



T.C.
İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**GEBELİK ÖNCESİ, GEBELİK VE LAKTASYON SÜRESİNCE
DİYET POLİAMİN ALIMININ, DIŞI SIÇANLARDA VE
YAVRULARINDA VÜCUT AĞIRLIKLARI VE KAN LİPİD
SEVİYELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

FATMA MERT

BESLENME VE DİYETETİK ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. NİHAL BÜYÜKUSLU

İSTANBUL – 2016



T.C.
İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**GEBELİK ÖNCESİ, GEBELİK VE LAKTASYON SÜRESİNCE
DİYET POLİAMİN ALIMININ, DIŞI SIÇANLARDA VE
YAVRULARINDA VÜCUT AĞIRLIKLARI VE KAN LİPİD
SEVİYELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

FATMA MERT

BESLENME VE DİYETETİK ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. NİHAL BÜYÜKUSLU

İSTANBUL – 2016

TEŞEKKÜR

Eđitimim süresince yetiŐmemde büyük emekleri olan ve her aŐamada değerli katkılarını benden esirgemeyen kıymetli hocam Prof. Dr. Muazzez Garipađaođlu'na,

Yüksek lisans öğrenimim süresince ve çalışmamın her aşamasında bilgi ve deneyimleriyle yol gösterip, sabrı ve anlayıŐıyla bana örnek olan çok değerli danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Nihal Büyükuslu'ya,

Laboratuvar çalışmam esnasında yardımlarını esirgemeyen İlyas Ün'e,

Hayatımın her aşamasında yanımda olan ve her türlü desteği sunan değerli aileme ve arkadaşlarıma,

Katkılarından dolayı sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	i
BEYAN	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ	vii
TABLolar LİSTESİ	viii
1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	2
3. GİRİŞ VE AMAÇ	3
4. GENEL BİLGİLER	4
4.1. Poliaminler	4
4.1.1. Poliaminlerin yapısı	4
4.1.2. Poliaminlerin fonksiyonları.....	5
4.1.3. Poliamin kaynakları	6
4.1.4. Poliamin metabolizması	9
4.2. Diyet poliaminler	10
4.2.1. Besinlerin poliamin içerikleri.....	10
4.2.2. Diyet yoluyla alınan günlük poliamin miktarları	10
4.3. Gebelik ve laktasyon döneminde poliaminlerin etkisi	12
4.3.1. Gebelik döneminde poliaminlerin etkisi	12
4.3.2. Laktasyon döneminde poliaminlerin etkisi	13
4.4. Diyet poliaminlerin üreme üzerine etkileri.....	14
4.4.1. Erkek üreme sistemi üzerine etkileri	14
4.4.2. Dişi üreme sistemi üzerine etkileri.....	15
4.5. Vücut ağırlığı üzerine poliaminlerin etkisi.....	15
4.6. Serum lipid düzeyleri ve diyet poliaminleri	16
4.6.1. Lipid düzeyleri ile poliamin metabolizması arasındaki ilişki	16
5. METOT VE MATERYAL	17
5.1. Araştırma yeri ve örneklem seçimi.....	17
5.2. Sıçanlara uygulanan diyet müdahalesi	18

5.3.	Pelet yem tüketimi ve vücut ağırlığı değişimlerinin incelenmesi	20
5.4.	Su tüketiminin incelenmesi	20
5.5.	Üreme durumlarının değerlendirilmesi	21
5.6.	Kan örneklerinin alınması ve analizi	21
5.7.	Serum lipit düzeylerinin belirlenmesi	23
5.8.	Çalışmanın sonlandırılması	23
5.9.	Spesifik büyüme hızlarının hesaplanması	23
5.10.	İstatistik analizler	24
6.	BULGULAR.....	25
6.1.	Besin tüketim durumları	25
6.1.1.	Yetişkin sıçanlarda pelet yem tüketimi	25
6.1.2.	Yavru sıçanlarda pelet yem tüketimi.....	28
6.2.	Su tüketim durumları.....	28
6.2.1.	Yetişkin sıçanlarda su tüketimi	28
6.2.2.	Yavru sıçanlarda su tüketimi.....	29
6.3.	Vücut ağırlığı değişimleri.....	32
6.3.1.	Yetişkin sıçanların vücut ağırlığı değişimleri	32
6.3.2.	Yavru sıçanların vücut ağırlığı değişimleri.....	36
6.4.	Üreme durumlarının değerlendirilmesi.....	37
6.5.	Serum lipit düzeylerinin değişimi	38
6.5.1.	Yetişkin sıçanlarda serum lipit düzeylerinin değişimi	38
6.5.2.	Yavru sıçanlarda serum lipit düzeylerinin değişimi.....	42
7.	TARTIŞMA.....	43
8.	SONUÇ	46
9.	KAYNAKLAR	47
10.	ETİK KURUL ONAYI.....	53
11.	ÖZGEÇMİŞ	54

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

DAO: Diamin Oksidaz

dk: Dakika

FSH: Folikül uyarıcı hormon

GALT: Barsakla ilişkili lenfoid doku

hCG: İnsan koriyonik gonadotropin

HDL: Yüksek yoğunluklu lipoprotein

LDL: Düşük yoğunluklu lipoprotein

LH: Lüteinizan hormon

NOAEL: Deney hayvanlarında gözlenebilen hiçbir yan etki göstermeyen doz

ODC: Ornitin dekarboksilaz

put: Putresin

rpm: Dakikadaki devir sayısı

spd: Spermidin

spm: Spermin

VLDL: Çok düşük yoğunluklu lipoprotein

ŞEKİLLER LİSTESİ

- Şekil 4.1. Putresin, spermidin ve sperminin kimyasal yapısı 4
- Şekil 4.2. Ökaryotlarda put, spd ve spm biyosentezi..... 6
- Şekil 4.3. Bakteride put, spd ve spm biyosentez yolağı 9



TABLolar LİSTESİ

Tablo 5.1. Çalışmada oluşturulan grupların dağılımı.....	17
Tablo 5.2. Pelet yemin içeriği ve analitik bileşenleri	19
Tablo 5.3. Çiftleşme döneminde ayrılan grupların özellikleri	21
Tablo 6.1. Yetişkin sıçanlarda, gün ve birey bazında ortalama tüketilen pelet yem miktarı.....	25
Tablo 6.2. Gebelik öncesi dönemde yetişkin sıçanlarda gün ve birey bazında tüketilen pelet yem miktarları	26
Tablo 6.3. Gebelik döneminde yetişkin sıçanlarda gün ve birey bazında tüketilen pelet yem miktarları.....	27
Tablo 6.4. Yetişkin sıçanlarda, gün ve birey bazında ortalama tüketilen su miktarı	28
Tablo 6.5. Gebelik öncesi dönemde yetişkin sıçanlarda gün ve birey bazında tüketilen su miktarı	30
Tablo 6.6. Gebelik döneminde yetişkin sıçanlarda gün ve birey bazında tüketilen su miktarı.....	31
Tablo 6.7. Yetişkin sıçanlarda vücut ağırlığı değişimi.....	32
Tablo 6.8. Gebelik öncesi dönemde yetişkin sıçanlarda gün ve birey bazında değişen ağırlık miktarı	33
Tablo 6.9. Gebelik döneminde yetişkin sıçanlarda gün ve birey bazında değişen ağırlık miktarı.....	34
Tablo 6.10. Laktasyon döneminde yetişkin sıçanlarda gün ve birey bazında değişen ağırlık miktarı	35
Tablo 6.11. Yavru sıçanların vücut ağırlığı değişimleri.....	36
Tablo 6.12. Yetişkin sıçanların gebe kalma yüzdesi	37
Tablo 6.13. Yetişkin sıçanların doğurganlık oranı, toplam yavru sayısı ve yavruların ortalama doğum ağırlığı.....	37
Tablo 6.14. Yetişkin sıçanların kolesterol analiz sonuçları.....	38
Tablo 6.15. Yetişkin sıçanların trigliserid analiz sonuçları	39
Tablo 6.16. Yetişkin sıçanların HDL kolesterol analiz sonuçları	39
Tablo 6.17. Yetişkin sıçanların LDL kolesterol analiz sonuçları	40
Tablo 6.18. Yetişkin sıçanların kan lipit düzeyleri analizi sonucu	41
Tablo 6.19. Yavru sıçanların kan lipit düzeyleri analizi sonucu	42

1. ÖZET

GEBELİK ÖNCESİ, GEBELİK VE LAKTASYON SÜRESİNCE DİYET POLİAMİN ALIMININ, DIŞI SIÇANLARDA VE YAVRULARINDA VÜCUT AĞIRLIKLARI VE KAN LİPİD SEVİYELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Bu çalışma, farklı poliamin kombinasyonları ile beslenen yetişkin sıçanların vücut ağırlıkları değişimi ve kan lipid düzeylerinin saptanması, gebelik sırasında farklı poliamin kombinasyonları ile beslenmenin yavru sıçanların büyüme ve gelişmesi üzerine etkileri ile kan lipid düzeylerini ne şekilde etkilediğinin incelenmesi amacıyla yapılmıştır. Çalışma kapsamında, 35 adet Spraque Dawley türü dişi sıçan kullanılmıştır ve çalışma 5 gruba ayrılmıştır. Birinci grupta yer alan sıçanlar kontrol grubu (G1) olup, deney süresince sadece normal pelet yem ile beslenmiştir. Diğer 4 grupta yer alan sıçanlara put (G2), spd (G3), spm (G4) ve put/spd/spm (G5) çözeltilerinden gebelik öncesi, gebelik dönemi ve laktasyon dönemi boyunca oral gavaj yoluyla verilmiştir. Ayrıca çalışmanın başlangıcında, çiftleşme öncesi, gebelik sonu ve laktasyon sonunda yetişkin sıçanların, çalışmanın sonunda ise yavru sıçanların kan örnekleri alınarak serum lipid analizleri yapılmıştır. Gebelik öncesi dönemde yem ve su tüketimi açısından en az tüketim olan grubun spd (G3) kullanılan grup, laktasyon döneminde de vücut ağırlığı bakımından en az olan grubun spd (G3) kullanılan grup olduğu bulunmuştur. Gebelik öncesi dönem ve laktasyon döneminde vücut ağırlığı bakımından en fazla artış olan grubun put/spd/spm (G5) kullanılan grup olduğu gösterilmiştir. Put (G2) kullanılan grupta gebelik öncesi dönem ile gebelik döneminde belirgin LDL kolesterol artışı, gebelik dönemi ile laktasyon döneminde belirgin HDL kolesterol artışı, gebelik öncesi dönem ile gebelik döneminde belirgin trigliserid azalması gözlenmiştir. Sonuç olarak sıçanlarda kullanılan farklı poliaminlerin kan lipid düzeyleri ve vücut ağırlığı üzerine olan etkileri gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Poliamin, büyüme ve gelişme, HDL, LDL, kolesterol, trigliserid

Bu çalışma İstanbul Medipol Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: 2016/04

2. ABSTRACT

DIETARY POLYAMINE INTAKE EFFECTS ON BODY WEIGHT AND BLOOD LIPID LEVELS ON FEMALE RATS AND PUPS BEFORE PREGNANCY, DURING PREGNANCY AND LACTATION

This study is done for determination of blood lipid levels and changes in body weight of adult rats fed with different combinations of polyamine, effects on growth and development of rat pups fed with different combinations of polyamine during pregnancy and examining the effects on blood lipid levels. In the study, 35 Sprague Dawley female rats were used and were divided into 5 groups. First group of rats is control group and they were fed only with normal pellet during the test. Rats located in other 4 groups had been fed via oral gavage for prior to pregnancy, during pregnancy and lactation with concentrations of put (G2), spd (G3), spm (G4), and put/spd/spm (G5). Also blood samples of adult rats were taken and serum lipid analysis was performed before the beginning of the study, before mating, at the end of pregnancy and at the end of lactation. Blood samples of pups were taken and serum lipid analysis was performed at the end of the study. In the period before pregnancy, it was found that spd (G3) group have the least level of food and water consumption and during lactation, body weight was found to be the least increasing in spd (G3) group. It was observed that body weight in put/spd/spm (G5) group during before pregnancy and lactation have the highest increase. Significant increase in LDL cholesterol level at put (G2) group at pregnancy and before pregnancy, significant increase in HDL cholesterol level during lactation and pregnancy, significant decrease in triglycerides level during pregnancy and before pregnancy were observed. As a result, this study shows the effects of different polyamines used for rats to the blood lipid levels and body weight.

Keywords: Polyamine, growth and development, HDL, LDL, cholesterol, triglycerides

This study was supported by Scientific Research Projects Unit in Istanbul Medipol University. **Project Number:** 2016/04

3. GİRİŞ VE AMAÇ

Poliaminler, hücre büyümesi ve çoğalması için gerekli olan, kısa zincirli ve bazik yapıdaki biyojen aminlerdir. Tüm canlı organizmalarda yaygın olarak bulunan poliaminler; arjinin, ornitin ve metiyonin amino asitlerinden köken alarak putresin (put), spermidin (spd) ve spermin (spm) olarak sınıflandırılır Igarashi and Kashiwagi (1), Guerraa et al (2).

Katyonic yapıda olduklarından dolayı, nükleik asit, DNA, RNA, fosfolipid gibi anyonik yapılarla etkileşme eğilimindedirler. DNA üzerindeki fosfat gruplarının negatif yüklerini stabilize ederler; RNA'nın sekonder yapısını etkileyerek ve ribozomlara bağlanıp alt ünitelerinin biraraya gelmesini sağlayarak protein sentezi üzerinde etkinlik gösterirler Miyamoto (3), Thomas and Thomas (4), Ramani et al (5).

Hızlı büyüyen dokularda, normal büyüme ve gelişme sürecinde metabolik poliamin gereksinimi oldukça yüksektir Seiler and Dezeure (6). Bu yüzden neonatal süreç, yenidoğan dönem, ameliyat sonrası ve yaraların iyileşmesi gibi hızlı hücre büyümesi gerektiren durumlarda poliamin biyosentezi yüksektir. Özellikle hastalık gibi durumlarda besinsel olarak poliamin alımının artırılması önerilmektedir Bardócz et al (7). Hücrede poliamin bulunmadığında ya da yetersiz olduğunda, hücre proliferasyonunun inhibe edildiği ve bazen de hücre ölümüyle (nekroz ve/veya apoptoz) sonuçlandığı gösterilmiştir. Poliamin biyosentezinde rol alan enzimlerin inhibisyonu durumunda ise hücre büyümesi veya ölümü yavaşlamaktadır Bethel et al (8). Poliaminlerin %3-6'sı anyonik fosfolipidlerle membrana bağlanarak membranı stabilize etmektedir. Ayrıca serumdaki poliaminler, protein ve lipoproteinlerin (HDL, LDL) yüzeyindeki anyonik fosfolipidlerle bağlanarak etkileşime girmektedir Igarashi and Kashiwagi (1).

