



**T.C.
BATMAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

**NORMAL, KANSERLİ VE DİABETLİ KAN VE İDRAR ÖRNEKLERİNİN METABOLİT
PİK YARIGENİŞLİĞİNDEN NMR T₂ DURULMASININ SAPTANMASI**

Zühal TAĞU

**Yüksek Lisans Tezi
Fizik Anabilim Dalı**

**Ekim-2022
BATMAN
Her Hakkı Saklıdır**

TEZ KABUL VE ONAYI

Zühal TAĞU tarafından hazırlanan **Normal, kanserli ve diabetli kan ve idrar örneklerinin metabolit pik yarıgenişliğinden NMR T₂ durulmasının saptanması** adlı tez çalışması 27/10/2022 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Batman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fizik Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Başkan

Prof.Dr. Mehmet Zafer KÖYLÜ

Danışman

Prof. Dr. Ali YILMAZ

Üye

Prof. Dr. Ömer GÜLLÜ

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Osman PAKMA
Lisanüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü V.

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all materials and results that are not original to this work.

Zühal TAĞU

27/10/2022

ÖZET
Yüksek Lisans Tezi

**NORMAL, KANSERLİ VE DİABETLİ KAN VE İDRAR
ÖRNEKLERİNİN METABOLİT PİK YARIGENİŞLİĞİNDEN NMR
T₂ DURULMASININ SAPTANMASI**

Zühal TAĞU

Batman Üniversitesi Lisanüstü Eğitim Enstitüsü

Fizik Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ali YILMAZ

2022, 40 Sayfa

Jüri
Prof. Dr. Mehmet Zafer KÖYLÜ
Prof. Dr. Ali YILMAZ
Prof. Dr. Ömer GÜLLÜ

Günümüz NMR makinelerinin yüksek çözünürlük kabiliyeti ve gelişmiş shimming teknikleri, manyetik alan homojenliğini en aza indirmiştir. Buna paralel olarak, NMR pik yarı genişliği ölçümlerinden T₂ türetilmesi son yıllarda daha yaygın hale gelmiştir. Bu nedenlerle, sağlıklı ve hastalıklı vakaların NMR pik yarı genişliği karşılaştırmaları NMR, MRS ve MRI'nin tıbbi uygulamaları için klinik öneme sahip olabilir. Bu tezin amacı, sağlıklı ve kanserli kan ve idrar örneklerine ait metabolit piklerinin NMR pik yarı genişliklerini hesaplamak ve bu genişliklerden T₂ durulma zamanlarını türetmektir.

Bu çalışmada kullanılan 29 kanserli, diabetli ve normal kan ve de 29 kanserli, diabetli ve normal idrar numuneleri Diyarbakır'daki Memorial Hastanesinin kadın-doğum ve Onkoloji Birimlerinden temin edildi. Örnekler -20 derecede muhafaza edildi. Ölçümler esnasında örnekler oda sıcaklığında çözündürüldü. NMR ölçümlerinden önce kan örneklerinin her birinden alınan 0.02 mL sıvı, 0.98 mL D₂O' ya ayrı ayrı eklenerek örnekler hazırlandı. İdrar deneylerinde ise bu oranlar 0.06mL idrar ve 0.94 mL D₂O olarak seçildi. Bu şekilde hazırlanan karışımlar çapı 5 mm olan NMR tüplerine transfer edildi. Çizgi genişliği ölçümünde kullanılan pikler 400 MHz BRUKER AVENCE NMR cihazı ile elde edildi. Ölçümlerde 90 derece pulsu ve 16 tarama kullanıldı. Prob sıcaklığı (20 ±1)°C de sabit tutuldu.

Kan Pikleri: Geniş kan pikleri 0.9 ppm, 1.2 ppm ve 2.8 ppm de çıkmakta ve pik yarı genişliği 0,1 ppm civarında olmaktadır. Dar kan pikleri ise 2.4, 3.4 ve 3.6 ppm değerlerinde ortaya çıkmakta ve pik yarı genişliği 0,01 ppm civarında olmaktadır. Diğer ppmlerde çıkan pikler orta genişlikte piklerdir ve yarı genişliği ortalama 0.05 ppm civarındadır. Dar ve geniş pik yarı genişlikleri gruptan gruba değişmezken, orta büyüklükteki pik genişlikleri gruptan gruba değişkenlik gösterebilmektedir.

İdrar Pikleri: Tüm idrar piklerinin yarı genişliği 0.02 ppm civarındadır. Bu pikler tüm gruplar için, 0.9-0.1 ppm, 2.1 ppm, 2.9ppm ve 3.9 ppm değerlerinde ortaya çıkmaktadır. 3.15 ppm de ortaya çıkan pik diabet grubunda daha sıklıkla görülmektedir. 3.3ppm, 3.6ppm, 5.1 ppm ve 5.6 ppm pikleri, farklı gruplarda ya ortaya çıkmamakta yada seyrek olarak ortaya çıkmaktadır.

Su baskılama teknikleri kullanılmadan yapılan bu çalışma özellikle idrar örneklerinde yapılan çizgi genişliği ölçümlerinin normal ve hastalıklı durumları ayırt etme potansiyeli taşıdığını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler:400 MHz NMR, Metabolit pikleri, normal kan, kanserli kan, D₂O içeren karışımlar, Çizgi yarı genişliği, T₂ durulma zamanı,

ABSTRACT

MS THESIS

**DETERMINATION OF NMR T₂RELAXATION FROM LINE-WIDTHS OF
METABOLITE PEAKS OF HEALTHY, CANCEROUS AND DIABETIC
BLOOD AND URINE SAMPLES**

Zühal TAĞU

**INSTITUTE OF GRADUATE STUDIES
OF BATMAN UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF PHYSİCS**

Advisor: Prof. Dr. Ali YILMAZ

2022, 40 Pages

Jury

**Prof. Dr. Ali YILMAZ
Prof. Dr. Mehmet Zafer KÖYLÜ
Prof. Dr. Ömer GÜLLÜ**

ABSTRACT

The resolution capability and advanced shimming techniques of today's high field NMR machines have minimized magnetic field homogeneity. In parallel, the derivation of T₂ from NMR peak half-width measurements has become more common in recent years. For these reasons, NMR peak half-width comparisons of healthy and diseased cases may be of clinical importance for the medical applications of NMR, MRS and MRI. The aim of this thesis is to calculate the NMR peak half-widths of the metabolite peaks of healthy and cancerous blood and urine samples and to derive T₂ relaxation times from these widths.

29 cancer, diabetic and normal blood samples and 29 cancer, diabetic and normal urine samples used in this study were obtained from the Obstetrics and Gynecology Units of Diyarbakır Memorial Hospital. Samples were stored at -20 degrees. During the measurements, the samples were thawed at room temperature. Before NMR measurements, the mixture was obtained by adding 0.02 mL of fluid to 0.98 mL of D₂O of each blood sample and 0.06 mL of each urine sample to 0.94 mL of D₂O. Each mixture was transferred to 5 mm diameter NMR tubes. NMR measurements were performed using a 400 MHz BRUKER AVANCE NMR spectrometer and a single pulse sequence (90 degree pulse application). 16 scans were selected for each measurement. The measurements were carried out at (20 ± 1)°C.

Blood Peaks: Large blood peaks occur at 0.9 ppm, 1.2 ppm and 2.8 ppm and the peak half width is around 0.1 ppm. Narrow blood peaks appear at 2.4, 3.4 and 3.6 ppm values and the peak half width is around 0.01ppm. The peaks in other ppm are medium-wide peaks and the half width is around 0.05 ppm on

average. While narrow and wide peak half widths do not change from group to group, medium peak widths may vary from group to group.

Urine Peaks: Half width of all urine peaks is around 0.02 ppm. These peaks occur at 0.9-0.1 ppm, 2.1 ppm, 2.9ppm and 3.9 ppm values for all groups. The peak at 3.15 ppm is more common in the diabetes group. Peaks of 3.3ppm, 3.6ppm, 5.1ppm and 5.6ppm either do not occur in different groups or occur infrequently.

This study, which was carried out without using water-suppression techniques, shows that line width measurements, especially in urine samples, have the potential to distinguish between normal and diseased states.

Keywords:400 MHz NMR, metabolite peaks, normal blood, cancerous blood, mixtures containing D2O, half height Line width, T2 relaxation time.



Bu çalışma, Batman Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Fizik Anabilim Dalı'nda "Yüksek Lisans Tezi" olarak hazırlanmıştır. Çalışmada **D₂O ile aşırı seyreltilmiş numuneler kullanılarak, normal, kanserli ve diabetli kan ve idrar örneklerinin NMR Metabolitlerinin pik yarı genişlikleri bulundu. Elde edilen yarıgenişliklerden T₂ durulma zamanları hesaplandı.**

Tez çalışmam boyunca bana yol gösterendanişmanım Prof. Dr. Ali YILMAZ 'a teşekkürlerimi arz ederim. Örneklerin teminini sağlayan Memorial Hastanesi doktorlarından Doç.Dr. Mehmet Nafi SAKAR'a, NMR ölçümlerinde yardımcı olan Dicle Üniversitesi Öğretim Üyesi Prof. Dr. M. Zafer KÖYLÜ'ye ve çalışmalarım esnasında bana destek olan aileme teşekkürlerimi arz ederim.

Zühal TAĞU
BATMAN-2022



İÇİNDEKİLER

ÖZET	ii
------------	----

ABSTRACT.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİLLER LİSTESİ	vii
TABLolar LİSTESİ.....	viii

1. GİRİŞ.....	1
NORMAL VE HASTALIKLI KAN VE DOKULARIN NÜKLEER MANYETİK REZONANS (NMR) SPİN-LATTİCE (T_1) VE SPİN-SPİN (T_2) PARAMETRELERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI 1970'Lİ YILLARDA BAŞLAYIP GÜNÜMÜZE KADAR DEVAM ETMEKTEDİR (DAMADIAN 1971; ZIP ET AL. 1976; COLETTA 2000; CISTOLA AND ROBINSON 2016). BU ÇALIŞMALARDA HASTALIKLI ÖRNEKLERİN ORTALAMA T_1 VE T_2 DEĞERLERİ NORMAL ÖRNEKLERİN ORTALAMA DEĞERLERİNDEN FARKLI BULUNDU. MANYETİK REZONANS GÖRÜNTÜLEMENİN (MRG) KEŞFEDİLMESİNDEN SONRA, DURULMA ZAMANLARINDAKİ BU FARKLILIKLAR, MRG FİLMLEERİNDE KONTRAST OLARAK ORTAYA ÇIKMIŞ VE TEŞHİS AMAÇLI KULLANILMIŞTIR (KRANS DORF ET AL 1989). MR'DA KONTRAST KAYNAĞI OLAN T_1 VE T_2 SÜRELERİ, INVERSION RECOVERY (IR) VE CARR-PURCELL-MEIBOM-GİL (CPMG) TEKNİKLERİ İLE ÖLÇÜLÜR. BU TEKNİKLER, T_1 VE T_2 'NİN HER BİRİ İÇİN 10'DAN FAZLA VERİ NOKTASI (TERS ÇEVİRME GECİKMELERİ VEYA YANKI GECİKMELERİ) ÖLÇÜMÜNE DAYANIR. DOLAYISIYLA, IN VİTRO MRS VE NMR'DEKİ T_1 VE T_2 DURULMA ZAMANLARININ ÖLÇÜMLERİ ZAMAN ALICIDIR.	1
NMR PİK YARI GENİŞLİĞİ İLE $1/T_2$ ARASINDAKİ DOĞRUDAN İLİŞKİ, NMR TEORİSİNİN TÜRETİLDİĞİ YILLARDAN BERİ BİLİNMEKTEDİR (BLOEMBERGEN ET AL 1948). ESKİ TEKNOLOJİLİ NMR CİHAZLARININ VE ÖLÇÜLEN ÖRNEKLERİN YOL AÇTIĞI MANYETİK ALAN HOMOJENLİĞİ NEDENİYLE, PİK YARI GENİŞLİĞİ ÖLÇÜMLERİ YAKIN ZAMANA KADAR T_2 HESABI İÇİN KULLANILMAMIŞTIR. ANCAK GÜNÜMÜZ YÜKSEK ALAN NMR MAKİNELERİNİN YÜKSEK ÇÖZÜNÜRLÜK KABİLİYETİ VE GELİŞMİŞ SHİMMİNG TEKNİKLERİ, MANYETİK ALAN HOMOJENLİĞİNİ EN AZA İNDİRMİŞ VE BU KONUDA YENİ BİR PENCERE AÇMIŞTIR. BUNA PARALEL OLARAK, NMR PİK YARI GENİŞLİĞİ VE NMR PİK YARI GENİŞLİĞİ ÖLÇÜMLERİNDEN T_2 TÜRETİLMESİ SON LİTERATÜRDE DAHA YAYGIN HALE GELMİŞTİR (MLADENOV AND DIMITROV 2001; CHEN AND TJANDRA 2009; WILHELM ET AL. 2012; AHLNER VE ARK. 2013). ÖTE YANDAN, IN VİVO MRS VE NMR KLİNİK ARAŞTIRMA VE DENEMELER İÇİN ÇOK ÖNEMLİ ARAÇLAR HALİNE GELMİŞTİR (KUMAR VE ARK. 2014; Lİ VE ARK., 2015; HWANG AND CHOI 2015; HAUGE VE ARK. 2018; ZİA VE ARK., 2019) D_2O PERFÜZYON MRG VE D_2O METABOLİK GÖRÜNTÜLEME TEKNİKLERİ DE KLİNİK ÇALIŞMALAR İÇİN SIKLIKLA KULLANILMAKTA DİR (KASTURİ VE ARK., 1990; WANG VE ARK., 2013; DE FEYTER VE ARK., 2018). BU NEDENLERLE, SAĞLIKLI VE HASTALIKLI VAKALARIN NMR PİK YARI GENİŞLİĞİ KARŞILAŞTIRMALARI NMR, MRS VE MRI'NİN TIBBİ UYGULAMALARI İÇİN KLİNİK ÖNEME SAHİP OLABİLİR.	1
DÜŞÜK MİKTARDA BİYOLOJİK SIVI VE YÜKSEK MİKTARDA D_2O İÇEREN BİR KARIŞIMDA, H_2O 'DAKİ HİDROJEN ATOMLARININ (H) ÇOĞU DÖTERİYUM (D) İLE DEĞİŞTİRİLİR VE HOD MOLEKÜLLERİ OLUŞUR (KIHNE BRYANT 2000; VAN-QUYNH VE ARK., 2003; YILMAZ VE ARK., 2013; YILMAZ VE YILMAZ 2020). BÖYLE BİR KARIŞIMDAKİ HOD MOLEKÜLLERİ PİK ŞİDDETİNİ AZALTARAK RADYASYON DAMPINGİ ORTADAN KALDIRIR. ÖRNEK İLE İLGİLİ FAKTÖRLERİN ÇİZGİ PİK YARI GENİŞLEMESİNE KATKISI DA, ÖRNEĞİN AŞIRI MİKTARDA D_2O İLE SEYRELTİLMESİ İLE EN AZA İNER (YILMAZ VE YILMAZ 2020). HOD MOLEKÜLLERİ, GRUPLARIN T_2 DAĞILIMLARINDA DARALMAYA YOL AÇARAK, $1/T_2$ 'NİN FARKLI ÇENE LEZYONLARINI AYIRT ETME KABİLİYETİNİ ARTTIRIR (YILMAZ VE YILMAZ 2020). AYRICA, NMR PİK YARI GENİŞLİĞİ ÖLÇÜMLERİ, SADECE TEK BİR RADYO FREKANSI (RF) ATMASINI KULLANARAK, ZAMANDAN TASARRUF SAĞLAR. BU NEDENLE, DÜŞÜK ÖRNEK SIVISI VE YÜKSEK D_2O MİKTARINDAN OLUŞAN KARIŞIMLARLA YAPILACAK BİR NMR ÇALIŞMASI, NORMAL VE HASTALIKLI KAN VE İDRARIN METABOLİT PİKLERİNİN YARI GENİŞLİKLERİNİN ÖLÇÜMÜNE VE ÖLÇÜMLERDEN T_2 DURULMALARININ TÜRETİMİNE İMKÂN VEREBİLİR. HEM PİK YARI GENİŞLİKLERİ VE HEM DE TÜRETİLECEK T_2 ZAMANLARI, NORMAL VE KANSERLİ KAN VE İDRARLARIN BİRBİRLERİNDEN AYIRT EDİLMESİNİ SAĞLAYABİLİR. BÖYLE BİR DENEY, EN KOLAY NMR DENEYİDİR VE FAZLA ÖRNEK ÖLÇÜMLERİNDE DENEYSEL ZAMANDAN TASARRUF SAĞLAR. ÖRNEKLERİN AŞIRI D_2O İLE SEYRELTİLMESİ YENİ YENİ ORTAYA ÇIKAN BİR ÇALIŞMA TÜRÜ OLDUĞUNDAN (YILMAZ VE YILMAZ 2020), MEVCUT YAKLAŞIM AYNI ZAMANDA BASİT VE YENİ BİR YÖNTEMDİR.	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	3
P J FOXALL VE ARKADAŞLARI, POLİKİSTİK BÖBREK HASTALIĞI OLAN HASTALARDAN ALINAN KİST SIVILARININ YÜKSEK ÇÖZÜNÜRLÜKLÜ PROTON MANYETİK REZONANS SPEKTROSKOPİSİİMLİ ÇALIŞMALARINDA; POLİKİSTİK BÖBREK HASTALIĞI OLAN HASTALARDAN TOPLANAN KİSTİK SIVILARIN NMR SPEKTRUMLARI ÖLÇÜLMÜŞLERLERDİR. GENİŞ BİR ZARF ÜZERİNE DAĞILMIŞ METABOLİTE DAĞILIMIMI KAYIT ALTINA ALMIŞLAR VE BU ZARFIN KİSTİK ORTAMDAKİ TOTAL PROTEİN SEVİYESİ İLE İLGİLİ OLDUĞUNU ANALİZ ETMİŞLERDİR. PROTEİNİN ETKİSİ, KİSTİK ORTAMDAN PROTEİNİN ÇÖKERTİLMESİ YOLU İLE DOĞRULANMIŞTIR. SPEKTRUMDA ORTAYA ÇIKAN PİKLERİN HANGİ METABOLİTLERE AİT OLDUĞUNUN SAPTANMASI DA ÇALIŞMANIN ANA KONUSU OLMUŞTUR. YÜKSEK ALAN SPEKTRUMUNDA ORTAYA ÇIKAN PİKLERİN HEM KAN PLAZMASINDAN HEM DE İDRARDAN FARKLI OLDUKLARINI BELİRLEMİŞLERDİR. İNCELENEN KİSTİK SIVILARDA İZOLÖSİN, LİZİN, TREONİN VE VALİN METABOLİTLERİNİN mM MERTEBELERİNDE OLDUĞU, GLİKOZ YOĞUNLUĞUNUN 3.4-9.6 mM ARASINDA DEĞİŞTİĞİ; ASETAT, LAKTAT, SÜKSİNAT VE BENZERİ ORGANİK ASİT VE BAZLARIN, KREATİNİN VE DİMETİLAMİN, GLİKOPROTEİN VE ETANOLÜN YÜKSEK DERİŞİMDE MEVCUT BULUNDUĞU ORTAYA KONULMUŞTUR (P J FOXALL VE ARK. 1992).	3

VIRENDRA KUMAR VE ARKADAŞLARI, PROSTAT KANSERİ İLE BAĞLANTILI İNSAN VÜCUDU SIVILARININ VE DOKULARININ YÜKSEK ÇÖZÜNÜRLÜKLÜ NMR SPEKTROSKOPİSİ İSİMLİ ÇALIŞMALARINDA; PROSTAT DOKU VE SIVISININ, SEMİNAL SIVININ, SERUM VE İDRARIN YÜKSEK ALANDAKİ NMR SPEKTRUMLARINDAKİ FARKLILIKLARIN PROSTAT KANSERİNİN BELİRLENMESİ İÇİN KULLANILABİLECEĞİNİ ANALİZ ETMİŞLERDİR. NMR SPEKTRUMU VEREN TÜM ÇEKİRDEKLERİN (^1H , ^{13}C , ^{31}P , VESAİRE) METABOLİT PROFİLLERİNİN ORTAYA KONULMASINI VE BUNLARIN TANI POTANSİYELLERİNDEN YARARLANILMASINI İFADE ETMİŞLERDİR. 400 MHZ VE ÜZERİNDEKİ MANYETİK ALANLARDA ÇALIŞAN NMR CİHAZLARI İLE ELDE EDİLECEK METABOLİT PROFİLLERİNİN, PROSTAT KANSERİNİN TANISI İÇİN BELİRTEÇ ROLÜ OYNAYABİLECEĞİNİ VE KANSERLE İLİŞKİLİ BİYOKİMYASAL VE METABOLİK DEĞİŞİKLİKLERİN ORTAYA KONMASINDA YARARLI OLACAĞINI İFADE ETMİŞLERDİR. BU TEMELDEN HAREKETLE PROSTAT, PROSTAT DOKUSU PARÇALARI VE DE PROSTAT İLE İLGİLİ VÜCUT SIVILARI ÜZERİNE YAPILMIŞ ÖNCEKİ ÇALIŞMALARİELDEN GEÇİRMİŞLER VE BÖYLESİNE İNCELEMELERİN GELECEKTEKİ ARAŞTIRMALAR İÇİN SAĞLAYACAĞI YARARI İRDELEMİŞLERDİR (VIRENDRA KUMAR VE ARK., 2014)..... 3

MESSANA VE ARKADAŞLARI, TİP II DİYABETİK HASTALARDAKİ İDRARIN PROTON NÜKLEER MANYETİK REZONANS SPEKTRAL PROFİLLERİ İSİMLİ ÇALIŞMALARINDA NORMAL VE DİYABETLİ HASTALARDAN ALINAN İDRAR SIVILARINI PROTON NMR İLE İNCELEMİŞLERDİR. İNCELEN ÖRNEKLERDEN ELDE EDİLEN NMR SPEKTRUM PİKLERİNİN HANGİ METABOLİTLERE KARŞILIK GELDİĞİNİ SAPTAMIŞLARDIR. BAZI METABOLİTLER, DİYABETİK SIVILARDA SAĞLIKLI OLANLAR GÖRE DAHA SIK VE DAHA YÜKSEK DERİŞİMLERDE BULUNDU (I MESSANA VE ARK. 1998)..... 4

