

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK PROTEİN İÇEREN DİYETLE BESLENEN
SIÇANLARA ATKESTANESİ EKSTRESİ (*AESCULUS
HIPPOCASTANUM L.*) VERİLMESİNİN KEMİK VE
KALSİYUM METABOLİZMASINA ETKİLERİ**

Öğr. Gör. Erten AKBEL

VETERİNER BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Abdullah ERYAVUZ

**Bu tez Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu
tarafından 08.VF.13 Proje numarası ile desteklenmiştir.**

Tez No:2010-007

2010-AFYONKARAHİSAR

KABUL ve ONAY

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Veteriner Biyokimya Anabilim Dalı Doktora programı


çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından

Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 07 / 07 / 2010


Jüri Başkanı

Prof. Dr. Nalan BAYŞU SÖZBİLİR


Raporçu

Doç. Dr. Gülecan AVCI


Üye

Prof. Dr. Recep ASLAN



Üye

Prof. Dr. Seyfullah HALILOĞLU


Üye

Prof. Dr. Abdullah ERYAVUZ

Biyokimya Anabilim Dalı Doktora programı öğrencisi Erten AKBEL'in "Yüksek protein içeren diyetle beslenen siçanlara Atkestanesi ekstresi (*Aesculus hippocastanum L.*) verilmesinin kemik ve kalsiyum metabolizmasına etkileri" başlıklı tezi 07/07/2010 günü saat 14:00'de Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.


Doç. Dr. Esma KOZAN
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Canlıların yaşamlarını devam ettirebilmeleri için alınması zorunlu besin maddeleri arasında yer alan proteinlerin yüksek miktarlardaki tüketimi birçok fizyolojik fonksiyonun yanı sıra kemik ve kalsiyum dengesinde de bozulmalara yol açabilmektedir. Günümüzde sentetik ilaçların meydana getirdiği ciddi yan etkiler tıbbi bitkilerle tedaviyi bilimsel araştırmaların öncelikli konuları arasına getirmiş saponin içeren bitkilere de bir ilgi oluşmuştur. Ancak saponinlerin hipokolesterolemik, hipoglisemik ve hemolitik gibi yaygın olarak bilinen özelliklerine karşılık kemik ve kalsiyum metabolizması üzerindeki etkilerini konu alan bir çalışmaya rastlanılmaması dikkate değerdir.

Bu tez; atkestanesi ağacının (*Aesculum hippocastanum* L.) tohumlarında bulunan ve etken maddesini triterpenik saponin karışımının oluşturduğu “aescin”in (essin) , yüksek protein içeren diyetle ilavesinin özellikle kalsiyum ve kemik metabolizmasında yer alan bazı biyokimyasal parametrelere etkilerinin araştırılması amacıyla gerçekleştirilmiştir.

Doktora eğitimim boyunca yardımlarını ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, tezimin hazırlanmasında büyük emek harcayan ve bizleri yönlendiren değerli danışman hocam Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Abdullah Eryavuz’a saygı ve şükranlarımı sunuyorum.

Sahip olduğu bilgi ve tecrübeyi her zaman bizlerle paylaşan ve doktora eğitimi yapmamda büyük katkılar sağlayan Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Nalân Bayşu Sözbilir’e saygı ve teşekkürlerimi arz ederim.

Mesleki bilgilerinin yanında sahip oldukları engin bilgi ve tecrübelerini bizlerle paylaştıkları için Prof. Dr. Nihat Bayşu ve Prof. Dr. Recep Aslan’a teşekkürlerimi sunuyorum.

Doktora eğitimi süresince gerek literatür gerekse deneysel çalışmalarında desteklerini her zaman gördüğüm Doç. Dr. Gülcan Avcı, Yrd. Doç. Dr. Sinan İnce ve Dr. İsmail Küçükkurt ve A. Fatih Fidan'a teşekkürü bir borç bilirim.

Hazırlamış olduğum tez çalışmasını proje olarak kabul ederek sağladıkları maddi destekten dolayı Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederim.

Meslek hayatım ve akademik kariyerin önemli kilometre taşlarından biri olan doktora eğitimi süresince verdiği destekten dolayı Uşak Üniversitesi Rektörü Sayın Prof. Dr. Adnan Şişman'a teşekkürü bir borç bilirim.

