

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA (VET) ANABİLİM DALI

**ERKEK FARELERDE MENHADEN FISH OIL (OMEGA-3
YAĞ ASİTİ) VE ZEYTİNYAĞI KATKILARININ LİPİT
PEROKSİDASYONU VE BAZI BİYOKİMYASAL DEĞERLERE
ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ayşenur BAŞKAYA

Danışman

Prof. Dr. Firuze KURTOĞLU

KONYA- 2007

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA (VET) ANABİLİM DALI
BAP PROJE NO: 06202014

**ERKEK FARELERDE MENHADEN FISH OIL
(OMEGA-3 YAĞ ASİTİ) VE ZEYTİNYAĞI KATKILARININ
LİPİT PEROKSİDASYONU VE BAZI BİYOKİMYASAL
DEĞERLERE ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ayşenur BAŞKAYA

Bu tez aşağıda isimleri yazılı tez jürisi tarafından 17.12.2007 tarihinde sözlü olarak yapılan tez savunma sınavında oybirliği ile kabul edilmiştir

Tez Jürisi : Jüri başkanı Prof. Dr. Erdoğan ŞEKER
Danışman Prof. Dr. Firuze KURTOĞLU
Üye Doç. Dr. Seyfullah HALİLOĞLU

İÇİNDEKİLER	Sayfa
1. GİRİŞ	8
2. LİTERATÜR BİLGİ	9
2.1. Lipidler ve genel özellikleri	9
2.2. Esansiyel yağ asitleri ve kimyasal yapıları	10
2.2.1. Konjuge linoleik asit	12
2.3. Omega yağ asiti kaynakları	14
2.4. Omega yağ asitlerinin metabolik etkileri	15
2.4.1. Bağışıklık sistemi üzerindeki etkileri	17
2.4.2. Diyabetteki fonksiyonları	18
2.4.3. Karaciğer fonksiyonlarına etkileri	18
2.4.4. Gebelikteki etkileri	19
2.4.5. Lipid metabolizmasına ve lipid peroksidasyonu üzerine etkileri	19
2.5. Serbest Radikaller	24
2.5.1. Serbest oksijen radikallerini oluşturan faktörler	25
2.5.2. Serbest radikal oluşumunu etkileyen diğer faktörler	27
2.5.3. Serbest radikallerin etkileri	27
2.5.3.1. Hücresel yapılar üzerine etkileri	27
2.5.3.2. Membran lipidleri üzerine etkileri	29
2.5.3.3. Proteinler üzerine etkileri	29
2.5.3.4. Nükleik asitler ve DNA üzerine etkileri	30
2.5.3.5. Karbonhidratlar üzerine etkileri	30
2.6. Antioksidanlar	30
2.6.1. Antioksidanların sınıflandırılması	31
2.6.1.1. Enzimatik antioksidanlar	31
2.6.1.2. Enzimatik olmayan antioksidanlar	33

3. MATERYAL VE METOT	34
3.1. Materyal	34
3.1.1. Hayvan Materyali	34
3.1.2 Yem Materyali	34
3.2. Metot	34
3.2.1. Deneme Düzeni	34
3.3 Kan örneklerinin alınması ve analizler	36
3.4. İstatistik Analizleri	38
4. BULGULAR	39
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	45
6. ÖZET	51
7. SUMMARY	53
8. KAYNAKLAR	65
9. ÖZGEÇMİŞ	66
10. TEŞEKKÜR	67

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo	1	Omega yağ asitleri ve bitkilerdeki yüzde oranları	15
Tablo	2	Reaktif oksijen türleri	24
Tablo	3	Çalışmada oluşturulan grupların dağılımı	35
Tablo	4	Deneme gruplarına uygulanan katkı düzeyleri	35
Tablo	5	Çalışmada kullanılan balık yağının yağ asidi içeriği	35
Tablo	6	Araştırmada gruplardan elde edilen kan plazması LPO ve antioksidan enzim değerleri	35
Tablo	7	Araştırmada gruplardan elde edilen bazı biyokimyasal parametreler	40
Tablo	8	Araştırmada gruplardan elde edilen canlı ağırlık değerleri	41

ŞEKİL LİSTESİ

			Sayfa
Şekil	1	Lipid peroksidasyon basamakları	22
Şekil	2	Gruplara göre plazma LPO değişimleri	41
Şekil	3	Gruplara göre plazma CAT değişimleri	42
Şekil	4	Gruplara göre plazma GPx değişimleri	42
Şekil	5	Gruplara göre plazma GR değişimleri	43
Şekil	6	Gruplara göre plazma albumin değişimleri	43
Şekil	7	Gruplara göre plazma glikoz değişimleri	44
Şekil	8	Gruplara göre plazma LDH değişimleri	44

KISALTMALAR

ARA	Araşidonik Asit
BUN	Kan üre nitrojeni
CAT	Katalaz
CETP	Kolesterol ester transfer protein
CLA	Konjuge Linoleik asit
DHA	Dekosaheksoenoik asit
EFA	Esansiyel fatty asit
EPA	Eicosahekzoenoik asit
GLA	Gama Linoleik Asit
GPx	Glutasyon peroksidaz
GR	Glutasyon redüktaz
GSH	Glutasyon (redükte)
GSSH	Okside glutasyon
HDL	High Density Lipoprotein
LA	Linoleik asit
LCAT	Lesitin kolesterol asil transferaz
LDH	Laktat dehidrogenaz
LDL	Low Density Lipoprotein
LNA	Linolenik asit
LPO	Lipid hidroperoksit
LTP	Lipit Transfer Protein
MDA	Malondialdehit
MUFA	Mono Unsaturated Fatty Acid
NO	Nitrik Oksit
PG E	Prostaglandin E
PUFA	Poly Unsaturated Fatty Acid
SFA	Saturated Fatty Acid
SOD	Süperoksit dismutaz
TBARS	Tiobarbutirik asit reaktif substans
VLDL	Very Low Density Lipoprotein
XO	Ksantin oksidaz

1. GİRİŞ

Canlıların sağlıklı ve uzun bir yaşam sürmesi üzerine beslenmenin etkisi şüphesiz ki tartışılmaz bir faktördür. Özellikle son yıllarda beslenme konusu içerisinde doğal antioksidanlar büyük bir yer tutmaya başlamıştır. Canlıların doğal metabolizmaları esnasında açığa çıkan serbest radikaller aynı zamanda organizmaya alınan ilaçların, kimyasalların, radyasyon faktörlerinin etkisiyle ve sigara, çevre kirliliği, dengesiz beslenme, yetersiz fiziksel aktivite gibi etkenlerle organizmada bozulan metabolizma sonucunda da büyük oranda şekillenerek oksidatif stres oluştururlar. Böylece organizmanın oksidan-antioksidan madde dengesi canlı aleyhine olacak şekilde bozulmaya başlar. Sözü edilen bu oksidan maddeler son derece reaktif olduklarından canlı dokusunda birçok organik yapı ile reaksiyona girerek hücre yapısında bulunan lipidlere, proteinlere, nükleik asitlere ve DNA ya zarar vermekte, bunun sonucunda başta kanser, kalp-damar hastalıkları, diyabet, katarakt, karaciğer tahribatı gibi birçok hastalığa neden olmaktadır. Organizmada sentezlenen ya da besinlerle dışarıdan alınan antioksidanlar ise canlı organizmayı serbest radikallere karşı çeşitli mekanizmalarla savunurlar.

Esansiyel yağ asitleri besinlerle organizmaya alınan antioksidanlar içerisinde geniş bir yer tutar. Bu yağ asitleri içerisinde özellikle ω -3 ve ω -6 yağ asitleri, vitaminler gibi yaşamsal olan ve organizma tarafından sentezlenemeyen yapılardır. Yanlış beslenme alışkanlıkları yüzünden günümüz insanı bu tür yağları, çoğunlukla sağlığı tehdit edecek ölçüde az tüketmektedir.

Yağsız diyetle beslenen fareler üzerinde 1920 li yıllarda yapılan araştırmalarda; büyümenin gecikmesi, böbrek fonksiyon bozuklukları, cilt sorunları, üreme fonksiyon bozuklukları gibi belirtiler ortaya çıkmış ve bu problemlerin özellikle linoleik asit (ω -6) adlı yağ asidi eksikliğinden kaynaklandığı saptanmıştır. Vücudun üretemediği ve besinler yoluyla alınması gereken bu yağ asidi çeşidi o yıllarda esansiyel yağ asidi olarak adlandırılmış, araştırmalar devam ettikçe, linolenik asidin (ω -3) de vücut için esansiyel olduğu saptanmış ve bugüne kadar yapılan birçok araştırmada, ω -3 ve ω -6 esansiyel yağ asitlerinin dengeli alınmasının sayısız faydalar getirdiği anlaşılmıştır.

Bu çalışmada erkek farelerde rasyona, önemli bir ω -3 kaynağı olan balık yağı-Menhaden Fish oil (%1) ile ω -6 ve ω -9 yönünden zengin zeytinyağı (%5) katkılarının, lipid hidroperoksit (LPO) değerleri ile glutasyon peroksidaz (GPx), glutasyon redüktaz (GR), katalaz (CAT) gibi antioksidan parametreler; laktat dehidrogenaz (LDH), albumin, ürik asit ve glikoz değerleri ile canlı ağırlık değişimleri üzerine etkileri araştırılmıştır.

2. LİTERATÜR BİLGİ

2.1 Lipidler ve genel özellikleri

Lipidler (yağlar), insan ve hayvanların beslenmesinde önemli bir yer tutmaktadır. Vücutta enerji kaynağı olarak kullanılmalarının yanı sıra yağda eriyen vitaminlerin emilmesi, esansiyel yağ asitleri kaynağı olması, hücre membranlarının yapısında yer alması ve eikosonoid sentezinde de ön madde olarak fonksiyon göstermeleri yağların organizmadaki önemini açıklamaktadır (Mayes, 1993). Yağlar, yağ asitleri ve gliserolden ibaret olup, yağ asitlerinin yapısındaki karbon sayısı ve doymuşluk derecesi yağların fiziksel ve kimyasal özelliklerini oluşturmaktadırlar. Yağ asitleri, doğal katı ve sıvı yağlarda esterler halinde, plazmada ise bir transport şekli olan serbest yağ asidi olarak esterleşmemiş formda bulunurlar. Doğal yağlarda bulunan yağ asitleri genelde düz zincir türevleri olup 2 karbonlu birimlerden sentezlendikleri için çift sayıda karbon atomları taşımaktadırlar. Bunlar doymuş yağ asitleri (saturated fatty acids=SFA), tek bağlı doymamış yağ asitleri (monounsaturated fatty acids=MUFA) ve çok bağlı doymamış yağ asitleri (polyunsaturated fatty acids=PUFA) olmak üzere 3 ana gruba ayrılırlar. SFA ve MUFA insan ve hayvan vücudunda sentezlenebilmelerine karşın bazı PUFA'lar (linoleik asit, α -linolenik asit) hayvan ve insanlardaki enzim eksikliği sebebiyle sentezlenemezler. Bitkilerle karşılaştırıldığında hayvan dokuları yağ asitlerini doymamış hale getirmede kısıtlı yeteneğe sahiptirler. Bu durum bitki kaynağından elde edilen belli PUFA'ların rasyonla alınımını zorunlu kılmaktadır. Söz konusu esansiyel yağ asitleri eikosonoid (C₂₀) yağ asitlerinin oluşumunu başlatır ve eikosonoidler diye bilinen prostaglandinler linoleattan, tromboksanlar arakidonattan ve lökotrienler ise α -linolenattan sentezlenirler (Mayes, 1993; Burtis ve Ashwood, 1994; Nizamlioğlu, 2000)

İnsanoğlunun yaşadığı evrimle birlikte beslenme alışkanlıkları da köklü bir değişikliğe uğramıştır. Avustralya, Afrika ve Güney Amerika'da yapılan arkeolojik çalışmalar geçmişte yaşayan insan diyeti ile bugünkü batı insanının diyetinin çok farklı olduğunu göstermiştir. Atalarımızın enerji ihtiyaçlarını lif oranının yüksek meyve ve sebzeler bakımından zengin diyetlerle, protein ihtiyaçlarını ise büyük kısmını et (av hayvanları) ve balıktan sağladıkları bilinmektedir (Uysal, 2002). Sonuç olarak bugünkü batı diyetine göre total yağ ve doymuş (sature) yağ oranının daha düşük, ω -3 ve ω -6 esansiyel yağ asitleri tüketiminin ise genellikle eşit olduğu görülmektedir (Uysal, 2002). Artan ölümler sonucunda son yüzyılın yarısından itibaren kalp hastalıklarını en aza indirmek amacıyla çok farklı diyet önerileri yapılmıştır.

Akdeniz ülkelerinde MUFA ağırlıklı beslenme alışkanlığından dolayı kalp hastalıkları oranının düşük olduğu bildirilmiştir (Zyriax ve Windler, 2000). Yüksek miktarda balık tüketimi ile artan ω -3 yağ asitleri Japon ve Eskimolarda kalp hastalıklarına yakalanma riskini düşürmüştür (Kimoto ve ark., 2002).

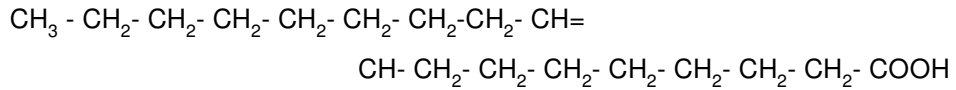
Günümüzde ise ω -6 ve ω -3 yağ asitlerinin dengeli alınmasının ne kadar önemli olduğunun farkına varılmış ve ω -3 bakımından zenginleştirilmiş ürünler dengeli ω -6/ ω -3 oranı ile piyasalarda baş göstermeye başlamıştır (Ayerza, 2002).

2.2. Esansiyel Yağ Asitleri ve Kimyasal Yapıları

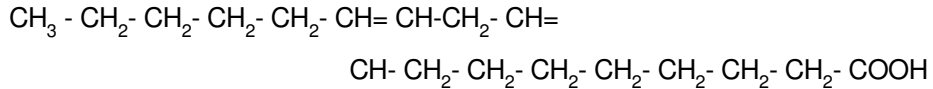
Linoleik, linolenik ve araşidonik asitler temel olarak gereksinim duyulan ve çoğu organizmalar için esansiyel olan yağ asitleridir. Araşidonik asit (AA), linoleik asitten sentezlenebilirken, diğerleri türlere göre esansiyel özellik gösterir (Başpınar ve Kurtoglu, 2003).

Esansiyel yağ asitlerinde;

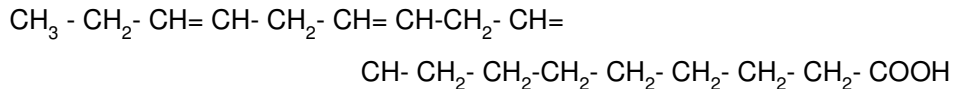
- Zincirdeki C atomlarının sayısı (zincir uzunluğu),
- Zincirdeki çift bağ sayısı önem taşır.
- Omega (ω) sayısı; terminal metil grubundan itibaren ilk çift bağ taşıyan C atomunu tanımlar (Başpınar ve Kurtoglu, 2003).



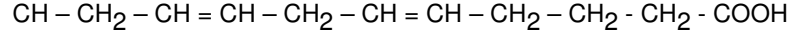
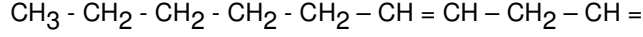
Oleik asit (18:1 ω 9)



Linoleik asit (18:2 ω 6)

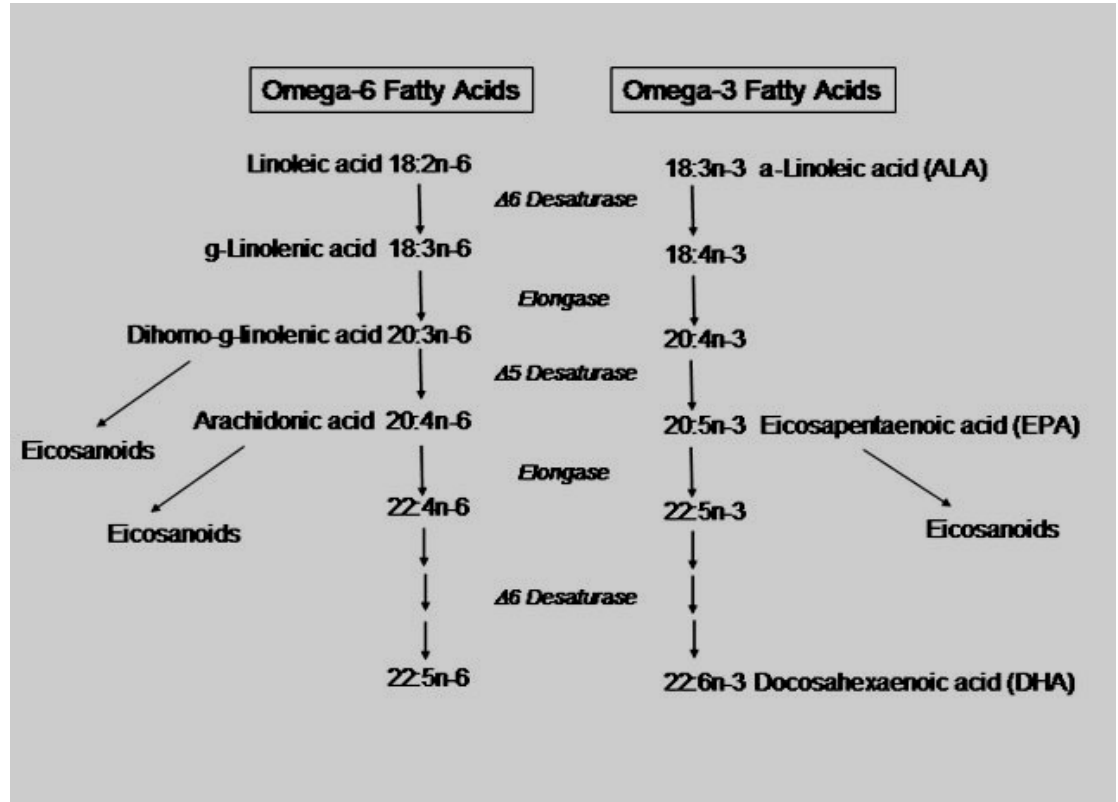


Linolenik asit (18:3 ω 3)



Araşidonik asit (20:4 ω 6)

Esansiyel olan linoleik asit (18:2 ω-6) ve linolenik asitler (18:3 ω-3) bitkilerde sentezlenebilen fakat hayvansal organizmalarca sentezlenemeyen yağ asitleridir. Hayvansal organizmalarda C 3-4 ve 6-7 arasındaki çift bağlar sentezlenemediğinden ω-3 ve ω-6 serisi tüm yağ asitleri esansiyel nitelik taşırlar. Oysa ω-7, ω-9 gibi yağ asitleri, kendi ω orijinine uyan yağ asitlerinden sentezlenebilirler. Örneğin; ω-7 serisi palmitoleik asitten (16:1 ω-7), ω-9 serisi de oleik asitten (18:1 ω-9) endojen olarak sentezlenebilmektedir. Ayrıca sözü edilen bu yağ asitleri, hayvansal organizmalarda ω serisi aynı olmak üzere, zincir uzama reaksiyonları ile diğer bileşiklere dönüştürülebilirler. Örneğin, linoleik asit (18:2 ω-6) araşidonik asite (20:4 ω-6); linolenik asit ise (18:3 ω-3) eikosapentaenoik asit (EPA, 20:5 ω-3) ve dokosahekzenoik asite (DHA, 22:6 ω-3) dönüşebilmektedir (Mc Dowell, 2000; Başpınar ve Kurtoğlu, 2003). Aşağıdaki şekilde bu dönüşümün metabolik düzeni görülebilmektedir.