QUE N. VAN VE ARKADAŞLARI, MESANE KANSERİ TESPİTİ İÇİN METABOLİK PROFİLLEME İSİMLİ ÇALIŞMALARINDA; BİÇOK HASTALIK ÇEŞİDİNİN ORTAY ÇIKIŞI VE HASTALIĞIN SEYRİ BOYUNCA GENYAZILIMINDA, PROTEİN VE METABOLİT DERİŞİMLERİNDE DEĞİŞİKLİKLER MEYDANA GELİR. PROTEİN VE METABOLİT SEVİYESİNDEKİ DEĞİŞİKLİKLER, KLİNİK BELİRTİLERİN ORTAYA ÇIKMASINDAN ÖNCE BİYOLOJİK SIVILARDA VE DOKULARDA SIKLIKLA SAPTANABİLİR. BU DEĞİŞİMLER, İLGİLİ PARAMETRELERİ TANI VE HASTALIĞIN TAKİBİ İÇİN BİYOBELİRTEÇLER HALİNE GETİRİR. BİYOBELİRTEÇLER BİRÇOK HASTALIK İÇİN YARARLI OLDUĞUNDAN; MESANE KANSERİNİ ORTAYA ÇIKARACAK ÖZGÜN BİR İDRAR BİYOBELİRTECİNİN BULUNMASI, HEM ÖLÜMÜ ÖNLEYECEK VE HEM DE HASTALIĞIN YOL AÇTIĞI ACIYI AZALTACAKTIR. BU ÇALIŞMADA MESANE KANSERİ İÇİN, SİSTOSKOPI VE HİSTOPATOLOJİNİN YERİNİ ALMACAK DUYARLILIKTA OLAN BİYOBELİRTEÇLARİN KÜTLE SPEKTROMETRESİ VE NMR METABOLİT PROFİLİ TARTIŞILMIŞTIR (QUE N. VAN VE ARK. 2011)..... 4

ZHENİNG WANG VE ARKADAŞLARI, NMR TABANLI METABOLOMİK TEKNİKLER, ERKEN KOLOREKTAL KANSER TESPİTİ (CRC) İÇİN POTANSİYEL İDRAR BİYOBELİRTEÇLERİNİ TANIMLAR İSİMLİ ÇALIŞMALARINDA; KOLOREKTAL KANSER (CRC) HASTALALIĞINI YENMEK İÇİN ERKEN TANI METODLARINA GEREKSİNİM BULUNMAKTADIR. BU AMAÇ İÇİN ^1H -NMR), ELLİBEŞ CRC HASTASINDAN VE SAĞLIKLI KONTROLDEN ALINAN İDRAR SIVILARININ NMR METABOLİTE PROFİLİ ARAŞTIRILMIŞTIR. ORTOGONAL KISMİ EN KÜÇÜK KARELER-AYIRICI ANALİZİ (OPLS-DA) YOLUYLA ÖRÜNTÜ TANIMA YAPILMIŞTIR. MODEL ÖZGÜLLÜĞÜ, ÖZOFAGUS KANSERLERİYLE KARŞILAŞTIRILARAK DOĞRULANMIŞTIR (EC, N = 18). CRC SIVILARININ METABOLİT PROFİLLERİ, SAĞLIKLI ÖNEKLERİNKİNDEN FARKLI BULUNDU. BİRİNCİ VE İKİNCİ SEVİYE CRC SIVILARINDA AMİNO ASİT METABOLİZMASI, GLİKOLİZ, TRİKARBOKSİLİK ASİT DÖNGÜSÜ, ÜRE DÖNGÜSÜ, KOLİN METABOLİZMASI VE BAĞIRSAK MİKROFLORA METABOLİZMASI YOL AÇTIĞI BOZULMALARINI GÖSTEREN TOPLAM 16 POTANSİYEL BİYOBELİRTEÇ METABOLİT TANIMLANMIŞTIR. BU ÇALIŞMADA, CRC HASTALARININ İDRAR ÖRNEKLERİNDEKİ ÖNEMLİ METABOLOMİK VARYASYONLARI DEĞERLENDİRİLDİ VE ESKİ VERİLERE TAMAMLAYICI BİLGİLER SAĞLANDI. BÖYLECE CRC'NİN ERKEN TEŞHİSİNDE NMR TABANLI ÜRİNER METABOLOMİK PARMAK İZİNİN KULLANIMINI DESTEKLEKLEYEN SONUÇLARA ULAŞILDI (ZHENİNG WANG VE ARK. 2017) 5

SARANTOS KOSTİDİS VE ARKADAŞLARI, MEMELİ HÜCRELERİNİN HÜCRE İÇİ VE HÜCRE DIŞI METABOLİZMASININ KANTİTATİF NMR ANALİZİ İSİMLİ BİR ÇALIŞMALARINDA, HÜCRELERİN VE BİYOLOJİK SIVILARININ METABOLİT PROFİLİ DEĞİŞİK DEĞİŞKENLERLE İRDELENEBİLİR. VÜCUT SIVILARININ METABOLİT ANALİZİ İÇİN BİRKAÇ STANDART ÇALIŞMA YÖNTEMİ OLSA DA, HÜCRESEL METABOLİTLERİN NMR BAZLİNİCEL YORUMLANMASI DAHA AZ STANDARDİZE EDİLMİŞTİR. DENEYSEL TASARIMLAR HÜCRE TİPİNE, SÖNDÜRME PROTOKOLÜNE VE UYGULANAN EDİNİM SONRASI İŞ AKIŞINA BAĞLIDIR. BU ÇALIŞMADA, MEMELİ HÜCRELERİNİN METABOLİK FENOTİPİNİN NİCEL AÇIKLAMASI İÇİN NMR SPEKTROSKOPİSİ TEMELLİ BİR EĞİTİM SUNULMUŞTUR. UYGUN KÜLTÜR ORTAMININ SEÇİMİ, METABOLİZMAYI TEKRARLANABİLİR BİR ŞEKİLDE DURDURAN SÖNDÜRME TEKNİKLERİ, HÜCRE İÇİ BİLEŞENLERİN EKSTRAKSİYONU VE KÜLTÜR ORTAMININ PROFİLİ GİBİ SÜRECİN ÖNEMLİ BASAMAKLARI TARTIŞILMIŞTIR. NMR'DA VERİ TOPLAMA VE HEM NİTEL HEM DE NİCEL ANALİZ İÇİN YÖNTEMLER ORTAYA KOYMA HUSUSUDA İRDELENİLMİŞTİR. BU ÇALIŞMA MEMELİ

HÜCRELERİNE YÖNELİKTİR. BUNA RAĞMEN SUNULAN EĞİTİM VE İŞ AKIŞI DİĞER HÜCRE TÜRLERİNİN ANALİZİ İÇİN DE AYARLANABİLİR (SARANTOS KOSTİDİS VE ARK.2017). 5

KANNATH SANTHOSH VE ARKADAŞLARI, *IN VİVO* VE *İN VİTRO* (1)H MR SPEKTROSKOPİSİNDE GELİŞİMSEL ÖN BAĞIRSAK KİSTİNİN METABOLİK İMZASISIMLI ÇALIŞMALARINDA; ÖN BAĞIRSSAK KİSTLERİ ÜZERİNE GENEL BİLGİ VERİLMİŞTİR. 1,5 T NMR İLE ÖLÇÜLEN ÖN BAĞIRSAK KİSTİ, BİRİ 2,02 PPM DE BÜYÜK BİR METABOLİT PİK GÖSTERİRKEN DİĞERİ 1,33 PPM DE KÜÇÜK BİR PİK SERGİLEMİŞTİR. BU PİKLERİ N-ASETİL BİLEŞİK PİK SINIFI İLE İLİŞKİLENDİRİLMİŞİR. 7.05 T NMR İLE YAPILAN ÖLÇÜMLERDEN DE BU PİKLERİN VARLIĞI DOĞRULANDI VE LİPİT SINIFI İLE İLGİLİ OLDUĞU ORTAYA KONULDU. BUNLARA İLAVETEN HEKSOZ HALKA GRUBUNA AİT FARKLI PROTONLARDAN İLERİ GELDİĞİ DÜŞÜNÜLEN VE ORTALAMASI 3,07 PPM DE OLAN GENİŞ BİR GRUBUN VARLIĞI DA KAYDEDİLDİ. BÖYLECE İNCELENEN SIVININ KİMYASAL BİLEŞİMİNİN İRDELENMESİ: KİSTİK SIVIDA N-ASETİLHEKSOSAMİNLERİN, PROTEİNLERİN VE LİPİDLERİN BULUNDUĞUNU DOĞRULADI. MUKAYESE AMACIYLA PÜR N-ASETİLGLUKOZAMİN VE N-ASETİLGALAKTOZAMİN ÇÖZELTİLERİNİN *İN VİTRO* NMR SPEKTRALARI GÖRÜNTÜLENDİ. BU DENEYDE N-ASETİL PİKİNİN ÇÖZÜNÜRLÜĞÜ 3,7 PPM'DE DAHA İYİ İDİ. BU BİLGİ, KİST BİLEŞİMİNİ ANLAMADA VE DOLAYISIYLA EPİTEL VE GLANDÜLER ELEMANLARIN ASTARINI BELİRLEMEDE FAYDA SAĞLAYABİLİR (KANNATH SANTHOSH VE ARKADAŞLARI 2008). 6

JUSTYNA E WOLAK VEARKADAŞLARI, KİSTİK FİBROZİS HASTALARINDAN ALINAN BRONKOALVEOLAR LAVAJ SIVISININ METABOLOMİK ANALİZİ İSİMLİ ÇALIŞMALARINDA KİSTİK FİBROZLU (KF) PEDİYATRİK HASTALARDAN ALINAN BRONKOALVEOLAR LAVAJ SIVISININ (BALF) METABOLİT PROFİLLERİ, NMR KULLANIMI YOLUYLA, HAVADAN BULAŞAN MİKROPLARIN YOL AÇTIĞI İLTİHAPLANMA İLE NE ÖLÇÜDE BAĞLANTILI OLDUĞU ARAŞTIRILDI. BALF ÖRNEKLERİ, KLİNİK BULGULARI OLANKF'Lİ 11 ÇOCUKTAN BRONKOSKOPIESNASINDA TOPLANDI. ÇOK MİKTARDA NÖTROFİLİK HAVA YOLU İLTİHAPLANMASI GÖSTEREN BALF SPEKTRASI, ÇOK SAYIDA METABOLİTTEN SİNYALLER GÖSTERİRKEN; DÜŞÜK DERECEDE İLTİHAPLANMAYA SAHİP SIVILARDAN ALINAN SPEKTRUMLAR DAHA AZ SAYIDA PİK VERDİ. YÜKSEK İLTİHAPLI ÖRNEKLERİN METABOLİTLERİ, AMİNO ASİT VE LAKTAT GİBİ BİLEŞENLERİN VARLIĞINI ORTAYA KOYDU. YÜKSEK VE DÜŞÜK İLTİHAPLI GRUPLARIN BİRBİRİNDEN AYRIŞILABİLECEĞİ DE İSTATİKSEL İRDELENME İLE ORTAYA KONDU. (JUSTYNA E WOLAK 2009). 6

JONG-HEE HWANG VE ARKADAŞLARI, METABOLİK HASTALIKLARIN İNCELENMESİNDE *İN VİVO* MANYETİK REZONANS SPEKTROSKOPİSİNİN KULLANIMI İSİMLİ ÇALIŞMALARINDA; GELİŞMİŞ COĞRAFYALARDAKİ SEDENTER HAYAT NEDENİ İLE AŞIRI ŞİŞMANLIĞIN(OBEZİTE) KÜRESEL ÖLÇEKTE HIZLA ARTTIĞI BELİRTİLMİŞTİR. MRI (MANYETİK REZONANS GÖRÜNTÜLEME) İLE AYNI TEMELLERE DAYANAN MRS (MANYETİK REZONANS SPEKTROSKOPİ), VÜCUT SIVILARINDAKİ VE DOKULARINDAKİ METABOLİK PİKLERİNİN ARTIP AZALMASINI *İN VİVO* OLARAK SAPTAYABİLİR. PROTON (¹ H), KARBON13 (¹³ C) VE FOSFOR31(³¹P) MRS TEKNİKLERİ, LİPİDLERİ VE ÖNEMLİ METABOLİTLERİ SAPTAMAK AMACIYLA KLİNİK VE BİYOMEDİKAL METABOLİT ARAŞTIRMALARINDA TEMEL YÖNTEMLER OLMAKTADIR. ¹ H MRS KAS VE KARACİĞER GİBİ ORGANLARIN LİPİD MİKTARINI SAPTAYABİLİR VE *İN VİVO* 2-HİDROKSİGLUTARAT GİBİ METABOLİTLERİ ORTAYA ÇIKARABİLİR. DİĞER YANDAN, HEPATİK VEİNTRAMİYOSELÜLER LİPİD MUHTEVASININ İNSANLARDA İNSÜLİN HASSASİYETİ İLE TERS YÖNDE DEĞİŞTİĞİ GÖSTERİLMİŞTİR. BUNA DAYALI OLARAK, İNSÜLİN DİRENCİNİN ERKEN SAPTANMASINDA, LİPİD MİKTARI MUHTEVASI BİYOBELİRTEÇ ROLÜNÜ ÜSTLENEBİLİR. HEPATİK GLİKOJEN SENTEZİNİ VE ÇÖKME DURUMU ¹³ C KULLANILARAK SAPTANIR. BU ARADA ³¹ P MRS, *İN VİVO* ATP MUHTEVASINA İLAVETEN, SATÜRASYON TRANSFER YÖNTEMİ VASİTASIYLA ADENOSİN TRİFOSFAT (ATP) SENTEZİNİN MİKTARLARININ BELİRLENMESİNİ SAĞLAR. BU *İN VİVO* DATANIN BAŞKA YÖNTEMLERLE ANALİZ EDİLMESİ GÜÇ OLABİLİR VE METABOLİK PROFİLİN KRİTİK BİR BÖLÜMÜNÜ BİZE SAĞLAYABİLİR. BU DERLEME MAKALEDE, OKUYUCUYA KOLAYLIK SAĞLAMAK AMACIYLA, MRS İN GELECEKTEKİ BAŞLICA UYGULAMALARI VE SINIRLAMALARI ANLATILMIŞTIR. (JONG-HEE HWANG VE ARK. 2015) 7

YAN Lİ VE ARKADAŞLARI, *İN VİVO* MR SPEKTROSKOPİSİ KULLANARAK TÜMÖR METABOLİZMASINI GÖRÜNTÜLEMEİSİMLİ ÇALIŞMALARINDA; MRS, SAĞLIKLI VE SAĞLIKLI OLMAYAN METABOLİZMAYI İNCELEMELİK İÇİN OLDUKÇA GELİŞMİŞ BİR TEKNİKTİR. DEĞİŞİK ÇEKİRDEKLERİ KULLANAN MRS METODLARI, ANATOMİK KARAKTERİSTİKLERLE DİREKT BAĞDAŞTIRILAN BİYOKİMYASAL VERİLER SAĞLAR. AŞIRI KUTUPLANMIŞ ¹³ C MRS, REEL VAKİTLİ METABOLİK ÇEVİRİMİ YANSITAN YENİ BİR YÖNTEMDİR VE KANSERLİ HASTALARIN İZLENMESİNDE ÇOK DEĞERLİ BİR METOD OLABİLİR. BU MAKALE, KANSERİN ÇEŞİTLİ AŞAMALARINI VE KANSER METABOLİZMASINI ANALİZ ETMEK İÇİN *İN VİVO* ³¹ P, ¹ H VE ¹³ C MRS KULLANIMINI GÖZDEN GEÇİRMEKTEDİR. ONKOLOJİ ODAKLI VE PRE-KLİNİK ARAŞTIRMALAR İÇİN MRS KULLANAN BİRÇOK ÖNCÜL ARAŞTIRMA OLMAKLA BERABER BU YÖNTEMİ

KANSER HASTALARINA UYGULAYAN ÖNEMLİ KAYNAKLAR DA BULUNMAKTADIR. (YAN L İVE ARK.2015).....	7
S KİİHNE VE ARKADAŞLARI, ¹ H SPİN-ÖRGÜ DURULMA MEKANİZMASININ ÇÖZÜNÜRLÜĞÜ İLE HESAPLANAN PROTEİNE BAĞLI SU MOLEKÜLÜİSİMLİ ÇALIŞMALARINDA; SIĞIR SERUM ALBÜMÜNÜN SEYRELİK ÇÖZELTİLERİ KULLANILARAK, H ₂ O\D ₂ O KARIŞIMLARINDAKİ SU PROTONUNUN SPİN ÖRGÜ DURULMASI İNCELENMİŞTİR. 1\T ₂ DÜŞÜK PROTEİN KONSANTRASYONUNDA FREKANS BAĞLI OLARAK İNCELENMİŞTİR. GÖZLENEN DURULMA DİSPERSİYONU LORENZİYEN OLUP, ETKİLİ İLGİ ZAMANI 41 + 3 NS KADARDIR. EĞER OKSİJEN NUMUNE ORTAMINDAN UZAKLAŞTIRILIRSA, ROTASYONEL BÜKÜLME FREKANSININ ÜSTÜNDEKİ FREKANS DEĞİŞİM PATERNİ YASSILAŞIR. MOLEKÜL İÇİ VE MOLEKÜLLER ARASI RÖLAKSASYON KATKILARININ AYRIŞIMI, İZOTOP BİLEŞİMİNİN FONKSİYONU OLARAK YAPILAN NMR ÖLÇÜMLERİ YARDIMIYLA SAĞLANABİLİR. MOLEKÜL İÇİ PROTON PROTON DURULMA ORANI BÜYÜKLÜĞÜ PROTEİNE SIKI OLARAK BAĞLANAN 25+ 4 SU MOLEKÜLÜNÜN VARLIĞINA İŞARET EDER. SU MOLEKÜLLERİNİN BU SAYISI BAĞLANMA BÖLGESİNDE SUYUN LOKAL HAREKETLERİNİN MÜMKÜN VARLIĞINI İHMAL EDER. BU ETKİLERİN DAHİL EDİLMESİ SU MOLEKÜLLERİNİN SAYISINI %50 ARTTIRIR (S KİİHNE VE ARK. 2000).	7
A S GORYUNOV, H/D İZOTOP DEĞİŞ TOKUŞUNUN PROTEİN HİDRASYONU VE ÇÖZELTİDEKİ ETKİLEŞİM ÜZERİNE ETKİLERİ İSİMLİ ÇALIŞMASINDA; MOLEKÜLLER ARASI PROTEİN-SU VE PROTEİN-PROTEİN ETKİLEŞİMLERİ ÜZERİNE H/D İZOTOP ETKİSİNİ ARAŞTIRMAK İÇİN YENİ BİR YAKLAŞIM ÖNERİLMİŞ VE H ₂ O D ₂ O ÇÖZELTİLERİNDEKİ DONMAMIŞ SUYUN MUHTEVASI 1H NMR İLE TAYİN EDİLMİŞTİR. SOĞRULMUŞ SU MİKTARID ₂ O MEVCUDİYETİNDE BULUNMUŞ VEPROTEİNE BAĞLI YÜZEY GRUPLARINDAKİ H ₂ O\D ₂ O KESİRLENMESİ (FRACTIONATION)-10 ° C İLE -35 ° C ARASINDA TAKDİM EDİLMİŞTİ. KESİRLEŞME FAKTÖRÜ İÇİN BAZI BASİT BAĞINTILAR TÜRETİLMİŞTİR. KESİRLEŞME FAKTÖRÜNÜN YÜKSEK DEĞERİ, PROTEİN MOLEKÜLLERİNİN SU BAĞLAMA ORANINDA BİR AZALMAYA KARŞILIK GELİR. BU ETKİNİN MUHTEMEL BİR NEDENİ, D ₂ O TARAFINDAN İNDÜKLENEN BİR MOLEKÜLLER ARASI PROTEİN-PROTEİN ETKİLEŞİMİ OLABİLİR. KESİRLEŞME FAKTÖRÜNÜN 1'İN ÜZERİNDEKİ DEĞERİ, BU ETKİLEŞİM İLE İLGİLİ HİDRASYON SUYU BİLEŞENİNİN SAYISAL BİR DEĞERLENDİRMESİNİ TEMİN EDEBİLİR (A S GORYUNOV 2006).....	8
MARTİN SANCHEZ-AGUİLAR VE ARKADAŞLARI, AMİPLİ KARACİĞER APSELERİNİN TEDAVİ EDİLEMESİNİN PROGNOSTİK GÖSTERGELERİİSİMLİ ÇALIŞMALARINDA; KLİNİK, ULTRASONİK VE SEROLOJİK GİBİ DEĞİŞİK METOTLARI DEVREYE SOKARAK KARACİĞERİNDE AMİPLİ APSE BULUNAN BİR GRUP HASTA ÜZERİNDE MUHTEMEL VAKA-KONTROL İNCELEMESİ SUNMUŞLARDIR. İNCELENEN HASTALARA METRONİDAZOL VERİLDİ VE 4 GÜN BOYUNCA NEGATİF KLİNİK CEVAP GÖSTERENLERİN APSELERİ PERKÜTAN VEYA CERRAHİ OLARAK BOŞALTILDI. DEMOGRAFİK, LABORATUVAR VE ULTRASONOGRAFİK NİTELİKLER BAŞARISIZLIĞIN PROGNOSTİK GÖSTERGELERİ OLARAK KABUL EDİLDİ. İNCELENEN 40 HASTADAN 24'Ü TIBBİ TEDAVİYE CEVAP VERDİ. 14 HASTAYNIN ABSESİ DRENAJ İLE BOŞALTILDI. 2 HASTANIN ABSESİ İŞE AMELİYATLA ALINDI. ABSİNİN BİYOKİMYASAL BİLEŞİMİ, HACMI VE YARIÇAPI ÜZERİNE İSTATİSEL ANALİZLER YAPILDI VE ANLAMLI DEĞERLER BULUNDU. YÜKSEK VOLÜME VE BÜYÜK ÇAP İLE DÜŞÜK SERUM ALBÜMİN SEVİYESİ VE YÜKSEK ALKALİN FOSFATE DÜZEYİNİN, TANIYI TAHMİN LİMİTLERİ ORTAYA KONDU (MARTİN SANCHEZ-AGUİLAR 2012).....	9
2.2 TEMEL NMR TEORİSİ.....	13
2.2.1 Peryodik cetvelde atomlar, Eşleşmemiş Proton Spini ve NMR.....	13
2.2.2.Bir spinin dış Ho alanındaki hareketleri, enerji düzeyleri ve enerji düzeyleri arasındaki geçişler	14
2.2.3 NMR tüpündeki örneğin prob içine yerleştirilmesi ile oluşan dağılım ve Boltzmann Dengesi .	15
2.2.4. Spin-Örgü durulma (röleksasyon) zamanı (T ₁).....	17
2.2.5.Spin-Spin durulma Zamanı (T ₂)	19
2.2.6.Bir I SPİNİN YAKININDA BULUNAN DİĞER I SPİNİNİN BULUNDUĞU YERDE KURDUĞU YEREL ALANLARIN H ₀ ALANINA EKLENMESİ VE DİPOLAR GENİŞLEME	21
2.2.7.Pik yarı yüksekliğinden ölçülen çizgi genişliği genişliğive T ₂ durulmasının pik yarı genişliğinden türetilmesi	22
2.2.8. KİMYASAL KAYMANIN NİTEL GÖSTERİMİ	23
KAYNAKLAR.....	37

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1 Etraflarında kurulan yerel alanların benzerliği nedeniyle, bir I spinin çubuk mıknatısa benzerliği

Şekil 2.2 Bir tek spinin dış H_0 alanı içindeki hareketleri, bu hareketlere ait enerji seviyeleri ve spinin z bileşeninin enerji seviyelerine yerleşimi

Şekil 2.3 RF alanlarının spin ile rezonansa varım süreçleri: Spinin enejji soğurması ve çevreye enerji vermesi

Şekil 2.4 Dış alan etkisinde olmayan spinlerin yönelmeleri

Şekil 2.5 H_0 manyetik alanına yerleştirilen spinlerin enerji seviyelerine dağılımı ve z-yönünde oluşan M_0 mıknatıslanması.

