

**T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**RATLARDA MATERNAL DÜŞÜK KALİTELİ PROTEİN DİYETİNİN  
GEBELİĞE ADAPTASYON, FETAL GELİŞİM VE PLAZMA AMİNO ASİT  
PROFİLİ ÜZERİNE ETKİSİ**

**Dyt. Arzu KABASAKAL ÇETİN**

**Diyetetik Programı  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ANKARA  
2015**

**T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**RATLARDA MATERNAL DÜŞÜK KALİTELİ PROTEİN DİYETİNİN  
GEBELİĞE ADAPTASYON, FETAL GELİŞİM VE PLAZMA AMİNO ASİT  
PROFİLİ ÜZERİNE ETKİSİ**

**Dyt. Arzu KABASAKAL ÇETİN**

**Diyetetik Programı  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
Yrd. Doç. Dr. Aslı AKYOL MUTLU**

**ANKARA  
2015**

## ONAY SAYFASI

Anabilim Dalı :Beslenme ve Diyetetik  
 Program :Diyetetik  
 Tez Başlığı :Ratlarda Maternal Düşük Kaliteli Protein Diyetinin Gebeliğe  
 Adaptasyon, Fetal Gelişim ve Plazma Amino Asit Profili  
 Üzerine Etkisi  
 Öğrenci Adı-Soyadı :Arzu KABASAKAL ÇETİN  
 Savunma Sınavı Tarihi :24.07.2015

Bu çalışma jürimiz tarafından yüksek lisans/doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:

Prof.Dr. H. Tanju BESLER

(Hacettepe Üniversitesi)

Tez danışmanı:

Yrd.Doç.Dr. Ash AKYOL MUTLU

(Hacettepe Üniversitesi)

Üye:

Doç.Dr. Gülhan SAMUR

(Hacettepe Üniversitesi)

Üye:

Yrd.Doç.Dr. Zeynep GÖKTAŞ

(Hacettepe Üniversitesi)

Üye:

Prof.Dr. Efsun KARABUDAK

(Gazi Üniversitesi)

## ONAY

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Ersin FADILLIOĞLU

Müdür *Y.*

## TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesi ve bu tez çalışmasının her aşamasında çok değerli bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşarak çalışmanın tamamlanmasında büyük emeği geçen ve yüksek lisans eğitimim süresince bana her konuda rehber olan, öğrencisi olmaktan büyük bir onur duyduğum Sayın Hocam Yrd. Doç. Dr. Aslı AKYOL MUTLU'ya,

Bu çalışmanın deney aşamasında çok değerli bilgi ve tecrübeleriyle bana yardımcı olan Sayın Hocalarım Doç. Dr. İlyas Onbaşılar ve Öğr. Gör. Dr. Atila Güleç'e,

Yardımlarından dolayı Arş. Gör. Halil DAŞGIN'a,

Büyük bir özveri ve sabır ile her zaman yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen canım aileme ve nişanlıma,

Ayrıca Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi çalışanlarına ilgi ve yardımlarından dolayı sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

## ÖZET

**Kabasakal Çetin A. Ratlarda maternal düşük kaliteli protein diyetinin gebeliğe adaptasyon, fetal gelişim ve plazma amino asit profili üzerine etkisi. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Diyetetik Programı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2015.** Bu çalışma maternal düşük kaliteli protein diyetinin gebeliğe adaptasyon, fetal gelişim ve laktasyon dönemi sonunda anne ve yavruların plazma serbest amino asit konsantrasyonu üzerine etkisinin değerlendirilmesi amacıyla yapılmıştır. 9-11 haftalık 13 adet Wistar türü dişi rat randomize olarak iki gruba ayrılmıştır. Gebelik ve laktasyon süresince kazein grubu (n=6) %20 oranında kazein proteini içeren bir diyetle, buğday gluteni grubu (n=7) ise düşük kaliteli protein diyeti (%20 buğday gluteni proteini) ile ad libitum beslenmiştir. Gebelik ve laktasyon dönemi süresince hafta içi her gün maternal vücut ağırlığı ve yem tüketimi ölçülmüştür. Her batından randomize olarak 4 yavru ayrılmış ve diğer yavrulara ötanazi uygulanmıştır. Laktasyon dönemi sonunda tüm annelere ve her batından 2 yavruya ötanazi uygulanmış ve kan ve doku örnekleri (karaciğer, beyin, böbrekler ve kalp) alınmıştır. Maternal ve yavruya ait plazma serbest amino asit profili EZ: faast amino asit kiti kullanılarak gaz kromatografi cihazı ile belirlenmiştir. Gebeliğin son haftasında buğday gluteni grubunda (BG) yer alan ratların besin tüketiminin ve ağırlık kazanımının kazein grubundan (K) önemli düzeyde daha düşük olduğu bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Laktasyon döneminin 3. haftasında BG grubunun besin tüketiminin K grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşük olduğu bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Maternal plazma serin konsantrasyonu BG grubunda önemli düzeyde düşük bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Maternal düşük kaliteli protein diyetinin yavruların doğum ağırlığı, doğum anındaki organ ağırlıkları ve laktasyon döneminde vücut ağırlığı değişimi üzerine etkisinin olmadığı saptanmıştır ( $p>0.05$ ). Laktasyon dönemi sonunda, BG grubunda yer alan erkek ratların beyin ağırlıklarının K grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşük olduğu gösterilmiştir ( $p<0.05$ ). BG grubunda yer alan yavrulara ait plazma glutamin ve lizin konsantrasyonu K grubundan önemli düzeyde daha düşük, aspartik asit ve glisil-prolin konsantrasyonu ise daha yüksek bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Sonuç olarak, maternal düşük kaliteli protein diyeti hem maternal hem de yavruya ait plazma amino asit profilini etkilemektedir. Maternal düşük kaliteli protein diyetinin fetüs metabolizması üzerindeki uzun dönem metabolik ve fizyolojik etkilerinin değerlendirilebilmesi için daha fazla kapsamlı araştırmalara ihtiyaç vardır.

Bu çalışma TÜBİTAK 1002 Hızlı Destek Programı tarafından desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Düşük kaliteli protein, fetal programlama, amino asit profili

## ABSTRACT

**Kabasakal Çetin A. Effect of maternal low quality protein diet on maternal adaptation to pregnancy, fetal growth and development and plasma amino acid profile. Hacettepe University Institute of Health Sciences. MSc Thesis in Dietetics Program, Ankara, 2015.** This study aimed to examine the effect of maternal low quality protein diet on maternal adaptation to pregnancy, fetal growth and maternal and fetal plasma free amino acid profile at weaning. Thirteen, 9-11-week old virgin female Wistar rats mated and were randomly divided into two groups fed casein (C: 20% casein protein; n=6) and low quality protein diet (WG: 20% wheat gluten protein; n=7) ad libitum. Maternal food intake and body weight were recorded daily during pregnancy and lactation. All dams and 2 offspring from every dam were euthanized at the end of lactation. Blood and tissue samples were taken and organ weights (liver, brain, kidneys and heart) were recorded. Maternal and fetal plasma free amino acid profile were determined using Ez:faast amino acid kit by GC (gas chromatography). It was determined that weight gain and food intake was significantly lower in experimental group than control group at the third week of pregnancy ( $p<0.05$ ). Food intake of C group was much more than WG group and this was found statistically important ( $p<0.05$ ) at the third week of lactation. Maternal plasma free serine concentrations were significantly lower in WG group ( $p<0.05$ ). Maternal low quality protein diet had no significant effect on birth and organ weights of offspring and body weight from birth to weaning of litters ( $p>0.05$ ). Brain weights of male litters at weaning in WG were significantly lower ( $p<0.05$ ). While free glutamine and lysine concentrations in plasma of WG litters were significantly lower, plasma free aspartic acid and glycyl-proline concentrations were significantly higher in group C ( $p<0.05$ ). Consequently, maternal low quality protein diet had an important effect on plasma amino acid profile of dams and litters. Further comprehensive studies are required in order to assess long term metabolic and physiological effects of maternal low quality protein diet on fetal metabolism.

This research was supported by TUBITAK 1002-Short Term R&D Funding Program.

Key words: Low quality protein, fetal programming, amino acid profile

## İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
ŞEKİLLER	xii
TABLolar DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
1.1. Kuramsal Yaklaşımlar	1
1.2. Amaç ve Hipotezler	3
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Fetal Programlama Hipotezi	4
2.1.1. Epidemiyolojik Çalışmalar	6
2.1.2. Hayvan Çalışmaları	8
2.2. Protein ve Sağlıklı Beslenme	12
2.2.1. Protein ve Yapısı	12
2.2.2. Protein Kaynakları	13
2.2.3. Protein Sindirimi	14
2.2.4. Proteinin Biyolojik Fonksiyonları	14
2.2.5. P rotein Dönüşümü	15
2.2.6. Aminoasitler	18
2.2.7. Amino Asitlerin Emilimi ve Taşınması	21
2.2.8. Amino Asit Metabolizması	23
2.2.9. Amino Asit Katabolizması	25
2.2.10. Üre Döngüsü	31
2.2.11. Protein Kalitesi	32
2.2.12. Protein Kalitesinin Belirlenmesi	34
2.3. Gebelik ve Protein Alımı	35
2.3.1. Gebelikte Protein Metabolizması	36
2.3.2. Gebelikte Proteinin Önemi	36

2.4. Fetal Programlama ve Protein Alımı	37
2.4.1. Düşük Proteinli Diyetler	37
2.4.2. Düşük Kaliteli Protein Alımı	40
3. GEREÇ VE YÖNTEM	42
3.1. Araç ve Gereçler	42
3.2. Deney Hayvanları	42
3.2.1. Düşük Kaliteli Protein Diyeti	43
3.2.2. Vücut Ağırlıkları İle Yem Tüketimlerinin Ölçülmesi	43
3.3. Kan ve Doku Örneklerinin Toplanması	44
3.4. Maternal Süt Salınımının Hesaplanması	45
3.5. Plazma Amino Asit Profilinin Belirlenmesi	45
3.6. Yavru/Maternal Amino Asit Oranları	45
3.7. İstatistiksel Analizler	46
4. BULGULAR	48
4.1. Maternal Bulgular	48
4.1.1. Gebeliğe Adaptasyon ile Gebelik ve Laktasyon Döneminde Meydana Gelen Ağırlık Değişimine İlişkin Bulgular	48
4.1.2. Gebelik ve Laktasyon Süresince Maternal Besin Tüketimi ve Günlük Enerji ve Makrobesin Ögesi Alımına İlişkin Bulgular	52
4.1.3. Plazma Serbest Amino Asit Konsantrasyonuna İlişkin Bulgular	53
4.2. Fetal Bulgular	61
4.2.1. Yavruların Doğum ağırlığı ve Doğum Anındaki Organ Ağırlıklarına İlişkin Bulgular	61
4.2.2. Yavruların Vücut Ağırlığı Değişimi ve Laktasyon Sonu Organ Ağırlıklarına İlişkin Bulgular	63
4.2.3. Yavruların Plazma Serbest Amino Asit Konsantrasyonuna İlişkin Bulgular	67
4.3. Yavru /Maternal Amino Asit Oranlarının Değerlendirilmesi	72
5. TARTIŞMA	76
5.1. Maternal Bulguların Tartışılması	76
5.2. Yavruya Ait Bulguların Tartışılması	80
5.3. Yavru/Maternal Amino Asit Oranının Tartışılması	86



6.SONUÇLAR	89
7.ÖNERİLER	92
KAYNAKLAR	93
EKLER	
EK 1: Etik Kurul	
EK 2:Yem İçeriği	
EK 3: Plazmada Bakılan Amino Asitler	
EK 4: Diyetlerin Amino Asit Kompozisyonu	

## SİMGELER VE KISALTMALAR

11- $\beta$ HSD	11 $\beta$ -Hidroksisteroid Dehidrogenaz
ADE	Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim
ALT	Alanin Aminotransferaz
AST	Aspartat Aminotransferaz
AT <sub>1</sub> R	Anjiyotensin II Tip 1 Reseptörü
ATP	Adenozin Trifosfat
BG	Buğday Gluteni
BV	Biyolojik Değer
C	Kazein
CO <sub>2</sub>	Karbondioksit
CoA	Koenzim A
DOPA	3,4-Dihidroksifenilalanin
EAA	Elzem Amino Asitler
FIGLU	Formiminoglutamik asit
GC	Gaz Kromatografisi
H	Hidrojen
HCl	Hidroklorik Asit
Ig	İmmüoglobulin
IGF-1	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1
K	Kazein
KC	Karaciğer
Km	Afinite
NAD	Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NEAA	Elzem Olmayan Amino Asitler
NO	Nitrik Oksit
NOS	Nitrik Oksit Sentetaz
NPU	Net Protein Kullanımı
ODC	Ornitin Dekarboksilaz
PDCAAS	Protein Sindirilebilirliği Düzeltilmiş Amino Asit Skoru
PER	Protein Yeterlilik Oranı

PLP	Pridoksal Fosfat
Q	Akış Hızı
R	Yan zincir
Ra	Görünüş Hızı
RAS	Renin Anjiyotensin Sistemi
Rd	Kaybolma Hızı
T3	Triiyodotronin
WG	Buğday Gluteni

## ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
2.1. Protein Dönüşümü	17
2.2. Amino asitlerin genel yapısı.	19
2.3. Transaminasyon reaksiyonu	25
2.4. Lizin metabolizması	27
2.5. Metiyonin ve sistein metabolizması.	28
2.6. Fenilalanin ve tirozin metabolizması	29
2.7. Triptofan metabolizması	30
2.8. Üre döngüsü	31
3.1. Araştırmanın yürütülmesinde izlenen yol	46
4.1. Gebelik ve laktasyon süresince meydana gelen maternal vücut ağırlığı değişimi.	50
4.2. Gebelik (a) ve laktasyon (b) dönemleri süresince maternal ağırlık kazanımı/kaybı	51
4.3. Gebelik ve laktasyon dönemleri süresince günlük besin tüketimi.	55
4.4. Gebelik ve laktasyon dönemi süresince maternal besin tüketiminde meydana gelen değişim	56
4.5. Gebelik ve laktasyon dönemi süresince maternal enerji alımında meydana gelen değişim	57
4.6. Maternal plazma serbest amino asit konsantrasyonu	60
4.7. Maternal Diyetin Yavruların Doğum Ağırlığı Üzerine Etkisi	62
4.8. Maternal diyetin laktasyon dönemi süresince erkek ve dişi yavruların vücut ağırlığı değişimi üzerine etkisi	65
4.9. Maternal diyetin yavruya ait plazma serbest amino asit konsantrasyonuna olan etkisinin değerlendirilmesi	71

## TABLOLAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa
2.1. Amino asit taşıyıcıları	22
4.1. Maternal özelliklerin değerlendirilmesi	48
4.2. Gebelik süresince annelerin günlük enerji ve makrobesin ögesi alım miktarı	53
4.3. Laktasyon süresince annelerin günlük enerji ve makrobesin ögesi alım miktarı	53
4.4. Maternal plazma serbest amino asit konsantrasyonunun değerlendirilmesi	58
4.5. Maternal diyetin yavruların doğum anındaki organ ağırlıkları üzerine etkisi.	63
4.6. Maternal diyetin yavruların laktasyon sonu organ ağırlıkları üzerine etkisi.	66
4.7. Maternal diyetin yavruların vücut ağırlıklarına göre organ ağırlıkları (%) üzerine etkisi	67
4.8. Maternal diyetin yavruların plazma serbest amino asit konsantrasyonuna olan etkisinin değerlendirilmesi	69
4.9. Yavru/maternal amino asit oranlarının değerlendirilmesi	74

## 1. GİRİŞ

### 1.1. Kuramsal Yaklaşımlar

Gebelik süresince gelişmekte olan fetüs, besin ögesi gereksinmelerinin karşılanması için tamamen anneye ve maternal çevreye bağımlıdır. Maternal beslenme, fetal sağlık ve gebelik sonucunu etkilemektedir. Rahim içinde maruz kalınan optimal olmayan beslenme çevresinin fetus metabolizmasında kalıcı değişikliklere yol açarak yetişkinlik döneminde hastalık riskini artırması Fetal Programlama Hipotezi olarak bilinmektedir (1).

Yaşamın erken dönemlerinde maruz kalınan çevresel etmenlerin yetişkinlik döneminde hastalık riskinin belirlenmesinde rol oynayabileceğine dair ilk izlenimler, İngiltere’de hastalık örüntülerinin nedenlerinin değerlendirilmesi amacıyla yapılmış çalışmalar sonucu elde edilmiştir (2). Bu çalışmalar sonucunda doğum zamanının koroner kalp hastalığı gelişiminde önemli bir rol oynadığı belirlenmiştir (3). Doğum ağırlığının yetişkinlik dönemindeki hastalıklar ile olan ilişkisi gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde bağımsız örneklerle gerçekleştirilmiş bir çok çalışma tarafından doğrulanmıştır. Fetal Programlamanın temel dayanağı, gebelikte kötü beslenmenin fetal gelişimi bozduğu ve uzun dönemde hastalığa yol açan olumsuz koşullara karşı hayatta kalmayı sağlayan adaptasyonların fetal yaşamda oluşmasıdır (4).

Gebelikte kötü beslenme süreçlerinin doğacak bebeklerin hastalık ve sağlığı üzerine etkilerine dair en iyi kanıt II. Dünya Savaşı döneminde meydana gelen kıtlığa maruziyetin takip edildiği çalışmalardan gelmektedir (4). Hollanda Açlık Kışı kohortunda, doğum öncesi yetersiz beslenmenin fetal gelişim üzerine küçük bir etkisinin olduğu; ancak uzun dönemde koroner kalp hastalığı (5), obezite (6), renal disfonksiyon (7) ve insuline bağımlı olmayan diyabet (8) ile ilişkilendirildiğini gösteren veriler rapor edilmiştir (4).

Fetal Programlamayla ilgili mekanizmaların doğruluğunun insan çalışmalarıyla belirlenmesi oldukça zordur. Etik problemlerin yanısıra doğal insan yaşantısının multifaktöriyel özellikler taşıması (enfeksiyon, stress, sigara, alkol vb.) nedeniyle de zorluklar bulunmaktadır. Bu nedenle çalışmaların çoğu hayvan modellerinden yararlanılarak yapılmaktadır (1).

Hayvanlarda Fetal Programlama hipotezinin çalışılması için birçok yaklaşım ele alınmıştır. Fetal ya da neonatal gelişimin manipüle edilmesi amacıyla gebelikte

ya da laktasyonda besin alımının sınırlandırılması yaklaşımı (global besin ögesi kısıtlama modelleri) yaygın olarak kullanılmaktadır. Daha özgün maternal diyet manipülasyonları; makro besin ögelerinin fazla miktarda verilmesi (doymuş yağ, protein, karbonhidrat), kısıtlanması veya belirli mikrobesein ögelerinin (demir, çinko, kalsiyum) alımının kısıtlanmasıdır (4). Rat ve fare modellerinde herhangi bir besin ögesi kısıtlamasının kan basıncında artışa yol açtığı gösterilmiştir (9). Glikoz intoleransı ve insülin direnci için benzer bulgulara rastlanmakta ve rahim içi besin ögesi kısıtlaması çalışmalarının ortak bulgusu olarak abdominal obezite artışı saptanmaktadır (10).

Ratlarda önemli sayıda deneysel çalışma özellikle protein kısıtlamasının fetal gelişim ve sonraki yaşam üzerine etkilerini araştırmaktadır. Gebelikte protein kısıtlaması düşük doğum ağırlığı ve yetişkinlikte hipertansiyon gelişimine yol açabilen nefron sayısında azalma ile ilişkilendirilmektedir (11). Maternal düşük protein alımı, yeni doğmuş ratlarda pankreasta  $\beta$ -hücre yoğunluğunda azalmaya yol açmış ve yaşamın ilerleyen dönemlerinde insülin salınımında azalma görülmüştür (12). Gebelik ve laktasyon dönemlerinde maternal düşük proteinli diyet tüketimine bağlı olarak yeni doğan ratların serum insülin seviyeleri düşük, glikoz ve trigliserid seviyeleri ise yüksek bulunmuştur. Bu çalışmaya göre; karaciğerde lipojenik enzim salınımındaki artışa bağlı olarak yaşamın ilerleyen dönemlerinde ratlarda yağ birikimi ve insülin direnci oluşabileceği gösterilmiştir (13). Maternal düşük proteinli diyet tüketiminin yavru ratlarda besin tercihlerini programlayabileceğine dair çalışmalar bulunmaktadır (14,15). Bu çalışmalarla maternal protein kısıtlamasının yavru ratlarda yüksek yağlı besin tercihini arttırdığı gösterilmiştir.

Literatürde maternal düşük protein alımı ve Fetal Programlama ile ilgili oldukça fazla sayıda çalışma varken, protein kalitesinin fetüs gelişimi üzerine etkileri bilinmemektedir. Kazein, rat yemlerinde kullanılan kaliteli bir protein kaynağıdır (16). Düşük kaliteli protein kaynağının ratlarda sağlık üzerine olan etkisinin incelendiği çalışmalarda kazeine kıyasla düşük kaliteli protein olarak buğday gluteni kullanılmaktadır (17,18). Bu çalışma maternal diyetin protein kalitesinin fetüs gelişimi üzerine etkilerini değerlendirecektir.

## **1.2. Amaç ve Hipotezler**

### **Amaçlar:**

1. Gebelik ve laktasyon döneminde düşük kaliteli protein diyeti alan annelerin vücut ağırlığı, besin tüketimi ve plazma amino asit profilini izlemek.
2. Gebelik ve laktasyon döneminde düşük kaliteli protein diyeti alan annelerin yavrularında fetal ve laktasyon dönemi gelişim sürecini (doğum ağırlığı, laktasyon döneminde vücut ağırlığı ) izlemek.
3. Gebelik ve laktasyon döneminde düşük kaliteli protein diyeti alan annelerin yavrularında plazma aminoasit profilini belirlemek.

### **Hipotezler:**

1. Maternal düşük kaliteli protein diyeti annelerin vücut ağırlığı, besin tüketimi ve plazma amino asit profilini değiştirir.
2. Maternal düşük kaliteli protein diyeti fetal büyüme ve gelişmeyi etkiler.
3. Maternal düşük kaliteli protein diyeti yavrularda plazma aminoasit profilini etkiler.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Fetal Programlama Hipotezi

Fetal dönemde ve bebeklik döneminde yetersiz beslenmenin fetüs fizyolojisi ve metabolizmasında kalıcı değişikliklere yol açarak, yetişkinlik döneminde koroner kalp hastalığı, tip 2 diyabet, inme ve hipertansiyon gibi kronik hastalıkların riskini arttırması “Fetal Programlama Hipotezi” olarak bilinmektedir (19). Fetal Programlamanın temel dayanağı, gebelikte kötü beslenmenin fetal gelişimi bozması ve uzun dönemde hastalığa yol açan olumsuz koşullara karşı hayatta kalmayı sağlayan adaptasyonların fetal yaşamda oluşmasıdır (4). Bu adaptasyonların oluşumu gelişimsel plastisitenin göstergesidir. Gelişimsel plastisite çevresel değişikliklere yanıt olarak organizmanın fenotipini değiştirebilme yeteneğidir. Bu değişim ya da adaptasyon sürekli hale gelir ve fetal metabolizmanın yapısı ve/veya fonksiyonu üzerinde kalıcı değişikliklere yol açar (20,21).

Rahim içi ortamda devam eden plastisite, doğum sonrası yaşam koşulları ile ilgili anneden fetüse bilgi akışı sağlar. Annenin kötü beslenmesi fetüse doğum sonrası yaşam koşullarının kötü olacağına dair bir uyarı gönderir. Bu uyarılar doğrultusunda fetüs ortama uyum sağlamak için vücut büyüklüğünün azaltılması ve metabolizma değişikliği gibi yanıtlar geliştirir. Dolayısıyla fetüs, doğum sonrası hayata uyum sağlamak için plastisite ile kısa dönem adaptasyon yeteneği kazanır (22). Ter bezlerinin gelişimi basit bir gelişimsel plastisite örneğidir. Doğumda tüm insanların ter bezlerinin sayısı benzerdir; ancak bu ter bezleri işlevsel değildir. Doğumdan sonraki üç yıl içerisinde maruz kalınan sıcaklık, belirli oranda ter bezinin aktif hale gelmesini sağlar. Sıcaklık artışı ile doğru orantılı olarak daha fazla ter bezi fonksiyonel hale gelir. Süreç tamamlandıktan sonra ise ter bezlerinin sayısı değişmez (21).

Çevresel değişikliklerin tümü ortama uyumu arttırıcı etkide bulunmaz. Ortam sıcaklığı, asitlik derecesi, suya ve besine ulaşılabilirlik, nüfus yoğunluğu, patojenlerin varlığı ve toksinlere maruziyet tür içi varyasyonu etkileyebilmektedir. Farklı fenotipler fiziksel ya da kimyasal uyarılara farklı yanıtlar geliştirebilir. Örneğin düşük sıcaklıkta bazal metabolik hızın azalması, büyüme hızı ve vücut büyüklüğünü etkiler. Çevresel faktörler gelişimsel süreci bozabilmektedir. Büyüme ve gelişmenin olumsuz koşullar altında gerçekleşmesi durumunda birey, bu

koşullarla başa çıkabilme yeteneğine rağmen, yaşamın ilerleyen dönemlerinde çeşitli olumsuzluklarla karşılaşabilmektedir (23).

Tutumlu Fenotip Hipotezi (Thrifty Phenotype Hypothesis) ilk kez Hales ve Barker tarafından ortaya atılmıştır (24). Fetüs gelişimi için ortamda yeterli miktarda besin bulunmaması durumunda metabolizma tutumlu hale gelir ve böylece beyin başta olmak üzere hayati organların korunumu sağlanır (25). Bu hipoteze göre; rahim içi kötü beslenme sonucunda fetüsün hipoglisemiye yanıt olarak glikoz korunumunu sürdürmesi, yetişkinlik döneminde insülin direnci ve tip 2 diyabet gelişiminde rol oynar (24). Organizma yaşamın erken dönemlerinde insülin metabolizmasını programlayarak, yetersiz beslenme ortamına adapte olur. Doğum sonrası olumsuz koşulların devam etmesi durumunda organizma ortama en iyi şekilde uyum sağlar. Ancak beslenme durumunun ve çevresel faktörlerin iyileşmesi, organizmanın ortama uyumunu bozar (26). Rahim içi kötü beslenmeyi takiben beslenme durumunun veya yaşam koşullarının iyileşmesi, büyüme ve gelişmeyi hızlandırır. Bu durum büyümenin yakalanması amacıyla kısa dönemde fayda sağlasa da özellikle yetişkinlik dönemi hastalık riskini arttırır (27).

Rahim içi ortamda ileri düzey besin yetersizliğine bağlı olarak fetüs, gelişmekte olan organ sistemlerinde yer alan nefron, kardiyomiyosit ya da pankreatik  $\beta$ -hücreleri gibi yapısal birimlerinde fonksiyon kaybı yaşayabilmektedir (28). Yaşamın erken döneminde maruz kalınan kötü beslenme koşulları sonucu glikoz-insülin metabolizmasında meydana gelen kalıcı değişikliklere bağlı olarak, yaşamın ilerleyen dönemlerinde tip 2 diyabet ve metabolik sendrom gelişebilmektedir (29).

Nefron sayısı genetik ve çevresel faktörlere bağlıdır. Çevresel faktörlere örnek olarak; protein yetersizliğine bağlı maternal ve fetal malnütrisyon, glukokortikoid tedavisi, A vitamini yetersizliği ve tuz tüketimi verilebilir. Ratlarda ve insanlarda düşük doğum ağırlığı ile nefron sayısındaki düşüklük arasında korelasyon bulunmaktadır (30). Yapılan çalışmalar sonucunda maternal protein kısıtlamasının nefrojenezi bozarak nefron sayısında azalmaya yol açtığı ve buna bağlı olarak yaşamın ilerleyen dönemlerinde hipertansiyon gelişimine yol açabileceği gösterilmiştir (31,32).

### 2.1.1. Epidemiyolojik Çalışmalar

Fetal Programlama Hipotezi ilk olarak doğum kohortlarının incelendiği epidemiyolojik çalışmalar sonucunda ortaya çıkmıştır (2,33-37). Kermack ve arkadaşları tarafından, Birleşik Krallık ve İsveç'te 1751 ve 1930 yılları arasında ölüm hızında azalma olduğu gösterilmiştir. Ölüm hızındaki bu azalma çocukluk dönemi yaşam koşullarındaki iyileşmeye bağlanmıştır (38). Norveç'in farklı bölgelerinde 1964-1967 yılları arasında, koroner kalp hastalığına bağlı ölüm hızı ile 70 yıl önceki bebek ölüm hızı arasında önemli, pozitif bir korelasyon bulunmuştur. Bunun sonucunda, çocukluk dönemi yoksulluğunun, yetişkinlik döneminde koroner kalp hastalığı için bir risk faktörü olabileceği sonucuna varılmıştır (34). İngiltere ve İskoçya'da 5632 erkek ve kadın katılımcı ile yürütülmüş prospektif bir araştırma sonucunda; bireylerin yetişkinlik dönemi kan basınçlarının doğum ağırlıklarıyla ters ilişkili olduğu bulunmuştur (35). Barker ve diğerleri, 1986 yılında İngiltere ve Wales'in farklı bölgelerinde meydana gelen inme ve kardiyovasküler hastalıklara bağlı ölüm hızındaki farklılıkların nedenini araştırırken, yapılan çalışmalar sonucunda, 1968-78 yılları arasında meydana gelen iskemik kalp hastalığına bağlı ölüm hızı ile 1921-25 yılları arasında meydana gelen bebek ölüm hızı arasında güçlü bir coğrafik ilişki bulunmuştur. Bunun sonucunda annenin yetersiz beslenmesine bağlı olarak, fetal dönemde maruz kalınan olumsuz çevre koşullarının yaşamın ilerleyen dönemlerinde inme riskini arttırabileceği bildirilmiştir (2). Barker ve diğerleri tarafından yapılan bir diğer çalışmada, rahim içi çevrenin yetişkinlik dönemi süresince kan basıncını etkileyebileceği ve kardiyovasküler hastalıklara bağlı mortalitede farklılıklara yol açabileceği gösterilmiştir (36).

Rahim içi büyüme ve gelişmeyi bozabilecek çevresel etmenler ile yetişkinlik dönemi kalp hastalığı riski arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi amacıyla bir kohort çalışması yapılmıştır. Bu çalışmada Hertfordshire'da, 1911-30 yılları arasında doğmuş 5654 erkek bireyin doğum kayıtları incelenmiştir. Daha sonra, bireylerin doğum ağırlıkları ile yaşamın ilerleyen dönemlerinde iskemik kalp hastalığına bağlı ölüm hızı arasındaki ilişkiye bakılmıştır. Çalışmanın sonucunda; doğum ağırlığı ve 1 yaşındaki vücut ağırlığı en düşük olan bireylerin kalp hastalığına bağlı ölüm hızının en yüksek oranda olduğu bulunmuştur (37). Rahim içi çevrenin yetişkinlik dönemi kan basıncı ve hipertansiyon riski üzerine etkisinin araştırılması amacıyla, 1935-43

yılları arasında Preston'da doğmuş, 449 erkek ve kadın bireyin katılımıyla bir çalışma yapılmıştır. Çalışmanın sonucunda; doğum ağırlığı düşük, plasental ağırlığı büyük olan bireylerin kan basıncı daha yüksek bulunmuştur. Plasental ve fetal büyüklük arasındaki uyumsuzluğun fetüsün dolaşım sisteminde adaptasyona yol açabileceği, çocukluk döneminde oluşabilecek arteriyal yapıdaki değişim sonucu da bireyde yetişkinlik döneminde hipertansiyon gelişebileceği öne sürülmüştür (39).

Fetal dönem ve bebeklik dönemi gelişim yetersizliği ile yetişkinlik döneminde insüline bağımlı olmayan diyabet ve bozulmuş glikoz toleransı gelişim riski arasındaki ilişkinin incelenmesi amacıyla bir çalışma yapılmıştır. Bu araştırma, doğum ağırlıkları ile 1 yaş vücut ağırlıkları ölçümü bilinen, 1920-30 yılları arasında doğmuş, 468 erkek bireyin katılımıyla gerçekleştirilmiştir. Araştırmanın sonucunda 93 katılımcıda bozulmuş glikoz toleransı ya da henüz tanı konulmamış diyabete rastlanmıştır. Bu bireylerin doğum ağırlıkları ile 1 yaş vücut ağırlıkları ölçümü daha düşük bulunmuştur. Rahim içi dönemde ve yaşamın erken dönemlerinde görülen büyüme gelişme geriliği ile bozulmuş glikoz toleransı ve tip 2 diyabet arasında güçlü bir ilişki saptanmıştır (40). Bu epidemiyolojik çalışmalardan elde edilen veriler mortalite, yaşam süresi ve hastalık riskinin yaşamın ilk süreçlerinde maruz kalınan çevresel ortam ile ilişkili olduğuna dikkat çekmiştir.

Doğum ağırlığının yetişkinlik dönemindeki hastalıklar ile olan ilişkisi, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde yapılmış bir çok çalışma tarafından doğrulanmıştır (4). Düşük doğum ağırlığı; koroner kalp hastalığı mortalite riski, kan basıncında yükselme, insüline bağımlı olmayan diyabet ve metabolik sendrom gelişim riskiyle ilişkilendirilmiştir (41-44).

Gebelikte kötü beslenme süreçlerinin doğacak bebeklerin hastalık ve sağlığı üzerine etkilerine dair en iyi kanıt II. Dünya Savaşı döneminde meydana gelen kıtlığa maruziyetin takip edildiği çalışmalardan gelir (4). En iyi örnekleri Leningrad kuşatması (45) ve Hollanda Açlık Kışı'dır (46). Leningrad kuşatması boyunca (1941-44) yiyeceklerin dağıtımı kısıtlanmıştır. Kasım 1941'de işçilere 250 g/gün ekmek dağıtılırken, çocukların da yer aldığı diğer bireylere 125 g/gün ekmek verilmiştir. Bireylerin aylık yağ tüketimlerinin 200 g, şeker tüketimlerinin 800 g ve karbonhidrat tüketimlerinin de 600 g olduğu belirlenmiştir (47). Besin kısıtlamasının en ağır döneminde, bu rasyon kayıtlarından yola çıkılarak yapılan hesaplamalar

sonucunda bireylerin enerji alımları 300 kkal/gün düzeyinde iken, neredeyse hiç protein almadıkları görülmüştür (48). Leningrad kuşatması çalışmalarına bakıldığında; puberte döneminde maruz kalınan açlığa bağlı olarak erkek bireylerde kan basıncında yükselme ve dolaşimsal hastalık mortalitesinde artış görülmüştür (49). Başka bir çalışmada çocukluk çağı ve puberte dönemlerinde stres ve açlığa maruziyetin sistolik kan basıncı ve dolaşimsal hastalıklar üzerinde uzun dönem etkilerinin olabileceği gösterilmiştir (50). Rahim içi ortamda açlığa maruziyet ile yetişkinlik döneminde glikoz intoleransı, dislipidemi, hipertansiyon ve kardiyovasküler hastalık gelişimi arasında bir ilişki saptanmamıştır (48).

Hollanda Açlık Kışı 1944 yılının Kasım ayında başlamış ve 1945 yılının Mayıs ayına kadar devam etmiştir. Resmi kayıtlara göre kasım ayında başlayan yiyecek kısıtlamasına bağlı olarak enerji alımı 1000 kkal/gün'ün altındayken, nisan ayından sonra 500 kkal/gün'ün altına inmiştir (51). Hollanda Açlık Kışı kohortunda, doğum öncesi kötü beslenmenin fetal gelişim üzerine küçük bir etkisinin olduğu; ancak uzun dönemde koroner kalp hastalığı (5), obezite (6), renal disfonksiyon (7) ve insüline bağımlı olmayan diyabet (8) ile ilişkilendirildiğini gösteren veriler rapor edilmiştir (4). Hollanda Açlık Kışı sonrası yeterli beslenmeye geçiş süresi daha kısa olduğundan Leningrad kuşatma çalışması sonucu elde edilen veriler Hollanda Açlık Kışı çalışmasından farklılık göstermektedir. Bu nedenle fetal malnütrisyon sonrası büyümenin yakalanması döneminin hızlı olması önemlidir (52).

Koroner kalp hastalığı ve metabolik sendromun fetal dönemde programlanabileceğini öne süren epidemiyolojik çalışmalar birçok yönden eleştirilmektedir (53,54). Kohort seçimi, bulguların tekrarlanabilirliği ve karıştırıcı değişkenlerin kontrolü bu tür çalışmalar için sorun oluşturmaktadır; çünkü veriler retrospektif kohort çalışmalara dayanmaktadır (4). Yapılan meta-analiz çalışmaları sonucu doğum ağırlığı ve vasküler hastalık belirteçleri arasındaki ilişkinin kohort büyüklüğü arttıkça azaldığı gösterilmiştir. Bu durum fetal orijinler hipotezinin yayında taraf tutma ve ölçüm hataları sonucunun bir ürünü olabileceğini düşündürmektedir (54,55).

### **2.1.2. Hayvan Çalışmaları**

Fetal Programlamayla ilgili mekanizmaların doğruluğunun insan çalışmalarıyla belirlenmesi oldukça zordur. Etik problemlerin yanı sıra doğal insan

yaşantısının çok yönlü özellikler taşıması (enfeksiyon, stress, sigara, alkol vb.) nedeniyle de zorluklar bulunmaktadır (1). Bu nedenlerden dolayı çalışmaların çoğu hayvan modellerinden yararlanılarak yapılmaktadır. Ayrıca hayvan modelleri hastalık patofizyolojisinin çalışılmasını sağlamakta ve altta yatan biyokimyasal ve moleküler mekanizmaların anlaşılmasına yardımcı olmaktadır (56).

Uygun hayvan modellerinin kullanılması, diyetle yapılan herhangi bir değişikliğin karıştırıcı faktörlerden bağımsız olarak yol açabileceği değişikliklerin incelenmesini sağlar. Fetal Programlamanın çalışılması amacıyla rat, fare, ginepig, koyun ve domuz gibi oldukça fazla sayıda farklı deney hayvan türleri kullanılmaktadır. Kemirgenler deney hayvanlarının büyük bir kısmını oluşturmaktadır. Kısa sürede çok sayıda üretilebilmeleri, buldukları laboratuvar ortamına uyumları ve bakımlarının kolay olması ve fiziki yapılarının küçük olması nedeniyle biyomedikal araştırmalarda sıklıkla kullanılmaktadır (57).

Hayvanlarda Fetal Programlamanın çalışılması için birçok yaklaşım ele alınmıştır. Fetal ya da neonatal gelişimin manipüle edilmesi amacıyla gebelikte ya da laktasyonda besin alımının sınırlandırılması yaklaşımı (global besin ögesi kısıtlama modelleri) yaygın olarak kullanılmaktadır. Daha özgün maternal diyet manipülasyonları; makro besin ögelerinin fazla miktarda verilmesi (doymuş yağ, protein, karbonhidrat), kısıtlanması veya belirli mikrobesein ögelerinin (demir, çinko, kalsiyum) alımının kısıtlanmasıdır (4).

