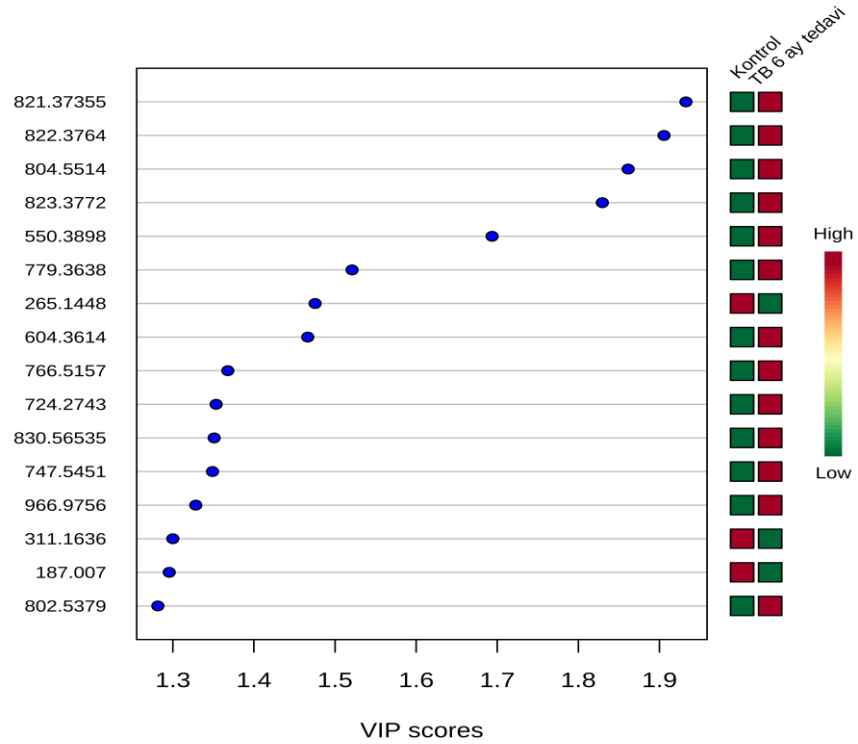
Tablo 4.11. Altı Aylık Tedavi Sürecini Tamamlayan TB Hastaları ve Kontrollerin Arasında Değişen Lipid Türleri ve Sınıfları (Negatif iyon modu; $p < 0.05$)

m/z^a	p değeri ^a	Lipid sınıfı ^b
187,007	0,038934	FA
265,1448	0,015046	FA, PK, ST
311,1636	0,038124	FA, PK, ST
550,3898	0,003222	GP, SP
604,3614	0,015878	GP
724,2743	0,02938	PK
747,5451	0,030043	GP, PK, PR
766,5157	0,027302	GP
779,3638	0,011367	GP, ST
802,5379	0,041564	GP, PK
804,5514	0,000608	GP, SP
821,3736	0,000243	GP, PK, PR
822,3764	0,000351	FA
823,3772	0,000875	GP
830,5654	0,02974	GP
966,9756	0,03328	-

^aVolcano plot veriler ^bLipid Maps veri tabanından elde edilen lipid sınıfları. FA: Yağ asidi, GL: Gliserolipid, GP: Gliserofosfolipid, SP: Sfingolipid, ST: Sterol lipid, PR: Prenol lipid.

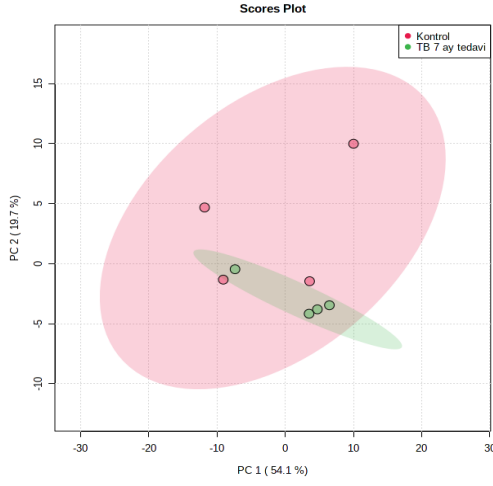


(a)

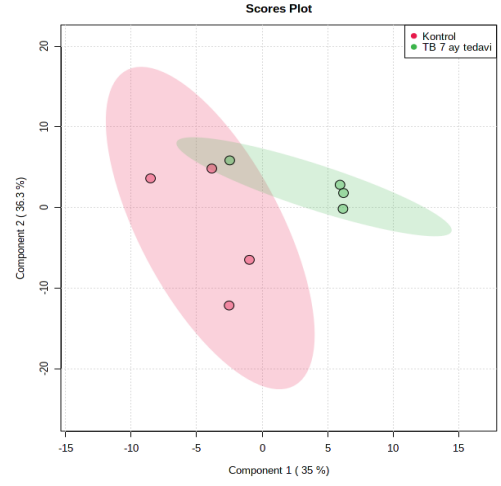


(b)

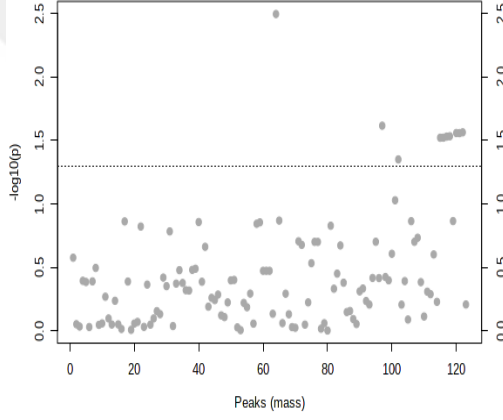
Şekil 4.20. Altı Aylık Tedavi Sürecini Tamamlayan TB Hastaları ve Kontroller Arasında Anlamlı Olarak Değişen ($p < 0.05$) Lipid Türleri İçin VIP Skor Grafiği (a) Pozitif İyon Modu (b) Negatif İyon Modu



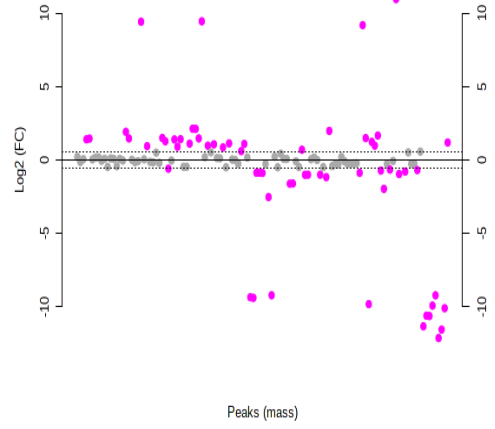
(a)



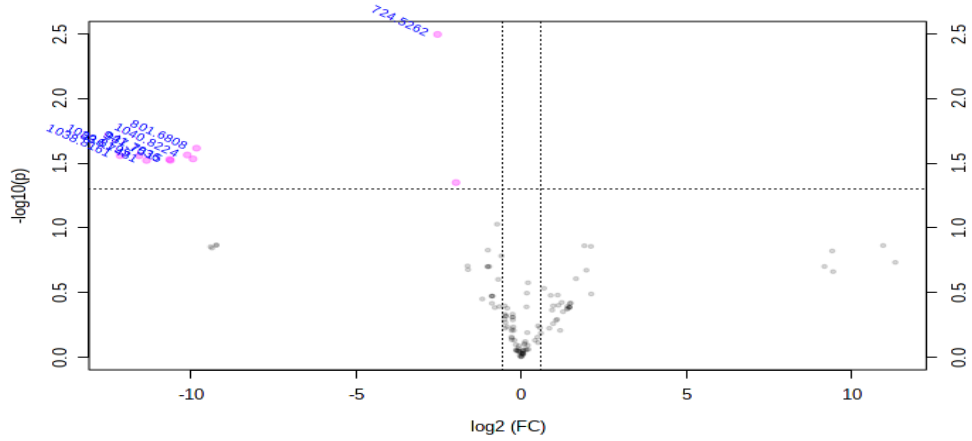
(b)



(c)

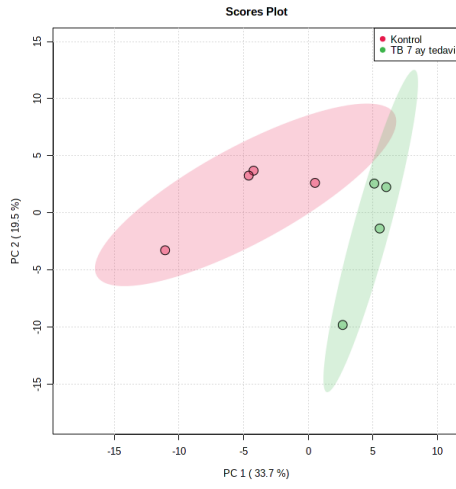


(d)

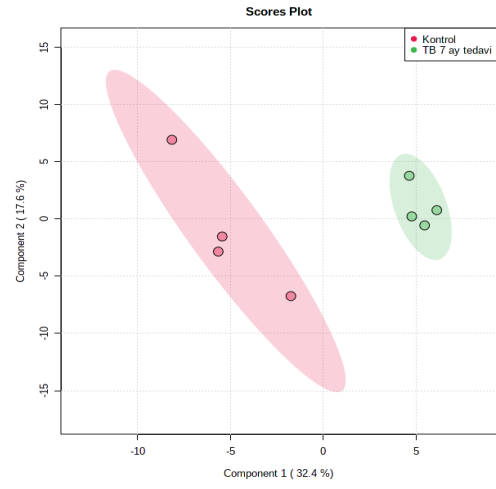


(e)

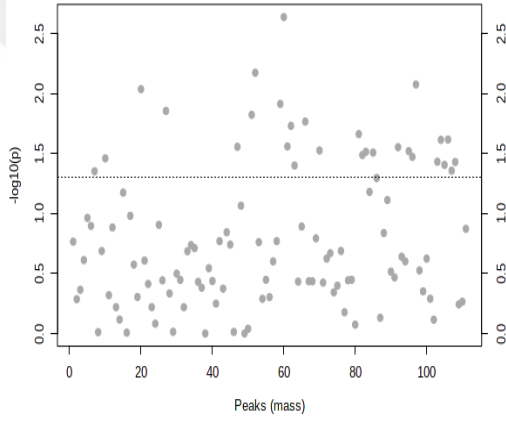
Şekil 4.21. Yedi Aylık Tedavi Sürecini Tamamlayan TB Hastaları ve Kontrollerin Pozitif İyon Modu (a) Temel Bileşen Analizi (2D-PCA), (b) Kısmi En Küçük Kareler Diskriminant Analizi (2D-PLS-DA) (c) t-testi, (d) Kat Değişim (Fold change, FC) ve (e) Volcano Plot (VC) Grafikleri