Şekil 2.6 90 derece pulsunun uygulanışı, doyuma giden süreç ve mıknatıslanmanın dönen sistemdeki hareketi.

Şekil 2.7 Doyuma ulaşmış spin topluluğunun çevreye enerji vermesi süreci ve T_1 spin-örgü röleksasyon zamanı

Şekil 2.8 T_1 spin-örgü durulması hesabında kullanılan inverion recovery eğrisi

Şekil 2.9 Başlangıçta y-yönüne yönelen mıknatıslanmaların x-y düzleminde rastgele dağılım süreci ve T_2 durulma zamanı zamanı (Yılmaz ve Korunur, 2012).

Şekil 2.10 Spin eko (SE) adımının peş peşe uygulanması sonunda elde edilen M_{t1} , $M_{t2}, \dots, M_{tn}$ eko sinyalleri ve spin eko (SE) bozunum eğrisi.

Şekil 2.11 I spinlerinin, komşu spinlerin bulunduğu yerlerde kurdukları yerel alanların H_0 alanını farklılaştırması, bu farklılaşmadan ortaya çıkan enerji seviyesi çiftleri ve alt mıknatıslanmalar, sinyal genişlemesi (Yılmaz ve Korunur, 2012)

Şekil 2.12 Lorentzien formda dipolar genişlemeşekilli soğurma

Şekil 2.13 CH_3CH_2OH molekülündeki farklı çevre akımlarının yol açtığı kimyasal kayma sinyalleri

Şekil 3.1 Metabolite ölçümleri için kullanılan 400 MHz NMR cihazı ve kullanılan örnekler

Şekil 3.2 Sağlıklı Kan örneklerinin temsili 400 MHz NMR spektrumu

Şekil 3.3 Kanserli Kan örneklerinin temsili 400 MHz NMR spektrumu

Şekil 3.3 Diabetli Kan örneklerinin temsili 400 MHz NMR spektrumu

Şekil 3.4 Sağlıklı idrar örneklerinin temsili 400 MHz NMR spektrumu

Şekil 3.5 Kanserli idrar örneklerinin temsili 400 MHz NMR spektrumu

Şekil 3.6 Diabetli idrar örneklerinin temsili 400 MHz NMR spektrumu

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 3. 1 Üre örneklerinden çıkması olası metabolit pikleri

Tablo 4. 1 Sağlıklı kan örneklerinden alınan NMR piklerinin ppm cinsinden yarı genişlikleri

Tablo 4. 2 Sağlıklı kan örneklerinden alınan NMR piklerinin ppm cinsinden yarı genişlikleri

Tablo 4. 3 Sağlıklı kan örneklerinden alınan NMR piklerinin ppm cinsinden yarı genişlikleri

Tablo 4. 4 Sağlıklı kan örneklerinden alınan NMR piklerinin Hertz cinsinden yarı genişlikleri

Tablo 4. 5 Kanserli kan örneklerinden alınan NMR piklerinin Hertz cinsinden yarı genişlikleri

Tablo 4. 6 Diabetli kan örneklerinden alınan NMR piklerinin Hertz cinsinden yarı genişlikleri

Tablo 4. 7 Sağlıklı kan örneklerinden alınan NMR piklerinin 1/T2 cinsinden yarı genişlikleri

Tablo 4. 8 Kanserli kan örneklerinden alınan NMR piklerinin 1/T2 cinsinden yarı genişlikleri

Tablo 4. 9 Diabetli kan örneklerinden alınan NMR piklerinin 1/T2 cinsinden yarı genişlikleri

Tablo 4.10 Sağlıklı idrar örneklerinden alınan NMR piklerinin ppm yarı genişlikleri

Tablo 4.11 Kanserli idrar örneklerinden alınan NMR piklerinin ppm yarı genişlikleri

Tablo 4.12 Diyabetli idrar örneklerinden alınan NMR piklerinin ppm yarı genişlikleri

Tablo 4.13 Sağlıklı idrar örneklerinden alınan NMR piklerinin Hertz cinsinden yarı genişliği

Tablo 4.14 Kanserli idrar örneklerinden alınan NMR piklerinin Hertz cinsinden yarı genişliği

Tablo 4.15 Diyabetli idrar örneklerinden alınan NMR piklerinin Hertz cinsinden yarı genişliği

Tablo 4.16 Sağlıklı idrar örneklerinin NMR pik yarı genişliğinden bulunan 1/T2 değerleri

Tablo 4.17 Kanserli idrar örneklerinin NMR pik yarı genişliğinden ölçülen 1/T2 değerleri

Tablo 4.18 Diyabetli idrar örneklerinin NMR pik yarı genişliğinden ölçülen 1/T2 değerleri

1.GİRİŞ

Normal ve hastalıklı kan ve dokuların nükleer manyetik rezonans (NMR) spin-lattice (T_1) ve spin-spin (T_2) parametrelerinin karşılaştırılması 1970'li yıllarda başlayıp günümüze kadar devam etmektedir (Damadian 1971; Zip et al.1976; Coletta 2000; Cistola and Robinson 2016). Bu çalışmalarda hastalıklı örneklerin ortalama T_1 ve T_2 değerleri normal örneklerin ortalama değerlerinden farklı bulundu. Manyetik rezonans görüntülemenin (MRG) keşfedilmesinden sonra, durulma zamanlarındaki bu farklılıklar, MRG filmlerinde kontrast olarak ortaya çıkmış ve teşhis amaçlı kullanılmıştır (Kransdorf et al 1989). MR'da kontrast kaynağı olan T_1 ve T_2 süreleri, Inversion Recovery (IR) ve Carr-Purcell-Meibom-Gil (CPMG) teknikleri ile ölçülür. Bu teknikler, T_1 ve T_2 'nin her biri için 10'dan fazla veri noktası (ters çevirme gecikmeleri veya yankı gecikmeleri) ölçümüne dayanır. Dolayısıyla, in vitro MRS ve NMR'deki T_1 ve T_2 durulma zamanlarının ölçümleri zaman alıcıdır.

NMR pik yarı genişliği ile $1/T_2$ arasındaki doğrudan ilişki, NMR teorisinin türetildiği yıllardan beri bilinmektedir (Bloembergen et al 1948). Eski teknoloji NMR cihazlarının ve ölçülen örneklerin yol açtığı manyetik alan homojenliği nedeniyle, pik yarı genişliği ölçümleri yakın zamana kadar T_2 hesabı için kullanılmamıştır. Ancak günümüz yüksek alan NMR makinelerinin yüksek çözünürlük kabiliyeti ve gelişmiş shimming teknikleri, manyetik alan homojenliğini en aza indirmiş ve bu konuda yeni bir pencere açmıştır. Buna paralel olarak, NMR pik yarı genişliği ve NMR pik yarı genişliği ölçümlerinden T_2 türetilmesi son literatürde daha yaygın hale gelmiştir (Mladenov and Dimitrov 2001; Chen and Tjandra 2009; Wilhelm et al. 2012; Ahlner ve ark.2013). Öte yandan, in vivo MRS ve NMR klinik araştırma ve denemeler için çok önemli araçlar haline gelmiştir (Kumar ve ark.2014; Li ve ark., 2015; Hwang and Choi 2015; Hauge ve ark.2018; Zia ve ark., 2019) D_2O Perfüzyon MRG ve D_2O metabolik görüntüleme teknikleri de klinik çalışmalar için sıklıkla kullanılmaktadır (Kasturi ve ark., 1990; Wang ve ark., 2013; De Feyter ve ark. ,2018). Bu nedenlerle, sağlıklı ve hastalıklı vakaların NMR pik yarı genişliği karşılaştırmaları NMR, MRS ve MRI'nin tıbbi uygulamaları için klinik öneme sahip olabilir.

Düşük miktarda biyolojik sıvı ve yüksek miktarda D_2O içeren bir karışımda, H_2O 'daki hidrojen atomlarının (H) çoğu döteryum (D) ile değiştirilir ve HOD molekülleri oluşur (Kiihne Bryant 2000; Van-Quynh ve ark., 2003; Yılmaz ve ark., 2013; Yılmaz ve Yılmaz 2020). Böyle bir karışımdaki HOD molekülleri pik şiddetini azaltarak radyasyon dampingi

ortadan kaldırır. Örnek ile ilgili faktörlerin çizgi pik yarı genişlemesine katkısı da, örneğin aşırı miktarda D₂O ile seyreltilmesi ile en aza iner (Yılmaz ve Yılmaz 2020). HOD molekülleri, grupların T₂ dağılımlarında daralmaya yol açarak, 1/T₂'nin farklı çene lezyonlarını ayırt etme kabiliyetini artırır (Yılmaz ve Yılmaz 2020). Ayrıca, NMR pik yarı genişliği ölçümleri, sadece tek bir radyo frekansı (RF) atmasını kullanarak, zamandan tasarruf sağlar. Bu nedenle, düşük örnek sıvısı ve yüksek D₂O miktarından oluşan karışımlarla yapılacak bir NMR çalışması, normal ve hastalıklı kan ve idrarın metabolit piklerinin yarı genişliklerinin ölçümüne ve ölçümlerden T₂ durulmalarının türetimine imkân verebilir. Hem pik yarı genişlikleri ve hem de türetilecek T₂ zamanları, normal ve kanserli kan ve idrarların birbirlerinden ayırt edilmesini sağlayabilir. Böyle bir deney, en kolay NMR deneyidir ve fazla örnek ölçümlerinde deneysel zamandan tasarruf sağlar. Örneklerin aşırı D₂O ile seyreltilmesi yeni yeni ortaya çıkan bir çalışma türü olduğundan (Yılmaz ve Yılmaz 2020), mevcut yaklaşım aynı zamanda basit ve yeni bir yöntemdir.

Bu tezin amacı, sağlıklı ve kanserli kan ve idrar örneklerine ait metabolit piklerinin NMR pik yarı genişliklerini hesaplamak ve bu genişliklerden T₂ durulma zamanlarını türetmektir. Bu amaçlar için, her kan ölçümü için 0,02 mL (20 µL) numune ve 0,98 mL D₂O ve her idrar ölçümü için de 0.06 mL idrar ve 0.94 mL D₂O içeren karışımlar hazırlandı. Sağlıklı ve hastalıklı örneklerin NMR metabolit pikleri, 400 MHz de çalışan NMR cihazı ile kaydedildi. Sağlıklı ve hastalıklı gruplara ait metabolit piklerinin pik yarı genişlikleri ölçülerek ve Pik yarı genişliği – 1/T₂ ilişkisi kullanılarak, T₂ zamanları türetildi.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1 Önceki Kaynakların Değerlendirilmesi

P J Foxall ve arkadaşları, Polikistik böbrek hastalığı olan hastalardan alınan kist sıvılarının yüksek çözünürlüklü proton manyetik rezonans spektroskopisi isimli çalışmalarında; polikistik böbrek hastalığı olan hastalardan toplanan kistik sıvıların NMR spektrumları ölçülmüşlerdir. Geniş bir zarf üzerine dağılmış metabolite dağılımını kayıt altına almışlar ve bu zarfın kistik ortamdaki total protein seviyesi ile ilgili olduğunu analiz etmişlerdir. Proteinin etkisi, kistik ortamdan proteinin çökertilmesi yolu ile doğrulanmıştır. Spektrumda ortaya çıkan piklerin hangi metabolitlere ait olduğunu saptanması da çalışmanın ana konusu olmuştur. Yüksek alan spektrumunda ortaya çıkan piklerin hem kan plazmasından hem de idrardan farklı olduklarını belirlemişlerdir. İncelenen kistik sıvılarda izolösin, lizin, treonin ve valin metabolitlerinin mM mertebelerinde olduğu, glikoz yoğunluğunun 3.4-9.6 mM arasında değiştiği; asetat, laktat, süksinat ve benzeri organik asit ve bazların, kreatinin ve dimetilamin, glikoprotein ve etanolün yüksek derişimde mevcut bulunduğu ortaya konulmuştur (P J Foxall ve ark. 1992).

Virendra Kumar ve arkadaşları, Prostat kanseri ile bağlantılı insan vücudu sıvılarının ve dokularının yüksek çözünürlüklü NMR spektroskopisi isimli çalışmalarında; Prostat doku ve sıvısının, seminal sıvının, serum ve idrarın yüksek alandaki NMR spektrumlarındaki farklılıkların prostat kanserinin belirlenmesi için kullanılabileceğini analiz etmişlerdir. NMR spektrumu veren tüm çekirdeklerin (^1H , ^{13}C , ^{31}P , vesaire) metabolit profillerinin ortaya konulmasını ve bunların tanı potansiyellerinden yararlanılmasını ifade etmişlerdir. 400 MHz ve üzerindeki manyetik alanlarda çalışan NMR cihazları ile elde edilecek metabolit profillerinin, prostat kanserinin tanısı için belirteç rolü oynayabileceğini ve kanserle ilişkili biyokimyasal ve metabolik değişikliklerin ortaya konmasında yararlı olacağını ifade etmişlerdir. Bu temelden hareketle prostat, prostat dokusu parçaları ve de prostat ile ilgili vücut sıvıları üzerine yapılmış önceki çalışmalarıelden geçirmişler ve böylesine incelemelerin gelecekteki araştırmalar için sağlayacağı yararı irdelemişlerdir (Virendra Kumar ve ark., 2014).

E A Boss ve arkadaşları, Yumurtalık kisti sıvısının yüksek çözünürlüklü proton nükleer manyetik rezonans spektroskopisi isimli çalışmalarında; farklı yumurtalık tümörlerinden alınan kistik sıvısının metabolik kompozisyonunu 600 MHz proton NMR spektroskopisi ile değerlendirmişlerdir. Bu yolla 36 metabolitin saptanabilir derişimleri bulunmuştur. Birçok da kimliklendirilmemiş sinyal ve beklenmedik metabolit piki bulunmuştur. Bu çalışmada

incelenen kistik sıvıdaki düşük moleküler ağırlıklı metabolitlerin genel bir envanteri de ortaya konulmuştur. İyi ve kötü huylu kistlere ait çeşitli metabolitlerinkonsantrasyonlarıarasındaanlamlı farklar ($p < 0.01$) saptanmıştır. Bu bulgulardan hareketle, Proton NMR'ın, yumurtalık kisti sıvısında düşük moleküler ağırlıklı bilşenlerin varlığında, bu sıvının metabolitlerei hakkında genel bir görünüm verebileceği sonucuna varılmıştır(E A Boss ve ark. 2000)

Lola F Duarte ve arkadaşları, Hastalık araştırmalarında insan kanı ve idrarının NMR metabolomikleri isimli çalışmalarında; Beş yıllık bir süreci kapsayan araştırmalar gözden geçirilerek, NMR kan ve idrar metabolomiklerinin temel uygulamalarına odaklanılmıştır. Bu odaklanmadan: NMR metabolit incelemelerinin hastalık durumları için bir içgörü sağladığı olgusunu ve ayrıca hastalık teşhis ve takibi için metabolik belirteç rolünü taşıdığını doğrulamıştır. Ayrıcabeş yıl içinde yapılan çalışmalardan elde edilen bilgiler, NMR metabolit profilinin iyileştirilmiş çalışma tasarımı ve istatistiksel doğrulama çabaları ile birlikte, metabolik yaklaşımın olası sınırlamaları ve tuzakları hakkında artan bir farkındalık yaratmaya yönelik olmuştur(lola F Duarte ve ark. 2013)

Messana ve arkadaşları, Tip II diyabetik hastalardaki idrarın proton nükleer manyetik rezonans spektral profilleri isimli çalışmalarında Normal ve diyabetli hastalardan alınan idrar sıvılarını Proton NMR ile incelemiştirler. İncelen örneklerden elde edilen NMR spektrum piklerinin hangi metabolitlere karşılık geldiğini saptamışlardır. Bazı metabolitler, diyabetik sıvılarda sağlıklı olanlar göre daha sık ve daha yüksek derişimlerde bulundu (I Messana ve ark. 1998)

Que N. Van ve arkadaşları, Mesane Kanseri Tespiti için MetabolikProfileme isimli çalışmalarında; Biçok hastalık çeşidinin ortay çıkışı ve hastalığın seyri boyunca genyazılımında, protein ve metabolit derişimlerinde değışiklikler meydana gelir. Protein ve metabolit seviyesindeki değışiklikler, klinik belirtilerin ortaya çıkmasından önce biyolojik sıvılarda ve dokularda sıklıkla saptanabilir. Bu değışmeler, ilgili parametreleri tanı ve hastalığın takibi için biyobelirteçler haline getirir. Biyobelirteçler birçok hastalık için yararlı olduğundan; mesane kanserini ortaya çıkaracak özgünbir idrar biyobelirtecinin bulunması, hem ölümü önleyecek ve hem de hastalığın yol açtığı acıyı azaltacaktır. Bu çalışmada mesane kanseri için, sistoskopi ve histopatolojinin yerini alacak duyarlılıkta olan biobelirteçlerin kütle spektrometresi ve NMR metabolit profili tartışılmıştır (Que N. Van ve ark. 2011).

Zhening Wang ve arkadaşları, NMR tabanlı metabolomik teknikler, erken kolorektal kanser tespiti (CRC) için potansiyel idrar biyobelirteçlerini tanımlar isimli çalışmalarında; Kolorektal kanser (CRC) hastalığını yenmek için tanı metodlarına gereksinim bulunmaktadır. Bu amaç için ^1H -NMR), elli beş CRC hastasından ve sağlıklı kontrolden alınan idrar sıvılarının NMR metabolit profili araştırılmıştır. Ortogonal kısmi en küçük kareler-ayırıcı analizi (OPLS-DA) yoluyla örüntü tanıma yapılmıştır. Model özgülüğü, özofagus kanserleriyle karşılaştırılarak doğrulanmıştır (EC, n = 18). CRC sıvılarının metabolit profilleri, sağlıklı örneklerinkinden farklı bulundu. Birinci ve ikinci seviye CRC sıvılarında amino asit metabolizması, glikoliz, trikarboksilik asit döngüsü, üre döngüsü, kolin metabolizması ve bağırsak mikroflora metabolizması yol açtığı bozulmalarını gösteren toplam 16 potansiyel biyobelirteç metabolit tanımlanmıştır. Bu çalışmada, CRC hastalarının idrar örneklerindeki önemli metabolomik varyasyonları değerlendirildi ve eski verilere tamamlayıcı bilgiler sağlandı. Böylece CRC'nin erken teşhisinde NMR tabanlı üriner metabolomik parmak izinin kullanımını destekleyen sonuçlara ulaşıldı (Zhening Wang ve ark. 2017)

Sarantos Kostidis ve arkadaşları, Memeli hücrelerinin hücre içi ve hücre dışı metabolizmasının kantitatif NMR analizi isimli bir çalışmalarında, Hücrelerin ve biyolojik sıvılarının metabolit profili değişik değişkenlerle irdelenebilir. Vücut sıvılarının metabolit analizi için birkaç standart çalışma yöntemi olsa da, hücresel metabolitlerin NMR bazlı nicel yorumlanması daha az standardize edilmiştir. Deneysel tasarımlar hücre tipine, söndürme protokolüne ve uygulanan edinim sonrası iş akışına bağlıdır. Bu çalışmada, memeli hücrelerinin metabolik fenotipinin nicel açıklaması için NMR spektroskopisi temelli bir eğitim sunulmuştur. Uygun kültür ortamının seçimi, metabolizmayı tekrarlanabilir bir şekilde durduran söndürme teknikleri, hücre içi bileşenlerin ekstraksiyonu ve kültür ortamının profili gibi sürecin önemli basamakları tartışılmıştır. NMR'da veri toplama ve hem nitel hem de nicel analiz için yöntemler ortaya koyma hususunda irdelenmiştir. Bu çalışma memeli hücrelerine yöneliktir. Buna rağmen sunulan eğitim ve iş akışı diğer hücre türlerinin analizi için de ayarlanabilir (Sarantos Kostidis ve ark.2017).

Kannath Santhoshs ve arkadaşları, In vivo ve in vitro (1)H MR spektroskopisinde gelişimsel ön bağırsak kistinin metabolik imzası isimli çalışmalarında; ön bağırsak kistleri üzerine genel bilgi verilmiştir. 1,5 T NMR ile ölçülen ön bağırsak kisti, biri 2,02 ppm de büyük bir metabolit pik gösterirken diğeri 1,33 ppm de küçük bir pik sergilemiştir. Bu pikleri N-asetil bileşik pik sınıfı ile ilişkilendirilmiştir. 7.05 T NMR ile yapılan ölçümlerden de bu piklerin varlığı doğrulandı ve lipid sınıfı ile ilgili olduğu ortaya konuldu. Bunlara ilaveten heksoz halka grubuna ait farklı protonlardan ileri geldiği düşünülen ve ortalaması 3,07 ppm de olan geniş bir grubun varlığı da kaydedildi. Böylece incelenen sıvının kimyasal bileşiminin irdelenmesi: kistik sıvıda N-asetilheksosaminlerin, proteinlerin ve lipidlerin bulunduğunu doğruladı. Mukayese amacıyla pür N-asetilglukozamin ve N-asetilgalaktozamin çözeltilerinin in vitro NMR spektraları görüntülendi. Bu deneyde N-asetil pikinin çözünürlüğü 3,7 ppm’de daha iyi idi. Bu bilgi, kist bileşimini anlamada ve dolayısıyla epitel ve glandüler elemanların astarını belirlemede fayda sağlayabilir (Kannath Santhosh ve arkadaşları 2008).