Global besin ögesi kısıtlama modellerinin kullanıldığı araştırmalarda, maternal malnütrisyondan dolayı açtığı rahim içi ortamda büyüme geriliğinin çeşitli organ sistemleri üzerine etkileri değerlendirilmektedir (58). Winick ve Nobel tarafından yapılmış bir rat çalışmasında gebelikte, laktasyon dönemi ve sonrasında enerji kısıtlamasının organ gelişimi üzerine etkileri değerlendirilmiştir. Bu çalışmaya göre malnütrisyondan dolayı büyüme ve gelişme üzerine etkilerinin gelişim süreçlerine bağlı olduğu bulunmuştur. Yaşamın erken dönemlerinde maruz kalınan malnütrisyona bağlı olarak hücre bölünmesinin azaldığı ve geri dönüşümsüz olduğu görülmüştür. Sonraki gelişim süreçlerinde ise enerji kısıtlaması, hücre sayısında azalmaya yol açmış; ancak bu durum geri dönüşümlü olmuştur (59). Rahim içi büyüme geriliğinin çalışılması amaçlı geliştirilmiş bir hayvan modelinde; gebelikte enerji kısıtlamasının (%30) yavru ratlar üzerine metabolik ve gelişimsel etkileri incelenmiştir. Bu

çalışmanın sonuçlarına göre gebelikte yetersiz beslenmenin rahim içi ve doğum sonrası büyüme geriliğine yol açtığı gösterilmiştir. Ayrıca yetersiz beslenme yavru ratların somatotropik ekseninin endokrin parametrelerinde değişikliklere yol açmış ve doğumda ve doğum sonrası yaşamın erken dönemlerinde plazma insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) düzeylerinin önemli ölçüde daha düşük olduğu bulunmuştur (60).

Ratlarda gebelik süresince devam eden kronik beslenme yetersizliğinin postnatal gelişim ve kan basıncı üzerine etkisinin değerlendirildiği bir çalışma yapılmıştır. Maternal malnütrisyon fetal büyüme geriliğine bağlı düşük doğum ağırlığına yol açmıştır. Düşük doğum ağırlığı, yetişkinlik döneminde gözlenmiş yüksek sistolik kan basıncı ile ilişkilendirilmiştir (61). Maternal malnütrisyonun fetüsün pankreas gelişimi üzerine etkilerinin değerlendirilmesi amacıyla yapılan araştırmada, maternal diyet manipülasyonu ile yavru ratlarda rahim içi ortamda büyüme geriliği meydana gelmiştir. Yavru ratlarda beta-hücre sayısı ile insülin düzeylerinde azalma olduğu saptanmıştır. Bu araştırmaya göre fetal büyüme geriliğinin beta-hücrelerinin farklılaşmasında bozulmaya yol açacağı düşünülmektedir (62).

Vickers ve diğerleri tarafından yapılmış bir rat çalışmasında, bozulmuş fetal gelişimin uzun dönem klinik sonuçları değerlendirilmiştir. Otuz Wistar rat rastgele iki gruba ayrılmış ve kontrol grubu standart yemle ad libitum beslenmiş, deney grubunun ise besin alımı sınırlandırılmıştır. Araştırma sonucunda deney grubunda yer alan yavruların doğum ağırlığı kontrol grubundan önemli ölçüde daha düşük bulunmuştur. Sütten kesme döneminde yavrular da deney ve kontrol grubu olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Kontrol grubunda yer alan beslenme durumu normal olan annelerin yavruları standart yemle ad libitum, deney grubunda bulunan malnütrisyonlu annelerin yavruları ise %30 oranında yağ içeren hiperkalorik bir diyetle beslenmiştir. Araştırma sonucunda deney grubunda yer alan yavruların erken postnatal dönemde besin alımının kontrol grubuna kıyasla daha fazla olduğu gözlenmiş ve yaşamın ilerleyen dönemlerinde besin alımı daha fazla artmıştır. Ayrıca sistolik kan basıncı, plazma insülin ve leptin konsantrasyonları önemli ölçüde daha yüksek bulunmuştur. Bu çalışmaya göre; fetüs metabolizması ve gelişimindeki değişikliklerin sonucunda ortaya çıkan hiperinsülinizm ve hiperleptineminin

hiperfaji, obezite ve hipertansiyon gelişim riski üzerinde kilit rol oynadığı düşünülmüştür (63).

Gebelik süresince orta düzeyde besin kısıtlamasının yavru ratların yetişkinlik döneminde kan basıncı ve sistemik vasküler fonksiyon gelişimi üzerine etkilerinin değerlendirildiği bir çalışma yapılmıştır. Bu araştırmanın sonucunda orta düzey global besin ögesi kısıtlamasının periferel arterde meydana gelen fonksiyon bozukluğu nedeniyle, yetişkinlik döneminde hipertansiyon gelişimine yol açabileceği gösterilmiştir (64).

Maternal enerji ve besin ögesi kısıtlamasının fetüs üzerine etkilerinin değerlendirildiği çalışmalara ek olarak, maternal yüksek yağlı diyet modellerinin kullanıldığı hayvan çalışmaları da bulunmaktadır (65,66). Ratlarda maternal yüksek yağlı diyet tüketiminin, yavrularda leptin duyarlılığı ve ağırlık kazanımı üzerine etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada, yüksek yağlı diyet grubunda bulunan yavrularda hipotalamik leptin direncinin programlanabileceği bulunmuş; ancak normal diyet alan grupla kıyaslandığında ağırlık kazanımları arasında fark olmadığı bildirilmiştir (65). Chang ve arkadaşlarının yaptıkları araştırma sonucunda, gebelikte yüksek yağlı diyet tüketimine bağlı olarak yavru ratların kan lipidlerinde belirgin ölçüde artış saptanmıştır. Bu artışın fazla miktarda besin tüketimi, yağlı besin tercihi ve hiperlipidemi gibi davranışsal ve fizyolojik değişikliklerin programlanmasında rol oynayabileceği gösterilmiştir (66).

Kafeterya diyeti ağırlık kazanımı, obezite ve çoklu organ disfonksiyonu oluşumunda kullanılan oldukça güçlü bir modeldir (67). Maternal kafeterya diyetinin süttten kesme dönemindeki ratlarda adipoz doku ve iskelet sistemi üzerine etkilerinin değerlendirilmesi amacıyla bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışma sonucunda; gebelik ve laktasyon döneminde kafeterya diyeti ile beslenmiş annelerin yavrularında kas atrofisiyle birlikte kas içi lipid birikimi ve adipoz doku ağırlığında artış saptanmıştır (68). Laktasyon döneminde kafeterya diyeti ile beslenmenin yavruların yeme davranışı ve beyin monoaminerjik nöronlarının programlanmasında etkisinin olduğu gösterilmiştir (69).



## 2.2. Protein ve Sağlıklı Beslenme

### 2.2.1. Protein ve Yapısı

Proteinler aminoasitlerden oluşan büyük moleküllü biyolojik maddelerdir. Vücudun yapı taşı oluşturur. Amino asitlerin birbirlerine peptid bağları ile bağlanması sonucunda polipeptid zinciri oluşur. Bir ya da birkaç polipeptid zincirinin bir araya gelmesiyle de proteinler oluşur. Protein kelimesi Yunanca en önemli anlamına gelen “proto” kelimesinden türetilmiştir. Proteinler yaşamsal fonksiyonların sürdürülmesi için elzem olup, proteinlerin vücutta çok önemli fonksiyonları bulunmaktadır (70).

Proteinin fonksiyonel rolünü yapısı belirler. Polipeptid zincirini oluşturan çeşitli amino asitler belirli bir sırada dizilerek proteinlerin birincil yapısını oluşturur. Bir polipeptid zincirinde yer alan amino asitlerin farklı yan zincirleri protein moleküllerinin birbirinden farklı olmasını sağlar. Ayrıca yan zincirler protein sarmallarının birbiri üzerine katlanma şeklini etkiler ve protein molekülünün son şeklini almasına yardımcı olur (71).

Bir proteinin ikincil yapısında hidrojen (H) bağları gibi daha zayıf bağlar yer alır. H bağları hidrojen atomları ya da oksijen ve nitrojen gibi negatif yüklü atomlar arasında oluşur. Birbirine yakın amino asitler arasında tekrar eden zayıf bağlantılar proteinin ikincil yapısını meydana getirir (72).

Proteinlerin tersiyer yapısı üç boyutlu alanda katlanmasıyla meydana gelir. Bu yapı amino asit kalıntıları ya da birbirlerine çok yakın yerde bulunan yan zincirler arasındaki etkileşimler sonucunda oluşur. Bu etkileşimler doğrusal, globüler ya da küresel bir yapı oluşumuna yol açar. Hidrofobik amino asitlerin proteinin merkezinde toplanması, lizin ve glutamat gibi zıt yüklü amino asitler arasındaki elektriksel çekim ve sistein kalıntıları arasındaki güçlü kovalent bağlanma, tersiyer yapı oluşumunu sağlayan etkileşimlerdir. Ayrıca zincir boyunca amino asit kalıntıları arasında hidrojen bağlarının oluşumu da gözlenir. Amino asit kalıntıları arasındaki bu etkileşimler proteinin şeklini ve hücredeki işlevini belirler (73).

Proteinlerin kuaterner yapısı iki ya da daha fazla polipeptid zinciri arasındaki etkileşim ile meydana gelir. Kuaterner yapıdaki proteinler iki ya da dört polipeptid zincirinden oluşur ve bu yapı oligomer olarak adlandırılır. Oligomeri oluşturan polipeptid zincirleri hidrojen bağları ve elektrostatik tuz köprüleri ya da etkileşimleri

ile bir arada tutulur. Oligomerik proteinlerin birbirleriyle farklı şekillerde bir araya gelmeleri oligomerin özelliklerini değiştirir. Hemoglobinin oligomeri dört alt üniteden oluşur. Bu alt ünitelerin her biri bir adet oksijen atomunu bağlayabilmektedir. Bu alt üniteler hemoglobinin oksijene afinitesini arttırabilmek için üç boyutlu değişikliklerle bir araya gelir (71).

Düzenleyici enzimler gibi oligomerler de substrat etkileşimleri sırasında üç boyutlu değişikliklere uğrar. Böylece hücre içine giren substrat miktarının artması durumunda daha fazla enzim-substrat kompleksi oluşur (71).

### 2.2.2. Protein Kaynakları

Diyetin temel protein kaynakları et, süt, yumurta proteinleri ile bitkisel proteinlerdir (74). Et ürünlerinden oluşan kas proteinleri kırmızı et, balık ve kümes hayvanları etini içermekte ve çözünürlüklerine göre sarkoplazmik (myoglobin), miyofibriler (miyozin ve aktin) ve stromal proteinler (kolajen ve elastin) olarak üç gruba ayrılmaktadır. Kaslardan ve diğer hayvansal dokulardan elde edilmiş bazı proteinler besinleri işleme sürecinde fonksiyonel madde (kolajen, jelatin ve sığır plazma proteini) olarak kullanılmaktadır (75). Süt proteinleri inek sütünün %3.5'ini oluşturmakta ve kazein (%80) ve whey (%20) proteinleri olarak bilinen bir grup heterojen protein içermektedir (76).

Yumurta proteinleri tam yumurtanın %13'ünü oluşturmakta ve morfolojik olarak yumurta akı ve sarısı proteinleri olarak ikiye ayrılmaktadır. Ovoalbumin, ovotransferrin (konalbumin) ve ovomukoid yumurta akında en fazla bulunan proteinlerdir. Sırasıyla %54, %12-13 ve %11 oranında bulunur. Geri kalanını ise küçük proteinler (lizozim, G2 ve G3 globulinleri, ovoinhibitör, sistatin, avidin ve diğerleri) oluşturmaktadır. Yumurta sarısı santrifüj işlemiyle ayrıldığında granül ve süpernatant proteinleri oluşur. Yumurta sarısı granül proteinleri temel fraksiyonları: alfa ve beta lipoproteinler (%70), fosvitin (%16), düşük dansiteli lipoprotein (%12), lipovitellin ve vitellogenin gibi küçük proteinlerdir (75).

Bitkisel proteinler kompleks yapıdadır ve kurubaklagil proteinlerinin özellikleri farklılık göstermektedir. Buğday, çavdar, arpa ve mısır heterojen protein grupları içermektedir. Tahılların protein içeriği %8 (pirinç) ve %12 (buğday) olarak çeşitlilik göstermektedir. Tahıl proteinleri biyolojik fonksiyonlarına bağlı olarak metabolik olarak aktif (sitoplazmik) proteinler ve depo proteinleri olmak üzere iki

gruba ayrılmaktadır. Metabolik olarak aktif proteinler, çoğunlukla proteaz inhibitörlerini içeren enzimlerden oluşmuşken, doku proteinleri albümin, globülin, prolamin ve glutamin olarak ayrılmaktadır. Kurubaklagillerin protein içerikleri %17-30 arasında değişmektedir. Temel proteinlerini globülinler (legumin ve visilin) ve albüminler (enzimatik proteinler, proteaz inhibitörleri, amilaz inhibitörleri ve lektinler) oluşturmaktadır (75).

### **2.2.3. Protein Sindirimi**

Sindirim süreci hidrasyon ve ağızda çözünmeyle başlar. Diyet proteinlerinin çoğu mideye ulaşıncaya kadar korunur. Protein zincirinde yer alan peptid bağlarının yıkımında farklı proteolitik enzimler kullanılır. HCl (Hidroklorik Asit) midede bazı proteinleri denatüre eder. Ayrıca mideden salınan pepsinojenin pepsine dönüşümünü sağlar. Pankreastan duodenuma tripsin, karboksipeptidazlar, kimotripsin, kolajenaz ve elastaz enzimlerinin salınımı gerçekleşir ve peptidler küçük peptid parçacıklarına yıkılır. Sindirimin son kısmı aminopeptidaz ve tripeptidazlar gibi enzimler aracılığıyla ince barsakta gerçekleşir. Bu enzimler peptid parçacıklarının intestinal mukoza hücreleri tarafından emilebilen sebest aminoasitlere, dipeptid ve tripeptidlere ayrışmasını sağlar. Sindirilemeyen ve emilemeyen nitrojen kalıntılarının kolona taşınması fekal atım öncesi bu materyallerin mikrobiyal modifikasyonlarını mümkün kılar (77).

### **2.2.4. Proteinin Biyolojik Fonksiyonları**

Proteinlerin vücutta birçok biyolojik rolü bulunmaktadır. Enzimler vücuttaki kimyasal reaksiyonları katalizleyen protein molekülleridir. Hücre içinde ve hücre dışında birçok metabolik olayın gerçekleşmesini sağlar. Sindirim, enerji sentezi, kan koagülasyonu ve nöromuskuler kas kasılması gibi birçok fizyolojik sürecin gerçekleşmesi enzimlere dolayısıyla proteine bağlıdır (71).

Vücudun kimyasal habercileri olan hormonların bir kısmı protein yapısındadır. Hormonlar metabolik süreçlerin kontrolünde rol oynar. Enzim sentezi ve aktivitesini etkiler. Tirozin amino asidi iyotla birlikte tiroid hormonlarının sentezinde rol oynar. Tirozin ayrıca katekolamin sentezine de katılır. Melatonin hormonunun sentezinde ise triptofan amino asidi rol alır. Bazı hormonlar da bir ya da daha fazla polipeptid zincirinden yapılmıştır. İnsülin hormonu iki polipeptid zinciri

içerirken, glukagon, paratiroid ve kalsitonin hormonlarının her biri tek bir polipeptid zinciri içermektedir (72).

Kontraktıl, fibröz ve globular proteinler yapısal proteinlerdir. Aktin ve miyozin kontraktıl proteinleri kalp ve iskelet kası ile düz kaslarda bulunur. Kollajen, elastin ve keratin fibröz proteinleri ise kemik, diş, deri, kıkırdak doku, tendonlar, kan damarları, saç ve tırnakta yer alır. Kollajen proteini diğer proteinlerde bulunmayan hidroksi lizin ve hidroksi prolin amino asitlerini içerir. Miyogloblin, kalmodulin ve birçok enzim globular proteinlerin bir kısmını oluşturmaktadır (71).

İmmunoglobulin (Ig) ve antikor olarak bilinen immünoproteinler antijenlere bağlanarak onları inaktif hale getirir. IgG, IgA, IgM, IgE ve IgD Y biçimli immünoproteinlerdir ve dört polipeptid zinciri içermektedir (78). Taşıyıcı proteinler diğer bileşiklerle bağlanarak onların hücre içine ya da hücre dışına taşınmasını sağlar. Taşıyıcı proteinlerin her biri substratlarına özgü bir ya da daha fazla bağlanma bölgesi taşır. Taşıyıcı protein doyurulduğunda, taşıma hızı maksimuma ulaşır. Bu hız  $V_{max}$  olarak ifade edilmektedir. Taşıyıcı proteinlerin her birinin substratına özgü Michaelis sabiti ( $K_m$ ) vardır.  $K_m$ , reaksiyon hızının  $V_{max}$ 'ın yarısı olduğu substrat konsantrasyonudur. Taşıyıcı proteinler üç şekilde sınıflandırılır. Substratın tek bir yönde taşınmasını sağlayan taşıyıcılar (uniport) bulunmaktadır. Bunun yanı sıra bir taşıyıcı iki substratı hücre zarından tek yönde taşır (symport). Ayrıca substratların hücre zarından iki yönde taşınmasını sağlayan taşıyıcılar da bulunmaktadır (antiport) (79).

Proteinler ayrıca hücre membranlarında reseptör görevi görür. Bakır, çinko ve demir gibi mineraller vücut dokularında proteine bağlı halde depolanır. Konjuge proteinler, protein olmayan bileşiklerin yapısına katılır ve glikoproteinler ve glikolipidler meydana gelir (80).

### **2.2.5. Protein Dönüşümü**

Protein dönüşümü hücrelerde bulunan proteinin sürekli olarak yapımı ve yıkımı olarak bilinmektedir. Dokularda protein dengesinin sürdürülmesini sağlar ve fazla miktarda ATP'ye ihtiyaç duyar. Örneğin yetişkinlerde toplam enerjinin %20-25'i protein dönüşümü için kullanılmaktadır. Protein dönüşümü organizmada meydana gelen birçok önemli fonksiyonunun sürdürülmesinde kilit rol oynar. Protein homeostasisinin sağlanması, hasarlı proteinlerin vücuttan uzaklaştırılması, hücre

dönüşümü, immunolojik proteinlerin sentezi, yara ve doku onarımı, glukoneogenez, patolojik değişiklikler ile immün yanıt değişikliklerine adaptasyonun sağlanmasında rol alır (81). Protein dönüşüm hızı dokudan dokuya farklılık gösterir. Protein dönüşümünün ölçümünde değerlendirme izotopik olarak işaretlenmiş amino asitlerin protein yapısına katılımının ölçülmesiyle yapılır. Karaciğer ve barsaklarda protein dönüşümü fazladır; ancak fazla miktarda protein içermesi nedeniyle protein dönüşümüne katkısı en fazla olan doku iskelet kasıdır (82).

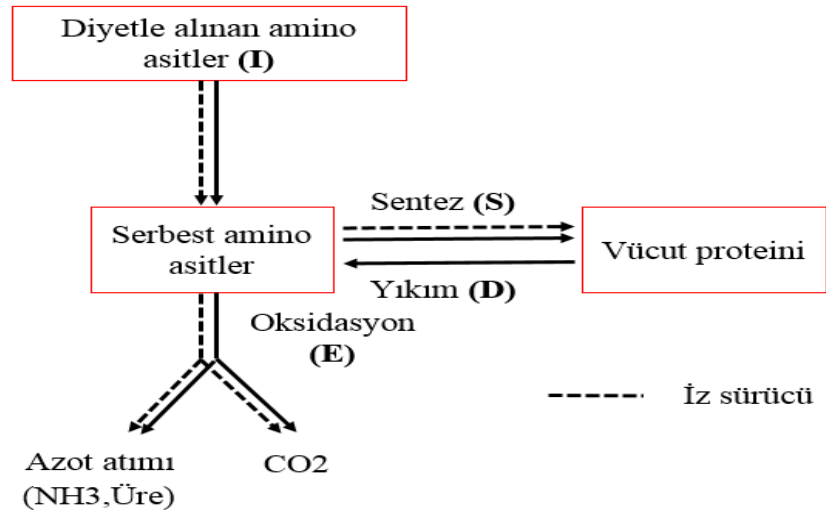
Protein dönüşüm hızı her protein için farklılık göstermektedir. Sindirim enzimleri ve plazma proteinleri gibi hücre dışında görev alan proteinlerin yarı ömürleri kollajen gibi yapısal proteinlerden daha kısadır. Bu nedenle daha çabuk yıkıma uğrarlar. Protein yıkımı çeşitli faktörlerden etkilenmektedir. Kimyasal yapısı okside olarak değişmiş olan bazı proteinler ile prolin, glutamat, serin ve treonin dizisi bakımından zengin olan proteinler daha hızlı yıkılır (83).

Yetişkin bir bireyin vücudunda günde yaklaşık 300 g protein yapımı ve yıkımı gerçekleşir. Batı tarzı diyetle beslenen bir bireyin günlük protein alım miktarı ise yaklaşık 100 g'dır. Dolayısıyla vücutta her gün yaklaşık 400 g protein yıkımı gerçekleşmektedir. Açığa çıkan amino asitlerden yaklaşık 300 g protein yeniden sentezlenmekte ve geri kalan amino asitlerin çoğu katabolize edilmektedir (84).

Protein dönüşümü Şekil 2.1'de gösterilmiştir. Şekilde protein sentez ve yıkım reaksiyonları aracılığıyla amino asitler ve vücut proteini arasındaki etkileşim belirtilmiştir. Elzem amino asitler, diyet proteininin sindirimi ve emilimi (I) ile vücut proteinlerinin yıkımı (D) sonucu serbest amino asit havuzuna geçer. Protein sentezi (S) ya da atım (E) ile amino asit havuzundan ayrılır. Serbest amino asit havuzundaki protein miktarının sabit olması durumunda protein sentezi ve katabolizmasının protein yıkımı ve diyetle protein alımına eşit olduğu düşünülür (84).

$$(S + E = D + I = Q)$$

(2-1)



Şekil 2.1. Protein Dönüşümü (84)

Q akış hızı anlamına gelir. Serbest amino asit havuzuna giren ya da serbest amino asit havuzundan ayrılan amino asitlerin toplamıdır. Amino asit havuzuna giren amino asit miktarı için görünüş hızı ( $R_a$ ), amino asit havuzundan çıkan amino asit miktarı için ise kaybolma hızı ( $R_d$ ) terimleri de kullanılmaktadır (84).  $R_a$ ; diyetle alınan amino asit miktarı ile başta kas dokusu olmak üzere vücut dokularından salınan amino asit miktarının toplamını ifade eder.  $R_d$  ise protein sentezine katılan, okside ve metabolize olan toplam amino asit miktarı ile idrar ve feçesle meydana gelen amino asit kaybını ifade eder. Amino asitlerin görünüş hızı ile kaybolma hızı arasındaki fark ( $R_a - R_d$ ), herhangi bir zamanda ölçülen plazma amino asit konsantrasyonunu ifade eder (85). Diyetle alınan protein miktarı ve proteinin amino asit örüntüsü ile amino asit katabolizması ve protein dönüşümü plazma amino asit profilini etkiler (86).

Protein alımı plazma amino asit düzeylerini etkiler. Bu etki amino asit türüne göre farklılık göstermektedir (85). Glutamat ve glutamin amino asitlerinin büyük bir kısmı splanknik dokular tarafından kullanıldığı için bu amino asitlerin periferik kana geçen miktarı düşüktür (87). Doku proteolizi ve protein sentezi ile dokulardan amino asit salınımı olur. Proteolizin plazma amino asit havuzuna olan etkisini değerlendirmek oldukça zordur. Çünkü proteoliz sonucu açığa çıkan amino asitlerin

çoğu hücre içi amino asit havuzuna geçer ve protein sentezi için tekrar kullanılır (88).

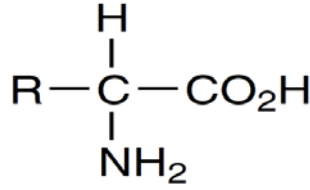
Dokuların protein kullanımı amino asitlerin Rd'sini etkiler. Dokuların protein kullanımı fizyolojik duruma göre değişir. Emilim sonrası karaciğere amino asit akışı daha yüksek iken, tokluk durumunda ise özellikle kas dokusu başta olmak üzere, karaciğer dışı dokulara amino asit akışı artar (89).

İnsülin, glukagon ve kortizol gibi hormonlar plazma amino asit konsantrasyonunu etkilemektedir. İnsülin ve glukagon hormonları hipoaminoasidemiye yol açabilmektedir. İnsülin proteolizi inhibe ederek ve hücre sel alımı aktive ederek amino asitlerin kastan plazmaya akışını inhibe eder. Glukagon ise amino asitlerden glikoz sentezini uyarır. Glukokortikoidler kaslarda proteolizi uyarır ve dokudan amino asit salınımına yol açar. Patolojik durumlarda proinflatuar sitokinler (interlökin-1 ve tümör nekrozis faktör- $\alpha$ ) karaciğerin amino asit alımını artırır ve glukagon benzeri etkiye yol açar (90).

Vücutta protein dönüşümünün kontrolü çeşitli hormonlar tarafından sağlanır. İnsülin ve büyüme hormonu protein sentezini uyarıcı anabolik hormonlardır. Büyüme hormonu, insülin benzeri büyüme faktörleri IGF-I ve IGF-II gibi aktivite gösterir. Erkek cinsiyet hormonu testosteron özellikle kaslarda protein sentezini uyarır. Protein yıkımı da hormonlar tarafından kontrol edilmektedir. Kortizol ve tiroid hormonu triiyodotronin ( $T_3$ ) katabolik etkide bulunmaktadır. Kortizol hormonunun katabolik etkileri kemik ve kas dokusunda meydana gelir.  $T_3$  hormonunun fazla miktarda salınması durumunda kas dokusunda protein kaybına yol açtığı bilinmektedir (82).

### **2.2.6. Aminoasitler**

Aminoasitler proteinlerin yapı taşı olarak organik moleküllerdir. Aminoasitlerin merkezinde  $\alpha$ -karbon olarak bilinen bir karbon atomu bulunur. Bu karbon atomuna amino ve karboksil grupları bağlanır. R grubu ise her bir aminoasidin kendine özgü fiziksel ve kimyasal özellikleri kazanmasını sağlar. Aminoasitler ortak özelliklerine göre çeşitli gruplara ayrılmaktadır (72).



**Şekil 2.2.** Amino asitlerin genel yapısı. **R:** Yan zincir

Amino asitler bazı ortak özelliklerine göre gruplandırılabilir. Glisin ve alanin küçük nötral amino asitlerdir. Glisin; pürin, porfirin, safra tuzu ve kreatin öncüsüdür. Alanin ise pirüvik asitin transaminasyon ürünüdür (71).

Valin, löysin ve izolöysin dallı zincirli amino asitlerdir. Yan zincirleri büyüktür ve polar yapıda değildir. Bu nedenle genellikle proteinlerin hidrofobik kısımlarında yer alırlar. Dallı zincirli amino asitler diğer amino asitlerden farklı olarak daha çok kas ve adipoz dokuda metabolize olmaktadır (91).

Triptofan, tirozin ve fenilalanin aromatik amino asitlerdir. Büyük ve nonpolar yapıda olup, diğer hidrofobik moleküllerle etkileşime girebilmektedir. Triptofan serotonin ve nikotinamid içeren koenzimlerin öncüsüdür. Vücutta fenilalaninden tirozin sentezlenebilmektedir (81).

Serin ve treonin amino asitleri hidroksil grubu içerir. Polar yapıda olup çok az asidik özellik gösterir. Hidrojen bağı oluşturabildikleri için suda oldukça iyi çözünür (71).

Metiyonin ve sistein kükürtlü amino asitlerdir. Metiyonin nonpolar, sistein ise polar yapıdadır. İki sistein kalıntısının sülfidril gruplarının oksidasyonu sonucu sistin oluşur. Sistin, sistein amino asidinin hücre dışı sıvılarda bulunan formudur. Metiyoninin S-adenozil metiyonine dönüşmesiyle metiyonin transmetilasyon reaksiyonlarında metil gruplarının öncüsü haline gelir. Vücutta metiyoninden sistein sentezi gerçekleşebilmektedir (81).

Prolin yapısında ikincil bir amin grubu içerdiği için imino asit olarak bilinir; ancak diğer amino asitlerle birlikte proteinlerin yapısına katılır. Prolinin 4.pozisyonundaki karbon atomuna hidroksil grubunun eklenmesi ile hidroksprolin oluşur ve kolajenin yapısına katılır (72).



Aspartik asit ve glutamik asit dikarboksilik asitlerdir. Fizyolojik pH'da neredeyse tamamen anyonik formda buldukları için aspartat ve glutamat olarak bilinmektedir. Daha çok proteinlerin yüzey kısımlarında bulunur (80).

Asparajin ve glutamin yüksüz olmasına rağmen polar yapıdadır. Genellikle proteinlerin yüzey kısımlarında bulunur ve su ya da diğer polar moleküllerle hidrojen bağları oluşturur. Glutamatın glutamine dönüşümü amonyağın uzaklaştırılması ve asit-baz dengesinin sürdürülmesinde büyük önem taşır. Glutamin pürin ve primidin sentezinde öncül moleküldür. Enterosit ve lökositlerin temel enerji kaynağıdır (81).

Histidin, lizin ve arjinin bazik ve hidrofilik amino asitlerdir. Histidin histamin sentezi için öncül moleküldür. Arjinin üre döngüsünde bir ara metabolittir ve poliamin ve nitrik oksit sentezi için öncül moleküldür (83).

Protein sentezine katılan 20 amino asit elzem ve elzem olmayan amino asitler olarak iki gruba ayrılmaktadır. İnsanlarda dokuz amino asitin sentezini gerçekleştirebilecek bir metabolik yol bulunmamaktadır. Histidin, izölöysin, löysin, lizin, metiyonin, fenilalanin, treonin, triptofan ve valin elzem amino asitlerdir. Geriye kalan onbir amino asitin vücutta sentezi gerçekleşir. Bu amino asitlerin bazılarının sentezlenme oranı, belirli öncü amino asitlerin diyetle alım miktarı ile organizmanın sentezleme kapasitesine bağlıdır. Ayrıca amino asit gereksinmesi yaralanma ya da paranteral beslenme gibi özel durumlarda değişebilmektedir. Bu nedenlere bağlı olarak elzem olmayan amino asitlerin bazı alt sınıflamaları ortaya çıkar (84).

Sistein ya da disülfid formu sistin ve tirozin sentezi yeterli miktarda öncü elzem amino asit varlığına bağlıdır. Bu nedenle bu amino asitlerin yarı elzem olduğu düşünülmektedir. Sistein vücutta serin ve metiyoninin sülfür grubundan sentezlenebilmektedir. Fenilalaninin hidroksilasyonu sonucu tirozin sentezi gerçekleşir. Her iki sentezlenme reaksiyonu geri dönüşümsüzdür. Fazla miktarda fenilalanin alınması durumunda tirozin eksikliği dengelenebilir; ancak tirozin fenilalanin eksikliğini gideremez. Elzem amino asit alımı değerlendirilirken yarı elzem amino asitlerin her biri elzem amino asit öncüsü ile birlikte düşünülmelidir. Metiyonin ve sistein gereksinmesi değerlendirilirken kükürtlü amino asitler; fenilalanin ve tirozin gereksinmesi değerlendirilirken ise aromatik amino asitler göz önünde bulundurulur (71).

Arjinin, prolin, glutamin ve glisin koşullu elzem amino asitlerdir. Bazı durumlarda endojen sentez hızı gereksinmeyi karşılayamaz. Büyüme ve gelişmenin çok hızlı olduğu yeni doğan döneminde bu amino asitlerin gerekliliği endojen sentez hızına bağlıdır. Barsak metabolizmasını ve fonksiyonunu etkileyen durumlar arjinin ve prolin gereksinmesini etkilemektedir (84).

Kritik hastalıklar süresince immün sistem ve gastrointestinal sistemin glutamin kullanımı artmaktadır. İmmün hücreler, intestinal mukoza ve böbreğin glutamin alımında artış olur. Kaslardan fazla miktarda glutamin salınımı olmasına rağmen, kritik hastalıklar nedeniyle glutamin gereksinmesi tam olarak karşılanamayacağından şartlı elzem hale gelir. Ayrıca hastalığın ilerleyen dönemlerinde kas dokusundaki azalma nedeniyle glutamin eksikliğinin şiddeti artar (92).

Çocukluk çağı döneminde görülen ağır malnütrisyon sonrası büyümeyi yakalama dönemi süresince, endojen glisin sentezi glisin kullanımını karşılayamamaktadır. Dolayısıyla glisin sentezleme kapasitesi düşük olan bebeklerde glisinin koşullu elzem amino asit haline gelebileceği düşünülmektedir (92).

Preterm bebeklerde sistein, tirozin, glutamin, arjinin, prolin ve glisin amino asitlerinin endojen sentezi düşük olduğu için koşullu elzem amino asit oldukları düşünülmektedir (84).

Alanin, aspartat, asparajin, glutamat ve serin elzem olmayan amino asitlerdir. Bu amino asitlerin diyetle alınmasının elzem olduğu bir duruma rastlanmamıştır. Diyetle protein alımının yeterli olması durumunda bu amino asitler metabolik ara ürünler ile diğer amino asitlerin amino gruplarından sentezlenir (84).

### **2.2.7. Amino Asitlerin Emilimi ve Taşınması**

Protein sindirimi sonucunda dipeptid ve tripeptidler ile serbest amino asitler açığa çıkar. Amino asit ya da peptidler gastrointestinal lümeni geçerek intestinal fırça yüzey hücreleri tarafından emilir. Amino asit Emilimi ince barsakların tamamında gerçekleşebilir; ancak amino asitlerin çoğu ince barsakların proksimal kısmından emilir. Amino asitlerin intestinal hücreler içerisine Emilimi için taşıyıcılara ihtiyaç duyulur. Amino asit taşıyıcıları harflendirme sistemiyle adlandırılmıştır (82). Tablo 2.1’de amino asit taşıyıcıları gösterilmiştir (92).

**Tablo 2.1.** Amino asit taşıyıcıları.

<b>Sistem</b>	<b>Taşınan amino asit</b>	<b>Bulunduğu yer</b>	<b>pH'ya bağımlılık</b>
<b>Sodyuma Bağımlı Olanlar</b>			
<b>A</b>	Nötral amino asitler	Tüm dokular	Var
<b>ASC</b>	Nötral amino asitler	Tüm dokular	Yok
<b>B</b>	Nötral amino asitler	İntestinal fırça yüzey	Var
<b>N</b>	Glutamin, asparajin, histidin	Hepatositler	Var
<b>N<sup>m</sup></b>	Glutamin, asparajin	Kas	Yok
<b>Gly</b>	Glisin	Tüm dokular	
<b>X<sub>AG</sub><sup>-</sup></b>	Glutamik asit, aspartik asit	Tüm dokular	
<b>Sodyuma Bağımlı Olmayanlar</b>			
<b>L</b>	Löysin, izolöysin, Valin, Metiyonin, fenilalanin, Tirozin, triptofan, histidin	Tüm dokular	Var
<b>T</b>	Triptofan, fenilalanin, tirozin	Kırmızı kan hücreleri, hepatositler	Yok
<b>y<sup>+</sup></b>	Arjinin, lizin, ornitin	Tüm dokular	Yok
<b>asc</b>	Alanin, serin, sistein, treonin	Tüm dokular	Var

Bir taşıyıcının bir amino asite afinitesi ( $K_m$ ) amino asitin yan zincirinin hidrokarbon yoğunluğu ile elektriksel yükünden etkilenmektedir. Yan zincirin hidrokarbon yoğunluğunun artması afiniteyi artırır. Bu nedenle dallı zincirli amino asitler daha küçük amino asitlere kıyasla daha hızlı emilir. Nötral amino asitlerin emilim hızı, asidik ve bazik amino asitlerden daha fazladır. Elzem amino asitlerin emilimi, elzem olmayan amino asitlerden daha hızlı gerçekleşir. Metiyonin, löysin, izolöysin ve valin emilim hızı en yüksek olan amino asitlerdir. Emilim hızı en az olan amino asitler asidik amino asitler olan glutamat ve aspartattır (92).

Peptid transportu amino asitlerin taşıma sisteminden farklıdır. PEPT1 olarak adlandırılan taşıma sistemi tüm di- ve tripeptidlerin intestinal hücrelerin fırça yüzeyine taşınmasında rol oynar. Peptidlerin PEPT1'i kullanarak fırça yüzey membranına taşınması sonucu fırça yüzey membranının depolarizasyonu gerçekleşir. Dipeptid ya da tripeptidin enterosite taşınması sırasında ayrıca bir  $H^+$  iyonu da enterosit içerisine girer.  $H^+$  iyonunun enterosite taşınması hücre içi asidifikasyona yol açar.  $H^+$  iyonu tekrar lümene pompalanır ve bu sırada  $Na^+$  iyonu ile yer değiştirir. Farkın sürdürülebilmesi için  $Na^+/K^+$  ATPaz  $Na^+$ 'un bazolateral membrana geçmesini

sağlar. Taşıyıcının peptide afinitesi, peptidin içerdiği amino asit miktarı ile zincirin uzunluğuna bağlıdır. Peptid uzunluğu üç amino asidin üzerine çıktığında taşıyıcının afinitesi azalır. Peptid taşınmasının amino asitlerin taşınmasından daha hızlı gerçekleştiği düşünülmektedir. Amino asitlerin %60'tan fazlası küçük peptid formunda, kalanı serbest amino asit olarak emilmektedir. Peptidler enterositlerde sitoplazmik peptidazlarla hidrolize edilerek serbest amino asitlere dönüştürülür. Küçük peptidler ise dolaşımında bütün halde bulunur (71).

Çeşitli protein kaynakları katabolik ya da anabolik süreçler aracılığıyla aminoasitlerin emilim sonrası metabolizmasını farklı şekillerde etkilemektedir (93). Tan ve diğerleri yaptıkları çalışmada, yüksek miktarda et içeren öğünde fazla miktarda soya proteini içeren öğüne kıyasla proteinin oksidasyon hızının daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Soya ve süt proteinleri arasında ise farklılık gözlenmemiştir (94). Alınan proteinin elzem aminoasit örüntüsü ve sindirim kinetikleri protein tutulumunu etkilemektedir. Protein sentez sürecinin desteklenmesi için tüm elzem aminoasitlerin alınması gerekmektedir. Bu sürecin bazı spesifik aminoasitler tarafından etkilendiği bilinmektedir. Süt proteininde soya proteinine kıyasla daha yüksek miktarlarda (%120 daha fazla) bulunan dallı zincirli aminoasitler, büyük oranda perifere transfer edilerek protein sentezine katılır (95). Süt proteinlerinin emilim kinetikleri soya proteinlerine kıyasla daha yavaş olduğu için süt proteinleri periferik anabolik aktivitelerde daha fazla kullanılmaktadır (93).