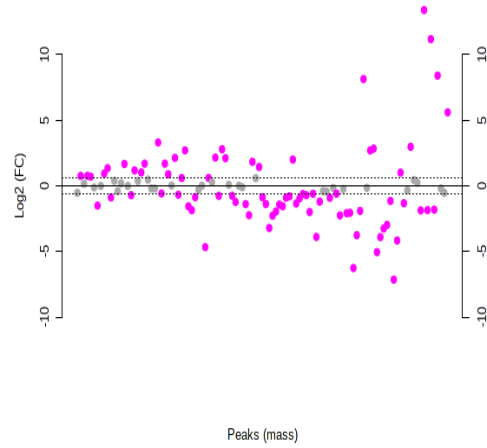
(a)



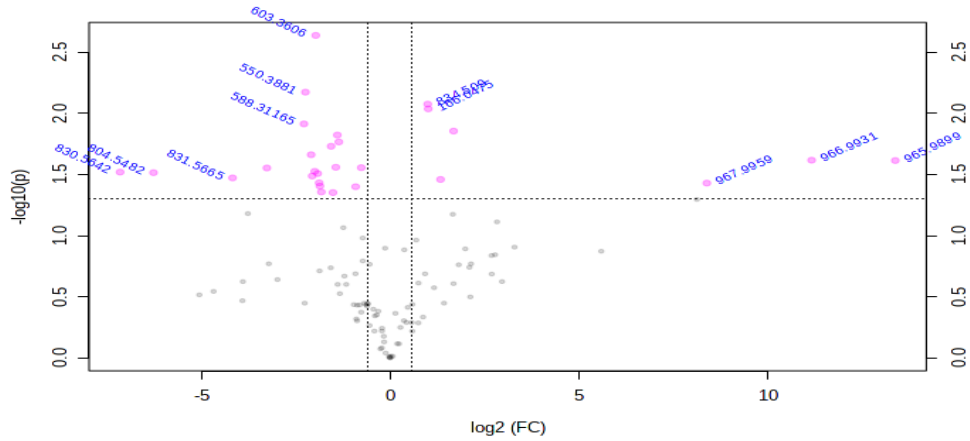
(b)



(c)



(d)



(e)

Şekil 4.22. Yedi Aylık Tedavi Sürecini Tamamlayan TB hastaları ve Kontrollerin Negatif İyon Modu (a) Temel Bileşen Analizi (2D-PCA), (b) Kısmi En Küçük Kareler Diskriminant Analizi (2D-PLS-DA) (c) t-testi, (d) Kat Değişim (Fold change, FC) ve (e) Volcano Plot (VC) Grafikleri

Tablo 4.12. Yedi Aylık Tedavi Sürecini Tamamlayan TB Hastaları ve Kontroller Arasında Değişen Lipid Türleri ve Sınıfları (Pozitif iyon modu; p<0.05)

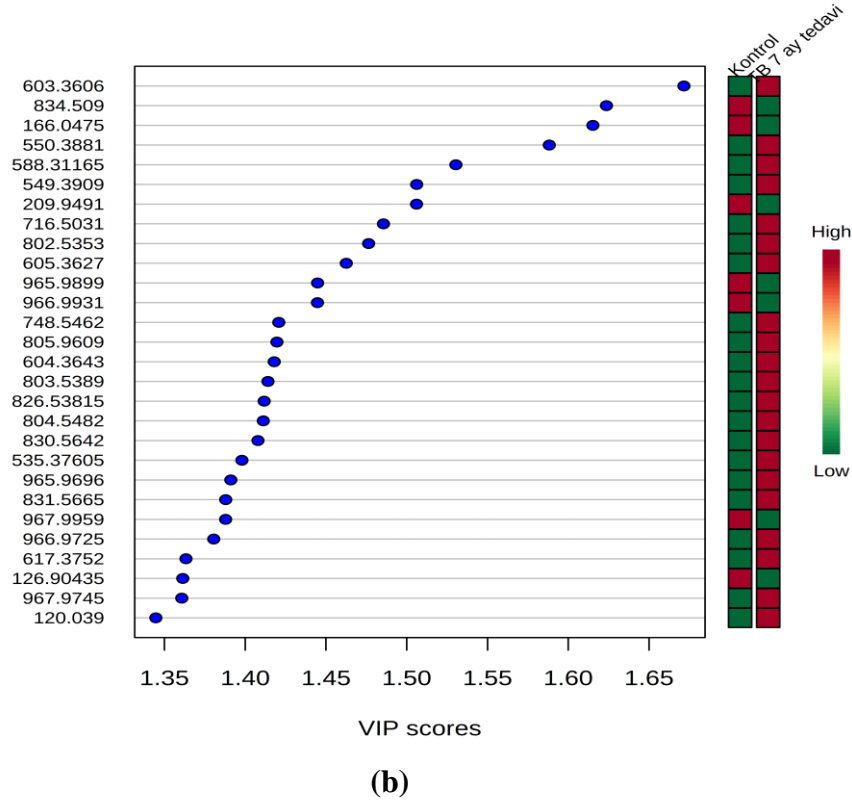
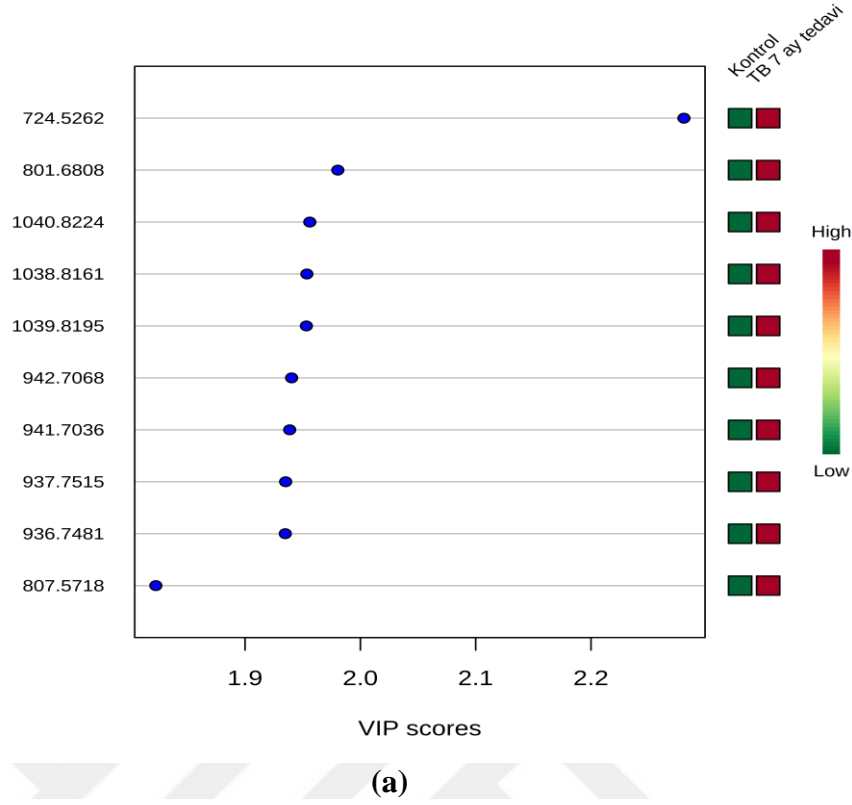
m/z ^a	p değeri ^a	Lipid sınıfı ^b
724,5262	0,003187	GP, PR
801,6808	0,024171	GP, SP, ST
807,5718	0,044577	GL, GP, ST
936,7481	0,030073	FA, PK
937,7515	0,030032	GL, GP
941,7036	0,029485	GL, GP
942,7068	0,029261	FA, GL
1038,816	0,027603	SP
1039,82	0,027656	GL, GP
1040,822	0,027271	SP

^aVolcano plot veriler ^bLipid Maps veri tabanından elde edilen lipid sınıfları. FA: Yağ asidi, GL: Gliserolipid, GP: Gliserofosfolipid, SP: Sfingolipid, ST: Sterol lipid, PR: Prenol lipid.

Tablo 4.13. Yedi Aylık Tedavi Sürecini Tamamlayan TB Hastaları ve Kontroller Arasında Değişen Lipid Türleri ve Sınıfları (Negatif iyon modu; p<0.05)

m/z ^a	p değeri ^a	Lipid sınıfı ^b
120,039	0,044421	-
126,9044	0,034698	FA
166,0475	0,009194	-
209,9491	0,013968	-
535,3761	0,0278	FA, GL, GP, PR, ST
549,3909	0,015044	FA, GL, GP, PR, ST
550,3881	0,006714	GP
588,3117	0,0122	PR, SP
603,3606	0,002307	GP, SP, ST
604,3643	0,027589	GP
605,3627	0,018593	FA, GP, PK, ST
617,3752	0,039771	FA, GP, SP, ST
716,5031	0,017131	GP, PK, SP
748,5462	0,029789	GP, PR
802,5353	0,02179	GP, PK
803,5389	0,032524	FA, GL, GP
804,5482	0,030536	GP, SP
805,9609	0,031041	GL, GP
826,5382	0,027965	GP
830,5642	0,030227	GP
831,5665	0,033701	GL, GP, PR
834,509	0,00841	GL, GP, SP
965,9696	0,036984	FA, GL
965,9899	0,024305	FA, GL
966,9725	0,039313	-
966,9931	0,02416	-
967,9745	0,04391	GL
967,9959	0,037178	GL

^aVolcano plot veriler ^bLipid Maps veri tabanından elde edilen lipid sınıfları. FA: Yağ asidi, GL: Gliserolipid, GP: Gliserofosfolipid, SP: Sfingolipid, ST: Sterol lipid, PR: Prenol lipid.



Şekil 4.23. Yedi Aylık Tedavi Sürecini Tamamlayan TB Hastaları ve Kontroller Arasında Anlamlı Olarak Değişen ($p < 0.05$) Lipid Türleri İçin VIP Skor Grafiği (a) Pozitif İyon Modu (b) Negatif İyon Modu

Tablo 4.14. Bir, İki, Altı ve Yedi Ay Tedavi Süreçlerini Tamalayan TB Hastaları ve Kontroller Arasında Değişen Lipid Türleri (p<0.05)

		Lipid sınıfı					
		FA	GP	GL	SP	ST	PK
1 Ay	Artış	225,2064	830,5648 604,3601 854,5645 828,5463 748,5446 566,3313	967,9759	1038,816		
	Azalış	149,10665 197,9615 166,9595 110,9839		968,0004			268,9519
2 Ay	Artış	225,2064 104,107 124,1089	496,3468 1066,845 830,5662 603,36 854,5642 568,3516 828,5525 566,3342 766,5152 826,5374 810,5086	967,9798		1067,848	
	Azalış	106,0856 280,1627 113,1324 149,1067 248,9652 391,4482 392,287	530,3926	957,9552			268,9512
6 Ay	Artış	225,2066 258,2788 822,3764	734,569 823,3772 604,3614 766,5157 830,5654		1038,815 75		724,2743
	Azalış	106,0856 187,007					
7 Ay	Artış		550,3881 604,3643 826,5382 830,5642	967,9745	1038,816 1040,822		
	Azalış	126,9044		967,9959			

FA: Yağ asidi, GL: Gliserolipid, GP: Gliserofosfolipid, SP: Sfgolipd, ST: Sterol lipid, PR: Prenol lipit, PK: Poliketit Lipid