Justyna E Wolak ve arkadaşları, Kistik fibrozis hastalarından alınan bronkoalveolar lavaj sıvısının metabolomik analizi isimli çalışmalarında Kistik fibrozlu (KF) pediatrik hastalardan alınan bronkoalveolar lavaj sıvısının (BALF) metabolit profilleri, NMR kullanımı yoluyla, havadan bulaşan mikropların yol açtığı iltihaplanma ile ne ölçüde bağlantılı olduğu araştırıldı. BALF örnekleri, klinik bulguları olan KF’li 11 çocuktan bronkoscopiesnasında toplandı. Çok miktarda nötrofilik hava yolu iltihaplanması gösteren BALF spektrası, çok sayıda metabolitten sinyaller gösterirken; düşük derecede iltihaplanmaya sahip sıvılardan alınan spektrumlar daha az sayıda pik verdi. Yüksek iltihaplı örneklerin metabolitleri, amino asit ve laktat gibi bileşenlerin varlığını ortaya koydu. Yüksek ve düşük iltihaplı grupların birbirinden ayrışılabilceği de istatistiksel irdelenme ile ortaya kondu. (Justyna E Wolak 2009).

Jong-Hee Hwang ve arkadaşları, Metabolik hastalıkların incelenmesinde in vivo manyetik rezonans spektroskopisinin kullanımı isimli çalışmalarında; Gelişmiş coğrafyalardaki sedenter hayat nedeni ile aşırı şişmanlığın (obezite) küresel ölçekte hızla arttığı belirtilmiştir. MRI (manyetik rezonans görüntüleme) ile aynı temellere dayanan MRS (manyetik rezonans spektroskopisi), vücut sıvılarındaki ve dokularındaki metabolik piklerinin artıp azalmasını in vivo olarak saptayabilir. Proton (^1H), Karbon13 (^{13}C) ve Fosfor31 (^{31}P) MRS teknikleri, lipidleri ve önemli metabolitleri saptamak amacıyla klinik ve biyomedikal metabolit araştırmalarında temel yöntemler olmaktadır. ^1H MRS kas ve karaciğer gibi organların lipid miktarını saptayabilir ve in vivo 2-hidroksiglutarat gibi metabolitleri ortaya çıkarabilir. Diğer yandan, hepatik veintramiyoselüler lipid muhtevasının insanlarda insülin hassasiyeti ile ters yönde değiştiği gösterilmiştir. Buna dayalı olarak, insülin direncinin erken saptanmasında, lipid miktarı muhtevası biyobelirteç rolünü üstlenebilir. Hepatik glikojen sentezini ve çökme durumu ^{13}C kullanılarak saptanır. Bu arada ^{31}P MRS, in vivo ATP muhtevasına ilaveten, satürasyon transfer yöntemi vasıtasıyla adenosin trifosfat (ATP) sentezinin miktarlarının belirlenmesini sağlar. Bu in vivo datanın başka yöntemlerle analiz edilmesi güç olabilir ve metabolik profilin kritik bir bölümünü bize sağlayabilir. Bu derleme makalede, okuyucuya kolaylık sağlamak amacıyla, MRS in gelecekteki başlıca uygulamaları ve sınırlamaları anlatılmıştır. (Jong-Hee Hwang ve ark. 2015)

Yan Li ve arkadaşları, In vivo MR Spektroskopisi kullanarak Tümör Metabolizmasını Görüntüleme isimli çalışmalarında; MRS, sağlıklı ve sağlıklı olmayan metabolizmayı incelemek için oldukça gelişmiş bir tekniktir. Değişik çekirdekleri kullanan MRS metodları, anatomik karakteristiklerle direkt bağdaştırılan biyokimyasal veriler sağlar. Aşırı kutuplanmış ^{13}C MRS, reel vakitli metabolik çevirimi yansıtan yeni bir yöntemdir ve kanserli hastaların izlenmesinde çok değerli bir metod olabilir. Bu makale, kanserin çeşitli aşamalarını ve kanser metabolizmasını analiz etmek için in vivo ^{31}P , ^1H ve ^{13}C MRS kullanımını gözden geçirmektedir. Onkoloji odaklı ve Pre-klinik araştırmalar için MRS kullanan birçok öncül araştırma olmakla beraber bu yöntemi kanser hastalarına uygulayan önemli kaynaklar da bulunmaktadır. (Yan L ve ark. 2015).

S Kiihne ve arkadaşları, ^1H spin-örgü durulma mekanizmasının çözünürlüğü ile hesaplanan proteine bağlı su molekülü isimli çalışmalarında; Sığır serum albümünün seyreltik çözeltileri kullanılarak, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$ karışımlarındaki su protonunun spin örgü durulması incelenmiştir. $1/T_2$ düşük protein konsantrasyonunda frekansa bağlı olarak incelenmiştir. Gözlenen durulma dispersiyonu Lorenziyen olup, etkili ilgi zamanı 41 ± 3 ns kadardır. Eğer oksijen numune ortamından uzaklaştırılırsa, rotasyonel bükülme frekansının üstündeki frekans değişim paterni yassılaştır. Molekül içi ve moleküller arası rölaksasyon katkılarının ayrışımı, izotop bileşiminin fonksiyonu olarak yapılan NMR ölçümleri yardımıyla sağlanabilir. Molekül içi proton proton durulma oranı büyüklüğü proteine sıkı olarak bağlanan 25 ± 4 su molekülünün varlığına işaret eder. Su moleküllerinin bu sayısı bağlanma bölgesinde suyun lokal hareketlerinin mümkün varlığını ihmal eder. Bu etkilerin dahil edilmesi su moleküllerinin sayısını %50 arttırır (S Kiihne ve ark. 2000).

A S Goryunov, H/D izotop değiş tokuşunun protein hidrasyonu ve çözeltideki etkileşim üzerine etkileri isimli çalışmasında; Moleküller arası protein-su ve protein-protein etkileşimleri üzerine H/D izotop etkisini araştırmak için yeni bir yaklaşım önerilmiş ve H₂O D₂O çözeltilerindeki donmamış suyun muhtevası ¹H NMR ile tayin edilmiştir. Soğurulmuş su miktarı D₂O mevcudiyetinde bulunmuş ve proteine bağlı yüzey gruplarındaki H₂O\ D₂O kesirlenmesi (fractionation)-10 ° C ile -35 ° C arasında takdim edilmiştir. Kesirleşme faktörü için bazı basit bağıntılar türetilmiştir. Kesirleşme faktörünün yüksek değeri, protein moleküllerinin su bağlama oranında bir azalmaya karşılık gelir. Bu etkinin muhtemel bir nedeni, D₂O tarafından indüklenen bir moleküller arası protein-protein etkileşimi olabilir. Kesirleşme faktörünün 1'in üzerindeki değeri, bu etkileşim ile ilgili hidrasyon suyu bileşeninin sayısal bir değerlendirmesini temin edebilir (A S Goryunov 2006).

S Chawla ve arkadaşları, Proton manyetik rezonans spektroskopisi kullanılarak domuzun farklı tercih bölgelerinden Cysticercus cellulosae metasestodunun metabolit paterni isimli çalışmalarında; Tenya solyum'dan kaynaklanan sistiserkoz, dünyanın değişik coğrafyalarında en sık karşılaşılan bir sağlık sorunudur. Bu çalışmada iskelet kasından ve iltihaplanmış domuz beyninden çıkarılmış sıvıların proton NMR spektrumu incelenmiştir ve bunların metabolik spektrumları mukayese edilmiştir. Proton NMR kullanılarak, iskelet kasından asit muamelesi ile elde edilen kistlerin düşük moleküler ağırlıklı metabolitleri de incelenmiştir. Farklı metabolitlerin istatistik analizi ve mutlak nicelendirilmesi kistlerin farklı yerleşim yerlerindeki herhangi bir anlamlı farkı anlamak için yapılmıştır. Kistlerin metabolik profilleri tercih edilen farklı yerleşim yerlerinde birbirine benzer idi. Elde edilen spektrumdaki metabolitler kimliklendirilmiştir. Kas kistlerinin keratin derişimi, beyninden alınan kistlerin derişiminden istatistiksel yönden yüksek tespit edildi. (p = 0.001) Sonuç olarak kistlerin metabolik spektrumun kist dokusunu saran çevreden etkilenmediği neticesine varıldı. Bununla beraber bazı metabolitlerin derişimi doku yerleşimine bağlı olarak bulundu. (S Chawla ve ark. 2004).

Zhao-Qing Du ve arkadaşları, Farklı Büyüklükteki Piyojenik Karaciğer Apsesinin Klinik Özellikleri ve Sonuçları: Tek Merkezden 15 Yıllık Deneyim isimli çalışmalarında; Piyojenik karaciğer apsesinin (PLA) tedavi sürecindeki standartlaşmanın tam olarak sağlanmadığını ifade etmişlerdir. Bu çalışmada değişik boyutlardaki PLA'nın klinik karakteristiklerini, hastalığın seyrini, tedavi yöntemlerini ve ortaya çıkan neticeleri araştırmışlardır. 2000 ile 2014 yılları arasındaki süreçte retrospektif olarak kaydedilen PLA'lı 410 hasta: küçük, büyük ve dev apseli olarak sınıflandırıldı. Bu hastalara çeşitli tedavi yöntemleri uygulandı ve ölüm oranları istatistiksel olarak analiz edildi (Zhao-Qing Du 2016)

Bo Zhou ve arkadaşları, Gastrointestinal fistüllü hastalarda intraabdominal apseye albümin sentetik yanıtının dinamikleri isimli çalışmalarında; serum albümin derişimindeki düşüklüğün, karınıçibulaşın kaynağının kontrolünde başarısızlığa yol açtığını belirtmişlerdir. Buna rağmen, bu gibi hastalarda albümin sentezinin devingenliğinin düşük albümin oluşumunu ne kadar etkilediğine dair veriler nispeten azdır. Karaciğer albümin sentezinin karın içi apseye olan etkisini ve bunların az

albümin oluşumuna ve dolaşım sistemindeki endokrin hormon görünümüne nasıl bağlantılı olduğunu anlamak için, gastrointestinal fistül olan bir grup hastada bu konular araştırılmıştır. Bu amaç için karınıçi fistula taşıyan hastalar ve normal kontrol hastaları takibe alınmıştır. Karın içi fistula taşıyan hastalarda, albümin ve total protein derişiminin azaldığı gözlenmiştir. Albumin sentezlenmesi de azalmıştır. Hastalık kaynağı ortadan kaldırıldıktan sonra, albümin derişiminin ve sentezinin normale döndüğü de gözlemlenmiştir. (Bo Zhou ve ark. 2014).

Martin Sanchez-Aguilar ve arkadaşları, Amipli karaciğer apselerinin tedavi edilememesinin prognostik göstergeleri isimli çalışmalarında; Klinik, ultrasonik ve serolojik gibi değişik metotları devreye sokarak karaciğerinde amipli apse bulunan bir grup hasta üzerinde muhtemel vaka-kontrol incelemesi sunmuşlardır. İncelenen hastalara metronidazol verildi ve 4 gün boyunca negatif klinik cevap gösterenlerin apseleri perkütan veya cerrahi olarak boşaltıldı. Demografik, laboratuvar ve ultrasonografik nitelikler başarısızlığın prognostik göstergeleri olarak kabul edildi. İncelenen 40 hastadan 24'ü tıbbi tedaviye cevap verdi. 14 hastayn absesi drenaj ile boşaltıldı. 2 hastanın absesi ise ameliyatla alındı. Absenin biyokimyasal bileşimi, hacmi ve yarıçapı üzerine istatistiksel analizler yapıldı ve anlamlı değerler bulundu. Yüksek volüme ve büyük çap ile düşük serum albümin seviyesi ve yüksek alkalın fosfate düzeyinin, tanıyı tahmin limitleri ortaya kondu (Martin Sanchez-Aguilar 2012).

G. Mladenov ve arkadaşları, Referans dekonvolüsyon kullanılarak basit spin sistemlerinde NMR çizgi genişliklerinden T_2 'nin çıkarılması isimli çalışmalarında; NMR spektrumlarında pik yarı yüksekliğinden Hertz olarak ölçülen çizgi genişliklerinden T_1 spin-spin durulma zamanlarını elde etme imkânlarını incelemiştir. Spektrumlar, önce referans ters evrişime ve ardından zaman bölgesi veri analizine tabi tutulmuştur. Deney süresi genellikle kısadır; deney esnasında cihazın kararlı kalmasına özen gösterilmelidir. Burada kullanılan metot, NMR pikinin görünüşü Lorentzian ise gerçek T_2 değerlerinin hesaplanmasını sağlar. Lorenzien olmayan pik durumlarında ise sadece çizgi genişliğinin kaba bir belirlenmesi yapılabilir. Tahmini elde edilebilir (G. Mladenov ve arkadaşları 2001).

Kang Chen ve arkadaşları, Tamamen durulmuş bir Akordeon 3D HNCO deneyi kullanılarak pik çizgi yarı genişliğinden protein omurgası ^{15}N durulma oranlarının doğrudan ölçümleri adlı çalışmalarında; Çözelti kullanarak NMR ile ölçülen Proteine bağlı ^{15}N spin durulma oranlarının ölçülmesi, proton bağlı olduğu bölge hakkında yararlı bilgiler verir. Alışılmış method, giderek artan durulma beklèmelerini (t_d) kullanarak bir dizi $2\text{D}^1\text{H}-^{15}\text{N}$ HSQC spektrumunu elde etmek ve bu ardışık spektrumdaki pik tepelerinin uyduğu eğrilerden durulma oranlarını tespit etmektir. Yeteri kadar iyi çözünmemiş spektrum profili gösteren proteinler. Yetersiz çözölmüş spektrumlara sahip proteinler, genellikle birkaç 3D HNCO spektrumunun $^{15}\text{N}/^{13}\text{C}$ çift etiketli protein örneğinde toplanmasını gerektirir. Bu çalışmada ^{15}N ya da ^{13}C durulma oranlarını türetmek için, Akordeon tipi bir HNCO puls dizisi kullanılmıştır. Zaman bölgesinde toplanmış verilerinin yorucu irdelenmesinden bertaraf etmek için, Akordeon HNCO spektrumundaki piklerin ^{15}N T_1 ve T_2 durulma zamanlarının, pik çizgi yarı

genişliğinden elde edilmesine yarayan bir protokolu önermişlerdir. T_1 ve T_2 durulmalarının her ikisi eş zamanlı olarak sırasıyla ^{13}C ve ^{15}N 'in sabit zamanlı evrim periyotlarına dönüştürülebileceğini belirtmişlerdir. Durulma gecikmesi en az $3 \times T_1$ veya $3 \times T_2$ değerlerinde seçilerek, sinyalin FID'nin sonunda büyük ölçüde bozulması sağlanmıştır. Ortaya çıkan pikin yarı yükseklikteki çizgi genişliği, durulma zamanlarının ölçümü için kullanılmıştır. 76 kalıntı Ubikuitin ve 226 kalıntılı glutamin bağlayıcı proteine (GlnBP) uygulandığında, geleneksel yöntemlerle ölçülen T_1 ve T_2 değerlerindensapatamanın sırasıyla ortalama % 4-6 ve % 5-7 olduğunu ortaya koymuşlardır. Ayrıca önerilen Akordeon HNCO yöntemi, 2D spektrumlarında iyi çözülmemiş piklerin durulmalarının ölçümünü de sağlayarak, proteinin daha iyi incelenmesini temin etti (Kang Chen ve arkadaşları 2009).

M. Wilhelm ve arkadaşları, Myelin uygulamasında T_2^* dağılımının incelenmesi için Süper-Lorentzian çerçevesi isimli çalışmalarında; Beyaz maddenin fonksiyonu için önemli olan lipid tabakası kılıfındaki Miyelin eksikliğinin bir dizi hastalığa yol açtığını belirtmişlerdir. Miyelinin NMR ve MRI ile tespit yöntemlerini de ortaya koymuşlardır. Deneylerini miyelin lipid ekstratını ve tam fare spiral kordunu kullanarak icra etmişlerdir. Bu maddelerdeki miyelinin ^1H NMR spektrumunu ve süper lorenzien bir yaklaşımı kullanarak, miyelindeki T_2 dağılımını 400 MHz NMR ile incelenişlerdir. Yaptıkları incelemede miyelin için geniş bir pik elde etmişler. Sonuç olarak kullandıkları yöntemlerle, hem miyelin spektrumunu ve hem de miyelindeki T_2 dağılımını saptamışlardır. (M. Wilhelm ve arkadaşları 2011)

Alexandra Ahlner ve arkadaşları, PINT: Pik hacimlerin entegrasyonu ve gevşeme oranlarının çıkarılması için bir yazılımlı çalışmalarında; NMR spektrumundaki piklerin entegrasyonunu sağlayan bir Peak Inegration (PINT) programını sunmuşlardır. Kullanılması oldukça basit olan bu programın, karmaşık spektrumları analiz etmede oldukça başarılı olduğu ifade edilmiştir. Pik yükseklikleri, önceden tanımlanmış çizgi şekillerinin deneysel verilere fit edilmesiyle entegre edilir ve bu uydurulma işlemi (fitting), örneğin aşırı derecede üst üste binen pikler ile başa çıkmak için özelleştirilebilir. Sonuçlar görsel olarak incelenebilir, bu da çizgi şekil uydurumunun (fitting) sistematik optimizasyonunu kolaylaştırır. Son olarak, entegre pik hacimleri, durulma oranlarını türetmek ve düşük nüfuslu seviyeler hakkında bilgi edinmek çıkarmak için kullanılabilir. Ayrıca PINT programının yararı, maya proteini Abplp'nin 59 kalıntı SH3 bölgesine ve murin EphB2'nin 289 kalıntı kinaz bölgesine yapılan uygulamalarla ortaya konulmuştur (Alexandra Ahlner ve arkadaşları 2013).

Ayala ve arkadaşları, İleri evre kronik böbrek hastalığı olan hastalarda idrar metabolomik işaretlerinin belirlenmesi isimli çalışmalarında: kronik böbrek hastalığının (KBH) çok rastlanan yaygın bir hastalık olduğunu, hastalığı teşhis etmek ve seyrini izlemek için yeni biyomarker keşfine ihtiyaç bulunduğunu belirtmişlerdir. Bu amaçla 15 kronik böbrek hastalıklı kişiden alınan idrarın NMR spektrumunu elde etmişler ve bu spektrumdan KBH ye özgü bir spektrum profilinin ortaya çıktığını belirlemişlerdir. Sonuçlarını diğer yöntemlerle de doğrulamışlardır (Ayala ve arkadaşları 2014)

Markus Niklasson ve arkadaşları, Gelişmiş çizgi şekli uyuşturma tekniği kullanarak NMR verilerinin kapsamlı analizi adlı çalışmalarına göre; Nükleer manyetik Resonansın (NMR), proteinler, nükleik asitler ve metabolitler gibi karmaşık yapıya sahip moleküllerin yapılarının atom boyutunda belirlenmesi için yapılacak çalışmalar için uygun bir spektroskopik teknik olmaktadır. Bunun nedeni molekülün yapısı ve moleküldeki hareketlerle ilgili bilgilerin, moleküle ait NMR piklerinin ortaya çıktığı frekanslarda (ppm) ve piklerin çizgi şekillerinde ortaya çıkmasıdır. Deney ve verilerin farklı analiz süreçlerinde ve ayrıca sonuçların confirm edilmesinde değişik software programlarına olan gereksinim, biyomoleküler yapı ile ilgili faktörlerin doğru belirlenmesini genellikle karmaşık ve zaman alıcı hale sokar. Bu güçlükleri aşmak için araştırmacılar. Burada, çok yönlü entegre, çapraz platform ve açık kaynaklı bir software programı sunmuşlardır. Bu program, tipik NMR çizgi şekli fitting uygulamasına göre daha çok işlevseldir. Bu program, PINT adlı software programının daha geliştirilmiş bir versiyonudur. Program Grafik kullanıcı arayüzüne sahip bulunmakta ve pik toplama, pik listelerinin düzenlenmesi ve çizgi şekli fitting gibi özellikleri de içermektedir. Ayrıca kaydedilen NMR piklerinin yükseklikleri, örneğin T_1 ve T_2 oranlarını, heteronükleer NOE değerlerini ve kimyasal değiş-tokuş parametrelerini çıkarmak için doğrudan kullanılabilir. Piyasadaki software programlarının aksine, her türlü deneysel süreç, uygulama sonuçlarının kalitesini değerlendirme, analiz, ve yayın için gerekli şekillerin çizimi dakikalar içinde PINT ile gerçekleştirilebilir ve bu özellikler sadece PINT'e özgü olmaktadır. Bu çalışmada PINT'in özellikleri diğer yazılım programlarıyla da karşılaştırılmıştır (Markus Niklasson ve arkadaşları 2017).