### **2.2.8. Amino Asit Metabolizması**

Aminoasitlerin hücre içi ve hücre dışı konsantrasyonlarının belirli bir düzeyde olması, nitrojen ve protein metabolizmasının düzenlenmesinde önemli rol oynar. Aminoasitler vücutta polimer formda depolanmaz; ancak monomer formda amino asit havuzunu oluşturur. Bu havuzdan ihtiyaç duyulduğunda nitrojen salınımı gerçekleşir. Organizmadan nitrojen salınımı üre siklusu ile olur ve amino asitlerin karbon iskeletleri çeşitli metabolik reaksiyonlarda kullanılmak üzere ara metabolitlere dönüştürülür. Böylece amino asitler glikoz, glikojen, yağ asidi ve keton cisimcikleri sentezinde rol oynar (96). Glikojenik amino asitlerin karbon iskeletleri pruvat, 2-okso glutarat, süksinil-CoA (Koenzim A), fumarat ve oksaloasetata dönüşür. Ketonik amino asitlerin karbon iskeletleri ise asetil CoA ya da

asetoasetata katabolize olur. Glikojenik amino asitler glikoz; ketojenik amino asitler ise yağ asidi ve keton cisimciklerinin sentezinde öncül moleküldür (83).

Protein tüm dokuların önemli bir bileşeni olmakla birlikte bazı dokular amino asit metabolizmasında daha önemli rol oynar. İskelet kası vücut ağırlığının yaklaşık %40'ını oluşturur ve amino asit metabolizması için önemlidir. İskelet kasının yanı sıra karaciğerin de vücutta önemli fonksiyonları bulunmakta olup, amino asit metabolizması için büyük önem taşır. Üre sentezi ile karbonhidrat ve protein metabolizması arasındaki önemli etkileşimler karaciğerde gerçekleşir (71).

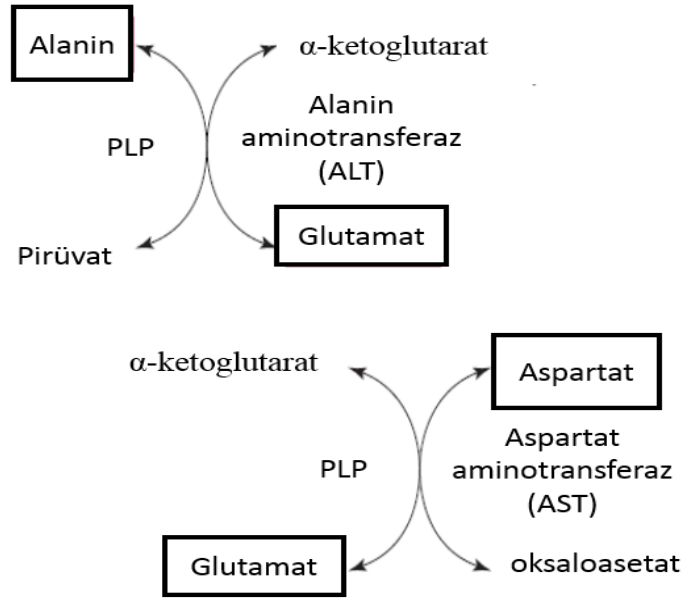
Amino asit metabolizmasının ilk basamağında amino asitlerden amino grupları ayrılmaktadır. Amino asitlerin deaminasyonu ve/veya transaminasyonu ile amino grupları ayrılır. Deaminasyon reaksiyonunda amino asitlerin amino grubu yapıdan ayrılır ve başka bir bileşiğe transfer edilmez. Deaminasyon reaksiyonlarını katalizleyen enzimler genellikle liyazlar, dehidratazlar ya da dehidrogenazlardır (72).

Transaminasyon reaksiyonunda amino asitlerin amino grupları başka bir amino asidin karbon iskeletine ya da  $\alpha$ -ketoaside transfer edilir. Amino grubunun transfer edildiği karbon iskeleti/ $\alpha$ - ketoasit bir amino aside dönüşürken, amino grubunu kaybeden amino asit ise  $\alpha$ -ketoaside dönüşür. Transaminasyon reaksiyonları elzem olmayan amino asitlerin sentezlenmesini sağlar ve aminotransferaz enzimleri tarafından katalize edilir. Transaminaz enzimlerinin aktivite gösterebilmeleri için pridoksal fosfata (PLP) ihtiyaç duyulur. Transaminasyon reaksiyonları tirozin aminotransferaz, dallı zincirli aminotransferazlar, alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) enzimleri tarafından katalizlenmektedir. ALT ve AST enzimleri en aktif aminotransferazlardır (82).

Aminotransferaz enzimleri farklı dokularda farklı miktarda bulunmaktadır. Kalp dokusunun AST konsantrasyonu karaciğer, kas ve diğer dokulardan fazladır. Karaciğerin ALT konsantrasyonu kalp dokusundan fazladır ve böbrekte orta düzeyde, diğer dokularda ise az miktarda bulunur. Bu enzimlerin normal serum konsantrasyonları düşük iken, organ hasarı durumunda artmaktadır (71).

ALT ve AST tarafından katalizlenen reaksiyonlar Şekil 2.3'de gösterilmiştir. ALT alaninin amino grubunu  $\alpha$ -ketoglutarata transfer eder ve pruvat ve glutamat oluşur. AST'nin aspartatın amino grubunu  $\alpha$ -ketoglutarata transfer etmesiyle oksaloasetat ve glutamat oluşumu gerçekleşir. Bu reaksiyonlar geri dönüşümlüdür.

Glutamat ve aspartat kolaylıkla amino gruplarını transfer eder ya da alır. Bu nedenle amino asit metabolizmasında kilit rol oynar (97).



**Şekil 2.3.** Transaminasyon reaksiyonu (71)

Transaminasyon reaksiyonları ile elzem amino asitlerden elzem olmayan amino asitler sentezlenir. Ayrıca elzem olmayan amino asitlerin birbirine dönüşümü gerçekleşir. Lizin, histidin ve treonin amino asitleri transaminasyon reaksiyonlarına katılmamaktadır (98).

### 2.2.9. Amino Asit Katabolizması

Karaciğer hücrelerinin amino asitleri alma ve katabolize etme kapasitesi oldukça yüksektir. Amino asit katabolizması açlık ve tokluk durumunda, farklı dokularda çeşitli düzeylerde gerçekleşmektedir. Öğün sonrası karaciğer tarafından portal kandan amino asitlerin yaklaşık %50-65'i alınmaktadır. Dallı zincirli amino asitler dışındaki amino asitlerin katabolizması karaciğerde gerçekleşmektedir. Amino asitlerin karaciğer tarafından katabolize olma hızları farklılık göstermektedir. Amino asitler karaciğerin farklı bölümlerinde katabolize olur. Periportal hepatositler glutamat ve aspartat dışındaki amino asitleri katabolize eder. Glutamat ve aspartat ise

perivenöz hepatositler tarafından katabolize edilir. Karaciğer enerji ihtiyacının %50'den fazlasını amino asit oksidasyonundan karşılamaktadır. Bu enerji glukoneogenez ve üre sentezi ya da bireyin beslenme durumuna göre vücudun diğer gereksinimleri için kullanılabilir (82).

Serin ve glisin metilen tetrahidrofolat ara metabolitine dönüştürülerek katabolize olur. Serin amino asidinin deaminasyonu sonucu piruvat oluşur. Bu metabolik yol serin katabolizması için alternatif bir yoldur; ancak enzimin  $K_m$ 'si oldukça yüksek olduğu için serin konsantrasyonunun yüksek olduğu durumlarda işlev görür. Glisin katabolizması için diğer bir metabolik yol, glisin amino asidinin asetil CoA ile aminoaseton oluşumuna katılmasıdır. Daha sonra bu bileşiğin transaminasyonu ve dehidrojenasyonu sonucunda karbondioksit ve piruvat oluşur. Treonin amino asidinin dehidrojenasyonu sonucunda aminoaseton oluşur. Bu metabolik yol treoninin katabolik yoludur (72).

Glisin ayrıca birçok büyük molekülün sentezlenmesinde rol oynar. Pürin sentezi glisin ve fosforibozilamininin bir araya gelmesiyle başlayan reaksiyonlar sonucunda gerçekleşir. Hem içeren porfirinler glisin ve süksinil CoA'dan sentezlenir. Glisin birçok yabancı moleküle bağlanarak bu bileşiklerin idrarla atılmasını sağlar. Ayrıca glisinin kolik asit ile bağlanması ile glikolik asit oluşur (71).

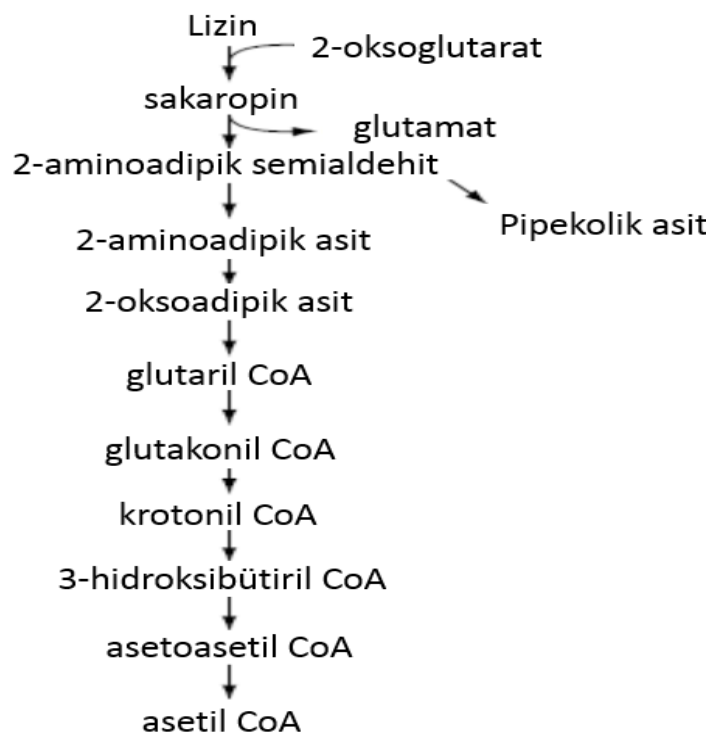
Glutamik asitin transaminasyonu sonucu 2-oksoglutarat oluşur ve sitrik asit döngüsüne girer. Amino grupları aspartata transfer olarak üre siklusuna katılır. Glutamatın glutamat dehidrogenaz tarafından deaminasyonu sonucu oluşan amonyak karbomil fosfat olarak üre döngüsüne girer. Glutamatın dekarboksilasyonu sonucunda  $\gamma$ -aminobütirik asit oluşur. Glutaminin böbrekte deaminasyonu sonucu glutamik asit oluşur. Bu dönüşüm asit-baz dengesinin sürdürülmesi ve idrar pH'sının kontrolünde önemlidir. Glutamin ayrıca pürin ve primidin sentezinde nitrojen donörüdür (81).

Arjinin üre döngüsünün ara metaboliti olup ornitine hidrolize olur. Ornitin  $\delta$ -amino grubunu 2-oksoglutarata transfer eder ve glutamik- $\gamma$ -semialdehid oluşur. Bu molekül daha sonra glutamata metabolize olur. Arjinin ayrıca nitrik oksit ve sitriline de okside olabilmektedir (82).

Aspartik asit transaminasyonu sonucu oksaloasetik asit oluşur. Alternatif bir yol olarak aspartik asitin amino gruplarını üre siklusuna yönlendirmesi sonucunda

fumarat oluşumu gerçekleşir. Aspartik asit ayrıca primidin sentezinin başlangıç noktasıdır (83).

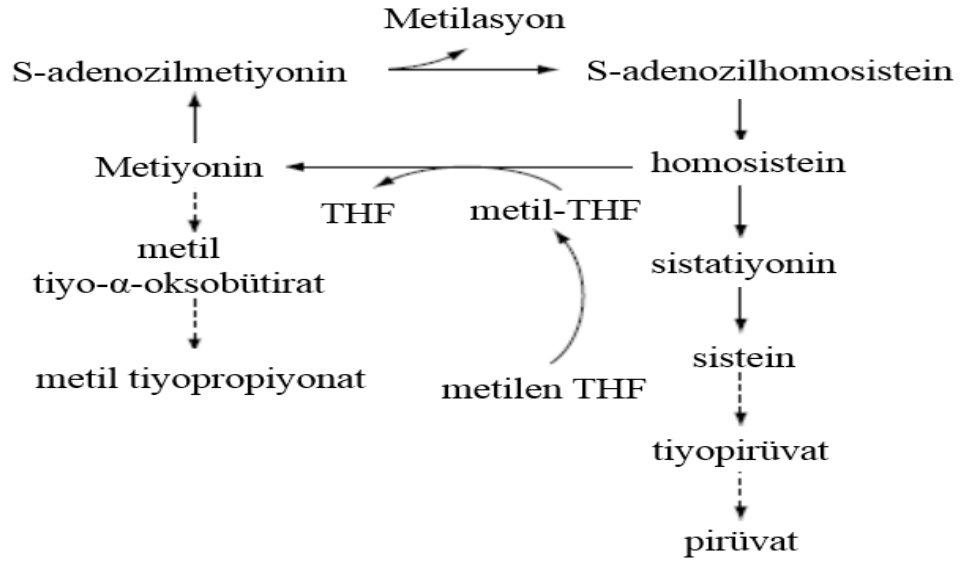
Lizin katabolizması sırasında lizinin 2-oksoglutarat ile kondenzasyonu sonucunda sakaropin oluşur. Sonrasında bu yapı  $\alpha$ -aminoadipik asit ve glutamata dönüşür.  $\alpha$ -aminoadipik asitin çeşitli reaksiyonlar sonucunda asetilCoA'ya dönüşümü gerçekleşir. Lizin metabolizması Şekil 2.4'de gösterilmiştir. Lizinin bir kısmı beyinde farklı bir metabolik yolak ile pipekolik asite metabolize olur. Lizin ayrıca karnitin sentezinde öncül moleküldür (72).



Şekil 2.4. Lizin metabolizması (72)

Metiyoninin sisteine dönüşümü sistein sentezinin biyosentetik bir metabolik yoludur. Metiyoninden sistein sentezi ve metiyonin ve sistein katabolizması Şekil 2.5'de gösterilmiştir (72).





**Şekil 2.5.** Metiyonin ve sistein metabolizması. Düz çizgiler biyosentetik metabolik yolları, kesikli çizgiler ise katabolik metabolik yolları göstermektedir (72).

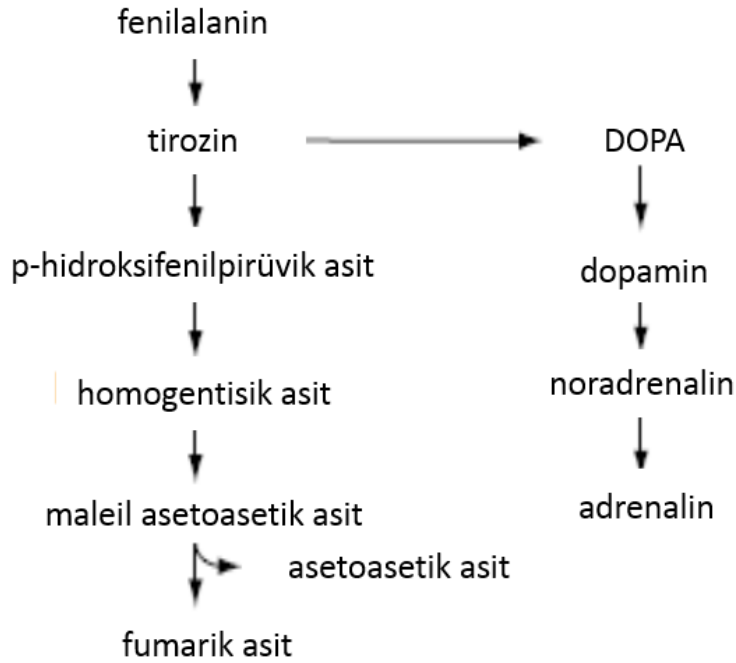
Metiyonin katabolizmasının alternatif yolu amino asitin ilk olarak metil tiyo- $\alpha$ -oksobütirata ve sonrasında metil tiyopropiyonata transaminasyondur. Sistein önce tiyopirüvata dönüştürülür. Sonrasında desülferasyon reaksiyonu ile pirüvat ve hidrojen sülfata ayrışır. Ayrıca sistein oksidasyonu sonucunda sistein sülfirik asit oluşur ve bu bileşiğin dekarboksilasyonu sonucu hipotaurin açığa çıkar. Hipotaurinin oksidasyonu ile taurin oluşur. Vücuttaki hücrelerin çoğunda fazla miktarda taurin bulunmaktadır. Karaciğerde taurin taurokolik aside dönüştürülür ve emülsifiyer ajan olarak işlev görür. Sistein ayrıca önemli bir antioksidan olan tripeptid glutatyon sentezinde rol alır (71).

Löysin, izolöysin ve valin amino asitlerinin metabolizmasının ilk basamağı kasta gerçekleşmektedir. Transaminasyon reaksiyonu sonucunda sırasıyla  $\alpha$ -oksoizokaproik asit,  $\alpha$ -okso- $\beta$ -metil valerik asit ve  $\alpha$ -oksoizovalerik asit açığa çıkar. Daha sonra bu ketoasitler dekarboksilasyon ve dehidrojenasyon için karaciğere taşınır. Sonrasında bir dizi reaksiyon sonucunda löysinden asetil CoA ve asetoasetat, izolöysinden asetil CoA ve propiyonil CoA, valinden ise süksinil CoA açığa çıkar (91).

Histidin metabolizmasının ilk basamağında histidin deaminasyonu sonucu ürokanik asit oluşur. Bu bileşik daha sonra farklı metabolik yollara katılabilmektedir.

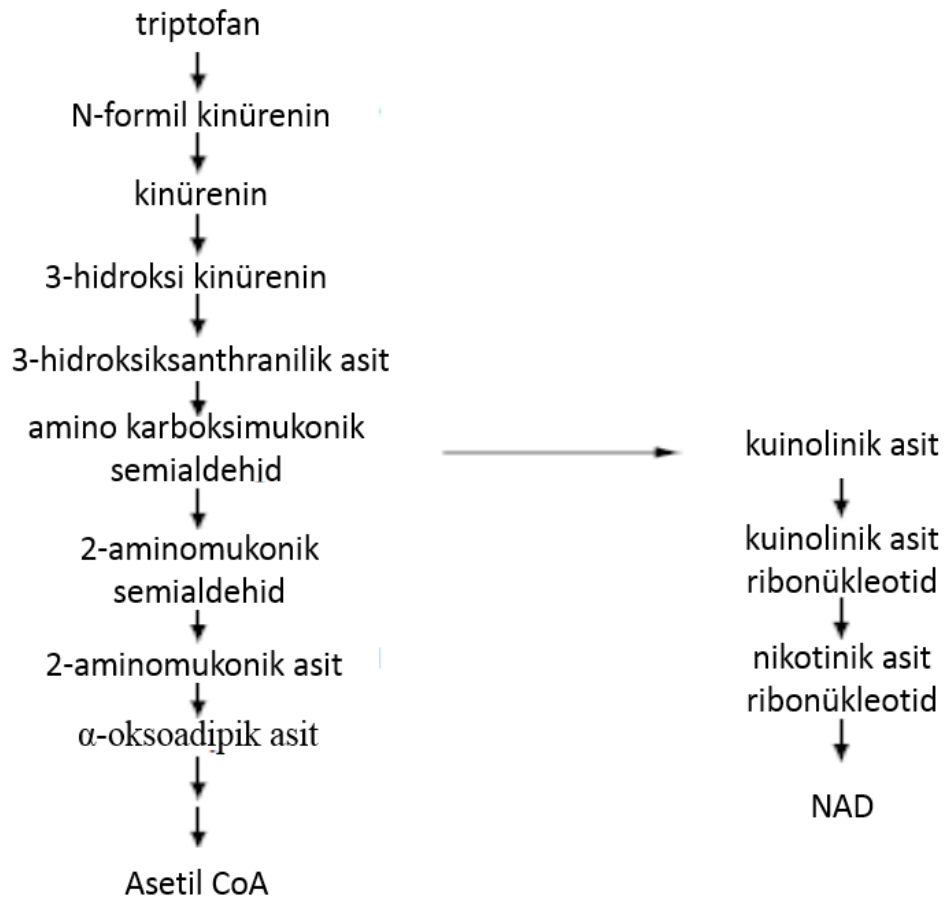
Temel metabolik yollarından biri formiminoglutamik asit (FIGLU) oluşumudur. FIGLU'nun demetilasyonu ile glutamik asit açığa çıkar. Bu metabolik yol folat düzeyinin belirlenmesinde kullanılan FIGLU testinin temelini oluşturur. Histidin amino asidinin dekarboksilasyonu sonucunda histamin oluşur (81).

Memelilerde yer alan enzimler fenilalaninin benzen halkasını kıramaz. Bu nedenle fenilalanin tirozine hidroksillenerek katabolize olur. Tirozin p-hidroksifenilpirüvata dönüştükten sonra bu bileşiğin dekarboksilasyonu ile homogentisik asit oluşur. Homogentisik asit ise asetoasetik asit ve fumarik asite metabolize olur. Az miktarda tirozinin hidroksillenmesi ile 3,4 dihidroksifenilalanin (DOPA) oluşur. DOPA'nın dekarboksilasyonu sonucu dopamin, noradrenalin ve adrenalin katekolaminleri açığa çıkar. DOPA melanin pigmentine de dönüştürülebilmektedir. Tiroid bezinde bulunan proteine bağlı tirozine iyot eklenerek tiroid hormonları sentezlenir. Fenilalanin ve tirozin metabolizması Şekil 2.6'da gösterilmiştir (99).



Şekil 2.6. Fenilalanin ve tirozin metabolizması (72)

Triptofan hormona duyarlı triptofan oksijenaz enzimi tarafından N-formil kinürenine okside olur. Bir dizi kimyasal reaksiyon sonucunda amino-karboksimumonik semialdehit oluşur. Bu bileşiğin çoğu enzimik karboksilasyona uğrar ve asetil CoA açığa çıkar. Az miktarda amino-karboksimumonik semialdehitin nonenzimik siklizasyonu sonucu kuinolik asit oluşur. Bunu izleyen birkaç reaksiyon sonrasında NAD oluşumu gerçekleşir. Triptofan metabolizması Şekil 2.7’de gösterilmiştir (71).



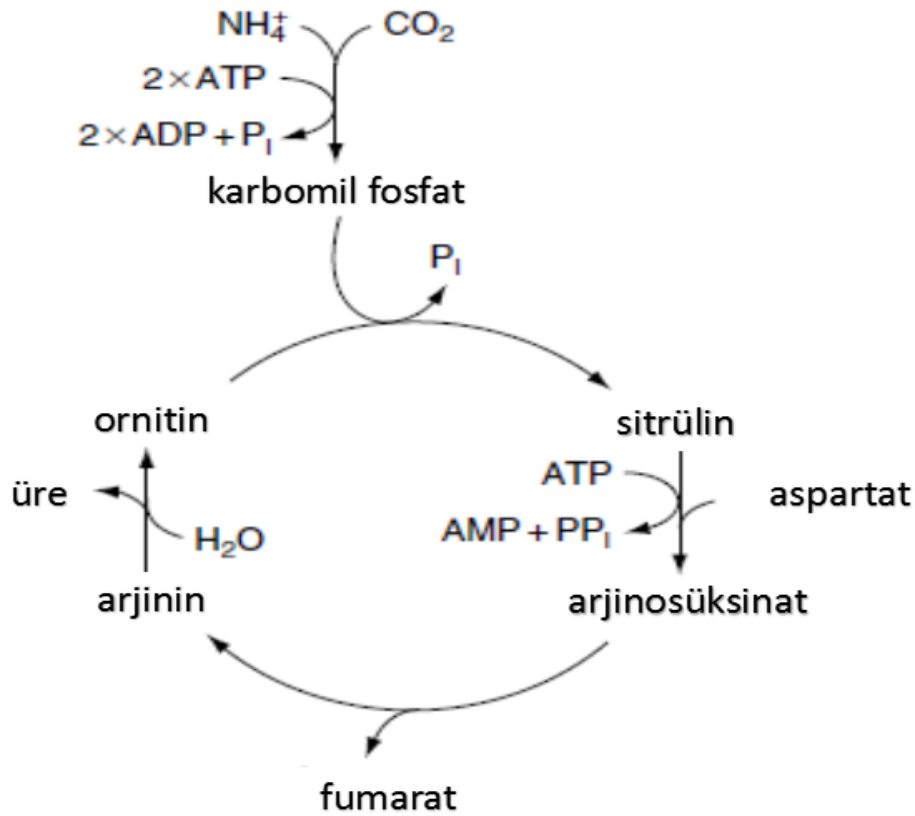
Şekil 2.7. Triptofan metabolizması (72)

Triptofan katabolizmasının bir basamağını B<sub>6</sub> vitaminine bağımlı kinüreninaz enzimi katalize eder. B<sub>6</sub> vitamin düzeyinin yeterli olmaması ve yüksek doz triptofan alınması durumunda triptofanın çoğu alternatif bir metabolik yol ile kinürenik asit ve ksantürenik asite metabolize olur. Bu bileşikler idrarla atılır. Az miktarda triptofanın

hidroksilasyonu ile 5-hidroksitriptofan oluşur. Bu bileşiğin dekarboksilasyonu sonucunda 5-hidroksitriptamin (serotonin) açığa çıkar (81).

### 2.2.10. Üre Döngüsü

Transaminasyon reaksiyonu ile amino asitlerin amino grupları 2-oksoglutarata transfer edilir. Bunun sonucunda glutamat oluşur ve sonrasında deaminasyon reaksiyonu ile amonyak açığa çıkar. Amonyak oldukça toksik olduğundan üreye dönüştürülerek vücuttan atılır. Karaciğerde gerçekleşen üre döngüsü Şekil 2.8’de gösterilmiştir. Üre molekülünde yer alan nitrojen atomlarından sadece biri karbomil fosfat aracılığıyla amonyaktan gelir. Diğer nitrojen atomu aspartik asitten gelir (98).



Şekil 2.8. Üre döngüsü (72)

Ürenin bir kısmı kolona difüze olur ve kolon bakterileri tarafından amonyaka hidrolize olur. Amonyak karaciğer tarafından alınarak amino asitlerin yapısına

katılabilmektedir. Bu nedenle üre sentez hızı idrarla üre atım hızından daha fazladır (72).

Serbest amino asitler vücudun toplam amino asit içeriğinin yaklaşık %2'sini oluşturmaktadır. Amino asitlerin katabolik yollarındaki değişiklikler serbest amino asit konsantrasyonunun düzenlenmesinde rol oynar. Elzem olmayan amino asitlerin sentez hızı bu amino asitlerin metabolik regülasyonunda rol alır. Protein dönüşümü de serbest amino asit konsantrasyonunu etkilemektedir (82).

Serbest amino asitler tüm vücut hücrelerinde ve ekstraselüler sıvıda bulunur. Plazma içerisinde dokular arasında ve çeşitli taşıma mekanizmaları ile hücre içine taşınmaktadır. Kırmızı kan hücrelerinde de amino asit bulunmaktadır; ancak plazma amino asit içeriği ile kırmızı kan hücrelerinin amino asit içeriği farklılık göstermektedir. Öğün sonrası kan gastrointestinal sistemi geçtikten sonra plazma amino asit konsantrasyonu artarken, kırmızı kan hücrelerinin amino asit içeriği azalır (71).

### **2.2.11. Protein Kalitesi**

Protein kalitesi diyet proteininin vücudun amino asit ve nitrojen gereksinmesini karşılayabilme düzeyi olarak tanımlanmaktadır. Proteinin amino asit örüntüsü, sindirilebilirliği ve biyoyararlılığı protein kalitesini etkilemektedir (77).

Et, tavuk, balık, süt, yumurta, peynir ve yoğurt gibi hayvansal kaynaklı proteinler tüm elzem aminoasitleri içermektedir ve bu nedenle tam protein olarak ifade edilmektedir (100). Diğer yandan bitkisel proteinlerin (kurubaklagiller, tahıllar, yağlı tohumlar ve sebzelerden gelen) belirli elzem aminoasitleri eksik ya da düşük miktardadır. Bu aminoasitlerin başlıcaları lizin, kükürtlü aminoasitler (metiyonin ve sistein) ve treonindir. Ayrıca bitkisel protein olan soya proteinleri bazen tam protein olarak ifade edilse de soya proteinlerinin toplam elzem aminoasit içeriği oldukça düşüktür (süt proteinlerinden %85 daha az) (101). Genel anlamda triptofan içeriği düşük olan mısır ve kükürtlü aminoasit içeriği az olan soya fasulyesi dışında bitkisel ve hayvansal kaynaklı proteinlerin temel farklılığı, lizin içeriklerinden kaynaklanmaktadır (102).

Protein sindirilebilirliği postprandiyal aminoasit biyoyararlılığını etkilemektedir. Hayvansal kaynaklı proteinler doğal formlarında tüketildiklerinde genellikle sindirilebilirlikleri bitkisel kaynaklı proteinlerden yüksektir (100). Protein

fraksiyonlarının sindirilebilirlik değerleri bakımından en yüksek sindirilebilirlik değerleri %94-99 arasında değişmekte olup, hayvansal kaynaklı proteinler, posa içeriği düşük buğday unu/ekmekleri, buğday gluteni, yer fıstığı ve soya protein izolatına aittir. Barbunya ve diğer kurubaklagillerin sindirilebilirlikleri (%72-84) düşüktür (103).

Bir aminoasitin biyoyararlılığı; diyetle alınan aminoasitin emilim sonrası protein sentezi ya da metabolizmada kullanıma hazır olan miktarını ifade eder (104). Diyette yer alan antinutrisyonel faktörlerin protein sindirilebilirliği ve aminoasitlerin biyoyararlılığını azalttığı bildirilmiştir. Antinutrisyonel faktörler endojen olarak bulunabilecekleri gibi proteinlere uygulanan ısıl/alkali işlem süresince de oluşabilmektedir. Besinin yapısında yer alan temel antinutrisyonel faktörler; kurubaklagillerde bulunan tripsin inhibitörleri ve hemaglutininler, kurubaklagil ve tahıllarda bulunan taninler, tahıl ve yağlı tohumlarda bulunan fitatlar, hardal ve kanola proteinlerinde bulunan glukosinolatlardır. Proteinlere uygulanan ısıl/alkali işlem süresince oluşan önemli antinutrisyonel faktörler; Maillard reaksiyon ürünleri, kükürtlü aminoasitlerin okside formları, D-aminoasitler ve lizinoalanin (doğal olmayan, nefrotoksik aminoasit türevi)'dir (105).

Proteinler sindirim kinetikleri bakımından da farklılık göstermektedir. Kazein (yavaş protein) ve whey (hızlı protein) proteinleri farklı sindirim kinetiklerine sahiptir (106). Soya proteinlerinin sindirim kinetikleri barsaklardan nitrojen emilimi daha hızlı gerçekleştiği için süt proteinlerinden hızlıdır (93). Hayvansal ve bitkisel kaynaklı protreinlerin sindirim kinetiklerini intrinsik özelliklerinden daha çok diğer faktörler etkilemektedir. Gaudichon ve diğerleri yaptıkları çalışmada süt protein izolatına karbonhidrat eklenmesinin sindirilebilirliği etkilemediğini ancak emilimi geciktirdiğini göstermiştir (107). Sıvı bir öğüne kıyasla katı bir öğün tüketimi sonrası serbest aminoasitlerin emilimi daha yavaştır (108). Proteinin intakt ya da hidrolize yapıda olması da proteinlerin sindirim ve emilim kinetiklerini etkiler. Serbest aminoasit, dipeptid ve tripeptid içeriği yüksek olan proteinlerin sindirimi intakt proteinlerden daha hızlıdır. Dipeptid ve tripeptidler barsaklardan hidrolize olmayan formda emildikleri için proteinlere kıyasla daha hızlı plazma aminoasit artışına yol açar (109).

Yaş, sağlık durumu, fizyolojik durum ve enerji dengesi gibi protein gereksinmesini etkileyen bireysel faktörler de protein kalitesini etkilemektedir (110).

### **2.2.12. Protein Kalitesinin Belirlenmesi**

Besinlerin protein kalitesinin değerlendirilmesinde kullanılan birçok yöntem bulunmaktadır. Nitrojen dengesi diyetle nitrojen alımının ve vücuttan nitrojen kaybının değerlendirilmesi esasına dayanmaktadır. Protein yaklaşık %16 oranında nitrojen içermektedir. Nitrojen kaybı idrar, feçes ve deri yoluyla meydana gelmektedir. Nitrojen alımı ve kaybı arasındaki fark nitrojen dengesi hakkında bilgi verir. Nitrojen denge çalışmaları birçok yönden eleştirilmektedir. Bu çalışmalarda nitrojen kaybının tam olarak ölçülemeyeceği düşünülmektedir (111).

Kimyasal skor ya da amino asit skoru bir test proteininin amino asit örüntüsünün belirlenmesi esasına dayanır. Bu yöntemle proteinin sadece elzem amino asit örüntüsü belirlenebilmektedir. Elde edilen değer referans protein olarak kabul edilen yumurta proteini ile kıyaslanır (77).

Protein sindirilebilirliği düzeltilmiş amino asit skoru (PDCAAS) protein kalitesinin değerlendirilmesinde kullanılan bir diğer yöntemdir. Bu yöntemde 1 g test proteini için belirlenmiş olan sınırlı amino asit miktarı, 1 g yumurta proteininde bulunan aynı amino asit miktarına bölünür ve bu değer test proteininin sindirilebilirliği ile çarpılır. PDCAAS değeri 100 olarak kabul edilen besinler süt proteini (kazein), yumurta akı, dana kıyması, ton balığı ve bazı hayvansal kaynaklı besinlerdir. Soya fasulyesinin PDCAAS değeri 94 iken çeşitli kurubaklagiller ve tahılların PDCAAS değerleri daha düşüktür (112).

Protein yeterlilik oranı (PER) protein kalitesinin belirlenmesi amacıyla geliştirilmiş biyolojik bir yöntemdir. Protein yeterlilik oranının hesaplanması için büyümekte olan hayvan test proteini olarak standart bir diyetin yaklaşık %10'u kadar protein içeren bir diyetle beslenir. Belirli bir zamanda tüketilen proteine bağlı olarak kazanılan ağırlık ölçülür. Elde edilen değer PER değeridir. Test proteini olarak kazein kullanılır. Kazein için PER değeri 2.5'tir. Buna bağlı olarak ratlarda her 1 g protein alımına karşılık 2.5 g ağırlık artışı olduğu düşünülmektedir. Bu yöntemde protein tüketimine bağlı ağırlık artışı göz önünde bulundurulmaktadır; ancak ağırlık artışının yağ ya da kas dokusuna bağlı ayrımına yönelik bir farklılık belirlenmemiştir (77).

Proteinlerin biyolojik değeri (BV) protein kalitesinin değerlendirilmesinde kullanılan yöntemlerden biridir. BV büyüme ve gelişme için vücutta tutulan nitrojen miktarını gösterir. BV daha çok hayvan deneylerinde, daha az oranda da insanlarda belirlenir. Bireyler 7-10 gün boyunca proteinsiz bir diyetle beslenir. Sonrasında benzer süreçte gereksinmesi kadar test proteini alması sağlanır. Proteinsiz diyet tüketimine bağlı idrar ve feçesle nitrojen atımı değerlendirilir ve test proteini aldığı dönemdeki değerle karşılaştırılır. BV değerinin yüksek olması emilen nitrojenin büyük bir kısmının vücut tarafından tutulduğunu gösterir. BV değeri hesaplanırken göz önünde bulundurulmuş nitrojen kayıplarının hesaplanmasında deri, saç ve tırnak yoluyla olan kayıplar göz önünde bulundurulmamaktadır. Bu durum vücuttan atılan nitrojen hesabında hataya yol açmaktadır (71).

Net protein kullanımı (NPU) protein kalitesinin değerlendirilmesinde kullanılan diğer bir yöntemdir. NPU besinlerle alınan nitrojenin vücutta tutulan miktarını ölçer. NPU değerleri nitrojen denge çalışmaları ile insanlarda ölçülebilse de daha çok deney hayvanlarının karkasları kullanılarak doğrudan analiz yöntemiyle belirlenir. Bu yöntemde iki grup yer almaktadır. Gruplardan biri test proteini ile beslenirken, diğeri aynı miktarda enerji içeren proteinsiz bir diyetle beslenir. Besleme periyodu sonrasında, deney hayvanlarının karkaslarında nitrojen analizi yapılır. Yüksek kaliteli proteinlerin NPU değeri düşük kaliteli proteinlerden daha yüksektir (72).

### **2.3. Gebelik ve Protein Alımı**

Gebelik süresince plasenta oluşumu ve fetal gelişimin sağlanması için maternal enerji ve protein gereksinmesi artar. Gebelikte protein gereksinmesinin belirlenmesinde faktöriyel yaklaşım ve nitrojen denge çalışmalarından yararlanılmaktadır. Temel amaç gebelik süresince vücutta nitrojen birikiminin saptanmasıdır (113). Faktöriyel yaklaşımda vücut bileşimindeki değişiklikler değerlendirilerek dokularda biriken protein miktarı hesaplanır. Toplam protein birikiminin yaklaşık 925 g olduğu bildirilmiştir (114). Nitrojen denge çalışmalarında ise nitrojen alımı ve vücuttan nitrojen kaybı değerlendirilir. Bu değerlendirmenin doğru bir şekilde yapılması gerekmektedir. Nitrojen alımının normalden fazla, atımının ise daha az olduğunun düşünülmesi protein gereksinmesinin doğru bir şekilde hesaplanmasını zorlaştırmaktadır (111).



### 2.3.1. Gebelikte Protein Metabolizması

Gebelikte hem annenin hem de fetüsün besinsel ve metabolik ihtiyaçlarının karşılanması için anatomik, fizyolojik ve metabolik değişiklikler meydana gelir. Glikoz fetüsün temel enerji kaynağı iken, fetal gelişimin sağlanması ve yeni fetal ve maternal doku sentezi için vücutta nitrojen ve protein korunumuna ihtiyaç duyulmaktadır (115). Gebeliğin ilk trimesterinde protein sentez hızında belirgin bir artış görülmezken, ikinci ve üçüncü trimesterde sürekli bir artış gözlenmektedir (116). Protein sentezindeki artış hızının (g nitrojen/gün) ilk trimesterde %1, ikinci ve üçüncü trimesterde ise sırasıyla %15 ve %25 oranlarında olduğu bildirilmiştir (113).