5. TARTIŞMA

TB hastalığı dünyada halen yüksek mortalite oranına sahip bir hastalık olup, tedavi, teşhis ve ilaç geliştirilme amacıyla ülkeler çok büyük yatırımlar yapmaktadırlar. TB tanısı için; balgamda *Mtb* gösterilmesi ve hastanın akciğer film bulguları gibi yöntemler kullanılmaktadır. Akciğer filmi veya diğer radyolojik incelemelerde TB hastalığının yaptığı değişiklikler görüldüğünde diğer hastalıklardan ayırt etmek için mikrobiyolojik inceleme yapılmaktadır. Hastadan alınan balgam veya diğer materyaller laboratuvarında incelenmekte ve TB basilinin görülmesi ya da yapılan kültürde basil üremesiyle tanı kesinleşmektedir. Verem tanısını koymak için tüberküloz cilt testi (TDT) denilen deri testi yapılmaktadır. Bu testte tuberkülin, deri altına enjekte edilmekte ve hasta 2-3 gün sonra, deride bu sıvıya karşı oluşan yanıtı ölçmek için çağrılmaktadır. Bu yanıtı göre, hastanın daha önce *Mtb* ile karşılaşmış olup karşılaşmadığına karar verilmektedir. Ancak bu testin, uygulamanın ve sonuç değerlendirmesinin uygulayıcı kişiye bağlı olarak değişebilmesi gibi bir dezavantajı bulunmaktadır. Son zamanlarda TB tanısında kullanılan TDT deri testinin yalancı negatiflik ve yalancı pozitifliklerinin olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, kişinin testi yaptırmak ve okutmak için sağlık birimine iki defa gelmek zorunda olması, verem aşısı (BCG) yaptıranlarda yanlış sonuç verebilmesi (Türkiye'de bu aşı herkese yapılmaktadır) gibi başka dezavantajları da bulunmaktadır..

Gelişmiş ülkelerde verem teşhisi için yapılan deri testinin yerini, kandan yapılan IGRA testleri almıştır. Bu testler de *Mtb* 'ye karşı, enfekte kişilerdeki T hücreleri lenfositlerin salgıladığı Gamma Interferon düzeyini ölçülmektedir. Ancak bu yöntemin, parazit ve diğer nedenlerle oluşan ve serumda bulunan endojen Gamma Interferonu da ölçüyor olması ve yalnızca *Mtb*'ye spesifik olan cevabı ortaya koyamaması, dışarıdan gönderilecek örnekler için çok fazla tüp, işlem ve ayrıntılı prosedür gerektirmesi ve tüm bu işlemlerin hatalı sonuçlara açık olması, yüksek oranda (% 10' a yakın) yalancı negatif sonuç vermesi gibi dezavantajları bulunmaktadır. TB hastalığının kişide olup olmadığını kandan araştıran en önemli IGRA testi, T-Spot TB testidir. Bir ELISPOT (Enzyme-linked immunospot) yöntemidir. ELISA yöntemi ile

benzerlik göstermektedir. Hastalardan tam kan örneği alınıp laboratuvara gönderilmekte ve laboratuvarında periferik kan mononükleer hücreleri (Peripheral blood mononuclear cells PBMCs) ayrılarak yıkanmakta ve sayılmaktadır. Sayılan kan hücrelerine ilgili protokol uygulandıktan sonra spot sayımı yapılarak sonuç alınmaktadır. Spot sayımında sayımı yapan kişiye bağlı olarak elde edilen değişken sonuçlar, test sonuç alınma süresinin uzun olması, test maliyetinin yüksek olması gibi dezavantajları bulunmaktadır. Bu nedenlerden dolayı TB hastalığı için özgün biyobelirteçlerin araştırılması önemini korumaktadır.

Hastalıkla ilgili biyobelirteçler, erken tanı, teşhis ve tedavi seçeneklerinde hekime yol gösterici olmaktadır. Lipit metabolizmasının, diyabet, meme kanseri, Alzheimer hastalığı ve akciğer hastalıklarının yanısıra diğer farklı hastalıkların karmaşık genetik özellikleriyle ilişkili olduğu bilinmektedir [75]. Klinik lipidomik, lipitler ve bu lipitlerle ilgili hastalıklar arasındaki bağlantıların anlaşılması yoluyla önleme, tanı ve potansiyel tedavilerde önemli bir rol oynamaktadır. Klinik biyoinformatikteki ilerlemeler sayesinde toplanılan fazla miktardaki ham veri değerlendirilerek, klinik lipidomik alanda kullanım potansiyeline sahip çıktılar elde edilmektedir. Klinik lipidomik çalışmalarda farklı analitik yöntemlerden (gaz kromatografisi, sıvı kromatografisi ve kütle spektrometresi vb.) faydalanılmaktadır [75].

Lipitler ve bunlara karşılık gelen metabolitlerin sınıflandırılması için çalışmalar nadir yapıldığından, lipit-ilişkili enzimler hakkında spesifik bilgileri tanımlamak zor olmaktadır. Lipide özgü proteinlerin ve enzimlerin biyolojik özelliklerini ve işlevlerini tanımlamak klinik lipidominin önemli bir parçasıdır. Çeşitli hastalıklarda ve bunların karşılık gelen metabolik enzimlerinde lipidomik profillerin araştırılması ve bu lipit-spesifik enzimlerin bir ağının oluşturulması önemlidir. Böyle büyük bir enzim ağı, lipitlerin metabolik süreçlerini, çoklu yollardaki enzim aktivasyonlarının etkileşimini ve hücrel lipidomların biyokimyasal homeostazını dinamik olarak tespit etmemize yardımcı olabilecektir. Sistemik metabolizma çalışmalarında, lipit spesifik enzimlerin düzenlenmesine olan ilgi gün geçtikçe artmaktadır. Lipit spesifik enzimlerin aktivasyonunun, bu enzim ifadelerinin değişen düzenlenmesine ek

olarak, lipit metabolizması için belirteçler olup olamayacağı da sorgulanmaktadır. Bazı enzimlerin anormal ifadesi, hastalığın teşhisi ve hedefe özgü tedavi için bir yol gösterici olabilmektedir. Örneğin, lipitle ilişkili enzimlerin genomik ekspresyon profillerinin araştırıldığı klinik lipidomik bir çalışmada, lipit metabolizmasının önemli bir enzimi olan hidrosilkoenzim A dehidrogenaz'ın alfa alt birim gen mutasyonunun, renal hücre karsinomunda tümör oluşumu ve diğer hücrenel süreçler (biyosentez, ketogenez ve ketoliz) üzerinde etkili olduğu bildirilmiştir [75]. Başka bir çalışmada akciğer kanseri ve farklı alt tipleri (yassı epitel hücreli ve küçük hücreli) teşhis edilen hastalardan alınan serum örneklerinin lipid profilleri karşılaştırılmış ve akciğer kanserli hastalarda fosfatidilserin (PS) ve lizofosfatidilserin (lysoPS) türlerinde önemli artış, fosfatidiletanol (PE) ve lizofosfatidiletanol (lysoPE) türlerinde ise azalış bildirilmiştir [76]. Lipidomik çalışmalar, klinik uygulama ile birlikte lipit fonksiyon bozukluklarını incelemek ve birçok hastalığın gelişimi sırasındaki meydana gelen lipit metabolizması ile ilgili değişiklikler ortaya koyduğundan, son zamanlarda bu alandaki çalışmalar artmaktadır. Belirli hastalıklar için daha fazla biyobelirteç ve potansiyel terapötik hedefler sürekli olarak belirlenip tanımlansa da, lipit bazlı ve hastalığa özgü biyobelirteçleri tanımlamak ve geliştirmek hala zor bir çalışma alanıdır [75]. Özgün lipit biyolojik belirteçlerinin keşfedilmesi, hastalıkların daha erken teşhis edilmesi ve bireye özgü tedavilerin geliştirilmesine olanak sağlayabilecektir.

Bakteriyel enfeksiyonlarda biyobelirteç olarak faydalanılan bazı lipit türleri bulunmaktadır. Bunlar arasında sepsis ve TB, potansiyel olarak lipit biyobelirteçleri kullanılarak teşhis edilebilen birincil hastalıklardır. Sepsis veya bakteriyemi dünya çapında hastanede yatan hastalarda bulaş görülmesi ve ölümlerin önde gelen sebeplerindendir. Yapılan çalışmalara göre, tüm ağır sepsis ve septik şok vakalarının % 30-40'ı kan dolaşımı enfeksiyonlarından kaynaklanmaktadır. Ayrıca, Gram-negatif bakterilerin neden olduğu toplam sepsis vakalarındaki enfeksiyonların oranı, Gram-pozitif bakterilere bağlı enfeksiyonlardan daha yüksektir. Bu çalışmalar sonucunda, Gram negatif bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların % 30-80 arasında değişirken, Gram pozitif bakteriyel enfeksiyonların % 6-24 arasında değiştiğini; geri kalanına

diğer patojenik organizmaların neden olduğu gözlenmiştir. Hasta kanında LPS) gibi amfipatik moleküllerin varlığı açık bir sepsis göstergesi olarak kabul edilmektedir. Ayrıca konakçı taşıyıcı lipoproteinlerin, bir sepsis belirteci olabilen LPS ve LTA gibi amfipatik molekülleri bağladığı gözlemlenmiştir. Lipopolisakkarit bağlayıcı protein (LBP), Gram negatif bakterilerde LPS'yi ve Gram pozitif bakterilerde LTA'yı etkili bir şekilde bağlayarak LPS-LBP veya LTA-LBP kompleksi oluşturmaktadır. İnsanlarda, serumda 5- 10 µg/mL'lik bir konsantrasyonda bulunan LBP'nin, birçok çalışmada sepsis için bir biyobelirteç olarak kullanılabilceği saptanmıştır. Sepsinin akut fazı sırasında LBP'nin konsantrasyonu 200 µg/mL'ye kadar çıkabilmektedir. Ağır sepsis veya ağır sepsis ile beraber septik şok geçiren 253 hastayı içeren bir çalışmada, kontrol grubuna kıyasla hastaların % 78.3'ünde endotoksin düzeylerinde artış olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, LBP değerleri 4.1 ± 1.7 µg/mL olan normal kontrol ile kıyaslanan hastaların % 97'sinde LBP düzeylerinin yüksek olduğu saptanmıştır. Sepsiste, LPS ve LBP'nin miktarının ciddi artışı hastalığın nasıl seyredeceğinin tahmini konusunda önemli olduğuna işaret etmektedir. Bununla birlikte LBP'nin, enfekte olmayan hastaları şiddetli sepsis hastalarından potansiyel olarak ayırt ettiğini, fakat sepsisli hastaları organ fonksiyon bozukluğu olmadan ayırt edemediği saptanmıştır. Gram-pozitif ve Gram-negatif enfeksiyonları LBP konsantrasyonları ile ayırt edilememektedir. Sonuç olarak LBP konsantrasyonu sepsis için potansiyel bir biyobelirteç olarak görülse de tek başına bir biyobelirteç olarak kullanılması önerilmemektedir [36].

