

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**RATLARDA MATERNAL DÜŞÜK KALİTELİ PROTEİN
DİYETİNİN DOĞUM SONRASI BÜYÜME VE GELİŞME
ÜZERİNE ETKİSİ**

Dyt. Halil DAŞGIN

Beslenme Bilimleri Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANKARA

2016

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**RATLARDA MATERNAL DÜŞÜK KALİTELİ PROTEİN
DİYETİNİN DOĞUM SONRASI BÜYÜME VE GELİŞME
ÜZERİNE ETKİSİ**

Dyt. Halil DAŞGIN

Beslenme Bilimleri Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Yrd. Doç. Dr. Aslı AKYOL MUTLU

ANKARA

2016

Anabilim Dalı :Beslenme ve Diyetetik
 Program :Beslenme Bilimleri
 Tez Başlığı :RATLARDA MATERNAL DÜŞÜK KALİTELİ PROTEİN
 DİYETİNİN DOĞUM SONRASI BÜYÜME VE GELİŞME
 ÜZERİNE ETKİSİ
 Öğrenci Adı-Soyadı :Halil DAŞGIN
 Savunma Sınavı Tarihi :15/03/2016

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

Jüri Başkanı ve Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Aslı Akyol MUTLU

Hacettepe Üniversitesi

Üye:

Doç. Dr. Emine Akal YILDIZ

Hacettepe Üniversitesi

Üye:

Doç. Dr. Gülhan SAMUR

Hacettepe Üniversitesi

Üye:

Doç. Dr. Zehra Büyüktuncer

DEMİREL

Hacettepe Üniversitesi

Üye:

Doç. Dr. Fatma Nişancı KILINÇ

Kırıkkale 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. Diclehan ORHAN
 Müdür

TEŞEKKÜR

Yazar bu çalışmanın gerçekleşmesine katkılarından dolayı, aşağıda adı geçen kişi ve kuruluşlara içtenlikle teşekkür eder.

Yüksek lisans eğitim dönemimin her aşamasında ilgi ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, hoşgörüsü, anlayışı ve içtenliği ile her zaman yanımda olan, çok kıymetli tecrübe ve önerileri ile tezimin her aşamasında bana yol gösteren tez danışmanım, çok değerli hocam **Yrd. Doç. Dr. Aslı Akyol Mutlu**'ya,

Mesleki alanda yetişebilmem için tecrübeleri ile her zaman yanımda olan ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, Kırıkkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü Kurucu Başkanı, çok değerli hocam **Doç. Dr. Fatma Nişancı Kılınç**'a,

Yüksek lisans tez dönemimde değerli fikir ve desteklerini esirgemeyen **Yrd. Doç. Dr. Biriz Çakır, Yrd. Doç. Dr. Murat Gökgöz, Öğr. Gör. Çiler Aslanalp, Arş. Gör. Merve Sakıoğlu ve Arş. Gör. Aylin Bayındır**'a,

Çalışmanın yürütülmesi sırasında deneyimleri ile çalışmanın her aşamasında destek olan **Arş. Gör. Arzu Kabasakal Çetin**'e,

Laboratuvar analizlerinde destek olan **Öğr. Gör. Atila Güleç**'e ve cerrahi işlemlerde tecrübelerini paylaşan **Doç. Dr. İlyas Onbaşılar**'a,

Çalışmalarım boyunca her zaman yanımda olan çok kıymetli arkadaşlarım **Dr. Onur Gözmen, Dr. Yasin Maruf Ergen, Arş. Gör. Hande Mortaş ve Arş. Gör. Fatih Kurtoğlu**'na,

Bana her konuda her zaman destek olan, bugünlere gelmemde maddi ve manevi desteği ile her zaman yanımda olan canım aileme,

Çalışmanın yürütülmesinde maddi destek veren TÜBİTAK'a,

Sonsuz teşekkür ederim.

ÖZET

DAŞGIN, H. Ratlarda maternal düşük kaliteli protein diyetinin doğum sonrası büyüme ve gelişme üzerine etkisi. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Beslenme Bilimleri Programı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2016.

Bu çalışma maternal düşük kaliteli protein diyetinin doğum sonrası vücut ağırlığı, besin alımı ve yetişkinlik dönemindeki plazma amino asit profilini değerlendirmek amacıyla yapılmıştır. Wistar ratlar gebelik (3 hafta) ve emzicilik (3 hafta) dönemlerinde kontrol grubu (n=6) kazein (%20), deney grubu (n=7) buğday gluteni (%20) içeren diyetle beslenmiştir. Emzicilik dönemi sonrasında ise tüm ratlar 20 haftalık oluncaya kadar kazein (%20) içeren diyet ile beslenmişlerdir. Çalışma sürecinde takip edilen yavruların vücut ağırlıklarının ortalaması buğday gluteni (BG) grubunda kazein (K) grubuna kıyasla anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p<0.001$). Yavruların yem tüketimleri buğday gluteni grubundaki erkek (BGE) ratların kazein grubundaki erkek (KE) ratlardan daha düşük iken buğday gluteni grubundaki dişi (BGD) ratların kazein grubundaki dişi ratlardan daha fazla olduğu belirlenmiştir ($p<0.001$). Yavruların gonadal yağ doku ağırlığı vücut ağırlığına göre değerlendirildiğinde, BGE ratların gonadal yağ doku ağırlığı KE ratlara göre daha fazla iken BGD ratların KD ratlara göre daha düşük bulunmuştur ($p=0.023$). Gebelik ve emzicilik dönemindeki maternal protein kalitesinin yavruların yetişkinlik dönemindeki plazma amino asit profilinde farklılıklara neden olduğu bulunmuştur. BGE ratların fenilalanin, glutamik asit, histidin, tirozin, aspartik asit ve sistatyonin amino asitleri KE ratlara kıyasla daha fazla iken, BGD ratlarda KD ratlara göre daha düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Buna ek olarak BGE ratlarda lizin amino asidi KE ratlardan daha az iken BGD ratlarda KD ratlardan daha fazladır ($p<0.05$). Glutamin amino asidi ise BG grubundaki hem erkek hem de dişi ratlarda K grubuna göre daha az olduğu belirlenmiştir ($p<0.1$). Bu çalışma ile ilk defa fetal dönem ve emzicilik döneminde düşük kaliteli protein diyetine maruziyetin vücut ağırlığı, besin alımı ve yetişkinlik dönemindeki plazma aminoasit profiline etkileri gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Fetal Programlama, Gebelik, Protein Kalitesi

Destekleyen Kurumlar: TÜBİTAK 1002 programı, 114S812

ABSTRACT

DAŞGIN, H. The effects of maternal low quality protein diet on postnatal development and growth in rats. Hacettepe University Institute of Health Sciences, Master of Science Thesis in Nutritional Sciences Programme, Ankara, 2016. The objective of this study was to examine the effects of exposure to maternal low quality protein diet during gestation and lactation on body weight, food intake and plasma amino acid profile at adulthood. Wistar rats were maintained on either a chow diet with 20% casein ($n = 6$) as the control group (C), or 20% wheat gluten ($n = 7$) as the experimental group (WG) through gestation (3 weeks) and lactation (3 weeks). After the lactation period, all rats were maintained on a chow diet with 20% casein through the end of the 20th week. When evaluating the body weights of offsprings during the study, it has been found that the body weights of WG were significantly lower than C ($p < 0.001$). As to offspring food intake, whereas the food intake of male rats in WG (MWG) was lower than the male rats in C (MC), the food intake of female rats in WG (FWG) was higher than the female rats in C (FC) ($p < 0.001$). While offspring gonadal fat weight expressed as a percentage of total body weight was mainly higher in MWG when compared to MC, it was lower in FWG in comparison with FC ($p = 0.023$). It has been found that maternal low protein quality through gestation and lactation led to the differences of the offspring's plasma amino acids at adulthood. The concentration of phenylalanine, glutamic acid, histidine, tyrosine, aspartic acid and cystathionine were higher in MWG when compared to MC, these amino acids were lower in FWG than FC ($p < 0.05$). In addition, whereas lysine was lower in MWG than MC, it was higher in FWG than FC ($p < 0.05$). It was detected that glutamine was lower in both MWG and FWG ($p < 0.1$). In this study, the effect of exposure to low quality protein diet during fetal and lactation period on body weight, food intake and plasma amino acid profile was shown for the first time.

Keywords: Fetal Programming, Gestation, Protein Quality

Supported by TÜBİTAK 1002 programme, 114S812

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
ŞEKİLLER	xiii
TABLolar	xiv
1.GİRİŞ	1
1.1.Kuramsal Yaklaşımlar ve Kapsam	1
1.2.Amaç ve Varsayım	2
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1.Fetal Programlama	4
2.2. Fetal Programlama Hipotezinin Tarihsel Gelişimi	6
2.2.1. Hollanda Açlık Kışı (1944-1945)	7
2.2.2. Leningrad Kuşatması (1941-1944)	8
2.2.3.Hertfordshire ve Helsinki Kohortu	9
2.3. Epidemiyolojik Çalışmaların Eleştirildikleri Yönler	10
2.4. Fetal Programlama ve Deneysel Modeller	12
2.4.1.Yetersiz Beslenme ile İlişkili Hayvan Modeli Çalışmaları	12
2.4.2.Fazla Beslenme İle İlişkili Hayvan Modeli Çalışmaları	20
2.5. Kronik Hastalıkların Programlanması İle İlişkili Mekanizmalar	22
2.5.1. Epigenetik	22
2.5.2. Doku Farklılaşması	24
2.5.3. Glukokortikoidler	25
2.6. Proteinler	27
2.6.1. Proteinlere Genel Bakış	27
2.6.2. Amino Asitler	27

2.6.3. Protein Sentezi	28
2.6.4. Proteinlerin Sindirimi	28
2.6.5. Amino Asitlerin Emilimi ve Taşınması	29
2.6.6. Amino Asit Havuzu ve Dağılımı	29
2.6.7. Amino Asitlerin Azot Gruplarının Metabolizması	31
2.6.8. Amino Asitlerin Karbon İskeletlerinin Metabolizması	33
2.6.9. Amino Asitlerin Metabolizma ve Fonksiyonları	34
2.6.10. Protein Dönüşümü	42
2.6.11. Proteinlerin Yıkımı	42
2.6.12. Protein Dönüşümünün Düzenlenmesi	43
2.6.13. Protein ve Amino Asit Gereksinimi	46
2.6.14. Protein Kalitesi ve Protein Kaynakları	50
2.6.15. Protein Kalitesini Değerlendirme Yöntemleri	51
2.6.16. Protein Kalitesi ve Deney Hayvanları Çalışmaları	53
3. GEREÇ VE YÖNTEM	55
3.1. Örneklem Sayısı	55
3.2. Araştırma Yeri	55
3.3. Hayvanların Bakımı, Çalışma Süreci ve Diyet Müdahalesi	56
3.3.1. Hayvanların Temini, Bakımı ve Çiftleştirilmesi	56
3.3.2. Çalışma Süreci	56
3.3.3. Uygulanan Diyet Müdahalesi	57
3.4. Ötanazi Yöntemi, Kan ve Doku Örneklerinin Alınması	59
3.5. Antropometrik Verilere İlişkin Ölçümler	59
3.6. Plazma Amino Asit Profilinin Belirlenmesi	60
3.7. İstatistiksel Analiz	61
4. BULGULAR	62
4.1. Antropometrik Özelliklere İlişkin Bulgular	62
4.2. Yem Tüketimi, Günlük Enerji ve Makro Besin Ögesi Alımına İlişkin Bulgular	67
4.3. Organ ve Yağ Doku Ağırlıklarına İlişkin Bulgular	72
4.4. Plazma Amino Asit Konsantrasyonuna İlişkin Bulgular	75
5. TARTIŞMA	80
5.1. Antropometrik Sonuçların Değerlendirilmesi	81

5.2. Besin Alımının Değerlendirilmesi	85
5.3. Organ ve Yağ Doku Ağırlıklarının Değerlendirilmesi	86
5.4. Plazma Amino Asit Profilinin Değerlendirilmesi	88
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	92
6.1. Sonuçlar	92
6.2. Öneriler	95
KAYNAKLAR	96
EKLER	
Ek 1: Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı-I	
Ek 2: Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı-II	
Ek 3: Yem İçeriği	
Ek 4: Yemlerin Amino Asit Kompozisyonları	
Ek 5: Çalışmada Kullanılan Araç ve Gereçler	

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACC	Asetil-Koenzim A Karboksilaz
AT2R	Anjiotensin Tip 2 b Reseptörü
B ₆	Pridoksal Fosfat
BG	Buğday Gluteni
BGD	Buğday Gluteni Grubundaki Dişi
BGE	Buğday Gluteni Grubundaki Erkek
BKI	Beden Kütle İndeksi
BV	Proteinin Biyolojik Değeri
cAMP	Siklik Adenozin Monofosfat
cm	Santimetre
CO ₂	Karbondioksit
CpG	C:Sitozin, P:Fosfat, G:Guanin
DIAAS	Sindirilebilir Elzem Amino Asit Skoru
E	Glutamat
EAR	Tahmini Ortalama Gereksinim
FAO	Gıda ve Tarım Örgütü
g	Gram
GABA	γ -amino bütirik asit
GC-FID	Alev İyonlaşma Dedektörüne Sahip Gaz Kromatografi Cihazı
Gla	γ -karboksiglutamat
GFH	Glomerular Filtrasyon Hızı
H1	Histamin 1
HMB	β -Hidroksi β -Metilbutirat
HMG	β -Hidroksi β -Metilglutaril
HPA	Hipotalamik-Pitiüter-Adrenal Aks
IAAO	İndikatör Amino Asit Oksidasyonu
IGF	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
IGFBP-3	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü Bağlayıcı Protein-3
IL-1 β	İnterlökin-1 β
IOM	Tıp Enstitüsü
K	Kazein

KD	Kazein Grubundaki Dişı
KE	Kazein Grubundaki Erkek
L	Litre
LDL	Düşük Dansiteli Lipoprotein
mg	Miligram
mRNA	Mesajcı RNA
mTOR	Rapamisin Protein Kompleksinin Memeli Hedefi
mTORC1	Rapamisin Protein Kompleksinin Memeli Hedefi Kompleksi
NAD	Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NADP	Nikotinamid Adenin Dinükloetid Fosfat
NO	Nitrik Oksit
NPU	Net Protein Kullanımı
P	Prolin
PDCAAS	Protein Sindirilebilirliği Düzeltilmiş Amino Asit Skoru
PEPCK	Fosfoenol Pirüvat Karboksikinaz
PER	Protein Elverişlilik Oranı
PPAR α	Peroksizom Proliferatör Aktive Reseptör- α
PPC	Anterior Prepriform Korteks
rpm	Rotorun Dakikadaki Dönme Hızı
S	Serin
SAH	S-Adenozil Homosistein
SAM	S-Adenozil Metiyonin
SGA	Gestasyon Haftasına Göre Düşük Doğum Ağırlığı
SOD	Süperoksit Dismutaz
SPE	Katı Faz Ekstraksiyonu
T	Teronin
TAG	Triaçilgliserol
TNF α	Tümör Nekrozis Faktör α
UNU	Birleşmiş Milletler Üniversitesi
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
μ mol	Mikromol
-COOH	Karboksil

-NH ₂	Amin
-R	Yan Grup
%	Yüzde
11 β HSD	11 β -Hidroksi Dehidrojenaz



ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
2.1. Maternal Optimal Olmayan Beslenmenin Hipertansiyonu Etkilemedeki Olası Akış Şeması	15
2.2. Glukokortikoid Programlama Hipotezi	26
2.3. Glukoz - Alanin Döngüsü	32
2.4. Amino Asitlerin Karbon İskeletlerinin Ortak Metabolik Yollara Katılımları	33
3.1. Çalışma Sürecinde İzlenen Yol	58
4.1. Haftalara Göre Kazein ve Buğday Gluteni Gruplarının Ortalama Vücut Ağırlık Değişimleri	64
4.2. Kazein ve Buğday Gluteni Gruplarındaki Erkek ve Dişi Ratların Haftalara Göre Vücut Ağırlığı Değişimi	64
4.3. Kazein ve Buğday Gluteni Gruplarının Haftalara Göre Vücut Ağırlık Kazanımında Spesifik Hızın Değişimi	66
4.4. Kazein ve Buğday Gluteni Gruplarının Ortalama Yem Tüketim Miktarları	68
4.5. Kazein ve Buğday Gluteni Gruplarındaki Erkek ve Dişi Ratların Ortalama Yem Tüketim Miktarları	68
4.6. Kazein ve Buğday Gluteni Gruplarının Günlük Ortalama Enerji Alımı	71
4.7. Kazein ve Buğday Gluteni Gruplarındaki Erkek ve Dişi Ratların Plazma Amino Asit Konsantrasyonları	79

TABLOLAR

Tablo	Sayfa
2.1. Farklı kuruluşlara göre yetişkinlik dönemi amino asit gereksinimi	49
2.2. Farklı yaş gruplarındaki bireylerin amino asit gereksinimleri (mg/kg/gün)	49
4.1. Kazein ve Buğday Gluteni Gruplarındaki Erkek ve Dişi Ratların Vücut Ağırlığına İlişkin Değerler	63
4.2. Kazein ve Buğday Gluteni Gruplarındaki Erkek ve Dişi Ratların Ortalama Enerji ve Makro Besin Ögesi Alımları	70
4.3. Kazein ve Buğday Gluteni Gruplarının Cinsiyete Göre Organ ve Yağ Doku Ağırlıkları	73
4.4. Kazein ve Buğday Gluteni Gruplarındaki Erkek ve Dişi Ratların Organ ve Yağ Doku Ağırlıklarının Vücut Ağırlığına Göre Değerlendirilmesi	74
4.5. Kazein ve Buğday Gluteni Grubundaki Erkek Ratların Plazma Amino Asit Konsantrasyonları	76
4.6. Kazein ve Buğday Gluteni Grubundaki Dişi Ratların Plazma Amino Asit Konsantrasyonları	77

1. GİRİŞ

1.1. Kuramsal Yaklaşımlar ve Kapsam

Rahim içi gelişim geriliği ile yetişkinlik döneminde ortaya çıkan kronik hastalıklar arasında anlamlı bir ilişki olduğu birçok epidemiyolojik ve hayvan model çalışmalarında gösterilmiştir (1-3). Fetal genom, fetüsün büyüme ve gelişiminde çok önemli bir belirleyici olmasına karşın rahim içi faktörlerin de fetüsün büyüme ve gelişiminde rol oynadığı gösterilmiştir (4,5). Rahim içi çevresel etmenlerin başında gelen maternal beslenme, fetal genom ekspresyonunu değiştirerek büyüme ve gelişimi etkileyen en önemli faktörlerden biri olarak gösterilmektedir (4).

Erken gelişimsel dönemde çevresel uyaranlara göre şekillenen fizyolojik ve morfolojik değişimler doğrultusunda oluşan adaptasyon çevre ile fenotip arasındaki en uyumlu cevap olarak değerlendirilir (6). Bu fenomen ‘Fetal Programlama’ ya da ‘Yetişkin Hastalıkların Fetal Orijinleri’ olarak adlandırılmaktadır (7). Fetal programlama ile ilişkilendirilen hastalıklar ise obezite, tip 2 diyabet, hipertansiyon, inme, koroner arter hastalığı, polikistik over sendromu ve çeşitli psikiyatrik hastalıklardır (8).

Fetal programlama hipotezi Helsinki, Hertfordshire, Hollanda Açlık Kışı ve Leningrad Açlık Kohortu gibi birçok kapsamlı epidemiyolojik çalışma ile desteklenmektedir. Epidemiyolojik çalışmaları destekleyen çok sayıda da hayvan model çalışmaları bulunmaktadır (9). Hayvan model çalışmalarında yüksek yağ alımı, yüksek sükroz alımı, yüksek fruktoz alımı gibi besin öğelerinin aşırı alındığı çalışmaların yanında enerji kısıtlaması, yetersiz demir alımı, yetersiz çinko alımı ve düşük proteinli diyetler gibi bazı besin öğelerinin ya da enerjinin yetersiz aldığı çalışmalar yer almaktadır (10-16). En sık çalışılan konu ise düşük proteinli diyetlerin fetal programlama ile olan ilişkisidir.

Fetal dönemde düşük proteinli diyete maruz kalan yavrulardaki etkiler değerlendirildiğinde azalan nefron sayısı ile artan kan basıncı, pankreas β hücrelerinin proliferasyon hızının azalmasıyla β hücre kütlelerinde azalma, β hücre apoptozunda artış, insülin sekresyonunda azalma ve daha düşük doğum ağırlığı

saptanmıştır (16-19). Bu etkilerin yanında düşük proteinli diyetlerin beslenme davranışını ve tercihini etkilediği de gösterilmiştir (20).

Düşük proteinli diyetlerin etkilerini irdeleyen çok fazla araştırma olmasına karşın fetal dönemde maruz kalınan protein kalitesinin yetişkinlik döneminde ki etkisine ilişkin herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışma ile ilk defa fetal dönem ve emziklilik döneminde düşük kaliteli protein diyetine maruz kalan ratların doğum sonrası büyüme ve gelişme üzerine etkisi araştırılmıştır.

1.2. Amaç ve Varsayım

Dünya çapında tüketilen protein kaynakları ele alındığında %50'sinden fazlasını bitkisel kaynaklı proteinlerin oluşturduğu anlaşılmıştır (21). Bitkisel kaynaklı proteinlerin sindirilebilirliklerinin düşük olması, amino asit örüntüsünde bazı elzem amino asitlerin sınırlı olması gibi faktörler bitkisel proteinlerin protein kalitesinde kayıplara neden olmaktadır (22).

Fetal dönemde de amino asitlerin fetal büyümedeki rolünün bir çok araştırma ile desteklenmesi protein kalitesinin fetal programlama ile olan ilişkisinin ortaya konmasını zorunlu kılmıştır (23,24). Bu araştırmanın dayandığı hipotezler ve amaçlar ise aşağıda yer almaktadır.

Hipotezler

- Maternal düşük kaliteli protein diyetine maruz kalan fetüslerin yetişkinlik dönemindeki plazma amino asit profili kontrol grubuna göre değişiklik gösterir.
- Maternal düşük kaliteli protein diyetine maruz kalan fetüslerin yetişkinlik dönemindeki vücut ağırlığı ve boy uzunluğu kontrol grubuna göre değişiklik gösterir.
- Maternal düşük kaliteli protein diyetine maruz kalan fetüslerin yetişkinlik dönemindeki besin alımı kontrol grubuna göre değişiklik gösterir.

Amaçlar

- Gebelik ve emzicilik döneminde düşük kaliteli protein diyeti alan annelerin yavrularının yetişkinlik dönemindeki plazma amino asit profilini belirlemek.
- Gebelik ve emzicilik döneminde düşük kaliteli protein diyeti alan annelerin yavrularının doğum sonrası vücut ağırlığı ve boy uzunluğu takibini yapmak.
- Gebelik ve emzicilik döneminde düşük kaliteli protein diyeti alan annelerin yavrularının doğum sonrası besin alımı takibini yapmak.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Fetal Programlama

İnsanlar üzerinde yapılan epidemiyolojik çalışmalar ve hayvan modelleri çalışmalarında fetal rahim içi gelişim geriliği ile yetişkinlik dönemi hastalıkları arasında ilişki olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir (1,17,25,26). İntrauterin gelişim geriliği maternal faktörlerden önemli ölçüde etkilenmektedir. Bu maternal faktörler ise maternal yaşın çok küçük olması, alkol, annenin optimal olmayan beslenme koşulları, sigara, madde bağımlılığı, kronik renal yetmezlik, enfeksiyon, stres ve kalp hastalıklarıdır (27-29). Bu etmenlerin arasında annenin optimal olmayan beslenme koşulları fetüsün gelişimini olumsuz yönde etkileme ve yetişkinlik dönemindeki hastalıklara olan yatkınlıkta en önemli sebeplerden biri olarak gösterilmektedir (9,30). Hastalıkların yaşamın erken döneminde rahim içi etkilere bağlı olarak programlanabileceği ve ‘Yetişkin Hastalıkların Fetal Orijinleri’ ya da ‘Barker Hipotezi’ olarak adlandırılan bu hipotezin temelleri epidemiyolojik çalışmalara dayanmaktadır (1,31). Fetal orijinler hipotezine göre fetal beslenme ve endokrin sistemdeki değişiklikler gelişimsel adaptasyonlara neden olmakta ve bu adaptasyonların neden olduğu fizyolojik, yapısal ve metabolik değişiklikler yetişkinlik dönemindeki kardiyovasküler, metabolik ve endokrin hastalıklara olan yatkınlığı artırabilmektedir (32). Fetal orijinler hipotezi temelinde ‘gelişimsel plastisite’ye (developmental plasticity) dayanmaktadır (8). Gelişimsel plastisite, spesifik gelişim dönemlerinde farklı çevresel koşulların değişimine göre bir genotipin farklı fizyolojik ve morfolojik değişimlerin oluşumunu sağlayarak bir adaptasyon geliştirmesidir. Bu adaptasyon cevabı çevre ve fenotip arasında en uyumlu cevaptır (6,33). Gelişimsel plastisite belli bir sürenin ardından kaybolur ve artık bireyin çevreye ya da patolojik durumlara karşı olan cevabı zorunlu hale gelir. Erken gelişimsel dönemdeki uyarılar yaşam boyu sürececek olan kalıcı değişiklikleri oluşturur ve bu fenomende ‘programlama’ olarak ifade edilmektedir (8). Fetal programlama ile ilişkili mekanizmaları açıklayabilmek için tutumlu fenotip (thrifty phenotype) hipotezi, öngörülü adaptif yanıt (predictive adaptive response), fetal insülin hipotezi olmak üzere üç alt hipotez ortaya çıkmıştır.