Gebeliğin son trimesterinde üre sentezi ve idrarla üre atımının azalması sonucu nitrojen atımı da azalır ve böylece vücutta nitrojen birikimi sağlanır. Toplam nitrojen atımındaki azalma ile doku sentezinde kullanılan amino asit miktarı artmaktadır (117). Gebeliğin ilk ve son trimesterinde löysin transaminasyon hızında azalma görülür. Bu azalma üre sentez hızıyla pozitif bir korelasyon gösterir (118). Protein metabolizmasındaki bu değişikliklerin nedeni vücutta protein korunumunun sağlanmasıdır (117,118).

Gebeliğin ilk trimesterinde total serum protein düzeyinde azalma gözlenir. Gebeliğin ortalarında bu düzey sabit hale gelir ve gebelik öncesi düzeyi yaklaşık 1 g/dL altında seyreder. Bu azalma plasental aminoasit alımı ve insülin seviyelerindeki artış, aminoasitlerin glukoneogenez için karaciğere yönelmesi ve glikoz yapımında kullanılmak üzere fetüse transfer edilmesi nedeniyledir (119).

### 2.3.2. Gebelikte Proteinin Önemi

Gebelik öncesi ve süresince beslenme, üreme sağlığı ve sağlıklı bir gebeliğin sürdürülmesi için büyük önem taşımaktadır. Gebelik süresince gelişmekte olan fetüs besin ögesi gereksinmelerinin karşılanması için tamamen anneye bağımlıdır. Bu gereksinmelerin karşılanmasında annenin beslenme durumu, besin ögesi depoları ve besin alımı kilit rol oynar (120). Sağlıklı bir fetal gelişim, proteinin de içinde bulunduğu çeşitli besin öğelerinin yeterli düzeyde alınmasıyla mümkündür.

Fetüs gelişimi ve hücre oluşumunun sağlanmasında protein elzemdir. Fetüsün protein gereksinmesi maternal diyetle karşılanır. Dolayısıyla annenin yetersiz protein alımı gelişmekte olan fetüsü etkiler (121). Gebelikte yetersiz beslenme ile enerji ve protein alımının düşük olması fetal gelişimin bozulmasına ve düşük doğum ağırlığına

yol açar (122). Beslenme durumu kötü olan gebelerde, dengeli protein-enerji desteğinin düşük doğum ağırlığı ve gestasyon yaşına göre küçük bebek doğurma riskini azalttığı bildirilmiştir (123-125).

#### **2.4. Fetal Programlama ve Protein Alımı**

Maternal enerji alımının yanı sıra diyet örüntüsünün de fetüs metabolizmasını etkilediği ve fetüs metabolizması üzerinde uzun süreli değişikliklere yol açabileceği bilinmektedir. Yeterli düzeyde maternal protein alımı fetüs gelişimi ve yaşamın ilerleyen dönemlerinde hastalık riski açısından büyük önem taşımaktadır (72).

##### **2.4.1. Düşük Proteinli Diyetler**

Ratlarda önemli sayıda deneysel çalışma protein kısıtlamasının fetal gelişim ve sonraki yaşam üzerine etkilerini araştırmaktadır. Maternal düşük proteinli diyet tüketimi genellikle düşük doğum ağırlığına yol açsa da bu diyet tüketiminin yaşamın ilerleyen dönemlerinde farklı patofizyolojik etkileri olduğu görülmektedir (56).

Düşük proteinli diyet modelinin Fetal Programlama üzerine etkileri uzun süredir çalışılmaktadır. Bu diyetin protein içeriği %5-8 arasında değişir ve maternal düşük proteinli diyet tüketimi rahim içi ortamda büyüme geriliğine yol açar (126). Maternal protein kısıtlamasına bağlı fetal büyüme geriliğinin nedeni tam olarak bilinmemektedir. Amino asit eksikliğinde embriyonik hücreler gelişim, farklılaşma ve apoptozisten sorumlu gen ekspresyonunu artırır. Hücrelerin amino asit eksikliğine duyarlılığı ve amino asitlerin fetüs ve plasenta metabolizması üzerindeki etkileri nedeniyle amino asit desteği ve fetal gelişim arasında bir ilişki olduğu düşünülmektedir. Ratlarda gebelik döneminde anabolik ve katabolik faz olmak üzere iki farklı protein metabolizmasına rastlanmaktadır. Katabolik faz süresince fetal gelişimin desteklenebilmesi amacıyla anabolik fazda maternal protein birikimi gerçekleşir. Bu mekanizma ile protein yetersizliği durumunda fetüse serbest amino asit desteğinin sağlanıp sağlanmadığı tam olarak bilinmemektedir (127).

Maternal protein kısıtlaması, doğacak yavrunun adacık hücrelerini ve karaciğer, kas, adipositler, böbrek ve beyin gibi insüline duyarlı organlarını etkilemektedir (128). Annelerin düşük proteinli diyet tüketimi yavruların  $\beta$ -hücre sayısında azalmaya yol açar. Protein kısıtlaması süttten kesme dönemine kadar devam ettirildiğinde bu azalma daha belirgin hale gelir (129). Doğumda  $\beta$ -hücre sayısı  $\beta$ -

hücrelerinin replikasyon ve apoptozis hızı tarafından belirlenir. Rahim içi ortam koşullarındaki yetersizliğin bu denetleyici faktörlerin dengesinin bozulmasına ve  $\beta$ -hücrelerinde fonksiyon kaybına yol açtığı düşünülmektedir (130).

Neonatal ratlarda pankreatik adacık ontogenezinde önemli rol oynayan çeşitli değişikliklere rastlanmıştır. Protein yetersizliğine duyarlılığın açıklanmasında bu değişikliklerin rol oynayabileceği düşünülmektedir. Rat fetüsünün adacık hücre sayısı,  $\beta$ -hücre replikasyonu ve pankreatik kanallarda bulunan farklılaşmamış  $\beta$ -hücre öncüllerinin olgunlaşması sonucu hızla artmaktadır. Doğumdan sonraki 3-4 gün içerisinde adacık hücrelerinin gelişim hızı azalır ve bu azalma ilerleyen dönemlerde de devam eder. Bunun sonucunda yetişkinlik döneminde pankreatik  $\beta$ -hücrelerinin bölünerek çoğalma hızı azalır. Doğum sonrası 1. ve 2. haftalar arasında adacık hücrelerinde apoptozis meydana gelmesine rağmen,  $\beta$ -hücre yoğunluğunda önemli bir değişim olmaz. Bu durumun neojenez ya da replikasyondan elde edilen yeni bir  $\beta$ -hücre topluluğunun hücre kaybını dengelemesi sonucu ortaya çıktığı düşünülmektedir (12).

İnsülin benzeri büyüme faktörleri (IGF)  $\beta$ -hücrelerinin gelişimini ve olgunlaşmasını artırır. IGF'ler fetüsün adacık ve kanal hücrelerinden salınır. Maternal düşük proteinli diyet tüketimi, yavruların dolaşımdaki IGF düzeyleri ile karaciğerden IGF salınımını azaltır. IGF-II fetal dönemde  $\beta$ -hücrelerinin gelişiminde ve antiapoptozis faktörü olarak önemli bir rol oynar. Düşük proteinli diyete maruz kalmış fetal adacık hücrelerinin proliferasyonundaki azalma ve apoptozisindeki artışın pankreasta IGF-II mRNA ve adacık hücrelerindeki IGF-II protein salınımindaki azalma sonucu olduğu düşünülmektedir (131).

Gebelik ve laktasyon dönemlerinde maternal düşük proteinli diyet tüketiminin yavrularda insülin salınımlarında bozulma (132),  $\beta$ -hücre sayısında azalma (130) ve yaşamın ilerleyen dönemlerinde glikoz intoleransı, insülin direnci ve diyabet gelişimine (133) yol açabileceği bilinmektedir. Gebelikte ve/veya laktasyonda protein kısıtlamasının yavru ratların büyüme ve gelişmesi ile glikoz tolerans testine gösterdiği glikoz ve insülin yanıtları üzerine etkileri değerlendirilmiştir. Maternal protein kısıtlamasına maruz kalmış dişi ratların doğum ağırlığı daha düşük bulunmuştur. Doğumdan 110 gün sonra yavru ratların glikoz tolerans testine yanıtları değerlendirilmiştir. Gebelik döneminde düşük proteinli

(%10 kazein), laktasyon döneminde ise protein içeriği yeterli (%20 kazein) bir diyet tüketen erkek yavrularda insülin direncine rastlanmıştır. Bu araştırmaya göre gebelik ve/veya laktasyon süresince maternal protein kısıtlamasının postnatal gelişimi etkilediği sonucuna varılmıştır. Protein kısıtlamasının cinsiyete ve proteinin kısıtlanma dönemine göre glikoz metabolizması ve insülin direncini değiştirebileceği bildirilmiştir (134).

Gebelik döneminde maternal düşük proteinli diyet tüketiminin yavru ratlarda nefron sayısını azaltabileceği, böbrek gelişiminde bozulmalara yol açabileceği ve bunun sonucunda yaşamın ilerleyen dönemlerinde hipertansiyon gelişimini programlayabileceği bilinmektedir (31,135-137). Genetik faktörler ile özellikle maternal faktörlerin de içinde bulunduğu çevresel faktörler nefrojenizi etkiler. Nefrojeniz 5. gestasyon haftasında başlamakta olup, 2. trimesterin ortalarında hızlanır ve 36. gestasyon haftasında tamamlanır. Bu 16 haftalık süreç genetik ve çevresel faktörlere oldukça duyarlıdır. Maternal diyet ve ilaç kullanımı nefron oluşumunu ve gelişimini etkilemekte ve nefron gelişimini bozarak nefron sayısında azalmaya yol açabilmektedir (138). Ratlarda ise nefrojeniz gestasyonun 12. gününde başlar ve doğum sonrası 8 gün boyunca devam eder (28).

Gestasyon süresince maternal protein kısıtlaması, yavru ratlarda böbrekte fizyolojik ve morfolojik değişikliklere yol açar. Fetal dönemde glukokortikoid maruziyeti ile renin anjiyotensin sistemi (RAS), apoptozis ve DNA metilasyonundaki değişimlerin bu değişikliklere yol açabileceği düşünülmektedir (139). Normalde fetus, plasental 11 $\beta$ -hidroksisteroid dehidrogenaz enzimi (11- $\beta$ HSD) ile fazla miktarda fizyolojik glukokortikoid maruziyetine karşı korunur. 11- $\beta$ HSD glukokortikoidleri kısa sürede inert maddelere metabolize eder (135). Maternal protein kısıtlaması plasental 11- $\beta$ HSD aktivitesini azaltarak maternal glukokortikoid düzeyinde artışa yol açar. Fetusün fazla miktarda glukokortikoide maruz kalması renin anjiyotensin sisteminde değişikliğe yol açar. Anjiyotensin dönüştürücü enzim (ADE) ekspresyonundaki artışın kan basıncında artışa yol açabileceği düşünülmektedir (140).

Anjiyotensinin sistemik ve intrarenal fonksiyonları bulunmaktadır. RAS anjiyotensin aracılığıyla arteriyal basıncın ve vücutta sıvı dengesinin düzenlenmesinde rol oynar (141). Gelişmekte olan böbrekten RAS bileşenlerinin

ekspresyonu fazladır ve bu bileşenlerin ekspresyonu düzenli bir nefrogenez için oldukça önemlidir (142). Woods ve Rasch tarafından böbreğin fizyolojik fonksiyonları ile morfolojik gelişiminde RAS'ın önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Doğum sonrası nefrojenik dönemde Anjiyotensin II tip 1 reseptörünün (AT<sub>1</sub>R) bloke edilmesi, nefron sayısı ve renal fonksiyonda azalma ve arteriyal basınçta artışa yol açmıştır (143). Gebelik döneminde maternal protein kısıtlamasına maruz kalmış ratlarda, renal AT<sub>1</sub>R ekspresyonunun önemli düzeyde arttığı bildirilmiştir. AT<sub>1</sub>R ekspresyonundaki artışın protein kısıtlamasının direk bir sonucu ya da anjiyotensin konsantrasyonundaki azalmaya yanıt olarak gerçekleşmiş olabileceği düşünülmektedir (144). Rach tarafından yapılmış diğer bir çalışmada ise gebelik süresince maternal protein alımı kısıtlamasının yenidoğanda intrarenal renin mRNA ekspresyonunu, renin konsantrasyonunu ve anjiyotensin II düzeylerini azalttığı bildirilmiştir (136).

Fetal dönemde protein kısıtlamasına maruz kalmış ratlarda protein kısıtlamasının yeme davranışını etkileyebileceği düşünülmektedir (14,15). Bellinger ve diğerleri tarafından yapılmış bir çalışmada, gebelik süresince protein kısıtlamasına maruz kalmış ratların yavrularında, yağ ve enerji içeriği yüksek yiyecek tüketimine yönelme olduğu gözlenmiştir (14). Diğer bir çalışmada ise maternal protein kısıtlamasının yavru ratlarda besin tercihini ve iştah kontrolünü programlayabileceği gösterilmiştir (15). Hipotalamusun belirli bölgelerinde bulunan nöropeptidler makrobesin ögesi seçimini etkiler (145). Fetal ve postnatal dönemde protein kısıtlamasına maruz kalmış ratlarda hipotalamusun belirli bölgelerinde değişiklikler gözlenmiştir (146). Paraventriküler nükleus ve lateral hipotalamusta nöropeptid Y gibi peptidlerin salınımında artış olduğu bildirilmiştir. Dolayısıyla yavrularda gözlenen yeme davranışı değişikliklerinin altında yatan temel nedenin hipotalamus-hipofiz adrenal aksında meydana gelen değişiklikler olabileceği düşünülmektedir (147).

#### **2.4.2. Düşük Kaliteli Protein Alımı**

Diyetin protein miktarı ve kalitesi beyin ve karaciğer gibi rat dokularında protein sentezini ve plazma serbest aminoasit konsantrasyonunu etkilemektedir (17,148,149). Ratlarda yapılan bazı araştırmalarda, diyetin protein kalitesinin ağırlık

değişimini etkileyebileceği ve protein kalitesi düşük diyet tüketiminin daha az ağırlık artışına yol açabileceği bildirilmiştir (16,150).

Ratlarda düşük kaliteli protein diyetinin plazma aminoasit konsantrasyonu ve ağırlık kazanımı üzerine etkilerinin değerlendirildiği çalışmalara kıyasla, maternal düşük kaliteli protein diyetinin fetal gelişim üzerine etkilerinin değerlendirildiği çalışmalar oldukça sınırlıdır. Çok eski yıllarda yapılmış birkaç araştırmada, maternal düşük kaliteli protein diyetinin fetal gelişimi etkilediği bildirilmiştir (151,152). Bu araştırmalarda gebelik süresince anneler tarafından buğday gluteni diyetinin tüketilmesi, yavruların doğum ağırlığının daha düşük olmasına yol açmıştır. Laktasyon döneminin 15.gününe kadar yavruların ağırlık takibi yapılmış ve vücut ağırlığı artışlarının daha düşük olduğu bildirilmiştir. Jahan-Mihan ve diğerleri tarafından yapılmış bir çalışmada ise anne ratların protein kalitesi farklı diyet tüketimi, yavru ratların doğum ağırlığı üzerinde önemli bir farklılığa yol açmamıştır. Gebelik ve laktasyon dönemleri süresince soya proteini diyeti tüketen annelerin yavrularında, kazein diyeti grubuna kıyasla ağırlık artışı bakımından farklılık gözlenmemiştir (153).

Literatürde yer alan çalışmaların neredeyse tamamı, maternal düşük proteinli diyet tüketiminin fetal ve postnatal gelişim, fetüs metabolizması ve uzun dönem hastalık riski üzerine etkilerini değerlendirmektedir. Anne tarafından protein kalitesi farklı diyet tüketiminin fetal ve postnatal gelişim üzerine etkilerinin değerlendirildiği çalışmalar eski dönemlerde yapılmış olup, oldukça sınırlı sayıdadır. Maternal düşük kaliteli protein diyetinin fetal amino asit profili üzerine etkilerinin değerlendirildiği bir araştırma bulunmamaktadır. Özellikle Türkiye gibi gelişmekte olan ülkelerde diyetdeki protein kaynağının önemli bir bölümünü bitkisel kaynaklı proteinler oluşturmaktadır (154). Genellikle, hayvansal kaynaklı besinlerde yer alan proteinlerin amino asit örüntüsü vücudun elzem amino asit gereksinmelerine uygun iken, bitkisel kaynaklı proteinlerde bazı amino asitler düşük miktarda bulunmaktadır (155). Bu nedenle, protein kalitesi açısından düşük olan bir diyetin fetal büyüme, gelişim ve metabolizması üzerindeki sonuçları ve bu sonuçların yetişkinlik döneminde kronik hastalık gelişimine olan etkisi merak konusudur.

### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu tarafından 21.03.2014 tarihinde 2014/17 kayıt numaralı araştırma projesi olarak onaylanmıştır (EK 1). Çalışmanın tüm aşamalarında Hacettepe Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu esaslarına uygun çalışılmıştır.

#### 3.1. Araç ve Gereçler

Çalışmada Hacettepe Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü Laboratuvarları'nda bulunan ve TÜBİTAK 1002 desteği ile alınan, aşağıda özellikleri verilen cihazlar/laboratuvar malzemelerinden yararlanılmıştır.

- EZ:faast amino asit kiti (Phenomenex)
- Thermo Finnigan Trace model GC (gaz kromatografi) cihazı (Enjeksiyon: Split 1:15, 250 °C, 2 µL; Taşıyıcı Gaz: Helyum (Sabit Akış Hızı: 1.5 mL/dk); Fırın Programı: 32 °C/dk; Dedektör: Alev İyonlaşma Dedektörü)
- Cerrahi set 7'li
- Cerrahi eldiven
- Ependorf tüpü (1,5 ml)
- Sıvı nitrojen tankı (AGIL)
- Enjektör (1,0 ve 5,0 ml)
- Lityum-Heparinli tüp
- Vorteks (Genie 2 G-560E model)
- Labnet Prism mikrosantrifüj cihazı
- Sartorius BP310P terazi
- Precisa 220A laboratuvar terazisi
- Değişik hacimlerde otomatik pipet

#### 3.2. Deney Hayvanları

Çalışmada kullanılan Wistar türü dişi ratlar, Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi'nden temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan 9-11 haftalık, daha önce çiftleşmemiş dişi ratlar deney gününe kadar ayrı standart barınma kafeslerinde tutulmuştur. Ratlar oda sıcaklığı 24-27 C° arasında, havalandırma şartları sağlanmış, aydınlatılması 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık olacak şekilde ayarlanan odalarda barındırılmıştır.

20 adet Wistar türü dişi rat 2 haftalık alışma sürecinden sonra çiftleştirilmiştir. Çiftleştirme işlemi için 10 adet Wistar türü erkek rat kullanılmıştır. Vajinal plağın varlığı çiftleşmenin anlaşılabilmesi için büyük önem taşımaktadır. Kafeslerin tabanı talaş ile kaplıdır ve bu durum vajinal plağın tespit edilmesini zorlaştırmaktadır. Bu nedenle vajinal plağın tespit edilebilmesi için kafeslerin tabanına tabandan yaklaşık 4 cm uzaklıkta olacak şekilde dikdörtgen şeklinde bir tel yerleştirilmiş ve kafesin tabanındaki talaş boşaltılmıştır. Çiftleşme dönemi süresince günlük izlem oldukça önemlidir. Kafesler her gün düzenli olarak kontrol edilmiştir. Vajinal plağın varlığı çiftleşmenin gerçekleştiği anlamına gelmiş ve gebeliğin sıfıncı günü olarak kabul edilmiştir. Vajinal plak gözlenen 13 rat çalışmada kullanılırken, plağın görülmediği 7 rat çalışma dışında bırakılmıştır. Çiftleşme sonrası erkek ratlara karbondioksit (CO<sub>2</sub>) ötanazisi uygulanmıştır.

Gebelik süresi 20-22 gün arasında değişmiştir. Doğum anında her annenin batın sayısı kaydedilmiştir. Batın sayısı 5-14 arasında değiştiği için her batından 2 erkek 2 dişi olmak üzere 4 yavru ayrılarak diğer yavrulara servikal dislokasyon yöntemi ile ötanazi uygulanmıştır. Ayrılan 4 yavru vücut ağırlıkları değişiminin izlenmesi, organ ağırlıklarının ölçülmesi ve plazma amino asit analizinin yapılabilmesi için laktasyon dönemi sonuna kadar anneleri ile tutulmuştur. Bu araştırmada laktasyon süresi ortalama 21 gün sürmüştür. Laktasyon dönemi sonunda tüm anneler ile her batından bir erkek ve bir dişi yavruya izofluran kullanılarak ötanazi yapılmıştır (156).

### **3.2.1. Düşük Kaliteli Protein Diyeti**

Bu çalışmada iki farklı beslenme protokolü kullanılmıştır. Birinci grup (n=6) gebelik ve laktasyon boyunca kemirgenler için ideal kalitede protein kaynağı olduğu bilinen %20 kazein proteinli (K) pelet yemle; ikinci grup (n=7) ise düşük kaliteli protein kaynağı olduğu bilinen %20 buğday gluteni proteinli (BG) pelet yemle beslenmiştir (17,18,157). Yem ve su ad libitum olarak verilmiştir. Kazeinli ve buğday glutenli yemlerin içerikleri EK 2'de belirtilmiştir.

### **3.2.2. Vücut Ağırlıkları İle Yem Tüketimlerinin Ölçülmesi**

Gebelik boyunca annelerin hafta içi hergün aynı saatte (16.00-18.00) yem tüketimi ve vücut ağırlıkları 0,1 grama duyarlı SF-400A model mutfak terazisi ile



ölçülmüştür. Gebelik sonunda batın sayısı kaydedilmiştir. Tüm yavruların doğum ağırlıkları ise 0,001 grama duyarlı sartorius marka terazi ile ölçülmüştür. Kazein ve buğday gluteni grubunda bulunan her anneden ayrılan 4 yavru dışındaki yavruların vücut boşlukları açılarak doğum anındaki karaciğer, kalp, böbrekler ve beyin dokuları çıkarılmış ve 0,0001 grama duyarlı Precisa marka laboratuvar terazisi ile ölçülerek kaydedilmiştir.

Laktasyon süresince hafta içi her gün aynı saatte (16.00-18.00) annelerin yem tüketimi ve vücut ağırlıkları 0,1 grama duyarlı SF-400A model mutfak terazisi ile ölçülmüştür. Laktasyon döneminin sonuna kadar anneleri ile tutulan 4 yavrunun vücut ağırlıkları ise 0,001 grama duyarlı Sartorius marka BP310P terazi ile ölçülmüştür. Laktasyon sonunda 4 yavrudan 2'sinin vücut boşlukları açılarak karaciğer, kalp, böbrekler ve beyin dokuları çıkarılmış ve 0,0001 grama duyarlı Precisa marka 220A laboratuvar terazisi ile ölçülerek kaydedilmiştir.

### **3.3. Kan ve Doku Örneklerinin Toplanması**

Laktasyon sonunda tüm annelere ve her batından 1 erkek ve 1 dişi yavruya ortalama 18 saatlik açlık sonrası izofluran uygulanmıştır. İzofluran inhalan anesteziktir. İzofluran uygulaması için saydam, dikdörtgen şeklinde, yerden yaklaşık 50 cm yüksekliğinde bir kutu içerisine bir parça pamuk yerleştirilmiştir. Bu pamuk üzerine yaklaşık 2 damla izofluran eklenmiş ve sonra rat kutunun içerisine yerleştirilerek ağzı kapatılmıştır. Her rat için farklılık göstermekle birlikte yaklaşık 3 dk sonra ratta bilinç kaybı gözlenmiştir. Sonrasında kardiyak punksiyon ile kan direkt olarak ventrikülden alınmıştır (158). Yavru ratlardan kan alınırken insülin tipi enjektör, anne rattan kan alınırken ise 19G enjektör ucu kullanılmıştır. Daha sonra kan heparinli tüplere aktarılmış ve soğuk zincir altında laboratuvara getirilmiştir.

Alınan kan örnekleri Labnet Prism model santrifüj cihazı ile 2500 rpm'de 15 dk. santrifüj edilerek plazmaları ayrılmıştır. Plazmalar 1.5 ml'lik ependorf tüplere alınarak amino asit analizi yapılana kadar -80°C'de korunmuştur. Her batından 2 yavrunun vücut boşlukları açılarak KC, kalp, böbrekler ve beyin dokuları çıkarılmış ve sıvı nitrojende dondurularak ileri analizler için -80°C'de saklanmıştır.

### 3.4. Maternal Süt Salınımının Hesaplanması

Laktasyonun 15. gününde salgılanan süt miktarının hesaplanmasında Sampson ve Jansen tarafından oluşturulan yöntem kullanılmıştır (159). Denklemden laktasyonun 3. ve 13. günleri arasında yavruların ortalama vücut ağırlıkları ile günlük ağırlık kazanımı değerleri kullanılmıştır. Elde edilen değer yavru sayısı ile çarpılarak günlük süt salınım miktarına ulaşılmıştır.

$$\text{Süt salınım miktarı} = 0.0322 + 0.0667(\text{vücut ağırlığı}) + 0.877(\text{ağırlık kazanımı}) \quad (3-1)$$

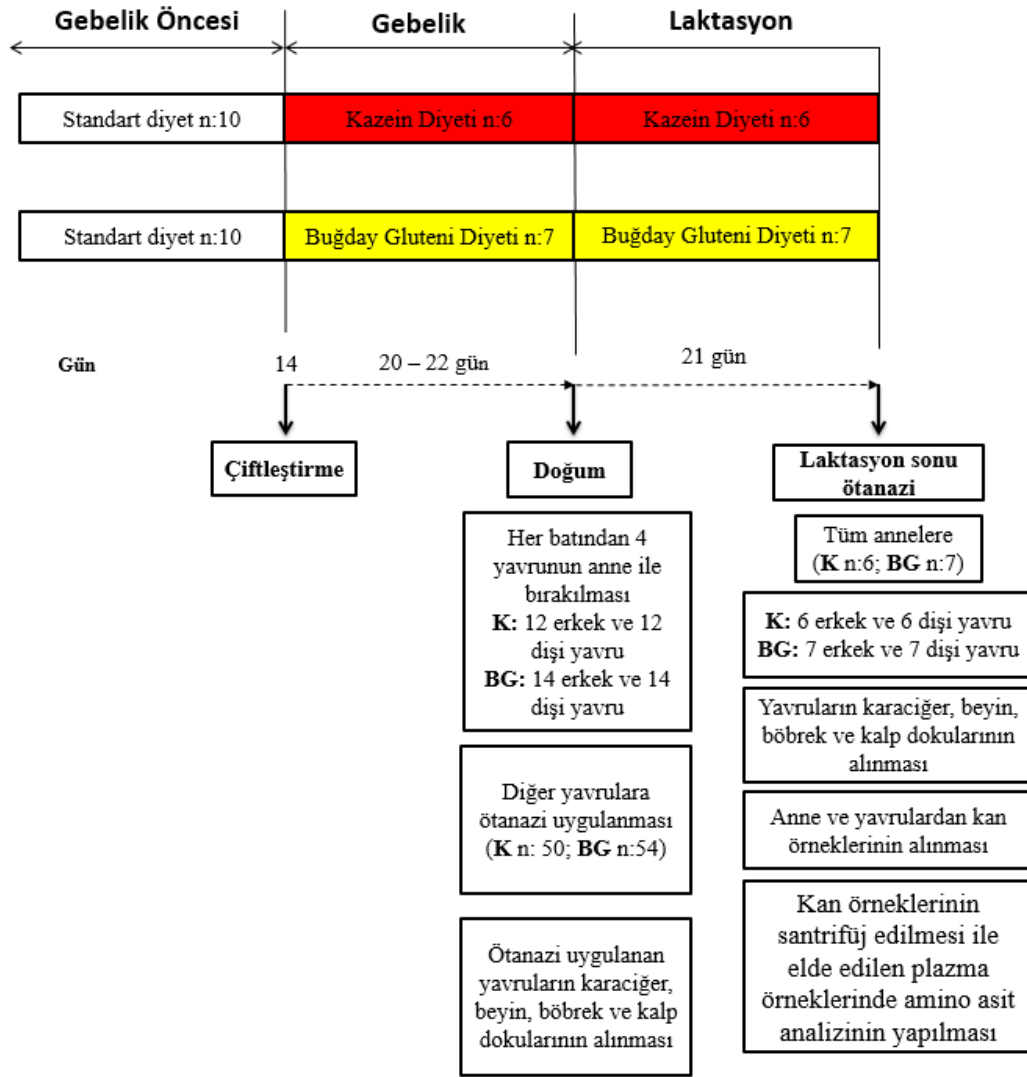
### 3.5. Plazma Amino Asit Profilinin Belirlenmesi

Maternal ve yavrunun plazma amino asit profili EZ:faast amino asit kiti kullanılarak, Hacettepe Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü Beslenme Araştırmaları Laboratuvarı'nda bulunan Thermo Finnigan Trace model Gaz kromatografi cihazı ile belirlenmiştir (160). Maternal ve yavrunun plazma örnekleri ile dublike çalışılmış, cihaz tarafından her bir örnekte triplike analiz yapılmış ve toplamda 24 amino asitin plazma konsantrasyonu analiz edilmiştir (EK 3).

Araştırmanın yürütülmesinde izlenen yol Şekil 3.1'de gösterilmiştir.

### 3.6. Yavru/Maternal Amino Asit Oranları

Yavru/Maternal amino asit oranı, yavrunun plazma serbest amino asit konsantrasyonunun maternal plazma serbest amino asit konsantrasyonuna oranlanmasıyla elde edilmiştir (161). Bulunan değer 1'in üzerinde olması yavrunun plazma serbest amino asit konsantrasyonunun maternal plazma serbest amino asit konsantrasyonundan daha fazla olduğunu göstermektedir. Bu değer 1'in altında olması ise maternal plazma serbest amino asit konsantrasyonuna kıyasla yavrunun plazma serbest amino asit konsantrasyonunda azalma olduğunu ifade etmektedir.



Şekil 3.1. Araştırmanın yürütülmesinde izlenen yol.

### 3.7. İstatistiksel Analizler

Elde edilen veriler SPSS 16.0 istatistik paket programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Verilerin ortalamaları ( $\bar{X}$ )±standart hatalarıyla (SE) ifade edilmiştir. Maternal veriler Genel Doğrusal Modellerin Tek Yönlü ve İki Yönlü Varyans Analizi ile değerlendirilmiştir. Batın sayısı ve süt salınımının değerlendirilmesinde anne diyeti sabit faktör olarak alınarak Tek Yönlü Varyans Analizi kullanılmıştır. Gebelik süresince vücut ağırlığı değişimi değerlendirilirken diyet ve hafta sabit faktör, batın sayısı randomize etki alınmıştır. Laktasyon süresince vücut ağırlığında meydana gelen değişim ise diyet ve hafta sabit faktör

alınarak değerlendirilmiştir. Gebelik ve laktasyon süresince besin tüketimleri diyet ve hafta sabit faktörler alınarak değerlendirilmiştir. Maternal plazma amino asit konsantrasyonları değerlendirilirken diyet sabit faktör olarak alınmış ve Tek Yönlü Varyans Analizi kullanılmıştır.

Fetal verilerin değerlendirilmesinde ise Genel Doğrusal Modellerin Tek Yönlü ve İki Yönlü Varyans Analizi kullanılmıştır. Yavruların doğum ağırlığı, doğum anındaki organ ağırlıkları ve laktasyon sonundaki organ ağırlıkları değerlendirilirken anne diyeti sabit faktör, batın sayısı ise randomize etki olarak alınmıştır. Yavruların laktasyon süresince vücut ağırlığı değişimleri değerlendirilirken anne diyeti ve hafta sabit faktörler, batın sayısı ise randomize etki olarak alınmıştır. Yavruların amino asit konsantrasyonları ise anne diyeti sabit faktör alınarak Genel Doğrusal Modellerin Tek Yönlü Varyans Analizi ile değerlendirilmiştir.

Sonuçlar %95'lik güven aralığında, anlamlılık  $p < 0.05$  düzeyinde değerlendirilmiştir (162). P değerinin 0.1'in altında olması anlamlılık eğilimi olarak değerlendirilmiştir (163).

## 4. BULGULAR

### 4.1. Maternal Bulgular

#### 4.1.1. Gebeliğe Adaptasyon ile Gebelik ve Laktasyon Döneminde Meydana Gelen Ağırlık Değişimine İlişkin Bulgular

Araştırmada kullanılan maternal ratlara ilişkin gebeliğe başlangıç ağırlığı, batın sayısı, gebelik süresince toplam ağırlık kazanımı, laktasyon süresince toplam ağırlık kazanımı ve günlük süt salınımı verileri Tablo 4.1’de gösterilmiştir. Kazein grubu ve buğday gluteni grubunun gebeliğe başlangıç ağırlıkları arasında fark bulunmamıştır ( $p>0.05$ ). Batın sayısı ortalaması kazein grubunda  $10.34\pm 1.42$  iken, buğday gluteni grubunda ise  $9.57\pm 1.32$  olup, iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0.05$ ). Buğday gluteni grubunun gebelik süresince toplam ağırlık kazanımı, kazein grubundan daha az bulunmuş; ancak bu fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır ( $p>0.05$ ). Laktasyon döneminde kazein grubu ortalama  $7.07\pm 5.12$  g ağırlık kazanmışken, buğday gluteni grubu  $4.50\pm 4.74$  g ağırlık kaybetmiştir. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0.05$ ). Günlük ortalama süt salınım miktarı bakımından kazein grubu ile buğday gluteni grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı belirtilmiştir ( $p>0.05$ ).

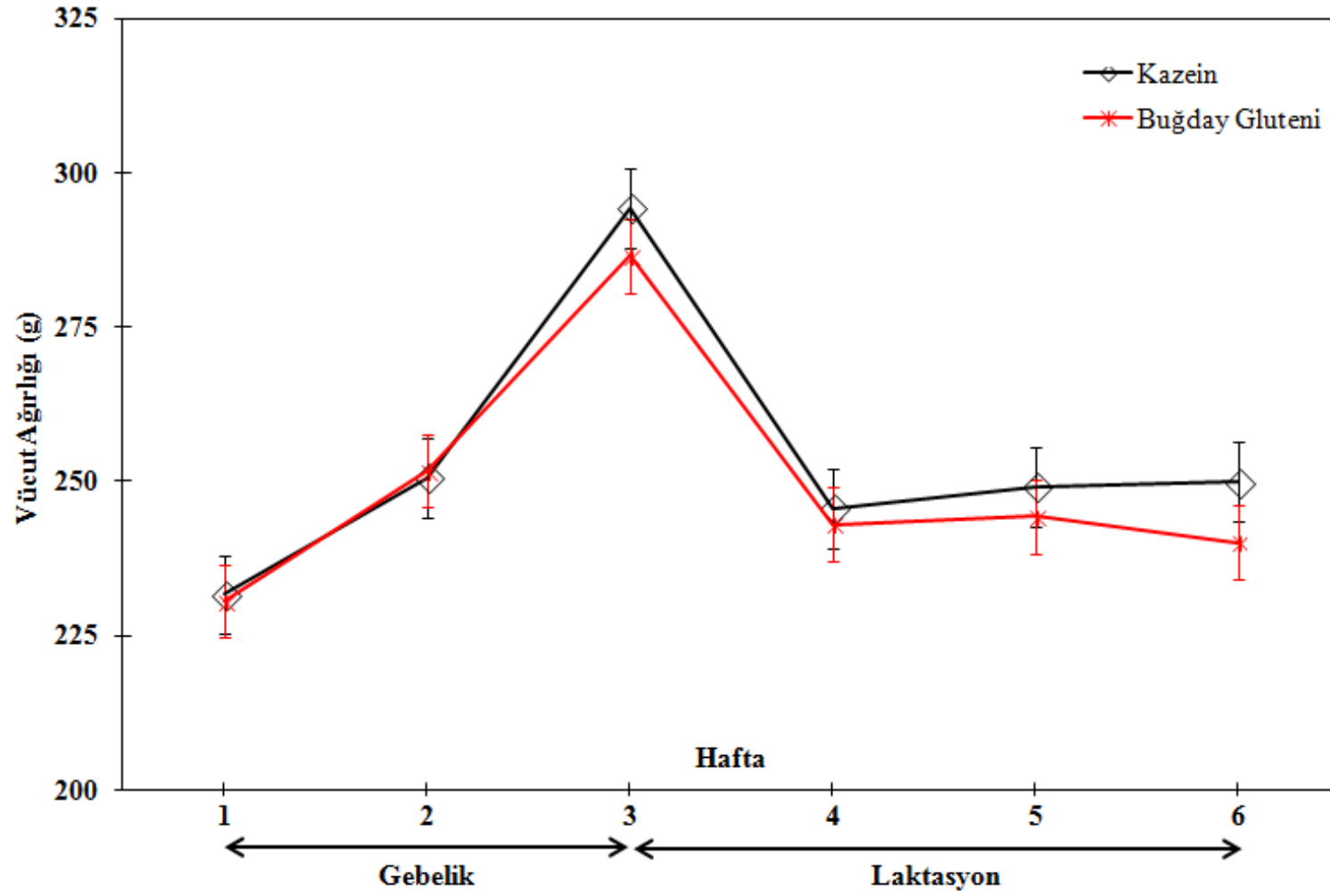
**Tablo 4.1.** Maternal özelliklerin değerlendirilmesi.