LPS ve modifikasyonlarının, potansiyel antimikrobiyal direnç belirteçleri dışında tutulmaması gerekmektedir. Küresel halk sağlığı, antibiyotiklere karşı gelişen direnç ile giderek daha fazla tehdit altına girmekte ve yeni antimikrobiyallerin edinme yolu son derece sınırlı hale gelmektedir. Gram-negatif bakterilerde MDR'nin hızla yayılması, polimiksinler olarak adlandırılan son tercih antimikrobiyallerin kullanımını gerektiren, en tehdit edici durumlardan birisi olmaktadır. LPS gibi moleküller üzerindeki ilaç hedefi, modifikasyonlar nedeniyle *Enterobacteriaceae*'de, polimiksinlere karşı direnç oluşmaktadır. Bu modifikasyonlar LPS'nin lipit A kısmına fosfoetanolamin (pETN) ve 4-amino-L-arabinoz (L-Ara4N) gibi katyonik grupların eklenmesi

ile oluşmaktadır. Bu katyonik gruplar ve antibiyotik arasındaki elektropozitif itmeye bağlı olarak, polimiksin'e LPS bağlanmasında azalma meydana gelmektedir. LPS'ye, pETN ve L-Ara4N ilavesi ile PmrA/PmrB veya PhoP/PhoQ iki bileşenli sistemleri kodlayan genlerde edinilmiş mutasyonlar veya *mgrB* genindeki değişiklikler yoluyla kromozom kodlu mekanizmalarla ilişkilendirilmiştir. pETN ilavesi, başlangıçta *mcr-1* geni olarak tarif edilen ve dünya çapında *Enterobacteriaceae*'de tanımlanmış ve insan ve hayvan numunelerinden geri kazanılmış bir plazmid kodlu pETN transferaz, MCR-1 ekspresyonu ile de ilişkilendirilmiştir. Bu nedenle, LPS'nin tespiti ve modifikasyonları, antimikrobiallerin yanlış kullanımını önleyecek potansiyel bir gelişme olarak görülmektedir. Bu tip tespit için bakteriyel kültürden lipid A'nın ekstraksiyonu ve izolasyonundan sonra MALDI kütle spektrofotometri kullanılmaktadır. Bununla birlikte, lipid A'yı geleneksel yöntemler kullanarak izole etmek için uzmanlık ve uzun bir prosedür gereklidir. Bu da lipid A'nın klinik laboratuvarlarda bir antimikrobiyal direnç (AMR) belirteci olarak kullanımını zorlaştırmıştır. Bozulmamış bakteri lipidomik çalışmaları gibi yenilikçi çözümler ile bu sorunlar aşılmıştır [36].

Sepsis ve küresel olarak HIV / AIDS ile ilişkili ölümlerin önde gelen nedeni olarak görülen AMR ve TB'nin tespit edilmesi için lipid biyobelirteçleri olarak bakteriyel endotoksinin kullanımı dışında, başka lipidlerde biyobelirteç olarak başarıyla kullanılabilir. Yapılan ilk çalışmalarda, *Mtb*'nin hücre duvarından elde edilen LAM preparatının, farelerin periton boşluğuna enjekte edildiğinde idrarla atıldığı bildirilmiştir [77]. LAM'ın sistemik dolaşımdan idrara girdiği mekanizma tam olarak bilinmemesine rağmen, çeşitli çalışmalarda aktif TB'nin vaka tanısı için LAM'ın bir lipid biyobelirteç olarak kullanılabilir olduğu tespit edilmiştir. TB hastalığında lipid biyobelirteç olarak LAM kullanımı, HIV pozitif TB hastaları ve pediatrik TB hastalığı ile sınırlı kalmaktadır. Yapılan bir çalışmada, tüberküloz olduğundan şüphelenilen 61 hastaya, pediatrik TB tanısı koymak için ELISA yöntemi ile idrarda LAM değerlerine bakılmıştır. Tüberkülin cilt testi, akciğer röntgeni, aside dirençli boyama ve balgam kültürü gibi geleneksel yöntemlerle idrarda tespit edilen LAM karşılaştırıldığında, % 83 duyarlılık ve % 85 özgüllük göstermiştir. Bu da

idrardaki LAM'ın pediatrik TB'yi teşhis etmek için iyi bir biyobelirteç olduğunu göstermektedir. Sadece laboratuvarlarda çalışılabilen ELISA'ya paralel olarak, TB'nin saptanması için hızlı sonuç veren strip test geliştirmiştir. Bununla birlikte testte duyarlılık CD4 hücresine bağımlıdır, CD4 hücrelerinin sayısı azaldıkça duyarlılık artmaktadır. Örneğin, CD4 hücreleri için <50 hücre/ μL iken duyarlılık % 66.7 ve bu sayı ≥ 200 hücre/ μL olduğunda ise duyarlılık % 4'e kadar düşmektedir [36].

Hücre içi patojenlerin ve konakçı hücrelerinin metabolizması yakından bağlantılıdır. *Mtb* lipid metabolizmasında, immun yanıt ve konakçıda lipid homeostazisi arasındaki etkileşim sonucunda kompleks ve dinamik bir patojen-konak etkileşimi oluşturmaktadır. Bu etkileşim, basil ile konakçı hücre metabolizmasını ve fizyolojisini etkileyerek immun yanıtı uyaran moleküller olarak işlev görmektedir [78]. Aerosoller şeklinde akciğere giren TB basilleri makrofaj ve nötrofiller tarafından tutulurlar. Mikobakteri komplement reseptörleri olan CR1, CR3, CR4 ve mannoz reseptörleri mikobakterinin fagositler tarafından hücre içine alımını teşvik etmektedirler. Mikobakteriler fagozomların asit özelliğini engelleyerek fagolizozomal etkiyi önlerler. Bu durum makrofajlar içerisinde TB basillerinin çoğalması ve immünolojik olarak saptanamaması için uygun bir ortam yaratmaktadır. TB, edinsel bağışıklık yetmezliği sendromunda (AIDS) en sık görülen fırsatçı enfeksiyondur. Kolesterol bakımından zengin lipit alanları, insan bağışıklık yetmezliği virüsü (HIV) ve TB basilinin konakçı hücresine giriş için önem arz etmektedir [79].

Mtb'nin *in vivo* olarak çeşitli besinleri kullanmasına rağmen, bu bakterinin enerji üretmek ve patojenez için gerekli biyosentetik öncüleri üretmek için tercihen konak lipitlerini metabolize ettiği bilinmektedir. Görüntüleme ve metabolik analiz tekniklerindeki ilerlemeler, *Mtb*'nin tercihen köpüklü hücrelerle birleştiğini ve eksojen olarak sentezlenen yağ asitleri ve kolesterolü kullanmak için çoklu fizyolojik sistemleri kullandığını göstermektedir. *Mtb*'de yağ asidi ve kolesterol metabolizması ile ilgili yapılan çalışmalarda, *Mtb*'nin enfeksiyon sırasında önemli besin maddeleri olarak yağ asitleri ve kolesterol bağımlısı olduğu ortaya konmuştur [80-84]. *Mtb*, enerji ve kritik merkezi metabolik ara ürünler üretmek için yağ asitlerini okside etmektedir. Yağ asitleri

ayrıca doğrudan hücre membranı fosfolipidlerine de katılabilmekte veya TAG'a dönüştürülebilmektedir. Fosfolipitlerin sitoplazmik membran bütünlüğünü koruduğu, TAG'ın besin sınırlaması durumunda mobilize edilebilen bir karbon depolama molekülü olarak işlev gördüğü bilinmektedir [85, 86]. Lipid sentezinin son ürünleri açık bir şekilde önemli olmakla birlikte, bu katabolik ve anabolik yolların bakteriyel fizyolojiyi de etkileyebileceği öngörülmektedir. Örneğin, TAG sentezi, asetil-CoA miktarını azaltarak, *Mtb* büyüme hızını ve antibiyotik duyarlılığını azaltabilmektedir [87]. Bu nedenle lipit metabolik yolları, bir karbon ve enerji kaynağı olarak hizmet etmenin yanı sıra, redoks durumunu ve birincil metabolit havuzlarının miktarını modifiye ederek *Mtb*'nin fizyolojisini etkileyebilmektedir. *Mtb*, birçok farklı yağ asidini katabolize edebilmektedir. Bununla birlikte, *Mtb*'nin enfeksiyon sırasında optimal büyümesi ve kalıcılığı için konakçı kolesterolün tekrar tekrar kullanılması gerektiği gösterilmiştir [84, 88-92].

Konakçı lipitlerin elde edilmesi için gerekli olan mekanizmalar, *Mtb*'nin lipid katabolik sistemlerinin yetersiz olduğunun başka bir yönüdür. Birkaç çalışmada, ekzojen olarak eklenen yağ asitlerinin makrofajlarda hücre içi büyüme sırasında *Mtb* tarafından kullanılabilmesi gösterilmiştir [86, 93]. TB enfeksiyonları sırasında indüklenen kronik enflamasyonun bir özelliği, büyük lipid cisimcikleri biriktiren *Mtb* ile enfekte köpüklü makrofajların oluşmasıdır. İnflamasyonun, çeşitli basamaklarda lipit metabolizmasını modüle ettiği bilinmektedir [94, 95]. Bu yeniden modellenmenin ardındaki önemli bir mekanizma, yağ asidi metabolitlerine yanıt veren bir nükleer transkripsiyon faktörü olan peroksizom proliferatör aktive reseptörlerin (PPARs) enfeksiyona bağlı aktivasyonunu içermektedir [96]. *Mtb* enfeksiyonu, enfekte olmuş hücrelerdeki PPAR ekspresyonunu geçici olarak toll benzeri reseptör 2 (TLR2) - bağımlı şekilde arttırmakta ve enfeksiyon sırasında bu transkripsiyon faktörünün aktivasyonu lipid damlacık birikmesine yol açmaktadır [96-98]. Ayrıca, PPAR ve LXR transkripsiyon düzenleyicileri gibi enfeksiyon sırasında lipit birikimini kontrol eden spesifik konak yollara yeni bakış açıları, konakçı bağışıklığının bakteriyel mikro-çevreyi değiştirdiği mekanizmaları ortaya çıkarmaya başlamıştır. *Mtb* ile enfekte olmuş konakçıda lipid birikimi, patojen

üzerinde ilave dolaylı etkilere sahip olabilir. Hiper-enflamatuvar bir ortamı destekleyen, hücre içi lipid havuzunu arttırmak, bakteriye yönelik bir büyüme substratı sağlamanın ötesinde, anti-açlık tepkisini tetikleyebilmekte ve *Mtb*'nin öldürülmesinin iki önemli mekanizması olan, otofaji ve lizozom asidifikasyonunu inhibe edebilmektedir [82, 86, 93, 99-105].

