

**T.C.
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**



**YÜKSEK LİSANS TEZİ
EBELİK ANABİLİM DALI**

**OMEGA-3 YAĞ ASİTLERİNİN LAKTASYONA ETKİSİNİN
KARŞILAŞTIRILMALI OLARAK İNCELENMESİ**

İrem MUTLU DURĞUT

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi HAYRUNNİSA YEŞİL SARSMAZ

İkinci Danışman

Prof. Dr. SEREN GÜLŞEN GÜRGEN

MANİSA-2023

İREM
MUTLU
DURĞUT

OMEGA-3 YAĞ ASİTLERİNİN LAKTASYONA ETKİSİNİN KARŞILAŞTIRILMALI
OLARAK İNCELENMESİ

2023

TAAHHÜTNAME

Bu tezin Manisa Celal Bayar Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Ebelik Ana Bilim Dalında akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek tezde yer aldığını, tamamen kendi çalışmam olduğunu, her alıntıya kaynak gösterdiğimi, tezin yazımında akademik ve etik kurallara aykırı herhangi bir yapay zeka ve program kullanmadığımı beyan ederim.

İrem MUTLU DURĞUT



ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

İrem MUTLU DURĞUT

Manisa Celal Bayar Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Ebelik Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Hayrunnisa YEŞİL SARMAZ

İkinci Danışman: Prof. Dr. Seren Gülşen GÜRGEN

Bu araştırma, laktasyon döneminde maternal diyetle takviye alınan omega 3 yağ asidinden zengin balık yağı, keten tohumu yağı ve ceviz yağının meme dokusunun yapısına ve meme bezlerinin süt üretim kalitesine olan etkisini karşılaştırmalı olarak incelenmesi amacıyla planlandı. Bu çalışmada, 28 adet gebe sıçan ve 4 adet laktasyon döneminde olmayan dişi sıçan olmak üzere toplam 32 adet *Wistar* cinsi sıçan kullanıldı. Sıçanlar rastgele balık yağı, keten tohumu yağı, ceviz yağı, negatif kontrol grubu ve kontrol grubu olmak üzere 5 gruba ayrıldı. Takviye yağlar, gebe sıçanların doğum yaptıkları günden (0.gün) itibaren tüm laktasyon dönemini boyunca (21.gün) atanmış oldukları gruplara göre 0,5g/kg vücut ağırlığı göz önüne alınarak oral gavaj yolu ile verildi. Anne sıçanlar, laktasyonun 21.günü sonunda sakrifiye edildi. Uygun solüsyonlarla fikse edilen meme dokularına histopatolojik, immünohistokimyasal ve biyokimyasal inceleme yapıldı. Biyokimyasal yoğunluk açısından balık yağı grubundaki DHA seviyesindeki fark diğer gruplara göre anlamlı bulunmuştur. Keten tohumu yağı grubunda diğer gruplara göre prolaktin seviyeleri açısından anlamlı fark bulunmuştur. FADS2 (Yağ Asidi Desaturaz-2) biyokimyasal yoğunluk açısından negatif kontrol grubu ile diğer tüm gruplar arasında anlamlı fark bulunmaktadır. Ceviz yağı grubunda ise anlamlı bir fark bulunmamıştır. IGF-1, TGF- β 1 ve VEGF immünohistokimyasal boyama yoğunluğu açısından tüm gruplar arasında fark anlamlı bulunmuştur ($P<0.05$). Balık yağı takviyesi alan anne sıçanların meme dokularında diğer yağlara kıyasla süt kalitesini olumlu yönde etkilediği gözlemlenmiştir. Bu durum, balık yağının emziren annelerin süt kompozisyonunu olumlu yönde etkileyebileceğini düşündürmektedir. Araştırma, Clinical Trials protokol kayıt ve sonuç sistemine NCT06111378 numarası ile kaydedilmiştir.

Anahtar Kelimeler: laktasyon, maternal beslenme, omega 3, DHA, FADS2

2023, 74 sayfa

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

İrem MUTLU DURĞUT

**Manisa Celal Bayar University
Graduate School of Education
Department of Midwifery**

Supervisor: Dr. Öğr. Üyesi Hayrunnisa YEŞİL SARMAZ

Co-Supervisor: Prof. Dr. Seren Gülşen GÜRGEN

This research was planned to comparatively examine the effects of fish oil, flaxseed oil and walnut oil rich in omega 3 fatty acids, supplemented with the maternal diet during the lactation period, on the structure of the breast tissue and the milk production quality of the mammary glands. A total of 32 Wistar rats, including 28 pregnant rats and 4 non-lactating female rats, were used in this study. The rats were randomly divided into 5 groups: fish oil, flaxseed oil, walnut oil, negative control group and control group. Supplementary oils were given to pregnant rats via oral gavage, starting from the birth (day 0) and throughout the entire lactation period (day 21), considering 0.5g/kg body weight, according to the groups to which they were assigned. Mother rats were sacrificed at the end of the 21st day of **lactation**. Histopathological, immunohistochemical and biochemical examinations were performed on breast tissues fixed with appropriate solutions. In terms of biochemical density, the difference in DHA level in the fish oil group was found to be significant compared to the other groups. A significant difference was found in prolactin levels in the flaxseed oil group compared to the other groups. There is a significant difference between the negative control group and all other groups in terms of FADS2 (Fatty Acid Desaturase-2) biochemical density. There was no significant difference in the walnut oil group. There was a significant difference between all groups in terms of IGF-1, TGF- β 1 and VEGF immunohistochemical staining intensity ($P<0.05$). It is observed that fish oil supplementation has a positive effect on milk quality in the mammary tissues of mother rats compared to other oils. This suggests that fish oil may positively affect the milk composition of breastfeeding mothers. The research was registered in the Clinical Trials protocol registration and results system with the number NCT06111378.

Keywords: lactation, maternal nutrition, omega 3, DHA, FADS2

2023, 74 pages

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve deneyimleriyle bana yol gösteren, eleştirel bakış açıları ile ufkumu genişleten, çok kıymetli danışman hocalarım Dr. Öğr. Üyesi Hayrunnisa Yeşil Sarsmaz ve Prof. Dr. Seren Gülşen Gürgen'e,

Eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi destekleriyle yanımda olan biricik annem, babam, kardeşlerim Emir ve Elif'e,

Tüm tez yazım sürecimde yanımda olan motivasyon kaynağım sevgili eşim Berkay'a,

Sonsuz teşekkürler

“Bu tez, Manisa Celal Bayar Üniversitesi Bilimsel Araştırma Koordinasyon Birimi tarafından 2022-072 numaralı proje ile desteklenmiştir.”

İrem MUTLU DURĞUT
Manisa,2023

İÇİNDEKİLER

ÖZET	I
ABSTRACT	II
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER	IV
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ	VIII
TABLolar DİZİNİ	IX
GİRİŞ	1
1.GENEL BİLGİLER	3
1.1.İNSAN MEME ANATOMİSİ	3
1.2.SIÇAN MEME ANATOMİSİ	4
1.3.MEME BEZİ HİSTOLOJİSİ	5
1.4.LAKTASYON DÖNEMİNDE MEME BEZİ GELİŞİMİ	7
1.5.LAKTASYON DÖNEMİNDE MATERNAL BESLENME	9
1.6.ANNE SÜTÜ BİLEŞİMİ	12
1.7.OMEGA-3 YAĞ ASİTLERİ	14
1.7.1.DHA	15
1.7.2.EPA	16
1.7.3.ALA	17
1.8.OMEGA-3 METABOLİZMASI	18
1.9.OMEGA-3 YAĞ ASİDİ KAYNAKLARI	20
1.9.1.BALIK YAĞI	21
1.9.2.KETEN TOHUMU YAĞI	21
1.9.3.CEVİZ YAĞI	22
1.10.BÜYÜME FAKTÖRLERİ ANTİKORLARI	23
1.10.1.IGF-1 (Insulin-like growth factor-1)	23
1.10.2.TGF-β1 (Transforming Growth Factor-Beta 1)	24
1.10.3.VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor)	25
2.GEREÇ VE YÖNTEMLER	26

2.1.ARAŞTIRMANIN TİPİ	26
2.2.ARAŞTIRMANIN YERİ VE ZAMANI	26
2.3.ARAŞTIRMANIN EVRENİ VE ÖRNEKLEMİ	26
2.4.HAYVANLARIN TEMİNİ VE BARINDIRMA KOŞULLARI	26
2.5.MEME DOKULARININ HEMATOKSİLEN EOZİN İLE BOYAMASI	30
2.5.İMMÜNOHİSTOKİMYASAL İNCELEME	32
2.6.BİYOKİMYASAL İNCELEME	34
2.7.VERİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ	35
2.8.ARAŞTIRMANIN SINIRLILIKLARI	35
2.9.ETİK KURUL ONAYI	35
2.10.CLINICAL TRIALS KAYDI	35
3.BULGULAR	36
3.1.MEME DOKULARININ HEMATOKSİLEN EOZİN BOYAMASI	36
3.2.DENEY GRUPLARI ARASINDA DHA, FADS2, PROLAKTİN BİYOKİMYASAL SONUÇLAR AÇISINDAN KARŞILAŞTIRILMASI	38
3.3.GRUPLAR ARASINDA DHA, FADS2, PROLAKTİN BİYOKİMYASAL YOĞUNLUĞU SONUÇLARI AÇISINDAN ÇOKLU GRUP KARŞILAŞTIRMALARI	40
3.4.İMMÜNOHİSTOKİMYA BULGULARI.	42
3.5.GRUPLAR ARASINDA IGF-1, TGF- β 1, VEGF İMMÜNOHİSTOKİMYA BOYAMA SONUÇLARI AÇISINDAN KARŞILAŞTIRILMASI	46
3.6.MEME DOKULARININ GRUPLAR ARASINDA IGF-1, TGF- β 1, VEGF İMMÜNOHİSTOKİMYA BOYAMA SONUÇLARI AÇISINDAN ÇOKLU GRUP KARŞILAŞTIRMALARI	48
4.TARTIŞMA	50
5.SONUÇ VE ÖNERİLER	57
6.KAYNAKLAR	58
EKLER	71
EK-1 MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ TEZ KONUSU ONAYI	71
EK-2 ETİK KURUL ONAYI	72
EK-3 DENEY HAYVANLARI KULLANIM SERTİFİKASI	74

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AA	Araşidonik Asit
ALA	Alfa-Linolenik Asit
ANOVA	Analysis of Variance (Tek Yönlü Varyans Analizi)
BAP	Bilimsel Araştırma Projeleri
DHA	Dokosaheksaenoik Asit
dl	Desilitre
DPA	Dokosapentaenoik Asid
ELOVL2	Elongasyon 2
ELOVL5	Elongasyon 5
EPA	Eikosapentaenoik Asit
FADS	Fatty Acid Desaturase (Yağ Asidi Desaturaz)
g	Gram
GLA	Gama-Linoleik Asit
H2O2	Hidrojen Peroksit
IGF-1	Insulin-like growth factor -1 (İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1)
IGFBP	IGF Bağlayıcı Protein
L	Litre
LA	Linoleik Asit
LC-PUFA	Long Chain Polyunsaturated Fatty Acids (Uzun Zincirli Çoklu Doymamış Yağ asidi)
mg	Miligram
ml	Mililitre
mRNA	Messenger Ribonücleic Acid (Mesajcı Ribonükleik Asit)
MUFA	Monounsaturated Fatty Acids (Tekli Doymamış Yağ Asitleri)
n-3	Omega-3
n-6	Omega-6
ORT	Ortalama
pg	Pikogram
PUFA	Polyunsaturated Fatty Acids (Çoklu Doymamış Yağ Asitleri)
RANK-L	Reseptör Aktivator Nükleer Kappa B
SD	Standard Deviation
SDA	Stearidonik Asit

SFA	Saturated Fatty Acids (Doymuş Yağ Asitleri)
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
TGF-β1	Transforming Growth Factor-Beta 1 (Dönüştürücü büyüme faktörü-β1)
THA	Tetrakosaheksaenoik Asit
TPA	Tetrakosapentaenoik Asit
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor (Vasküler endotelial büyüme faktörü)
WHO	World Health Organization
Δ4	Delta-4 desaturaz
Δ5	Delta-5 desaturaz
Δ6	Delta-6 desaturaz
Δ8	Delta-8 desaturaz
µg	Mikrogram

ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1. Yağ asitlerinin yapıları	15
Şekil 2. Çoklu doymuş yağ asitlerinin metabolik reaksiyonları	19
Resim 1. İnsan kesitsel meme anatomisi	3
Resim 2. Sıçan meme bezinin anatomisi	4
Resim 3. İnsan ve sıçan meme bezlerinin arasındaki farklar	8
Resim 4. Grafikselsel özet	27
Resim 5. Deney aşamaları	29
Resim 6. Sıçan meme dokusunun Hematoksilen eozin ile boyaması	36
Resim 7. Meme dokusunda IGF1 immün boyanması	42
Resim 8. Meme dokusunda TGF- β 1 immün boyanması	43
Resim 9. Meme dokusunda VEGF immün boyanması	44

TABLÖLAR DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 1. Yağların yağ asidi oranları	20
Tablo 2. Hematoksilen Eozin boyaması	31
Tablo 3. İmmünohistokimya protokolü	33
Tablo 4. Gruplar arasında DHA, FADS2, Prolaktin biyokimyasal yoğunluğu sonuçları açısından ort±sd değerleri.	38
Tablo 5. Gruplar arasında DHA, FADS2, Prolaktin biyokimyasal yoğunluğu sonuçları açısından çoklu grup karşılaştırmaları.	40
Tablo 6. Gruplar arasında IGF-1, TGF-β1, VEGF immünohistokimya boyama sonuçları açısından ort±sd değerleri.	46
Tablo 7. Gruplar arasında IGF-1, TGF-β1, VEGF immünohistokimya boyama sonuçları için morfometrik veriler.	48



GİRİŞ

Dünya Sağlık Örgütü ve Birleşmiş Milletler Çocuklara Yardım Fonu, bebeklerin ilk altı ay sadece anne sütüyle beslenmesini (başka yiyecek veya su verilmemesi), altıncı aydan sonra ise iki yaşına kadar tamamlayıcı beslenme ile emzirmenin sürdürülmesini önermektedir [1]. Dünya Sağlık Örgütü 2025 küresel beslenme hedefleri doğrultusunda, ilk altı ayda sadece anne sütüyle beslenme oranını %38'den %50'ye çıkarılmasını amaçlamaktadır. Beslenme hedefleri doğrultusunda emziren kadınların beslenmesinin önemine dikkat çekilmiştir [2].

Anneden bebeğe biyoaktif faktörleri ileten anne sütü, bebeğin gelişim sürecinin sağlıklı ilerlemesinde önemli bir rol oynar [3], [4]. Anne sütü, bebeğin büyüme ve gelişmesi için ihtiyacı olan tüm temel besin öğelerini karşılamaktadır. Ayrıca yenidoğanın enfeksiyonlara yakalanma riskini düşürür ve kolaylıkla sindirilebilir [5]. Anne sütü ile beslenme, bebeklerin obeziteye, gastrointestinal hastalıklara, endokrin ve metabolik hastalıklara yakalanma riskini azaltırken, bebeğin zihinsel sağlığına ve psikomotor gelişimine katkıda bulunur. Yetişkinlik döneminde ise hipertansiyon, kolesterol ve diyabet gibi hastalıkları önler [6].

Emzirmenin anne sağlığına erken dönemde faydaları arasında; doğum sonu depresyon görülme sıklığında azalma ve postpartum kanamalarının azalması gibi olumlu etkileri bilinmektedir. Ayrıca emzirmenin uzun dönemde annede, meme kanseri, over kanseri, endometriozis, diyabet, osteoporoz ve kardiyovasküler hastalıkların riskini azalttığı da literatürde bildirilmiştir [7], [8]. Epidemiyolojik çalışmalar, emzirmeyen kadınlarla karşılaştırıldığında emziren kadınların kalp-damar, solunum ve mide-bağırsak hastalıklarına yakalanma riskinin daha düşük olduğunu ayrıca depresif semptomların daha az görüldüğünü göstermiştir [6].

Anne sütünün bileşimi, laktasyon döneminde maternal beslenme içeriğinden doğrudan etkilenmektedir [4], [9]. Maternal beslenmenin içeriğinin anne sütü yağ asidi kompozisyonunu etkilediği, sütteki makro besin içeriklerinin ise maternal beslenmeden daha az etkilendiği bildirilmiştir [10].

Yağ asitleri, bir ucunda bir metil grubu ve diğer ucunda bir asit grubu bulunan uzun hidrokarbon zincirlerdir. Tekli doymamış yağ asitleri (MUFA) bir çift bağ içerir ve çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) birçok çift bağ içerir. Çift bağın omega ucuna göre konumu, bir PUFA'nın omega 3 (n-3) veya omega 6 (n-6) yağ asidi olduğunu belirler [11].

Literatürde üzerinde en çok durulan üç ana n-3 yağ asidi dokosaheksaenoik asit (DHA), eikosapentaenoik asit (EPA) ve alfa-linolenik asit (ALA) olarak bilinmektedir. n-3 yağ asidi açısından zengin bitkisel yağlar, keten tohumu yağı, kanola yağı, soya yağı, ceviz yağı olarak sıralanabilir. Diğer yandan balık yağı ise zengin bir hayvansal n-3 kaynağıdır [12]. Yapılan çalışmalar n-3'ün gebelik ve emzirme döneminde beyin sağlığının gelişmesinde, fetal büyümede, davranışsal gelişimde ve yaşlılık döneminde bilişsel işlevlerde önemli rol oynayabileceğini göstermektedir [13] – [15].

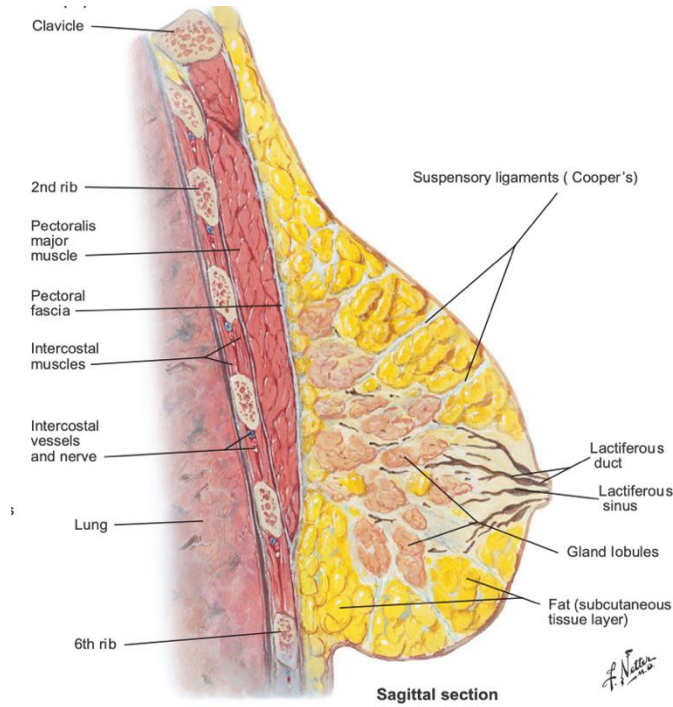
Literatürdeki bazı insan ve hayvan çalışmaları, n-3 yağ asidinden zengin yağların tüketimine ve etkisine odaklanmıştır. Bu çalışmaların çoğu yaşamın farklı dönemlerinde yapılmıştır. Gebelik veya emzirme gibi yaşamın kritik dönemlerinde yağ asitlerinin etkisini değerlendiren az sayıda çalışma vardır. Bu deneysel hayvan çalışmasında laktasyon döneminde maternal diyetle takviye alınan farklı n-3 yağ asidi kaynaklarının meme dokusunun yapısına ve dolayısıyla meme bezlerinin süt üretim kalitesine olan etkisini karşılaştırmalı olarak incelemeyi amaçladık.

1. GENEL BİLGİLER

1.1. İNSAN MEME ANATOMİSİ

İnsan meme bezleri, toraksın önünde ve sternumun iki yanında yer alan, göğüs ön duvarının ikinci kosta seviyesinden altıncı kosta seviyesine kadar uzanan, bir veya iki tabaka epitelyal hücreye sahip, basit dallanmış tübüloalveoler organlardır [16]. Meme bezi, hormonal, çevre ve epigenetik değişikliklere yanıt veren dinamik bir organdır [17]. Meme gelişim aşamaları arasında embriyogenez, pubertal gelişim, gebelik, laktasyon, involüsyon ve menopoiz dönemleri yer alır [18].

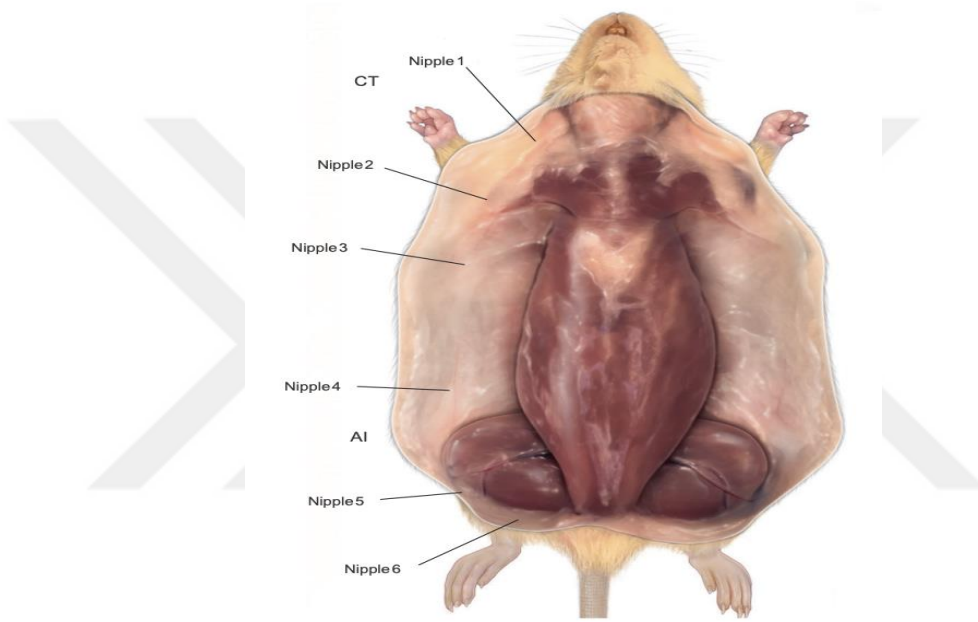
Meme bezi, bağ dokusu ve yağ dokusu stromasına gömülü bir tübüloalveoler parankimi içerir. Meme bezi, 15- 20 adet lobdan oluşur. Meme lobları sayıları 20 ile 40 arasında değişen lobüllere bölünmüştür. Lobüller dallanmış tübüloalveoler bezlerden oluşur (Resim 1). Her lob büyük bir süt kanalına akar. Süt veren kanallar areolanın altındaki süt veren sinüse doğru genişler. Loblar arasındaki boşluk ise yağ dokusu ile doludur [16].



Resim 1. İnsan kesitsel meme anatomisi [19].

1.2. SIÇAN MEME ANATOMİSİ

Sıçanların altı çift bilateral simetrik meme bezi bulunur. Bu bezler, boyundan perianal bölgeye kadar olan karın altındaki süt çizgisi boyunca yer alır. Üç çift meme bezi servikotorasik bölgede ve üç çift meme bezi ise abdominal-inguinal bölgede bulunur (Resim 2) [19]. Her meme bezi, kan damarları, sinirler, düz kas lifleri, lenf düğümleri, lenf damarları içeren epitel ve ter bezlerinden oluşur [20].



