

KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TUJ KOYUNLARINDA DÖL VERİMİ VE
ANTIOKSİDATİF SAVUNMA SİSTEMİ ÜZERİNE
A VİTAMİNİ VE β -KAROTEN ENJEKSİYONLARININ
ETKİLERİ

Arş. Gör. Nadide Nabil KAMILOĞLU

Fizyoloji Anabilim Dalı

123965

123965

DOKTORA TEZİ

Danışman

Yrd.Doç.Dr. Ebru BEYTUT

TC. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

Bu araştırma KAÜ Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir. Proje No: VF-017

2002- KARS


KAFKAS ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

.....Flizyoloji AD..... Doktora/ Yüksek Lisans programı çerçevesinde Arş. Gör. Nadide Nabil Kamiloğlu tarafından hazırlanmış olan "Tuz Koyunlarında Döl Verimi ve Antioksidatif Savunma Sistemi Üzerine A Vitamini ve β -Karoten Enjeksiyonlarının Etkileri" adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sınavı sonucunda jüri tarafından lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği uyarınca oybirliği..... ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi 17/01/2003

Adı-Soyadı	İmza
Başkan : Doç. Dr. Çiğdem Altınsaat	
Üye : Yrd. Doç. Dr. Ebru Beytut (Danışman)	
Üye : Yrd. Doç. Dr. Ayla Özcan	
Üye : Yrd. Doç. Dr. Sedat Yıldız	
Üye : Yrd. Doç. Dr. Metehan Uzun	

Bu tezin kabulü, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 28.1 02.1 ..03. gün ve3/10.....sayılı kararıyla onaylanmıştır.


Yrd. Doç. Dr. Ayla Özcan
Enstitü Müdürü

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
Simgeler ve Kısaltmalar	V
Grafik Dizini	VII
Tablolar Dizini	VIII
Şekiller Dizini	IX
Önsöz	X
1. GİRİŞ ve GENEL BİLGİLER	1
1.1. A vitamini	1
1.1.2. A Vitamini ve β - Karoten Kaynakları	3
1.1.3. A Vitamini'nin Emilimi ve Taşınması	4
1.1.4. Depolanması ve Atılımı	6
1.1.5. A Vitamini'nin Fizyolojik Fonksiyonları	10
1.1.5.1. Görme Pigmentinin Oluşumundaki Fonksiyonları	10
1.1.5.2. Metabolik Fonksiyonları	10
1.2. β - Karoten	13
1.2.1. β - Karoten'in Emilimi ,Taşınması ve Atılımı	13
1.2.2. β -Karoten'in Fizyolojik Fonksiyonları	15
1.2.3. β -Karoten ve A Vitamini'nin Kandaki Düzeylerine Etki Eden Faktörler	19
1.3. β -Karoten ve A Vitamini'nin Döl Verimi Üzerine Etkisi	20
1.4. Koyunlarda Seksüel Siklus	23
1.4.1. Foliküler Faz	24
1.4.1.1. Proöstrus	24
1.4.1.2. Östrus	24
1.4.2. Luteal Faz	25
1.4.2.1. Metöstrus (Postöstrus)	25
1.4.2.2. Diöstrus	25
1.4.2.3. Anöstrus	25
1.4.3. Koyunlarda Seksüel Siklus Sırasında Meydana Gelen Özel Olaylar	26

1.4.4.	Gebelik Endokrinolojisi ve Progesteron	27
1.5.	Glutasyon (GSH)	29
1.5.	Glutasyon'un Fizyolojik Fonksiyonları	31
1.6.	Lipid Peroksidasyonu	35
1.6.1.	Lipid Peroksidasyonu'nun Mekanizması	37
1.6.1.1.	Başlama	37
1.6.1.2.	Yayılma	37
1.6.1.3.	Sonlanma	38
1.6.2.	Biyolojik Sistemlerde Lipid Peroksidasyonu'nun Sonuçları	38
2.	MATERYAL VE METOT	42
2.1.	MATERYAL	42
2.1.1.	Hayvan Materyali	42
2.1.2.	Yem Materyali	42
2.1.3.	Çalışmada Kullanılan Aletler	43
2.1.4.	Çalışmada Kullanılan Sarf Malzemeleri	44
2.1.5.	Çalışmada Kullanılan Çözeltiler	45
2.1.5.1.	GSH Ölçümünde Kullanılan Çözeltiler	45
2.1.5.1.1.	0.1 M Potasyum Fosfat Tamponu / 0.15 M KCl çözeltisi	45
2.1.5.1.2.	5 µM DTNB Çözeltisi (Ditiobisnitrobenzen)	45
2.1.5.1.3.	GSH Standartları	45
2.1.5.1.4.	5 µM EDTA Çözeltisi	45
2.1.5.1.5.	% 5' lik TCA Çözeltisi (Trikloraasetik asit)	45
2.1.5.2.	MDA Ölçümünde Kullanılan Çözeltiler	45
2.1.5.2.1.	Fosfat Tamponu ile Tamponlanmış Serum Fizyolojik	45
2.1.5.2.2.	BHT Çözeltisi	46
2.1.5.2.3.	TCA Çözeltisi	46
2.1.5.2.4.	EDTA Çözeltisi	46
2.1.5.2.5.	TBA Çözeltisi	46
2.1.5.2.6.	NaOH Çözeltisi	46
2.1.5.3.	Progesteron Ölçümünde Kullanılan Çözeltiler	46
2.1.5.3.1.	Progesteron Standartları (Liyofilize)	46
2.1.5.3.2.	Progesteron [I-125] Reagent (Sarı)	47

2.1.5.3.3.	Anti-Progesteron Kaplı Tüpler	47
2.1.5.3.1.	Progesteron Kontroller (Liyofilize)	47
2.2.	METOT	47
2.2.1.	Uygulanan Genel Metot	47
2.2.2.	Kan Örneklerinin Alınması	48
2.2.3.	A Vitamini ve β -Karoten Düzeylerinin Saptanması	49
2.2.3.1.	Prensip	49
2.2.3.2.	Metot	49
2.2.4.	Progesteron Düzeyinin RIA ile Belirlenmesi	49
2.2.4.1.	Prensip	49
2.2.4.2.	Metot	50
2.2.5.	Plazmada MDA Tayini	50
2.2.5.1.	Prensip	50
2.2.5.2.	Metot	51
2.2.6.	Eritrositte GSH Tayini	51
2.2.6.1.	Prensip	51
2.2.6.2.	Metot	52
2.2.7.	İstatistik Hesaplamalar	52
3.	BULGULAR	53
3.1.	Gebe Koyunlarda Plazma A Vitamini Düzeylerinin Belirlenen Zaman Birimlerinde Gruplara Göre Değişimi	53
3.2.	Gebe Koyunlarda Plazma β -Karoten Düzeylerinin Belirlenen Zaman Birimlerinde Gruplara Göre Değişimi	53
3.3.	Kuzularda Plazma A Vitamini ve β -Karoten Düzeylerinin Belirlenen Zaman Birimlerinde Gruplara Göre Değişimi	54
3.4.	Kuzuların Canlı Ağırlıklıklarının Belirlenen Zaman Birimlerinde Gruplara Göre ve Grup İçi Değişimi	54
3.5.	A Vitamini ve β -Karoten Enjeksiyonlarının Yavru Verimi ve İlk Tohumlamada Gebe Kalma Oranı Üzerine Etkisi	55

3.6.	Gebe Koyunlarda Eritrosit GSH Düzeylerinin Belirlenen Zaman Birimlerinde Gruplara Göre Değişimi	55
3.7.	Gebe Koyunlarda Plazma MDA Düzeylerinin Belirlenen Zaman Birimlerinde Gruplara Göre Değişimi	56
3.8.	Koyunlarda Belirlenen Zaman Birimlerinde Plazma Progesteron Düzeylerinin Guruplara Göre Değişimi	57
4.	TARTIŞMA ve SONUÇ	74
5.	ÖZET	82
6.	SUMMARY	84
7.	KAYNAKLAR	86
8.	ÖZGEÇMİŞ	96



SİMGELER ve KISALTMALAR

A₂ vitamini	: 3-Dehidroretinol
ATP	: Adenozin Trifosfat
BHT	: Bütil Hidroksitoluen
c.a.	: Canlı Ağırlık
³CAR*	: Karotenoitlerin Üçüncü Hali
C-P450	: Sitokrom P450 Enzimi
CRBP	: Hücresel Retinol Bağlayıcı Protein
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
DTNB	: Ditiyobis Nitrobenzoik Asit
EDTA	: Etilendiamin Tetraasetik Asit
FSH	: Folikül Stümüle Edici Hormon
GGTP	: γ -Glutamil Transpeptidaz
GnRH	: Gonadotropin Salgılatıcı Hormon
GSH	: Glutasyon
GSSG Redüktaz	: Gulutatyondisülfid reduktaz
HDL	: Yüksek Dansiteli Lipoproteinler
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
I.U.	: International Unit
Isotretinoin	: 13-Cis Retinoik Asit
KCl	: Potasyum Klorür
K₂HPO₄	: Dipotasyumhidrojenfosfat
KH₂PO₄	: Potasyumdihidrojenfosfat
L·	: Karbon Merkezli Radikal
LDL	:Düşük Dansiteli Lipoproteinler
LH	: Luteinleştirici Hormon
LOO·	: Peroksi Radikali
LOOH	: Lipid Hidroperhidroksitler
μM	: Mikromolar

MDA	: Malondialdehit
MPA	: Medroksiprogesteron Asetat
NaOH	: Sodyum Hidroksit
³O₂	: Moleküler Oksijen
¹O₂*	: Singlet Oksijen
O₂⁻	: Süperoksit Anyonu
OH·	: Hidroksil Radikali
PGF_{2α}	: Prostaglandin F _{2α}
PMSG	: Gebe Kısırak Serum Gonadotropini
RBP	: Retinol Bağlayıcı Protein
R.E.	: Retinol Eşdeğeri
Retinal NADPHaz	: Retinal Nikotinamid Adenin Dinokleotid Fosfataz
Retinol	: A ₁ vitamini
T₄	: Tiroksin
TBA	: Tiyobarbitürik asit
TCA	: Trikloroasetik asit
Tretionin	: All-Trans Retinoik Asit
U.S.P.	: United States Pharmakopeia Units
UYR	: Uyarıcı
VLDL	: Çok Düşük Dansiteli Lipoproteinler

GRAFİK DİZİNİ

	Sayfa	
Grafik 3.1.1	Koyunların Gebelik Öncesi, Gebelik ve Doğum Sonrası Plazma A Vitamini Düzeyleri.	59
Grafik 3.2.1	Koyunların Gebelik Öncesi, Gebelik ve Doğum Sonrası Plazma β -Karoten Düzeyleri.	61
Grafik 3.3.1	15 Günlük Kuzuların Plazma A Vitamini ve β -Karoten Düzeyleri.	65
Grafik 3.4.1	Kuzuların Doğum Sonrası, 1 Haftalık ve 2 Haftalık Canlı Ağırlık Değişimleri.	66
Grafik 3.6.1.	Koyunların Gebelik Öncesi, Gebelik ve Doğum Sonrası Eritrosit GSH Düzeyleri.	69
Grafik 3.7.1.	Koyunların Gebelik Öncesi, Gebelik ve Doğum Sonrası Plazma MDA Düzeyleri.	71
Grafik 3.8.1.	Koyunların Gebelik Öncesi, Gebelik ve Doğum Sonrası Plazma Progesteron Düzeyleri	73

TABLOLAR DİZİNİ

	Sayfa	
Tablo 2.1.2.1	Deneme Hayvanlarına Verilen Rasyonun % Bileşimi.	43
Tablo 3.1.1	A Vitamini ve β -Karoten Enjeksiyonları Yapılan Tuj Koyunlarında Gebelik Öncesi, Gebelik ve Doğum Sonrası Plazma A Vitamini Düzeyleri ($\mu\text{gr}/\text{dl}$).	58
Tablo 3.2.1	A Vitamini ve β -Karoten Enjeksiyonları Yapılan Tuj Koyunlarında Gebelik Öncesi, Gebelik ve Doğum Sonrası Plazma β -Karoten Düzeyleri ($\mu\text{gr}/\text{dl}$).	60
Tablo 3.3.1	15 Günlük Kuzuların Plazma A Vitamini ve β -Karoten Düzeyleri ($\mu\text{gr}/\text{dl}$).	62
Tablo 3.4.1	Kuzuların Canlı Ağırlıklarının (c.a.) Belirlenen Zaman Birimlerinde Guruplara Göre Kıyaslanması.	63
Tablo 3.4.2	Kuzuların Canlı Ağırlıklarının (c.a.) Grup İçinde Belirlenen Zaman Birimlerine Göre Kıyaslanması.	64
Tablo 3.5.1	A Vitamini ve β -Karoten Enjeksiyonlarının Yavru Verimi Üzerine Etkisi.	67
Tablo 3.5.2	A Vitamini ve β -Karoten Enjeksiyonlarının İlk Tohumlamada Gebe Kalma Oranı Üzerine Etkisi	67
Tablo 3.6.1	A Vitamini ve β -Karoten Enjeksiyonları Yapılan Tuj Koyunlarında Gebelik Öncesi, Gebelik ve Doğum Sonrası Eritrosit GSH Düzeyleri ($\mu\text{mol}/\text{ml}$ RBC).	68
Tablo 3.7.1	A Vitamini ve β -Karoten Enjeksiyonları Yapılan Tuj Koyunlarında Gebelik Öncesi, Gebelik ve Doğum Sonrası Plazma MDA Düzeyleri (nmol/ml).	70
Tablo 3.8.1	A Vitamini ve β -Karoten Enjeksiyonları Yapılan Tuj Koyunlarında Gebelik Öncesi, Gebelik ve Doğum Sonrası Plazma Progesteron Düzeyleri (ng/ml).	72

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa	
Şekil 1.1.1	Retinol, retinal, retinoik asit ve dihidroretinol'ün biyokimyasal yapısı.	2
Şekil 1.1.3.1	A vitamini ve türevlerinin emilim, taşınım ve depolanması.	8
Şekil 1.1.4.1	Retinoidlerin taşınma mekanizmaları ve hedef hücredeki etkileri (RBP: retinol bağlayıcı protein).	9
Şekil 1.1.5.1	Retinoidlerin etkilerinin özeti.	12
Şekil 1.2.1	β -Karoten'in biyokimyasal yapısı.	13
Şekil 1.2.2.1	Karotenoitlerin oksijen miktarına bağlı olarak antioksidan-prooksidan etkinliği.	17
Şekil 1.2..2.2	β -Karoten'in retinale dönüşümü.	19
Şekil 1.5.1	Glutasyon (GSH) molekülü.	29
Şekil 1.5.1.1	Glutasyon (GSH) metabolizması. AA: Amino asitler, 1: γ -glutamil sistein sentetaz, 2: GSH sentetaz, 3 ve 3a: γ -glutamil transpeptidaz, 4: γ -glutamil siklotransferaz, 5: 5-Oksoprolinaz, 6 ve 6a: Dipeptidazlar, 7: GSH S-Trasferaz, 8: N-Asetilaz, 9: GSH Peroksidaz, 10: Transhidrojenazlar, 11: Glutatyondisülfid redüktaz (GSSG redüktaz), , 12: O ₂ tarafından GSH'nın oksidasyonu; GSH'nın GSSG'ye dönüşümünde de serbest radikaller aracılık yapar.	32
Şekil 1.6.1.1	Biyomembranlarda serbest radikallerin uyardığı lipid peroksidasyonu	41

ÖNSÖZ

Canlı organizmadaki bütün organ, sistem ve hücreler mükemmel bir işbirliği, uyum ve denge içinde işlev görerek bir iç denge oluştururlar. Bütün bu yapılar tarafından değişmez tutulmaya çalışılan bu iç dengeye homeostasis denir. Yaşamın sürekliliği için hücresel bazda homeostasis gereksinim vardır. Homeostasis çok hassas biyolojik dengelerle sağlanır. Bu mekanizmalar arasında vitamin ve mineraller özellikle metabolik fonksiyonların fizyolojik sınırlar içerisinde seyretmesinde önemli bir yer tutar. Vitaminler, hayvansal organizmaların fizyolojik fonksiyonlarını sürdürebilmesi için çok az miktarları bile gerekli olan, çoğu organizmada sentezlenemeyen ve dışarıdan besinlerle alınması zorunlu olan biyo-katalizör maddeler olup, hastalıklara karşı vücut direncinin artırılması ve metabolizmada üstlendikleri görevler bakımından büyük öneme sahiptirler.

Vitaminlerin yetersiz veya gereğinden fazla alınmaları, hayvanlarda metabolizma hastalıklarının ortaya çıkması ve hastalıklara karşı direncin azalmasında etkili olan en önemli nedenlerden biridir. Bu durum, özellikle gebe koyunlarda ve süt ineklerinde verim düşüklüğüne neden olmakla birlikte, aynı zamanda bedensel bütünlüklerini ve dengelerini tehlike altına sokan birer stres kaynağıdır. Organizma için stres kaynağı olan gebelik, doğum ve laktasyon gibi durumların plazmada serbest radikal oluşumunda artışa ve antioksidan düzeyinde azalmaya neden olduğu bir çok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (5, 66, 124).

Hücresel dengenin sürekli değişmesine neden olan stresörlerden kaynaklanan serbest radikal artışı, en çok membrandaki doymamış yağ asitlerinde lipit peroksidasyonuna yol açmakta bu da hücre zarının permeabilite ve elektrik yük dengesine etki ederek hücreyi risk altına sokmaktadır. Bu yolla serbest radikaller, başta membran fosfolipitleri olmak üzere, hücresel komponentlerin tümüne zarar verebilmektedirler (1, 6, 65, 70). Bununla birlikte serbest radikallerin neden olduğu bu zararlı etkilere karşı korunmada, hücrenin kendi geliştirdiği serbest radikal zincir reaksiyonlarını

inhibe eden ve antioksidanlar denilen bileşikler rol almaktadır (29, 54, 70). Bu bileşikler radikallerle hızla reaksiyona girerek oksidasyonun ilerlemesini önlerler. Bu olayların tümü, antioksidan toplayıcı enzimlerin ve antioksidan diğer faktörlerin harekete geçirilmesi ile özel savunma komponentlerinin fonksiyonel entegrasyonunu içermektedir. Bu komponentler, hücrel karışıklıkları azaltıp, stresörlerin etkilerini yok ederek hücrenin en uygun koşullarda kalması için uğraşırlar (38, 54, 59).

Bir antioksidan olan β -karoten ve A vitamini'nin besinlerle veya ilave olarak yeterli düzeyde alınması organizmada bazı hücrel fonksiyonların sürdürülebilmesi için gereklidir. İnsanlar ve hayvanlar için esas olarak kabul edilen bitkisel orjinli A vitamini, retinoidler olarak bilinen yağda eriyen bir grup bileşiğin adıdır. β -karoten ise A vitamini'nin ön maddesi olup, karotenoitler olarak tanımlanan bileşiklerden biridir. Karotenoitler, hayvanların intestinal duvarında bulunan özel enzimlerle A vitamini'ne dönüştürülür. Hayvanların bu vitamini yeterli düzeyde alabilmesi için β -karoten yönünden zengin bitkilerle beslenmesi gerekir.

Karotenoitlerin bilinen en önemli fonksiyonlarından biri, antioksidan olması nedeniyle doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu önlemesidir (18, 21). Bir karotenoit olan β -karoten'in ise, süperoksit radikalini temizlediği ve hidroksil radikallerini, singlet oksijeni, lipid peroksit radikallerini ve diğer radikal örneklerini indirgediği bilinmektedir (18, 21, 39, 80, 114). Retinoidlerin de karotenoitler gibi antioksidan etki gösterdiği ve all-trans retinolün etkili bir radikal toplayıcısı olduğu bildirilmiştir (58). Bazı araştırmacılar (5, 25, 124) özellikle üreme fizyolojisi üzerinde önemli bir etkiye sahip olan β -karoten'in progesteron sekresyonu üzerindeki arttırıcı etkisinin antioksidan özelliğinden kaynaklanabileceğini ileri sürmüşlerdir. Diğer taraftan, gebeliğin oluşumu ve devamı için gerekli olan ve bir antioksidan olan retinolün ovaryumdaki düzeyinin foliküler gelişim esnasında arttığı ve lipoproteinleri uyarmak suretiyle progesteron sentezini arttırdığı bildirilmiştir (6, 99). Bununla birlikte bunların yetersizliği durumunda ergin hayvanlarda mastitis, metritis, retensiyo sekundaryum gibi postpartum dönem bozuklukları (31, 61), fertilitede aksamalar (52, 62) ile birlikte yavruların büyüme ve gelişmelerinde gerileme ve enfeksiyonlara karşı dirençlerinin azaldığı ifade edilmiştir (69, 71, 91) .

Merada yeşil yemin bol olduğu dönemlerde bu vitaminlerin eksiklikleri pek sorun oluşturmamakla birlikte; hayvanların beslenmesinde, üreme dönemleri, yaş, verim, mevsimsel değişiklikler, rasyonun bileşimi gibi faktörler göz önünde bulundurulmalıdır. Meraların Kars ili ve yöresinde önemli bir potansiyele sahip olması, koyun yetiştiriciliğinin büyük çapta meraya dayalı olarak yapılmasına neden olmaktadır. Bölgede vejetasyon dönemi kısa sürdüğü için yılın geri kalan kısmı kurak ve soğuk geçmektedir. Hayvanlar A vitamini ve β -karoten ihtiyaçlarını büyük kayıplara uğramış bu otlak ve meralardan ya da bilinçsiz olarak kurutulmuş kaba yemlerden karşılamaktadır. Bu nedenle çok kısa süren yeşil yemden yararlanma döneminde hayvanlar vitamin depolamasını yeterli düzeyde yapamamakta ve bir sonraki yeşillik dönemine kadar bu depolarla idare etmek zorunda kalmaktadırlar. A vitamini koyunların karaciğerinde uzun süre depolanabilse de gebelik, laktasyon, hastalık ve yetersiz beslenme gibi hayvanlarda stres oluşturan ve vücudu ağır yük altına sokan durumlarda bu depolar yetersiz kalmaktadır. Bu da, hayvanlarda verim kayıplarının oluşmasına ve bazı metabolik hastalıkların ortaya çıkmasına neden olmaktadır.

Hayvancılıkta önemli bir yer tutan koyun yetiştiriciliğinde verimliliği arttırmak için yapılması gereken iyileştirme ve geliştirme çalışmalarında yavru veriminin önemi her geçen gün artmaktadır. Bu amaçla, her batında koyun başına düşen yavru sayısını arttırmak ve koyunların verim performansını yükseltmek planlanmaktadır. Birçok araştırmacı (2, 31, 61, 62) gebelik ve laktasyon döneminde reproduktif performansı arttırmak için vitaminlerin ilave olarak verilmesinin gerekliliğini bildirmişlerdir. Özellikle, üreme fizyolojisi üzerinde önemli etkilere sahip olan A vitamini ve β -karoten ilavesinin, her batında doğan yavru sayısını, yavruların doğumdan sonraki yaşam sürelerini, hastalıklara karşı dirençlerini ve canlı ağırlıklarını arttırdığı, doğumdan sonraki ölüm oranlarını ise azalttığı ifade edilmektedir (19, 40, 64, 85).

Bu bilgilerin ışığında, organizmada gebelik, doğum ve laktasyon gibi durumların serbest radikal oluşumunu arttırabileceği, A vitamini ve β -karoten'in ise artan serbest

radikal oluşumunu baskılayarak fertilitiyi ve döl verimini olumlu yönde etkileyebileceği anlaşılmıştır.

Bölgenin coğrafik şartları ve üreme döneminde hayvanların A vitamini ve β -karoten'e olan ihtiyaçları göz önünde bulundurulduğunda, planlanan bu çalışmada ;

1. Çiftleşme ve gebelik döneminin oksidan ve antioksidan sistemini malondialdehit (MDA) ve glutatyon (GSH) düzeylerini belirlemek suretiyle nasıl etkilediğini,
2. Gebeliğe bağlı olarak oluşan serbest radikallerden ileri gelebilecek olumsuz etkilerin A vitamini ve β -karoten ile önlenbilmesinin mümkün olup olamayacağını,
3. Yine bu dönemde, A vitamini ve β -karoten enjeksiyonunun bu sistem ve döl verimini ne düzeyde etkilediğini, ayrıca gebeliğin ilerlemesine bağlı olarak bunların kandaki düzeylerinin nasıl değiştiğini araştırmak,
4. Çiftleşme dönemi ve gebelik esnasında A vitamini ve β -karoten ilavesinin, koyunlarda gebe kalma oranı, doğan yavru sayısı, yavruların doğum ağırlığı, yavruların doğumdan sonra hayatta kalma oranını incelemek amaçlanmıştır.

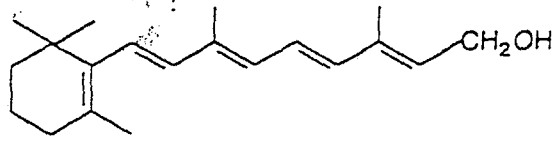
Tez çalışmamın her aşamasında hiç bir zaman yardımlarını esirgemeyen, bilimsel katkı ve önerileri ile bana yol gösteren, çalışmamı yürütme ve sonuçlandırma konusunda olumlu eleştirileri ile beni yönlendiren danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Ebru BEYTUT'a; çalışmalarım boyunca yardımları dokunan Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üye ve elemanlarına, çalışmama maddi destek sağlayan Kafkas Üniversitesi Araştırma Fonu Başkanlığı'na ve çalışmalarım esnasında sınırsız desteğini ve yardımlarını esirgemeyen, hoşgörüsüyle beni cesaretlendiren eşim Yrd. Doç. Dr. Alkan Kamiloğlu'na içtenlikle teşekkür ederim.

1. GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER

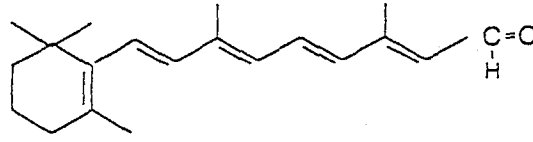
1.1. A Vitamini

Esansiyel besinler arasında yer alan vitaminlerin en önemlilerinden biri A vitamini'dir. A vitamini ile ilgili ilk çalışmalar 1910'lu yıllarda McCollum ve ark. tarafından başlatılmıştır (72). Son yıllarda bir çok araştırmada (14, 36, 37, 49) A vitamini'ne organizmadaki önemli fonksiyonlarından dolayı büyüme ve gelişme vitamini, antiokserofoalmik vitamin, antiinfeksiyöz vitamin, epitel koruyucu vitamin, retinol gibi değişik adlar verilmiştir.

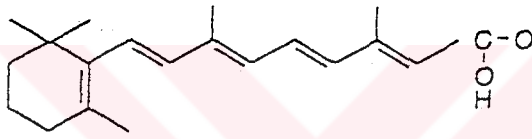
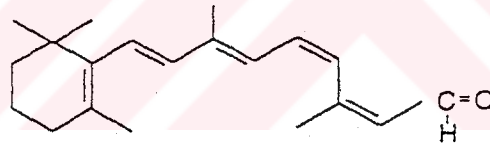
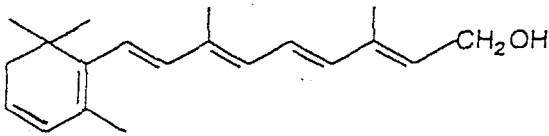
A vitamini organizmada retinol, retinal ve retinoik asit şeklinde bulunur (Şekil 1.1.1). Bunlardan retinoik asit diğer formlara dönüşmez. A vitamini'nin iki vitamerinden biri olan A₁ vitamini (retinol) 4 izopren molekülünden kurulu, 2865 mol ağırlığında, 6 karbonlu bir halka ile 11 karbonlu yan zincirden oluşmuş bir polienalkoldür. Retinoidler, yağlarda ve yağ çözücülerde çözünürler ve oksidatif koşullar dışında yüksek ısı derecelerine dayanıklıdır. Ultraviyole ışını tarafından parçalanırlar ve kloroformdaki çözeltileri 328 nm de karakteristik bir absorpsiyon verir. Saf halde açık sarı kristaller halindedir. Yapılarında β -iyonen halkası içeren karotenler hayvansal organizmada A vitamini'ne çevrilebilirler ve bunlar provitamin A olarak tanımlanırlar. Karotenoitlerde bulunan çift bağlar atmosferik hava oksijeni tarafından oksitlenir ve böylece A vitamini aktivitesini kaybeder (1, 24, 49, 72). Aynı zamanda, tatlı su balıklarından izole edilen formuna A₁ vitamini'nden ayırt etmek için A₂ (3-dehidroretinol) adı verilmiştir (Şekil 1.1.1). A₂ vitamini iyonlen halkasındaki 3-4. karbonlar arasında ikinci bir çift bağ içermesiyle A₁ vitamininden ayırt edilir. Deniz balıklarının karaciğerindeki toplam A vitamini'nin %10'undan azı A₂ vitamini formundadır. Ayrıca, A₂ vitamini'nin biyolojik aktivitesi A₁ vitamini'nden daha azdır (72, 115).



Retinol



Retinal

Retinoik asit
(all trans)11-cis-retinal
(all trans retinalin
fotomerizasyonuyla oluşur)Dihidroretinol
(A₂ Vitamini)

Şekil 1.1.1. Retinol, retinal, retinoik asit ve dihidroretinol'ün biyokimyasal yapısı
(72).

A vitamini çift bağ içerdiğinden dolayı değişik izomer formlarında bulunur. All-trans retinol memeli dokularında en çok bulunan ve en aktif olan formudur ve cis formuna dönüşebilir. A vitamini cis formuna dönüştüğünde aktivitesinde belirgin şekilde düşüş görülür. Nem, ısı, sıcaklık ve katalizörler molekülün yapısında değişiklik oluşturur. Bu nedenle, saman ve silaj yapımı sırasında oluşan dehidrasyondan dolayı bu vitaminin miktarında azalma meydana gelir (72, 82).

A vitamini düzeyi genellikle I.U. (international units) olarak, fakat az sıklıkla da olsa aynı değeri karşılayan U.S.P. (united states pharmacopeia units) olarak da ifade edilmektedir. Buna göre bir I.U. 0.300 µg retinol, 0.550 µg retinol palmitat ve 0.6 µg β-karoten'in biyolojik aktivitesine eşittir. A vitamini miktarı belirtilirken I.U. yerine bazen retinol eşdeğeri (RE) ifadesi de kullanılabilir. Bu tanımlamaya göre 1 RE, 1 µg retinol, 6 µg β-karoten veya 12 µg diğer karotenoitlere eşdeğerdir. Aynı zamanda 1 RE 3.33 I.U. retinol veya 10 I.U. β-karoten'e eşdeğerdir (24, 72, 115).