Mtb basili, sentezlediği lipit bakımından benzersiz bir çeşitlilik göstermektedir [106]. *Mtb* ile ilgili yapılan ilk lipidomik çalışmalarda, yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi (MS) veya sıvı kromatografi-kütle spektrometresi (LC-MS) kullanılmıştır. Ancak bu yöntemler, *Mtb* lipidomunda belirlenmek istenen lipit türlerini çeşitli problemlerden dolayı sınırlanmaktadır. İlk olarak, *Mtb* lipidomunda çok fazla tür bulunması kütle spektrumlarında örtüşmeye neden olmaktadır. Bu problem, karmaşık ham özütlerdeki birçok lipidi ayırt edebilen yüksek çözünürlüklü kütle spektrometreleri kullanılarak kısmen çözülmüştür. Ancak birçok iyon, örtüşen spektrumlara sahip olmaları nedeniyle hala ayırt edilememektedir. Diğer bir problem ise, karmaşık karışımlardaki bazı lipit türlerinin diğerlerinin iyonizasyonunu baskılayarak tespit edilmelerini engellemelerinden kaynaklanmaktadır. MS'ten önce lipitleri ayırmak için LC-MS'in kullanıldığı diğer çalışmalar, sadece birkaç spesifik lipidin incelenmesi için geliştirilmiş olup diğer mikobakteriyel lipid sınıflarını ayırmada etkili olmamıştır. Diğer bakteriler için geliştirilen global LC-MS metotları, *Mtb*'de bol miktarda bulunan apolar lipitleri yetersiz şekilde ayırmaktadır. Bu türlerin etkili bir şekilde ayrılması için tek adımlı bir yöntem geliştirilerek bu sınırlamalar aşılmış ve böylece *Mtb* lipitlerinin global olarak izlenmesi için nispeten basit bir protokol sağlanmıştır. Bu protokol kullanılarak, standart kültürde yetiştirilen bakterilerden 5000 lipid türüne karşılık gelen 100.000'den fazla MS piki güvenilir ve tekrarlanabilir bir şekilde elde edilmiştir [106].

Mtb, mikolik asitler ve bunların glikosile edilmiş formları, fosfolipidler (çoğunlukla PE, CL, PG ve PI), TAG ve glikolipidleri gibi çok farklı türde lipid içermektedir. Hipoksik NRP *Mycobacterium bovis* BCG'den, lipidomik ve diğer biyokimyasal yöntemler kullanarak, yalnızca lipit-damlacık (LD) tür açısından zengin fraksiyona bağlanan ve TAG metabolizmasında rol alan beş yeni protein [BCG1169c, BCG1489c, Tgs1 (BCG3153c), Tgs2 (BCG3794c)

ve BCG1721] tanımlanmıştır. TAG metabolizmasında yer alan LD-ilişkili anahtar proteinlerin tanımlanması, mikobakteriyel lipid depolanma mekanizmalarına yeni bakış açıları sağlamakta ve TB'nin terapötik müdahalesi için yeni hedefler ortaya çıkarabilmektedir [107, 108]. Bir diğer önemli mikobakteriyel lipid sınıf mikolik asitler (MA) olarak bilinmektedir. α -alkil- β -hidroksil dallı uzun zincirli yağ asitleri olan MA'lar düşük hücre duvarı geçirgenliği nedeniyle yaygın antibiyotiklere direnç kazandırarak makrofajlar içinde bakteriyel hayatta kalmaya katkıda bulunan mikobakteriyel zarfların temel bileşenlerini temsil etmektedirler. Bu özellik ise bu grup lipidleri, antimikobakteriyel ilaçların gelişimi için önemli bir hedef haline getirmektedir [109, 110]. Toplam mikolik asit pikinin (TMAP_s) ölçüldüğü HPLC bazlı duyarlılık testi de, bu lipid sınıfının klinik *Mtb* izolatları için etkili bir duyarlılık göstergesi (saatler içinde) olarak hizmet etme potansiyelini ortaya koymuştur [111]. Yeni LC/MS (ve MS/MS) yöntemlerin son zamanlardaki gelişimi, türevlendirme olmaksızın belirli MA'ların analizini kolaylaştırmış ve patojen sınıflandırmasının yanı sıra ilaç tedavisi çalışmaları için bir tarama aracı olarak MA parmak izi potansiyel uygulamaları gösterilmiştir [112, 113].

Tip-2 Diyabet (T2D), düşük ve orta gelirli ülkelerde TB gelişimine yatkınlık oluşmasına neden olan bir hastalıktır. TB-T2D komorbiditesi, bireylerin klinik kontrolünü ve prognozunu kötüleştirmektedir. Diyabetik hastalarda TB'ye karşı artan duyarlılığın, T2D'li bireylerde değişen lipid düzeyleriyle bağlantılı olduğu öngörülmektedir. Yapılan bir çalışmada TB hastalarının serum örneklerinde gliserofosfolipid türlerindeki değişimler hedeflenmemiş lipidomik yöntemle UPLC-ESI-QToF kullanılarak araştırılmıştır [114]. Ayrıca, sağlıklı ve hasta gruplar arasında farklı olarak eksprese edilen metabolitlerin belirlenmesi için tandem kütle spektrometresi yapılmıştır. T2D'li veya T2D'siz TB enfekte bireylerin, fosfatidilkolin türlerinde azalma gözlenmiştir. TB ve TB-T2D hastalarında toplam 14 gliserofosfolipid türünün farklı şekilde regüle edildiği ve potansiyel olarak biyobelirteç olarak öngörülebileceği bildirilmiştir [114].

Collins ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, 17 kişiden oluşan TB hasta grubunun serum örneklerinde *Mtb* ilişkili lipid türlerinin varlığı sağlıklı bireylerle karşılaştırılmıştır [115]. Sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında, TB

hastalarının serum örneklerinde PG (16:0-18:1), Lyso-PI (18:0) ve açilfosfatidilinositolmannosid (Ac1PIM1) (56:1) lipid türlerinde en belirgin artış gözlenmiştir. Bu üç lipid türünün tek başlarına veya birlikte aktif TB vakalarının sınıflandırması için biyobelirteç olabilecekleri ileri sürülmüştür [115]. Wood ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 30 TB hastası ve 30 sağlıklı kontrol bireyden elde edilen plazma örneklerinde lipidomik analiz yapılarak 1800 adet lipid türü analiz edilmiştir [116]. TB hastalarının plazma örneklerinde lizofosfatidilkolin seviyelerinde düşüş, fosfatidilkolin ve fosfatidilgliserol seviyelerinde artış olduğu belirlenmiştir [116].

Çalışmamızın ilk basamağında, hedeflenmemiş lipidomik yöntem kullanılarak TB hastaları ve kontrollerin tüm lipid profilleri karşılaştırılmıştır. TB hastaları ve kontroller arasında değişiklik gözlenen lipid türleri pozitif ve negatif iyon modunda değerlendirildiğinde; m/z değeri 225.2064 olan FA, 964.77765, 1066.84525, 753.5614, 496.3457, 524.3699, 830.5671, 854.5648, 536.3769, 604.3615, 564.3172, 828.551 ve 810.5047 olan GP sınıfı lipid türleri, 1067.8487 olan ST, 1080.8253 olan SP, 967.9777 olan GL ve 978.7577 olan PR lipid türlerini içeren 17 farklı lipidin TB hastalığında kontrollerle karşılaştırıldığında daha yüksek düzeylerde buldukları belirlenmiştir. m/z değerleri 149.1066, 192.1439, 176.1181, 217.1063 166.9584, 154.97285, 248.9646, 217.9561, 112.9857, 134.02385, 126.90435, 146.9624 ve 174.9543 olan FA sınıfı lipid türlerinin, 968.0047 ve 957.9431 olan GL sınıfı lipid türlerinin, 982.9878 olan sfingolipid (SP) ve 810.52 olan gliserofosfolipid (GP) sınıfı lipid türlerinin (toplam 17 adet) ise TB hastalarında kontrollere göre daha düşük düzeylerde buldukları belirlenmiştir. Hedeflenmemiş lipidomik yöntemle elde edilen sonuçlara göre TB hastaları ve kontroller arasında anlamlı artış ve azalışın ($p < 0.05$) belirlendiği toplam otuzdört lipid türü (ondört tane FA, onüç tane GP, üç tane GL, iki tane SP, bir tane ST ve bir tane PR) TB TB hastalığı için kan-temelli olası biyobelirteçler olarak öngörülmüştür. Hedeflenmiş lipidomik yöntem uygulandığında spesifik lipid sınıfları içerisinde de ayrımlar sağlanarak, m/z değerleri birden fazla lipid sınıfına karşılık gelen lipid türlerinin de (**Tablo 4.2.** ve **Tablo 4.4.**), sınıfları belirlenerek, daha fazla lipid türü biyobelirteç olarak öngörülebilecektir.

Çalışmamızın ikinci aşamasında yine hedeflenmemiş lipidomik yöntem kullanılarak, TB tedavisi sırasında değişen lipid türlerinin belirlenmesi amacıyla, bir, iki, altı ve yedi ay tedavi alan TB hastaları ve kontrollerin tüm lipid profilleri karşılaştırılmıştır. Tedavi alan TB hastaları ile kontroller arasında FA, GP, GL, SP, ST ve PR sınıfı lipid türlerinde tedavi süresine bağlı olarak artış ve azalışlar gözlenmiştir (**Tablo 4.14.**). Tedavi süresindeki ilerleme ile birlikte hasta bireylerin lipid profillerindeki değişimler giderek azalmış ve yedi aylık tedavi sonucunda TB hastalarının YAve GP sınıfı lipit türlerinde en az lipid değişimi gözlenmiştir. Bu da, TB tedavisinin, hasta bireylerin lipid profillerini sağlıklı bireylerinki ile benzer ölçülere getirdiğine işaret etmektedir.



6. SONUÇ

TB, *Mtb* basili ile bulaşan bir hastalık olup, ülkemiz gibi gelişmekte olan ülkelerde halen yüksek sayıda ölüme neden olmakla birlikte, iş gücü ve ekonomik kayıplara da sebep olmaktadır. TB sırasında konakçı lipit birikiminin enfekte olmuş kişiye birçok zararlı etkisi olabileceği açıktır, bu da kolesterol veya yağ asidi metabolik ve homeostatik yolların terapötik gelişim için yararlı hedefler olabileceğini göstermektedir. Lipid metabolizmasını hedef alan tedaviler göz önünde bulundurulduğunda, TB kemoterapisi pekçok yönüyle zayıf kalmaktadır. Hem konakçıda hem de patojende lipit metabolizmasının önemi göz önünde bulundurulduğunda, bu yollar potansiyel ilaç hedefleri haline gelmektedir.

Lipidlerin hücre ve doku fizyolojisinde değişik ve çok önemli rolleri bulunmaktadır. Lipid metabolizmasında meydana gelen değişiklikler ile bulaşıcı hastalıkları da içeren farklı birçok insan hastalığı arasında güçlü bir korelasyon olduğu son yıllarda yapılan çalışmalarda ortaya konmaktadır. Lipid metabolizması çok karmaşık olup, kompleks bir sinyalleşme ağı tarafından düzenlenmektedir. Lipidomik, hastalık durumlarındaki lipit değişimleri ve bu lipitlerle ilgili protein düzeyleri ve gen ekspresyonlarını da içeren bir çalışma alanıdır. Bu nedenle, lipidomik, karmaşık lipitler ve halk sağlığı için önemli tehdit oluşturan çeşitli hastalıkların patogenezi arasındaki kompleks ilişkilerin daha fazla araştırılması için yararlı bir araç olma potansiyeline sahiptir. Lipidomik çalışmalar, yeni hastalık biyobelirteçlerinin ve küresel hastalık yükünü önemli ölçüde hafifletebilecek yeni terapötik hedeflerin geliştirilmesine öncülük etmektedir. TB hastalığı için yeni biyobelirteçlerin geliştirilmesinde ilk adım, TB hastalığında anlamlı olarak değişen bir lipit sınıfının veya tek bir lipitin tanımlanmasıdır. TB hastalığında, lipit metabolizmasının sinyal yollarının anlaşılması ve tanımlanması tedavi için yeni hedefler sağlayabilecek ve farklı lipit moleküllerinin işlevlerinin belirlenmesi, klinik değerlendirme için yeni TB tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde kullanılabilir.