Tutumlu fenotip hipotezine göre fetal dönemde optimal olmayan beslenme koşulları, beyin gibi hayati önem taşıyan organlara gerekli besin öğelerini sağlayabilmek ve yaşam şansını artırabilmek için fizyolojik ve metabolik adaptasyonlara neden olmaktadır. Metabolizmadaki bu tutumluluk hayati organların gelişimini korumaya çalışırken pankreas Beta hücreleri ve Langerhans adacıklarının gelişimini olumsuz yönde etkilemektedir. Optimal olmayan beslenme koşulları ilerleyen zamanlarda da devam ederse herhangi bir olumsuz sonuca yol açmazken beslenme koşulları optimal seviyeye geldiğinde ya da aşırı düzeyde olduğunda metabolik uyumsuzluk gerçekleştiği için insülin direnci, tip 2 diyabet, metabolik sendrom ve obezite riski artmaktadır (34,35).

Gluckman ve diğerleri (36) ‘Öngörülen Adaptif Yanıt’ (Predictive Adaptive Response) hipotezini yaşamın erken dönemlerinde çevresel ipuçları ile uyumlu, yaşamın sonraki dönemlerinde avantaj oluşturacak bir yanıt geliştirme olarak tanımlamaktadır. Ayrıca öngörülü adaptif yanıt gelişimsel plastisitenin bir türü olarak düşünülmektedir. Erken dönemdeki ipucu gelecek dönemdeki çevre şartları ile ilişkilendirilir ve fetüsün gelecekteki çevrenin şartları ile uyum gösterebilmesi için gelişimsel plastisite süreçlerini etkileyerek gelişimsel süreçte değişikliklere neden olur. Ortaya çıkan bu fenotipin hemen ya da yakın gelecekteki yararından ziyade öngörülen gelecekteki çevresel koşullarda (daha çok yetişkinlik döneminde) avantajlı olması daha muhtemeldir (37). Bu özelliği de öngörülü adaptif yanıt hipotezini, tutumlu fenotip hipotezinden ayıran en önemli yanıdır. Öngörülü adaptif yanıt hipotezine göre gelecekteki çevre koşulları ile ilgili yapılan yanlış tahminler ya da gelecekteki çevre koşullarının değişmesi kardiyovasküler hastalık, tip 2 diyabet gibi kronik hastalık riskini artırmaktadır. Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkeler ile ekonomik açıdan değişim içerisinde olan ülkelerdeki artmış kronik hastalık riskinin nedenleri bu hipoteze göre daha kolay anlaşılmasına yardımcı olmaktadır (36).

Fetal insülin sekresyonu fetal büyümede rol alan önemli faktörlerden biridir (38). Fetal İnsülin Hipotezi’ne göre kalıtsal kaynaklı insülin direnci yetişkinlikte insülin direncine neden olduğu gibi fetal dönemde insülinin büyüme ve gelişme üzerindeki etkisini olumsuz etkilemektedir. Sadece maternal kan şekeri düzeyi değil genetik faktörler de fetal pankreas tarafından salgılanan insülin sekresyonunu ve insülinin fetal dokular tarafından duyarlılığını etkilemektedir. Düşük doğum ağırlığı,

insülin direnci, bozulmuş glukoz toleransı, diyabet ve hipertansiyon aynı insülin direnci genotipinin fenotipleri olabilirler (39). Glukoz metabolizmasında hız belirleyici olan glukokinaz enzimindeki heterozigot mutasyonun fetüste tahmini olarak %70 oranında insülin sekresyonunda azalmasına neden olduğu düşünülmektedir. Bu mutasyon yaşam boyunca hiperglisemiye neden olmaktadır. Mutasyonun doğum ağırlığına olan etkisini araştıran bir çalışmada eğer mutasyon annede varsa annenin hiperglisemisi nedeniyle artan fetal insülin seviyesinin doğum ağırlığında 601 gram artışa sadece fetüste varsa doğum ağırlığının 533 gram azalmasına hem anne hem de fetus varsa doğum ağırlığında anlamlı bir değişikliğe sebep olmadığı rapor edilmiştir (40).

2.2. Fetal Programlama Hipotezinin Tarihsel Gelişimi

Fetal programlama hipotezinin temelleri geçmiş yıllarda yer alan oldukça fazla sayıdaki epidemiyolojik çalışmaya dayanmaktadır. Kermack ve diğerlerinin yaptığı çalışma bu alandaki çalışmaların başlangıcı olarak değerlendirilebilir. Kermack ve diğerleri (41,42) İngiltere ve Galler, İskoçya ve İsveç ülkelerinin ulaşılabilir istatistiki değerleri doğrultusunda 1750’li yıllardan itibaren ölüm oranlarını incelemişlerdir. 1901’den itibaren bebek ölüm oranlarında kayda değer bir azalma görülmüştür. Bu sonuç ise 1901 yılından sonraki yıllarda doğan bebeklerin annelerinin yaklaşık olarak 1870’li yıllarda doğduğu düşünüldüğünde 1870’li yıllarda doğan bireylerin sağlığının önceki yıllara göre daha iyi olduğu ve ölüm oranlarında da buna bağlı olarak azalma olduğu saptanmıştır. Buna göre yaşamın ilk yıllarındaki çevresel koşulların ve anne sağlığının yaşam süresinin belirlenmesinde önemli rol oynayabileceği düşünülmüştür. 1977 yılında ise Forshdahl (43) yaşamın ilk yıllarındaki düşük sosyo-ekonomik düzeyin ilerleyen yıllarda iyileşme göstermesi ile aterosklerotik kalp hastalıkları için bir risk faktörü olabileceğini öne sürmüştür. Bundan sonra ise Wadsworth ve diğerleri (44) tarafından İngiltere, Galler ve İskoçya’da 1946 yılında doğan 5362 bireyin 36 yaşında ölçülen sistolik kan basıncı ile doğum ağırlığı arasında ters bir ilişki rapor edilmiştir. Artan sayıdaki bu epidemiyolojik çalışmalar Barker ve diğerlerini (45) fetal programlama kavramının oluşmasına yönlendirmiştir. Barker ve diğerleri (45) İngiltere ve Galler’de 1968-

1978 yılları arasındaki iskemik kalp hastalıkları ölüm oranı ile 1921-1925 yılları arasındaki bebek ölüm oranları arasında güçlü bir coğrafi ilişki olduğunu belirtmişlerdir. Bu ölüm oranları arasındaki ilişki ise başta gebelik ve emzicilikteki beslenme olmak üzere çevresel koşulların kronik hastalık riskinde rol oynayabileceğini akla getirmiştir. Bu çalışmaların yanında fetal programlama hipotezini destekleyen Hollanda Açlık Kışı (1944-1945), Leningrad Kuşatması (1941-1944), Helsinki ve Hertfordshire kohortu gibi geniş çaplı epidemiyolojik çalışmalar yer almaktadır (25,26,46,47).

2.2.1. Hollanda Açlık Kışı (1944-1945)

II. Dünya Savaşı sonlarında Almanya'nın Hollanda'yı işgal etmesiyle Almanlar Hollanda'da yiyecek transferini yasakladı. Su aracılığı ile yapılan yiyecek transferine izin verildi, böylece 1944 Kasım başlarında ambargo kısmen kaldırılmış oldu. Ancak yiyecekleri doğudaki kırsal bölgeden batıdaki kentsel bölgeye taşımak neredeyse imkânsız bir hal aldı. Çünkü 1944-1945 yıllarında kış mevsiminin çok soğuk geçmesiyle kanallar, suyolları dondu. Bu nedenle ülkenin batısındaki kentsel bölgelerdeki yiyecek stokları hızla tükendi ve sonuç olarak günlük alınan enerji 1800 kkal'den kademeli olarak azalmış ve Aralık 1944-Nisan 1945 tarihleri arasında 400-800 kkal arası değerlere düşmüştür. 1 yaşın altındaki çocukların günlük aldıkları enerji 1000 kkal'nin altına düşmediği için onların kısmen korunduğu düşünülmektedir (48). Gebe ve emzikli kadınlar da her ne kadar korunmaya çalışılsa da kıtlığın çok ciddi seviyelerde olduğu dönemde ekstra bir besin sağlanamamış ve onlar da kıtlıktan olumsuz yönde etkilenmişlerdir (48). 1945 Mayıs ayı başlarında Hollanda'nın özgürlüğünü elde etmesiyle birlikte beslenme koşulları hızla iyileşmiş ve 1945 Haziran ayında günlük alınan toplam kalorinin 2000 kkal'nin üzerine çıktığı kaydedilmiştir (49).

Hollanda'da yaşanan bu kıtlık önemli sonuçları da beraberinde getirmiştir. Örneğin Amsterdam'daki 1945 yılındaki ölüm oranı 1939 yılı ile karşılaştırıldığında iki katına çıkmış ve bunda malnütrisyonun önemli rol oynadığı düşünülmüştür (50). Tutulan düzenli kayıtlar sayesinde bu dönemde gebe kalan kadınların çocukları üzerindeki etkilerini incelemek fetal programlama hipotezi açısından çok büyük önem taşımaktadır (48). Tutulan düzenli kayıtlar aynı zamanda annenin gebeliğin

hangi döneminde kıtlığa maruz kaldığını da gösterdiği için dönemsel etkileri de incelemeye fırsat vermektedir (48). Ravelli ve diğerlerinin (51) Amsterdam'da 1943-1947 yılları arasında doğan 702 birey üzerinde yaptığı araştırmada gebeliğin hangi döneminde olursa olsun Hollanda Açlık Kışı'nı yaşamış olan annelerin çocuklarının 50'li yaşlardaki glukoz ve insülin seviyelerinin kıtlıktan etkilenmemiş bireylere göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. 2. trimester nefron sayılarının artış gösterdiği bir dönem olması nedeniyle bu dönemdeki maruziyet böbrek fonksiyonlarını olumsuz yönde etkilemekte, yine bronşiyal ağacın 2. trimesterde daha hızlı bir gelişim göstermesi nedeniyle bu dönemdeki maruziyet ile obstrüktif akciğer hastalığı arasında ilişki kurulmaktadır (48). Erken dönemdeki maruziyetin etkileri incelendiğinde ise daha aterojenik plazma lipid profili, daha yüksek plazma fibrinojen konsantrasyonu sebebiyle koroner kalp hastalığı riskindeki artıştır (48). Buna ek olarak erken dönem maruziyetin sonuçlarına obezite de eklenebilir. Anneleri erken dönem kıtlığa maruz kalmış bireyler 50 yaşına geldiklerinde kadınlarda beden kütle indeksi (BKI), vücut ağırlığı ve bel çevresinin kontrol grubuna göre daha fazla olduğu saptanırken, erkeklerde anlamlı herhangi bir fark bulunmamıştır (52). Hollanda Açlık Kışı maruziyeti ile kan basıncı arasında herhangi bir ilişki kurulamamıştır (48).

2.2.2. Leningrad Kuşatması (1941-1944)

Leningrad kuşatması şu anda St Petersburg olarak bilinen şehrin 8 Eylül 1941 ile 27 Ocak 1944 yılları arasında 872 günlük besin teminini engelleyen bir kuşatmayı ifade etmektedir. Bu kuşatmanın en çarpıcı sonuçlarından biri açlığın neden olduğu yaklaşık olarak 750.000 ile 1.000.000 kişinin ölümüdür. Neredeyse hiç protein içermeyen diyetin sağladığı enerji alımı 300 kkal'lere kadar düşmüştür (53). Leningrad kuşatmasının etkilerini araştırabilmek için 549 kişinin dahil edildiği çalışmada üç grup yer almaktadır. Bunlardan 169'u fetal dönemde Leningrad kuşatmasına maruz kalmış kişiler (grup I), 192'si kuşatma başlamadan doğan grup (grup II) ve geri kalan 188 kişi ise diğer gruptaki kişilerle aynı zamanlarda doğan ancak kuşatmanın olmadığı farklı bir bölgede doğan kişilerden (grup III) oluşturmaktadır. İlk iki grup karşılaştırıldığında glukoz toleransı, insülin konsantrasyonu, kan basıncı, lipid konsantrasyonu ve koagülasyon faktörleri

açısından herhangi bir fark bulunmaz iken grup II’de endotelyal hasar göstergesi olan von Willebrand faktörü grup I’de daha yüksek bulunmuştur. Fetal dönemde malnütrisyona maruz kalmış bireylerde (grup I) , grup II ve grup III’e göre obezite riskinin daha fazla olduğu ve kan basıncının daha yüksek olduğu bulunmuştur (53). Bir diğer araştırmada ise kardiyovasküler hastalık prevalansı açısından herhangi bir fark yok iken erken dönemde maruz kalınan açlık yaşlanma göstergelerinden biri olan telomer uzunluğunun azalmasına katkıda bulunabileceği bildirilmektedir (54). Leningrad kuşatmasını Hollanda Açlık Kışı’ndan ayıran yönü kronik hastalık riskinin benzerlik taşımasıdır. Bu sonuçta Leningrad kuşatmasının daha uzun sürmesi, Leningrad kuşatması sona erse de Hollanda Açlık Kışı’nın aksine beslenme koşullarının aniden değişmemesi yani bireylerin doğum sonrasında da malnütrisyona maruz kalmaları bireyleri beklenen kronik hastalıklardan korunmasını sağlamış olabilir. Bu sonuçta ‘Tutumlu Fenotip Hipotezi’ ni destekler niteliktedir (8).

Destekleyen bu epidemiyolojik çalışmaların yanı sıra veri yetersizliğinden dolayı tam olarak ilişki kurulamayan çalışmalarda bulunmaktadır. Bu çalışmalardan biri ise Kannisto ve diğerlerinin (55) Finlandiya Açlık koşullarının etkilerini incelediği çalışmadır. 1866-1868 yılları arasında gerçekleşen açlık, savaş ve kuşatma gibi nedenlerle değil iklimsel nedenlerden dolayı ürün alamamaya bağlı gerçekleşmiştir. Bu kıtlık zamanlarında doğmuş kişiler, bu koşullar oluşmadan 5 yıl önce ve 5 yıl sonra doğan kişilerin 0-17 yaş aralığındaki ölüm oranları değerlendirilmiştir. Kıtlık zamanlarında ve bundan 5 yıl önce doğan bireylerin ölüm oranının kıtlık oluştuktan 5 yıl sonra doğan gruptan daha fazla olduğu görülmüştür. Bu üç gruptaki bireylerin 17-80 yaş aralığındaki yaşam süreleri karşılaştırıldığında gruplar arası bir fark bulunmamıştır. Artan kardiyovasküler hastalık kaynaklı ölümler ile fetal büyüme gelişme geriliği arasındaki ilişki, doğum ağırlıklarının bilinmemesi ve kıtlığa gebeliğin hangi evre ya da evrelerinde maruz kalındığı bilgisine ulaşılamamasından dolayı belirlenememiştir (55).

2.2.3. Hertfordshire ve Helsinki Kohortu

Hertfordshire ve Helsinki’de 1911-1930 yılları arasında doğan bireylerin doğum ağırlığı ve ilk yıllardaki antropometrik verileri ile ilerleyen yıllardaki kronik hastalık riski arasında ilişki olduğunu gösteren çalışmalar yer almaktadır (46,56-58).

1911-1930 yılları arasında Hertfordshire’da doğan 5585 kadın ile 10141 erkek bireyin yer aldığı araştırmada en az doğum ağırlığına sahip gruptan en fazla doğum ağırlığına sahip olan gruba gidildikçe kardiyovasküler hastalık kaynaklı ölüm oranı azalmaktadır. Doğumdan sonra 1 yaşına kadar kazanılan ağırlık artışının az olması da erkek bireylerde kardiyovasküler hastalık riskini artıran bir faktör olarak belirlenmiştir (46). Bu çalışmayı destekleyen bir başka çalışmada ise Hertfordshire’da yaşayan erkek bireylerin 1 yaşındaki vücut ağırlığının düşük olması koroner kalp hastalığının gelişiminde risk faktörü olabileceği kaydedilmiştir (56). Doğum ağırlığının yanında doğumdaki ve çocukluk dönemindeki boy uzunluğunun da eklendiği Helsinki kohort çalışmasında kızların doğum ağırlığı ve boy uzunluğu ile koroner kalp hastalıkları arasında ters bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Boy uzunluğunun her bir santimetre (cm)’deki artışı koroner kalp hastalığı riskini % 10,2 azaltmaktadır. Doğum boy uzunluğu kısa olup çocukluk döneminde büyümeyi yakalayan uzun boylu kızlar koroner kalp hastalığı açısından daha büyük risk altındadır (57). Bu sonuçta doğum ağırlığının tek başına yeterli bir gösterge olmadığı diğer antropometrik verilerin de önemli olduğunu vurgulamaktadır.

Kardiyovasküler hastalık riskine ek olarak antropometrik veriler ile tip 2 diyabet ve kan basıncı arasındaki ilişki irdelendiğinde; Hertfordshire’da doğan erkeklerin doğum ağırlığı ve 1 yaşındaki vücut ağırlığı arttıkça tip 2 diyabet görülme oranının ve kan basıncının azaldığı bulunmuştur (58). Bu çalışmaların sonuçları genel olarak değerlendirildiğinde ise beslenme ve diğer faktörler fetal dönem ve ilk yıllardaki büyüme ve gelişimi etkileyip, fizyolojik ve metabolik değişikliklere neden olarak yetişkinlik dönemi kronik hastalıkları için belirleyici rol oynadığı düşünülmektedir (46,58).

2.3. Epidemiyolojik Çalışmaların Eleştirildikleri Yönler

Fetal programlama hipotezini destekleyen epidemiyolojik çalışmaları değerlendirirken dikkatli olmak gerekmektedir. Epidemiyolojik çalışmalar her ne kadar fetal dönemdeki maruziyet ve sonuç arasında bir ilişkiyi güçlendirmeye çalışsa da tam anlamıyla sebep-sonuç ilişkisi sunamamaktadır. Örneğin, “Hollanda Açlık Kışı” çalışması tutulan kayıtlar ve sağladığı veriler nedeniyle diğer epidemiyolojik

çalışmalardan üstün tutulmaktadır (48). Bu çalışma da net olmayan veriler içermektedir. Her ne kadar gebelik dönemindeki toplam alınan kalori yaklaşık olarak bilinse de kişi bazında herhangi bir veriye ulaşılammamaktadır. Bunun yanında savaş zamanları stresin de yoğun olarak yaşandığı zamanlar olarak düşünüldüğünde stresin fetal programlama üzerindeki etkisi bu çalışmada değerlendirilememektedir (59).

Epidemiyolojik çalışmalarda ele alınması gereken bir diğer nokta ise, çalışmaya kişileri dahil ederken homojenitenin ne düzeyde sağlanabildiğidir. Örneğin Hertforshire’da doğan bireyler üzerinde yapılan bir çalışmada, iskemik kalp hastalıklarının araştırıldığı çalışmaya 5654 kişi dahil edilmiş ve obstrüktif akciğer hastalığından ölen kişi sayısı 43 olarak belirlenmiştir (60). Doğum ağırlığı ve çocukluk dönemindeki solunumla ilgili enfeksiyonların obstrüktif akciğer hastalığına olan etkisi irdelenmek istediğinde ise yine Hertfordshire’da doğan kişiler alınmış fakat bu kez 5718 kişi çalışmaya dahil edilmiş ve 55 kişi obstrüktif akciğer hastalığından dolayı yaşamını yitirdiği bulunarak pozitif bir ilişki bulunmuştur (61). İlk çalışmada obstrüktif akciğer hastalığından dolayı bireylerin %7.6’sı yaşamını yitirirken ilk çalışmada olmayıp ikinci çalışmada olan 64 kişide ise bu oran %188’dir (62).

Sosyoekonomik durum, kişinin diyeti, fiziksel aktivite durumu, sigara kullanımı gibi kronik hastalık riskinde önemli rol oynayabilen faktörleri etkileyebilmektedir. Sosyoekonomik durumun epidemiyolojik çalışmalardaki sonuçlara nasıl etkilediğinin çoğu çalışmada belirlenmemesi eleştirilen bir diğer noktadır (62). Glicksman ve diğerlerinin (63) yaptığı prospektif çalışmada çocukluk dönemindeki düşük sosyoekonomik durum ile koroner kalp hastalığı arasında güçlü bir ilişki olduğu ve gebelik dönemindeki beslenme, doğum ağırlığı, anne sütü alıp almaması, yetişkinlik dönemindeki sosyoekonomik durum gibi diğer faktörlerle bu durumun açıklanamadığı ifade edilmiştir.

Epidemiyolojik çalışmalardan elde edilen veriler kendi içerisinde tutarsızlık gösterebilmektedir. Abdominal çevre uzunluğunun azalması düşük dansiteli lipoprotein (LDL) kolesterol düzeyini artırdığı yönünde bir ilişki kurulmuş, karaciğer gelişiminin optimum düzeyde olmadığı kanısına varılmış ve zayıf olmanın önemli bir faktör olduğu düşünülmüştür (64). Bu çalışmadan bir yıl önce yayınlanan farklı bir

araştırmada ise karaciğerde sentezlenen fibrinojen konsantrasyonu ile boy kısalığı arasında ilişki kurulurken zayıflıkla ilgili bir ilişkinin olmadığı kaydedilmiştir (65).

2.4. Fetal Programlama ve Deneysel Modeller

Epidemiyolojik çalışmalarda antropometrik ölçümlerden yola çıkılarak varılan sonuçlar dolaylı sonuçlar olduğu için sebep-sonuç ilişkisini gösteren, epidemiyolojik çalışmaların eleştirilen yönlerini kontrol altına alarak onları tekrarlayabilen, yaşamın erken dönemindeki beslenme ile ilişkili faktörlerin etkisini mekanizmaları ile birlikte sunabilen deneysel hayvan modellerine ihtiyaç duyulmuştur (9,66,67).

Hastalık riskini stres, sigara, enfeksiyonlar, alkol gibi birçok faktör etkilediği için hayvan modelleri bu faktörleri kontrol altına alma açısından önemli rol oynamaktadır. Ayrıca etik nedenlerden dolayı insanlar üzerinde bu çalışmalar gerçekleştirilememektedir. Hayvan model çalışmalarında ise farklı beslenme örüntüleri kullanılarak beslenmenin etkisi daha net ortaya konabilmektedir (33,66,68,69).

Hayvan modellerinde makro besin öğelerinin aşırı ve yetersiz alınması, kalori kısıtlaması ve bazı mikro besin öğelerinin yetersiz alınmasının sonuçlarının değerlendirildiği çalışmalar ön plana çıkmaktadır (9).

2.4.1.Yetersiz Beslenme ile İlişkili Hayvan Modeli Çalışmaları

Düşük Proteinli Diyetler

Düşük proteinli diyet modelleri ratlarda fetal büyüme geriliği oluşturmak için yaygın olarak kullanılmıştır. Ratlarda üremenin gerçekleşebilmesi için minimum protein gereksinimi %5 iken, üremenin optimum düzeyde sağlanabilmesi için ise protein oranının %15-20 arasında olması gerekmektedir (70). %20 oranında protein içeren diyetin amino asit örüntüsünün de daha dengeli olduğu ifade edilmektedir (71). Çalışmaların çoğunda diyetin ağırlığının %6-12'ni proteinlerin oluşturduğu örüntü ile kontrol grubunda ise protein oranının %24'e kadar çıktığı örüntülerin etkileri incelenmiştir (68).