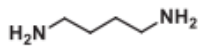
Tüm bu bilgilere bakıldığında poliaminlerin hem büyüme ve gelişme, hem de kan lipid düzeyleri üzerine etkileri vardır. Bundan dolayı bu projede gebelik öncesi, gebelik ve laktasyon süresince diyet poliamin alımının, dişi sıçanlar ve yavrularında vücut ağırlıkları ve kan lipid seviyeleri üzerine olan etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

4. GENEL BİLGİLER

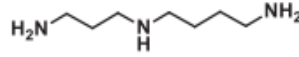
4.1. Poliaminler

4.1.1. Poliaminlerin yapısı

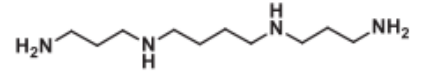
Poliaminler, hücre büyümesi için gerekli olan ve neredeyse yaşayan tüm canlılarda bulunan bazik yapıdaki biyojen aminlerdir Igarashi and Kashiwagi (1), Guerraa et al (2). Ökaryotlarda doğal olarak bulunan poliaminler (Şekil 4.1) **putresin** (put; 1,4-diaminobutane); **spermidin** [spd; N-(3-aminopropyl)-1,4-diaminobutane] ve **spermin** [spm; bis-N-(3-aminopropyl)-1,4-diaminobutane] olarak sınıflandırılmaktadır Guerraa et al (2).



Putresin



Spermidin



Spermin

Şekil 4.1. Putresin, spermidin ve sperminin kimyasal yapısı

Poliaminlerden spermin “Mikrobiyolojinin babası” olarak bilinen Antonie van Leeuwenhoek tarafından 1674’te ilkel mikroskopu tasarlaması sonucu, 1678’de insan semeninden kristal madde şeklinde izole edilmiştir. 1878’de Schreiner tarafından organik baz yapısında olduğu keşfedildikten sonra 1888’de Ladenburg ve Abel tarafından “spermin” olarak adlandırılmıştır. 1924’te ise Rosenheim’in çalışmaları sonucu sperminin ve sperminle ilişkili olan spermidinin kimyasal yapısı ortaya konulmuştur Leeuwenhoek (9), Lightfoot and Hall (10), Bachrach (11).

Putresin (1,4-diaminobütan) ilk olarak *Vibrio cholerae*’dan izole edilmiştir. Ancak büyük miktarı kokuşmuş (putrefy) etten elde edildiği için putresin adı verilmiştir Wallace et al (12).

4.1.2. Poliaminlerin fonksiyonları

Poliaminler, fizyolojik pH koşullarında suda çözünebilen, milimolar konsantrasyonda bulunan polikatyonik, küçük moleküllerdir. Poliaminler hücre içinde protonlanmış olduğu için (put +2, spd +3, spm +4) özellikle DNA, RNA, ATP, protein ve fosfolipidler gibi polianyonik moleküllere genellikle bağlanırlar. Bu etkileşimler poliaminlerin biyolojik fonksiyonları için esansiyeldir Miyamoto (3), Thomas and Thomas (4), Ramani et al (5).

Poliaminlerin hücrelerde nükleik asit ve protein ile etkileşimi, DNA sentezi ve stabilizasyonu, kromatin kondensasyonu, gen transkripsiyonu, protein sentezi, iyon kanalı regülasyonu ve reseptör farklılaşması gibi metabolik işlevleri vardır Igarashi and Kashiwagi (1), Lopez-Garcia et al (13), Soda (14), Ficker et al (15). Ayrıca RNA'nın sekonder yapısını etkileyerek protein sentezi üzerinde etkinlik gösterirler ve ribozomlara bağlanarak alt ünitelerinin biraraya gelmesini sağlarlar Kakegawa et al (16). Ayrıca bir spd'nin protein sentezi esnasında hypusine öncüsü şeklinde davranarak, başlatma faktörünü etkilediği belirtilmektedir Park et al (17).

Poliamin miktarı hücre hasarında tamir fazının şiddeti ile paralellik göstermektedir. Isı stresi, radyasyona maruz kalma, fazla egzersiz yapımı ve iskemi gibi çeşitli hücresel stres uyaranlarına tepki olarak ornitin dekarboksilaz enziminin hızlıca aktive olmasıyla poliamin miktarı artmaktadır Choi and Park (18). Ayrıca poliaminler yaşlanma, bağışıklık, yara iyileşmesi gibi çeşitli fizyolojik süreçlere doğrudan veya dolaylı olarak etki etmektedirler.

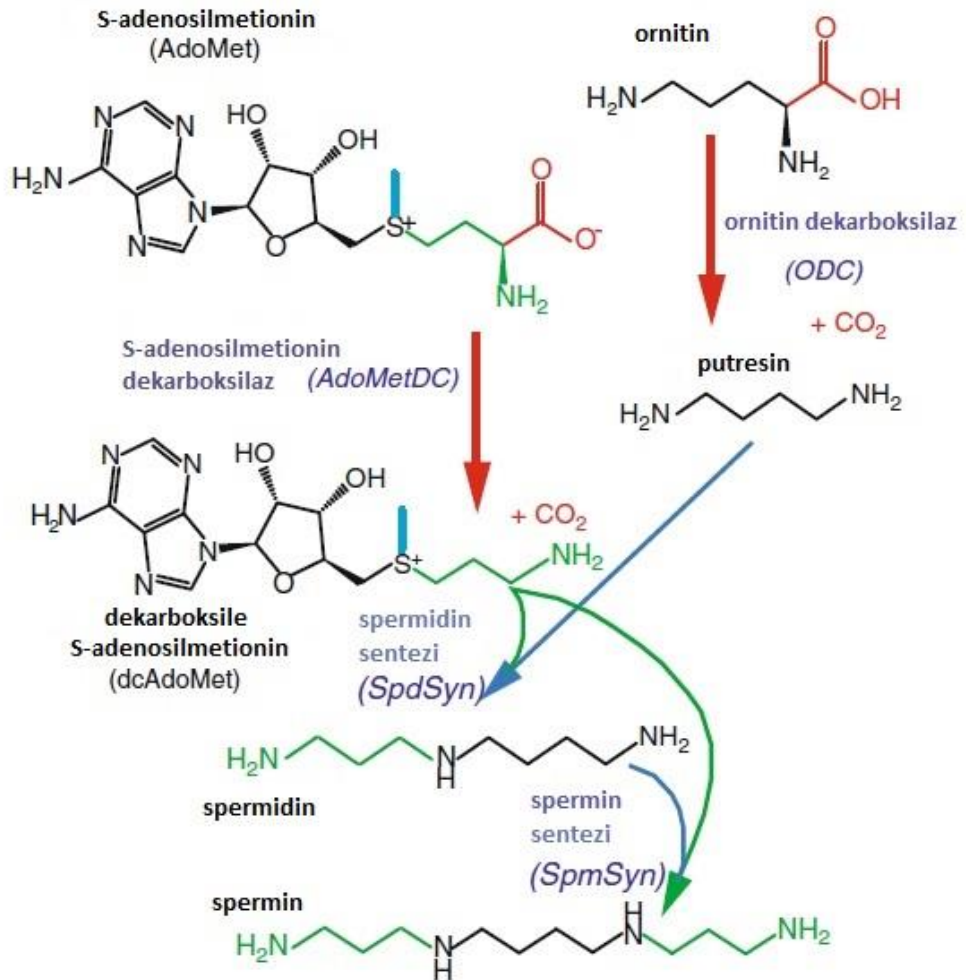
Poliaminler serbest oksijen radikallerini yakalayıcı olarak işlev görebilir ve buna bağlı olarak nükleik asit ve diğer hücre bileşenlerini oksidatif hasardan korumaktadırlar Pegg (19).

4.1.3. Poliamin kaynakları

Poliaminler vücutta hücrel olarak sentezlenmektedir. Buna ek olarak dışarıdan diyet yoluyla ve barsak bakterileri aracılığıyla vücuda alınabilmektedir. Hücrel poliamin sentezi ile doku ve organlardaki konsantrasyonları yaşlanmayla birlikte azalma göstermektedir Kibe et al (20).

4.1.3.1. Biyosentez

Poliamin biyosentezi hücre siklusunun G1 fazında meydana gelmekte ve hücre farklılaşmasını başlatan süreçler için gerekmektedir Iacomino (21).



Şekil 4.2. Ökaryotlarda put, spd ve spm biyosentezi

Michael (22)

Poliamin biyosentezinde ilk basamak, ornitinden ODC aracılığı ile put sentezidir. Daha sonra şekil 4.2’de görüldüğü gibi put’dan “spermidin sentaz” enzimi aracılığı ile spd, spd’den “spermin sentaz” enzimi aracılığı ile spm oluşur.

4.1.3.2. Diyet yoluyla poliamin alımı

Vücuttaki poliamin miktarını belirleyen önemli unsurlardan biri de diyetel poliaminlerdir. Besin yoluyla alınan poliaminlerin önemli bir kısmı sistemik dolaşıma girmeden önce ince barsakta emilip, duodenum ve jejunum lümeninden pasif difüzyonla kana geçerek vücudun tamamına dağılıp hücre büyümesi için kullanılmaktadır. Poliaminler bitkisel ve hayvansal gıdalarda bulunanlar olmak üzere ikiye ayrılmaktadır:

- **Bitkisel gıdalarda yaygın olarak bulunan poliaminler;** put, spd, spm ve thermospermindir. Özellikle bitkilerin hücre duvarı kesidi, vakuol, mitokondri ve kloroplastta bulunmaktadır. Bitkilerde somatik embriyogenez, sap veya gövde kalınlaşması, çiçeklenme, kök büyümesi ve gelişmesi, yumru gelişimi, meyve olgunlaşması düzenlenmektedir Tong et al (23), Subramanyam et al (24).

Poliaminler ışık, hormon, tozlanma, stres ve yaşlanma gibi uyarılara verdiği cevaplar nedeniyle bitki büyümesi ve gelişmesinde önemli bir düzenleyici role sahiptir. Bitkilerde olgunlaşma arttıkça poliamin miktarı azalmaktadır Valero (25). Bitkisel besinlerde put miktarı en yüksek, spm miktarı ise en düşük konsantrasyonda bulunmaktadır. Yüksek put içeren besinler (>40 mg/kg) portakal, mandalina, greyfurt suyu, bezelye ve fermente soya ürünleridir. Yüksek spd ve spm içeren besinler (>30 mg/kg) kurubaklagiller, soya, armut, karnabahar ve brokolidir Büyüksü (26).

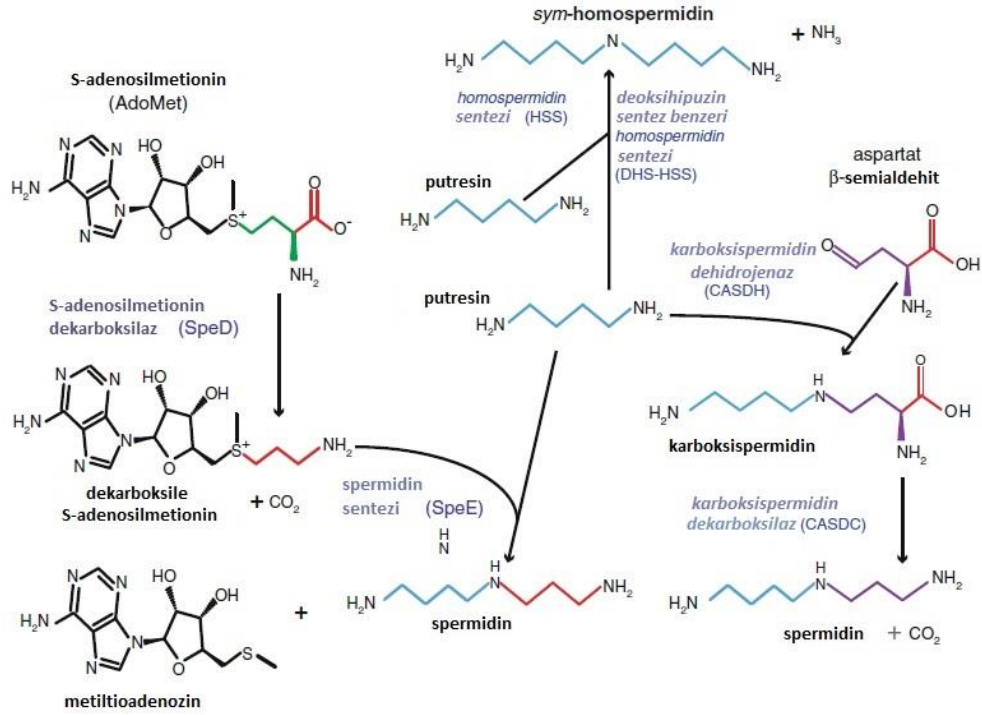
- **Hayvansal gıdalarda yaygın olarak bulunan poliaminler;** put, spd, spm, histamin, tiramin ve kadaverindir Tong et al (23). Hayvansal gıdalarda, bitkisel gıdalara göre put miktarı daha düşük bulunmaktadır. Balık ve et ürünlerinde genellikle putresin ve spermin miktarı, spermidinden daha yüksek konsantrasyonda bulunmaktadır Büyüksü (26). Histamin ise gıdalarda mikroorganizmalar tarafından üretilen histidin dekarboksilaz enzimi ile histidin amino asidinden oluşmaktadır. Pişirme ve dondurma

ile inaktive olmamaktadır. Etlerin kokuşması ve bozulmasına neden olarak histamin zehirlenmesine yol açmaktadır. Özellikle peynir, balık ve fermente gıdalarda fazla miktarda oluşması sonucunda mide bulantısı, kusma, diyare, abdominal kramp, kızarma, çarpıntı ve baş ağrısına neden olmaktadır Visciano et al (27). Tiramin peynir ve fermente içecekler (bira, şarap, vb.) gibi gıdalarda fazla miktarda bulunarak, MAO inhibitörü (antidepresan) alan kişilerde baş ağrısı, yüzde kızarma ve hipertansiyon krizine yol açmaktadır Alper ve Temiz (28). Kadaverin de özellikle fermente süt ürünlerinde yüksek konsantrasyonda bulunmaktadır. Fermentasyon işlemini gerçekleştiren mikroorganizmalar tarafından üretilmektedir Costa et al (29).

4.1.3.3. Mikrobiyal kaynaklı poliaminler

Poliaminlerin önemli kaynaklarından biri de barsakta mikrobiyal olarak sentez edilmesidir. Bu sentez, mikroorganizmaların cinsine göre değişmektedir Büyüksulu (26). Bundan dolayı farklı mikroorganizmalar, poliaminleri değişen miktarlarda üretmektedir. Örneğin, *Escherichia coli* put ile spd, *Bacillus stearotherophilus* spd ile spm Lightfoot and Hall (10), *Campylobacter jejuni*, *Clostridium saccharolyticum* antiinflamatuvar ve antitümöral etki gösteren spd Hanfrey et al (29), *Bacteroides* spp. ile *Fusobacterium* spp.‘de in vitro ve in vivo olarak put ile spd sentezlemektedir Matsumoto and Benno (31). Aynı zamanda logaritmik büyüme esnasında *E. coli* poliamin sentezlemektedir Kibe et al (20).