Yaptığımız çalışma sonucunda kontrollerle karşılaştırıldığında, TB hastalarında en fazla değişim yağ asidi ve gliserofosfolipid sınıfı lipitlerde gözlenmiş,

gliserolipid, sfingolipid, sterol ve prenol lipid sınıflarında da az sayıda lipid türünde değişimler belirlenmiş olup, bu lipid türleri TB hastalığı için lipid biyobelirteçi olarak öngörülmüştür. Tedavi alan TB hastaları ile kontrol bireyler arasında FA, GP, GL, SP, ST ve PR sınıfı lipid türlerinde tedavi süresine bağlı olarak artış ve azalışlar gözlenmiştir. Tedavi süresindeki ilerleme ile lipid türlerindeki değişimlerin azaldığı ve özellikle 7 aylık tedavi alan hastaların lipid profillerinin kontrol bireylere kıyasla en az değişim gösterdiği saptanmıştır.



7. KAYNAKLAR

- [1] World Health Organization (2017). *Global Tuberculosis Report 2017*.
- [2] Barış Yİ. (2002). Dünyada Tüberkülozun Tarihçesi. *Toraks Dergisi*, 3(3): 338-340
- [3] Koch R. (1882). Die Aetiologie der Tuberkulose. *Berliner Klinische Wochenschrift*, 15:221-230.
- [4] T.C. Sağlık Bakanlığı, *Tüberküloz Tanı ve Tedavi Rehberi*. Ankara - 2011.
- [5] World Health Organization (2019). *Global Tuberculosis Report 2019- Executive summary*.
- [6] T.C. Sağlık Bakanlığı. *Türkiye'de Verem Savaşı 2018 Raporu*. Ankara - 2018
- [7] Wayne LG. (1982). Microbiology of tubercle bacilli. *Am Rev Respir Dis*, 125(3 Pt 2):31-41.
- [8] Thomson RM, Yew WW (2009). When and how to treat pulmonary non-tuberculous mycobacterial diseases. *Respirology*, 14(1):12-26.
- [9] McNeil MR, Brennan PJ (1991). Structure, function and biogenesis of the cell envelope of mycobacteria in relation to bacterial physiology, pathogenesis and drug resistance; some thoughts and possibilities arising from recent structural information. *Microbiol*, 142(4):451-463.
- [10] Brennan P J (2003). Structure, function, and biogenesis of the cell wall of Mycobacterium tuberculosis. *Tuberculosis*, 83(1-3):91-97.
- [11] Hett EC, Rubin EJ (2008). Bacterial growth and cell division: a mycobacterial perspective. *Microbiol Mol Biol Rev*, p.126-156
- [12] Lee WR, MD (2018). Tuberculosis: Natural history, microbiology, and pathogenesis, *Wolters Kluwer*, ss.17-19.
- [13] Allen BW, Mitchison DA (1992). Counts of viable tubercle bacilli in sputum related to smear and culture gradings. *Medical laboratory sciences*, 49(2):94-98.
- [14] Kubica G, Kent K (1985). Public health mycobacteriology: a guide for the level III laboratory. *Centers for Disease Control, U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta, GA*.

- [15] Thanna S, Sucheck SJ (2017). Targeting the trehalose utilization pathways of *Mycobacterium tuberculosis*. *Medchemcomm*, 7(1):69-85.
- [16] Pinto LM, Dheda K, Theron G, Allowood B, Calligaro G, Zyl-Smit RV, Peter J, Schwartzman K, Menzies D, Bateman E, Pai M, Dawson R (2013). Development of a Simple Reliable Radiographic Scoring System to Aid the Diagnosis of Pulmonary Tuberculosis. *PLoS One*, 8(1):1–7.
- [17] Bernardo J (2017). Clinical manifestations, diagnosis, and treatment of miliary tuberculosis. *Wolters Kluwer*, ss. 1–2.
- [18] Yang H, Nicole A, Kruh-Garcia, Dobos KM (2012). Purified protein derivatives of tuberculin - past, present, and future. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 66(3): 273–280.
- [19] Kurtaran B, Nazik S, Ulu A, İnal AS, Kömür S, Kuşçu F, Aksu HSZ, Taşova Y (2015). Evaluation of Hiv Infection And Tuberculosis Concomitance. *Mediterr. J. Infect. Microbes Antimicrob*, 2015;4:4.
- [20] T.C. Sağlık Bakanlığı. *Türkiye'de Verem Savaşı 2017 Raporu*. Ankara - 2017.
- [21] Reichman LB, Lardizabal AA (2018). Adherence to tuberculosis treatment. *Wolters Kluwer*, ss. 17–19.
- [22] Drew RH, Sterling TR (2018). Antituberculous drugs : An overview. *Wolters Kluwer*.
- [23] Drew RH (2018). Isoniazid: An overview. *Wolters Kluwer*.
- [24] Drew RH (2018). Rifamycins (rifampin, rifabutin, rifapentine). *Wolters Kluwer*.
- [25] Telenti A, Imboden P, Marchesi F, Lowrie D, Cole S, Colston MJ, Matter L, Schopfer K, Bodmer T (1993). Detection of rifampicin-resistance mutations in *Mycobacterium tuberculosis*. *Lancet*, 341(8846):647-650.
- [26] Centers for Disease Control and Prevention, "Treatment of Tuberculosis" , erişim: 20 Aralık 2018, <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5211a1.htm>
- [27] Zhang Y, Shi W, Zhang W, Mitchison D (2014). Mechanisms of Pyrazinamide Action and Resistance. *Microbiol Spectr*, 2(4):MGM2-

0023-2013

- [28] Drew RH, PharmD, MS, FCCP (2018). Ethambutol: An overview. *Wolters Kluwer*.
- [29] Nelson DL, Cox MM. *Lehninger Principles of Biochemistry*. Trc. Nedret KILIÇ. Ankara: Palme Yayıncılık. 2005.
- [30] Pulfer M, Murphy RC (2003). Electrospray mass spectrometry of phospholipids. *Mass Spectrom. Rev*, 22(5):332-364.
- [31] Santos CR, Schulze A (2012). Lipid metabolism in cancer. *FEBS Journal*, 279(15):2610-2623.
- [32] Coleman RA, Mashek DG (2011). Mammalian triacylglycerol metabolism: Synthesis, lipolysis, and signaling. *Chemical Reviews*, 111(10):6359-6386
- [33] Kamil B, Anna F, Anna S, Sławomir P, Halina C (2016). Regulation of sphingomyelin metabolism. *Pharmacological Reports*, 68(3):570-581.
- [34] Espenshade PJ, Hughes AL (2007). Regulation of Sterol Synthesis in Eukaryotes. *Annu. Rev. Genet*, 41:401-427.
- [35] Sato R (2010). Sterol metabolism and SREBP activation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 501(2):177-181
- [36] G. Larrouy-Maumus (2019). Lipids as Biomarkers of Cancer and Bacterial Infections. *Curr. Med. Chem*, 26(11):1924-1932.
- [37] Lagarde M, Gélöën A, Record M, Vance D, Spener F (2003). Lipidomics is emerging. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1634(3):61.
- [38] Vaz FM, Pras-Raves M, Bootsma AH, van Kampen AH (2015), Principles and practice of lipidomics. *J. Inherit. Metab. Dis*, 38(1):41-52.
- [39] Han X, Gross RW (2003). Global analyses of cellular lipidomes directly from crude extracts of biological samples by ESI mass spectrometry: A bridge to lipidomics. *Journal of Lipid Research*, 44(6):1071-1079.
- [40] Zhao YY, Cheng XL, Lin RC (2014). Lipidomics Applications for Discovering Biomarkers of Diseases in Clinical Chemistry. *International Review of Cell and Molecular Biology*, 313:1-26.
- [41] Ejsing CS, Sampaio JL, Surendranath V, Duchoslav E, Ekroos K,

- Klemm RW, Simons K, Shevchenko A (2009). Global analysis of the yeast lipidome by quantitative shotgun mass spectrometry. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A*, 106(7):2136-2141.
- [42] Guan XL, Souza CM, Pichler H, Dewhurst G, Schaad O, Kajiwara K, Wakabayashi H, Ivanova T, Castillon GA, Piccolis M, Abe F, Loewith R, Funato K, Wenk MR, Riezman H (2009). Functional interactions between sphingolipids and sterols in biological membranes regulating cell physiology. *Mol Biol Cell*, 20(7):2083-2095.
- [43] Carvalho M, Schwudke D, Sampaio JL, Palm W, Riezman I, Dey G, Gupta GD, Mayor S, Riezman H, Shevchenko A, Kurzchalia TV, Eaton S (2010). Survival strategies of a sterol auxotroph. *Development*, 137(21):3675-3685.
- [44] Sampaio JL, Gerl MJ, Klose C, Ejsing CS, Beug H, Simons K, Shevchenko A (2011). Membrane lipidome of an epithelial cell line. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A*, 108(5):1903–1907.
- [45] O'Donnell VB, Ekroos K, Liebisch G, Wakelam M (2020). Lipidomics: Current state of the art in a fast moving field. *Wiley Interdiscip. Rev. Syst. Biol. Med.*, 12(1):e1466.
- [46] Maciel E, Leal MC, Lillebø AI, Domingues P, Domingues MR, Calado R (2016). Bioprospecting of marine macrophytes using MS-based lipidomics as a new approach. *Marine Drugs*, 14(3):49.
- [47] Glaysher J (2013). Lipid metabolism and cancer. *Curr. Opin. Lipidol.*, 24(6):530-531.
- [48] Zhang Y, Wang Y, Guo S, Guo Y, Liu H, Li Z (2013). Ammonia-treated N-(1-naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride as a novel matrix for rapid quantitative and qualitative determination of serum free fatty acids by matrix-assisted laser desorption/ionization-Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta*, 10;794:82-89.
- [49] Yang K, Han X (2016). Lipidomics: Techniques, Applications, and Outcomes Related to Biomedical Sciences. *Trends in Biochemical Sciences*, 41(11):954-969.