Maternal Özellikler	Kazein (n=6)	Buğday Gluteni (n=7)	p
	$\bar{X} \pm SE$	$\bar{X} \pm SE$	
Gebeliğe başlangıç ağırlığı (g)	$222.65\pm 5.14$	$220.91\pm 4.75$	0.809
Batın sayısı	$10.34\pm 1.42$	$9.57\pm 1.32$	0.281
Gebelik süresince toplam ağırlık kazanımı (g)	$90.40\pm 1.91$	$86.51\pm 1.77$	0.192
Laktasyon süresince toplam ağırlık kazanımı (g)	$7.07\pm 5.12$	$-4.50\pm 4.74$	0.126
Günlük süt salınımı (g)	$13.54\pm 0.52$	$12.64\pm 0.48$	0.225

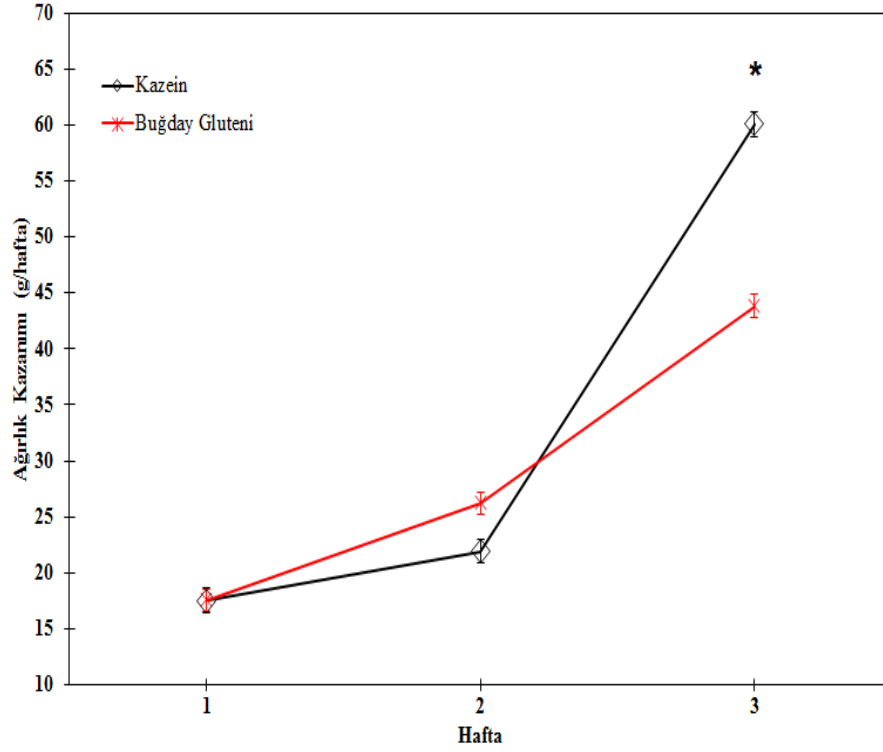
Şekil 4.1’de kazein ve buğday gluteni grubunun gebelik ve laktasyon süresince vücut ağırlığındaki değişimler gösterilmiştir. Gebeliğin 1. ve 2. haftasında, buğday gluteni grubunun vücut ağırlığı kazein grubu ile benzer seyretmiş, gebeliğin son haftasında ise buğday gluteni grubunun vücut ağırlığının kazein grubundan daha düşük olduğu gösterilmiş; ancak bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (K:  $294.17 \pm 6.44$  g, BG:  $286.6 \pm 5.97$  g,  $p > 0.05$ ). Laktasyon dönemi boyunca buğday gluteni grubunun vücut ağırlığının kazein grubuna kıyasla daha düşük olduğu bulunmuş; ancak iki grup arasında istatistiksel düzeyde anlamlı bir fark olmadığı gösterilmiştir (K:  $248.20 \pm 3.30$  g, BG:  $242.45 \pm 3.06$  g,  $p > 0.05$ ).

Kazein ve buğday gluteni grubunun gebelik dönemi ve laktasyon boyunca ağırlık kazanımında meydana gelen değişim Şekil 4.2’de gösterilmiştir. Gebeliğin ilk haftasında iki grubun ağırlık kazanımları benzer seyretmiş, ikinci haftasında ise buğday gluteni grubunun ağırlık kazanımının kazein grubundan daha fazla olduğu bulunmuştur. Bu farklılık istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır (K:  $21.92 \pm 4.40$  g, BG:  $26.21 \pm 9.45$ ,  $p > 0.05$ ) (Şekil 4.2) (a). Gebeliğin son haftasında, buğday gluteni grubunun ağırlık kazanımının kazein grubuna kıyasla daha düşük olduğu bulunmuştur. Gruplar arasındaki bu farklılığın istatistiksel düzeyde anlamlı olduğu gösterilmiştir (K:  $58.80 \pm 3.33$  g, BG:  $44.95 \pm 3.08$  g,  $p < 0.05$ ) (Şekil 4.2) (a).

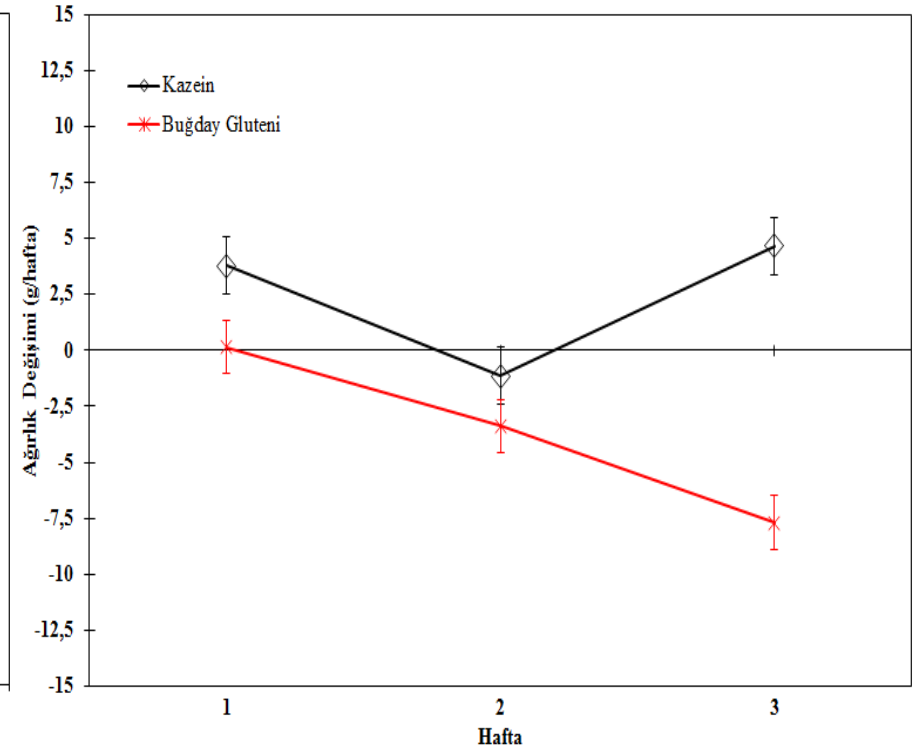
Laktasyonun ilk haftasında buğday gluteni grubunun ağırlık kazanımının kazein grubundan daha az olduğu bulunmuş; ancak iki grup arasında istatistiksel açıdan önemli bir farklılık gözlenmemiştir (K:  $3.78 \pm 4.71$  g, BG:  $0.14 \pm 4.4$  g,  $p > 0.05$ ) (Şekil 4.2) (b). Laktasyonun ikinci haftasında her iki grupta meydana gelen ağırlık kaybının istatistiksel açıdan önemli olmadığı gösterilmiştir (K:  $-1.13 \pm 4.90$  g, BG:  $-3.39 \pm 4.54$  g,  $p > 0.05$ ) (Şekil 4.2) (b). Buğday gluteni grubunda meydana gelen ağırlık kaybı laktasyonun son döneminde devam ederken, kazein grubunda ise bu dönemde ağırlık artışı meydana gelmiştir. İki grup arasındaki bu farklılığın anlamlılık eğilimi gösterdiği belirtilmiştir (K:  $4.67 \pm 5.02$  g, BG:  $-7.70 \pm 4.65$  g,  $p < 0.1$ ) (Şekil 4.2) (b).



Şekil 4.1. Gebelik ve laktasyon süresince meydana gelen maternal vücut ağırlığı değişimi.



(a)



(b)

**Şekil 4.2.** Gebelik (a) ve laktasyon (b) dönemleri süresince maternal ağırlık kazanımı/kaybı.

\* $p < 0.05$ , Gebelik süresince meydana gelen ağırlık kaybının değerlendirilmesinde diyet ve hafta sabit faktör olarak, batın sayısı da randomize etki olarak alınmıştır. Gebeliğin 3. haftasında meydana gelen ağırlık değişimi üzerine diyet ( $p < 0.05$ ) ve batın sayısının ( $p < 0.001$ ) etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. (Genel Doğrusal Modellerin İki Yönlü Varyans Analizi kullanılmıştır).



#### 4.1.2. Gebelik ve Laktasyon Süresince Maternal Besin Tüketimi ve Günlük Enerji ve Makrobesin Ögesi Alımına İlişkin Bulgular

Kazein ve buğday gluteni grubunun gebelik ve laktasyon süresince günlük ortalama besin tüketimleri Şekil 4.3'te belirtilmiştir. Gebelik süresince günlük besin tüketim miktarı ortalaması kazein grubunda  $21.66 \pm 0.63$  g iken, buğday gluteni grubunda  $20.88 \pm 0.58$  g olarak bulunmuştur. Gebelik dönemi süresince günlük ortalama besin tüketimi açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ) (Şekil 4.3). Buğday gluteni grubunun laktasyon süresince günlük ortalama besin tüketiminin  $25.90 \pm 0.69$  g, kazein grubunun ise  $28.37 \pm 0.75$  g olduğu gösterilmiştir. Laktasyon döneminde buğday gluteni grubunun günlük ortalama besin alımının kazein grubundan önemli ölçüde daha az olduğu bulunmuştur ( $p < 0.05$ ) (Şekil 4.3).

Kazein ve buğday gluteni grubunun gebelik ve laktasyon dönemi süresince besin tüketiminde meydana gelen değişim Şekil 4.4'te gösterilmiştir. Gebeliğin 1. ve 2. haftasında iki grubun besin tüketimi arasında istatistiksel düzeyde önemli bir fark bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ). Gebeliğin son haftasında ise buğday gluteni grubunun besin tüketiminin kazein grubuna kıyasla istatistiksel açıdan önemli düzeyde daha düşük olduğu gösterilmiştir (K:  $21.40 \pm 0.63$  g, BG:  $19.10 \pm 0.59$  g,  $p < 0.05$ ).

Grupların laktasyon döneminde besin tüketimleri değerlendirildiğinde, laktasyon döneminin son haftasında buğday gluteni grubunun besin tüketiminin kazein grubundan önemli düzeyde daha düşük olduğu bulunmuştur (K:  $34.13 \pm 1.23$  g, BG:  $29.38 \pm 1.14$  g,  $p < 0.05$ ).

Kazein ve buğday gluteni grubunun gebelik döneminde günlük enerji ve makrobesin ögesi alım miktarları Tablo 4.2'de gösterilmiştir. İki grup arasında enerji, protein, yağ ve karbonhidrat alım düzeyleri bakımından istatistiksel açıdan önemli bir fark olmadığı bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

Tablo 4.3'te grupların laktasyon döneminde günlük enerji ve makrobesin ögesi alım miktarları gösterilmiştir. Kazein grubuna kıyasla buğday gluteni grubunun enerji, protein, yağ ve karbonhidrat alımının daha düşük olduğu bulunmuştur. İki grup arasında istatistiksel düzeyde önemli bir fark bulunduğu gösterilmiştir ( $p < 0.05$ ).

Şekil 4.5'te gebelik ve laktasyon dönemlerinde enerji alımında meydana gelen değişim gösterilmiştir. Gebeliğin ilk iki haftasında buğday gluteni grubunun

günlük enerji alımı, kazein grubu ile benzer seyretmiş; ancak gebeliğin son haftasında buğday gluteni grubunda kazein grubuna kıyasla günlük enerji alımında istatistiksel yönden önemli düzeyde azalma olduğu bulunmuştur ( $p<0.05$ ).

Laktasyon dönemi süresince deney grubunun günlük enerji alımının kazein grubundan daha az olduğu bulunmuş ve bu farklılık laktasyonun son döneminde istatistiksel olarak önemli hale gelmiştir (K:  $375.27\pm 11.03$  kJ/gün, BG:  $336.45\pm 10.21$  kJ/gün,  $p<0.05$ ).

**Tablo 4.2.** Gebelik süresince annelerin günlük enerji ve makrobesin ögesi alım miktarı.

Enerji ve Besin Ögeleri	Kazein (n=6)	Buğday Gluteni (n=7)	p
	$\bar{X} \pm SE$	$\bar{X} \pm SE$	
Enerji (kJ/gün)	380,69±11,10	367,10±10,27	0.375
Yağ (g/gün)	0,89±0,03	0,86±0,02	0.375
Protein (g/gün)	4,33±0,13	4,18±0,12	0.375
Karbonhidrat (g/gün)	17.61±0,89	17.48±0.83	0.375

**Tablo 4.3.** Laktasyon süresince annelerin günlük enerji ve makrobesin ögesi alım miktarı.

Enerji ve Besin Ögeleri	Kazein(n=6)	Buğday Gluteni(n=7)	p
	$\bar{X} \pm SE$	$\bar{X} \pm SE$	
Enerji (kJ/gün)	498.66±13.11	455.17±12.14	<b>0.021*</b>
Yağ (g/gün)	1.16±0.03	1.06±0.03	<b>0.021*</b>
Protein (g/gün)	5.67±0.15	5.18±0.14	<b>0.021*</b>
Karbonhidrat (g/gün)	21.53±0.57	19.65±0.52	<b>0.021*</b>

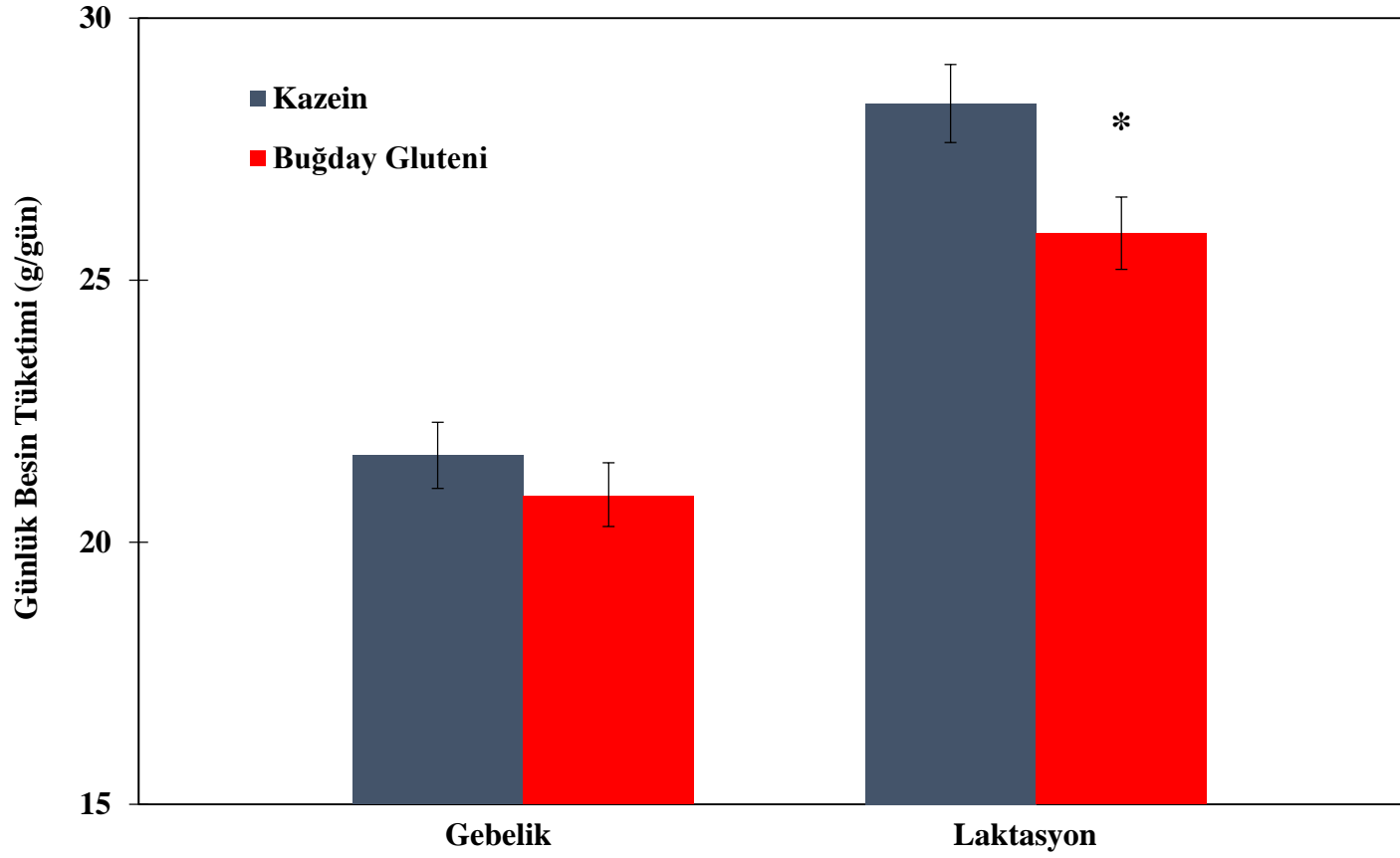
\* $p<0.05$

#### 4.1.3. Plazma Serbest Amino Asit Konsantrasyonuna İlişkin Bulgular

Kazein ve buğday gluteni grubunun maternal plazma serbest amino asit konsantrasyonu Tablo 4.4'te gösterilmiştir. Buğday gluteni grubunun plazma serin konsantrasyonu kazein grubuna kıyasla önemli düzeyde daha düşük bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Buğday gluteni grubunun plazma asparajin miktarının kazein grubundan

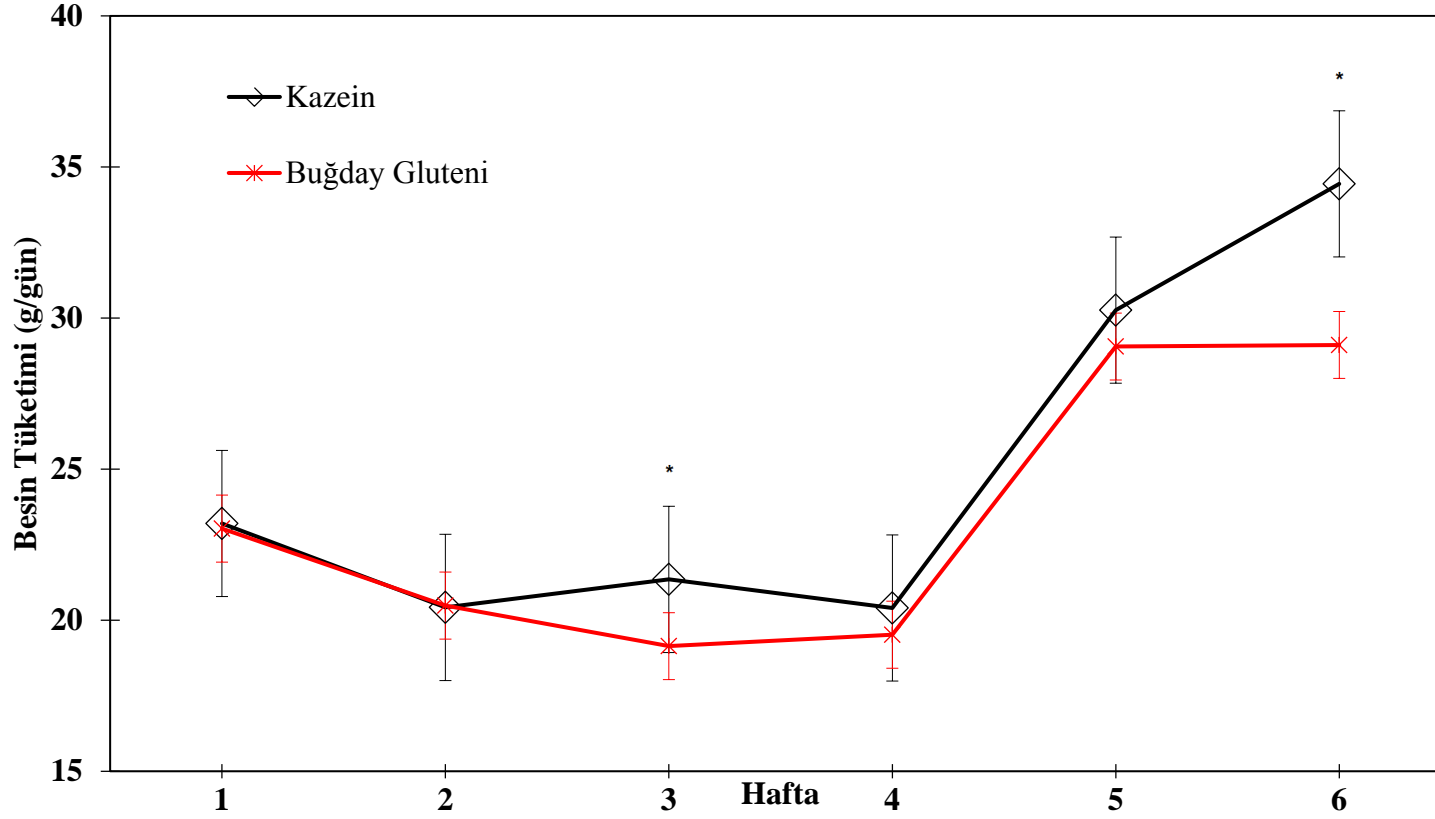
daha düşük olduğu bulunmuş ve bu farklılığın anlamlılık eğilimi gösterdiği ifade edilmiştir ( $p<0.1$ ).

Şekil 4.6'da grupların maternal plazma elzem (valin, löysin, izolöysin, metiyonin, histidin, treonin, lizin, fenilalanin), yarı elzem ( tirozin, sistin), dallı zincirli (valin, löysin, izolöysin), kükürtlü (metiyonin ve sistin), küçük nötral (glisin, alanin) ve elzem olmayan (alanin, glisin, serin, prolin, glutamin, asparajin, ornitin) amino asit konsantrasyonları gösterilmiştir. Kazein grubu ile buğday gluteni grubu arasında istatistiksel düzeyde anlamlı bir fark gözlenmemiştir ( $p>0.05$ ). (Elzem amino asitler K:  $3971.89\pm274.69$   $\mu\text{mol/L}$ , BG:  $3482.78\pm254.32$   $\mu\text{mol/L}$ ; yarı elzem amino asitler K:  $904.53\pm85.33$   $\mu\text{mol/L}$ , BG:  $827.21\pm653.34$   $\mu\text{mol/L}$ , dallı zincirli amino asitler K:  $882.36\pm64.28$   $\mu\text{mol/L}$ , BG:  $751.01\pm59.52$   $\mu\text{mol/L}$ , kükürtlü amino asitler K:  $161.49\pm18.49$   $\mu\text{mol/L}$ , BG:  $134.20\pm17.11$   $\mu\text{mol/L}$ , küçük nötral amino asitler K:  $1615.00\pm137.02$   $\mu\text{mol/L}$ , BG:  $1495.76\pm125.85$   $\mu\text{mol/L}$ , elzem olmayan amino asitler K:  $3105.57\pm246.86$   $\mu\text{mol/L}$ , BG:  $2959.96\pm208.63$   $\mu\text{mol/L}$ )



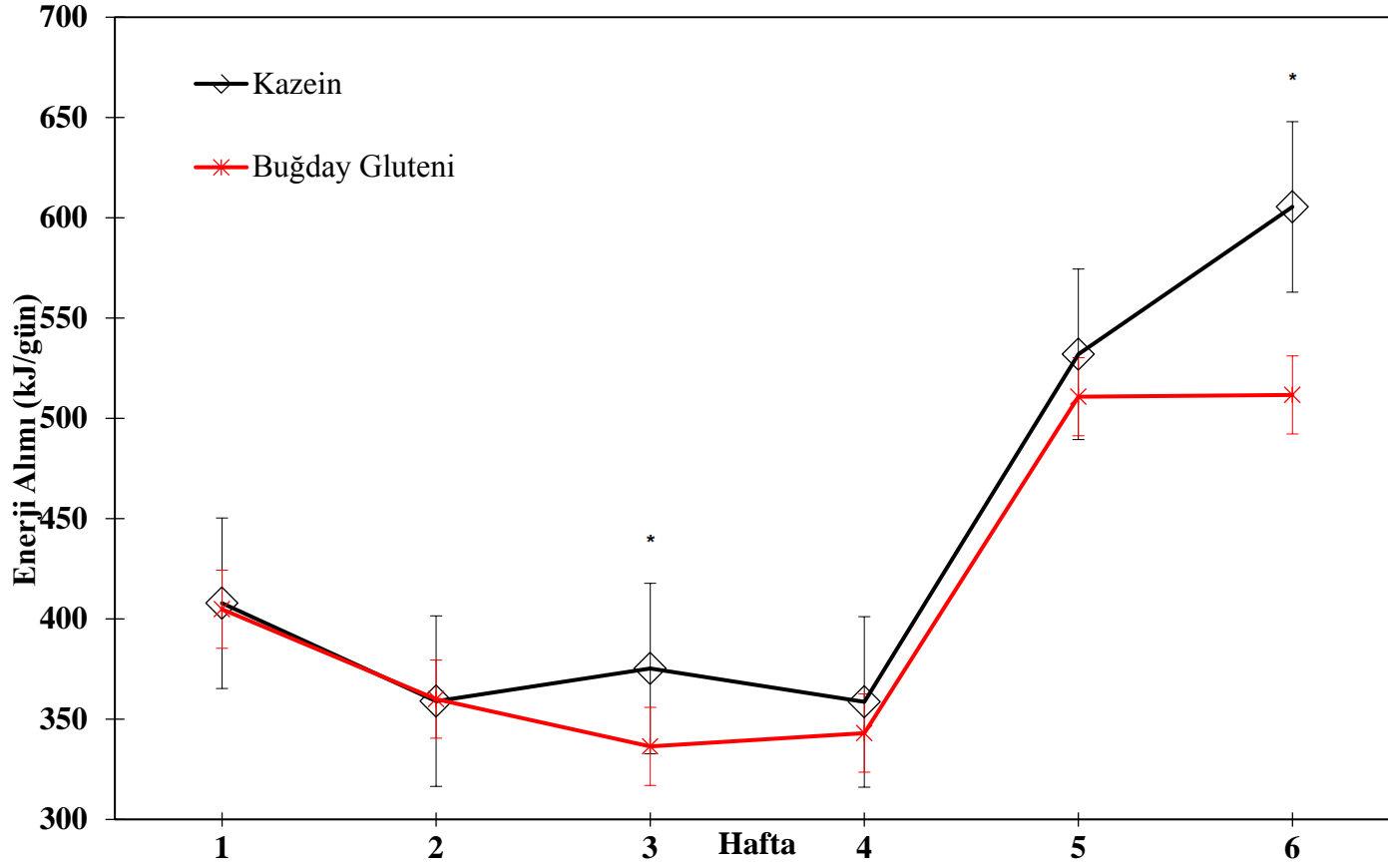
**Şekil 4.3.** Gebelik ve laktasyon dönemleri süresince günlük besin tüketimi.

*\*p<0.05, Buğday gluteni grubunda laktasyon süresince günlük ortalama besin tüketimi daha düşük bulunmuştur. (Genel Doğrusal Modellerin Tek Yönlü Varyans Analizi kullanılmıştır).*



Şekil 4.4. Gebelik ve laktasyon dönemi süresince maternal besin tüketiminde meydana gelen değişim.

\* $p < 0.05$ , Gebelik ve laktasyon döneminin 3. haftasında buğday gluteni grubunun günlük besin tüketimi daha düşük bulunmuştur. (Genel Doğrusal Modellerin Tek Yönlü Varyans Analizi kullanılmıştır).



Şekil 4.5. Gebelik ve laktasyon dönemi süresince maternal enerji alımında meydana gelen değişim.

\* $p < 0.05$ , Gebelik ve laktasyon döneminin 3. haftasında buğday gluteni grubunun günlük enerji alımı daha düşük bulunmuştur. (Genel Doğrusal Modellerin Tek Yönlü Varyans Analizi kullanılmıştır).

**Tablo 4.4.** Maternal plazma serbest amino asit konsantrasyonunun değerlendirilmesi.

Amino Asitler ( $\mu\text{mol/L}$ )	Kazein		Buğday Gluteni		
	n	$\bar{X} \pm \text{SE}$	n	$\bar{X} \pm \text{SE}$	p
Alanin	6	956.86 $\pm$ 93.76	7	891.79 $\pm$ 86.80	0.621
Sarkozin	5	11.95 $\pm$ 0.72	7	12.52 $\pm$ 0.61	0.563
Glutamik asit	6	706.61 $\pm$ 46.32	7	646.88 $\pm$ 42.88	0.364
Glutamin	5	244.59 $\pm$ 109.55	7	283.26 $\pm$ 92.59	0.793
Aspartik asit	6	495.58 $\pm$ 48.37	7	452.08 $\pm$ 44.78	0.523
Asparajin	6	138.77 $\pm$ 8.84	7	115.44 $\pm$ 8.18	0.079
Glisin	6	658.13 $\pm$ 74.92	7	603.96 $\pm$ 69.36	0.606
Serin	6	465.83 $\pm$ 31.84	7	368.11 $\pm$ 29.48	<b>0.046*</b>
Treonin	6	414.30 $\pm$ 38.45	7	363.86 $\pm$ 35.60	0.356
Prolin	6	292.34 $\pm$ 19.67	7	258.47 $\pm$ 18.21	0.233
Hidroksiprolin	6	38.84 $\pm$ 3.00	7	34.20 $\pm$ 2.78	0.280
Glisil-prolin	6	129.90 $\pm$ 16.41	7	121.75 $\pm$ 15.19	0.723
Lizin	6	25.67 $\pm$ 4.57	7	34.70 $\pm$ 4.23	0.175
Histidin	6	1700.26 $\pm$ 151.67	7	1499.39 $\pm$ 140.42	0.352
Valin	6	337.05 $\pm$ 23.43	7	287.98 $\pm$ 21.69	0.153

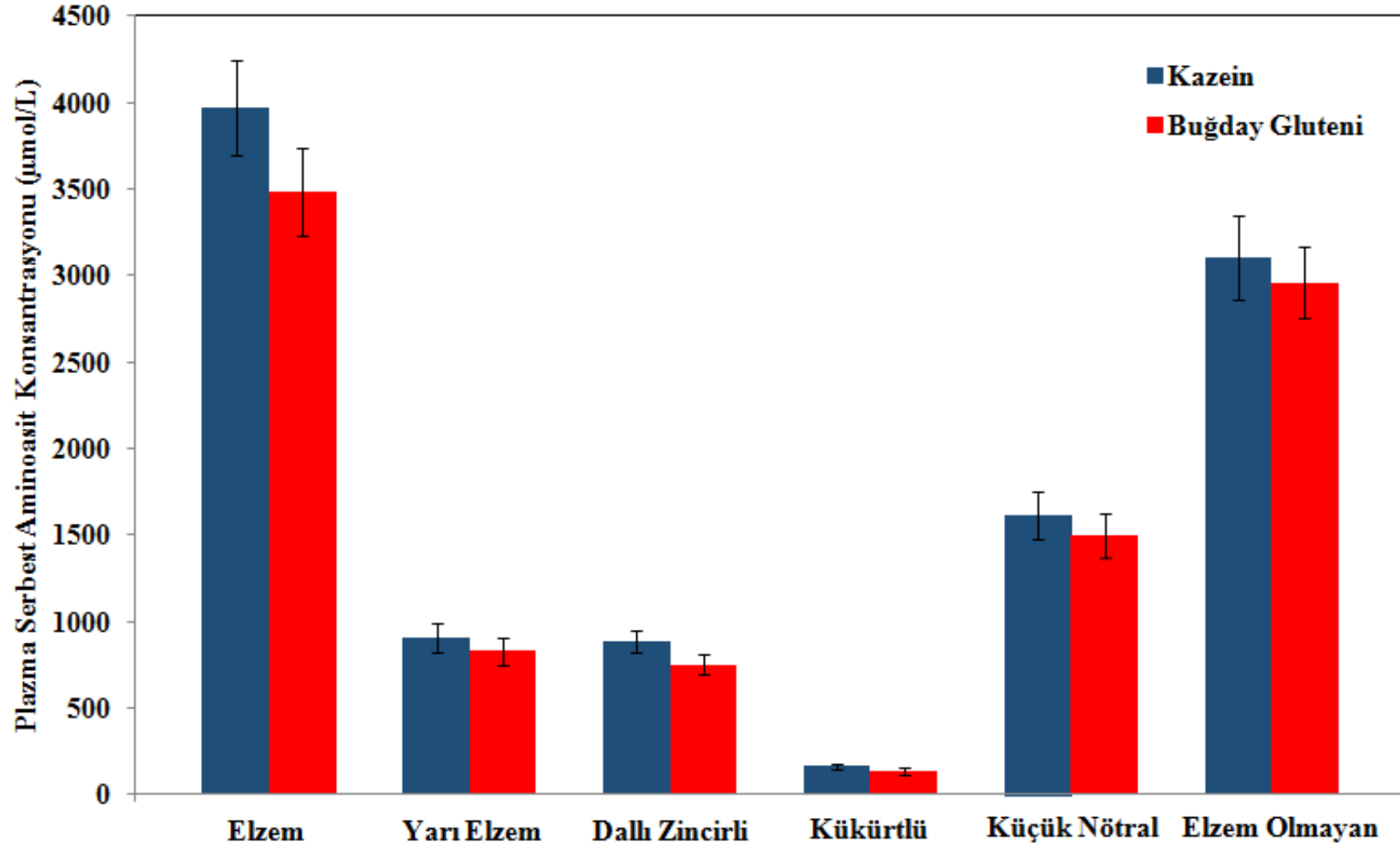
(Genel Doğrusal Modellerin Tek Yönlü Varyans Analizi kullanılmıştır).

**Tablo 4.4. (Devam)** Maternal plazma serbest amino asit konsantrasyonunun değerlendirilmesi.

<b>Lösin</b>	6	307.73±23.02	7	259.49±21.31	0.152
<b>İzolösin</b>	6	237.55±18.73	7	203.53±17.34	0.209
<b>Metiyonin</b>	6	90.15±6.60	7	74.20±6.11	0.104
<b>Sistin</b>	6	71.34±15.37	7	59.99±14.23	0.599
<b>Sistatyonin</b>	6	56.85±31.22	7	87.07±28.90	0.492
<b>Ornitin</b>	6	594.09±195.16	7	438.89±180.69	0.571
<b>Tirozin</b>	6	833.19±83.97	7	767.22±77.74	0.576
<b>Fenilalanin</b>	6	859.12±54.98	7	759.60±50.90	0.211
<b>Triptofan</b>	4	242.90±18.19	4	231.95±18.19	0.685

\*p<0.05





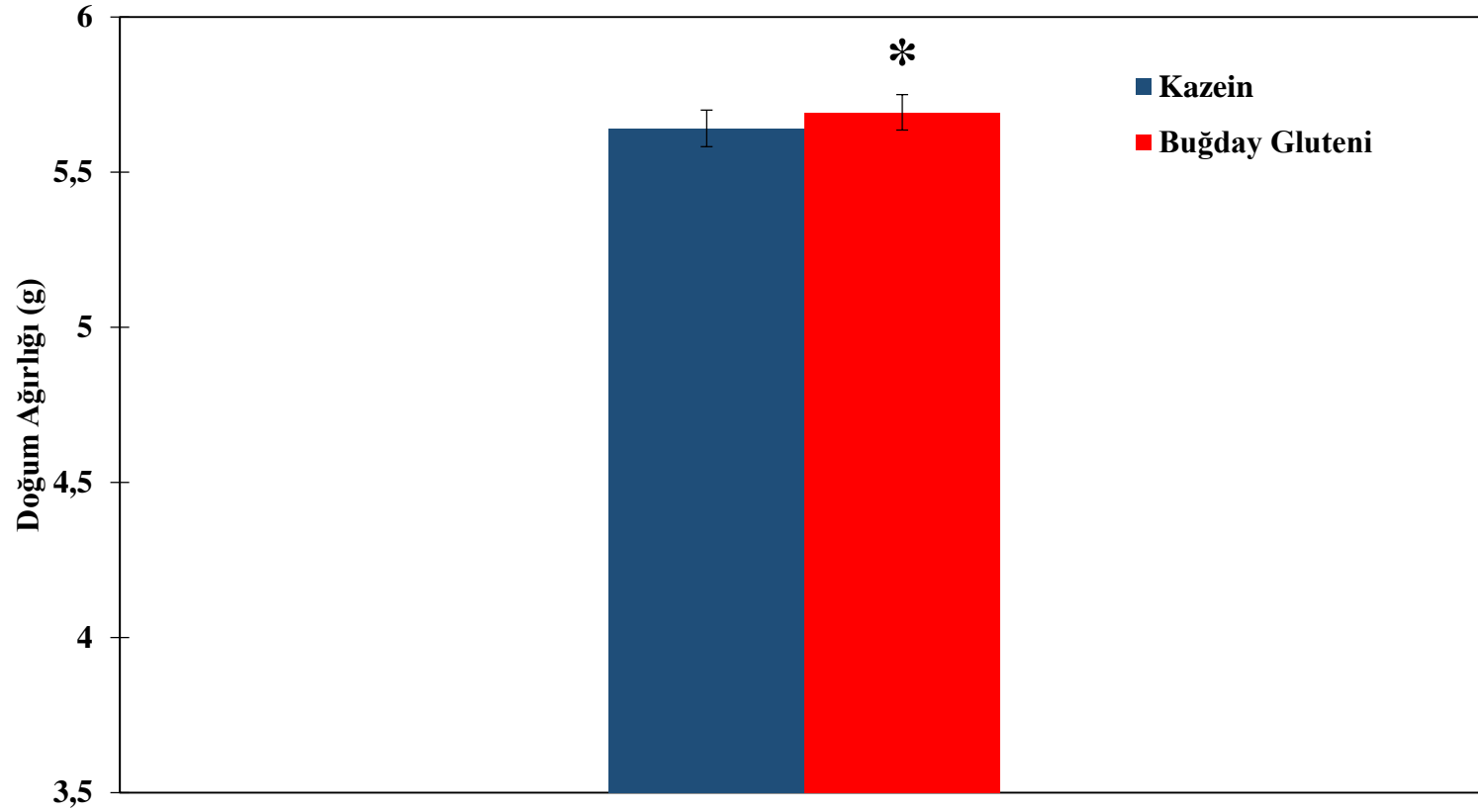
Şekil 4.6. Maternal plazma serbest amino asit konsantrasyonu.

## 4.2. Fetal Bulgular

### 4.2.1. Yavruların Doğum ağırlığı ve Doğum Anındaki Organ Ağırlıklarına İlişkin Bulgular

Kazein ve buğday gluteni grubunda yer alan yavruların doğum ağırlıkları Şekil 4.7’de ifade edilmiştir. Buğday gluteni grubunun doğum ağırlığı kazein grubundan istatistiksel olarak önemli düzeyde daha fazla bulunmuştur (K:  $5.64 \pm 0.59$  g, BG:  $5.68 \pm 0.56$  g,  $p < 0.001$ ). Ancak maternal diyetin doğum ağırlığı üzerine bir etkisi bulunmazken ( $p > 0.05$ ), batın sayısının etkisinin istatistiksel olarak önemli düzeyde olduğu gösterilmiştir (K:  $10.34 \pm 1.42$ , BG:  $9.57 \pm 1.32$ ,  $p < 0.001$ ).

Kazein ve buğday gluteni grubunda yer alan yavruların doğum anındaki karaciğer, kalp, beyin ve böbrek ağırlıkları Tablo 4.5’te belirtilmiştir. Buğday gluteni grubunda yer alan yavruların böbrek ağırlıkları kazein grubundan önemli düzeyde daha fazla bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Bu farklılık üzerinde maternal diyetin bir etkisi bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ). Batın sayısının etkisinin ise anlamlılık eğilimi gösterdiği bulunmuştur ( $p < 0.1$ ). İki grubun karaciğer, kalp ve beyin ağırlıkları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirtilmiştir ( $p > 0.05$ ).