1.1.2. A Vitamini ve β-Karoten Kaynakları

A vitamini hayvansal organizmaya bitkisel kaynaklı besin maddelerinden provitamin A şeklinde alınır ve organizmada A vitamini'ne dönüştürülür. Genellikle, karaciğer, böbrek, krema, yağ, yumurta sarısı ve kolostrum A vitamini yönünden zengin kaynaklardır. Sarı ve koyu yeşil sebzeler ve meyveler A vitamini öncülü olan karotenler bakımından zengindir. Retinol hayvansal dokulardan özellikle karaciğerde retinil esterleri şeklinde depo edildiği için, çeşitli hayvanlarda, özellikle balıklarda karaciğer bu vitamin bakımından zengindir. A₁ vitamini tuzlu su balıklarının, A₂ vitamini ise tatlı su balıklarının karaciğerinde bulunur. Balık yağı ve balık unu da önemli A vitamini kaynaklarıdır. Aynı zamanda, yeni doğmuş yavruların A vitamini ihtiyacının karşılanmasında kolostrum büyük öneme sahiptir (20, 72, 82).

Retinol hayvansal ürünlerde, provitaminleri olan karotenoitler ise bitkisel ürünlerde yaygın olarak bulunur. Bitkilerin karoten miktarının %90'ını β-karoten oluşturur. Vejetasyonun ilerlemesiyle birlikte bitkilerde gövde kısmı fazlaştığından karoten

miktarı da düşer. Bununla birlikte bitkinin türü, hava şartları, hasat zamanı, depolama şekli ve süresi β -karoten miktarlarını etkileyen faktörlerdir (47, 113, 123).

Yonca, tırfıl ve körpe çayır otları yüksek miktarda karoten kapsar. Hububat tanelerinden yalnız sarı mısırdaki A vitamini etkisine sahip kriptoksantin bulunmasıyla birlikte, havuç ve yemlik pancar dışındaki çapa bitkilerinde karoten bulunmaz. Baklagillerin β -karoten konsantrasyonu çayır otundan daha yüksektir (47, 72, 82).

Silaj yapılan yeşil bitkilerde karoten kaybı % 1 kadardır. Ancak, bitkiler silaj yapılmadan önce güneşte uzun süre bekletilir ya da silo açıldıktan sonra yem yavaş yavaş tüketilirse karoten kaybı artar ve kuru ottakine eşit olur. Kuru ot ve silaj gibi konserve yemlerin depolanması esnasında da karoten kaybı görülür. Depolamada meydana gelen kayıp yemin kapsadığı karoten miktarı ile orantılıdır (75, 82).

Hayvanlara verilen yemlerin gövde, kök ve yumruları da karoten bakımından fakir olduğundan, hayvanlar yaz aylarındaki karoten ihtiyaçlarını yalnızca yeşil bitkilerden sağlamaktadırlar (47, 75, 82, 123).

1.1.3. A Vitamini'nin Emilimi ve Taşınması

Besinlerde A vitamini ya retinil palmitat ya da karotenoitler şeklinde bulunmaktadır. Hayvanlar A vitamini ihtiyaçlarını bitkisel besinlerden aldıkları karotenoitleri organizmalarında A vitamini'ne dönüştürmek suretiyle sağlarlar (72).

Pek çok faktör karoten ve A vitamini'nin emilebilirliğini etkiler. Hayvanların rasyonla birlikte aldıkları A vitamini miktarı ile bu vitaminin sindirimi arasında negatif bir ilişki vardır. Donoghue ve ark.(34) rasyonlarına farklı oranlarda retinol (0, 100, 12 000 $\mu\text{g}/\text{kg}$) ilave edilen kuzularda, retinolün emilimini sırayla % 91, % 58 ve % 14 olarak belirlemişlerdir. Bir başka çalışmada (122) ise; sütçü sığırların, depo yemlerdeki β -karoten miktarının yaklaşık %78'ini sindirebildiği belirtilmiştir. Aynı zamanda bitkinin türü, hasat zamanı, depolama şekli, içerdiği kuru madde miktarı ve mevsim (yaz aylarında kışa oranla daha fazla sindirilir) bitkinin karoten miktarının

sindirilebilirliğini etkileyen faktörlerdir. Ruminantların rumeninde A vitamini veya karoten yaklaşık % 40-70 oranında kayba uğradıktan sonra bağırsaklara geçer (116).

Rasyondaki doğal yağların cins ve miktarı da A vitamini ve karotenoitlerin emilimini etkileyen faktörlerdendir. Rasyonda fazla miktarda doymamış yağ asitlerinin bulunması halinde peroksit radikallerinin oluşması, A vitamini ve karotenoitlerin parçalanmasını kolaylaştırır. Bunu önlemek için E vitamini gibi antioksidan maddelerden yararlanır (26, 49, 72).

Bağırsak mukozasında β -karoten'in A vitamini'ne dönüşümünde rol oynayan enzimlerden biri olan β -karoten 15,15'-deoksijenaz β -karoten'in merkezindeki çift halkayı parçalayarak iki molekül retinaldehit oluşturur. Bundan sonra, retinaldehit pankreas tarafından salgılanan retinaldehit redüktaz enzimi ile redüksiyona uğrayarak retinole dönüşür (88, 94). Bu şekilde 1 mol β -karotenden 2 mol A vitamini oluşur. Hem bu enzimlerin aktivasyonu için hem de A vitamini'ni diyetteki emülsifiye yağlardan mikrovilluslara taşıyan lipit misellerinin şekillenmesi için safra tuzlarına ihtiyaç vardır (Şekil 1.1.3.1) (24, 72, 115).

A vitamini ve karotenoitler ince bağırsağın proksimal jejunum mukozasından emilirler. Bağırsak boşluğundaki lipit miselleri diyetdeki emülsifiye yağlardan A vitamini ve karoteni mukozal hücreye götürerek, mikroviller membranın lipit kısmına difuze olmalarını sağlarlar (100). Diyetle bulunan retinol esterleri ince bağırsak mukozasında hidrolize edilir ve retinol ile serbest yağ asitleri oluşur. Esterlerden ve β -karoten'lerin kırılması, indirgenmesi sonucu oluşan retinol, ince bağırsak mukozal hücreleri içinde uzun zincirli yağ asitleriyle tekrar esterleşerek retinil palmitata dönüşür ve bağırsak epitel hücrelerinden lenf dolaşımına geçer. Lenf dolaşımında düşük dansiteli lipoproteinler (LDL) ve şilomikronlarla birlikte taşınır. Retinol esterleri ise lenf dolaşımından kan dolaşımına ve daha sonra vücudun diğer bölgelerine taşınır. Şilomikronlardaki retinol esterleri karaciğer tarafından alınır ve depolanır (Şekil 1.1.3.1) (24, 100, 115).

Bazı A vitamini derivatları, özellikle retinoik asit, bağırsağa safra kanalıyla yeniden boşaltılır. A vitamini safrada retinol glukronid şeklinde bulunur. Bu glukronidlerin bir kısmı geri emilerek A vitamini derivatları için bir entero-hepatik sirkülasyon oluşturur ve bunların yeniden kullanımını sağlar (Şekil 1.1.3.1) (24, 72).

1.1.4. Depolanması ve Atılımı

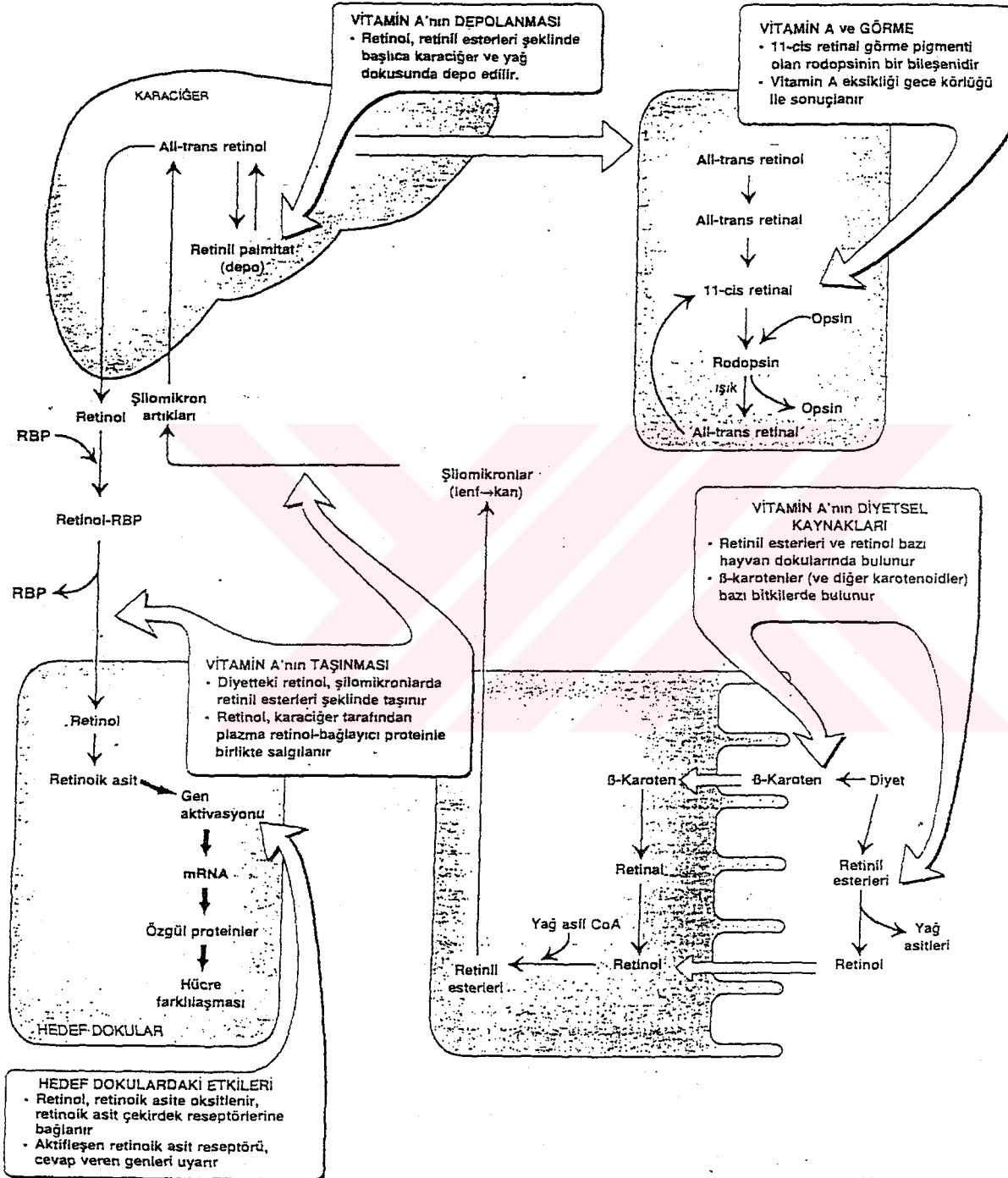
A vitamini karaciğerde retinil palmitat şeklinde depo edilir. Organizmanın A vitamini'ne ihtiyacı olduğu zaman karaciğer depolarındaki A vitamini retinol şeklinde karaciğer stoklarından mobilize edilir ve yine karaciğer parankimal hücrelerinde sentezlenen spesifik bir protein olan retinol bağlayıcı proteine (RBP) bağlı olarak plazmada taşınır (Şekil 1.1.3.1). RBP, molekül ağırlığı yaklaşık 20 000 olan tek polipeptid zincirinden oluşmuş bir proteindir ve her molekül retinolu sadece bir RBP taşır. Plazmada mevcut olan RBP'nin %90'ı tiroksin (T₄)-bağlayan prealbumin ile kompleks oluşturur. Retinol-RBP kompleksi çevre doku hücrelerinin yüzeyinde bulunan ve retinolün hücre içine girmesini sağlayan hücrel retinol bağlayıcı proteine (CRBP) bağlanır (Şekil 1.1.4.1). Kalp ve iskelet kasları dışındaki tüm organlar, serum ve fetal dokuların hepsi retinolu çekirdek bölgesine taşıyan CRBP içerir. Bu nedenle retinol bir bakıma steroid hormonlar gibi hareket eder (50, 55). Karaciğer tarafından A vitamini'nin mobilizasyonu, dolaşımdaki RBP'nin karaciğer rezervlerinin kontrolüne bağlıdır. Hayvanın besinlerle birlikte aldığı A vitamini miktarı ile RBP salgılanması arasında pozitif bir ilişki vardır (25, 72).

A vitamini organizmada retinoid formunda en fazla karaciğer, böbrek, akciğer, adrenler ve kanda depolanır. Depo edilmeyen A vitamini asit formuna dönüştüğünden glukronidlerle konjuge olduktan sonra dışkı ve idrarla atılır. Retinoik asitin bir çok metaboliti izole edilmiştir. Bunlar arasında 5-hidroksiretinoik asit, 5-6 epoksiretinoik asit, 4- ketoretinoik asit, retinoil- β -glukronid, retinil- β -glukronid olup bazıları plazmanın endojen bileşikleri olarak bilinmektedir. A vitamini ve karotenoitler safra asitleriyle suda çözünebilir kompleksler oluşturmak suretiyle misellerle emilirler. Safradaki A vitamini metabolitleri, çoğu biyolojik olarak inaktif olan okside ve konjuge formların kompleks bir karışımı olan retinoil- β -glukronid

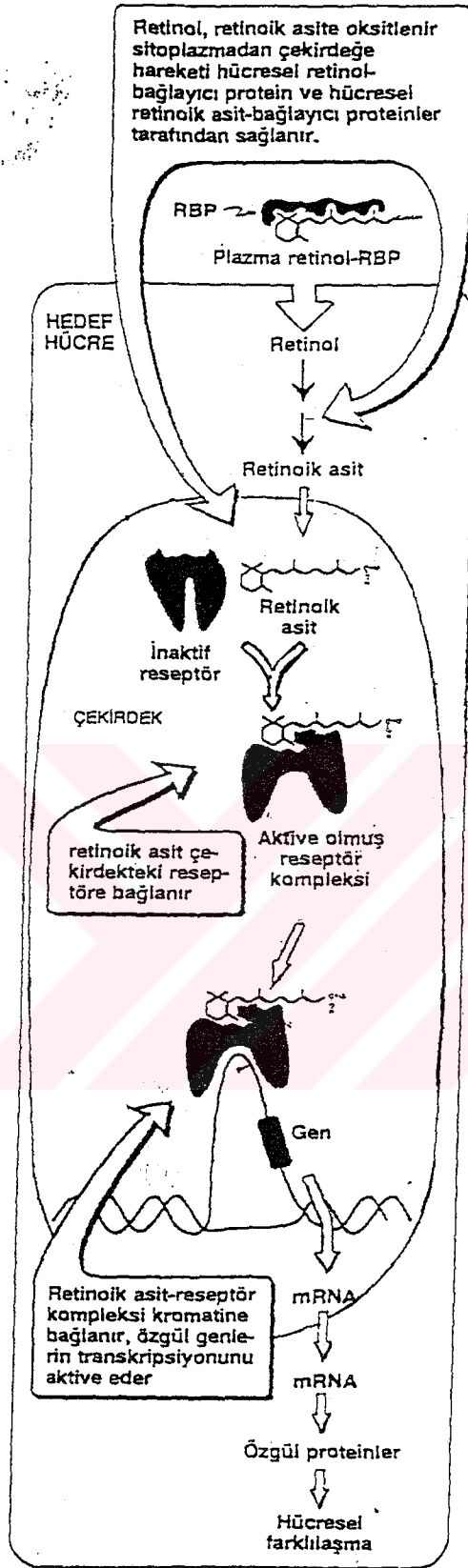
ve retinil- β -glukuroniddir (26, 72, 115). Her ikisinin safrada bulunan önemli metabolitlerden olduğu ve insan kanında endojen metabolitler olarak bulunduğu, bu iki metabolitin karaciğer hücrelerinin endoplazmik retikulumunda, ayrıca retinoil- β -glukronidin bağırsak hücrelerinde de oluştuğu bildirilmektedir (95, 97, 98).

Yüksek A vitamini alımları karaciğerde A vitamini glukronidlerinin oluşumunu da arttırır. Her iki glukronid suda çözünebilir ve sonuç olarak taşıyıcı proteinlere gereksinim duymadan dolaşımda serbestçe bulunabilir. Retinol, retinal ve retinoik asit farklı fonksiyonlara sahiptir. Tam A vitamini aktivitesine sahip olanlar retinol ve retinal, sınırlı aktiviteye sahip olan retinoik asittir (72).

Karaciğerdeki A vitamini depoları organizmayı uzun süreli eksiklikten koruyacak düzeydedir. Retinol asetat'ın karaciğerdeki yarı ömrünün en az 48 gün, en fazla 163 gün; ömrünün ise en az 69 gün, en fazla 243 gün olduğu belirtilmektedir (47, 57, 93, 98).



Şekil 1.1.3.1. A vitamini ve türevlerinin emilim, taşınım ve depolanması (24).



Şekil 1.1.4.1. Retinoidlerin taşınma mekanizmaları ve hedef hücredeki etkileri (RBP: retinol bağlayıcı protein) (24).

1.1.5. A Vitamini'nin Fizyolojik Fonksiyonları

A vitamini'nin metabolizmadaki fonksiyonlarını görme pigmentinin oluşumundaki fonksiyonları ve metabolik fonksiyonları olarak ikiye ayırmak mümkündür.

1.1.5.1. Görme Pigmentinin Oluşumundaki Fonksiyonları

A vitamini rod ve konlardan oluşan reseptör hücrelerindeki görme pigmentlerinin bir bileşenidir. Retinaldeki çomak hücrelerinin görme pigmenti olan rodopsin, opsin proteinine özel olarak bağlanmış olan 11-cis retinalden oluşur. Rodopsin ışığa maruz kaldığında görme pigmentinin renksizleşmesiyle sonuçlanan bir dizi fotokimyasal izomerizasyonlar olur ve all-trans retinal ile opsin salınır. Bu işlem bir sinir uyarısına sebep olur ve uyarı optik sinirle beyine taşınır. Rodopsinin rejenere olması all-trans retinalin tekrar 11-cis retinale izomerizasyonunu gerektirir. Rodopsinden salındıktan sonra trans retinal, 11-cis retinale izomerleştirilir. Bu da rodopsini oluşturmak üzere kendiliğinden opsinle birleşir, böylece döngü tamamlanır (Şekil 1.1.5.1.1). Benzer reaksiyonlar kon hücrelerinde renkli görmeden sorumludur. A vitamini eksikliğinde genellikle retinol veya retinil esterleri kullanılır. A vitamini eksikliğinin en erken belirtilerinden biri, gece körlüğüdür. Bu hastalıkta, görme eşiği loş ışıkta görmeyi zorlaştıracak şekilde yükselir. Eksiklik durumunun uzaması görme hücrelerinin sayısının geriye dönüşümsüz olarak azalmasına neden olur. Ciddi A vitamini eksikliği konjunktiva ve korneanın patolojik kuruluğu olan kseroftalmiye yol açar. Eğer tedavi edilmezse kseroftalmi kornea ülserleşmesi ve opak nedbe dokusunun oluşması ile körlükle sonuçlanır. Bu durum gelişmekte olan tropikal ülkelerdeki çocuklarda çok sık olarak görülür. Dünyada her yıl 500 000 den fazla sayıda çocuk diyetle yeterli A vitamini alamadıkları için kseroftalmi sonucu kör olmaktadır (24, 72, 121).

1.1.5.2. Metabolik Fonksiyonları

A vitamini büyüme üzerindeki etkisini büyüme hormonlarının sentezini artırarak gerçekleştirmektedir (Şekil 1.1.5.1.1). Aynı zamanda A vitamini dokuların

yenilenmesi ve korunmasında önemli rollere sahiptir (Şekil 1.1.5.1.1). A vitamininden yoksun bırakılan hayvanlarda muhtemelen tat tomurcuklarının keratinizasyonu nedeniyle ilk önce iştah kaybı gelişir. Kemik büyümesi yavaştır ve sinir sisteminin büyümesine ayak uyduramaz, bu durum merkezi sinir sisteminde hasara yol açar (69, 71, 91).

Retinol ve retinal normal üreme için temel maddelerdir. Erkeklerde spermatogenezi destekler ve kadınlarda fôtusun rezorpsiyonunu engeller. Retinoik asit görme ve üreme fonksiyonunda etkisizdir, ancak, büyüme ve epitel hücrelerinin farklılaşmasında etkindir. Bu nedenle doğumdan itibaren yalnızca retinoik asit şeklinde A vitamini verilen hayvanlarda körlük ve kısırılık gözlenir (72, 115).

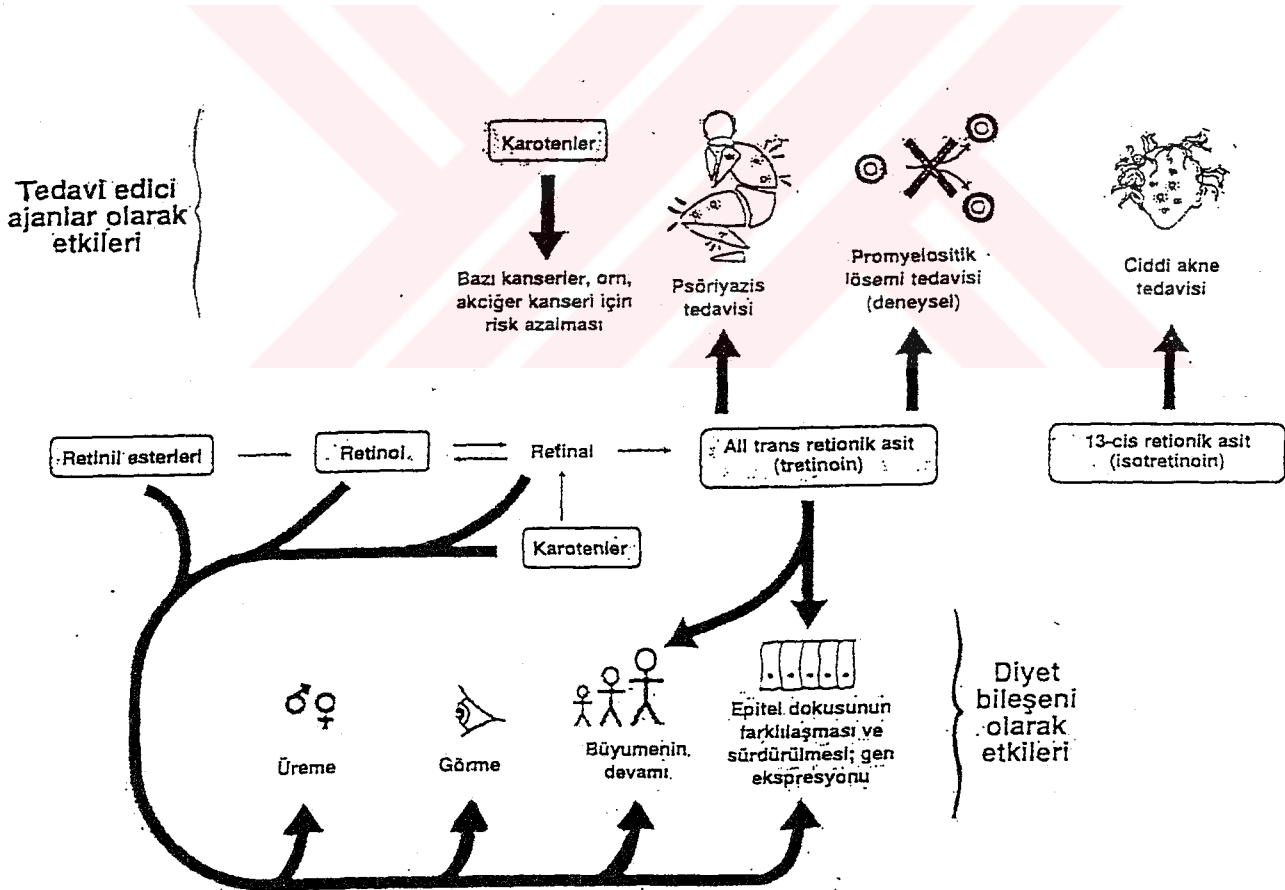
A vitamini epitel dokusunun normal farklılaşması ve mukus salgılanması için gereklidir. Akne ve psöriyazis gibi dermatolojik hastalıklar retinoik asit ve türevleri ile etkin şekilde tedavi edilir (Şekil 1.1.5.1.1). Orta dereceli akne ve cilt yaşlanması benzil peroksit ve antibiyotikler kadar topikal tretionin (all-trans retinoik asit) ile de tedavi edilir. Ciddi ve inatçı kistik akneli hastalarda geleneksel tedaviler başarısızdır, bu nedenle bu vakalarda ağızdan isotretinoin (13-cis retinoik asit) verilir.

A vitamini eksikliğinde bağışıklık sisteminin zayıflaması (lenfosit sayısında azalma ile birlikte, timus ve dalakta atrofi gibi) ile birlikte hastalıklara karşı direnç azalır ve spontan enfeksiyonların insidansı artar (Şekil 1.1.5.1.1). Bununla birlikte, A vitamini hayvanların paraziter hastalıklara karşı direncini artırır ve kolostrum ile birlikte alındığında yavrularda doğumdan sonra oluşan ishali önler. Aynı zamanda, bu vitamin hayvanların fetal dönemdeki embriyonik gelişimini artırıcı bir etkiye sahiptir (13, 69, 71, 91).

Son zamanlarda yapılan araştırmalarda (58, 98), retinoidlerin biyolojik sistemlerde bilinen etkilerinin yanısıra, antioksidan etki gösterdikleri ve all-trans retinolün etkili bir thiyol radikali toplayıcısı olduğu ifade edilmektedir. Ayrıca antioksidan özelliklerinden dolayı A vitamini'nin sentetik analoglarının (retinilmetileter, retinil

asetat, retinil palmitat), deri, akciğer, safra ve göğüs kanserini önlediği ve enfarktüs riskini azalttığı bildirilmiştir (57, 70, 58).

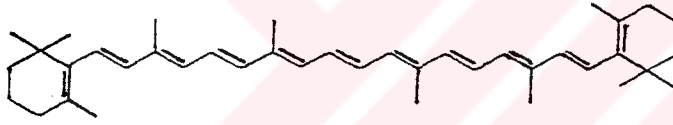
A vitamininin yüksek dozlarda (günde 7.5 mg'dan daha fazla miktarlarda) alınması hipervitaminoz A olarak adlandırılan toksik bir sendroma yol açar. Kronik hipervitaminoz A'nın erken belirtileri ciltte kuruluk ve kaşıntı olarak ortaya çıkar, karaciğerde büyüme ve sirotik gelişme, sinir sisteminde beyin tümörü belirtilerini taklit edebilen kafa içi basıncında artış şeklinde bulgular görülebilmektedir. Gebelerde aşırı retinol alımı yavruya doğumsal sakatlıklar yaratma potansiyeline sahiptir (24). Tiroid stimülasyonu A vitamini ihtiyacının artmasına ve A vitamini stoklarının doldurulmasının hızlandırılmasına neden olur. Tiroid bezi fonksiyonunun inhibisyonu karotenin değerlendirilmesini azaltır (67, 74).



Şekil 1.1.5.1.1. Retinoidlerin etkilerinin özeti (24).

1.2. β - Karoten

Karotenoitler, karotin ya da bunların okside olmuş derivatları ksantofiller tarafından oluşturulur. Karotenoitlerin orjinleri bitkisel olmakla birlikte, bazı mikroorganizmalar da karotenoid üretirler. Hayvanlar karotenoitleri besinlerle alarak A vitamini'ne dönüştürürler. Karotenoitler, sarıdan kırmızıya kadar değişen renklerdeki bitkisel ve hayvansal kaynaklarda, yaygın olarak bulunur. Kurutulmuş yemler β - karoten içermez. Başlıca karotenoitler α , β ve δ karotenoitlerdir. Karbon iskeletleri sekiz izopren molekülünün simetrik olarak dizilmesiyle oluşmuştur ve çok sayıda konjuge çift bağ içerir (Şekil 1.2.1). Uzun karbon iskeletinden dolayı yağlarda çözünürler. Karotenoitlerden özellikle β -karoten, memeli hayvanlar için provitamin A'yı oluşturur. Doğada mevcut olan 600'den fazla karotenoidin %10'dan daha azı provitamin A aktivitesine sahiptir. β -karoten biyolojik olarak en aktif provitamin A'dır (24, 72).



Şekil 1.2.1. β -Karoten'in biyokimyasal yapısı (72).

1.2.1. β - Karoten'in Emilimi ,Taşınması ve Atılımı

Memelilerin çoğu karotenoitleri A vitamini olarak değerlendirir. Karotenoitlerin ince bağırsakta A vitamini'ne dönüşebilme yeteneği hayvan türü ve alınan provitamin çeşidine göre farklılıklar gösterir. Birçok hayvan türü karotenoitler bakımından zengin yemlerle beslenmelerine rağmen vücut yağları renksizdir. Bu türler arasında koyun, keçi, domuz, bufalo, köpek, kedi, rat, kobay ve tavşan bulunur. Besinlerinde fazla miktarda karotenoid bulunduğunda kan plazması ve vücut yağları sarı renkli olan türler arasında ise insan, at, sığır ve sazan gibi hayvanlar bulunur. Bununla birlikte, sığırlarda karotenin emilimi ırklar arasında büyük farklılıklar gösterir.

Jersey ve Guernsey ırkları besinlerdeki karotenin tamamını geri emdiklerinden vücut yağları ve sütleri oldukça sarı renkliken, siyah-beyaz alaca sığırlar (Holştayn) ise sadece ihtiyaçları için gereksinim duyulan miktarda karoteni geri emdiklerinden vücut yağları ve sütleri beyazdır (44). Diğer taraftan provitamin A aktivitesine sahip hidrokarbon-karotenoitler civcivlerin bağırsağında A vitamini'ne dönüştürülerek emilir. Tür, uygun protein reseptörlerinin varlığı ve bağırsak lümeninde uygun misel sıvıların oluşumu karotenoitlerin A vitamini'ne dönüşümünü etkileyen faktörlerdir. Karotenoitlerin cis-trans izomerizmi bunların absorpsiyonunu belirlemede önemlidir. Özellikle trans formu daha iyi emilir (72). Diyetle bulunan yağ miktarı da emilimi etkiler. Orta Afrika'da A vitamini eksikliği olan çocuklarda diyete az miktarda yağ ilave edildiğinde karotenin emiliminde % 5'ten % 50'ye varan oranlarda artış tespit edilmiştir (7). Ayrıca diyetdeki antioksidanlar (vitamin E gibi) karotenoitlerin emilimini etkileyen diğer önemli faktörlerdir. Ancak bu antioksidanların emilimi direkt mi yoksa A vitamini ve karotenin oksidasyonunu önleyerek mi sağladığı kesin olarak bilinmemektedir. Diyetdeki protein yetersizliği de karotenin bağırsaklardan emilimini azaltır (48, 49, 72, 93, 115).