Yapmış olduğum bu çalışmada, hazırladığım bitki ekstraktının analizini yaparak sağlamış olduğu bilimsel katkılarından dolayı Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Öğretim Üyesi Doç. Dr. Cengiz Gökbulut'a teşekkür ederim.

Eğitim hayatımın her döneminde bana destek olan annem Sevim Çakal ve özellikle deney aşamasındaki yardımlarından dolayı babam Mustafa Çakal'a, manevi desteklerini her zaman hissettiğim sevgili çocuklarım Seray ve Yiğit'e, göstermiş olduğu o büyük özveri ve hoşgörüden dolayı sevgili eşim Hulusi Akbel'e buradan sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
KABUL ve ONAY	ii
ÖNSÖZ	iii
İÇİNDEKİLER	v
SİMGELER ve KISALTMALAR	vii
ŞEKİLLER	ix
TABLolar	x
GRAFİKLER	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Proteinler ve Protein Metabolizması	2
1.1.1. Protein Tanımı.....	4
1.1.2. Protein Metabolizması.....	5
1.1.3. Yüksek Proteinle Beslenmenin Organizmadaki Etkileri.....	7
1.2. Kalsiyum Metabolizması	9
1.2.1. Mineral ve Kemik Metabolizmasını Düzenleyen Hormonlar.....	12
1.2.1.1. Paratiroid Hormon (PTH)	12
1.2.1.2. Kalsitonin	14
1.2.1.3. Vitamin D	16
1.2.1.4. Osteokalsin	18
1.3. Proteinlerin Kemik Metabolizmasına Etkileri	19
1.4. Atkestanesi Ağacının Tanıtımı.....	26
1.4.1. Atkestanesinde Bulunan Bileşikler	27
1.4.2. Saponinler	28
1.4.3. Saponinlerin Biyolojik Etkileri.....	30
1.4.4. Saponinlerin Protein Metabolizmasına Etkisi.....	33
2.GEREÇ ve YÖNTEMLER	35
2.1. Gereç.....	35
2.1.1. Bitki Ekstresinin Hazırlanması	35
2.1.2. Deney Hayvanı.....	35
2.1.3. Teknik Aletler	37

2.1.4. Kimyasal Maddeler	38
2.2. Yöntem	38
2.2.1. Kan Örneklerinin Alınması.....	38
2.2.2. Kalsiyum Tayini.....	39
2.2.3. Paratiroid Hormon (Pth) Tayini	39
2.2.4. 25-Hidroksi Vitamin D (25-OH Vit D) Tayini	40
2.2.5. Kalsitonin Tayini.....	41
2.2.6. Osteokalsin Tayini.....	41
2.2.7. İnorganik Fosfor Tayini.....	42
2.2.8. Alkalen Fosfataz Tayini.....	42
2.2.9. Total Protein Tayini.....	43
2.2.10. Üre Azotu Tayini.....	43
2.2.11. Glikoz Tayini	44
2.2.12. İstatistik Analizler	44
2.BULGULAR.....	45
3.1. Atkestanesi Ekstresinin HPLC Analizi Sonuçları	45
3.2. Hormonlar ve Biyokimyasal Parametrelerdeki Değişimler.....	46
3.2.1. Serum Kalsiyum Düzeyleri.....	49
3.2.2. Plazma Paratiroid Hormon (PTH) Düzeyleri.....	50
3.2.3. Plazma Vitamin D Düzeyleri.....	51
3.2.4. Plazma Kalsitonin Düzeyleri	52
3.2.5. Plazma Osteokalsin Düzeyleri	53
3.2.6. Serum İnorganik Fosfor Düzeyleri.....	54
3.2.7. Serum Alkalen Fosfataz (ALP) Düzeyleri.....	55
3.2.8. Plazma Total Protein Düzeyleri	56
3.2.9. Plazma Üre Azotu Düzeyleri	57
3.2.10. Plazma Glikoz Düzeyleri.....	58
4. TARTIŞMA.....	59
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	68
ÖZET.....	69
SUMMARY	71
KAYNAKLAR	73
ÖZGEÇMİŞ	85