Esansiyel yağ asitleri ω 6 (Konjuge linoleik asit=CLA, gamma linolenik asit, dihomogamma linolenik asit, araşidonik asit) ve ω -3 yağ asitlerini (eikosopentaenoik asit=EPA ve dokosaheksaenoik asit=DHA) içermektedir. Esansiyel yağ asitleri biyolojik hücre membranlarının asıl yapısal bileşenleri olup sağlıklı hücre fonksiyonları için hem ω -6, hem de ω -3 yağ asitlerinin dengeli bir şekilde tüketmek gerekmektedir (Simopoulus, 1991). İnsanlık tarihinin başlangıcından beri esansiyel yağ asitlerinden ω -6 ve ω -3 diyetlerin bir parçası olmuştur ve insanlar tarafından değişik miktarlarda tüketilmiştir. Fakat son 150 yıldır bu denge artan miktardaki ayçiçeği, mısır, soya, pamuk yağlarının kullanımıyla linolenik asit lehine bozulmuş ve günümüzde Avrupa'da ω -6/ ω -3 oranı 20-30/1 olmuştur (Simopoulus, 1991; Uysal, 2002).

Değerli bir ω -3 kaynağı olan balıkyağı, ilk kez Dr. Samuel Kay tarafından romatizmal ağrılar ve kemik hastalıkları tedavisinde kullanılmıştır. Viktorya döneminde gut, verem, bronşit, kronik cilt hastalıkları ve raşitizm gibi hastalıkların iyileşmesinde etkili olduğu saptanmıştır. Balık yağının A ve D vitaminleri yönünden zengin bir kaynak olduğu anlaşıldıktan sonra bu konuda araştırmalar hızlanmış ve aşırı miktarda hayvansal yağla beslendikleri halde Grönland Eskimolarının kan kolesterol düzeylerinin düşük olduğu, koroner kalp hastalıklarının, kanser ve romatoid artrit hastalıklarının oranının diğer toplumlara göre çok az olduğu görülmüş (Harris, 2004) ve bunun üzerine eskimoların beslenme alışkanlıkları araştırılmış ve günde ortalama 400 gr yağlı balık ve deniz ürünleri ile beslendikleri ortaya konmuştur. Etkin faktörün bu hayvanlarda bulunan ω -3 adlı yağ asitleri olduğu anlaşılmıştır.

İnsanlar üzerinde yürütülen çalışmalarda günde en az 28 gr balık yiyenlerde, hiç tüketmeyenlere göre kalp krizine bağlı ölüm oranının yarı yarıya azaldığı görülmüş (Simopoulus, 1991), kalp krizi geçirmiş erkeklere ω -3 içeren bir diyet verilerek sonraki atakların gelişme riski araştırılmış ve yağlı balık yiyenlerin yemeyenlere oranla ölüm oranının % 29 azaldığı gözlenmiştir (Harris 2004).

Yağ kaynakları karşılaştırıldığında ω yağ asitlerinin en fazla ada çayı tohumu (*Salvia hispanica* L=chia) ve keten tohumunda bulunduğu bildirilmektedir (Bell, 1989). Ancak ω -3 yağ asitleri kaynağı olarak son zamanlarda yumurtacı tavukların beslenmesinde kullanım kolaylığından dolayı rasyonlarda balık yağı, balık unu ve keten tohumu değişik düzeylerde kullanılmaktadır (Scheideler ve ark., 1997; Bond ve ark., 1997). Ancak balık yağının kalitesi, yağın kaynağına ve hidrojenizasyon derecesine bağlı olarak değişmektedir. Keten tohumunun ise özellikle yumurtacı tavuklar ve broylerlerin gelişiminde etkili olduğu ancak bünyesinde bulundurduğu anti besinsel faktörler nedeniyle hayvanlarda olumsuz etkilere neden olduğu bildirilmektedir (Bell, 1989). Aynı zamanda hem keten tohumu hem de balık yağı ve balık unu

içeren rasyonlarla beslenen yumurtacı tavuklardan elde edilen yumurtaların tüketiciler tarafından hoşla gitmeyen koku oluşturabilmektedir. Bu nedenlerden dolayı özellikle son zamanlarda ABD’de ω -3 bakımından zengin ve kolesterol düzeyi düşük yumurta elde etmek amacıyla rasyonlara %28 oranına kadar çıkabilen ada çayı tohumunun balık unu, balık yağı ve keten tohumuna alternatif kaynak olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (Ayerza ve Coates, 2000; Ayerza, 2002).

Omega -3 yağ asidi, EPA nın ön maddesidir ve EPA antitrombotik etkiye sahiptir (Harris, 2004; Zyriax ve Windler, 2000). Yağ asitlerinden alfa linolenik asiti, EPA’yı ve DHA’yı en fazla bulunduran yağ balık yağıdır (Kitessa ve ark., 2003). Omega-3 ve ω -6 yağ asitleri vücutta birbirine dönüştürülemezler ve metabolik ve fonksiyonel olarak birbirlerinden farklılık göstermektedir. Bunların vücuttaki dengesi büyüme ve gelişmede önem arz etmektedir.

ABD’de yapılan bir çalışmada ω -3 düzeyi düşük olan mamalarla beslenen çocuklarda ω -3 düzeyi yüksek olan mamalarla beslenenlere kıyasla belirgin olarak daha fazla davranış bozuklukları, öğrenme ve uyku problemleri gösterdikleri saptanmıştır (Ward, 2003).

2.2.1 Konjuge linoleik asit (CLA)

Konjuge linoleik asit, insan ve hayvanlar için esansiyel bir yağ asidi olan linoleik asitin, pozisyonel ve yapısal olarak bir veya birden fazla konjuge çift bağa sahip olan izomer grupları için kullanılan bir terimdir (Naguib, 2002; Aydın ve Özsan, 2003; Akalın ve Tokusoğlu, 2003). Bitkilerdeki CLA oluşumu ısı etkisi altında (Ha ve ark., 1987) et ve sütteki CLA oluşumu ise rumendeki uzun zincirli yağ asitlerinin mikrobiyel enzimatik reaksiyonların (Gurr, 1987) etkisi altındadır. Rumende meydana gelen indirgenme reaksiyonlarında linoleik asit önce cis-9, trans-11 izomerlerine, daha sonra vaksenik aside (C:18.1 trans-11) ve sonunda stearik aside (C18:0) dönüştürülmektedir. (Bauman ve ark., 2000; Bauman, 2002; Kay ve ark., 2002). Ruminantlarda yemlerle alınan doymamış yağ asitleri rumendeki bakteriler vasıtasıyla hidrojenizasyonla doyurulmakta, dolayısıyla süt yağı ve et yağlarında cis ve trans yağ asidi izomerleri görülmektedir. Ruminantların dokularında %4-11 oranında trans formda yağ asitleri bulunabilmektedir (Aydın ve Özsan, 2003). Ruminantlardan elde edilen etteki CLA, tamamıyla rumen biyohidrojenizasyonundan kaçan CLA dır yada stearoyl CoA reduktaz enziminin emilen vaksenik asit üzerine etkimesi sonucu (cis-9, trans-11 CLA) oluşmaktadır. Bu nedenle ruminantlar ve bu hayvanların ürünleri CLA bakımından en zengin kaynakları oluşturmaktadır (Pariza ve Hargraves 1985; Cook ve ark, 1993). Rasyonda bulunan CLA’nın en yaygın izomeri

cis-9, trans -11 izomeridir. Süt ürünlerinin CLA içeriği her gram yağ için yaklaşık olarak 3 ile 9 mg arasında değiştiği ve total CLA'nın %70-90'ı ise cis-9, trans-11 izomerinden oluştuğu bildirilmektedir (Chin ve ark., 1992; Chouinard ve ark, 1998).

İnsan vücudu CLA üretmediğinden ihtiyacını sadece günlük olarak tüketmiş olduğu sığır ve koyun eti ile süt ürünlerinden sağlayabilir. Et ve sütteki CLA miktarı hayvanlara verilen rasyona göre değişiklik göstermektedir. Yıllarca daha fazla süt üretmek ve daha fazla canlı ağırlık kazanmak için hayvanları çayır meralarda otlatmak yerine yoğun yemlerden kurulu rasyonların verilmesi hem et hem de sütteki CLA düzeyinin gittikçe azalma eğilimi göstermesine neden olmuştur. Sığır sütünün konjuge linoleik asit içeriği üzerine rasyonun etkisinin belirlendiği bir çalışmada (Dhiman ve ark., 1995); sığırlar üç deneme grubuna ayrılmıştır. Birinci gruptaki sığırların toplam ihtiyaçları tamamen çayır ve meralardan karşılanırken ikinci grubun 1/3, üçüncü grubun ise 2/3 ihtiyacı çayır ve meralardan karşılanmış, kalan ihtiyaçlar konsantre yemlerle giderilmiştir. Tümüyle çayır ve meralarda otlayan hayvanlardan elde edilen sütün CLA ve total doymamış yağ asidi içeriğinin daha yüksek olduğu ve dolayısıyla süt ve tereyağında bulunan CLA miktarının rasyonla alınan linoleik asitle pozitif ilişkili olduğu belirlenmiştir.

Rasyon linoleik asitinin et, süt ve süt ürünlerinin CLA miktarına doğrudan etkili olduğu bir diğer araştırma tarafından da doğrulanmıştır (Parodi, 1997).

Hem çiğ hem de ızgarada pişirilmiş sığır etinin mutagenesisini inhibe eden bir bileşiğin bulunmasıyla antikanserojenik CLA'e olan ilginin artması Pariza ve Hargraves (1985)'in gözlemlerinden sonra oluşmuştur. Antikanserojenik özelliğe sahip linoleik asitin 4 izomeri tanımlanmış, saflaştırılmış ve epidemiyolojik çalışmalarda (Parodi, 1997; 1999) kullanılmıştır. İzomerlerin çoğunun hayvan türlerinde tümör gelişimini baskıladığı ve çoğu kanserli hücrelerin yayılımını inhibe ettiği görülmüştür (Ha ve ark., 1987; Naguib, 2002; Aydın ve Özsan, 2003; Akalın ve Tokusoğlu 2003). Esasen cis-9, trans-11 izomerine dayanan CLA ile zenginleştirilmiş sığır sütünün insanlarda meme kanseri hücrelerinin gelişimini engellediği ve vücudun savunma sisteminde süperoksit dismutaz, katalaz ve glutathione peroksidaz gibi antioksidantları da arttırdığı bildirilmektedir (Shultz ve ark., 1992). Ip ve ark (1991; 1994)'nın ratlar üzerinde yaptıkları çalışmada ise rat memesindeki tümör gelişiminde CLA'nın önemli bir antikanserojenik etki gösterdiği ve CLA içeren gıdalarla beslenen ratlarda meme tümörlerinin tekrarlanma oranlarında önemli bir azalma olduğunu bildirilmiştir. Knekt ve ark. (1996), Finlandiya'da 25 yıl boyunca süren epidemiyolojik çalışmalarında insanlarda süt tüketimlerinin artmasıyla meme kanseri vakalarının azaldığını yani süt tüketimi ile meme kanseri sıklığı arasında ters bir ilişkinin olduğunu belirtmişlerdir.

2.3 Omega yağ asiti kaynakları

Rafine edilmemiş tahılların hemen hemen tümü, özellikle de darı, yulaf, arpa, çavdar, buğday ω yağ asitlerince oldukça zengindir. Doymamış yağ asitlerinden oleik ve linoleik asitler yer fıstığındaki doymamış yağ asitlerinin sırasıyla yüzde 47.4 ve yüzde 37.5' ini oluştururlar. Bu kaynaklar;

- Taze meyvalar; elma, muz, kivi, kurutulmuş meyvalar; özellikle kalsiyumdan zengin olan hurma, incir, erik, üzüm,
- Sebzeler; koyu yeşil yapraklı sebzeler (brokoli, ıspanak), rezene, mercimek, soya fasulyesi,
- Pişirmelik otlar, sarımsak, zencefil, maydanoz, biberiye, ısırgan,
- Bal, özellikle yaban çiçeklerinden yapılmış bal,
- Yağlı balıklar; uskumru, ringa, somon, alabalık, sardalye ve hamsidir.

Omega-3 en çok yağlı balıklarda bulunur. Balıklar bu maddeyi yosun ve planktonlardan elde ederler (Erişim 1, Uysal 2002).

Tablo 1. Omega Yağ asitleri ve bitkilerdeki yüzde oranları (Erişim 1)

Yağlar	Omega-3 (%)	Omega-6 (%)
Keten tohumu	50-60	15-20
Ceviz	5-10	20-30
Soya	5-10	40
Safran çiçeği	0,5	70
Ayçiçeği	0,5	65
Mısır	0,5	60
Zeytin	0,5	10

Omega -3 yağ asitleri α -linolenik asit (LNA), ω -6 yağ asitleri ise linoleik asit (LA) ile temsil edilmekte ve karaciğerde LA araşidonik asite (ARA), LNA ise EPA ve ardından da DHA ya metabolize edilmektedir (Rose ve Connolly, 1999). ω -3 yağ asitleri diyetle alındığı zaman ARA ile yarışarak hücre zarı fosfolipitlerinin içerisine girmekte ve böylece yangı yapıcı eikozanoid sentezi için kullanılabilir olan ARA miktarı azalmaktadır (Calder, 2003). Serbest radikaller, molekülleri hasara uğratarak yaşlanma, kanser ve arteriyoskleroz oluşumunu hızlandırmaktadır (Öz ve Kurtoglu, 2003). ω -6 yağ asitlerine göre ω -3 yağ asitleri, atmosfer havası koşullarında ootooksidasyona daha duyarlı olmasına rağmen, bu tür hastalıkların oluşumunu baskılamaktadır.

2.4. Omega Yağ Asitlerinin Metabolik Etkileri

Halk arasında "balıkyağı" olarak bilinen ω -3 ile bitkisel yağlarda bulunan ω -6 yağ asitleri döllenme anından başlayarak fetal dönemden itibaren yaşam boyunca vücudumuzdaki doku hücrelerinin önemli yapı taşlarını oluştururlar (Thomas ve ark., 2004). Çoklu doymamış yağ asitleri, biyolojik zarların temel yapı taşları olan fosfolipitlerin komponentidirler. Esansiyel yağ asitleri yetersizliğinde ise bu yağ asitlerinin yerini oleik asitten sentezlenen eikosatrienoik asit (20:3 ω -9) alır ve hücre zar yapısı ile fonksiyonları üzerine olumsuz etkiler yaratır. Bu zararlı etkiler, özellikle mitokondrilerde ve mitokondriye spesifik hücresel fonksiyonlarda (oksidatif fosforilasyon gibi) kendini gösterir. Gerek ω -3 gerekse ω -6 yağ asitlerinin dengeli alımı, organizma için temel olan ideal kan dolaşımını sağlar. Ayrıca beynin gelişimine, sağlıklı büyümeye ve bağışıklık sisteminin güçlenmesine yardımcı olur (Aguilera ve ark, 2002; Başpınar ve Kurtoglu, 2003).

Son yılların güncel konularından olan beslenme ve kalp rahatsızlığı arasındaki ilişki büyük ölçüde diyet yağları ile yakından ilgilidir. Bu konuda yapılan birçok araştırma esansiyel yağ asiti içeren yağların ve bu yağlarca zengin besinlerin LDL kolesterol oranını düşürürken, HDL kolesterolde ideal sınırları sağladığını ortaya koymuştur. Kalp krizinde etken bir rol oynayan trigliserit seviyesinin yine ω yağ asitleri etkisi ile azaldığı söz konusu araştırmalarca savunulmaktadır. Böylece damar tıkanıklığı (tromboz) ya da damarlarda yağ birikimi ve elastikiyet kaybı (arteriosklerosis) önlenilmektedir (Donzel ve ark, 1993; Aguilera ve ark, 2002; Balk ve ark, 2006).

Ratlarda yapılan çalışmada düzenli olarak ω -3 PUFA (balık yağı) alımı ile karaciğerde hexokinase, glukoz-6-phosphate dehydrogenase, 6-phosphogluconate dehydrogenase, lactate

dehydrogenase ve malate dehydrogenase, enzim aktivitelerinin arttığı ve dolaylı olarak karaciğerin metabolik fonksiyonunun düzenlendiği saptanmıştır (Gorinstein ve ark, 2002).

Araştırmalar, yağlı balık ağırlıklı beslenen toplumlarda kanser oranının düşük olduğunu göstermektedir. 32 ülke arasında yapılan bir incelemede, meme kanseri görülme oranı ile balıkla beslenme yoğunluğu arasında önemli ilişki olduğu ortaya çıkmıştır (Higgins ve ark, 2000, Erişim 3).

Prostaglandinler; kan pıhtılaşması, böbreklerden su atılımının ayarlanması, böbrek kan akışı, reproduksiyon, gastrointestinal motilite, endokrin fonksiyon, immun fonksiyon ve nöro-transmitterlerin salınımı gibi pek çok metabolik fonksiyonda görev alır. Adı geçen bu hormon üç farklı kaynaktan sentezlenebilir: 1. seri prostaglandinler; di-homo γ - linolenik asitten (DHGL) (20: 3 ω -6); 2. seri prostaglandinler araşidonik asitten ve 3. seri prostaglandinler ise linolenik asitten (20:5 ω -3) sentezlenirler. Linolenik asitten türeyen ω -3 metabolitleri EPA (20:5 ω -3) ve DHA (22:6 ω -3)' nın trigliserit ve kolesterol düşürücü etkileri özellikle ratlar üzerinde yapılan araştırmalarla kesinlik kazanmıştır. Bu etki ω -6 metabolitlerinden daha belirgindir (Başpınar ve Kurtoglu, 2003).

Vejeteryanlarca kullanılabilen esansiyel yağ kaynakları; keten tohumu, kanola ve soya yağları olup bunların haricindeki tohum yağları genellikle düşük α -linolenik asit ve yüksek linolenik asit içermektedir. α -linolenik asit kloroplastlarda daha yüksek oranda bulunur. Yumurta sarısı az miktarda, tereyağı ise eser miktarda AA ve DHA içermektedir. Crypthekodium cohnii gibi bazı deniz algleri DHA sentezleyebilmektedir. Vegan ve vejeteryanların doku lipitleri ve kanlarındaki AA miktarı omnivorlarınkine benzer ya da onlarınkinden daha yüksektir. Bunun anlamı şudur, vegan ve vejeteryanlar diyetlerinde AA ya ihtiyaç duymazlar çünkü bunu linoleik asitten yeterince sentezleyebilmektedirler (Erişim 3).

Üç grup romatoid artrit hastasına zeytin yağı ve balık yağının etkisinin araştırıldığı başka bir çalışmada zeytin yağı ve balık yağının birlikte verildiği grupta sağ ve sol el kavrama gücü, yorgunluk başlangıcı, eklem ağrı konularında olumlu gelişmeler gözlenmiştir (Berbert ve ark. 2003). Balık yağının içerdiği poliansature yağlar (EPA, C 20:5 ω -3 ve DHA, C 22: ω 6) romatoid artrit şikayetleri olan sabah sertliği, eklem ağrısı, el kavrama gücü konusunda önemli bir düzelme sağlamıştır.

2.4.1. Bağışıklık sistemi üzerindeki etkisi

Delta-6-desaturaz enzimi ile CLA, gama linoleik aside (GLA) dönüşmektedir. Gama linoleik asit sütte, siyah kuş üzümünde ve akşam çuha çiçeğinde yüksek düzeyde bulunmaktadır. Prostaglandin E (PGE) T hücrelerinin fonksiyonlarını engelleyerek yaşlı insanlarda bağışıklık düşüşüne neden olmaktadır (Cook ve ark., 1993). Kemiriciler ve civcivlerde yapılan endotoksin (lipopolisakkarit= LPS) enjeksiyonu sonucunda diyetle alınan CLA'nın bağışıklık sistemine bağlı olarak meydana gelen büyüme baskılanmasını önlediği görölmüştür (Naguib, 2002). Benzer bir çalışmada (Miller ve ark.,1994) ise farelerde CLA'nın endotoksine bağlı olarak meydana gelen büyüme baskılanmasını önleme kapasitesini araştırmışlar ve çalışma sonucunda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında %0.5 CLA içeren diyetle beslenen farelerde endotoksine bağlı gelişen anoreksiyanın azaldığını gözlemlemişlerdir.