Kolonda put ve spd'nin çoğu barsak bakterileri tarafından üretilmektedir Kibe et al (20). Ayrıca yaşlı bireylerin fekal poliamin düzeyleri genç bireylerinkine göre daha düşük düzeydedir Matsumoto and Benno (31).



Şekil 4.2. Bakteride put, spd ve spm biyosentez yolu

Michael (32)

4.1.4. Poliamin metabolizması

Arjinin, ornitin ve metiyonin amino asitlerinden sentezlenen poliaminlerin ilk sentez basamağı, arjinin amino asidinden poliaminlerin öncüsü olan ornitin sentezlenmesidir. Bunun için “arjinaz” enzimi gereklidir. Ornitinden “ornitin dekarboksilaz (ODC)” enzimi vasıtasıyla put sentezlenir. Tüm memelilerin hücrelerinde bulunan üç önemli poliaminin sentezi, ornitinden başlayarak gerçekleşir Coffino (33). ODC enzimi aracılığıyla ornitin dekarboksilasyona uğrayarak put sentezlenir. Put’den de “spermidin sentaz” aracılığıyla spd, spd’den ise “spermin sentaz” aracılığıyla spm sentezlenir. Bu şekilde, put’den spd ve spd’den spm sentezi gerçekleşir.

Spd ve spm’nin yıkım reaksiyonları tek bir enzim olan “spermidin/spermin asetiltransferaz (SSAT)” aracılığıyla asetillenerek N-asetil-spermidin ile N-asetil-spermin oluşur Pegg (34).

Hücrelerdeki poliamin seviyeleri sentez, katabolizma ve taşınım ile değişmektedir. Büyüksü (26). Poliaminler esas olarak alyuvarlarda taşınırken, enfeksiyon durumlarında akyuvarlarda taşınmaktadırlar Makletsova (35).

4.2. Diyet poliaminler

4.2.1. Besinlerin poliamin içerikleri

Bitkisel ve hayvansal gıdalarda olmak üzere poliaminlerin bileşimleri farklılık göstermektedir. Mesela balık daha fazla put içerirken, et veya kırmızı etten hazırlanan ürünler daha fazla spm içermektedir. Tavuk etinin poliamin bileşimi, domuz ve sığır etine benzerdir. Sütte baskın olarak bulunan poliamin ise spd'dir. Mikrobiyal fermentasyon ürünü olan peynir yüksek miktarda put ve spd içermektedir. Meyveler put ve spd'den zengindir. Sebzelerde baskın olarak bulunan poliamin put veya spd'dir Susan et al (36).

4.2.2. Diyet yoluyla alınan günlük poliamin miktarları

Yetişkinler için ortalama günlük poliamin alımı 350 - 550 μ mol olarak belirlenmiştir Büyüksü (26), Bardocz et al (37).

Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan bir besin tüketim anketinde poliamin miktarları Zoumas-Morse et al (38);

Putresin	: 159.133 nmol/gün % 28 oranında portakal ve greyfurt suyundan,
Spermidin	: 54.697 nmol/gün % 6 oranında yeşil bezelyeden,
Spermin	: 35.698 nmol/gün % 6 oranında et ürünlerinden geldiği bildirilmektedir.

İsveç'te yapılan bir besin tüketim anketinde poliamin miktarları Ali et al (39);

- Putresin** : 215,5 $\mu\text{mol mol/gün}$
% 70 oranında meyveden,
- Spermidin** : 66 $\mu\text{mol mol/gün}$
% 60 oranında meyve ve sebzedden,
- Spermin** : 34,5 $\mu\text{mol mol/gün}$
% 60 oranında sebze ve et ürünlerinden geldiği bildirilmektedir.

Japonya'da yapılan bir çalışmada poliamin miktarları Nishibori et al (40);

- Putresin** : Yaklaşık 90 $\mu\text{mol mol/gün}$
En önemli kaynaklarının sebzeler, baharatlar, meyve ve kahvaltılık gevrekler,
- Spermidin** : Yaklaşık 74 $\mu\text{mol mol/gün}$
En önemli kaynaklarının sebzeler, fasulye ve kahvaltılık gevrekler,
- Spermin** : Yaklaşık 36 $\mu\text{mol mol/gün}$
En önemli kaynaklarının et ve balık ürünleri olduğu öğrenilmiştir.

Otuz beş Asya ülkesinde yapılan bir çalışmada poliamin miktarları Binh et al (41);

- Putresin** : 39,07 \pm 17,98 $\mu\text{mol/100 kcal}$
% 45,5 sebzelerden,
- Spermidin** : 33,74 \pm 14,35 $\mu\text{mol/100 kcal}$
% 62,2 sebzelerden,
- Spermin** : 14,05 \pm 6,60 $\mu\text{mol/100 kcal}$
% 50 oranında et ürünlerinden ve
% 27,7 sebzelerden geldiği bildirilmektedir.

4.3. Gebelik ve laktasyon döneminde poliaminlerin etkisi

4.3.1. Gebelik döneminde poliaminlerin etkisi

Poliaminler büyüme ve farklılaşmayı içeren birçok hücresel sürecin önemli düzenleyicilerindedir. Gebelik döneminde amniyotik sıvının yanı sıra plazma ve idrarda poliamin seviyeleri yüksek bulunmuştur. Özellikle gebeliğin 11-14. haftalarında amniyotik sıvıda put, spd ve spm düzeylerinin en yüksek seviyede olduğu tespit edilmiştir Sooranna and Das (42). Plazma put, spd, spm düzeyleri, gebeliğin 3. trimesterine gelindiğinde kademeli olarak artmakta ve gebeliğin sonunda en yüksek konsantrasyona ulaşmaktadır Hiramatsu et al (43).

ODC, poliamin biyosentezinde hız kısıtlayıcı enzimdir. Özellikle embriyogenez ve hücre büyümesi esnasında poliamin konsantrasyonunu arttırmak için ODC aktivitesi de artmaktadır. Bu enzim aktivitesi hormonal uyarılara karşı hızla değişiklik göstermektedir. Gebelikte önemli bir hormon olan progesteron, hücre proliferasyon aktivitesi ile bağlantılı olan ODC aktivitesindeki artışı kontrol etmektedir Luzzani et al (44). ODC düzeyi, fetustan ziyade plasentada daha fazla bulunmaktadır. Plasentanın fetus kısmında put sentezinin rolü önemlidir. Çünkü spd ve spm dönüşümü için put gereklidir. Anlaşılacağı üzere ODC ve poliamin sentezi embriyo gelişimi açısından çok önemlidir. Çünkü poliamin biyosentezinin oranı arttıkça, dokularda büyüme hızı da artmaktadır.

Putresinin yıkımını katalize eden diamin oksidaz (DAO) enzimi, plasentanın maternal kısmında yüksek seviyede ekspresyon edilirken, fetal plasentada ekspresyonu çok düşük düzeydedir. Özellikle maternal rejeksiyondan fetusu korumada önemli rol oynamaktadır. Ayrıca gebeliğin sonuna kadar fetusta neredeyse hiç ekspresyon edilmemektedir Lopez-Garcia et al (45).

Deney hayvanlarından sıçanlarda uterusun desidual dokusu ile embriyonik ve fetal sıçan dokularında put ve spd sentezi yapılmaktadır. Ayrıca sıçanların amniyotik sıvısı önemli miktarda poliamin içermektedir. Ancak doğumdan birkaç gün önce poliamin düzeylerinin azaldığı, hatta gebeliğin 19-20. günlerinde amniyotik sıvıda spermidinin bulunmadığı tespit edilmiştir Sooranna and Das (42), Russel et al (46).

Poliaminler, gebelik esnasında miyometrial hücre proliferasyonu ve hipertrofi gelişmesi sırasında uterusun sakin kalması açısından önemlidir. Spm'nin uterusun kasılması üzerinde gevşetici etkisi vardır. Ayrıca vasküler düz kasta hücre içi kalsiyum konsantrasyonunu azaltarak benzer etki göstermektedir Houlihan et al (47).

4.3.2. Laktasyon döneminde poliaminlerin etkisi

Yenidoğanın temel kaynağı olan anne sütünde put, spd ve spm bulunmaktadır. İnsan sütünde spd ve spm benzer konsantrasyonlarda bulunurken, laktasyon döneminde her ikisi de azalmaktadır. Sıçan sütünde ise spd, spm'den daha fazla bulunurken, laktasyon döneminde miktarı artmaktadır.

Poliaminler yenidoğan memelilerin büyümesi ve sindirim sisteminin gelişiminde önemli rol oynamaktadır. Aynı zamanda normal büyüme ve yetişkin sindirim sisteminin genel özelliklerinin korunması açısından da önemlidir Nishimura et al (48).

Kemiricilerin fetal döneminde barsakla ilişkili lenfoid dokunun (GALT) gelişimi, doğuma kadar aktif değildir. Doğumdan hemen sonra intestinal ve sistemik bağışıklık sisteminin tam olgunlaşması gerekmektedir. Çünkü hem insanlar, hem de kemiriciler doğumdan sonra geniş çaplı mikroorganizmalara ve diyet kaynaklı antijenlere maruz kalırlar. Anne sütü, besinsel değerinin yanı sıra poliamin, immunoglobulin, bakterisidal proteinler, büyüme faktörleri, nükleotidler, hormonlar ve sitokinler gibi biyoaktif bileşenleri içermektedir. Böylece enfeksiyonlara karşı koruma sağlayarak yenidoğanın bağışıklık sisteminde önemli bir rol oynamaktadır.

Poliaminlerden spd ve spm sıçanlarda ince barsağın yapısal ve fonksiyonel gelişimi, villus genişlemesi, kriptlerin uzaması, hücre çoğalması, maltoz ve sükröz aktivitesinin artması, laktaz aktivitesinin azalması gibi etki göstermektedir Perez-Cano et al (49).

Sıçanların gastrointestinal sisteminin olgunlaşması, doğum sonrası 3. haftada meydana gelmektedir. Ancak oral olarak spd ve spm verilen sıçanlarda, intestinal olgunlaşmanın daha erken olduğu gözlenmiştir. Aynı zamanda doğum sonrası intestinal olgunlaşma sürecinde mukozal poliamin konsantrasyonu artış göstermektedir. Böylece

poliaminlerin gastrointestinal olgunlaşma üzerinde oldukça etkili olduğu görülmektedir Romain et al (50).

4.4. Diyet poliaminlerin üreme üzerine etkileri

Poliaminlerin memelilerdeki üreme fonksiyonlarının başarısı için esansiyel olduğu bilinmektedir. Özellikle spermatogenez olmak üzere puberte başlangıcı, sperm kalitesi, oogenez, embriyogenez, implantasyon, plasenta oluşumu ile doğum, emzirme, doğum sonrası gelişme üzerinde önemli bir rol oynamaktadır.

4.4.1. Erkek üreme sistemi üzerine etkileri

Poliaminlerden spm ilk olarak insan semeninde keşfedilmiştir. Daha sonra yapılan çalışmalarda, büyük ölçüde prostat sekresyonunda bulunduğu belirtilmiştir. Birçok memeli türünde cinsel olgunluğa erişmiş erkeklerdeki prostat, diğer organlardan daha fazla spd ve spm içermektedir. İnsan seminal sıvısında 5-15 mM konsantrasyonunda spm bulunurken, çok daha küçük miktarda spd vardır.

Put, spd ve spm'nin ön hipofizden FSH salınmasının kontrolünü sağlayarak, hipotalamustan köken alan ajanlar gibi in vivo olarak hareket edebileceği bildirilmiştir Williams-Ashman et al (51).

Poliaminler testiste üretilen sertoli ve leydig hücreleri tarafından sentezlenmektedir. Ayrıca bu hücrelerin fonksiyon göstermeleri için de gereklidir. Sıçanlarda ergenlik boyunca her iki hücrede de konsantrasyon artışı söz konusudur. Spermatogenez ve testiküler gelişimde poliaminler önemli rol oynamaktadır. Spd ve spm'nin hem prostat sıvısının organik bileşeni, hem de gamet fonksiyonu için esansiyel olduğu bilinmektedir. İnsan ve sıçan seminal plazması, diğer organ ve sıvılardan daha fazla miktarda spm içermektedir.

Spd ve spm düzeylerinin, normal sperm sayısına sahip olan erkekler ile karşılaştırıldığında, infertil erkeklerin seminal plazmasında oldukça düşük olduğu gösterilmiştir. Böylelikle spd ve spm düzeylerinin sperm motilitesi açısından önemli olduğu anlaşılmaktadır Lefevre et al (52).

4.4.2. Dişi üreme sistemi üzerine etkileri

Endokrin etki altındayken somatik hücre bileşenlerinin farklılaşması ve fonksiyon göstermesi için gerekli olan poliamin sentezi, yumurtalık ve testis arasında paralellik göstermektedir.

İmmatür sıçan yumurtalığındaki ODC1 aktivitesi, plasental hCG (İnsan koriyonik gonadotropin) tarafından FSH ve LH hormonlarını indüklemektedir. Yetişkin dişi sıçanlarda LH ya da hCG'nin ovulatuvar dozlarında ODC1 aktivitesi artmaktadır. Yumurtalığa bağlı ODC1 aktivitesi, yumurtlama dönemi başlangıcında LH pik yaptığında, geç proöstrus evresinde yükselmektedir.

Poliaminler östrus döngüsü ve gebelik sırasında yumurta steroidogenezini düzenlemekte, embriyo implantasyonu ile postimplantasyon gelişimi ve buna bağlı olarak erken embriyogenez için vazgeçilmez durumdadır Lefevre et al (52).

4.5. Vücut ağırlığı üzerine poliaminlerin etkisi

Poliaminlerden put, spd ve spm doğal büyüme faktörleri olarak da adlandırılmaktadır. Özellikle dışarıdan diyet yoluyla alınan poliaminler, doku ve organların büyüme sürecinde önemli rol oynamaktadır. Özellikle kaslar vücuttaki besin ve enerji deposunun olduğu organdır. Bundan dolayı vücut poliamin havuzunun büyük bir kısmının kaslar (ve deri) olduğu düşünülmektedir Bardocz et al (37).

Hücrede poliamin bulunmadığında hücre proliferasyonunun inhibe edildiği ve bazen hücre ölümüyle (nekroz ve/veya apoptoz) sonuçlandığı gösterilmiştir. Poliamin biyosentezinde rol alan enzimlerin inhibisyonu, hücre büyümesi veya ölümünü yavaşlatmaktadır Bethel et al (8).

Metiyonin ve arjinin amino asitleri poliamin biyosentezi için prekürsör olduğundan dolayı hücre bölünmesi, protein sentezi, doku büyümesi ve bağışıklığın düzenleyicisi olarak immun sistemde önemli etkileri vardır. Tüm bunlar büyüme ve gelişmeyi indüklediği için bireylerin vücut ağırlığında değişiklikler göstermektedir Hashemi et al (53).