MacKinnon N ve arkadaşları, NMR Tabanlı idrar Metabolomik Profilleme: Prostat Kanseri Tespitinde Uygulamanın Değerlendirilmesi adlı çalışmalarında şunlar açıklanmıştır: Prostat kanserinin (PKa) tanısı ve hastalığın ağırlıklı tiplerinin acı vermiyen tiplerinden ayırtılmasının bir klinik mecburiyet olduğunu belirtmişlerdir. 4-10 ng/mL aralığında prostata özgü antijen seviyeleri, hali hazırdaki tanı testi olarak işlev görmektedir. Bu çalışmada, biyopsileri pozitif çıkan kişilerden alınan idrar kullanılarak kaydedilen nükleer manyetik rezonans spektrumlarından, biyobelirteç sinyallerinin bir seçiminin mümkün olup olamayacağı araştırılmıştır. Bu amaçla, 317 kişiden alınan idrar örneklerinin Proton NMR pikleri incelenmiştir. Verilerin istatistiksel değerlendirmesinden sonra, NMR tabanlı metabolomik spektrumunun tanı için yararlı olma potansiyelini taşıdığını ve bunu doğrulamak için ileri incelemelere ihtiyaç bulunduğunu ifade etmişlerdir. (MacKinnon N ve arkadaşları 2019)

Izquierdo-Garcia JL ve arkadaşları, TB biyobelirteç olarak idrarda NMR tabanlı bir metabolomik profilin keşfi ve doğrulanması adlı çalışmalarında; Tanı hizmetlerindeki zorluklar ve ilgili hususlardaki sınırlamalar nedeni ile gelişmemiş memleketlerde tüberküloz hastalığının teşhisi kolaylıkla yapılmamaktadır. Bu çalışma ile oldukça yüksek alanlarda çalışan NMR cihazı ile çok düşük alanlarda çalışan (masaüstü NMR cihazı kullanarak) tüberkülozlu hastalardan alınan idrar örneklerinin metabolik profillerinin saptanması hedef seçilmiştir. Bu amaç için tüberkülozlu 189 hasta üzerinde çalışılmıştır. Pnömoni 42 hasta, gecikmiş tüberkülozlu 61 hasta ve sağlıklı 40 hasta

üzerinde de çalışılmıştır. Yüksek alan spektrometresi için gerekli TB metabolik parmak izi ve kısmi en küçük dskiriminant irdemesi yapılarak veriler incelenmiştir. 31 kimyasal kayma pikinden 8 metabolit belirlenmiştir. Bunlar; aminoapidik asit, sitrat, kreatin, kreatinin, glukoz, mannitol, fenilalanin ve hippurat idi. Düşük alan NMR spektromları için geliştirilen analiz yöntemi model de hasta olmayan bireylere kıyasla TB li hastaların %85 in üzerinde bir oranda doğru teşhis etti. Böylece bu çalışmada her iki tip spektrometrede kullanılarak TB li hastaların metabolik profillerinin hasta olmayan kişilerden farklı olduğu ortaya konulmuştur. (Izquierdo-Garcia JL ve arkadaşları 2020)

Marianne C Walsh ve arkadaşları, Akut diyet standardizasyonunun sağlıklı insanların idrar, plazma ve tükürük metabolomik profilleri üzerindeki etkisi adlı çalışmalarında; Diyet yapan insanlardaki metabolik piklerin, diyet yapmayan insanların metabolik spektrumundan ayırt etmenin zor olduğunu ifade etmişlerdir. Bu çalışmada sağlıklı insanların metabolik spektrumunun kişiden kişiye değişimi ve bir kişi için zamanla değişimi incelenmiştir. Ve standartize edilmiş bir diyetin bu değişimi eksiltip eksiltmeyeceği de incelenmiştir. Bu amaç için; 23'ü kadın, 7'si erkek olan 30 sağlıklı kişiden idrar, plazma ve tükürük örnekleri alınmıştır. Bu örnekler 4 ayrı günde ve sabah saatlerinde alınmıştır. İlk ve ikinci gün ziyaretinden önce serbest beslenme seçeneği tercih edilmiş ve ondan sonra sıvı toplanmıştır. Üçüncü günden önce yapılan ziyaret, ikinci ziyarete benzer olarak tasarlanmıştır. Dördüncü ziyaretten önce bütün yiyecekler standartize edilmiştir. Örnekler proton NMR cihazı ile ölçülmüş ve multi değişkenli data analizi yapılarak irdelenmiştir. Bir bireyin profilindeki değişme ve bireyler arası profil değişmesi her bir sıvı için anlamlıca farklı bulundu. Standartize edilmiş diyetten sonra NMR spektrasının görsel olarak incelenmesinden kişiler arası profil farklılığının azaldığı gözlemlendi ancak aynı sonuç plazma ve tükürük için elde edilmedi. Kısmi en küçük kareler incelemesi gösterdi ki; idrar ve tükürük örneklerinde zamanla görülen değişiklikler idrarda keratinin, tükürükte asetattan ileri gelmektedir. Sonuç olarak idrar profilinin alınan diyetten duyarlı olarak etkilendiğini plazma ve tükürüğün etkilendiğini tespit etmiştir. (Marianne C Walsh ve arkadaşları 2006).

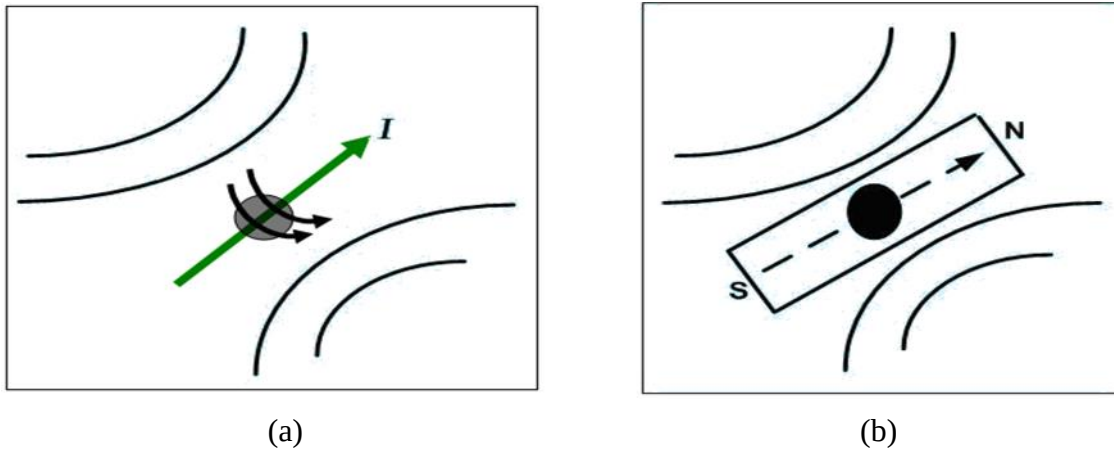
Slupsky CM ve arkadaşları, İdrar metabolit analizi, yumurtalık meme kanserlerinin potansiyel erken teşhisini sunar isimli çalışmalarında; bu çalışmada metabolitlerin göğüs ve yumurtalık kanseri için biomarker olup olmayacağı incelenmiştir. Bu amaç için erken ve geç aşamadaki göğüs ve yumurtalık kanserli hastalardan idrar örnekleri toplanmıştır. Ayrıca herhangi bir kanser belirtisi olmayan hastalardan da örnekler alınmıştır. Alınan örnekler NMR spektroskopisi ile ölçülmüş ve metabolit pikleri belirlenmiştir. Gruplar arası farkı anlamak için de tek ve çok değişkenli istatistik irdemeler yapılmıştır. Meme ve yumurtalık kanserlerine ait NMR pikleri birbirleri ile ve sağlıklı örnekler ile karşılaştırıldığında; metabolik profillerin birbirinden ve normal örneklerden farklı olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmanın sonucunda NMR ile elde edilmiş idrar metabolik profillerinin erken aşama göğüs ve yumurtalık kanserini teşhis etmede yararlı olabileceği öne sürülmüştür. (**Slupsky CM** ve arkadaşları 2010)

Reglinski J ve arkadaşları, Biyolojik sıvıların ve hücrelerin NMR spektroskopisine analitik bir bakış açısı isimli çalışmalarında; NMR ın biyolojik sıvıların incelenmesi için kullanılan MRS ve MRI nin temelini teşkil ettiğini belirtmişlerdir. Fakat MRS ın klinin uygulaması yakın zamanlara kadar oldukça sınırlı idi. Hem MRI hem de MRS birçok üniversitenin kliniklerinde bulunan cihazlar olmaktadır. Bu cihazlar biyolojik sıvıların ve hücrelerin biyokimyasal bileşimi üzerine nicel bilgiler verebilmekte ve nicel olarak spektradaki pikleri kimliklendirebilmektedir. Manyetik rezonans teknikleri klinik tanı için devreye etkilice girmiştir. Bu çalışmada biyolojik sıvıların ve hücrelerin NMR incelenmesi, 10 rutin biyokimyasal inceleme için test edilmiştir. Yani NMR ın bu 10 rutin inceleme için kullanılıp kullanılmayacağı araştırılmıştır. İn-vitro olarak icra edilen bu çalışma biyokimyacılar ile kimyacılar arasında bir iş birliği yapılması ihtiyacının bulunduğunu göstermiştir. Bu çalışmada ayrıca insanlar ile ilgili istatistik analizler de makaleye dâhil edilmiştir (Reglinski J ve arkadaşları 1996).

2.2 TEMEL NMR TEORİSİ

2.2.1 Peryodik cetvelde atomlar, Eşleşmemiş Proton Spini ve NMR

Peryodik cetvelde yer alan tüm atomlar NMR spektrumu vermez. Atom çekirdeğinde bulunan proton ve nötron spinlerinin eşleşmesi sonucunda oluşan bileşke spin değeri sıfır olanlar NMR ile incelenemez. Bu durumda kütle numarası tek olan atomlar veya ^1H , ^{13}C , ^{17}O ve ^{31}P gibi eşleşmemiş I spini olan atomlar NMR'a uygundur. Ancak Hidrojen atomun doğadaki bolluğundan dolayı yaygın olarak hidrojen NMR yapılmaktadır. Protonun kendi eksenini etrafında dönmesi bir I vektörü ile ifade edilir ve bunun adına spin denir. Mıknatıs benzeyen μ manyetik momentinin kullanımı NMR'da daha çok tercih edilir. I spini ile manyetik momenti arasındaki ilişki $\mu = \gamma I$ olarak yazılır. Dönmeyi temsil eden I spininin çevresindeki manyetik alan ile mıknatısın çevresindeki alan birebir aynıdır (Şekil 2.1a ve b).



Şekil 2.1. (a) Etraflarında kurulan yerel alanların benzerliği nedeniyle, bir I spinin (a) çubuk mıknatısa (b) benzerliği ((Yılmaz ve Korunur, 2012)

Manyetik momenti spine bağlayan γ katsayısı çekirdeğin jiromanyetik oranı olmaktadır ve

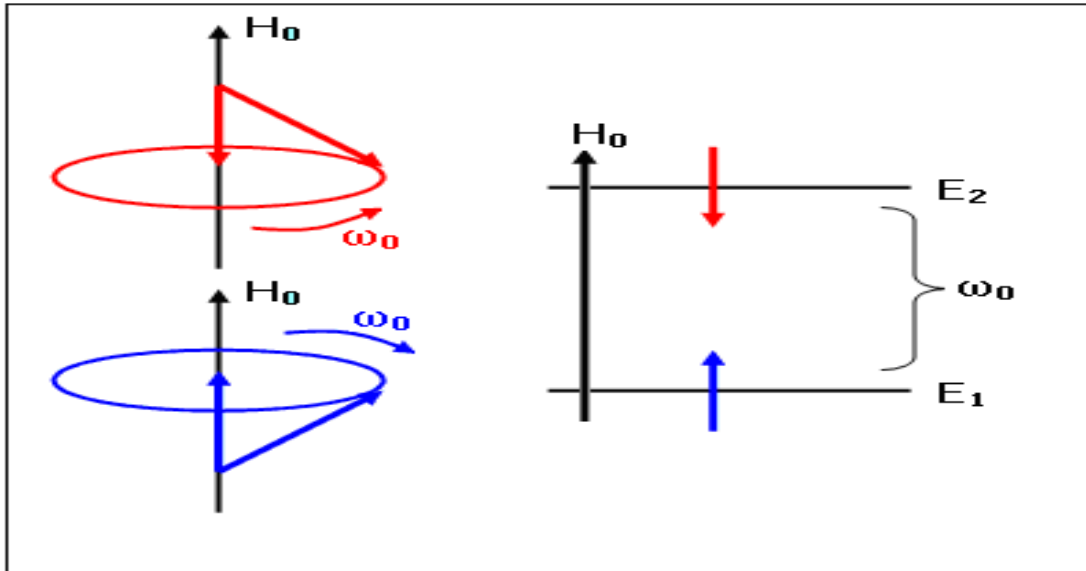
$$\gamma = \frac{g_N \mu_N}{\hbar}$$

$$\mu_N = \frac{e\hbar}{2m_p} \quad (2.1)$$

olmaktadır. g_N ve μ_N sırası ile çekirdeğin g-çarpanı ve bohr magnetonunu göstermektedir.

2.2.2. Bir spinin dış H_0 alanındaki hareketleri, enerji düzeyleri ve enerji düzeyleri arasındaki geçişler

$\vec{H} = H_0 \hat{k}$ gibi z-yönünde yönlendirilmiş bir dış manyetik alan içine bir tek I spini brakalım. Spin alan etrafında ya saat ile aynı yönde veya saatin dönüşünün tersi yönde döner. Saat yönünde dönmeler huni yüzeyinde ve saate ters dönmeler ters huni yüzeyinde meydana gelir. Spinin huni üzerindeki dönüş hızı H_0 ile orantılı olup, $\omega_0 = \gamma H_0$ ile verilir ve ω_0 Larmor devinme frekansı olarak adlandırılır. Dış alana etrafında saat ile aynı yönde dönme E_1 alt enerji seviyesine karşılık gelirken, saatin tersi yönde dönme ise daha yüksek üst enerji düzeyini (E_2) simgeler. Söz konusu hareketler ve ilgili enerji düzeyleri ve spinin z bileşeninin bu seviyelere yerleşimi Şekil 2.2' de resimlenmiştir. (Yılmaz ve Korunur, 2012).

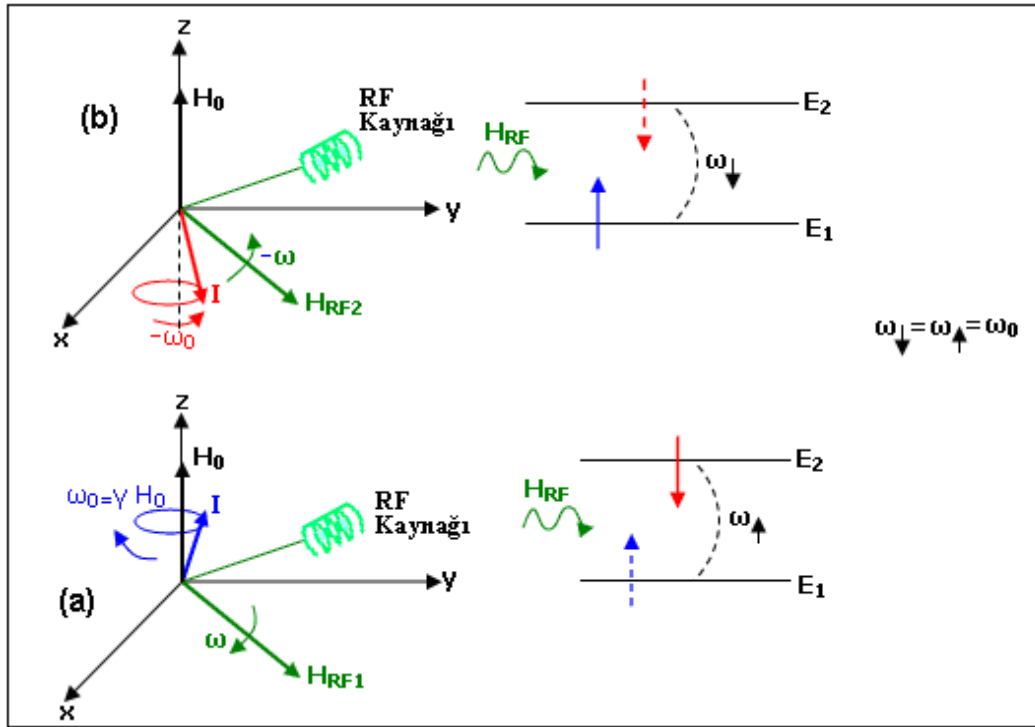


Şekil 2.2. I spin vektörünün dış H_0 alanı içindeki hareketleri, bu hareketlere ait enerji seviyeleri ve spinin z bileşeninin enerji seviyelerine yerleşimi (Yılmaz ve Korunur, 2012).

Yukarıki paragrafta anlatılanlar ve Şekil 2.2'de verilenler kuantum fiziğinde yapılan hesaplamaların sonuçları olmaktadır. Şimdi de H_0 alanına dik, x-y düzleminde dönen bir radyo frekans (RF) alanı düşünelim. Bu alan, y-yönüne yerleştirilen bir bobin tarafından

üretir. RF alanının birbirine dik ve zıt yönlerde dönen iki bileşeni bulunmaktadır. Saat yönünde dönen RF bileşenin ω frekansı spinin dönme freansı olan $-\omega_0$ eşit olunca ($\omega=\omega_0$) olduğunda rezonans durumu oluşur. Spin enerji yüklenerek üst enerji düzeyine sıçrar. Saate ters yönde dönen RF bileşenin ω frekansı spinin dönme freansı olan $-\omega_0$ eşit olunca da üst enerji düzeyindeki bir spin, enerjisini çevresine vererek, alt enerji düzeyine iner. Bir spinin üstenerji düzeyine geçiş olasılığı ile alt enerji düzeyine iniş olasılığı birbirine eşittir.

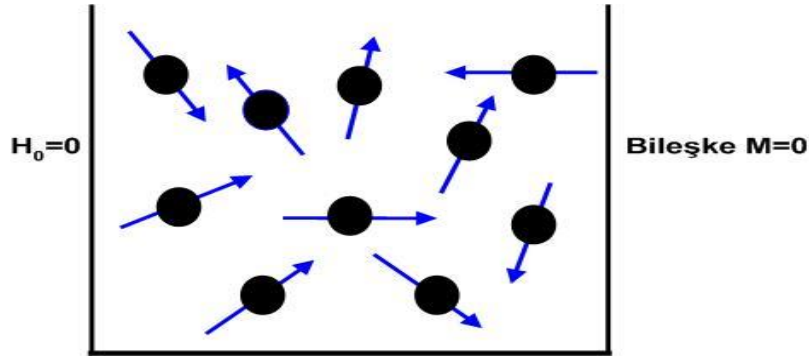
Bir spinin saat yönünde dönen RF alanından enerji soğurması ve saatin tersi yönde dönen RF ile etkileşmesi sonucu enerji kaybetmesi süreçleri Şekil 2.3.'te ifade edilmiştir (Yılmaz ve Korunur, 2012).



Şekil 2.3. RF alanlarının spinle rezonansa varım süreçleri: Spinin enerji soğurması ve çevreye enerji vermesi (Yılmaz ve Korunur, 2012)

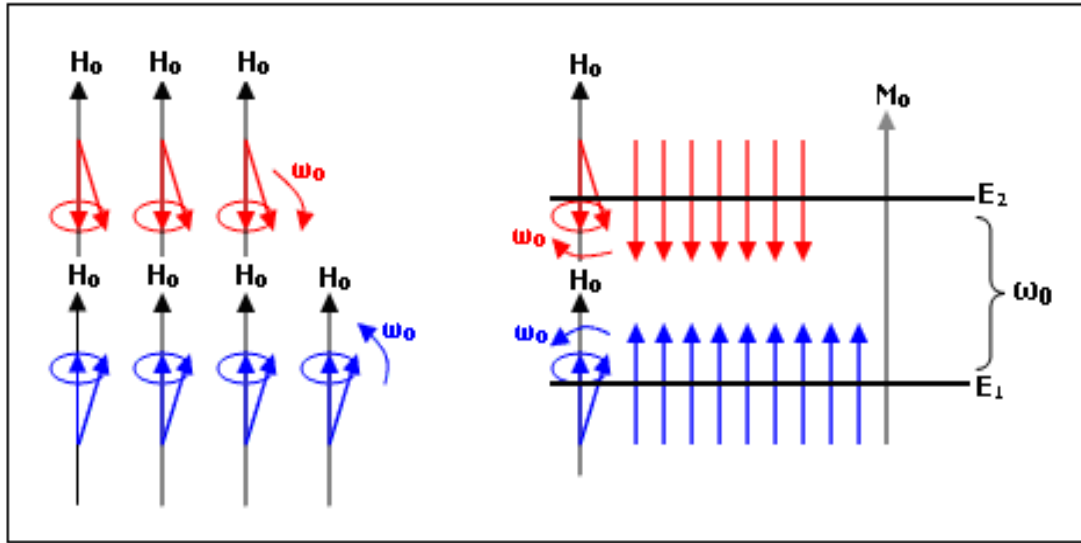
2.2.3 NMR tüpündeki örneğin prob içine yerleştirilmesi ile oluşan dağılım ve Boltzmann Dengesi

NMR ile ölçeceğimiz örnek, NMR probuna yerleştirilmeden önce, herhangi bir alanın etkisinde değildir. Bu nedenle tüp içindeki çiftlenmemiş spinler her yöne eşit olasılıkla yönelir ve net M manyetizasyonu sıfırla sonuçlanır (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Dış alan etkisinde olmayan spinlerin yönelmeleri (Yılmaz ve Korunur, 2012)

NMR tüpünü proba yerleştirdikten sonra $\vec{H} = H_0 \hat{k}$ dış alanının etkisine giren spinlerin bir kısmı alan etrafında saat yönünde dönerken, daha az bir kısmı da saate ters yönde döner. Bu spinlerin alt ve üst enerji düzeylerine dağılımı Boltzman Kuralına göre olur. Üst düzeydeki sayıdan çıkarıldıktan sonra alt düzeyde kalan fazla spinlerin uc uca eklenmesi ile $\vec{M} = M_0 \hat{k}$ mıknatıslanması meydana gelir (Şekil 2.5). Bu bileşke manyetizasyondan da NMR sinyali üretilir (Yılmaz ve Korunur, 2012).



Şekil 2.5. H_0 dış alanına yerleştirilen spinlerin enerji seviyelerine dağılımı ve z-yönünde oluşan M_0 mıknatıslanması (Yılmaz ve Korunur, 2012).