Resim 2. Sıçan meme bezinin anatomisi [19]

Sıçan meme bezi, ergenlik ve siklus sırasında epitelyal genişleme, gebelik ve emzirme döneminde sekretuar farklılaşma ve involüsyon sırasında gerileme ile ilişkili olarak yapısal ve fonksiyonel değişikliklere uğrar [20].

Dişi sıçanların meme bezleri, tübüler kanalların ve alveoler yapıların dağılmış olduğu bir yapıya sahiptir ve bu yapı tübüloalveolar olarak adlandırılır. Ayrıca meme bezleri, dallanan tübüler kanalların oluşturduğu bir bileşik içerir ve bu kanallar sekretuar glandüler alveoller olarak da adlandırılan yapıların sonlandığı yerlerdir [21].

1.3. MEME BEZİ HİSTOLOJİSİ

Memenin embriyonik gelişimi, 6. gebelik haftasında, embriyonun ön yüzeyinde (süt çizgisi) aksilladan inguinal bölgeye kadar uzanan kalınlaşmış bir ektodermal çıkıntıdan başlar. 7. Haftada süt hatları kısalıp kalınlaşarak ektodermal hücrelerden oluşan küçük nodüller haline gelir. Intrauterin ilk üç aylık dönemin sonuna doğru bu nodüller, mezenkimal etkileşimler ve salgılar tarafından düzenlenen bir meme tomurcuğu oluşturmak üzere embriyonik bağ dokusuna inerler. İkinci trimesterde meme tomurcuğu genişlemeye ve dallanmaya başlar. Meme tomurcuğu mezenkimden aşağı doğru büyüyen ikincil epitelyal tomurcukları oluşturur. Oluşan bu tomurcuklar büyümeye devam eder, dallanır, uzar ve süt veren kanalları oluşturmak üzere birleşir. Meme tomurcuklarının sürekli dallanması ve kanalize olması üçüncü trimester boyunca devam eder [22].

Gebeliğin sonunda, her meme tomurcuğu, her biri süt kanalları içeren 15-20 lobüler yapı geliştirmiştir. İç büyüme alanını çevreleyen mezoderm çoğalarak ters meme ucunun oluşmasına neden olur. Gebeliğin beşinci ayna gelindiğinde meme ucunu çevreleyen areola oluşur ve içe doğru büyümenin üzerindeki epidermis çökerek meme çukurunu oluşturur. Bu arada süt veren kanallar, meme ucunun ucunda açılmak üzere birleşen retroareolar ampullaya doğru kanalize olur ve boşalır [23].

Meme ve meme bezindeki ergenlik değişiklikleri büyük ölçüde büyüme ve seks hormonlarının etkisinden kaynaklanmaktadır. Östrojenin etkisiyle epitel hücrelerinin çoğalması memedeki fibröz ve yağlı dokuda artışa neden olur. Epitel hücreleri, terminal uç tomurcuklarını oluşturan dallanan kanal demetlerinden oluşan bir ağ geliştirir. Terminal uç tomurcuğu bölgesinde dallanma ve duktal uzama meydana gelir ve alveolar tomurcukların ve birkaç terminal kanalının oluşmasına neden olur. Her alveol, bir kasılabilir miyoepitelyal hücre demetiyle çevrenmiştir. Terminal kanallar veya asinusların bir koleksiyonundan oluşan bu karmaşık yapı, yetişkin memenin yapısal birimi olan terminal kanal lobüler ünitesi olarak bilinir. Gebeliğin 12. haftasında hücre bölünmesi ve epitel yüzey alanının artması sonucu lobüllerin sayısı hızla artar. Gebeliğin ortasında, genişlemiş lobüller merkezi dallanma kanalını çevreler ve terminal kanal artık tanınmaz. Daha fazla hücre proliferasyonu ve farklılaşması, süt üreten hücrelerle sonuçlanır ve bez, salgı başlangıç aşamasına doğru

ilerler. Meme oluşumu ergenlik döneminde başlasa da gebeliğe kadar tam olarak tamamlanmış olmaz [23].

Doğumdan sonra plasentanın atılması, progesteron ve östrojende ani bir azalmaya neden olur, buna prolaktin, insülin ve kortizolde artış eşlik eder. Bebeğin emzirilmesi, farklılaşmış alveoller ve laktiferöz kanallar üzerinde yer alan miyoepitelyal hücre reseptörleri ile etkileşime giren arka hipofizden oksitosin salınımını tetikler. Bu, meme bezinden sütün salgılanmasını sağlayan hücrelerin kasılmasına neden olur [23].

Meme bezinin epitel bileşenlerinin, duktüler ve bazal epitelde bulunan kök ve progenitör hücrelerden oluştuğu gösterilmiştir. Ancak meme epitelinde kök hücre özelliklerine sahip birden fazla hücre popülasyonunun bulunması nedeniyle tartışmalar vardır. Bilinen kök hücre popülasyonları, meme yeniden oluşturan birimleri, iki güçlü meme kök hücrelerini ve tek güçlü meme epitelyal progenitörlerini içerir. Bipotent meme kök hücreleri hem luminal hem de miyoepitelyal hücrelere farklılaşabilir ve CD49f/CD29/CD24 profili ile karakterize edilir. Kök hücre genişlemesine, progesteron pozitif meme epitel hücrelerinde RANK-L (Reseptör Aktivator Nükleer Kappa B) salgılanmasını indükleyen progesteron aracılık eder. Salgılanan RANK-L, hormon reseptörü negatif progenitör hücrelerde bulunan RANK reseptörü üzerinde etki göstererek bunların çoğalmasını sağlar [24].

Meme bezi adipositleri, epitelyal duktal büyümenin desteklenmesinden oluşan lokal bir etki uygulayan IGF-1'i salgırlar. Östrojenin indüklediği IGF-1 ekspresyonu, diğer adipoz depolarıyla karşılaştırıldığında meme bezi adipositlerinde daha güçlüdür. Bu durum meme bezi adipositlerinin diğer bölgelerde bulunanlarla karşılaştırıldığında benzersiz özelliklere sahip olabileceği fikrini desteklemektedir. Meme bezi adipositlerinin, bez gelişimi ve emzirme sırasında meme yağ yastığında eksprese edilen VEGF'nin üretimi yoluyla bez içindeki anjiyogenezi düzenlediği de bilinmektedir [25].

1.4. LAKTASYON DÖNEMİNDE MEME BEZİ GELİŞİMİ

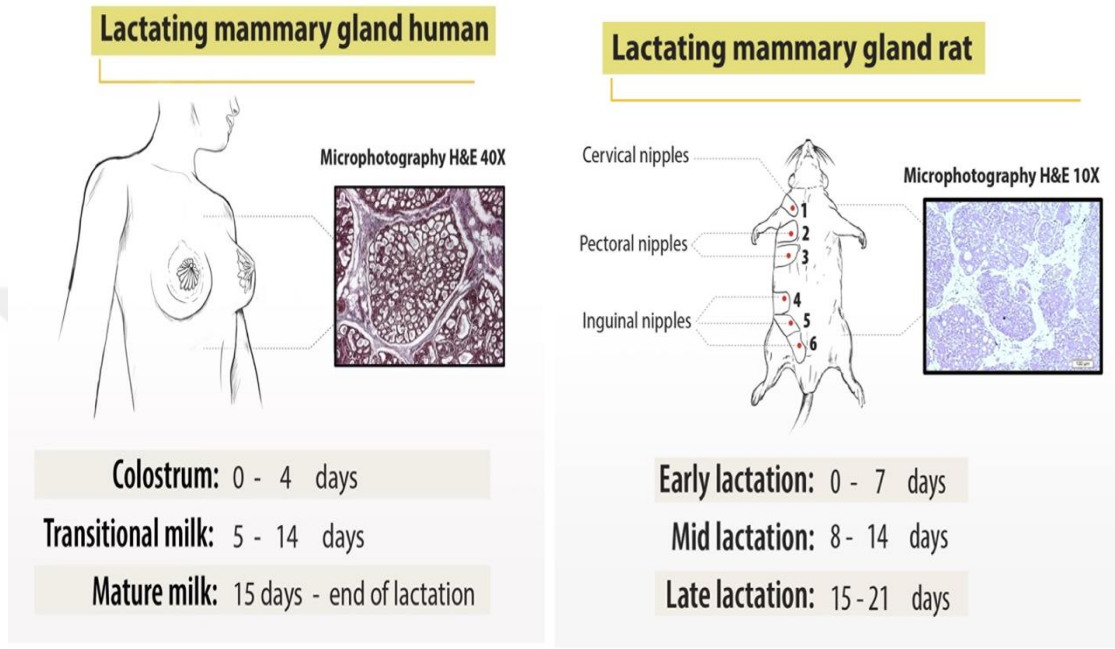
Meme bezinin temel görevi, yenidoğanın optimal gelişimi için gerekli olan sütü sentezlemek, salgılamak ve iletmektir. Gebelik ve emzirme dönemi annede meme gelişiminin büyük ölçüde değişime uğradığı bir dönemdir. Gebelik sırasında vücut, kolostrum oluşturarak süt salgılayan dallı laktiferöz kanalların ve laktosit kaplı alveollerin büyümesini ve gelişimini uyararak emzirmeye hazırlanır. Bu işlevler östrojen, büyüme hormonu, kortizol ve prolaktinin etkilerinden kaynaklanmaktadır. Ek olarak, progesterona yanıt veren meme alveol kümeleri kanallardan tomurcuklanır ve göğüs duvarına doğru genişler. Böylece gebelik sırasında meme epitel hızlı bir proliferasyona uğrar, ardından laktasyona hazırlanırken farklılaşır [26], [27].

Laktasyon döneminde meme bezi, oldukça dallanmış bir tübülo-alveolar glandüler epitelden oluşur. Meme bezi hem bağ hem de beyaz yağ dokusundan oluşan bir stromaya gömülü olup Cooper bağları olarak adlandırılan gevşek bir fibröz bağ doku tarafından desteklenir. Bu dönemde memenin boyutu ve ağırlığında artış gözlenir. 15-20 adet lobdan oluşan insan memesi, süt üreten ve sayısı 10-100 arasında değişen lobülleri içeren alveollere bölünür. Ayrıca meme epitel hücrelerin büyümesi ve farklılaşması aynı lobülde süt üretimiyle eş zamanlı olarak meydana gelebilir [17].

Alveoller, lobüllerin interlobüler kanallarına bağlanan ve daha büyük kanalları oluşturmak üzere birleşen kanalcıkların etrafında kümelenir. Her alveol, sütün dışarı atılmasından sorumlu kasılabilir miyoepitelyal hücreler ve geniş bir kılcacıkla çevrilidir. Miyoepitelyal hücreler, çeşitli büyüme faktörlerini salgılayarak meme gelişimini de düzenler. Ayrıca oksitosine tepki verdiğinde ve süt üreten alveoler hücreleri kasıldığında sütün bir kısmı dışarı atılır [28], [22].

Meme bezi gelişimi insanlar ve sıçanlar arasında karşılaştırılabilir niteliktedir. Sıçanların gebelik süresince meme bezlerinde meydana gelen histolojik değişiklikler, insan gebeliği süresince gözlemlenenlere benzerlik gösterir (Resim 3). Bu nedenle meme bezi çalışmalarında sıklıkla sıçanlar tercih edilir [29].

Sıçanların laktasyon dönemindeki değişimi genellikle; erken dönem (0-7.gün) orta dönem (8-14.gün) ve geç dönem (15-21.gün) olmak üzere sırasıyla pre-laktasyon, laktasyon ve involüsyon olarak ayrılır [19].



Resim 3. İnsan ve sıçan meme bezlerinin arasındaki farklar [30]

Laktasyon döneminde epitel hücreleri çoğalır, alveolar farklılaşma olur ve dış meme başı ve areolada gebelik gelişimi gözlenir. Meme bezinin stroması giderek daha fazla süt üretilen hale gelir ve yağ dokusunda bir azalma olur. Daha sonra alveoler epitel presekretuar hale gelir ve süt bileşenleri (protein, yağ ve laktoz) üretilmeye başlar. Sıçanlar ve insanlarda meme bezinin büyümesi; terminal duktal lobüler ünitenin büyümesi ve hücre çoğalması ile oluşur. Gebeliğin sonlarına yaklaşırken laktasyon sırasında hücre çoğalma hızı yavaşlar ve daha fazla meme bezinin büyümesi nedeniyle alveoler hipertrofi artar. Laktasyonun başlamasıyla, lümenal alveolar büyük yağ vezikülleri, laktoz ve protein üretir [31].

1.5. LAKTASYON DÖNEMİNDE MATERNAL BESLENME

Tamamen anne sütüyle beslenen bir bebeğin sağlıklı büyüdüğü ve uygun biyokimyasal gelişiminin devam ettiği durumda emzirme başarılı olarak kabul edilir. Anne sütü, annenin dengeli beslendiği ve bebeğe yeterli miktarda aktarıldığı sürece, ilk 6 ay boyunca tek başına bebeğin ihtiyaç duyduğu besinleri karşılar. Bebeğin tükettiği sütün besin içeriği, maternal beslenme yeterliliğini değerlendirmek için sıklıkla kullanılan göstergelerden biridir. Anne sütü kalitesini belirlemek amacıyla annenin besin alımı önemlidir. Süt bileşimi, çoğu zaman bebek büyümesini desteklemek için yeterli olsa da besinsel eksiklikler veya yetersiz diyetler, annenin besin depolarını tüketebilir ve sütün bileşimini olumsuz etkileyebilir [32].

Laktasyon döneminde emziren kadınların temel besin gereksinimleri ve takviye gıdalara olan gereksinimi, emzirmeyen kadınlara göre daha yüksek olduğu bilinmektedir. Dengeli bir beslenmeyle alınan mikro besinler (vitaminler ve mineraller), makro besinler (karbonhidratlar, proteinler ve yağlar) ve n -3 yağ asitleri birçok hücrel ve metabolik aktivite için gereklidir [33].

Sütün bileşimi, annenin laktasyon dönemindeki besin alımı ve vücuttaki yağ depoları tarafından etkilenir. Bu faktörler süt üretimi için anne sütünün kalitesini belirler. Anne sütü, bebeğin tüm beslenme ihtiyaçlarını karşılamak için sürekli olarak değişir; sütün bileşimi bebeklerin yaşına, emziren memeye, gün içindeki emzirme süresine ve nüfus gruplarına göre farklılık gösterir [34].

Laktasyon döneminde besin ögesi gereksinimi gebelik dönemine göre daha yüksektir. Meme bezlerinin sekretuar kapasitesi, anne sütü üretimi ve maternal enerji dengesinin korunması için yüksek olmalıdır [35]. İlk 6 ay boyunca ortalama anne sütü üretimi yaklaşık 750 ml/gün olur ve emzirme devam ettiği sürece anne enerji gereksinimi artar. Yapılan klinik çalışmalar sonucunda, emzirme döneminde protein tüketiminin yeterli sağlanamaması, anne sütü üretimini azalttığı bildirilmiştir. Başka bir yaklaşım da günlük üretilen süt miktarına dayalı olarak protein alımını düzenlemektir. Ortalama olarak günde 750 ml anne sütü üretildiğini ve diyet proteinlerinin %70'inin süt proteinlerine dönüştüğünü göz önünde bulundurarak protein gereksinimini belirlemek mümkündür [36].

Laktasyon döneminde, yeterli karbonhidrat alımı, süt üretiminin sağlanması ve enerji dengesinin korunması için önemlidir. Bu ihtiyaç, annenin fiziksel aktivitesi ve emzirme sıklığı ile ilişkilidir. Bu nedenle karbonhidrat alım miktarının buna göre hesaplanması önerilmektedir. Ayrıca, düşük gestasyonel kilo alımına sahip bir annenin karbonhidrat ihtiyacı daha yüksek olabilir [36].

Emzirme sırasında bebek, anne sütündeki salgılar yoluyla yağ asitlerine maruz kalır. Emziren meme dokusu, yağ asitlerini anne plazması tarafından ekstrakte edilen bir substrat kaynağından hücre içi olarak sentezler. Bu yağ asitleri anne kanındaki lipitlerden ekstrakte edilebilir. EPA, DHA gibi uzun zincirli yağ asitleri, annenin beslenmesiyle direkt ilişkilidir ve bebeğin nörolojik gelişim açısından son derece önemlidir. Maternal beslenmedeki yağ asidi tüketimi yalnızca anne sütünün yağ asidi profilini etkilemekle kalmaz, ayrıca meme bezlerinin işlevi üzerine de etkisi vardır [37].

Gebelik ve emzirme döneminde AA, EPA, DHA ve öncü yağ asitleri (hem n-6 hem de n-3) anneden fetüse plasental transfer yoluyla ve anne sütü ile aktarılırlar. Bu yağ asitlerinin annelerin diyetinde ve anne sütünde yüksek seviyelerde olması gelişmekte olan bebeklerin pre ve postnatal büyüme ve gelişimini olumlu bir şekilde etkileyen bir ilişki bilinmektedir [37].

Anne sütündeki yağda çözünen vitaminler, annenin diyetinde eksik olması durumunda azalır ve takviye ile artar. Özellikle D vitamini ve K vitamini içerikleri önemlidir. D vitamini seviyesi anne sütünde düşüktür, bu nedenle tüm bebeklere D vitamini takviyesi önerilir. K vitamini içeriği annenin diyet alımına bağlı olarak değişebilir veya düşük olabilir [38], [39].

Anne sütündeki kalsiyum, fosfor ve magnezyum gibi minerallerin seviyeleri annenin diyetinden veya serum seviyelerinden bağımsızdır. Ancak diğer bazı minerallerin, örneğin selenyum ve iyotun, annenin diyet alımına bağlı olarak süt seviyelerini etkileyebilir [40].

Sonuç olarak annenin beslenme alışkanlıkları, sütün bileşimini etkiler ve bebeğin önemli besin maddelerini yeterince alabilmesi için dengeli bir beslenmenin sürdürülmesi önemlidir.



1.6. ANNE SÜTÜ BİLEŞİMİ

Anne sütü birçok kompleks protein, lipit ve karbonhidrat içerir ve konsantrasyonları emzirme döneminde bebeğin ihtiyacına göre şekillenir [41]. Ayrıca anne sütü, antiinflamatuvar, antienfektif, probiyotik etkilere sahip çok çeşitli bağışıklık hücreleri ve biyoaktif bileşenler içerir [42].

Anne sütü yaklaşık %87-88 oranında su içeren karmaşık bir biyolojik sıvıdır. Buna ek olarak anne sütünün temel bileşenleri; makro besinler, mikro besinler, hormonlar, oligosakkaritler, mikrobiyota ve sitokinler olarak sıralanabilir [43]. Olgun sütün ortalama makro besin içeriği şu şekildedir; protein için yaklaşık 0,9 ile 1,2 g/dl, yağ için 3,2 ile 3,6 g/dl ve laktoz için 6,7 ile 7,8 g/dl. Anne sütünün mikro besin içeriği ise A, B1, B2, B6, B12, D ve iyot vitaminleri içerir. Sütteki besin içeriği, anne beslenmesi ve vücut depolarına bağlı olarak farklılık gösterir. Anne sütündeki hormonlar ve büyüme faktörleri aynı zamanda çeşitli biyoaktif proteinler ve peptitler olarak da görev yapar. Paratiroid hormonu, insülin, leptin, ghrelin, apelin, nesfatin-1, obestatin ve adiponektin gibi hormonlar anne sütünde bulunmaktadır [44].

Anne sütü, yaşamın erken dönemlerinde bebeğe önemli bir karbonhidrat kaynağı sağlayarak bebeğin uygun beslenmesini, olgunlaşmasını ve nispeten fizyolojik sistemlerinin gelişmesini destekler. Anne sütünün temel karbonhidrat bileşeni olan laktoz, anne sütünün enerjisinin %40'ından fazlasını sağlayan önemli bir makro besindir [45]. Laktoz, enerji sağlamanın yanı sıra süt üretimi sırasında ozmotik basıncı da düzenler. Bununla beraber kalsiyumun emilimini artırır ve kemik mineralizasyonunu olumlu şekilde etkiler [46]. Ayrıca beyin ve spinal kortta galaktolipitlerin yapısına girerek beyin gelişiminde rol oynar [41]. Anne sütünde ayrıca galaktoza kovalent olarak bağlanan glikozdan oluşan bir disakkarit olan laktoz dışında çeşitli kompleks karbonhidratlar da bulunur. İnsan sütünün diğer önemli karbonhidratı ise oligosakkaritler olarak adlandırılır. Oligosakkaritler, bebeği patojenik bakterilerin kolonizasyonundan korumak için prebiyotik olarak işlev görürler [47]. Ayrıca neonatal ishal ve solunum yolu enfeksiyonlarının önlenmesinde önemli bir rol oynarlar [41], [48].

Lipitler anne sütündeki en büyük enerji kaynağıdır ve anne sütünün toplam enerjisinin %40-55'ine katkıda bulunur [49]. Anne sütü 200'ün üzerinde yağ asidi içerir ancak bunların çoğu düşük konsantrasyonlarda bulunur [50]. Yağlar dağılmış yağ damlacıkları şeklinde bulunur ve bu damlacıkların çekirdeği, başta triasilgliseroller olmak üzere meme epitelyal hücrelerin endoplazmik retikulumunda oluşur. Endoplazmik retikulumdan sitozola salgılandığında, çekirdek önce meme alveolar hücrelerin endoplazmik retikulumundan gelen iç zarla kaplanır. Bu damlacıklar daha fazla alveolar boşluğa salgılandığında, meme alveoları hücre plazma zarından gelen dış zarla kaplanır. Bu nedenle, süt yağ globül membranı biyoaktif bileşiklerin yüksek miktarını içerir [48].

Sütün yağ asidi konsantrasyonu, annenin beslenmesi, annenin plazma yağ asidi bileşimi, süt yağı konsantrasyonu ve emzirme süresi gibi faktörlerle ilişkilidir [51]. Uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitleri, anne sütünde bulunan toplam yağ asitlerinin %2'sini oluşturur [52]. Sütün birincil PUFA'sı LA'dır, aynı zamanda ALA, hem n-6 hem de n-3 serisinden yaklaşık 10 farklı LC-PUFA (Uzun Zincirli Çoklu Doymamış Yağ asidi), insan sütü örneklerinde bulunur. Yapılan bir çalışmada olgun sütün Toplam n-6 LC-PUFA'nın yüzde katkısı %0,83 ila %1,40 arasında değişirken toplam n-3 LC-PUFA oranının, toplam yağ asitlerinin %0,27 ila %0,48'i arasında değiştiğini bildirmektedir [48].

Anne sütü, çeşitli işlevleri yerine getiren 400'ün üzerinde farklı protein içerir. Bununla birlikte antimikrobiyal ve immünomodülatör aktivitelere de sahiptir [53]. Anne sütünün proteini biyolojik açıdan oldukça değerlidir ve bebeklerin ilk altı ay boyunca protein ihtiyacını tek başına karşılar. Protein içeriğinin %60'ı hızla sindirilebilen ve yüksek biyolojik değere sahip Whey proteindir. Ayrıca, düşük düzeyde fenilalanin, tirozin ve metionini içerirken, yüksek düzeyde taurinini de bulundurmaktadır. Taurin büyümeyi teşvik eden bir bileşen olup, retinal harabiyeti önleme özelliğine sahiptir. Whey proteini büyük ölçüde alfa laktalbumin içerir ve meme bezlerinde laktoz üretiminde, laktoferrin, lizozim, sekretuar IgA ve diğer immünglobulinlerle birlikte bağışıklık sisteminde rol oynar. Sütteki bulunan proteinlerin hem besin sağlama hem de bebeklerin bağışıklık sistemini destekleme rolü vardır [48].