4.6. Serum lipid düzeyleri ve diyet poliaminleri

4.6.1. Lipid düzeyleri ile poliamin metabolizması arasındaki ilişki

Polikationik olan poliaminler fizyolojik pH'da polianyonik olan fosfolipidlerle bağlanmaktadır. Poliaminlerin %3-6'sı, anyonik fosfolipidlerle membrana bağlanarak membranı stabilize etmektedir. Fosfolipidlere bağlanan spm miktarı (2,3 mol / 100 mol) > spd miktarı (0,23 mol / 100 mol) şeklindedir Igarashi and Kashiwagi (1), Ramani et al (5). Serumda bulunan kationik poliaminler protein ve HDL, LDL adı verilen lipoproteinlerin yüzeyindeki anyonik fosfolipidlerle bağlanarak etkileşime girmektedir Gugliucci (54).

5. METOT VE MATERYAL

5.1. Araştırma yeri ve örneklem seçimi

Bu çalışma İstanbul Medipol Üniversitesi Tıbbi Araştırma Merkezi'nde yapılmıştır. Çalışmada kullanılan sıçanlar aynı merkezden temin edilmiştir.

Çalışma protokolü ve deneysel yöntem 14.01.2016 tarihinde İstanbul Medipol Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanmış olup, çalışma esnasında etik kurallara uyulmuştur.

Çalışmada 8 haftalık, ortalama 156 gram (128 – 182 gram arasında) ağırlığında, 35 adet dişi Sprague-Dawley cinsi sıçan kullanılmıştır. Sıçan sayısı geçmiş yıllara ait literatür verileri ışığında anlamlı sonuç vermesi şartıyla minimal düzeyde tutulmuştur Til et al (55). Her bir deney grubundaki sıçanlar, eşit sayıda ve rastgele olmak üzere 5 gruba ayrılarak Tablo 5.1'de gösterilmiştir.

Tablo 5.1. Çalışmada oluşturulan grupların dağılımı

Grup Adı	Grup Özelliği	n (sayı)
G1	Kontrol	7
G2	Put	7
G3	Spd	7
G4	Spm	7
G5	Put / Spd / Spm	7

Her grupta bulunan 7 adet sıçanın birbirinden ayırt edilmesi gerekmektedir. Çünkü her bir sıçan için ağırlık artışı, yem ve su tüketim miktarı, kan lipit düzeylerinin tespiti ile gavaj işlemlerinin takibi açısından bu ayırım önemlidir. Bunun için, sıçanların kuyrukları medium boy asetat kalemler ile farklı renklerde (siyah, kırmızı ve yeşil) boyanmıştır.

Sıçanların adlandırılması şu şekilde yapılmıştır:

S: 1 adet siyah çizgi vardır.

SS: 2 adet siyah çizgi vardır.

SSS: 3 adet siyah çizgi vardır.

SSSS: 4 adet siyah çizgi vardır.

K: 1 adet kırmızı çizgi vardır.

Y: 1 adet yeşil çizgi vardır.

KY: 1'er adet kırmızı ve yeşil çizgi vardır.

5.2. Sıçanlara uygulanan diyet müdahalesi

Tüm sıçanlar standart çevresel koşullarda (20-22 °C sıcaklık, %55-65 nemli ortam ve 12 saat gece – 12 saat gündüz) tutularak, hazır pelet yem ve musluk suyu verilerek ad libitum şeklinde beslenmiştir.

Kontrol grubundaki sıçanların deney süresince sadece pelet yem ile beslenmesi sağlanmıştır. Diğer gruplardaki sıçanlara ise pelet yem ile beslenmelerinin yanı sıra diyet poliamin uygulaması yapılmıştır.

Kullanılan pelet yemlerin içeriği ve analitik bileşenleri Tablo 5.2'de gösterilmiştir.

Tablo 5.2. Pelet yemin içeriği ve analitik bileşenleri

Pelet Yemin İçeriği	
Mısır, tam yağlı soya (genetik yapısı değiştirilmiş soyadan elde edilmiştir), kepek tohumu küspesi, buğday razmolu, buğday unu, yonca unu, şeker pancarı melası, sığır et-kemik unu, tavuk unu, dikalsiyum fosfat (inorganik), kalsiyum karbonat, vitamin premiks ve mineral premiks	
Miktarı	
Yem Katkı Maddesi	
(Bağlayıcılar, topaklaşmayı önleyici maddeler ve koagülanlar)	
Sepiolit (E562)	(mg/kg) 10.000,00
Analitik Bileşenler (%)	
Ham Protein	23,00
Ham Kül	8,00
Ham Selüloz	7,00
Ham Yağ	3,00

Diyet poliaminlerden put (Putrescine dihydrochloride, $\geq 98,0$ (TLC), 25g, Sigma), spd (Spermidine trihydrochloride, $\geq 99,5$ (AT), 5g, Sigma), spm (Spermine tetrahydrochloride, $\geq 99,5$ (AT), 1g, Sigma) distile suyunda çözdürülüp, sıçanların ağırlıklarına uygun biçimde gebelik öncesinde (4 hafta) ve gebelik döneminde (3 hafta) 3 günde bir, laktasyon döneminde (4 hafta) ise 2 günde bir olmak üzere oral gavaj yoluyla verilmiştir. Sıçanlara verilen miktarlar 90 $\mu\text{g/g}$ put, 41,5 $\mu\text{g/g}$ spd, 9,5 $\mu\text{g/g}$ spm olmak üzere hesaplanmıştır. Çiftleştirme dönemi (1 hafta) esnasında diyet poliamin uygulaması yapılmamıştır. Kontrol grubundaki sıçanlara musluk suyu ile oral gavaj uygulaması yapılarak diğer gruptaki sıçanlar gibi aynı strese maruz kalmaları sağlanmıştır.

Sıçan yavrularının 4 hafta boyunca anne sütü ile beslenmesi sağlanmıştır. Böylece anne sıçanlara gavaj yoluyla verilen poliaminlerin anne sütü aracılığıyla yavru sıçanlara geçişi gerçekleştirilmiştir.

Sıçanlara verilen put, spd ve spm miktarı bugüne kadar yapılmış çalışmalara paralellik göstermekte olup NOAEL (Deney Hayvanlarında gözlenebilen hiçbir yan etki göstermeyen doz) değerini (180 mg/kg put, 83 mg/kg spd ve 19 mg/kg spm) aşmamaktadır Til et al (55).

5.3. Pelet yem tüketimi ve vücut ağırlığı değişimlerinin incelenmesi

Poliamin çeşitlerinin sıçanların iştahı, besin tüketimi ve ağırlık artışı bakımından etkisinin incelenmesi ve her bir sıçanın vücut ağırlığına göre poliamin çözeltilisinin verilmesi gerektiğinden dolayı sıçanların ağırlıklarının ölçülmesi gerekmektedir. Bu yüzden çalışmadaki sıçanların vücut ağırlıklarının ölçülmesi ve değişimlerinin belirlenmesi önemlidir.

Çalışmada yer alan yetişkin sıçanların ağırlık ölçümü gebelik öncesi dönem (4 hafta) ve gebelik döneminde (3 hafta) 3 günde bir, laktasyon döneminde (4 hafta) ise 2 günde bir olmak üzere her oral gavaj uygulaması öncesinde yapılmıştır. Yavru sıçanların doğumlarından bir gün sonra ağırlıkları ölçülmeye başlanarak 2 günde bir ölçülmeye devam edilmiştir.

Ölçüm işlemleri, dijital terazi kullanılarak hassas bir biçimde gerçekleştirilmiştir. Ölçüm sonuçları kayıt altına alınmıştır.

5.4. Su tüketiminin incelenmesi

Çalışmada sıçanların su tüketim miktarlarının belirlenmesi amacıyla her gün ölçüm yapılmıştır. Hayvan kafeslerinin üzerinde bulunan su kapları mL şeklinde derecelere ayrılmıştır. Günlük su değişimleri bu seviyelere göre belirlenerek kayıt altına alınmıştır.

5.5. Üreme durumlarının değerlendirilmesi

Çalışmadaki her bir grupta yer alan sıçanlar, iki ayrı grup (Tablo 5.3) olacak şekilde ayrılmıştır. Yeni oluşturulan her gruba bir erkek sıçan konularak çiftleşmeleri sağlanmıştır.

Her bir grupta yer alan sıçanın kaçının gebe kaldığı, gebelik sonucunda kaç adet yavru doğduğu ve doğan yavruların doğum ağırlıkları tespit edilerek poliamin çeşidinin üreme üzerine etkisi incelenmiştir.

Tablo 5.3. Çiftleşme döneminde ayrılan grupların özellikleri

Grup adı	Yeni oluşturulan gruplar	Gruplarda yer alan sıçanlar	n (sayı)
G1	G1-1	S, SS, SSS, SSSS	4
	G1-2	K, Y, KY	3
G2	G2-1	S, SS, SSS, SSSS	4
	G2-2	K, Y, KY	3
G3	*G3-1	SS, SSS, SSSS	3
	G3-2	K, Y, KY	3
G4	G4-1	S, SS, SSS	3
	**G4-2	SSSS, K, KY	3
G5	G5-1	S, SS, SSS, SSSS	4
	G5-2	K, Y, KY	3

(*Çiftleştirme öncesi 'S' adlı sıçan öldü, ** Çiftleştirme öncesi 'Y' adlı sıçan öldü)

5.6. Kan örneklerinin alınması ve analizi

Çalışma boyunca anne sıçanlardan başlangıçta 1mL, gebelik öncesinde 1 mL (4 hafta), gebelik sonunda 1mL (3 hafta) ve laktasyon sonrasında 1 mL (4 hafta) olacak şekilde jugular venden kan örnekleri alınmıştır. Kan alma işlemleri veteriner hekim tarafından gerçekleştirilmiştir.

Kan alma işlemi esnasında sıçanlar, **rompun** (Rompun %2; berrak, renksiz, enjeksiyonluk çözelti halinde olup bir mL'sinde 23,32 mg ksilazin hidroklorür ihtiva eder) ve **ketasol** [Ketasol %10; berrak, renksiz enjeksiyonluk çözelti olup her 1 mL'sinde 100 mg ketamine (hidroklorür olarak) ve 0,1 mg benzetonyum klorür ihtiva eder] kullanılarak genel anesteziye alınmıştır.

Anestezi işlemi için sıçanlara verilmesi gereken rompun ve ketasol miktarları, sıçanların ortalama ağırlıkları baz alınarak hesaplanmıştır. Hayvanların ölmemesi ve genel anestezinin meydana gelmesi için 0,1 mL rompun, 0,2 mL ketasol intraperitoneal yolla verilmiştir.

Sıçanlar anesteziye alındıktan sonra insülin iğnesi ile kan alma işlemi gerçekleştirilmiştir. Serum lipit sonuçlarının doğru çıkabilmesi için, alınan kan örneklerinin hemoliz olmaması gerekmektedir. Ancak çalışmanın başında alınan kanlar hemoliz olduğu için analizi yapılamamıştır.

Daha sonraki aşamalarda alınan kanların hemoliz olmaması için kan alma işlemi çok dikkatli yapılarak alyuvar hücrelerinin parçalanması önlenmiştir.

Kan örneklerinin hemoliz olmaması için;

- Kan alınan sıçanta jugular ven bulunduktan sonra, insülin enjektörünün pistonu çok yavaş bir biçimde çekilerek kan alımı gerçekleştirilmiştir.
- Kan damardan alındıktan sonra, enjektörün ucundaki iğne çıkarılmış, enjektör pistonu çok yavaş bir biçimde itilerek sarı kapaklı jelli tüplere aktarılmıştır.
- Sarı kapaklı jelli tüplere kan alındıktan sonra, 5-6 kere yavaşça alt üst edilerek hemoliz olması önlenmiştir.

Kan alma işlemi bittikten sonra, kan örnekleri 30 dk içinde, +4°C'de 10 dk süreyle 3000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra, kandaki serum jelli tüpün üst kısmına geçerek ayrılmıştır. Ayrılan serumlar otomatik pipet yardımıyla 1,5 mL alabilen ependorf tüplere aktararak analiz edilinceye kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir.

5.7. Serum lipit düzeylerinin belirlenmesi

Serum örnekleri, Medipolitan Sağlık ve Eğitim Hizmetleri A.Ş.'ye ait Biyokimya Laboratuvarı'nda standart metodlar uygulanarak analiz edilerek, içeriklerinde bulunan toplam kolesterol, HDL kolesterol, LDL kolesterol ve trigliserid seviyeleri belirlenmiştir. Kolesterol değeri enzimatik metotla, HDL ve trigliserit değeri kolorimetrik metotla, LDL değeri hesaplama yöntemiyle Cobas 6000 (Roche, Tokyo, Japonya) biyokimya otoanalizöründe çalışılmıştır.

5.8. Çalışmanın sonlandırılması

Çalışmanın sonlandırılması anne ve yavru sıçanlardan 1mL kan alımı sonrasında gerçekleştirilmiştir. İntraperitoneal olarak rompun (0,1 mL) ve ketasol (0,2 mL) enjeksiyonu yapılarak sıçanların anesteziye alınması sağlanmıştır. Genel anestezi sonucu sıçanların juguler veninden kan alımı gerçekleştirilmiştir. Kan alımı sonrası uygun ötenazi yöntemi uygulanarak çalışmaya son verilmiştir. Anne sıçanlar 4 haftalık laktasyon sonrasında, yavru sıçanlar ise doğumdan 4 hafta sonra ötenazi işlemine tabi tutulmuştur.

5.9. Spesifik büyüme hızlarının hesaplanması

Yetişkin sıçanlarda gebelik öncesi dönem (4 hafta) ve gebelik döneminde (3 hafta) 3 günde bir, laktasyon döneminde (4 hafta) ise 2 günde bir olmak üzere ağırlık ölçümü yapılmıştır. Yavru sıçanların doğumlarından bir gün sonra ağırlıkları ölçülmeye başlanmıştır. Bir sonraki ağırlık ölçümü için, halen gebe olan ve doğurma aşamasında olan tüm anne sıçanların doğurması beklenmiştir. Çünkü bu esnada yapılan en ufak bir müdahale sonrasında anne sıçanyavrularını koruma içgüdüyle yiyelebilmektedir. Bu yüzden tüm gebe sıçanlar doğurduktan sonra 2 günde bir ölçülmeye devam edilmiştir.

Sıçanların spesifik büyüme hızlarının hesaplanmasında aşağıda verilen formül kullanılmıştır Paulsen et al (56).

Spesifik büyüme hızı= $[(\ln w_2 - \ln w_1) / \text{gün}] \times 100$

w1=başlangıç ağırlığı; w2=sonraki ağırlık; gün=iki ağırlık ölçümü arasındaki gün sayısı.

5.10. İstatistik analizler

Elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmesinin yapılması için SPSS version 18.0 kullanıldı. Çoklu karşılaştırmalarda, normal dağılım gösteren verilerde One-Way-Anova ve normal dağılım göstermeyen verilerde Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Grupların varyansları homojen olduğunda Tukey testi, homojen olmadığına Tamhane testi kullanılarak gruplar arası farklar analiz edildi.