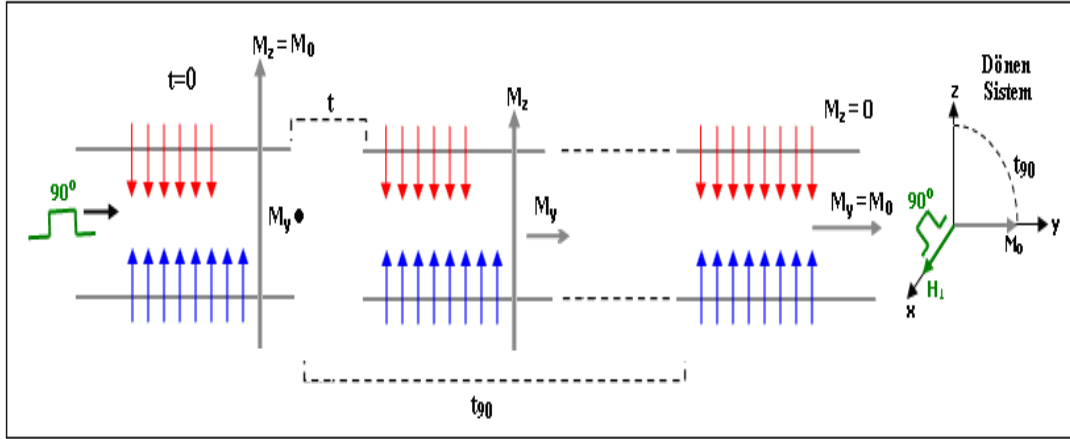
Enerji seviyelerinde bulunan spin popülasyonlarının nüfusunu veren Boltzman denklemleri

$$N_1 = C e^{-E_1 / kT} \text{ ve } N_2 = C e^{-E_2 / kT} \quad (2.2)$$

olarak hesaplanır. Bu denklemler düşük enerji düzeyinde daha çok spin bulunduğunu açıklar (Yılmaz ve Korunur, 2012).

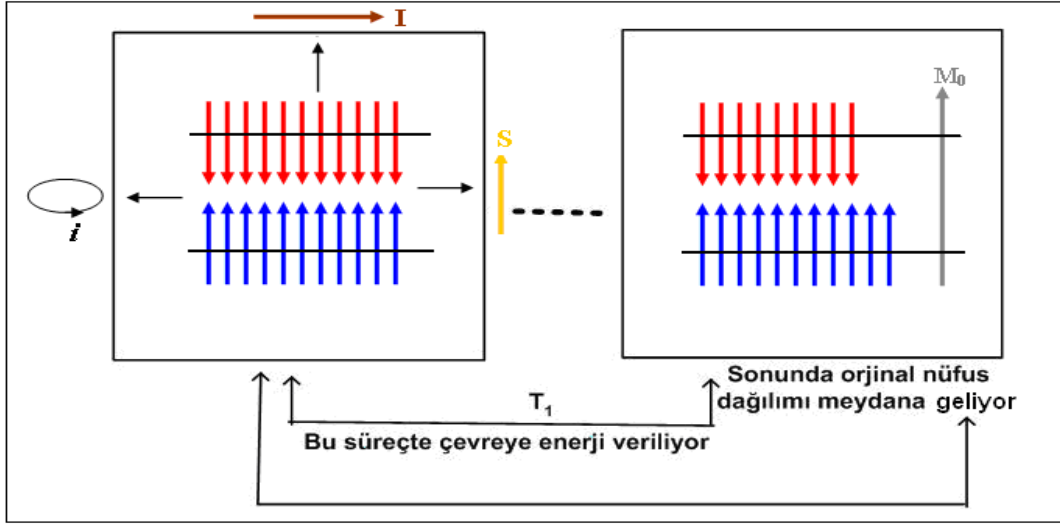
2.2.4. Spin-Örgü durulma (rölaksasyon) zamanı (T_1)

Bir dış manyetik alanının etkisiyle Şekil 2.5 deki gibi bir dağılıma ulaşmış spin topluluğuna, x-y düzleminde zıt yönde dönen RF alanlarını uygulayalım. Sürece Laboratuvar sisteminden baktığımızda: RF uygulaması başlar başlamaz, enerji seviyeleri arasında geçişler başlar. Alt seviyeden üst seviye geçiş sayısı fazla olduğundan, çok kısa bir süre sonra iki seviyedeki nüfus eşitlenir ve bu duruma doyum denir. RF alanlarının hareketsiz olduğu dönen sistemden baktığımızda, M_0 mıknatıslanması z-y düzleminde dönerek y-yönüne yatar. M_0 mıknatıslanması y-eksenine ulaştığı anda RF alanı kapatılırsa, buna 90° RF pulsu adı verilir. M_0 mıknatıslanması y-eksenine ulaştığı anda RF alanı kapatılırsa, buna 90° RF pulsu adı verilir. M_0 Mıknatıslanması (-z) -eksenine ulaştığında RF kapatılırsa, bunun adı da 180° pulsu olur. 90 derece pulsunun uygulanışı, doyuma giden süreç ve mıknatıslanmanın dönen sistemdeki hareketi Şekil 2.6' da sunulmuştur.



Şekil 2.6. 90 derece pulsunun uygulanışı, doyuma giden süreç ve mıknatıslanmanın dönen sistemdeki hareketi (Yılmaz ve Korunur, 2012).

90 derece pulsu sona erince üst seviyedeki spinler RF' ten yüklendiği fazla enerjiyi etrafındaki örgüye aktararak, enerji seviyelerinin yeniden Boltzmann nüfus dağılımına kavuşmasını sağlar. Enerji seviyeleri arasındaki geçişleri çevre denilen unsurların x-y düzleminde kurdukları $H_{\text{çxy}}$ temin eder. $H_{\text{çxy}}$ etkisiyle olan geçişlerde: bir spinin aşağı inme olasılığı yukarı çıkma olasılığından büyüktür. Spin topluluğunun doyum durumundan ($M_0=0$) yeniden Boltzmann dengesine ($M_z=M_0$) ulaşması olayına spin-örgü rölaksasyon zamanı (T_1) denir. Spin-örgü rölaksasyon zamanına ait süreçlerin ilerleyişi Şekil 2.7' de verilmiştir (Yılmaz ve Korunur, 2012).

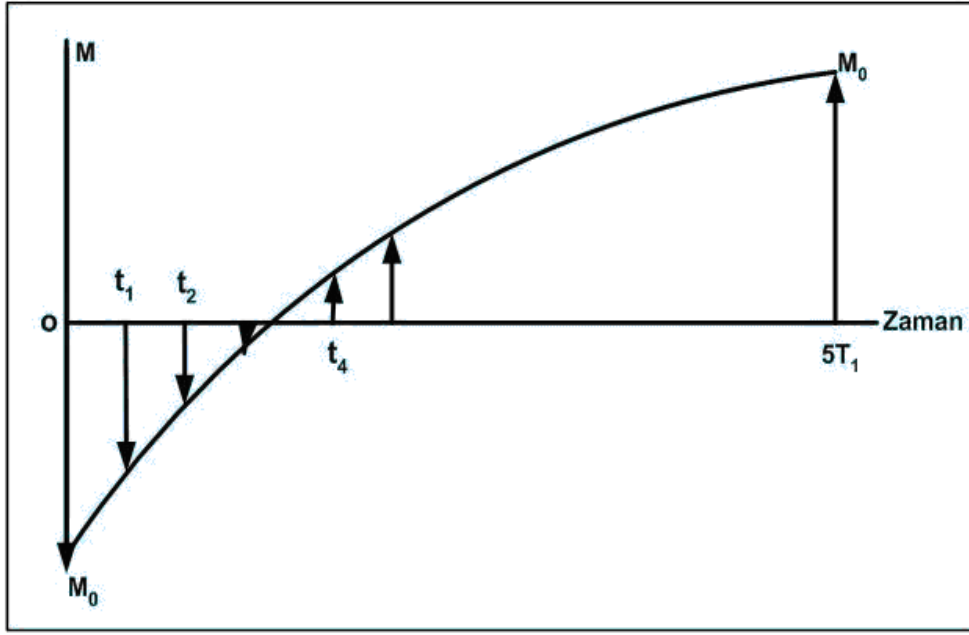


Şekil 2.7 Doyuma ulaşmış spin topluluğunun çevreye enerji vermesi süreci ve T_1 spin-örgü durulma zamanı (Yılmaz ve Korunur, 2012).

T_1 durulması, $[(180^\circ - t_b - 90^\circ) - PR]_n$ puls adımının peşpeşe n kere uygulanmasını içeren inversion recovery (IR) tekiği ile ölçülür. Buradaki t_b , mıknatıslanma 180 derece çevrildikten sonra beklenen zamandır. Bu beklemeden hemen sonra 90 derece pulsu uygulanarak ilk M_1 değeri bulunur. PR: her bir $(180^\circ - t_b - 90^\circ)$ -puls adımını kullanırken, beklenen süresidir. Diğer bir söyleyişle her bir ölçümden yani 90 derece puls uygulamasından sonra $PR = 5T_1$ kadar beklenir. Bu sürede spin sistemi Boltzman dengesine erişir. Puls adımındaki t_b süreleri gidgide daha büyük seçilerek, $M_1, M_2, \dots, M_n$ mıknatıslanmaları elde edilir. Bu mıknatısların şiddeti ile t_b zamanları arasındaki ilişkiden; IR eğrisi elde edilir. T_1 zamanı da bu eğriden hesaplanır. IR eğrisinin uyduğu denklem;

$$M_z(t) = M_0 (1 - 2e^{-t/T_1}) \quad (2.3)$$

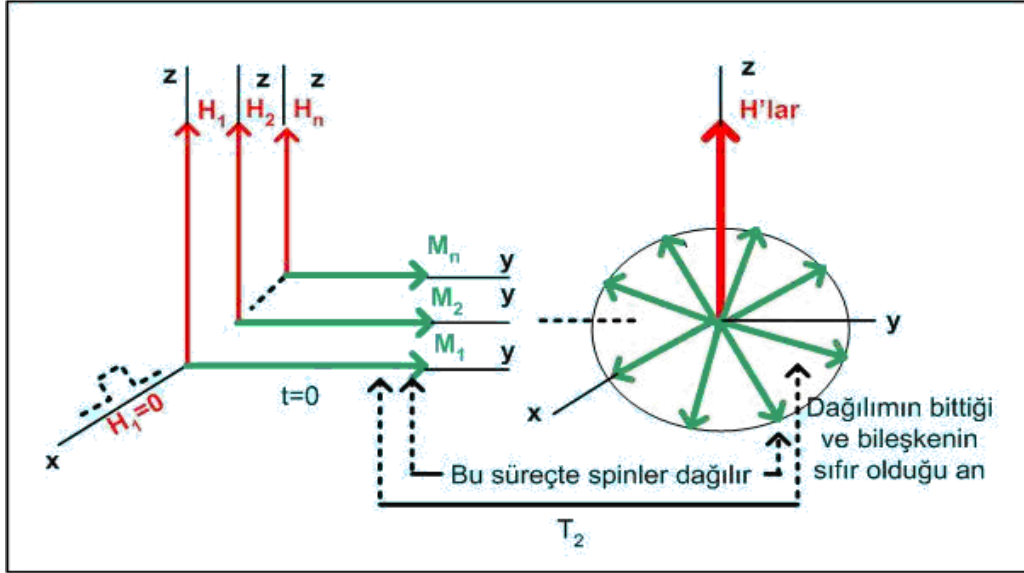
Şeklindedir (Yılmaz ve Korunur, 2012). Böyle bir eğrinin çizimi Şekil 2.8' de gibi olmaktadır.



Şekil 2.8 T_1 spin-örgü durulması hesabında kullanılan inverion recovery eğrisi

2.2.5. Spin-Spin durulma Zamanı (T_2)

z-yönündeki M_0 mıknatıslanmasının bileşiminde, dipolar genişlemenin unsurları olan $M_1, M_2, \dots, M_n$ mıknatıslanmaları bulunmaktadır. Bu mıknatıslar frekans ekseninde bir birine bitişik $\omega_1, \omega_2, \dots, \omega_n$ frekanslarına sırasıyla yerleşmiştir. 90° puls uygulaması tüm mıknatısları y-yönüne yatırır. Puls kesilince, z-yönündeki $H_1, H_2, \dots, H_n$ alanları tekrar ortaya çıkar. Her bir mıknatıs, kendisine dik olan ve kendisini üreten alan etrafında döner. $\omega_1, \omega_2, \dots, \omega_n$ ile verilen dönme hızlarının farklarından dolayı, mıknatıslanmalar en sonunda, Şekil 2.9' daki gibi, x-y düzleminde 360 derecelik yelpaze gibi açılır olur (Yılmaz ve Korunur, 2012).



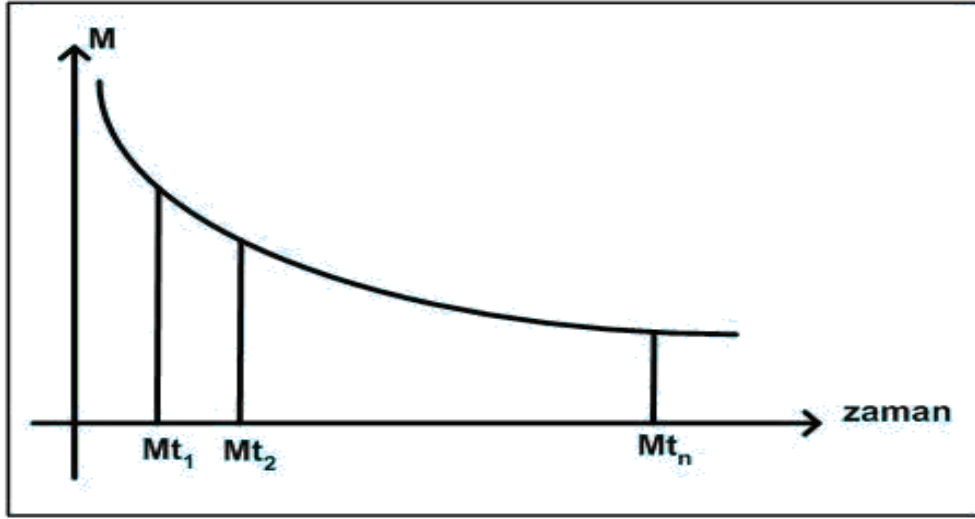
Şekil 2.9 Başlangıçta y-yönüne yönelen mıknatıslanmaların x-y düzleminde rastgele dağılım süreci ve T_2 durulma zamanı (Yılmaz ve Korunur, 2012).

Mıknatıslanmaların y-yönüne yöneldiği durumdan (sol yan), x-y düzleminde gelişgüzel dağılmasına (sağ yan) kadar yaşanan süreç, T_2 spin-spin röleksasyon zamanı olarak adlandırılır.

T_2 durulma zamanı, $[(90^\circ - t_e - 180^\circ) - PR]_n$ spin-echo (SE) puls adımının ardarda n kez uygulanması ile ölçülür. Bu teknikte 90 derece puls ile tüm mıknatıslanmalar ($M_1, M_2, \dots, M_n$) y-yönüne yatırılır. $t_e/2$ kadar bekleyince, mıknatıslanmalar biraz açılır. Bu esnada 180 derece puls uygulanırsa, mıknatıslanmalar ters yönde hareket ederek y-ekseninde birleşir ve bu bileşim birinci eko sinyali olan M_{t1} kaydedilir. Buradaki t_e sinyali ölçmek için beklenen zamandır. Her adım uygulamasından önce, sistemin z-yönünde M_0 değerine ulaşması için, $TR = 5T_1$ kadar beklenir. SE adımının peş peşe uygulanması sonunda $M_{t1}, M_{t2}, \dots, M_{tn}$ eko sinyalleri elde edilir. Bu sinyal şiddetleri ile t_e zamanları arasındaki ilişki

$$M_{xy}(t) = M_{xy}(0)e^{-t/T_2} \quad (2.4)$$

Denklemleri verilmiştir. Böyle bir ilişkiden çizilen bozunum eğrisi Şekil 2.10' da verilmiştir. T_2 bu eğriden fit yolu ile hesaplanır. (Yılmaz ve Korunur, 2012).

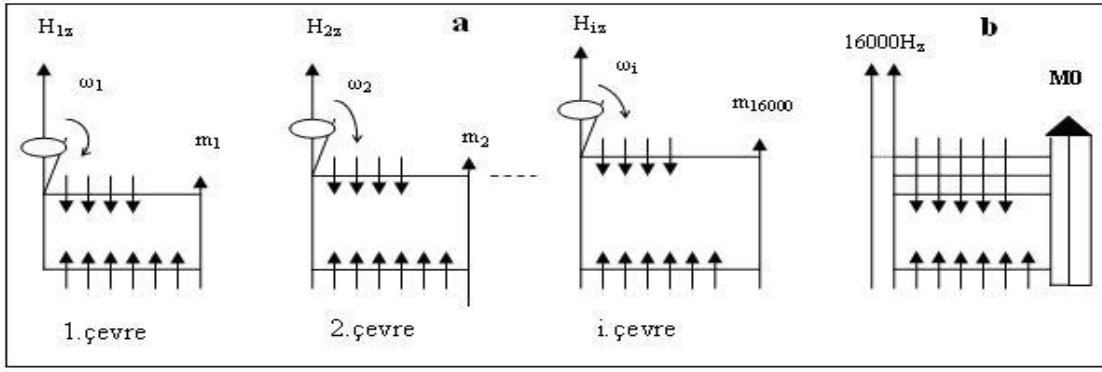


Şekil 2.10. Spin eko (SE) adımının peş peşe uygulanması sonunda elde edilen $M_{t1}, M_{t2}, \dots, M_{tn}$ eko sinyalleri ve spin eko (SE) bozunum eğrisi.

T_2 zamanı, 2.10 Şeklinde çizilen eğrinin Denklem (2.4) ile uyuşturulmasından elde edilmektedir.

2.2.6. Bir I spinin yakınında bulunan diğer I spininin bulunduğu yerde kurduğu yerel alanların H_0 alanına eklenmesi ve dipolar genişleme

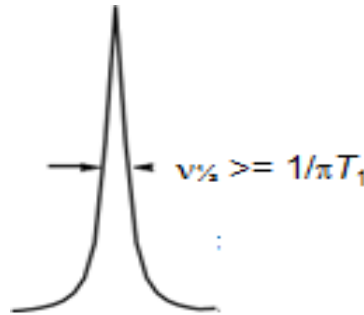
NMR probuna yerleştirilen tüp içindeki spinler birbirlerinden yalıtık değildir. Bir I spinin hemen yakınında diğer bir I spini vardır. Bu spinler, Şekil.2.1’de görüldüğü gibi, etraflarında yerel alan kurarlar. Yerel alanların değişen z bileşenleri H_0 alanına eklenir ve H_0 ’ı farklılaştırır. Diyelim ki H_0 alanı $H_{1z}, H_{2z}, \dots, H_{16000z}$ alanlarını şeklinde farklılaşsın. Bu alanlar da örnek içindeki spin topluluklarını 16000 kez böler ve 16000 farklı enerji düzeyi çiftinin oluşumuna yol açar (Şekil 2.11a). Böylece M_0 mıknatıslanması $M_1, M_2, \dots, M_{16000}$ gibi alt mıknatıslara bölünür (Şekil 2.11a). Böyle bir sistemle uyarlı 16000 RF pulsu uyguladığımızda, söz konusu mıknatıslanmalar y- yönüne yatar ve NMR cihazında Şekil 11.b de görüldüğü gibi H_0 etrafında genişlemiş bir sinyal edilir.



Şekil 2.11 Gözlem altındaki I spinlerinin, komşu spinlerin bulunduğu yerlerde kurdukları yerel alanların H_0 alanını farklılaştırması, bu farklılaşmadan ortaya çıkan enerji seviyesi çiftleri ve alt mıknatıslanmalar, sinyal genişlemesi (Yılmaz ve Korunur, 2012).

2.2.7. Pik yarı yüksekliğinden ölçülen çizgi genişliği genişliğine T_2 durulmasının pik yarı genişliğinden türetilmesi

Komşu spinler tarafından 16000 kez farklılaştırılan M_z değerleri, birbirine bitişik NMR frekanslarına yerleşirler. Bu yerleşim sonucunda, Lorentzian formda bir NMR piki elde edilir (Şekil.2.12). Bu pikin tabanını tepesine birleştiren doğrunun ortasından tabana paralel bir doğru çizildiğinde; sinyal iki noktada kesilir. Kesim noktaları arasındaki uzaklığa pik yarı genişliği denir.



Şekil 2.12. Lorentzien formda dipolar genişlemeşekilli soğurma

Şekil 2.12 deki Lorentzien çizgi şekilli spektrum için pik çizgi yarı genişliği

$$\Delta\nu_{1/2} = \pi(1/T_2) \quad (2.5)$$

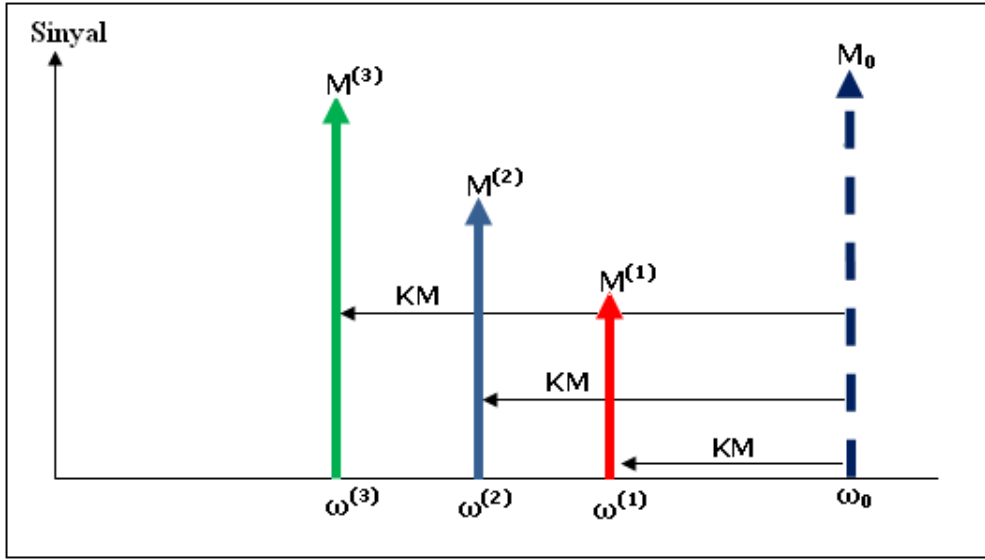
Olarak hesaplanır. (Carrington and McLachan, 1967). Buradan $1/T_2$

$$1/T_2 = \pi\Delta\nu_{1/2} \quad (2.6)$$

Şeklinde yazılır.