**Şekil 4.7.** Maternal Diyetin Yavruların Doğum Ağırlığı Üzerine Etkisi.

*\* $p < 0,05$ , Kazein grubu  $n:62$ , buğday gluteni grubu  $n:68$ . Doğum ağırlığının değerlendirilmesinde anne diyeti sabit faktör, batın sayısı randomize etki olarak alınmıştır. Maternal diyetin doğum ağırlığı üzerine etkisi bulunmamış ( $p > 0,05$ ), batın sayısının etkisi ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,001$ ). (Genel Doğrusal Modellerin Tek Yönlü Varyans Analizi kullanılmıştır).*

**Tablo 4.5.** Maternal diyetin yavruların doğum anındaki organ ağırlıkları üzerine etkisi.

Organlar	Kazein		Buğday Gluteni		p
	n	$\bar{X} \pm SE$	n	$\bar{X} \pm SE$	
<b>Karaciğer (g)</b>	38	0.205±0.007	39	0.215±0.006	0.182
<b>Kalp (g)</b>	38	0.030±0.001	39	0.029±0.001	0.699
<b>Beyin (g)</b>	38	0.169±0.006	38	0.175±0.006	0.823
<b>Böbrek (g)</b>	76	0.026±0.001	78	0.027±0.001	<b>0.038*</b>

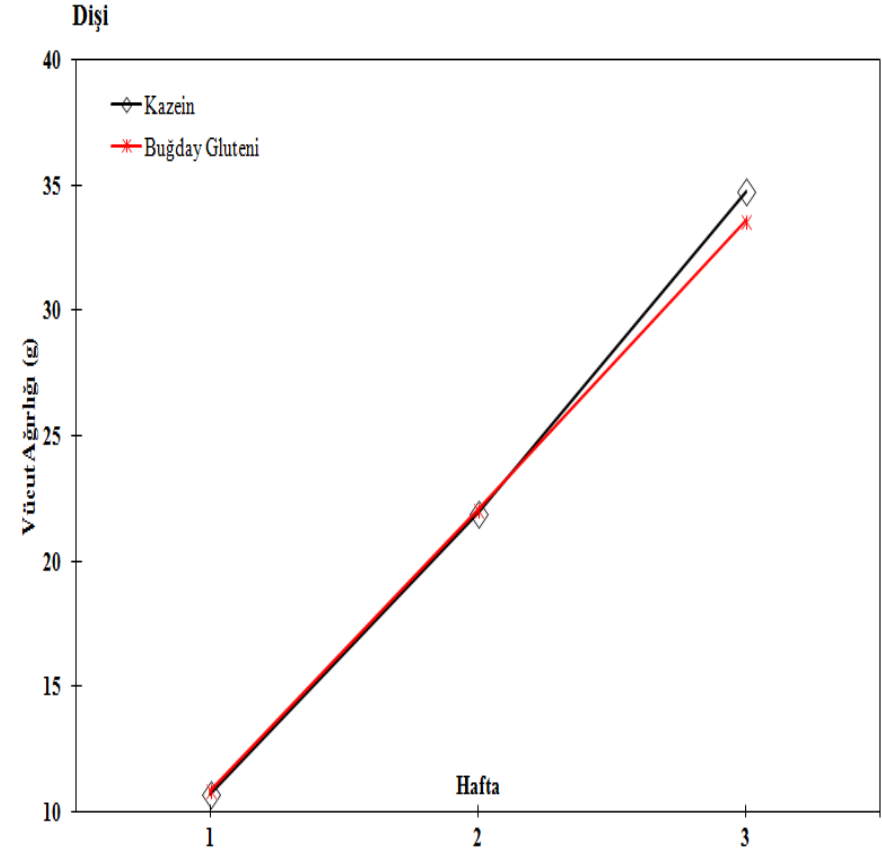
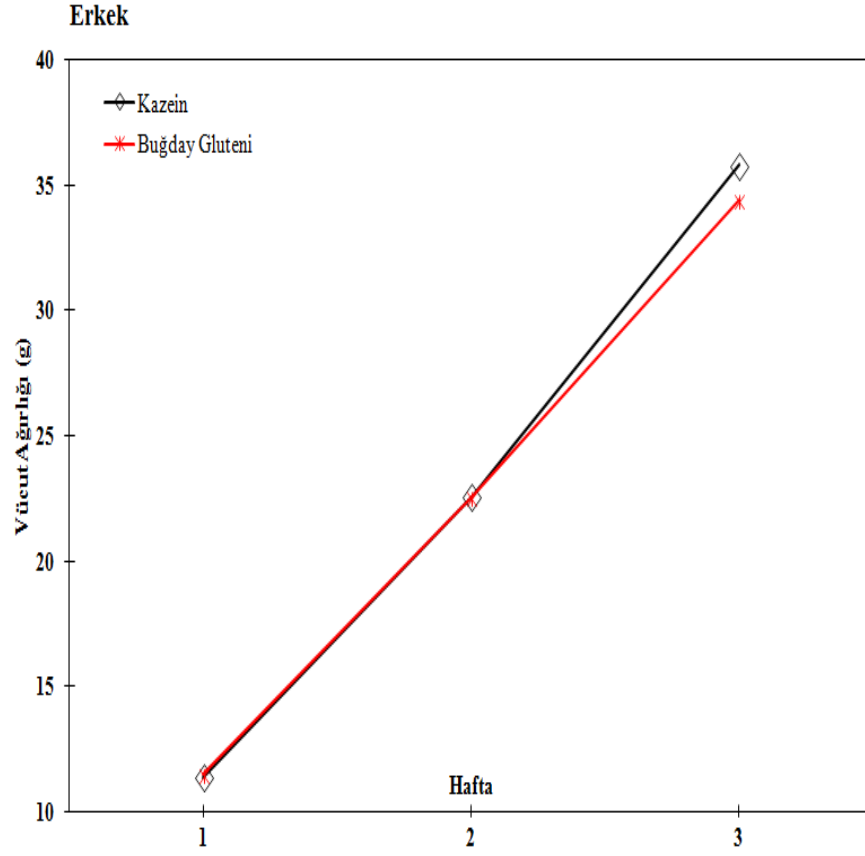
\* $p < 0.05$ , Doğum anındaki organ ağırlıklarının değerlendirilmesinde anne diyeti sabit faktör, batın sayısı ise randomize etki olarak alınmıştır. Maternal diyetin yavruların doğum anındaki böbrek ağırlığı üzerine etkisi bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ). Batın sayısının etkisi ise anlamlılık eğilimi göstermiştir ( $p < 0.1$ ). (Genel Doğrusal Modellerin Tek Yönlü Varyans Analizi kullanılmıştır).

#### 4.2.2. Yavruların Vücut Ağırlığı Değişimi ve Laktasyon Sonu Organ Ağırlıklarına İlişkin Bulgular

Kazein ve buğday gluteni grubunda yer alan yavruların laktasyon döneminde cinsiyete göre vücut ağırlığı değişimi Şekil 4.8.'de belirtilmiştir. Erkek ve dişi yavruların vücut ağırlığı değişimleri arasındaki fark istatistiksel yönden anlamlı bulunmamıştır (Erkek K: 23.26±0.48 g, BG: 22.82±0.46; Dişi K: 22.45±0.47, BG: 22.16±0.42  $p > 0.05$ ).

Kazein ve buğday gluteni grubunda bulunan yavruların laktasyon dönemi sonundaki karaciğer, beyin, kalp, sağ ve sol böbrek ağırlıkları Tablo 4.6'da ifade edilmiştir. Buğday gluteni grubunda yer alan dişi ratların beyin ağırlığı ile kazein grubu arasında istatistiksel düzeyde anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ). Buğday gluteni grubunda yer alan erkek ratların beyin ağırlıkları kazein grubuna kıyasla önemli düzeyde düşük bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Maternal düşük kaliteli protein diyetinin ve batın sayısının beyin ağırlığı üzerine etkisinin anlamlılık eğilimi gösterdiği belirtilmiştir ( $p < 0.1$ ). Deney grubunda yer alan erkek ratların kalp ağırlığının kazein grubundan daha düşük olduğu bulunmuş ve bu farklılık anlamlılık eğilimi göstermiştir ( $p < 0.1$ ). Maternal diyetin bu farklılık üzerinde bir etkisinin olmadığı ifade edilmiştir ( $p > 0.05$ ).

Tablo 4.7’de kazein ve buğday gluteni grubunda bulunan erkek ve dişi yavruların organ ağırlıkları, vücut ağırlıklarına göre değerlendirilmiştir. Buğday gluteni grubunda bulunan erkek ve dişi yavruların vücut ağırlık yüzdesine göre organ ağırlıklarının kazein grubundan farklı olmadığı bulunmuştur ( $p>0.05$ ).



**Şekil 4.8.** Maternal diyetin laktasyon dönemi süresince erkek ve dişi yavruların vücut ağırlığı değişimi üzerine etkisi.

**Tablo 4.6.** Maternal diyetin yavruların laktasyon sonu organ ağırlıkları üzerine etkisi.

Cinsiyet	Organlar	Kazein		Buğday Gluteni		p
		n	$\bar{X} \pm SE$	n	$\bar{X} \pm SE$	
Erkek	Karaciğer (g)	6	1.450±0.130	7	1.332±0.119	0.293
	Kalp (g)	6	0.162±0.019	7	0.135±0.018	0.092
	Beyin (g)	6	1.223±0.067	7	1.029±0.062	<b>0.039*</b>
	Sağ böbrek (g)	6	0.261±0.020	7	0.260±0.019	0.539
	Sol böbrek (g)	6	0.252±0.018	7	0.246±0.017	0.782
Dişi	Karaciğer (g)	6	1.474±0.128	7	1.380±0.118	0.680
	Kalp (g)	6	0.165±0.021	7	0.130±0.019	0.298
	Beyin (g)	6	1.255±0.054	7	1.208±0.050	0.809
	Sağ böbrek (g)	6	0.255±0.019	7	0.262±0.017	0.993
	Sol böbrek (g)	6	0.246±0.017	7	0.248±0.016	0.837

\* $p < 0.05$ , Yavruların laktasyon sonu organ ağırlıklarının değerlendirilmesinde anne diyeti sabit faktör, batın sayısı ise randomize etki olarak alınmıştır. Maternal diyetin ve batın sayısının etkisi anlamlılık eğilimi göstermiştir ( $p < 0.1$ ). (Genel Doğrusal Modellerin Tek Yönlü Varyans Analizi kullanılmıştır).

**Tablo 4.7.** Maternal diyetin yavruların vücut ağırlıklarına göre organ ağırlıkları (%) üzerine etkisi.

Cinsiyet	Organlar	Kazein		Buğday Gluteni		p
		n	$\bar{X} \pm SE$	n	$\bar{X} \pm SE$	
Erkek	Karaciğer (%)	6	3.61±0.21	7	3.56±0.19	0.418
	Kalp (%)	6	0.40±0.05	7	0.36±0.04	0.184
	Beyin (%)	6	3.08±0.14	7	2.77±0.13	0.162
	Sağ böbrek (%)	6	0.65±0.03	7	0.69±0.02	0.429
	Sol böbrek (%)	6	0.63±0.03	7	0.66±0.02	0.672
Dişi	Karaciğer (%)	6	3.81±0.26	7	3.72±0.24	0.954
	Kalp (%)	6	0.43±0.05	7	0.35±0.05	0.358
	Beyin (%)	6	3.29±0.14	7	3.28±0.13	0.349
	Sağ böbrek (%)	6	0.66±0.03	7	0.70±0.03	0.656
	Sol böbrek (%)	6	0.64±0.03	7	0.67±0.02	0.771

#### 4.2.3. Yavruların Plazma Serbest Amino Asit Konsantrasyonuna İlişkin Bulgular

Yavruların plazma serbest amino asit konsantrasyonuna ilişkin bulgular Tablo 4.8’de görülmektedir. Buğday gluteni grubunda yer alan yavruların plazma glutamin ve lizin konsantrasyonları kazein grubuna kıyasla istatistiksel olarak önemli düzeyde daha düşük bulunmuştur ( $p<0.05$ ). İki grup plazma aspartik asit ve glisil-prolin konsantrasyonları bakımından karşılaştırıldığında, buğday gluteni grubunda bu amino asitlerin konsantrasyonlarının istatistiksel yönden anlamlı olarak daha fazla olduğu gösterilmiştir ( $p<0.01$ ).

Buğday gluteni grubunun plazma serin konsantrasyonu kazein grubuna kıyasla daha yüksek bulunmuş ve bu farklılığın anlamlılık eğilimi gösterdiği belirtilmiştir ( $p<0.1$ ). Buğday gluteni grubunda bulunan yavruların plazma ornitin konsantrasyonundaki yüksekliğin anlamlılık eğilimi gösterdiği ifade edilmiştir ( $p<0.1$ ). Plazma metiyonin konsantrasyonları karşılaştırıldığında buğday gluteni grubundaki düşüklüğün anlamlılık eğilimi gösterdiği bulunmuştur ( $p<0.1$ ). Buğday



gluteni grubunda bulunan yavruların plazma hidrokspirolin konsantrasyonu kazein grubundan daha düşük bulunmuş ve bu farkın anlamlılık eğilimi gösterdiği belirtilmiştir ( $p<0.1$ ).

Grupların elzem, yarı elzem, dallı zincirli, kükürtlü, küçük nötral ve elzem olmayan amino asit konsantrasyonları Şekil 4.9'da gösterilmiştir. Buğday gluteni grubunun kükürtlü amino asit konsantrasyonu kazein grubuna kıyasla düzeyde daha düşük bulunmuş ve bu farklılığın anlamlılık eğilimi gösterdiği ifade edilmiştir (Kükürtlü amino asitler K:  $568.80\pm119.23$   $\mu\text{mol/L}$ , BG:  $252.59\pm110.38$   $\mu\text{mol/L}$ ,  $p<0.1$ ). İki grup arasında elzem, yarı elzem, dallı zincirli, küçük nötral ve elzem olmayan amino asit konsantrasyonları bakımından istatistiksel yönden anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0.05$ ). (Elzem amino asitler K:  $3684.66\pm264.82$   $\mu\text{mol/L}$ , BG:  $3486.54\pm245.18$   $\mu\text{mol/L}$ , yarı elzem amino asitler K:  $792.08\pm131.51$   $\mu\text{mol/L}$ , BG:  $978.18\pm121.75$   $\mu\text{mol/L}$ , dallı zincirli amino asitler K:  $641.57\pm89.44$   $\mu\text{mol/L}$ , BG:  $744.09\pm82.81$   $\mu\text{mol/L}$ , küçük nötral amino asitler K:  $1773.18\pm170.46$   $\mu\text{mol/L}$ , BG:  $1995.65\pm157.82$   $\mu\text{mol/L}$ , elzem olmayan amino asitler K:  $3434.36\pm404.32$   $\mu\text{mol/L}$ , BG:  $4211.38\pm374.33$   $\mu\text{mol/L}$ ).

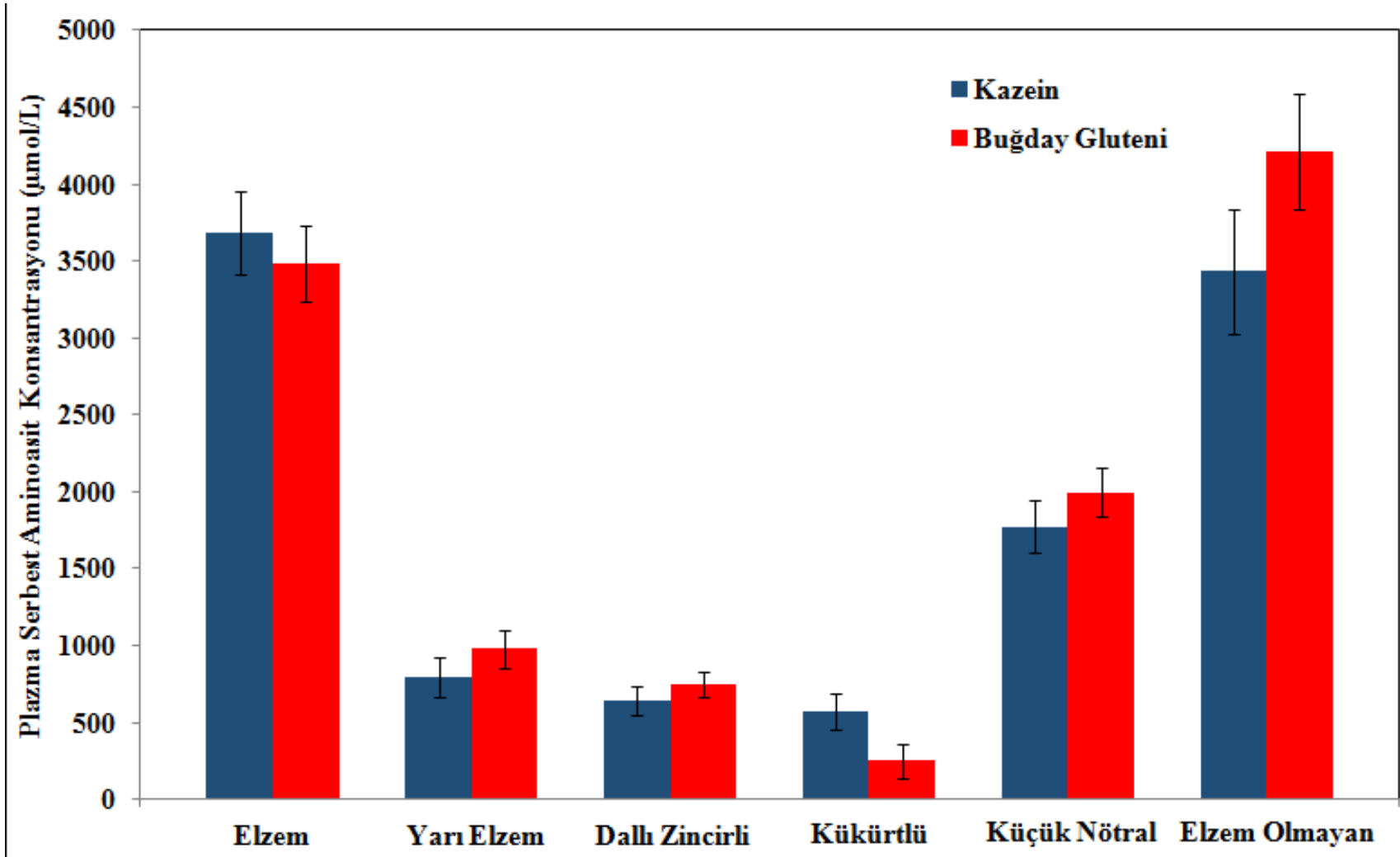
**Tablo 4.8.** Maternal diyetin yavruların plazma serbest amino asit konsantrasyonuna olan etkisinin değerlendirilmesi.

Amino Asitler	Kazein		Buğday Gluteni		p
	n	$\bar{X} \pm SE$	n	$\bar{X} \pm SE$	
Alanin	6	704.67±109.46	7	850.89±101.34	0.348
Sarkozin	6	20.06±1.42	7	20.04±1.31	0.993
Glutamik asit	6	724.82±66.08	7	748.66±61.18	0.796
Glutamin	6	332.48±83.39	7	73.72±77.21	<b>0.044*</b>
Aspartik asit	5	136.09±56.83	6	419.29±51.88	<b>0.005**</b>
Asparajin	6	136.21±6.83	7	131.00±6.32	0.587
Glisin	6	1068.50±90.78	7	1144.75±84.05	0.550
Serin	6	352.42±40.34	7	458.58±37.34	0.080
Treonin	6	335.35±31.12	7	398.02±28.81	0.168
Prolin	6	423.57±65.52	7	447.99±60.66	0.790
Hidroksiprolin	6	70.83±10.74	7	43.94±9.94	0.093
Glisil-prolin	6	96.65±29.32	7	227.54±27.15	<b>0.007**</b>
Lizin	6	177.90±41.96	7	38.11±38.85	<b>0.033*</b>
Histidin	6	1347.24±167.45	7	1483.52±155.03	0.562
Valin	6	130.89±57.56	7	257.86±53.29	0.134
Lösin	6	267.55±25.51	7	261.76±23.62	0.871
İzolösin	6	243.11±19.19	7	224.45±17.76	0.490

**Tablo 4.8 (Devam)** Maternal diyetin yavruların plazma serbest amino asit konsantrasyonuna olan etkisinin değerlendirilmesi.

<b>Metiyonin</b>	6	493.59±117.86	7	183.88±109.12	0.080
<b>Sistin</b>	6	75.20±12.11	7	68.70±11.21	0.701
<b>Sistatyonin</b>	4	76.37±26.77	6	137.37±21.86	0.116
<b>Ornitin</b>	6	416.47±235.44	7	1104.42±217.97	0.055
<b>Tirozin</b>	6	716.87±124.31	7	909.47±115.08	0.280
<b>Fenilalanin</b>	6	688.99±59.07	7	638.89±54.69	0.546

\*p<0.05, \*\*p<0.01



Şekil 4.9. Maternal diyetin yavruya ait plazma serbest amino asit konsantrasyonuna olan etkisinin değerlendirilmesi

### 4.3. Yavru /Maternal Amino Asit Oranlarının Değerlendirilmesi

Yavru/maternal amino asit oranları Tablo 4.9’da gösterilmiştir. Bu oranın 1’den büyük olması, ilgili amino asitin yavruya ait plazma konsantrasyonunun maternal plazma konsantrasyonundan daha yüksek olduğunu göstermektedir. Bu değer 1’in altında olması ise maternal plazma amino asit konsantrasyonunun yavrunun plazma amino asit konsantrasyonundan daha yüksek olduğunu ifade etmektedir.

Araştırma kapsamında yer alan grupların plazma aspartik asit konsantrasyonu maternal plazma aspartik asit konsantrasyonundan daha düşük bulunmuştur. Buğday gluteni grubunda yer alan yavruların plazma aspartik asit konsantrasyonunun yavru/maternal oranının, kazein grubundan istatistiksel olarak önemli düzeyde daha yüksek olduğu gösterilmiştir ( $p<0.01$ ).

Buğday gluteni grubunun plazma serin konsantrasyonunun yavru/ maternal oranı kazein grubundan daha yüksektir. Bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirtilmiştir ( $p<0.01$ ).

Maternal plazma hidroksprolin konsantrasyonuna kıyasla her iki grupta yavrunun plazma hidroksprolin konsantrasyonunda artış olduğu belirtilmiştir. Buğday gluteni grubunun yavru/maternal oranı kazein grubundan istatistiksel olarak önemli düzeyde daha düşük bulunmuştur ( $p<0.05$ ).

Her iki grupta yavru plazma lizin konsantrasyonunda maternal plazma lizin konsantrasyonuna kıyasla artış bulunmuştur. Buğday gluteni grubunda yer alan yavrularda lizin amino asidinin yavru/maternal oranının kazein grubundan önemli düzeyde daha düşük olduğu gösterilmiştir ( $p<0.01$ ).

Kazein ve buğday gluteni grubunda yer alan yavruların plazma valin konsantrasyonunun maternal plazma valin konsantrasyonundan düşük olduğu belirtilmiştir. Buğday gluteni grubunun yavru/maternal oranının kazein grubundan daha yüksek olduğu bulunmuş ve bu farklılığın istatistiksel olarak önemli olduğu ifade edilmiştir ( $p<0.01$ ).

Yavruya ait plazma metiyonin konsantrasyonu maternal plazma metiyonin konsantrasyonu ile kıyaslandığında, her iki grupta artış olduğu belirtilmiştir. Plazma metiyonin amino asidinin yavru /maternal oranı buğday gluteni grubunda istatistiksel olarak önemli düzeyde daha düşük bulunmuştur ( $p<0.05$ ).

Grupların plazma ornitin amino asidinin yavru/maternal oranı değerlendirildiğinde, buğday gluteni grubunda yer alan yavru/maternal oranının daha yüksek olduğu belirtilmiştir ( $p<0.05$ ). Bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gösterilmiştir ( $p<0.05$ ).

Yavruların plazma asparajin konsantrasyonu her iki grupta maternal asparajin konsantrasyonundan yüksek bulunmuştur. Buğday gluteni grubunun yavru/maternal amino asit oranının kazein grubundan daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Bu farklılığın anlamlılık eğilimi gösterdiği belirtilmiştir ( $p<0.1$ ).

Plazma treonin konsantrasyonunun yavru/maternal oranı, buğday gluteni grubunda kazein grubundan daha yüksek bulunmuş ve bu farklılığın anlamlılık eğilimi gösterdiği ifade edilmiştir ( $p<0.1$ ).

Buğday gluteni grubunun yavru/maternal glisil-prolin oranı kazein grubundan önemli düzeyde daha yüksek bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Tirozin amino asidinin yavru/maternal oranının buğday gluteni grubunda kazein grubundan daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Bu farklılığın anlamlılık eğilimi gösterdiği belirtilmiştir ( $p<0.1$ ).

**Tablo 4.9.** Yavru/maternal amino asit oranlarının değerlendirilmesi.

Amino Asitler	Kazein		Buğday Gluteni		p
	n	Yavru/maternal oran	n	Yavru/maternal oran	
Alanin	6	0.81±0.09	7	0.98±0.08	0.199
Sarkozin	4	1.75±0.18	7	1.63±0.15	0.623
Glutamik asit	6	1.06±0.05	7	1.15±0.05	0.264
Glutamin	5	30.50±12.85	7	9.80±10.86	0.247
Aspartik asit	5	0.28±0.13	6	0.90±0.12	<b>0.007**</b>
Asparajin	6	1.02±0.05	7	1.16±0.05	0.081
Glisin	6	1.70±0.20	7	1.98±0.19	0.330
Serin	6	0.81±0.09	7	1.25±0.08	<b>0.003**</b>
Treonin	6	0.89±0.09	7	1.12±0.08	0.074
Prolin	6	1.59±0.18	7	1.70±0.16	0.671
Hidroksiprolin	6	2.27±0.31	7	1.27±0.29	<b>0.037*</b>
Glisil-prolin	6	0.67±0.39	7	2.09±0.36	<b>0.023*</b>
Lizin	6	8.65±1.34	7	1.25±1.25	<b>0.002**</b>

**Tablo 4.9. (Devam)** Yavru/Maternal amino asit oranlarının değerlendirilmesi.

<b>Histidin</b>	6	0.82±0.14	7	1.06±0.13	0.257
<b>Valin</b>	6	0.23±0.15	7	0.89±0.14	<b>0.007**</b>
<b>Lösin</b>	6	0.91±0.07	7	1.02±0.06	0.252
<b>İzolösin</b>	6	1.04±0.07	7	1.12±0.06	0.356
<b>Metiyonin</b>	6	7.62±1.54	7	2.51±1.42	<b>0.033*</b>
<b>Sistin</b>	6	1.21±0.44	7	1.62±0.41	0.506
<b>Sistatyonin</b>	4	9.66±3.88	6	4.70±3.17	0.351
<b>Ornitin</b>	6	0.79±1.82	7	6.35±1.68	<b>0.046*</b>
<b>Tirozin</b>	6	0.94±0.09	7	1.18±0.08	0.074
<b>Fenilalanin</b>	6	0.90±0.13	7	0.88±0.12	0.873

\*p<0.05, \*\*p<0.01



## 5. TARTIŞMA

### 5.1. Maternal Bulguların Tartışılması

Et ve tahıl grubu besinler dünyadaki en önemli protein kaynaklarıdır. Besinlerin içerdikleri protein miktarı kadar protein kalitesi de büyük önem taşımaktadır. Hayvansal kaynaklı besinlerin genellikle protein içerikleri ve protein miktarı yüksektir. Ayrıca bu besinler iyi kaliteli protein kaynağı olup, yeterli miktarda elzem amino asit içermektedir. Metiyonin, lizin, triptofan ve treonin diyetin sınırlı amino asitlerini oluşturur. Genellikle bitkisel kaynaklı proteinlerin bu amino asit konsantrasyonları düşüktür (164). Gelişmekte olan ülkelerin bitkisel kaynaklı protein alımı hayvansal kaynaklı protein alımından yüksektir. Ülkemizde de bitkisel kaynaklı protein alımının hayvansal kaynaklı protein alımından yüksek olduğu bilinmektedir (165). Diyetin tahıl kaynaklı protein alımının %50'nin üzerinde olması durumunda, proteinin biyolojik değeri ve vücut tarafından kullanılabilirliği azalır (166).

Amino asit dengesizliği, plazmada sınırlı amino asit konsantrasyonunun düşmesine ya da beynin anterior prepiriform korteksinde, sınırlı amino asitin toplam amino asitlere oranının değişmesine yol açar. Amino asit dengesizliği çalışmaları genellikle histidin, izolöysin, lizin, metiyonin, treonin ve triptofan amino asitlerinin sınırlandırıldığı ve daha çok bu amino asit dengesizliklerinin yol açtığı metabolik ve fizyolojik değişiklikler üzerinde durmaktadır (167). Bu araştırmada da buğday gluteni grubunun protein kaynağı olarak, lizin amino asidi sınırlı olan buğday gluteni proteini kullanılmıştır. Kazein ve buğday gluteni proteininin amino asit kompozisyonu EK 4'te gösterilmiştir (168).

Yapılan araştırmalarda amino asit dengesizliğinin besin alımını ve ağırlık kazanımını etkilediği gösterilmiştir (169-173). Bu etki özellikle 3-4 haftalık genç ratlarda yaşlı ratlara kıyasla daha belirgindir. Amino asit dengesizliği besin alımında azalmaya yol açmış ve bunun sonucunda ağırlık kazanımında azalma meydana gelmiştir. Dolayısıyla büyüme hızındaki azalma ya da ağırlık kazanımındaki yavaşlamanın besin alımındaki azalmanın bir sonucu olduğu düşünülmektedir. Amino asit dengesizliği oluşturulurken genellikle düşük miktarda protein içeren diyetler kullanılmaktadır. Bu diyetler, düşük proteinli diyetlere sınırlı amino asit dışındaki elzem amino asit karışımının eklenmesiyle elde edilir. Böylece sınırlı

amino asitin plazma ve beyindeki konsantrasyonu ile metabolik ve fizyolojik etkileri araştırılır (174). Bu çalışmada ise amino asit dengesizliği protein miktarı eşit diyet düzenlemesi ile oluşturulmuş ve diğer çalışmalardan farklı olarak maternal diyetin fetüs gelişimi üzerine etkileri ilk kez değerlendirilmiştir.

Maternal düşük kaliteli protein diyetinin gebelik döneminde besin alımı üzerine önemli bir etkisinin olmadığı ancak laktasyon döneminde besin alımını baskıladığı düşünülmektedir (151,152,175-177). Jansen ve diğerleri tarafından yapılmış bir çalışmada, buğday gluteni grubunda yer alan ratların gebelik döneminde günlük besin alımının  $23.6 \pm 1.2$  g, laktasyon döneminde ise  $30.7 \pm 2.0$  g olduğu bulunmuştur. İki grup arasında gebelik dönemi süresince tüketilen besin miktarı bakımından önemli bir fark bulunmazken, laktasyon döneminde buğday gluteni grubunun besin tüketim miktarının kazein grubundan önemli düzeyde daha az olduğu bildirilmiştir (152). Besin alımındaki azalmaya bağlı olarak laktasyon döneminde enerji ve makrobesin ögesi alımında da azalma olmaktadır. Maternal diyetin protein kalitesinin laktasyon döneminde besin alımı üzerine önemli bir etkide bulunmasının temel nedeni, diyetin lizin eksikliğinin bu dönemde son derece kritik hale gelmesidir. Gebelik döneminde ratların lizin eksikliğini kompanse edebildiği; ancak laktasyon döneminde artan enerji ve protein gereksinmesi nedeniyle bu eksikliğin besin alımı üzerinde önemli bir etkiye yol açtığı düşünülmektedir (176).

Bu çalışmada diğer çalışmalardan farklı olarak, gebelik ve laktasyonun farklı dönemlerindeki maternal besin alımı karşılaştırılmıştır. Gebeliğin ilk iki haftasında kazein ve buğday gluteni grubunun besin alımı benzer seyretmişken, gebeliğin son haftasında buğday gluteni grubunun besin alımında önemli düzeyde azalma olmuştur ( $p < 0.05$ ). Laktasyon döneminin son haftasında buğday gluteni grubunun besin alımı baskılanmış ve bu grubun enerji ve makrobesin ögesi alımının önemli ölçüde azaldığı gözlenmiştir ( $p < 0.05$ ).

Maternal düşük kaliteli protein diyetinin batın sayısı, gebelik ve laktasyon dönemlerinde vücut ağırlığı değişimi üzerine etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada, düşük kaliteli protein diyetinin batın sayısını etkilemediği sonucuna varılmıştır. Buğday gluteni grubunda bulunan ratların gebelik süresince toplam ağırlık kazanımı  $56 \pm 4$  g, laktasyonun ilk iki haftalık döneminde ise  $10 \pm 4$  g'dır. Diyetin protein kalitesinin azalması, gebelikte meydana gelen toplam ağırlık

kazanımını baskımlarken, laktasyon döneminde vücut ağırlığı değişimi üzerine bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir (178). Başka bir çalışmada ise buğday gluteni diyeti ile beslenmiş ratlarda gestasyon süresince toplam ağırlık kazanımının 127 g olduğu bildirilmiştir. Laktasyon döneminde ise ortalama 20 g maternal ağırlık kaybı görülmüştür. Maternal diyetin protein kalitesinin artırılması, laktasyon döneminde maternal vücut ağırlığı değişimi üzerine etkide bulunmazken, gebelik döneminde toplam ağırlık kazanımını arttırmaktadır (175). Jansen ve diğerleri ise maternal buğday gluteni diyetinin kazein diyetine kıyasla gebelik ve laktasyonun ilk iki haftalık döneminde ağırlık kazanımı üzerine etkisinin olmadığını bildirmiştir (152).

Bu araştırmada diğer araştırmalardan farklı olarak maternal ağırlık kazanımının değerlendirilmesinde gestasyon ve laktasyonun farklı dönemleri göz önünde bulundurulmuştur. Maternal diyetin protein kalitesinin azalması, batın sayısından bağımsız olarak gestasyonun 3. haftasında daha az ağırlık kazanımına yol açmıştır ( $p<0.05$ ). Laktasyonun ilk iki haftasında her iki grubun ağırlık değişimleri benzer seyretmiş, son haftasında ise buğday gluteni grubundaki ağırlık kaybının anlamlılığa yatkınlık gösterdiği bulunmuştur ( $p<0.1$ ).

Maternal diyetin protein kalitesinin laktasyonun 15. gününde süt salınımı üzerine etkilerinin değerlendirildiği araştırmalar sonucunda, diyetin protein kalitesindeki azalmanın salgılanan süt miktarında önemli miktarda azalmaya yol açtığı bildirilmiştir (151,152,177). Bu araştırmada maternal düşük kaliteli protein diyetinin salgılanan süt miktarını etkilemediği bulunmuştur ( $p>0.05$ ).

Maternal düşük kaliteli protein diyetinin plazma serbest amino asit konsantrasyonu üzerine etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada, buğday gluteni grubunda yer alan ratların plazma treonin, alanin, valin, metiyonin, löysin, lizin, histidin, arjinin ve triptofan konsantrasyonu önemli düzeyde daha düşük bulunmuştur. Plazma serin ve glisin konsantrasyonunun ise önemli düzeyde daha yüksek olduğu bildirilmiştir (175). Bu araştırmada ise buğday gluteni grubunun plazma elzem amino asit konsantrasyonu daha düşük seyretmiş; ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p>0.05$ ). Buğday gluteni grubunun plazma serbest serin konsantrasyonu kazein grubundan önemli düzeyde daha düşük bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Plazma serbest asparajin konsantrasyonundaki düşüklüğün ise anlamlılığa eğilim gösterdiği belirtilmiştir ( $p<0.1$ ). Bu araştırmada maternal plazma

serbest amino asit konsantrasyonunun diğerk araştırmadan farklı seyretmesinin nedeni değerlendirmenin laktasyonun farklı dönemlerinde yapılmış olması olabilir. Jansen ve diğerkleri laktasyonun birinci haftasında, bu araştırmada ise laktasyon sonunda maternal plazma serbest amino asit konsantrasyonu değerlendirilmiştir.

Diyetin protein kalitesinin serbest amino asit konsantrasyonu üzerine etkilerinin değerlendirildiği bir araştırmada, buğday gluteni grubunun plazma treonin, valin, metiyonin, izolöysin, löysin, tirozin ve lizin konsantrasyonu kazein grubundan önemli düzeyde daha düşük, glisin ve histidin konsantrasyonu ise daha yüksek bulunmuştur (152). Maternal plazma serbest amino asit konsantrasyonu değerlendirmesi laktasyonun 15. gününde yapılmış olup bu araştırmadan farklılık göstermektedir.

Bu araştırmada buğday gluteni grubunun plazma serbest serin konsantrasyonu kazein grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Serin amino asidi tek karbon havuzunun primer endojen metil donörüdür. Tek karbon metabolizması pürin ve primidin sentezi, protein, DNA ve RNA gibi çeşitli bileşiklerin metilasyonu ve gen ekspresyonunda rol oynar. Organizmadaki tüm hücrelerde metil transferini sağlayan tek karbon metabolizması, metabolik olayların gerçekleşmesinde kilit rol oynar. Besin gesi eksikliği ya da besin ögesi, hormonal ve çevresel etkileşimler sonucu tek karbon metabolizmasının bozulması, hücre fonksiyonu, metabolizması, gelişimi ve proliferasyonunda önemli etkilere yol açabilmektedir (179).

Bu çalışmada, maternal düşük kaliteli protein diyeti maternal plazma asparajin konsantrasyonunda azalmaya yol açmış ve bu azalmanın anlamlılığa eğilim gösterdiği bulunmuştur ( $p<0.1$ ). Asparajin hücre fizyolojisi ve metabolizmasını etkilemektedir. Gen ekspresyonu, immün fonksiyonlar, amonyak detoksifikasyonu ile sinir sistemi fonksiyonunun düzenlenmesinde önemli rol oynar (180). Dolayısıyla buğday gluteni grubunda meydana gelen maternal plazma asparajin konsantrasyonundaki azalma, organizma için hayati öneme sahip metabolik olaylarda geri dönüşsüz bozulmalara yol açabilmekte ve bunun sonucunda fetüs metabolizmasında kalıcı değişiklikler meydana gelebilmektedir.

## 5.2. Yavruya Ait Bulguların Tartışılması

Fetal gelişim anne, plasenta ve fetüs arasındaki besin ögesi ve hormonal etkileşimler ile düzenlenmektedir. Makro ve mikro besin öğelerinin anneden fetüse iletilmesi, bu süreçlerin özgül taşıyıcılar, büyüme faktörleri ve fetal ve maternal endokrin çevre tarafından kontrol edilmesi fetal gelişim açısından büyük önem taşımaktadır (181). Maternal besin alımının ya da spesifik bir besin ögesi kısıtlamasının fetal gelişim ve fetüsün metabolik yanıtları üzerine etkilerini değerlendiren oldukça fazla sayıda araştırma bulunmaktadır (182,183). Buna karşın maternal düşük kaliteli protein diyetinin fetal gelişim ve laktasyon sonu metabolik etkilerinin değerlendirilmesi de büyük önem taşımaktadır.