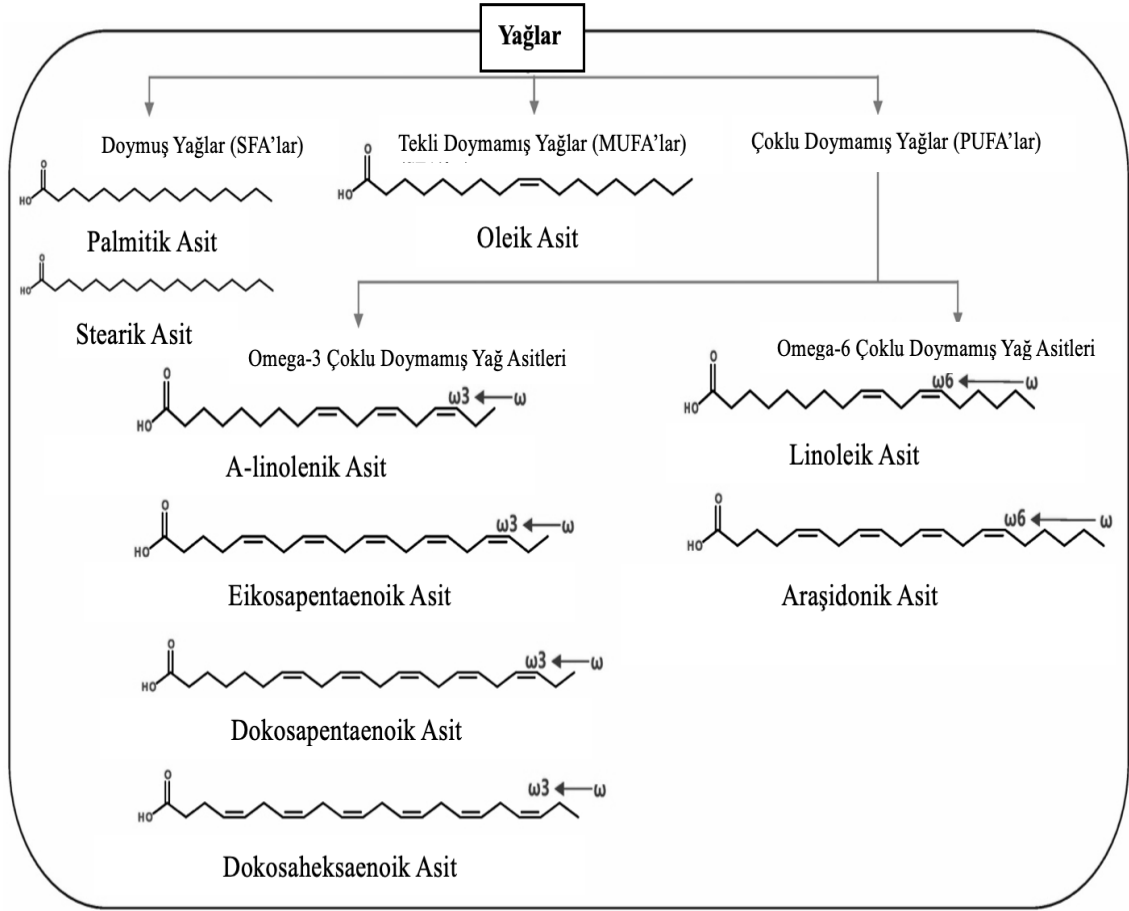
1.7. OMEGA-3 YAĞ ASİTLERİ

Yağ asitleri, yan zincirlerinde bulunan çift bağ sayısına göre üç kategoriye ayrılır: doymuş yağ asitleri (SFA, hiç çift bağ içermez), tekli doymamış yağ asitleri (MUFA, tek bir çift bağ), ve çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA, ≥ 2 çift bağ). Yağ asitleri ayrıca karbon zinciri uzunluğuna ve ilk çift bağın metil ucu üzerindeki konumlarına göre daha fazla sınıflandırılabilir. Bu yağ asitleri, insan vücudu tarafından sentezlenemediği için esansiyel yağ asitleri olarak adlandırılır [54].

Omega-3 ve omega-6 yağ asitleri, vücut tarafından sentezlenmeyen ve takviye alınması gereken temel doymamış yağ asitleridir [55]. Bu iki çoklu doymamış yağ asidi türü, fosfolipid membranların temel bileşenleri olduklarından özellikle gelişim sırasında organizma için çok önemlidir [56].

Üç ana n-3 yağ asidi dokosaheksaenoik asit (22:6, DHA), eikosapentaenoik asit (20:5, EPA) ve alfa-linolenik asit (18:3, ALA) olarak bilinmektedir. 22, 20 ve 18 karbon atomlu bir karbon zincirinde, bu çoklu doymamış yağ asitleri sırasıyla 6, 5 ve 3 çift bağa sahiptir [57]. ALA, üç çift bağa sahip bitki kaynaklı esansiyel n-3 çoklu doymamış yağ asitleridir [58]. EPA ve DHA deniz ürünleri ve balık yağları gibi deniz kaynaklarında bulunur [59]. Linoleik asit (18:2, LA) ve araşidonik asit (20:4, AA) ise n-6 yağ asitleridir [60]. Doymuş yağ asitlerinden palmitik asit (16:0), organizma tarafından ilk sentezlenen ve beslenme içeriğiyle yüksek oranda alınan bir yağ asididir. Diğer yağ asitlerinin büyük bir kısmı, palmitik asitten elongasyon veya desatürasyon reaksiyonlarıyla sentezlenebilir [61].

n-3 yağ asitlerinin insan sağlığı ve hastalıklarıyla önemli ilişkileri bulunmaktadır. Bebeklik döneminde görsel ve bilişsel gelişimi desteklerken öğrenmeye katkıda bulunurlar. EPA ve DHA'nın depresyon ve intihar riskini azaltma ile yaşa bağlı nörolojik dejenerasyonun başlangıcını geciktirme açısından faydalı olduğu bildirilmiştir. Ayrıca bu yağ asitlerinin bazı kanser türlerinin riskini azaltabileceği de öne sürülmüştür [62].



Şekil 1. Yağ asitlerinin yapıları [54]

1.7.1. DHA

Dokosaheksaenoik asit, 22 karbon zinciri ve 6 çift bağı ($22:6n-3$) olan n-3 ailesinden uzun zincirli bir çoklu doymamış yağ asididir. Diğer yağ asitleri gibi, DHA da çoğunlukla karboksil grubu aracılığıyla trigliserit, fosfolipid veya kolesterol ester gibi daha karmaşık bir lipit yapısına bağlı olarak bulunur [63].

Beyindeki n-3 PUFA'ların yaklaşık %90'ı DHA'dan oluşur. Bu durum DHA'nın beyin fonksiyonunun korunmasındaki önemini ortaya koymaktadır. Son yıllarda artan epidemiyolojik ve klinik kanıtlar, DHA'nın Alzheimer hastalığı, dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğu, meme kanseri, koroner kalp hastalığı ve diğer bazı hastalıklarda önleyici veya tedavi edici etkilerini kanıtlamıştır [64]. DHA'nın diyetle

yetersiz tüketimi, feto-plasental yapının optimal büyümesini bozar ve daha sonraki yaşamda bilişsel gerileme, kardiyovasküler hastalık, inflamatuvar bozukluklar, davranış değişiklikleri ve stres risklerini beraberinde getirir [65].

Yağlı balıklar (uskumru, somon, alabalık, ringa balığı, ton balığı, sardalya) DHA'nın en zengin besin kaynağı olduğundan, DHA alımı büyük ölçüde balık tüketiminden etkilenir. Ek olarak yumurta ve et gibi hayvansal kaynaklı gıdalarda az miktarda bulunur [63].

DHA'nın organizmada birçok rolü vardır: Amino asitlerin (kolin, glisin, taurin) hücre zarından aktif taşınmasının düzenlenmesinde, sodyum kanallarının fonksiyonunun düzenlenmesinde ve rodopsin tepkisinin başlatılmasına katılır. Bunlarla beraber merkezi sinir sistemi ve retinada en çok bulunan n-3 yağ asidinin DHA olduğu bilinmektedir [66]. DHA, sınırlı endojen biyosentezi olan bir besindir, bu nedenle beslenme yoluyla elde edilmelidir [67]. DHA, bitki kaynaklı esansiyel yağ asidi ALA yağ asidi elongazları ve desatürazların etkileri altında biyosentezlenebilir [68]. DHA, nörotransmitter biyosentezini, sinyal iletimini, serotonin alımını, β -adrenerjik ve serotonerjik reseptörlerin bağlanması ve monoamin oksidaz aktivitesini doğrudan etkiler [63].

İnsan anne sütü ve diğer memelilerin sütleri DHA içerir. Emziren kadınların DHA takviyesi, anne sütündeki DHA içeriğini artırabileceği birçok çalışmada bildirilmiştir. Emzirme döneminde takviye alınan ALA, anne sütündeki ALA içeriğini artırır fakat DHA'ya dönüşümü oldukça sınırlıdır [69].

1.7.2. EPA

Eikosapentaenoik asit, kimyasal olarak 20 karbonlu ve 5 çift bağ içeren bir çoklu doymuş yağ asidi olarak tanımlanır (20:5n-3). Bununla beraber EPA, anti-inflamatuvar özelliklere sahiptir. EPA, balık, karides ve fitoplanktonlarda yaygın olarak bulunur [62].

EPA açısından zengin bir diyetin sağladığı faydalar arasında serum lipid konsantrasyonunun düşmesi, kardiyovasküler bozuklukların insidansının azalması,

trombosit agregasyonunun önlenmesi, araşidonik asidin tromboksan-2 ve prostaglandin-2 ailelerine dönüşümünün inhibe edilmesi yer almaktadır [62].

İnsan vücudu tarafından alınan ALA, bir kısmını EPA'ya dönüştürür. ALA kendisi bir esansiyel yağ asididir. Bununla birlikte, ALA'nın EPA'ya dönüşüm verimliliği, onu içeren gıdalardan EPA'nın emiliminden çok daha düşüktür. Çünkü EPA aynı zamanda DHA için bir öncüdür ve hem EPA'yı sentezlemek için gereken ek metabolik işin hem de EPA'yı DHA'ya metabolize etmek için kullanılmasından dolayı EPA'yı içermeyen bir diyetle yeterli bir seviyeye sahip olmak daha zordur. Klinik çalışmalarda, EPA'nın trigliserit ve yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol seviyelerini düşürdüğü, DHA içeren n-3 yağ asidi ürünleri gibi, EPA düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol seviyelerini yükseltmediğini göstermiştir [70].

1.7.3. ALA

Alfa-linolenik asit, 18 karbon zinciri ve 3 çift bağı (18:3n-3) olan esansiyel bir çoklu doymamış yağ asidi olarak sınıflandırılır [63].

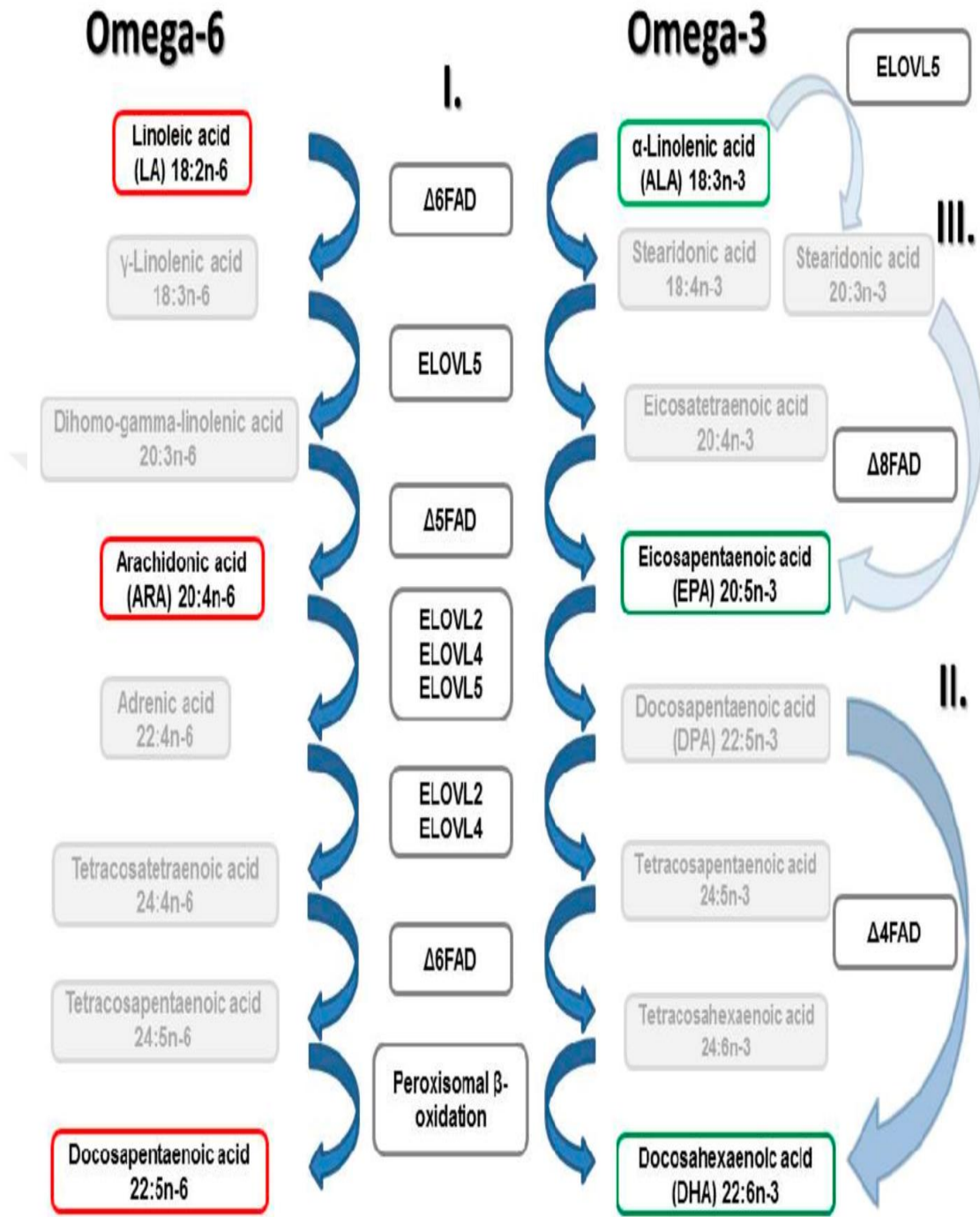
ALA, perilla tohumu yağında, keten tohumu yağında, şakayık yağında, kuşburnu yağında, bama keneviri yağında, kanola (kolza) yağında, ceviz yağında ve soya fasulyesi yağında bulunmaktadır [71]. ALA, insanlarda desatürazlar ve elongazlar tarafından EPA ve DHA'ya metabolize edilir. Ancak ALA, metabolik olarak EPA'ya ve DHA'ya dönüştürülebilmesine rağmen, dönüşüm oranının düşük olduğu düşünülmektedir [72].

1.8. OMEGA-3 METABOLİZMASI

Fatty acid desaturase (FADS) genleri, uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitlerinin sentezi için kilit öneme sahip olan $\Delta 5$ desaturaz ve $\Delta 6$ desaturaz enzimlerini kodlar. LC-PUFA'ların biyosentezi, besin maddesi olarak alınan temel yağ asitleri olan linoleik asit ve alfa-linolenik asit üzerinde sırasıyla desatürasyon (bir ekstra çift bağ eklenmesi) ve uzatma (iki karbon eklenmesi) adımlarının alternatif olarak gerçekleştiği karmaşık bir süreçtir. İlk olarak, LC-PUFA biyosentezinin bir parçası olarak, $\Delta 6$ FADS2 desaturaz, besinle alınan LA ($18:2n-6$) ve ALA ($18:3n-3$) yağ asitlerini sırasıyla gama-linoleik asit (GLA) ve stearidonik asite (SDA) dönüştürür. Daha sonra, $n-3$ serisindeki LC-PUFA'ların biyosentezi sırasında bu enzim, tetrakosapentaenoik asidi tetrakosaheksaenoik asite dönüştürür, ki bu da daha sonra DHA'ya dönüşmek üzere kullanılır [74].

AA ve EPA, LA ve ALA substratları için aynı enzimlerle aynı yol üzerinde biyosentezlenir. Omurgalılarda yapılan çalışmalardan ortaya çıkan yol, " $\Delta 6$ yol" ($\Delta 6$ desatürasyon-uzama- $\Delta 5$ desatürasyon) ve " $\Delta 8$ yol" (uzama- $\Delta 8$ desatürasyon- $\Delta 5$ desatürasyon) olarak adlandırılır. DHA, LC-PUFA'ların biyosentezinin aşağı akışında, EPA'dan iki alternatif yol izleyerek elde edilir. İlk olarak, EPA'nın ardışık iki uzatılması, tetrakosapentaenoik asit (TPA, $24:5n-3$) üretir ve bu asit daha sonra tetrakosaheksaenoik asit (THA, $24:6n-3$) haline gelmek için $\Delta 6$ desatürasyonuna uğrar. Diğer dönüşüm adımı, dokosapentaenoik asidin (DPA, $22:5n-3$) doğrudan $\Delta 4$ desatürasyonu ile DHA'ya dönüşümünü içerir [74].

Emzirme sırasında beslenmeyle alınan LA'nın yüksek bir oranı (%35) meme bezi tarafından alınır. FADS1 ve FADS2 meme dokusunda eksprese edildiğinden, bu LA'nın AA'ya dönüşmesini mümkün kılar. Bu durum meme bezinin karaciğerle birlikte laktasyon sırasında da LC-PUFA'ların endojen sentezine katıldığını gösterir [73].



Şekil 2. Çoklu doymuş yağ asitlerinin metabolik reaksiyonları [74]

1.9. OMEGA-3 YAĞ ASİDİ KAYNAKLARI

Başlıca n-3 yağ sitleri bakımından zengin besin kaynakları;

- Ceviz
- Ceviz yağı
- Kabak çekirdekleri
- Kanola yağı
- Kenevir yağı
- Keten tohumu
- Keten tohumu yağı
- Soya yağı
- Yağlı balıklar [55], [75]

Yağların Yağ Asidi Oranları (%)				
Yağ Asidi		Balık Yağı	Keten Tohumu Yağı	Ceviz yağı
Oleik Asit	18:1 (n-9)	13	9-14	19 -20
Palmitik Asit	16:0	19	3-6	6-7
Stearik Asit	18:0	3	2-6	2-3
LA	18:2 (n-6)	2	9-12	58-59
ALA	18:3 (n-3)	2	50-75	11-12
EPA	20:5 (n-3)	14	0	0
DHA	22:6 (n-3)	12	0	0

Tablo 1. Yağların yağ asidi oranları [62]

1.9.1. BALIK YAĞI

Balık yağı uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitleri olan DHA ve EPA içeren n-3 yağ asitleri açısından zengin bir kaynak olarak bilinmektedir. Balık yağında, DHA'ya kıyasla daha fazla EPA bulunmaktadır. Aynı zamanda DHA ve EPA, konsantrasyonları anne beslenme içeriğini yansıtan anne sütünün bileşenlerinden biridir [76].

Bebeklerin ideal büyüme ve gelişimi için, laktasyon döneminde annenin haftada 1-2 porsiyon yağlı balık tüketmesi önerilmektedir. Bu miktar, yeterli miktarda DHA ve EPA sağlayabilir. Özellikle marlin, turna balığı, kılıçbalığı ve köpekbalığı gibi balıklardan tüketilmemesi önerilmektedir [77]. Çünkü bu balıkların metil cıva bakımından yüksek düzeyde kirlenmiş olabileceği öne sürülmüştür [78].

1.9.2. KETEN TOHUMU YAĞI

Keten tohumu (*Linum usitatissimum L.*), tipik olarak %35-45 oranında yağ verir ve %9-10 oranında doymuş yağ asitleri (palmitik ve stearik), yaklaşık %20 oranında tekli doymamış yağ asitleri (oleik asit) ve %70'ten fazla α -linolenik asit içerir. Keten tohumu, ALA açısından en zengin bitki kaynağıdır [79].

Keten tohumu yağı, tokoferoller, beta-karoten, fitosteroller, polifenoller ve flavonoidler gibi çeşitli antioksidanlar açısından zengindir. Ayrıca keten tohumundan elde edilen yağ asidi, hücre zarı yapısal bileşenleri ve depolama lipidleri dahil olmak üzere hücrenin çeşitli metabolik süreçlerine katkıda bulunur. Keten tohumu yağının hipokolesterolemik etkisi, hipolipidemik etkisi ve antioksidan etkilerini sergileyen lignanlarla birlikte, özellikle n-3 yağ asitleri dahil olmak üzere çeşitli biyoaktif bileşenlerle ilişkilendirilmiştir [79]. Ayrıca keten tohumunun kardiyovasküler hastalıkların azaltılmasında, meme ve prostat kanser riskinin düşürülmesinde, antiinflamatuvar aktivitede ve menopoz semptomlarının hafifletilmesi gibi sağlığa olan etkileri bilinmektedir [80].

1.9.3. CEVİZ YAĞI

Ceviz yağı, besleyici ve bilişsel faydaları olan önemli bir bitkisel yağdır. Bu bitkisel yağın yüksek yağ içeriği ve zengin protein, vitamin ve mineral profilleri nedeniyle besin değeri açısından oldukça zengin bir kaynaktır [81].

Ceviz yağı, ceviz çekirdeklerinden (*Juglans regia linne*) elde edilir. Ceviz çekirdekleri, çok çeşitli flavonoidler, fenolik asitler ve ilgili polifenoller bakımından zengindir. Fenolik bileşiklerin belirgin bir beslenme işlevi olmasa da bu bileşiklerin antioksidan, antiaterojenik, antiinflamatuvar ve antimutajenik özelliklere sahip olduğu ve insan sağlığı açısından önemli olduğu belirtilmektedir [82].

Ceviz yağı, başta oleik asit olmak üzere tekli doymamış yağ asitleri ile linoleik ve linolenik asitler gibi çoklu doymamış yağ asitlerince zengin bir bileşime sahiptir [83]. Aynı zamanda temel olarak beş farklı yağ asidinden oluşur: palmitik, stearik, oleik, linoleik ve linolenik asitler. Bu yağın ana bileşenleri arasında linoleik asit (%55-70), linolenik asit (%10-18) ve oleik asit (%10-20) bulunmaktadır [84].

Bitkisel yağlar arasında ceviz yağı, toplam yağ asidi içeriğinin en yüksek olduğu (%78'ine kadar) PUFA miktarına sahiptir. Bu nedenle, ceviz yağı insanlar için sağlıklı bir lipid kaynağı olarak kabul edilir [82].