2.2.8. Kimyasal kaymanın nitel gösterimi

Bir örnekte farklı moleküler çevreler bulunduğunda bu çevrelerle ilgili yörüngesel akımlar dış H_0 alanına farklı büyüklüklerde katkılarda bulunur. Örneğin CH_3CH_2OH molekülünün üç farklı çevresi, H_0 alanını 3 kez farklılaştırarak, 3 farklı sinyalin ortaya çıkmasına yol açar (Şekil 2.13). Benzer olarak n farklı çevrede ise n farklı sinyalimiz olur. Bu sinyaller farklı rezonans frekanslarında görünürler. Herbir sinyalin rezonans frekansı (ω) ile spinlerin yalıtık oldukları duruma ait olan ω_0 frekansı arasındaki uzaklığa kimyasal kayma denir ve ppm olarak birimlendirilir. Şekil 2.13'deki her bir pik, yerel dipolar etkilerden dolayı genişler.



Şekil 2.13. CH_3CH_2OH molekülündeki farklı çevre akımlarının yol açtığı kimyasal kayma sinyalleri

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Örneklerin hazırlanması

29 kanserli, diabetli ve normal kan ve de 29 kanserli, diabetli ve normal idrar numuneleri Diyarbakır'da hizmet veren Memorial Hastanesinin kadın-doğum ve Onkoloji Birimlerinden alındı. Parafilmle kapatılan tüpler plastik bir torba içinde ve -20 derecede muhafaza edildi. Ölçümler esnasında örnekler oda sıcaklığında çözündürüldü. Her bir örnekten alınan 0.02 mL kan ayrı ayrı 0.98 mL D₂O'ya eklendi. İdrar ölçümlerinde ise 0.06 mL sıvı, 0.94 mL D₂O'ya eklendi. Böylece ölçülecek karışımlar hazırlanmış oldu. Hazırlanan karışımlar 5 mm çaplı NMR tüplerine transfer edildi.

3.2 NMR ölçümleri

Ölçümler, 400 MHz BRUKER AVANCE NMR spektrometresi kullanılarak ve sadece 90 derece pulsu uygulanarak yapıldı. Scan sayısı 16 olarak seçildi. NMR prob sıcaklığı otomatik sıcaklık kontrol yardımı ile (20 ±1) °C tutuldu. Kullanılan malzemeler ve NMR cihazı Şekil 3.1 de görülüyor.



Şekil 3.1 Metabolite ölçümleri için kullanılan 400 MHz NMR cihazı ve kullanılan örnekler

3.3 Metabolit piklerinin kimliklendirilmesi

Ayrıca D₂O ve idrar karışımından daha önce elde edilen ve kimliklendirilmesi önceden yapılmış olan NMR metabolit piklerine ait bilgiler de literatürdenderlendi. Tablo 3. 1 de verilmiştir. (Ayala ve ark.2013).

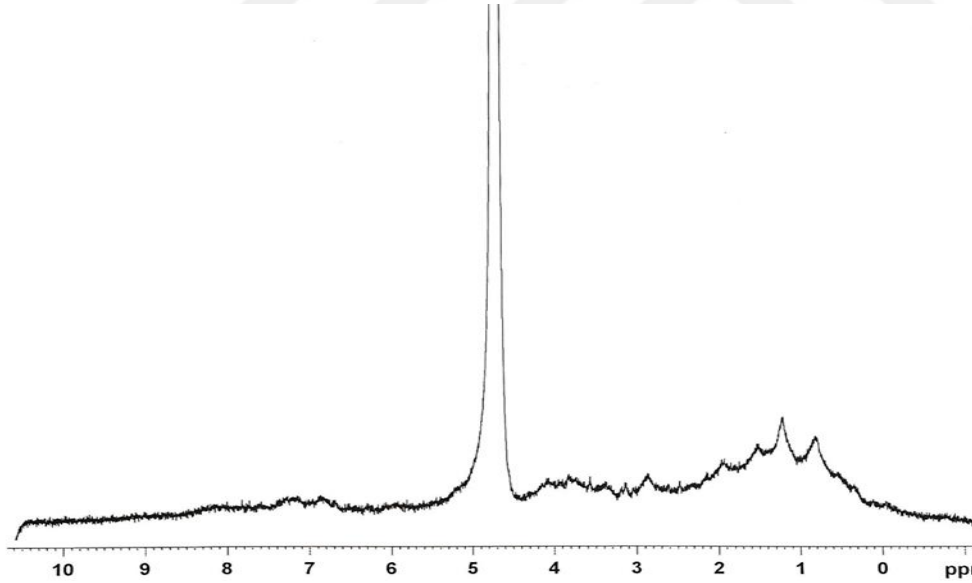
Tablo 3.1 Üre örneklerinden çıkması olası metabolit pikleri

Ppm	Metabolit
0.89	a-Phenylacetyl-L-glutamine
2.04	Glutamate
2.59	5-oxoproline
2.91	Dimethylglycine
3.11	Prolibetaine
3.52	Myoinositol
3.61	D-Threitol
3.74	Glutamate
3.79	L-alanine
3.89	Betaine
6.87	L-Tyrosine
7.01	Acetylglutamine
7.20	O-Cresylsulfate
7.42	a-Phenylacetyl-L-glutamine
7.54	Hippurate
7.01	Acetylglutamine

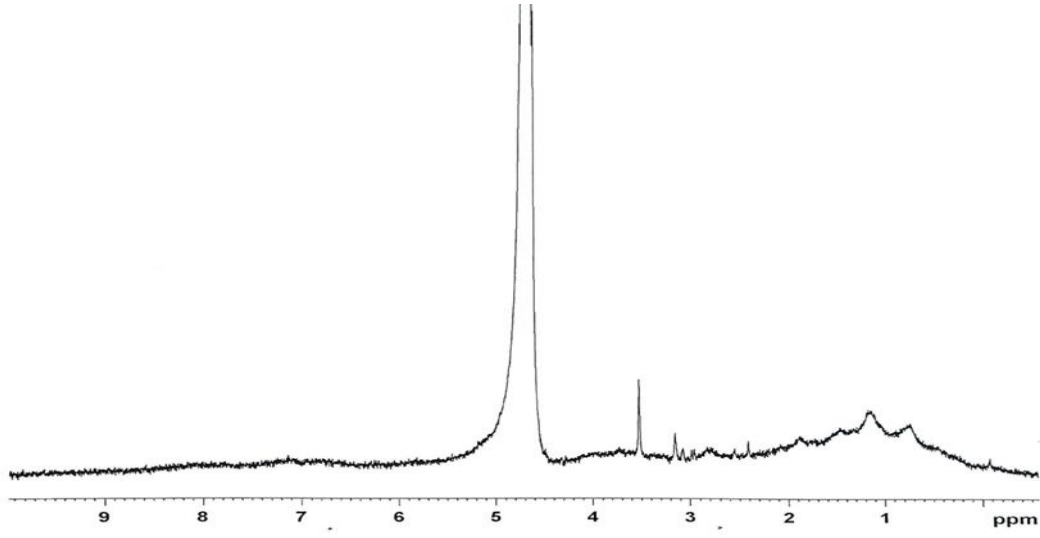
3. 4 Çizgi genişliği ölçümleri ve T₂ değerlerinin hesaplanması

Kimliklendirilen her bir metabolit piki belli oranda genişletilerek, pik yarı genişliği bir kursör vasıtasıyla 5 kez peşpeşe ölçüldü. Her bir pik için yapılan 5 ölçümün Hz cinsinden ortalaması bulundu. Bu ortalama değer, (2.6) denkline yerleştirildi ve incelenen pikin 1/T₂ değeri bulundu. Aynı yöntem spektumdaki her bir metabolit piki için kullanılarak, tüm piklerin çizgi genişlikleri ve 1/T₂ değerleri saptandı. Bir pikin çizgi genişliğini hesaplamadaki deneysel hata, ± 0.06 Hz kadar idi.

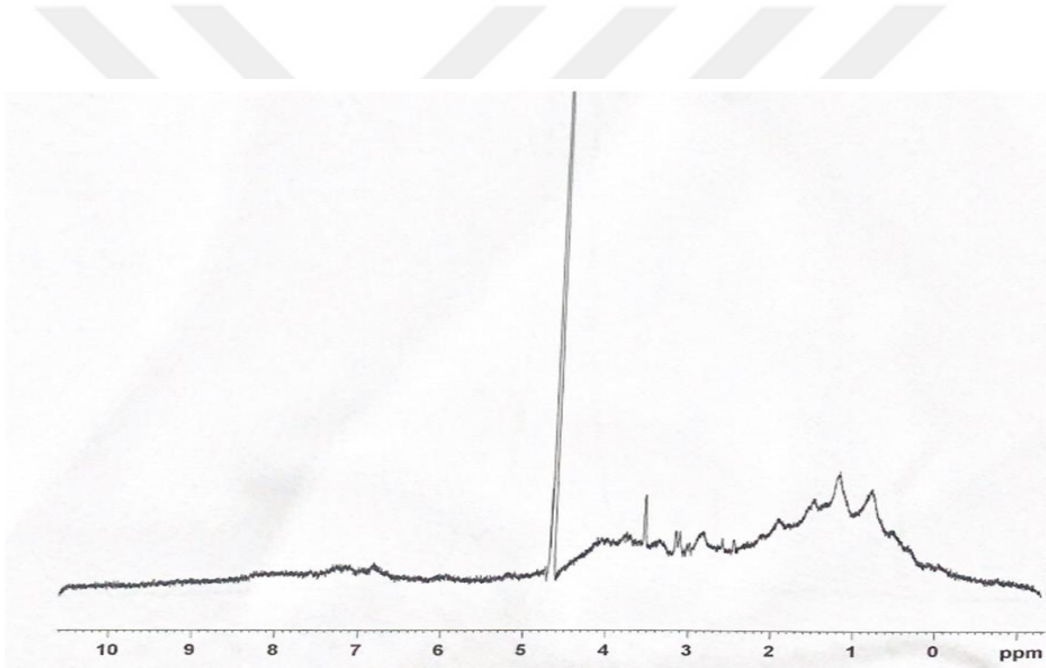
Sağlıklı, diabetli ve kanserli kan örneklerini NMR spektrumu geniş bir pik vermektedir (Sibel, 2021; Gülnur, 2021). Kan örneklerine ait NMR spektrumlarını temsil eden bir metabolit profile Şekil.3.2 de görülmektedir. İdrar örneklerine ait metabolite profilleri çok pikli idi (Sibel, 2021; Gülnur, 2021). Sağlıklı, kanserli ve diabetli kan ve idrar örneklerinin temsili birer NMR spektrumları sırasıyla Şekil 3.2, Şekil.3.3, Şekil 3.4, Şekil 3.5, Şekil 3.6 ve Şekil.3.7’de verilmiştir.



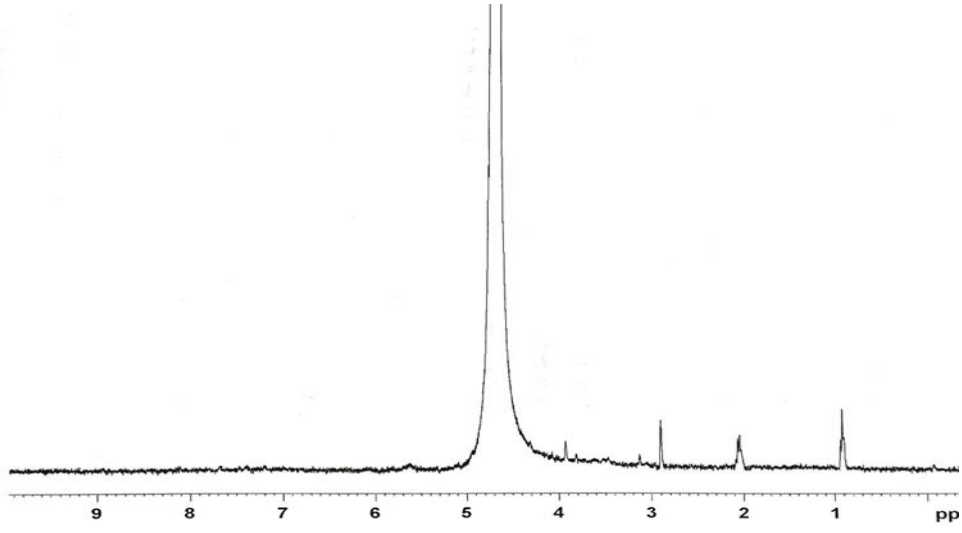
Şekil.3.2 Sağlıklı Kan örneklerinin temsili 400 MHz NMR spektrumu



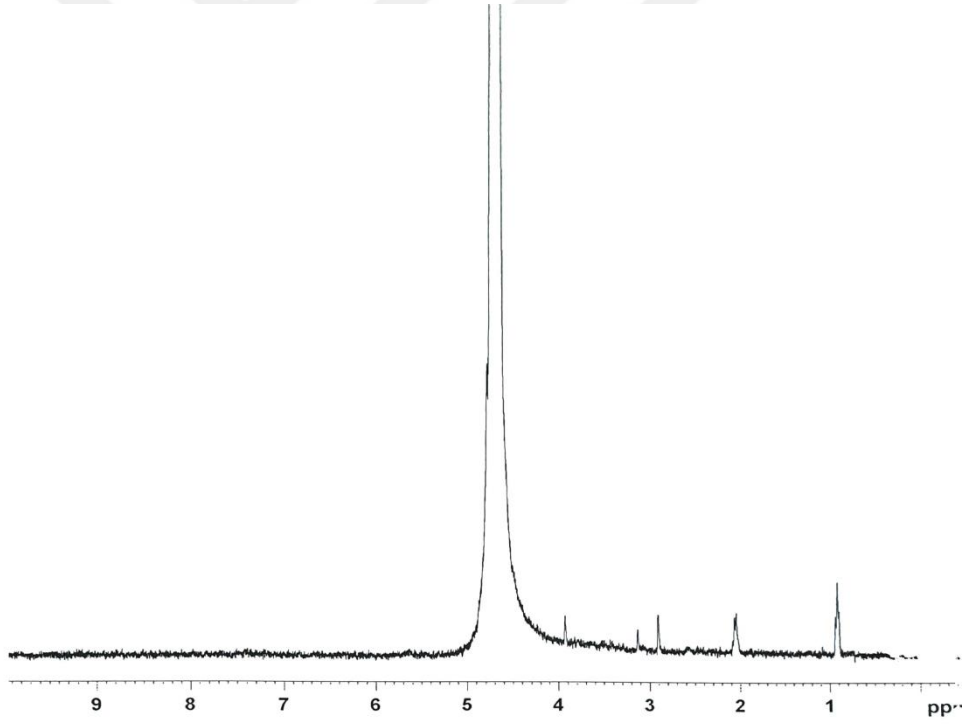
Şekil.3.3 Kanserli Kan örneklerinin temsili 400 MHz NMR spektrumu



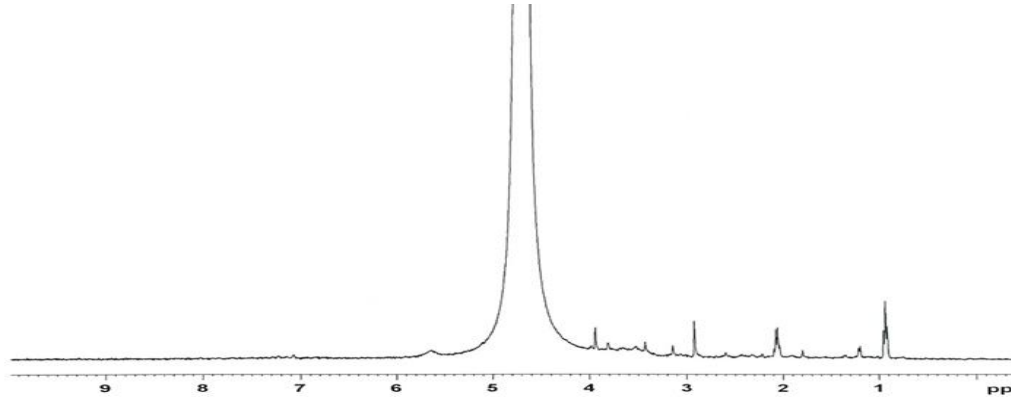
Şekil.3.4 Diabetli kan örneklerinin temsili 400 MHz NMR spektrumu



Şekil.3.5 Sağlıklı idrar örneğinin temsili 400 MH NMR spektrumu



Şekil.3.6 Kanserli idrar örneğinin temsili 400 MH NMR spektrumu



Şekil 3.7 Diabetli idrar örneğinin temsili 400 MH NMR spektrumu

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1 Araştırma sonuçları

Sağlıklı, kanserli ve diabetli kan ve serumun NMR spektrumundan elde edilen çeşitli pikler, sadelik amacı ile ppm olarak takdim edilmiştir. Söz konusu ppm değerlerinde ortaya çıkan piklerin kimlikleri Tablo 3.1 de verilmiştir.

Sağlıklı kan, kanserli kan ve diabetli kan gruplarındaki çeşitli piklerin çizgi yarı genişlikleri ppm cinsinden değerleri Tablo 4.1, Tablo 4.2 ve Tablo 4.3 de verilmiştir.

Tablo 4.1 Sağlıklı kan örneklerinden alınan NMR piklerinin ppm cinsinden yarı genişlikleri

ppm	0,9	1,2	1,5	1,9	2,4	2,8	3,4	3,6
0,1	0,06	0,05			0,01	0,08		0,01
0,09	0,1	0,1			0,01	0,09		0,02
0,12	0,1	0,05		0,03		0,08		
0,11	0,09	0,07		0,04	0,01	0,08		0,02
0,1	0,08	0,06		0,03	0,02	0,07		0,01

Tablo 4.2 Sağlıklı kan örneklerinden alınan NMR piklerinin ppm cinsinden yarı genişlikleri

ppm	0,9	1,2	1,5	1,9	2,4	2,8	3,4	3,6
	0,1	0,1	0,04	0,05	0,01	0,09		0,01
	0,1	0,11	0,04	0,08	0,01	0,1		0,01
	0,09	0,08	0,05	0,03	0,01		0,03	
	0,1	0,09	0,04	0,03	0,02	0,06		
	0,1	0,09						0,01
	0,07	0,11	0,025		0,01		0,01	
	0,1	0,1	0,08		0,02	0,06		0,02

Tablo 4.3 Sağlıklı kan örneklerinden alınan NMR piklerinin ppm cinsinden yarı genişlikleri

ppm	0,9	1,2	1,5	1,9	2,4	2,8	3,4	3,6
	0,1	0,09	0,07	0,04	0,01	0,05	0,02	
	0,1	0,11	0,05	0,04		0,1		0,02
	0,1	0,06	0,09	0,07	0,02	0,09		0,02
	0,09	0,07	0,06	0,05	0,01	0,08	0,01	0,01
	0,09	0,08	0,06	0,04	0,01	0,07	0,01	0,01

Sağlıklı, Kanserli ve diabetli kan örneklerinden elde edilen piklerin çizgi yarı genişliklerinin Hertz cinsinden değerleri Tablo 4.4, Tablo 4.5 ve Tablo 4.6 da verilmiştir.

Tablo 4.4 Sağlıklı kan örneklerinden alınan NMR piklerinin Hertz cinsinden yarı genişlikleri

ppm	0,9	1,2	1,5	1,9	2,4	2,8	3,4	3,6
Hertz	40	24	20		4	32		4
	36	40	40		4	36		8
	48	40	20	12		32		
	44	36	28	16	4	32		8
	40	32	24	12	8	28		4

Tablo 4.5: Kanserli kan örneklerinden alınan NMR piklerinin Hertz cinsinden yarı genişlikleri

ppm	0,9	1,2	1,5	1,9	2,4	2,8	3,4	3,6
Hertz	40	40	16	20	4	36		4
	40	44	16	32	4	40		4
	36	32	20	12	40		12	
	40	36	16	12	8	24		
	40	36						4
	28	44	10		4		4	
								8
	40	40	32		8	24		

Tablo 4.6: Diabetli kan örneklerinden alınan NMR piklerinin Hertz cinsinden yarı genişlikleri

ppm	0,9	1,2	1,5	1,9	2,4	2,8	3,4	3,6
Hertz	40	36	28	16	4	20	8	
	40	44	20	16		40		8
	40	24	36	28	8	36		8
	36	28	24	20	4	32	4	4
	36	32	24	16	4	28	4	4

Sağlıklı, Kanserli ve diabetli kan örneklerinden elde edilen piklerin çizgi yarı genişliklerinin 1/T2 cinsinden değerleri Tablo 4.7, Tablo 4.8 ve Tablo 4.9 da verilmiştir.

Tablo 4.7 Sağlıklı kan örneklerinden alınan NMR piklerinin 1/T2 cinsinden yarı genişlikleri

ppm	0,9	1,2	1,5	1,9	2,4	2,8	3,4	3,6
1/T2	125,6	75,36	62,8		12,56	100,48		12,56
	113,04	125,6	125,6		12,56	113,04		25,12
	150,72	125,6	62,8	37,68		100,48		
	138,16	113,04	87,92	50,24	12,56	100,48		25,12
	125,6	100,48	75,36	37,68	25,12	87,92		12,56

Tablo 4.8 Kanserli kan örneklerinden alınan NMR piklerinin 1/T2 cinsinden yarı genişlikleri

ppm	0, 9	1, 2	1, 5	1, 9	2, 4	2, 8	3, 4	3, 6
1/T2	125,6	125,6	50,24	62,8	12,56	113,04		12,56
	125,6	138,16	50,24	100,48	12,56	125,6		12,56
	113,04	100,48	62,8	37,68	125,6		37,68	
	125,6	113,04	50,24	37,68	75,36	75,36		
	125,6	113,04						12,56
	87,92	138,16	31,4		12,56		12,56	
	125,6	125,6	100,48		25,12	75,36		25,12

Tablo 4.9 Diabetli kan örneklerinden alınan NMR piklerinin 1/T2 cinsinden yarı genişlikleri

ppm	0, 9	1, 2	1, 5	1, 9	2, 4	2, 8	3, 4	3, 6
1/T2	125,6	113,04	87,92	50,24	12,56	62,8	25,12	
	125,6	138,16	62,8	50,24		125,6		25,12
	125,6	75,36	113,04	87,92	25,12	113,04		25,12
	113,04	87,92	75,36	62,8	12,56	100,48	12,56	12,56
	113,04	100,48	75,36	50,24	12,56	87,92	12,56	12,56

Sağlıklı, Kanserli ve diabetli idrar örneklerinden elde edilen NMR piklerinin çizgi yarı genişliklerinin Hertz cinsinden değerleri Tablo 4.10, Tablo 4.11 ve Tablo 4.12 da verilmiştir

Tablo 4.10 Sağlıklı idrar örneklerinden alınan NMR piklerinin ppm yarı genişlikleri

ppm	0,9-0,1	2,1	2,9	3,15	3,3-3,4	3,6-3,7	3,9	5,1	5,6
	0,03	0,03	0,02				0,02		
	0,03	0,03	0,02				0,01		
	0,03	0,03	0,02				0,01		
	0,03	0,04	0,02	0,02			0,01		
	0,03	0,03	0,02				0,01		
	0,03	0,03	0,02	0,01	0,01		0,01		0,1

Tablo 4.11 Kanserli idrar örneklerinden alınan NMR piklerinin ppm yarı genişlikleri

ppm	0,9-0,1	2,1	2,9	3,15	3,3-3,4	3,6-3,7	3,9	5,1	5,6
	0,03	0,04	0,02			0,03	0,01	0,1	
	0,03	0,03	0,02	0,01			0,01		
	0,03	0,03	0,02	0,04	0,04		0,01		
	0,03	0,03	0,02				0,01		

0,03	0,04	0,02	0,01		0,02
0,03	0,03	0,02			0,01

Tablo 4.12 Diyabetli idrar örneklerinden alınan NMR piklerinin ppm yarı genişlikleri

ppm	0,9-0,1	2,1	2,9	3,15	3,3-3,4	3,6-3,7	3,9	5,1	5,6
	0,05	0,033	0,02	0,03		0,04			0,1
	0,01	0,02	0,01	0,02			0,01		0,05
	0,05	0,04	0,02	0,03			0,02		
	0,04	0,06	0,02	0,03			0,01		
	0,03	0,03	0,02	0,05	0,05		0,02		
	0,03	0,02							
	0,03	0,05	0,02	0,02			0,01		
	0,03	0,03	0,02	0,02					
	0,03	0,04	0,02				0,02		

Sağlıklı, Kanserli ve diabetli idrar örneklerinden elde edilen NMR piklerin çizgi yarı genişliklerinin Hertz cinsinden değerleri Tablo 4.13, Tablo 4.14 ve Tablo 4.15’de verilmiştir.