Uygulanan farklı diyetlerin biyokimyasal parametreler üzerine etkilerinde Bağımsız Örneklem Student-t Testi kullanıldı. Tüm istatistiksel analizlerde $p \leq 0.05$ değeri anlamlı fark olarak kabul edildi. Veriler ortalama \pm standart sapma şeklinde verildi.

6. BULGULAR

6.1. Besin tüketim durumları

6.1.1. Yetişkin sıçanlarda pelet yem tüketimi

Yetişkin sıçanların pelet yem tüketiminin incelenmesi; gebelik öncesi, gebelik ve laktasyon olmak üzere 3 ayrı dönemde gerçekleştirildi.

Gebelik öncesi dönemde put verilen grubun, gebelik döneminde kontrol grubunun, laktasyon döneminde ise spd verilen grubun daha fazla yem tükettiği Tablo 6.1’de gösterilmiştir.

Tablo 6.1. Yetişkin sıçanlarda, gün ve birey bazında ortalama tüketilen pelet yem miktarı

	G1 (kontrol)	G2 (put)	G3 (spd)	G4 (spm)	G5 (put/spd/spm)
Gebelik öncesi (0-30 gün)	15,91 ± 1,06	16,42 ± 1,33	15,15 ± 0,50	15,68 ± 0,89	15,81 ± 1,20
Gebelik (0-15 gün)	20,32 ± 1,34	20,22 ± 1,16	19,44 ± 1,20	18,63 ± 0,81	18,11 ± 0,92
Laktasyon (0-24 gün)	42,55 ± 10,15	52,03 ± 10,57	64,87 ± 19,10	40,43 ± 8,77	62,12 ± 15,26

Aşağıda yer alan Tablo 6.2’de gebelik öncesindeki dönemde 0 - 30 gün boyunca, Tablo 6.3’te ise gebelik döneminde 0 - 15 gün boyunca yetişkin sıçanlar tarafından tüketilen pelet yem miktarı görülmektedir.

Tablo 6.2. Gebelik öncesi dönemde yetişkin sıçanlarda gün ve birey bazında tüketilen pelet yem miktarları

Gün	G1 (kontrol)		G2 (put)		G3 (spd)		G4 (spm)		G5 (put/spd/spm)	
	n (sayı)	Ortalama	n (sayı)	Ortalama	n (sayı)	Ortalama	n (sayı)	Ortalama	n (sayı)	Ortalama
3	7	15,00	7	14,48	7	14,57	7	14,52	7	14,48
6	7	15,95	7	15,90	7	14,67	7	15,05	7	14,81
9	7	14,52	7	17,10	7	14,67	7	16,19	7	15,67
12	7	16,62	7	16,95	7	15,86	7	16,10	7	16,67
15	7	17,90	7	17,43	7	15,76	7	16,29	7	16,19
18	7	15,14	7	16,57	7	15,62	7	15,67	7	15,38
21	7	16,57	7	17,76	7	15,38	7	16,90	7	17,86
24	7	14,71	7	14,62	7	14,62	7	14,43	7	14,29
27	7	16,43	7	15,14	7	15,05	7	14,95	7	15,38
30	7	16,24	7	18,25	7	15,29	7	16,71	7	17,38
Değişim		+ 1,24 g		+ 3,77 g		+ 0,72 g		+ 2,19 g		+ 2,90 g
Ortalama tüketim		15,91 ± 1,06		16,42 ± 1,33		15,15 ± 0,50		15,68 ± 0,89		15,81 ± 1,20

Tablo 6.2'ye göre gebelik öncesi dönemde yetişkin sıçanların tükettiği yem miktarının en fazla arttığı grup G2 (put) iken, en az arttığı grup G3 (spd) olarak belirlenmiştir.

Tablo 6.3. Gebelik döneminde yetişkin sıçanlarda gün ve birey bazında tüketilen pelet yem miktarları

Gün	G1 (kontrol)		G2 (put)		G3 (spd)		G4 (spm)		G5 (put/spd/spm)	
	n (sayı)	Ortalama	n (sayı)	Ortalama	n (sayı)	Ortalama	n (sayı)	Ortalama	n (sayı)	Ortalama
3	7	18,71	7	18,43	6	18,11	6	17,83	7	16,81
6	7	21,00	7	21,14	6	19,83	6	19,89	7	19,29
9	7	19,24	7	19,76	6	18,22	6	18,00	7	18,33
12	7	20,67	7	21,24	6	20,44	6	18,72	7	17,71
15	7	22,00	7	20,52	6	20,61	6	18,72	7	18,43
Değişim		+ 3,29 g		+ 2,09 g		+ 2,50 g		+ 0,89 g		+ 1,62 g
Ortalama tüketim		20,32 ± 1,34		20,22 ± 1,16		19,44 ± 1,20		18,63 ± 0,81		18,11 ± 0,92

Tablo 6.3'e göre gebelik döneminde yetişkin sıçanların tükettiği yem miktarının en fazla arttığı grup G1 (kontrol) iken, en az arttığı grup G4 (spm) olarak belirlenmiştir.

6.1.2. Yavru sıçanlarda pelet yem tüketimi

Yavru sıçanların doğumlarından sonraki 4 haftalık süre içinde hem anne sütü hem de pelet yem tükettikleri ve anneleriyle birlikte aynı kafeste bulduklarından dolayı gerçek tüketim miktarlarına ulaşmak mümkün olmamıştır.

6.2. Su tüketim durumları

6.2.1. Yetişkin sıçanlarda su tüketimi

Yetişkin sıçanların su tüketiminin incelenmesi; gebelik öncesi, gebelik ve laktasyon olmak üzere 3 ayrı dönemde olmalıdır.

Gebelik öncesi dönemde spm verilen grubun, gebelik döneminde put verilen grubun, laktasyon döneminde ise spd verilen grubun daha fazla yem tükettiği Tablo 6.4'te gösterilmiştir.

Tablo 6.4. Yetişkin sıçanlarda, gün ve birey bazında ortalama tüketilen su miktarı

	G1 (kontrol)	G2 (put)	G3 (spd)	G4 (spm)	G5 (put/spd/spm)
Gebelik öncesi (0-33 gün)	32,38 ± 3,81	32,66 ± 4,56	29,31 ± 3,63	32,71 ± 4,30	33,16 ± 4,63
Gebelik (0-15 gün)	42,99 ± 6,63	43,27 ± 5,19	41,05 ± 7,30	37,93 ± 5,37	39,32 ± 4,37
Laktasyon (0-24 gün)	81,74 ± 17,95	90,82±19,61	109,66 ± 34,85	72,74 ± 15,20	109,48 ± 22,02

6.2.2. Yavru sıçanlarda su tüketimi

Yavru sıçanların doğumlarından sonraki 4 haftalık süre içinde hem anne sütü hem de normal içme suyu tükettikleri ve anneleriyle birlikte aynı kafeste bulduklarından dolayı gerçek tüketim miktarlarına ulaşmak mümkün olmamıştır.

Aşağıda yer alan Tablo 6.5'te gebelik öncesindeki dönemde 0 - 33 gün boyunca, Tablo 6.6'da ise gebelik döneminde 0 – 15 gün boyunca yetişkin sıçanlar tarafından tüketilen su miktarları gün ve birey bazında görülmektedir.



Tablo 6.5. Gebelik öncesi dönemde yetişkin sıçanlarda gün ve birey bazında tüketilen su miktarı

Gün	G1 (kontrol)		G2 (put)		G3 (spd)		G4 (spm)		G5 (put/spd/spm)	
	n (sayı)	Ortalama	n (sayı)	Ortalama	n (sayı)	Ortalama	n (sayı)	Ortalama	n (sayı)	Ortalama
2	7	35,71	7	28,57	7	28,57	7	42,86	7	42,86
3	7	35,71	7	39,29	7	42,86	7	41,43	7	42,86
4	7	32,86	7	32,86	7	28,57	7	37,14	7	31,43
5	7	30,00	7	28,57	7	25,00	7	30,00	7	27,14
6	7	35,00	7	32,86	7	31,43	7	31,43	7	32,14
7	7	35,71	7	31,43	7	32,14	7	32,86	7	34,29
8	7	28,57	7	32,14	7	27,14	7	30,00	7	32,86
9	7	32,14	7	34,29	7	30,00	7	35,00	7	36,43
10	7	35,00	7	31,43	7	27,86	7	32,86	7	31,43
11	7	32,86	7	31,43	7	29,29	7	27,86	7	32,86
12	7	36,43	7	32,86	7	32,14	7	35,71	7	35,71
13	7	45,00	7	46,43	7	37,14	7	43,57	7	44,29
14	7	32,14	7	37,14	7	26,43	7	30,00	7	29,29
15	7	33,57	7	30,71	7	27,86	7	32,14	7	30,71
16	7	35,00	7	31,43	7	27,86	7	30,71	7	32,86
17	7	31,79	7	34,64	7	26,79	7	32,50	7	31,07
18	7	31,79	7	34,64	7	26,79	7	32,50	7	31,07
19	7	30,00	7	29,00	7	28,86	7	29,00	7	28,57
20	7	28,86	7	28,57	7	24,29	7	28,57	7	31,43
21	7	25,71	7	29,29	7	25,71	7	29,00	7	32,86
22	7	32,86	7	32,14	7	29,29	7	32,86	7	32,14
23	7	30,00	7	29,29	7	28,29	7	29,29	7	29,00
24	7	30,71	7	27,86	7	30,29	7	30,71	7	29,57
25	7	29,29	7	33,57	7	29,00	7	30,71	7	36,14
26	7	27,14	7	30,00	7	28,29	7	28,57	7	31,43
27	7	32,86	7	30,71	7	29,29	7	35,43	7	32,14
28	7	32,86	7	28,29	7	28,86	7	31,43	7	31,43
29	7	30,00	7	38,57	7	28,57	7	34,29	7	31,43
30	7	32,86	7	38,57	7	29,29	7	36,00	7	35,71
31	7	33,14	7	30,00	7	31,43	7	30,71	7	35,71
32	7	24,29	7	25,71	7	24,67	7	24,67	7	22,86
33	7	36,43	7	42,86	7	34,00	7	37,00	7	41,43
Ortalama tüketim		32,38 ± 3,81		32,66 ± 4,56		29,31 ± 3,63		32,71 ± 4,30		33,16 ± 4,63

Tablo 6.6. Gebelik döneminde yetişkin sıçanlarda gün ve birey bazında tüketilen su miktarı

Gün	G1 (kontrol)		G2 (put)		G3 (spd)		G4 (spm)		G5 (put/spd/spm)	
	n (sayı)	Ortalama	n (sayı)	Ortalama	n (sayı)	Ortalama	n (sayı)	Ortalama	n (sayı)	Ortalama
2	7	36,43	7	35,71	6	33,33	6	33,00	7	34,29
3	7	40,00	7	36,14	6	38,33	6	39,17	7	39,29
4	7	31,43	7	42,86	6	36,67	6	37,50	7	38,57
5	7	55,71	7	47,14	6	44,17	6	48,33	7	45,71
6	7	46,43	7	45,00	6	38,33	6	36,67	7	42,86
7	7	35,00	7	36,43	6	30,00	6	29,17	7	32,86
8	7	46,43	7	52,14	6	45,00	6	42,50	7	45,71
9	7	41,86	7	37,86	6	35,00	6	33,83	7	40,00
10	7	37,86	7	42,86	6	37,50	6	33,33	7	32,14
11	7	47,86	7	50,00	6	54,17	6	39,17	7	40,71
12	7	43,57	7	43,14	6	39,17	6	35,83	7	37,14
13	7	44,29	7	45,00	6	46,67	6	35,83	7	36,43
14	7	42,86	7	47,86	6	55,00	6	47,50	7	42,86
15	7	52,14	7	43,57	6	41,33	6	39,17	7	41,86
Ortalama tüketim		42,99 ± 6,63		43,27 ± 5,19		41,05 ± 7,30		37,93 ± 5,37		39,32 ± 4,37

6.3. Vücut ağırlığı değişimleri

6.3.1. Yetişkin sıçanların vücut ağırlığı değişimleri

Yetişkin sıçanların vücut ağırlığı değişimi; gebelik öncesi, gebelik ve laktasyon dönemi (sadece doğum yapan anneler) olmak üzere 3 ayrı dönemde incelenmiştir.

Gebelik öncesi dönemde put/spd/spm verilen, gebelik döneminde spd verilen, laktasyon döneminde ise put/spd/spm verilen gruptaki sıçanların daha fazla ağırlığa sahip olduğu Tablo 6.7'de gösterilmiştir.

Tablo 6.7. Yetişkin sıçanlarda vücut ağırlığı değişimi

	G1 (kontrol)	G2 (put)	G3 (spd)	G4 (spm)	G5 (put/spd/spm)
Gebelik öncesi (0-30 gün)	174,59±11,37	176,56±9,74	181,20±6,48	175,21±12,25	188,51±10,26
Gebelik (0-15 gün)	218,91±17,53	214,43±13,47	219,75±14,64	207,45±9,13	216,14±8,57
Laktasyon (0-24 gün)	251,19±12,61	241,46±10,62	240,90±6,90	246,35±6,91	267,62±11,56

Tablo 6.8. Gebelik öncesi dönemde yetişkin sıçanlarda gün ve birey bazında değişen ağırlık miktarı

Gün	G1 (kontrol)		G2 (put)		G3 (spd)		G4 (spm)		G5 (put/spd/spm)	
	n (sayı)	Ortalama	n (sayı)	Ortalama	n (sayı)	Ortalama	n (sayı)	Ortalama	n (sayı)	Ortalama
0	7	152,57	7	158,00	7	166,71	7	143,43	7	161,57
3	7	159,29	7	163,57	7	174,14	7	166,71	7	181,71
6	7	168,00	7	170,43	7	179,29	7	171,00	7	186,86
9	7	170,71	7	173,57	7	180,43	7	172,86	7	186,29
12	7	171,00	7	173,86	7	179,71	7	175,29	7	189,43
15	7	180,29	7	178,00	7	183,29	7	179,29	7	191,00
18	7	178,71	7	182,71	7	183,14	7	180,86	7	191,00
21	7	183,86	7	186,00	7	184,14	7	185,43	7	196,71
24	7	181,86	7	182,86	7	185,00	7	183,71	7	194,71
27	7	186,29	7	184,00	7	186,29	7	183,14	7	195,71
30	7	187,86	7	189,14	7	191,00	7	185,57	7	198,57
Değişim	+ 35,29 g		+ 31,14 g		+24,29 g		+ 41,57 g		+ 37,00 g	
Ortalama ağırlık	174,59 ± 11,37		176,56 ± 9,74		181,20 ± 6,48		175,21 ± 12,25		188,51 ± 10,26	

Tablo 6.8’de görüldüğü üzere gebelik öncesi dönemde spm verilen grupta ağırlık artışının en fazla, spd verilen grupta ise ağırlık artışının en az olduğu belirtilmiştir.