1.10. BÜYÜME FAKTÖRLERİ ANTİKORLARI

1.10.1. IGF-1 (Insulin-like growth factor-1)

İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1 (IGF-1), memelilerde birkaç hücre tipi tarafından sentezlenen güçlü bir mitojenik peptittir [85]. Vücutta büyüme, gelişme ve metabolizma üzerinde önemli rol oynar. IGF-1, perinatal dönemde birçok hücre tipinin büyümesini, çoğalmasını ve diferansiyasyonunu uyarıcı önemli bir faktör olarak gösterilmiştir [86].

Hücrel etkilerini IGF-I reseptör sinyal yolunun tirozin kinaz aktivasyonu yoluyla gösterirler. Biyolojik etkileri, altı spesifik yüksek afiniteli IGF bağlayıcı proteinden (IGFBP-1 ila -6) biriyle kompleks oluşturularak modüle edilirken, bunların spesifik proteolizi ile mevcut IGF-I veya IGF-II'le hızlı bir artış elde edilebilir [117]. Transgenik farelerin meme bezlerinde IGF sistemi ekspresyonuna ilişkin son bulgular hem IGF'lerin hem de IGFBP'lerin laktasyonun aşamaları sırasında meme biyolojisini etkilediğini göstermektedir. Bununla birlikte, bu transgen proteinler süt proteini düzenleyici elementler tarafından yönlendirildiğinden (yani emzirme sırasında uyarıldığından) etkileri sorgulanabilir. Sığır türlerinde, IGF'ler ve IGFBP'ler doğum öncesi sekresyon ve kolostrumda yüksek oranda yoğunlaşmıştır, ancak olgun sütte konsantrasyonları çok daha düşüktür. Sığır meme salgılarında spesifik IGFBP'lerin saptanabilir düzeyi ve sırası IGFBP-3>IGFBP-2≈IGFBP-4>IGFBP-5'tir ve laktasyon döngüsü sırasındaki değişim şekli dolaşımdakinden farklıdır [118].

Hipofiz bezinden salınan büyüme faktörü, karaciğerde ve diğer periferik dokularda IGF-1 ekspresyonunu uyarır. IGF-I ve IGF-II'nin yanı sıra IGF bağlayıcı proteinler ve IGF'ye spesifik proteazlar insan sütünde bulunur. Seviyeleri, kolostrumda en yüksek seviyeye ulaşır ve laktasyon süresince istikrarlı bir şekilde azalır. Prematüre sütünde daha yüksek olan IGF bağlayıcı protein-2 dışında, preterm ve term süt arasında önemli farklar bulunmamaktadır. Anne sütüyle beslenen bebeklerin serumunda IGF-I daha yüksek konsantrasyonlarda bulunur. IGF, bağırsaklar tarafından biyoaktif bir formda alınabilir ve kanla taşınabilir [44].

1.10.2. TGF- β 1 (Transforming Growth Factor-Beta 1)

Dönüştürücü büyüme faktörü- β 1 (TGF- β 1), temel olarak parankimal hücreler tarafından üretilen ve lenfositler, makrofajlar, trombositler gibi hücrelerde bulunan bir anti-inflamatuar sitokindir. Hücre çoğalması, diferansiyasyonun düzenlenmesinde, hücre dışı matris sentezi ve birikiminin uyarılmasında, inflamasyon ve alerjinin modülasyonunda rol oynar. Ayrıca insan sütünde en çok bulunan sitokinleri oluşturur ve kolostrumda daha yüksek düzeylerde bulunur [87].

Emzirme sırasında TGF- β ailesinin üç izoformunun tümü üretilir. Çoğunluğunu TGF- β 2 oluşturmaktadır. Bu sitokinin seviyeleri term kolostrumda 0,1 ile 13,3 μ g/L arasında ve preterm kolostrumda 1,4 ile 43 μ g/L arasında değişir. Bu seviyeler laktasyon dönemi boyunca azalır; konsantrasyonlar termde 0,4-2,8 μ g/L ve prematüre olgun sütte 0,9-6,3 μ g/L düzeyinde olur [119].

Sütte bulunan TGF- β , yenidoğan T-lenfosit aktivitesini baskılayarak, bağırsak toleransını mümkün kıldığından yenidoğan için büyük önem taşır. Ayrıca ilgili inflamatuvar süreçleri kontrol ederek atopik duyarlılığı da azaltabilir. TGF- β , salgı immünoglobulin A'nın (IgA) üretimini düzenler. İnsan sütündeki IgA bebeğe pasif bağışıklık koruması sağlar. Bazı çalışmalarda, annenin bağışıklık aracılarının insan sütü ile bebeğe aktarıldığını öne sürmüştür. Dolayısıyla ilk sütte artan TGF- β ve IgA seviyeleri, mikrobiyal antijenleri hedefleme ve mukozal bariyer fonksiyonunu iyileştirme amaçlarını yansıtmaktadır [119].

Gebelik ve emzirme döneminde bağışıklık hücrelerinin meme dokusuna infiltrasyonuna bağlı olarak TGF- β sentezinde artış olduğu öne sürülmüştür. Bu çalışmalar, insan sütünde gözlenen yüksek konsantrasyonlardan meme bezi TGF- β üretiminin sorumlu olabileceğini öne sürmektedir. Süt kaynaklı TGF- β , yara iyileşmesini hızlandırır ve alerjik hastalıkların önlenmesine yardımcı olur. Anne sütündeki TGF- β 'nın önemli bir işlevi de bebeğin bağışıklık sisteminin programlanmasında rol oynar [44].

1.10.3. VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor)

Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), kan damarlarının gelişimini ve büyümesini uyarak anjiyogenez sürecini düzenleyen bir büyüme faktörüdür [88]. VEGF, güçlü anjiyojenik ve vasküler geçirgenliği indükleyici özelliklere sahip endotelial hücreye spesifik bir mitojendir ve bunların her ikisi de meme bezi işlevi için önemlidir [89]. Gebelik sırasında, anjiyogenezin meme epitel hücre proliferasyonu ile eş zamanlı olarak arttığı ve meme damar yapısının, dallanmanın anjiyogenezin sonucu olarak iki katına çıktığı tespit edilmiştir. Gebeliğin sonunda, invazyonlar meme damar sistemini daha da değiştirir ve artan kan akışı ile süt üretimine yanıt olarak endotel geçirgenliği zirve yapar [90].

VEGF, emzirme döneminde damar geçirgenliğini artıran ve bu yüzden en çok araştırılan anjiyojenik faktördür. Tükürük bezi ve adrenal bezler gibi birçok salgı bezinin VEGF'in ürettiği bildirilmektedir. Süt veren meme bezinin epitel hücreleri, insan sütündeki VEGF'nin kaynağı olarak görev yapar. VEGF konsantrasyonu, preterm ve term insan sütünde en yüksek düzeyde kolostrumda bulunur [91]. Ayrıca preterm sütü, term sütünden daha az VEGF içerir. VEGF düzeyleri emzirme döneminin başlangıcında daha yüksektir, bu durumun yaşamın ilk günlerinde prematüre retinopatisi oluşma riskinin azaltılmasına yardımcı olur [44]. VEGF'nin inhibisyon çalışmaları, meme epitelinden üretilen VEGF'nin büyüme ve işlevi için gerekli olduğunu ortaya koymuştur. VEGF'nin biyolojik etkilerinin çoğuna, VEGFR-1 (Flt-1) ve VEGFR-2 (Flk-1) reseptörleri aracılık eder. Ek olarak nöropilin (NRP-1 ve NRP-2) VEGF yardımcı reseptörü olarak işlev görür [92].

Kemirgenlerde yapılan çalışmalar, laktasyonun farklı aşamalarında meme bezinde VEGF'in ekspresyonunu bildirmiştir. Hayvanlar üzerinde yapılan bir çalışma, meme bezi epitelinde VEGF'nin etkisizleştirilmesinin, laktasyon sırasında yetersiz lobulo-alveolojenez ve epitelyal farklılaşmaya yol açtığını, bunun da meme bezi gelişimi ve işlevi ciddi şekilde tehlikeye atarak daha düşük süt salgılanmasına yol açtığını bildirmişlerdir [93]. İmmünohistokimyasal bir çalışma, VEGF proteininin ağırlıklı olarak meme epitelinin sitoplazmasında mevcut olduğunu, gebelik ve laktasyon sırasında güçlü bir şekilde eksprese edildiğini göstermiştir [94].

2.GEREÇ VE YÖNTEMLER

2.1. ARAŞTIRMANIN TİPİ

Araştırma, deneysel nitelikte bir çalışmadır.

2.2. ARAŞTIRMANIN YERİ VE ZAMANI

Araştırma, Manisa Celal Bayar Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinde Aralık 2022 tarihinde başlamış olup Haziran 2023 tarihinde sonlandırıldı.

2.3. ARAŞTIRMANIN EVRENİ VE ÖRNEKLEMİ

Bu çalışma, laboratuvar sıçanları üzerinde gerçekleşen deneysel hayvan çalışmasıdır. Çalışmamızda, deney hayvanı olarak 200-250 gr ağırlığında, 8-10 haftalık 28 adet gebe sıçan ve 4 adet laktasyon döneminde olmayan dişi sıçan olmak üzere hiçbir deneye alınmamış toplam 32 adet *Wistar* cinsi sıçan kullanıldı. Kullanılacak hayvan sayısı literatür doğrultusunda 4R ilkesi (*Reduction, Refinement, Replacement, Responsibility*) göz önüne alınarak belirlendi.

2.4. HAYVANLARIN TEMİNİ VE BARINDIRMA KOŞULLARI

Bu çalışma için gerekli olan gebe sıçanlar, Manisa Celal Bayar üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinden temin edildi. Doğumları yaklaşan gebe sıçanların her biri ayrı kafeslere alınarak yağ içeriklerine göre rastgele 5 gruba ayrıldı;

1.Grup: kontrol grubu (n:7)

2.Grup: balık yağı grubu (n:7)

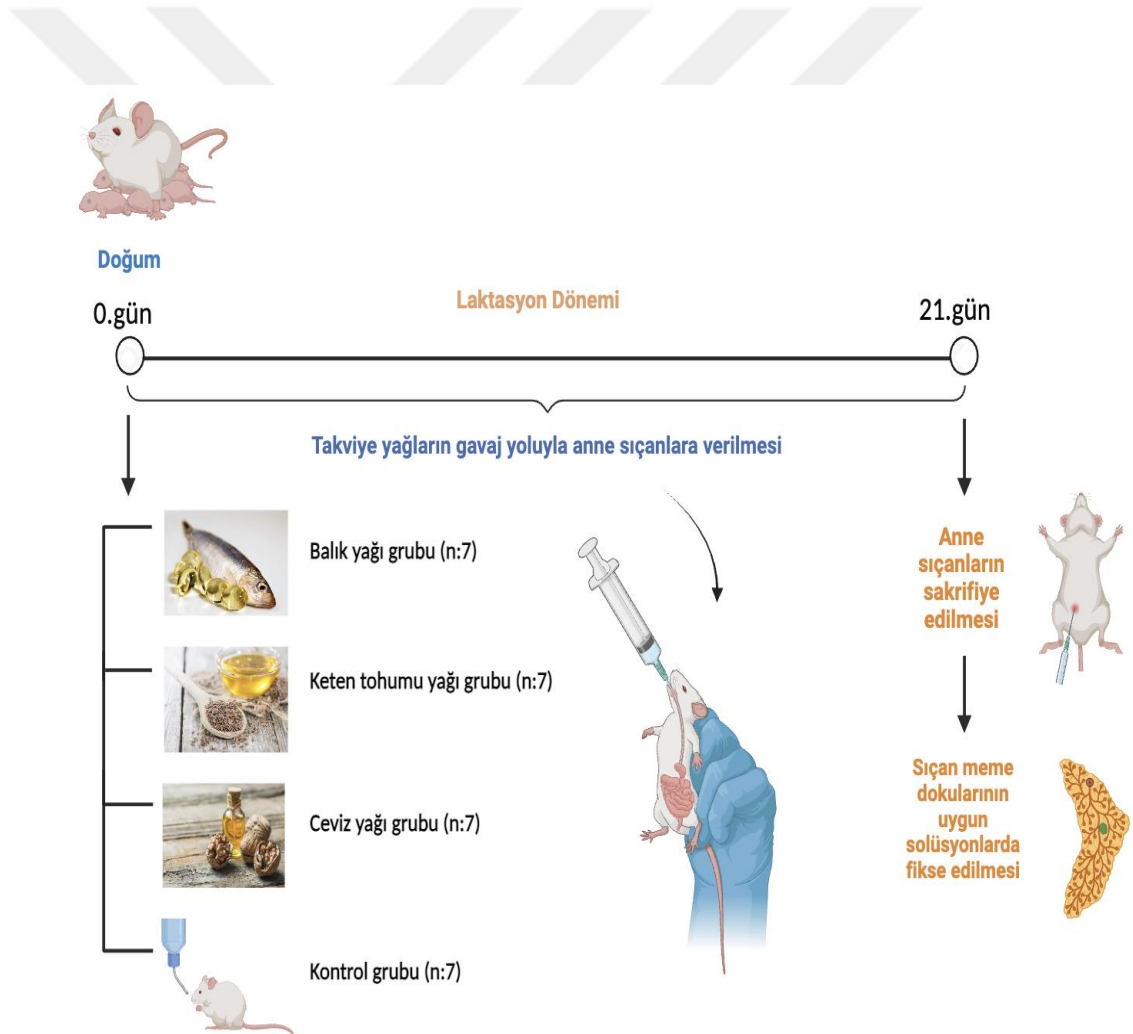
3.Grup: keten tohumu yağı grubu (n:7)

4.Grup: ceviz yağı grubu (n:7)

5.Grup: negatif kontrol grubu (Laktasyon döneminde olmayan dişi sıçanlar) (n:4)

Çalışma süresince gebe sıçanlar, $25\pm1^{\circ}\text{C}$ ' sabit sıcaklıkta, standart kafeslerde ve 12 saat aydınlık/karanlık döngüde, su ve yeme serbest (*ad libitum*) erişime sahip ortamda barındırıldı.

Gebe sıçanlar doğuma kadar yalnızca standart palet yem ile beslendi. Takviye yağlar, gebe sıçanların doğum yaptıkları günden (0.gün) itibaren tüm standart laktasyon dönemi boyunca (21.gün) atanmış oldukları gruplara göre 0,5g/kg vücut ağırlığı göz önüne alınarak oral gavaj yolu ile verildi (Resim 4). Kontrol grubuna, tüm gruplardaki sıçanlarla aynı deneysel manipülasyona maruz kalmasını sağlamak için su gavajı uygulandı.



Resim 4. Grafiksel Özet

Anne sıçanların her birinin farklı doğum tarihleri olması sebebiyle bulundukları kafeslerdeki kimlik kartlarına doğum tarihleri ve yavru sayıları kaydedildi. Deney süresince takviye yağların anne sıçanlar üzerindeki olası yan etkilerinin önlemek için takviye yağların verilmesi sonrası anne sıçanların yakından takibi yapıldı. Yavru kaybı %50' den fazla olan anne sıçanlar deneyden çıkarıldı.

Anne sıçanlar, laktasyonun 21.günü sonunda öldürücü dozda anestezi altında sakrifiye edildi. Meme dokuları uygun solüsyonlara alınıp histopatolojik ve immünohistokimyasal inceleme yapıldı. Histopatolojik inceleme için Hematoksilen Eozin boyaması uygulandı. Ayrıca anne sıçanların kardiyak kanı alınıp kan ve doku biyokimyasal analizleri de yapıldı.



Resim 5. Deney aşamaları

Gebe sıçanların yağ içeriklerine göre gruplandırılması (A). Doğumdan sonra anne sıçanların ayrı kafeslere alınması (B). Laktasyon dönemi boyunca gavaj yoluyla takviye yağların verilmesi (C). Laktasyonun 21. Günü (D). Anne sıçanların sakrifiye edilmesi (E). Anne sıçanların meme dokularının alınıp fiksede edilmesi (F).

2.5. MEME DOKULARININ HEMATOKSİLEN EOZİN İLE BOYAMASI

1 gece 60° C' lik etüvde bırakılan kesitler, 30 dakika boyunca iki kez değişim yapılmak üzere ksilene konuldu. Ardından rehidratasyon işlemi için %95' den %60' a azalan alkol serilerinden geçirildi. Ardından akan su altında kesitler 5 dakika yıkandı. Hematoksilen (MH21121, Thermo Fisher Scientific, Cheshire, UK) ile 30 dk boyandıktan sonra, boyanın fazlasının dokudan uzaklaştırılması için 5 dk akan suya konuldu. Asit alkole hızlıca batırılıp çıkarılan kesitler 5 dk akan su altında tutuldu. Daha sonra kesitler 2 dk eozin (01602E, Surgipath, Bretton, Peter Borough, Cambridgeshire) boyası ile boyandı. Aynı şekilde 5 dk akan su altında yıkama yapıldıktan sonra sırasıyla %80 ve %95' lik alkol serilerinden geçirildi. Dış ortamda kurutulan kesitlere şeffaflaştırma amacıyla 30' ar dakika iki kez olmak üzere ksilene bırakıldı ve hemen ardından hava ile temas etmeden entellan (1 07961 0500, Merck, Darmstadt, Germany) ile kapatıldı.

Tablo 2. Hematoksilen Eozin boyaması

İşlem	Madde	Süre
Deparafinizasyon	60°C etüvde	1 gece
Deparafinizasyon	Ksilen I	30 dakika
	Ksilen II	30 dakika
Rehidratasyon	%95 alkol	2 dakika
	%80 alkol	2 dakika
	%70 alkol	2 dakika
	%60 alkol	2 dakika
Yıkama	Akan su	5 dakika
Boyama	Hematoksilen	30 dakika
Yıkama	Akan su	5 dakika
Diferansiyasyon	Asit alkol	2-3 saniye
Yıkama	Akan su	5 dakika
Boyama	Eosin	2 dakika
Yıkama	Akan su	5 dakika
	%80 alkol	
	%95 alkol	
Şeffaflaştırma	Ksilen	30 dakika
	Ksilen	30 dakika
Kapama	Entellan	

2.5. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL İNCELEME

Alınan doku kesitleri immunohistokimyasal boyama için bir gece 60 C' lik etüvde tutulduktan sonra, 30'ar dakika iki değişim ksilen ile şeffaflaştırma işlemi gerçekleştirildi. Ardından %95' ten %60'a azalan derecede alkol serileri ile rehidratasyon sağlanarak distile suda 10 dakika bekletildi. İmmunohistokimya kalemi ile sınırlandırılan kesitler %0,5' lik tripsin solüsyonu içinde oda sıcaklığında 15 dakika tutuldu. Doku endojen peroksidazını inhibe etmek amacıyla 5 dakika %3'lük H₂O₂ uygulandı. Üç defa 5' er dakika PBS ile yıkanan kesitler 10 dakika bloklama solüsyonu ile muamele edildi. Bloklama solüsyonu dokudan uzaklaştırıldıktan sonra primer antikorlar, IGF-1, TGF- β 1, VEGF bir gece inkübe edildi. Ertesi gün PBS ile üç defa yıkanan kesitler, anti- mouserabbit biotinlenmiş ikincil antikor ve ardından streptavidin hidrojen peroksidaz ile 30' ar dakika boyandı. Bu iki boyama arasında ve son inkübasyondan sonra kesitler üç defa 5 dakika PBS ile yıkandı. İmmunohistokimyasal reaksiyonun görünürlüğünü saptamak amacıyla kesitler diaminobenzidine ile 5 dakika boyandı. Çekirdek boyası olarak Mayer'in hematoksilin'i kullanılıp, boyanan camlar ultramount ile lamelle kapatıldı. Olympus CX31 mikroskobuyla incelenerek fotoğraflandı. Fotoğraflarda Leica Q Win Plus analiz sistemi kullanılarak sayımlar yapıldı. Boyamaların her bir preparatından X400 büyültmede rastgele beş alan seçilerek hücrelerde boyanan pozitif hücre tutulumların yoğunluğuna ve tutulum miktar yüzdesine göre Hscore hesaplandı. Tutulum yoğunluğu semi kantitatif olarak 0 (0, tutulum yok), 1 (+, zayıf immünreaktivite), 2 (+ +, orta düzeyde immünreaktivite), 3 (+ + +, kuvvetli düzeyde immünreaktivite) olarak skorlandı. Tutulum miktar yüzdesi immünreaktivenin bulunduğu hücre/yapıların toplam hücre/yapılara oranlanması ile; 1 (%0–10 arası, fokal), 2 (%11–50 arası, bölgesel) ve 3 (%51-100 arası, diffüz) olarak skorlandırıldı. Her kesit için IHC boyanma skorlaması, HistoSCORE = $\sum P_i (i + 1)$ (i: boyanmanma derecesi, P_i: tutulum miktar yüzdesi) formülüyle her lam için tek bir sonuç hesaplandı. Elde edilen veriler deney ve kontrol grupları arasında karşılaştırmalı olarak tabloya kaydedildi.

Tablo 3. İmmünohistokimya protokolü

İşlem	Madde	Süre
Deparafinizasyon	60°C etüvde	1 gece
Deparafinizasyon	Ksilen	30 dakika
	Ksilen	30 dakika
Rehidratasyon	%95 alkol	2 dakika
	%80 alkol	2 dakika
	%70 alkol	2 dakika
	%60 alkol	2 dakika
Yıkama	Distile su	10 dakika
	Sitrat buffer	15 dakika mikrodalga
	%3'lük hidrojen peroksit	5 dakika
Dokuların etrafını çizme	Dakopen	
Yıkama	PBS	3 x 5 dakika
Bloklama	Blok solüsyonu	10 dakika
Antikor ile inkübasyon	IGF-1, TGF- β 1, VEGF	1 gece
Yıkama	PBS	3 x 5 dakika
	İkincil antikor	30 dakika
	Streptavidin hidrojen peroksidaz	30 dakika
Yıkama	PBS	3 X 5 dakila
Boyama	AEC	5 dakika
Yıkama	Distile su	10 dakika
Zıt Boyama	Mayer hematoksilen	5 dakika
Dehidratasyon	%80 alkol	2 dakika
	%95 alkol	
Şeffaflaştırma	Ksilen	30 dakika
Kapama	Mounting medium	

2.6. BİYOKİMYASAL İNCELEME

Kan biyobelirteç analizleri için numuneler sarı kapaklı serum separator jelli 5.5 ml'lik tüplere alındı. Pıhtılaşma reaksiyonu için en az 30 dakika beklenildikten sonra tüpler 1000g X 15 dk +4°C'de santrifüj edildi. Elde edilen serum örnekleri her bir biyobelirteç için ayrı ayrı polipropilen 0.5 ml'lik ependorf tüplerine porsiyonlandı. Örnekler çalışma gününe kadar -80 derin dondurucuda muhafaza edildi. Çalışma günü bir gece önceden serum örnekleri +4°C'ye çıkarılıp, bütün numunelerin homojen olarak çözülmesi sağlandı.