Koyun, keçi ve domuzlarda karotenin bağırsak epitelinde A vitamini'ne kolay dönüştüğü, buna karşın sığır ve atlarda kolay dönüşmediğinden plazma karotenoid miktarının daha fazla olduğu, karotenoitlerin A vitamini'ne çevrilmesinde meme bezleri, korpus luteum, pankreas ve yağ dokusunun değişik oranlarda rol oynadıkları belirtilmektedir (72). Ayrıca, sarı yağ dokulu ve beyaz yağ dokulu hayvanlardaki spesifik intestinal taşıyıcı proteinlerin varlığının türler arasındaki karotenoitleri absorpsiyon yeteneğinden sorumlu olduğu düşünülmektedir. Koyunlarda özel taşıyıcı proteinler olmadığından oral olarak verildiğinde β -karoten'in dolaşıma geçmediği bildirilmektedir (25, 84, 89, 115).

β -karoten'in bir bölümü bağırsaklarda A vitamini'ne dönüşür diğer bir bölümü şikomikronlara bağlı olarak ductus torasicus yoluyla karaciğere geçer. Karotenoitler kanda karaciğerde sentezlenen LDL (low density lipoprotein), VLDL (very low density lipoprotein) ve HDL'ye (high density lipoprotein) bağlanarak taşınır. Bunlar

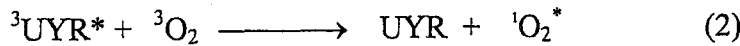
yaklaşık 22 Å kalınlığındaki fosfolipit tabakaya, esterleşmemiş kolesterin ve bir polipoproteinin sarılmasıyla oluşmuştur (85, 100).

Lipoprotein fraksiyonlarının taşıdıkları β-karoten miktarı türlere göre değişiklik gösterir. Yapılan bir araştırmada süt sığırları ve boğaların serumlarındaki total β-karoten'in yaklaşık % 82'sinin HDL, % 12'sinin LDL ve % 0.3'ünün ise VLDL tarafından taşındığı saptanmıştır (100). Fakat, insanlarda ise β-karoten'in % 12'sinin VLDL, % 79'unun LDL ve % 8'inin ise HDL tarafından taşındığı bildirilmiştir (7). Hayvanın gelişimi ile β-karoten'in lipoproteinlere bağlanma oranı arasında pozitif bir ilişki tespit edilmiştir (84, 85).

1.2.2. β-Karoten'in Fizyolojik Fonksiyonları

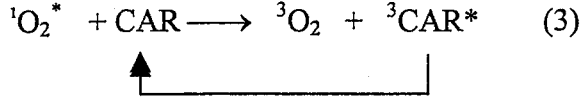
Karotenoidler yıllardır biyolojik sistemlerdeki etkileri nedeni ile sürekli olarak araştırılmaktadır (21, 29, 104, 114, 124). Epidemiyolojik veriler diyetdeki β-karoten'in bazı tip kanserler ile arteroskleroz, katarakt ve multiple skleroz gibi hastalıkları önlediğini göstermiştir. β-karoten bu etkisini ya provitamin A aktivitesi ya da antioksidan özelliği aracılığı ile gerçekleştirmektedir (38, 104, 114). Karotenoidler antioksidan etkilerini; singlet oksijeni ($^1O_2^*$) bastırarak, süperoksit radikalini temizleyerek ve peroksit radikallerini parçalayarak hücre ve organizmaları oksidasyona karşı korumak suretiyle gösterirler (1, 39, 59).

Karotenoidlerin, $^1O_2^*$ nasıl baskıladığı ve organizmayı $^1O_2^*$ 'nin neden olduğu zararlı etkilere karşı nasıl koruduğu ile ilgili bir çok araştırma yapılmıştır. $^1O_2^*$, bir uyarıcının (UYR) hareketli kısmından moleküler oksijene (3O_2) elektronik enerji transferi ile oluşmaktadır (Reaksiyon 1, 2) (38, 39, 54).

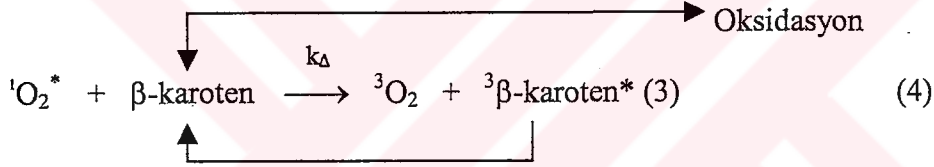


Porfrin, klorofil ve riboflavin gibi uyarıcılar, $^1O_2^*$ yapımını uyararak DNA hasarı ve lipid peroksidasyonu gibi zararlı etkilerin oluşumuna neden olurlar. Foote ve Denny

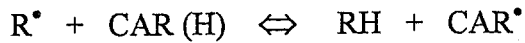
(45) yapmış oldukları bir çalışma ile ilk kez β -karoten'in fotosensitizasyonun neden olduğu oksidasyonu önleyen etkili bir $^1\text{O}_2^*$ baskılayıcısı olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca, Farmillo ve Wilkinson (42)'da karotenoitlerin $^1\text{O}_2^*$ 'nin zararlı etkilerine karşı organizmayı korumasındaki asıl mekanizmanın, elektron değişimi ile enerji transferinin baskılanması olduğunu göstermişlerdir (Reaksiyon 3)



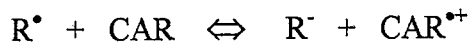
Yukarıdaki reaksiyonda da görüldüğü gibi, $^3\text{CAR}^*$, (karotenoitlerin üçüncü hali) enerji olarak ısıyı kullanarak başlangıçtaki şekline dönebildiği gibi, $^3\text{O}_2$ ile çapraz reaksiyona girdiğinde ise baskılanmaktadır. Buradan, β -karoten'in $^1\text{O}_2^*$ 'ni deaktive edici bir katalizör olarak hareket ettiği sonucu çıkarılmaktadır (Reaksiyon 4) (39).



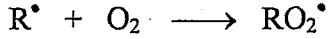
Karotenoitler $^1\text{O}_2^*$ baskılayabilmelerinin yanısıra, serbest radikaller ile de reaksiyona girerler (36, 46, 70). Karotenoitler, serbest radikallerin baskılanması için gerekli olan enerjiyi, elektron transferini veya başka ek reaksiyonları kullanarak elde ederler (39). Oluşan bu reaksiyonlarda serbest radikali oluşturan tek elektronun kaybolmaması dikkat çekicidir. Bu durumda, serbest radikal türlerinin redoks potansiyeline bağlı olarak karotenoitler ile oluşturduğu reaksiyonunun mekanizması aşağıda gösterildiği gibi gerçekleşmektedir;



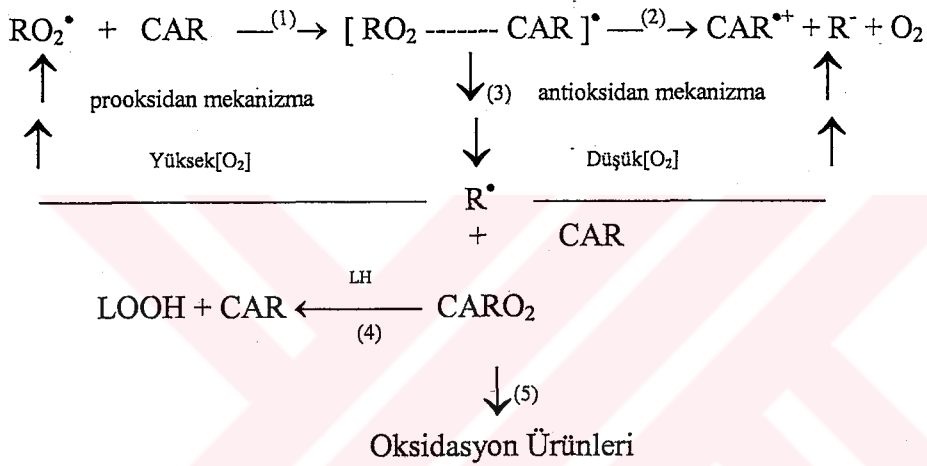
ve



Bununla birlikte, karbon merkezli radikaller oksijenle reaksiyona girerek peroksil radikallerini aşağıdaki reaksiyonda gösterildiği gibi oluşturmaktadır (39).



Bu nedenle, karotenoitlerin ve diğer antioksidanların antioksidan özelliklerinin mevcut oksijen miktarına bağlı olarak değişebileceği söylenebilir. Bu durum, karotenoitlerin artan oksijen miktarı ile antioksidandan prooksidana doğru değişen özelliklerinin aşağıdaki şekil ile açıklanabileceğini göstermektedir (79, 81).



Şekil 1.2.2.1. Karotenoitler'in oksijen miktarına bağlı olarak antioksidan-prooksidan etkinliği (39).

Karotenoitler ovaryum ve uterusun steroidojenik hücrelerini de oksidatif hasara karşı korurlar (21, 124). Bununla birlikte, β -karoten kolesterol yan zincirini ayıran enzimi sitokrom P450'yi (CP450), serbest oksijen radikalının etkisinden koruyarak steroidogenezisi artırmak suretiyle reproduksiyonu da düzenler (124). Bu nedenle, β -karoten'in progesteron sekresyonunu arttırıcı etkisinin antioksidan özelliğinden kaynaklanabileceği ileri sürülmektedir (4, 44, 77, 124).

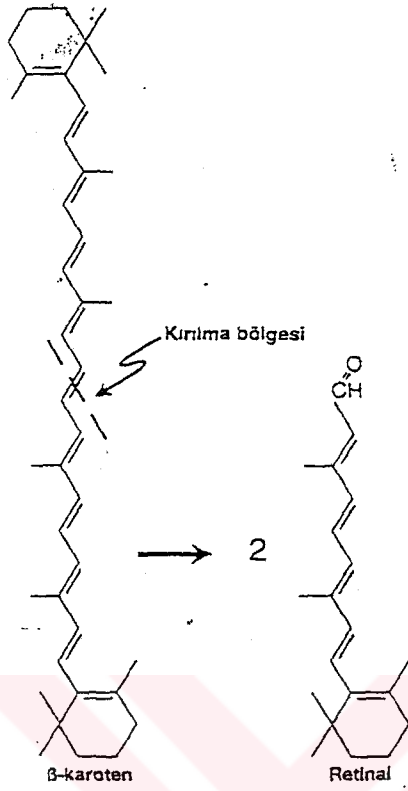
Yemle alınan karotenoitler ise β -karoten deoksijenaz ile oksidatif parçalanmaya uğrarlar. Bu parçalanma işlemi moleküler oksijen gerçekleştirir. Safra tuzlarının varlığında hızlanan olay sonucunda iki molekül retinal açığa çıkar (Şekil 1.2.2.2). Retinal ince bağırsak mukozasında nikotinamid adenindinükleotid fosfataz'dan

(NADPHaz) yararlanan spesifik bir retinaldehit redüktaz tarafından retinole indirgenir. Retinalin ufak bir fraksiyonu retinoik asite okside olur. Retinolun büyük bir kısmı ise doymuş yağ asitleri ile ester oluşturur ve kan dolaşımına giren şilomikronların yapısına dahil olur (24, 57, 72, 98, 116).

Karotenoidler ince bağırsakta emilim sırasında A vitamini'ne dönüşür. Hayvanların çoğu ince bağırsak duvarının iç astarında β -karoteni A vitamini'ne çevirebilir. Fakat türler arasında β -karoten'in A vitamini'ne çevrilme miktarı değişmektedir. Örneğin domuzlar mısır diyetinde 1 mg β -karoten'i 261 I.U. ile 500 I.U. A vitamini'ne dönüştürmektedir. Üstelik bu en yüksek miktarda β -karoten alımıyla gözlenen en düşük dönüşüm miktarıdır. Bu dönüşüm kanatlılarda ve ratlarda üç ile altı kat daha düşük miktardadır (76). Buna ilave olarak büyük türlerde β -karoteni absorbe etme kabiliyetlerinde farklılıklar oluşur. Genel olarak sığırların 5-8 mg karoteni 1 mg retinole çevirdiği tahmin edilir. Karotenoidler normalde domuzların periferik sirkülasyonunda oldukça düşük konsantrasyonlarda bulunurken veya belirlenemezlerken, β -karoten, α -karoten, likopen, lutein ve kriptoksantin gibi diğer karotenoidleri absorbe edebilen sığır ve insanların periferik dolaşımında bunların düzeyleri belirlenebilmektedir. (22, 25, 28, 57).

β -karoten'in parenteral kullanımı sonucu kandaki A vitamini konsantrasyonu yükselmese de A vitamini eksikliği sonucu ortaya çıkan semptomlar ortadan kaldırılmıştır. β -karoten'in kolostrumla alınımı ile buzağılarda diyarenin azalması, enfeksiyöz ve paraziter hastalıklara karşı pozitif bir direnç olduğu da bildirilmiştir (33, 108).

Yapılan bir çok araştırmada (67, 89, 92, 102, 105), rasyonda yeterli A vitamini olmasına rağmen β -karoten'in eksikliğinde; gizli kızgınlık, ovulasyonda gecikme, düşük dölleme oranı, gelişmesi gecikmiş ve küçük boyutlu korpus luteum, siklus sırasında ve gebeliğin ilk döneminde progesteron sentezinde azalma, foliküler ve luteal kistlerde artma, ilk üç ayda fötüs ölümü ve yeni doğan yavrularda yüksek diyare oluşumu nedeniyle hastalanma ve ölüm oranında artış ve sütün yağ oranında düşme gözlemlendiği bildirilmiştir.



Şekil 1.2.2.2. β-Karoten'in retinale dönüşümü (24).

1.2.3. β-Karoten ve A Vitamini'nin Kandaki Düzeylerine Etki Eden Faktörler

Vücudun mineral ve vitamin dengesi, bunların alım, depolama, metabolizma ve atılımına bağlıdır. Kandaki A vitamini ve β-karoten düzeylerinin mevsime ve beslenme şekline göre büyük farklılık gösterdiği pek çok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (15, 113, 123). Bu vitaminlerin kandaki düzeylerine gebeliğin etkisi ise doğuma yakın dönemlerde ortaya çıkmaktadır. Sığırların plazma A vitamini ve β-karoten seviyelerinin doğuma 2-3 hafta kala azalma eğilimi göstererek doğum ve doğumu takip eden ilk bir kaç gün içerisinde en düşük seviyelere indiği, doğumdan birkaç hafta sonra ise tekrar yükselerek normal değerlere ulaştığı bildirilmiştir (30, 83, 120). Doğum ve doğumu takip eden süre içinde plazma A vitamini ve β-karoten düzeylerinde meydana gelen bu düşüşün nedeni ise bu vitaminlerin kolostruma geçişine bağlanmıştır (56, 60, 85).

Sekstüel hormon uygulamaları ve hipertroidizm de plazma β -karoten ve A vitamini düzeyi üzerine etkili olan faktörlerdir (74).

Yapılan bir araştırma, nitrat ve nitritlerin ruminantlarda karotenlerin A vitamini'ne çevrilmesini inhibe ettiğini, bu vitaminin karaciğerde birikmesini önlediğini ve depolanmış A vitamini'ni mobilize ederek hızla tükenmesine yol açtığını bildirmektedir (109).

β -karoten besinlerin işlenmesi ve depolanması sırasında kolayca yok olduğundan, çiftlik hayvanlarının beslenmesinde A vitamini'nin ilave olarak verilmesinin son derece önemli olduğu açıktır.

1.3. β -Karoten ve A Vitamini'nin Döl Verimi Üzerine Etkisi

Hayvanların beslenmeleri reproduktif performansları üzerinde önemli bir role sahiptir. Özellikle A vitamini'nin memelilerin üreme fonksiyonları üzerindeki önemi oldukça iyi şekilde belirlenmiştir. Ayrıca bu özel rolün, epitel yapımı ve farklılaşması, RNA sentezi, glikoprotein sentezi, enfeksiyonlara karşı direnç kazanılması gibi çeşitli sistemik olaylara aracılık ettiği belirtilmektedir (47, 72, 115). Bunun yanısıra, β -karoten'in antioksidan etkisinin de yardımıyla ovaryumlardaki steroid yapımını etkileyerek ve/veya uterusun iç ortamını değiştirerek döl verimini geliştirdiği bir çok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (19, 101, 111, 114, 124).

A vitamini'nin, foliküllerin toplanmasını, seçilmesini, dominant foliküllerin gelişmesini ve büyümesini kontrol eden faktörlerden biri olduğu ve büyük foliküllerin gelişmesi için baskılayıcı bir ortam oluşturduğu bildirilmektedir (101). Folikülün olgunlaşması sırasında β -karoten folikül içinde sabit değerlerde bulunduğu halde A vitamini konsantrasyonlarında bir artış tespit edilmiştir. β -karoten'e bağlı olarak folikül içinde A vitamini konsantrasyonunun artışı ile birlikte folikül kalitesinin, büyüklüğünün, intrafoliküler 17- β -östrodiol konsantrasyonunun değiştiği

belirlenmiştir (101, 102). Bu ilişkinin β -karoten'in ovulasyon ve fertilité üzerindeki rolünü etkilediği dikkat çekmektedir.

β -karoten konsantrasyonu ve kolesterol düzeyleri arasında da pozitif bir ilişki olduğu (63) ve β -karoten eksikliğinde ovaryumdaki steroid hormon üretiminde önemli ölçüde bozukluklar meydana geldiği bildirilmiştir (67, 101, 102).

A vitamini'nin seksüel siklus üzerindeki etkisinin yanısıra uterus iç ortamını, embriyo ve fetüs gelişimini ve ovaryumlardan progesteron salgılanmasını sağladığı da bilinmektedir. Bu vitaminlerin düzeylerine bağlı olarak uterustan salgılanan progesteron sentezi esnasında gebeliğin devamı ve fôtusun gelişimi için önemli olan çok miktarda değişik protein salgılandığı, yine bu vitaminlerin eksikliğinde plasental glikozaminoglikan'da yapısal ve kompozisyonel değişikliklere bağlı olarak embriyonik ölümlerin gözlendiği bildirilmiştir (19, 25, 29, 55). Sonuçta, bu embriyonik ölümlerin uterus sekresyonlarındaki ve progesteron üretimindeki değişikliklerden kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür (19,25).

Çeşitli araştırmacılar (17, 22, 52, 67, 83) A vitamini ve β -karoten'in döl verimine direkt etkili olduğunu, kanda β -karoten düzeyinin 200 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 'nin altına düştüğünde ineklerde foliküler ve lüteal kist sayısında artma, sessiz kızgınlık, LH piki ile ovulasyon aralığında uzama, gebe kalma oranında azalma, bireysel davranış değişiklikleri, embriyonik ölümler ve abort olaylarının görülebileceğini ileri sürmüşlerdir. Ayrıca, β -karoten eksikliğinde ovulasyonun oluşması için gerekli bir enzim olan kollegenaz'ın yetersizliğinin görülebileceği bildirilmektedir (112). Buna karşılık bazı araştırmacılar ise β -karoten'in döl verimine direkt etkili olmadığını, esas etkinin ovaryumda β -karoten'in A vitamini'ne dönüşmesi sonucunda oluştuğunu bildirmişlerdir (20, 99, 101, 120).

Hayvanların β -karoten katkılı besinlerle en iyi şekilde beslenmesinin klinik ve endokrinolojik açıdan östrus siklusunu ve gebeliği olumlu yönde etkilediği, karoten eksikliğinin progesteron sentezinin azalmasına neden olduğu bildirilmiştir (5, 56, 67,

124). Buradan yola çıkarak β -karoten'in progesteron sentezine iki yoldan etki ettiği gösterilmiştir;

1. Steroid sentezinin temel taşı olan kolesterin'in perifer kandan korpus luteuma β -karoten'in taşınma mekanizmasına bağlı olarak gerçekleşmesi,
2. β -karoten'in bir antioksidan olarak progesteron sentezi esnasında oluşan serbest radikalleri tutarak progesteron sentezini arttırması şeklinde açıklanmıştır.

β -karoten'in progesteron sentezini arttırarak üreme fonksiyonunu etkilediği belirtilmektedir. β -karoten sığır korpus luteumunda karaciğer ve yağ dokudan daha yüksek oranda bulunur ve korpus luteumun karakteristik parlak sarı rengini verir. β -karoten'in yetersiz olduğu durumlarda korpus luteum hücrelerinde β -karoten ve progesteron düzeyinin azaldığı ve corpus luteumların daha küçük olduğu bildirilmiştir (5, 51). Bununla birlikte, rasyonda yeterli β -karoten olduğunda luteal hücrelerin daha büyük olduğu ve daha fazla progesteron salgıladığı belirtilmektedir (5, 52, 90, 112). β -karoten ve A vitamini antagonist etki gösteren iki madde olup bunların ovaryumda doğru oranda bulunması ovaryumun optimal fonksiyonu için gereklidir. Ovaryumda bağımsız olarak işlev gören karotinaz serum karoten düzeylerinin değiştiği durumlarda bile ovaryumdaki β -karoten ve A vitamini dengesini sağlayan bir enzimdir (25, 99).

β -karoten genelde A vitamini'nin ön maddesi olarak bilinmekle beraber, yapılan çalışmalar, β -karoten'in ineklerde provitamin olma özelliğinin yanında, döl verimini etkileyen faktörler arasında yer aldığını göstermiştir. Son yıllarda yapılan araştırmalar (44, 102, 124), β -karoten ve A vitamini'nin belirli sterin fonksiyonlara katıldığını ve yokluğunda cinsel hormonların metabolizmasının bozularak üreme fonksiyonlarının olumsuz etkilendiğini belirtmektedir. Araştırmacılar, β -karoten ilavesinin korpus luteum hücrelerinden progesteron salınımını olumlu etkilediğini (5, 51, 52) ve ilk kırgınlık, uterus involusyonu, doğum ve yeniden gebe kalma süresini kısalttığını bildirmektedirler (9, 16, 47, 67).

Yapılan çalışmalar bir süt ineğinin yaşama payı için günlük 80-100 mg ve her kg süt verimi için de ayrıca 10-20 mg β -karotene ihtiyacı olduğunu saptamıştır (15). Sığırlara kuru dönem ve laktasyon periyodu boyunca kapsül içinde farklı dozlarda (100, 200, 300 mg) β -karoten verilmesinin, plazma β -karoten ve progesteron düzeyi ile süt verimini arttırdığı, hastalık insidansını % 50-70 oranında düşürdüğü, gebelik için tohumlama sayısını azalttığı ve doğum ile ilk östrus arasındaki zamanı kısalttığı bildirilmiştir (16). Gebeliğin son ayı ve doğumdan sonraki ilk 7 gün süresince 20 000 I.U. A vitamini enjekte edilen ve 600 mg β -karoten verilen sığırlarda, ilk tohumlamada gebe kalma oranının %60-69 olduğu ve bu sığırların buzağılarının özellikle sindirim sistemi hastalıklarına karşı daha dayanıklı olduğu tespit edilmiştir (35). Özpinar ve ark. (87) tarafından yapılan bir çalışmada da, ovaryumlarında kist tespit edilen sığırların plazma β -karoten ve E vitamini konsantrasyonlarının oldukça düşük olduğu belirlenmiştir. Ancak, rasyonlarına günlük olarak 625 mg β -karoten ilave edilen 3-4 aylık gebe sığırların postpartum reproduktif performansının etkilenmediği bildirilmiştir (53).

Kısıraklarla ilgili yapılan farklı çalışmalarda (43, 89) ise A vitamini ve β -karoten'in döl verimi üzerinde önemli rollerinin olmadığı bildirilmiştir.

Bununla birlikte, domuzlara 300 mg β -karoten ve 1 ml AD₃E vitamin karmasının enjeksiyonundan sonra döl veriminin ve kolosturumun bileşiminin olumlu etkilendiği kaydedilmiştir (30). Diyetlerine 40 mg/kg β -karoten ilave edilen tavşanlarda üreme fonksiyonlarının ve kandaki A vitamini düzeylerinin arttığı (12); bir başka araştırmada (40) ise haftada 2100 μ g β -karoten enjeksiyonunun tavşanlarda yavru sayısında artışa neden olduğu bildirilmiştir.

1.4. Koyunlarda Seksüel Siklus

Üreme mevsiminde belirli sürelerle ortaya çıkan ovaryum aktivitelerine seksüel siklus ya da östrus siklusu denir. Koyunlarda östrus siklusu kısa süreli olan foliküler faz (proöstrus ve östrus) ve uzun süreli luteal faz (metöstrus ve diöstrus) olmak üzere

iki bölüme ayrılır. Koyunlar mevsime bağlı poliöstrik hayvanlar olduğu için anöstrus olarak da bilinen seksüel aktivitenin daha az olduğu bir periyoda da sahiptirler (3,95)

1.4.1. Foliküler Faz

1.4.1.1. Proöstrus

Proöstrus kızgınlığa hazırlık dönemidir. Bu dönemde korpus luteum prostaglandinlerin etkisiyle gerilediği için kanda progesteronun düzeyi de azalmıştır. Bu evrede ön hipofizden salınan FSH etkisiyle foliküller gelişir ve büyür. Yumurtalıklardan salgılanan östrojenlerden en önemlisi 17- β östradiol ile onun metaboliti olan östriol ve östron'dur. Kana geçen bu hormon ovidukt ya da fallop tüplerine gelerek burayı örten hücrelerin büyümelerine, çoğalmalarına ve yumurtaları uterusu ileten silliyumların sayıca artmasına neden olur. Bu hazırlık yumurtanın uterusu taşınması içindir. Daha da gelişen foliküllerden östrojen sentezinin artmasıyla feed back mekanizması sonucu FSH salınımı engellenir. Ayrıca gelişmiş foliküllerin sıvısından folikülostatin olarak adlandırılan ve granuloza hücreleri tarafından salgılanan inhibitorik bir madde olan inhibin'le de FSH salınımı engellenir. Koyunlarda pek belirgin olmayan proöstrus evresi 2-3 gün kadar sürer (3, 95).

1.4.1.2. Östrus

Östrus evresi 1-1.5 gün kadar sürer. Çiftleşme veya tohumlama için en uygun zamandır. Kızgınlık gösteren koyunlar sürekli huzursuzluk gösterir ve koçların yanından ayrılmazlar. Ayrıca hayvanlarda zayıflama ve süt veriminde de azalma olur. Bu evrede vagina ve vulva kanlı ödemlidir. Proöstrus evresinde artan değişiklikler bu evrede daha da belirginleşir. Foliküller olgunlaşmış ve çok büyümüş bir haldedir. Kanda progesteron en düşük seviyededir. FSH azalmış, LH düzeyi artmıştır. Östradiol konsantrasyonunda artış pozitif feed back mekanizması ile hipotalamus tarafından salınan GnRH (LH salınımını stimüle eden hormon) için hipofiz duyarlılığının artmasıyla birlikte ovulasyon öncesi pik düzeyine ulaşır; LH seviyesindeki artış ve graft folikülünün iç basıncındaki artışla ovulasyon meydana

gelir. Ovulasyondan sonra grafit folikülünün patlamasıyla kanda östrojen hormonunun seviyesi düşer. Ovum açığa çıktıktan sonra folikül sıvısı akar ve geri kalan kısım kollabe olur. Folikülü saran granuloza hücrelerinin luteinizasyona ve hipertrofiye uğramasıyla korpus luteum şekillenir. Oluşan korpus luteumdan üç gün sonra progesteron salınmaya başlar ve döngünün 9-13. günlerinde en yüksek düzeye ulaşır. Gebelik oluşmamışsa korpus luteum çevrimin 12.gününde gerilemeye ve $PGF_{2\alpha}$ çevresel dolaşımında artmaya başlar. Buna paralel olarak da progesteron düzeyi hızla düşerek döngünün 16.gününde en düşük düzeye iner. Gebeliğin oluşması durumunda ise çevrimin 12. gününde trofoblast proteinlerince endometriumdan $PGF_{2\alpha}$ salınımı önlenerek korpus luteumun sürekliliği sağlanır (3, 95).

1.4.2. Luteal Faz

1.4.2.1. Metöstrus (Postöstrus)

Ovulasyondan sonra görülen evredir. Ovulasyondan sonra oluşan korpus luteum gelişmeye ve progesteron salmaya başlar. Metöstrus sırasında progesteron salınımı artar. Progesteron yeni olgun foliküllerin oluşumuna engel olarak bir süre için yeni kızgınlık döngüsünün meydana gelmesini önler. Kızgınlıktan sonra dölleme olmamış ise tüm hazırlıklar bu evrede geriler. Bu evre yaklaşık 2 gün kadar sürer.

1.4.2.2. Diöstrus

Kızgınlık çevriminin en uzun süresi olup 10-12 gün kadar sürer. Luteinleşmiş hücrelerden oluşan, çok damarlı endokrin bir organ haline dönüşen korpus luteum bu evrede fonksiyonel bir hale geçer ve büyük oranda progesteron salgılar. Dölleme olmamışsa siklusun 12. gününden itibaren korpus luteum regrese olmaya başlar.

1.4.2.3. Anöstrus

Koyunlarda doğumdan sonra döngüsel üreme etkinliklerinin bulunmadığı ve ovaryumların sakin olduğu bir süre vardır. Düzenli siklusların başladığı üreme

mevsimine kadar süren bu anöstrus dönemi çok uzun olup, gün uzunluğunun arttığı mevsime rastlamaktadır. Bu mevsimde üreme işlevleri durduğu için çiftleşmede gerçekleşmez (3, 95).

1.4.3. Koyunlarda Seksüel Siklus Sırasında Meydana Gelen Özel Olaylar

Koyunlar mevsimsel doğurganlık göstermekle birlikte seksüel döngüleri sonbahar aylarında başlayan hayvanlardır. Koyunlarda kızgınlık süresi 35 saattir ve iki kızgınlık arası süre ortalama 16.5 gündür. Her kızgınlık periyodunda bir ya da üç folikül bırakılır. Kızgınlıktan önce alınan vaginal sürüntü, kalın bir mukus tabakası, lökositler ve epitel hücreleri içerir. Mukusun bulunması ve bol lökosit proöstrusu, diöstrustan ayırır. Östrusa girildiğinde sürüntü daha akıcı olur, lökositler azalır ve yassı epitel hücreleri görülmeye başlar. Östrustan sonra (metöstrus) vaginal sürüntü daha hacimli olur ve bol miktarda yassı epitel hücresi, çok az sayıda lökosit içerir.