SİMGELER ve KISALTMALAR

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$:Diamonyum sülfat
$(\text{NH}_4)_3[\text{PO}_4(\text{MoO}_3)_{12}]$:Fosfomolibdat kompleksi
ALP	:Alkalenfosfataz
ATP	:Adenozintrifosfat
BGP	:Bone Gla Protein
c AMP	:Cyclic adenozin monofosfat
Ca^{+2}	:Kalsiyum İyonu
$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$:Kalsiyum hidroksi apatit
CaBP	:Kalsiyum bağlayıcı protein
CO_2	:Karbondioksit
CT	:Kalsitonin
Cu(II)	:Bakır (II) iyonu
D_2	:Ergokalsiferol
D_3	:Kolekalsiferol
DG	:Gibbs serbest enerjisi
GFR	:Glomerular filtrasyon hızı
H^+	:Hidrojen iyonu
H_2CO_3	:Karbonik asit
H_2O_2	:Hidrojen peroksit
H_2SO_4	:Sülfürik asit
H_3PO_4	:Fosforik asit
HCl	:Hidrojen klorür
HCO_3^-	:Bikarbonat
HPLC	:Yüksek basınç sıvı kromatografisi
HPO_4^{2-}	:Hidrojen iyonu
HRP	:Horseradish peroksidaz
IGF	:Insulin Like Growth Factor
MAb1	:Monoklonal antikor
MAb2	:İşaretlenmiş monoklonal antikor
Mg^{2+}	:Magnezyum iyonu
MGP	:Matrix Gla Protein

Na	:Sodyum
Na ⁺	:Sodyum iyonu
Na ₂ SO ₄	:Sodyum sülfat
NH ₄ ⁺	:Amonyum
NH ₃	:Amonyak
NO	:Nitrojen oksit
O ₂	:Oksijen
P	:Fosfor
Pi	:İnorganik fosfor
PTH	:Paratiroid hormon
S	:Sülfür
SO ₄ ⁻²	:Sülfat iyonu
TLC	:İnce tabaka kromatografisi
TMB	:Tetrametilbenzidin
VDBP	:Vitamin D bağlayan protein
YE	:Yucca ekstraktı

ŞEKİLLER

	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1. Protein ve amino asit dönüşümü	6
Şekil 1.2. Vitamin D3'ün metabolizması ve fonksiyonu	18
Şekil 1.3. Asitin hepatik üretimi, fizyolojik tamponlanması ve renal ekskresyonu	22
Şekil 1.4. Metabolik Asidozis	24
Şekil 1.5. Saponin etkileri	32

TABLULAR

	<u>Sayfa</u>
Tablo 1.1. Kalsiyum Metabolizmasını Düzenleyen Hormonların Sınıflandırılması, Yerleşimi ve Etkileri	13
Tablo 1.2. Bazı Yiyeceklerdeki Saponin Miktarları	29
Tablo 2.1. Araştırmada Kullanılan Standart ve Yüksek Protein İçeren Sıçan Yeminin Analiz Sonuçları ve Katkı Maddeleri	37
Tablo3.1. Ekstredeki Aescin miktarı ve aescinin bileşimi (%)	46
Tablo 3.2. Yüksek Protein Diyeti ve Atkestanesi (<i>Aesculum hippocastanum</i> L.) Ekstraktının Kalsiyum, PTH, Vitamin D, Kalsitonin, Osteokalsin, Fosfor, ALP, Total Protein, Üre Azotu ve Glikoz Düzeylerine Etkileri.....	48

GRAFİKLERSayfa

Grafik 3.1.İçerisinde Sialik Asit Bulunmayan ve Türevlendirmede Kullanılan Kimyasalların Bulunduğu Analiz	45
Grafik 3.2. Sialik Asit (N-asetil neurominik asit) Analizi	45
Grafik 3.3. N-asetil Neurominik Asit ve N-Glikolilnörominik Asit Analizi	46
Grafik 3.4. Serum Kalsiyum Düzeyleri	49
Grafik 3.5. Plazma Paratiroid Hormon (PTH) Düzeyleri	50
Grafik 3.6. Plazma Vitamin D Düzeyleri	51
Grafik3.7. Plazma Kalsitonin Düzeyleri	52
Grafik 3.8. Plazma Osteokalsin Düzeyleri	53
Grafik 3. 9. Serum İnorganik Fosfor Düzeyleri	54
Grafik 3.10. Serum Alkalin Fosfataz (ALP) Düzeyleri	55
Grafik 3.11. Plazma Total Protein Düzeyleri	56
Grafik 3.12. Plazma Üre Azotu Düzeyleri	57
Grafik 3.13.Plazma Glikoz Düzeyleri	58