ELISA kitleri çalışılacağı zaman dokular homojenize edilerek 2000-3000 g'de 15 dakika +4 °C'de santrifüj edilecektir. Çalışma gruplarının süpernatantlarında DHA, FADS2 ve Prolaktin proteinlerinin düzeyini değerlendirmek için kullanılacak ELİSA kit içerisindeki 96 kuyucuklu plakların iç yüzeyleri DHA, FADS2 ve Prolaktin moleküllerine özgü monoklonal antikorlar ile kaplıdır. Ceviz yağı grubu, keten tohumu yağı grubu, balık yağı grubu ve kontrol grubu serum örnekleri ile spesifik DHA, FADS2 ve Prolaktin antikorları ile bu kuyucukların içinde inkübe edildi. Antijen-antikor kompleksi oluşturuldu. İnkübasyonun ardından bağlanamayan moleküller kuyucuklar yıkanarak ortamdan uzaklaştırıldı. Serum örneklerindeki bağlı olan DHA, FADS2 ve Prolaktin tespit etmek için kuyucuklara horseradish peroksidaz enzimi ile işaretli antikorlar, ikincil monoklonal antikorlar, eklendi. İnkübasyon süresi bitiminde bir yıkama işlemi ile serbest kalan konjugat ortamdan uzaklaştırıldı. Peroksidaz ile reaksiyona giren tetrametil benzidin substratı kuyucuklara eklendiğinde enzimatik reaksiyon başlatılmış oldu. Belirlenen inkübasyon süresinin bitiminde enzimatik reaksiyon durdurularak on kuyucuklarında oluşan sarı renkli çözeltinin 450 ve 10 nm'de absorbansı okundu. Renk yoğunluğu doğrudan örnekteki ikincil antikora bağlı DHA, FADS2 ve Prolaktin miktarıyla orantılıdır. Örneklerde hedef proteinlerin konsantrasyonunu (ng/mL) belirlemek için ELISA Plak Okuyucu (Synergy HT, Multi-Detection Microplate Reader, BIO-TEK) ile $450 \pm 10\text{nm}$ dalga boyunda Optik Dansite (OD) ölçüldü.

2.7. VERİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Verilerin değerlendirilmesinde SPSS 23.0 (SPSS Inc.; Chicago, IL, USA) paket programı kullanıldı. IGF-1, TGF- β 1, VEGF immünohistokimya boyaması verilerinin analizinde “ortalama $\pm$ SD” değerleri kaydedildi. Sayısal veriler normal dağılıma uygun olduğu için ANOVA testi kullanıldı. P değeri 0.05’ten küçük olan sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Farklılığın hangi gruptan olduğunu anlayabilmek için post hoc çoklu karşılaştırma testi (Tukey) uygulandı.

2.8. ARAŞTIRMANIN SINIRLILIKLARI

Araştırmada kullanılan anne sıçanların, yavru sayılarının yetersiz olması ve gebe kalma sürelerinin planlanan süreden uzun olması gibi durumlar araştırmanın sınırlılıklarını oluşturmaktadır.

2.9. ETİK KURUL ONAYI

Araştırma, Manisa Celal Bayar Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından, 30.11.2021 tarihinde 77.637.435/210 numaralı karar ile uygun bulunmuştur (EK-2). Ayrıca çalışmamız, Manisa Celal Bayar Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından 2022-072 numaralı proje ile desteklenmiştir.

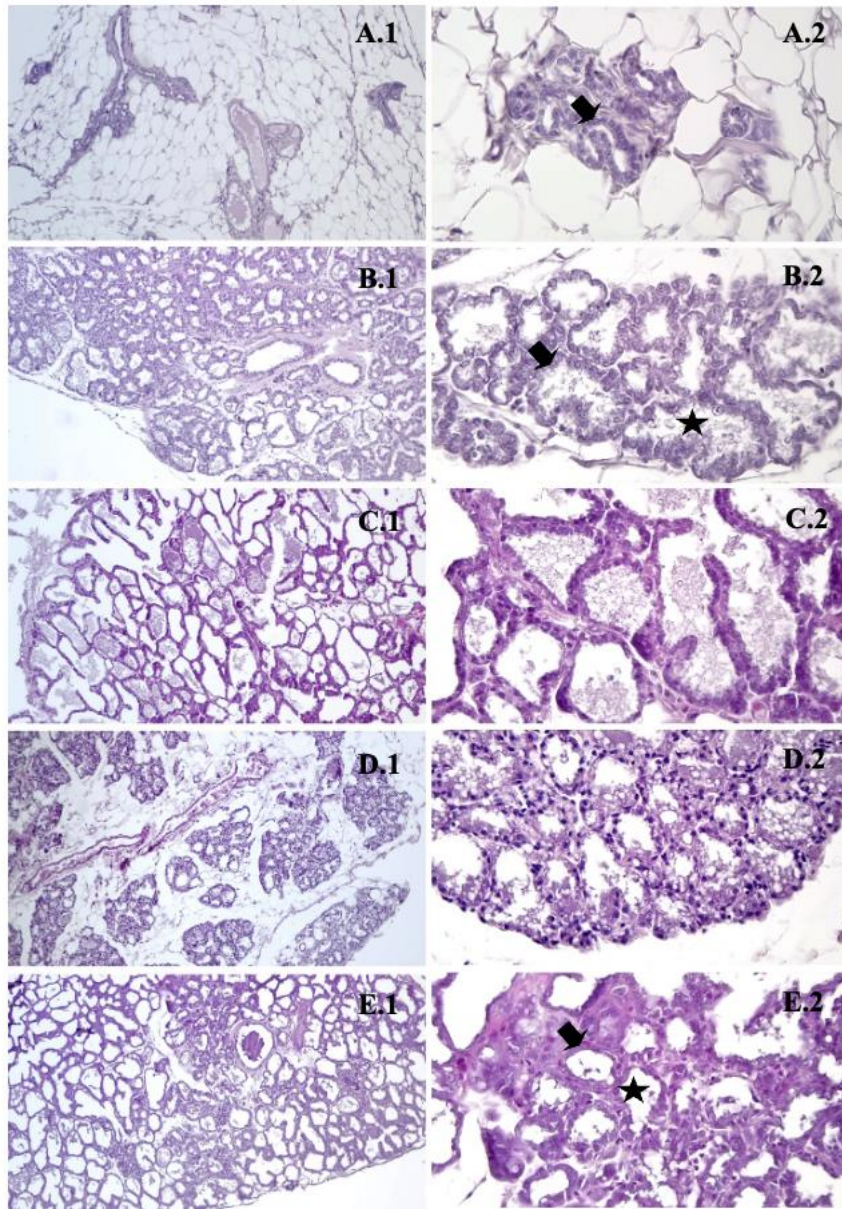
2.10. CLINICAL TRIALS KAYDI

Bu deneysel hayvan çalışması, Clinical Trials protokol kayıt ve sonuç sistemine NCT06111378 numarası ile kaydedilmiştir.

3. BULGULAR

3.1. MEME DOKULARININ HEMATOKSİLEN EOZİN BOYAMASI

Deneyin sonunda elde edilen meme dokuları, rutin ışık mikroskobu incelemesinden geçirildi ve ardından parafin bloklara gömüldü. Elde edilen bloklardan mikrotom ile 5 mikronluk kesitler alındı ve bu kesitler, Hematoksilen Eozin boyaması uygulandıktan sonra tekrar ışık mikroskobu ile incelendi.



Resim 6. Sıçan meme dokusunun Hematoksilen eozin ile boyaması

Negatif kontrol (A), Kontrol (B), Balık yağı (C), Ceviz yağı (D), Keten tohumu yağı (E) ➡: meme bez hücreleri. ★: alveol lümenlerinde süt birikimi (1) X10, (2) X400 OB

Çalışmamızda, Hematoksilen Eozin boyamasıyla değerlendirdiğimiz histopatolojik bulgulara göre negatif kontrol grubunda meme dokusunda gebelik olmadığından dolayı, beklenen şekilde meme dokusundaki bez epitel hücrelerinin inaktif olduğu gözlemlendi (Resim 6).

Negatif kontrol grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında, kontrol grubunun meme bezlerinin laktasyon nedeniyle oldukça proliferatif olduğu ve aktif bir şekilde süt ürettiği lümenlerin içindeki birikimlerden de anlaşılmaktadır (Resim 6).

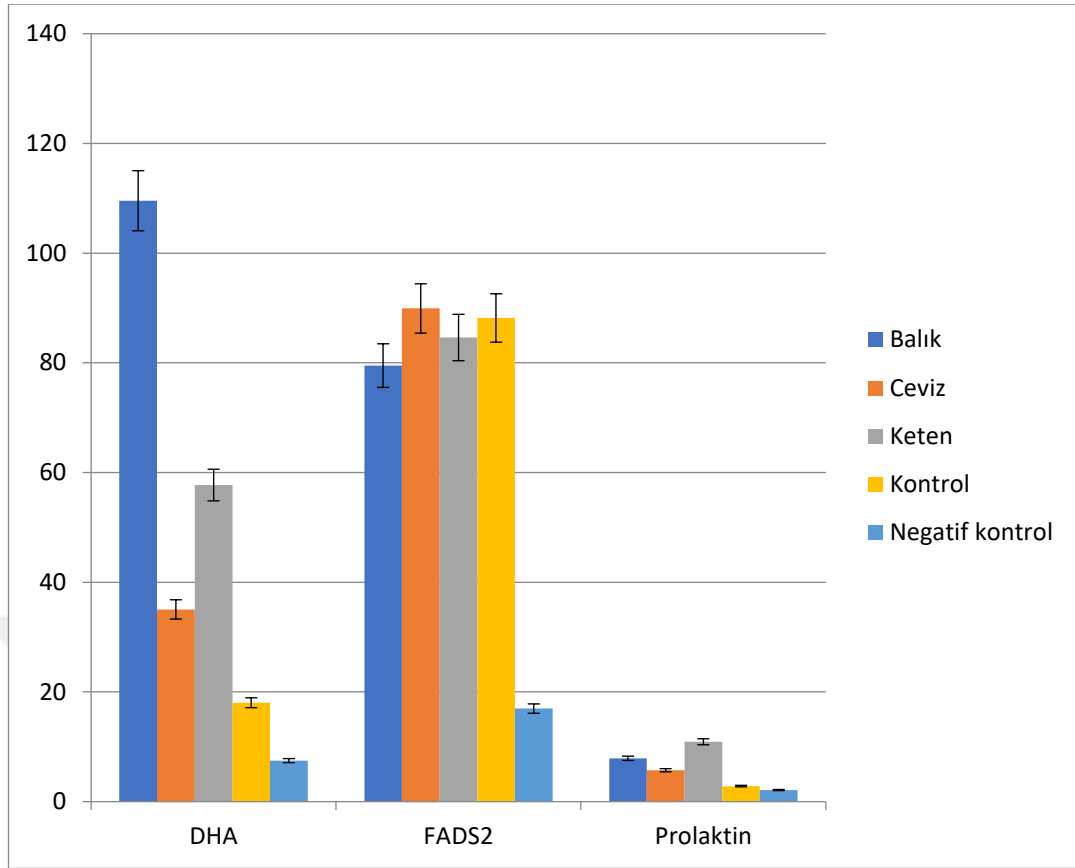
Balık, ceviz ve keten tohumu yağı grupları, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, bu gruplarda meme bezlerindeki hücrelerin oldukça proliferatif olduğu ve lümenlerinde süt birikimi olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca, hücrelerin histolojisinde patolojik bir bulgu dikkat çekmemektedir (Resim 6).

3.2.DENEY GRUPLARI ARASINDA DHA, FADS2, PROLAKTİN BİYOKİMYASAL SONUÇLAR AÇISINDAN KARŞILAŞTIRILMASI

Tablo 4. Gruplar arasında DHA, FADS2, Prolaktin biyokimyasal yoğunluğu sonuçları açısından ort±sd değerleri.

Anova	Gruplar	N	Mean	Std. Deviation	F	P
DHA (pg/ml)	Balık	7	109,5543	46,25919	11,622	,000*
	Ceviz	7	35,0500	26,72320		
	Keten	7	57,7229	44,70891		
	Kontrol	7	18,0329	8,98210		
	Negatif kontrol	7	7,4757	2,56049		
FADS2 (pg/ml)	Balık	7	79,4957	10,07908	74,588600	,000*
	Ceviz	7	89,9200	10,81827		
	Keten	7	84,6186	11,01649		
	Kontrol	7	88,1829	9,30119		
	Negatif kontrol	7	16,9614	4,74454		
PROLAKTİN (pg/ml)	Balık	7	7,9029	3,35316	5,019240	,003*
	Ceviz	7	5,7243	3,97680		
	Keten	7	10,9086	7,98399		
	Kontrol	7	2,8329	,63767		
	Negatif kontrol	7	2,1171	,95690		

(*) Gruplar arasında anlamlı farklılıkları ifade eder.



Şekil 3. Gruplar arasında DHA, FADS2, Prolaktin biyokimya sonuçları için morfometrik veriler. Veriler Ortalama $\pm$ SD'dır.

3.3. GRUPLAR ARASINDA DHA, FADS2, PROLAKTİN BİYOKİMYASAL YOĞUNLUĞU SONUÇLARI AÇISINDAN ÇOKLU GRUP KARŞILAŞTIRMALARI

Tablo 5. Gruplar arasında DHA, FADS2, Prolaktin biyokimyasal yoğunluğu sonuçları açısından çoklu grup karşılaştırmaları. Veriler p değerleridir.

Gruplar arasında çoklu karşılaştırma P Value Posthoc/Tukey	DHA	FADS2	Prolaktin
Balık vs. Ceviz	,001*	,264	,875
Balık vs. Keten	,033*	,848	,687
Balık vs. Kontrol	,000*	,440	,204
Balık vs. Negatif kontrol	,000*	,000*	,112
Ceviz vs. Balık	,001*	,264	,875
Ceviz vs. Keten	,663	,832	,186
Ceviz vs. Kontrol	,847	,997	,717
Ceviz vs. Negatif kontrol	,484	,000*	,526
Keten vs. Balık	,033*	,848	,687
Keten vs. Ceviz	,663	,832	,186
Keten vs. Kontrol	,154	,954	,011*
Keten vs. Negatif kontrol	,041*	,000*	,005*
Kontrol vs. Balık	,000*	,440	,204
Kontrol vs. Ceviz	,847	,997	,717
Kontrol vs. Keten	,154	,954	,011*
Kontrol vs. Negatif kontrol	,969	,000*	,998
Negatif kontrol vs. Balık	,000*	,000*	,112
Negatif kontrol vs. Ceviz	,484	,000*	,526
Negatif kontrol vs. Keten	,041*	,000*	,005*
Negatif kontrol vs. Kontrol	,969	,000*	,998

(*) Gruplar arasında anlamlı farklılıkları ifade eder.

Post hoc (Tukey) karşılaştırmalı analiz sonucuna göre DHA, FADS2, Prolaktin biyokimyasal yoğunluğunun p değerleri açısından 0.05 den küçük olanlar anlamlı kabul edilmektedir ($P<0.05$). Bu beş grup için çoklu karşılaştırma (Tukey) analizi yapılmıştır.

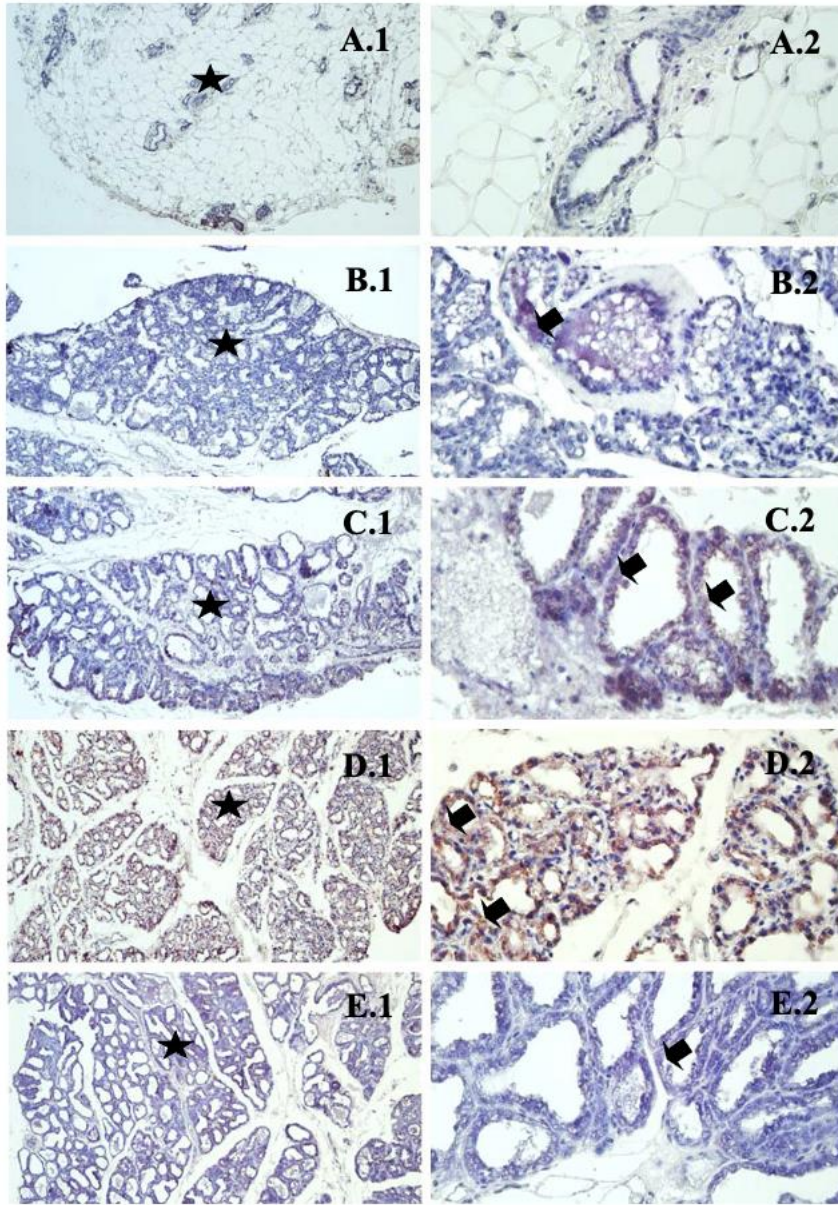
DHA, biyokimyasal yoğunluk açısından balık grubu ile diğer tüm gruplar arasında anlamlı farklar vardır ($p<0.05$). Negatif kontrol grubu ve Keten grubu arasında da anlamlı fark vardır. ($P<0.05$). Ceviz, keten ve kontrol grupları arasında ise DHA seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur.

FADS2, biyokimyasal yoğunluk açısından negatif kontrol grubu ile diğer tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0.05$). Ceviz, keten, balık ve kontrol grupları arasında ise FADS2 aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur.

Prolaktin, biyokimyasal yoğunluk açısından ceviz, balık ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ($p<0.05$). Keten grubunun, negatif kontrol ve kontrol grupları arasında anlamlı fark vardır ($p <0.05$).

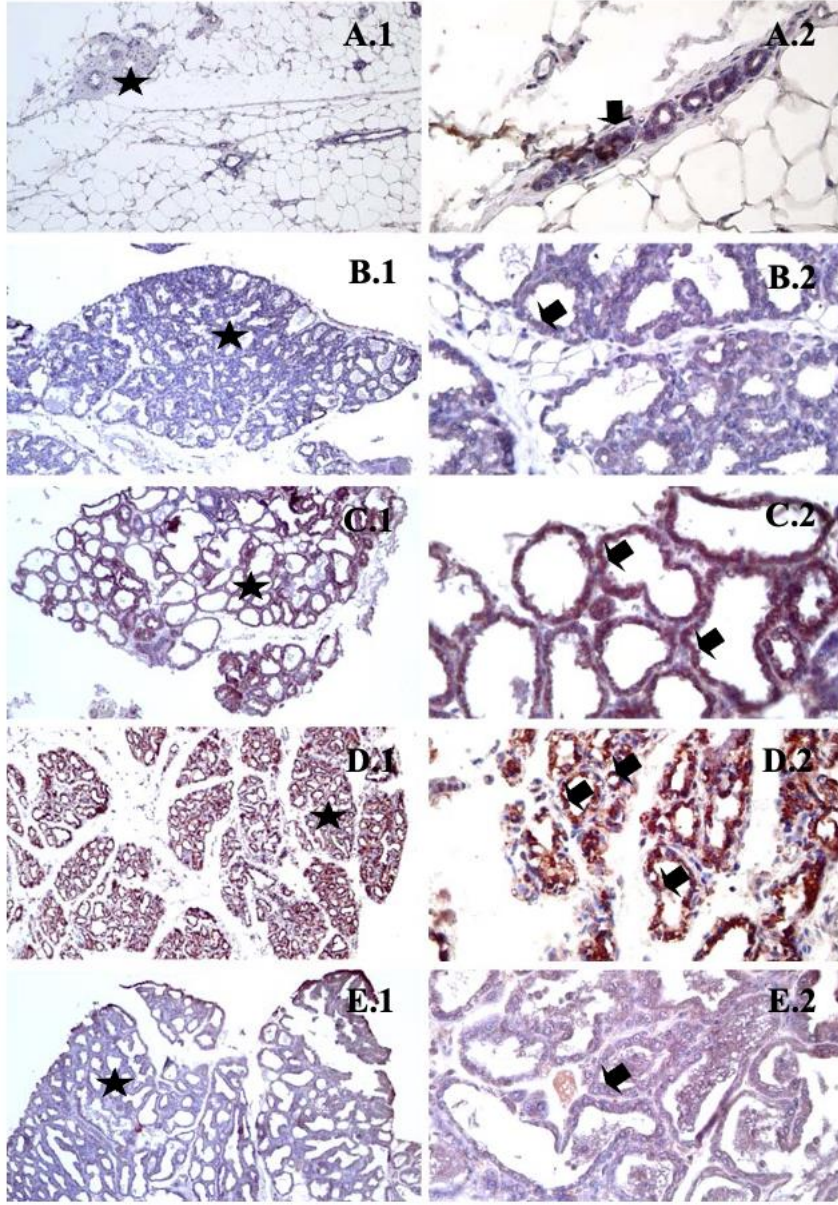
Sonuç olarak, Balık grubu, DHA seviyeleri açısından, Keten grubu ise Prolaktin seviyeleri açısından diğer gruplara göre belirgin bir fark mevcuttur. Ceviz grubunda ise belirgin bir fark yoktur.