Proöstrus ve östrus süresince endometrium yüzeyi uzun silindirik epitel hücreleri ile döşelidir. Anöstrusta ovaryum içerisindeki grafit folikülleri büyür, ancak ovulasyon noktasına ulaşamaz. Bu gözlem anöstrusta da ritmik seksüel ovaryum aktivitesinin olduğunu ancak muhtemelen ön hipofizden salınan hormonların ovulasyon oluşturabilmek için yetersiz olduğunu göstermektedir. Anöstrus döneminin sonlarında ön hipofiz hormonları verildiğinde koyunlarda kızgınlık oluşturulabilmektedir (3, 95).

Östrus döngüsü boyunca vagina epitelyumunun histolojisinde görülen değişiklikler tüm memeli hayvanların dişilerinde görülür. Östrus başlangıcından sonuna doğru olan vagina epitelyumunun hızla büyümesi ve kornifiye olması östrojenin etkisiyle olmaktadır. Normal bir döngüde ovulasyondan sonra östrojen seviyesi düştüğü zaman, kornifiye olmuş vagina epiteli yıkılmaya başlar. Vagina epiteli histolojik olarak tek katlı kübik epitele dönüşür. Östrojen uterus duvarının kılcallaşmasını ve buradaki mitotik aktiviteyi artırır, bunun sonucunda uterus ağırlığı artar. Uterus ağırlığındaki artış östrojen enjeksiyonunun miktarı ile orantılıdır (3, 95).

1.4.4. Gebelik Endokrinolojisi ve Progesteron

Gebelik halinin şekillenmesi, devamı ve doğumun başlaması endokrin, nöronal sistemler ve mekaniksel faktörlerin etkileşimi ile düzenlenmektedir. Normal bir gebelik halinin devamı için görevli hormonların, gerekli ve uygun miktarlarda bulunmaları şarttır. Plasenta ve fetusun kendi endokrin bezlerinde hormonal faaliyetlerin başlamasından sonra ana, fetus ve plasenta arasında karşılıklı bir hormon alışverişi vardır (3, 95).

Gebelik süresince uterusun yapı ve fonksiyonları kanda bulunan östrojen ve progesteron hormonları ile kontrol edilir. Hipotalamustan salgılanan gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) kanla taşınarak hipofizin ön lobundan FSH ve LH hormonlarının salgılanmasını sağlar. Hipofizin ön lobundan salgılanan gonadotropik hormonlar ise gonatlardan gonat hormonlarının salgılanmasını sağlayarak yardımcı üreme hormonlarını dolaylı şekilde etkiler. Dişilerde FSH kan yoluyla ovaryumlara gelir ve küçük folliküllerin büyümesini ve grafit follikülünün gelişmesini sağlar. Ancak follikülün büyümesi ve östrojen meydana getirebilmesi için FSH ile birlikte az miktarda LH bulunması gerekir. Östrüstan önceki gün bir veya daha fazla follikül büyür ve 17- β östradiol konsantrasyonu 10-20 pg/ml konsantrasyonlarına çıkar. Follikülden salgılanan östrojenin kandaki düzeyinin yükselmesi FSH salgılanmasının azalmasına LH salgılanmasının artmasına yol açar. Östrojen hormonunun en yüksek düzeye ulaşmasından sonra östrus şekillenir. Bu dönemde kızgınlık belirtileri görülür, koyun sığata uygun durumdadır, kandaki LH düzeyi çok yükselir ve konsantrasyonu östrus başlangıcından 10 saat sonra hemen hemen 80 ng/ml çıktığı zaman ovulasyon olur, daha sonra LH ve 17- β östradiol konsantrasyonu hızla düşer. Ovulasyon LH pikinden 14 saat sonra meydana gelir. Ovulasyon olayı ile parçalanmış follikülün yerinde korpus luteum meydana gelir ve progesteron salgılamaya başlar. Gebelik oluşmuşsa ovulasyonun 12-13. günlerinde uterustan gelen etkilerle korpus luteum kalıcı korpus luteum haline dönüşür ve gebeliğin devamı sağlanır. Östrüstan sonra 12.-13. günlerde embriyonun ve erken gebelikte var olan korpus luteum'un varlığı PGF₂ α 'nın luteolitik etkisini önler. Ayrıca koyunlarda prostaglandin sentezi PGF₂ α 'dan PGE₂'ye yönelmiştir. PGE₂'nin PGF₂ α 'nın luteolitik aktivitesine karşı

geldiği bilinmektedir. Böylece PGE₂'nin korpus luteumun varlığının devamı için luteotropik etkili olduğu görülmektedir. Uterusta embriyo yoksa 12. günde korpus luteum regrese olur ve östrus tekrarlanır. Embriyonun ilk etkisi östrus siklusu sonunda korpus luteum regresyonunu önlemektir. Nidasyonun 18. gününden itibaren progesteron salgısı artmaya başlar ve doğuma birkaç gün kalana kadar devam eder. Periferal progesteron konsantrasyonu gebeliğin son 2-3 haftasına kadar en yüksek değerine ulaşır (3,95). Gebelikte progesteronun primer kaynağı korpus luteum'dur. Gebelik ilerledikçe plasenta bol miktarda progesteron sentezler. Koyunlar gebelikte progesteron üretimi için plasenta bağımlı türlerden olup plasental progesteron öncelikle koriyoallantois'ten, sonra da amniyon tarafından üretilir. Gebelik süresince progesteron değerleri koyunda 50. günde 2-3 ng/ml iken 125-130 günlerde 12-20 ng/ml'ye yükselir. Bu hormon hem gebeliğin devamını sağlar hem de östron, östradiol ve östriol gibi östrojenik hormonların sentezinde ön madde olarak kullanılır. Gebelikte östrojen ve progesteron miktarı yüksek olduğundan, negatif geri bildirim yoluyla, hipofizden LH ve FSH salgılanması önlenir. Gebeliğin 3. haftasından sonra korpus luteum fonksiyonu gerilemeye başlar fakat plasentadan östrojen ve progesteron salınması doğuma kadar artmaya devam eder (95).

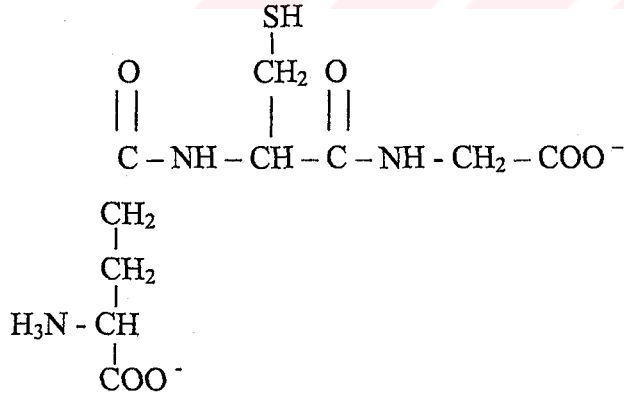
Gebeliğin 70. gününden itibaren idrarda artmaya başlayan östrojen konjugatları gebeliğin 125. gününde en yüksek değerine ulaşır. Doğumu başlatan sinyaller fetal hipotalamus-hipofizden çıktıktan sonra fetal hipofizden ACTH salınımı artar ve böylece fetal adrenlerin olgunlaşması ve kortizol salınımı sağlanmış olur. Fötusun plazma kortizol seviyesi doğumdan 10-15 gün önce artmağa başlar ve son 2-3 günde hızla yükselir. Bununla birlikte, fötusun yeni gelişmekte olan böbrek üstü bezleri progesteronu östrojene çeviren enzimlerini taşır. Böylece yükselen östrojen hormonu doğumun başlamasında yardımcı ve kolaylaştırıcı rol oynar. Artan östrojen miktarı PGF₂α salgılanmasını uyarır ve oksitosin için reseptörlerin gelişimini sağlar (95). Koyunda östrojen/progesteron oranındaki artış, progesteronun plasental sentezini artırmakta, bu da uterus kontraksiyonlarını stimüle etmektedir. Diğer taraftan uterus kontraksiyonlarını inhibe eden başka progesteronların sentezini baskılamaktadır. Kontraksiyonların bir kez başlaması, daha sonra uterustan kendiliğinden yoğun

PGF₂α'nın salınımının artması hem hipofiz oksitosin salınımına neden olur, hem de ovaryum'dan relaksin salınımını sağlar ve doğum olayı başlar (3).

1.5. Glutatyon (GSH)

İlk kez 1890 yılında "philothion" olarak adlandırılan glutatyon (gamma-glutamil-sisteinilglisin) RH₂ formülü ile gösterilmiştir. Daha sonraları bileşik glutatyon olarak adlandırılarak, glutamat ve sisteinden oluşmuş bir dipeptid olduğu belirtilmiştir. Bugünkü tripeptid yapısı ise 1929 yılında Kendal ve ark. tarafından açıklanmıştır (73).

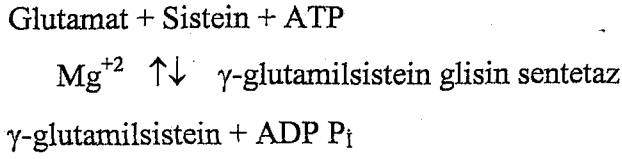
Tiyol grubu bir bileşik olan GSH, bütün canlı hücrelerinde milimolar (0.5-10 mM), plazmada ise mikromolar (μM) derişimlerde bulunur. Tripeptit yapısında olan GSH molekülü, gamma-glutamil köprüsü ve sülfidril grubu şeklinde iki kısımdan meydana gelmiştir (Şekil 1.5.1). Hücre içinde daima belirli miktarlarda bulunan GSH'nun metabolik faaliyetler esnasında cereyan eden DNA ve protein sentezi, hücre taşıma sistemleri ile enzim aktiviteleri ve oluşan oksidatif strese karşı hücrelerin korunması gibi önemli biyolojik olaylarda etkili olduğu bilinmektedir (73).



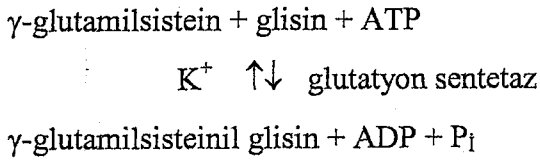
Şekil 1.5.1. GSH molekülü (73).

Glutasyon biyosentezi aşağıda belirtildiği gibi, sitozolde iki aşamada meydana gelir;

(1)



(2)



Glutasyon, doku ve hücre içi düzeylerini düzenleyen, γ -glutamilsistein sentetazı, non-allosterik feedback inhibisyon yoluyla kontrol eder. Glutasyon biyosentezinde inhibitör etkili bir bileşik olan bütionin sülfoksimin, γ -glutamil sisteinil sentetaz enzimini inhibe eder. Bir konvulsan ajan olarak bütionin sülfoksimin, glutamin sentetaz inhibitörü olan metionin sülfoksim'in analogudur. Metionin sülfoksim, γ -glutamil sistein sentetaz enzimini de inhibe eder. Metionin sülfoksim'in ATP tarafından fosforillenerek enzimin aktif bölgesine irreverzibil olarak bağlanmaktadır. γ -glutamil sentetazı inhibe eden diğer bileşikler arasında S-(n-pentil) homosistein sülfoksimin, γ -metilen-D-glutamat sayılabilir (73).

Bütionin sülfoksimin uygulanan farelerin karaciğer, böbrek ve diğer dokularında hücre içi GSH düzeylerinin azaldığı; fakat, GSH transportunun değişmediği gözlenmiştir. Uygulamaya devam edildiğinde ise GSH sentezinin çok büyük oranda baskılandığı belirlenmiştir. Karaciğer, böbrek, kalp, iskelet kası, akciğer ve lenfositlerde hücre içi GSH'nun azalması iki fazlıdır. Bu durumun mitokondrilerden GSH salgılanışına bağlı olduğu düşünülmektedir. Mitokondrilerden salgılanan GSH sitoplazmadan buraya taşınan GSH'dur. Zira, mitokondri içinde GSH biyosentezini katalizleyen enzimlerin yokluğu durumunda GSH sentezlenemez. Ancak, mitokondrilerin normal fonksiyonlarını yapabilmeleri için GSH'na ihtiyaçları vardır ve GSH düzeylerine karşı duyarlıdırlar (73).

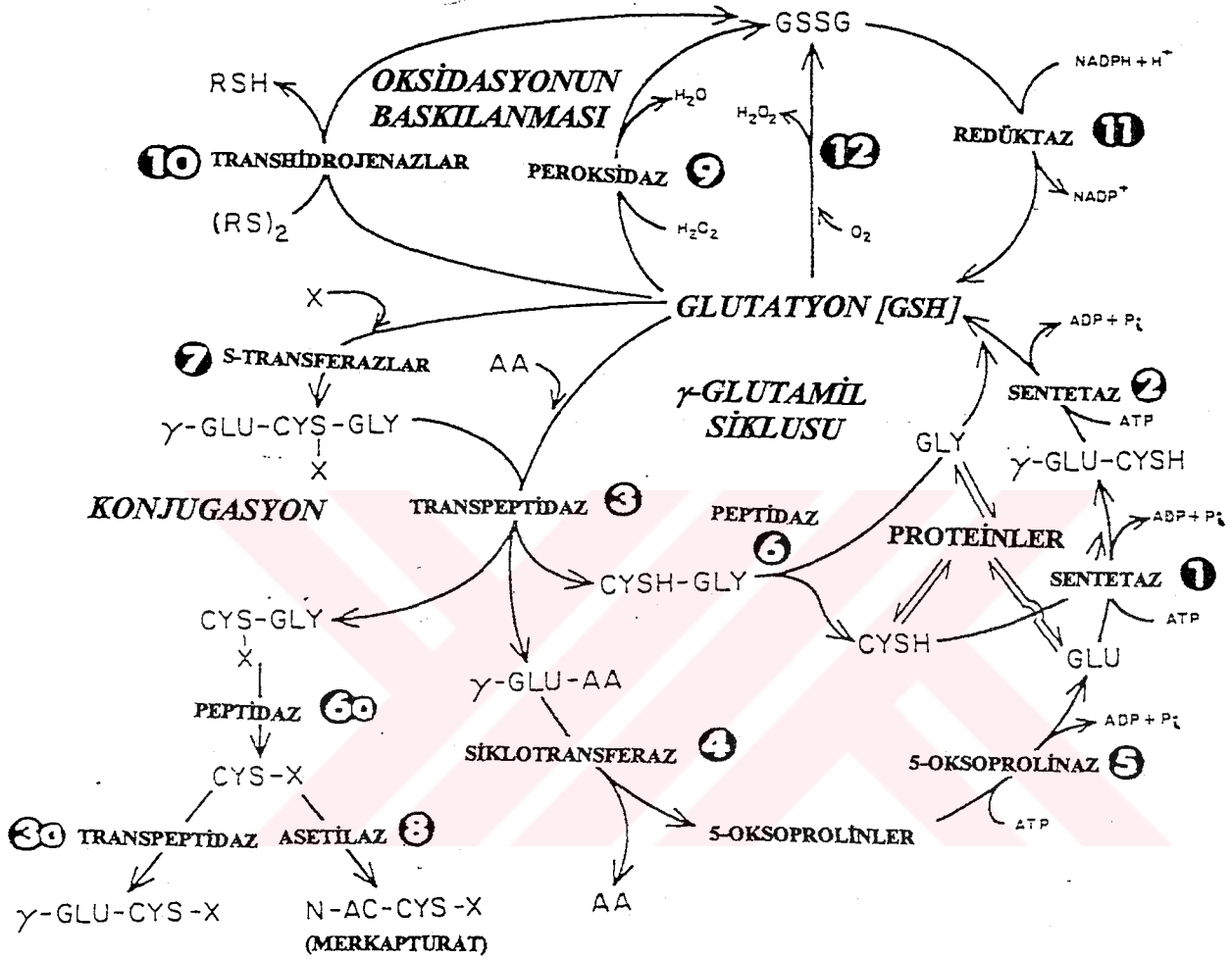
1.5.1. Gulutasyon'un Fizyolojik Fonksiyonları

GSH metabolizması genel olarak aşağıdaki şekilde özetlenebilir (Şekil 1.5.1.1; 73);

GSH'nun sentez ve yıkımını gösteren genel reaksiyonlar (1-5) arasındadır. Gammaglutamil döngüsü olarak da adlandırılan Meister döngüsü ile amino asitlerin hücre zarından transportu sağlanır. Prolin dışındaki diğer nötral aminoasitlerin hücre içine taşınmasında etkili olan bu döngünün çalışması için enerjiye ihtiyaç vardır (5). Bu döngüde, redükte GSH, okside glutasyon (GSSG) ve konjugatlarının yıkımı membrana bağlı bir enzim olan γ -glutamil tanspeptidaz (GGTP) (3) tarafından başlatılır. Bu reaksiyonun sonunda γ -glutamil aminoasitleri, γ -glutamil glutasyon ve glutasyon meydana gelir (4).

Başta böbrek olmak üzere diğer organ ve hücreler γ -glutamil aminoasitleri için serbest aminoasitlerden farklı bir transport sistemine sahiptir. γ -glutamil aminoasitleri serbest aminoasitlere oranla böbreğe daha hızlı taşınırlar. Böbreğe ulaşan γ -glutamil aminoasitler, γ -glutamil siklotransferaz (4) ile serbest aminoasitler ve 5-oksoprolini oluştururlar. Daha sonra, 5-oksoprolin ATP'ye bağımlı bir reaksiyon ile (5) glutamata dönüşür. Bu mekanizmanın bir çok hücre tipinde tüm aminoasitlerin taşınmasındaki gerçek katkısı henüz bilinmemekle birlikte, γ -glutamil tanspeptidaz için en aktif akseptör aminoasidin sistin, daha sonra glutamin ve metiyonin olduğu ifade edilmiştir (73).

Şekil 1.5.1.1'in üst bölümünde GSH ve GSSG arasındaki etkileşimlerin yer aldığı reaksiyonlar görülmektedir. GSH'nun oksidasyonu (12) ya enzimatik olmayan şekilde ya da glutasyon tiyol transferaz (10) ve glutasyon peroksidaz (9) enzimlerinin aktivitelerine bağlı olarak gerçekleşir (73).



Şekil 1.5.1.1. GSH metabolizması. AA: Amino asitler, 1: γ -glutamil sistein sentetaz, 2: GSH sentetaz, 3 ve 3a: γ -glutamil transpeptidaz (GGTP), 4: γ -glutamil siklotransferaz, 5: 5-Oksoprolinaz, 6 ve 6a: Dipeptidazlar, 7: GSH S-Transferaz, 8: N-Asetilaz, 9: GSH Peroksidaz, 10: Transhidrojenazlar, 11: Glutathiondisülfit redüktaz (GSSG redüktaz), 12: O₂ tarafından GSH'nun oksidasyonu; GSH'nun GSSG'ye dönüşümünde de serbest radikaller aracılık yapar (73).

Glutasyon disülfit redüktaz (11) tarafından katalizlenen reaksiyon ile, GSH transferaz enzimleri için substrat; peroksidaz ve tiyol transferazlar için ise indirgeyici güç sağlanmış olur (73).

Glutasyon'un okside ve redükte formları (GSSG, GSH) bazı endojen ve eksojen bileşikler ile konjuge olurlar (7) ve oluşan S-konjugatların glutamat kalıntıları γ -glutamil transpeptidaz (GGTP) etkisi ile uzaklaştırılırken (3) parçalanmayı takiben meydana gelen dipeptit (6) asetilasyon ile merkapturat'a (8) dönüşür. Merkapturik asit sentezi olarak da adlandırılan bu metabolik yan yol ile asetillenen bazı ilaçların toksik etkileri GSH tarafından ortadan kaldırılır (73).

Glutasyon'un GGTP'in doğal substratı olduğundan dokulardaki düzeyinin düzenlenmesinde bu enzimin rolü olduğu düşünülmektedir. GGTP aktivitesinin yüksek olduğu bir hücrede sentezlenen GSH, enzime doğru hareket ederek hücre zarına bağlı bulunan bu enzim tarafından kullanılır. GGTP aktivitesi düşük olan bir hücrede sentezlenen GSH ise zarlarında GGTP bulunan diğer hücrelere taşınması için dolaşıma verilir. GSH'un karaciğerdeki sentezi ile böbrek dokusundaki GGTP enzimi tarafından yıkımı arasında bir denge bulunmaktadır. Bu denge vasıtasıyla GSH'nun dolaşımında sabit düzeylerde kalması sağlanır (73).

Membranları oksidasyon ve diğer tipteki hasarlardan korumak GSH'un fonksiyonlarının esas amacıdır. Salgılanma olayına bağlı olarak interstisyel sıvıdaki GSH düzeyleri yüksekken, periferel plazmada ise oldukça düşüktür (73).

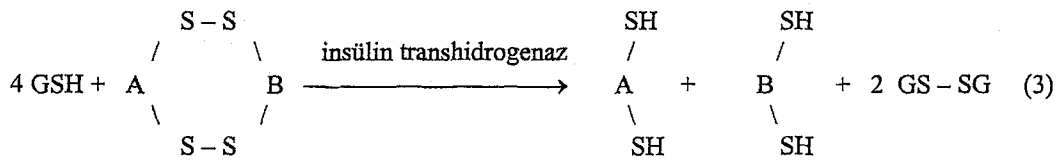
Glutasyon ile ilgili bileşiklerin metabolizması organ içi ve organlar arası döngülerle sürekli oluşurken, bu oluşumda etkili olan en önemli organlar karaciğer, böbrek ve ince bağırsaklardır. Ancak karaciğer zayıf bir transpeptidaz aktivitesine sahip olmasına rağmen plazma ve safra içerisine en fazla GSH salgılayan organdır. GSH salgılanması bir "carrier-mediated" mekanizma ile meydana gelir. Hücre içindeki GSH, böbrek hücreleri tarafından membrana bağlı bulunan GGTP enzimi aracılığı ile hücre dışına atılır. Plazmada GSH düzeyinin artışı, karaciğerden sentezlenme miktarı

ile birlikte, böbrekteki transpeptidaz aktivitesinin yükseldiği durumlarda hücre dışına atılma miktarına bağlanmıştır (73).

Glutasyon'un transportunda rol alan GGTP baskılandığında glutasyonüri meydana gelir. Ayrıca plazma GSH düzeyleri artarken, biyosentezinin oldukça azaldığı da bildirilmiştir (73).

Gözdeki lens dokusu GSH'un en zengin kaynaklarından biridir ve 100 g göz dokusunda 600 mg kadar GSH bulunur. GSH'un oftalmik ve noroftalmik asit gibi bazı analogları göz dokusunda az miktarda da olsa bulunur. Göz dokusunda bulunan GSH analogları sistein ile yer değiştirir. Oftalmik asitte, sistein α -amino-n-bütirik asit yerine; noroftalmik asitte ise alanin aminoasidi sistein yerine geçer. Diğer GSH analogları ise S-sülfoglutasyon ve S-(α , β -dikarboksi etil) sistein'dir. Bu tripeptidlerin biyolojik önemleri henüz bilinmemekle birlikte oftalmik asidin gliksilaz enzimi'nin güçlü bir inhibitörü olduğu ifade edilmiştir (73).

Glutasyon, dokularda geniş yayılım gösteren prostaglandin endoperoksit izomeraz enzimlerinin kofaktörü olarak da görev yapmaktadır. Ayrıca, insülin metabolizmasında da yer alır ve önemi insülin transhidrogenaz enzimi ile ilişkisinden gelir. Bilindiği gibi bu enzim karaciğer dokusunda bulunur ve insülinin inaktivasyonunu sağlar. Enzim kataliz sırasında indirgenmiş GSH'u kullanarak insülinin disülfit bağlarını koparır (Reaksiyon 3) (73).



Glutasyon organizmada bazı biyolojik önemi olan görevler üstlenmiştir. Bu görevler aşağıdaki gibi özetlenebilir;

1. Endojen peroksitler ve serbest radikallerin yıkımı,
2. Proteinlerdeki (-SH) gurubunu koruması,
3. Disülfit değişim reaksiyonlarına katılması,

4. Bazı enzimler için koenzim görevi yapması,
5. Aminoasitlerin membran transportunda yer alması,
6. Zararlı bazı bileşiklerin detoksifikasyonunu sağlaması.

Glutatyon metabolizmasında meydana gelen serbest oksijen türlerinin yıkıcı etkilerine karşı hücreleri koruyan en önemli antioksidan maddelerden birisidir. Hücrelerde GSSG ve GSH formunda bulunur ve antioksidan etkisini bu iki form arasındaki döngüsü sırasında gerçekleştirir. GSH'nun esas reaktif grubu SH grubu, serbest radikallerin ortaklanmamış elektronu ile bağlanarak radikal oluşumunu azaltır. Çevre, metabolizma ve bireye bağlı pek çok faktörün etkisiyle organizmada oksidatif stres artabilir ve buna bağlı olarak ara metabolizmasında serbest radikal oluşumu da artar ve hücreleri bunların yıkıcı etkilerine karşı korumakla görevli GSH düzeyleri de etkilenir. Lipit peroksidasyonunun oluşumu ile hücrelerde oksidatif stres artarken genellikle GSH düzeyleri düşer, bununla birlikte GSSG seviyeleri yükselir (73).

1.6. Lipid Peroksidasyonu

Lipit peroksidasyonu, membranda bulunan fosfolipid, gliserid ve sterol yapısında yer alan doymamış yağ asitlerinin serbest oksijen radikalleri tarafından peroksitler, alkoller, aldehitler, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi çeşitli ürünlere yıkılması reaksiyonudur (1, 46, 65, 70).

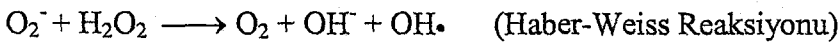
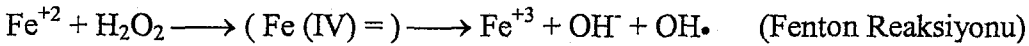
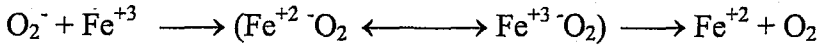
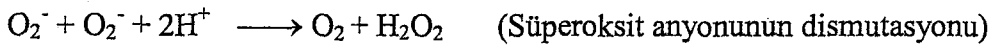
Lipit peroksidasyonuna yol açan serbest radikaller, bir ya da daha çok sayıda eşleşmemiş elektronları içeren moleküllerdir. Eşleşmemiş iki elektronu nedeniyle kararsız yapıda olan moleküller oksijenin redüklenmesi ya da eksitasyonu süperoksit anyonu (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali (OH^\cdot) ve singlet oksijen gibi serbest oksijen radikallerini oluşturmaktadır. Aerobik canlılarda normal metabolik işlemler sırasında serbest oksijen radikalleri kaçınılmaz bir şekilde üretilmektedir. Bu nedenle, normal metabolizma sırasındaki oksido-redüksiyon reaksiyonlarının ürünleri olan serbest oksijen radikallerinin oluşması, biyolojik bir bozukluk olarak değerlendirilmemelidir. Ancak hiperoksi, inflamasyon, iskemi, radyasyon, antibiyotik tedavisi gibi bazı hücrel metabolik durumlarda büyük

oranda üretilen serbest oksijen radikalleri, membranlar, enzimler, nükleik asitler ve polisakkaritler üzerinde toksik etkiler yaparak çeşitli doku hasarlarına neden olmaktadır (46).

Lipit peroksidasyonuna yol açan bu radikaller hem eksojen hemde endojen kaynaklı olabilir. Antibiyotikler, anestezipler, aromatik hidrokarbonlar, fotokimyasal maddeler, sigara dumanı, iskemi, hiperoksi durumu, inflamasyon, hava kirliliği, antineoplastik ajanlar ve radyasyon serbest radikallerin eksojen kaynaklarıdır. Eksojen kaynaklar ya serbest radikaller şeklinde etki yapabilmekte ya da intrasellüler metabolizma ve detoksifikasyon işlemleriyle radikal türlere çevrilebilmektedir. Mitokondriyal elektron transport zinciri, mikrozomal sistem, plazma membranları, fagositoz olayı, peroksizomlar, çeşitli sitozolik enzimler ve bazı küçük moleküller, bu radikallerin endojen kaynaklarını oluşturur (46, 65).

Biyomembranlar ve subsellüler organellerde meydana gelen lipit peroksidasyonu, serbest radikallerin hepsi tarafından stimüle edilebilir. Fakat redoks katalistleri olarak görev yapan metallerin varlığında, bu stimülasyon daha da güçlü olmaktadır. Süperoksit anyonunun kendisi nispeten inert bir ajan olmakla birlikte geçiş metallerinin katalitik etkisiyle son derece aktif $\text{OH}\cdot$ çevrilebilmektedir. O_2^- radikallerinin enzimatik ya da spontan dismutasyonu ile oluşan H_2O_2 de $\text{OH}\cdot$ üretilmesine olanak sağlamaktadır (46, 70).

Bu reaksiyonlar aşağıdaki gibi formüle edilebilir;



1.6.1. Lipit Peroksidasyonu'nun Mekanizması

Biyolojik membranlarda serbest radikallerle uyarılan lipit peroksidasyonu başlama, yayılma ve sonlanma reaksiyonları şeklinde değerlendirilebilir (Şekil 1.6.1.1) (46, 65).

1.6.1.1. Başlama

Peroksidasyon serbest radikallerin doymamış yağ asitlerinin yan zincirindeki metilenik karbonlardan hidrojen atomunu çıkarmak için yaptıkları atakla başlar. Demir ve bakır gibi eşleşmemiş elektronlara sahip olan geçiş iyonlarının varlığı peroksidasyonun başlaması için gereklidir. Hidrojen atomunun zincirden çıkarılması karbon atomu üzerinde eşleşmemiş bir elektron bıraktığında karbon merkezli radikal (L•) oluşumuna yol açar. Bu lipit radikalinin birçok akibeti vardır. Fakat aerobik hücrelerde en sık görülen olay bu radikalın moleküler düzenlenme ile konjuge dien şekline çevrildikten sonra moleküler oksijenle reaksiyona girerek peroksi radikalini (LOO•) üretmesidir (46, 65).

1.6.1.2. Yayılma

Bu LOO• diğer bir LOO• ile birleşebilir ya da membran proteinleri ile etkileşebilir. Fakat en önemlisi membrandaki komşu yan zincirlerden hidrojen atomlarını çıkarabilmeleri ve peroksidatif zincir reaksiyonu yaymalarıdır. Böylece yan zincirden hidrojen atomunun çıkarılması ile her defasında lipit hidroperhidroksitleri (LOOH) ve yeni bir LOO• oluşmaktadır. Peroksidasyon, bir kere başladıktan sonra otokatalitik olarak yayılabilmekte ve yüzlerce yağ asidi zincirleri, LOOH'a çevrilebilmektedir (46, 65).