Maternal düşük proteinli diyetlerin etkileri değerlendirildiğinde nefron yapımının bozulmasıyla azalan nefron sayısı ve bunun sonucunda da artan kan basıncı, pankreas β hücrelerinin proliferasyonun hızının azalmasıyla β hücre kütlelerinde azalma, β hücre apoptozunda artış, insülin sekresyonunda azalma ve daha düşük doğum ağırlığı kaydedilmiştir (16-19). Düşük protein verilen ratlarda 11- β -hidroksi steroid dehidrojenaz (11 β HSD) enzim aktivitesinin düştüğü ve bu aktivite düşüşü ile birlikte sistolik kan basıncında artış görülmüştür (19).

Yüksek sistolik kan basıncının yanında yaşam süresi değerlendirildiğinde fetal dönemde %9 oranında protein içeren diyetle olan maruziyet dışı ratların yaşam süresinin %11 oranında azalmasına neden olmuştur. Bu sonuç ile erken dönemdeki optimal olmayan beslenmenin moleküler ve hücresel yenilenme kapasitesini programlayarak yaşlanma sürecini etkilediği ileri sürülmektedir (72). Bu çalışmayı destekleyen bir başka araştırmada düşük proteine maruz kalan ratların yaşlanma süreci ile ilişkilendirilen telomer uzunluğunun daha kısa olduğu bildirilmiştir (73).

Protein kısıtlı diyetler DNA metilasyonunda değişikliklere yol açabilmektedir (74). Burdge ve diğerlerinin (74) 2006 yılında ratlar üzerinde yaptığı çalışmada peroksizom proliferatör-aktif reseptör (PPAR- α) geni ve glukokortikoid reseptör geni promotörlerinin metilasyonunda, ilk nesilde görülen DNA metilasyonundaki azalma anlamlı olarak bir sonraki nesilde de gözlenmiştir. Metilasyonun azalmasıyla glukoneojenezde anahtar rol oynayan fosfoenol piruvat karboksikinas (PEPCK) enzim düzeylerinde artış saptanmıştır (74). Her ne kadar maternal diyet kısıtlamaları ile ilgili yapılan çalışmaların çok büyük bir kısmı ilk nesil üzerindeki etkileri üzerine kurulu olsa da bu çalışmada gösterildiği gibi etkiler sadece ilk nesilde değil sonraki nesillerde de görülebileceğine dair bazı hayvan çalışmalarında rapor edilmiştir (74,75).

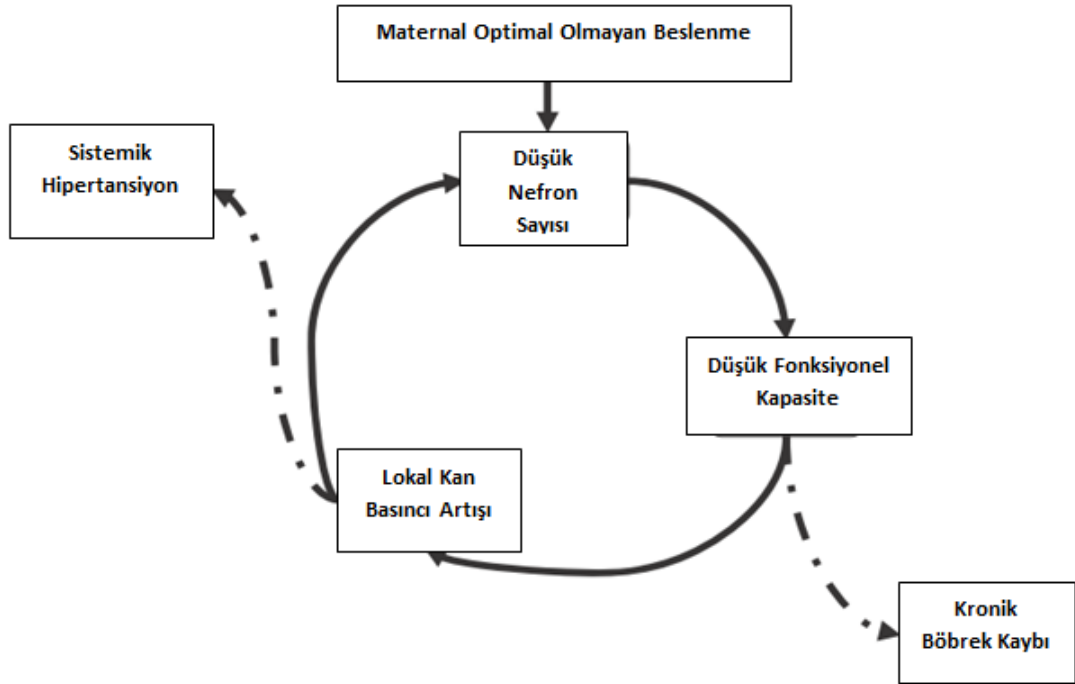
Ayrıca maternal düşük proteinli diyetler beslenme davranışını ve tercihini de etkileyebilmektedir. Fetal dönemde düşük proteine maruz kalmış yavrulara yüksek yağlı-yüksek proteinli-yüksek karbonhidratlı diyet örüntüleri sunulduğunda fareler daha çok yüksek yağlı besinlere yönelmişlerdir (20).

Düşük Proteinli Diyetler ve Kardiyovasküler Hastalıklar

Düşük proteinli diyet modelinin maternal malnütrisyon ile ilişkili ileriki yaşlarda görülen kardiyovasküler hastalıkların mekanizmalarını açıklayabileceği düşünülmektedir (76).

Maternal düşük proteinli diyetlerin etkileri değerlendirildiğinde üzerinde en fazla durulan konulardan biri yüksek kan basıncıdır. Yavrular 3 - 4 haftalık olmaya başladıklarında kontrol grubuna göre 15-25 mm Hg daha yüksek kan basınçları görülmüştür (77,78). Bir başka çalışmada ise maruz kalınan yetersiz protein oranından (%6, %9, %12) bağımsız olarak kan basıncındaki artışın benzer olduğu vurgulanmaktadır (79). Bu çalışmalara ek olarak gebeliğin farklı dönemlerinde yetersiz proteine olan maruziyetin kan basıncı üzerindeki etkisi irdelendiğinde gebeliğin son dönemindeki müdahalenin etkisinin daha büyük olduğu gösterilmiştir. Böyle bir etkinin sebebi ise gebeliğin son haftası özellikle son günlerinde çok hızlı bir büyüme gerçekleşmesi ve beyin gibi hayati organların gelişimini sürdürebilmek için karın bölgesindeki organların gelişiminin olumsuz etkilenmesi olarak açıklanmaktadır (77).

Böbrekler vücut sıvı dengesi, sodyum homeostazı ve kan basıncı regülasyonunda çok önemli roller üstlenmektedir. Langley-Evans ve diğerleri de (17) kan basıncındaki artışın böbrek yapısındaki değişimden kaynaklanabileceğini ileri sürmüşlerdir. Langley-Evans ve diğerlerinin (17) yaptığı çalışmada düşük proteine maruz kalan ratların böbreklerinde %13 daha az nefron bulunurken kan basınçları ise kontrol grubuna göre %13 daha fazla bulunmuştur. Mackenzie and Brenner'de (80) glomerular filtrasyon hızının normal aralıkta sürdürülebilmesi için renin-anjiyotensin sistemin aktivasyonu ile sistemik kan basıncında artış gerçekleştiğini ifade etmiştir. Bunun sonucunda da glomerular kapiller basınçta da artışın gerçekleşmesiyle glomerular sklerozis, nefron kaybında artış gibi birbirini izleyen süreçlerle böbrekte hasar ve hipertansiyonun ortaya çıktığı düşünülmektedir (Şekil 2.1) (17,80,81).



Şekil 2.1. Maternal Optimal Olmayan Beslenmenin Hipertansiyonu Etkilemedeki Olası Akış Şeması. Langley-Evans (81)'dan alınmıştır.

Langley-Evans ve diğerleri (19) fetal dönemdeki protein kısıtlamasının maternal glukokortikoidleri inaktif forma dönüştürerek fetüsü glukokortikoidlerden koruyan 11β -hidroksi dehidrojenaz enzim aktivitesinin daha az olduğunu kaydetmiştir. Enzim aktivitesinin azalmasıyla glukokortikoidlere olan aşırı maruziyet ile sonuçlanmış olacağını ve bu maruziyetinde HPA fonksiyonunda kalıcı değişikliklere neden olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Yaptıkları bir sonraki çalışmada da beyin ve karaciğerde glukokortikoid uyarımlı enzim aktivitelerinde, tip II glukokortikoid reseptör aktiviteleri ve kortikosterona hassasiyette artış olduğu sonucunu bularak HPA aksının düşük proteinli diyet modeli ile programlandığı hipotezini desteklemişlerdir (82).

Ayrıca glukokortikoidler anjiyotensinojen, renin-anjiyotensin dönüştürücü enzim ve anjiyotensin II reseptörlerinin ekspresyonunu uyarak renin-anjiyotensin sistem üzerinde önemli roller üstlendiği gösterilmiştir (83). Bu hipotez emziklilik dönemindeki anjiyotensin-II reseptör antagonisti müdahalesinin ratlarda yüksek kan

basıncı oluşumunu engellemesiyle anjiotensin II'nin doğum öncesi hipertansiyon programlanmasındaki faktörlerden biri olduğu gösterilerek desteklenmiştir (84).

Özet olarak fetal dönem düşük proteinli diyet maruziyetinin kan basıncındaki artışı böbrek yapısı, hipotalamus pitiüter adrenal aks ve renin-anjiotensin sistemin etkilenmesi sonucu ortaya çıkmaktadır.

Kardiyovasküler hastalık araştırmalarında kemirgen modellerinin kullanılmasının dezavantajlarından biri kemirgenlerin ateroskleroze dirençli olmalarıdır. Bu yüzden kardiyovasküler hastalıklar ile ilgili çalışmalarda kan basıncı ve kan basıncı regülasyonunun dışında çok az sayıda çalışma yer almaktadır (68).

Düşük Proteinli Diyetler, Bozulmuş Glukoz Toleransı ve İnsülin Direnci

Gebelik ve yaşamın ilk dönemlerindeki düşük proteinli diyet modellerinin bozulmuş glukoz toleransı ve insülin direnci üzerindeki etkisini açıklamaya çalışan oldukça fazla sayıda çalışma yer almaktadır.

İnsülinin depo edildiği Langerhans adacıklarının β -hücrelerindeki insülin miktarı ve insülin salınımı fetal dönemde düşük proteine maruz kalan ratlar üzerinde araştırıldığı bir çalışmada gebeliğin 21. gününde ötenazi gerçekleştirilmiş ve gruplar arasında insülin miktarı açısından fark yok iken insülin salınımında kontrol grubuna göre düşük proteinli grupta anlamlı bir düşüş gözlenmiştir. Bu gözlem ile hücre içi Ca^{++} konsantrasyonunun artışı insülin salınım yollarının en önemli adımlarından biri olduğu için Ca^{++} akımı, Ca^{++} bağımlı ekzositoz enzim aktivitelerinde azalma ve β -hücrelerinden insülin salınımında ikincil haberci olarak görev alan cAMP'in sentezinde azalma gibi insülin salınımının ekzositotik sürecinin etkilendiği düşünülmüştür (18). Bir başka çalışmada ise fetal dönemde düşük protein maruziyeti yaşayan ratların yetişkinlik dönemindeki pankreatik insülin içeriği incelendiğinde daha az olduğu ve β -hücrelerinin ise %28 daha az olduğu bulunmuştur (85). Amino asitlerin insülin salınımı ve β -hücre gelişimi için önemli uyaranlardan biri olması bu sonuçların ortaya çıkmasında önemli rol alabileceği ifade edilmektedir (85). β -hücreleri ile ilgili üzerinde durulan bir diğer husus ise düşük proteinli diyet tüketen annelerin yavrularında β -hücre apoptozunun artış göstermesidir. β -hücre apoptozunun artışında azalan IGF-2'nin ekspresyonunun rolü düşünülmektedir. Çünkü

IGF-2 β -hücrelerinin gelişimi, olgunlaşması, fonksiyonu ve apoptozdan korunmasında önemli rol almaktadır (16).

Karbonhidrat metabolizmasında glukoneojenez ve hepatik glukoz alımında rol oynayan fosfoenol piruvat karboksi kinaz (PEPCK) ile glukokinaz enzim aktiviteleri düşük protein maruziyeti yaşayan ratlarda incelendiğinde PEPCK'da artış, glukokinaz aktivitesinde ise azalma kaydedilmiş ve bu enzim aktivitelerindeki değişiminde glukoz intoleransına neden olabileceği ifade edilmiştir (86).

Enerji Kısıtlaması

Gebelik dönemindeki enerji kısıtlamasının doğan yavrular üzerindeki etkilerini açıklamaya çalışan araştırmalarda %15 gibi düşük kısıtlama oranından, %30, %50, %70'e varan oranlarda enerjinin kısıtlandığı çalışmalar yer almaktadır (13,87-89). Enerjinin kısıtlanması, hangi oranda enerji kısıtlandığından bağımsız olarak doğan yavrularda kontrol grubuna kıyasla düşük doğum ağırlığına neden olmuştur (13,87-89).

Düşük doğum ağırlığı yanında kobaylar üzerinde yapılan araştırmada gebelik döneminden önce ve gebelik dönemi ortasına kadar %70, gebeliğin 60. gününe kadar %10 enerji kısıtlaması uygulanmış ve bu müdahalenin organ ağırlıklarının vücut ağırlığına göre değerlendirilmesinde biceps, karaciğer, dalak ve timus gibi organ ağırlıklarının azalmasına neden olmuştur (90).

Enerji kısıtlamasının neden olduğu etkiler gebeliğin hangi döneminde bu müdahaleye maruz kaldığına göre de değişiklik gösterebilmektedir. Örneğin gebeliğin son evresinde enerji kısıtlamasına maruz kalan koyunların yavrularının yetişkinlik döneminde hipotalamik-pitiüter-adrenal aks (HPA) aktivitesinde herhangi bir değişiklik görülmemesine karşın gebeliğin erken evrelerindeki maruziyet doğan yavrularda HPA aktivisinde azalmaya neden olmuştur (91,92).

Bu etkilerin yanında gebelik dönemindeki enerji kısıtlaması hiperinsülinemi, hiperfaji, hiperleptinemiye neden olurken farklı bir araştırmada maruziyet ile besin tercihleri arasında ilişki kurularak yağ içeriği yüksek besinlere olan eğilimin arttığı rapor edilmiştir (13,89,93). İnsülin ile tokluk arasında pozitif bir ilişki olması beklenirken hiperfajinin görülmesi insülin ve leptin direnci ile açıklanabileceği düşünülmektedir (13,93). Ayrıca yazarlar, kalori kısıtlamasının sinir hücresi

gelişimini ve nöroendokrin sistemi olumsuz yönde etkileyerek bu sonuçlara neden olduğunu düşünmektedir (89,93).

Enerji kısıtlamasının fetal gelişim üzerinde önemli rol oynayan insülin benzeri büyüme faktörleri (IGF)'ne olan etkisi de koyunlar üzerinde çalışılmıştır (94). Gebeliğin son dönemindeki maruziyet IGF-1 ve insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein-3 (IGFBP-3) konsantrasyonlarını azaltmıştır. Bu sonuçlarda optimal olmayan koşulların fetal IGF-1 ve IGFBP-3'i programladığını göstermektedir (94).

Yetersiz Demir Alımı

Fetal dönemde demir yetersizliğine maruziyet her ne kadar etki mekanizması tam olarak belirlenememiş olsa da deney hayvanlarında özellikle artan kan basıncı ile ilişkilendirilmektedir (2,14,95,96). Kan basıncındaki artış azalan nefron sayısı ile açıklanmaya çalışılmış ve demir yetersizliğinin fetal dönemde nefron yapımını etkilemiş olabileceği düşünülmektedir. Bu etkiyi ise renal oksijenizasyonda azalma ya da maternal demir kısıtlamasının glukokortikoidlere olan hassasiyeti artırması gibi etkilerle ortaya çıkarabileceği öngörülmektedir (95). Kan basıncı üzerindeki etkisinin yanında kalp ağırlığını irdeleyen araştırmalarda kalp ağırlığı kontrol grubuna göre daha fazladır (2,14). Kalp ağırlığındaki artış fetal gelişim sırasında dokulara olan perfüzyonu kolaylaştırmak için kardiyak çıkışın arttığı bir adaptasyon olabilir (14).

Yetersiz demire maruziyetin glukoz metabolizmasına ilişkin etkisi net olarak anlaşılamamıştır. Örneğin Wistar ratların 3 aylık iken glukoz toleransı kontrol grubuna göre daha iyi iken aynı ratlar 14 aylık olduklarında ise kontrol grubuna göre anlamlı herhangi bir fark bulunmamıştır (96,97).

Sınırlı demir alımı doğan yavruların yetişkinlik dönemindeki vücut kompozisyonunu da etkilediği gösterilmiştir. 3 mg/kg Fe içeren diyet ile beslenen anne Wistar ratların yavruları 9 aylık olduklarında visceral adipoz dokularının kontrol grubuna göre %15 daha fazla olduğu bulunmuştur. Bu sonuçta doğum öncesi demir yetersizliği oluşturulan grupta lokomotor aktivitedeki %25 azalma sonucu daha az fiziksel aktif olmaları ile ilişkilendirilmiştir (98).

Yetersiz Çinko Alımı

Çinko 70'den fazla metallo enzimin bir bileşeni ve normal büyüme-gelişme, hücresel bütünlük, protein sentezi ve nükleik asit metabolizmasında önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle çinko fetal büyüme ve gelişmede önemli bir faktör olarak görülmektedir (99). Gebelik ya da gebelikten emziklilik sonuna kadar olan dönemde çinko yetersizliği düşük doğum ağırlığı ve daha düşük vücut ağırlığına, daha yüksek vücut yağ yüzdesine neden olduğu kaydedilmiştir (15,100-102). Fetal dönemdeki çinko yetersizliğinin hücre çoğalması ve farklılaşması gibi fetal dönem büyüme ve gelişmede önemli rol üstlenen IGF aksını olumsuz yönde etkileyerek büyüme ve gelişmeyi etkileyen mekanizmalardan biri olarak düşünülmektedir (103).

Gebelik ve emziklilik dönemindeki çinko yetersizliği doğan yavruların yetişkinlik döneminde kan basıncı, triaçilgliserol (TAG) seviyelerinde artma ve glomerular filtrasyon hızı (GFH)'nda azalma vasküler ve renal nitrik oksit (NO) sentaz aktivitesinde azalma ile sonuçlanmıştır (15,102). Bu etkilerin yanında renal korteks yapısında fibrozis, kortikal tübüllerdeki apoptotik hücre sayılarında artış, nefron sayısında azalma ve glutatyon peroksidaz enzim aktivitesinde azalma meydana gelmiştir (102). Vasküler düz kas hücrelerinde gevşemeyi sağlayan NO sistemindeki aksaklık ve glomerular filtrasyon hızındaki azalma kan basıncının artışında rol oynadıkları düşünülmektedir (15). TAG seviyelerindeki artış ise yetersiz çinko seviyesinin de novo lipojenezi uyarması ve yağ asit oksidasyonunun azalmasıyla açıklanırken, GFH'nin azalması ise programlanmış hücre ölümünün hücre havuzundaki çinko miktarından etkilenmesine bağlanmıştır. Çünkü hücredeki çinko miktarı azaldığında kortikal tübüllerdeki apoptotik hücre sayılarında artış, nefron sayısında azalma görülmekte ve buna bağlı olarak da GFH azalmaktadır. Çinkonun antiapoptotik etkisini açıklayan bir diğer mekanizma ise süperoksit dismutaz (SOD) enziminin yapısında bulunarak hücreyi oksidan yapılardan koruyabilmesidir (102).

Bu etkilerin yanında maternal çinko yetersizliği doğan yavruların altıncı ayındaki plazma insülin seviyelerinde azalma hem erkek hem de dişi yavrularda gözlenirken glukoz ile uyarılan insülin salınımında ise sadece dişi ratlarda azalma gözlenmiştir. Bu sonuçta cinsiyetin önemli bir etken olduğunu göstermektedir. Ayrıca insülinin fetal dönemde büyüme ve gelişme de esansiyel faktörlerden biri

olduğu düşünüldüğünde düşük doğum ya da ilerleyen dönemlerdeki düşük vücut ağırlığının görülmesine etki eden faktörlerden biri olarak düşünülebilir (101).

2.4.2.Fazla Beslenme İle İlişkili Hayvan Modeli Çalışmaları

Yüksek Yağ Alımı

Yüksek yağ içeren diyetin etkisinin araştırıldığı hayvan modellerinde diyetin uygulanma süresi, yağdan gelen enerji yüzdesi, diyet yağ asit örüntüsü gibi faktörlerin çalışmalar arasında farklılık göstermesi çalışmaların karşılaştırılmasını olumsuz yönde etkilemektedir (104). Örneğin, Sullivan ve diğerlerinin (104) yazmış olduğu derlemede ifade edildiği gibi maternal diyetin yağ asit örüntüsü karşılaştırılmış ve doymuş yağdan zengin olan annenin diyeti doğan yavrularda hiperfajiye neden olmuşken balık yağı grubunda böyle bir etki gözlenmemiştir.

Gebelik dönemindeki yüksek yağ alımının doğum ağırlığına herhangi bir etkisi gözlenmezken, emzicilik dönemi sonrasında vücut ağırlığı ve yağ dokusunun artış gösterdiği bildirilmektedir (10,105,106). Bu sonuçlarda gebelik döneminde yüksek yağ içeren diyetle olan maruziyetin doğan yavruda obezite ve metabolik bozukluk riskin daha yüksek olduğunu göstermektedir.

Gebelik ve emzicilik dönemlerinde enerjinin %32.1'i doymuş yağ asitlerinden gelen diyet ile beslenen C57BL/6J farelerin yavrularının yetişkinlik döneminde obezite, hiperglisemi, insülin direnci ve hipertansiyon görülmüştür. Bu yavrular 6 aylık olduklarında ortalama femoral epifiz kemik mineral dansitesi ölçülmüş ve osteoporozla karakterize olarak yüksek yağa maruz kalmış farelerde daha düşük bulunmuştur. Yüksek yağlı diyetin bu etkilerinin mekanizması değerlendirildiğinde diyetlerine kuersetin eklenen farelerde bu metabolik bozukluklar görülmendiğinden dolayı oksidatif stresin çok önemli rol oynayabileceği düşünülmüştür (10). Maymunlar üzerinde yapılan bir çalışmada ise bulgular yine yüksek yağlı diyetin oksidatif stresi artırdığı yönündedir. Yüksek yağlı diyet ile beslenen yavrularının karaciğerlerindeki yağ miktarının, karaciğerdeki oksidatif stresin daha fazla olduğu, karaciğer trigliseritlerinde ve glukoneojenik gen aktivasyonunda artışa neden olduğu vurgulanmıştır (107). Bu çalışmada gelişmekte olan fetüsün yüksek yağa ne kadar duyarlı olduğunu, yüksek yağa olan maruziyetin

oksidatif strese neden olduğunu, karaciğer glukoz ve yağ metabolizmasını etkileyerek hepatik glikoneojenezde artışa ve insülin direncine olan yatkınlığa neden olabileceği kanısına varılmıştır (107).

Yüksek Sükroz Alımı

Yüksek yağ alımı ile ilgili çalışmalara kıyasla yüksek karbonhidrat alımının etkilerini içeren çalışmalar daha az sayıdadır (11). Sükrozdan gelen enerjinin %70 olduğu bir diyet ile nişastadan gelen enerjinin %70 olduğu iki farklı diyet sırasıyla deney ve kontrol grubuna gebelikten bir hafta önce vermeye başlanmış ve tüm doğan erkek yavrular 20 haftalık oluncaya kadar yüksek sükroz içeren diyetle devam etmişlerdir. Doğum sonrasında da deney grubunda aynı diyetle devam edilmesine rağmen yapılan analizlerde kontrol grubuna göre yüksek sükrozlu diyet ile beslenen anne ratların yavrularında yağ doku ve karaciğerdeki trigliserit miktarının ve LDL kolesterol konsantrasyonunun daha fazla olduğu görülmüştür (11). Bir önceki çalışmaya paralel olarak D'Alessandro ve diğerlerinin (108) 2012 yılında yaptığı çalışmada da gebelik ve laktasyon döneminde yüksek sükrozlu diyetle beslenen ratların yavrularında plazma lipid ve karaciğer trigliserit seviyelerinin kontrol grubundan daha fazla olduğu bulunmuştur. Fetal dönemde sükroza aşırı maruziyetin dislipidemi ile sonuçlandığı birkaç araştırmada asetil-koenzim A karboksilaz (ACC), glukoz-6-fosfat dehidrojenaz, yağ asidi sentaz, malik enzim gibi de novo lipojenez enzim aktiviteleri incelenmiş ve bu enzim aktivitelerinde artış olduğu kaydedilirken mitokondriyal yağ asit oksidasyonunda da azalma olduğu görülmüştür (109,110).