3.4. İMMÜNOHİSTOKİMYA BULGULARI



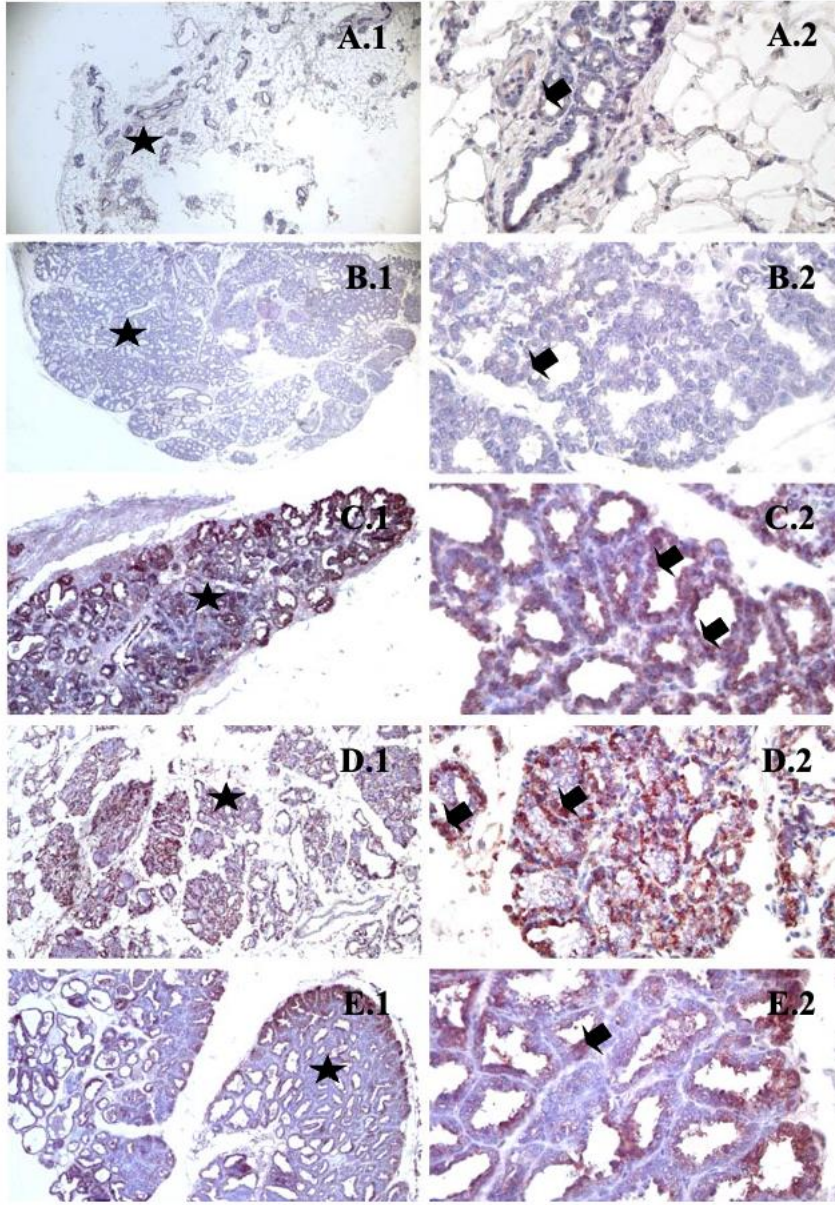
Resim 7. Meme dokusunda IGF-1 immün boyanması

Negatif kontrol (A), Kontrol (B), Balık yağı (C), Ceviz yağı (D), Keten tohumu yağı (E). ★: Meme epitelyal doku. ➡: İmmün reaksiyon pozitif meme epitelyal hücreleri. Zemin boyama Mayers Hematoksilen (1) X100, (2) X400 OB.



Resim 8. Meme dokusunda TGF- β 1 immün boyanması

Negatif kontrol (A), Kontrol (B), Balık yağı (C), Ceviz yağı (D), Keten tohumu yağı (E). ★: Meme epitelyal doku. ➡: İmmün reaksiyon pozitif meme epitelyal hücreleri. Zemin boyama Mayers Hematoksilen (1) X100, (2) X400 OB.



Resim 9. Meme dokusunda VEGF immün boyanması

Negatif kontrol (A), Kontrol (B), Balık yağı (C), Ceviz yağı (D), Keten tohumu yağı (E). ★:Meme epitelyal doku. ➡: İmmün reaksiyon pozitif meme epitelyal hücreleri. Zemin boyama Mayers Hematoksilen (1) X100, (2) X400 OB.

Negatif kontrol grubunda meme dokusu epitel hücrelerinde IGF-1 immünboyanmasının zayıf olduğu gözlemlendi (Resim 7 A1, A2). Kontrol grubu meme epitel hücrelerinde zayıftan ortaya değişen ekspresyon gözlenirken, balık yağı grubunda ortadan kuvvetliye değişen reaksiyon izlendi (Resim 7 B1, B2, C1, C2).

Ceviz yağı grubunda meme epiteli hücrelerinde oldukça kuvvetli ekspresyon dikkat çekiciydi (Resim 7 D1, D2). Keten tohumu grubu meme epitelinde ise IGF-1 immün boyanması orta şiddette idi (Resim 7 E1, E2).

TGF- β 1 immün boyamasında, negatif kontrol grubunda ve kontrol grubunda meme dokusunda zayıftan ortaya değişen reaksiyon gözlemlendi (Resim 8 A1, A2, B1, B2). Balık ve ceviz yağı grupları meme epitel hücrelerinde kuvvetli ekspresyon belirlendi (Resim 8 C1, C2, D1, D2). Keten tohumu grubunda ise ortadan kuvvetliye değişen TGF- β 1 immünoreaksiyonu gözlemlendi (Resim 8 E1, E2).

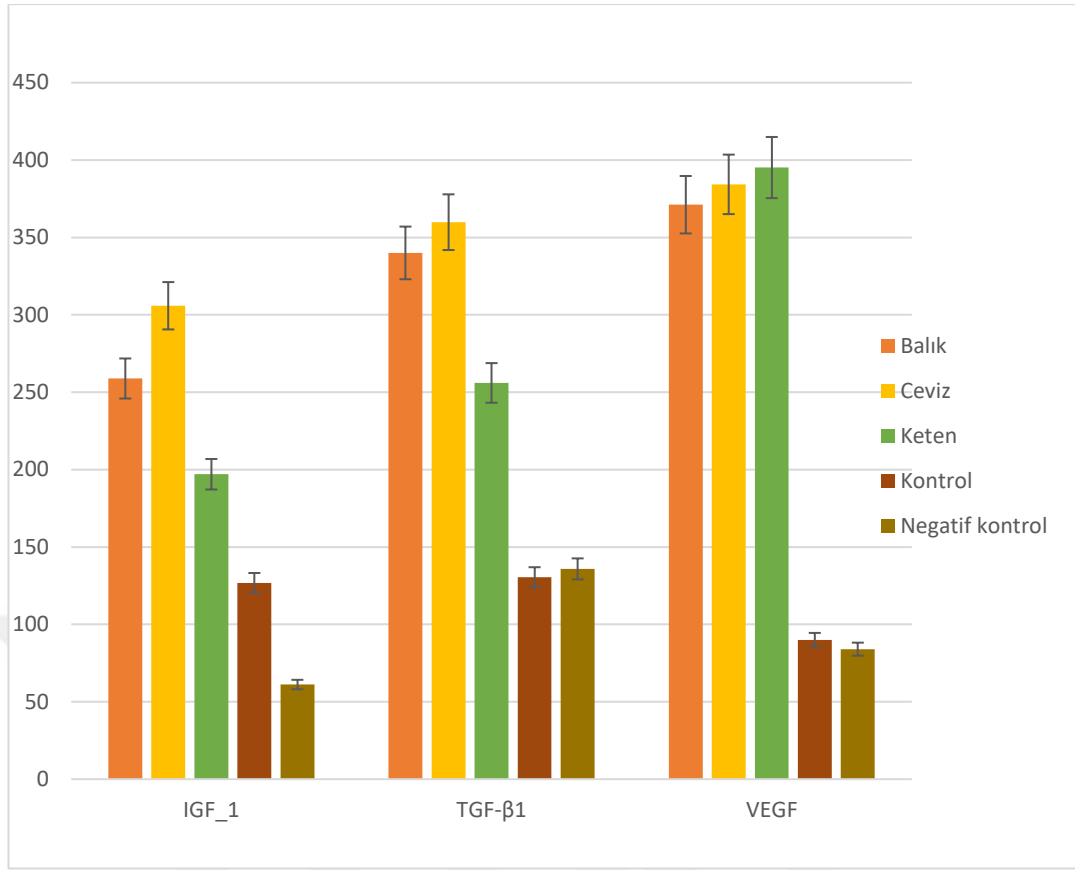
VEGF immün boyanmasında negatif kontrol ve kontrol grubunda zayıf ekspresyon izlendi (Resim 9 A1, A2, B1, B2). Balık, ceviz ve keten tohumu yağı gruplarında ise meme dokusu epitel hücreleri ve bağ dokusunda oldukça kuvvetli ekspresyon dikkati çekti (Resim 9 C1, C2, D1, D2, E1, E2).

3.5. GRUPLAR ARASINDA IGF-1, TGF- β 1, VEGF İMMÜNOHİSTOKİMYA BOYAMA SONUÇLARI AÇISINDAN KARŞILAŞTIRILMASI

Tablo 6. Gruplar arasında IGF-1, TGF- β 1, VEGF immünohistokimya boyama sonuçları açısından ort $\pm$ sd değerleri.

Anova	Gruplar	N	Mean	Std. Deviation	F	P
IGF_1	Balık	7	258,8571	3,18479	5731,752	0,000*
	Ceviz	7	305,8571	4,09994		
	Keten	7	197,0000	3,36650		
	Kontrol	7	126,8571	3,18479		
	Negatif kontrol	7	61,1429	3,28778		
TGF-β1	Balık	7	340,0000	4,32049	5298,364	0,000*
	Ceviz	7	359,8571	4,09994		
	Keten	7	256,0000	4,79583		
	Kontrol	7	130,4286	3,73529		
	Negatif kontrol	7	135,8571	2,41030		
VEGF	Balık	7	371,1429	5,75698	6732,740	0,000*
	Ceviz	7	384,2857	6,26403		
	Keten	7	395,1429	5,27347		
	Kontrol	7	90,0000	4,32049		
	Negatif kontrol	7	84,0000	4,32049		

(*) Gruplar arasında anlamlı farklılıkları ifade eder.



Şekil 4. Gruplar arasında IGF-1, TGF-β1, VEGF immünohistokimya boyama sonuçları için morfometrik veriler. Veriler Ortalama ± SD'dir.

3.6. MEME DOKULARININ GRUPLAR ARASINDA IGF-1, TGF- β 1, VEGF İMMÜNOHİSTOKİMYA BOYAMA SONUÇLARI AÇISINDAN ÇOKLU GRUP KARŞILAŞTIRILMALARI

Tablo 7. Gruplar arasında IGF-1, TGF- β 1, VEGF immünohistokimya boyama sonuçları için morfometrik veriler. Veriler Ortalama $\pm$ SD'dir.

Gruplar arasında çoklu karşılaştırma <i>P</i> Value Posthoc/Tukey	IGF_1	TGF- β 1	VEGF
Balık vs. Ceviz	,000*	,000*	,001
Balık vs. Keten	,000*	,000*	,000*
Balık vs. Kontrol	,000*	,000*	,000*
Balık vs. Negatif kontrol	,000*	,000*	,000*
Ceviz vs. Balık	,000*	,000*	,001
Ceviz vs. Keten	,000*	,000*	,005
Ceviz vs. Kontrol	,000*	,000*	,000*
Ceviz vs. Negatif kontrol	,000*	,000*	,000*
Keten vs. Balık	,000*	,000*	,000*
Keten vs. Ceviz	,000*	,000*	,005
Keten vs. Kontrol	,000*	,000*	,000*
Keten vs. Negatif kontrol	,000*	,000*	,000*
Kontrol vs. Balık	,000*	,000*	,000*
Kontrol vs. Ceviz	,000*	,000*	,000*
Kontrol vs. Keten	,000*	,000*	,000*
Kontrol vs. Negatif kontrol	,000*	,103	,230
Negatif kontrol vs. Balık	,000*	,000*	,000*
Negatif kontrol vs. Ceviz	,000*	,000*	,000*
Negatif kontrol vs. Keten	,000*	,000*	,000*
Negatif kontrol vs. Kontrol	,000*	,103	,230

* $p < 0,00$ (Anova), Pairwise Comparisons

Post hoc (Tukey) karşılaştırmalı analiz sonucuna göre IGF-1, TGF- β 1, VEGF immünohistokimya boyama p değerleri açısından 0,05'ten küçük olanlar anlamlı kabul edilmektedir ($P < 0,05$). Bu beş grup için çoklu karşılaştırma (Tukey) analizi yapılmıştır.

IGF-1 immünohistokimyasal boyama yoğunluğu açısından tüm gruplar arasında farkın anlamlı olduğu gösterilmiştir ($P<0.05$).

TGF- β 1 immünohistokimyasal boyama yoğunluğu açısından sadece negatif kontrol ve kontrol grupları arasında fark anlamlı değildi ($p>0.05$), diğer tüm gruplar arasında fark anlamlıdır ($P<0,05$).

VEGF immünohistokimyasal boyama yoğunluğu açısından sadece negatif kontrol ve kontrol grupları arasında fark anlamlı değildi ($p>0,05$), diğer tüm gruplar arasında fark anlamlıdır ($P<0,05$).



4. TARTIŞMA

Emzirme, çocuk sağlığını iyileştirmede en etkili küresel halk sağlığı stratejilerinden biridir. Bebeklik döneminde emzirmenin faydaları yetişkinliğe kadar devam eder. Emzirme, emziren annenin sağlığını da olumlu yönde etkiler [120]. Anne sütü, bebeğin büyüme ve gelişimini sürdürebilmesi için gerekli olan besinleri, yağ asitleri dahil olmak üzere sağlamaktadır. Annenin gebelik ve emzirme dönemindeki beslenmesi, anne sütünün yağ asidi profiline belirgin bir şekilde etki eder [52].

Beslenmenin meme bezi gelişimi ve süt bileşimi üzerinde önemli etkileri olduğu literatürde kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. Hayvan modelleri, meme bezi gelişimi ve emzirme dönemindeki beslenmenin düzenlenmesinin yanı sıra bu süreçlere etki eden mekanizmaları anlamak için sıkça kullanılmaktadır. Bu modellerin, özellikle besin öğelerinin meme bezi hücreleri üzerindeki etkilerini ve süt üretimini düzenleyen molekülerdeki mekanizmalarını anlamak amacıyla önemli olduğu bildirilmiştir [3].

Bu deneysel hayvan çalışmasında, anne sıçanların doğum yaptıkları günden itibaren laktasyon döneminin son günü olan 21. güne kadar verilen n-3 yağ asidinden zengin balık yağı, keten tohumu yağı ve ceviz yağının meme bezlerinin süt üretim kalitesine olan etkileri karşılaştırmalı olarak incelenmiştir.

Laktasyon sırasında balık yağı tüketiminin anne sütündeki toplam lipid konsantrasyonunu etkileyip etkilemediği konusundaki araştırmalar farklılık göstermektedir [95]. Emziren sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada, balık yağı takviyesi alan grup ile mısır yağı takviyesi alan grup karşılaştırıldığında, balık yağı grubunun meme bezinin salgılama fonksiyonu, sitoplazmik lipid damlacıklarının oluşumu ve meme epitelyasının farklılaşması üzerinde değişiklikler oluşturabileceği bildirilmiştir [96]. Balık yağının anne sıçanların süt bileşimine ve yavruların yağ asidi bileşimine olan etkilerini belirlemek için yapılan bir başka çalışmada, balık yağı içeren diyetle beslenen anne sıçanların sütündeki DHA'nın, balık yağı içermeyen diyetle beslenen annelerin sütündeki DHA düzeyine göre birkaç kat daha yüksek olduğu bildirilmiştir [121].

Maternal diyetle balık yağı tüketiminin yavrularda meme bezi tümörü gelişme riski üzerine yapılan deney hayvanı çalışmasında, balık yağına maruz kalmayan yavru fareler ile doğumdan itibaren balık yağına maruz kalan yavru fareler arasında karşılaştırma yapılmıştır. Sonuçlara göre, hiç balık yağına maruz kalmayan yavru farelerde meme bezi tümörleri görülme sıklığı, doğumdan itibaren balık yağına maruz kalan yavru farelere göre daha yüksek düzeyde gözlemlenmiştir [98].

Bortolozzo ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, gebeliğin üçüncü trimesteri ile doğumdan sonraki üçüncü ay arasında balık yağı takviyesi alan annelerin sütünde daha yüksek DHA ve EPA konsantrasyonları olduğu ileri sürülmüştür. Bu çalışma, balık yağı takviyesinin, özellikle DHA ve EPA'nın, anne sütü kompozisyonunu etkileyebileceğini göstermektedir [97]. Danimarka'da, emziren anneler üzerinde yürütülen bir çalışmada, balık yağının gebeliğin üçüncü trimesteri ve erken dönemdeki emzirme üzerine etkisi incelenmiştir. Gebeliğin 30. haftasında takviye yağlar alınmaya başlanmış ve doğumdan sonra annelerden 4., 16. ve 30. günlerde süt örnekleri alınarak incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar, kontrol grubuna göre balık yağı grubunun n-3 değerlerinin 4., 16. ve 30. günlerde, süt örneklerinde sırasıyla 2.3, 4.1, 3.3 kat daha yüksek olduğunu göstermiştir. Ayrıca, DHA seviyelerinin kontrol grubuna göre 4., 16. ve 30. günlerde alınan süt örneklerinde sırasıyla 2.1, 3.6, ve 2.8 kat fazla olduğu gözlemlenmiştir [112].

Gebelik ve emzirme sırasında annenin omega-3 takviyesinin fetal büyüme ve gelişmede önemli bir faktör olduğu ileri sürülmektedir. DHA ve daha az ölçüde EPA, gebeliğin üçüncü trimesterinde ve doğumdan sonraki ilk iki yılda beyinin neonatal hücrel membranlarında hızlı bir şekilde birikir. Emziren kadınların günlük ortalama 300 mg DHA+EPA alması önerilir. Bunun 200 mg'ı DHA olarak alınır ve bu miktar, haftalık 1-2 porsiyon balık tüketimiyle elde edilebilir [110]. Almanya'da yapılan bir çalışmada, gebelik ve emzirme dönemi boyunca annelere günlük 200mg/gün DHA takviyesi verildi. Doğum sonrası bebeklerden alınan kan örneklerine göre DHA seviyelerinin yükseldiği gösterilmiştir. Ayrıca, anne sütü DHA konsantrasyonları ile kırmızı kan hücresi fosfolipitlerindeki DHA konsantrasyonları anlamlı düzeyde ilişkili olduğu gözlemlenmiştir [111].

Gebelik ve emzirme süresince, anne sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada yüksek yağlı diyetle beslenen gruba verilen DHA takviyesinin kontrol grubuna göre sütün bileşiminde LA, AA ve DHA konsantrasyonlarını yükselttiği gözlenmiştir [113].

Omega 3 yağ asitleriyle gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise gebelik ve emzirme döneminde, EPA ve DHA alımının bebeklerin alerjik hastalık riski üzerine etkisi incelenmiştir. Çalışma kapsamında gebeliğin 25. haftasından itibaren 1.6 gr EPA, 1.1 gr DHA takviyesi verilmiştir. Sonuçta, EPA ve DHA alımının, alerjik hastalık gelişme riskinde ve egzama görülme sıklığında azalma olduğu gözlemlenmiştir [114].

Yapılan bir çalışmada anne sıçanların, gebelik ve emzirme boyunca diyetle ceviz alımının kontrol grubuyla karşılaştırıldığında yetişkin sıçan yavrularında uzaysal öğrenme ve hafızasında önemli bir fark olduğunu göstermiştir [99]. Benzer bir çalışmada, yavruların öğrenme ve hafıza yeteneklerini değerlendirmek amacıyla, 80 günlük yetişkin yavrulara Morris Su Labirenti testi uygulanmış, cevizin yavruların öğrenme yeterliliğini geliştirebileceği ve her iki cinsiyetteki nöron sayısını artırabileceği öne sürülmüştür [100].

Ceviz yağının, insan sütü yağları, hayvan sütü yağları ve formül süt ile karşılaştırıldığı bir çalışmada, ceviz yağı kullanılarak bir formül süt hazırlanmış ve bebeklerin sindirimi, yağ asidi salınımı açısından test edilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre ceviz yağının, hayvan sütü ve formül sütle kıyasla insan sütüne daha yakın bir yağ asidi profili sergilediği gözlemlenmiştir. Ayrıca, ceviz yağı eklenmiş bebek formülünün, hayvan sütü ve formül süte göre daha iyi yağ sindirilebildiği gösterilmiştir [101].

Troina ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, emzirme döneminde anne sıçanlara verilen keten tohumu diyetinin, süt bileşimini etkilediği ve yavruların yetişkinlik döneminde vücut yağlanmasında artış ve cinsel fonksiyondaki değişikliklere yönelik bir fenotip programladığını göstermiştir [102]. Benzer bir çalışmada, anne sıçanlara sırasıyla %40 ve %26 kadar yüksek konsantrasyonlarda keten tohumu ve keten tohumu küspesi verilmesinin fertilizasyon ve fetal gelişim üzerinde etkisi olmadığı gözlenmiştir. Bununla birlikte gebelik, emzirme ve emzirme

sonrası keten tohumu ile beslenmenin, doğum sonrası gelişim ve cinsel olgunlaşma döneminde yavruların hormonal seviyeleri üzerinde etkili olduğu görülmüştür [103].

Deneysel hayvan modeli ile yapılan bir başka çalışmada, keten tohumu yağı takviyesinin emziren anne sıçanların, lipid profilindeki artışın, kemik ve vücut kompozisyonu üzerinde önemli etkiler ortaya koyabileceği bildirilmiştir. Laktasyon döneminde anne sıçanların keten tohumu yağı alımının, süttten kesilen (21 günlük) hem erkek hem de dişi yavrularda vücut kütlesini azalttığını ve annelerin vücut ağırlığında azalma ile süt bileşimini değiştirdiğini bildirmişlerdir [104], [105].

Gebelik ve emzirme dönemlerinde prolaktin, meme bezinin ve emzirmenin gelişimine, anne davranışına, nörojenezin artmasına, insülin direncine, glikozun fetüse aktarılmasına, β hücrelerinin genişlemesine, iştah artışına, leptin direncine, yağ birikmesine (gebelik) ve mobilizasyon (laktasyon), kemik ve kalsiyum homeostazisi, anovulasyona, azalmış stres yanıtlarına, oksitosin sekresyonu kolaylaştırılmasına etki eder [115].

Yapılan bir çalışma, süttten kesme döneminde keten tohumu yağı takviyesi alan emziren sıçanlarda serum prolaktin seviyesinin yüksek olduğu ve bu durumun prolaktin salgısı üzerinde östrojenik etkilerinin olabileceğini göstermiştir [116].

Başka bir çalışmada, laktasyon döneminde anne sıçanların keten tohumu yağı takviyesinin, yetişkin erkek yavrularda toplam vücut yağ kütlesini, serum trigliseritlerini, prolaktini, leptini ve insülin direncini artırdığı gözlemlenmiştir [106]. Bu bulgular, keten tohumu yağının laktasyon dönemindeki annelerde ve onların yavrularında çeşitli metabolik etkilere yol açabileceğini düşündürmektedir.

FADS2 geni, $\Delta 6$ -desaturaz adı verilen ve en az altı farklı substratın zinciri boyunca belirli karbon pozisyonlarında çift bağ oluşturan bir enzim olan $\Delta 6$ -desaturazı kodlar. Bu substratlar arasında dört PUFA, bir tekli doymamış yağ asidi (oleik asit) ve bir doymuş yağ asidi (palmitik asit) bulunur. Genellikle karaciğerde ve beyinde eksprese edilir. Ayrıca, kalp kasında, testislerde, overlerde, rahimde ve yağ bezlerinde de bulunur [107].

Yenidoğan, LC-PUFA'yı anne sütü ile alır. Laktasyonun ilk aşamasında, yenidoğanın beyin büyüme atağında, LC-PUFA'ların gereksinimi artar. Bu sebeple, AA ve DHA, anne organizmasındaki yağ asidi desatürazları (FADS) 1- 2 ve elongazlar ELOVL2 ve ELOV5 tarafından sentezlenir veya annenin yağ dokusu rezervlerinden mobilize edilir [73]. Kemirgen meme bezinde yapılan bir çalışmada, FADS1, FADS2 ve ELOVL5 mRNA'larının emziren meme dokusunda mevcut olduğu bildirilmiştir [108]. Laktasyon döneminde mısır yağının sıçan meme bezi üzerindeki etkisini inceleyen bir çalışmada, LA'nın yaklaşık %35'inin, FADS1 ve FADS2 tarafından meme dokusunda eksprese edildiği, bu sebeple LA'nın AA'ya dönüşebileceği bildirilmiştir [109].