Yayılma zincirinin uzunluğu birçok faktöre bağlıdır;

1. Membrandaki lipid/protein oranı: Membran proteini ile etkileşen radikalın şansı membranın protein içeriği arttıkça yükselir,

2. Yağ asidi bileşimi radikalın membranda doymamış yağ asidi içeriğinin artması, peroksidasyona olan duyarlılığı arttırmaktadır. Halbuki kolesterolün varlığı peoksidasyonu baskılamaktadır. Normal insan eritrositlerinde lipit peroksidasyonun derecesi ile membran kolesterol konsantrasyonu arasında belirgin bir negatif korelasyon bulunmuştur. Plazma membranında kolesterolün varlığı bazı radikallerin yollarının kesilmesine neden olduğu gibi yağ asidi zinciriyle kolesterolün hidrofobik halkasının etkileşmesi membranın iç yapısını değiştirir,
3. Oksijen konsantrasyonu,
4. E vitamini gibi zincir reaksiyonlarını kıran antioksidanların varlığı: Biyolojik membranlarda sebest radikal toplayıcısı olarak görev yapan E vitamini kendi hidrojen atomunu LOO•'a vererek LOOH'in oluşumuna yol açar. Bu hidroperoksitler daha sonra GSH peroksidaz ile kendilerine karşılık gelen nontoksik hidroksi bileşiklerine ayrılmaktadır.

1.6.1.3. Sonlanma

Demir ve bakır iyonları veya bu iyonların fosfat esterleri ile oluşturduğu basit şelatları ($Fe^{+2}ADP$), hem, hemoglobin ve myoglobin içeren bazı demir proteinleri LOOH'i bozarak peroksidasyonu sonlandırmaktadır. Bu kompleks bozunma reaksiyonlarının ürünleri; etan, pentan gibi hidrokarbon gazları, ROOH, RCOOH, ROH ve RCHO gruplarını içeren kısa zincirli yağ asitleridir (46, 65).

1.6.2. Biyolojik Sistemlerde Lipit Peroksidasyonu'nun Sonuçları

Lipit peroksidasyonu sonucu açığa çıkan ürünler membran permabilitesini ve mikrovizkozitesini önemli ölçüde etkilemektedir. Membranlardaki yağ asitlerinin peroksidasyonu ile oluşan kısa zincirli yağ asitleri ve triptofan, trozin, fenilalanin, histidin, metiyonin ve sistein gibi amino asitleri içeren yapısal proteinlerin oksidasyonu membran permeabilitesinin artmasına ve membrandaki akışkanlığın azalmasına neden olmaktadır. LOOH ve LOO• serbest oksijen radikalleri gibi, aynı

hücrenin bir çok komponentiyle reaksiyona girerek sellüler ve metabolik fonksiyonlar üzerinde toksik etkilerini aşağıdaki şekillerde gösterirler (46, 65, 70);

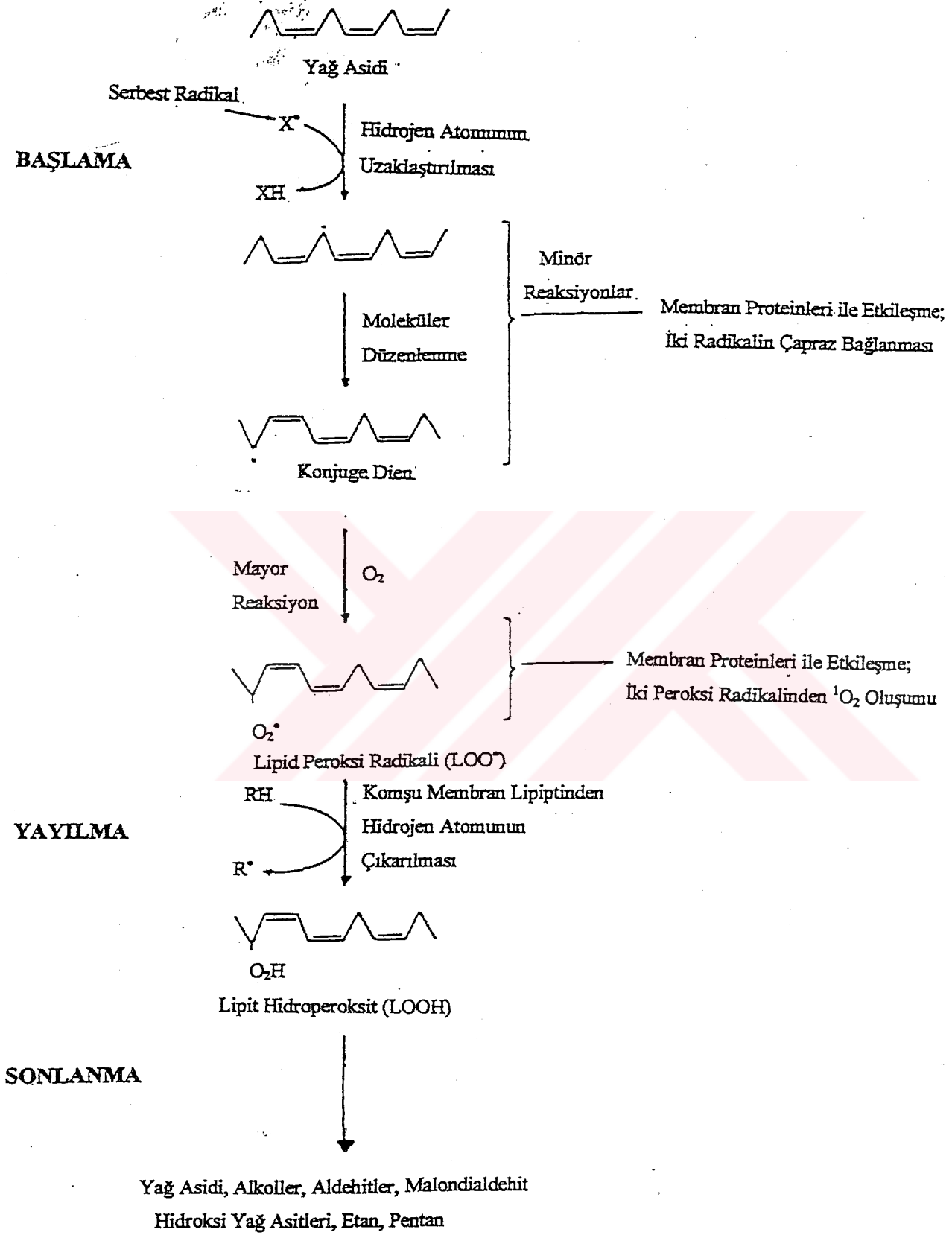
- Membrana bağlı reseptörlerin ve enzimlerin inaktivasyonuna yol açarlar,
- Membranın sekretuvar fonksiyonunun kaybına neden olurlar,
- Trans membran iyon gradientini bozarlar. Ca^{+2} gibi iyonlara karşı non spesifik permeabilityyi arttırmaları,
- Mitokondride oksidatif fosforilasyonu çözerler, mikrozomal enzim aktivitesinde değişikliklere yol açarlar, subsellüler organellerin (lizozim gibi) bütünlüğünün kaybolmasına neden olurlar,
- Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu, malondialdehit (MDA) üretimi ile sonuçlanmaktadır. Membran komponentlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağlanmalarına neden olan MDA deformabilite, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzeyindeki determinantların agregasyonu gibi iç membranın bazı özelliklerini değiştirmektedir. Ayrıca, diffüze olabildiğinden DNA'nın nitrojen bazları ile reaksiyona girmektedir. MDA bu özelliklerinden dolayı mutajenik genotoksik ve karsinojenik bir bileşiktir.

Lipofuskin diye adlandırılan yaşlılık pigmentleri muhtemelen lipit peroksidasyonu sırasında MDA'nın lipit ve proteinle reaksiyona girmesi sonucu oluşan konjuge bazlarının lizozomal akümüasyonu ile meydana gelmektedir (64, 70).

Yüksek konsantrasyonda doymamış yağ asitleri, moleküler oksijen ve güçlü bir metal katalisti içeren eritrositlerin peroksidasyona uğramaları muhtemeldir. Eritrosit membranında fosfolipidlerin yapısında bulunan doymamış yağ asitlerinin allilik hidrojenleri, azalmış bağ dissosiyasyon enerjisinden dolayı oksidatif hasara karşı özellikle duyarlıdır. Serbest radikaller peroksidasyonun yanısıra membran bütünlüğünün bozulmasına eritrosit enzimlerinin inaktivasyonuna ve hemoglobinin molekülünün denaturasyonuna neden olmaktadır. Çekirdeği olmayan olgun eritrosit, protein sentezleyemediği için hasar görmüş komponentleri yerine koyamamaktadır. Böylece oksidatif hasar, eritrositlerde sürekli defekti uyarmakta hemolitik hastalıklara ve yaşlanmaya neden olmaktadır (1,65).

Peroksidasyon sonucu oluşan yağ asidi hidroperoksitlerinin başka bir toksik etkisi de araşidonik asit metabolizmasında görülmektedir. Araşidonik asit, prostaglandin, prostasiklin, tromboksan ve lökotrien gibi biyolojik olarak aktif ürünlere çevrilmektedir. Prostaglandin ve lökotrienlerin biyosentezinde ara bileşik olarak ortaya çıkan hidroperoksitler, tromboksan ve prostasiklin sentezinden sorumlu sentez enzimlerini farklı feedback mekanizmalarla inhibe etmektedir. Tromboksan ve prostasiklin etki bakımından birbirinin antagonisti olduğundan prostasiklin/tromboksan oranının düzenlenmesi bir çok vasküler hastalığın gelişmesinde önemli bir faktör olarak kabul edilmektedir (1, 46, 70).





Şekil 1.6.1.1. Biyomembranlarda serbest radikallerin uyardığı lipid peroksidasyonu

2. MATERİYAL VE METOT

2.1. MATERİYAL

2.1.1. Hayvan Materyali

Bu araştırmada, Kafkas Üniversitesi Araştırma Uygulama iftliği'nden temin edilen canlı ağırlık (c.a.) ortalamaları 57 kg olan, 3-4 yaşlarında 32 Tuj koyunu ve 4 koç kullanıldı. Gruplar canlı ağırlık ve yaş ortalamaları birbirine yakın hayvanlardan oluşturuldu ve her grupta 8 tane olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Ayrıca, koyunların gebe kalmalarında kolardan kaynaklanacak herhangi bir hata payını ortadan kaldırmak için kolara spermatolojik analizler yaptırıldı.

2.1.2. Yem Materyali

Araştırmada kullanılan yem maddeleri; piyasadan temin edilen konsantre yemler (Tablo 2.1.2.1), Kafkas Üniversitesi Araştırma Uygulama iftliği yem ünitesinde hazırlanarak kaba yemlerle (doğal olarak kurutulmuş ot) birlikte depolandı. Koyunlara yem ve su *ad libitum* olarak verildi. Araştırmaya başlamadan önce koyunlar i ve dış parazitlere karşı ilalandı.

Tablo 2.1.2.1. Deneme Hayvanlarına Verilen Rasyonun % Bileşimi
Table 2.1.2.1. % diet compound of feed to be given experimental animals.

<u>Yem Maddeleri</u>	<u>(%)</u>
Melashlı Şeker pancarı	65.0
Kuru yonca	16.2
Saman	16.1
Nişasta	1.0
Üre	1.0
*Mineral karması	0.1
**Vitamin karması	0.5
Sodyum sülfat	0.1

* = 100 kg yemde : 0.0161 g CaI_2 , 1.492 g ZnO, 0.625 g CuO, 0.0217 g $CuCO_3$, 2.272 g $MnCO_3$, 225 g $FeSO_4$.

** = 100 kg yemde : 5 g AD_3 , 0.416 g B_1 , 1.25 g B_2 , 0.625 g B_6 , 1.5 g calpan, 2 g niasin, 0.2 g B_{12} , 0,25 g biotin.

***Mineral ve vitamin karmasını oluşturan katkı maddeleri Roche Müstahzarları Sanayi ve A.Ş.(İstanbul) firmasından temin edilmiştir.

2.1.3. Çalışmada Kullanılan Aletler

- Spektrofotometre (Tecan Spectra III, A 5082, Uniequip, Austria)
- Vorteks (Velp Scientifica, ZX³, Italy)
- Santrifij (Herous, Germany)
- Çalkalayıcı (Heidolph promax 2020, Germany)
- Hassas terazi (Precisa, 205A SCS, Switzerland)
- pH metre (Orion, 420 A, USA)
- Manyetik karıştırıcı (Nüve, MK 318, Türkiye)
- Gamma counter (Mini Instruments Burnham on Crouch, England)
- Derin dondurucu (Arçelik, 2560, Türkiye)
- Buzdolabı (Arçelik, Türkiye)
- Ayarlanabilir Otomatik pipetler (0,5-10 μ l, 10-100 μ l, 100-1000 μ l, Ependorf, Varipette 4710, Germany)
- Isısı ayarlanabilir su banyosu (Clifton, England)

2.1.4. Çalışmada Kullanılan Kimyasal ve Sarf Malzemeleri

- All-trans retinol (Sigma)
- β -Karoten (Merck)
- Freund adjuvant incomplete (Sigma)
- Ethanol (Merck)
- n-Hekzane (Merck)
- GSH (Sigma)
- Bütil hidroksi toluen (Merck)
- P₄ standartları (Progesterone Bridge Kit, Italy)
- I¹²⁵- P₄ (işaretli hormon) (Progesterone Bridge Kit, Italy)
- İmmunglobulin kaplı tüpler (Progesterone Bridge Kit, Italy)
- TBA (Sigma)
- TCA (Merck)
- DTNB (Sigma)
- Perklorik asid %60 (Merck)
- 1,1,3,3 tetraethoksipropan (Sigma)
- Trisma (Merck)
- K₂HPO₄ (Merck)
- KH₂PO₄ (Merck)
- KCl (Merck)
- Vakumlu ve EDTA'lı kan alma tüpleri ve iğneleri (MN-2138M)
- 1,5 ml'lik endorf mikrosantrifüj tüpleri
- Otomatik pipet uçları
- 10 ml'lik cam ve polietilen santrifüj tüpleri

2.1.5. Çalışmada Kullanılan Çözeltiler

2.1.5.1. GSH Ölçümünde Kullanılan Çözeltiler

2.1.5.1.1. 0.1 M Potasyum Fosfat Tamponu / 0.15 M KCl çözeltisi (pH : 7.4)

- 17.418 g K_2HPO_4
- 13.609 g KH_2PO_4
- 0.15 M KCl (11.475 g/L çözeltisinde 1 L'ye tamamlanır)
- Çözeltinin pH'ı NaOH ile manyetik karıştırıcıda pH: 7.4'e ayarlanır

2.1.5.1.2. 5 μ M DTNB Çözeltisi (Di Tiyobis Nitro Benzen)

- 99 mg DTNB
- Distile su ile 500 ml'ye tamamlanır

2.1.5.1.3. GSH Standartları

0.12, 0.24, 0.48, 0.96, 1.92 μ mol/ml GSH olacak şekilde distile suda deney gününde hazırlandı.

2.1.5.1.4. 5 μ M EDTA Çözeltisi

2.1.5.1.5. % 5' lik TCA Çözeltisi (Trikloraasetik asit)

- 5 ml TCA
- Distile su ile 100 ml'ye tamamlandı

2.1.5.2. MDA Ölçümünde Kullanılan Çözeltiler

2.1.5.2.1. Fosfat Tamponu ile Tamponlanmış Serum Fizyolojik (pH 7.4)

- 8.1 g NaCl,
- 2.302 g Na_2HPO_4
- Distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı

2.1.5.2.2. BHT Çözeltisi (% 0.88) :

- 88 mg BHT tartılıp,
- 10 ml mutlak alkol içinde eritilir.

2.1.5.2.3. TCA Çözeltisi (% 30) :

- 30 g TCA
- Distile su ile 100 ml'ye tamamlandı

2.1.5.2.4. EDTA Çözeltisi (0.1 M) :

- 37.224 g EDTA- $\text{Na}_2\text{H}_2\text{O}$ tartılıp
- Distile su ile 1 lt'ye tamamlanır

2.1.5.2.5. TBA Çözeltisi (% 1'lik) :

- 1 g TBA
- 0.05 N NaOH ile 100 ml'ye tamamlanır

2.1.5.2.6. NaOH Çözeltisi (0.05 N) :

- 2 g NaOH
- Distile suda ile 1 lt'ye tamamlanır

2.1.5.3. Progesteron Ölçümünde Kullanılan Çözeltiler**2.1.5.3.1. Progesteron Standartları (Liyofilize)**

0, 0.3, 1.5, 4.5, 20, 70 ng/ml progesteron koruyucu olarak sodyum azit içeren serum içinde standart çözeltileri, 0 ng/ml'lik standarda 1 ml , diğer standartların her birine 0.5 ml deiyonize su katılarak hazırlanmıştır.

2.1.5.3.2. Progesteron [I-125] Reagent

Koruyucu olarak sodyum benzoat içeren protein buffer içinde [I-125]'le işaretli progesteron bulunan 55 ml'lik şişe.

2.1.5.3.3. Anti-Progesteron Kaplı Tüpler

Herbiri tavşan anti-progesteron immunglobulini ile kaplanmış tüpler.

2.1.5.3.1. Progesteron Kontroller (Liyofilize)

Koruyucu olarak sodyum azit içeren serum içinde yüksek (1.1 ± 0.3 ng/ml) ve düşük (10 ± 3 ng/ml) konsantrasyonlarda progesteron bulunan viallere 0.5 ml deiyonize su katılarak hazırlandı.

2.2. METOT

Araştırma Ekim-Mart ayları arasında yapıldı. Uygulanan metodların rutin hale getirilmesi için, araştırmaya başlamadan önce gerekli ön çalışmalar yapıldı. Araştırmadan daha iyi sonuçların alınması amacıyla, en duyarlı metotların seçilmesine çalışıldı.

2.2.1. Uygulanan Genel Metot

Araştırma 4 grup üzerinde yürütülmüş ve tüm gruptaki hayvanlara yem ve su *ad libitum* olarak verilmiştir. Hayvanlar kontrol altına alındıktan sonra tüm hayvanların östrusu sinkronize edildi. Bu amaçla 60 mg medroksiprogesteron asetat (MPA) içeren Senkron süngerler (Vetimax, Hollanda) hayvanların vajinasına yerleştirildi ve 14 gün sonra süngerler çıkarılarak 500 I.U. PMSG (Synchroject, SIS) kas içi (İ.M.) yolla enjekte edildi. Bu uygulamadan 24 saat sonra her gruba bir koç katılarak koyunlarla çiftleşmeleri sağlandı.

I. Grup (Kontrol Grubu, n = 8) : Kontrol grubu koyunlara deneme gruplarındaki koyunlara yapılan uygulama ile eşitlik sağlanması için koç katılmasından 15 gün önce ve gebelik süresince doğuma kadar aynı miktarda ve sürelerde freud adjuvant İ.M. yolla enjekte edildi.

II. Grup (A vitamini Grubu, n = 8): Her koyuna 200 000 IU A vitamini (63.16 mg all-trans retinol/ 2 ml freud adjuvant incomplete'de çözüldü), koç katılmasından 15 gün önce ve gebelik süresince doğuma kadar 30 gün ara ile İ.M. yolla enjekte edildi.

III. Grup (β -karoten Grubu, n = 8): Her koyuna β -karoten 8 mg/ kg canlı ağırlık (c.a.) olacak şekilde 2 ml freud adjuvant içinde eritilerek koç katılmasından 15 gün önce ve gebelik süresince doğuma kadar 30 gün ara ile İ.M. yolla enjekte edildi.

IV. Grup (A vitamini + β -karoten (Kombine) Grubu, n = 8): Her koyuna 100 000 IU A vitamini (63.16 mg all-trans retinol/ 2 ml freud adjuvant) ve β -karoten 4 mg / kg c.a./ 2 ml freud adjuvant koç katılmasından 15 gün önce ve gebelik süresince doğuma kadar 30 gün ara ile İ.M. yolla enjekte edildi.

2.2.2. Kan Örneklerinin Alınması

Araştırmanın başından itibaren koyunlardan enjeksiyonun 1. ve 15. günleri ile doğumdan 12 saat sonra plazma A vitamini, β -karoten, MDA ve eritrosit GSH düzeylerini belirlemek için; ayrıca plazma progesteron düzeyleri için de bundan başka çiftleşmeden sonraki 20 gün boyunca iki gün arayla ve doğuma kadar 15 gün ara ile V. jugularis'ten kan örnekleri EDTA'lı tüplere alındı. Bununla birlikte, yeni doğan kuzuların plazma A vitamini ve β -karoten düzeylerini belirlemek için de doğumdan 15 gün sonra kuzuların V. jugularis'lerinden kan numuneleri yine EDTA'lı tüplere alındı. Alınan kanlar 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra üstte kalan plazma kısmı kapaklı polipropilen tüplere alınarak plazmada A vitamini, β -karoten ve MDA düzeyleri belirleninceye kadar $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' de derin dondurucuda saklandı. Hemolizat hazırlanması metodlarda belirtildiği şekilde yapıldı.

2.2.3. A Vitamini ve β -Karoten Düzeylerinin Saptanması

A vitamini ve β -karoten düzeylerini belirlemek için Suzuki ve Katoh'un (107) tanımladığı spektrofotometrik yöntem kullanıldı.

2.2.3.1. Prensip

Askorbik asitle presipite edilen plazma lipoproteinlerinden n-hekzan ilavesi ile A vitamini ve β -karoten'in ayrılması esasına dayanır.

2.2.3.2. Metot

1. Test tüpüne 1 ml plazma konulur,
2. Tüpün içine ilave olarak % 1'lik askorbik asit konulur ve karıştırılır,
3. Bunun üzerine 2 ml n-hekzan konulur 5 dakika karıştırılır,
4. 3 000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilir ve üstteki hekzan fazından 2 ml alınarak temiz bir tüpe konulur,
5. 325 nm'de retinol'ün, 453 nm'de β -karoten'in absorbansı belirlenir.
6. Stok çözeltilerden 0, 0.5, 1, 1.5, 2.0, 3.0 μg /dl konsantrasyonlarda çalışma çözeltileri hazırlanarak standart eğri çizildi. Belirlenen absorbans değerleri bu standart eğriden μg /dl olarak hesaplandı.

2.2.4. Progesteron Düzeyinin RIA ile Belirlenmesi

Testler RIA-BRIDGE KIT (BIOCHEM IMMUNOSYSTEMS, Italia)'te belirtildiği şekilde yapıldı.

2.2.4.1. Prensip

Standartlar veya serumlardan gelen progesteron (bağlanmamış antijenler), 125-I (işaretlenmiş antijen) progesteron ile belirli miktardaki antikor bağlanma bölgelerinde ilişkiye girerler. Antikor tarafından bağlanan 125-I progesteron miktarı numune, standart ve kontrolde bulunan progesteron ile ters orantılıdır. Antikora

bağlanan işaretli hormon miktarı ile örnekte bulunan işaretsiz hormon miktarı arasında ters bir ilişki vardır. Hangisinin konsantrasyonu yüksek ise antikora daha çok bağlanacaktır. Reaksiyon sonrası en önemli işlem, bağlı ve serbest kısımların birbirinden ayrılmasıdır. Bu ayırma işleminden sonra antikora bağlı olan işaretli hormon ölçülerek numunedeki hormon miktarı standart eğriden hesaplanır. Standart eğri, hormonun bilinen miktarları işaretli hormon ve antikor ile reaksiyona sokularak, standart hormon konsantrasyonu apsise (x eksenine) bağlı işaretli hormon miktarı ordinata (y eksenine) işaretlenerek elde edilir. Bu eğri bilinen miktarlardaki işaretsiz hormonun bulunduğu ortamda ne kadar işaretli hormonun bağlanabildiğini gösterir.

2.2.4.2. Metot

1. 25 µl standart, kontrol ve bilinmeyenlerden kaplı tüplerin içine pipetlenir,
2. 500 µl progesteron [I-125] reagent tüm tüplere ilave edilir,
3. Tüpler nazikçe sallanır,
4. Tüm tüpler 37 ± 2 °C'de 60-70 dakika su banyosunda inkübe edilir,
5. İnkübasyon sonunda total ölçüm tüpü hariç tüm tüplerdeki sıvı dökülerek, tüpler bir absorbant kağıt üzerinde iyice kurutulur,
6. Tüm tüpler gamma counter da 1 dakika içinde ölçülür.

Semi-log grafik kağıdına çizilen standart eğriden miktar taini ng/ml olarak yapılır. Testte kontrol değerlerinin deney içi ve deneyler arası varyasyon katsayısı 1.1 ng/ml'nin sırasıyla %7 ve %11, 10 ng/ml'nin ise %5 ve %9 olarak belirlendi.

2.2.5. Plazmada MDA Tayini

Plazmada MDA düzeylerini belirlemek için Ohkawa ve ark.'nın (78) tanımladığı spektrofotometrik yöntem kullanıldı.

2.2.5.1. Prensip

pH'nun 3.4 olduğu aerobik bir ortamda TBA ile plazmanın 100 °C'de inkübasyonu, lipit peroksidasyonunun sekonder bir ürünü olan MDA'yi oluşturmaktadır. Oluşan MDA, TBA ile pembe renkli bir kompleks yapar. Pembe rengin 532 nm'de spektrofotometrik olarak ölçümü ile lipit peroksidasyonu saptanır.

2.2.5.2. Metot

0.2 ml numune üzerine 0.8 ml fosfat tamponu, 0.025 ml BHT ve 0.5 ml % 30'luk TCA eklenir. Tüpler vorteks ile karıştırılır ve iki saat buzda bekletilir. Daha sonra 2000 rpm de 15 dakika santrifüj edilir. Süpernatantdan 1 ml alınarak başka bir tüpe aktarılır. Üzerine 0.075 ml 0.1 M'lık EDTA ve 0.25 ml % 1' lik TBA eklenir. Tüpler karıştırılır ve kaynar su banyosunda 15 dakika bekletildikten sonra spektrofotometrede 532 nm de absorbansları okunur

Standart eğri çizimi için 1,1,3,3 tetraethoxypropane'den 10 µl alınarak 10 ml absolut ethanolde çözülerek + 4 °C'de koyu bir şişede saklandı. Bu stok çözeltiden 0, 0.5, 1, 2, 4, 8 nmol/ml konsantrasyonlarında çalışma çözeltileri hazırlanarak standart eğri çizildi. Belirlenen absorbans değerleri MDA standart eğrisinden nmol/ml olarak hesaplandı.

Bir antioksidan olan BHT ölçüm sırasında hatalı yüksek TBA reaktivitesi ile sonuçlanabilecek MDA oluşumunu önlemek için kullanıldı.

2.2.6. Eritrositte GSH Tayini

Eritrositte GSH düzeylerini belirlemek için Sedlak ve Lindsay'in (103) tanımladığı spektrofotometrik yöntem kullanıldı.

2.2.6.1. Prensip

GSH'nın sülfidril grubunun asitte çözünerek, tiyol grubunun enzimatik veya kimyasal işlemler ile ölçülmesi bu bileşiğin miktar tayininin temelini oluşturur. Belirlenen absorbans değerleri GSH standart eğrisinden $\mu\text{mol/ml}$ red blood cell (RBC) olarak hesaplandı.

2.2.6.2. Metot

	<u>Kör Tüpü</u>	<u>Deney Tüpü</u>
Hemolizat	-	100 μl
Fosfat Tamponu	1	1 ml
DTNB	125	125 μl
Distile Su	100	- μl

Yukarıda belirtildiği şekilde çalışıldı ve karışımlar 3-4 dakika içerisinde 412 nm'de okundu.

GSH standartları da yukarıdaki protokol gerçekleştirilerek çalışıldı ve standart eğri çizilerek miktar tayini yapıldı.

2.2.7. İstatistik Hesaplamalar

İstatistiksel hesaplamalarda her grubun zaman dilimlerindeki değişimlerini belirlemek amacıyla tüm zaman dilimlerinde deneme grupları kontrol grubuna göre Duncan Multiple Range testi kullanılarak kıyaslanmıştır. Sonuçlar, ortalama \pm standart hata ($\bar{X} \pm \text{SE}$) olarak belirlendi ve $p < 0.05$ istatistiksel farklılığı gösterdi.

Tüm hesaplamalar SPSS (6.0-1993) paket programı kullanılarak yapıldı.

3. BULGULAR

3.1. Gebe Koyunlarda Plazma A Vitamini Düzeylerinin Belirlenen Zaman Birimlerinde Gruplara Göre Değişimi

Tüm grupların gebelik öncesi, gebelik ve doğum sonrası A vitamini düzeyleri ve bunlar arasındaki istatistiksel önemlilikler Tablo 3.1.1 ve Grafik 3.1.1'de gösterilmiştir.

Kontrol grubunun A vitamini düzeylerinin gebeliğin ilerlemesi ile birlikte azaldığı; fakat bu düzeylerin deneme gruplarında kontrol grubuna göre oldukça yüksek ($p<0.001$) olduğu saptanmıştır. Diğer taraftan, enjeksiyondan 1 gün sonra deneme gruplarının A vitamini düzeylerinde gözlenen belirgin yükselişin ($p<0.001$), 15. günde azalarak kontrol değerlerine yakın bir düzeye düştüğü belirlenmiştir. Bununla birlikte, gebeliğin ikinci ayından sonra A vitamini düzeylerinde deneme grupları ile kontrol grubu arasında daha da belirginleşen bir fark ($p<0.001$) olduğu gözlenmiştir.

Tüm grupların A vitamini düzeyleri doğumdan sonra belirgin azalış göstermekle birlikte, bu azalışın kontrol grubunda deneme gruplarına göre daha belirgin ($p<0.001$) olduğu saptanmıştır.

3.2. Gebe Koyunlarda Plazma β -Karoten Düzeylerinin Belirlenen Zaman Birimlerinde Gruplara Göre Değişimi

Tüm grupların gebelik öncesi, gebelik ve doğum sonrası β -karoten düzeyleri ve bunlar arasındaki istatistiksel önemlilikler Tablo 3.2.1 ve Grafik 3.2.1'de sunulmuştur.

Deneme gruplarının β -karoten düzeylerinde enjeksiyondan 1 gün sonra tespit edilen yükselişin ($p<0.001$), 15. günde azalarak kontrol düzeylerine kadar düştüğü belirlenmiştir. Bununla birlikte, enjeksiyondan 1 gün sonraki en yüksek β -karoten düzeylerine sırasıyla β -karoten, kombine ve A vitamini gruplarında rastlanmıştır. A vitamini düzeylerinde olduğu gibi; gebeliğin ilerlemesi ile birlikte kontrol grubunun β -karoten düzeylerinde de deneme gruplarına kıyasla belirgin düşüşler ($p<0.001$) saptanmıştır.