- [50] de Gómez Dumm NT, Giammona AM, Touceda LA, Raimondi C (2001). Lipid abnormalities in chronic renal failure patients undergoing hemodialysis. *Med. (B Aires)*, 61(2):142-146.
- [51] Jia L, Wang C, Zhao S, Lu X, Xu G (2007). Metabolomic identification of potential phospholipid biomarkers for chronic glomerulonephritis by using high performance liquid chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci*, 860(1):134-140.
- [52] Ollero M, Astarita G, Guerrero IC, Sermet-Gaudelus I, Trudel S, Piomelli D, Edelman A (2011). Plasma lipidomics reveals potential prognostic signatures within a cohort of cystic fibrosis patients. *J. Lipid Res*, 52(5):1011-1022.
- [53] Wood PL (2014). Mass spectrometry strategies for clinical metabolomics and lipidomics in psychiatry, neurology, and neuro-oncology. *Neuropsychopharmacology*, 39(1):24-33.
- [54] Sabbagh MN, Sandhu S, Kolody H, Lahti T, Silverberg NB, Sparks DL (2006). Studies on the Effect of the Apolipoprotein E Genotype on the Lipid Profile in Alzheimer's Disease. *Curr Alzheimer Res*, 3(2):157-160.
- [55] Han X (2010). Multi-dimensional mass spectrometry-based shotgun lipidomics and the altered lipids at the mild cognitive impairment stage of Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta*, 1801(8):774-783.
- [56] Astarita G, Piomelli D (2011). Towards a whole-body systems [multi-organ] lipidomics in Alzheimer's disease. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fat. Acids*, 85(5):197-203.
- [57] Touboul D, Gaudin M (2014). Lipidomics of Alzheimer's disease. *Bioanalysis*, 6(4):541-561.
- [58] Schwarz E, Prabakaran S, Whitfield P, Major H, Leweke FM, Koethe D, McKenna P, Bahn S (2008). High throughput lipidomic profiling of schizophrenia and bipolar disorder brain tissue reveals alterations of free fatty acids, phosphatidylcholines, and ceramides. *J. Proteome Res*, 7(10):4266-4277.
- [59] Del Boccio P, Pieragostino D, Di Ioia M, Petrucci F, Lugaresi A, De Luca G, Gambi D, Onofri M, Di Ilio C, Sacchetta P, Urbani A (2011).

Lipidomic investigations for the characterization of circulating serum lipids in multiple sclerosis. *J. Proteomics*, 74(12):2826-2836.

- [60] Zhou X, Mao J, Henegar J (2010). Lipidomics in identifying lipid biomarkers of prostate cancer. *FASEB*, 24:354-356
- [61] Min HK, Lim S, Chung BC, Moon MH (2011). Shotgun lipidomics for candidate biomarkers of urinary phospholipids in prostate cancer. *Anal Bioanal Chem*, 399(2):823-830.
- [62] Zhou X, Mao J, Ai J, Deng Y, Roth MR, Pound C, Henegar J, Welti R, Bigler SA (2012). Identification of Plasma Lipid Biomarkers for Prostate Cancer by Lipidomics and Bioinformatics. *PLoS One*, 7(11):e48889.
- [63] Kim IC, Lee JH, Bang G, Choi SH, Kim YH, Kim KP, Kim HK, Ro J (2013). Lipid profiles for HER2-positive breast cancer. *Anticancer Res*, 33(6):2467-2472.
- [64] Crick PJ, Guan XL (2016). Lipid metabolism in mycobacteria - Insights using mass spectrometry-based lipidomics. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1861(1):60-67.
- [65] Hewelt-Belka W, Nakonieczna J, Belka M, Bączek T, Namieśnik J, Kot-Wasik A (2016). Untargeted Lipidomics Reveals Differences in the Lipid Pattern among Clinical Isolates of *Staphylococcus aureus* Resistant and Sensitive to Antibiotics. *J Proteome Res*, 15(3):914-922.
- [66] Melo CF, de Oliveira DN, Lima EO, Guerreiro TM, Esteves CZ, Beck RM, Padilla MA, Milanez GP, Arns CW, Proença-Modena JL, Souza-Neto JA, Catharino RR (2016). A lipidomics approach in the characterization of zika-infected mosquito cells: Potential targets for breaking the transmission cycle. *PLoS One*, 11(10):e0164377.
- [67] Bligh EG, Dyer WJ (1959) A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37(8): 911-917
- [68] Anderson RL, Davis S (1982). An organic phosphorus assay which avoids the use of hazardous perchloric acid. *Clin Chim Acta*, 121(1):111-116.

- [69] Taguchi R, Hayakawa J, Takeuchi Y, Ishida M (2000). Two-dimensional analysis of phospholipids by capillary liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry”, *J Mass Spectrom*, 35(8):953-966.
- [70] Zhang L, Peterson BL, Cummings BS (2005). The effect of inhibition of Ca²⁺-independent phospholipase A₂ on chemotherapeutic-induced death and phospholipid profiles in renal cells. *Biochem Pharmacol*, 70(11):1697-706.
- [71] Kinsey GR, Blum JL, Covington MD, Cummings BS, McHowat J, Schnellmann RG (2008). Decreased iPLA₂ γ expression induces lipid peroxidation and cell death and sensitizes cells to oxidant-induced apoptosis. *J Lipid Res*, 49(7): 1477–1487
- [72] Peterson B, Stovall K, Monian P, Franklin JL, Cummings BS (2008). Alterations in phospholipid and fatty acid lipid profiles in primary neocortical cells during oxidant-induced cell injury. *Chem Biol Interact*, 174(3):163-176.
- [73] MetaboAnalyst. "MetaboAnalyst - statistical, functional and integrative analysis of metabolomics data". erişim:20.04.2020. <https://www.metaboanalyst.ca/>.
- [74] “MAPS®, LIPID Gateway, Lipidomics”. erişim:20.04.2020. <http://www.lipidmaps.org/>.
- [75] Zhang L, Han X, Wang X (2018). Is the clinical lipidomics a potential goldmine?. *Cell Biol Toxicol*, 34(6): 421–423.
- [76] Lv J, Gao D, Zhang Y, Wu D, Shen L, Wang X (2018). Heterogeneity of lipidomic profiles among lung cancer subtypes of patients. *J Cell Mol Med*, 22(10): 5155–5159.
- [77] Hamasur B, Bruchfeld J, Haile M, Pawlowski A, Bjorvatn B, Källenius G, Svenson SB (2001). Rapid diagnosis of tuberculosis by detection of mycobacterial lipoarabinomannan in urine. *J Microbiol Methods*. 45(1):41-52.
- [78] Gago G, Diacovich L, Gramajo H (2018). Lipid metabolism and its implication in mycobacteria–host interaction. *Current Opinion in*

Microbiology, 41:36-42.

- [79] Vergne I, Chua J, Singh SB, Deretic V (2004). Cell biology of mycobacterium tuberculosis phagosome. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 20:367-394.
- [80] Segal W, Bloch H (1956). Biochemical differentiation of Mycobacterium tuberculosis grown in vivo and in vitro. *J Bacteriol*, 72(2):132-141.
- [81] McKinney JD, Höner zu Bentrup K, Muñoz-Elías EJ, Miczak A, Chen B, Chan WT, Swenson D, Sacchettini JC, Jacobs WR Jr, Russell DG. (2000). Persistence of Mycobacterium tuberculosis in macrophages and mice requires the glyoxylate shunt enzyme isocitrate lyase. *Nature*, 406(6797):735-738.
- [82] Pandey AK, Sasseti CM (2008). Mycobacterial persistence requires the utilization of host cholesterol. *Proc Natl Acad.Sci.U S A*, 105(11):4376-4380.
- [83] Schnappinger D, Ehrt S, Voskuil MI, Liu Y, Mangan JA, Monahan IM, Dolganov G, Efron B, Butcher PD, Nathan C, Schoolnik GK. (2003). Transcriptional adaptation of Mycobacterium tuberculosis within macrophages: Insights into the phagosomal environment. *J Exp Med*, 198(5):693-704.
- [84] Van Der Geize R, Yam K, Heuser T, Wilbrink MH, Hara H, Anderton MC, Sim E, Dijkhuizen L, Davies JE, Mohn WW, Eltis LD (2007) A gene cluster encoding cholesterol catabolism in a soil actinomycete provides insight into Mycobacterium tuberculosis survival in macrophages. *Proc Nat Acad Sci U S A*, 104(6):1947-1952
- [85] Daniel J, Deb C, Dubey VS, Sirakova TD, Abomoelak B, Morbidoni HR, Kolattukudy PE (2004). Induction of a novel class of diacylglycerol acyltransferases and triacylglycerol accumulation in Mycobacterium tuberculosis as it goes into a dormancy-like state in culture. *J Bacteriol*, 186(15):5017-5030.
- [86] Daniel J, Maamar H, Deb C, Sirakova TD, Kolattukudy PE (2011). Mycobacterium tuberculosis uses host triacylglycerol to accumulate

lipid droplets and acquires a dormancy-like phenotype in lipid-loaded macrophages. *PLoS Pathog*, 7(6):e1002093.

- [87] Baek SH, Li AH, ve Sasseti CM (2011). Metabolic regulation of mycobacterial growth and antibiotic sensitivity. *PLoS Biol*, 9(5):e1001065.
- [88] Chang JC, Harik NS, Liao RP, Sherman DR.(2007). Identification of Mycobacterial genes that alter growth and pathology in macrophages and in mice. *J Infect Dis*, 196(5):788-795
- [89] Hu Y, van der Geize R, Besra GS, Gurcha SS, Liu A, Rohde M, Singh M, Coates A. (2010). 3-Ketosteroid 9 α -hydroxylase is an essential factor in the pathogenesis of Mycobacterium tuberculosis. *Mol Microbiol*, 75(1):107-121.
- [90] Nesbitt NM, Yang X, Fontán P, Kolesnikova I, Smith I, Sampson NS, Dubnau E. (2010). A thiolase of Mycobacterium tuberculosis is required for virulence and production of androstenedione and androstadienedione from cholesterol. *Infect Immun*, 78(1):275-282.
- [91] VanderVen BC, Fahey RJ, Lee W, Liu Y, Abramovitch RB, Memmott C, Crowe AM, Eltis LD, Perola E, Deininger DD, Wang T, Locher CP, Russell DG (2015). Novel Inhibitors of Cholesterol Degradation in Mycobacterium tuberculosis Reveal How the Bacterium's Metabolism Is Constrained by the Intracellular Environment. *PLoS Pathog*, 11(2):e1004679.
- [92] Yam KC, D'Angelo I, Kalscheuer R, Zhu H, Wang JX, Snieckus V, Ly LH, Converse PJ, Jacobs WR, Strynadka N, Eltis LD (2009). Studies of a ring-cleaving dioxygenase illuminate the role of cholesterol metabolism in the pathogenesis of Mycobacterium tuberculosis. *PLoS Pathog*, 5(3):e1000344.
- [93] Lee W, VanderVen BC, Fahey RJ, Russell DG (2013). Intracellular Mycobacterium tuberculosis exploits host-derived fatty acids to limit metabolic stress. *J Biol Chem*, 288(10):6788-6800.
- [94] Bensinger SJ, Tontonoz P (2008). Integration of metabolism and inflammation by lipid-activated nuclear receptors. *Nature*,

454(7203):470-477.