Bu çalışmada incelenen biyokimyasal parametreler, gruplar arasında önemli farklılıklar olduğunu göstermektedir. Balık yağı grubunda, DHA seviyeleri açısından, diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiştir. Keten tohumu yağı grubunda ise prolaktin seviyeleri açısından diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark mevcuttur. Bu sonuç bize keten tohumunun prolaktin salınımı üzerine olumlu etkisini göstermiştir. Ceviz grubunda ise belirgin bir fark yoktur. Ayrıca bu çalışma, laktasyon döneminde ceviz yağının histolojik ve biyokimyasal parametrelerini değerlendiren ilk çalışmadır.

Anne beslenmesi, anne sütündeki besin konsantrasyonlarını etkileyen faktörlerden biridir. Ancak literatürde herhangi bir anne beslenme müdahalesinin anne sütündeki büyüme faktörü içeriğine olan etkisini bildirmemiştir [123]. Bu çalışma, anne beslenme müdahalesinin büyüme faktörleri üzerine olan etkilerini IGF-1, TGF- β 1 ve VEGF büyüme faktörleri ile değerlendirmiştir.

Büyüme faktörleri heterojen bir protein ve peptid grubundan oluşur. İnsan sütü, bağırsak sistemi, damar sistemi, sinir sistemi ve endokrin sistemi üzerinde kapsamlı etkileri olan çok sayıda büyüme faktörü içerir. İnsan sütünde IGF-1, TGF- β 1 ve VEGF gibi çeşitli büyüme faktörleri bulunur. Bu büyüme faktörleri sütle yenidoğanlara lipid damlacıkları yoluyla aktarılır [122].

VEGF, hamilelik ve emzirme döneminde meme bezi anjiyogenezine ve vasküler geçirgenliğe aracılık eden temel büyüme faktörlerinden biridir.

Kemirgenlerde yapılan çalışmalar, laktasyonun farklı aşamalarında meme bezinde VEGF'nin ekspresyonunu bildirmiştir [89], [124]. Yapılan bir çalışmada, laktasyon döneminde VEGF'deki belirgin artışın endotel hücrelerde fonksiyonel değişikliklere neden olduğu, bunun da vasküler geçirgenlikte artışa yol açabileceğini göstermiştir [89]. Emziren fare meme bezindeki VEGF ekspresyonundaki değişiklikleri immünohistokimya ve immnoblottlama yöntemleri kullanarak incelenen bir başka çalışmada, meme epitelinde eksprese edilen VEGF'in üreme döngüsü tarafından düzenlendiğini, meme bezinin büyümesi ve gelişmesiyle ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca VEGF mRNA'sının hamilelik ve emzirme döneminde kademeli olarak arttığını, laktasyon ortasında en yüksek seviyeye ulaştığını ardından laktasyonun sonuna doğru azaldığını bildirmişlerdir [94].

Meme bezi aynı zamanda önemli bir salgı organı olarak kabul edilir. Süt veren meme bezinin epitel hücreleri, insan sütündeki VEGF'nin kaynağı olarak görev yapar. VEGF, etkilerine iki yüksek afiniteli tirozin kinaz reseptörü aracılık eder. VEGF reseptörleri olan flt-1 ve flk-1'in insanlarda meme bezinde eksprese edildiği gösterilmiştir. VEGF'nin insan anne sütünde de yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu bilinmektedir [91]. Hayvanlar üzerinde yapılan bir çalışma, meme bezi epitelinde VEGF'nin etkisizleştirilmesinin, laktasyon sırasında yetersiz lobulo-alveolojenez ve epitelyal farklılaşmaya yol açtığını, bunun da meme bezi gelişimini ve fonksiyonunu ciddi şekilde tehlikeye atarak daha düşük süt salgılanmasına ve yavruların yetersiz beslenmesine yol açtığını göstermiştir [93].

Bizim de alışmamızda VEGF ekspresyonu ile ilgili önemli bulgular dikkati çekmektedir. Balık, ceviz ve keten yağı uygulama gruplarında VEGF'nin ekspresyonunun belirgin olarak artması omega-3 yağ asidi içeren bu yağların meme bezinin lobulo-alveojenezinin fonksiyonunda etkili olduğunu göstermiştir.

IGF'lerin duktal morfogenez ve lobuloalveolar gelişimde kritik bir rolü olduğu bilinmektedir. Hücresel seviyede IGF'lerin hücre proliferasyonunu uyarma ve hücrenin hayatta kalmasını kontrol etme yeteneği, meme bezindeki süt salgılayan hücrelerin sayısına katkıda bulunduğunu göstermektedir. Kemirgenlerde olduğu gibi, geviş getiren hayvanların meme bezinde östrojen ve IGF sistemi arasındaki etkileşim belirgindir. Koyunlarda, IGF-1 mRNA'nın ergenlik döneminde meme dokusunda

artarak eksprese edildiği, daha sonra hamileliğin sonlarına kadar azaldığı ve daha sonra tekrar arttığı gözlemlenmiştir. Bu hızlı meme gelişimi dönemlerinin, artan IGF-1 ekspresyon ile korele olduğunu göstermektedir [125]. IGF-I ve IGFBP mRNA'larında gözlenen eş zamanlı artışlar, IGF'lerin dokulardaki biyoerişilebilirliğini modüle edebileceği ile ilgili çalışmalar mevcuttur [127]. Laktasyon dönemindeki ineklere verilen A vitamin takviyesinin etkilerini araştıran bir çalışmada, A vitamini takviyesinin plazma ve meme salgılarındaki laktoferrin, IGFBP-3 ve IGF-I konsantrasyonlarını değiştirmedeği saptanmıştır [126].

Bizim alışmamızda immünohistokimyasal bulgularımıza göre ceviz yağı grubunda meme dokusunda en yüksek IGF-1 ekspresyonu gözlenmesi, ceviz yağının lobulaalveolar gelişime ve meme bezindeki süt salgılayan hücrelerin sayısına katkıda bulunduğunu göstermiştir.

TGF, bağırsağın gelişiminde ve işleyişinde rol alır. Aynı zamanda inflamatuvar ve bağışıklık süreçleriyle de ilişkilidir. Patojenlere karşı savunmayı geliştirir. TGF-β anne sütünde bulunur ve IgA üretimini uyarır. Ayrıca proinflamatuvar sitokinlerin sentezini inhibe eder [128]. Doğumdan sonra meme salgılarından türetilen sitokinler, emzirmeden itibaren gelişen gastrointestinal sistemde bağışıklık sisteminin olgunlaşması için gereklidir. Ayrıca, anne sütünde TGF-β izoformları tespit edilmiş ve TGF-β2'nin, TGF-β1 ile karşılaştırıldığında daha yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu gözlemlenmiştir. Farklı sitokinlerin seviyeleri emzirme döneminde değişir. Erken dönem insan sütünde, TGF-β2'nin, laktasyonun daha ileri dönemlerine kıyasla daha belirgin konsantrasyonlarda bulunduğu rapor edilmiştir. TGF-β2 konsantrasyonlarının, gebelik yaşı ve doğum ağırlığı ile ters orantılı olduğu bildirilmiştir [129].

Çalışmamızda TGF-β1 ekspresyonunun ceviz ve balık yağı grubunda belirgin olarak artması bu yağların meme ve anne sütünde sitokin seviyeleri üzerine etkili olabileceğini düşündürmüştür.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma, laktasyon döneminde maternal diyetle takviye alınan farklı n-3 yağ asidi kaynaklarının süt bileşimine olan etkilerini değerlendirmiştir. Elde edilen bulgular, farklı yağ takviyelerinin laktasyon sürecini etkileyebileceğini ve annelerin beslenme içeriğinin, n-3 yağ asitleri açısından zengin kaynakları içermesinin önemli olduğunu göstermektedir. Bu nedenle emzirme döneminde annelerin beslenmelerinin, özellikle n-3 yağ asitleri açısından zengin kaynakları içermesi önemlidir.

Bu çalışmayla, balık yağı takviyesi alan annelerin biyokimyasal yoğunluk açısından, diğer yağlara göre daha yüksek DHA konsantrasyonlarına sahip olduğu gözlemlenmiştir. Bu durum, diğer yağlara kıyasla balık yağının emziren annelerin süt kompozisyonunu olumlu yönde etkileyebileceğini düşündürmektedir.

Bu çalışma, süt kalitesinin önemli bir sağlık parametresi olduğunu ortaya koymaktadır. Bu sebeple, gelecekteki araştırmalarda, daha fazla bilgi elde etmek amacıyla geniş çaplı kohort çalışmaları ve deneysel çalışmaların yapılması önerilmektedir. Ayrıca, kişiselleştirilmiş beslenme müdahalelerinin ve maternal diyetin yenidoğan sağlığına olan etkilerini daha iyi anlamak için multidisipliner bir yaklaşımın benimsenmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

6. KAYNAKLAR

- [1] Lawrence, R. A., & Lawrence, R. M. (2021). "Breastfeeding: a guide for the medical Professional", *Elsevier Health Sciences*.
- [2] Organization, W. H. (2014). "Global nutrition targets 2025: breastfeeding policy brief".
- [3] Hue-Beauvais, C., Faulconnier, Y., Charlier, M., & Leroux, C. (2021). "Nutritional regulation of mammary gland development and milk synthesis in animal models and dairy species", *Genes*, 12(4), 523.
- [4] Segura, S. A., Ansótegui, J. A., & Díaz-Gómez, N. M. (2016). "La importancia de la nutrición materna durante la lactancia, ¿necesitan las madres lactantes suplementos nutricionales?.", *In Anales de Pediatría* (Vol. 84, No. 6, pp. 347-e1). Elsevier Doyma.
- [5] Italianer, M. F., Naninck, E. F., Roelants, J. A., van der Horst, G. T., Reiss, I. K., Goudoever, J. B. V., ... & Vermeulen, M. J. (2020). "Circadian variation in human milk composition, a systematic review", *Nutrients*, 12(8), 2328.
- [6] Couto, G. R., Dias, V., & de Jesus Oliveira, I. (2020). "Benefits of exclusive breastfeeding: An integrative review", *Nursing Practice Today*.
- [7] Gertosio, C., Meazza, C., Pagani, S., & Bozzola, M. (2015). "Breastfeeding and its gamut of benefits", *Minerva pediatrica*, 68(3), 201-212.
- [8] Turck, D., Vidailhet, M., Bocquet, A., Bresson, J. L., Briend, A., Chouraqui, J. P., ... & Simeoni, U. (2013). "Breastfeeding: health benefits for child and mother", *Archives de pediatrie: organe officiel de la Societe francaise de pediatrie*, 20, S29-48.
- [9] Keikha, M., Bahreynian, M., Saleki, M., & Kelishadi, R. (2017). "Macro-and micronutrients of human milk composition: are they related to maternal diet? A comprehensive systematic review", *Breastfeeding Medicine*, 12(9), 517-527.
- [10] Bravi, F., Di Maso, M., Eussen, S. R., Agostoni, C., Salvatori, G., Profeti, C., ... & MEDIDIET Working Group. (2021). "Dietary patterns of breastfeeding mothers and human milk composition: Data from the italian MEDIDIET study", *Nutrients*, 13(5), 1722.
- [11] Lunn, J., & Theobald, H. E. (2006). "The health effects of dietary unsaturated fatty acids", *Nutrition Bulletin*, 31(3), 178-224.

- [12] Adarme-Vega, T. C., Thomas-Hall, S. R. and Schenk, P. M. (2014). "Towards sustainable sources for omega-3 fatty acids production", *Current Opinion in Biotechnology*, 26, 14-18.
- [13] Rosa Velazquez, M., Batistel, F., Pinos Rodriguez, J. M. and Relling, A. E. (2020). "Effects of maternal dietary omega-3 polyunsaturated fatty acids and methionine during late gestation on fetal growth, DNA methylation, and mRNA relative expression of genes associated with the inflammatory response, lipid metabolism and DNA methylation in placenta and offspring's liver in sheep", *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 11(1).
- [14] Innis, S. M. (2008). "Dietary omega 3 fatty acids and the developing brain", *Brain Research*, 1237, 35-43.
- [15] Firouzabadi, F. D., Shab-Bidar, S., & Jayedi, A. (2022). "The effects of omega-3 polyunsaturated fatty acids supplementation in pregnancy, lactation, and infancy: An umbrella review of meta-analyses of randomized trials", *Pharmacological Research*, 177, 106100.
- [16] McGuire, K. P. (2015). "Breast Anatomy and Physiology", *Breast Disease: Diagnosis and Pathology*, 1, 1-14.
- [17] Biswas, S. K., Banerjee, S., Baker, G. W., Kuo, C. Y., & Chowdhury, I. (2022). "The mammary gland: basic structure and molecular signaling during development", *International Journal of Molecular Sciences*, 23(7), 3883.
- [18] Hassiotou, F., & Geddes, D. (2013). "Anatomy of the human mammary gland: Current status of knowledge", *Clinical anatomy*, 26(1), 29-48.
- [19] Treuting, P. M., Dintzis, S., & Montine, K. S. (Eds.). (2017). "Comparative anatomy and histology: a mouse, rat, and human atlas", Academic Press.
- [20] Masso-Welch, P. A., Darcy, K. M., Stangle-Castor, N. C. and Ip, M. M. (2000). "A developmental atlas of rat mammary gland histology", *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 5(2), 165-185.
- [21] Ventrella, D., Ashkenazi, N., Elmi, A., Allegaert, K., Aniballi, C., DeLise, A., ... & Bacci, M. L. (2021). "Animal models for in vivo lactation studies: anatomy, physiology and milk compositions in the most used non-clinical species: a contribution from the ConcePTION project.", *Animals*, 11(3), 714.
- [22] Macias, H. and Hinck, L. (2012). "Mammary gland development", *Wiley Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology*, 1(4), 533-557.

- [23] Fu, N. Y., Nolan, E., Lindeman, G. J., & Visvader, J. E. (2020). "Stem cells and the differentiation hierarchy in mammary gland development", *Physiological reviews*.
- [24] Aranda-Gutierrez, A., & Diaz-Perez, H. M. (2019). "Histology, Mammary Glands".
- [25] Colleluori, G., Perugini, J., Barbatelli, G., & Cinti, S. (2021). "Mammary gland adipocytes in lactation cycle, obesity and breast cancer", *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 22, 241-255.
- [26] MacLennan, M. and Ma, D. W. L. (2010). "Role of dietary fatty acids in mammary gland development and breast cancer", *Breast Cancer Research*, 12(5).
- [27] [Jouanne, M., Oddoux, S., Noël, A., & Voisin-Chiret, A. S. (2021). "Nutrient requirements during pregnancy and lactation", *Nutrients*, 13(2), 692.
- [28] [Ramsay, D. T., Kent, J. C., Hartmann, R. A., & Hartmann, P. E. (2005). "Anatomy of the lactating human breast redefined with ultrasound imaging", *Journal of anatomy*, 206(6), 525-534.
- [29] Russo, I. H. and Russo, J. (1996). "Mammary gland neoplasia in long-term rodent studies", *Environmental Health Perspectives*, 104(9), 938-967.
- [30] Rodríguez-González, G. L., Bautista, C. J., Rojas-Torres, K. I., Nathanielsz, P. W., & Zambrano, E. (2020). "Importance of the lactation period in developmental programming in rodents", *Nutrition Reviews*, 78(Supplement_2), 32-47.
- [31] Cardiff, R. D., & Wellings, S. R. (1999). "The comparative pathology of human and mouse mammary glands", *Journal of mammary gland biology and neoplasia*, 4, 105-122.
- [32] Picciano, M. F. (2001). "Nutrient Composition of Human Milk", *Pediatric Clinics of North America*, 48(1), 53-67.
- [33] Huang, Z. and Hu, Y. M. (2020). "Dietary patterns and their association with breast milk macronutrient composition among lactating women", *International Breastfeeding Journal*, 15(1).
- [34] Marshall, N. E., Abrams, B., Barbour, L. A., Catalano, P., Christian, P., Friedman, J. E., ... & Thornburg, K. L. (2022). "The importance of nutrition in pregnancy and lactation: lifelong consequences.", *American journal of obstetrics and gynecology*, 226(5), 607-632.

- [35] Picciano, M. F. (2003). "Pregnancy and Lactation: Physiological Adjustments, Nutritional Requirements and the Role of Dietary Supplements", *The Journal of Nutrition*, 133(6), 1997S-2002S.
- [36] Mahan, L. and Raymond, J. (2016). "Krause's Food & the Nutrition Care Process, Iranian Edition E-Book".
- [37] Lee, S. and Kelleher, S. L. (2016). "Biological underpinnings of breastfeeding challenges: the role of genetics, diet, and environment on lactation physiology", *American Journal of Physiology- Endocrinology and Metabolism*, 311(2), E405.
- [38] Henderson, A. (2005). "Vitamin D and the breastfed infant", *JOGNN- Journal of Obstetric, Gynecologic, and Neonatal Nursing*, 34(3), 367-372.
- [39] Shearer, M., McCarthy, P. T., Haug, M., Harzer, G., & Göbel, U. (1987). "Vitamin K1 content of maternal milk: influence of the stage of lactation, lipid composition, and vitamin K1 supplements given to the mother", *Pediatric research*, 22(5), 513-517.
- [40] Pratt, J. P., Hamil, B. M., Moyer, E. Z., Kaucher, M., Roderuck, C., Coryell, M. N., ... & Macy, I. G. (1951). "Metabolism of Women during the Reproductive Cycle XVIII. The Effect of Multi-Vitamin Supplements on the Secretion of B Vitamins in Human Milk", *The Journal of Nutrition*, 44(1), 141-157.
- [41] Andreas, N. J., Kampmann, B., & Le-Doare, K. M. (2015). "Human breast milk: A review on its composition and bioactivity", *Early human development*, 91(11), 629-635.
- [42] Zimmermann, P., & Curtis, N. (2020). "Breast milk microbiota: A review of the factors that influence composition", *Journal of Infection*, 81(1), 17-47.
- [43] Eriksen, K. G., Christensen, S. H., Lind, M. V., & Michaelsen, K. F. (2018). "Human milk composition and infant growth", *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care*, 21(3), 200-206.
- [44] Ballard, O., & Morrow, A. L. (2013). "Human milk composition: nutrients and bioactive factors", *Pediatric Clinics*, 60(1), 49-74.
- [45] Gridneva, Z., Rea, A., Tie, W. J., Lai, C. T., Kuganathan, S., Ward, L. C., ... & Geddes, D. T. (2019). "Carbohydrates in human milk and body composition of term infants during the first 12 months of lactation", *Nutrients*, 11(7), 1472.
- [46] Nurdan, U. R. A. Ş. (2017). "Anne sütünün oluşumu ve içeriği", *Türk Dünyası Uygulama ve Araştırma Merkezi Yenidoğan Dergisi*, 2(2), 130-153.

- [47] Plaza-Díaz, J., Fontana, L., & Gil, A. (2018). "Human milk oligosaccharides and immune system development", *Nutrients*, 10(8), 1038.
- [48] Mosca, F., & Gianni, M. L. (2017). "Human milk: composition and health benefits", *La Pediatria Medica e Chirurgica*, 39(2).
- [49] Koletzko, B., Rodriguez-Palmero, M., Demmelmair, H., Fidler, N., Jensen, R., & Sauerwald, T. (2001). "Physiological aspects of human milk lipids", *Early human development*, 65, S3-S18.
- [50] Folch, J., Lees, M., & Sloane Stanley, G. H. (1957). "A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues", *J biol Chem*, 226(1), 497-509.
- [51] Valentine, C. J., Morrow, G., Pennell, M., Morrow, A. L., Hodge, A., Haban-Bartz, A., Collins, K. and Rogers, L. K. (2013). "Randomized controlled trial of docosahexaenoic acid supplementation in midwestern U.S. human milk donors", *Breastfeeding Medicine*, 8(1), 86-91.
- [52] Jensen, R. G. (1999). "Lipids in human milk", *Lipids*, 34(12), 1243-1271.
- [53] Lönnerdal, B. (2004). "Human milk proteins: Key components for the biological activity of human milk", *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 554, 11-25.
- [54] Saini, R. K., & Keum, Y. S. (2018). "Omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids: Dietary sources, metabolism, and significance—A review", *Life sciences*, 203, 255-267.
- [55] Covington, M. B. (2004). "Omega-3 fatty acids", *American family physician*, 70(1), 133-140.
- [56] Muhlhausler, B. S., Gibson, R. A., & Makrides, M. (2011). "The effect of maternal omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acid (n-3 LCPUFA) supplementation during pregnancy and/or lactation on body fat mass in the offspring: a systematic review of animal studies", *Prostaglandins, leukotrienes and essential fatty acids*, 85(2), 83-88.
- [57] KHALILY, R. (2019). "Omega-3 Fatty Acids and Health Benefits", *Eurasian Journal of Food Science and Technology*, 3(1), 1-7.
- [58] Mukhametov, A., Yerbulekova, M., Aitkhozhayeva, G., Tuyakova, G. and Dautkanova, D. (2022). "Effects of ω -3 fatty acids and ratio of ω -3/ ω -6 for health promotion and disease prevention", *Food Science and Technology*, 42, e58321.

- [59] Liu, J., & Ma, D. W. (2014). "The role of n-3 polyunsaturated fatty acids in the prevention and treatment of breast cancer", *Nutrients*, 6(11), 5184-5223.
- [60] Kousparou, C., Fyrilla, M., Stephanou, A., & Patrikios, I. (2023). "DHA/EPA (Omega-3) and LA/GLA (Omega-6) as Bioactive Molecules in Neurodegenerative Diseases", *International journal of molecular sciences*, 24(13), 10717.
- [61] Stipanuk, M. H., & Caudill, M. A. (2018). "Biochemical, physiological, and molecular aspects of human nutrition-E-book", *Elsevier health sciences*.
- [62] Deckelbaum, R. J., & Torrejon, C. (2012). "The omega-3 fatty acid nutritional landscape: health benefits and sources", *The Journal of nutrition*, 142(3), 587S-591S.
- [63] Calder, P. C. (2016). "Docosahexaenoic acid", *Annals of Nutrition and Metabolism*, 69(Suppl. 1), 8-21.
- [64] Jiang, Y., Chen, Y., Wei, L., Zhang, H., Zhang, J., Zhou, X., Zhu, S., Du, Y., Su, R., Fang, C., Ding, W. and Feng, L. (2023). "DHA supplementation and pregnancy complications", *Journal of Translational Medicine* 2023 21:1, 21(1), 1-13.
- [65] Cetin, I., Laoreti, A., Fanos Cagliari, V., Mussap Genoa, M., Del Vecchio Bari, A., Sun Shanghai, B., Faa Cagliari, G. and Giordano Philadelphia, A. (2015). "The importance of maternal nutrition for health", *air.unimi.it*, 4(2).
- [66] Mun, J. G., Legette, L. L., Ikonte, C. J., & Mitmesser, S. H. (2019). "Choline and DHA in maternal and infant nutrition: synergistic implications in brain and eye health", *Nutrients*, 11(5), 1125.
- [67] Helland, I. B., Smith, L., Saarem, K., Saugstad, O. D., & Drevon, C. A. (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(1), e39-e44.
- [68] Horrocks, L. A., & Yeo, Y. K. (1999). "Health benefits of docosahexaenoic acid (DHA)", *Pharmacological research*, 40(3), 211-225.
- [69] Jensen, C. L. and Lapillonne, A. (2009). "Docosahexaenoic acid and lactation", *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 81(2-3), 175-178.
- [70] Brinton, E. A. and Mason, R. P. (2017). "Prescription omega-3 fatty acid products containing highly purified eicosapentaenoic acid (EPA)", *Lipids in Health and Disease*, 16(1), 1-13.