Tüm grupların β -karoten düzeylerinin doğumdan sonra önemli miktarda düşüş gösterdiği, ancak, deneme gruplarının β -karoten düzeylerinin kontrol grubundan daha yüksek ($p<0.001$) olduğu tespit edilmiştir.

3.3. Kuzularda Plazma A Vitamini ve β -Karoten Düzeylerinin Belirlenen Zaman Birimlerinde Gruplara Göre Değişimi

Tüm gruplardaki kuzuların doğumdan 15 gün sonraki A vitamini ve β -karoten düzeylerindeki değişimler Tablo 3.3.1 ve Grafik 3.3.1'de verilmiştir.

Tüm gruplardaki kuzuların doğumdan 15 gün sonraki A vitamini düzeyleri karşılaştırıldığında, sadece A vitamini ve β -karoten grupları ile kontrol grubu arasında; β -karoten düzeyleri karşılaştırıldığında ise, A vitamini ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark ($p<0.05$) bulunmuştur.

3.4. Kuzuların Canlı Ağırlıklıklarının Belirlenen Zaman Birimlerinde Gruplara Göre ve Grup İçi Değişimi

Kuzuların doğum ve doğumdan 1 ile 2 hafta sonraki c.a.'larının gruplara göre değişimi Tablo 3.4.1 ve Grafik 3.4.1'de, bu değerlerin aynı zaman birimlerinde her bir grubun kendi içerisinde gözlenen değişimleri ise Tablo 3.4.2 ve Grafik 3.4.2'de sunulmuştur.

Deneme gruplarındaki kuzuların doğumdan 1 hafta sonraki c.a.'ları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sadece β -karoten ve kombine gruplarında ($p<0.01$); yine bu grupların doğum ve 2. hafta c.a.'ları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ise, tüm gruplarda anlamlı bir artış ($p<0.05$) tespit edilmiştir.

Tüm gruplardaki kuzuların doğum ve doğumdan 1 ve 2 hafta sonraki c.a.'ları grupların kendi içerisinde belirlenen zaman birimlerinde karşılaştırıldığında istatistiksel olarak oldukça anlamlı artışlar ($p<0.001$) tespit edilmiştir.

3.5. A Vitamini ve β -Karoten Enjeksiyonlarının Yavru Verimi ve İlk Tohumlamada Gebe Kalma Oranı Üzerine Etkisi

A vitamini ve β -karoten enjeksiyonlarının yavru verimi üzerine etkisi Tablo 3.5.1'de ilk tohumlamada gebe kalma oranı üzerine etkisi ise Tablo 3.5.2'de verilmiştir.

Deneme gruplarının yavrulama oranı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında A vitamini ve kombine grubunda %140 gibi önemli bir oran belirlenmekle birlikte, yavrulama oranı en yüksek olan grubun %175'lik oran ile β -karoten grubu olduğu tespit edilmiştir. Aynı şekilde ikiz yavru sayısı en yüksek olan grubun da β -karoten grubu olduğu belirlenmiştir.

Kontrol, A vitamini, β -karoten ve kombine gruplarının ilk tohumlamada gebe kalma oranları sırasıyla % 87.5, % 60, % 100, % 80 olarak belirlenmiştir. Bu nedenle, ilk tohumlamada gebe kalma oranı en yüksek olan grubun β -karoten grubu olduğu tespit edilmiştir.

3.6. Gebe Koyunlarda Eritrosit GSH Düzeylerinin Belirlenen Zaman Birimlerinde Gruplara Göre Değişimi

Tüm grupların gebelik öncesi, gebelik ve doğum sonrası eritrosit GSH düzeyleri ve bunların arasındaki istatistiksel önemlilikler Tablo 3.6.1 ve Grafik 3.6.1'de verilmiştir.

Gebeliğin ilerlemesiyle birlikte eritrosit GSH düzeylerinde belirgin düşüşler gözlenmekle birlikte, bu değerler doğumdan sonra deneme gruplarında kontrollere kıyasla anlamlı şekilde yüksek ($p<0.001$) bulunmuştur.

Gebelik öncesinde ve gebeliğin 30. gününe kadar kontrol grubu ile deneme gruplarının GSH düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0.05$). Ancak, gebeliğin 30. gününden itibaren kontrol grubunun eritrosit GSH düzeylerinde deneme gruplarındakine göre belirgin bir düşüş ($p<0.001$) tespit edilmiştir. Bununla birlikte, gebeliğin ilerlemesiyle birlikte tüm gruplar arasında en yüksek GSH düzeylerine β -karoten grubunda rastlanmıştır. Ayrıca, enjeksiyondan 1 gün sonra kontrollere kıyasla deneme gruplarının GSH düzeylerinde önemli bir fark gözlenmezken, 15 gün sonra oldukça anlamlı bir artış ($p<0.001$) bulunmuştur. Bu artış sırasıyla en fazla β -karoten, A vitamini ve kombine gruplarında saptanmıştır.

Doğumdan sonra deneme gruplarının GSH düzeyleri kontrol grubuna göre oldukça önemli bir artış ($p<0.001$) göstermiştir.

3.7. Gebe Koyunlarda Plazma MDA Düzeylerinin Belirlenen Zaman Birimlerinde Gruplara Göre Değişimi

Tüm grupların gebelik öncesi, gebelik ve doğum sonrası plazma MDA düzeyleri ve bunların arasındaki istatistiksel önemlilikler Tablo 3.7.1 ve Grafik 3.7.1'de verilmiştir.

Gebeliğin ilerlemesiyle birlikte plazma MDA düzeylerinde yükselme belirlenmekle birlikte, bu değerlerin doğumdan sonra kontrol grubunda deneme gruplarına göre belirgin şekilde yüksek ($p<0.001$) olduğu tespit edilmiştir.

Gebelik öncesinde ve gebeliğin 30. gününe kadar kontrol grubu ile deneme gruplarının MDA düzeylerinde istatistiksel olarak önemli bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$). Diğer taraftan gebeliğin 30. gününden itibaren deneme gruplarının MDA

düzeylerinde kontrollere kıyasla azalış ($p<0.001$) gözlenmekle birlikte, bu azalışın β -karoten grubunda daha belirgin olduğu saptanmıştır. Ancak, gebeliğin 60. gününden sonra kontrol grubunun MDA düzeylerinde tespit edilen belirgin yükseliş deneme gruplarında gözlenmemiştir. Ayrıca, enjeksiyonlardan 1 gün sonra deneme gruplarının MDA düzeylerinde bir fark gözlenmezken, 15 gün sonra azalma tespit edilmiştir. Bu azalma sırayla en fazla β -karoten, A vitamini ve kombine gruplarında gözlenmiştir.

Tüm grupların MDA düzeylerinde doğumdan sonra belirgin bir düşme gözlenmekle birlikte, bu düşüşün deneme gruplarında kontrol grubuna göre daha belirgin ($p<0.001$) olduğu gözlenmiştir.

3.8. Koyunların Plazma Progesteron Düzeylerinin Belirlenen Zaman Birimlerinde Gruplara Göre Değişimi

Tüm grupların bir gebelik öncesi, bir östrus dönemi, gebelik ve doğum sonrası plazma progesteron düzeyleri ve bunların arasındaki istatistiksel önemlilikler Tablo 3.8.1 ve Grafik 3.8.1'de verilmiştir.

Senkronizasyon yapıldıktan sonra bir östrus dönemi boyunca progesteron düzeylerinde, deneme gruplarında kontrol grubuna göre daha fazla artış belirlenmiştir. Ayrıca gebelik süresince de gebeliğin ilerlemesi ile birlikte progesteron düzeylerinde artış belirlenmiştir.

Koç katımından 7 gün sonrasına kadar grupların progesteron düzeyleri arasında belirgin bir fark gözlenmezken, gerek yapılan enjeksiyonlara gerekse gebeliğin ilerlemesine bağlı olarak 7. ve 9. günlerden itibaren tüm deneme gruplarının progesteron düzeylerinde kontrollere göre anlamlı bir artış ($p<0.001$) tespit edilmiştir. Bununla beraber en önemli artışa ($p<0.001$) β -karoten grubunda rastlanılmıştır.

Doğumdan sonra ise tüm grupların progesteron düzeyleri belirgin şekilde düşerek normal düzeylerin altına inmiştir.

Tablo 3.1.1. A Vitamini ve β -Karoten Enjeksiyonları Yapılan Tuj Koyunlarında Gebelik Öncesi, Gebelik ve Doğum Sonrası Plazma A Vitamini Düzeyleri ($\mu\text{gr/dl}$).

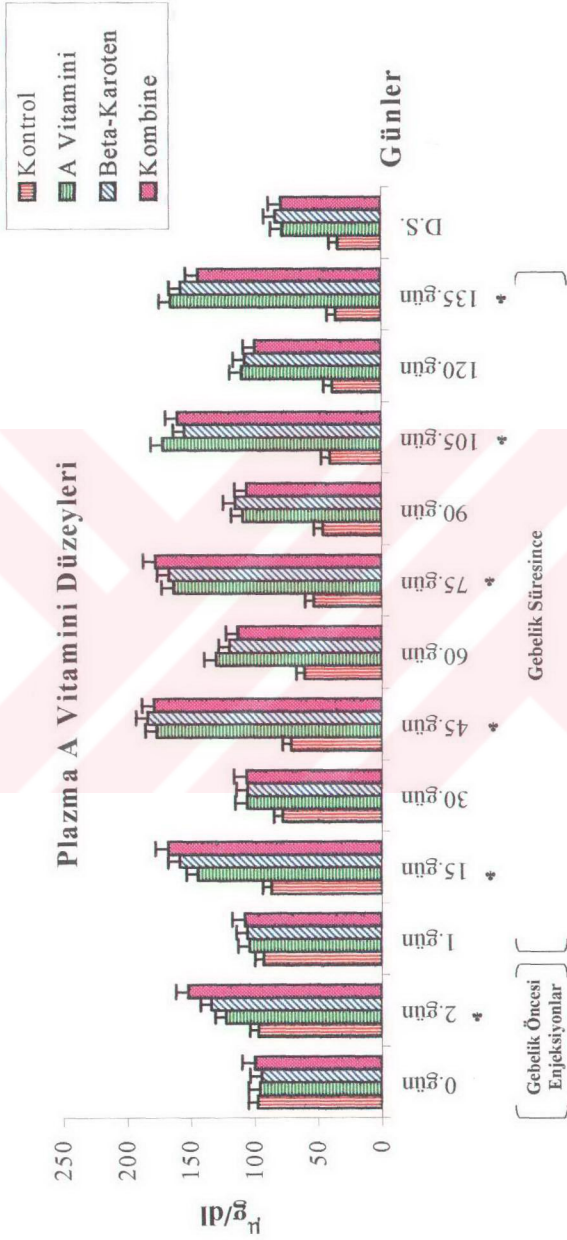
Table 3.1.1. Levels of Plasma Vitamin A before pregnancy, during pregnancy and after parturition in Tuj Sheeps Injected with Vitamin A and β -carotene ($\mu\text{gr/dl}$).

		GRUPLAR			
		Kontrol n=7	A Vitamini n=5	β -Karoten n=8	Kombine n=5
GEBELİK ÖNCESİ	0. gün	98,16 \pm 1,56	96,15 \pm 1,62	94,75 \pm 1,62	100,57 \pm 1,19
	2. gün*	97,30 \pm 0,47	122,51 \pm 2,50**	134,15 \pm 1,99**	152,46 \pm 3,67**
GEBELİK SÜRESİNCE	1. gün	93,16 \pm 0,86	104,35 \pm 0,97*	105,69 \pm 1,39*	108,23 \pm 2,86*
	15. gün*	87,35 \pm 0,60	144,85 \pm 4,08*	159,39 \pm 3,95*	168,56 \pm 5,18*
	30. gün	78,39 \pm 1,24	106,52 \pm 1,02*	105,80 \pm 0,99*	106,94 \pm 2,33*
	45. gün*	71,74 \pm 1,66	177,37 \pm 2,01**	184,10 \pm 2,18**	179,14 \pm 2,06**
	60. gün	60,92 \pm 1,26	130,41 \pm 4,98**	119,91 \pm 1,20**	113,38 \pm 2,78**
	75. gün*	53,87 \pm 1,52	163,94 \pm 3,93**	167,61 \pm 2,37**	178,05 \pm 3,42**
	90. gün	46,71 \pm 1,28	109,55 \pm 2,66**	115,63 \pm 2,13**	106,47 \pm 1,84**
	105. gün*	40,53 \pm 1,71	172,18 \pm 3,63**	154,99 \pm 4,36**	160,37 \pm 3,96**
	120. gün	38,78 \pm 1,98	110,14 \pm 2,29**	107,54 \pm 1,89**	99,24 \pm 1,91**
	135. gün*	35,95 \pm 2,10	165,41 \pm 4,70**	158,05 \pm 5,59**	144,33 \pm 8,14**
D.S.		34,12 \pm 1,99	77,85 \pm 1,89**	83,53 \pm 0,89**	79,03 \pm 0,62**

* : $p < 0,01$, ** : $p < 0,001$

(Kıyaslamalarda Duncan Multiple Range Testi Uygulanmıştır)

*: Enjeksiyonlardan bir gün sonra, D.S.: Doğumdan 12 saat sonra



Grafik 3.1.1. Koyunların Gebelik Öncesi, Gebelik ve Doğum Sonrası Plazma A Vitamini Düzeyleri.

D.S.: Doğum Sonrası, *: Enjeksiyonlardan bir gün sonra

Tablo 3.2.1. A Vitamini ve β -Karoten Enjeksiyonları Yapılan Tuj Koyunlarında Gebelik Öncesi, Gebelik ve Doğum Sonrası Plazma β -Karoten Düzeyleri ($\mu\text{gr/dl}$).

Table 3.2.1. Levels of Plasma β -Karoten before pregnancy, during pregnancy and after parturition in Tuj Sheeps Injected with Vitamin A and β -carotene ($\mu\text{gr/dl}$).

		GRUPLAR			
		Kontrol n=7	A Vitamini n=5	β -Karoten n=8	Kombine n=5
GEBELİK ÖNCESİ	0. gün	28,01 \pm 1,33	26,52 \pm 1,30	25,06 \pm 1,36	20,19 \pm 1,24
	2. gün*	27,14 \pm 1,29	39,63 \pm 1,43**	51,18 \pm 1,85**	43,66 \pm 2,43**
GEBELİK SÜRESİNCE	1. gün	24,71 \pm 1,40	28,13 \pm 1,23	27,14 \pm 1,21	27,51 \pm 1,92
	15. gün*	24,08 \pm 1,22	38,40 \pm 1,44**	52,01 \pm 1,55**	47,79 \pm 1,76**
	30. gün	21,97 \pm 1,13	25,75 \pm 1,49	26,94 \pm 1,19	24,15 \pm 1,19
	45. gün*	21,13 \pm 1,13	40,14 \pm 0,89**	50,81 \pm 1,03**	48,67 \pm 1,22**
	60. gün	20,29 \pm 1,35	24,93 \pm 1,34	24,00 \pm 1,21	21,27 \pm 1,59
	75. gün*	18,89 \pm 1,08	37,51 \pm 0,95**	55,42 \pm 1,04**	42,84 \pm 3,87**
	90. gün	17,78 \pm 1,08	20,65 \pm 1,02	22,33 \pm 1,99	20,69 \pm 1,06
	105. gün*	18,14 \pm 0,81	37,37 \pm 0,91**	51,62 \pm 1,19**	46,31 \pm 1,28**
	120. gün	17,65 \pm 2,13	23,70 \pm 1,01	23,74 \pm 0,88	21,21 \pm 0,91
	135. gün*	16,69 \pm 1,88	37,11 \pm 1,28**	45,91 \pm 1,10**	43,25 \pm 1,53**
	D.S.	15,15 \pm 0,83	20,02 \pm 0,76**	20,04 \pm 0,51**	19,53 \pm 0,89**

* : p < 0,01, ** : p < 0,001

(Kıyaslamalarda Duncan Multiple Range Testi Uygulanmıştır)

*: Enjeksiyonlardan bir gün sonra, D.S.: Doğumdan 12 saat sonra

Tablo 3.3.1. 15 Günlük Kuzularda Plazma A Vitamini ve β -Karoten Düzeyleri ($\mu\text{gr}/\text{dl}$).

Tablo 3.3.1.1. Levels of plasma vitamin A and β -carotene in 15 day-old lambs.

	β -Karoten ($\mu\text{gr}/\text{dl}$)	A Vitamini ($\mu\text{gr}/\text{dl}$)
Kontrol	16,66 \pm 0,37	94,82 \pm 0,89
A Vitamini	20,08 \pm 0,48 ^a	102,45 \pm 0,96 ^a
β-Karoten	18,25 \pm 1,04	100,15 \pm 1,95 ^a
Kombine	18,14 \pm 0,87	99,21 \pm 1,25

Gruplar

^a: $p < 0,05$

(Kıyaslamalarda Duncan Multiple Range Testi Uygulanmıştır)

Tablo 3.4.1. Kuzuların Canlı Ağırlıklarının (Kg c.a.) Belirlenen Zaman Birimlerinde Gruplara Göre Kıyaslanması.

Table 3.4.1. Comparison of live body weight of lambs at indicated time point.

	Kontrol (n=6)	A Vitamini (n=7)	β-Karoten (n=14)	Kombine (n=7)
Doğum c.a. (kg)	3,92 \pm 0,21	4,32 \pm 0,31 ^a	4,67 \pm 0,09 ^a	4,56 \pm 0,13 ^a
1. Hafta c.a. (kg)	5,89 \pm 0,33	6,60 \pm 0,30	6,80 \pm 0,29*	7,56 \pm 0,21*
2. Hafta c.a. (kg)	6,93 \pm 0,29	8,70 \pm 0,45 ^a	7,93 \pm 0,33 ^a	8,60 \pm 0,26 ^a

^a : p < 0,05 * : p < 0,01

(Kıyaslamalarda Duncan Multiple Range Testi Uygulanmıştır)

Tablo 3.4.2. Kuzuların Canlı Ağırlıklarının (Kg c.a.) Grup İçinde Belirlenen Zaman Birimlerine Göre Kıyaslanması.

Table 3.4.2. Comparison of live body weight of lambs within the groups at indicated time point.

	Z a m a n	
	Doğum Sonrası	1.Hafta c.a.
Kontrol	3,92 ± 0,21	5,89 ± 0,33**
A Vitamini	4,32 ± 0,31	6,60 ± 0,30**
β-Karoten	4,67 ± 0,09	6,80 ± 0,29**
Kombine	4,56 ± 0,13	7,56 ± 0,21**
		2.Hafta c.a.
		6,93 ± 0,29**
		8,70 ± 0,45** ^{a,b}
		7,93 ± 0,33** ^{a,b}
		8,60 ± 0,26** ^{a,b}

G r u p l a r

^{b, **}; p < 0,001

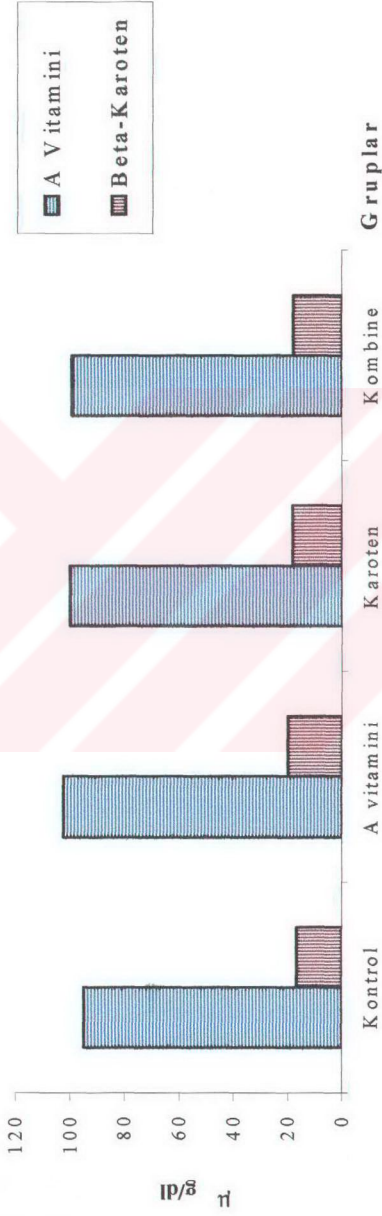
** : 1. ve 2. hafta c.a.'larının doğum sonrası c.a.'na göre kıyaslanması

^b : 1 ve 2. hafta c.a.'larının 1.haftaya göre kıyaslanması

^{b, **} : Gruplar Zaman Birimlerine Göre Kıyaslanmıştır.

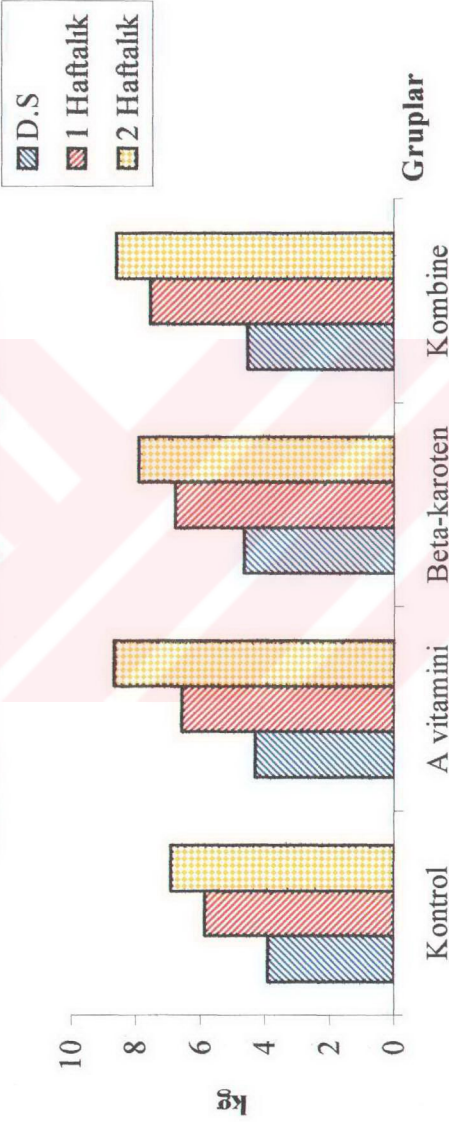
(Kıyaslamalarda Duncan Multiple Range Testi Uygulanmıştır)

Kuzuların Plazma A Vitamini ve Beta-Karoten Düzeyleri



Grafik 3.3.1. 15 Günlük Kuzuların Plazma A Vitamini ve β -Karoten Düzeyleri ($\mu\text{g/dl}$).

Kuzuların Canlı Ağırlık Değişimleri



Grafik 3.4.1. Kuzuların Doğum Sonrası, 1 Haftalık ve 2 Haftalık Canlı Ağırlık Değişimleri (Kg).

*: Doğum Sonrası (D.S.)

Tablo 3.5.1. A Vitamini ve β -Karoten Enjeksiyonlarının Yavru Verimi Üzerine Etkisi.
Table 3.5.1. Effects of vitamin A and β -carotene injections on the reproductive performance of sheep.

	G r u p l a r			
	Kontrol n=7	A vitamini n=5	β -Karoten n=8	Kombine n=5
Canlı Yavru Sayısı	6	7	14	7
Yavrulama oranı(%)	100	140	175	140
Tek Yavru Sayısı	7	3	3	3
İkiz Yavru Sayısı	—	1	4	2
Üçüz Yavru Sayısı	—	1	1	—
Ölen Yavru Sayısı	1	1	—	—

Tablo 3.5.2. A Vitamini ve β -Karoten Enjeksiyonlarının İlk Tohumlamada Gebe Kalma Oranı Üzerine Etkileri.
Table 3.5.2. Effects of vitamin A and β -carotene injections on the rate of pregnancy in the first insemination.

G r u p l a r	ilk tohumlamada		2. tohumlamada	
	(n=8)	gebe kalanlar(%)	(n=8)	gebe kalanlar(%)
Kontrol	87,5	12,5	—	—
A vitamini*	60	40	—	—
β -Karoten	100	—	—	—
Kombine*	80	20	—	—

* : Bu gruplarda östrus siklusunu aşıkları için koç katımından sonra gebe kalamayan 3 adet koyun bulunmaktadır.

Tablo 3.6.1. A Vitamini ve β -Karoten Enjeksiyonları Yapılan Tuj Koyunlarında Gebelik Öncesi, Gebelik ve Doğum Sonrası Eritrosit GSH Düzeyleri ($\mu\text{mol/ml}$ RBC).

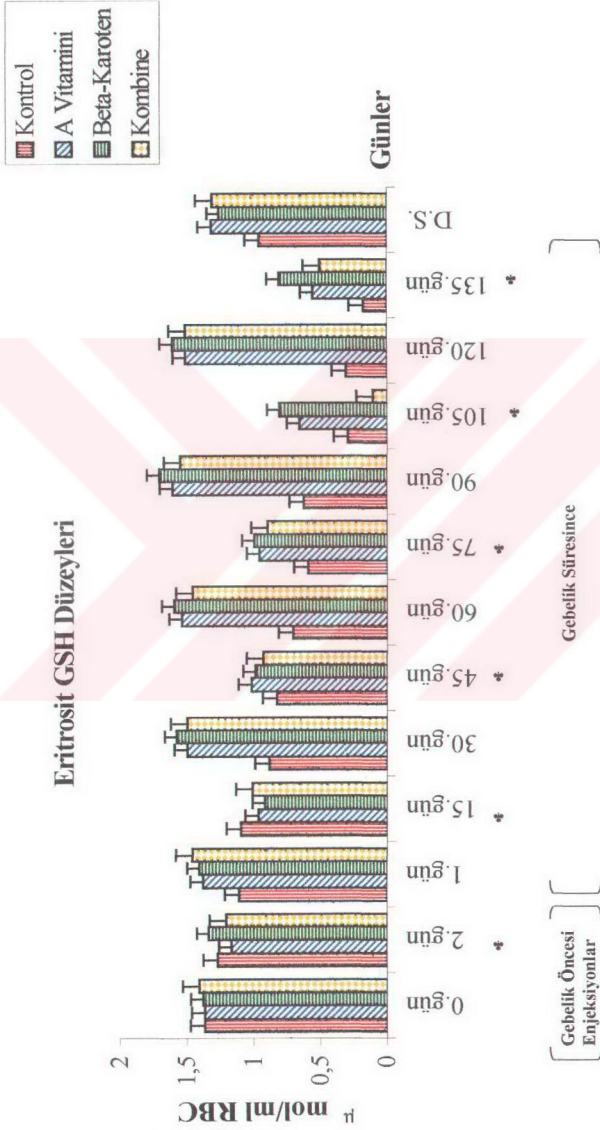
Table 3.6.1. Levels of erythrocyte GSH before pregnancy, during pregnancy and after parturition in Tuj Sheeps Injected with Vitamin A and β -carotene ($\mu\text{mol/ml}$ RBC).

		GRUPLAR			
		Kontrol n=7	A Vitamini n=5	β -Karoten n=8	Kombine n=5
Gebelik Öncesi	0. gün	1,37 \pm 1,56	1,37 \pm 0,05	1,38 \pm 0,20	1,41 \pm 0,08
	2. gün*	1,27 \pm 0,18	1,17 \pm 0,19	1,34 \pm 0,18	1,21 \pm 0,18
Gebelik Süresince	1. gün	1,11 \pm 0,13	1,38 \pm 0,13	1,41 \pm 0,10	1,46 \pm 0,12
	15. gün*	1,10 \pm 0,11	0,97 \pm 0,02	0,92 \pm 0,02	1,01 \pm 0,03
	30. gün	0,89 \pm 0,14	1,50 \pm 0,19*	1,58 \pm 0,19*	1,50 \pm 0,11*
	45. gün*	0,83 \pm 0,13	1,02 \pm 0,02	0,99 \pm 0,02	0,93 \pm 0,01
	60. gün	0,71 \pm 0,03	1,54 \pm 0,10**	1,60 \pm 0,09**	1,46 \pm 0,07**
	75. gün*	0,60 \pm 0,08	0,96 \pm 0,04**	1,00 \pm 0,03**	0,90 \pm 0,02**
	90. gün	0,63 \pm 0,04	1,61 \pm 0,03**	1,71 \pm 0,02**	1,55 \pm 0,05**
	105. gün*	0,30 \pm 0,02	0,66 \pm 0,03**	0,81 \pm 0,03**	0,11 \pm 0,04**
	120. gün	0,31 \pm 0,13	1,51 \pm 0,04**	1,60 \pm 0,05**	1,51 \pm 0,07**
	135. gün*	0,18 \pm 0,01	0,56 \pm 0,02**	0,81 \pm 0,08**	0,51 \pm 0,02**
	D.S.		0,96 \pm 0,07	1,32 \pm 0,09**	1,26 \pm 0,02**

*: $p < 0,05$, ** : $p < 0,001$

(Kıyaslamalarda Duncan Multiple Range Testi Uygulanmıştır)

*: Enjeksiyonlardan bir gün sonra, D.S.: Doğumdan 12 saat sonra



Grafik 3.6.1. Koyunların Gebelik Öncesi, Gebelik ve Doğum Sonrası Eritrosit GSH Düzeyleri.

D.S.: Doğumdan 12 saat sonra, * : Enjeksiyonlardan bir gün sonra

Tablo 3.7.1. A Vitamini ve β -Karoten Enjeksiyonları Yapılan Tuj Koyunlarında Gebelik Öncesi, Gebelik ve Doğum Sonrası Plazma MDA Düzeyleri (nmol/ml).