Yüksek Fruktoz Alımı

Gebelik ve emzicilik döneminde yüksek oranda fruktoz tüketimine maruz kalmış hayvan modellerinde yavruların ve anne hayvanların üzerinde olumsuz etkilere neden olduğu belirtilmiştir. Laktasyon döneminde yüksek fruktoza maruz kalmış Sprague-Dawley ratlarının erkek yavrularının vücut ağırlığı, besin alımı ve plazma leptin seviyesinin kontrol grubuna göre daha fazla olduğu görülürken kortikotropin salıcı hormon gibi bazı anoreksijenik sinyallerin ekspresyonunun daha az olduğu ve leptine olan hipotalamik hassasiyetin azaldığı bulunmuştur (12).

Gebelik ve emzicilikte doymuş yağ ve fruktoz içeriği yüksek diyet ile beslenen ratların yavrularının on beş haftalık iken biyokimyasal parametreleri incelenmiş ve hiperinsülinemi ile insülin duyarlılığında azalma olduğu bildirilmiştir (111). Li ve diğerlerinin (112) 2015 yılında yayınladıkları çalışmada ise hiperinsülineminin nedeni moleküler açıdan sorgulanmıştır. Fruktoza maruz kalan ratların yavrularında glukoneojenezde hız belirleyici enzim olarak görev alan fosfoenol pirüvat karboksikinaz (PEPCK) enzim ekspresyonunun artış gösterdiği bulunmuştur. Bunun yanında insülin duyarlılığındaki azalmaya yüksek fruktozlu diyetle olan maruziyet sonucu artan interlökin-1 β (IL-1 β) gibi proinflamatuvar sitokinlerin artış göstermesi ile ilişki kurulabileceği düşünülmektedir.

2.5. Kronik Hastalıkların Programlanması İle İlişkili Mekanizmalar

2.5.1.Epigenetik

Epigenetik DNA zincirinde herhangi bir değişikliğe neden olmayan aynı zamanda kalıtsal olan, gen ekspresyonunda ortaya çıkan değişiklikler olarak tanımlanmaktadır (113). Hücreler DNA'larını globüler histon proteinleri oktomerleri etrafına sararak nükleozom yapılarını oluştururlar. DNA ve histon proteinlerden oluşan bu yapıda kromatini oluşturmaktadır (114). Gen ekspresyonunun epigenetik kontrolü ise kromatin proteinlerinde gerçekleşen değişimler ile ilgilidir. Kromatin yapısı sıkılaşp yoğunlaştığında genler inaktif duruma geçerken, kromatin yapısı gevşeyerek açıldığında ise genler aktif hale geçmektedir. Yapılan çalışmalarda gen ekspresyonunu kontrol eden ve düzenleyen üç temel mekanizma olduğu görülmüştür. Bunlar DNA metilasyonu, histon modifikasyonu ve RNA regülasyonudur. Bunlar içerisinde en çok çalışılan konu DNA metilasyonu olup RNA regülasyonunun tam olarak nasıl gerçekleştiğine ilişkin elde edilen veri oldukça sınırlı sayıdadır (115).

DNA metilasyonu, DNA metiltransferazlar tarafından CpG (C:Sitozin, P:Fosfat, G:Guanin) adacıklarında ve sitozinin 5 numaralı karbonunda gerçekleşmektedir. DNA metilasyonu gen ekspresyonunda çok önemli rol üstlenmektedir. Çünkü genlerin promotör bölgelerindeki metilasyon, transkripsiyon faktörlerinin tanıma bölgelerinde değişikliklere neden olarak transkripsiyon

faktörlerinin bağlanması engelleyerek gen ekspresyonunu baskılar (114). Histon modifikasyonları ise kromatin ilişkili protein ile etkileşerek, genin transkripsiyon aşamasını düzenleyen faktörlerdir. Bu modifikasyonlar ise metilasyon, asetilasyon, fosforilasyon, ubikitinasyon, s-nitrosilasyon ve sumolasyondur (116). Bu modifikasyonlardan artan asetilasyon transkripsiyonu uyarırken azalan asetilasyon transkripsiyonu baskılamaktadır. H3 histonunun lizin 9 metilasyonu ise transkripsiyonun baskılanmasıyla ilişkilidir (114). RNA ile ilişkili modifikasyonlarda ise daha çok kodlanmayan RNA üzerinde durulmaktadır. miRNA kodlanmayan RNA sınıfında yer almaktadır. miRNA'lar hedef genlerin mRNA'larına bağlanıp translasyon sürecini baskılayarak gen ekspresyonunun düzenlenmesinde görev almaktadır. miRNA'ların daha çok DNA metilasyonu ve histon modifikasyonu ile etkileşime girerek gen ekspresyonunu düzenlenmede rol aldığı düşünülmektedir (117).

Çok sayıda çalışma fetal dönemdeki birçok çevresel faktörün epigenetik değişikliklere neden olabileceğini ifade etmektedir. Metilasyon süreci için önem arz eden bazı besin öğelerinin yetersiz ya da fazla alınması, glukokortikoidlere maruziyet, maternal sigara içimi, maternal hipoksi ve maternal hatalı ilaç kullanımı epigenetik mekanizmayı etkilemektedir. Bu nedenle çok kısa dönemli optimal olmayan beslenme koşulları bile epigenetik mekanizmayı etkileyerek gen ekspresyonunda farklılıklara neden olabilmektedir (81,117).

Fetal dönemde düşük proteinli diyetle maruz kalan ratların peroksizom proliferatör aktive reseptör- α (PPAR α) ve glukokortikoid reseptör ekspresyonları incelendiğinde kontrol grubuna göre çok ciddi artış gösterdiği bulunmuştur. Ayrıca PEPCCK enzim düzeylerinde de artış gözlenmiştir (74). PPAR α 'nın karbonhidrat ve lipit metabolizması homeostazında rol alırken glukokortikoid reseptörü ise kan basıncının düzenlenmesinde rol aldığı düşünüldüğünde bu anahtar gen ekspresyonlarının değişimi kronik hastalıkların temelinde yatan mekanizmalarından biri olarak görülebilir. Benzer bir çalışmada ise yüksek doz folat desteğinin sağlamış olduğu metil grupları düşük proteinli diyetle gözlemlenen PPAR α ve glukokortikoid hipometilasyonunu önlediği kaydedilmiştir (118). Düşük proteine maruz kalmış ratlar üzerinde yapılan farklı bir çalışmada ise anjiotensin reseptörleri araştırılmıştır.

Vazodilatasyon ve periferel basıncın azaltılmasında etkileri olan anjiotensin tip 2 b reseptörü (AT2R)'nün dişi ratlarda daha az olduğu bulunmuştur (119).

Sonuç olarak, fetal dönemde epigenetik değışikliklere neden olan etmenlerden özellikle optimal olmayan beslenme koşulları doğan yavruların sağlığı üzerinde ciddi etkilere neden olmakta ve yetişkinlik dönem hastalık riskini artırabilmektedir (117).

2.5.2. Doku Farklılaşması

Memelilerde normal doku gelişiminde proliferasyon ve farklılaşma anahtar basamaklardır. Tüm organ ve dokular embriyodaki progenitör (öncü) hücrelerden gelişmektedir. Bu öncü hücrelerin sayısı embriyonik ve fetal dönemlerde artar daha sonra ise farklılaşarak farklı formları oluşturup, farklı organları oluştururlar. Bu hücre sayısındaki artışın zamanı dokular arasında farklılık gösterebilmektedir. Örneğin kalp çok erken dönemde oluşmaya başlarken böbrekler daha sonraki aşamalarda gelişim göstermektedir. Beslenmenin doku farklılaşması, organ gelişiminde nasıl etki ettiğini açıklamanın en kolay yolu bazı besin öğelerinin yetersiz ya da fazla alınması ile bu gelişimsel süreci geri dönüşümsüz olarak etkilemesi şeklinde açıklanmaktadır (9,81). Organların gelişiminin farklı zaman periyotlarında olması nedeniyle besin öğesinin hangi zaman aralığında yetersiz ya da fazla alınması da önem taşımaktadır (76). Eğer olumsuz koşullara maruziyet proliferasyon sürecinde gerçekleşirse daha küçük, daha az hücre sayısı olurken hücre tipi normal profilde olmaktadır. Tam tersi olarak, eğer bu olumsuz şartlar farklılaşma sırasında gerçekleşirse normal büyüklükte olup hücre tipinde farklılık ve daha az fonksiyonel birim görülebilmektedir (81). Bu görüşü ise Vehaskari ve diğerlerinin (120) Sprague-Dawley türü ratlar üzerinde yaptıkları nefron sayısı ile ilgili araştırma destekler niteliktedir. Vehaskari ve diğerleri %6 oranında protein içeren diyet ile beslediklerinde, yavruların daha az nefron sayısına sahip olduklarını bulmuşlardır. Düşük proteinli diyetle maruz kalan yavruların 3 günlük iken serebral korteks vaskülarizasyonun daha az olduğu ve bunun yetişkinlik döneminde de aynı şekilde daha az olduğu görülmüştür (3).

Dokularda gerçekleşen farklılaşmalar çok net bir şekilde ilerleyen dönemlerdeki hastalıklar için risk teşkil ettiği anlaşılmasına karşı dokuların yeniden şekillenme sürecinin tam olarak nasıl gerçekleştiği netlik kazanmamıştır (81).

2.5.3. Glukokortikoidler

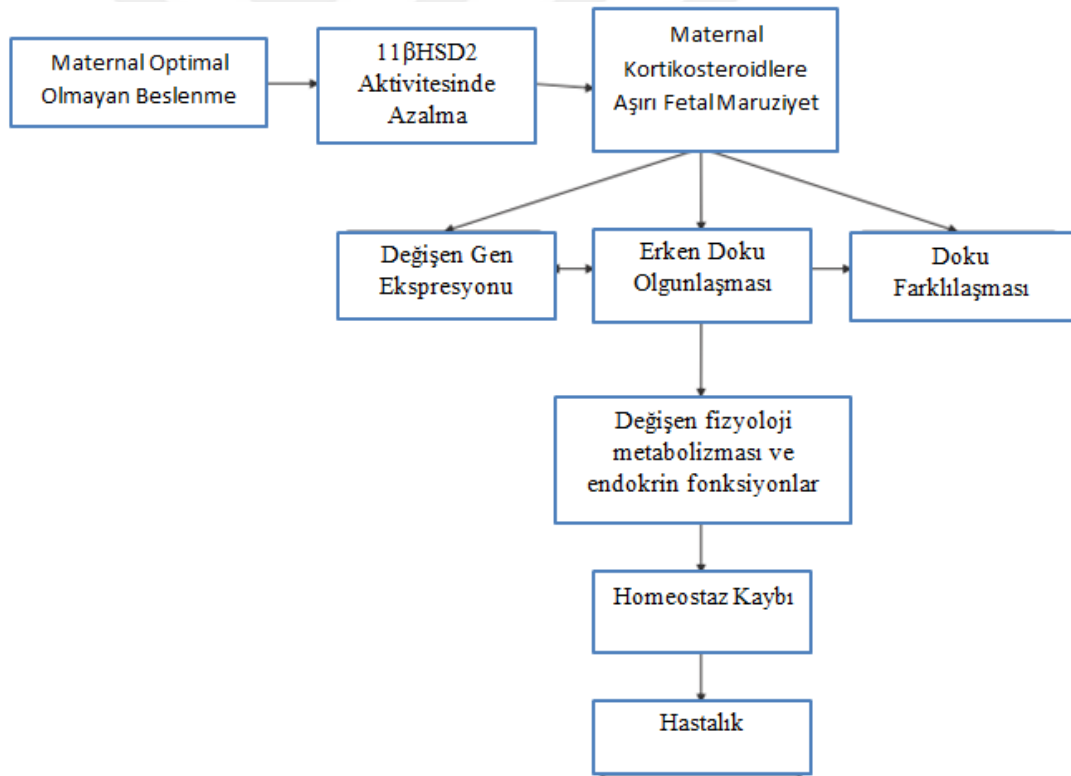
Glukokortikoidler steroid hormon sınıfında yer almakta olup glukoneojenezi uyarma, glukoz kullanım hızını azaltma, kastan amino asit mobilizasyonunu artırma, yağ asit oksidasyonunu artırma gibi metabolizma üzerinde önemli etkileri olmasının yanında fetüsün gelişiminde de kritik role sahiptir (121). Örneğin glukokortikoidler akciğer, kalp, immün sistem ve böbrek gibi organların olgunlaşmasına etki ederek doğumdan sonraki yaşama hazırlar. Bu nedenden dolayı erken doğum tehlikesi yaşayan annelere glukokortikoid tedavisi uygulanarak özellikle akciğer gelişimi pulmoner surfaktan yapımının artırılmaya çalışılmaktadır. Ayrıca glukokortikoidlerin glukokortikoid reseptörlerine bağlanmaları sonucunda hedef genlerin (karaciğerde glukoneojenez için gerekli enzimler) transkripsiyonunu artırdığı ifade edilmektedir (9,76,81).

Plasentanın anne ile fetüs arasındaki besin ögeleri geçişini sağlamada rol oynamasının yanında fetüs için zararlı olabilecek faktörlerin geçişini engellemede de bir bariyer olarak görev almaktadır. Örneğin maternal glukokortikoid konsantrasyonu fetal glukokortikoid konsantrasyonundan 1000 kat daha fazla olması ve bu oranın korunmasının plasentanın bu noktada aktif rol üstlendiğinin bir göstergesidir. Gelişen fetal hipotalamus-pitiüter adrenal aks (HPA)'dan bağımsız olarak plasentadaki 11- β -hidroksisteroid dehidrojenaz enzimi kortizol gibi aktif glukokortikoidleri inaktif forma dönüştürmesiyle bu büyük oran korunabilmektedir (81,122). Bu şekilde fetal HPA aksı maternal etkilerden bağımsız şekilde gelişebilmekte ve fetal gen ekspresyonunun maternal glukokortikoid maruziyetinden etkilenmesi önlenmiş olmaktadır (81). HPA aksı için optimal olmayan beslenme koşulları, plasenta aracılı kan akımının azalması, plasental yetersizlikler gibi koşullar stres olarak değerlendirilmektedir. Stres koşullarında ise maternal HPA aksı aktivasyonu artış göstererek glukokortikoid konsantrasyonlarında artışa neden olabilir (76).

Stres koşullarında artan glukokortikoidlere olan maruziyet ise fetal gelişiminin olumsuz yönde etkilediği hayvan model çalışmalarında gösterilmiştir (82,119). Düşük proteine maruz kalan ratların 11- β -hidroksisteroid dehidrojenaz enzim aktivitelerinin incelendiği bir çalışmada, enzim aktivitesinde %33 azalma kan basıncında ise 17 mm Hg artış saptanmış ve glukokortikoidlere olan maruziyetin sonuçları olarak değerlendirilmiştir. Fetal dönemde düşük proteinli diyet ile beslenen

ratlara, glukokortikoid sentez inhibitör müdahalesi uygulandığında hipertansiyon gelişiminin önlendiği vurgulanmıştır (119). Fetal dönemdeki glukokortikoid maruziyetinin karaciğer ve böbreklerde glukoneojenezi uyarması ile yetişkinlik döneminde glukoz intoleransına neden olabileceği düşünülmektedir (76).

Glukokortikoidlerin fetal programlamaya olan etkisini gösteren çok sayıda araştırma olmasına karşın mekanizmasının tam olarak nasıl olduğu bilinmemektedir. Bu noktada düşünülen mekanizmalardan biri glukokortikoidlerin organ olgunlaşmasında rol alması nedeniyle artan glukokortikoid seviyesinin hücre proliferasyonundan hücre farklılaşmasına neden olarak doku farklılaşması başlığında değinildiği gibi organlardaki fonksiyonel birimlerin azalmasına neden olabileceği yönündedir (76,81). Öngörülen diğer mekanizmalarda şekil 2.2’de özetlenmiştir (81).



Şekil 2.2. Glukokortikoid Programlama Hipotezi. Langley-Evans (81)’den alınmıştır.

2.6. Proteinler

2.6.1. Proteinlere Genel Bakış

Protein sözcüğünün Latincedeki karşılığı “Yaşayan canlılar için elzem azotlu öge” şeklindedir (22). Bu nedenle yaşamsal sistemde en fazla bulunan ve en fazla göreve sahip moleküllerdir (123). Örneğin, enzimler ve polipeptit hormonlar vücutta metabolizmanın düzenlenmesine yardımcı olurken, kastaki kontraktıl proteinler (miyosin, aktin) hareketi sağlamaktadır. Yapısal proteinlerden biri olan kollajen kemik dokuda kalsiyum fosfat kristalleri ile birlikte bulunurken, taşıyıcı proteinler sınıfında yer alan hemoglobin ve plazma albümini hayati moleküllerin taşınmasında görev almaktadır. Koruyucu proteinlerden immunoglobulinler enfeksiyöz bakteri ve virüslara karşı savaşmaktadır. Proteinler metabolizmada çok farklı roller üstlenmelerine karşın ortak özellikleri amino asit polimerlerinden meydana gelmeleridir (123,124).

2.6.2. Amino Asitler

Doğada 300’den farklı amino asit tanımlanmış olmasına rağmen bunlardan sadece 20 tanesi memelilerin proteinlerinin yapısında bulunmaktadır. Bu 20 amino asidinde ortak bir kimyasal yapısı vardır. Prolin dışındaki tüm amino asitler α -karboksilik asit yapısındadır. Hepsinde bir karboksil ($-\text{COOH}$) ve bir amin ($-\text{NH}_2$) grubu bulunur. Sadece yan gruplar ($-\text{R}$) farklılık gösterir ve bu yan gruplar amino asitlerin proteinlerdeki rolünü belirler (123,124). Prolinde fonksiyonel grubunun amino grubuna bağlı olması nedeniyle amino asit değil de daha çok imino asit olarak değerlendirilmektedir. Amino asitler yapısal özelliklerine göre ve elzemliklerine göre sınıflandırılabilir. Amino asitler yan zincirlerine göre sınıflandırıldığında;

- Polar Olmayan Yan Zincirler: Glisin, Alanin, Valin, Löysin, İzölöysin
- Hidroksil Grubu: Serin, Teronin
- Sülfür İçerenler: Metiyonin, Sistein
- Asidik Grup İçerenler ve Onların Amidleri: Aspartik asit – Asparajin, Glutamik asit – Glutamin
- Bazik Gruplar: Arjinin, Lizin, Histidin

- Aromatik Halka: Fenilalanin, Tirozin, Triptofan
- İmino asit: Prolin
- Amino asitlerin modifikasyonu sonucu ortaya çıkanlar: Sistin, Hidroksilizin, Hidroksiprolin, 3-metilhistidin

Amino asitler elzemliklerine göre sınıflandırıldığında löysin, izolöysin, valin, lizin, triptofan, teronin, metiyonin ve fenilalanin olarak 8 amino asit elzem olarak kabul edilmektedir (125,126). Arjinin ve histidin ise çocuklar için elzem olarak kabul edildiğinden yarı elzem amino asitler sınıfındadır (124).

2.6.3. Protein Sentezi

Protein sentezi için genetik bilgi transkripsiyon ile mesajcı RNA (mRNA)'ya aktarılır ve genetik bilgiye uygun amino asitlerde tRNA vasıtasıyla ribozomlara getirilir. mRNA'nın 3'lü baz kombinasyonları sadece 20 farklı tRNA molekülü tarafından tanınması nedeniyle protein sentezine dahil olan 20 farklı amino asit bulunmaktadır. Ancak bu 20 amino asidin protein sentezinde yer almalarının dışında da vücutta diğer amino asitlerde yaygın olarak görülebilmektedir. Örneğin arjinin ile bağlantılı olan ornitin ve sitrülün üre siklusu için önem arz etmektedir. Yaygın olarak bulunan diğer amino asitler ise amino asitlerin protein sentezi için kullanıldıktan sonra modifikasyonları sonucu açığa çıkarlar. Kollajende yer alan prolin ve lizin kalıntılarının hidrosilasyonu sonucu hidroksiprolin ve hidroksilizin ortaya çıkar. 3-metil histidin ise aktin ve miyozin proteinlerindeki histidin rezidülerinin metilasyonu sonucu üretilir. Bu amino asitleri kodlayan herhangi bir tRNA olmadığı için bu amino asitleri içeren herhangi bir protein yıkıldığında tekrar kullanılma şansları yoktur (126).

2.6.4. Proteinlerin Sindirimi

Proteinlerin sindirimi proteolitik grupta yer alan enzimler sayesinde olur. Ağızda proteinlerin sindirimi gerçekleşmez. Mideden inaktif proenzim olarak salgılanan pepsinojen midedeki asit ortam sayesinde aktif yapı pepsine dönüşür. Pepsin, fenilalanin ve tirozin gibi aromatik amino asitlerin ve dikarboksilik amino asitlerin oluşturduğu peptid bağlarını yıkar. Ayrıca bebekler için önemli olan rennin

enzimi sütün yapısındaki kazeini parakazeine dönüştürerek sindirimini sağlar (124,127).

İnce bağırsaktaki sindirim ise midede proteinlerin hidrolizinden açığa çıkan oligopeptid ve amino asitleri içeren sıvının duodenuma gelmesiyle başlar. Pankreatik proteazlarla ise amino asitlere kadar parçalanır. Pankreastan salgılanan tripsinojen enterokinaz ile aktive olur ve tripsine dönüşür. Bu aktif tripsin kimotripsinojen, proelastaz, prokarboksipeptidazı aktif forma dönüştürerek kimotripsin, elastaz ve karboksipeptidazın oluşumunu sağlar. İnce bağırsak duvarlarından salgılanan aminopeptidaz ve dipeptidaz da etki ederek amino asitler serbest hale geçer (124,127).

2.6.5. Amino Asitlerin Emilimi ve Taşınması

En fazla jejunumdan olmak üzere amino asitlerin L izomerleri, ince bağırsağın her iç kısmından aktif taşıma ile lümenenden bağırsak hücrelerine alınmaktadır. Bu aktif taşımada Na iyonları ve B₆ vitamini rol oynar (127).

Dolaşımdan hücre içine girişte olduğu gibi emilim sırasında da amino asitler arasında bir yarış vardır. Miktar olarak fazla olan amino asidin emilim şansı daha yüksektir. Amino asitlerin bağırsaklardan emilmelerinin dışında böbrek tübüllerinden ornitin, arjinin, lizin amino asitlerinin geri emilim sistemi de vardır (124).

2.6.6. Amino Asit Havuzu ve Dağılımı

Amino asit dağılımı oldukça komplekstir. Çünkü vücuttaki organların proteinlerinde yer alan farklı amino asitlerin yanında diyetteki birçok farklı kaynaktan gelen amino asitler de vardır. Buna ek olarak da her bir amino asit serbest amino asit olarak kan ve hücre içerisinde bulunmaktadır. Genel olarak bakıldığında ise amino asitler farklı protein ve farklı amino asit havuzlarında geniş bir aralıkta bulunabilmektedirler (126).

Tüketilen proteinlerin enzimatik hidrolizi sonucu açığa çıkan serbest amino asitler bağırsak lümeninden emilip portal dolaşıma aktarılırlar. Amino asitler bu şekilde sistemik dolaşıma geçer ve farklı dokular tarafından alınırlar. Plazma ve kas dokusu gibi farklı havuzlardaki konsantrasyonları farklılık göstermesine karşın, proteinlerdeki amino asit oranlarının daha sabit olduğu ifade edilmektedir. Genel

olarak değerlendirildiğinde proteinlerde bulunan 20 amino asidin % 5 oranında bulunduğu söylenebilir. Ancak triptofanın molekül ağırlığının fazla olmasının sekonder, tersiyer ve kuarterner gibi konformasyonu üzerindeki etkisinden dolayı proteinlerde daha az bulunabilirken alanin, lösin, serin ve valin %8-10 gibi daha fazla oranlarda bulunabilmektedir. Bunun yanında bazı proteinler özel fonksiyonlar için spesifik amino asitler bakımından zengindir. Glisin kollajenin üçte birini oluştururken yüksek oranda da prolin ve hidroksi prolin bulunmaktadır. Glisin ve prolin, kollajene sıkı ve birbirine geçmiş bir yapı olma özelliği sağlamaktadır (126).