2.4.2. Diyabetteki fonksiyonları

Yapılan son çalışmalarda ω -3 yağ asitlerinin insülinin etkinliğini artırarak diyabeti geciktirdiği ortaya çıkmıştır (Storlien ve ark, 2000). Alloxan ile deneysel diyabet oluşturulan ratlarda ω -3, EPA, DHA, ω -6 ve AA katkılarının diyabetin şiddetini kontrol grubu hayvanlara oranla belirgin oranda azalttığı saptanmıştır (Suresh ve Das, 2003). Aynı zamanda % 99 saf ω - 6 yağ asiti, alfa linolenik asitin ve araşidonik asitin, diyabette görülen, dokuların oksidatif yıkıma olan duyarlılıklarını da önemli oranda azalttıkları belirlenmiştir (Roche ve ark, 1998). EPA ve DHA TNF- α üretimini bastırarak organizmada tip-1 ve tip-2 diyabete olan eğilimi azaltır (Mori ve ark, 1999).

Yüksek ω -3 ve ω -6/ ω -3 oranı düşük diyetle beslenen ratlarda insülin daha aktif olduğu bildirilmiştir (Erişim 1).

2.4.3. Karaciğer fonksiyonlarına etkileri

Deneysel yağlı karaciğer oluşturulan sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada (Zararsız ve ark, 2005) ω yağ asitlerinin yağlı karaciğer bulgularında belirli bir süreçte iyileşme gözlenmiştir. Omega-3'ün i.v. ilavesi sonucu yağlı karaciğer hasarında kısmen, ω -3'ün oral ilavesinde tamamen iyileşme sağlandığı ve karaciğer fonksiyon testlerinin tamamen normal seyir izlediği bildirilmiştir. Leptin yetersizliği olan obez farelerin de karaciğer yağlanması

ω yağ asitleri ile kurtulabildikleri araştırmacılarca (Erişim 3) ifade edilmiştir. Ratlarda yapılan çalışmada düzenli olarak ω -3 PUFA (balık yağı) alımı ile karaciğerde hexokinase, glukoz-6-phosphate dehydrogenase, 6-phosphogluconate dehydrogenase, lactate dehydrogenase ve malate dehydrogenase, enzim aktivitelerinin arttığı ve dolaylı olarak karaciğerin metabolik fonksiyonunun düzenlendiği saptanmıştır (Yılmaz ve ark, 2004).

2.4.4. Gebelikteki etkileri

Omega 3 ve 6 yağ asitleri, anne karnındaki bebeğin sağlıklı gelişimi için elzem yağ asitleridir. İnsan beyni doğumdan önceki son üç ayda hızla büyür, doğumdan sonraki ilk 12 haftada bu büyüme hızı 3 kat artar (Helland ve ark, 2003). Bu nedenle gebelikte canlıların ω -3 ve ω 6 içeren gıdaları yeterince ve dengeli biçimde almaları çok önemlidir (Mayes, 1993; Şenköylü, 2001). Omega-3 ve 6 dengesiyle beslenen canlıların yavrularında beyin, sinir sistemi ve görme yetenekleri sağlıklı gelişir. Omega yağları ayrıca, çocuğun matematiksel zekasını geliştirip, okuma, telaffuz ve yazma becerisini artırır. Eksikliği halinde çocuklarda davranış bozukluklarına (hiperaktivite, dikkat eksikliği, disleksi vb) yol açabilir. Gebelik boyunca marina balığı karaciğeri alımı (EPA ve DHA yönünden zengin) yavruda tip-1 diyabet riskini azaltabilmektedir. Trans yağ asitleri ise EFA metabolizmasını engellediği için diyabet riskini artırır (Mayes, 1993; Şenköylü, 2001).

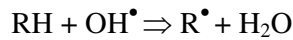
Anne sütü alan çocukların daha iyi gelişmesinin nedeni tam bilinmemektedir. Bu durum büyük olasılıkla anne sütündeki protein ve yağların, bebeğin beyin gelişimi için en uygun miktarda ve yapıda olmasına bağlıdır. Anne sütündeki uzun zincirli doymamış yağ asitlerinin ve sinir büyüme faktörlerinin beyin gelişiminde rolü olduğu düşünülmektedir. Halk dilinde ‘ağız’ olarak bilinen kolostrum, uzun zincirli doymamış yağ asitleri ve esansiyel yağ asitleri bakımından çok zengindir ve beyin gelişimi, myelinizasyon, retinal işlevler ve hücre çoğalmasının normal seyrinde rol oynadığı öne sürülmektedir (Yılmaz ve ark, 2004). Myelinizasyon gebeliğinin son haftalarında ve doğumdan sonraki ilk altı haftada çok hızlıdır. DHA ve AA hücre zarının yapımında özellikle beyin gelişiminde önemlidir. İnek sütünde ve mamalarda bu yağ asitleri çok azdır ve oranları farklıdır. Anne sütünde linoleik asit: linolenik asit oranı 5:1 iken inek sütünde bu oran 1:1’dir. Bebeklerin aldıkları besinlerin içindeki yağ asitlerine göre, beyin lipidlerinin bileşimlerinin de değiştiği bilinmektedir. Biberonla beslenen bebeklerde myelin sentezinde DHA yerine dokosapentanoik asit (DPA) kullanılır (Mayes, 1993; Şenköylü, 2001; Yılmaz ve ark, 2004).

2.4.5. Lipit metabolizmasına ve lipid peroksidasyonu üzerine etkileri

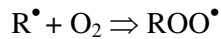
Son yılların güncel konularından olan beslenme ve kalp rahatsızlığı arasındaki ilişki büyük ölçüde diyet yağları ile yakından ilgilidir. Bu konuda yapılan birçok araştırma esansiyel yağ asiti içeren yağların ve bu yağlarca zengin besinlerin LDL kolesterol oranını düşürürken, HDL kolesterolde ideal sınırları sağladığını ortaya koymuştur. Kalp krizinde etken bir rol oynayan trigliserit seviyesinin yine ω yağ asitleri etkisi ile azaldığı söz konusu araştırmalarca savunulmaktadır (Donzel ve ark, 1993). Böylece damar tıkanıklığı (tromboz) ya da damarlarda yağ birikimi ve elastikiyet kaybı (arteriosklerosis) önlenebilmektedir (Suresh ve Das, 2003; Zampolli ve ark, 2005).

Hücrelerin reaktif oksijen türlerine karşı en hassas komponentleri lipidlerdir. Membran lipidlerindeki poliansatüre yağ asitlerinin (PUFA) serbest radikaller tarafından oksidasyonuna lipid peroksidasyonu denir. Lipid peroksidasyonunu başlıca $\text{OH}^\bullet$ radikali başlatmaktadır. Oluşan yıkım, zincirleme reaksiyon şeklinde devam eder ve zar bütünlüğü geri dönüşümsüz olarak bozulur. Zincir reaksiyonları üç safhada gerçekleşmektedir:

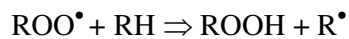
•**Başlama safhası:** Lipid peroksidasyonu; serbest radikalın doymamış yağ asidindeki metilen grubundan bir hidrojen atomunu uzaklaştırmasıyla başlar. Serbest radikal, lipid molekülünden bir hidrojen atomu çıkartarak karbon merkezli lipid radikalinin ($\text{R}^\bullet$) oluşmasına yol açmaktadır (Niki 1993, Gutteridge ve Halliwell 1993).



•**İlerleme Safhası:** Bu aşamada, lipid radikali dayanıksız bir bileşik olup bir dizi değişikliğe uğrar. İlk aşamada molekül içi çift bağların pozisyonlarının değişmesi ile dien konjugatları meydana gelmektedir. Daha sonra lipid radikalinin moleküler oksijen ile reaksiyona girmesi ile lipid peroksil radikali ($\text{ROO}^\bullet$) oluşmaktadır.

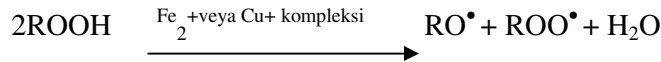


Oluşan lipid peroksil radikalleri yüksek reaksiyon yeteneğine sahip olup diğer bir doymamış yağ asidinden hidrojen atomunu çekerek yeni lipid radikallerinin oluşumunu sağlamakta ve kendisi de lipid hidroperoksidlere (ROOH) dönüşmektedir. Böylece reaksiyon otokatalitik bir biçimde devam etmektedir (Niki 1993, Draper 1993, Akkuş 1995).

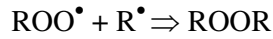
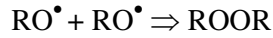
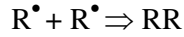


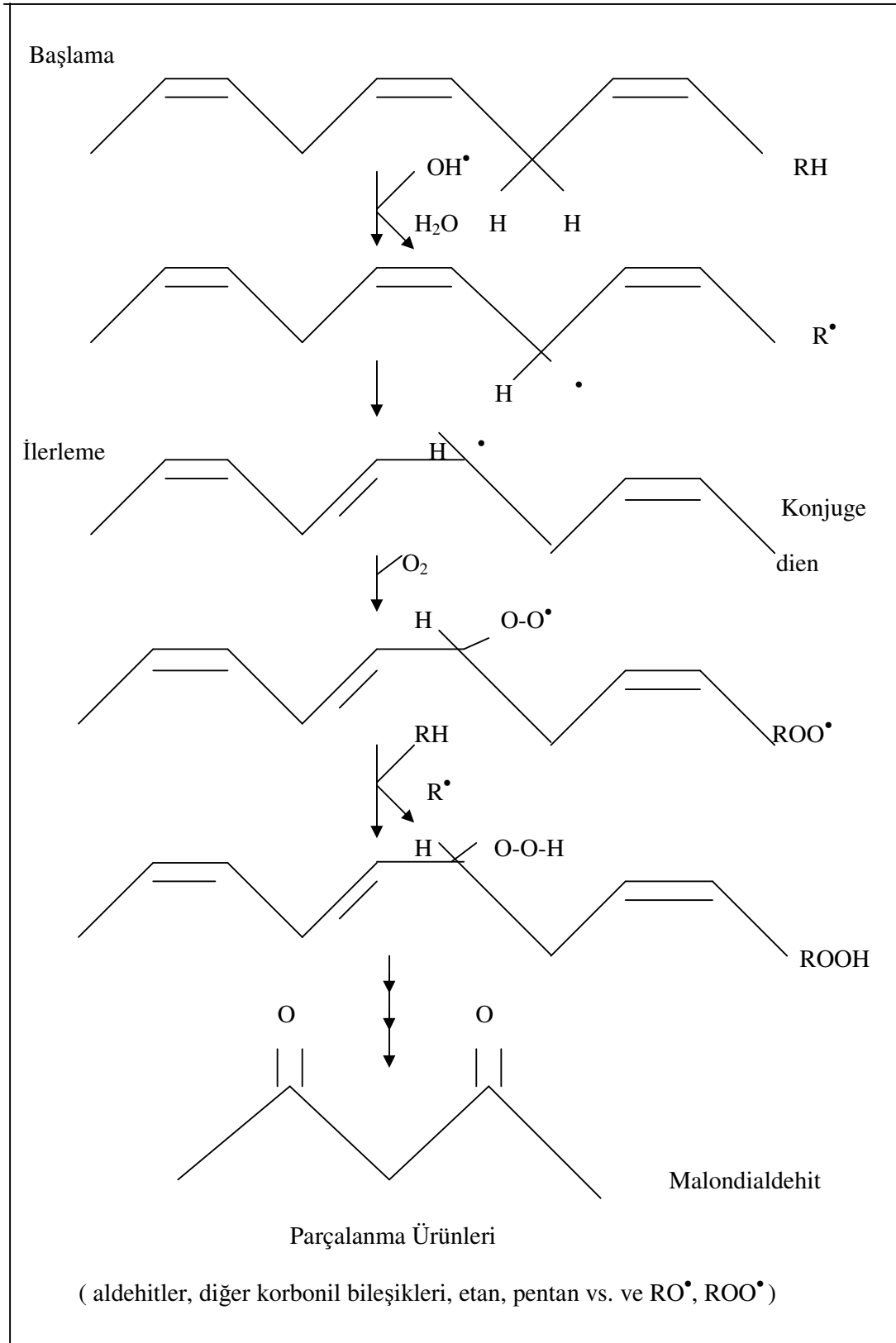
Oluşan lipid hidroperoksitleri geçiş metalleri katalizi ile yıkıldığında çoğu zararlı olan aldehitler oluşur. Bu bileşiklerden biri olan malondialdehid (MDA) miktarı, tiobarbitürik asit testi ile ölçülmekte ve bu yöntem lipid peroksidasyon düzeylerinin saptanmasında sıklıkla kullanılmaktadır. Ayrıca lipid hidroperoksitlerin parçalanması ile etan, bütan ve pentan gibi gazlar da oluşmaktadır (Mayes 1993).

Geçiş metallerinin varlığında (Fe_2^+ , Cu^+) lipid hidroperoksitleri (ROOH) alkoksil radikalleri ($\text{RO}^\bullet$) ve peroksil radikalleri ($\text{ROO}^\bullet$) oluşturmak üzere ayrışır. Bu nedenle Fe ve Cu gibi geçiş metalleri lipid peroksidasyonunun hızını artırır (Niki 1993).



•**Zincirin uzamasının durması:** Lipid peroksidasyonuna bağlı olarak oluşan serbest radikaller ($\text{ROO}^\bullet$, $\text{RO}^\bullet$ ve $\text{R}^\bullet$) ya birbirleri ile reaksiyona girerek inaktif kondenzasyon ürünlerini verirler ve zincir uzaması durur; ya da zincir uzamasının durması değişik yapı ve yetenekteki bazı antioksidanlar (α -tokoferol, β -karoten, glutasyon peroksidaz gibi) tarafından gerçekleştirilir (Draper 1993, Gutteridge ve Halliwell 1993).





Şekil 1. Lipid peroksidasyon basamakları.

Lipid peroksidasyonu ω yağ asitleri sayesinde büyük oranda azalmaktadır. Bu yağ asitlerince yetersiz beslenme, glutasyon vb. gibi antioksidan faktörlerin etkinliğini azaltmaktadır. Zeytin yağı ile beslenme uygulanan deneysel bireylerde lipid peroksidasyonu karaciğerde % 71, beyinde % 20.3, kalpte % 84.5, aortta % 63.6, trombositlerde % 72 düşüş göstermiş ve tüm dokularda glutathion peroksidaz ve transferaz aktivitelerinin arttığı gözlenmiştir (De La Cruz ve ark, 2000).

Yapılan çalışmalar ekstra saf zeytin yağı kullanılmasının daha faydalı olacağı yönünde bulgular göstermektedir; bu tür yağlar tokoferol, bioflavanoid ve polyphenol bileşiklerini içerir. Rafine zeytinyağlarında ise bu maddeler yeterli oranda değildir. Zeytin yağı bileşimindeki özellikle ω 6 yağ asitleri etkisi ile lipid peroksidasyonunu azaltarak ve glutasyonun antioksidan savunma mekanizmasını arttırarak doku oksidatif stresini düşürür (Ochoa ve ark, 2002; Marrugat ve ark, 2003). Bu etkileri sayesinde serbest radikallerin dokularda yol açtığı morfolojik yada fonksiyonel zararlardan korunularak özellikle kalp hastalıkları önlenmiş olur (De La Cruz ve ark, 2000; Gorinstein ve ark, 2002; Aguilera ve ark, 2002).

Hücre zarında bulunan fosfolipitler zar yapı ve fonksiyonunun akışkan mozaik modelinde önemli bir rol oynar. Anormal fosfolipit metabolizmasının şizofreni dahil olmak üzere bazı nöropsikiyatrik bozukluklarda etkin olduğu ifade edilmektedir. Omega-3 ve EPA ile 30 gün boyunca beslenen farelerin hipotalamusundaki bazı oksidan ve antioksidan parametrelerdeki değişimler değerlendirilmiş; MDA ve NO, değerlerinde belirgin düşüşler gözlenmiştir (Sarsılmaz ve ark, 2003; Young ve Conquer 2005).

PUFA dan yetersiz diyetlerle beslenen hayvanlarda ise davranışsal anormallikler gözlenmiş; şizofren ve otizm gibi nöro psikiyatrik bozukluklarda eritrosit, plazma ve beyin dokularında PUFA düzeylerinin yetersiz olduğu belirlenmiştir. Bu durum söz konusu bu dokulardaki lipid peroksidasyonunu da tetiklemektedir. Omega-3 açısından yetersiz beslenen farelerde öğrenme yetisinin önemli ölçüde azaldığı gözlenmiştir. Şizofren hastalarındaki eritrosit lipid peroksidasyon düzeyleri de sağlıklı farelerinkine göre 3-4 kat artmıştır (Young ve Conquer, 2005).

2.5. Serbest Radikaller

Dış orbitallerinde bir ya da daha fazla eşlenmemiş elektron ihtiva eden kısa ömürlü, reaktif atom ve moleküllere serbest radikal denir. Serbest radikallerin en önemli özelliği son derece reaktif olmalarıdır. Bu özelliklerinden dolayı karşılaştıkları atom ve moleküllerle kolayca reaksiyona girerek onları kararsız bir yapı haline dönüştürürler (Aruoma 1994, Reiter 1997, Dünder ve Aslan 1999a).

Serbest radikaller, eşlenmemiş elektronun belirtilmesi amacıyla üst kısımlarına yazılan bir nokta ($X^{\bullet}$) ile gösterilirler. Bu bileşikler organizmada normal metabolik yolların işleyişi sırasında olduğu gibi çeşitli dış etkenlerin etkisiyle de oluşmaktadır. Aerobik metabolizması olan canlılarda serbest radikaller başlıca oksijenden türemektedir. Bu metabolizma sırasında serbest radikal olmayıp, onlar kadar reaktiviteye sahip ürünler de meydana gelmektedir. Bu ürünlerin tümüne birden “reaktif oksijen türleri” denir (Gutteridge ve Halliwell 1993, Akkuş 1995, Dünder ve Aslan 1999a). Serbest oksijen radikallerinin biyolojik sistemlerdeki varlığı ilk olarak 1954 yılında Gerschman ve arkadaşları tarafından tesbit edilmiştir (Turrens 1991).

Tablo 2. Reaktif Oksijen Türleri

Radikaller	Sembolü	Radikal olmayanlar	Sembolü
Süperoksit Radikali	$(O_2^{\bullet-})$	Hidrojen Peroksit	(H_2O_2)
Hidroksil Radikali	$(OH^{\bullet})$	Singlet Oksijen	$(^1O_2)$
Nitrikoksit Radikali	$(NO^{\bullet})$	Ozon	(O_3)
Azotdioksit Radikali	$(NO^{\bullet}_2)$	Hipoklorid Asit	$(HOCl)$
Alkoksil Radikali	$(RO^{\bullet})$	Peroksinitrit	$(ONOO^-)$
Peroksil Radikali	$(ROO^{\bullet})$		

2.5.1. Serbest Oksijen Radikallerini Oluşturan Faktörler

Serbest radikal miktarı ve oluşum hızı birçok faktör tarafından etkilenmektedir. Bunlar eksojen ve endojen kaynaklar olmak üzere iki grupta incelenebilir.

Eksojen Kaynaklar

•**Çevresel faktörler:** İyonize radyasyon, güneş ışığı, hava kirliliği yapan fotokimyasal maddeler (kükürtdioksit, ozon, egsoz gazı gibi) uçucu solventler, pestisitler çevresel faktörler olarak incelenmektedir (Akkuş 1995).