Tablo 6.9. Gebelik döneminde yetişkin sıçanlarda gün ve birey bazında değişen ağırlık miktarı

Gün	G1 (kontrol)		G2 (put)		G3 (spd)		G4 (spm)		G5 (put/spd/spm)	
	n (sayı)	Ortalama	n (sayı)	Ortalama	n (sayı)	Ortalama	n (sayı)	Ortalama	n (sayı)	Ortalama
0	7	196,71	7	198,71	6	203,83	6	193,17	7	205,57
3	7	205,86	7	201,14	6	209,83	6	203,67	7	208,71
6	7	214,57	7	211,71	6	213,17	6	206,83	7	214,29
9	7	220,29	7	217,14	6	218,33	6	207,33	7	217,57
12	7	230,14	7	224,00	6	229,50	6	213,50	7	221,86
15	7	245,86	7	233,86	6	243,83	6	220,17	7	228,86
Değişim	+ 49,15 g		+ 35,15 g		+ 40,00 g		+ 27,00 g		+ 23,29 g	
Ortalama ağırlık	218,91 ± 17,53		214,43 ± 13,47		219,75 ± 14,64		207,45 ± 9,13		216,14 ± 8,57	

Tablo 6.9’da görüldüğü üzere gebelik döneminde ağırlık artışının en fazla kontrol grubunda, ağırlık artışının en az put/spd/spm verilen grupta olduğu belirlenmiştir.

Tablo 6.10. Laktasyon döneminde yetişkin sığırcılarda gün ve birey bazında değişen ağırlık miktarı

Gün	G1 (kontrol)		G2 (put)		G3 (spd)		G4 (spm)		G5 (put/spd/spm)	
	n (sayı)	Ortalama	n (sayı)	Ortalama	n (sayı)	Ortalama	n (sayı)	Ortalama	n (sayı)	Ortalama
0	3	245,50	4	229,25	4	230,50	2	240,50	1	258,00
2	3	266,00	4	241,25	4	245,00	2	250,50	1	280,00
4	3	266,50	4	245,50	4	238,75	2	240,50	1	265,00
6	3	260,00	4	250,50	4	244,50	2	251,50	1	273,00
8	3	254,50	4	254,25	4	247,25	2	249,00	1	288,00
10	3	260,50	4	254,25	4	246,25	2	252,00	1	276,00
12	3	265,50	4	253,25	4	251,00	2	250,50	1	281,00
14	3	254,00	4	248,25	4	247,75	2	258,00	1	266,00
16	3	244,00	4	236,00	4	242,50	2	252,00	1	270,00
18	3	248,00	4	242,50	4	239,50	2	245,00	1	261,00
20	3	239,00	4	224,50	4	229,75	2	236,00	1	256,00
22	3	233,00	4	230,50	4	234,75	2	240,00	1	250,00
24	3	229,00	4	229,00	4	234,25	2	237,00	1	255,00
Değişim	-16,50 g		-0,25 g		+ 3,75 g		-3,50 g		-3,00 g	
Ortalama ağırlık	251,19 ± 12,61		241,46 ± 10,62		240,90 ± 6,90		246,35 ± 6,91		267,62 ± 11,56	

Tablo 6.10’da görüldüğü üzere laktasyon döneminde spd verilen grupta ağırlık artışı söz konusuysen, diğer gruplarda ağırlık azalması gerçekleşmiştir. En fazla ağırlık azalmasının ise kontrol grubunda olduğu gözlenmiştir.

6.3.2. Yavru sıçanların vücut ağırlığı değişimleri

Yavru sıçanların vücut ağırlığı değişimleri Tablo 6.11’de gösterilmiştir. Buradaki veriler incelendiğinde spesifik büyüme hızı bakımından, G1 (kontrol) grubunda doğan yavruların en az, G5 (put/spd/spm) grubunda doğan yavruların ise en fazla büyüme hızına sahip olduğu görülmektedir.

Tablo 6.11. Yavru sıçanların vücut ağırlığı değişimleri

	G1 (kontrol)	G2 (put)	G3 (spd)	G4 (spm)	G5 (put/spd/spm)
1	5,77	5,65	5,70	7,02	7,44
10	13,15	14,26	14,16	19,09	25,11
12	17,55	20,39	19,00	25,29	29,78
14	20,92	26,03	23,02	30,35	37,89
16	21,91	28,92	25,29	34,29	44,89
18	25,18	33,37	28,71	40,52	52,22
20	30,33	38,80	33,19	47,32	58,67
22	35,28	44,32	37,96	54,35	67,44
24	41,43	50,01	43,21	63,22	76,89
26	47,21	55,46	48,19	71,49	83,33
28	56,28	63,94	56,98	81,14	93,22
30	63,61	71,44	63,63	90,30	102,11
Spesifik büyüme hızı	192,80	219,30	193,10	277,60	295,84*

*Spesifik büyüme hızı hesaplanırken G5 grubundaki doğum 2 gün erken gerçekleştiği için hesaplama bu duruma göre yapılmıştır.

6.4. Üreme durumlarının değerlendirilmesi

Her bir grupta yer alan sıçanların gebe kalma yüzdesi (Tablo 6.12), gebelik sonucunda kaç adet yavru doğduğu ve doğan yavruların doğum ağırlıkları tespit edilerek (Tablo 6.13) poliamin çeşidinin üreme üzerine etkisi incelenmiştir.

Tablo 6.12. Yetişkin sıçanların gebe kalma yüzdesi

	Gebe sıçan sayısı	Gebelik yüzdesi
G1 (kontrol)	4 / 7	% 57,14
G2 (put)	4 / 7	% 57,14
G3 (spd)	4 / 6	% 66,67
G4 (spm)	2 / 6	% 33,33
G5 (put/spd/spm)	2 / 7	% 28,57

Tablo 6.12’de her bir grupta yer alan sıçanların gebelik sayısı ile gebe kalma yüzdesi verilmiştir. Buna göre spd kullanılan gruptaki gebelik yüzdesinin diğer gruplara göre en fazla, put/spd/spm kullanılan gruptaki gebelik yüzdesinin ise en az olduğu görülmektedir.

Tablo 6.13. Yetişkin sıçanların doğurganlık oranı, toplam yavru sayısı ve yavruların ortalama doğum ağırlığı

	Yavru sayısı	Doğurganlık oranı	Ortalama doğum ağırlığı
G1 (kontrol)	34	*34 / 3 = 11,33	5,77
G2 (put)	36	36 / 4 = 9,00	5,65
G3 (spd)	50	50 / 4 = 12,50	5,70
G4 (spm)	16	16 / 2 = 8,00	7,02
G5 (put/spd/spm)	9	*9 / 1 = 9,00	7,44

*G1 ve G5 gruplarındaki annelerden birer tanesi tüm yavrularını yediği için kaç yavru doğurdukları sayılamamıştır.

Tablo 6.13'te doğan yavru sıçan sayısı, doğum yapan anne sıçanların doğurganlık oranı ve yavruların ortalama doğum ağırlığı verilmiştir. Buna göre en fazla yavruya sahip olan ve doğurganlık oranı en fazla olan grubun G3 (spd) olduğu görülmektedir. Doğurganlık oranı; bir deney grubunda doğum yapan dişi sıçanların ortalama doğurganlık potansiyelini veren ifadedir. Grup içerisinde bir dişi sıçanın ortalama doğurduğu yavru sayısını verir. Bu da, grupta doğan yavru sayısının grupta doğum yapan anne sayısına oranı ile elde edilir.

Yavruların ortalama doğum ağırlıkları incelendiğinde G5 (put/spd/spm) grubunda doğan yavruların ortalama doğum ağırlığının en büyük, G2 (put) grubunda doğan yavruların ortalama doğum ağırlığının en küçük olduğu görülmektedir.

6.5. Serum lipit düzeylerinin değişimi

6.5.1. Yetişkin sıçanlarda serum lipit düzeylerinin değişimi

Yetişkin sıçanlardan çalışmanın başında, gebelik öncesi, gebelik sonrası ve laktasyon sonrası olmak üzere toplam 4 kez kan alımı gerçekleştirilmiştir. Ancak çalışmanın başında alınan kanlar hemoliz olduğu için analizi yapılmayarak çalışmadan çıkarılmıştır. Diğer dönemlerde ise kanlar uygun bir biçimde alındığı için hemoliz olması önlenmiştir. Daha sonrasında santrifüj edilerek serum kısımları alınarak total kolesterol, HDL kolesterolü, LDL kolesterolü ve trigliserit gibi kan lipit değerleri analiz edilerek, sonuçları Tablo 6.14, 6.15, 6.16, 6.17'de gösterilmiştir.

Tablo 6.14. Yetişkin sıçanların kolesterol analiz sonuçları

	Total Kolesterol		
	Gebelik öncesi	Gebelik sonrası	Laktasyon sonrası
G1 (kontrol)	51,81 ± 3,67	47,07 ± 6,47	59,85 ± 6,44
G2 (put)	50,71 ± 3,42	47,00 ± 5,34	52,23 ± 5,47
G3 (spd)	44,81 ± 6,05	47,03 ± 6,77	59,03 ± 5,53
G4 (spm)	46,91 ± 8,01	45,23 ± 7,04*	61,05 ± 1,06*
G5 (put/spd/spm)	50,13 ± 4,26	46,67 ± 3,57	45,60 ± 0,00

*Anlamlı düzeyde artma (p < 0,05)

Tablo 6.14'teki total kolesterol sonuçlarına bakıldığında, G1 (kontrol), G2 (put), G3 (spd) ve G5 (put/spd/spm) gruplarında anlamlı bir fark görülmemiştir. G4 (spm) grubunda gebelik sonrası ve laktasyon sonrası alınan değerlerde anlamlı düzeyde ($p=0,034$) artma gözlenmiştir.

Tablo 6.15. Yetişkin sıçanların trigliserid analiz sonuçları

Trigliserid			
	Gebelik öncesi	Gebelik sonrası	Laktasyon sonrası
G1 (kontrol)	38,17 ± 21,91	64,86 ± 34,17	64,70 ± 3,39
G2 (put)	83,16 ± 19,39*	39,94 ± 12,20*	58,40 ± 14,69
G3 (spd)	92,79 ± 27,18*	48,57 ± 25,63*	54,13 ± 18,39
G4 (spm)	70,43 ± 18,38	42,63 ± 14,10	79,05 ± 49,57
G5 (put/spd/spm)	98,31 ± 25,81*	57,11 ± 14,35*	37,30 ± 0,00

*Anlamlı düzeyde azalma ($p < 0,05$)

Tablo 6.15'teki trigliserid sonuçlarına bakıldığında, G1 (kontrol) ve G4 (spm) gruplarında anlamlı bir fark görülmemiştir. G2 (put) grubunda gebelik öncesi ve gebelik sonrası alınan kan değerlerinde anlamlı düzeyde ($p=0,005$) azalma, G3 (spd) grubunda gebelik öncesi ve gebelik sonrası alınan kan değerlerinde anlamlı düzeyde ($p=0,026$) azalma, G5 (put/spd/spm) grubunda gebelik öncesi ve gebelik sonrası alınan kan değerlerinde anlamlı düzeyde ($p=0,014$) azalma gözlenmiştir.

Tablo 6.16. Yetişkin sıçanların HDL kolesterol analiz sonuçları

HDL kolesterol			
	Gebelik öncesi	Gebelik sonrası	Laktasyon sonrası
G1 (kontrol)	46,06 ± 3,17 ^b	39,79 ± 5,65 ^b	59,80 ± 7,35
G2 (put)	40,33 ± 3,31	37,20 ± 4,99 ^a	51,45 ± 7,56 ^a
G3 (spd)	35,23 ± 5,92	36,68 ± 5,80 ^a	56,15 ± 4,68 ^a
G4 (spm)	39,60 ± 8,79	40,23 ± 5,74	59,00 ± 4,95
G5 (put/spd/spm)	41,20 ± 11,36	40,01 ± 1,01	46,50 ± 0,00

^a Anlamlı düzeyde artma ($p < 0,05$)

^b Anlamlı düzeyde azalma ($p < 0,05$)

Tablo 6.16'daki HDL kolesterol sonuçlarına bakıldığında, G1 (kontrol) grubunda gebelik öncesi ve gebelik sonrası alınan kan değerlerinde anlamlı düzeyde ($p=0,012$) azalma, G2 (put) grubunda gebelik sonrası ve laktasyon sonrası alınan kan değerlerinde anlamlı düzeyde ($p=0,034$) artma, G3 (spd) grubunda gebelik sonrası ve laktasyon sonrası alınan kan değerlerinde anlamlı düzeyde ($p=0,029$) artma gözlenmiştir.

Tablo 6.17. Yetişkin sıçanların LDL kolesterol analiz sonuçları

	LDL kolesterol		
	Gebelik öncesi	Gebelik sonrası	Laktasyon sonrası
G1 (kontrol)	0,00 ± 0,00	0,71 ± 1,50	0,00 ± 0,00
G2 (put)	0,00 ± 0,00*	2,66 ± 2,86*	0,00 ± 0,00
G3 (spd)	0,00 ± 0,00	2,00 ± 2,10	0,00 ± 0,00
G4 (spm)	0,00 ± 0,00	0,50 ± 1,23	0,00 ± 0,00
G5 (put/spd/spm)	0,00 ± 0,00	0,29 ± 0,76	0,00 ± 0,00

*Anlamlı düzeyde artma ($p < 0,05$)

Tablo 6.17'deki LDL kolesterol sonuçlarına bakıldığında, G1 (kontrol), G3 (spd), G4 (spm) ve G5 (put/spd/spm) gruplarında anlamlı bir fark görülmemiştir. G2 (put) grubunda gebelik öncesi ve gebelik sonrası alınan kan değerlerinde anlamlı düzeyde ($p=0,049$) artma gözlenmiştir.

Yetişkin sıçanlarda analiz edilen serum lipid düzeylerinin tüm gruplarda ve tüm aşamalarda nasıl değiştiğinin tek bir tablo şeklinde gösterimi Tablo 6.18'deki gibidir.