Plazmada amino asitlerin düzeyi, endojen proteinlerden açığa çıkan ve dokular tarafından kullanılan amino asitlerin arasındaki dengeye bağlıdır. Endojen amino asit kaynağının yarısından fazlasını kas dokusu sağlamaktadır. Karaciğerde ise karaciğer proteinlerinin sentezi, plazma proteinlerinin sentezi, endojen amino asitlerin sentezi, pürin-pirimidin gibi diğer azotlu bileşiklerin sentezi gibi çok farklı rol üstlenerek kas dokusu ile birlikte kan dolaşımındaki amino asitlerin düzeyini ve dönüşümünü düzenlemektedir (127).

Açlıkta plazma amino asit konsantrasyonu 30-35 mg/dL kadardır. Bu değer sürekli sabit olmayıp sirkadiyen ritim ile değişiklik göstermektedir. Genellikle plazma amino asit değeri gece saatlerinde en düşük, öğleden sonra en yüksek değerlerine ulaşmaktadır. Plazmada en fazla glutamin, glisin, alanin, valin ve serin bulunurken en az ise aromatik ve kükürtlü amino asitler bulunmaktadır (127). 1974 yılında yapılan araştırmada plazmadaki amino asitler incelenmiş ve 20 μ M ile aspartik asit en az seviyede iken 500 μ M ile glutamin en fazla miktarda bulunmuştur. Ayrıca plazmada hücre dışında glutamatin konsantrasyonu çok düşük iken kas dokusunda, hücre içerisinde oldukça yüksek olduğu kaydedilmiştir (128). Fizyolojik açıdan normal bir kişinin hücre içi amino asit seviyesi ile hücre dışı amino asit seviyesi arasındaki ilişki irdelendiğinde 15:1 şeklinde olduğu ifade edilmektedir (128). Travma, yanık gibi ağır doku hasarı olduğu durumlarda endojen protein katabolizmasının hızlanması durumunda plazma amino asit düzeyi artmaktadır (127).

Hücre dışı ve hücre içi kompartmanlarındaki serbest amino asit havuzlarında ki amino asit konsantrasyonları farklılık göstermekte olup amino asitler daha çok hücrelerin içinde yoğunlaşmış durumdadır (126). Hücresel amino asit konsantrasyonları hücre tipi ve hücre içi kompartmanlara göre farklılık

göstermektedir. Örneğin üre döngüsü için önem arz eden arjinin, ornitin ve sitrulin amino asitleri karaciğerde daha fazla bulunmaktadır (125).

2.6.7. Amino Asitlerin Azot Gruplarının Metabolizması

Amino asitlerin yapısında yer alan α -amino grubu, amino asitleri oksidatif yıkılımdan korumaktadır. Bu nedenle amino asitlerin katabolizması ve amino asitlerden enerji sağlanabilmesi için α -amino grubunun uzaklaştırılması gerekmektedir. Uzaklaştırılan azot ya başka bileşiklerin yapısına girer ya da atılır (129). Temel olarak iki reaksiyon gerçekleşir; transaminasyon ve oksidatif deaminasyon.

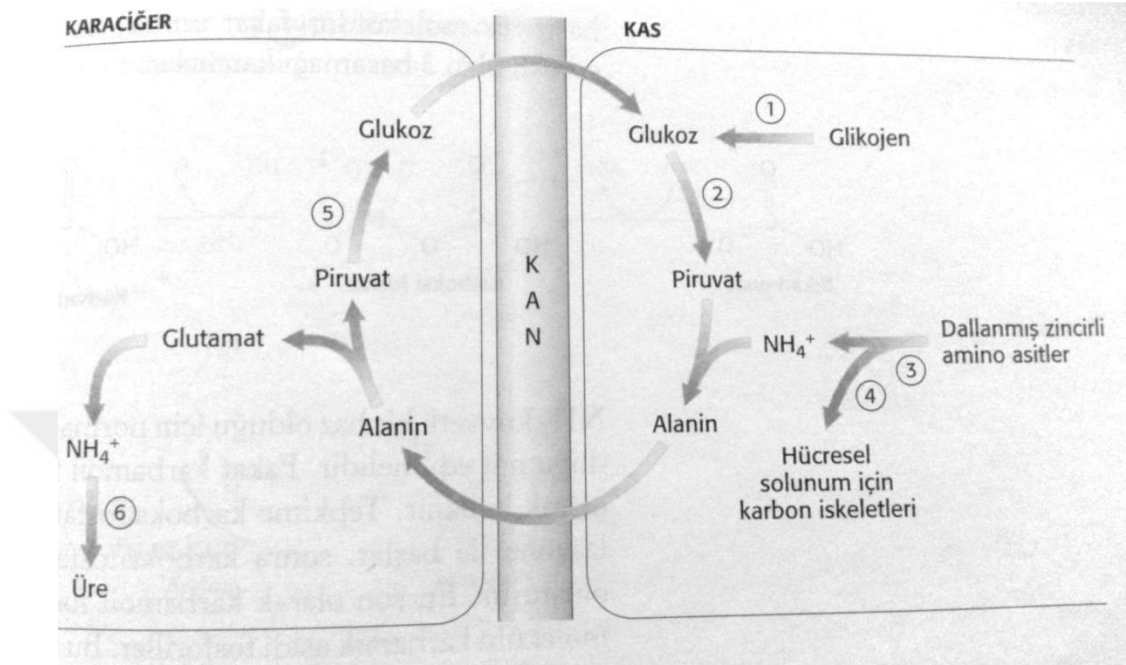
Transaminasyon: Bir çok amino asidin katabolizması için α -amino gruplarının α -ketoglutarata transferi ilk basamak olarak değerlendirilmektedir. Diğer bir deyişle α -ketoglutarat amino gruplarını yapısına katar ve glutamata dönüşür. Oluşan glutamat ise oksidatif deaminasyona uğrar ya da esansiyel olmayan amino asitlerin sentezinde amino grubu vericisi olarak kullanılabilir. Amino gruplarının bir karbon atomundan diğerine transferini ise aminotransferazlar grubu enzimleri katalizler (124,129).

Oksidatif Deaminasyon: Amino gruplarının transfer edildiği transaminasyon reaksiyonlarına zıt yönde gerçekleşir. Ancak bu tepkimedeki amino asitten çıkarılan amino grubu keto aside taşınmaz amonyak oluşumu için kullanılır. α -keto asit ise enerji metabolizması için kullanılır (129).

Oluşan amonyağın karaciğere taşınmasında ise iki önemli yol kullanılmaktadır. Bunlardan ilki glutamin sentetaz enzimi ile amonyak ve glutamat, glutamini oluşturur. Glutamin kan yolu ile karaciğere taşınır burada glutaminaz enzimi ile parçalanarak glutamat ve serbest amonyak açığa çıkar (127).

Bir diğer yol ise özellikle kaslar tarafından kullanılan glukoz-alanin döngüsüdür. Kas dokusunda transaminasyonla piruvattan oluşan alanin, kan dolaşımı ile karaciğere taşınarak transaminasyonla yeniden piruvata dönüşmektedir. Karaciğerde piruvattan glukoneojenez ile oluşan glukoz, kan dolaşımı ile kas dokusuna taşınır. Karaciğerde transaminasyonla alaninden piruvat oluşması sırasında α -ketoglutarata aktarılan NH_3 , daha sonra glutamat dehidrojenaz enzimi ile yapıdan

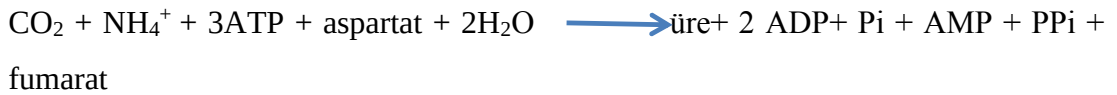
ayrılır. Bu şekilde, kas dokusundaki amino asit azotu da üre sentezinde kullanılmak üzere karaciğere taşınmış olur (127).



Şekil 2.3. Glukoz - Alanin Döngüsü. Lay (130)'den alınmıştır.

Amino asitlerden türeyen amino gruplarının temel atım şekli olan üre molekülünün bir azotu serbest NH_3 'tan diğeri aspartattan gelir. Karaciğerde meydana gelen ürenin atılabilmesi için böbreklere taşınır (129).

Üre sentezi genel olarak şu şekildedir:

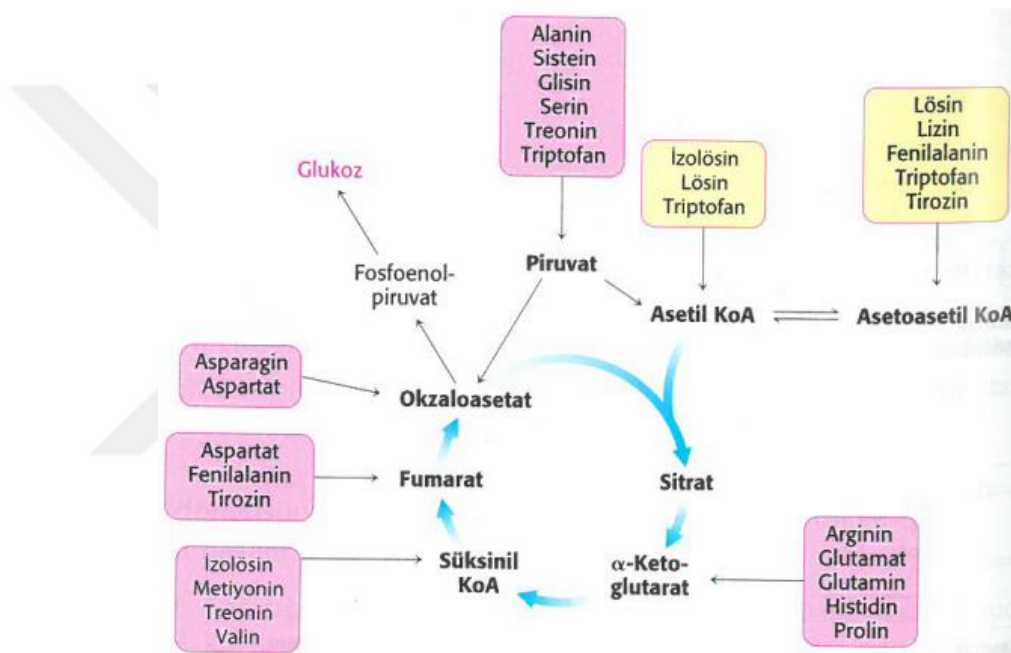


Üre döngüsünün glukoneojenez ile bağlantısı bulunmaktadır. Üre sentezinin sonucunda oluşan fumarat glukoz sentezi için bir öncüdür. Fumarat malata hidrate olduktan sonra oksaloasetata yükseltgenir. Oksaloasetat glukoneojenez ile glukozla dönüşebilir ya da aspartata transamine olabilir (130).

2.6.8. Amino Asitlerin Karbon İskeletlerinin Metabolizması

Bir amino asidin amino grubunun ayrılması ile kalan kısma karbon iskeleti yada α -keto asid denir. Amino asitlerin bu karbon iskeletleri hücre içerisinde ileri metabolize reaksiyonlar ile enerji, glukoz, keton cisimcikleri, kolesterol ve yağ asit üretimi için kullanılabilir (125).

Birbirinden farklı esas 20 amino asidin karbon iskeletleri sadece 7 moleküle dönüşür. Bu moleküller ise piruvat, asetil KoA, asetoasetil KoA, α -ketoglutarat, süksinil KoA, fumarat ve oksaloasetat'tır (Şekil 2.4.) (130).



Şekil 2.4. Amino Asitlerin Karbon İskeletlerinin Ortak Metabolik Yollara Katılımları. Lay (130)'den alınmıştır.

Asetil KoA veya asetoasetil KoA'ya dönüşebilen amino asitlere ketojenik amino asitler denir. Çünkü bunlar ileriki reaksiyonlarla ketonlara ya da yağ asitlerine dönüşebilirler. α -ketoglutarat, piruvat, süksinil KoA, fumarat ya da oksaloasetat'a yıkılabilen amino asitlere ise glukojenik amino asitler denir. Bu amino asitlerde glukoz sentezi için kullanılabilir (130).

2.6.9. Amino Asitlerin Metabolizma ve Fonksiyonları

Amino asitler diğer amino asitlerin sentezlerinde kullanılmasının yanında fizyolojik olarak önemli bir çok bir çok bileşiğin yapısında da temel grupların ön maddesi olarak görev yapmaktadırlar. Porphirinler, bazı hormonlar, nörotransmitterler, melanin pigmenti, metil grubu taşıyan bazı ögeler, piridin nükleotitlerin yapısında yer alan nikotinik asit, pürinler, pirimidinler, spermin ve spermidin gibi bir çok öge amino asitlerden türemektedir (127).

Glisin ve Serin

Glisin ve serin geri dönüşümlü reaksiyonlar ile birbirinden üretilmektedir. Serin etanolamin ve kolin sentezinde görev alırken glisinin de organizmada çok önemli fonksiyonları bulunmaktadır (125,127,131).

- Glisin farklı protein, hormonların ve enzimlerin yapısına katılır.
- Süksinil KoA ile birlikte porfirin sentezinde görev alırken hem yapısının ön maddesidir.
- Glisin bir glukojenik amino asittir. Ara maddeler üzerinden dolaylı olarak karbonhidrat, yağ ve diğer amino asitlerin sentezinde kullanılabilir.
- Kas fonksiyonunda temel bir bileşik olan kreatinin sentezi ve safra asitlerinin sentezi için glisin gereklidir.
- Glisin, sistein ve glutamat ile birlikte glutatyon bileşiğinin yapısında yer alır. Glutatyon serbest radikalleri temizlemekle görevli güçlü bir antioksidandır.
- Ayrıca bir safra asidi olan glükolik asidin yapısında glisin bulunmaktadır.

Alanin

Piruvattan transaminasyon ile sentez edilen alanin kaslarda oluşan amonyağın karaciğere taşınmasında görev alır. Kan glukoz düzeyi düştüğünde alaninden oluşan piruvat glukoneojenezde kullanılarak glukoz elde edilir. Elde edilen glukoz enerji üretiminde kullanılması için kaslara gönderilmektedir (127).

Açlık kan glukozunun korunmasında alanin çok önemli rol oynamaktadır. Çünkü alaninden glukoz sentezleme hızı diğer amino asitlere göre daha fazla olması nedeniyle alanin glukoneojenezde kilit bir noktadadır (127).

Teronin

Esansiyel bir amino asit olan teronin piruvat oluşumundaki rolü nedeniyle glukojenik amino asitler arasında yer almaktadır (125). Teronin yıkılımı sırasında glisine dönüşebilir. Diğer amino asitlerin aksine teronin mukusun glikoproteinlerinde oldukça yüksek oranda bulunmaktadır. Bu nedenle, intestinal inflamasyon sonucu mukus salgısının artması ile teronin gereksinimi de artar (125).

Dallı Zincirli Amino Asitler (Valin, Löysin, İzolöysin)

Kas dokusu, kalp, böbrek, diyafram, adipoz doku ve diğer organlar gibi dallı zincirli amino asitlerin transaminasyonu için dallı zincirli aminotransferaz enzimleri vardır. Diğer dokularla karşılaştırıldığında iskelet kası dallı zincirli amino asitlerin transaminasyonunda en fazla kapasiteye sahiptir. İskelet kasında transaminasyonu takiben dallı zincirli amino asitlerin α -keto asitleri ya kas dokusunda ileri oksidasyon için kalır ya da ileri katabolizma için diğer dokulara gider (125,132).

Dallı zincirli amino asitlerin oksidasyonu ile farklı ürünler oluşur ve oluşan ürünlere göre de glukojenik yada ketojenik olarak sınıflandırılır. Valin Süksinil KoA'ya dönüşmesi nedeniyle glukojenik bir amino asittir. Löysin metabolizmasına bakıldığında asetat ve asetoasetat oluşturduğu için ketojenik bir amino asit iken izolöysin ise glukojenik olan Propionil KoA ve ketojenik olan asetil KoA'ya dönüşebilmektedir (125,127).

Amino asit oksidasyonu aracılığı ile oluşan diğer ürünler ise valinden metilmalonil-KoA, löysin amino asidinden ise β -Hidroksi β -Metilbutirat (HMB)'tır. HMB ise kas dokusunda kolesterol sentez öncüsü olan β -Hidroksi β -Metilglutaril (HMG)-CoA üretimi için önemlidir (125).

Löysin amino asidi enerji üretimi için kas dokuda tamamen okside olan birkaç amino asitten biridir. Löysin yağ asitlerine benzer bir şekilde okside olmakta ve glukoz ile karşılaştırıldığında glukozdan daha fazla enerji sağlamaktadır. Bu nedenle açlık durumlarında oksidasyon için tercih edilen bir amino asittir (125).

Metiyonin

Metiyonin oksidasyonu Süksinil KoA ile sonuçlandığı için glukojenik bir amino asittir. Metiyonin katabolizmasının ilk basamağı metiyoninin S-adenozil metiyonine (SAM) dönüşümüdür. SAM'ın vücutta çok önemli fonksiyonları vardır. SAM metiyonin ileri yıkımını kolaylaştırır ve vücutta primer metil donörü olarak görev alır. Metil donörlüğü sayesinde karnitin, kreatin, epinefrin ve melatonin sentezi yapılır. Ayrıca SAM, DNA metilasyonu için kullanılarak gen ekspresyonunda da rol üstlenmiş olur (125,131).

SAM'ın fonksiyonlarına ilişkin öne sürülen bir mekanizma ise dekarboksilasyon sonucu SAM'ın S-adenozil metiltiopropilamine dönüşüp hücre bölünmesi ve büyümesinde önemli olan spermidin ve spermin gibi poliaminlerin sentezinde görev alabileceği yönündedir (125).

SAM'den metil grubunun ayrılması sonucu SAM, S-adenozil homosisteine (SAH) dönüşmektedir. SAH'da S-adenozil homosistein hidrolaz enzimi ile homosisteine dönüşür. Homosistein betain bağımlı ya da B₁₂ vitamini ve folik asit bağımlı reaksiyonlar ile tekrar metiyonine dönüşebilir. Betain, B₁₂ vitamini ya da folik asidin sağladığı metil grupları sayesinde dönüşüm gerçekleşmektedir. Artan plazma homosistein seviyesi kemikteki kollajen çarpaz bağlarını olumsuz yönde etkileyerek kırık riskini artırabilir. Ayrıca homosistein yüksekliği kalp hastalıkları için de bir risk faktörüdür (125).

Homosisteinin ileri reaksiyonlarında serin amino asidi ile girdiği reaksiyonda sistatyonini oluşturur. Sistatyonin ise B₆-bağımlı enzim olan sistatyonin β-liyaz enziminin katalizlediği reaksiyon sonucunda sisteine dönüşür (125).

Sistein ve Sistin

Esansiyel amino asitlerden olmayan sistein, serin ve homosisteinden sentezlenir. Sistein de diğer amino asitler gibi protein sentezinde kullanılmaktadır. Sistin ise iki molekül sisteinin oksidasyonu sonucu oluşur ve sistinin metabolizması da tamamen sistein metabolizması gibidir (127,133).

Sistein glutatyonun yapısında bulunur. Ayrıca sistein dioksijenaz ile sistein, sistein sülfınata dönüşerek taurinin sentezinde kullanılmaktadır. Taurin, β-amino sülfonik asit olup karaciğerde sentezlenir ve daha çok kas ve beyin dokusunda yoğun

olarak bulunmaktadır. Taurin protein sentezinde yer almamasına karşın retinada antioksidan özellikleri sayesinde fotoreseptör hücrelerin yapı ve fonksiyonunu korumasına yardımcı olmaktadır. Taurinin peroksidatif ürün hasarından korumadaki etkisiyle membran stabilitesinin devamı için önemli olarak görülmektedir. Taurin ayrıca taurokolik asidin yani safra asitlerinin yapısında bulunur. Taurinin bir diğer görevi ise santral sinir sisteminde inhibitör nörotransmitter olarak işlev göstermesidir (125,131).

Aspartik Asit, Asparajin

Aspartik asit, oksaloasetatın glutamat ile transaminasyonu sonucu oluşmaktadır. Aspartatın β -karboksil grubuna, glutaminden sağlanan amino grubunun eklenmesiyle asparajin elde edilir (127).

Üre döngüsünde aspartat α -amino grubunu vererek arjinosüksinatın oluşumunu sağlarken kendisi de fumarat molekülüne dönüşür (132). Aspartat, pürin ve pirimidin bazlarının sentezinde kullanılmaktadır. Ayrıca, üre döngüsünde sitrülün aspartat ile birleşerek arjinosüksinatı oluştururken aspartatın amino grubu da üre döngüsüne katılarak azot sağlar (129).

Glutamik Asit, Glutamin

Glutamat α -ketoglutarat'ın aminlenmesi sonucu oluşmaktadır. Glutamin ise glutamata amin grubunun eklenmesi sonucu meydana gelir. Glutamat amin gruplarının transferini sağlayarak metabolizmada bir çok elzem olmayan amino asit, pürin ve pirimidin sentezine katkıda bulunur. Glutamat metabolizması daha çok hücre içerisinde gerçekleşirken glutamin metabolizması hücre içersinin dışında dolaşım sistemi ile dokular arasında da nitrojen taşıma işlemi gerçekleşir (127,133). Glutamat, pridoksal fosfat (B6) bağımlı reaksiyondaki dekarboksilasyonu ile merkezi sinir sisteminin önemli bir nörotransmitteri olan γ -amino bütirik asit (GABA)'e dönüşür (125,127). Glutamat, K vitaminine bağlı bir enzim sistemi ile γ -karboksiglutamata (Gla) karboksillenmektedir. Sentezlenen Gla'da protrombin gibi bazı pıhtılaşma faktörlerinde ve osteoblastik bir protein olan osteokalsinin yapısında bulunarak bu proteinlerin kalsiyum bağlama gücünü artırır (127). Glutamatın bir diğer rolü ise glisin ve serin amino asitleriyle glutatyonun yapısında bulunmasıdır (125).

80 g serbest glutamin ile vücutta en fazla bulunan serbest α -amino asit glutamindir. Glutaminin en önemli görevlerinden biri toksik olan serbest amonyak yapılarında bulundurarak kanda taşınmasıdır. Glutamin ince bağırsaklardaki katabolizması enterositler için esas enerji kaynağıdır. İnce bağırsaklardaki bir diğer rolü ise bağırsak atrofisini engelleyerek intestinal bağırsak translokasyonuna karşı korur. Glutaminin ince bağırsaklardaki katabolizması sırasında açığa çıkan ürünler ise CO_2 , alanin, piruvat, laktat ve amonyaktır. İntestinal glutamin/glutamat katabolizmasının diğer ürünleri ise prolin ve sitrulindir (125,127,132).

Lenfosit ve makrofajlar aktive olduğunda esas enerji kaynağı olarak glutamini kullanmaktadır (132). Bu hücrelerin proliferasyonunda artan pürin ve pirimidin gereksinimleri glutamin metabolitleri tarafından sağlanır. Glutamin ayrıca hücreleri koruyan ısı-şok ya da stres proteinleri olarak adlandırılan proteinlerin sentezini de artırır (125).

Glutaminin başka bir fonksiyonu ise asit-baz dengesinde önemli bir rol üstlenmesidir. Metabolik asidoz durumlarında böbrek glutamini alarak amonyak, bikarbonat ve glukoz üretimini sağlayarak asit atımının artırılmasını sağlar (127,132).

Prolin ve Türevleri

Esansiyel olmayan amino asitler arasında yer alan prolin kollajen sentezinde kullanılır. Glutamatın ileri reaksiyonlarından sonra prolin oluşmaktadır. Prolinin katabolizması sırasında oluşan orinitin, ornitin dekarboksilaz ile ornitin putressine dekarboksilasyonu poliaminler grubundaki spermidin ve spermin kaynağı olarak kullanılmaktadır (127).

Prolin ve hidroksiprolin kollajenin yapısındaki en önemli amino asitlerdendir. Kollajenin yapımı ya da yıkımı sırasında açığa çıkan hidroksiprolinin katabolizması proline benzer şekilde gerçekleşir (127).

Arjinin

Arjininin büyük bir kısmı arjinaz enzimi ile üre ve ornitine yıkıldığı için protein sentezine katılmamaktadır. Bu nedenle yetişkin bir birey için elzem olmayan arjinin yüksek miktarda amino asit gereken çocuklar için elzem olabilmektedir (127).