•**İlaçlar:**Antrasiklin grubu ilaçların, aminoglikozidlerin, doksorubusin ve bleomisin doza bağlı olarak serbest radikal oluşumunu artırarak toksik etki oluşturdıkları belirtilmektedir (Sazuka ve ark 1989, Habib ve ark 1993, Song ve ark 1997). Dietilditiyokarbamat gibi süperoksit dismutazın etkinliğini engelleyen maddeler, süperoksit gruplarının zararsız hale getirilmesini sınırlandırırken, lipid peroksidasyonu hızlandırırlar. Ayrıca katalazın etkinliğini engelleyen maddeler (aminotriazol gibi herbisidler) de etkin oksijen gruplarına veya bu grupları oluşturan maddelere duyarlılığı artırır (Kaya ve ark, 1998; Mates 2000).

•**Stres:** Kashif ve ark (2004) ratlar üzerinde yaptıkları çalışmada; stresin lipid peroksidasyonunu artırdığını ve süperoksit dismutaz, katalaz, glutasyon-S-transferaz ve glutasyon gibi antioksidanların aktivitelerini azalttığını tesbit etmişlerdir.

•**Egzersiz:** Fiziksel aktivite ve egzersiz sırasında artan kas kontraksiyonları enerji tüketimini ve metabolik aktiviteyi önemli ölçüde hızlandırmaktadır. Metabolik aktiviteye bağlı olarak, kullanılan oksijen ve mitokondriyal elektron transport zincirinden elektron sızıntısı artmaktadır. Sonuçta, birçok reaktif oksijen türü açığa çıkmaktadır (Gleeson ve Bishop 2000). Mataix ve ark (1998) ratlar üzerinde yaptıkları çalışmada egzersize tabi tutulan hayvanlarda, hareketsiz olanlara kıyasla daha yüksek lipid peroksidasyonu tesbit etmişlerdir.

Serbest radikal üretiminin ikinci büyük kaynağı, cerrahi müdahalelerden sonra, şoktan sonra veya fiziksel egzersiz sırasında oluşan iskemi-reperfüzyon olayıdır (Fehrenbach ve Northoff, 2001). Egzersiz sırasında kan akışı, iskelet kasları gibi aktif bölgelere yönlendirilirken, diğer dokularda hipoksi oluşabilir. Egzersizden sonra bu dokular büyük miktarda oksijene maruz kalırlar. Bu olay iskemi-reperfüzyon olarak tanımlanır (Sjodin ve ark, 1990; Packer, 1997).

•**Alkol ve Sigara:** Serbest radikal oluşumu, alkol ile ilişkili karaciğer rahatsızlığının oluşumunda önemli bir basamaktır. Ratlara etanol ilavesinin reaktif oksijen türlerinin üretilmesini artırarak ve endojen antioksidanların seviyelerini azaltarak lipid peroksidasyonunda artışa sebep olduğu belirtilmektedir (Jordao ve ark 2004).

Sigara çeşitli serbest radikallerin oluşmasına sebep olmaktadır. Sigara dumanının gaz fazı okside edici bir karışımdır. Sigara içenlerde LDL'nin oksidasyona duyarlılığı artmakta ve antioksidan kapasite azalmaktadır (Dündar ve Aslan 1999a, Maat ve ark 2000).

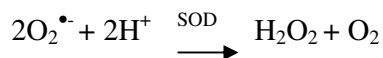
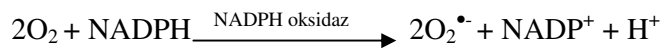
Endojen Kaynaklar

•**Elektron Transport Sistemleri:** Hücrelerdeki en büyük serbest radikal kaynağı elektron transport zincirinden elektron sızıntısıdır. Mitokondriyal elektron transport zincirinde, oksijen çeşitli reaksiyonlardan geçerek su haline dönüşmektedir. Bu sırada hücre, kendisi için gerekli olan enerjiyi sağlamaktadır. Fakat bu süreçte oksijenin % 1-5'i tam olarak suya dönüşmez, kısmi redüksiyonla hidrojen peroksit, süperoksit radikali ve hidroksil radikalleri şekillenir (Gutteridge ve Halliwell 1993, Reiter 1997).

Endoplazmik retikulum ve çekirdek zarında ise serbest radikal üretimi membrana bağlı sitokromların oksidasyonundan kaynaklanır (Akkuş 1995). Sitokrom P₄₅₀ tarafından yürütülen ksenobiyotiklerin metabolizması sırasında da serbest radikaller oluşabilir (Winston ve ark 1984).

•**Aktive Olmuş Fagositler (Respiratory Burst):** Fagositik hücreler (nötrofiller, monositler ve makrofajlar) çeşitli biyolojik hedeflerin parçalanmasına sebep olan ve enfeksiyona karşı hücrel yanıtı başlatan hücrelerdir. Fagositik hücreler duyarlı hale geldiklerinde mitokondri dışı oksijen kullanımında ani artış ile oluşan solunum patlaması (respiratory burst) sonucu antibakteriyel savunma için gerekli olan serbest oksijen radikallerini oluştururlar. Bu olayı hücre zarında bulunan NADPH oksidaz katalizler.

NADPH'den iki elektron alınarak, iki molekül oksijene aktarılır. Böylece iki molekül O₂^{•-} oluşur. Oluşan süperoksit radikali, bakterisidal bir ajan olan hidrojen peroksit'e dönüşür (Elsbach ve Weiss 1985, Solomkim ve ark 1985, Akkuş 1995, Hampton ve ark 1998).



•**Peroksizomlar:** Mikrocisimler ya da peroksizomlar karaciğer dahil birçok dokuda bulunur. Bunlarda bulunan oksidazlar (ürat oksidaz, L-hidroksilizin oksidoz, D-amiroasid oksidaz gibi) H_2O_2 üretimine neden olurlar (Hampton ve ark, 1998).

•**Oksidatif stres yapıcı durumlar:** İskemi, travma, intoksikasyonlar ve infeksiyonlar serbest radikal üretimine neden olmaktadır. Günümüzde sepsisemi ve septik şok vakalarından ölüm oranının % 40-60 arasında olduğu ve ölümlerde SOR'nin önemli rolü olduğu bildirilmektedir (Peralta ve ark 1993).

•**Hücre Zarı:** Hücre zarında bulunan araşidonik asit siklooksijenaz yoluyla prostaglandin ve tromboksanlara, lipooksijenaz yoluyla da lökotrienler ve lipoksinlere çevrilir. Bu iki metabolik reaksiyon sırasında serbest radikaller oluşmaktadır (Nizamlıoğlu 2000).

2.5.2. Serbest Radikal Oluşumunu Etkileyen Diğer Faktörler

Hemoglobinin oksidasyonu, serbest radikal oluşumuna neden olabilir (Thomas, 2000; Fehrenbach ve Northoff 2001).

İnsan vücudunda toplam hemoglobin miktarının %3'ü otooksidasyon yoluyla biçim değiştirir. Egzersiz sırasında artan bu reaksiyon, methemoglobin ve süperoksit iyonu üretir (Cooper ve ark, 2002; Finaud ve ark 2006).

Diğer radikal üretim kaynakları ise, katekolaminlerin otooksidasyonu, fagosit hücrelerin (nötrofil, monosit ve makrofaj gibi) hasarlı dokuya saldırısı, demir içeren proteinlerin parçalanması, hücre içinde aşırı kalsiyum birikimi ve laktik asit artışıdır (Sjodin ve ark, 1990; Halliwell, 1995; Ji, 1999).

2.5.3. Serbest Radikallerin Etkileri

2.5.3.1. Hücresel Yapılar Üzerine Etkileri

Serbest radikallerin belirli miktarlardaki üretimi, sağlık için gereklidir ve başta bağışıklık sistemi olmak üzere, hücresel sinyal iletiminde, enzim aktivasyonlarında, kimyasal reaksiyonların seyrinde, hücrelerin biyogeneğinde ve kas kasılmasında rol oynarlar (Thomas 2000; Banarjee ve ark, 2003). Ayrıca serbest radikaller organizmada mikroorganizmaların öldürülmesi, düz kas tonusunun ayarlanması ve sitokrom P_{450} oksidasyonları gibi önemli fizyolojik reaksiyonları düzenlerler. Serbest radikaller bu yararlı fonksiyonları yanında, reaktif oldukları için, fazla miktarda oluştukları zaman hücrede lipid, DNA, protein ve karbonhidrat

gibi hücre komponentlerini etkileyerek hücre ve dokularda zararlı etkilere yol açarlar (Velioglu 2000).

Pek çok yararlı etkilerine karşın, serbest radikallerin fazla üretimi, hücre zehirlenmesine, doku yaralanmasına, yangılara ve dokularda fonksiyon bozukluğuna yol açar. Son yıllarda yapılan çalışmalar, serbest radikallerin miyokard enfarktüsü, iskemi ve ateroskleroz gibi kardiyovasküler hastalıklar, nörolojik hastalıklar, kas hastalıkları ve astım, diyabet, katarakt, kanser gibi birçok hastalıkla ve yaşlanma süreciyle ilişkisi olduğunu göstermektedir (Thomas 2000).

Proteinlerin etkilenme dereceleri içerdikleri aminoasit kompozisyonuna bağlıdır. Triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin ve sistein gibi doymamış bağ ve kükürt içeren aminoasitlerden meydana gelmiş IgG ve albumin gibi proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Sonuçta kükürt radikalleri ve karbon merkezli radikaller meydana gelir (Aruoma 1994). Serbest radikallerin oluşturduğu hasar sonucunda proteinlerde fragmentasyon, çapraz bağlanmalar ve proteinlerin agregasyonu ortaya çıkar (Başpınar ve Kurtoglu, 2003).

Enzimler de protein yapısında olduklarından serbest radikaller enzim aktivitelerinde de değişiklikler meydana getirirler. Hem proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar görürler. Özellikle oksihemoglobin, $O_2^{\bullet}$ ya da H_2O_2 ile reaksiyona girerek methemoglobin oluşturur (Akkuş 1995).

Serbest radikaller; DNA'da baz modifikasyonlarına ve zincir kırılmalarına neden olarak hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar (Aruoma 1994, Başpınar ve Kurtoglu, 2003).

Serbest lipid grupları da, ayrıca doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonuna neden olur. Lipid hidroperoksitlerin yıkımı ile oluşan ve biyolojik olarak aktif olan aldehidler ya hücre düzeyinde metabolize olurlar ya da başlangıçtaki etki alanlarında diffüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarak sekonder bozuklukların da göstergesi olabilirler. Beyin, oksidatif hasara en duyarlı bölgedir. Serbest radikaller, santral sinir sisteminin patolojik durumlarının pek çoğunda, direkt olarak doku hasarı meydana getirirler. Serbest oksijen türleri, ekzitotoksisite, metabolik disfonksiyon ve kalsiyumun intraselüler homeostazisinde bozulma gibi çoğul mekanizmalarla doku hasarı meydana getirirler. (Facchinetti ve ark, 1998; Güven ve ark, 2003).

Lipid peroksidasyonun en önemli ürünü malondialdehid (MDA) dir. Üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda MDA meydana gelir. Oluşan MDA, hücre membranlarından iyon alış-verişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar ve iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur. MDA bu özelliği nedeniyle, DNA'nın nitrojen bazları ile reaksiyona girebilir ve bundan dolayı mutajenik, hücre kültürleri için genotoksik ve karsinogeniktir (Porter, 1984; Placer ve ark, 1990).

2.5.3.2. Membran Lipidleri Üzerine Etkileri

Lipid peroksidasyonu olarak bilinen membran lipidlerindeki hasar, serbest radikaller tarafından başlatılan ve zar yapısındaki poliansatüre yağ asitlerinin oksidasyonunu içeren kimyasal bir olay olarak tanımlanmaktadır (Uysal 2000). Lipid peroksidasyonu, hücre zarındaki lipidlerin yapısını bozarak, hücre zarının akışkanlığını değiştirir, konsantrasyon dengesinin sürdürülebilme kapasitesini düşürür ve hücre zarı geçirgenliğini ve iltihaplanmayı artırır.

2.5.3.3. Proteinler Üzerine Etkileri

Serbest radikaller, kan ve yapısal proteinleri okside edebilir ve proteinlerin daha basit bileşiklere parçalanmasını sağlayan sistemi yavaşlatabilir (Szweda ve ark, 2002). Oksidasyon sırasında proteinler aminoasit kaybedebilir veya parçalanabilirler. Bu reaksiyonlar yapısal proteinlerin veya enzim fonksiyonlarının değişimine yol açar (Radak ve ark, 1999). Enzimlerin ve yapısal proteinlerin oksidatif modifikasyonları, Alzheimer hastalığı, katarakt oluşumu, kronik akciğer hastalığı, kronik böbrek yetmezliği, Parkinson hastalığı, mesane kanseri gibi çok sayıda hastalığın oluşmasında ve ilerlemesinde önemli rol oynar (Çakatay ve Kayalı, 2004). Protein oksidasyonu, iltihaplanma, fiziksel egzersiz veya iskemi-reperfüzyon sonucu oluşabilir (Levine, 2002).

2.5.3.4. Nükleik Asitler ve DNA Üzerine Etkileri

DNA'nın her bir parçası, serbest radikallerin saldırılarına karşı kolay bir hedeftir. DNA oksidasyonu, mutasyonların meydana gelmesini harekete geçirebilir ve insanda kanser ve hücre yaşlanmasına büyük bir katkıda bulunur (Beckman ve Ames, 1997; Radak ve ark, 1999; Wallace, 2002).

2.5.3.5. Karbonhidratlar Üzerine Etkileri

Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerine de önemli etkileri vardır. Monosakkaridlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksitler ve okzoaldehidler meydana gelir. Bunlar diabet ve sigara içimi ile ilişkili kronik hastalıklar gibi patolojik süreçlerde önemli rol oynarlar (Akkuş, 1995).

2.6. Antioksidanlar

Hücreler metabolik süreçlerin bir parçası olarak, sürekli serbest radikaller ve reaktif oksijen türleri meydana getirirler. Bununla eş zamanlı olarak, serbest radikallerin zararlı etkilerini engellemek üzere organizmada, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemleri veya kısaca antioksidanlar olarak adlandırılan çeşitli savunma mekanizmaları gelişmiştir (Halliwell, 1995; Urso ve Clarkson, 2003; Banarjee ve ark, 2003).

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta birçok savunma mekanizmaları gelişmiştir. Bunlara “antioksidan savunma sistemleri” yada kısaca “antioksidanlar” adı verilir (Kurata ve ark 1993).

Antioksidanlar başlıca;

- Serbest radikal üreten kimyasal reaksiyonları durdurarak zincir kırıcı etki gösterirler.
- Serbest radikalleri etki alanlarından toplayarak temizlerler.
- Reaksiyon hızını baskılayarak radikal üretimini azaltırlar.
- Oluşan hücre hasarını onarırlar.

Antioksidanlar bu amaçla, reaktif maddeleri ve reaksiyonlarını dengede tutabilmek üzere sürekli aktivite gösterirler Antioksidanların ilk belirlenen etkileri, zar yapısında bulunan lipidlerin peroksidasyona karşı korunması olmuştur. Bunun sonucu olarak antioksidanlar, lipid peroksidasyonunu engelleyen moleküller olarak tanımlanmışlardır. Günümüzde ise antioksidanların tanımı, lipidlerin yanı sıra proteinler, nükleik asitler ve karbonhidratlar gibi diğer hedef molekülleri koruyucu etkilerini de içerecek şekilde genişletilmiştir (Halliwell, 1995; Yalçın, 1998).

2.6.1. Antioksidanların Sınıflandırılması

2.6.1.1. Enzimatik Antioksidanlar

Biyolojik ve biyokimyasal sistemlerde katalaz (CAT), peroksidaz (POD), glutatyon redüktaz (GSSG-Rx) ve süperoksit dismutaz (SOD) antioksidan etkiye sahip enzimlerdir. Antioksidan savunma sistemi, hücreyi serbest radikal veya diğer reaktif moleküllerin oksidatif hasarından korur. Bundan dolayı bu savunma sisteminde CAT, POD, GSSG-Rx ve SOD gibi antioksidan enzimler büyük öneme sahiptir.

Süperoksit dismutaz (SOD)

SOD, oksidatif strese karşı ilk savunma hattıdır (Finaud ve ark, 2006). Süperoksit radikalının, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü sağlar, böylece hücre içindeki süperoksit radikali düzeylerini azaltır (Akyol, 2004).

Katalaz (CAT)

Bu enzim, glutatyon peroksidaz ile beraber hücre içi hidrojen peroksitin yok edilmesi veya vücuttan atılmasında rol alır. Katalazın doku dağılımı, süperoksit dismutaz gibi geniştir. Ancak karaciğer, böbrek ve eritrositler rölatif olarak bu enzimi daha yüksek düzeylerde bulundurlar. Hücre içinde sitozolde de bulunmakla birlikte, daha çok peroksisomlarda bulunur. Katalaz özellikle hidrojen peroksitin arttığı durumlarda etkilidir (Gönenç, 1995) ve hidrojen peroksiti, oksijen ve suya dönüştürerek ortadan kaldırır (Finaud ve ark, 2006).

Katalaz, protein yapısında bol miktarda bulunan karakteristik bir enzimdir. Bu enzim yaygın bir şekilde hayvan, bitki ve mikroorganizmada mevcuttur. Ayrıca toksik hidrojen peroksidi hücrelerden uzaklaştırmada da önemli bir rol oynar (Chugh ve ark, 1996; Güven ve ark, 2003). Serbest radikallerin zararlı etkileri hücrelerdeki antioksidant savunma sistemleri tarafından kontrol edilir (El-Demerdash ve ark, 2004). Katalaz enzimi hayvan hücrelerinin özellikle peroksizom organellerinde de yoğun bir şekilde bulunur (Cochranc, 1991). Katalazın canlı organizmanın eritrosit, karaciğer, böbrek, kemik iliği ve çeşitli dokularında da bulunur (Cross ve ark, 1987). Farelerde bu enzimin birçok şekli saptanmıştır (Joence, 1989; Kalender ve ark, 2002). Birçok ilaç ve kimyasal maddeler vücudun belli organlarında serbest radikal oluşum hızını artırabilir (Janssen ve ark, 1993). Bu nedenle, antioksidan enzimler hem hücrenin kararlılığını muhafazada hem de serbest radikalleri yok etmede çok önemlidir (Facchinetti ve ark, 1998; Altuntaş ve ark, 2003).

Glutasyon peroksidaz (GPx)

Vücudun bütün doku ve hücrelerinde bulunmakla birlikte organlara göre farklılıklar mevcuttur. Beyindeki aktivitesi diğer bazı dokulara göre daha azdır. Hücre içinde sitoplazmada ve mitokondride daha yoğun olarak bulunur. Hidrojen peroksitin ve organik hidroperoksitlerin indirgenmesini sağlar. GPx'in fagositik hücrelerde önemli fonksiyonları vardır. Solunum patlaması sırasında, serbest radikal peroksidasyonu sonucu fagositik hücrelerin zarar görmelerini engeller. Eritrositlerde de GPx, oksidan strese karşı en etkili antioksidandır. GPx aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksitin artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açar (Janssen ve ark, 1993; Velioğlu, 2000).

Glutasyon redüktaz (GSSG-R)

Bu enzim, GPx etkisi ile oluşan okside glutasyonun (GSSG) tekrar redüklenerek proton verebilecek duruma gelmesinde etkindir. Reaksiyonda NAD ve NAPH koenzimleri de önemli rol alır. Oluşan redükte glutasyon (GSH) yeniden oksitlenmek üzere ortamdaki serbest radikalleri temizlemeye hazır hale gelir. Organizmada sözü edilen bu reaksiyonlar genellikle kombine halde gerçekleşir ve GPx ile GR enzimleri sinerjik olarak etkilidirler (Forstrom ve ark, 1978; Ursini ve ark, 1985).