- [95] Saka HA, Valdivia R (2012). Emerging Roles for Lipid Droplets in Immunity and Host-Pathogen Interactions. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 28:411-437.
- [96] Almeida PE, Silva AR, Maya-Monteiro CM, Torocsik D, D'Avila H, Dezso B, Magalhaes KG, Castro-Faria-Neto HC, Nagy L, Bozza PT (2009). Mycobacterium bovis Bacillus Calmette-Guérin Infection Induces TLR2-Dependent Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ Expression and Activation: Functions in Inflammation, Lipid Metabolism, and Pathogenesis. *J. Immunol*, 183(2):1337-1345.
- [97] Almeida PE, Carneiro AB, Silva AR, Bozza PT (2012). PPAR γ expression and function in mycobacterial infection: Roles in lipid metabolism, immunity, and bacterial killing. *PPAR Research*, 2012:383829.
- [98] Rajaram MV, Brooks MN, Morris JD, Torrelles JB, Azad AK, Schlesinger LS (2010). Mycobacterium tuberculosis Activates Human Macrophage Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ Linking Mannose Receptor Recognition to Regulation of Immune Responses. *J Immunol*, 185(2):929-942
- [99] Griffin JE, Pandey AK, Gilmore SA, Mizrahi V, McKinney JD, Bertozzi CR, Sasseti CM (2012). Cholesterol catabolism by Mycobacterium tuberculosis requires transcriptional and metabolic adaptations. *Chem Biol*. 19(2):218-227
- [100] Gutierrez MG, Master SS, Singh SB, Taylor GA, Colombo MI, Deretic V (2004). Autophagy is a defense mechanism inhibiting BCG and Mycobacterium tuberculosis survival in infected macrophages. *Cell*, 119(6):753-766.
- [101] Martens GW, Arikian MC, Lee J, Ren F, Vallerskog T, Kornfeld H (2008). Hypercholesterolemia impairs immunity to tuberculosis. *Infect Immun*, 76(8):3464-3472.
- [102] Martens GW, Vallerskog T, Kornfeld H (2012). Hypercholesterolemic LDL receptor-deficient mice mount a neutrophilic response to

tuberculosis despite the timely expression of protective immunity. *J Leukoc Biol*, 91(6):849-857.

- [103] Shin DM, Jeon BY, Lee HM, Jin HS, Yuk JM, Song CH, Lee SH, Lee ZW, Cho SN, Kim JM, Friedman RL, Jo EK (2010). Mycobacterium tuberculosis eis regulates autophagy, inflammation, and cell death through redox-dependent signaling. *PLoS Pathog*, 16;6(12):e1001230.
- [104] Singh R, Kaushik S, Wang Y, Xiang Y, Novak I, Komatsu M, Tanaka K, Cuervo AM, Czaja MJ (2009). Autophagy regulates lipid metabolism. *Nature*, 458(7242):1131-1135.
- [105] Singh V, Jamwal S, Jain R, Verma P, Gokhale R, Rao KV (2012). Mycobacterium tuberculosis-driven targeted recalibration of macrophage lipid homeostasis promotes the foamy phenotype. *Cell Host Microbe*, 12(5):669-681.
- [106] Chow ED, Cox JS (2011). TB lipidomics - The final frontier", *Chemistry and Biology*. 18(12):1517-1518.
- [107] Low KL, Rao PS, Shui G, Bendt AK, Pethe K, Dick T, Wenk MR (2009). Triacylglycerol utilization is required for regrowth of in vitro hypoxic nonreplicating Mycobacterium bovis bacillus Calmette-Guerin. *J Bacteriol*, 191(16):5037-5043.
- [108] Low KL, Shui G, Natter K, Yeo WK, Kohlwein SD, Dick T, Rao SP, Wenk MR. (2010). Lipid droplet-associated proteins are involved in the biosynthesis and hydrolysis of triacylglycerol in Mycobacterium bovis bacillus Calmette-Guérin. *J Biol Chem*, 285(28):21662-21670.
- [109] Barry CE, Lee RE, Mdluli K, Sampson AE, Schroeder BG, Slayden RA, Yuan Y (1998). Mycolic acids: Structure, biosynthesis and physiological functions. *Progress in Lipid Research*, 37(2-3):143-179.
- [110] Ehrt S, Schnappinger D (2007). Mycobacterium tuberculosis virulence: Lipids inside and out. *Nature Medicine*, 13(3):284-285.
- [111] Parrish N, Osterhout G, Dionne K, Sweeney A, Kwiatkowski N, Carroll K, Jost K.C, Dick J (2007). Rapid, standardized method for determination of Mycobacterium tuberculosis drug susceptibility by use of mycolic acid analysis. *J Clin. Microbiol*, 45(12): 3915–3920.

- [112] Shui G, Bendt AK, Jappara IA, Lim HM, Laneelle M, Hervé M, Via LE, Chua GH, Bratschi MW, Zainul Rahim SZ, Michelle AL, Hwang SH, Lee JS, Eum SY, Kwak HK, Daffé M, Dartois V, Michel G, Barry CE, Wenk MR (2012). Mycolic acids as diagnostic markers for tuberculosis case detection in humans and drug efficacy in mice. *EMBO Mol Med*, 4(1):27-37.
- [113] Shui G, Bendt AK, Pethe K, Dick T, Wenk MR (2007). Sensitive profiling of chemically diverse bioactive lipids. *J Lipid Res*, 48(9):1976-1984.
- [114] López-Hernández Y, Lara-Ramírez EE, Salgado-Bustamante M, López JA, Oropeza-Valdez JJ, Jaime-Sánchez E, Castañeda-Delgado JE, Magaña-Aquino M, Murgu M, Enciso-Moreno JA (2019). Glycerophospholipid Metabolism Alterations in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus and Tuberculosis Comorbidity. *Arch Med Res*, 50(2):71-78.
- [115] Collins JM, Walker DI, Jones DP, Tukvadze N, Liu KH, Tran VT, Uppal K, Frediani JK, Easley KA, Shenvi N, Khadka M, Ortlund EA, Kempker RR, Blumberg HM, Ziegler TR (2018). High-resolution plasma metabolomics analysis to detect Mycobacterium tuberculosis-associated metabolites that distinguish active pulmonary tuberculosis in humans. *PLoS One*, 13(10):e0205398.
- [116] Wood PL, Tippireddy S, Feriante J (2017). Plasma lipidomics of tuberculosis patients: Altered phosphatidylcholine remodeling. *Futur Sci OA*, 4(1):FSO255.

8. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel bilgiler

Adı Soyadı	Serkan CAN
Doğum Yeri ve Tarihi	Sivas / 1978
Medeni Hali	Evli
Yabancı Dil	İngilizce
İletişim Adresi	Şeyhşamil Mah. Şelale Sok. Megakent Sit. 3/B Blok D:38 SİVAS
E-posta Adresi	sc.serkan.can@hotmail.com

Eğitim ve Akademik Durumu

Lise	Sivas Endüstri Meslek Lisesi, 1995
Önlisans	Cumhuriyet Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu, Tıbbi Laboratuvar Bölümü, 2000
Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 2016
Yüksek Lisans	Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İş Sağlığı ve Güvenliği, 2018
Yüksek Lisans	Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Biyokimya Anabilim Dalı, 2020
Ünvan	Biyolog

İş Tecrübesi

Tokat GOP Üniversitesi	2004 - 2007
Sağlık Bakanlığı	2007 -

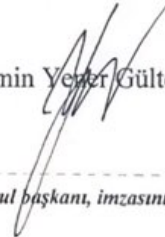
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Lipidomik Yaklaşım Kullanılarak Tüberküloz Hastalığı İçin Lipid Belirteçlerinin Saptanması ve Tedavi Süresince Değişen Lipid Türlerinin Belirlenmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Cumhuriyet Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı, Tıp Tarihi ve Etik Anabilim Dalı TR-58140 Merkez/Sivas
	TELEFON	0 346 219 10 10 / Dahili: 2092
	FAKS	-
	E-POSTA	cuetikkurul@gmail.com

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Yrd. Doç. Dr. Serap Şahin Bölükbaşı			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Biyokimya			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Cumhuriyet Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Temel Eczacılık Bilimleri Bölümü			
	VARSA İDARI SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI	--			
	DESTEKLEYİCİ	--			
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)	--			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	--			
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
FAZ 4		<input type="checkbox"/>			
Gözlemsel ilaç çalışması		<input type="checkbox"/>			
Tıbbi cihaz klinik araştırması		<input type="checkbox"/>			
İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		<input type="checkbox"/>			
İlaç dışı klinik araştırma		<input checked="" type="checkbox"/>			
Diğer ise belirtiniz					
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Emin Yeter Gültekin
İmza:




Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Lipidomik Yaklaşım Kullanılarak Tüberküloz Hastalığı İçin Lipid Belirteçlerinin Saptanması ve Tedavi Süresince Değişen Lipid Türlerinin Belirlenmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili	
		ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
		BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
		OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
		ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Açıklama		
	SİGORTA	<input type="checkbox"/>			
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input type="checkbox"/>			
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>			
	İLAN	<input type="checkbox"/>			
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>			
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>			
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>			
DİĞER:	<input type="checkbox"/>				
KARAR BİLGİLERİ	Karar No:2017-01/12	Tarih: 17.01.2017			
	<p>Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.</p> <p>İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.</p>				

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Emin Yener Gültekin

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
			E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Emin Yener Gültekin	Üroloji	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	<i>[Signature]</i>
Prof. Dr. Kürşat Karadayı	Genel Cerrahi	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	<i>[Signature]</i>
Prof. Dr. Hülya Toker	Periodontoloji	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	<i>[Signature]</i>
Doç. Dr. Ayşe Demirkazık	Biyofizik	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	<i>[Signature]</i>
Doç. Dr. Aynur Engin	Enfeksiyon Hastalıkları	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	Görevli
Doç. Dr. Gülay Yıldırım	Tıp Tarihi ve Etik	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	<i>[Signature]</i>
Doç. Dr. Ali Şahin	Romatoloji	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	<i>[Signature]</i>
Yrd. Doç. Dr. Ziyet Çınar	Biyostatistik	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	<i>[Signature]</i>
Yrd. Doç. Dr. Ahmet Altun	Tıbbi Farmakoloji	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	<i>[Signature]</i>

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Emin Yener Gültekin
İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.



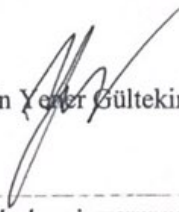
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Lipidomik Yaklaşım Kullanılarak Tüberküloz Hastalığı İçin Lipid Belirteçlerinin Saptanması ve Tedavi Süresince Değişen Lipid Türlerinin Belirlenmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

Yrd. Doç. Dr. Mahmut Ekici	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Uzm. Dr. Levent Sağlam	Aile Hekimi	Sivas Halk Sağlığı Müdürlüğü	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Uzm. Dr. Hüseyin Saygın	Üroloji	Sivas Numune Hastanesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Araş. Gör. Emine Özdamar	Avukat	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Öğret. Melih Arslan	Sınıf Öğretmeni	Emekli	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

*:Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Emin Yener Gültekin
İmza:





Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.