Arjinin metabolizması daha çok karaciğer, böbreklerde ve bir de ince bağırsakta gerçekleşir. Glukojenik olan arjininin katabolizması sonucu α -ketoglutarat oluşur. Arjininin vücutta çok farklı fonksiyonları bulunmaktadır (125).

Karaciğerde yıkılarak daha öncede bahsedildiği gibi üre ve ornitin meydana gelmektedir. Oluşan ornitin dekarboksilasyonu ile hücre sinyalizasyonu, büyüme ve proliferasyonda önemli rolleri bulunan poliaminleri oluşturur ya da ornitin aminotransferaz enzimi ve bir seri reaksiyon sonucunda prolin meydana gelebilir (125).

Böbreklerde ise guanidinoasetat üretimi için glisin ile birlikte kullanılır. Karaciğere gelen guanidinoasetatta kreatine dönüştürülür. Nöromodüler fonksiyonlarda görev alan agmatin de beyin ve merkezi sinir sisteminde arjininin dekarboksilasyonu sonucu elde edilmektedir (125,127).

Endotelial hücreler, serebellar nöron, nötrofil ve splanik dokuda nitrik oksit sentaz ile arjinin kullanılarak nitrik oksit üretimi gerçekleştirilmektedir. Oluşan nitrik oksitinde vücutta çok önemli fonksiyonları vardır. Örneğin nitrik oksit vasküler düz kasın gevşemesini sağlayarak kan basıncını düzenleme, intestinal motilite, platelet agregasyonunun inhibisyonu ve makrofaj fonksiyonunda rol oynar. Bunlara ek olarak birçok hücrel proteinin stabilitesi ve fonksiyonunda önemli bir yeri olan proteinlerin glutatyonlanması sürecinde görev alan nitrik oksit glutatyonla birleşerek glutatyonlanmış nitrik oksiti oluşturur (125,127).

Histidin

Histidin de arjinin gibi çocuklar için elzem ve glukojenik bir amino asittir. Protein sentezi için kullanılmasının dışında histidin farklı fonksiyonları bulunmaktadır. Histidin β -alanin ile birleşerek karnozini oluşturur. Karnozin iskelet ve kalp kasının sitozolünde fazla miktarda sentezlenir ve bulunur. Bunun yanında beyin, böbrek ve mide dokularında da bulunur. Karnozinin tüm fonksiyonları henüz tanımlanmamış olmasına karşın hem tampon hem de antioksidan özelliğe sahip olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, karnozin kasın kasılma fonksiyonu için gereken kalsiyum ihtiyacını azaltmaktadır (125,127).

B₆ vitamini aracılığı ile gerçekleşen histidin dekarboksilasyonu sonucu oluşan histamin beyinde nörotransmitter olarak işlev görürken gastrointestinal

sistemde HCl gibi gastrik sekresyonların uyarımını sağlamaktadır. Burun, ağız, kan damarları, iç organların yüzeyinde bulunan mast hücrelerinde ve beyaz kan hücrelerinde (akyuvar) histamin immünolojik roller üstlenir. Bronşiyal düz kas kasılmalarını uyarır ve dilatasyona neden olur ya da akyuvar infiltrasyonunu kolaylaştırmak için kılcal damar geçirgenliğini ve yabancı antijen fagositozunu artırır. Ayrıca kas dokusunda örneğin aktin proteinin yapısında yer alan histidinin metillenmesi ile 3-metil histidin olarak da bulunur. Proteinin yıkımı ile salınan 3-metil histidin farklı bir proteinin sentezi için kullanılamaz ve idrarla atılır. Atılan 3-metil histidin de kas katabolizması göstergesi olarak sıklıkla kullanılmaktadır (125,126).

Ayrıca eritrosit, beyin ve karaciğerde bulunan ergotionin histidin amino asidinin –SH türevidir (127).

Lizin

Lizin diğer amino asitlerin aksine transaminasyona uğramayan esansiyel bir amino asittir. Yapısındaki amino grubunu diğer amino asitlere aktarabilirken azotunu kaybettiğinde tekrar yapısına katamamaktadır. Ketojenik amino asit olan lizinin yıkılımı sonucu asetil - KoA oluşur. Elzem amino asit lizinin metabolizmada önemli fonksiyonları vardır. Örneğin metillenen lizin türevidir olan trimetillizin uzun zincirli yağ asit taşıyıcısı olan karnitin sentezinde kullanılır (125,126). Yine metillenen lizinlerden biri olan N-metillizin kasılma proteini miyozinin yapısında yer alır. Elastindeki dört lizin kalıntısı içeren desmosin ve lizinonorlösün çapraz bağlarının oluşumunda da lizin yer alır. Aldehit türevidir allizin kollajendeki aldoz çapraz bağlarının sentezinde kullanılmaktadır. Lizinin bir başka formu hidroksilizin ise kollajenin yapısında yer alır (127).

Bu fonksiyonlara ek olarak, yapılan çalışmalarda lizinin kalsiyumun çözünürlüğünü artırarak intestinal kalsiyumun emilimini artırdığı gösterilmiştir (134,135).

Fenilalanin ve Tirozin

Fenilalanin ve tirozin kısmen glukojenik kısmen de ketojenik olarak kabul edilir. Çünkü fenilalanin ve tirozin fumarata ya da asetoasetata yıkılabilir (125,132).

Fenilalanin, fenilalanin hidroksilaz enzimi ile tirozine dönüşür. Bu tepkime demir, C vitamini, tetrahidrobiopterine ihtiyaç duyar. Tirozin yıkımının sonunda ise fumarat ve ilerleyen reaksiyonlarla asetil-KoA'ya dönüşebilecek olan asetoasetat oluşur. Asetil-KoA'da enerji üretimi ya da keton cisimciklerinin üretiminde kullanılır (125,126,131).

Tirozin vücutta birçok bileşiğin sentezinde kullanılır. Nöronlarda ve adrenal medullada nörotransmitter ve hormon sentezinde kullanılmaktadır. Tirozin hidroksilaz ile başlayan reaksiyon tirozini hidroksilleyerek 3,4-dihidroksifenilalanin (L-dopa) oluşumunu sağlar ve ilerleyen reaksiyonlarla da L-dopa katekolaminlere (dopamin, norepinefrin ve epinefrin) dönüşür (125).

Adrenal medullada da tirozinden sentezlenen dopaminden norepinefrin (noradrenalin) isimli adrenal medulla hormonu oluşur. Norepinefrinin büyük bir kısmı SAM'den aktarılan metil grubu ile metillenerek epinefrini (adrenalini) oluşturmaktadır (127).

Deri, göz ve saç hücrelerindeki melanositlerde tirozin birçok reaksiyondan sonra melatonine çevrilmektedir. Melanin ise deri, göz ve saçta renk veren bir pigmenttir. Tirozin ayrıca tiroid bezinde iyot ile birlikte kullanılarak tiroid hormon sentezinde kullanılır (127).

Triptofan

Diğer bir aromatik amino asit olan triptofan da hem glukojenik hem de ketojenik olarak kabul edilir. Çünkü triptofanın yıkımı sonucunda pirüvat ve asetil-KoA oluşur (127).

Triptofan katabolizmasının ilk aşaması triptofan dioksijenaz enziminin katalizlediği tepkime sonucu N-formilkinürenin oluşumudur. Bu enzim glukagon ve kortizol tarafında uyarılmaktadır. Oluşan bu N-formilkinüreninden de niasin vitamini ve onun koenzimi olan nikotinamid adenin dinükleotid (NAD) ve nikotinamid adenin dinükloetid fosfat (NADP) oluşur. Bu nedenle, yetersiz protein alımı niasin sentezini de olumsuz etkiler (125,127). Triptofanın katabolizması sırasında mineraller için muhtemel bağlanma ligandı olan pikolinat ortaya çıkmaktadır.

Triptofan ayrıca 5-hidroksitriptamin (serotonin) ve N-asetil 5-methoksiserotonin (melatonin) üretiminde kullanılır. Melatonin epifiz bezinde

üretir ve karanlığa cevap olarak salgılanır. Bu yüzden melatonin hormonu sirkadiyen ritm ve uykunun düzenlenmesi ile ilişkilendirilir. Serotonin fonksiyonu ise daha çok gastrointestinal sistem ile ilgilidir. Serotonin vazokonstriksiyonu ve düz kas kasılmasını sağlar. Ayrıca beyinde nörotransmitter olarak işlev yapar. Serotonin uyku, iştah, ruh hali, hafıza ve bilişsel fonksiyonları etkiler (125).

2.6.10. Protein Dönüşümü

Günde toplam 500 g kadar amino asit metabolize edilir. Metabolize olan amino asitlerin ortalama 100 gram kadarı diyet ile alınan proteinlerden 400 gram kadarı ise endojen proteinlerin yıkımından ortaya çıkmaktadır. Bu yıkım sonucunda amino asitlerin amino grupları ortaya çıkar ve bu amino gruplarından da amonyak ve üre oluşur. Geriye kalan karbon iskeletleri ise pirüvat, krebs döngüsünde yer alan ara ürünlere, asetoasetil KoA gibi ürünlere dönüşür ve ilerleyen metabolik aşamalarda da CO₂ ve H₂O'ya kadar yıkılırlar (127).

Bazı amino asitler hormonlar, porfirinler, pürin ve pirimidinler, nörotransmitterler gibi azotlu bileşiklerin yapısına katıldığından dolayı amino asit miktarındaki azalma diyetle alınan proteinlerle karşılanır (127).

Proteinlerin dönüşümü vücut için büyük önem taşımaktadır. Çünkü DNA molekülleri için geçerli olan tamir sistemi proteinlerde bulunmamakta ve belirli yaşam süresini tamamlayan ya da yanlış katlanmış proteinlerin yıkımı bu şekilde gerçekleştirilmektedir. Proteinlerin yarı ömürleri proteinler arasında farklılık gösterir. Örneğin yanlış katlanan proteinler dakikalar içerisinde yıkılırken, kollajen gibi yapısal proteinlerin yarı ömrü aylar ile ifade edilebilmektedir (129).

2.6.11. Proteinlerin Yıkımı

Proteinlerin yıkımından sorumlu iki enzim sistemi bulunmaktadır. Bunlar ubiquitin-proteazom mekanizması ve enerji bağımlı olmayan lizozomal proteazlardır. Enerji bağımlı olmayan lizozom yıkım enzimleri endositoz ile hücre içine alınmış plazma proteinleri ve reseptör aracılı endositozda kullanılan hücre yüzey membran proteinleri gibi eksojen proteinlerin yıkımını sağlarlar. Ubikitin - proteazom mekanizmasında ise hücre içerisinde sentezlenmiş olan proteinler yıkılır ve ATP'ye ihtiyaç duyulur (125,127).

Ubikitinasyon sonucu yıkıma uğrayacak olan protein işaretlenir. Yıkıma uğrayacak olan bu proteini proteazom küçük parçalara böler. Sonrasında ise amino asitlere yıkılan yapılar amino asit havuzuna girer (129).

Bir diğer işaretleme yöntemi ise belirli amino asit dizilerine sahip olan proteinlerin amino asit dizilerinin tekrarlandığı bölgeye göre tanınmasıdır. Bu bölgede prolin (P), glutamat (E), serin (S) ve teronin (T) dizisi yer almaktadır. Tek harfli amino asit sembolleri kullanılarak isimlendirilen PEST dizilimi taşıyan bu amino asitlerin yarı ömürleri oldukça kısadır (127,129).

2.6.12. Protein Dönüşümünün Düzenlenmesi

Hem protein sentezi hem de protein yıkılımı hormon ve sitokinlerin kontrolü ile gerçekleşmektedir. İnsülin, büyüme hormonu, IGF-1, testosteron anabolik faktörler arasında iken glukagon, kortizol, myostatin ve sitokinler de katabolik faktörler arasındadır (136).

Anabolik Faktörler

İnsülin

Normal koşullarda, kan insülin konsantrasyonu besin alımı ile artar ve açlık durumunda azalır. Bir diğer deyişle insülin konsantrasyonu karbonhidrat, protein, yağ metabolizmasına yanıt olarak anabolizma ve katabolizma süreçleri ile ilişkilidir. Besin öğelerinin anabolik yanıtına karşı yanıt vermede görülen bozukluklar vücut proteinlerinin kaybı ile sonuçlanabilmektedir. Örneğin diyabet hastalarında görülen insülin yetersizliği vücut proteinlerinin kaybına neden olmaktadır. İnsülin hormonunun protein sentezini uyardığı yıkımını ise inhibe ettiği ifade edilmektedir (136).

İnsülin hormonunun bu etkisinin altında yatan mekanizma ise insülinin mRNA translasyonunu aktive etmesidir. Protein yıkımını engellemesi ise ubiquitin-proteazom mekanizmasını inhibe etmesi ile açıklanmaktadır (136).

Büyüme Hormonu ve IGF

Büyüme hormonu, pitüiter bez tarafından salgılanır ve sonrasında hücre yüzey reseptörüne bağlanarak lipid metabolizması ve anabolik süreçlerle ilgili gen

ekspresyonunu başlatacak olan bilgi aktarımını sağlamaktadır. Büyüme hormonu tarafından sentezi uyarılan proteinlerden biri IGF-1'dir (136).

Büyüme hormonunun protein metabolizması üzerindeki etkisi ise protein sentezini artırması ve protein yıkımını inhibe etmesidir. Büyüme hormonunun birçok protein üzerindeki anabolik etkisini IGF-1 ve insülin hormonu aracılığı ile gerçekleştirir. IGF-1'in proteinlerdeki anabolik etkisi, hücre yüzey reseptörlerine bağlandıktan sonra mTORC1 (Rapamisin protein kompleksinin memeli hedefi kompleksi) aktivitesi ile mRNA translasyonu artırması ile gerçekleşmektedir (136). mTOR (Rapamisin protein kompleksinin memeli hedefi) katabolik ve anabolik süreçlerin sinyal kaskatlarında merkezi bir noktada yer alır ve hücre içi bir serin/teronin protein kinazdır. Hücre içi mTORC1, mRNA translasyonu gibi protein sentezi süreçlerini düzenleyerek hücre büyümesini yönetir ve ribozomal proteinler ile G1'in S-fazı hücre döngüsüne dönüşümünü düzenler (137,138).

IGF-1'in bir diğer etkisi ise insülinde olduğu gibi ubiquitin-proteazomal yıkımını inhibe etmesidir (136).

Testosteron

İnsülin, büyüme hormonu ve IGF-1'e ek olarak erkeklerde testosteron hormonu da özellikle kas dokuda protein sentezi üzerinde anabolik etki göstermekte ve ubiquitin-proteazomal yıkımını inhibe etmektedir (136).

Katabolik Faktörler

Glukagon

Glukagon hormonu laktat ve amino asitlerin glukoneojenez için kullanılmasını sağlamaktadır. Fizyolojik seviyelerdeki glukagonun doku ya da tüm vücut protein sentezi üzerindeki etkisi bilinmemesine karşın artan glukagon seviyesinin insülinin anabolik etkisini azaltabilmektedir. Bu nedenle glukagon/insülin oranı önem taşır (136).

Kortizol

Adrenal kortekste üretilen kortizol, glukagonun katabolik etkisine benzer şekilde etki gösteren glukokortikoid hormondur. İskelet kaslarında protein sentezini

inhibe ederken protein yıkımını da artırır. Kortizol, mTOR aracılı S6 kinaz aktivasyonunu inhibe ederek mRNA translasyonunu engeller ve bu şekilde protein sentezinin inhibisyonunu sağlar (136).

Protein yıkımını ise ubiquitin-proteazom mekanizmasının aktivasyonunu sağlayarak gerçekleştirir. Bununla birlikte glukokortikoidler, IGF-1 üretimini engelleyerek kas atrofisine neden olmaktadır (136,138).

Myostatin

Myostatin iskelet kası büyümesi ve farklılaşmasını düzenlemekle birlikte kas hipertrofisine neden olmaktadır. Bu etkisini ise insülin ve IGF-1 sinyalizasyonunu inhibe ederek ve atrofi ilişkili genlerin ekspresyonunu artırarak göstermektedir (136).

Sitokinler

Sitokinler, yaralanma enfeksiyon ya da inflamasyon gibi durumlarda immün sistem hücreleri tarafından sentezlenen peptitlerdir. Sitokinlerin protein metabolizması üzerinde çok fazla etkisi olmasına rağmen protein metabolizması regülasyonuna nasıl etki ettiği tam olarak anlaşılamamıştır (136).

Proinflamatuvar sitokinlerden olan interlökin 1 β (IL1 β) ve tümör nekrozis faktör α (TNF α) protein yıkımı ile ilişkilendirilmektedir. TNF α ve IL1 β 'nın iskelet kası protein sentezi üzerindeki etkileri büyüme hormonu/IGF-1 sistemi ya da HPA aksının stimülasyonu sonucu glukokortikoid salınımı ile gerçekleşir. Artan TNF α seviyesi ubiquitin-proteazom mekanizmasını aktive eder. Bunun yanında TNF α gibi sitokinler, olgunlaşmış hücrelere dönüşecek olan prekürsör hücrelerin bu yeteneğini etkileyerek kas kaybına neden olabilmektedir (136).

IL1 β , IL6 ve TNF α gibi sitokinlerin glukoneojenezi desteklemesi sonucu amino asit karbon zincirlerinin glukoneojenez için kullanılması nedeniyle kaslarda protein sentezi azalabilmektedir. Ayrıca sitokinler IGF-1 sentezini azaltmakta ve büyüme hormonu reseptör mRNA seviyelerinin de azalmasına neden olmaktadır (136).

2.6.13. Protein ve Amino Asit Gereksinimi

Protein gereksinimi aslında amino asit gereksinimi ile eşdeğerdir. Bu nedenle protein gereksinimi, amino asit karışımları ile karşılanabilir. Üzerinde durulması gereken amino asitler ise vücut tarafından sentezlenemeyen elzem amino asitlerdir (139).

Protein gereksinimi ise protein, elzem amino asit ve yarı elzem amino asit gereksiniminin tümünün aynı anda değerlendirilmesiyle belirlenir. Genel olarak ele alındığında ise doku proteinlerinin korunumu, büyüme ve gelişme, gebelik ve emziliklik dönemlerindeki doku kazanımı için amino asitlere ihtiyaç duyulmaktadır (139).

Protein yetersizliklerini önleyebilmek ve yeterli protein ve amino asit miktarını belirleyebilmek için sıklıkla iki yöntem uygulanmaktadır. Bu yöntemler nitrojen denge yöntemi ve indikatör amino asit oksidasyonudur (IAAO) (125,126).

Nitrojen denge yönteminin temeli diyetle alınan nitrojen ile vücuttan kaybedilen toplam nitrojen arasındaki ilişkinin belirlenmesine dayanmaktadır. Nitrojen denge yönteminde diyetle alınan nitrojen miktarı diyetle alınan protein miktarı üzerinden hesaplanır. Proteinlerin yaklaşık olarak %16 nitrojen içerdiği bilgisine dayanılarak tüketilen proteinden nitrojen miktarına ulaşılır. Nitrojen kayıpları ise idrar, feçes, deri, tırnak ve saçlardan olan kayıplardır. Klinik çalışmalarda nitrojen kaybı genelde tahmine dayalı yapılır. Feçes, deri, tırnak ve saçlardan olan kayıp toplam 2 gram olarak düşünülür. İdrardaki kayıp ise toplam idrar azot miktarı ölçümü yapılarak belirlenir. İdrardaki belirlenen azot miktarına kreatinin, ürik asit, amonyak gibi diğer nitrojen içeren bileşikler için de 2 gram eklenir. Sonuç olarak nitrojen denge durumu aşağıdaki formül yardımıyla hesaplanabilir (125,139).

$$\text{Nitrojen Denge Durumu} = \left[\text{Protein(g)}/6.25 \right] - \left[\text{İdrar Azot Miktarı} + 2 \text{ g} + 2 \text{ g} \right]$$

Nitrojen denge yöntemi, kayıpları tam olarak belirleyemediği için vücut azot birikimini fazla tahmin etmekle eleştirilmektedir. Ayrıca, azot dengesi de amino asit dengesi olduğu anlamına gelmemektedir (125,139). Çünkü vücut protein havuzunun amino asit kompozisyonunda esansiyel amino asidin eksikliğine yönelik bir

adaptasyon gerçekleşmiş olabilir (139). Elbette bir proteinin amino asit kompozisyonu değişmez ancak bazı proteinlerin miktarı göreceli olarak farklılık gösterebilir. Sınırlı amino asit hangi proteinin yapısında fazla miktarda bulunuyorsa o proteinden geçici olarak temin edilebilir. Ancak bu adaptasyonun altında nasıl bir mekanizmanın olduğu bilinmemektedir (139).

İndikatör amino asit oksidasyon yönteminde ise indikatör amino asidi de içeren farklı miktarlarda test amino asitleri tüketilir. Test amino asit miktarı tahmin edilen gereksinmeye yakın, gereksinmenin altında ve üzerinde olacak şekilde farklı miktarlarda verilir. Bu yöntemin dayandığı üç ilke vardır. Bunlardan ilki eğer test amino asidi verilmezse indikatör amino asidin oksidasyonu maksimum düzeyde gerçekleşir ve protein sentezi minimum düzeyde olur. Eğer gereksinmenin üzerinde test amino asidi tüketilirse indikatör amino asit oksidasyonu azalır. Son ilke ise test amino asidi gereksinmesi kadar alınırsa indikatör amino asit oksidasyonu oldukça sabit düzeyde gerçekleşir. Böylece, indikatör amino asit oksidasyonu vücuttaki sınırlı amino asit metabolizmasını da yansıtır. Çünkü eğer bir amino asit protein sentezi için sınırlı ise indikatör amino asit de dahil diğer amino asitler ekstra amino asitmiş gibi okside olur (125,126).

Büyüme, Gebelik ve Emzicilik Dönemi Protein Gereksinimi

Büyüme ve gebelik döneminde doku protein kazanımı, emzicilik döneminde ise süt proteini salınımı için protein gereksinimini karşılayabilmek büyük önem taşımaktadır. 19 yaş üzeri erkek ve kadınlar için tahmin edilen ortalama gereksinim vücut ağırlığı başına 0.66 g'dır. Bu değer optimal alımı değil nitrojen dengesinin korunması için gereken minimum miktarını göstermektedir. Spesifik dönemlerdeki gereksinimler de bu değer üzerine eklenen ek gereksinimler ile belirlenir. 1, 1.5 ve 3 yaştaki günlük protein gereksinimleri sırasıyla 1.61 g/kg, 0.83 g/kg, 0.76 g/kg'dır (139,140).

Protein, gebelik döneminde maternal ve fetal dokularda depolanmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO)/ Gıda ve Tarım Örgütü (FAO)/ Birleşmiş Milletler Üniversitesinin (UNU) 2007 yılında yayınladığı rapora göre ortalama gebelik boyunca 13.8 kg vücut ağırlığı kazanan bireyin ilk trimesterında 0, ikinci trimesterında 1.9 g/gün, üçüncü trimesterında 7.4 g/gün protein depolanmaktadır. Bu

bilgi ışığında ikinci trimesterda ek 4.5 gram, üçüncü trimesterda da ek 17.7 gram protein gereksinimi belirlenmiştir. 2005 yılında Tıp Enstitüsünün (IOM) yayınladığı raporda da buna benzer bir doku kazanımı olduğunu düşünerek son iki trimesterdaki gereksinimin 0.88 g/kg olduğu ya da günlük ek +12.6 g protein olarak belirtilmiştir (140,141). Emzicilik döneminde ise IOM günlük ek 21 g protein ya da gereksinimi 1.05 g/kg/gün olarak belirtirken WHO/FAO/UNU ise emziciliğin ilk 6 ayındaki gereksinimi günlük ek 19 g, ikinci 6 ay için ise ek 12.5 g protein olarak açıklamıştır (140,141).

Türkiye'ye ilişkin önerilen değerlere bakıldığında Türkiye'ye Özgü Beslenme Rehberi'nde gebelik döneminde 1.1-1.4 g/kg/gün protein, emzicilik döneminde ise yine gebelikte olduğu gibi 1.1-1.4 g/kg/gün ya da +25 gram protein şeklinde ifade edilmiştir (142).

Amino Asit Gereksinimi

Amino asit oksidasyon çalışmalarından elde edilen sonuçlara göre WHO/FAO/UNU ve IOM'un raporlarında yetişkinlik dönemindeki amino asit gereksinimleri ifade edilmektedir (Tablo 2.1). Önceki yıllarda yapılan çalışmalarda belirlenen amino asit gereksinimleri daha azdır. Bunun nedeni ise bu çalışmaların nitrojen denge çalışmalarına dayanması ve kaybedilen nitrojen miktarının tam olarak belirlenememesidir. WHO/FAO/UNU (2007) ve IOM (2005)'un belirlediği değerler ise amino asit oksidasyon verilerine göre belirlenmiştir (140,141,143).