2.6.1.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

Glutasyon (GSH)

Karaciğerde, genetik bilgiye ihtiyaç olmadan sentezlenebilen bir tripeptittir. Glutamik asit, sistein ve glisin aminoasitlerinden meydana gelmiştir. Glutasyon peroksidaz, glutasyon redüktaz ve glutasyon transferaz enzimlerinin substratıdır. Hidroksil radikalini ve reaktif singlet oksijeni bağlarlar (Kurata ve ark, 1993). Bunun dışında, proteinlerdeki –SH gruplarının redükte halde tutar ve bu grupları oksidasyona karşı korur. Böylece, fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller. Yabancı bileşiklerin detoksifikasyonunu ve aminoasitlerin membrandan transportunu sağlarlar. Eritrositleri, lökositleri ve göz lenslerini oksidatif strese karşı korumada hayati öneme sahiptir. Hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşmesini önlemede rol alır (Pippenger ve ark, 1998).

Organizmada görev yapan diğer bir non enzimatik antioksidanlar ise tokoferoller (özellikle alfa tokoferol), melatonin, ürik asit ve vitamin C dir (Dündar ve Aslan 1999a,b).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1.Hayvan Metaryali

Araştırmada 6 aylık yaşta, canlı ağırlıkları birbirine yakın, toplam 90 adet erkek beyaz fare (Albino Swiss) kullanıldı. Araştırma Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Deney Hayvanları Ünitesi'nde yürütüldü.

3.1.2 Yem Metaryali

Araştırmada hayvanların besin madde, vitamin ve mineral ihtiyaçlarını karşılayan standart fare yemi kullanıldı. İlgili firmadan temin edilen bu yeme, zeytinyağı ve balık yağı (Menhaden fish oil-Merck F- 8020) ilaveleri yapıldı (Tablo 4).

3.2.Metot

3.2.1.Deneme Düzeni

Denemede her birinde 30 adet fare içeren 3 grup oluşturuldu. Denemeye başlamadan önce bütün hayvanlar tartılarak canlı ağırlıkları tespit edildi ve canlı ağırlıkları birbirine yakın olacak şekilde gruplara dağıtıldı. Deneme süresince hayvanlar yemi ve suyu ad libitum olarak tükettiler. Araştırma 60 gün sürdürüldü.

Araştırmada oluşturulan gruplara göre farelerin dağılımı tablo 3 te verilmiştir.

Çalışmada kontrol (1.grup), balık yağı (2.grup), balık yağı + zeytinyağı (3.grup), grupları oluşturuldu. Oluşturulan gruplar ve gruplara göre ilave edilen katkı düzeyleri tablo 4 te görülmektedir.

Denemede kullanılan balık yağı ve zeytinyağının yeme iyice karışması ve homojen olarak dağılması sağlandı. Farelere verilen bu yemler lipid peroksidasyonunu minimize etmek amacı ile ikişer gün aralıklarla hazırlandı ve ışık geçirmeyen siyah poşetlerde, + 4 °C de saklandı.

Tablo 3. Çalışmada oluşturulan grupların dağılımı

Grup	Gruplar	Toplam hayvan
1.Grup	Kontrol	30
2. Grup	Balık Yağı	30
3. Grup	Balık Yağı + Zeytinyağı	30

Tablo 4. Deneme gruplarına uygulanan katkı düzeyleri

Grup No	Gruplar	Balık Yağı %	Zeytinyağı %
1.Grup	Kontrol	-	-
2.Grup	Balık yağı	1	-
3.Grup	Balık Yağı + Zeytinyağı	1	5

Tablo 5. Çalışmada kullanılan balık yağının (Menhaden Fish Oil) yağ asidi içeriği*

Yağ asidi	Oran %
14:0 Miristik asit	6-9
16:0 Palmitik asit	15-20
16:1 Palmitoleik asit	9-14
18:0 Stearik asit	3-4
18:1 Oleik asit	5-12
18:2 Linoleik asit	<3
18:3 Linolenik asit	<3
18:4 Octadecatetraenoic asit	2-4
20:4 Arahidonik asit	<3
20:5 Eicosapentaenoik asit	10-15
22:6 Docosaheksaenoic asit	8-15

* (www. sigma-aldrich.com)

3.3. Kan örneklerinin alınması ve analizler

Araştırma sonunda (60.gün) hayvanlar eter anestezisi ile uyutuldu. Uyutulan farelerden kardiyak punksiyonla alınan kanlar, LPO, CAT, GPx, GR, LDH, glikoz, ürik asit, albumin analizleri için cam tüplere aktarıldı; 3000 devirde +4 °C de 10 dakika santrifüj edilerek plazmaları elde edildi ve elde edilen plazmalar analize kadar -75°C’de saklandı.

Kan örneklerinin alınmasını takiben bütün hayvanlara 10 cc intrakardiyal formalin solusyonu verilerek ötenazi işlemi gerçekleştirildi.

Analizler:

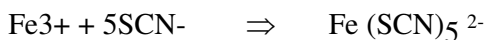
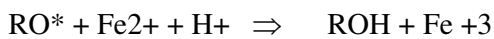
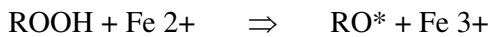
Kan plazmasında LPO, CAT, GPx, GR ölçümleri Cayman (Chemical Company 1180 E. Ellsworth Rd. Ann Arbor, MI 48108) test kitleri kullanılarak gerçekleştirildi.

Çalışmada adı geçen kan analizleri, her bir gruptan sağlıklı olarak alınabilen ve plazmaları elde edilebilen örneklerde çalışılmıştır. Tablolardan (Tablo 6 ve 7) anlaşıldığı gibi örnek sayıları (n), başlangıçta gruplarda bulunan hayvan sayılarından (30) farklılık arz etmektedir.

LPO tayini:

Lipid peroksidasyonunun belirlenmesinde geleneksel olarak günümüze kadar PUFA lerin oksidasyon ürünleri olan MDA ve 4-hidroksinonenal (4-HNE) gibi aldehytlerin ölçümü esas alınmakta idi. MDA ve benzer aldehytlerin oldukça dayanıksız olmaları, reaksiyonlar esnasında değişik geçiş metal iyonlarına göre farklı reaksiyon vermeleri gibi nedenlerle güvenilir sonuçlar alınmamaktadır. Örneğin kolesterol ve oleik asit gibi hücrel lipitlerden şekillenen hidroperoksitlerin yıkılımları ile MDA ve 4-HNE gibi ürünler şekillenmez, buna bağlı olarak MDA ölçümleri beklenenin altında sonuçlar verebilirken, kan pıhtılaşması (thromboxane synthase aktivitesi) ve trombosit aktivitesi esnasında bile ng/ml düzeylerinde şekillenebilen MDA, yüksek konsantrasyonlarda ölçülebilir (Pryor ve Porter, 1990). Belirtilen bu nedenlerle günümüzde artık sadece lipidlerden oluşan peroksidasyonun tanımlanması ve tayini esas alınmakta ve bu amaçla LPO değerleri kullanılmaktadır.

Hidroperoksitler ferro demir ile reaksiyona girerler ve ferik demiri oluştururlar. Oluşan ferik demir iyonları da tiyosiyanatlar ile reaksiyona girerek renkli demirsiyanatları verirler.

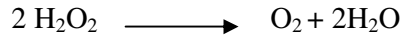


Ortamdaki endojen ferik demir iyonlarından ya da H₂O₂ ile interferensten oluşacak hatalar ise ekstraksiyonların klorofom içerisinde yapılması ile önlenmekte ve böylece sadece lipidlerden oluşan hidroperoksitler (LPO) değerlendirilmektedir (www.caymanchem.com)

Çalışmada örneklerin LPO değerleri, spektrofotometre de (Shimadzu- UV 2100 Japan) 500 nm de elde edilen absorbansların standart eğri grafiğine uyarlanması ile belirlendi.

CAT tayini:

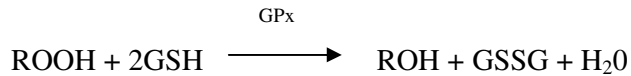
Çoğu aerobik hücrelerde normal aerobik metabolizma sonucu yoğun miktarda oluşan H₂O₂, reaktif bir oksijen türü olup CAT enzimi tarafından detoksifiye edilir.



Çalışmada her bir numunenin absorbansları 540 nm filtreli plate okuyucuda (MWGt Lambda Scan 200 Biotech Instruments Inc. USA) de okundu ve standart absorbanslar yardımı ile numune CAT değerleri belirlendi.

GPx tayini:

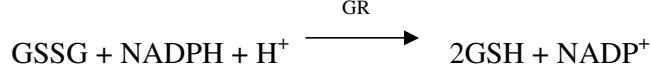
GPx enzimi, redükte glutasyon (GSH) ile birlikte hidroperoksitlerin redüksiyonunu katalizler ve bu şekilde hücreler oksidatif hasardan korunmuş olur. Elektron verici olarak glutasyon (GSH) kullanılır.



Çalışmada GPx ölçümü 340 nm de mikropate okuyucuda elde edilen absorbanslar ile gerçekleştirildi ve dakikalar arası değişimler ile GPx aktivitesi hesaplandı.

GR tayini

Glutasyon redüktaz (GR), NADPH bağımlı bir reaksiyon ile okside glutasyonun (GSSG) yeniden redüklenerek (GSH) yeni hidroperoksitlerin detoksifiye edilmesini sağlayan bir enzimdir.



Antioksidan savunmada esas olan faktör GPx aktivitesi ile okside hale gelen glutasyonun (GSSG) yeniden redüklenerek proton vericisi olarak fonksiyon yapmaya hazır hale gelmesidir. Oksidatif strese karşı organizmanın aktif savunması yüksek GSH/GSSG oranı ile açıklanabilir.

Glutasyon redüktaz (GR) aktivitesinin belirlenmesinde prensip NADPH ın NADP⁺ ye oksidasyonunun 340 nm de zamana karşı azalan absorbanslarla karakterize olmasıdır ve bu değişim her bir örnekteki GR aktivitesini verir. Araştırmada plazma örneklerinin GR aktiviteleri 340 nm filtreli plate okuyucuda (MWGt Lambda Scan 200 Biotech Instruments Inc. USA) belirlenen absorbans değişimlerine göre belirlendi.

LDH Analizi:

Laktat dehidrogenaz (LDH) piruvatın NAD 'e redüksiyonunu katalize eder. NADPH konsantrasyonundaki kinetik azalma hızı ise spektrofotometrik olarak ölçülerek LDH değerlerini verir. Çalışmada da, belirtilen bu prensibe uygun olarak her bir örneğin 340 nm de spektrofotometrik (Shimadzu UV-2100 JAPAN) olarak absorbansları 1 dk aralıklarla ticari kit (Spinreact S.A. Ctra. Santa Coloma, 7 E-171716 SANT ESTEVE DE BAS (GI) SPAIN) yardımı ile belirlenerek, ΔA /dk değişimlerine göre LDH konsantrasyonları hesaplandı.

Albumin, Glikoz ve BUN analizleri:

Araştırmada gruplardan elde edilen plazma örneklerinde belirtilen analizler spektrofotometrik (Shimadzu 2100 UV JAPAN) olarak ticari kitler (Biosystems GmBH) kullanılarak gerçekleştirildi.

3.4. İstatistik analizleri

Gruplar arasında farklılığı belirlemek için; her grup bağımsız ele alınarak tek yönlü varyans analizi (one-way variance) yapıldı. Gruplar arasındaki farklılığın düzeyi ise Duncan Multiple Range testine göre belirlendi (SPSS, 1998).

4. BULGULAR

Araştırmada deneme gruplarında çalışılan kan parametrelerine ait tek yönlü varyans analizi ve gruplar arasında tespit edilen istatistiksel farklılıklar Tablo 6 ve 7 de; canlı ağırlık değişimleri ise Tablo 8 de sunulmuştur.

Kan plazması LPO değerleri ile antioksidan parametrelerden CAT ve GR enzimlerinin balık yağı ve zeytinyağı katkılarından etkilendiği görülmektedir (Tablo 6). LPO özellikle sadece balık yağı verilen grupta düşmüş olmakla birlikte elde edilen değer istatistiksel anlamda kontrol grubu ile benzerdir. Ancak, balık yağına ilaveten zeytinyağının ilave edildiği grupta bu değer belirgin bir yükselme göstermiştir ($P<0.001$).

Antioksidan enzimlerden GPx ile CAT değerleri balık yağı grubunda diğer gruplara oranla belirgin artışlar göstermiştir. Glutasyon peroksidaz enziminde ise rakamsal düşüş ($P>0.05$) dikkat çekmektedir.

Araştırmada antioksidan parametreler dışında incelenen albumin, glikoz, LDH değerlerinin de gruplar arası farklılıklar gösterdiği görülmektedir. Albumin değerleri en yüksek (3.88 g/L) balık yağı grubunda tespit edilmiş olup, bu değer istatistiksel olarak kontrol grubuna yakındır ancak zeytinyağının ilave olarak verildiği grupta en düşük (3.43 g/L) olarak tespit edilmiştir. Glikoz değerleri de yine balık yağı grubunda en düşük tespit edilmiştir ($P<0.001$). Balık yağı grubunda LDH değerleri açısından gözlenen düşüş ise gruplar arasında daha belirgindir ($P<0.001$). Kan üre nitrojeni (BUN) değerlerinde ise gruplararası farklılık belirlenememiştir.

Deneme başı ve sonunda elde edilen canlı ağırlık verileri arasında ise gruplararası farklılığın şekillenmediği görülmüştür (Tablo 8).

Tablo 6. Araştırmada gruplardan elde edilen kan plazması LPO ve antioksidan enzim değerleri

Gruplar/ Parametre		Kontrol		Balık Yağı		Balık yağı + Zeytinyağı	
	n	X ± SD	n	X ± SD	n	X ± SD	P
LPO (µM)	10	3.58 ±0.65 ^b	11	3.20 ± 0.86 ^b	13	5.14 ± 0.78 ^a	0.000
CAT (nmol/dk/ml)	10	25.71± 2.37 ^b	11	31.35± 2.63 ^a	13	30.02 ± 3.13 ^a	0.000
GPx (nmol/dk/ml)	10	32.52 ± 5.24 ^b	11	39.48 ± 4.87 ^a	13	34.36± 4.36 ^b	0.006
GR (nmol/dk/ml)	10	23.86 ± 1.57 ^a	11	15.08 ± 2.03 ^c	13	21.17 ± 2.77 ^b	0.000

Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler birbirinden farklı bulunmuştur.

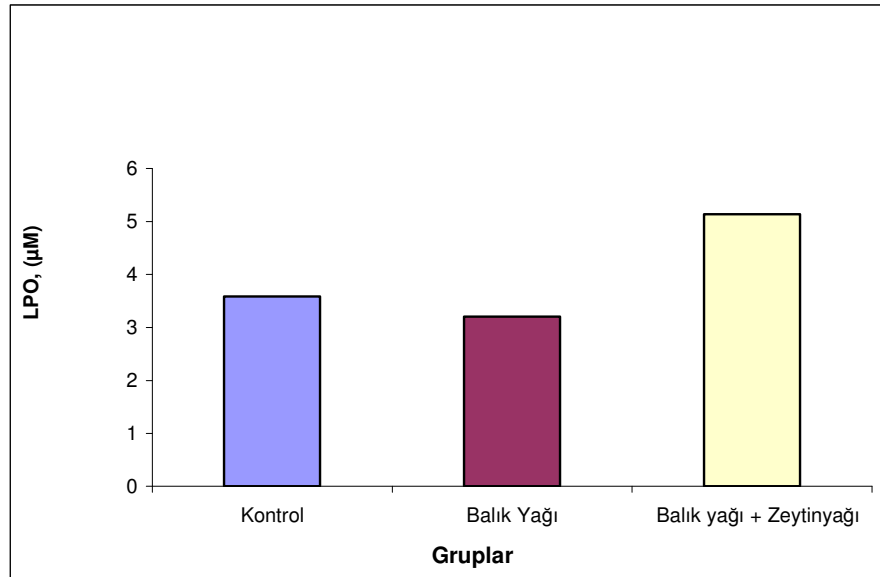
Tablo 7. Araştırmada gruplar arasında elde edilen bazı biyokimyasal parametreler

Gruplar/ Parametre		Kontrol		Balık Yağı		Balık yağı + Zeytinyağı	
	n	X ± SD	n	X ± SD	n	X ± SD	P
Albumin (g/L)	10	3.54 ± 0.33 ^{ab}	11	3.88 ± 0.46 ^a	13	3.43 ± 0.43 ^b	0.038
Glikoz (mg/dl)	10	135.44 ± 12.21 ^b	11	131.88 ± 12.37 ^b	13	150.38 ± 11.02 ^a	0.001
BUN (mg/dl)	10	10.32 ± 1.59	11	9.12 ± 1.32	13	9.95 ± 1.81	0.223
LDH (U/L)	10	347.08 ± 29.44 ^a	11	246.94 ± 27.99 ^c	13	306.48 ± 37.65 ^b	0.000

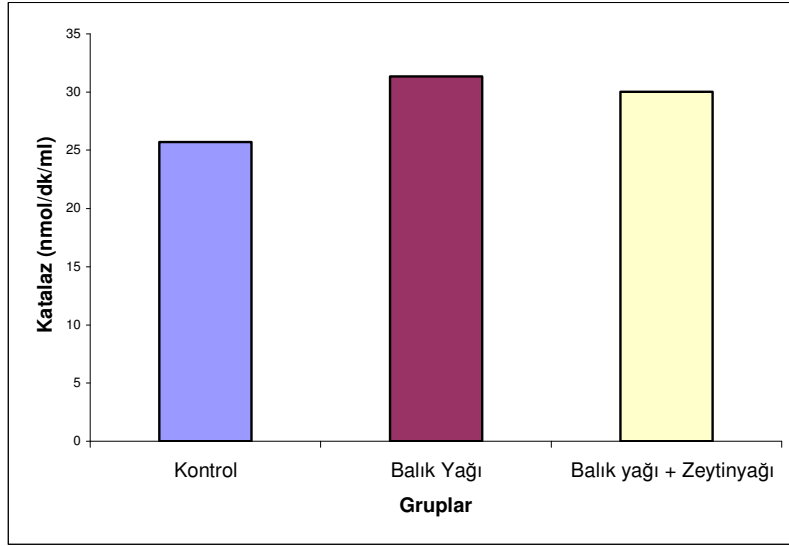
Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler birbirinden farklı bulunmuştur.