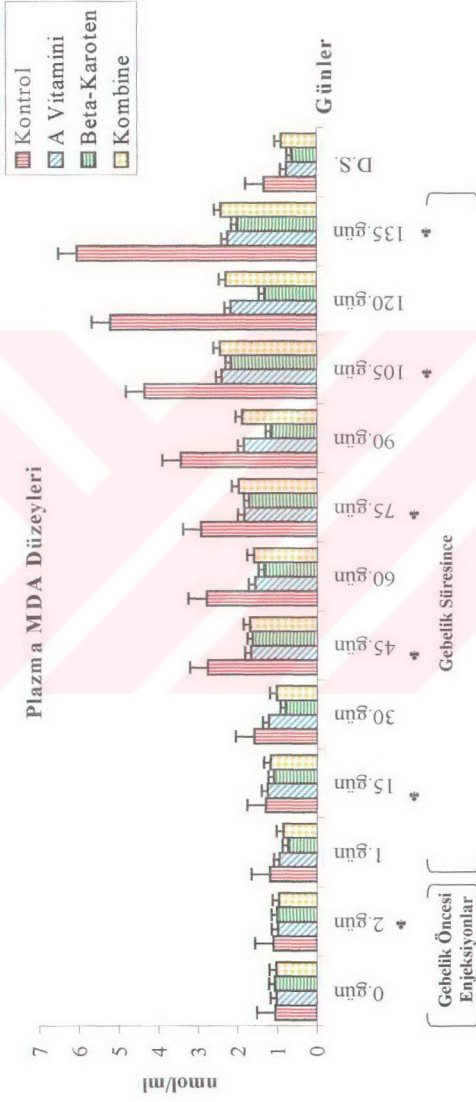
Table 3.1.1. Levels of Plasma MDA before pregnancy, during pregnancy and after parturition in Tuj Sheeps Injected with Vitamin A and β -carotene (nmol/ml).

		GRUPLAR			
		Kontrol n=7	A Vitamini n=5	β -Karoten n=8	Kombine n=5
Gebelik Öncesi	0. gün	1,06 \pm 0,05	1,04 \pm 0,06	1,09 \pm 0,04	1,04 \pm 0,04
	2. gün*	1,13 \pm 0,07	1,00 \pm 0,04	1,01 \pm 0,02	0,97 \pm 0,03
Gebelik Süresince	1. gün	1,20 \pm 0,04	1,04 \pm 0,07	0,75 \pm 0,03	1,05 \pm 0,21
	15. gün*	1,29 \pm 0,03	1,13 \pm 0,04	1,11 \pm 0,02	1,20 \pm 0,11
	30. gün	1,56 \pm 0,13	1,23 \pm 0,14	1,06 \pm 0,15*	1,13 \pm 0,09*
	45. gün*	2,77 \pm 0,21	1,69 \pm 0,12**	1,64 \pm 0,15**	1,71 \pm 0,13**
	60. gün	2,81 \pm 0,22	1,59 \pm 0,14**	1,35 \pm 0,03**	1,62 \pm 0,11**
	75. gün*	2,93 \pm 0,18	1,87 \pm 0,13**	1,86 \pm 0,12**	1,99 \pm 0,24**
	90. gün	3,51 \pm 0,18	1,87 \pm 0,15**	1,19 \pm 0,04**	1,91 \pm 0,06**
	105. gün*	4,37 \pm 0,11	2,28 \pm 0,15**	2,19 \pm 0,10**	2,46 \pm 0,12**
	120. gün	5,22 \pm 0,19	2,20 \pm 0,15**	1,34 \pm 0,04**	2,31 \pm 0,15**
	135. gün*	6,41 \pm 0,29	2,25 \pm 0,15**	2,03 \pm 0,04**	2,56 \pm 0,17**
	D.S.		1,35 \pm 0,04	0,85 \pm 0,05**	0,64 \pm 0,06**

* : $p < 0,05$, ** : $p < 0,001$

(Kıyaslamalarda Duncan Multiple Range Testi Uygulanmıştır)

*: Enjeksiyonlardan bir gün sonra, D.S.: Doğumdan 12 saat sonra



Grafik 3.7.1. Koyunların Gebelik Öncesi, Gebelik ve Doğum Sonrası Plazma MDA Düzeyleri.

D.S.: Doğumdan 12 saat sonra, * : Enjeksiyonlardan bir gün sonra

Tablo 3.8.1. A Vitamini ve β -Karoten Enjeksiyonları Yapılan Tuj Koyunlarında Gebelik Öncesi, Gebelik ve Doğum Sonrası Plazma Progesteron Düzeyleri (ng/ml).

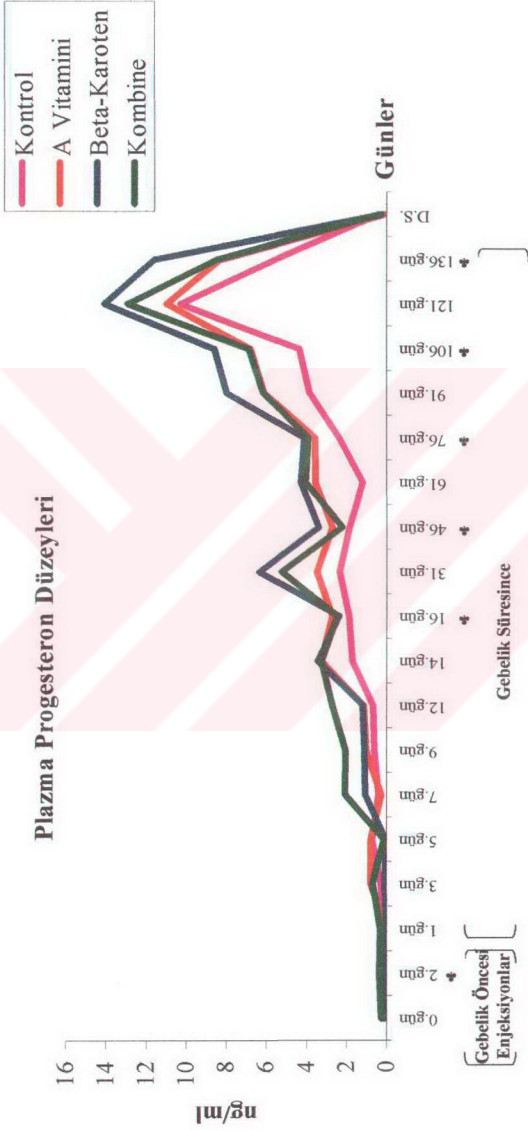
Table 3.1.1. Levels of Plasma progesterone before pregnancy, during pregnancy and after parturition in Tuj Sheeps Injected with Vitamin A and β -carotene (ng/ml).

		GRUPLAR					
		Kontrol n=7	A Vitamini n=5	β -Karoten n=8	Kombine n=5		
GÜNLER	Gebelik Öncesi	0. gün	0,23 ± 0,06	0,13 ± 0,09	0,16 ± 0,05	0,27 ± 0,07	
		2. gün*	0,14 ± 0,05	0,34 ± 0,18	0,22 ± 0,07	0,37 ± 0,12	
GÜNLER	Gebelik Süresince	Bir Östrus Dönemi	1. gün	0,19 ± 0,07	0,06 ± 0,05	0,02 ± 0,01	0,34 ± 0,20
			3. gün	0,28 ± 0,06	0,79 ± 0,08	0,08 ± 0,05	0,68 ± 0,08
			5. gün	0,74 ± 0,21	0,78 ± 0,51	0,06 ± 0,03	0,14 ± 0,04
			7. gün	0,40 ± 0,16	0,27 ± 0,09	1,07 ± 0,11**	2,08 ± 0,20***
			9. gün	0,61 ± 0,11	1,02 ± 0,23	1,12 ± 0,18**	2,05 ± 0,18***
			12. gün	0,70 ± 0,11	1,16 ± 0,34*	1,21 ± 0,22*	2,71 ± 0,41***
			14. gün	1,71 ± 0,16	3,27 ± 0,45***	3,46 ± 0,17***	3,25 ± 0,14***
			16. gün*	1,88 ± 0,16	2,72 ± 0,36*	2,37 ± 0,22*	2,45 ± 0,09*
			31. gün	2,36 ± 0,41	3,48 ± 0,39*	6,36 ± 0,38***	5,27 ± 0,17***
			46. gün*	1,87 ± 0,15	2,70 ± 0,25*	3,39 ± 0,30**	2,22 ± 0,27
			61. gün	1,19 ± 0,52	3,54 ± 0,72***	4,27 ± 0,60***	4,05 ± 0,57***
			76. gün*	2,38 ± 0,33	3,58 ± 0,56*	4,11 ± 0,19**	3,90 ± 0,19*
			91. gün	3,87 ± 0,54	6,12 ± 0,74**	7,97 ± 0,47***	6,17 ± 0,28**
			106. gün*	4,38 ± 0,63	6,80 ± 0,48*	8,59 ± 0,25***	6,88 ± 0,53*
			121. gün	10,30 ± 0,95	10,98 ± 0,83	14,09 ± 0,49**	12,93 ± 0,56*
135. gün*	5,61 ± 0,98	8,30 ± 0,82**	11,58 ± 0,35***	8,45 ± 0,75**			
D.S.		0,45 ± 0,13	0,16 ± 0,02	0,28 ± 0,03	0,42 ± 0,22		

*: p< 0,05, **:p< 0,01, ***:p< 0,001

(Kıyaslamalarda Duncan Multiple Range Testi Uygulanmıştır)

*: Enjeksiyonlardan bir gün sonra, D.S.: Doğumdan 12. saat sonrası



Grafik 3.8.1. Koyunların Gebelik Öncesi, Gebelik ve Doğum Sonrası Plazma Progesteron Düzeyleri.

D.S.: Doğumdan 12 saat sonra, * : Enjeksiyonlardan bir gün sonra

4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Sürekli değişen bir çevrede hücresel dengenin korunabilmesi için stres altındaki organizmanın vitaminlere ihtiyacı vardır. Hayvanların yaşam özelliklerini desteklemede tüm vitaminler eşit derecede önemli olmasına rağmen, A vitamini ve previtamini β -karoten pratik anlamda önemli vitaminler olarak değerlendirilmektedir. Bunların organizmanın bazı fonksiyonlarını sürdürbilmesi için besinlerle veya dışardan ilave olarak alınması gerekir. Bunlar özellikle gebelik, doğum, laktasyon, enfeksiyon hastalıkları, kanser ve yaralanmalar gibi stres oluşturan pek çok durumda artan serbest radikallere karşı hücresel dengeyi korumada oldukça önemlidirler.

Yapılan literatür taramalarında A vitamini ve β -karoten'in üreme fonksiyonları üzerindeki etkileri bildirilmekle birlikte, bir antioksidan olarak β -karoten'in uterus ve ovaryum hücrelerini oksidatif hasara karşı koruduğu ve luteal hücrelerden progesteron salgılanmasını uyardığı ile ilgili bilgilerin henüz yeni olduğu dikkat çekmiştir. Ayrıca, A vitamini ve β -karoten'in toksik oksijen radikallerini ve hücrelerde oluşan reaktif oksijen türlerini azaltabileceği ve buna bağlı olarak plazma MDA ve GSH düzeyinin de etkilenebileceği bildirilmektedir (6, 21, 66).

Bu noktadan hareketle bu çalışmada; A vitamini ve β -karoten enjeksiyonunun dölerimi üzerindeki etkisinin ne düzeyde olduğu ve gebelikten kaynaklanan serbest radikallerin haraplayıcı etkilerini A vitamini ve β -karoten'in ne ölçüde etkileyebileceğini tartışmak amaçlanmıştır.

Araştırmalar (4, 51, 52, 124) β -karoten uygulamasının hayvanların progesteron gibi steroid hormonların sentezini artırıcı yönde etkilediğini bildirmişlerdir. Bu bildirimler bizim bulgularımızı doğrular niteliktedir (Tablo 3.8.1, Grafik 3.8.1). Wang ve ark. (120) rasyonlarına 600 mg/g β -karoten ilave edilen ineklerin tohumlamayı takiben plazma progesteron seviyelerinde belirgin artışlar

belirlemiştir. Benzer şekilde Arıkan ve Rodwey'de (4) İn vitro 5 $\mu\text{mol/l}$ β -karoten ilavesinin progesteron sentezini önemli düzeyde arttırdığını bildirmişlerdir. Diğer taraftan, Graves-Hoagland ve ark.'da (52) postpartum dönemdeki sığırların luteal progesteron ve LH düzeyleri ile plazma A vitamini ve β -karoten konsantrasyonları arasında pozitif bir korelasyon olduğunu belirlemiştir. Schweigert ve ark. (101) ise β -karoten'in folikül içinde A vitamini'ne dönüşerek progesteron sentezini arttırdığını ileri sürmüştür. Ancak, Coffey ve ark. (27) farklı dozlarda (0,50,100,200 mg) β -karoten enjeksiyonunun plazma β -karoten düzeyini yükselttiğini, ancak progesteron düzeyini değiştirmedığını saptamışlardır. Aynı şekilde Peltier ve ark. (89) ise kısıraklarda iki östrus döneminde gün aşırı 400 mg β -karoten enjeksiyonunun plazma β -karoten düzeyini yükseltmekle birlikte, progesteron düzeyini değiştirmedığını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise tüm zaman birimlerindeki plazma progesteron değerlerini incelediğimizde (Tablo 3.8.1, Grafik 3.8.1); koç katımından 7 gün sonrasına kadar grupların progesteron düzeyleri arasında belirgin bir fark gözlenmezken, 7. günden itibaren hem kontrol grubu hem de deneme gruplarının progesteron düzeyleri arasında anlamlı bir fark ($p < 0.001$) gözlenmiştir. Progesteron düzeyleri gebeliğin 30. gününden itibaren en fazla ($p < 0.001$) β -karoten grubunda artmıştır. Bu artış, bir antioksidan olan β -karoten'in steroid bir hormon olan progesteron'un oluşum aşamasında meydana gelen serbest radikalleri tutarak luteal hücrelerden progesteron salgılanmasını artırmasıyla açıklanmaktadır (4, 44, 51, 77, 124).

Fertilitenin artırılması yönündeki çalışmalar, fertilité üzerine etkili olan vitaminlerin önemini ve bu yönde yapılan araştırmaları arttırmaktadır. Bazı çalışmalarda (11, 87, 105) A vitamini ve β -karoten yönünden yeterli diyetle beslenen hayvanlarda ovulasyon, östrus aralığı ve korpus luteumun normal seyrinde şekillendiği; oysa bunlardan yoksun rasyonla beslenen hayvanlarda ise fertilitéde aksamalar gözleendiği bildirilmektedir. Konuyla ilgili diğer çalışmalarda (2, 15, 16, 35), farklı dozlarda β -karoten ilavesinin hayvanlarda ilk tohumlamada gebe kalma oranlarını belirgin derecede arttırdığını ve bu hayvanların diğer hayvanlara nazaran daha erken gebe kaldıklarını bildirmişlerdir. Fakat, Jukola ve ark. (62) ile Fettahoğlu ve ark. (43) ise, serumdaki A vitamini ve β -karoten düzeyleri ile fertilitédeki aksamalar (anöstrus,

gecikmiş ovulasyon, kistler) ve ilk tohumlamada gebe kalma oranı arasında herhangi bir pozitif ilişki tespit edememişlerdir. Benzer şekilde, Besenfelder ve ark. (13) ile Schweigert ve ark.'da (102) β -karoten'in fertilité üzerine belirgin bir etkisini belirleyemediklerini, ancak A vitamini'nin etkili olduğunu, dolayısıyla β -karoten'in etkisinin de A vitamini'nin metabolizmasına bağılı olabileceğini bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise; A vitamini ve β -karoten enjeksiyonlarının ilk tohumlamada gebe kalma oranı üzerine etkisi A vitamini, β -karoten ve kombine gruplarında sırayla %60, %100, %80 olarak belirlenmiştir (Tablo 3.5.2). Bu sonuçlar, β -karoten enjeksiyonlarının ilk tohumlamada gebe kalma oranını önemli düzeyde arttırdığı bildirimleri ile paralellik göstermektedir (2, 15, 86).

Farklı araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda (19, 27, 30, 40) domuzlarda ve tavşanlarda hem β -karoten hem de A vitamini enjeksiyonunun doğan yavru sayısını ve yavruların c.a.'nı arttırmakla birlikte, embriyonik ölümleri ve ölü doğan yavru sayısını azalttığını bildirmişlerdir. Eberhart ve ark.'da (37) invitro olarak retinol ilavesinin blastosit oluşumunu %79 arttırdığını belirlemişlerdir. Özpinar ve ark. (86) ise koyunlara 20 gün aralıklarla 14.9 μ mol/kg c.a. β -karoten enjeksiyonu yapılmasının ilk tohumlamada gebe kalma oranını, yavru verimini ve ikizlilik oranını belirgin derecede arttırdığını ve hayvanların hastalıklara yakalanma oranını ise azalttığını belirlemişlerdir. Ancak, Pusateri ve ark. (92) domuz yavrularının süten kesilmesinden doğuma kadar geçen sürede domuzlara yapılan 1 000 000 IU A vitamini enjeksiyonunun doğan yavru sayısını, yavruların c.a.'nı, ölü yavru sayısını ve yavruların hastalıklara yakalanma oranını değıştirmedeğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde, Rheume ve ark.(96)'da 4 ml β -karoten enjeksiyonunun döl verimini ve yavruların doğum c.a. ile ölüm ve hastalanma oranını değıştirmedeğini tespit etmişlerdir. Yine, Besenfelder ve ark. (12) da diyetlerine 40 mg/kg β -karoten ilave edilen tavşanların yavru veriminde anlamlı bir artış tespit edemezlerken, Korman ve ark. (64) ise, diyete günde 40 ppm β -karoten ilave edilmesinin tavşanlarda yavru verimini %41 oranında arttırdığını gözlemlemişlerdir. Bizim araştırmamızda da Tablo 3.5.1'den de görüldüğü gibi; yavru verimi ve ikizlilik oranı üzerinde β -karoten'in A vitamini'ne göre daha etkili olduğu sonucu elde edilmiştir. Bu sonuçlar bu yöndeki bildirimler (19, 27, 86) ile uyum içindedir. Bununla birlikte, Tablo 3.4.1

ve Tablo 3.4.2'nin incelenmesinden de anlaşılacağı gibi, doğumdan 1 hafta sonra kuzuların c.a. artışları en fazla ($p<0.01$) β -karoten ve kombine gruplarında gözlenirken, 2. haftada deneme gruplarının tümündeki kuzuların c.a.'larında belirgin artışlar ($p<0,05$) dikkati çekmektedir. Bu bulguların bu yönde yapılan bazı araştırmaların (19, 27, 64, 86) bildirimleriyle paralellik gösterdiği saptanmıştır. Bu sonuçlara göre; A vitamini'nin indirekt, β -karoten'in ise direkt olarak progesteron sentezini uyarak, uterustan fazla miktarda protein salgılanmasını sağladığı, böylelikle ilk tohumlamada gebe kalma oranı, doğan yavru sayısı ve bunların c.a.'ları ile ikizlilik gibi döl verimini etkileyen faktörler üzerinde etki ettiği kanısına varılmıştır.

Korman ve ark. (64) A vitamini ve β -karoten'in birlikte verilmesinin birbirlerini destekleyici etki gösterdiğini ve β -karoten miktarının artırılmasının ise karaciğerdeki A vitamini deposunu arttırmakla birlikte bu ilavenin plazma A vitamini ve β -karoten düzeyini etkilemediğini bildirmişlerdir. Willet ve ark. (121)'da insanlarda günlük olarak 30 mg kadar β -karoten alınmasının plazmadaki karotenoid düzeyini 3 kat arttırdığını, fakat retinol miktarını etkilemediğini; günlük olarak 25 000 IU retinil palmitat alınmasının ise ne plazma retinol ne de karotenoid düzeyini etkilemediğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde, Constantino ve ark.'da (28) insanlarda günlük olarak 15 mg kadar β -karoten alınmasının 4 ay sonra plazma β -karoten düzeyini 10 katına çıkardığını belirlemişlerdir. Diğer taraftan, β -karoten'in yeme ilave edilerek verilmesinin sığır (56, 14) ve atların (89) plazmalarındaki β -karoten miktarını arttırdığı, ancak koyun ve domuzların (25, 86) plazmalarında ise β -karoten'in belirlenmediği bildirilmiştir. Fakat, β -karoten enjektabil olarak uygulandığında domuzların plazmasında β -karoten miktarı 4.7 $\mu\text{mol/l}$ (19), koyunlarındakinde ise 14.9 $\mu\text{mol/l}$ (86) olarak belirlenmiştir. Bununla birlikte, Özpınar ve ark. (85) sığırlarda doğumdan sonra belirgin şekilde düşük olan A vitamini ve β -karoten düzeylerinin, 2 hafta içinde tekrar normal değerlerine döndüğünü bildirmiş ve doğumdan sonra A vitamini ve β -karoten düzeylerindeki belirgin olan bu düşüşün, bunların LDL aracılığıyla kolostruma taşınmasından kaynaklanabileceğini ileri sürmüşlerdir. Bizim çalışmamızda da, tüm gurupların

plazma A vitamini ve β -karoten düzeylerinde gebeliğin ilerlemesiyle birlikte düşüş gözlenmekle birlikte, bu düşüşün kontrol grubunda deneme gruplarına göre daha belirgin ($p<0.001$) olduğu gözlenmiştir (Tablo 3.1.1, Grafik 3.1.1, Tablo 3.2.1 ve Grafik 3.2.1). Plazma A vitamini ve β -karoten seviyelerinin gebeliğin ilerlemesi, doğum ve doğumu takip eden bir kaç gün içerisinde en düşük seviyelere inmesi, A vitamini ve β -karoten'in kolostruma geçtiği kanaatini uyandırmıştır.

Rasyonlarına A vitamini ve β -karoten ilavesi yapılan ineklerin buzağlarının plazma A vitamini ve β -karoten düzeylerinin yüksek belirlenmesinde annelerin rasyonuna yapılan bu ilavenin etkili olduğu ileri sürülmüştür (60, 83). Schweger ve ark. (100) da 16 günlük buzağların plazmalarında 45 $\mu\text{g}/\text{dl}$ gibi oldukça yüksek β -karoten düzeyi belirlemiştir. Benzer şekilde, Jagos ve ark. (60) ise annelerine β -karoten ilavesi yapılan fetal buzağların plazma β -karoten düzeylerinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu gözlemlemiştir. Bizim çalışmamızdan da görüleceği gibi (Tablo 3.3.1 ve Grafik 3.3.1); doğumdan 15 gün sonra deneme grubundaki kuzuların plazma A vitamini ve β -karoten düzeylerinin kontrol grubundan daha yüksek ($p<0.05$) olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, A vitamini ve β -karoten enjeksiyonu yapılan hayvanların plazmalarında yüksek düzeyde bulunan bu vitaminlerin gebeliğin sonlarına doğru ve doğum esnasında kolostruma geçmesi ve kolostrumun yavrular tarafından alınması ile birlikte yavruların plazma vitamin düzeylerinde belirgin artış gözlemlendiği görüşleri ile (14, 30, 60, 85) uyum içindedir.

Fizyolojik bir olgu olmakla birlikte organizmayı stres altına sokan gebelikte meydana gelen biyokimyasal değişikliklerin neden olduğu gebelik komplikasyonlarında lipid peroksidasyonunun önemi bir çok araştırmacı (6, 8, 66, 117) tarafından bildirilmiştir. Çünkü, lipid peroksidasyonu membran lipidlerinin ve diğer hücre komponentlerinin dağılımını ve işleyişini bozan son derece zararlı bir reaksiyondur. Ancak organizma lipid peroksidasyonunun zararlı etkilerinden antioksidan vitaminler ve glutatyon gibi sebest radikal tutucu antioksidatif moleküller tarafından korunmaktadır (6, 21, 77, 124). Pek çok araştırmada (32, 68, 119) gebelik komplikasyonu olarak bilinen preeklamsiya'da lipid peroksidasyonunun aldehyt ürünlerinden biri olan MDA'nın belirgin şekilde yükseldiği ve antioksidan

enzim aktivitelerinin ise düştüğü bildirilmiştir. Diğer taraftan bazı araştırmalarda da preeklamsiya nedeniyle oluşan oksidatif hasara bağlı olarak anne ve yavru ölümlerinden bahsedilmektedir (46, 68, 119). Tabacova ve ark. (110) ise anemi, gebeliğe bağlı hipertansiyon, abort ve erken doğum gibi gebelik komplikasyonlarının organizmada oksidatif stres oluşturan biyokimyasal değişikliklere neden olduğunu, bazı araştırmacılar da (5, 106, 117) gebeliğin canlılarda lipit peroksit düzeyini belirgin şekilde yükselttiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar (23, 66) plazma MDA düzeyinin gebeliğin ikinci döneminden sonra yükseldiğini, üçüncü dönemde ise bu yükselişin daha da belirginleştiğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde, Arıkan ve ark. (5) gebeliğin üçüncü döneminde plazma MDA düzeylerinin en yüksek, GSH seviyelerinin ise en düşük düzeylerde olduğunu belirlemişlerdir. Ancak, Uotila ve ark.(118) ise gebeliğin ilerlemesi ile birlikte MDA düzeylerinde azalma tespit etmişlerdir.

Yapılan literatür taramalarında A vitamini ve β -karoten'in lipit peroksidasyonu ürünlerini indirgedikleri bilinmekle birlikte, gebeliğe bağlı olarak oluşan serbest radikal oluşumu üzerindeki etkilerinin incelenmediği dikkat çekmiştir.

Birçok araştırmacı (5, 8, 118) gebelik esnasında oluşan lipit peroksidasyonunu plasentada artan lipit peroksitlerin kandaki peroksit düzeyini arttırmasına bağlamakla birlikte, Falkay ve ark. (41) ise, lipit peroksidasyonu düzeyindeki artışın nedenini plasentadan salgılanan prostaglandin sentezinin artışına bağlamışlardır. Bizim çalışmamızda da, tüm gruplarda plazma MDA düzeylerinde artış tespit edilmekle birlikte, bu düzeylerin deneme gruplarında kontrollere göre daha düşük olduğu gözlenmiştir. Gözlediğimiz plazma MDA düzeylerindeki artışlar, gebeliğin ilerlemesine bağlı olarak artan lipit peroksitlerin plazma peroksit düzeylerini arttırmasına bağlanabilir. MDA düzeylerinin deneme gruplarında düşük olması ise; A vitamini ve β -karoten'in gebeliğin neden olduğu lipit peroksidasyonu ürünleri üzerinde indirgeyici bir etkiye sahip olmasından kaynaklanmış olabilir (Tablo 3.7.1 ve Grafik 3.7.1). Bu değişiklikler bazı çalışmalarda (5, 18, 23, 38)'da belirtildiği gibi gebeliğin lipit peroksidasyonunu arttırıp antioksidan düzeyini azaltmasının, A vitamini ve β -karoten'nin antioksidan gücüyle engellenmesine bağlı olabileceği görüşü ile açıklanabilir.

Önemli bir antioksidan olan GSH, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur. Peroksitlerin veya oksitlenmiş sülfidril gruplarının indirgenmesi ile oksijen ihtiyacının arttığı ve oluşan oksidatif stres sonucu GSH düzeyinin ise azaldığı bazı çalışmalarda (4, 18, 117) ifade edilmektedir. Bununla birlikte, bir çok çalışmada (5, 23, 66) gebelik esnasında plasentada oluşan serbest radikallerin kandaki lipit peroksit düzeyini arttırdığı belirtilmekle birlikte, gebeliğin bir antioksidan olan GSH ile ilişkisinin yeterince tartışıldığı yayına rastlanmamıştır.

Behna ve Walters (10) ile Barth ve ark (8) gebelik esnasında GSH düzeylerinde artış bildirmekle birlikte, buna sebep olan mekanizmalar ile ilgili herhangi bir fikir ileri sürmemişlerdir. Fakat, Arıkan ve ark (5) ise GSH'nın gebeliğin özellikle son dönemlerinde oldukça düşük düzeylere düştüğünü tespit etmişler ve bir antioksidan ajan olan GSH'nın seviyesindeki bu düşüşün özellikle gebeliğin son dönemlerinde oldukça yüksek düzeylere ulaşan lipit peroksidasyonundan kaynaklanabileceği fikrini ileri sürmüşlerdir. Bizim sonuçlarımıza göre ise; bazı araştırmacıların (8, 10) belirttiği gibi gebelik esnasında GSH düzeyinin yükselişinin aksine, özellikle gebeliğin son dönemlerinde GSH düzeylerinde belirgin azalışlar saptanmıştır (Tablo 3.6.1 ve Grafik 3.6.1). Ancak bu azalışın deneme gruplarında kontrollere kıyasla daha az olduğu dikkat çekmiştir. Bu bulgulara göre, lipit peroksidasyon ile ilişkili bir antioksidan ajan olan GSH düzeyinde gebeliğin ilerlemesine bağlı olarak gözlenen önemli düşüşler, ortamda lipit peroksidasyonu oluşumuna neden olacak düzeyde oksidatif hasarın meydana geldiği fikrini akla getirmektedir.

Bulgularımızı genel olarak değerlendirdiğimizde; A vitamini ve β -karoten enjeksiyonunun plazma progesteron düzeyi, ilk tohumlamada gebe kalma oranı ve yavru verimi gibi döl verimini etkileyen faktörler ile yavruların c.a.'larını arttırdığı gözlenmiştir. Aynı zamanda gebeliğin plazma MDA düzeylerini attırırken, eritrositlerde GSH düzeylerini düşürdüğü; buna karşılık A vitamini ve β -karoten enjeksiyonu ile deneme gruplarında plazma MDA düzeyleri azalırken, eritrosit GSH düzeylerinin arttığı saptanmıştır.

Sonuç olarak, A vitamini ve β -karoten enjeksiyonunun hayvanların ilk tohumlamada gebe kalma oranı, yavru verimi ve yavruların c.a.'ları gibi döl verimini etkileyen faktörler üzerinde artırmacı rol oynamasının yanısıra, gebeliğin plazmada lipit peroksidasyon ürünlerini (MDA) arttırdığı, buna karşılık hem A vitamini hem de β -karoten enjeksiyonunun gebeliğin neden olduğu lipit peroksidasyon ürünleri üzerinde indirgeyici bir etkiye sahip oldukları ve dolayısıyla gebeliğin ilerlemesine bağlı olarak plazma lipit peroksidasyonunun yükseldiği durumlarda oluşabilecek olumsuz durumlar üzerinde önemli roller oynayabilecekleri kanaatine varılmıştır.