Tablo 6.18. Yetişkin sıçanların kan lipit düzeyleri analizi sonucu

	Total Kolesterol		Trigliserit		HDL		LDL	
	Gebelik öncesi	Gebelik sonrası	Gebelik öncesi	Gebelik sonrası	Gebelik öncesi	Gebelik sonrası	Gebelik öncesi	Gebelik sonrası
G1 (kontrol)	51,81 ± 3,67	47,07 ± 6,47	38,17 ± 21,91	64,86 ± 34,17	46,06 ± 3,17 ^b	39,79 ± 5,65 ^b	0,00 ± 0,00	0,71 ± 1,50
G2 (put)	50,71 ± 3,42	47,00 ± 5,34	83,16 ± 19,39 ^b	39,94 ± 12,20 ^b	40,33 ± 3,31	37,20 ± 4,99	0,00 ± 0,00 ^a	2,66 ± 2,86 ^a
G3 (spd)	44,81 ± 6,05	47,03 ± 6,77	92,79 ± 27,18 ^b	48,57 ± 25,63 ^b	35,23 ± 5,92	36,68 ± 5,80	0,00 ± 0,00	2,00 ± 2,10
G4 (spm)	46,91 ± 8,01	45,23 ± 7,04	70,43 ± 18,38	42,63 ± 14,10	39,60 ± 8,79	40,23 ± 5,74	0,00 ± 0,00	0,50 ± 1,23
G5 (put/spd/spm)	50,13 ± 4,26	46,67 ± 3,57	98,31 ± 25,81 ^b	57,11 ± 14,35 ^b	41,20 ± 11,36	40,01 ± 1,01	0,00 ± 0,00	0,29 ± 0,76
	Gebelik sonrası	Laktasyon sonrası	Gebelik sonrası	Laktasyon sonrası	Gebelik sonrası	Laktasyon sonrası	Gebelik sonrası	Laktasyon sonrası
G1 (kontrol)	47,07 ± 6,47	59,85 ± 6,44	64,86 ± 34,17	64,70 ± 3,39	39,79 ± 5,65	59,80 ± 7,35	0,71 ± 1,50	0,00 ± 0,00
G2 (put)	47,00 ± 5,34	52,23 ± 5,47	39,94 ± 12,20	58,40 ± 14,69	37,20 ± 4,99 ^a	51,45 ± 7,56 ^a	2,66 ± 2,86	0,00 ± 0,00
G3 (spd)	47,03 ± 6,77	59,03 ± 5,53	48,57 ± 25,63	54,13 ± 18,39	36,68 ± 5,80 ^a	56,15 ± 4,68 ^a	2,00 ± 2,10	0,00 ± 0,00
G4 (spm)	45,23 ± 7,04 ^a	61,05 ± 1,06 ^a	42,63 ± 14,10	79,05 ± 49,57	40,23 ± 5,74	59,00 ± 4,95	0,50 ± 1,23	0,00 ± 0,00
G5 (put/spd/spm)	46,67 ± 3,57	45,60 ± 0,00	57,11 ± 14,35	37,30 ± 0,00	40,01 ± 1,01	46,50 ± 0,00	0,29 ± 0,76	0,00 ± 0,00

^aAnlamlı düzeyde artma (< 0,05)

^bAnlamlı düzeyde azalma (< 0,05)

6.5.2. Yavru sıçanlarda serum lipit düzeylerinin değişimi

Yavru sıçanlar doğumlarından itibaren sadece anne sütü ve sonrasında anne sütünün yanı sıra pelet yem ile beslenmişlerdir. Bu yüzden laktasyon dönemi boyunca annelere poliamin uygulamasının devam edilmesi sonucu, anne sütü aracılığı ile yavrulara geçmesi sağlanmıştır. Doğumlarından 1 ay sonra kan alımı gerçekleştirilerek serum lipit düzeyleri analiz edilmiştir.

Yavru sıçanların hem anne karnında hem de anne sütü vasıtasıyla annelerinden aldıkları poliamin çeşidine göre kan lipit değerlerinin gösterdiği değişkenlik Tablo 6.19'de belirtilmiştir.

Tablo 6.19. Yavru sıçanların kan lipit düzeyleri analizi sonucu

	Total Kolesterol	Trigliserit	HDL	LDL
G1 (kontrol)	51,77 ± 6,23	64,21 ± 17,12	45,69 ± 5,27	0,07 ± 0,26
G2 (put)	48,28 ± 6,43	55,54 ± 13,27	41,73 ± 5,80	0,34 ± 1,07
G3 (spd)	56,90 ± 8,02	44,02 ± 13,31	48,46 ± 6,28	1,55 ± 2,77
G4 (spm)	62,16 ± 6,51	60,20 ± 12,64	57,57 ± 5,72	0,50 ± 1,37
G5 (put/spd/spm)	50,86 ± 5,23	49,12 ± 10,09	48,16 ± 5,78	0,00 ± 0,00

Tablo 6.19 incelendiğinde total kolesterol miktarının en fazla G4 (spm), en az G2 (put) verilen gruplarda olduğu gözlenmiştir. Trigliserit düzeylerine bakıldığında en fazla G1 (kontrol), en az G3 (spd) verilen gruplarda olduğu, HDL kolesterol miktarının en fazla G4 (spm), en az G2 (put) verilen gruplarda olduğu, LDL kolesterol miktarının ise en fazla G3 (spd), en az G5 (put/spd/spm) verilen gruplarda olduğu gözlenmiştir.

7. TARTIŞMA

Ornitin amino asidinden **put** sentezlenmesini sağlayan ODC enzimi poliaminler için prekürsör niteliğindedir. Sıçanlarda yapılan bir çalışmada, ODC enzimini güçlü bir şekilde inhibe eden 2-diflorometilornitinin hayvanların beslenmesine katılmasıyla, dokularda poliamin konsantrasyonunun azaldığı ve böylece ciddi büyüme geriliklerine neden olduğu gösterilmiştir Smith et al (57). Bizim çalışmamızdaki yavru sıçanların sonuçlarına bakıldığında, en az büyüme görülen grubun kontrol grubu yani poliamin verilmeyen grup, en fazla büyüme görülen grubun ise put/spd/spm verilen grup olduğu görülmektedir. Yani ODC enziminin put ve dolayısıyla spd ile spm sentezini sağlaması sonucu, büyümede etkin rol oynadığı ve böylelikle bizim çalışmamızla paralellik gösterdiği anlaşılmaktadır.

Civcivlerin büyümesi üzerine **put** etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, %0,2 ve %0,4 put içeren diyetle beslenenlerin, %0,0 put içeren diyetle beslenenlere göre büyüme oranının arttığı gözlenmiştir. %0,6 put verilen grubun, kontrol grubuna göre büyüme oranının yavaşladığı, bunun da toksik etkilerinden dolayı besin tüketiminin azalması sonucu meydana geldiği belirtilmiştir Smith (58). Bizim çalışmamızda da put verilen yavru sıçanların, kontrol grubuna göre daha fazla büyüme gösterdiği gözlendiği için, yapılmış olan bu çalışma ile paralellik gösterdiği anlaşılmaktadır.

Arjinin, **put** biyosentezinin prekürsörü olan bir amino asittir. Vücuttaki miktarı arttığında ya da arjininden zengin yiyeceklerin tüketilmesiyle büyüme performansı ve ağırlık kazanımı artmaktadır. Sarı renkli kedi balığında (*Pelteobagrus fulvidraco*) yapılan bir çalışmada, 84 gün boyunca artan miktarlarda arjinin (%1.59, %1.91, %2.26, %2.74, %3.04, %3.30 - kuru madde yüzdesi) amino asidi ile besleme yapılmıştır. Çalışmanın sonucunda hayvanlara verilen arjinin miktarının artmasıyla vücut ağırlığının arttığı ($p<0,05$) ve gösterilmiştir. Ayrıca arjininden yetersiz beslenme yapılırsa, düşük seviyeli büyüme performansı göstereceği bildirilmiştir Zhou et al (59).

Bu çalışmalara bakıldığında, poliamin sentez yolağının ilk basamağında yer alan **put**'in büyüme üzerine etkin bir rol oynadığı gözlenmektedir.

Yaptığımız çalışmada gebelik döneminde ağırlık artışının en fazla kontrol grubunda, ağırlık artışının en az put/spd/spm verilen grupta olduğu, laktasyon döneminde ağırlık artışının en fazla spd grubunda olduğu, diğer gruplarda ise ağırlık azalmasının meydana geldiği, en fazla ağırlık azalmasının ise kontrol grubunda olduğu gözlenmiştir. Gebelik döneminde meydana gelen bu ağırlık değişimlerinin, anne karnında gelişen yavruların sayısı ile ilgili olabileceği düşünülmektedir. Ancak gebelik ve laktasyon döneminde poliamin alımı ile ağırlık artışı arasındaki ilişkinin gözlemlendiği bir çalışma olmadığı için sonuçlar arasında karşılaştırma yapılamamıştır.

Gebelik yüzdesinin diğer gruplara göre spd kullanılan grupta en fazla, put/spd/spm kullanılan grupta ise en az olduğu; doğum sonrasında en fazla yavruya sahip olan ve doğurganlık oranının en fazla spd kullanılan grupta olduğu; yavruların ortalama doğum ağırlıkları incelendiğinde put/spd/spm grubunda doğan yavruların ortalama doğum ağırlığının en büyük, put grubunda doğan yavruların ortalama doğum ağırlığının en küçük olduğu görülmektedir. Bu çalışmadaki verilerin bakıldığı herhangi bir çalışma olmadığı için sonuçlar arasında karşılaştırma yapılamamıştır.

Poliamin sentezi için **metiyonin** amino asidi put, spd ve spm sentezinde prekürsördür. Bundan dolayı bu iki amino asidin hücre bölünmesi, protein sentezi ve doku büyümesi üzerindeki etkisi önemlidir. Tavuklar üzerinde yapılan bir çalışmada vücut ağırlığı artışının incelenmesi amacıyla düşük düzeyde **metiyonin** içeren diyetlerine **put** eklenmiştir. Bunun sonucunda vücut ağırlığında anlamlı olarak azalma meydana gelmiştir Hashemi et al (53). Bu sonuç bizim çalışmamız ve daha önce gösterilen çalışmalarla paralellik göstermemektedir. Tavukların düşük düzeyde metiyonin içeren bir diyetle beslenmesi sonucunda poliamin sentezinin az olması ve dışarıdan verilen put düzeyinin bu sentezde yetersiz kalmasının bu sonuca neden olabileceği düşünülmektedir. Ancak yaptığımız çalışmada sadece laktasyon döneminde put verilen grupta, put/spd/spm verilen gruba göre ağırlık artışında azalma meydana geldiğinden dolayı yapılan bu çalışma ile bizim yaptığımız çalışmanın daha benzer bir sonuç verdiği gözlenmektedir.

Hashemi ve arkadaşlarının yaptığı aynı çalışmada **trigliserid** düzeyine de bakılmıştır. Düşük düzeyde **metiyonin** içeren bir diyetle beslenme sonucunda kan **trigliserid** düzeyinin düşük olduğu saptanmıştır. Bu sonuç bizim çalışmamızla paralellik

göstermemekle birlikte, farklı tür hayvan kullanımının bu sonuca neden olabileceği düşünülmektedir.

Yaptığımız çalışma **HDL kolesterol** değişimi açısından incelendiğinde, **put** ve **spd** kullanan gruplarda gebelik sonrası (15 günlük kullanım) ve laktasyon sonrası (30 günlük kullanım) bakılan kan değerleri arasında HDL kolesterolde anlamlı düzeyde artış görülmüştür. Diğer gruplar arasında ise anlamlı fark gözlenmemiştir. **LDL kolesterol** değişimi bakımından incelendiğinde, **put** kullanan grupta gebelik öncesi (30 günlük kullanım) ile gebelik sonrası (15 günlük kullanım) bakılan kan değerleri arasında LDL kolesterolde anlamlı düzeyde artış söz konusudur. Diğer gruplar arasında ise anlamlı fark görülmemiştir. **Trigliserid** değişimi bakımından incelendiğinde **put**, **spd** ve **put/spd/spm** kullanan gruplarda gebelik öncesi (30 günlük kullanım) ve gebelik sonrası (15 günlük kullanım) bakılan kan değerleri arasında trigliserid bakımından anlamlı düzeyde azalma söz konusudur. Diğer gruplar arasında ise anlamlı fark görülmemiştir. **Total kolesterol** değişimi bakımından incelendiğinde, **spm** kullanan grupta gebelik sonrası (15 günlük kullanım) ve laktasyon sonrası (30 günlük kullanım) bakılan kan değerleri arasında total kolesterolde anlamlı düzeyde artış söz konusudur. Diğer gruplar arasında ise anlamlı fark görülmemiştir.

Yapılan bir çalışmada, tedaviye alınmış diyabetik sıçanların **spm** ile 5 ay boyunca beslenmesi sonucunda **trigliserid**, **HDL** ve **LDL** düzeylerinde anlamlı derecede artış olduğu saptanmıştır Jafarnejad et al (60). Bu sonuç bizim çalışmamızla paralellik göstermemekle birlikte, diyabet hastalığı varlığı ile çok daha uzun süre **spm** kullanımından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

8. SONUÇ

Bu çalışma, sıçanlarda kullanılan farklı poliaminlerin su ve yem tüketimi, vücut ağırlığı, üreme durumu ile kan lipid düzeyleri üzerine olan etkilerini göstermiştir.

Gebelik öncesi dönemde yem ve su tüketimi açısından en az tüketim olan grubun **spd** kullanılan grup, laktasyon döneminde de vücut ağırlığı bakımından en az olan grubun **spd** kullanılan grup olduğu bulunmuştur.

Gebelik öncesi dönem ve laktasyon döneminde vücut ağırlığı bakımından en fazla artış olan grubun **put/spd/spm** kullanılan grup olduğu gösterilmiştir.

Put kullanan grupta gebelik öncesi dönem ile gebelik döneminde belirgin LDL kolesterol artışı, gebelik dönemi ile laktasyon döneminde belirgin HDL kolesterol artışı, gebelik öncesi dönem ile gebelik döneminde belirgin trigliserid azalması gözlenmiştir.

Bu parametrelere bakıldığında gruplar arasında bazı farklılıklar görülmektedir. Ancak literatürde poliamin desteği verilen sıçanların yem-su tüketimi ve üreme durumları ile ilgili çalışmalara, bilgimiz dahilinde, rastlanmamıştır. Çalışmamız, poliamin desteği verilen sıçanların vücut ağırlıklarında değişimin, üreme durumlarının ve serum lipid düzeylerinin belirlenmesi açısından özgündür. Bu yüzden daha fazla sayıda çalışma yapılmasına gerek duyulmaktadır.

9. KAYNAKLAR

1. Igarashi K, Kashiwagi K. Modulation of cellular function by polyamines. *Int J Biochem Cell Biol.* 42(1);39–51, 2010.
2. Guerraa GP, Rubin MA, Mello CF. Modulation of learning and memory by natural polyamines. *Pharmacol Res*, In Press, Corrected Proof, Available online 22 March 2016.
3. Miyamoto S, Kashiwagi K, Ito K, Watanabe S, Igarashi K. Estimation of polyamine distribution and polyamine stimulation of protein synthesis in *Escherichia coli*. *Arch Biochem Biophys.* 300;63–8, 1993.
4. Thomas T, Thomas TJ. Polyamines in cell growth and cell death: molecular mechanisms and therapeutic application. *Cell Mol Life Sci.* 58: 244 –58, 2001.
5. Ramani D, De Bandt JP, Cynober L. Aliphatic polyamines in physiology and diseases. *Clinical Nutrition* 33;14-22, 2014.
6. Seiler N, Dezeure F. Polyamine transport in mammalian cells. *Int J Biochem.* 22(3);211-8, 1990.
7. Bardócz S, Duguid TJ, Brown DS, Grant G, Pusztai A, White A, Ralph A. The importance of dietary polyamines in cell regeneration and growth. *Br J Nutr.* 73(6);819-28, 1995.
8. Bethel DR, Hibasami H, Pegg AE. Regulation of polyamine content in cultured fibroblasts. *Am J Physiol.* 251;C141- 152, 1982.
9. Leeuwenhoek A. “Observations D. Anthonii Lewenhoeck, de natis e’semine genitali.” *Aminalculis. Philos. Trans.* 12;1040–1043, 1678.
10. Lightfoot HL, Hall J. Endogenous polyamine function - the RNA perspective. *Nucleic Acids Research.* 42(18);11275-11290, 2014.
11. Bachrach U. The early history of polyamine research. *Plant Physiology and Biochemistry* 48;490-495, 2010.
12. Wallace HM, Fraser AV, Hughes A. A perspective of polyamine metabolism. *Biochem. J.* 376;1–14, 2003.