Tablo 8. Araştırmada gruplardan elde edilen canlı ağırlık değerleri

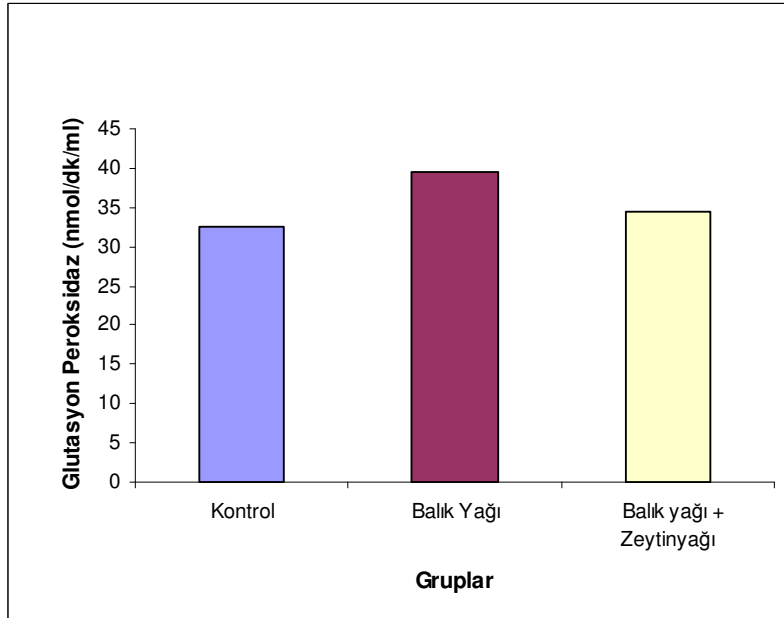
Gruplar		Kontrol		Balık Yağı		Balık yağı + Zeytinyağı	
	n	X ± SD	n	X ± SD	n	X ± SD	P
Deneme Başı	30	40.48 ± 5.83	30	40.43 ± 5.52	30	40.38 ± 6.91	0.988
Deneme Sonu	22	43.15 ± 4.24	24	43.76 ± 4.60	23	43.30 ± 4.99	0.898



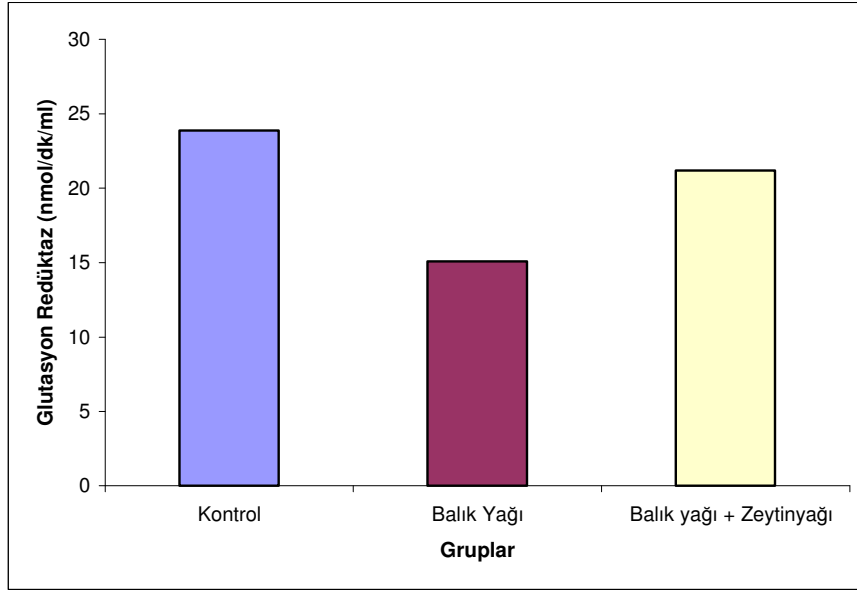
Şekil 2. Gruplara göre plazma LPO değişimleri



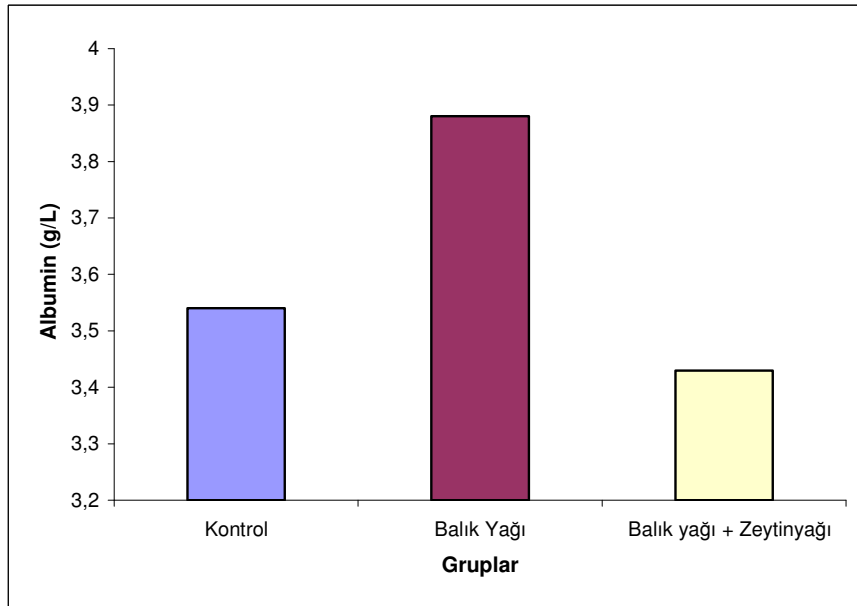
Şekil 3. Gruplara göre plazma CAT değişimleri



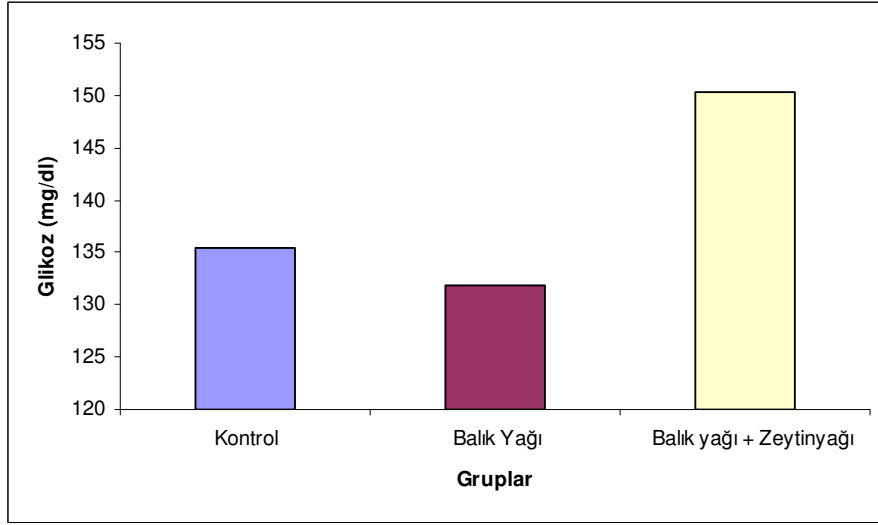
Şekil 4. Gruplara göre plazma GPx değişimleri



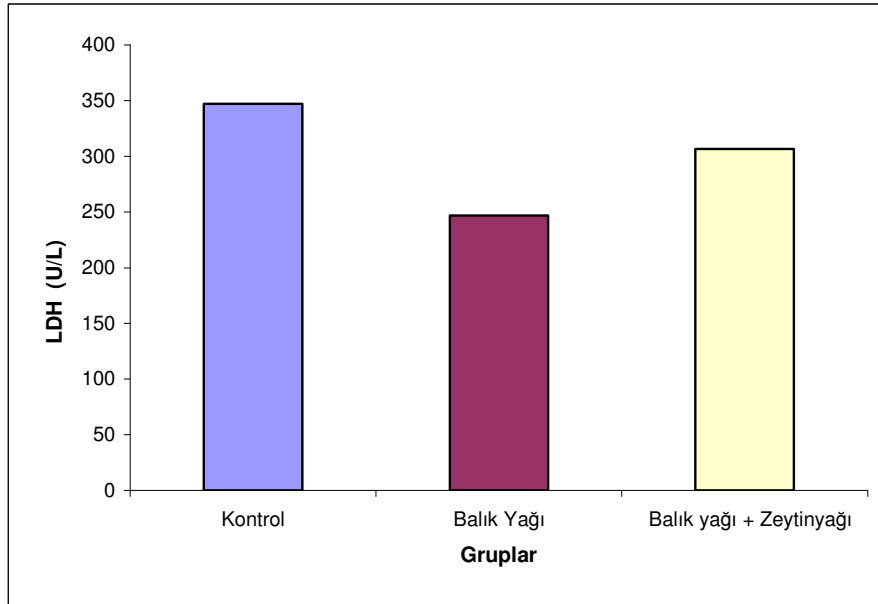
Şekil 5. Gruplara göre plazma GR değişimleri



Şekil 6. Gruplara göre plazma albumin değişimleri



Şekil 7. Gruplara göre plazma glikoz değişimleri



Şekil 8. Gruplara göre plazma LDH değişimleri

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu araştırmada erkek farelerde balık yağı-Menhaden Fish oil (%1) ve zeytinyağı (%5) katkılarının, LPO değerlerine, GPx, GR, CAT gibi antioksidan enzim parametrelerine, LDH, albumin, ürik asit, glikoz değerleri ve canlı ağırlık değişimlerine etkileri araştırılmıştır.

Lipidler organizma içerisinde oksidasyona en çok duyarlı olan organik yapılardır. Özellikle tekli doymamış (MUFA) ile çift bağ sayısı arttıkça artan bir peroksidasyon riski taşıyan çoklu doymamış (PUFA) yağ asitlerini içeren yağlar bu gruptadırlar (Mete ve ark, 1999; Luostarinen ve ark, 2001; Rey ve ark, 2003; Miret ve ark, 2003).

İnsanlar (Tortosa ve ark, 1999; Barbosa ve ark, 2003; Berbert ve ark, 2003) ve ratlar (Miret ve ark, 2003; Sarsılmaz ve ark, 2003; Erdoğan ve ark, 2004) üzerinde, özellikle ω -3 ve ω -6 yağ asitlerinin lipid peroksidasyonuna duyarlılıkları ve antioksidan savunma sistemine etkilerini araştıran bir çok çalışma mevcuttur. Bu çalışmalardan elde edilen veriler, esansiyel yağ asitlerinin özellikle de ω -3 yağ asidi yönünden oldukça zengin olduğu bilinen balık yağının organizmadaki sözü edilen antioksidan savunma hattı üzerindeki etkilerinin oldukça farklılıklar gösterebileceğini ortaya koymaktadır.

Sunulan çalışmada balık yağı verilen grupta, lipid peroksidasyon ürünü olan LPO değerinin en düşük değerde olduğu görülmekle birlikte istatistiksel anlamda bu değer kontrol grubuna yakındır. Ancak ilave olarak zeytinyağı verilen grupta LPO değeri anlamlı ($P<0.001$) şekilde yükselmiştir (Tablo 6). Bu veriler ratlarda diyetle balık yağı ilavesi ile lipid peroksidasyon parametrelerinde (TBARS- Thiobarbutirik asit substans- MDA) önemli azalmalar oluştuğunu belirten çalışmalar (Sarsılmaz ve ark, 2003; Barbosa ve ark, 2003; Erdoğan ve ark 2004) ile uyum göstermektedir. Bunun yanı sıra birtakım araştırmacılar ise (Mete ve ark, 1999; Luostarinen ve ark, 2001; Miret ve ark, 2003) balık yağının ω -3 PUFA yönünden zengin ve lipid peroksidasyona karşı oldukça duyarlı olduğunu; antioksidan savunma maddelerinde azalma oluşturduğunu; doymamış yağ asiti taşıyan yağlarla ağırlıklı beslenmede diyetle ilave olarak başta vitamin E olmak üzere değişik antioksidanların katılması gerektiğini savunmaktadırlar.

Araştırmacılar (Barbosa ve ark, 2003; Erdoğan ve ark, 2004) balık yağı ω -3 yağ asitlerinin organizmada yangısel reaksiyonlara bağlı olarak gelişen hastalıkları önleyerek serbest radikal temizleyicisi olarak rol aldığını belirtmektedirler. Sarsılmaz ve ark (2003), antioksidan savunmada olumlu etkileri olan ω -3 esansiyel yağ asitlerinden özellikle balık yağında bulunan ω -3 lerin diğer kaynaklarda bulunanlardan çok daha etkili olduğunu savunmaktadırlar. Adı geçen araştırmacılar (Sarsılmaz ve ark, 2003) ratlarda balık yağı ilavesi (0.4 g/kg/gün) ile 30 gün süreli yaptıkları çalışmalarında ω -3 türevi olan EPA ve DHA etkisi ile beyinde oksidatif stres değerlerinde (MDA) düşüş ve bazı antioksidan parametrelerde (NO, XO, SOD) ise önemli yükselmeler tespit ederek, ω -3 yağ asitlerinin beyin gelişimindeki ve beyin bölgesinde serbest oksijen radikallerinin artışı ile şekillenen şizofreni başta olmak üzere diğer nöroleptik bölge rahatsızlıklarının tedavisindeki etkinliğini ortaya koymuşlardır. Beyin hücrelerinin fosfolipidler yönünden zengin olduğu ve bu lipidlerin yapısal fonksiyonlarında DHA ların çok önemi rolü olduğu düşünülürse ω -3 yağ asitlerinin nöropsikiyatrik hastalıklar üzerindeki pozitif etkileri de daha net açıklanabilir.

Lipid metabolizmasında canlı türleri arasında görülen genetik farklılıklar organizmada oluşan lipid peroksidasyonunun da farklı gelişmesine de neden olabilir. Örneğin domuzlarda balık yağı ile yürütülen bir araştırmada (Allan ve ark, 2001) araştırmacılar, insan ve domuzlar arasında lipoprotein metabolizmasındaki temel farklılıklar nedeniyle araştırma sonuçlarının canlı türlerine göre değerlendirilmesi gerektiğini vurgulamaktadırlar. Araştırmacılar (Allan ve ark, 2001) domuzlarda;

1. Kandaki CETP düzeyinin çok düşük,
2. LDL apolipoprotein B nin yeniden (de novo) sentezinin, VLDL nin katabolize olmasına bağlı oluşan sentezden daha yüksek olduğunu,
3. LCAT enziminin kolesterol ester formasyonu için substrat olarak HDL den daha çok LDL kolesterolü tercih ettiğini ve bu mekanizmaların insan dahil diğer canlı türlerinde farklı olduğunu belirtmişlerdir.

Benzer farklılıklar ratlar için belirtilmiş (Bravo ve ark, 1998), ve ratlarda insanlardan farklı olarak LTP aktivitesinin olmadığı, HDL kolesterol düzeyinin yüksek olduğu ve balık yağının şilomikron kolesterolüne olan etkisinin özellikle rasyon lif düzeyi ile doğrudan ilişkili olduğu ifade edilmiştir. Farelerde bu konuda ayırıcı bir farklılık gösteren kaynağa rastlanmamış olmakla birlikte, ratlara benzerlik gösterebileceği düşünülmektedir.

Antioksidan savunmada organizma içinde sentezlenen antioksidan enzimler çok büyük yer tutarlar ve bu enzimlerin büyük bir kısmı besinsel faktörlerin etkisindedirler (Dündar ve Aslan, 1999a,b).

Sunulan çalışmada antioksidan enzimlerden CAT, GPx ve GR değerleri incelenmiş, GPx enziminin balık yağı grubunda önemli oranda ($P<0.01$) yüksek olduğu, katalaz enziminde de hem balık yağı hem de balık yağı+ zeytinyağı grubunda kontrol grubuna oranla önemli ($P<0.001$) artış oluşturduğu tespit edilmiştir. GR enziminde balık yağı grubundaki düşüş ise yine önemli ($P<0.001$) olup, bu düşüş, organizmada okside glutasyon (GSSG) miktarının azalmış olması ve buna bağlı olarak GR enzimine olan gereksinimin azalmış olabileceği şeklinde açıklanabilir. Keza, Connor (1995), GR enziminin diyetel faktörlerden etkilenmediğini, bu enzimin organizmadaki sentezinin GSSG miktarına göre düzenlendiğini belirtmektedir.

GSH/GSSG oranı organizmada metabolik olayları etkileyen bir faktördür. Bu oranın azalması, diğer bir deyişle GSSG (okside glutasyon) miktarının yükselmesi eritrositlerde NADPH düzeyinin düşmesine ve bu koenzime bağlı, başta glikoz metabolizması olmak üzere bir çok metabolik yolda düzensizliğe neden olmaktadır. Keza GR da NADPH bağımlı bir antioksidan enzimdir (Deleve and Kaplowitz, 1991).

Omega -3 yağ asitleri, serbest radikalleri temizlemek yanı sıra oluşumlarını da engelleyebilir. Yapılan bir araştırmada (Baydas ve ark, 2002) balık yağının, organizmada hidrojen peroksit oluşumunu hızlandıran ve kardiovasküler hastalıklara zemin hazırlayan önemli bir faktör olarak bilinen homosistein düzeylerini azalttığı (%20) ve dolaylı olarak serbest radikal oluşumunu önlediği bildirilmiştir. Balık yağının bu etkisi intraselüler methionin metabolizmasını düzenleyici etkisine bağlanmıştır. Zira bu metabolik yolda oluşan defektler plazma homosistein düzeylerinin yükselmesine neden olmaktadır (Olszewski ve ark, 1993; Baydas ve ark, 2002).

Erdoğan ve ark (2004), ratlara 500mg balık yağı içeren kapsüller (Marincap-Roche) kullanılarak oral yoldan 30 gün süre ile verilen balık yağı etkisi ile plazmada SOD, GSH-Px ve XO enzimlerinde ve endotel hücrelerce pozitif savunma için salgılanan NO (Nitrik oksit) değerlerinde önemli artışlar tespit etmişlerdir.

Serbest oksijen radikalleri hücre ve dokularda birikerek birtakım hasarlar oluştururlar. Omega 3 yağ asitlerinin bu hasarları önlemede 2 metabolik yoldan etkili olduğu ileri sürülmektedir (Masters, 1996; Özgöçmen ve ark, 2000);

İlk yol ω -3 yağ asitleri hücre içinde peroksizomlarda CAT düzeyini artırır ve hücre içinde serbest radikallere karşı savunmada artış şekillenir. İkinci metabolik yol ise ilave edilen ω -3 yağ asitleri hücre membranlarındaki diğer PUFA ile yer değiştirirler ve membranları hasara uğratmak üzere etkili olabilecek olan süperoksit anyonları, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri ile savaşırlar. Omega-3 yağ asitlerinin hücre membranlarını koruyucu bir diğer etkisinin de indirek yoldan gerçekleştiği belirtilmekte; ω -3 yağ asitlerinin etkisiyle önemli bir antioksidan olan vitamin E nin hücre membranı yapısına katılması stimüle edilerek membrandaki lipid peroksidasyon riskinin azaltılabileceği savunulmaktadır (Chautan ve ark, 1990).

Tortosa ve ark (1999) ise perifer kalp-damar hastalığı bulunan bireylerde günlük 4 g balık yağının 3.7 mg/gün oranında vitamin E ile stabilize edilerek uygulandığının özellikle LDL moleküllerini oksidasyona karşı etkin koruma sağladığını bildirmektedirler. Doymamış yağ asitlerinin oksidasyona karşı korunmasında organizmanın vitamin E rezervlerinin de yüksek tutulmasının gereği unutulmamalıdır.

Demoz ve ark (1992), EPA yönünden zengin diyetle beslenen farelerde hepatik antioksidan enzimlerin arttığını, yine hepatik lipid peroksit (LPO) konsantrasyonlarının ise belirgin şekilde düştüğünü belirtmişler, benzer şekilde van Den Berg ve ark (1991), balık yağı ile zenginleştirilmiş diyet tüketen tavşanlarda eritrositlerin hemoliz riskine karşı daha dirençli olduklarını ortaya koymuşlardır. Buna karşın Miret ve ark (2003), balık yağı ile beslenen ratlarda zeytinyağı ile beslenenlere göre eritrosit membranı LPO oranının daha yüksek olduğunu ve oksidatif hasarı artırdığını belirtmişlerdir.

Endojen olarak sentezlenen GSH, GPx vb diğer antioksidanlar besinsel etkenler tarafından stimüle edilirler. ω -3 PUFA yağ asitleri zeytinyağında bulunan tekli doymamış yağ asitlerine (ω -9, kısmen de ω -6) göre antioksidan savunmayı daha çok uyarırlar, diğer bir deyişle endojen vitamin E ve diğer antioksidanların sinerjik desteği ile aktive edilen antioksidan savunma, çoklu doymamış yağ asitlerince zengin balık yağının oksidasyona karşı korur (Kaur ve ark, 1998).

Esansiyel yağ asitlerinin metabolizmayı düzenleyici etkilerinin olduğu bilinmektedir (Mori ve ark, 1999; Yılmaz ve ark, 2004). Çalışmada albumin, glikoz ve LDH değerlerinde gruplar arasında farklılıkların ortaya çıktığı gözlenmektedir (Tablo 6). Albumin değerlerinde balık yağı grubunda önemli bir yükselme ($P<0.05$) olmakla birlikte gruplardan elde edilen değerler normal plazma değerleri içerisinde. Bu bulgular omega-yağ asitlerinin aminoasit ve protein metabolizmasında düzenleyici etkileri olduğu görüşlerini (Baydas ve ark, 2002; Agascioglu ve ark, 2002) doğrulamaktadır. Keza antioksidan enzimler de protein yapısında olduklarından, özellikle ω -3 yağ asitlerinin enzim ve protein sentezini artırmaları anlamlı bir ilişki içerindedir. Araştırmada LDH aktivitesinde özellikle balık yağı grubunda gözlenen düşme ise ω -3 yağ asitleri etkisi ile artış olabilen antioksidan aktivite ve azalan lipid peroksidasyonuna bağlı olarak kaslarda ve diğer dokulardaki olası yıkımların en aza indirilmiş olmasına bağlanabilir.