- [71] Su, H., Liu, R., Chang, M., Huang, J., Jin, Q. and Wang, X. (2018). "Effect of dietary alpha-linolenic acid on blood inflammatory markers: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials", *European Journal of Nutrition*, 57(3), 877-891.
- [72] Pawlosky, R. J., Hibbeln, J. R., Novotny, J. A. and Salem, N. (2001). "Physiological compartmental analysis of α -linolenic acid metabolism in adult humans", *Journal of Lipid Research*, 42(8), 1257-1265.
- [73] Rodriguez-Cruz, M., Sánchez, R., Sánchez, A. M., Kelleher, S. L., Sánchez-Muñoz, F., Maldonado, J., & López-Alarcón, M. (2011). "Participation of mammary gland in long-chain polyunsaturated fatty acid synthesis during pregnancy and lactation in rats", *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1811(4), 284-293.
- [74] Bláhová, Z., Harvey, T. N., Pšenička, M. and Mráz, J. (2020). "Assessment of Fatty Acid Desaturase (Fads2) Structure-Function Properties in Fish in the Context of Environmental Adaptations and as a Target for Genetic Engineering", *Biomolecules* 2020, Vol. 10, Page 206, 10(2), 206.
- [75] Tripathi, V., Abidi, A. B., Marker, S., & Bilal, S. (2013). "Linseed and linseed oil: health benefits-a review", *Int J Pharm Biol Sci*, 3(3), 434-442.
- [76] Jamshidi, A., Cao, H., Xiao, J., & Simal-Gandara, J. (2020). "Advantages of techniques to fortify food products with the benefits of fish oil", *Food Research International*, 137, 109353.
- [77] Alkan, Ş., Taşkın, H., Ayrancı, M. ve Öksüz, A. (2018). "Yaşam Boyu Sağlıklı ve Dengeli Beslenme İçin Balık Tüketiminin Önemi", *Food and Health*, 4(1): 43-62.
- [78] do Amaral, Y. N. di V., Marano, D., da Silva, L. M. L., Guimarães, A. C. L. D. and Moreira, M. E. L. (2017). "Are There Changes in the Fatty Acid Profile of Breast Milk with Supplementation of Omega-3 Sources? A Systematic Review", *RBGO Gynecology & Obstetrics*, 39(3), 128.
- [79] Al-Madhagy, S., Ashmawy, N. S., Mamdouh, A., Eldahshan, O. A. and Farag, M. A. (2023). "A comprehensive review of the health benefits of flaxseed oil in relation to its chemical composition and comparison with other omega-3-rich oils", *European Journal of Medical Research*, 28(1), 1-17.

- [80] Goyal, A., Sharma, V., Upadhyay, N., Gill, S. and Sihag, M. (2014). "Flax and flaxseed oil: an ancient medicine & modern functional food", *Journal of Food Science and Technology*, 51(9), 1633-1653.
- [81] Song, H., Cong, Z., Wang, C., He, M., Liu, C. and Gao, P. (2022). "Research progress on Walnut oil: Bioactive compounds, health benefits, extraction methods, and medicinal uses", *Journal of Food Biochemistry*, 46(12).
- [82] Martínez, M. L., Labuckas, D. O., Lamarque, A. L., An, D. and Maestri, M. (2010). "Walnut (*Juglans regia* L.): genetic resources, chemistry, by-products", *Wiley Online Library* ML Martínez, DO Labuckas, AL Lamarque, DM Maestri *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2010 • Wiley Online Library, 90(12), 1959-1967.
- [83] Rébufa, C., Artaud, J., & Le Dréau, Y. (2022). "Walnut (*Juglans regia* L.) oil chemical composition depending on variety, locality, extraction process and storage conditions: A comprehensive review", *Journal of Food Composition and Analysis*, 110, 104534.
- [84] Poggetti, L., Ferfuia, C., Chiabà, C., Testolin, R. and Baldini, M. (2017). "Kernel oil content and oil composition in walnut (*Juglans regia* L.) accessions from north-eastern Italy", *Wiley Online Library* L Poggetti, C Ferfuia, C Chiabà, R Testolin, M Baldini *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2018 • Wiley Online Library, 98(3), 955-962.
- [85] Philipps, A. F., Kling, P. J., Grille, J. G., & Dvorák, B. (2002). "Intestinal transport of insulin-like growth factor-I (igf-I) in the suckling rat", *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 35(4), 539-544.
- [86] Baker, J., Liu, J. P., Robertson, E. J., & Efstratiadis, A. (1993). "Role of insulin-like growth factors in embryonic and postnatal growth", *Cell*, 75(1), 73-82.
- [87] Penttilä, I. A. (2010). "Milk-Derived Transforming Growth Factor- β and the Infant Immune Response", *The Journal of Pediatrics*, 156(2), S21-S25.
- [88] Kim, S. Y., & Yi, D. Y. (2020). "Components of human breast milk: From macronutrient to microbiome and microRNA", *Clinical and experimental pediatrics*, 63(8), 301.
- [89] Pepper, M. S., Baetens, D., Mandriota, S. J., Sanza, C. Di, Oikemus, S., Lane, T. F., Soriano, J. V, Montesano, R. and Luisa Iruela-Arispe, A. M. (2000). "Regulation of VEGF and VEGF Receptor Expression in the Rodent Mammary Gland During Pregnancy, Lactation, and Involution", *Dev Dyn*, 218, 507-524.

- [90] Islam, M. S. and Matsumoto, M. (2021). "Immunohistochemical localization of VEGFR-2 in mouse mammary gland during reproductive cycle", *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, 8(4), 581.
- [91] Dangat, K., Khaire, A. and Joshi, S. (2020). "Cross talk of vascular endothelial growth factor and neurotrophins in mammary gland development", *Growth Factors*, 16-24.
- [92] Ferrara, N., Gerber, H. P. and LeCouter, J. (2003). "The biology of VEGF and its receptors", *Nature Medicine* 2003 9:6, 9(6), 669-676.
- [93] Rossiter, H., Barresi, C., Ghannadan, M., Gruber, F., Mildner, M., Födinger, D. and Tschachler, E. (2007). "Inactivation of VEGF in mammary gland epithelium severely compromises mammary gland development and function", *Wiley Online Library* H Rossiter, C Barresi, M Ghannadan, F Gruber, M Mildner, D Födinger, E Tschachler *The FASEB Journal*, 2007 • *Wiley Online Library*, 21(14), 3994-4004.
- [94] Islam, M. S., Matsumoto, M., Ishida, R., Oka, T. and Kanouchi, H. (2010). "Change in VEGF expression in mouse mammary gland during reproductive cycle.", *The Journal of Veterinary Medical Science*, 72(9), 1159-1163.
- [95] Koletzko, B. (2016). "Human Milk Lipids", *Annals of Nutrition and Metabolism*, 69(Suppl. 2), 27-40.
- [96] Delpal, S., Pauloin, A., Hue-Beauvais, C., Berthelot, V., Schmidely, P. and Ollivier-Bousquet, M. (2013). "Effects of dietary fish oil and corn oil on rat mammary tissue", *Springer* S Delpal, A Pauloin, C Hue-Beauvais, V Berthelot, P Schmidely, M Ollivier-Bousquet *Cell and tissue research*, 2013 • *Springer*, 351(3), 453-464.
- [97] Bortolozo, E. A. F. Q., Sauer, E., Santos, M. D. S., Baggio, S. R., Santos Junior, G. D., Farago, P. V., ... & Pilatti, L. A. (2013). "Supplementation with the omega-3 docosahexaenoic acid: influence on the lipid composition and fatty acid profile of human milk", *Revista de Nutrição*, 26, 27-36.
- [98] Ion, G., Akinsete, J. A., Witte, T. R., Bostan, M., & Hardman, W. E. (2021). "Maternal fish oil consumption has a negative impact on mammary gland tumorigenesis in C3 (1) Tag mice offspring", *European journal of nutrition*, 60, 3771-3781.
- [99] Asadi-Shekaari, M., Karimi, A., Shabani, M., Sheibani, V., & Esmaeilpour, K. (2013). "Maternal feeding with walnuts (*Juglans regia*) improves learning and memory in their adult pups", *Avicenna journal of phytomedicine*, 3(4), 341-346.

- [100] Mahmoodian, Z., Shekaari, M. A., Soleimani, M., Ahmadi-Zeidabadi, M., Moradi, F., Akbarnejad, Z., ... & Kalantaripour, T. P. (2020). "Walnut Kernel administration to mothers during pregnancy and lactation improve learning of their pups. Changes in number of neurons and gene expression of NMDA receptor and BDNF in hippocampus in 80 days rat pups", *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*, 33(4), 219-224.
- [101] Hussain, M., Sun, Y., Pan, Y., Liu, L., Zhang, X., Wang, Q., ... & Li, X. (2023). "Formulation, invitro digestive study, and comparative fatty acid analysis of walnut oil-based infant formula, with human milk, animal milk, and commercial infant formula", *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 84, 103279.
- [102] Troina, A. A., Figueiredo, M. S., Moura, E. G., Boaventura, G. T., Soares, L. L., Cardozo, L. F. M. F., ... & Passos, M. C. F. (2010). "Maternal flaxseed diet during lactation alters milk composition and programs the offspring body composition, lipid profile and sexual function", *Food and chemical toxicology*, 48(2), 697-703.
- [103] Collins, T. F., Sprando, R. L., Black, T. N., Olejnik, N., Wiesenfeld, P. W., Babu, U. S., ... & Ruggles, D. I. (2003). "Effects of flaxseed and defatted flaxseed meal on reproduction and development in rats", *Food and chemical toxicology*, 41(6), 819-834.
- [104] Pereira, A. D., Ribeiro, D. C., de Santana, F. C., de Sousa dos Santos, A., Mancini-Filho, J., do Nascimento-Saba, C. C. A., Velarde, L. G. C., da Costa, C. A. S. and Boaventura, G. T. (2016). "Maternal Flaxseed Oil During Lactation Enhances Bone Development in Male Rat Pups", *Lipids*, 51(8), 923-929.
- [105] Guarda, D. S., Lisboa, P. C., de Oliveira, E., Nogueira-Neto, J. F., de Moura, E. G., & Figueiredo, M. S. (2014). "Flaxseed oil during lactation changes milk and body composition in male and female suckling pups rats", *Food and chemical toxicology*, 69, 69-75.
- [106] Guarda, D. S., de Moura, E. G., Carvalho, J. C., Dos Reis, A. M., Soares, P. N., Lisboa, P. C., & Figueiredo, M. S. (2016). "Maternal flaxseed oil intake during lactation changes body fat, inflammatory markers and glucose homeostasis in the adult progeny: role of gender dimorphism", *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 35, 74-80.

- [107] Park, H. G., Park, W. J., Kothapalli, K. S. D. and Brenna, J. T. (2015). “The fatty acid desaturase 2 (FADS2) gene product catalyzes A4 desaturation to yield n-3 docosahexaenoic acid and n-6 docosapentaenoic acid in human cells”, *The FASEB Journal*, 29(9), 3911-3919.
- [108] Rudolph, M. C., McManaman, J. L., Phang, T., Russell, T., Kominsky, D. J., Serkova, N. J., ... & Neville, M. C. (2007). “Metabolic regulation in the lactating mammary gland: a lipid synthesizing machine”, *Physiological genomics*, 28(3), 323-336.
- [109] Rodriguez-Cruz, M., Tovar, A. R., Palacios-González, B., Del Prado, M. and Torres, N. (2006). “Synthesis of long-chain polyunsaturated fatty acids in lactating mammary gland: role of $\Delta 5$ and $\Delta 6$ desaturases, SREBP-1, PPAR α , and PGC-1”, *Journal of Lipid Research*, 47(3), 553-560.
- [110] Koletzko, B., Cetin, I., Brenna, J. T., & Perinatal Lipid Intake Working Group. (2007). “Dietary fat intakes for pregnant and lactating women”, *British Journal of Nutrition*, 98(5), 873-877.
- [111] Bergmann, R. L., Haschke-Becher, E., Klassen-Wigger, P., Bergmann, K. E., Richter, R., Dudenhausen, J. W., ... & Haschke, F. (2008). “Supplementation with 200 mg/day docosahexaenoic acid from mid-pregnancy through lactation improves the docosahexaenoic acid status of mothers with a habitually low fish intake and of their infants”, *Annals of Nutrition and Metabolism*, 52(2), 157-166.
- [112] Boris, J., Jensen, B., Salvig, J. D., Secher, N. J. and Olsen, S. F. (2004). “A randomized controlled trial of the effect of fish oil supplementation in late pregnancy and early lactation on the n-3 fatty acid content in human breast milk”, *Lipids*, 39(12), 1191-1196.
- [113] Zambrano, E., Rodríguez-González, G. L., Reyes-Castro, L. A., Bautista, C. J., Castro-Rodríguez, D. C., Juárez-Pilares, G., Ibáñez, C. A., Hernández-Rojas, A., Nathanielsz, P. W., Montaña, S., Arredondo, A., Huang, F. and Bolaños-Jiménez, F. (2021). “DHA Supplementation of Obese Rats throughout Pregnancy and Lactation Modifies Milk Composition and Anxiety Behavior of Offspring”, *Nutrients* 2021, Vol. 13, Page 4243, 13(12), 4243.
- [114] Furuholm, C., Warstedt, K., Larsson, J., Fredriksson, M., Böttcher, M. F., Fälth-Magnusson, K., & Duchén, K. (2009). “Fish oil supplementation in pregnancy and lactation may decrease the risk of infant allergy”, *Acta paediatrica*, 98(9), 1461-1467.

- [115] Lopez Vicchi, F., & Becu-Villalobos, D. (2017). "Prolactin: The bright and the dark side", *Endocrinology*, 158(6), 1556-1559.
- [116] Troina, A. A., Figueiredo, M. S., Passos, M. C. F., Reis, A. M., Oliveira, E., Lisboa, P. C. and Moura, E. G. (2012). "Flaxseed bioactive compounds change milk, hormonal and biochemical parameters of dams and offspring during lactation", *Food and Chemical Toxicology*, 50(7), 2388-2396.
- [117] Elmlinger, M. W., Hochhaus, F., Loui, A., Frommer, K. W., Obladen, M., & Ranke, M. B. (2007). "Insulin-like growth factors and binding proteins in early milk from mothers of preterm and term infants". *Hormone Research in Paediatrics*, 68(3), 124-131.
- [118] Blum, J. W., & Baumrucker, C. R. (2002). "Colostrum and milk insulin-like growth factors and related substances: mammary gland and neonatal (intestinal and systemic) targets", *Domestic animal endocrinology*, 23(1-2), 101-110.
- [119] Gila-Diaz, A., Arribas, S. M., Algara, A., Martín-Cabrejas, M. A., López de Pablo, Á. L., Saenz de Pipaon, M., & Ramiro-Cortijo, D. (2019). "A review of bioactive factors in human breastmilk: a focus on prematurity", *Nutrients*, 11(6), 1307.
- [120] Victora, C. G., Bahl, R., Barros, A. J., França, G. V., Horton, S., Krasevec, J., ... & Rollins, N. C. (2016). "Breastfeeding in the 21st century: epidemiology, mechanisms, and lifelong effect", *The lancet*, 387(10017), 475-490.
- [121] Yonekubo, A., Honda, S., Okano, M., Takahashi, K., & Yamamoto, Y. (1993). "Dietary fish oil alters rat milk composition and liver and brain fatty acid composition of fetal and neonatal rats", *The Journal of nutrition*, 123(10), 1703-1708.
- [122] Thai, J. D., & Gregory, K. E. (2020). "Bioactive factors in human breast milk attenuate intestinal inflammation during early life", *Nutrients*, 12(2), 581.
- [123] Lu, M., Jiang, J., Wu, K., & Li, D. (2018). "Epidermal growth factor and transforming growth factor- α in human milk of different lactation stages and different regions and their relationship with maternal diet", *Food & function*, 9(2), 1199-1204.
- [124] Hovey, R. C., Goldhar, A. S., Baffi, J., & Vonderhaar, B. K. (2001). "Transcriptional regulation of vascular endothelial growth factor expression in epithelial and stromal cells during mouse mammary gland development", *Molecular endocrinology*, 15(5), 819-831.

- [125] Cohick, W. S. (2022). "The role of the IGF system in mammary physiology of ruminants", *Domestic Animal Endocrinology*, 79, 106709.
- [126] Puvogel, G., Baumrucker, C. R., Sauerwein, H., Rühl, R., Ontsouka, E., Hammon, H. M., & Blum, J. W. (2005). "Effects of an enhanced vitamin A intake during the dry period on retinoids, lactoferrin, IGF system, mammary gland epithelial cell apoptosis, and subsequent lactation in dairy cows", *Journal of dairy science*, 88(5), 1785-1800.
- [127] Rosato, R., Lindenbergh-Kortleve, D., Neck, J., Drop, S., & Jahn, G. (2002). "Effect of chronic thyroxine treatment on IGF-I, IGF-II and IGF-binding protein expression in mammary gland and liver during pregnancy and early lactation in rats", *European Journal of Endocrinology*, 146(5), 729-739.
- [128] Bardanzellu, F., Peroni, D. G., & Fanos, V. (2020). "Human breast milk: bioactive components, from stem cells to health outcomes", *Current nutrition reports*, 9, 1-13.
- [129] Brenmoehl, J., Ohde, D., Wirthgen, E., & Hoeflich, A. (2018). "Cytokines in milk and the role of TGF-beta", *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 32(1), 47-56.

EKLER

EK-1 MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ TEZ KONUSU ONAYI

Evrak Tarih ve Sayısı: 09.08.2021-E.121769



T.C.
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü

Sayı : E-74547675-302.14.01-121769
Konu : İrem MUTLU'nun Tez Konusu Hk.

09.08.2021

SBE EBELİK ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞINA

Enstitümüz 06.08.2021 tarih ve 23/2 sayılı yönetim kurulu toplantısında, Ebelik Anabilim Dalı Tezli Yüksek Lisans Programı öğrencisi İrem MUTLU'nun tez konusunun etik kurul onayı ile birlikte (etik kurul gerekli ise) "**Omega 3 Yağ Asitlerinin Laktasyona Etkisinin Karşılaştırılması Olarak İncelenmesi**" olarak belirlenmesine **OY BİRLİĞİ** ile karar verildi.
Gereğini ve bililerinizi rica ederim.

Prof. Dr. Ömer TETİK
Enstitü Müdürü

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Doğrulama Kodu :BS9NAZPBL Pin Kodu :44792

Belge Takip Adresi : <https://turkiye.gov.tr/ebd?eK=4049&eD=BS9NAZPBL&eS=121769>

Adres: Tıp Fakültesi Dekanlığı Zemin Kat Uncubozköy Kampüsü Manisa
Telefon: (0 236) 2360989 Faks: (0 236) 2382158
e-Posta: saglik.evrak@cbu.edu.tr Elektronik Ağ: saglikbe.cbu.edu.tr
Kep Adresi: celalbayanuniversitesi@hs01.kep.tr

Bilgi için: Çisem Tutan
Unvanı: Sürekli İşçi



Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

EK-2 ETİK KURUL ONAYI

Evrak Tarih ve Sayısı: 02.12.2021-E.200561



T.C.
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
Tıp Fakültesi Dekanlığı
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Sayı : E-77637435-050.04.04-200561
Konu : Etik Kurul Kararı-30.11.2021 karar
tutanağı-hayrunnisa yeşil-omega

02.12.2021

Sayın Dr. Öğr. Üyesi Hayrunnisa YEŞİL

Araştırma dosyanız ile ilgili Etik Kurul kararı ektedir. Bilgilerinizi rica ederim.

Prof. Dr. Ercüment ÖLMEZ
Kurul Başkanı

Ek: 30.11.2021 karar tutanağı-hayrunnisa yeşil-omega 3 (1 sayfa)

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Doğrulama Kodu :BSLN98NNPH Pin Kodu :13882 Belge Takip Adresi : <https://turkiye.gov.tr/ebd?eK=4049&eD=BSLN98NNPH&eS=200561>
Adres:Manisa Celal Bayar Üniversitesi Uncubozköy Kampüsü Manisa Bilgi için: Ruhsar Gürel
Telefon:(0 236) 2338586 Faks:(0 236) 2331466 Unvanı: Sekreter
e-Posta:tip@cbu.edu.tr Elektronik Ağ http://tip.cbu.edu.tr
Kep Adresi:celalbayaruniversitesi@hs01.kep.tr



Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

T.C.
Manisa Celal Bayar Üniversitesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

KARAR TARİH / NO	30/11/2021 / 77.637.435 / 210				
ARAŞTIRMANIN ADI	OMEGA 3 Yağ Asitlerinin Laktasyona Etkisinin Karşılaştırmalı Olarak İncelenmesi				
SORUMLU ARAŞTIRMACI	Dr. Öğr. Üyesi Hayrunnisa YEŞİL SARISMAZ - Sağlık Bilimleri Fakültesi				
ARAŞTIRMA EKİBİ	Yüksek Lisans Öğr. İrem MUTLU,- Doç. Dr. Seren Gülşen GÜRGEN				
ARAŞTIRMANIN NİTELİĞİ	UZMANLIK TEZİ ☐ YÜKSEK LİSANS-DOKTORA-TEZİ ☒ AKADEMİK AMAÇLI ☐ Eğitim ☐				
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	23 / 11 / 2021 / Tarih ve 194394 sayılı; araştırma dosyası				
KARAR BİLGİLERİ	Araştırma dosyası incelenmiş, bilimsel ve etik açıdan UYGUN olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.				
Unvanı / Adı / Soyadı	Araştırma ile İlgili Olan Üye	Toplantıya Katılmayan Üye	Unvanı / Adı / Soyadı	Araştırma ile İlgili Olan Üye	Toplantıya Katılmayan Üye
Prof. Dr. Ercüment ÖLMEZ	☐	☐	Prof. Dr. Gökhan TEMELTAŞ	☐	☒
Prof. Dr. İsmet TOPÇU Anestezi ve Reanimasyon AD	☐	☐	Prof. Dr. Özge YILMAZ Çocuk Hastalıkları AD.	☐	☒
Prof. Dr. Ertuğrul TATLISUMAK Anatomi AD	☐	☐	Dr. Öğr. Üyesi Fulya OCAK BÜYÜKAKINCI - Veteriner Hekim	☐	☐
Prof. Dr. Kıvanç GÜNHAN (DEHAM MD)	☐	☒	Saim ÖZKARA Sivil Toplum Üyesi	☐	☐
Levent ÖZEMİŞ Sivil Üye	☐	☐			
Etik Kurulumuzun kararı yukarıda belirtilmiştir. Araştırma Başvuru Formunun Taahhütname kısmında belirtilmiş olan hususların dikkate alınarak istenilen bilgilerin Etik Kurulumuza zamanında iletilmesi konusunda bilgilerinizi ve gereğini rica ederim. Ercüment ÖLMEZ Başkan					

EK-3 DENEY HAYVANLARI KULLANIM SERTİFİKASI