Tablo 2.1. Farklı kuruluşlara göre yetişkinlik dönemi amino asit gereksinimi

	Tahmini Ortalama Gereksinin (EAR)		
	(mg amino asit/kg/gün)		
	2007 FAO/WHO/UNU	2005 IOM	1985 FAO/WHO/UNU
Histidin	10	11	8-12
İzolöysin	20	15	10
Löysin	39	34	14
Lizin	30	31	12
Metiyonin+Sistein	15	15	13
Fenilalanin+Tirozin	25	27	14
Teronin	15	16	7
Triptofan	4	4	3.5
Valin	26	19	10
Toplam Elzem Amino Asit	184	172	93.5

Bebeklikten yetişkinliğe kadar olan amino asit gereksinimleri tahmini olarak belirlenmiş olmasına karşın (Tablo 2.2) fetal dönemdeki gereksinime ilişkin herhangi bir bilgi yer almamaktadır (139).

Tablo 2.2. Farklı yaş gruplarındaki bireylerin amino asit gereksinimleri (mg/kg/gün)

Yaş	His	Ile	Leu	Lys	SAA	AAA	Thr	Trp	Val
0.5	22	36	73	63	31	59	35	9.5	48
1-2	15	27	54	44	22	40	24	6	36
3-10	12	22	44	35	17	30	18	4.8	29
11-14	12	22	44	35	17	30	18	4.8	29
15-18	11	21	42	33	16	28	17	4.4	28
>18	10	20	39	30	15	25	15	4.0	26

Protein ve amino asit gereksiniminin karşılanabilmesinde diyet ile alınan toplam protein miktarının yanında protein kalitesi de büyük rol oynamaktadır (139).

2.6.14. Protein Kalitesi ve Protein Kaynakları

Diyetle alınan protein miktarının yeterli olması sindirilen proteinin her bir elzem amino asidi yeterli miktarda içermesine bağlıdır. Temel olarak protein kalitesini belirleyen 3 faktör bulunmaktadır. Bu faktörler proteinin sindirilebilirliği, gereksinmeyi karşılayan elzem amino asitleri içermesi, yiyeceğin azot miktarıdır (139,144). Protein kalitesi, diyetin yağlardan ve karbonhidratlardan yeterli enerji sağladığı varsayımı altında, protein gereksinimini karşılamak için tüketilen besinlerin tüm elzem amino asitleri karşılama ölçüsü olarak tanımlanır (139).

Bütün hayvansal ve bitkisel besinlerde protein olmakla birlikte içerdikleri protein oranları ve sindirilebilirlikleri değişiklik göstermektedir. Birçok hayvansal kaynaklı proteinin sindirilebilirliği % 90-99 arasında değişirken bitkisel kaynaklı proteinlerin sindirilebilirliği % 70-90 arasındadır. Ayrıca kuru baklagillerdeki tripsin inhibitörleri gibi bitkisel kaynaklı proteinlerde bulunan antinutrisyonel faktörler de sindirimi olumsuz etkiler (22,139).

Bunun yanında her proteindeki elzem amino asit oranı da farklıdır. Amino asit örüntüleri açısından karşılaştırıldığında ise hayvansal kaynaklı proteinlerin elzem amino asit oranları vücut gereksinimine uygun iken bitkisel kaynaklı proteinlerdeki amino asitlerden bir yada ikisi gerekli olan miktardan daha az bulunmaktadır. Tahıllarda genel olarak birinci derecede lizin, ikinci derecede teronin sınırlı olup mısırdaki ise birinci derecede triptofan sınırlıdır. Kuru baklagillerde ise kükürtlü amino asitler sınırlıdır (22).

Dünya çapında bitkisel proteinler diyetin lizin içeriğini belirleyen ana faktördür. Örneğin bir toplumun günlük diyetle aldığı enerjisinin çok büyük bir kısmı tahıl grubundan geliyorsa lizin sınırlı amino asit olabilir. Hayvansal proteinler ve kuru baklagillerin lizin içeriği tahıl grubuna göre daha fazla olması nedeniyle bu besinlerin tüketiminin artırılması protein kalitesinin artırımına katkıda bulunur. Bu nedenle diyetin hem hayvansal hem de bitkisel protein içermesi protein kalitesini olumlu etkiler (21).

Protein kaynakları evrensel düzeyde değerlendirildiğinde bunun çok büyük bir kısmını yaklaşık olarak %65'ini bitkisel kaynaklı besinler oluşturuyor. Bu oran ise ülkelerin gelişmişlik derecesine göre farklılık göstermektedir (21). Gelişmekte olan ülkelerin protein kaynaklarının büyük bir kısmını bitkisel proteinler oluşturup

toplam diyetle alınan protein miktarları daha düşük iken gelişmiş ülkelerde hayvansal protein ve toplam protein tüketimi daha fazladır. Gıda ve tarım örgütü gıda denge cetveli 1992 verilerine göre Amerika Birleşik Devletleri'nde tüketilen hayvansal ve bitkisel kaynaklı protein sırasıyla 73.5 g ve 24.6 g iken Bangladeş'te 4.8 g ve 33.4 gramdır (145). Türkiye Beslenme ve Sağlık Araştırması 2010 verileri incelendiğinde ise 31-50 yaş grubu Türkiye geneli günlük toplam ve bitkisel protein alım miktarları erkeklerin sırasıyla 72.9-37.6 g, kadınların 52-28.4 gramdır. Gebe kadınların günlük ortalama 53.2 gram, emziren kadınların 53.6 gram protein aldıkları tespit edilmiştir. Gebe kadınlarda diyetle alınan proteinin 30.2 gramı, emziren kadınlarda da 32.2 gramını bitkisel kaynaklı protein oluşturmuştur (146).

Protein kalitesini belirleyen yukarıdaki faktörlerin tümü düşünüldüğünde anne sütü ve yumurta örnek proteindir. İyi kaliteli protein kaynakları içerisinde et, balık, süt gibi protein kaynakları yer alırken düşük kaliteli protein kaynakları içerisinde ise bitkisel kaynaklı proteinler yer alır (22).

Büyüme ve gelişme dönemleri gibi doku kazanımının ön plana çıktığı dönemlerde protein kalitesi daha büyük önem taşımaktadır. Bu nedenle protein gereksiniminin bebeklik ve erken çocukluk döneminde %30'u, çocukluk döneminde %20'si ve yetişkinlikte ise %11'i elzem amino asitlerden karşılanmalıdır (126).

2.6.15. Protein Kalitesini Değerlendirme Yöntemleri

Besinlerin protein kalitesi büyüme dönemindeki rat, tavuk gibi hayvanların büyüme hızları değerlendirilerek belirlenmeye çalışılmıştır. Protein kalitesinin değerlendirilmesinde protein elverişlilik oranı (PER), proteinin biyolojik değeri (BV) ve net protein kullanımı (NPU) gibi yöntemler kullanılmıştır. Proteinin elverişlilik oranında büyümekte olan hayvanların kazandığı vücut ağırlığına diyetle aldığı protein miktarının katkısını ölçer (125,139).

$$PER = (\text{Kazanılan Ağırlık (g)} / \text{Diyetle Alınan Protein Miktarı (g)})$$

NPU ise tüketilen besinlerdeki nitrojen birikimini ölçer (125).

$$NPU = (\text{Biriken Nitrojen} / \text{Tüketilen Nitrojen}) \times 100$$

Bir diğ er yöntem, proteinin biyolojik değeri (BV)'de emilen nitrojen den vücutta biriken nitrojen miktarı protein kalitesini belirlemede kullanılır (125).

$$BV = (\text{Biriken Nitrojen} / \text{Emilen Nitrojen}) \times 100$$

Daha çok hayvanlar üzerinde gerçekleştirilen bu çalışmaların bazı eleştirilen yönleri bulunmaktadır. Bu  alışmalar daha çok büyümekte olan ratlar üzerinde gerçekleştirilmesi nedeniyle yetişkinlik dönemindeki doku korunumu için gereken amino asit gereksiniminin belirlenmesi zorlaşmaktadır. Ayrıca rat ve insanların amino asit gereksinimlerinin farklı olması da yine sonuçların yorumunu güçleştirir. Örneğin ratlarda özellikle kükürtlü amino asit başta olmak üzere histidin, izolösin, teronin ve valin amino asit gereksinimleri bebek ve çocuklardan daha fazladır (136,143).

FAO/WHO 1991 yılında protein kalitesinin hesaplanmasında sindirilebilirlik ve amino asit skorunu içeren protein sindirilebilirliği düzeltilmiş amino asit skorunu (PDCAAS)  nermiştir (144). Bu yöntemde test proteinindeki sınırlı amino asitin referans proteinin (yumurta) 1 gramındaki aynı amino asite olan karşılaştırmasına dayanmaktadır. Elde edilen amino asit skoru sindirilebilirlikle çarpılarak PDCAAS (%) değeri elde edilir (139).

$$\text{Amino Asit Skoru (\%)} = (\text{Test proteinin 1 gramındaki sınırlı amino asitin miktarı (mg)} / \text{referans proteinin 1 gramındaki aynı amino asidin miktarı (mg)}) \times \% 100$$

$$\text{PDCAAS (\%)} = \text{Amino Asit Skoru} \times \text{Sindirilebilirlik}$$

Bir besinin gerçek protein değeri ise PDCAAS ile protein içeriği çarpılarak hesaplanır (139).

$$\text{Besinin Gerçek Protein Değeri} = \text{Protein  eriği} \times \text{PDCAAS}$$

PDCAAS yönteminin de eleştirilen bazı yönleri bulunmaktadır. Besinlerin işlenmesi sırasında gerçekleşen reaksiyonlar amino asitlerin biyoyararlanımını

azaltabilir, diyetin posa yönünden fazla olması emilimi olumsuz etkileyebilir (139,147). PDCAAS yönteminde proteinin sindirilebilirliği tüm amino asitler için aynı olmayabilir. Bir amino asitin sindirilebilirliği proteinin sindirilebilirliğine eşit olurken diğer amino asidin sindirilebilirliği daha fazla olabilir (139,144). Bu nedenle protein kalitesinin hesaplanmasında sindirilebilir elzem amino asit skoru (DIAAS) üzerinde durulmaktadır (147). Ancak amino asitlerin her biri için sindirilebilirlik oranları henüz bilinmemektedir (144).

$$\text{DIAAS \%} = 100 \times (\text{Diyet proteinin 1 gramındaki sindirilebilir elzem amino asit miktarı (mg)} / \text{referans proteinin 1 gramındaki sindirilebilir aynı elzem amino asit miktarı (mg)})$$

2.6.16. Protein Kalitesi ve Deney Hayvanları Çalışmaları

Laboratuvar hayvanları için oluşturulan diyetlerin kükürtlü amino asit içerikleri genelde düşük olmaktadır. Bu eksiklik metiyonin eklenmesi ya da metiyonin türevi olan hidroksimetiyonin eklenmesi ile giderilebilir. Çok pahalı formüller dışında tüm amino asit gereksinimini karşılayan bir diyet oluşturmak oldukça zor olmakla birlikte %20'nin altındaki yetersizlikler uygun kabul edilebilir (71).

Ratlar üzerinde yapılan çalışmalarda yüksek sindirilebilirliği ve dengeli amino asit örüntüsüne sahip yumurta proteini verilen ratlarda elde edilen maksimum büyüme ve gelişme kükürtlü amino asit eklenmiş kazein proteini ile de elde edilmiştir (70). Bundan dolayı kemirgenler için diyetin toplam ağırlığının %20 oranında, L-sistin ile desteklenmiş kazein içeren diyetin protein kalitesi yüksek iken buğday gluteni içeren diyetin protein kalitesi düşüktür. Protein kalitesi belirleme yöntemlerinden bu iki proteinin biyolojik değerleri ele alındığında kazeinin biyolojik değeri 77, buğday gluteninin ise 64'tür (148,149).

Kontrol grubuna kazein, diğer gruba ise protein kalitesi düşük olan buğday gluteni verildiği çalışmalarda düşük kaliteli protein ile beslenen gruplarda büyüme ve gelişmenin olumsuz yönde etkilenmesi ya da çok yavaşlaması, alt çene ağırlığı, yüksekliği, yüzey alanında azalma kaydedilmiştir (148,150). Ratlar üzerinde yapılan

bir çalışmada bir gruba % 6.5 mısır proteini, diğer gruba ise % 6.5 kazein proteini verilmiştir (41). Mısır proteini alan grupta plazma çinko konsantrasyonu azalırken timus bezi Zn konsantrasyonunun kazein proteini alan gruba kıyasla daha fazla olduğu görülmüştür. Bu sonuçta diyet amino asit örüntüsünün Zn metabolizmasını etkileyebildiği şeklinde yorumlanmıştır (151). Kiriya ve diğerleri (152) ise diyetin protein kalitesinin ratlarda karaciğer arjinaz enzim aktivitesi üzerine nasıl etki ettiğini araştırmışlar ve protein kalitesi artışının karaciğer arjinaz enzimini de artırdığını bulmuşlardır. Gluten alan grupta üre atımının da artmasıyla arjinaz enzim aktivitesi sadece üre sentezine bağlı olmadığı diyetin protein kalitesi de bunu etkilediği ifade edilmiştir.

Gebelik dönemi dışında protein kalitesinin metabolizma üzerindeki etkisini açıklamaya çalışan çalışmalar olmasına rağmen protein kalitesinin fetal programlama üzerindeki açıklamaya çalışan literatürde sadece bir çalışma yer almaktadır (153). Bu nedenle protein kalitesinin fetal programlama ile olan ilişkisi ve fetal dönemde metabolizmayı nasıl etkilediğine dair çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul onayı (Tarih: 21.03.2014, Dosya Kayıt Numarası: 2014/17, Karar Numarası:2014/17-02) (Ek 1 ve Ek 2) alındıktan sonra Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarında Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi' ne uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

Araştırma bütçesi Tübitak 1002 programı 114S812 numaralı projeden karşılanmıştır.

3.1. Örneklem Sayısı

Bu araştırmada kullanılacak örneklem sayısı güç analizi yardımıyla belirlenmiştir. Çalışmada her bir gruptan en az 6 anne ratın gebeliği tamamlaması amaçlanmış ve çevresel sebeplerden oluşması muhtemel hayvan kayıpları göz önüne alınarak kazein (K) grubundan 10 adet, buğday gluteni (BG) grubundan 10 adet dişi Wistar rat (n=20) çalışmaya dahil edilmiştir.

3.2.Araştırma Yeri

Wistar türü ratların bakımı ve diyet müdahalesi Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda yürütülmüştür. Çalışma sonunda anestezi altında ratlardan kan alımı, doku ve organ izolasyonları gibi cerrahi işlemler Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Ünitesi'nde yapılmıştır. Elde edilen örneklerin saklanması ve plazma amino asit profili analizi ise Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü Araştırma Laboratuvarları'nda gerçekleştirilmiştir.

3.3. Hayvanların Bakımı, Çalışma Süreci ve Diyet Müdahalesi

3.3.1. Hayvanların Temini, Bakımı ve Çiftleştirilmesi

Çalışmada daha önce çiftleşmemiş 9-11 haftalık dişi Wistar ratlar (n=20) Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma ve Yetiştirme Ünitesi'nden temin edilmiştir. Çiftleşme için 10 adet Wistar türü erkek rat kullanılmıştır.

Ratlar çalışma boyunca Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarında oda sıcaklığı 24-27°C, 12 saatlik aydınlık ve karanlık ortam ve havalandırma koşulları sağlanan odada barındırılmıştır. Dişi ratlar yem tüketimlerinin takibi için ayrı kafeslerde barındırılırken erkek ratlar aynı kafeste barındırılmıştır.

Ratların vücut ağırlıkları ve yem tüketimleri hafta içi 4 gün 16:00-18:00 saatleri arasında ölçülmüştür. Vücut ağırlıkları ve yem tüketimleri ölçümlerinde 0,1 gram hassasiyete sahip olan SF-400A model mutfak terazisi kullanılmıştır.

Ratlar 2 haftalık adaptasyon sürecinden sonra 10 adet erkek Wistar türü rat ile çiftleştirilmiştir. Gebelik durumları vajinal plak tespitiyle belirlenmiştir. BG grubundan 7, K grubundan ise 6 rat gebe kalmıştır.

3.3.2. Çalışma Süreci

Doğan yavrular her batından 2 erkek 2 dişi rat olacak şekilde ayrılmış ve bu yavrular anneleriyle aynı kafeste kalarak anne sütü ile beslenmeleri sağlanmıştır. Geriye kalan diğer yavrulara ise servikal dislokasyon yöntemi ile ötanazi uygulanmıştır. Emzicilik dönemi (3 hafta) sonunda tüm anne ratlar ile her batından bir erkek ve bir dişi rat buharlaşabilen anestezipler sınıfında yer alan izofluran kullanılarak ötanazi gerçekleştirilmiştir.

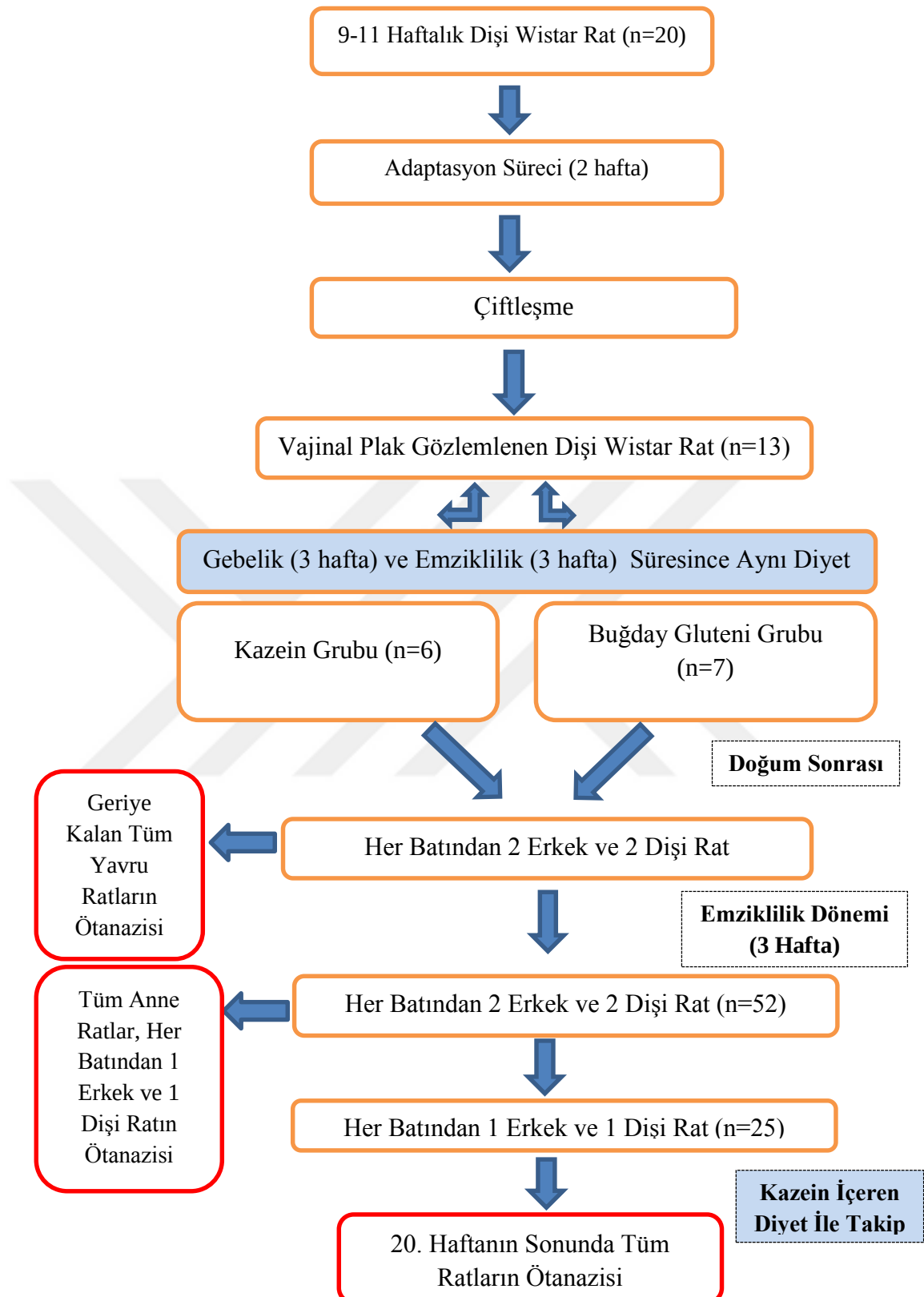
Emzicilik dönemi sonunda gerçekleştirilen ötanaziden sonra K grubundan 6 erkek ve 6 dişi rat, BG grubundan ise 5 erkek ve 8 dişi rat kalmıştır.

Geriye kalan (n=25) her batından bir erkek ve bir dişi rat ise 20 haftalık oluncaya kadar ayrı kafeslerde barındırılmıştır. 20. haftanın sonunda ise izofluran kullanılarak tüm ratlara ötanazi uygulanmıştır. Çalışma sürecinin tüm aşamaları Şekil 3.1'de özetlenmiştir.

3.3.3. Uygulanan Diyet Müdahalesi

Bu araştırmada 2 farklı diyet örüntüsü kullanılmıştır. K grubu (n=6) gebelik ve emzicilik dönemi boyunca protein kalitesi yüksek, diyetin ağırlığının %20'sini kazein oluşturan diyet ile beslenirken, BG grubu (n=7) protein kalitesi düşük olan %20 buğday gluteni içeren diyet (BG) ile beslenmiştir. Kazein içeren diyetin amino asit skorunu 64.5 ile kükürtlü amino asitler belirlerken buğday gluteni içeren diyetin amino asit skorunu ise 41.4 ile lizin amino asidi belirlemektedir.

Emzicilik dönemi sonunda gerçekleştirilen ötanaziden sonra geriye kalan ratlar (n=25) ise 20 haftalık oluncaya kadar kazein içeren diyet ile beslenmişlerdir. Yem ve su *ad libitum* olarak verilmiştir. Kazein ve buğday gluteni içeren diyetlerin enerji ve makro besin öğeleri Ek 3'de verilmiştir.



Şekil 3.1. Çalışma Sürecinde İzlenen Yol

3.4. Ötanazi Yöntemi, Kan ve Doku Örneklerinin Alınması

20. haftanın sonunda 18 saatlik açlık sonrasında izofluran kullanılarak ötanazi gerçekleştirilmiştir. Buharlaşabilen anestezik olan izofluran bir parça pamuğun üzerine birkaç damla damlatılmış ve daha sonra şeffaf plastik kutunun içerisine konularak kutunun kapağı kapatılmıştır. İzofluranın kutu içerisinde bir dakika kadar buharlaşması beklenildikten sonra ötanazi işlemi uygulanacak rat kutu içerisine konulup ardından hemen kutunun kapağı tekrar kapatılmıştır. Bilinç kaybı için geçen süre ratlar arasında değişiklik gösterse de yaklaşık olarak 2-3 dakikadır. Bilinç kaybının tam olarak gerçekleştiğinin anlaşılmasından sonra rat kutudan çıkartılmış, kalp vuruşunun en güçlü hissedildiği yer palpe edilerek ıslatılmış pamuk ile o alan silindikten sonra kardiyak punksiyon yöntemi ile kan alınarak ötanazi gerçekleştirilmiştir. Daha sonra kan heparinli tüplere aktarılmış ve buz dolu kutunun içerisinde soğuk zincir korunarak laboratuvara getirilmiştir.

Alınan kanlar Labnet Prism model santrifüj cihazı ile 2500 rpm'de (rpm; rotorun dakikadaki dönme hızı) 15 dakika santrifüj edilerek plazmalar ayrılmıştır. Elde edilen plazmalar hemen 1,5 ml'lik ependorf tüplere aktarılmış ardından -80°C'de analizler yapılınca kadar saklanmıştır.

Ötanazi işleminden sonra tüm ratların karaciğer, sağ ve sol böbrek, sağ ve sol böbrek perirenal yağ dokusu, gonadal çevre (dişilerde over, erkeklerde ise testis çevresi) yağ dokusu çıkartılmıştır. Elde edilen bu örnekler 0,0001 gram hassasiyete sahip Precisa 220A model analitik terazi ile tartılmış ve sıvı nitrojende dondurulduktan sonra -80°C'de ileri analizler için saklanmaktadır.