Glikoz değerlerinde yine balık yağı grubunda şekillenen azalma ($P<0.001$) özellikle balık yağı ve balık yağı+zeytinyağı grupları arasında daha belirgindir (131 mg/dl- 150 mg/dl). Yapılan son çalışmalarda ω -3 yağ asitlerinin insülinin etkinliğini artırarak diyabeti geciktirdiği ortaya çıkmıştır (Mori ve ark, 1999; Storlien ve ark, 2000; Suresh ve ark, 2003). Omega-3 oranı yüksek ve ω -6/ ω -3 oranı düşük diyetle beslenen ratlarda insülin daha aktif olduğu (Erişim 2) belirtilmekte olup, bu bulgular araştırma sonuçları ile uyum göstermektedir.

Agascioglu ve ark (2007), ω -3 yağ asitleri yönünden yetersiz ratlarda yürüttükleri araştırmada balık yağı ve zeytinyağı emülsiyonlarının enjekte edilmesi ile özellikle kaslarda karbonhidrat metabolizması üzerinde ω -3 yağ asitlerinin belirgin etkileri olduğunu, anaerobik glikolizisten farklı olarak anabolik glikojen sentezini glikojen sentetaz ve glikojen fosforilaz enzimleri ile ilişkili bir şekilde etkileyebileceğini; bununla ilişkili olarak ta glikoz derivesi asitik metabolitlerin (laktik asit vb.) aminoasitlere dönüşümlerini düzenleyebileceğini belirtmektedirler.

Sonuç olarak, erkek farelerde rasyona ω -3 yağ asidi kaynağı olarak balık yağı (%1) ve ω -6 ve ω -9 kaynağı olarak zeytinyağı (%5) ilavelerinin özellikle antioksidan parametreler de farklılıklar oluşturduğu görülmüştür. Elde edilen bu farklılıklara dayanılarak balık yağı alımlarının ya da özellikle yağlı balıklarla ağırlıklı beslenmenin, canlılarda antioksidan savunma kapasitesini artırarak olumlu gelişmeler sağlayabileceği ve metabolizmayı düzenleyici etkiler oluşturabileceği söylenebilir.

Yapılan çalışmalarda balık yağı ve diğer doymamış yağ asiti içeren yağların lipid peroksidasyonuna olan duyarlılıklarında ortaya çıkan farklılıkların endojen antioksidan sentezinin canlı türleri arasındaki farklılıklarına ve buna bağlı olarak antioksidan maddeler arasında gerçekleşen sinerjik etkileşimlerin canlılarda farklı sonuçlar ortaya çıkarabilmiş olacağına bağlanabilir.

Ancak canlı türleri arasında özellikle lipid ve lipoprotein metabolizması için belirtilen metabolik farklılıkların da unutulmaması gerektiği, diyetteki yağın niteliğine karşı canlı türleri arasında farklı yanıtlar gelişebileceği de belirtilmelidir.

6. ÖZET

T.C.
S.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Biyokimya (VET.) Anabilim Dalı

YÜKSEK LİSANS TEZİ /KONYA 2007

AYŞENUR BAŞKAYA

**ERKEK FARELERDE MENHADEN FISH OIL (OMEGA-3 YAĞ ASİTİ) VE
ZEYTİNYAĞI KATKILARININ LİPİT PEROKSİDASYONU VE BAZI
BİYOKİMYASAL DEĞERLERE ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

Bu çalışmada; erkek farelerde rasyona ω -3 yağ asiti (balık yağı, %1) ve zeytinyağı (%5), ilavelerinin plazmada, lipid hidroperoksit (LPO), değerleri ile glutasyon peroksidaz (GPx), glutasyon redüktaz (GR), katalaz (CAT) gibi antioksidan enzimler ve laktat dehidrogenaz (LDH), albumin, kan üre nitrojeni (BUN) ve glikoz değerleri ile canlı ağırlık değişimlerine etkileri araştırılmıştır.

Araştırmada 6 aylık yaşta, canlı ağırlıkları birbirine yakın, toplam 90 adet beyaz erkek fare kullanıldı. Bu hayvanlar her birinde 30 adet fare içeren 3 gruba ayrıldı. Denemeye başlamadan önce bütün hayvanlar tartılarak canlı ağırlıkları tespit edildi ve canlı ağırlıkları birbirine yakın olacak şekilde gruplara dağıtıldı. Araştırma 60 gün sürdürüldü. Araştırma Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Deney Hayvanları Ünitesi'nde yürütüldü.

Çalışmada kontrol (1.grup) ile balık yağı (Menhaden fish oil) (2.grup), zeytinyağı + balık yağı (3.grup), deneme grupları oluşturuldu.

Deneme sonunda kardiyak punksiyonla alınan kan örneklerinden elde edilen plazmalarda, lipid hidroperoksit (LPO), glutasyon peroksidaz (GPx), glutasyon redüktaz (GR), katalaz (CAT) gibi antioksidan parametreler ile laktat dehidrogenaz (LDH), albumin, BUN ve glikoz değerleri belirlendi. Araştırma başında ve sonunda canlı ağırlık değerleri elde edilerek değişimler belirlendi.

Kan plazması LPO deęerleri ile antioksidan parametrelerden CAT, GPx ve GR enzimleri balık yaęı ve zeytinyaęı katkılarından etkilenmiřtir. LPO özellikle sadece balık yaęı verilen grupta dūřmūř olmakla birlikte, balık yaęına ilaveten zeytinyaęının ilave edildięi grupta bu deęer belirgin bir yūkselme gōstermiřtir ($P<0.001$).

Antioksidan enzimlerden GPx ile CAT deęerleri balık yaęı grubunda dięer gruplara oranla belirgin artıřlar gōstermiřtir. Glutasyon peroksidaz enziminde ise rakamsal dūřūř ($P>0.05$) dikkat çekmektedir. Arařtırmada antioksidan parametreler dıřında incelenen albumin, glikoz, LDH deęerlerinin de gruplar arası farklılıklar gōsterdięi belirlenmiřtir.

Sonuç olarak, erkek farelerde rasyona ω -3 yaę asidi kaynağı olarak balık yağı (%1) ve ω -6 ve ω -9 kaynağı olarak zeytinyağı (%5) ilavelerinin özellikle antioksidan parametreler de farklılıklar oluşturduğu belirlenmiştir. Elde edilen bu farklılıklara dayanılarak balık yağı alımlarının ya da özellikle yağlı balıklarla ağırlıklı beslenmenin, canlılarda antioksidan savunma kapasitesini artırarak olumlu gelişmeler sağlayabileceği ve metabolizmayı dūzenleyici etkiler oluşturabileceği sōylenebilir.

Ancak canlı tūrleri arasında özellikle lipid ve lipoprotein metabolizması iēin belirtilen metabolik farklılıkların da unutulmaması gerektiği, diyetteki yağın niteliğine karşı canlı tūrleri arasında farklı antioksidan yanıtlar gelişebileceği de belirtilmelidir.

7. SUMMARY

DETERMINATION OF THE EFFECTS OF (MENHADEN FISH OIL) OMEGA 3 FATTY ACID AND OLIVE OIL SUPPLEMENTS ON LIPID PEROXIDATION AND SOME BIOCHEMICAL PARAMETERS OF MALE MICE

In this study, the effects of ω 3- fatty acid (Menhaden fish oil, 1%) and olive oil (5 %) supplementation into diets of male mice on plasma lipid hydroperoxide (LPO), antioxidant enzymes such as glutathione peroxidase (GPx), glutathione reductase (GR), catalase (CAT); some biochemical parameters as laktat dehidrogenaz (LDH), albumin, blood urea nitrogen (BUN), glucose and body weight gain were investigated.

In this trial, a total of 90 Swiss Albino male mice which have 6 months age, in equal of body weight were used. During the experiment, these animals fed with standart ration as ad libitum. Animals were housed in S.Ü. Veterinary Faculty Experimental Animals Unit. Experimental period was lasted at 60. day. There were three experimental groups in this study as following;

1. Control,
2. Fish oil (Menhaden) group,
3. Fish oil plus olive oil group

At the end of the experiment, blood samples were taken by cardiac puncture and, plasma LPO, CAT, GPx, GR, LDH, albumin, BUN, glucose concentrations of mice were determined. Also, body weight gain data of mice were calculated.

Supplementation of fish oil and fish oil plus olive oil into mice diets made significant differences in LPO, CAT, GPx and GR levels. Plasma LPO levels decreased in fish oil group, however these levels statistically increased ($P < 0.001$) in fish oil plus olive oil group. Moreover, there were also found these increase in GPx and CAT enzymes but there was found a gradual decrease ($P > 0.05$) in GR levels. Otherwise, there was no any improving on LPO and antioxidant parameters of fish oil plus olive oil grup.

It was also found that other blood parameters such as LDH, albumin and glucose were affected the fish oil and olive oil supplementation.

As a result, the findings of the present study on male mice suggest that blood antioxidant profile data and metabolic changes were improved by fish oil as an omega-3 fatty acid source.

However, the fact that the difference on metabolic changes in lipid and lipoprotein metabolisms of animal species and features of liquids oils in foods may caused several antioxidant response must be explained.

8. KAYNAKLAR

- Agascioglu E, Zhang Y, Şener A, Portois L, Chardigny JM., Malaisse, WJ and Carpentier YA, 2007.** Phospholipid fatty acid pattern and D-glucose metabolism in muscles from ω -3 fatty acid depleted rats. *Biochimie*, 89, 374-382.
- Aguilera CM, Tortosa MCR, Mesa MD, Tortosa CL, Gil A 2002.** Sunflower, virgin olive and fish oils differentially affect the progression of aortic lesions in rabbits with experimental atherosclerosis. *Atherosclerosis*, 162, 335-344.
- Akalın AS, Tokusoglu Ö, 2003.** A potential anticarcinogenic agent: conjugated linoleic acid (CLA). *Pakistan Journal of Nutrition*, 2, 109-110.
- Akkuş İ, 1995** Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, Mimoza Basım, Yayım ve Dağıtım A.Ş., Konya.
- Akyol Ö, 2004.** Şizofrenide oksidatif stres. *Kocatepe Tıp Dergisi*; 5 (ek sayı 1): 15-25.
- Allan FJ, Keith G, Thompsona Kerry AC, Jamesb B, William John P, Koolaard Roger N. Johnson, Prudence V. McNutt 2001.** Serum lipoprotein cholesterol and triglyceride concentrations in pigs fed diets containing fish oil, milkfat, olive oil and coconut oil. *Nutrition Research* 21,785–795.
- Altuntaş İ, Delibaş N, Doğuca DK, Özmen S, Gültekin F, 2003.** Role of reactive oxygen species in organophosphate insecticide phosalone toxicity in erythrocytes in vitro. *Toxicology In Vitro*, 17: 153-157.
- Aruoma OI, 1994.** Nutrition and health aspects of free radicals and antioxidant, *Food Chem Toxic*, 32, 671-683.
- Aydın R, Özsan E, 2003.** Konjuge linoleik asitte (CLA) son gelişmeler. II. Ulusal Hayvan Besleme Kongresi, 18-20 Eylül, Konya, 462-466.
- Ayerza R, 2002.** Omega-3 fatty acid enriched eggs: advantage of chia over other raw materials. Omega-3 fatty Acids, Evolution and Human Health Symposium, 23-24 September. Washington.
- Ayerza R, Coates W, 2000.** Dietary levels of chia: influence on yolk cholesterol, lipid content and fatty acid composition, for two strains of hens. *Poult. Science*, 78: 724-739.
- Balk Ethan M, Alice H. Lichtenstein, Mei Chung, Bruce K, Priscilla C, Joseph L 2006.** Effects of omega-3 fatty acids on serum markers of cardiovascular disease risk: A systematic review. *Atherosclerosis* 189, 19–30.
- Banarjee AK, Mandal A, Chanda D, Chakraborti S. 2003.** Oxidant, antioxidant and physical exercise. *Mol Cell Biochem*; 253, 307-12.

- Barbosa DS, Cecchini R, El kadri MZ, Rodriguez MA, Buruni RC, Dichi I. 2003.** Decreased oxidative stres in patients with ülcerative colitis supplemented with fish oil ω -3 fatty acids. Nutrition, 19, 837-842.
- Başpınar N, Kurtoğlu F. 2003.** Vitaminler. Ders Kitabı. S.Ü. Yayınevi Ünitesi.
- Bauman DE, Baumgard LH, Corl BA, Griinari JM, 2000.** Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. <http://www.asas.org/jas/symposia/>
- Bauman DE. 2002.** Endogenous synthesis of cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid in pasture-fed dairycows. J. Dairy Sci. 85, 176.
- Baydas B, Yılmaz O, Çelik S, Yaşar A, Gürsu FM. 2002.** Effects of certain micronutrients and melatonin on plasma lipid, lipid peroxidation and homocysteine levels in rats. Archives of Medical Research 33, 515-519.
- Beckman KB, Ames BN. 1997.** Oxidative decay of DNA. J Biol Chem; 272 (32): 19633-6.
- Bell JM, 1989.** Nutritional charecteristics and protein uses of oilseed meals. Oil Crops of the World, 192-207s.
- Berbert AA, Kondo CR, Almendra CL, Matsuo T,Dichi I 2003.** Supplementation of fish oil and olive oil in patients with rheumatoid arthritis. Nutrition. 21, 131-6.
- Bond JM, Julian RJ, Squires EJ. 1997.** Effects of dietary flaxseed on broiler growth, erythrocyte deformability and fatty acid composition of erythrocyte membranes. Can. Journal of Anim. Sci.,77:279-286.
- Bravo E, Flora L, Cantafora A, De Luca V, Tripodi M, Avella M, Botham M. 1998.** The influence of dietary saturated and unsaturated fat on hepatic cholesterol metabolism and the biliary excretion of chylomicron cholesterol in the rat, Biochimica et Biophysica Acta, 1390, 134-148.
- Burtis CA ve Ashwood ER. 1994.** Clinical Chemistry, Second Ed. WB. Saund. Comp. USA
- Calder PC. 2003.** Long-chain n-3 fatty acids and inflammation: Potential application in surgical and trauma patients. Braz. J. Med. Biol. Res. 36, 433- 446.
- Chautan M, Calaf R, Leonardi J. 1990.** Inverse modifications of heart and liver α -tocopherol status by various dietary n-6/n-3 polyunsaturated ratios. J. Lipid Research, 3, 2201-2208.
- Chin S. F, Liu W, Storkson JM, Ha YL, Pariza MW. 1992.** Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognized class of anticarcinogens. J. Food Comp. Anal., 5, 185-197.

- Chouinard PY, Vanamburgh ME, Bauman DE. 1998.** Dietary fatty acid sources affect conjugated linoleic acid concentrations in milk from lactating dairy cows. *J. Nutr.* 128, 881-885.
- Chugh SN, Arora V, Sharma A, Chugh K, 1996.** Free radical scavengers and lipid peroxidation in acute aluminium phosphide poisoning. *Indian J. Med.Res.*,104, 190-193.
- Cochrane CG. 1991.** Cellular injury by oxidants. *Am. J. Med.*, 92, 235-305.
- Connor WE. 1995.** Diabetes, fish oil and vascular diseases. *Ann Int Med.* 123, 950-954.
- Cook ME, Miller C, Park Y, Pariza MW. 1993.** Immune modulation by altered nutrient metabolism: nutritional control of immune-induced growth depression, *Poultry Science* 72, 1301-1305.
- Cooper CE, Vollaard NBJ, Choueiri T, Wilson MT. 2002.** Exercise, free radicals and oxidative stress. *Biochem Soc Trans*; 30, 280-5.
- Cross CE, Halliwell B, Borish ET, Pryor WA, Ames BN, Saul RL, McCord JM, Harman D, 1987.** Oxygen radicals and human disease. *Ann. Intern. Med.*, 107, 526-545.
- Çakatay U, Kayalı R. 2004.** Protein oksidasyonunun klinik önemi. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*; 35, 140-9.
- De La Cruz JP, Quintero L, Villalobos MA, De La Cuesta FS. 2000.** Lipid peroxidation and glutathione system in hyperlipemic rabbits: influence of olive oil administration. *Biochimica et Biophysica Acta* 1485, 36-44.
- Deleve LD, and Kaplowitz N. 1991.** Glutathione metabolism and its role in hepatotoxicity. *Pharmac Ther.*, 52, 287.
- Demos A, Willumsen N. and Berge K. 1992.** Eicosapentaenoic acid at hypotriglyceridemic dose enhances the hepatic antioxidant defence in mice. *Lipids*, 27, 968-971.
- Dhiman TR, Anand GR, Satter LD, Pariza MW. 1995.** Dietary effects on conjugated linoleic acid content of cows' milk. *U.S. Dairy Forage Research Center, Research Summaries.*
- Donzel JA, Lucien G, Maupoil M, Rochette L, Roguelin G 1993.** Rat vitamin E status and heart lipid peroxidation: Effect of dietary linolenic acid and marine n3 fatty acids. *Lipids*, 28, 651-655.
- Draper HH. 1993.** Antioxidant role of vitamin E in "Atmospheric Oxidation and Antioxidants" Ed G Scott, 271-280, Amsterdam.
- Dündar Y ve Aslan R. 1999a** Hücre moleküler statüsünün anlaşılması ve fizyolojik önem açısından radikaller-antioksidanlar, *Cerrahi Tıp Bilim Dergisi*, 2, 134-142.