5. ÖZET

Bu çalışmada, β -karoten ve A vitamini enjeksiyonunun Tuj koyunlarının ilk tohumlamada gebe kalma oranı, yavru verimi, ikizlilik, ve yavruların canlı ağırlığı (c.a.) gibi döl verimini etkileyen faktörler ve antioksidatif savunma sistemi üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Bu amaçla 32, sağlıklı, 4-5 yaşlarında ve ortalama 57 kg ağırlığında Tuj ırkı koyunlar ile 4 koç kullanıldı. Tüm koyunlar her bir grupta 8 olacak şekilde ve biri kontrol olmak üzere dört gruba ayrıldı. Tüm koyunların östrusu sinkronize edildi. Bunun için medroksiprogesteron asetat (MPA) içeren süngerler vajinaya yerleştirildi. Süngerler 14 gün sonra çıkarılarak her bir koyuna 500 IU. PMSG kas içi enjekte edildi. PMSG enjeksiyonundan 24 saat sonra her guruba bir koç katılarak koçların koyunlarla çiftleşmeleri sağlandı. Daha sonra deneme grubundaki koyunlara 30 gün ara ile kas içi yolla, ilk gruba 8 mg/ kg/ 2 ml freud adjuvantta çözünen β -karoten, 2. gruba 200 000 IU (63.16 mg all-trans retinol/ 2 ml freund adjuvantta çözüldü) A vitamini, 3. gruba 100 000 IU A vitamini ve 4 mg/ kg/ 2 ml freud adjuvant β -karoten enjekte edildi. Kontrol grubundaki koyunlara ise deneme grubundaki hayvanlarla eşitlik sağlamak amacıyla 2 ml freud adjuvant aynı şekilde enjekte edildi. Araştırmanın başından itibaren koyunlardan enjeksiyonun 1. ve 15. günleri ile doğum sonrası plazma A vitamini, β -karoten, MDA ve eritrosit GSH düzeylerini belirlemek için; ayrıca plazma progesteron düzeyleri için de bundan başka çiftleşmeden sonraki 20 gün boyunca iki gün arayla V. jugularis'ten kan örnekleri EDTA'lı tüplere alındı. Bununla birlikte, yeni doğan kuzuların plazma A vitamini ve β -karoten düzeylerini belirlemek için de doğumdan 15 gün sonra kuzuların V. jugularis'lerinden kan numuneleri yine EDTA'lı tüplere alındı.

Bu çalışmada, çiftleşmeden 7 gün sonra ve gebelik süresince kontrol grubu ile deneme gruplarının plazma progesteron değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.001$) farklar bulundu. Aynı zamanda, A vitamini ve β -karoten enjeksiyonlarının

ilk tohumlamada gebe kalma oranını, yavru verimini ve yavruların c.a.'larını önemli düzeyde artırdığı tespit edildi. Plazma A vitamini ve β -karoten düzeylerinde ise tüm gruplarda gebeliğin ilerlemesi ile birlikte düşüş gözlenmekle birlikte, bu düşüşün kontrol grubunda deneme gruplarına göre daha belirgin ($p<0.001$) olduğu saptandı. Bununla birlikte, deneme grubundaki kuzuların doğumdan 15 gün sonraki plazma A vitamini ve β -karoten düzeylerinin ise kontrol grubuna kıyasla daha yüksek ($p<0.05$) olduğu tespit edildi. Diğer taraftan, tüm gruplarda plazma MDA düzeylerinde artış tespit edilmekle birlikte, bu düzeylerin deneme gruplarında kontrollere göre daha düşük ($p<0.001$) olduğu gözlemlendi. Tüm grupların eritrosit GSH düzeylerinde düşüş gözlenmekle birlikte, bu düşüşün kontrol grubunda deneme gruplarına göre daha belirgin ($p<0.001$) olduğu saptandı.

Sonuç olarak, A vitamini ve β -karoten enjeksiyonunun hayvanların döl verimini arttırmakla birlikte, gebeliğe bağlı olarak oluşan serbest radikallerin olumsuz etkilerini önlemede önemli rol oynayabilecekleri kanaatine varılmıştır.

6. SUMMARY

Effects of Vitamin A and β -Carotene Injections on Reproductive Performance and Antioxidative Defence System in Tuj Sheep

This study was designed to examine the effects of β -carotene and vitamin A injections on the factors that affect the fertility such as the rate of pregnancy, parturition, twins, body weight of new born, and on anti-oxidative defense systems in Tuj sheep.

Thirty-two female and 4 male, healthy, aged 4-5 years and weighed approximately 57 kg Tuj sheep were used in the study. Animals were divided into four groups and each had 8 sheep. One of the groups served control subjects. The oestrus cycle of all the female sheep was synchronised by applying medroksiprogesteron asetat (MPA) containing sponges were placed into the vaginas. The sponges were removed 14 days later and 500 IU PMSG was intramuscularly administrated to all sheep. After 24 hours of PMSG injection, a ram was added to each group and allowed to mate the sheep. For thirty days intervals, 8 mg/kg of β -carotene in 2 ml freud adjuvant in complete to group I, 200 000 IU (63.16 mg all-trans-retinol in 2 ml freund adjuvant) of vitamin A to group II, and a combination of 100 000 IU vitamin A and 4 mg/kg β -carotene in 2 ml freund adjuvant to group III were intramuscularly administrated. Control group was given 2 ml at freund adjuvant as placebo . To measure the levels of plasma vitamin A, β -carotene, MDA and erythrocyt GSH blood samples were obtained following 1 and 15th days of injections and after the birth, also blood samples were collected for plasma progesterone levels 2 days intervals after mating for 20 days, followed by every 15 days during pregnancy, and after the birth from the jugular vein. Blood samples were also taken from newborn lambs when they were 15 days old to examine the levels of vitamin A and β -carotene.

In this study, there was statistically significant difference in the plasma progesterone level in study groups in comparison to the control group after 7 days of mating and during the pregnancy ($p < 0.001$). Accordingly, it was observed that the injection of

vitamin A and β -carotene increased the rate of pregnancy in the first insemination, parturition, and weight of newborn. Plasma vitamin A and β -karoten levels of all groups decreased with progression of the pregnancy, although this decrease was more distinguishable in controls when compared to the study groups ($p < 0.001$). In addition, in 15 day-old lambs from the study groups, plasma vitamin A and β -carotene levels were found to be higher than that of control group ($p < 0.05$). Plasma MDA levels in all groups showed an increase but it was much lower in the study groups than in the control group ($p < 0.001$). The erythrocyte GSH levels in all groups were declined but this was more evident in the control group than those in the study groups ($p < 0.001$).

It was concluded that the vitamin A and β -carotene injections not only increased the fertility of animals but also played an important role in preventing the undesired effects of the free radicals that associated with pregnancy.

7. KAYNAKLAR

1. Akkuş İ: Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. 1.Baskı. Mimoza Yay., Konya, 1995.
2. Akonder F.B.Y., Stone J.B., Walton J.S., Buchanon-Smith J.G. : The role of β -carotene in the fertility of dairy cattle maintained in a confined environment. *J. Dairy Sci.*, 67. supp.: 148, 1984.
3. Alaçam E., Deveci H., Dinç H.A., Gökçen H., İzgür H., Kılıçoğlu Ç., Küplülü Ş., Şenünver A., Tekin N., Yurdaydın N. : Theriogenoloji: Evcil Hayvanlarda Reprodüksiyon, Suni Tuhumlama, Obstetrik ve İnfertilite. NuroI Matbaacılık A.Ş. Ankara., 25-36, 1990.
4. Arıkan Ş., Rodway R.G.: Effect of high density lipoprotein containing high or low β -carotene concentrations on progesterone production and β -carotene uptake and depletion by bovine luteal cells. *Anim. Repro. Sci.*, 62: 253-263, 2000.
5. Arıkan S., Konukoğlu D., Arıkan Ç., Akçay T.: Lipid peroxidation and antioxidant status in maternal and cord blood. *Gynecol. Obstet. Invest.*, 51: 145-149, 2001.
6. Aten R.F., Duarte K.M., Behrman H.R.: Regulation of ovarian antioksidant vitamins reduced glutathione and lipid peroxidation by luteinizing hormone and prostaglandin F_{2 α} . *Biol. Reprod.*, 46: 401-407, 1992.
7. Auletta F.J., Gulbrandsen C.L.: Transport of beta-carotene in serum of individuals with carotenemia. *Clin. Chem.*, 20(12): 1578-9, 1974.
8. Barth A., Peiker G., Gross W., Schröder S., Michels W.: Peroxidative and glutathione status in uterus and placenta after normal and pathological pregnancy. *Exp. Toxic. Pathol.*, 49: 497-500, 1997.
9. Baruah S.H., Borgohain B.N., Dela. B.C., Rajkonwar. C.K. : Effect of β -carotene certain aspects of reproduction in dairy heifers. *Indian J. Anim. Reprod.*, 10(1): 3-6, 1989.
10. Behna B., Walters W. : Selenium concentration and glutathione peroxidase activity in the plasma and erythrocytes of non-pregnant and pregnant women. *J. Clin. Chem. Biochem.*, 17: 133-135, 1979.
11. Bermudez A.J., Swayne D.E., Squires M.W., Radin M.J.: Effects of vitamin A deficiency on the reproductive system of mature white leghorn hens. *Avian Dis.*, 37: 274-283, 1991.

12. Besenfelder U., Seregi J., Müller M., Brem G.: Influence of β -carotene on fertility in rabbits when using embryo transfer programs. *Theriogen.*, 45: 1093-1109, 1993.
13. Besenfelder U., Solti L., Seregi J., Müller M., Brem G.: Different roles for β -carotene and vitamin A in the reproduction on rabbits. *Theriogen.*, 45: 1583-1591, 1996.
14. Bindaş E.M., Aillo R.J., Gwazdauskas F.C., Herbeein J.H., Polan C.E.: Effect of β -carotene supplementation on reproductive and metabolic parameters in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 65(1): 212-216, 1982.
15. Block E., Farmer B.: The status of β -carotene and vitamin A in Quebec dairy herds: factors affecting their status in cows and their reproductive performance. *Can. J. Anim. Sci.*, 67: 775-788, 1987.
16. Bonomi A., Guarantelli A., Sabbioni A., Superchi P.: Inclusion of protected β -carotene in diets for dairy cows. *Rivista Soci. Ital.*, 23 (2): 233-249, 1993.
17. Bonsembiante M. Brittante G. Andrighetto.: Effect of β -carotene on fertility of cows fed diets supplemented with vitamin A. *Zoot. Nutr. Anim.*, 6: 47-58, 1980.
18. Böhm F., Haley J., Truscott T. G., Schalch W.: Cellular bound β -carotene quenches singlet oxygen in man. *J. Photochem. and Photobiol. B: Biol.*, 21: 219-221, 1993.
19. Brief S., Chew B., P.: Effects of vitamin A and β -carotene on reproductive performance in gilts. *J. Anim. Sci.*, 60: 998-1004, 1985.
20. Brubacher G.B., Weiser H.: The vitamin A activity of β -carotene. *Inter. J. Vit. Nutr.*, 55: 5-15, 1985.
21. Burton G.W., Ingold K.U. : β -Carotene: an unusual type of lipid antioxidant. *Sci.*, 224: 569-573, 1984.
22. Can R., Yılmaz K., Gül Y.: İnfertil ineklerde plazma A vitamini ve β -carotene üzerine bir araştırma. *Tr. J. Vet. Anim. Sci.*, 10: 18-23, 1982.
23. Carine D., Loverco G., Greko P., Capuno F., Selvaggi L. : Lipid peroxidation products and antioxidant enzymes in red blood cells during normal and diabetic pregnancy. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 51: 103-109, 1993.
24. Champe P.C., Harvey R.A.: *Biyokimya. Leppincott's Illustrated Reviews Serisi. 2.Baskı. Nobel Kitabevleri, İstanbul, 1997.*
25. Chew B.P.: Effect of supplemental β -carotene and vitamin A on reproduction in swine. *J. Anim. Sci.*, 71: 247-252, 1993.

26. Church D.C.: Digestive physiology and nutrition of ruminants. Nutr. Albany printing CO., 2: 693, 1976.

27. Coffey M. T., Britt J. H.: Enhancement of sow reproductive performance by β -carotene or vitamin Am. J. Anim. Sci., 71: 1198-1202, 1993.

28. Costantino J.P., Kuller L. H., Begg L., Redmond C. K., Bates M. W.: Serum level changes after administration of a pharmacologic dose of β -carotene. Am. J. Clin. Nutr., 48: 1277-1283, 1988.

29. Crabtree D. V., Adler A. J.: Is β -carotene an antioxidant. Med. Hypoth., 48(2): 183-187, 1997.

30. Czarnecki R., Fuz A.J., Palusinski J., Karmelita M., Pycio Z.: Effect of vitamin preparations administered to multiparous sows on the level of some biochemical parameters of colostrum, reproductivity and piglet rearing rate. World Rev. Anim. Prod., 26(4): 59-60, 1991.

31. Daniel L.R., Chew B. P.: Invitro effect of β -carotene and vitamin A on peripartum bovine peripheral blood mononuclear cell proliferation. J. Dairy Sci., 74(3): 911-915, 1991.

32. Davidge S.T., Hubel C.A., Brayden R.D., Capeless E.C., McLaughlin M.K. : Sera antioxidant activity in uncomplicated and preeclamptic pregnancies. Obstet. Gynecol., 79: 897-901, 1992.

33. Dembinski Z., Wieckow W., Mroz-Dembinska S.: Karotenoidy straty wrodzono narodzonych cielat. Med. Wet., 42: 404-408, 1986.

34. Donoghue S., Donawick W.J., Kronfeld D.S.: Transfer of vitamin A from intestine to plasma in lambs fed low and high intakes of vitamin Am. J. Nutr., 113: 2197-2204, 1983.

35. Dryanvski D., Tsvetkova V., Goncharova I., Simeonov S.: Effect of vitamin A and β -carotene on reproduction in cows. Vet. Sbirka, 86 (8): 44-46, 1989.

36. Dugas T. R., Morel D.W., Harrison E.H.: Dietary supplementation with β -carotene, but not with lycopene, inhibits endothelial cell-mediated oxidation of low-density lipoprotein. Free Rad. Biol. Med., 26(9-10): 1238-1244, 1999.

37. Eberhardt D. M., Will W. A., Godkin J. D. : Retinol administration to superovulated ewes improves in vitro embryonic viability. Biol. Reprod., 60: 1483-1487, 1999.

38. Edge R., Truscott T. G.: Prooxidant and antioxidant reaction mechanisms of carotene and radical interactions with vitamins E and C. Nutr., 13(11-12): 992-994, 1997.

39. Edge R., McGarvey D. J., Truscott T. G.: The carotenoids as anti-oxidants-A Review. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, 41(39): 187-200, 1997.
40. Elmarimi A. A., Ven E., Bardos V. E.: Preliminary study on the effects of vitamin A ve β -carotene on growth on reproduction of female rabbit. *J. App. Rabbit Res.*, 12(3): 163-166, 1989.
41. Falkay G., Herezeg J., Sas M. : Microsomal lipid peroxidation in human pregnant uterus and placenta. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 79: 843-851, 1977
42. Farmillo A., Wilkinson F. : On the mechanism of quenching of singlet oxygen in solution. *Photochem. Photobiol.*, 18: 447-450, 1973.
43. Fettahoğlu F., Özpınar A., Bilal T., Özpınar H.: Kısıraklarda kandaki β -karoten ve A vitamini konsantrasyonu ile dövl verimi arasındaki ilişkinin incelenmesi. *İstanbul Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 23 (1): 185-192, 1997.
44. Folman Y., Rosenberg M., Ascarelli M., Kaim M., Herz Z.: The effect of dietary and climatic factors on fertility and on plasma progesterone and oestradiol-17 β levels in dairy cows. *J. Steroid Biochem.*, 19: 863-868, 1983.
45. Foote C.S., Denny R.W. : Chemistry of singlet oxygen. VIII. Quenching by β -carotene. *J. Am. Chem. Soc.*, 90: 6333-6235, 1968.
46. Freeman B.A., Crapo J.D.: Biology of disease : free radicals and tissue injury. *Lab. Invest.*, 47: 412-426, 1982.
47. Friesecke H.: β -carotene and bovine fertility. F. Hoffmann-La Roche δ Co. Ltd. Basle., 1-31, 1978.
48. Gaines J.: The relationship between nutrition and fertility in herdes. *Food Anim. Prac.*, 997-1002, 1998.
49. Gerser H.: Vitamin A: Functions, dietary requirements and safety in humans. *Inter. J. Vit. Nurt.*, 67: 71-90, 1996.
50. Giguere V., Ong E. S., Segui P., Evans R. M.: Identification of a receptor for the morphogen retinoic acid. *Nature.*, 330: 624-629, 1987.
51. Graves-Hoagland R.L., Hoagland T.A., Woody C.O.: Effect of β -carotene and vitamin A on progesterone by bovine luteal cells. *J. Dairy Sci.*, 71(4): 1058-1062, 1988.
52. Graves-Hoagland R.L., Hoagland T.A., Woody C.O.: Relationship of plasma β -carotene and vitamin A to luteal function in postpartum cattle. *J. Dairy Sci.* 72(7): 1854-1858, 1989.

53. Greenberg L.G.: The effect of β -carotene on reproductive function in the cows in vivo and in vitro. Dissert. Abst. Inter. B. Sci., 48 (1): 9, 1987.
54. Halliwell B.: Antioxidants in human health and disease. Ann. Review Nutr., 16: 33-50, 1996.
55. Harney J. P., Mirando M. A., Smith L. C., Bazer F. W.: Retinol-binding protein: A major secretory product of the pig conceptus. Biol. Reprod., 42: 523-532, 1990.
56. Hemken R.W., Bremel D.H.: Possible role of beta-carotene in improving fertility in dairy cattle. J. Dairy Sci., 65(7): 1069-73, 1982
57. Hennekens C. H., Mayrent S. L.: Vitamin A, carotenoids and retinoids. Canc., 58(8): 1837-1841, 1986.
58. Hiramatsu M., Parker L.: Antioxidant activity of retinoids. Methods Enzymol., 190: 273-280, 1990.
59. Jacob R. A., Burri B. J.: Oxidative damage and defense. Am. J. Clin. Nutr., 63(6): 985-990, 1996.
60. Jagos P., Boudo J., Geryk J.: Plasma levels of vitamins A, E, and carotene in cows in late pregnancy and in their foetuses. Acta. Vet. Brno., 48: 19-23, 1979.
61. Johnston L. A., Chew B. P.: Peripartum changes of plasma and milk vitamin A and β -carotene among dairy cows with or without mastitis. J. Dairy Sci., 67: 1832-1840, 1984.
62. Jukola E., Hakkarainen J., Saloniemi H., Sankari S.: Blood selenium, vitamin E, vitamin A and β -carotene concentrations and udder health, fertility treatments and fertility. J. Dairy Sci., 79: 838-845, 1996.
63. Knight T. W., Death A. F.: Vitamin A and plasma carotenoid and cholesterol concentrations in cattle. Anim. Sci., 69: 607-612, 1999.
64. Kormann A.W., Schlachter M.: Preliminary trials concerning growth and reproduction of rabbits on variable supplementation of β -carotene and vitamin A. 3rd World Rabbit Congr. Rome., 1-10, 1984.
65. Köse K., Doğan P.: Lipid peroksidasyonu. Erciyes Tıp Derg., 1: 340-350, 1992.
66. Little R. E., Gladen B.C. : Levels of lipid peroxides in uncomplicated pregnancy: a review of the literature. Reprod. Toxic., 13: 347-352, 1999.
67. Lotthammer K. H.: Importance of β -carotene for the fertility of female cattle. F. Hoffmann-La Roche δ Co. Ltd. Basle., 1-25, 1981.

68. Madazlı R, Benian A., Gumustas K., Uzun H., Ocak V., Aksu F.: Lipid peroxidation and antiöxidants in preeclampsia. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 85(2): 205-208, 1999.
69. Maden M.: The role of retinoic acid in embrionic and post embrionic development. *Proc. Nutr. Soc.*, 59(1): 65-73, 2000.
70. Machlin L., Bendich A.: Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. *Faseb J.*, 1: 441-445, 1987.
71. Mahan D.C., Valet J.L.: Vitamin A and minaral transfer during fetal development and the early postnatal period in pigs. *J. Anim. Sci.*, 75(10): 2731-8, 1997.
72. McDowell P.: Vitamins in animal nutrition: vitamin A. Academic Press. Inc. 1250 Sixth Avenue 92101. San Diego. California., 10-54, 1998.
73. Meister A., Anderson M.E.: Glutathione. *Ann. Rev. Biochem.*, 52: 711-760, 1983.
74. Mezes M.: Effect of thyrotropin (TSH) treatment on the vitamin A and E and lipid peroxide status of domestic fowl. *Act. Vet. Hung.*, 32: 175-180, 1984.
75. National Academy of Science : Atlas of Nutritional Data on United States and Canadian Feeds. Washington D.C., 1971.
76. NRC.: Nutrient requirements of swine (9 th). Nation. Acad. Press. Washington. DC., 1988.
77. O'Fallon J., Chew B.P.: The subcellular distribution of β -carotene in bovine corpus luteum. *Exp. Biol. Med.*, 177: 406-411, 1984.
78. Ohkawa H., Ohishi N., Yagi K.: Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.*, 95: 351-358, 1979.
79. Ojima F., Sakamoto H., Ischiguro Y.: Concupion of carotenoids in photosensitized oxidation of human plasma and plasma low-density lipoprotein. *Free Radic. Biol. Med.*, 15: 377-384, 1993.
80. Olson J. A.: Biological action of carotenoids. *J. Nutr.*, 119: 94-95, 1989.
81. Omaye S. T., Krinsky N. I., Kagan V. E., Mayne S. T., Liebler D. C., Bidlack W. R.: β -carotene: Friend or Foe. *Fundam. Appl. Toxicol.*, 40(29): 163-174, 1997.
82. Özgen H: Hayvan Besleme ; Vitamin A. 3. Baskı. Selçuk Üniv. Vet. Fak. Yay. 5. Konya, 1986.

83. Özpınar H., Özpınar A., İleri K., Kahraman R., Akın G.: Influence of different feeding during the dry period on some blood parameters and reproductive performance of dairy cattle. *Wien. Tierarztl. Mschr.*, 81: 1-5, 1985.
84. Özpınar H.: β -carotene beim rind bedeutung und verteilung auf die serum lipoproteine. *Swiss Vet.*, 10: 7-11, 1988.
85. Özpınar H., Schweigert F.J., Özpınar A., Wierich M., Şenel S.: Änderung der verteilung der fettlöslichen vitamine auf die lipoproteinfraktionen bei saugkalbern und kühen in abhängigkeit von der geburt. *Berl.M nch. Tierarztl. Wschr.*, 101: 383-387, 1988.
86. Özpınar H., Özpınar A., Bilal T., T rkalp I., Fırat A.: Pharmacokinetics of intramuscular administered β -carotene and its effects on reproduction in sheep. *Wien. Tierarztl. Monat.*, 82: 229-231, 1994.
87. Özpınar H., Şenel H.S., Özpınar A.,  ekg l E.: İneklerde d l verimi ile serumdeki β -carotene, A ve E vitamin düzeyleri arasındaki iliŐkiler. *Doç. T rk. Vet. Hay. Der.*, 13 (3): 273-282, 1998.
88. Parker R. S.: Carotenoids in human blood and tissues. *Am. Ins. Nut.*, 13: 101-104, 1988.
89. Peltier M. M., Peltier M. R., Sharp D. C., Ott E. A.: Effect of β -carotene administration on reproductive function of horse and pony mares. *Theriogen.*, 48: 893-906, 1997.
90. Pethes G., Horvath E., Kulscar M., Huszenicza G.Y., Somorjai G.V., Varga B., Haraszti J.: Invitro progesterone production of corpus luteum cells of cows fed low and high levels of beta-carotene. *Zbl. Vet. Med. A.*, 32: 289-296, 1985.
91. Pletsityi K.D., Askerov M.A.: Effect of vitamin A on immunogenesis. *Vopr. Pitan.*, 1: 38-40, 1987.
92. Pusateri A. E., Diekman M. A., Singleton.: Failure of vitamin A to increase litter size in sows receiving injections at various stages of gestation. *J. Anim. Sci.*, 77: 1532-1535, 1998.
93. Randel R.D.: Nutrition and postpartum rebreeding in cattle. *J. Anim. Sci.*, 68: 853-862, 1990.
94. Redmond T. M., Gentleman S., Duncan T., Yu S., Wiggert B., Gantt E., Cunningham F. X.: Identification. expression and substrate specificity of a mammalian β -carotene 15,15'- deoxygenase. *Biyol. Reprod.*, 60(6): 1483, 2000.
95. Reviers T. H., Blanc M. R., Pelletier C and J.: Parameters of female fertility and their genetic variation in sheep. *Gynecol. Rep. In Sheep.*, 16: 301-304, 1984.

96. Reheume J.A., Chavez E.R.: Effect of β -carotene supplementation on the reproductive performance of gilts. *Can. J. Anim. Sci.*, 1183, 1990.
97. Rhodes J.: Human interferon action: Reciprocal regulation by retinoic acid and β -carotene. *J. Natl. Cancer Inst.*, 70: 833-837, 1983.
98. Rutter J. M.: Vitamin A. *Vet. Rec.* 127(17): 433, 1990.
99. Schweigert F. J., Lutterbach A., Rambeck W. A., Zucker H.: Vitamin A and β -carotene concentrations in bovine follicular fluid in relationship to follicle size. *J. Vet. Med. A.*, 33: 360-364, 1986.
100. Schweigert F. J., Rambeck W. A., Zucker H.: Transport of β -carotene by the serum lipoproteins in cattle. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 57: 162-167, 1987.
101. Schweigert F. J., Wierich M., Rambeck W. A., Zucker H.: Carotene cleavage activity in bovine ovarian follicles. *Theriogen.*, 30: 923-930, 1988.
102. Schweigert F. J., Zucker H.: Concentrations of vitamin A, β -carotene and vitamin E in individual bovine follicles of different quality. *J. Reprod. Fertil.*, 82: 575-579, 1988.
103. Sedlak J., Lindsay R.H.: Estimation of total protein-bound and non-protein sulfhydryl groups in tissue with ellman's reagent. *Anal. Biochem.*, 25: 192-205, 1968.
104. Siems W. G., Sommerburg O., van Kuijk F. J. G. M.: Lycopene and β -carotene decompose more rapidly than lutein and zeaxanthin upon exposure to various pro-oxidants in vitro. *Biofact.*, 10: 105-113, 1999.
105. Smith M.W.: The use of β -carotene in dairy rations. 13th Ann. Conference Am. Ass. of Bovine Practitioners. November 22, Toronto, Ontario, Canada, 1980.
106. Surai P.F., Kuklenko T.V., Ionev I.A., Noble R.C., Sparks N.H.C. : Effect of vitamin A on the antioxidant system of the chick during early postnatal development. *Br. Poultry Sci.*, 41: 454-458, 2000.
107. Suzuki J.I., Katoh N.: A simple and cheap methods for measuring serum vitamin A in cattle only a spectrophotometer. *Jpn. J. Vet. Sci.*, 52 (6): 1281-1283, 1990.
108. Swanson K. S., Merchen N. R., Erdman J. W., Drackley J. K., Orsal F., Morin D. E., Haddad M. F.: Influence of dietary vitamin A content on serum and liver vitamin A concentrations and health in preruminant holstein calves fed milk replacer. *J. Dairy. Sci.*, 83: 2027-2036, 2000.

109. Şanlı Y., İmreir H.Y., Kaya S., Koç B., Kahraman M. : Isparta yöresinde doğmuş buzağılarda görülen amorazis olguları ile gebe ineklerde karşılaşılan kronik nitrat zehirlenmeleri arasındaki ilişkinin incelenmesi. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg., 30(4): 657-673, 1983.
110. Tabacova S., Little R.E., Balabaeva L.: Maternal exposure to exogenous nitrogen compounds and complications of pregnancy. Arch. Environ. Health., 52: 341-348, 1997.
111. Takahashi M., Keicho K., Takahashi H., Ogawa H., Schultz R. M., Okano A.: Effect of oxidative stresses on development and DNA damage in invitro cultured bovine embryos by comet assay. Theriogen., 54: 37-145, 2000.
112. Talavera F., Chew B. P.: Comparative role of retinol, retinoic acid and β -carotene on progesterone secretion by pig corpus luteum in vitro. J. Reprod. Fert., 82: 611-615, 1988.
113. Tekpetey F.R., Palmer W.M., Ingals J.R.: Seasonal variation in serum β -carotene and vitamin A and their association with post partum reproductive performance of holstein cows. Can. J. Anim. Sci., 67: 491-500, 1988.
114. Terao J.: Antioxidant activity of β -carotene related carotenoids in solution. Lipids., 24(7): 659-661, 1989.
115. Thompson S. Y.: Vitamin A in animal nutrition. F. Hoffmann-La Roche & Co. Ltd. Basle., 1-51, 1975.
116. Ullrey D.E: Biological availability of fat-soluble vitamins: vitamin A and carotene. J. Anim. Sci., 35(3): 648-657, 1972.
117. Uotila J., Tuimala R., Pyykkö K., Ahotupa M.: Pregnancy-induced hypertension is associated with changes in maternal and umbilical blood antioxidants. Gynecol. Obstet. Invest., 36: 153-157, 1993.
118. Uotila J., Tuimala R., Aernio T., Ahotupa M. : Lipid peroxidation product, selenium dependent glutathione peroxidase and vitamin E in normal pregnancy. Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol., 42: 95-100, 1991.
119. Walsh S.W.: Maternal-plasental interactions of oxidative stress and antioxidants in preeclampsia. Semin. Reprod. Endocrinol., 16: 93-104, 1998.
120. Wang J.Y., Hafi C.B., Larson L.L.: Effect of β -carotene supplementation on peripartuient health and reproduction of holstein cows. Anim. Rep. Sci., 15: 133-144, 1987.
121. Willet W.C., Stamfer M.J., Underwood B.A., Taylor J.O., Hennekens C.H.: Vitamins A, E and β -carotene: effect of supplementation on their plasma levels. Am. J. Clin. Nutr., 38: 559-566, 1983.

8. ÖZGEÇMİŞ

Gaziantep ilinin İslahiye ilçesinde 1972 yılında doğdum. İlkokulu Gaziantep'in Nurdağı ilçesine bağlı Emirler Köyü ilkokulu'nda, ortaokulu İskenderun'un Namık Kemal Ortaokulu'nda, liseyi ise İskenderun Lisesi'nde tamamladım. Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesine 1989 yılında girdim ve 1994 yılında mezun oldum. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı'na 1995 yılında araştırma görevlisi olarak atandım. Daha sonra, 1997-1998 öğretim yılında Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü nezdinde Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda doktora programına başladım. Aynı Anabilim Dalı'na 1998 yılında araştırma görevlisi olarak atandım. Halen bu görevime devam etmekteyim. Evliyim ve bir çocuk annesiyim.

Y.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

122. Wing J.M.: Effect of source and season on apperent digestibility of carotene in forege by cattle. J. Dairy Sci., 52(4): 479-483, 1969.
123. Wiseman H.G., Kane E.A., Carry C.A.: Rate of decomposition of carotene in hays during storage at different seasons of the year. J. Dairy Sci., 19: 466-467, 1936.
124. Young F.M., Luderer W.B., Rodgers R.J.: The antioxidant β -carotene prevents covalent cross-linking between cholesterol side chain cleavage cytochrome P450 and its electron donor adrenodoxin in bovine luteal cells. Mol. Cell Endocrinol., 109: 113-118, 1995.