Bazı araştırma sonuçlarına göre maternal düşük kaliteli protein diyetinin doğum ağırlığını önemli düzeyde azalttığı düşünülmektedir (177,178). Başka bir çalışmada ise gebelik süresince buğday gluteni (%21) diyeti ile beslenmenin doğum ağırlığı üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir (175). Jansen ve diğerleri ise yaptıkları çalışmada maternal buğday gluteni (%22.3) diyetinin kazein grubuna kıyasla doğum ağırlığını önemli düzeyde arttırdığını göstermiştir (152). Maternal diyetin protein kalitesi ve miktarının fetal gelişim üzerine etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada, %7 oranında buğday gluteni içeren diyetle beslenmiş ratların doğum ağırlığının %18 oranında protein (hayvansal ve bitkisel kaynaklı) içeren diyetle beslenmiş grup ile benzer olduğu bildirilmiştir (184). Başka bir çalışmada ise buğday gluteni diyeti (%7) ile beslenmiş annelerin yavrularının doğum ağırlığı, kazein grubundan daha fazla bulunmuştur (176). Bu çalışmada ise maternal diyetin doğum ağırlığı üzerine bir etkisinin olmadığı gösterilmiştir ( $p>0.05$ ).

Prenatal ve postnatal dönemde besin ögesi kısıtlaması birçok doku ve organda hücre çoğalmasını engellemekte ve buna bağlı olarak organ ağırlıkları azalmaktadır (126). Literatürde yer alan çalışmalar daha çok maternal protein kısıtlamasının fetal doku ve organ gelişimleri üzerine etkilerini değerlendirmektedir. Bu çalışmada maternal düşük kaliteli protein diyetinin doğum anında organ ağırlıkları üzerine etkileri değerlendirilmiştir. Buğday gluteni grubunda yer alan yavruların böbrek ağırlık ortalamaları önemli düzeyde daha yüksek bulunmuş ( $p<0.05$ ); ancak bu farklılık üzerinde maternal diyetin bir etkisi olmadığı sonucuna varılmıştır ( $p>0.05$ ).

Bu arařtırmada maternal dūřuk kaliteli protein diyetinin yavruların karacięer, beyin, kalp ve bōbrek aęırlıkları ūzerine bir etkisinin olmadıęı bildirilmiřtir ( $p>0.05$ ).

Maternal diyetin protein kalitesinin yavrularda vūcut ve beyin geliřimi ūzerine etkilerinin deęerlendirildięi bir çalıřmada, %22 oranında protein (hayvansal ve bitkisel kaynaklı) içeren standart laboratuvar yeminin yařamın 49. gūnūnde yavruların beyin aęırlıęında ōnemli dūzeyde azalmaya yol açtıęı gōsterilmiřtir (185). Bu arařtırmada maternal dūřuk kaliteli protein diyetinin doęum anındaki organ aęırlıklarının yanı sıra laktasyon dōnemi sonundaki organ aęırlıkları ūzerine etkileri de deęerlendirilmiřtir. Bu etki deęerlendirilirken yavruların cinsiyetleri de gōz ōnūnde bulundurulmuřtur. Buęday gluteni grubunda yer alan erkek yavruların beyin aęırlıęının, kazein grubundan ōnemli dūzeyde daha dūřuk olduęu gōsterilmiřtir ( $p<0.05$ ). Buęday gluteni grubunda yer alan erkek yavruların kalp aęırlıkları kazein grubundan daha dūřuk bulunmuř ve bu farklılıęın sınırdan anlamlılık gōsterdięi belirtilmiřtir ( $p<0.1$ ). Bu farklılıklar ūzerinde diyetin etkisi deęerlendirildięinde beyin aęırlıęı ūzerindeki etkisinin anlamlılık eęilimi gōsterdięi belirtilmiř ( $p<0.1$ ), kalp aęırlıęı ūzerindeki etkisi ise istatistiksel dūzeyde ōnemli bulunmamıřtır ( $p>0.05$ ).

Doęum anında tūm organ aęırlıklarının ya da laktasyon sonunda beyin dıřındaki organ aęırlıklarının korunumu ya da organ aęırlıklarının maternal diyetten etkilenmemesi, iki grup arasında bu organların yapı ve fonksiyonları bakımından fark olmadıęı anlamına gelmemektedir. Brawley ve dięerleri tarafından yūrutūlmūř bir arařtırmada, maternal protein kısıtlamasının organ aęırlıklarını etkilemedięi; ancak yařamın ilerleyen dōnemlerinde erkek ratlarda sistolik kan basıncında yūkselmeye yol açtıęı bildirilmiřtir (186). Bařka bir arařtırmada ise gestasyon sūresince dūřuk miktarda protein içeren diyetle beslenmiř annelerin yavrularında beyin aęırlıęının etkilenmedięi; ancak maternal diyetin beyin membranlarının yaę asidi ōrūntüsūnū bozarak beyin geliřiminde deęiřikliklere yol açtıęı gōsterilmiřtir (187).

Maternal dūřuk kaliteli protein diyetinin yařamın ilerleyen dōnemlerinde yavruların organ yapı ve fonksiyonları ūzerine etkisi bilinmemektedir. Bu diyet modifikasyonunun organ fonksiyonlarında yol açabileceęi deęiřiklikler ile metabolik ve fizyolojik etkileri merak konusudur.

Bu araştırmada 3 haftalık laktasyon süresince buğday gluteni ve kazein grubunda yer alan yavruların vücut ağırlıkları değerlendirilmiştir. Laktasyon süresince iki grubun vücut ağırlığı ortalamaları arasında istatistiksel düzeyde anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0.05$ ). İstatistiksel düzeyde anlamlı olmasa da laktasyonun 3. haftasında buğday gluteni grubunda yer alan erkek ve dişi yavruların vücut ağırlığında azalma olduğu gösterilmiştir. Laktasyon döneminde yavrunun enerji ve besin ögesi gereksinmesinin sağlanması ve optimal gelişimi için anne sütü verimi çok önemlidir. Laktasyon döneminde anne yeterli miktarda süt salınımı ve ideal yavru gelişiminin sağlanması amacıyla iskelet kasından vücut proteini mobilizasyonunu gerçekleştirir. Besin ögesi kısıtlaması durumunda geliştirdiği bu adaptif yanıt sayesinde yeterli düzeyde süt salınımını sürdürmeye çalışır (188).

Laktasyonun 3.haftasında buğday gluteni grubunda yer alan maternal ratların ağırlık kaybı, yavru için optimal beslenme çevresinin oluşturulması amacıyla geliştirilmiş bir adaptif yanıt olabilir. Maternal diyetin düşük protein kalitesi annede vücut proteinlerinin mobilizasyonuna yol açmış ve böylece yavru gelişiminin önemli düzeyde baskılanmasını engellemiş olabilir. Yapılan araştırmalarda buğday gluteni grubunda yer alan yavruların kazein grubuna kıyasla laktasyonun 8. ve 15.gününde vücut ağırlıklarının daha düşük olduğu bildirilmiştir (151,152,175,178).

Embriyonik hücreler çeşitli mekanizmalar aracılığıyla amino asit eksikliğine yanıt verebilme yeteneğine sahiptir. Böylece bu hücrelerin gelişimi, farklılaşması ve apoptozisinde rol oynayan çeşitli genlerin ekspresyonunda artışlar meydana gelir. Amino asit eksikliğine karşı fetüsün geliştirdiği adaptif yanıtlar ile amino asitlerin fetüs ve plasenta metabolizması üzerindeki etkileri göz önünde bulundurulduğunda, amino asitler ile fetal gelişim arasında yakın bir ilişki olabileceği düşünölmektedir (127).

Literatürde maternal protein kısıtlamasının fetüsün amino asit metabolizması üzerine etkilerinin değerlendirildiği çalışmalar mevcuttur (127,189). Ancak maternal düşük kaliteli protein diyetinin fetüsün amino asit metabolizması ve uzun dönem sağlığı üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmalar bulunmamaktadır. Bu araştırmada ilk kez maternal diyetin protein kalitesinin yavruların amino asit metabolizması üzerinde yol açabileceği değişiklikler araştırılmıştır.

Protein kısıtlamasının genellikle plazma elzem olmayan amino asit konsantrasyonunda artışa, elzem amino asit konsantrasyonunda ise azalmaya yol açabileceği bildirilmiştir (189). Bunun sonucunda elzem amino asitlerin (EAA) elzem olmayan amino asitlere (NEAA) oranı değişmektedir. Bu durum protein eksikliğine bağlı artmış protein yıkımı ile ilişkilendirilmiştir. Plazma EAA/NEAA oranının yüksek olması istenen protein düzeyini yansıtan bir indeks olarak değerlendirilmiştir (190). Bu araştırmada kazein grubunun plazma EAA/NEAA oranı Swendseid ve diğerlerinin yaptıkları araştırma ile benzer bulunmuştur.

Maternal buğday gluteni diyetinin sınırlı amino asidi lizindir (168). Yapılan araştırmalarda sınırlı amino asidin plazma konsantrasyonunun önemli ölçüde azaldığı bildirilmiştir (151,175,190). Bu araştırmada da benzer şekilde buğday gluteni grubunun plazma serbest lizin konsantrasyonu istatistiksel olarak önemli düzeyde düşük bulunmuştur ( $p<0.05$ ).

Glutaminin vücutta çok önemli fizyolojik fonksiyonları bulunmaktadır. Hormon salınımının modülasyonunda, nükleotid ve arjinin sentezi gibi metabolik yollarda ve hücrelerde gen ekspresyonunun düzenlenmesinde önemli rol oynar. Yenilenme hızı yüksek olan hücrelerin temel enerji kaynağıdır. Hücre içi protein dönüşümü, plazma membranı aracılığıyla besin ögesi transportu, hücre büyümesi ve farklılaşması ile hücrelerin bütünlüğünün sağlanması amacıyla enerji sağlar. Embriyonik ve mukozal hücreler için elzem olan pürin ve primidin nükleotidlerinin sentezinde öncül moleküldür. Glutamat öncüsü olarak glutatyon sentezinde önemli rol oynar. Glutatyon hücrelerde fazla miktarda bulunan düşük molekül ağırlıklı antioksidan bir bileşiktir (191).

Glutamin, ornitin dekarboksilaz (ODC), ısı şoku proteinleri (heat-shock proteins) ve nitrik oksit sentetaz (NOS) gibi besin ögesi metabolizması ile hücrenin hayatta kalmasını düzenleyen gen ekspresyonu modülasyonunda önemli rol oynar. Isı şoku proteinleri hücre korunumunda oldukça önemlidir. NOS arjininin oksijenlenmesini ve böylece nitrik oksit (NO) sentezini sağlar. Aktive olan makrofajlardan NOS salınımı için ortamda yeterli miktarda glutaminin olması gerekmektedir. ODC ornitinden poliamin sentezinde kilit rol oynar. Poliamin DNA ve protein sentezini uyarır. Glutamin hücre büyümesi ve oksidanların ortadan



kaldırılmasında elzem olan genlerin intestinal ekspresyonunu arttırmakta, oksidatif strese yol açan genlerin ekspresyonunu ise azaltmaktadır (81).

Glutamin hücre sinyalizasyon yollarının düzenlenmesinde rol oynar. İskelet kası, ince barsaklar ve plasental hücreler gibi farklı hücre türlerinde evrimsel olarak korunmuş serin treonin kinazı (MTOR) aktive eder. Böylece protein sentezi uyarılır ve hücre içi proteoliz inhibe olur. Glutamin bağımlı düzenleyici mekanizmalar hücre proliferasyonu, göçü, farklılaşması, metabolizması, homeostazı ve fonksiyonu üzerinde önemli etkilere sahiptir (192).

Bu araştırmada buğday gluteni grubunun plazma serbest glutamin konsantrasyonunun kazein grubundan önemli düzeyde daha düşük olduğu bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Glutaminin birçok sistemdeki fonksiyon ve etkileri göz önünde bulundurulduğunda, bu azalma özellikle yaşamın ilerleyen dönemlerinde organizma için bir tehlike oluşturabilir. Optimal olmayan bir çevrenin varlığı hücre farklılaşması, yapı ve sayısında azalmaya yol açarak çeşitli doku ve organların fonksiyonlarında bozulma ile sonuçlanabilir.

Buğday gluteni proteininin glutamin içeriği kazein proteininden oldukça yüksek olmasına karşın, buğday gluteni grubunda yer alan yavruların plazma glutamin seviyelerindeki azalma oldukça dikkat çekicidir. Bu azalma glutaminin organizmada başka amino asitlerin sentezinde kullanılması sonucu meydana gelmiş olabilir. Buğday gluteni grubunda yer alan yavruların plazma serbest ornitin konsantrasyonlarında artış gözlenmiş ve bu artışın anlamlılık eğilimi gösterdiği bulunmuştur ( $p<0.1$ ). Dolayısıyla yavru, plazma ornitin sentezini arttırmaya yönelik adaptif bir yanıt geliştirmiş olabilir. Ornitin sentezinde rol alan glutaminin plazma konsantrasyonundaki azalma bu adaptif yanıtın bir sonucu olarak meydana gelmiş olabilir (193).

Prolin ve hidroksiprolin kollajenin yapısına katılır. Hidroksiprolin kollajenin yapı ve bütünlüğünün sağlanmasında önemli rol oynar. Kollajen proteininin yaklaşık %10'unu oluşturan hidroksiprolinin çeşitli doku, plazma ve idrar konsantrasyonu, kollajen katabolizmasını gösteren önemli bir indikatördür (194). Kume ve diğerleri tarafından yapılmış bir araştırma sonucunda, metabolik stres sonucu plazma hidroksiprolin konsantrasyonunda önemli düzeyde azalma olduğu bildirilmiştir. Plazma hidroksiprolin konsantrasyonunun oksidatif stresin olası bir metabolomu

olabileceği ifade edilmiştir (195). Bu araştırmada maternal düşük kaliteli protein diyetinin yavruların plazma hidroksiprolin konsantrasyonlarında azalmaya yol açtığı gösterilmiş ve bu azalmanın anlamlılık eğilimi gösterdiği ifade edilmiştir ( $p<0.1$ ). Karaciğerde prolinin oksidatif modifikasyonu plazma hidroksiprolin düzeylerinde azalmaya yol açmış olabilir. Ayrıca bu azalma buğday gluteni grubunun doku yapımındaki azalma ile de ilişkilendirilebilir.

Metiyonin nükleik asit, protein, biyolojik amin ve fosfolipid gibi bileşiklerin metilasyonunu sağlayan metil donörüdür. Metiyonin ve folat döngüsü organizmadaki tüm hücrelerde bulunur. DNA sentezi ve metilasyonunda önemli rol oynar. Besin ögesi eksikliği ya da besin ögesi, hormonal ve çevresel etkileşimler sonucu metiyonin döngüsünün bozulması hücre fonksiyonu, metabolizması, gelişimi ve proliferasyonunda çok önemli değişikliklere yol açar. Diyet proteininin kısıtlanması tek karbon transferi üzerinde belirgin bir etkiye sahiptir. Bunun sonucunda DNA metilasyonu ve histon asetilasyonunda ortaya çıkabilecek farklılıklar gelişmekte olan embriyoda epigenetik değişikliklere yol açabilmektedir. Bu durum yavruda fetal gelişimi etkileyebilmekte ve uzun dönem morbiditeye neden olabilmektedir (196).

Bu araştırmada buğday gluteni grubunda yer alan yavruların plazma serbest metiyonin konsantrasyonu kazein grubundan düşük, plazma serin konsantrasyonu ise daha yüksek bulunmuştur. İki grup arasındaki bu farklılığın anlamlılık eğilimi gösterdiği belirtilmiştir ( $p<0.1$ ). Kalhan ve diğerleri protein kısıtlamasının serin biyosentezinde rol oynayan enzim ekspresyonunda artışa yol açabileceğini bildirmiştir. Bunun sonucunda plazma serin konsantrasyonunda belirgin bir artış meydana gelmiştir (182). Bu artışın organizmanın protein kısıtlamasına bağlı olarak geliştirdiği adaptif bir yanıt olduğu düşünülmektedir. Bu araştırmada plazma serin konsantrasyonundaki artış gereksinimin karşılanması amacıyla geliştirilmiş adaptif bir yanıt olabilir. Plazma amino asit konsantrasyonunda meydana gelen değişikliklerin organizma için büyük önem taşıyan tek karbon metabolizmasında bozulmalara yol açabileceği ve özellikle uzun dönemde morbiditeye neden olabileceği düşünülmektedir.

Aspartik asit fizyolojik pH'da neredeyse tamamen anyonik formda bulunur ve aspartat olarak adlandırılır. Proteinlerin yüzeyinde yaygın olarak bulunur. Oksaloasetik asitin transaminasyonu sonucu oluşur. Aspartik asitin amin grubunun

üre siklusunda kullanılması sonucu fumarat oluşur. Ayrıca aspartik asit primidin sentezinde rol oynar (72). Üre döngüsünde aspartat, sitrulinden arjinosüsinat sentezinde rol oynar. Aspartatın  $\alpha$ -amino grubu üre döngüsünün nitrojen kaynağıdır (84). Bu araştırmada buğday gluteni grubunda yer alan yavruların plazma serbest aspartik asit konsantrasyonu kazein grubundan önemli düzeyde daha yüksek bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Bu durum maternal düşük kaliteli protein diyetinin üre sentezini baskılaması sonucunda, organizmanın üre döngüsünde rol oynayan nitrojen kaynaklarını arttırmaya yönelik geliştirdiği bir adaptif yanıtta kaynaklanmış olabilir.

### 5.3. Yavru/Maternal Amino Asit Oranının Tartışılması

Özellikle elzem amino asitler fetal gelişim açısından büyük önem taşımaktadır. Bazı elzem olmayan amino asitler de fetüste yeterli miktarda sentezlenemediği için koşullu elzem haline gelmektedir. Fetüsün bazı amino asitlere metabolik gereksinmesi daha fazla olduğu için, hem protein miktarı hem de protein kalitesi fetal gelişim için büyük önem taşımaktadır (197).

Amino asitlerin fetal oksidasyon hızı oldukça yüksek olup, protein dönüşümü ve üre sentezi oldukça fazladır. Amino asitler plasenta aracılığıyla aktif taşıma ile fetüse taşınır. Fetal plazma amino asit konsantrasyonu gebelik süresince değişmez ve birçok amino asitin fetal plazma konsantrasyonu maternal plazma konsantrasyonundan önemli düzeyde yüksektir. Sağlıklı gebeliklerde maternal ve fetal plazma amino asit konsantrasyonları arasında bir çok amino asit için doğrusal bir ilişki saptanmış olup, maternal amino asit konsantrasyonu arttıkça amino asitlerin umbilikal venöz konsantrasyonu artmaktadır (198,199).

Fetüse transfer edilen amino asit miktarı her zaman maternal plazma amino asit konsantrasyonunu yansıtmayabilir. Bu durum bazı amino asitlerin plasenta aracılığı ile seçici transferini gösterir. Serin amino asidinin plasental transferinin çok az olması ya da hiç olmamasına rağmen fetal plazma serin konsantrasyonunun maternal serin konsantrasyonundan önemli düzeyde daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Bu durum serin amino asidinin daha çok fetüs tarafından sentezlendiğini düşündürmektedir (197).

Bir amino asit plasentadan fetüse geçerken üç farklı olası metabolik yol izlediği düşünülmektedir. Elzem amino asitlerin plasenta tarafından metabolize

edilmeden direkt olarak aktif transport ile taşındıkları, elzem olmayan amino asitlerin ise daha çok plasenta tarafından metabolize edildiği düşünülmektedir (200).

Maternal ve fetal amino asit konsantrasyonlarının değerlendirildiği bir araştırmada, fetal amino asit konsantrasyonunun maternal amino asit konsantrasyonundan oldukça yüksek olduğu gösterilmiştir. Özellikle lizin, fenilalanin ve hidrokisprolin aminositlerinin fetal/maternal oranı oldukça yüksek bulunmuştur. Böylece fetüs gelişimi için aktif protein biyosentezi ve dönüşümü desteklenmiş olur. Alanin, glutamin+glutamat, asparajin+aspartat, glisin, serin ve treonin amino asitlerinin fetal/maternal oranı ise daha düşük seyretmektedir. Bu amino asitlerin maternal enerji metabolizmasının sürdürülmesinde rol oynadığı düşünülmektedir. Bu araştırma sonucunda, doğumdan hemen önce fetal gelişimin son fazında plasental amino asit alımının oldukça yüksek olduğu gösterilmiştir (161).

Parimi ve diğerleri yaptıkları bir araştırmada maternal protein kısıtlamasının fetal/maternal amino asit oranları üzerine etkilerini değerlendirmiştir. Bu araştırma sonucunda lizin, serin ve glisin amino asitlerinin fetal/maternal oranının buğday gluteni grubunda kazein grubundan istatistiksel olarak önemli düzeyde daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Histidin amino asidinin fetal/maternal oranı ise düşük proteinli diyet grubunda kazein grubundan daha düşük bulunmuştur (201).

Laktasyon döneminde ise gebelik dönemine kıyasla maternal plazma serbest amino asit konsantrasyonu artmaktadır. Lizin ve metiyonin dışındaki amino asitlerin maternal plazma konsantrasyonu, laktasyon döneminde gebelik dönemine kıyasla daha yüksek seyretmektedir. Elzem olmayan amino asitlerin maternal plazma konsantrasyonundaki artışın süt üretiminin arttırılmasına yönelik bir adaptasyon olduğu düşünülmektedir (188).

Okame ve diğerleri tarafından yapılan bir araştırmada laktasyon sonunda maternal ve yavruya ait amino asit konsantrasyonları değerlendirilmiştir. Yavruların plazma amino asit konsantrasyonlarının genellikle annelerinden önemli düzeyde daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Yavrunun plazma serbest valin, alanin, prolin, tirozin, glisin, histidin, aspartat ve glutamat amino asit konsantrasyonu maternal plazma amino asit konsantrasyonundan önemli ölçüde daha yüksek, treonin ve lizin amino asit konsantrasyonu ise önemli ölçüde daha düşük bulunmuştur (202).

Bu araştırmada diğer araştırmalardan farklı olarak, maternal düşük kaliteli protein diyetinin laktasyon sonunda yavruya ait/maternal amino asit oranları üzerine etkisi değerlendirilmiştir. Buğerday gluteni grubunda aspartik asit, serin, treonin, glisil - prolin, valin ve ornitin amino asitlerinin yavruya ait/maternal oranı kazein grubundan istatistiksel olarak önemli düzeyde daha yüksek bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Buğerday gluteni grubunda yavru/maternal asparajin ve tirozin amino asit oranlarının daha yüksek olduğu gösterilmiş ve bu farklılığın anlamlılık eğilimi gösterdiği bildirilmiştir ( $p < 0.1$ ). Lizin, metiyonin ve hidroksprolin amino asitlerinin yavru/maternal oranlarının buğerday gluteni grubunda kazein grubundan daha düşük olduğu bulunmuş ve bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu ifade edilmiştir ( $p < 0.05$ ).

## 6. SONUÇLAR

Maternal düşük kaliteli protein diyetinin gebeliğe adaptasyon, fetal gelişim ve plazma amino asit profiline etkisinin araştırılması amacı ile yapılmış bu çalışmadan elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmektedir:

1. Buğday gluteni ve kazein grubunun gebeliğe başlangıç ağırlığı ve batın sayısı ortalamaları arasında fark yoktur ( $p>0.05$ ).
2. Buğday gluteni grubunun gebelik süresince toplam ağırlık kazanımı kazein grubu ile benzer iken ( $p>0.05$ ), gebeliğin son haftasında ağırlık kazanımı kazein grubundan anlamlı düzeyde daha azdır ( $p<0.05$ ).
3. İki grubun laktasyon süresince toplam ağırlık kazanımı arasında fark bulunmazken ( $p>0.05$ ), laktasyonun son döneminde buğday gluteni grubunun ağırlık kazanımı daha azdır ve bu farklılık anlamlılık eğilimi göstermektedir ( $p<0.1$ ).
4. İki grup arasında gebelik ve laktasyon süresince vücut ağırlığı ortalamaları bakımından fark yoktur ( $p>0.05$ ).
5. Buğday gluteni grubu ile kazein grubunun gebelik süresince toplam besin tüketimi benzer iken ( $p>0.05$ ), gebeliğin son haftasında buğday gluteni grubunun besin alımı azalmaktadır ( $p<0.05$ ).
6. Laktasyon döneminde buğday gluteni grubunun toplam besin tüketimi istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşüktür ( $p<0.05$ ).
7. Laktasyon dönemi süresince buğday gluteni grubunun enerji, karbonhidrat, protein ve yağ alımı kazein grubundan önemli düzeyde daha azdır ( $p<0.05$ ).
8. Buğday gluteni ve kazein grubunun günlük süt salınım miktarı benzerdir ( $p>0.05$ ).
9. Buğday gluteni grubunda yer alan ratların maternal plazma serin konsantrasyonu önemli düzeyde daha düşük ( $p<0.05$ ), plazma asparajin konsantrasyonundaki düşüklük ise anlamlılık eğilimi göstermektedir ( $p<0.1$ ).
10. Buğday gluteni grubunda yer alan yavruların doğum ağırlığı kazein grubundan daha fazladır ( $p<0.001$ ). Doğum ağırlığı üzerinde maternal diyetin bir etkisi bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ). Bu farklılık batın sayısından kaynaklanmaktadır ( $p<0.001$ ).

11. Kazein ve buğday gluteni grubunda yer alan yavruların doğum anında karaciğer, kalp ve beyin ağırlıkları arasında anlamlı bir farklılık yoktur ( $p>0.05$ ).
12. Buğday gluteni grubunda yer alan yavruların doğum anındaki böbrek ağırlığı kazein grubundan önemli düzeyde daha yüksektir ( $p<0.05$ ). Maternal diyetin böbrek ağırlığı üzerine bir etkisi yoktur ( $p>0.05$ ).
13. Kazein ve buğday gluteni grubunda yer alan erkek ve dişi yavruların laktasyon süresince vücut ağırlığı ortalamaları arasındaki fark istatistiksel yönden anlamlı değildir ( $p>0.05$ ).
14. Buğday gluteni ve kazein grubunda bulunan erkek ve dişi ratların laktasyon sonu karaciğer, sağ ve sol böbrek ağırlıkları arasında fark bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).
15. Buğday gluteni grubunda yer alan erkek ratların beyin ağırlıkları kazein grubuna kıyasla önemli düzeyde düşüktür ( $p<0.05$ ). Maternal düşük kaliteli protein diyetinin beyin ağırlığı üzerine etkisinin anlamlılığa eğilim gösterdiği bilinmektedir ( $p<0.1$ ).
16. Buğday gluteni grubunda yer alan erkek ratların kalp ağırlığındaki düşüklük anlamlılığa eğilim göstermektedir ( $p<0.1$ ). Bu farklılık üzerinde maternal düşük kaliteli protein diyetinin etkisi yoktur ( $p>0.05$ ).
17. Dişi ratların laktasyon sonu kalp ağırlığı ortalamaları bakımından iki grup arasında fark yoktur ( $p>0.05$ ).
18. Buğday gluteni grubunun yavruya ait plazma glutamin ve lizin konsantrasyonları kazein grubuna kıyasla istatistiksel olarak önemli düzeyde daha düşüktür ( $p<0.05$ ).
19. İki grup plazma aspartik asit ve glisil-prolin konsantrasyonları bakımından karşılaştırıldığında, buğday gluteni grubunda bu amino asitlerin konsantrasyonları anlamlı düzeyde daha yüksektir ( $p<0.05$ ).
20. Buğday gluteni grubunun plazma serin konsantrasyonu kazein grubuna kıyasla daha yüksektir ve bu farklılık anlamlılık eğilimi göstermektedir ( $p<0.1$ ).
21. Buğday gluteni grubunun plazma ornitin konsantrasyonu kazein grubundan yüksektir ve bu farklılık anlamlılığa eğilim göstermektedir ( $p<0.1$ ).
22. Plazma metiyonin konsantrasyonları karşılaştırıldığında buğday gluteni grubundaki düşüklüğün anlamlılığa eğilim gösterdiği görülmektedir ( $p<0.1$ ).

23. Buğday gluteni grubunun plazma hidroksiprolin konsantrasyonu kazein grubundan daha düşüktür ve bu farklılık anlamlılığa eğilim göstermektedir ( $p<0.1$ ).
24. Yavru/maternal amino asit oranları karşılaştırıldığında aspartik asit, serin, ornitin, glisil-prolin ve valin amino asit oranlarının buğday gluteni grubunda önemli düzeyde daha yüksek olduğu görülmektedir ( $p<0.05$ ).
25. Lizin, metiyonin ve hidroksiprolin aminoasitlerinin yavru/maternal oranı buğday gluteni grubunda daha düşüktür ( $p<0.05$ ).
26. Buğday gluteni grubunda asparajin amino asidinin yavru/maternal oranı kazein grubundan daha yüksektir. Bu farklılık anlamlılığa eğilim göstermektedir ( $p<0.1$ ).
27. Treonin ve tirozin amino asitlerinin yavru/maternal oranı buğday gluteni grubunda daha yüksektir. Bu farklılığın anlamlılığa eğilim gösterdiği bilinmektedir ( $p<0.1$ ).



## 7. ÖNERİLER

Gelişmekte olan fetüs ve doğum sonrası süttten kesme dönemine kadar yavru gereksinmelerinin karşılanması için tamamen anneye bağımlıdır. Bu kritik süreçte maternal çevre çok önemlidir. Dolayısıyla bu süreçte maruz kalınacak optimal olmayan çevresel faktörler uzun dönem sağlık üzerinde kalıcı etkilere yol açabilmekte ve yaşamın ilerleyen dönemlerinde kronik hastalıklara yakalanma riskini arttırabilmektedir.

İlk kez bu araştırmada, diyetin protein kalitesinin de yavrunun amino asit metabolizması üzerinde birtakım bozulmalara yol açabileceği bulunmuştur. Bu durum Türkiye gibi gelişmekte olan ülkelerde, tahıla dayalı beslenme alışkanlıkları da göz önünde bulundurulduğunda diyetin protein kalitesinin iyileştirilmesinin oldukça önemli olduğunu göstermektedir. Buna yönelik uygulamaların hayata geçirilmesi, kaliteli protein kaynağı besinlere ulaşımın kolaylaştırılması ve topluma gerekli eğitimin verilmesi uzun dönem sağlığın korunması ve sağlıklı gelecek nesiller için büyük önem taşımaktadır.

Kronik hastalıkların hızla artan prevalansı, yaşam kalitesini bozması ve bunun ülke ekonomisine getirdiği yük her geçen gün daha da büyük bir sorun haline gelmektedir. Fetal gelişim süreçlerinde bozulmalara yol açarak bu hastalıklara yakalanma riskini arttıran patofizyolojik mekanizmaların belirlenmesi gerekmektedir. Bu araştırma ile protein kalitesinin yavruda yol açabileceği metabolik ve fizyolojik değişikliklerin araştırılması için bir pencere açılmış olup, maternal düşük kaliteli protein diyetinin uzun dönem etkilerinin araştırılması için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

**KAYNAKLAR**

1. McArdle, H.J., Andersen, H.S., Jones, H., Gambling, L. (2006) Fetal programming: causes and consequences as revealed by studies of dietary manipulation in rats -- a review. *Placenta*, 27 Suppl A, S56-60.
2. Barker, D.J., Osmond, C. (1986) Infant mortality, childhood nutrition, and ischaemic heart disease in England and Wales. *Lancet*, 1 (8489), 1077-1081.
3. Osmond, C., Barker, D.J., Slattery, J.M. (1990) Risk of death from cardiovascular disease and chronic bronchitis determined by place of birth in England and Wales. *J Epidemiol Community Health*, 44 (2), 139-141.
4. Langley-Evans, S.C. (2006) Developmental programming of health and disease. *Proceedings of the Nutrition Society*, 65 (1), 97-105.
5. Roseboom, T.J., van der Meulen, J.H., Osmond, C., Barker, D.J., Ravelli, A.C., Schroeder-Tanka, J.M. ve diğeri. (2000) Coronary heart disease after prenatal exposure to the Dutch famine, 1944-45. *Heart*, 84 (6), 595-598.
6. Ravelli, A.C., van Der Meulen, J.H., Osmond, C., Barker, D.J., Bleker, O.P. (1999) Obesity at the age of 50 y in men and women exposed to famine prenatally. *Am J Clin Nutr*, 70 (5), 811-816.
7. Painter, R.C., Roseboom, T.J., van Montfrans, G.A., Bossuyt, P.M., Krediet, R.T., Osmond, C. ve diğeri. (2005) Microalbuminuria in adults after prenatal exposure to the Dutch famine. *J Am Soc Nephrol*, 16 (1), 189-194.
8. Ravelli, A.C., van der Meulen, J.H., Osmond, C., Barker, D.J., Bleker, O.P. (2000) Infant feeding and adult glucose tolerance, lipid profile, blood pressure, and obesity. *Arch Dis Child*, 82 (3), 248-252.
9. Langley-Evans, S.C. (2004). Fetal nutrition and adult disease : programming of chronic disease through fetal exposure to undernutrition. Wallingford: CABI Publishing.
10. Langley-Evans, S.C., Bellinger, L., McMullen, S. (2005) Animal models of programming: early life influences on appetite and feeding behaviour. *Matern Child Nutr*, 1 (3), 142-148.
11. Manalich, R., Reyes, L., Herrera, M., Melendi, C., Fundora, I. (2000) Relationship between weight at birth and the number and size of renal glomeruli in humans: a histomorphometric study. *Kidney Int*, 58 (2), 770-773.

12. Petrik, J., Reusens, B., Arany, E., Remacle, C., Coelho, C., Hoet, J.J. ve diğerleri. (1999) A low protein diet alters the balance of islet cell replication and apoptosis in the fetal and neonatal rat and is associated with a reduced pancreatic expression of insulin-like growth factor-II. *Endocrinology*, 140 (10), 4861-4873.
13. Maloney, C.A., Gosby, A.K., Phuyal, J.L., Denyer, G.S., Bryson, J.M., Caterson, I.D. (2003) Site-specific changes in the expression of fat-partitioning genes in weanling rats exposed to a low-protein diet in utero. *Obes Res*, 11 (3), 461-468.
14. Bellinger, L., Lilley, C., Langley-Evans, S.C. (2004) Prenatal exposure to a maternal low-protein diet programmes a preference for high-fat foods in the young adult rat. *Br J Nutr*, 92 (3), 513-520.
15. Bellinger, L., Langley-Evans, S.C. (2005) Fetal programming of appetite by exposure to a maternal low-protein diet in the rat. *Clin Sci (Lond)*, 109 (4), 413-420.
16. Jacques, H., Leblanc, N., Papineau, R., Richard, D., Cote, C.H. (2010) Peanut protein reduces body protein mass and alters skeletal muscle contractile properties and lipid metabolism in rats. *Br J Nutr*, 103 (9), 1331-1339.
17. Ohsumi, M., Shi, X., Tuchiya, T., Tujioka, K., Lyou, S., Hayase, K. ve diğerleri. (2007) The role of growth hormone and amino acids on brain protein synthesis in aged rats given proteins of different quantity and quality. *Amino Acids*, 32 (2), 247-253.
18. Bozzini, C.E., Champin, G.M., Alippi, R.M., Bozzini, C. (2013) Biomechanical properties of the mandible, as assessed by bending test, in rats fed a low-quality protein. *Arch Oral Biol*, 58 (4), 427-434.
19. Barker, D.J. (1995) Fetal origins of coronary heart disease. *BMJ*, 311 (6998), 171-174.
20. Gluckman, P.D., Hanson, M.A. (2004) The developmental origins of the metabolic syndrome. *Trends Endocrinol Metab*, 15 (4), 183-187.
21. Barker, D.J. (2007) The origins of the developmental origins theory. *J Intern Med*, 261 (5), 412-417.

22. Barker, D.J. (2006) Adult consequences of fetal growth restriction. *Clin Obstet Gynecol*, 49 (2), 270-283.
23. Bateson, P., Barker, D., Clutton-Brock, T., Deb, D., D'Udine, B., Foley, R.A. ve diğerleri. (2004) Developmental plasticity and human health. *Nature*, 430 (6998), 419-421.
24. Hales, C.N.,Barker, D.J. (1992) Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. *Diabetologia*, 35 (7), 595-601.
25. Wells, J.C. (2007) The thrifty phenotype as an adaptive maternal effect. *Biol Rev Camb Philos Soc*, 82 (1), 143-172.
26. Wells, J.C. (2003) The thrifty phenotype hypothesis: thrifty offspring or thrifty mother? *J Theor Biol*, 221 (1), 143-161.
27. Metcalfe, N.B.,Monaghan, P. (2001) Compensation for a bad start: grow now, pay later? *Trends Ecol Evol*, 16 (5), 254-260.
28. McMillen, I.C.,Robinson, J.S. (2005) Developmental origins of the metabolic syndrome: prediction, plasticity, and programming. *Physiol Rev*, 85 (2), 571-633.
29. Hales, C.N.,Barker, D.J. (2001) The thrifty phenotype hypothesis. *Br Med Bull*, 60, 5-20.
30. Koleganova, N., Benz, K., Piecha, G., Ritz, E.,Amann, K. (2012) Renal, cardiovascular and metabolic effects of fetal programming. *Nephrol Dial Transplant*, 27 (8), 3003-3007.
31. Langley-Evans, S.C., Welham, S.J.,Jackson, A.A. (1999) Fetal exposure to a maternal low protein diet impairs nephrogenesis and promotes hypertension in the rat. *Life Sci*, 64 (11), 965-974.
32. Woods, L.L., Weeks, D.A.,Rasch, R. (2004) Programming of adult blood pressure by maternal protein restriction: role of nephrogenesis. *Kidney Int*, 65 (4), 1339-1348.
33. Kermack, W.O., McKendrick, A.G.,McKinlay, P.L. (1934) Death-rates in Great Britain and Sweden: Expression of Specific Mortality Rates as Products of Two Factors, and some Consequences thereof. *J Hyg (Lond)*, 34 (4), 433-457.