- Dündar Y ve Aslan R. 1999b** Oksidan- antioksidan denge ve korunmasında vitaminlerin rolü, Hayvancılık Araştırma Dergisi, 9, 32-39.
- El-Demerdash FM, Yousef MI, Kedwany FS, Baghdadi HH, 2004.** Cadmium-induced changes in lipid peroxidation, blood hematology, biochemical parameters and semen quality of male rats: protective role of vitamin E and beta-carotene. Food Chem. Toxicol., 42, 1563-1571.
- Elsbach P and Weis J. 1985.** Oxygen- dependent and oxygen-independent mechanisms of microbicidal activity of neutrophils, Immunology Letters, 11 159-163.
- Erdoğan H, Fadılhoğlu E, Özgöçmen S, Söğüt S, Özyurt B, Akyol Ö, Ardıçoğlu Ö. 2004.** Effect of fish oil supplementation oxidant/antioxidant status in rats. Prostaglandins, Leucotriens and Essential fatty Acids, 71, 149-152.
- Erişim 1.** www.klinikbiyokimya.com. Linoleik asit, α -linolenik asit, eikosapentaenoik asit, dokosaheksaenoik asit, araşidonik asit ve CLA.
- Erişim 2** www.almanhastanesi.com.tr Alman Hastanesi 2003 Universal Hospital Grup
- Erişim 3** www.vega.naturel.com. Temel yağ asitleri (ω -3, ω -6) ve ω -9 yağ asitleri.
- Facchinetti F, Dawson VL, Dawson TM, 1998.** Free radicals as mediators of neuronal injury. Cell. Mol. Neurobiol., 18, 667-682.
- Fehrenbach E, Northoff H. 2001.** Free radicals, exercise, apoptosis and heat shock proteins. Exerc Immunol Rev; 7, 66-89.
- Finaud J, Lac G, Filaire E. 2006.** Oxidative stress relationship with exercise and training. Sports Med; 36, 327-58.
- Forstrom JW, Zakowski JJ, and Tapel AL. 1978.** Identification of the catalytic site of rat liver glutathione peroxidase as selenocysteine. Biochemistry 17, 2639-2644.
- Gleeson M and Bishop NC. 2000.** Modification of immune responses to exercise by carbohydrate, glutamine and antioxidant supplements. Immunol and Cell Biol. 78,554-61.
- Gorinstein S, Leontowitz H, Lojeck A, Leantowitz M. 2002.** Olive oils improve lipid metabolism and increase antioxidant potential in rats fed diets containing cholesterol. J. Agric. Food Chem. 50, 6102-6108.
- Gönenç S. 1995.** Çocuklarda 4 Haftalık Yüzme Egzersizinin Antioksidan Enzimler ve Lipid Peroksidasyonuna Etkisi. Uzmanlık. İzmir: Dokuz Eylül Üniversitesi.
- Gurr IG. 1987.** Isometric fatty acids. Biochem. Soc.Trans., 15:336-338.
- Gutteridge JMC and Halliwell B. 1993.** Transition metal ions and antioxidant proteins in extracellular fluids in “Atmospheric Oxidation and Antioxidants” Ed G Schott, 71-95

- Güven A, Erginsoy S, Kaya N, 2003.** Kazlarda karbon tetraklorür zehirlenmesinin biyokimyasal ve patolojik parametrelere etkisi. Kafkas Ü. Vet. Fak. Derg., 9, 131-136.
- Ha YL, Grimm NK, Pariza MW, 1987.** Anticarcinogens from fried ground beef: heat altered derivatives of linoleic acid. Carcinogenesis, 8, 1881-1887.
- Habib MP, Lackey DL, Lantz RC, Sobonya RE, Grand R, Earnest DL and Bloom JW 1993.** Vitamin A pretreatment and bleomycin induced rat lung injury. Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology, 81, 199-208.
- Halliwell B. 1995.** Antioxidant characterization: methodology and mechanism. Biochem Pharmacol; 49, 1341-8.
- Hampton MB, Kettle AJ and Winterbourn CC 1998.** Inside the neutrophil phagosome: oxidant, myeloperoxidase and bacterial killing, Blood, 92, 3007-3017.
- Harris WS. 2004.** Omega 3 fatty acids, thrombosis and vascular disease. International Congress Series 1262: 380–383.
- Helland IB, Smith L, Saarem K, Saugstad OD, Drevon CA. 2003.** Maternal supplementation with very-long-chain n-3 fatty acids during pregnancy and lactation augments children's IQ at 4 years of age. Pediatrics 111, 39-44.
- Higgins S, Mc Carthy SN, Corridan BM, Roche HM, Wallace JMW, O'Brien NMO and Morrissey PA. 2000.** Measurement of free cholesterol, cholesteryl esters and cholesteryl linoleate hydroperoxide in copper-oxidised LDL in healthy volunteers supplemented with a low dose of n-3 PUFA. Nutrition Res. 20, 1091-1102.
- Ip C, Chin SF, Scimeca JA, Pariza MW, 1991.** Mammary cancer prevention by conjugated dienoic derivative of linoleic acid. Cancer Res., 51, 6118-6124.
- Ip C, Singh M, Thompson HJ, Scimeca JA. 1994.** Conjugated linoleic acid suppresses mammary carcinogenesis and proliferative activity of the mammary gland in rat. Cancer Res., 54, 1212-1215.
- Janssen YMW, Houten BV, Borm PJA, Mossman BT, 1993.** Biology of disease, cell and tissue responses to oxidative damage. Lab. Invest., 69: 261-274.
- Ji LL. 1999.** Antioxidants and oxidative stress in exercise. Proc Soc Exp Biol. Med; 283-92.
- Joence H, 1989.** Genetic toxicology of oxygen. Mutation Res., 219, 193-208.
- Jordao AA, Chiarello PG, Arantes MR, Meirelles MS and Vannucchi H. 2004.** Effect of an acute dose of ethanol on lipid peroxidation in rats: action of vitamin E. Food and Chemical Toxicology, 42, 1-6.

- Kalender S, Kalender Y, Ögütçü A, Uzunhisarcıklı M, Durak D, Açıkgoz F, 2002.** Endosulfan-induced cardiotoxicity and free radical metabolism in rats : the protective effect of vitamin E. *Toxicology*, 202, 227-235.
- Kashif SM, Zaidi R and Banu N 2004** Antioxidant potential of vitamins A, E and C in modulating oxidative stress in rat brain, *Clinica Chimica Acta*, 1-5.
- Kaur M, Kaur J, Ojha S, and Akhtar, M. 1998.** Ethanol effects on lipid peroxidation and glutathione-mediated defence in rat small intestine:role of dietary fats.*Alchol*, 15, 65-69.
- Kay JK, MackleTR, Auldist MJ, Thomson NA, 2002.** Effect of diabetes on uremic dyslipidemia. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*, 9, 305-313.
- Kaya S, Pirinççi İ, Bilgili A, 1998.** Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji. Medisan Yayın Serisi: 35, Ankara.
- Kimoto E, Shoji T, Emoto M, Miki T, Tabata T. 2002.** Oxidative satbility and sensory quality of stored eggs from hens fed %1.5 menhaden oil. *J of Food Science*, 59 561-563.
- Kitessa SM, Peake D, Bencini R, Williams AJ, 2003.** Fish oil metabolism in ruminants iii. transfer of n-3 polyunsaturated fatty acids from tuna oil into sheep's milk. *Anim. Feed Sci. and Techn.* 108:1-14.
- Knekt P, Jarvinen R, Seppanen R, Pukkala E, Aroma A. 1996.** Intake of dairy products and the risk of breast cancer. *Br. J. Nutr.*, 129, 2135-2142.
- Kurata M, Suzuki M and Agar NS. 1993.** Antioxidant systems and erythrocyte life-span in mammals, *Comp Biochem Physiol*, 106, 477-478.
- Levine RL. 2002.** Carbonyl modified proteins in cellular regulation aging and disease. *Free Radic Biol Med*; 32. 790-6.
- Luostarinen RL, Laasonen K, Calder PC. 2001.** A-tocopherol concentrations, lipid peroxidation and superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities in rat heart and liver after feeding stabilized and unstabilized fish oil. *Nutr. Res.* 21, 1529-1544.
- Maat MPM, Pijl H, Kluft C and Princen HMG. 2000.** Consumption of black and green tea has no effect on inflammation, haemostasis and endothelial markers in smoking healthy individuals, *European Journal of Clinical Nutrition*, 54, 757-763.
- Marrugat J, Covas MI, Fito M, Miro-Casas E, Gimeno E, Lopez-Sabater M.C, De La Torre R, Fare M 2003.** Effects of differing phenolic content in dietary olive oils on lipids and LDL oxidation. *Eur. J of Nutr.* 43, 140-147.
- Masters C. 1996.** Omega-3 fatty acids and the peroxisome. *Mol. Cell Biochem.* 165, 83-93.
- Mataix J, Quiles JL, Huertas JR, Battino M and Manas M. 1998.** Tissuespeciic intactos of excrisedetary fatty ads anai E in ipid exida, *Free Radical Biology Medicine*, 24 511-521.

- Matés JM, 2000** Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. Toxicology, 153: 83-104.
- Mayes PA. 1993.** Lipidlerin fizyolojik önemi (Çeviren: Gülriz Menteş) Bölüm 16. Harper'ın Biyokimyası (Ed: Murray, R.K., Mayes, P.A., Granner, D.K., Rodwell, V.W).
- McDowell LR. 2000.** "Vitamins in Animal Nutrition." Second Edition. Iowa State University Press, 2121 South State Avenue, Ames, Iowa 50014.
- Mete N, Işık B, Erdiñç I, Gürkan F. 1999.** The effect of fish oil on liver and plasma MDA and antioxidant status of rats. Tr. J. Medical Sciences, 29, 1-6.
- Miller CC, Park Y, Pariza MW, Cook ME. 1994.** Feeding conjugated linoleic acid to animals partially overcomes catabolic response due to endotoxin injection. Biochem. Res. Comm., 198, 1107-1112.
- Miret S, Saiz MP, Mitjavila T. 2003.** Effect of fish oil and olive oil rich diets on iron metabolism and oxidative stress in the rat. British J of Nutrition, 89, 11-18.
- Mori TA, Dunstan DW, Burke V, Croft KD, Rivera JH, Beilin LJ, Puddey IB. 1999.** Effect of dietary fish and exercise training on urinary F2-isoprostane excretion in non insulin dependent diabetic patients. Hypertension, 34, 253-260.
- Naguib Y. 2002.** Conjugated linoleic acid. Vitamin Retailer Magazine, Inc., A-2 Brier Hill Court, East Brunswick, NJ 08816.
- Niki E. 1993.** Lipid peroxidation and its inhibition in "Atmospheric Oxidation and Antioxidants" ED G Scott, 1-26, Amsterdam.
- Nizamhoğlu M. 2000** Lipidler "Biyokimya" İkinci Baskı, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayinevi Ünitesi, 216-264, Konya.
- Ochoa JJ, Quiles JL, Ramirez-Tortosa MC, Mataix J and Huertas J. 2002.** Dietary oils high in oleic acid but with different unsaponifiable fraction contents have different effects in fatty acid composition in rabbit LDL. Nutrition, 18, 60-65.
- Olszewski AJ. and Mc Cully KS. 1993.** Fish oil decreases serum homocysteine in hyperlipidemic men. Coron. Artery Dis. 4, 53-60.
- Ozgöçmen S, Atalay S, Ardiçoglu O, Kamanlı A. 2000.** Effect of omega-3 fatty acids in the management of fibromyalgia syndrome. Int. J. Clin. Pharm. Ther. 38, 362-363.
- Öz N ve Kurtoglu F. 2003.** Vitamin E ve Farklı Özellikte Doymamış Yağ Asitleri İlaçlarının Ratlarda Lipid Peroksidasyonuna Etkileri. Veterinarium, 14,1, 39-51.
- Packer L. 1997.** Oxidants, antioxidant nutrients and the athlete. J Sports Sci; 15: 353-63.

- Pariza MW, Hargraves WA. 1985.** A beef derived mutagenesis modulator inhibits initiation of Mouse epidermal tumors by 7,12 dimethylbenz(a)anthracene. *Carcinogenesis*, 6, 591-593.
- Parodi PW. 1997.** Milk fat conjugated linoleic acid:can it help prevent breast cancer? *Proc. Nutr. Soc.* 22, 137-149.
- Parodi PW. 1999.** Conjugated linoleic acid and other anticarcinogenic agents of bovine milk fat. *J. Dairy Sci.*, 82, 1339-1349.
- Peralta JC, Liesuy S, Evelson P, Carreras MC, Flecha BG and Poderosol JJ. 1993.** Oxidative stress in skeletal muscle during sepsis in rats, *Circ Shock*, 39, 153-159.
- Pippenger CE, Brwne RW and Armstrong D. 1998.** Regulatory antioxidant enzymes in "Free Radical and Antioxidant Protocols" Ed D Armstrong, 299-302, Humana Press Totowa, New Jersey.
- Placer CA, Cushman LL, Johnson BC, 1990.** Estimation of product of lipid peroxidation (Malondy Dialdehyde) in biochemical systems. *Anal. Biochem.*, 16, 259-264.
- Porter NA, 1984.** Chemistry of lipid peroxidation. *Methods Enzymol.*, 105, 273-283.
- PryorWA and Porter NA. 1990.** Suggested mechanism for the production of 4-hydroxy-2-nonenal, from the autoxidation of polyunsaturated fatty acids. *Free Rad. Biol. Med.* 8, 541-543.
- Radak Z, Kaneko T, Tahara S, Nakamoto H, Ohno H, Sasvari M, 1999.** The effect of exercise training on oxidative damage of lipids, proteins and DNA in rat skeletal muscle: evidence for beneficial outcomes. *Free Radic Biol Med*; 27, 69-74.
- Reiter RJ. 1997.** Aging and oxygen toxicity: relation to changes in melatonin, *Age*, 20, 12-15
- Rey AI, Lopez-Bote CJ, Kerry JP, Lynch PB, Buckley DJ and Morrissey PA. 2003.** Modification of lipid composition and oxidation in porcine muscle and microsomes as affected by dietary supplementation of n-3 with either n-9 or n-6 fatty acids and α -tocopherylacetate, *Animal Feed Science Technology*, 201-213.
- Roche HM, Zampelas A, Knapper JME, Webb D, Brooks C, Jackson KG, Wright JW, Gould BJ, Kofatos A, Gibney MJ and Williams CM. 1998.** Effect of long term oil dietary intervention on postprondial triacyl glycerol and factor 7 metabolism. *Am. Clin. J of Nutr.* 68, 552-560.
- Rose DP, Connolly JM. 1999.** Omega-3 fatty acids as cancer chemopreventive agents. *Pharmacol. Ther.* 83, 217-244.
- Sarsilmaz M, Songur A, Özyurt H, Kuş İ, Özen OA, Özyurt B, Söğüt S, Akyol Ö. 2003.** Potential role of dietary ω -3 essential fatty acids on some oxidant/antioxidant parameters

- in rats' corpus striatum. Prostaglandins, Leucotrienes and Essential fatty Acids, 69, 253-259.
- Sazuka Y, Tanizawa H and Takino Y. 1989.** Effect of adriamycin on the activities of superoxide dismutase, glutathion peroxidase and catalase in tissues of mice, Jpn J Cancer Res, 80, 89-94.
- Scheideler SE, Froning G, Cuppett S. 1997.** Studies of consumer acceptance of high Omega -3 fatty acid-enriched eggs. Journal of Applied Poultry Research, 6, 137-146.
- Shultz TD, Chew BP, Seaman WR, Luedecke LO. 1992.** Inhibitory effect of conjugated dienoic derivatives of linoleic acid and carotene on the in vitro growth of human cancer cells. Cancer Lett., 63, 125-133.
- Simopoulos AP. 1991.** Omega -3 fatty acids in health and disease and in growth and development. Am. J. Clin. Nutr. 54, 438-463.
- Sjodin B, Hellsten WY, Apple GS. 1990.** Biochemical mechanisms for oxygen free radical formation during exercise. Sports Med; 10: 236-54.
- Solomkin JS, Cotta LA, Brodt JK and Hurst JM. 1985.** Regulation of neutrophil superoxide production in sepsis, Arch Surg, 120. 93-98.
- Song B, Anderson DJ and Schacht J. 1997.** Protection from gentamicin ototoxicity by iron chelators in guinea pig in vivo, J Pharm EXP Ther, 282, 369-377.
- SPSS 1998.** SPSS /PC + V.2.0 . Base manual for the IBM PC / XT/AT and PS/2. Marjia and Morusis, SPSS Inc. 444 N. Michigan Avenue, Chicago, IL, 60611.
- Storlien LH, Higgins JA, Thomas TC, Brown MA, Wang HQ, Huang XF and Else PL. 2000.** Diet composition and insulin action in animal model. Br.J of Nutr. 83, 85-90.
- Suresh Y, and UN Das, MD. 2003.** Long-chain PUFA and chemically induced diabetes mellitus: Effect of w-3 fatty acids. Nutrition, 19, 213-228.
- Szweda PA, Friguet B, Szweda LI. 2002.** Proteolysis free radicals and aging. Free Radic Biol Med; 33, 29-36.
- Şenköylü N. 2001.** Yemlik Yağlar. Trakya Üniv. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Yayınları s. 164.
- Thomas MJ. 2000.** The role of free radicals and antioxidants. Nutrition; 16, 716-8.
- Thomas TR, Smith BK, Danahue OM, Altena TS, Marily J, Krake and Sun GY. 2004.** Effect of omega 3 fatty acid supplementation and exercise on LDL and HDL subfractions. Metabolism, 53, 6749-754.
- Tortosa RM, Suarez A, Gomez MC, Mir A, Ros E. and Gil A. 1999.** Effect of extra virgin olive oil and fish oil supplementation on plasma lipids and susceptibility of low density

- lipoprotein to oxidative alteration in free living Spanish male patients with peripheral vascular disease. *Clinical Nutrition* 18, 167-174.
- Turrens JF. 1991.** The potential of antioxidant enzymes as pharmacological agents in vivo, *xenobiotica*, 21, 1033-1040.
- Ursini F, Maiorino M. and Gregolin C. 1985.** The selenoenzyme phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase. *Biochim. Biophys. Acta* 839, 62-70.
- Urso ML, and Clarkson PM. 2003.** Oxidative stress, exercise and antioxidant supplementation. *Toxicology*; 189, 41-54.
- Uysal M. 2002.** Esansiyel yağ asitleri (Omega-3 ve Omega-6 Yağ Asitleri). <http://www.klinikbiyokimya.com/seminer/omega/omega.html>.
- Van den Berg JJ, Fouw NJ, Kuypers FA, Roelofsen B, Houtsmuller UM, Kamp JA 1991.** Increased polyunsaturated fatty acid content of red blood cells from fish oil-fed rabbits increases in vitro lipid peroxidation. *Free Rad. Biol. Med.* 11, 393-399.
- Velioğlu S. 2000.** Doğal antioksidanların insan sağlığına etkileri, *Gıda*, 25, 167-176.
- Wallace SS. 2002.** Biological consequences of free radical-damaged DNA bases. *Free Radic Biol Med*; 33, 1-14.
- Ward J. 2003.** Dietary effects on the brain with regards to learning and memory. www.utdallas.edu/dept/SciMathEd/SER/SCE5308_03/diet_achievementJW.
- Winston GW, Feerman DE and Cederbaum AI. 1984.** The role of iron chelates in hydroxyl radical production by rat liver microsomes, NADPH-Cytochrome P-450 reductase and xanthine oxidase, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 232.
- Yalçın AS. 1998.** Antioksidanlar. *Klinik Gelişim*; 11, 342-6.
- Yılmaz HR, Songur A, Özyurt B, Zararsız İ, Sarsılmaz M. 2004.** The effect of n-3 PUFA by gavage on some metabolic enzymes of rat liver. *Prostaglandins, Leucotriens and Essential Fatty acids* 71, 131-135.
- Young G. and Conquer J. 2005.** Omega 3 fatty acid and neuropsychiatric disorders. *Reprod. Nutr. Dev.* 45, 1-28.
- Zampolli A, Bysted A, Leth T, Mortensen A, Caterina RD, Falk E. 2005.** Contrasting effect of fish oil supplementation on the development of atherosclerosis in murine models. *Atherosclerosis*, (in press).
- Zararsız İ, Sarsılmaz M, Sönmez MF, Köse E, Yılmaz HR, Ozan E. 2005.** Kadavra tespitinde kullanılan formaldehitin sıçan karaciğerinde oluşturduğu hasar ve buna omega 3 yağ asitlerinin etkisi. *Fırat Tıp Dergisi*, 10, 103-107.

Zyriax BC, and Windler E, 2000. Dietary fat in the prevention of cardiovascular disease. a review. *Eur. J. Lipid Sci. Techn.*, 102, 355–365.

9. ÖZGEÇMİŞ

Konya'da 1980 yılında doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimi Konya'da tamamladı. 1999 yılında Selçuk Üniversitesi Eğitim Fakültesi Fen Bilgisi Öğretmenliği'ni kazandı ve 2003 yılında mezun oldu. Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda 2004 yılında yüksek lisans programına başladı. Bu arada İstanbul Bağcılar Fatih İlköğretim Okulu'na sözleşmeli Fen Bilgisi Öğretmeni olarak atandı. 2006 yılında ise kadrolu olarak Muş Malazgirt İyikomşu İlköğretim Okulu'nda göreve başladı. Halen Muş ili Şehit Üsteğmen İzzettin Polat İlköğretim Okulu'nda Fen Bilgisi Öğretmeni olarak görev yapmaktadır.

10. TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım esnasında yardımlarını esirgemeyen danışmanım sayın Prof. Dr. Firuze KURTOĞLU' na, denemeler sırasında büyük yardımlarını gördüğüm Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyesi sayın Doç. Dr. Varol KURTOĞLU 'na Biyokimya Anabilim Dalı Araş Gör. Dr. Pınar Peker AKALIN' a ve yoğun çalışmalarım sırasında destek ve anlayışlarını esirgemeyen aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.