Tablo 4.13 Sağlıklı idrar örneklerinden alınan NMR piklerinin Hertz cinsinden yarı genişliği

ppm	0,9-0,1	2,1	2,9	3,15	3,3-3,4	3,6-3,7	3,9	5,1	5,6
Hertz	12	12	8				8		
	12	12	8				4		
	12	12	8				4		
	12	16	8	8			4		
	12	12	8				4		
	12	12	8	4	4		4		4

Tablo 4.14 Kanserli idrar örneklerinden alınan NMR piklerinin Hertz cinsinden yarı genişliği

ppm	0,9-0,1	2,1	2,9	3,15	3,3-3,4	3,6-3,7	3,9	5,1	5,6
Hertz	12	16	8			12	4	4	
	12	12	8	4			4		
	12	12	8	16	16		4		
	12	12	8				4		
	12	16	8	4			8		

Tablo 4.15 Diyabetli idrar örneklerinden alınan NMR piklerinin Hertz cinsinden yarı genişliği

ppm	0,9-0,1	2,1	2,9	3,15	3,3-3,4	3,6-3,7	3,9	5,1
Hertz	20	13,2	8	12		16		
	4	8	4	8			4	
	20	16	8	12			8	
	16	24	8	12			4	
	12	12	8	20	20		8	
	12	8						
	12	20	8	8			4	
	12	12	8	8				
	12	16	8				8	

Sağlıklı , Kanserli ve diyabetli idrar örneklerinden elde edilen NMR pik çizgi yarı genişliklerinin 1/T2 cinsinden değerleri Tablo 4.16, Tablo 4.17 ve Tablo 4.18’de verilmiştir.

Tablo 4.16 Sağlıklı idrar örneklerinin NMR pik yarı genişliğinden bulunan 1/T2 değerleri

ppm	0,9-0,1	2,1	2,9	3,15	3,3-3,4	3,6-3,7	3,9	5,1	5,6
1/T2	37,68	37,68	25,12				25,12		
	37,68	37,68	25,12				12,56		
	37,68	37,68	25,12				12,56		
	37,68	50,24	25,12	25,12			12,56		
	37,68	37,68	25,12				12,56		
	37,68	37,68	25,12	12,56	12,56		12,56		12,56

Tablo 4.17 Kanserli idrar örneklerinin NMR pik yarı genişliğinden ölçülen 1/T2 değerleri

ppm	0,9-0,1	2,1	2,9	3,15	3,3-3,4	3,6-3,7	3,9	5,1	5,6
1/T2	37,68	50,24	25,12			37,68	12,56	12,56	
	37,68	37,68	25,12	12,56			12,56		
	37,68	37,68	25,12	50,24	50,24		12,56		
	37,68	37,68	25,12				12,56		
	37,68	50,24	25,12	12,56			25,12		

Tablo 4.18 Diyabetli idrar örneklerinin NMR pik yarı genişliğinden ölçülen 1/T2 değerleri

ppm	0,9-0,1	2,1	2,9	3,15	3,3-3,4	3,6-3,7	3,9	5,1	5,6
1/T2	62,8	41,448	25,12	37,68		50,24			125,6
	12,56	25,12	12,56	25,12			12,56		62,8
	62,8	50,24	25,12	37,68			25,12		
	50,24	75,36	25,12	37,68			12,56		
	37,68	37,68	25,12	62,8	62,8		25,12		
	37,68	25,12							
	37,68	62,8	25,12	25,12			12,56		
	37,68	37,68	25,12	25,12					
	37,68	50,24	25,12				25,12		

4.2 Tartışma

- (a) Kan Pikleri: 0.9 ppm, 1.2 ppm ve 2.8 ppm de çıkan kan pikleri geniş piklerdir (yarı genişlik 0,1 ppm civarı) . 2.4, 3.4 ve 3.6 ppm lerde çıkan kan pikleri ise dar pikler olmaktadır (yarı genişlik 0,01ppm civarı). Diğer ppmlerde çıkan pikler orta genişlikte piklerdir (Yarı genişliği ortalama 0.05 ppm civarında. Dar ve geniş pik yarı genişlikleri gruptan gruba değişmezken, orta büyüklükteki pik genişlikleri gruptan gruba değişkenlik gösterebilmektedir.
- (b) İdrar Pikleri: Kan piklerinin aksine idrar piklerinin tümü yarı genişliği 0.02 ppm civarında olan dar piklerdir. Bu pikler tüm gruplar için , 0.9-0.1 ppm, 2.1 ppm, 2.9ppm ve 3.9 ppm değerlerinde ortaya çıkmaktadır. 3.15 ppm de ortaya çıkan pik diabet grubunda daha sıklıkla görülmektedir. 3.3ppm, 3.6ppm, 5.1ppm ve 5.6 ppm pikleri, farklı gruplarda ya ortaya çıkmamakta ya da seyrek olarak ortaya çıkmaktadır.
- (c) Kan ve idrar örneklerini yüksekalan NMR spektrumu su baskılama teknikleriyle bulunmaktadır (Beckonert et al 2007, Dona et al 2014, MacKinnon ve ark. , 2019). Bu teknikler suyu ortadan kaldırarak, çözeltinin diğer piklerini açığa çıkarmaktadır. Ancak bu tekniklerle su piki ve diğer piklerin durulma zamanları ölçülememektedir. Mevcut teknik su pikini, radyasyon dampingi ortadan kaldıracak kadar küçültüğünden, su pikini durulma zamanı geleneksel yöntemlerle (IR ve GPMG) ölçülebilmektedir. Diğer piklerin durulma zamanlarını da geleneksel yöntemlerle ölçmek olasıdır.

- (d) Bu yöntemde kan örnekleri 49 ve idrar örnekleri yaklaşık 16 kez D_2O ile sulandırmıştır. Bu sulandırma örneğin bileşimine dayalı manyetik alan homojensizliklerini aynı oranda azaltmaktadır. Bu da önerilen yöntemin bir üstünlüğü olmaktadır.
- (e) Önerilen teknik ile Ölçüm sayısı artırılarak, Sinyal/gürültü oranı yükseltilebilir ve bu da daha fazla piki görüntülememizi sağlayabilir.
- (f) Yukarıda ppm olarak ölçülen değerler için yapılan yorumlar $1/T_2$ içinde geçerlidir. Bu çalışma, D_2O seyreltmesi yolu ile, $1/T_2$ değerlerinin hesabını esas almıştır. Bu yönü ile bulunan $1/T_2$ değerleri, metabolitler için öncül veriler olmaktadır. Literatürde yayınlanmış very bulunmadığı için tam bir karşılaştıma yapma imkanı bulunmamaktadır. Ancak bulunan veriler serum proteinleri için yayınlanan verilerle tutarlılık içindedir. (Wierzuchowska and Blicharska 2014).
- (g) İdrardan elde edilen NMR piklerinin sayısı, kandan elde edilen piklerden fazla olmaktadır. İdrar daha homojen ve iri molekül içermeyen bir sıvı olduğundan, örneğin yol açtığı manyetik alan homojensizliği küçüktür (Yılmaz ve Yılmaz, 2020). Bu nedenle de idrar örnekleri dar pikler vermektedir.
- (h) Kan örneklerinden bulunan $1/T_2$ değerleri, aynı ppm de ölçülen idrar örneklerinden 3-3.5 kat daha büyüktür. Bunun nedeni kandaki iri moleküllerin homojensizliğe yol açarak çizgi genişliğini büyütmeleleridir (Yılmaz ve Yılmaz, 2020).
- (i) İdrar piklerinin bir çoğu kandan farklı yerlerde çıkmaktadır. Bu da idrar ve kan metabolitlerin farklı olduğunun kanıtıdır. İdrar metabolitleri, idrar grupları içinde de farklılıklar göstermektedir. Bu da bu metabolitlerin tumor marker olarak kullanmalarını sağlayan özelliği olmalıdır.

4.2.3 ÖNERİLER

- Su baskılama yerine D_2O 'nun kullanıldığı durumda NMR metabolitlerin tüm T_1 ve T_2 değerlerini direkt ölçmek olanaklıdır. Kullandığımız NMR cihazının durumu müsait olmadığı için, bu piklerin T_2 zamanları geleneksel yöntemlerle ölçülemedi. Bu tip T_1 ve T_2 değerlerinin direct bulunması çok yararlı olacaktır. Böyle ölçümler yapıldı T_1 ve T_2 hastalık tanısı için kullanılabilir.
- Deneyisel verilerimizin büyük bir miktarı NMR cihazına bağlı bilgisayar hafızasında muhafaza ediliyordu. Yaz aylarında yapılan çalışmalar bilgisayar hafızasının temelden silinmesine ve verilerimizin kaybolmasına yol açtı. Bu nedenle de farklı gruplara ait yarı

genişliklerin istatistik bir karşılaştırılması yapılamadı. Gelecekteki çalışmalarda böyle bir karşılaştırma da yapılmalıdır.

- Bu tezdeki verilen metabolit pikleri, su baskılama tekniği kullanılmadan elde edilmiştir. Bu teknik, kanser ve diyabet tanısı için kullanılabilecek şekilde mükemmelleştirilmelidir.
- Bu tezde verilen metabolit $1/T_2$ değerleri, su baskılama tekniği kullanılmadan elde edilmiştir. Bu değerlerin, kanser ve diyabet tanısı için kullanılabilme potansiyeli değerlendirilmelidir

KAYNAKLAR

Ahlner A, Carlsson M, Jonsson BH, Lundström P. PINT—a software for integration of peak volumes and extraction of relaxation rates. *J Biomol NMR* 2013; 56:191-202

Ayala MP, IreneZubiri1, Marta Martin-Lorenzo1, Aroa Sanz-Maroto1, Dolores Molero2, Laura Gonzalez-Calero1, Beatriz Fernandez-Fernandez3, Fernando de la Cuesta4, Carlos M. Laborde4, Maria G. Barderas4 , Alberto Ortiz3 , Fernando Vivanco1,5 andGloria

Alvarez-Llamas1 1, Identification of a urinemetabolomicssignature in patientswithadvanced-stagechronickidneydisease. *Kidney International* (2013) 85, 103–111; doi:10.1038/ki.2013.328;

Beckonert O, Keun HC, Ebbels TMD, et al. Metabolic profiling, metabolomic and metabonomic procedures for NMR spectroscopy of urine, plasma, serum and tissue extracts. *Nat Protoc* 2007;2(11):2692–703

Boss EA, Moolenaar SH, Massuger LFAG. High-resolution proton nuclear magnetic resonance spectroscopy of ovarian cyst fluid. *NMR Biomed* 2000;13(5):297-305.

Bloembergen N, Purcell EM, Pound RV.Relaxation Effects in Nuclear Magnetic Resonance Absorption. *Phys Rev* 1948; 73:679.

Carrington A and McLachlan AD, Introduction to Magnetic Resonance: With Applications to Chemistry and Chemical Physics (Harper and Row, London, 1967).

Chen K, Tjandra N. Direct Measurements of Protein Backbone ^{15}N Spin Relaxation Rates from Peak Line-Width using a Fully-Relaxed Accordion 3D HNC0 Experiment. *J MagnReson* 2009; 197:71-76.

Chawla S1, Kumar S, Garg M, Kumar R, Roy R, Gupta RK. Metabolite pattern of cysticercus cellulose emetacestode from different predilection sites of swine using proton magnetic resonance spectroscopy. *Parasite* 2004; 11(2):161-167.

Cistola DP, Robinson MD. Compact NMR relaxometry of human blood and blood components. *Trends in Analytical Chemistry* 2016; 83:53-64.

Coletta F. A Comparative Study of Water T1 and T2 Nmr Relaxation Times in Healthy and Pathological Blood Fluid. *Spectroscopy Letters* 2000; 33:115-125. 10.1080/00387010009350063.

Damadian R. Tumor detection by nuclear magnetic resonance. *Science* 1971; 171:1151-1153.

De Feyter HM, Behar KL, Corbin ZA, Fulbright RK, Brown PB, McIntyre S, Nixon TW, Rothman DL, de Graaf RA (2018). Deuterium metabolic imaging (DMI) for MRI based 3D mapping of metabolism in vivo. *Sci Adv* 4:eaat7314 doi: 10.1126/sciadv.Aat 7314.

Dona AC, Jimenez B, Schaefer H, et al. Precision high-throughput proton NMR spectroscopy of human urine, serum, and plasma for large-scale metabolic phenotyping. *Anal Chem* 2014;86(19):9887–94.

Duarte IF, Diaz SO, Gil AM. NMR metabolomics of human blood and urine in disease research. *J Pharm Biomed Anal* 2014; 93:17-26.

Du ZQ, Zhang LN, Lu Q, Ren YF, Lv Y, Liu XM, et al. Clinical characteristics and outcome of pyogenic liver abscess with different Size: 15-year experience from a single center. *Sci Rep* 2016; 6:35890. Doi: 10.1038/srep35890.

Foxall PJ1, Price RG, Jones JK, Neild GH, Thompson FD, Nicholson JK. High- resolution proton magnetic resonance spectroscopy of cyst fluids from patients with polycystic kidney disease. *Biochim Biophys Acta* 1992;1138(4):305-314.

Sci Adv 4:eaat7314 doi: 10.1126/sciadv.Aat 7314.

Goryunov AS. H/D isotope effects on protein hydration and interaction in solution. *Gen Physiol Biophys* 2006; 25: 303 – 311.

Gülnur Özkorkmaz, Diyabetli Hamile Kadınların Serum Metabolitlerinin Yüksek Alan NMR ile İncelenmesi; Diyarbakır (2021)

Hauge SY, Esmaili M, Sjøbakk TE, Grüner R, Woie K, Werner HM, Krakstad C, Bjørge L, Salvesen ØO, Stefansson IM, Trovik J, TBathen TF, Haldorsen IS (2018). In vivo MR spectroscopy predicts high tumor grade in endometrial cancer. *Acta Radiol* 59(4): 497-505.

Hwang JH, Choi CS (2015). Use of in vivo magnetic resonance spectroscopy for studying metabolic diseases. *Exp Mol Med* 47(2): e139-146.

Izquierdo-Garcia JL, Comella-Del-Barrio P, Campos-Olivas R, Villar-Hernández R, Prat-Aymerich C, De Souza-Galvão ML, Jiménez-Fuentes MA, Ruiz-Manzano J, Stojanovic Z,

Kasturi SR, Seitz PK, Chang DC, Hazlewood CF. Intracellular water in Artemia cysts (brine shrimp) Investigations by deuterium and oxygen-17 nuclear magnetic resonance. *Biophys J*. 1990; 58:483-49

Kiihne S, Bryant RG. Protein-Bound Water Molecule Counting by Resolution of ^1H Spin-Lattice Relaxation Mechanisms. *Biophys J* 2000; 78:2163-2169.

Kostidis S, Addie RD, Morreau H, Mayboroda OA, Giera M. Quantitative NMR analysis of intra- and extracellular metabolism of mammalian cells: A tutorial. *Anal Chim Acta* 2017; 980:1-24.

Kransdorf MJ, Jelinek JS, Moser RP, Utz JA, Brower AC, Hudson TM, et al. Soft-tissue masses: diagnosis using MR imaging. *AJR Am J Roentgenol* 1989; 153:541-547

Kumar V, Dwivedi, DK, Jagannathan NR (20014). High-resolution NMR spectroscopy of human body fluids and tissues in relation to prostate cancer. *NMR in Biomed* 27(1): 80-89.

Li Y, Park I, Nelson SJ (2015). Imaging Tumor Metabolism using in vivo MR Spectroscopy. *Cancer J* 21(2): 123–128.

MacKinnon N, Ge W, Han P, et al. NMR-Based Metabolomic Profiling of Urine: Evaluation for Application in Prostate Cancer Detection. *Nat Prod Commun* 2019; 14(5):1–13.

Messana I, Fomi F, Ferrari F, Rossi C, Giardina B, Zuppi C (1998): Proton nuclear magnetic resonance spectral profiles of urine in type II diabetic patients. *Clin. Chem* .**44(7)**, 1529–1534.

Mladenov G, Dimitrov VS. Extraction of T2 from NMR line widths in simple spin systems by use of reference deconvolution. *Magn Reson Chem* 2001; 39:672–680.

Niklasson M, Otten R, Ahlner A, et al. Comprehensive analysis of NMR data using advanced line shape fitting. *J Biomol NMR* 2017; 69:93-99. doi: 10.1007/s10858-017-0141-6.

Reglinski J, Watson ID (1996). An analytical perspective of NMR spectroscopy of biological fluids and cells. *Ann Clin Biochem* 33: 290-307.

Sánchez-Aguilar M, Morang-Mendoza O, Herrera-Hernández MF. Prognostic indications of the failure to treat amoebic liver abscesses. *Pathog Glob Health* 2012; 106(4):232–237.

Santhosh K, Thomas B, Varma L, Sandhyamany S, Kesavadas C, Appukuttan PS, et al. Metabolite signature of developmental foregut cyst on in vivo and in vitro (^1H) MR spectroscopy. *J Magn Reson Imaging* 2008 ; 28(2):493-496

Sibel TARHAN; Kanserli Hastaların Kan/Serum/idrar Metabolitlerinin Yüksek Alan NMR ile incelenmesi; Diyarbakır (2021)

Slupsky CM, Steed H, Wells TH, Dabbs K, Schepansky A, Capstick V, et al. Urine metabolite analysis offers potential early diagnosis of ovarian and breast cancers. *Clin Cancer Res* 2010; 16(23): 5835–41.

Van-Quynh A, Willson S, Bryant RG. Protein Reorientation and Bound Water Molecules Measured by ^1H Magnetic Spin-Lattice Relaxation. *Biophys J* 2003; 84:558-563.

Van QN, Veenstra TD, Issaq HJ. Metabolic profiling for the detection of bladder cancer. *CurrUrol Rep* 2011; 12(1): 34–40.

Virendra kumar et al. NMR biomed. High-resolution NMR spectroscopy of human body fluids and tissues in relation to prostate cancer

Yilmaz A, Zengin B, Ulak FS. NMR proton spin-lattice relaxation mechanism in D₂O solutions of albumin determined at 400 MHz. *Journal of Applied Spectroscopy* 2014; 81:365-370.

Yilmaz UN, Yilmaz BD. Shortening of NMR $1/T_1$ and $1/T_2$ relaxation rate distribution intervals in D₂O containing jaw cysts or abscesses: separation of cysts from abscesses. *JAS* 2020; 87:946-950. DOI 10.1007/s10812-020-01093-0

Yılmaz A ve Korunur S, NMR dersnotları, Dicle Üniversitesi, 2012

Zhou B, Ren J, Han G, Chen Y, A J, Gu G, et al. Dynamics of albumin synthetic response to intra-abdominal abscess in patients with gastrointestinal fistula. *Surg Infect (Larchmt)* 2014; 15(2):111-117.

Zia K, Siddiqui T, Ali S, Farooq I, Zafar MS, Khurshid Z (2019). Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy for Medical and Dental Applications: A Comprehensive Review. *Eur J Dent* 13(1): 124–128.

Zipp A, James TL, Kuntz ID, Shohet SB. Water proton magnetic resonance studies of normal and sickle erythrocytes-Temperature and volume dependence. *Biochim Biophys Acta* 1976; 473:291-303.

Wang FN, Peng SL, Lu CT, Peng HH, Yeh TC (2013). Water signal attenuation by D₂O infusion as a novel contrast mechanism for ^1H perfusion MRI. *NMR Biomed* 26(6): 692–698.

Walsh MC, Lorraine Brennan, J Paul G Malthouse, Helen M Roche, and Michael J Gibney, *Effect of acute dietary standardization on the urinary, plasma, and salivary metabolomic profiles of healthy humans. Am J Clin Nutr* 2006;84:531–9

Wilhelm MJ, Ong HH, Wehrli FW. Super-Lorentzian framework for investigation of T₂* distribution in myelin. *Proceedings of the 20th Annual Meeting of ISMRM, Melbourne, Victoria, Australia, 2011; 2394.*

Wang Z, Lin Y, Liang J, Huang Y, Ma C, Liu X, et al. NMR-based metabolomic techniques identify potential urinary biomarkers for early colorectal cancer detection. *Oncotarget* 2017; 8(62): 105819–105831.

Wolak JE, Esther Jr CR, O'Connell TM Metabolomic analysis of bronchoalveolar lavage fluid from cystic fibrosis patients. *Biomarkers*. 2009; 14(1): 55-60

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Zühal TAĞU
Uyruğu : T.C

EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Üniversite	: Dicle Üniversitesi	2013
Yüksek Lisans	: Batman Üniversitesi	2022

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2017-2022	Özel Batman Çözüm mesleki ve teknik anadolu lisesi	öğretmen