34. Forsdahl, A. (1977) Are poor living conditions in childhood and adolescence an important risk factor for arteriosclerotic heart disease? *Br J Prev Soc Med*, 31 (2), 91-95.
35. Wadsworth, M.E., Cripps, H.A., Midwinter, R.E., Colley, J.R. (1985) Blood pressure in a national birth cohort at the age of 36 related to social and familial factors, smoking, and body mass. *Br Med J (Clin Res Ed)*, 291 (6508), 1534-1538.
36. Barker, D.J., Osmond, C., Golding, J., Kuh, D., Wadsworth, M.E. (1989) Growth in utero, blood pressure in childhood and adult life, and mortality from cardiovascular disease. *BMJ*, 298 (6673), 564-567.
37. Barker, D.J., Winter, P.D., Osmond, C., Margetts, B., Simmonds, S.J. (1989) Weight in infancy and death from ischaemic heart disease. *Lancet*, 2 (8663), 577-580.
38. Kermack, W.O., McKendrick, A.G., McKinlay, P.L. (2001) Death-rates in Great Britain and Sweden. Some general regularities and their significance. *Int J Epidemiol*, 30 (4), 678-683.
39. Barker, D.J., Bull, A.R., Osmond, C., Simmonds, S.J. (1990) Fetal and placental size and risk of hypertension in adult life. *BMJ*, 301 (6746), 259-262.
40. Hales, C.N., Barker, D.J., Clark, P.M., Cox, L.J., Fall, C., Osmond, C. ve diğeri. (1991) Fetal and infant growth and impaired glucose tolerance at age 64. *BMJ*, 303 (6809), 1019-1022.
41. Fall, C.H., Osmond, C., Barker, D.J., Clark, P.M., Hales, C.N., Stirling, Y. ve diğeri. (1995) Fetal and infant growth and cardiovascular risk factors in women. *BMJ*, 310 (6977), 428-432.
42. Law, C.M., Barker, D.J., Bull, A.R., Osmond, C. (1991) Maternal and fetal influences on blood pressure. *Arch Dis Child*, 66 (11), 1291-1295.
43. Phillips, D.I., Barker, D.J., Hales, C.N., Hirst, S., Osmond, C. (1994) Thinness at birth and insulin resistance in adult life. *Diabetologia*, 37 (2), 150-154.
44. Barker, D.J., Hales, C.N., Fall, C.H., Osmond, C., Phipps, K., Clark, P.M. (1993) Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus, hypertension and

- hyperlipidaemia (syndrome X): relation to reduced fetal growth. *Diabetologia*, 36 (1), 62-67.
45. Stanner, S.A., Yudkin, J.S. (2001) Fetal programming and the Leningrad Siege study. *Twin Res*, 4 (5), 287-292.
  46. Roseboom, T.J., van der Meulen, J.H., Ravelli, A.C., Osmond, C., Barker, D.J., Bleker, O.P. (2001) Effects of prenatal exposure to the Dutch famine on adult disease in later life: an overview. *Twin Res*, 4 (5), 293-298.
  47. Pavlov, D.V. (1965). Leningrad 1941: the blockade. Chicago,: University of Chicago Press.
  48. Stanner, S.A., Bulmer, K., Andres, C., Lantseva, O.E., Borodina, V., Poteen, V.V. ve diğeri. (1997) Does malnutrition in utero determine diabetes and coronary heart disease in adulthood? Results from the Leningrad siege study, a cross sectional study. *BMJ*, 315 (7119), 1342-1348.
  49. Sparen, P., Vagero, D., Shestov, D.B., Plavinskaja, S., Parfenova, N., Hoptiar, V. ve diğeri. (2004) Long term mortality after severe starvation during the siege of Leningrad: prospective cohort study. *BMJ*, 328 (7430), 11.
  50. Koupil, I., Shestov, D.B., Sparen, P., Plavinskaja, S., Parfenova, N., Vagero, D. (2007) Blood pressure, hypertension and mortality from circulatory disease in men and women who survived the siege of Leningrad. *Eur J Epidemiol*, 22 (4), 223-234.
  51. Lumey, L.H., Stein, A.D., Kahn, H.S., van der Pal-de Bruin, K.M., Blauw, G.J., Zybert, P.A. ve diğeri. (2007) Cohort profile: the Dutch Hunger Winter families study. *Int J Epidemiol*, 36 (6), 1196-1204.
  52. Painter, R.C., Roseboom, T.J., Bleker, O.P. (2005) Prenatal exposure to the Dutch famine and disease in later life: an overview. *Reprod Toxicol*, 20 (3), 345-352.
  53. Kramer, M.S., Joseph, K.S. (1996) Enigma of fetal/infant-origins hypothesis. *Lancet*, 348 (9037), 1254-1255.
  54. Huxley, R., Neil, A., Collins, R. (2002) Unravelling the fetal origins hypothesis: is there really an inverse association between birthweight and subsequent blood pressure? *Lancet*, 360 (9334), 659-665.

55. Huxley, R.R.,Neil, H.A. (2004) Does maternal nutrition in pregnancy and birth weight influence levels of CHD risk factors in adult life? *Br J Nutr*, 91 (3), 459-468.
56. Bertram, C.E.,Hanson, M.A. (2001) Animal models and programming of the metabolic syndrome. *Br Med Bull*, 60, 103-121.
57. Langley-Evans, S.C. (2004). Fetal nutrition and adult disease : programming of chronic disease through fetal exposure to undernutrition. Wallingford, Oxfordshire, OX ; Cambridge, MA: CABI Pub.
58. Holemans, K., Aerts, L.,Van Assche, A. (2003) Fetal Growth Restriction and Consequences for the Offspring in Animal Models. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation*, 10, 392-399.
59. Winick, M.,Noble, A. (1966) Cellular Response in Rats during Malnutrition at Various Ages. *Journal of Nutrition*, 89 (3), 300-&.
60. Woodall, S.M., Breier, B.H., Johnston, B.M.,Gluckman, P.D. (1996) A model of intrauterine growth retardation caused by chronic maternal undernutrition in the rat: effects on the somatotrophic axis and postnatal growth. *J Endocrinol*, 150 (2), 231-242.
61. Woodall, S.M., Johnston, B.M., Breier, B.H.,Gluckman, P.D. (1996) Chronic maternal undernutrition in the rat leads to delayed postnatal growth and elevated blood pressure of offspring. *Pediatr Res*, 40 (3), 438-443.
62. Garofano, A., Czernichow, P.,Breant, B. (1997) In utero undernutrition impairs rat beta-cell development. *Diabetologia*, 40 (10), 1231-1234.
63. Vickers, M.H., Breier, B.H., Cutfield, W.S., Hofman, P.L.,Gluckman, P.D. (2000) Fetal origins of hyperphagia, obesity, and hypertension and postnatal amplification by hypercaloric nutrition. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 279 (1), E83-87.
64. Ozaki, T., Nishina, H., Hanson, M.A.,Poston, L. (2001) Dietary restriction in pregnant rats causes gender-related hypertension and vascular dysfunction in offspring. *J Physiol*, 530 (Pt 1), 141-152.
65. Ferezou-Viala, J., Roy, A.F., Serougne, C., Gripois, D., Parquet, M., Bailleux, V. ve diğ erleri. (2007) Long-term consequences of maternal high-fat feeding

- on hypothalamic leptin sensitivity and diet-induced obesity in the offspring. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 293 (3), R1056-1062.
66. Chang, G.Q., Gaysinskaya, V., Karatayev, O., Leibowitz, S.F. (2008) Maternal high-fat diet and fetal programming: increased proliferation of hypothalamic peptide-producing neurons that increase risk for overeating and obesity. *J Neurosci*, 28 (46), 12107-12119.
  67. Sampey, B.P., Vanhoose, A.M., Winfield, H.M., Freerman, A.J., Muehlbauer, M.J., Fueger, P.T. ve diğerleri. (2011) Cafeteria diet is a robust model of human metabolic syndrome with liver and adipose inflammation: comparison to high-fat diet. *Obesity (Silver Spring)*, 19 (6), 1109-1117.
  68. Bayol, S.A., Simbi, B.H., Stickland, N.C. (2005) A maternal cafeteria diet during gestation and lactation promotes adiposity and impairs skeletal muscle development and metabolism in rat offspring at weaning. *J Physiol*, 567 (Pt 3), 951-961.
  69. Wright, T.M., Fone, K.C., Langley-Evans, S.C., Voigt, J.P. (2011) Exposure to maternal consumption of cafeteria diet during the lactation period programmes feeding behaviour in the rat. *Int J Dev Neurosci*, 29 (8), 785-793.
  70. Tüfekçi Alphan, E., Baş, M., Baysal, A., Kutluay Merdol, T., Kızıltan, G., Pekcan, G. ve diğerleri. (2014). *Hastalıklarda Beslenme Tedavisi*. Ankara: Hatiboğlu Yayıncılık.
  71. Gropper, S.A.S., Smith, J.L., Groff, J.L. (2009). *Advanced nutrition and human metabolism* (5th bs.). Australia ; United States: Wadsworth/Cengage Learning.
  72. Caballero, B., Allen, L., Prentice, A. (2005). *Encyclopedia of human nutrition* (2nd ed. / editor-in-chief, Benjamin Caballero ; editors, Lindsay Allen, Andrew Prentice. bs.). Amsterdam ; London: Elsevier Academic Press.
  73. Gibney, M.J., Macdonald, I., Roche, H.M., Nutrition Society (Great Britain). (2003). *Nutrition and metabolism*. Oxford, OX ; Ames, Iowa: Iowa State Press.



74. Jahan-Mihan, A., Luhovyy, B.L., El Khoury, D., Anderson, G.H. (2011) Dietary proteins as determinants of metabolic and physiologic functions of the gastrointestinal tract. *Nutrients*, 3 (5), 574-603.
75. Yada, R.Y. (2004). *Proteins in food processing*. Cambridge: Woodhead Publishing.
76. Fox, P.F., McSweeney, P.L.H. (1998). *Dairy chemistry and biochemistry*. London: Blackie Academic & Professional.
77. Boye, J., Wijesinha-Bettoni, R., Burlingame, B. (2012) Protein quality evaluation twenty years after the introduction of the protein digestibility corrected amino acid score method. *Br J Nutr*, 108 Suppl 2, S183-211.
78. Li, P., Yin, Y.L., Li, D., Kim, S.W., Wu, G. (2007) Amino acids and immune function. *Br J Nutr*, 98 (2), 237-252.
79. Alberts, B. (2002). *Molecular biology of the cell* (4th ed / Bruce Alberts ... [et al.] bs.). New York: Garland Science.
80. Bhagavan, N.V., Ha, C.-E. (2011). *Essentials of medical biochemistry : with clinical cases* (1st bs.). Amsterdam ; Boston: Elsevier/Academic Press.
81. Wu, G. (2009) Amino acids: metabolism, functions, and nutrition. *Amino Acids*, 37 (1), 1-17.
82. Frayn, K.N. (2010). *Metabolic regulation : a human perspective* (3rd ed. bs.). Chichester: Wiley-Blackwell.
83. Champe, P.C., Harvey, R.A., Ferrier, D.R. (2005). *Biochemistry* (3rd bs.). Philadelphia: Lippincott/Williams & Wilkins.
84. Stipanuk, M.H., Caudill, M.A. (2013). *Biochemical, physiological, and molecular aspects of human nutrition* (3rd bs.). St. Louis, Mo.: Elsevier/Saunders.
85. Cynober, L.A. (2002) Plasma amino acid levels with a note on membrane transport: characteristics, regulation, and metabolic significance. *Nutrition*, 18 (9), 761-766.
86. DeSantiago, S., Ramirez, I., Tovar, A.R., Ortiz, N., Torres, N., Bourges, H. (1999) Amino acid profiles in diet, plasma, and human milk in Mexican rural lactating women. *Nutrition Research*, 19 (8), 1133-1143.

87. Newsholme, P., Lima, M.M., Procopio, J., Pithon-Curi, T.C., Doi, S.Q., Bazotte, R.B. ve diğeri. (2003) Glutamine and glutamate as vital metabolites. *Braz J Med Biol Res*, 36 (2), 153-163.
88. Pitkanen, H.T., Nykanen, T., Knuutinen, J., Lahti, K., Keinanen, O., Alen, M. ve diğeri. (2003) Free amino acid pool and muscle protein balance after resistance exercise. *Med Sci Sports Exerc*, 35 (5), 784-792.
89. Caballero, B. *Encyclopedia of human nutrition* (Third edition. bs.).
90. Brosnan, J.T. (2003) Interorgan amino acid transport and its regulation. *J Nutr*, 133 (6 Suppl 1), 2068S-2072S.
91. Brosnan, J.T., Brosnan, M.E. (2006) Branched-chain amino acids: enzyme and substrate regulation. *J Nutr*, 136 (1 Suppl), 207S-211S.
92. Shils, M.E., Shike, M. (2006). *Modern nutrition in health and disease* (10th bs.). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
93. Fouillet, H., Juillet, B., Gaudichon, C., Mariotti, F., Tome, D., Bos, C. (2009) Absorption kinetics are a key factor regulating postprandial protein metabolism in response to qualitative and quantitative variations in protein intake. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 297 (6), R1691-1705.
94. Tan, S.Y., Batterham, M., Tapsell, L. (2010) Energy expenditure does not differ, but protein oxidation rates appear lower in meals containing predominantly meat versus soy sources of protein. *Obes Facts*, 3 (2), 101-104.
95. Fouillet, H., Mariotti, F., Gaudichon, C., Bos, C., Tome, D. (2002) Peripheral and splanchnic metabolism of dietary nitrogen are differently affected by the protein source in humans as assessed by compartmental modeling. *J Nutr*, 132 (1), 125-133.
96. Berg, J.M., Tymoczko, J.L., Stryer, L. (2002). *Biochemistry* (5th bs.). New York: W.H. Freeman And Company.
97. Geissler, C., Powers, H.J., Garrow, J.S. (2005). *Human nutrition* (11th bs.). Edinburgh ; New York: Elsevier/Churchill Livingstone.
98. Adeva, M.M., Souto, G., Blanco, N., Donapetry, C. (2012) Ammonium metabolism in humans. *Metabolism*, 61 (11), 1495-1511.

99. Matthews, D.E. (2007) An overview of phenylalanine and tyrosine kinetics in humans. *J Nutr*, 137 (6 Suppl 1), 1549S-1555S; discussion 1573S-1575S.
100. Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids (Macronutrients) (Rapor No). (2005). Washington, D.C.
101. Wilson, J., Wilson, G.J. (2006) Contemporary issues in protein requirements and consumption for resistance trained athletes. *J Int Soc Sports Nutr*, 3, 7-27.
102. Millward, D.J. (1999) The nutritional value of plant-based diets in relation to human amino acid and protein requirements. *Proc Nutr Soc*, 58 (2), 249-260.
103. Gilani, G.S., Cockell, K.A., Sepehr, E. (2005) Effects of antinutritional factors on protein digestibility and amino acid availability in foods. *J AOAC Int*, 88 (3), 967-987.
104. Joint, W.H.O.F.A.O.U.N.U.E.C. (2007) Protein and amino acid requirements in human nutrition. *World Health Organ Tech Rep Ser* (935), 1-265, back cover.
105. Sarwar Gilani, G., Wu Xiao, C., Cockell, K.A. (2012) Impact of antinutritional factors in food proteins on the digestibility of protein and the bioavailability of amino acids and on protein quality. *Br J Nutr*, 108 Suppl 2, S315-332.
106. Hall, W.L., Millward, D.J., Long, S.J., Morgan, L.M. (2003) Casein and whey exert different effects on plasma amino acid profiles, gastrointestinal hormone secretion and appetite. *Br J Nutr*, 89 (2), 239-248.
107. Gaudichon, C., Mahe, S., Benamouzig, R., Luengo, C., Fouillet, H., Dare, S. ve diğeri. (1999) Net postprandial utilization of [15N]-labeled milk protein nitrogen is influenced by diet composition in humans. *J Nutr*, 129 (4), 890-895.
108. Juillet, B., Fouillet, H., Bos, C., Mariotti, F., Gausseres, N., Benamouzig, R. ve diğeri. (2008) Increasing habitual protein intake results in reduced postprandial efficiency of peripheral, anabolic wheat protein nitrogen use in humans. *Am J Clin Nutr*, 87 (3), 666-678.
109. Koopman, R., Crombach, N., Gijsen, A.P., Walrand, S., Fauquant, J., Kies, A.K. ve diğeri. (2009) Ingestion of a protein hydrolysate is accompanied

by an accelerated in vivo digestion and absorption rate when compared with its intact protein. *Am J Clin Nutr*, 90 (1), 106-115.

110. Millward, D.J., Layman, D.K., Tome, D., Schaafsma, G. (2008) Protein quality assessment: impact of expanding understanding of protein and amino acid needs for optimal health. *Am J Clin Nutr*, 87 (5), 1576S-1581S.
111. Tome, D., Bos, C. (2000) Dietary protein and nitrogen utilization. *J Nutr*, 130 (7), 1868S-1873S.
112. Schaafsma, G. (2012) Advantages and limitations of the protein digestibility-corrected amino acid score (PDCAAS) as a method for evaluating protein quality in human diets. *Br J Nutr*, 108 Suppl 2, S333-336.
113. Duggleby, S.L., Jackson, A.A. (2002) Protein, amino acid and nitrogen metabolism during pregnancy: how might the mother meet the needs of her fetus? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 5 (5), 503-509.
114. Russell-Jones, D.L., Umpleby, A.M. (1996). *Protein metabolism*. London: Ballie\0300re Tindall.
115. Kalhan, S.C. (2000) Protein metabolism in pregnancy. *Am J Clin Nutr*, 71 (5 Suppl), 1249S-1255S.
116. Duggleby, S.L., Jackson, A.A. (2001) Relationship of maternal protein turnover and lean body mass during pregnancy and birth length. *Clin Sci (Lond)*, 101 (1), 65-72.
117. King, J.C. (2000) Physiology of pregnancy and nutrient metabolism. *Am J Clin Nutr*, 71 (5 Suppl), 1218S-1225S.
118. Kalhan, S.C., Parimi, P.S. (2006) Transamination of leucine and nitrogen accretion in human pregnancy and the newborn infant. *J Nutr*, 136 (1 Suppl), 281S-287S.
119. Hadden, D.R., McLaughlin, C. (2009) Normal and abnormal maternal metabolism during pregnancy. *Semin Fetal Neonatal Med*, 14 (2), 66-71.
120. Ramakrishnan, U., Grant, F., Goldenberg, T., Zongrone, A., Martorell, R. (2012) Effect of women's nutrition before and during early pregnancy on maternal and infant outcomes: a systematic review. *Paediatr Perinat Epidemiol*, 26 Suppl 1, 285-301.

121. Borazjani, F., Angali, K.A., Kulkarni, S.S. (2013) Milk and protein intake by pregnant women affects growth of foetus. *J Health Popul Nutr*, 31 (4), 435-445.
122. Ramakrishnan, U. (2004) Nutrition and low birth weight: from research to practice. *Am J Clin Nutr*, 79 (1), 17-21.
123. Imdad, A., Bhutta, Z.A. (2011) Effect of balanced protein energy supplementation during pregnancy on birth outcomes. *BMC Public Health*, 11 Suppl 3, S17.
124. Imdad, A., Bhutta, Z.A. (2012) Maternal nutrition and birth outcomes: effect of balanced protein-energy supplementation. *Paediatr Perinat Epidemiol*, 26 Suppl 1, 178-190.
125. Liberato, S.C., Singh, G., Mulholland, K. (2013) Effects of protein energy supplementation during pregnancy on fetal growth: a review of the literature focusing on contextual factors. *Food Nutr Res*, 57.
126. Desai, M., Crowther, N.J., Lucas, A., Hales, C.N. (1996) Organ-selective growth in the offspring of protein-restricted mothers. *Br J Nutr*, 76 (4), 591-603.
127. Rees, W.D., Hay, S.M., Buchan, V., Antipatis, C., Palmer, R.M. (1999) The effects of maternal protein restriction on the growth of the rat fetus and its amino acid supply. *Br J Nutr*, 81 (3), 243-250.
128. Langley-Evans, S.C. (2000) Critical differences between two low protein diet protocols in the programming of hypertension in the rat. *Int J Food Sci Nutr*, 51 (1), 11-17.
129. Reusens, B., Remacle, C. (2006) Programming of the endocrine pancreas by the early nutritional environment. *Int J Biochem Cell Biol*, 38 (5-6), 913-922.
130. Dumortier, O., Blondeau, B., Duvillie, B., Reusens, B., Breant, B., Remacle, C. (2007) Different mechanisms operating during different critical time-windows reduce rat fetal beta cell mass due to a maternal low-protein or low-energy diet. *Diabetologia*, 50 (12), 2495-2503.
131. Remacle, C., Dumortier, O., Bol, V., Goosse, K., Romanus, P., Theys, N. ve diğ erleri. (2007) Intrauterine programming of the endocrine pancreas. *Diabetes Obes Metab*, 9 Suppl 2, 196-209.

132. Heywood, W.E., Mian, N., Milla, P.J., Lindley, K.J. (2004) Programming of defective rat pancreatic beta-cell function in offspring from mothers fed a low-protein diet during gestation and the suckling periods. *Clin Sci (Lond)*, 107 (1), 37-45.
133. Petry, C.J., Dorling, M.W., Pawlak, D.B., Ozanne, S.E., Hales, C.N. (2001) Diabetes in old male offspring of rat dams fed a reduced protein diet. *Int J Exp Diabetes Res*, 2 (2), 139-143.
134. Zambrano, E., Bautista, C.J., Deas, M., Martinez-Samayoa, P.M., Gonzalez-Zamorano, M., Ledesma, H. ve diğeri. (2006) A low maternal protein diet during pregnancy and lactation has sex- and window of exposure-specific effects on offspring growth and food intake, glucose metabolism and serum leptin in the rat. *J Physiol*, 571 (Pt 1), 221-230.
135. Langley-Evans, S.C., Phillips, G.J., Benediktsson, R., Gardner, D.S., Edwards, C.R., Jackson, A.A. ve diğeri. (1996) Protein intake in pregnancy, placental glucocorticoid metabolism and the programming of hypertension in the rat. *Placenta*, 17 (2-3), 169-172.
136. Woods, L.L., Ingelfinger, J.R., Nyengaard, J.R., Rasch, R. (2001) Maternal protein restriction suppresses the newborn renin-angiotensin system and programs adult hypertension in rats. *Pediatr Res*, 49 (4), 460-467.
137. Vehaskari, V.M., Aviles, D.H., Manning, J. (2001) Prenatal programming of adult hypertension in the rat. *Kidney Int*, 59 (1), 238-245.
138. Benz, K., Amann, K. (2010) Maternal nutrition, low nephron number and arterial hypertension in later life. *Biochim Biophys Acta*, 1802 (12), 1309-1317.
139. Mesquita, F.F., Gontijo, J.A., Boer, P.A. (2010) Maternal undernutrition and the offspring kidney: from fetal to adult life. *Braz J Med Biol Res*, 43 (11), 1010-1018.
140. Kwong, W.Y., Wild, A.E., Roberts, P., Willis, A.C., Fleming, T.P. (2000) Maternal undernutrition during the preimplantation period of rat development causes blastocyst abnormalities and programming of postnatal hypertension. *Development*, 127 (19), 4195-4202.

141. Carey, R.M., Siragy, H.M. (2003) Newly recognized components of the renin-angiotensin system: potential roles in cardiovascular and renal regulation. *Endocr Rev*, 24 (3), 261-271.
142. Guron, G., Friberg, P. (2000) An intact renin-angiotensin system is a prerequisite for normal renal development. *J Hypertens*, 18 (2), 123-137.
143. Woods, L.L., Rasch, R. (1998) Perinatal ANG II programs adult blood pressure, glomerular number, and renal function in rats. *Am J Physiol*, 275 (5 Pt 2), R1593-1599.
144. Sahajpal, V., Ashton, N. (2003) Renal function and angiotensin AT1 receptor expression in young rats following intrauterine exposure to a maternal low-protein diet. *Clin Sci (Lond)*, 104 (6), 607-614.
145. Dietrich, M.O., Horvath, T.L. (2013) Hypothalamic control of energy balance: insights into the role of synaptic plasticity. *Trends Neurosci*, 36 (2), 65-73.
146. Plagemann, A., Harder, T., Rake, A., Melchior, K., Rohde, W., Dorner, G. (2000) Hypothalamic nuclei are malformed in weanling offspring of low protein malnourished rat dams. *J Nutr*, 130 (10), 2582-2589.
147. Matthews, S.G. (2002) Early programming of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis. *Trends Endocrinol Metab*, 13 (9), 373-380.
148. Koie, M., Tanaka, M., Hayase, K., Yoshida, A., Yokogoshi, H. (1999) Effect of dietary protein quality on the brain protein synthesis rate in aged rats. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*, 45 (4), 481-489.
149. Tujioka, K., Ohsumi, M., Hayase, K., Yokogoshi, H. (2011) Effect of the quality of dietary amino acids composition on the urea synthesis in rats. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*, 57 (1), 48-55.
150. Taciak, M., Tusnio, A., Pastuszewska, B. (2011) The effects of feeding diets containing potato protein concentrate on reproductive performance of rats and quality of the offspring. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*, 95 (5), 556-563.
151. Sampson, D.A., Hunsaker, H.A., Jansen, G.R. (1986) Dietary protein quality, protein quantity and food intake: effects on lactation and on protein synthesis and tissue composition in mammary tissue and liver in rats. *J Nutr*, 116 (3), 365-375.

152. Jansen, G.R., Schibly, M.B., Masor, M., Sampson, D.A., Longenecker, J.B. (1986) Free amino acid levels during lactation in rats: effects of protein quality and protein quantity. *J Nutr*, 116 (3), 376-387.
153. Jahan-mihan, A., Smith, C.E., Hamedani, A., Anderson, G.H. (2011) Soy protein-based compared with casein-based diets fed during pregnancy and lactation increase food intake and characteristics of metabolic syndrome less in female than male rat offspring. *Nutr Res*, 31 (8), 644-651.
154. Baysal, A. (2012). *Beslenme*. Ankara: Hatiboğlu Yayıncılık.
155. Han, S., Chee, K., Cho, S. (2015) Nutritional quality of rice bran protein in comparison to animal and vegetable protein. *Food Chemistry*, 172, 766-769.
156. Eroğlu, F., Eroğlu, H.E. (2012). Ratlarda Analjezi ve Anestezi. O. Yücel (Ed.). *Küçük Deney Hayvanlarından Rat* (s. 52-59). Ankara
157. Reeves, P.G., Nielsen, F.H., Fahey, G.C., Jr. (1993) AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr*, 123 (11), 1939-1951.
158. İssi, M., Gül, Y. (2012). Deney Hayvanlarında Kan ve Örnek Alma Teknikleri. O. Yücel (Ed.). *Küçük Deney Hayvanlarından Rat* (s. 60-68). Ankara
159. Sampson, D.A., Jansen, G.R. (1984) Measurement of milk yield in the lactating rat from pup weight and weight gain. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 3 (4), 613-617.
160. Badawy, A.A., Morgan, C.J., Turner, J.A. (2008) Application of the Phenomenex EZ:faast trade mark amino acid analysis kit for rapid gas-chromatographic determination of concentrations of plasma tryptophan and its brain uptake competitors. *Amino Acids*, 34 (4), 587-596.
161. Palou, A., Arola, L., Alemany, M. (1977) Plasma amino acid concentrations in pregnant rats and in 21-day fetuses. *Biochem J*, 166 (1), 49-55.
162. Hayran, M.A., Hayran, M. (2011). *Sağlık Araştırmaları İçin Temel İstatistik*. Ankara: Hayran Yayıncılık.
163. Rosner, B. (2011). *Fundamentals of biostatistics* (7th ed., International ed. bs.). Pacific Grove, Calif.: Brooks/Cole, Cengage Learning.



164. Schonfeldt, H.C.,Gibson Hall, N. (2012) Dietary protein quality and malnutrition in Africa. *Br J Nutr*, 108 Suppl 2, S69-76.
165. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü (2010). Türkiye Beslenme ve Sağlık Araştırması Beslenme Durumu ve Alışkanlıklarının Değerlendirilmesi Sonuç Raporu. Ankara: Sağlık Bakanlığı.
166. Ghosh, S., Suri, D.,Uauy, R. (2012) Assessment of protein adequacy in developing countries: quality matters. *Br J Nutr*, 108 Suppl 2, S77-87.
167. Park, B.C. (2006) Amino Acid Imbalance-Biochemical Mechanism and Nutritional Aspects. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, 19 (9), 1361-1368.
168. Yokogoshi, H., Hayase, K.,Yoshida, A. (1992) The quality and quantity of dietary protein affect brain protein synthesis in rats. *J Nutr*, 122 (11), 2210-2217.
169. Peng, Y.,Harper, A.E. (1970) Amino acid balance and food intake: effect of different dietary amino acid patterns on the plasma amino acid pattern of rats. *J Nutr*, 100 (4), 429-437.
170. Menaker, L.,Navia, J.M. (1973) Appetite regulation in the rat under various physiological conditions: the role of dietary protein and calories. *J Nutr*, 103 (3), 347-352.
171. Peters, J.C.,Harper, A.E. (1985) Adaptation of rats to diets containing different levels of protein: effects on food intake, plasma and brain amino acid concentrations and brain neurotransmitter metabolism. *J Nutr*, 115 (3), 382-398.
172. Tews, J.K., Kim, Y.W.,Harper, A.E. (1980) Induction of threonine imbalance by dispensable amino acids: relationships between tissue amino acids and diet in rats. *J Nutr*, 110 (3), 394-408.
173. Peng, Y., Meliza, L.L., Vavich, M.G.,Kemmerer, A.R. (1975) Effects of amino acid imbalance and protein content of diets on food intake and preference of young, adult, and diabetic rats. *J Nutr*, 105 (11), 1395-1404.
174. Tackman, J.M., Tews, J.K.,Harper, A.E. (1990) Dietary disproportions of amino acids in the rat: effects on food intake, plasma and brain amino acids and brain serotonin. *J Nutr*, 120 (5), 521-533.


175. Jansen, G.R., Binard, R., Longenecker, J.B. (1991) Protein quality and quantity influence free amino acid levels in the brain and serum of rats during lactation. *J Nutr*, 121 (8), 1187-1194.
176. Kwong, E., Barnes, R.H. (1977) Comparative contributions of dietary protein quality and quantity to growth during gestation, lactation and postweaning in the rat. *J Nutr*, 107 (3), 420-425.
177. Jansen, G.R., Hunsaker, H. (1986) Effect of dietary protein and energy on protein synthesis during lactation in rats. *J Nutr*, 116 (6), 957-968.
178. Jansen, G.R., Grayson, C., Hunsaker, H. (1987) Wheat gluten during pregnancy and lactation: effects on mammary gland development and pup viability. *Am J Clin Nutr*, 46 (2), 250-257.
179. Kalhan, S.C. (2013) One-carbon metabolism, fetal growth and long-term consequences. *Nestle Nutr Inst Workshop Ser*, 74, 127-138.
180. Wu, G. Amino acids : *biochemistry and nutrition*.
181. Wu, G., Bazer, F.W., Cudd, T.A., Meininger, C.J., Spencer, T.E. (2004) Maternal nutrition and fetal development. *J Nutr*, 134 (9), 2169-2172.
182. Kalhan, S.C., Uppal, S.O., Moorman, J.L., Bennett, C., Gruca, L.L., Parimi, P.S. ve diğerleri. (2011) Metabolic and genomic response to dietary isocaloric protein restriction in the rat. *J Biol Chem*, 286 (7), 5266-5277.
183. Yajnik, C.S., Deshmukh, U.S. (2008) Maternal nutrition, intrauterine programming and consequential risks in the offspring. *Rev Endocr Metab Disord*, 9 (3), 203-211.
184. Venkatachalam, P.S., Ramanathan, K.S. (1964) Effect of Protein Deficiency during Gestation and Lactation on Body Weight and Composition of Offspring. *J Nutr*, 84, 38-42.
185. Lima, J.G., Oliveira, L.M., Lachat, J.J., Dal-Bo, C.M., Almeida, S.S. (1993) Comparison of the effects of lab chow and casein diets based on body and brain development of rats. *Braz J Med Biol Res*, 26 (10), 1069-1076.
186. Brawley, L., Itoh, S., Torrens, C., Barker, A., Bertram, C., Poston, L. ve diğerleri. (2003) Dietary protein restriction in pregnancy induces hypertension and vascular defects in rat male offspring. *Pediatr Res*, 54 (1), 83-90.

187. Torres, N., Bautista, C.J., Tovar, A.R., Ordaz, G., Rodriguez-Cruz, M., Ortiz, V. ve diğeri. (2010) Protein restriction during pregnancy affects maternal liver lipid metabolism and fetal brain lipid composition in the rat. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 298 (2), E270-277.
188. Baracos, V.E. (2006) Integration of amino acid metabolism during intense lactation. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 9 (1), 48-52.
189. Filho, J.C., Hazel, S.J., Anderstam, B., Bergstrom, J., Lewitt, M., Hall, K. (1999) Effect of protein intake on plasma and erythrocyte free amino acids and serum IGF-I and IGFBP-1 levels in rats. *Am J Physiol*, 277 (4 Pt 1), E693-701.
190. Swenseid, M.E., Villalobos, J., Friedrich, B. (1963) Ratios of essential-to-nonessential amino acids in plasma from rats fed different kinds and amounts of proteins and amino acids. *J Nutr*, 80, 99-102.
191. Newsholme, P., Procopio, J., Lima, M.M., Pithon-Curi, T.C., Curi, R. (2003) Glutamine and glutamate--their central role in cell metabolism and function. *Cell Biochem Funct*, 21 (1), 1-9.
192. Curi, R., Lagranha, C.J., Doi, S.Q., Sellitti, D.F., Procopio, J., Pithon-Curi, T.C. (2005) Glutamine-dependent changes in gene expression and protein activity. *Cell Biochem Funct*, 23 (2), 77-84.
193. Bateson, P., Gluckman, P., Hanson, M. (2014) The biology of developmental plasticity and the Predictive Adaptive Response hypothesis. *J Physiol*, 592 (Pt 11), 2357-2368.
194. Kindt, E., Gueneva-Boucheva, K., Rekhter, M.D., Humphries, J., Hallak, H. (2003) Determination of hydroxyproline in plasma and tissue using electrospray mass spectrometry. *J Pharm Biomed Anal*, 33 (5), 1081-1092.
195. Kume, S., Yamato, M., Tamura, Y., Jin, G., Nakano, M., Miyashige, Y. ve diğeri. (2015) Potential biomarkers of fatigue identified by plasma metabolome analysis in rats. *PLoS One*, 10 (3), e0120106.
196. Kalhan, S.C., Marczewski, S.E. (2012) Methionine, homocysteine, one carbon metabolism and fetal growth. *Rev Endocr Metab Disord*, 13 (2), 109-119.

197. Cleal, J.K., Lewis, R.M. (2008) The mechanisms and regulation of placental amino acid transport to the human foetus. *J Neuroendocrinol*, 20 (4), 419-426.
198. Avagliano, L., Garo, C., Marconi, A.M. (2012) Placental amino acids transport in intrauterine growth restriction. *J Pregnancy*, 2012, 972562.
199. Cetin, I. (2001) Amino acid interconversions in the fetal-placental unit: the animal model and human studies in vivo. *Pediatr Res*, 49 (2), 148-154.
200. Cetin, I. (2003) Placental transport of amino acids in normal and growth-restricted pregnancies. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 110 Suppl 1, S50-54.
201. Parimi, P.S., Cripe-Mamie, C., Kalhan, S.C. (2004) Metabolic responses to protein restriction during pregnancy in rat and translation initiation factors in the mother and fetus. *Pediatr Res*, 56 (3), 423-431.
202. Okame, R., Nakahara, K., Murakami, N. (2015) Plasma amino acid profiles at various reproductive stages in female rats. *J Vet Med Sci*.

**EKLER**

EK 1: Etik Kurul

 **HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ**  
**HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU**

06100 Sıhhiye-Ankara  
Telefon: 0 (312) 305 1090-1082 - Faks: 0 (312) 300 0580  
www.etikkurul.hacettepe.edu.tr/index\_hdk.php

Sayı: 52338575 - 40

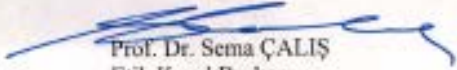
26 Mart 2014

**HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL KARARI**

<b>TOPLANTI TARİHİ</b>	: 21.03.2014 (CUMA)
<b>TOPLANTI SAYISI</b>	: 2014/03
<b>DOSYA KAYIT NUMARASI</b>	: 2014/17
<b>KARAR NUMARASI</b>	: 2014/17-02
<b>ARAŞTIRMA YÜRÜTÜCÜSÜ</b>	: Yrd.Doç.Dr. Aslı AKYOL
<b>HAYVAN DENEYLERİNDEN SORUMLU ARAŞTIRMACI</b>	: Yrd.Doç.Dr. Aslı AKYOL, Öğr. Gör. Atilla GÜLEÇ, Araş. Gör. Arzu KABASAKAL
<b>YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR</b>	: -
<b>ONAYLANAN HAYVAN TÜRÜ ve SAYISI</b>	: 30 adet wistar rat (20 dişi, 10 erkek)

Üniversitemiz Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü öğretim üyelerinden Yrd.Doç.Dr. Aslı AKYOL'un araştırma yürütücüsü olduğu 2014/17 kayıt numaralı "*Ratlarda Maternal Düşük Kaliteli Protein Diyetinin Fetal Gelişim ve Plazma Amino Asit Profili Üzerine Etkisi*" isimli çalışma Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi'ne göre uygun bulunarak oy birliği ile onaylanmasına karar verilmiştir.

Sorumlu araştırmacı deneylere başlangıç tarihini Etik Kurula bildirmekle yükümlüdür.

  
Prof. Dr. Sema ÇALIŞ  
Etik Kurul Başkanı

## EK 2: Yem İçeriği

---

<b>İçindekiler</b>	<b>Kazeinli Yem</b>	<b>Buğday Glutenli Yem</b>
Protein (%)	20	20
Yağ (%)	4.1	4.1
Karbonhidrat (%)	75.9	75.9
Enerji (KJ)	1758	1758
Kalsiyum (%)	0.9	0.9
Fosfor (%)	0.28	0.28
Sodyum (%)	0.11	0.11

---

## EK 3: Plazmada Bakılan Amino Asitler

<b>1.</b> Alanin	<b>9.</b> Treonin	<b>17.</b> İzolösin
<b>2.</b> Sarkozin	<b>10.</b> Prolin	<b>18.</b> Metiyonin
<b>3.</b> Glutamik asit	<b>11.</b> Hidroksiprolin	<b>19.</b> Sistin
<b>4.</b> Glutamin	<b>12.</b> Glisil-prolin	<b>20.</b> Sistatyonin
<b>5.</b> Aspartik asit	<b>13.</b> Lizin	<b>21.</b> Ornitin
<b>6.</b> Asparajin	<b>14.</b> Histidin	<b>22.</b> Tirozin
<b>7.</b> Glisin	<b>15.</b> Valin	<b>23.</b> Fenilalanin
<b>8.</b> Serin	<b>16.</b> Lösin	<b>24.</b> Triptofan

## EK 4: Diyetlerin Amino Asit Kompozisyonu

Amino Asitler	% 20 Kazein Diyeti	% 20 Buğday Gluteni Diyeti
	(mmol/100 g)	
Aspartik Asit	11.0	5.7
Treonin	7.2	4.7
Serin	10.3	9.3
Glutamin	29.9	54.4
Glisin	5.1	9.9
Alanin	7.0	6.5
Valin	11.9	7.7
Sistein	0.8	3.6
Metiyonin	4.2*	2.4
İzolöysin	8.5	6.3
Löysin	14.8	11.4
Tirozin	6.4	3.8
Fenilalanin	6.4	6.9
Triptofan	1.3	1.1
Lizin	11.4	2.6
Histidin	4.0	3.1
Arjinin	4.0	4.4
Prolin	20.9	27.8

\*Diyete metiyonin eki yapılmadığı için bu değeri yansıtmayacaktır.