13. Lopez-Garcia C, Lopez-Contreras AJ, Cremades A, Castells MT, Penafiel R. Transcriptomic Analysis of Polyamine-Related Genes and Polyamine Levels in Placenta, Yolk Sac and Fetus During the Second Half of Mouse Pregnancy. *Placenta*. 30;241–249, 2009.
14. Soda K. The mechanisms by which polyamines accelerate tumor spread. *J Exp Clin Cancer Res*. 11(30);95, 2011.
15. Ficker E, Tagliatela M, Wible BA, Henley CM, Brown AM. Spermine and spermidine as gating molecules for inward rectifier K⁺ channels. *Science*. 266;1068–72, 1994.
16. Kakegawa T, Hirose S, Kashiwagi K, Igarashi K. Effect of polyamines on in vitro reconstitution of ribosomal subunits. *Eur J Biochem*. 158;265–9, 1986.
17. Park MH, Cooper HL, Folk JE. Identification of hypusine, an unusual amino acid, in a protein from human lymphocytes and of spermidine as its biosynthetic precursor. *Proc Natl Acad. Sci*. 78;2869–2873, 1981.
18. Choi YH, Park HY. Anti-inflammatory effects of spermidine in lipopolysaccharide-stimulated BV2 microglial cells. *Journal of Biomedical Science*. 19(1);31, 2012.
19. Pegg AE. Toxicity of polyamines and their metabolic products. *Chem Res Toxicol*. 26;1782–1800, 2013.
20. Kibe R, Kurihara S, Sakai Y, Suzuki H, Ooga T, Sawaki E et al. Upregulation of colonic luminal polyamines produced by intestinal microbiota delays senescence in mice. *Scientific Reports* 4;4548, 2014.
21. Iacomino G, Picariello G, D'Agostino L. DNA and nuclear aggregates of polyamines. *Biochim Biophys Acta*. 1823;1745-1755, 2012.
22. Michael AJ. Biosynthesis of Polyamines in Eukaryotes, Archaea, and Bacteria p.7 In: Kusano T, Suzuki H, editors. *Polyamines - A Universal Molecular Nexus for Growth, Survival, and Specialized Metabolism*. Japan, Springer, 2015.
23. Tong W, Yoshimoto K, Kakehi J, Motose H, Niitsu M, Takahashi T. Thermospermine modulates expression of auxin-related genes in *Arabidopsis*. *Front Plant Sci*. 14(5);94, 2014.

24. Subramanyam S, Sardesai N, Minocha SC, Zheng C, Shukle RH, Williams CE. Hessian fly larval feeding triggers enhanced polyamine levels in susceptible but not resistant wheat. *BMC Plant Biol.* 16(15);3, 2015
25. Valero D. The role of polyamines on fruit ripening and quality during storage: what is new. *Acta Horticulturae.* 884;199-205, 2010.
26. Büyüksulu N. Besinlerin Poliamin İçerikleri. *Müsbed.* 4(2);105-110, 2014.
27. Visciano P, Schirone M, Tofalo R, Suzzi G. Histamine poisoning and control measures in fish and fishery products. *Front Microbiol.* 5;500, 2014.
28. Alper N, Temiz A. Gıdalardaki Biyojen Aminler ve Önemi. *Türk Hij Der Biyol Derg.* 58(2);71-80, 2001.
29. Costa MP, Balthazar CF, Rodrigues BL, Lazaro CA, Adriana Silva ACO, Cruz AG, et al. Determination of biogenic amines by high-performance liquid chromatography (HPLC-DAD) in probiotic cow's and goat's fermented milks and acceptance. *Food Science & Nutrition.* 3(3);172–178, 2015.
30. Hanfrey CC, Pearson BM, Hazeldine S, Lee J, Gaskin DJ, Woster PM, Phillips MA, Michael AJ. Alternative spermidine biosynthetic route is critical for growth of *Campylobacter jejuni* and is the dominant polyamine pathway in human gut microbiota. *J Biol Chem* 286;43301-12, 2011.
31. Matsumoto M and Benno Y. The relationship between microbiota and polyamine concentration in the human intestine: a pilot study. *Microbiol Immunol* 51;25–35, 2007.
32. Michael AJ. Biosynthesis of Polyamines in Eukaryotes, Archaea, and Bacteria p.10 In: Kusano T, Suzuki H, editors. *Polyamines - A Universal Molecular Nexus for Growth, Survival, and Specialized Metabolism.* Japan, Springer, 2015.
33. Coffino P. Regulation of cellular polyamines by antizyme. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2(3);188-94, 2001.
34. Pegg AE. Spermidine/spermine-N1-acetyltransferase: a key metabolic regulator. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 294;E995–1010, 2008.
35. Makletsova MG, Fedorova TN, Maksimova MY, Boldyrev AA. Effects of carnosine on polyamine levels in red blood cells of patients with hypertonic discirculatory encephalopathy. *Bull Exp Biol Med.* 154(2);210-2, 2012.

36. Susan Bardacz, George Grant, David S. Brown, Ann Ralph, and Arpad Pusztai. Polyamines in food-implications for growth and health. *J. Nutr. Biochem.* 4, 1993.
37. Bardocz S, Grant G, Brown DS, Ralph A, Pusztai A. Polyamines in food-implications for growth and health. *J. Nutr. Biochem.* 4;66-71, 1993.
38. Zoumas-Morse C, Rock CL, Quintana EL, Neuhouser ML, Gerner EW, Meyskens FL. Development of a polyamine database for assessing dietary intake. *J Am Diet Assoc.* 107(6):1024-27, 2007.
39. Ali MA, Poortvliet E, Strömberg R, Yngve A. Polyamines: total daily intake in adolescents compared to the intake estimated from the Swedish Nutrition Recommendations Objectified (SNO). *Food Nutr Res.* 55, 2011.
40. Nishibori N, Fujihara S, Akatuk T. Amounts of polyamines in foods in Japan and intake by Japanese. *Food Chem.* 100(2);491-497, 2007.
41. Binh PNT, Soda K, Maruyama C, Kawakami M. Relationship between food polyamines and grossdomestic product in association with longevity in Asian countries. *Health.* 2(12);1390-1396, 2010.
42. Sooranna SR, Das I. The Role of Polyamines in Pregnancy. *Placenta.* Vol. 19, 1998.
43. Hiramatsu Y, Eguchi K, Sekiba K. Alterations in polyamine levels in amniotic fluid, plasma and urine during normal pregnancy. *Acta Med Okayama.* 39(5);339-46, 1985.
44. Luzzani F, Colombo G, Galliani G. Evidence for a Role of Progesterone in the Control of Uterine Ornithine Decarboxylase in the Pregnant Hamster. *Life Sciences.* 31; 1553-1558, 1982.
45. Lopez-Garcia C, Lopez-Contreras AJ, Cremades A, Castells MT, Penafiel R. Transcriptomic Analysis of Polyamine-Related Genes and Polyamine Levels in Placenta, Yolk Sac and Fetus During the Second Half of Mouse Pregnancy. *Placenta* 30;241–249, 2009.
46. Russel DH, Giles HR, Christian CD, Cambell JL. Polyamines in amniotic fluid, plasma, and urine during normal pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* Nov 15, 1978.

47. Houlihan DD, Denny MC, Morrison JJ. Polyamine effects on human myometrial contractility. *Am J Obstet Gynecol.* 186(4);778-783, 2001.
48. Nishimura K, Shiina R, Kashiwagi K, Igarashi K. Decrease in Polyamines with Aging and Their Ingestion from Food and Drink. *J. Biochem.* 139;81–90, 2006.
49. Perez-Cano FJ, Gonzalez-Castro A, Castellote C, Franch A, Castell M. Influence of breast milk polyamines on suckling rat immune system maturation. *Developmental and Comparative Immunology.* 34;210–218, 2010.
50. Romain N, Dandrifosse G, Jeusette F, Forget P. Polyamine Concentration in Rat Milk and Food, Human Milk, and Infant Formulas. *Pediatr Res.* 32;58-63, 1992.
51. Williams-Ashman HG, Lockwood DH. Role of Polyamines in Reproductive Physiology and Sex Hormone Action. *Metabolism and Biological Functions of Polyamines* 171; 882–894, 1970.
52. Lefevre P, Palin MF, Murphy BD. Polyamines on the Reproductive Landscape. *Endocrine Reviews.* 32(5);694 –712, 2011.
53. Hashemi SM, Lohb TC, Foc HL, Zulkifli I, Hair Bejo M. Effects of putrescine supplementation on growth performance, blood lipids and immune response in broiler chickens fed methionine deficient diet. *Animal Feed Science and Technology.* 194;151–156, 2014.
54. Gugliucci A. Polyamines as clinical laboratory tools. *Clinica Chimica Acta.* 344;23–35, 2004.
55. Til HP, Falke HE, Prinsen MK, Willems MI. Acute and subacute toxicity of tyramine, spermidine, spermine, putrescine and cadaverine in rats. *Food and Chemical Toxicology.* 35;337-348, 1997.
56. Paulsen JE, Reistad R, Eliassen KA, Sjaastad OV, Alexander J. Dietary polyamines promote the growth of azoxymethane-induced aberrant crypt foci in rat colon. *Carcinogenesis.* 18(10);1871-5, 1997.
57. Smith TK, Hyvonen T, Pajula R-L, Eloranta TO. Effect of dietary methionine, arginine and ornithine on the metabolism and accumulation of polyamines, S-adenosylmethionine and macromolecules in rat liver and skeletal muscle. *Ann Nutr Met* 31;133- 145, 1987.

58. Smith TK. Effect of Dietary Putrescine on Whole Body Growth and Polyamine Metabolism. *Experimental Biology and Medicine*. 194;332-336, 1990.
59. Zhou Q, Jin M, Elmada ZC, Liang X, Mai K. Growth, immune response and resistance to *Aeromonas hydrophila* of juvenile yellow catfish, *Pelteobagrus fulvidraco*, fed diets with different arginine levels. *Aquaculture*. 437;84–91, 2015.
60. Jafarnejad A, Bathaie SZ, Nakhjavani M, Hassan MZ. Effect of spermine on lipid profile and HDL functionality in the streptozotocin-induced diabetic rat model. *Life Sciences*. 82;301–307, 2008.



10. ETİK KURUL ONAYI



T.C.
İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU BAŞKANI 
E-İmzalıdır

Sayı : 38828770-604.01.01-E.706
Konu : Etik Kurulu Kararı

14/01/2016

Sayın Yrd. Doç. Dr. Nihal BÜYÜKUSLU

Üniversitemizin Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kuruluna yapmış olduğunuz “Gebelik öncesi, gebelik ve laktasyon süresince diyet poliamin alımının, dişi sıçanlarda ve yavrularında vücut ağırlıkları ve kan lipid seviyeleri üzerine etkileri” isimli başvurunuz incelenmiş olup, etik kurulu kararı ekte sunulmuştur.

Bilgilerinize rica ederim.

Doç. Dr. Hanefi ÖZBEK
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
(İMÜ-HADYEK) Başkanı

EK:
-Karar Formu (1 sayfa)

11.ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Fatma	Soyadı	MERT
Doğum Yeri	Razgırad	Doğum Tarihi	30.09.1983
Uyruğu	T.C.	TC Kimlik No	28651371362
E-mail	fatmamert@outlook.com	Tel	543 468 78 67

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	İstanbul Medipol Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Beslenme ve Diyetetik Bölümü (%100 başarı bursu)	2016
Lisans	İstanbul Medipol Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü (%100 başarı bursu)	2015
Lisans	İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyolojik Bilimler Bölümü	2006

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre
Araştırma - Geliştirme	Omnigen Tıbbi Ürünler A.Ş.	03.2016 - 07.2016
Diyetisyen	İstanbul Medipol Üniversitesi – Proje	12.2015 -
Stajyer Diyetisyen	REMER	04.2014 - 05.2014
Stajyer Diyetisyen	Bağcılar Eğitim ve Araştırma Hastanesi	09.03 - 26.03.2015
Stajyer Diyetisyen	Özel Medipol Mega Hastaneler Kompleksi	11.2014 - 03.2015

Stajyer Diyetisyen	Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mutfağı	10.2014 - 11.2014
Stajyer Diyetisyen	Özel Medipol Mega Hastaneler Kompleksi, ISS Catering	09.2014-10.2014
Stajyer Diyetisyen	Dr. Safiye Ali Aile Sağlığı Merkezi	07.2014 – 08.2014
Stajyer Diyetisyen	Fatih Toplum Sağlığı Merkezi	06.2014 - 07.2014
Klinik Araştırma Sorumlusu	Özel İstanbul Medipol Hastanesi – Proje	07.2013 - 09.2013

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama	Konuşma	Yazma
İngilizce	İyi	Orta	Orta

Sınav Puanları

ALES (22.11.2015)	79,96 (Sayısal)
YDS (12.03.2016)	47,50

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
BeBiS	Çok iyi
SPSS	Orta

Uluslararası ve Ulusal Yayınları

- Determination of the antimicrobial activity of lactic acid bacteria obtained from traditionally fermented Turkish foods, The 3rd International Symposium on Traditional Foods from Adriatic to Caucasus, 2015, Poster sunumu
- Farklı Hasta Gruplarında Malnütrisyon Tarama Testlerinin Karşılaştırılması, 9. Klinik Enteral Parenteral Nutrisyon Kongresi, 2015, Poster sunumu
- Nöroloji Hastalarında Malnütrisyon Tarama Testlerinin Karşılaştırılması, 9. Klinik Enteral Parenteral Nutrisyon Kongresi, 2015, Poster sunumu

Sertifikaları

- 5th Course in Next Generation Sequencing, European School of Genetic Medicine, İstanbul Üniversitesi ve Tıbbi Genetik Derneği, 4-7 Mayıs 2016
- Nutrigenetik ve GentestDiet Yetkili Uygulayıcı Eğitimi Sertifikası, Gentest, Ağustos – Ekim 2015
- IV. Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası Eğitim Kursu, İstanbul Medipol Üniversitesi, 26 Ocak – 5 Şubat 2015

Onur ve Ödüller

- Onur Belgesi – İstanbul Medipol Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü

Bilimsel ve Mesleki Kuruluşlara Üyelikler

- Türkiye Diyetisyenler Derneği üyesi
- Metabolik ve Bariatrik Cerrahi Diyetisyenliği Derneği Yönetim Kurulu Üyesi ve Kurucu Üyesi