3.5. Antropometrik Verilere İlişkin Ölçümler

Boy uzunluğu ötanazi işleminin hemen ardından burun-anüs arasındaki mesafe esnemeyen mezura ile belirlenerek kaydedilmiştir (154).

Obezitenin belirlenmesinde kullanılan Lee indeks ise aşağıda yer alan formül 3.1 ile hesaplanmıştır (155).

$$\text{Lee İndeks} = \frac{\sqrt[3]{\text{Vücut Ağırlığı (g)}}}{\text{Burun-Anüs Arası Boy Uzunluğu (mm)}} \times 10 \quad 3.1$$

Vücut Ağırlık Kazanımında Spesifik Hız'ın tespiti, belirlenmek istenilen zaman aralıklarındaki vücut ağırlığı artış miktarı, belirli zaman aralığının başlangıcındaki vücut ağırlığı ve toplam süre kullanılarak aşağıda yer alan formül 3.2 ile hesaplanmıştır (156). Çalışmada Vücut Ağırlık Kazanımında Spesifik Hız haftalar bazında değerlendirilmiştir.

Vücut Ağırlık Kazanımında Spesifik Hız =

$$\frac{\text{Belirli Günler Arasındaki (t2-t1)Kazanılan Vücut Ağırlığı (g)}}{t1. Gündeki Vücut Ağırlığı (kg) \times (t2-t1)} \quad 3.2$$

Vücut Ağırlık Kazanım yüzdesi ise aşağıda yer alan formül 3.3 yardımı ile hesaplanmıştır.

$$\text{Vücut Ağırlık Kazanım (\%)} = \frac{\text{Vücut Ağırlık Artış Miktarı}}{\text{Önceki Vücut Ağırlığı}} \times 100 \quad 3.3$$

Vücut ağırlık artış miktarı çalışma başlangıcı ve çalışma sonundaki vücut ağırlıkları kullanılarak hesaplanmıştır.

Vücut Ağırlık Artış Miktarı =

$$\text{Çalışma Sonu Vücut Ağırlığı} - \text{Çalışma Başlangıcı Vücut Ağırlığı} \quad 3.4$$

3.6. Plazma Amino Asit Profilinin Belirlenmesi

Plazma amino asit profili Phenomenex EZ:faast analiz kiti kullanılarak alev iyonlaşma dedektörüne sahip gaz kromatografi cihazı (GC-FID) yardımıyla tespit edilmiştir (153).

Bu kitin temeli, katı faz ekstraksiyon (SPE) sistemine dayanmaktadır. SPE sistemi sayesinde amino asitlerin bulunduğu kompleks karışım sisteminden ayrılması

sağlanır. Analizin kiti içerisinde 6 farklı reaktan bulunmaktadır. Bu reaktanların içerisinde, Norvalin ve N-proponal (Reaktan 1), Na_2CO_3 (Reaktan 2), NaOH (Reaktan 3A), N-propanol (Reaktan 3B), Kloroform (Reaktan 4), Izo-oktan (Reaktan 5), HCl (Reaktan 6) vardır. Kite yer alan bu reaktanlar örnekteki amino asitlerin ayrıştırılma, saflaştırma ve türevlendirme işlemleri ile iyonlaşma dedektörlü gaz kromatografi cihazına enjeksiyon için hazır hale getirir. Analiz, Phenomenex EZ:faast analiz kitinin kullanma kılavuzunda yer alan prosedüre göre gerçekleştirilmiştir (157) .

Örnekler dublike olarak çalışılmış ve cihaz her bir örneği triplike olarak analiz etmiştir.

3.7. İstatistiksel Analiz

Elde edilen veriler SPSS Paket Programı Versiyon 16.0 ile analiz edilmiştir (SPSS Inc., Chicago, IL, USA, 2007). İstatistiksel analizde iki yönlü varyans analizi gerçekleştirilmiştir. Bu analizde maternal diyet ve cinsiyet sabit faktörler olarak değerlendirilirken vücut ağırlığı ve yem tüketimi verilerinin değerlendirilmesinde ise sabit faktörlere hafta da eklenmiştir. Sonuçlar % 95'lik güven aralığında, anlamlılık ise $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirilmiştir. Ayrıca p değeri 0.05'e eşit ya da 0.10'dan küçük ise ($0.05 \leq p < 0.10$) anlamlılık eğilimi olarak yorumlanmıştır (158).

4. BULGULAR

4.1. Antropometrik Özelliklere İlişkin Bulgular

Ratların çalışmanın başlangıç ve sonundaki vücut ağırlığı, çalışma sürecinde vücut ağırlığındaki artış miktarları, vücut ağırlık kazanımı (%), çalışma sürecinde takip edilen vücut ağırlıklarının ortalaması, vücut ağırlığı kazanımında spesifik hız değerleri Tablo 4.1’de gösterilmiştir. Buğday gluteni (BG) grubunun vücut ağırlığı ortalaması çalışma başlangıcı ve sonunda Kazein (K) grubuna göre daha düşük olmasına karşın maternal diyetin bu farklılığa anlamlı bir etkisinin olmadığı görülmüştür ($p>0.05$). Çalışma sonundaki vücut ağırlıkları cinsiyetlere göre değerlendirildiğinde, erkek ratların vücut ağırlığının dişi ratların vücut ağırlığından daha fazla olması istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.001$). Çalışma sonundaki vücut ağırlığı BGE ratlarda KE ratlara göre daha az iken BGD ratların KD ratlara göre daha fazla bulunması anlamlılık eğilimi göstermiştir ($p=0.079$, maternal diyet - cinsiyet etkileşimi).

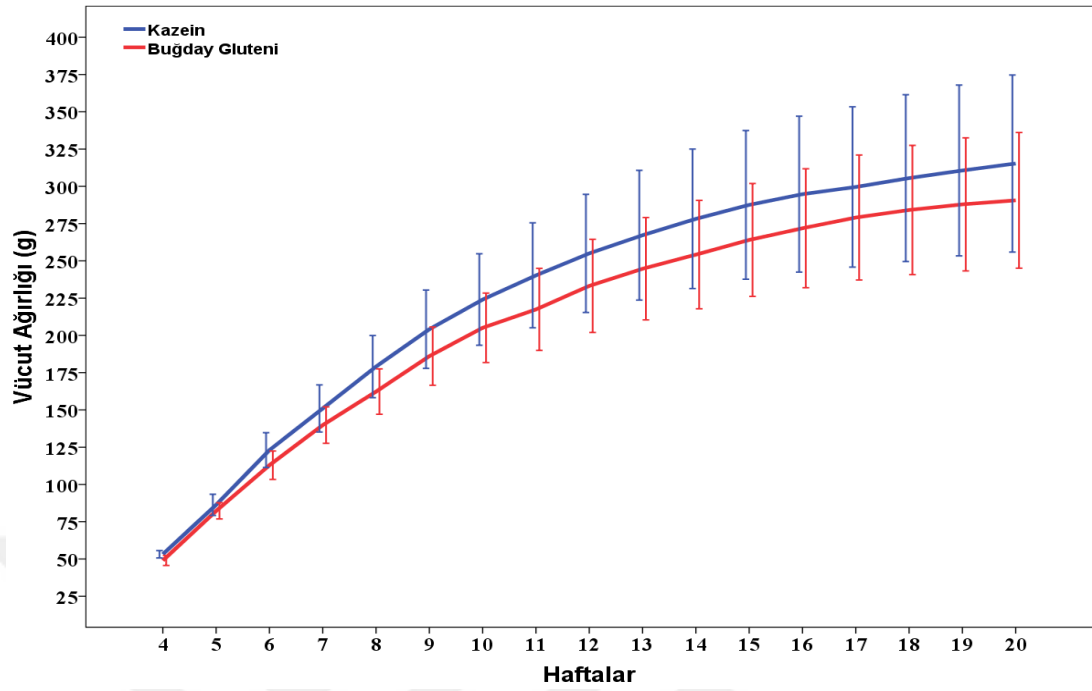
Vücut ağırlığı artış miktarı ve vücut ağırlığının yüzde cinsinden kazanımında ise gruplar arasında maternal diyetin bir farklılık oluşturmadığı gözlenmiştir ($p>0.05$). Vücut ağırlığı artışı ve vücut ağırlığı kazanım yüzdesinde cinsiyetlere göre değerlendirildiğinde ise erkek ratlarda dişi ratlara göre daha fazla ağırlık artışı ve ağırlık kazanımı (%) olduğu bulunmuştur (Vücut ağırlığı artışı, Erkek: 356.48 ± 7.39 g, Dişi: 185.60 ± 6.59 g - Vücut ağırlığı kazanım yüzdesi, Erkek: % 848.00 ± 32.58 , Dişi: % 480.20 ± 29.06 , $p<0.001$, cinsiyet). Ağırlık artışında anlamlılık eğilimi gösteren maternal diyet-cinsiyet etkileşimi, BGE ratların KE ratlardan daha az ve BGD ratların KD ratlara göre daha fazla ağırlık kazandığı belirlenmiştir ($p=0.065$).

Tablo 4.1. Kazein ve Buğday Gluteni Gruplarındaki Erkek ve Dişi Ratların Vücut Ağırlığına İlişkin Değerler

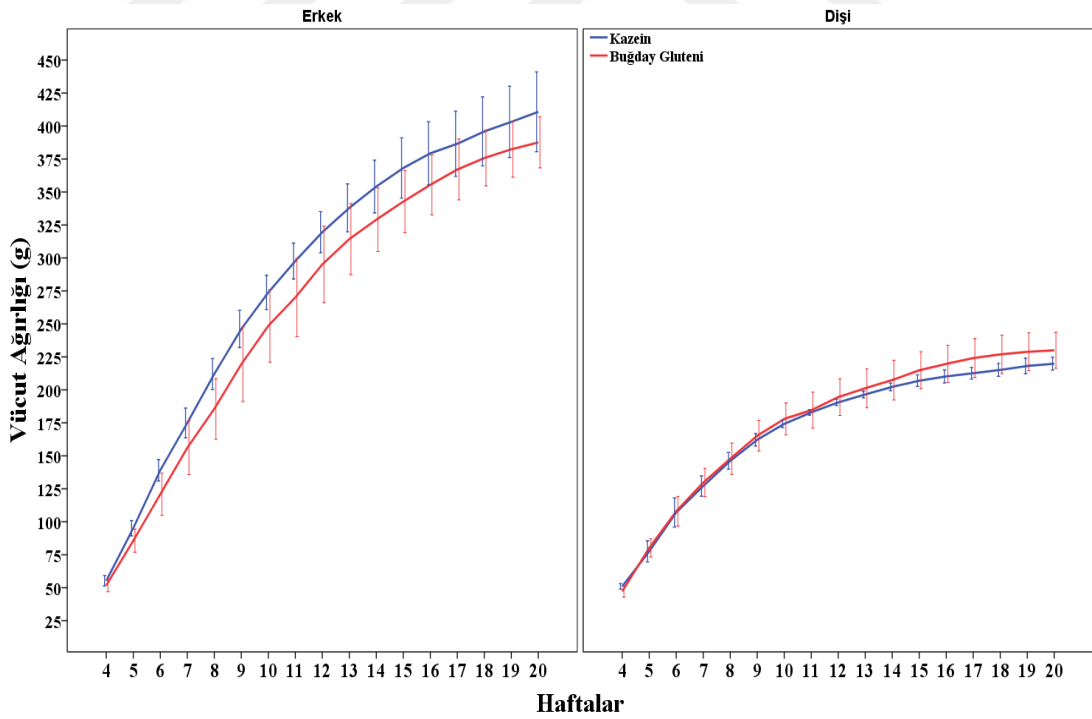
Vücut Ağırlığı	Kazein		Buğday Gluteni		
	n	$\bar{X} \pm SH$	n	$\bar{X} \pm SH$	P
Erkek					
Başlangıç (g)	6	43.86±2.16	5	41.37±2.37	0.631
Son (g)	6	412.05±9.92	5	386.14±10.87	0.079‡
Artış Miktarı (g)	6	368.19±9.96	5	344.77±10.91	0.065‡
Kazanım (%)	6	854.95±43.93	5	841.06±48.12	0.225
Vücut Ağırlığı Takibi Ortalaması (g)	6	285.26±1.90	5	263.94±2.08	<0.001§
Ağırlık Kazanımında Spesifik Hız	6	21.91±1.17	5	18.84±1.28	0.473
Dişi					
Başlangıç (g)	6	41.69±2.16	8	37.11±1.87	0.631
Son (g)	6	219.73±9.92	8	230.26±8.59	0.079‡
Artış Miktarı (g)	6	178.04±9.96	8	193.15±8.63	0.065‡
Kazanım (%)	6	432.56±43.93	8	527.84±38.04	0.225
Vücut Ağırlığı Takibi Ortalaması (g)	6	170.60±1.90	8	175.77±1.64	<0.001§
Ağırlık Kazanımında Spesifik Hız	6	17.36±1.17	8	15.96±1.01	0.473

§p<0.001 ‡ p< 0.1 (maternal diyet - cinsiyet etkileşimi)

Çalışma sürecinde takip edilen vücut ağırlıklarının ortalamasına maternal diyetin etkisi gruplar arasında istatistiksel açıdan önemli bulunmuş ve BG grubundaki ratların vücut ağırlıklarının K grubundaki ratlardan daha az olduğu belirtilmiştir (p<0.001) (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Haftalara Göre Kazein ve Buğday Gluteni Gruplarının Ortalama Vücut Ağırlık Değişimleri

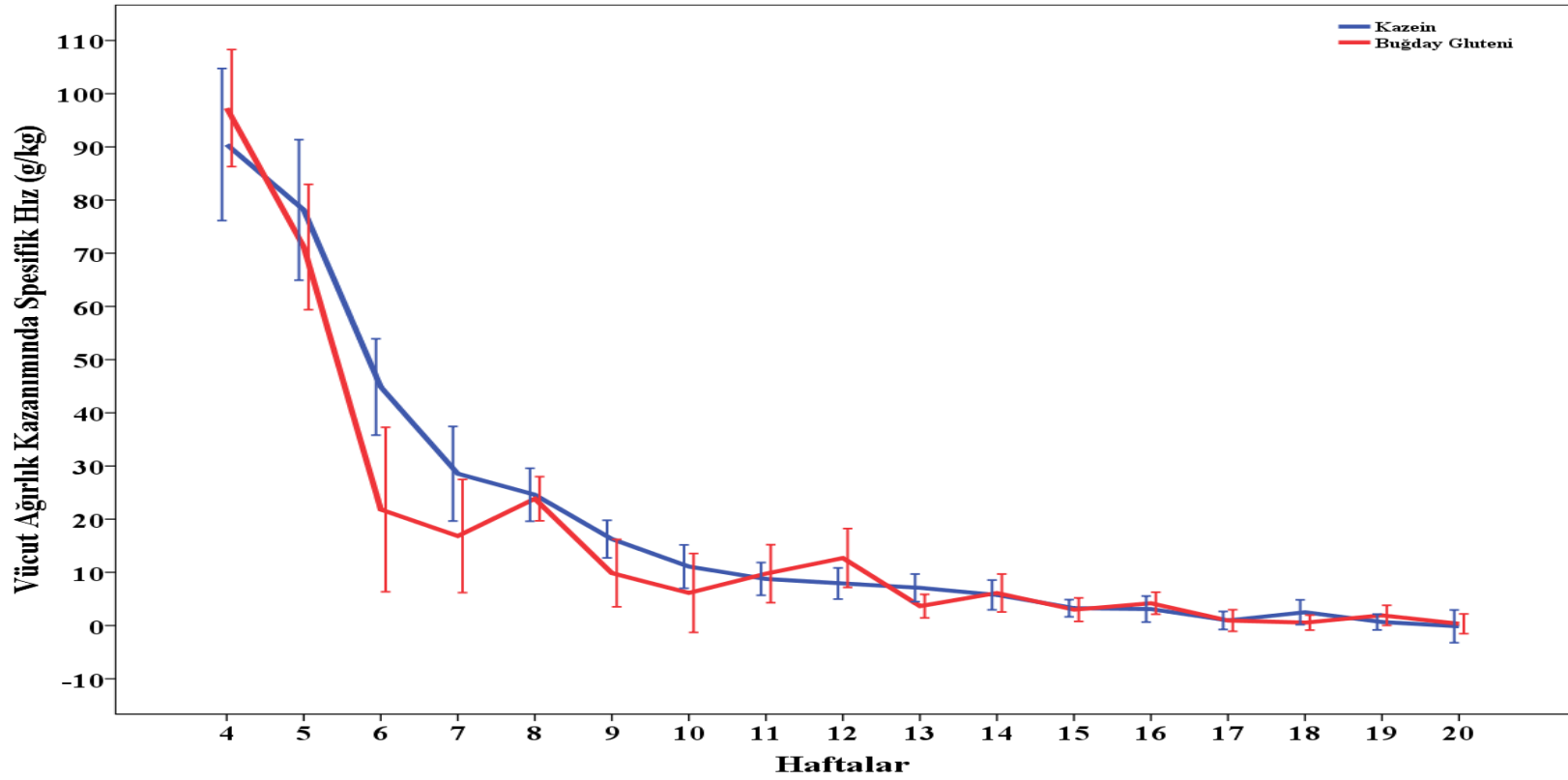


Şekil 4.2. Kazein ve Buğday Gluteni Gruplarındaki Erkek ve Dişi Ratların Haftalara Göre Vücut Ağırlığı Değişimi

Maternal Diyet-Cinsiyet ve Cinsiyet-Hafta etkileşimi önemli bulunmuştur ($p < 0.001$).

BGE ratların KE ratlara göre daha az vücut ağırlığına, BGD ratların KD ratlara göre daha fazla ağırlığa sahip olmaları istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur (Erkek, BGE:263.94±2.08 g, KE: 285.26±1.90 g; Dişi, BGD:175.77±1.64 g, KD: 170.60±1.90 g, $p<0.001$, maternal diyet - cinsiyet etkileşimi) (Şekil 4.2).

Vücut Ağırlığı Kazanımında Spesifik Hız sonuçları incelendiğinde maternal diyetin gruplar üzerinde anlamlılık eğilimine neden olduğu ve BG grubundaki hızın K grubundan daha az olduğu görülmüştür ($p=0.055$). Vücut ağırlık kazanımındaki hızın haftalar bazında gösterdiği farklılık istatistiksel açıdan önemli bulunmuş ve hafta sayısı arttıkça hızın azaldığı kaydedilmiştir ($p<0.001$) (Şekil 4.3). Lee İndeks değerleri incelendiğinde ise sonucun birbirine çok yakın olduğu ve maternal diyetin bir farklılığa sebep olmadığı gösterilmiştir ($p>0.05$).

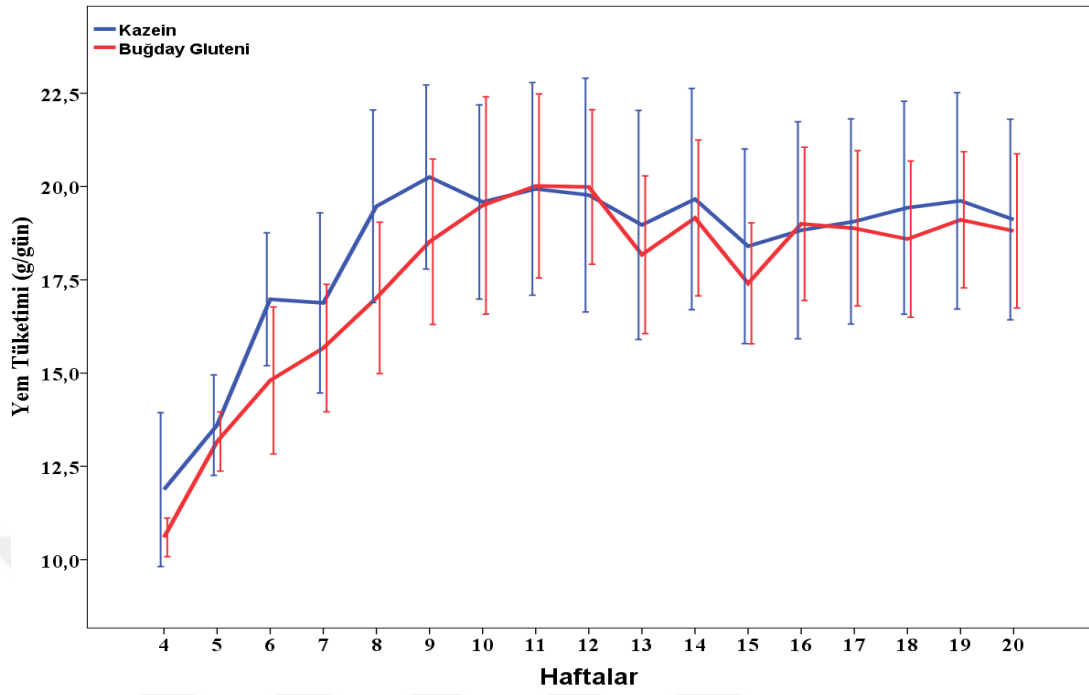


Şekil 4.3. Kazein ve Buğday Gluteni Gruplarının Haftalara Göre Vücut Ağırlık Kazanımında Spesifik Hızın Değişimi. Maternal diyetin gruplar üzerindeki etkisi anlamlılık eğilimine neden olurken ($p=0.055$) haftanın etkisi istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p<0.01$). Maternal diyet-hafta etkileşiminin etkisi de anlamlı bulunmuştur ($p=0.017$).

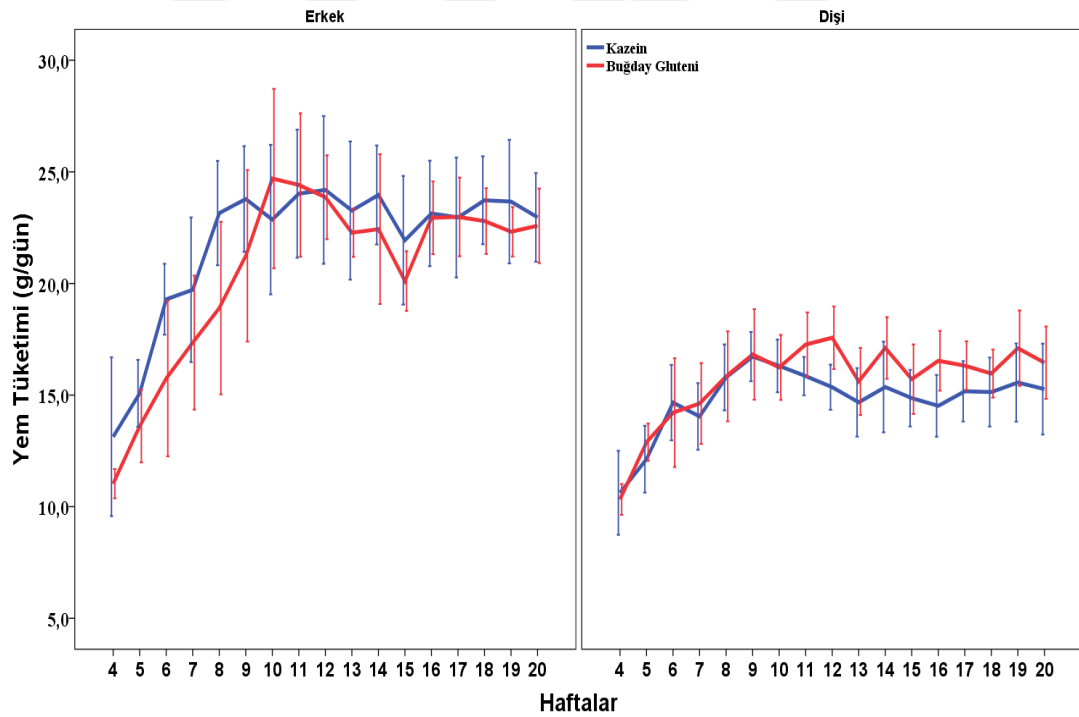
4.2.Yem Tüketimi, Günlük Enerji ve Makro Besin Ögesi Alımına İlişkin Bulgular

Ratların yem tüketimine ilişkin bulgular Şekil 4.4 ve Şekil 4.5’de ifade edilirken, günlük enerji (kkal) alımı ve makro besin ögesi alımına ilişkin bulgular ise Tablo 4.2 ve Şekil 4.6’da gösterilmektedir. Maternal diyetin grupların günlük tükettikleri ortalama yem miktarları üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığı bulunmuştur (BG:18.11±0.18 g, K: 18.32±0.18 g, $p>0.05$). Cinsiyetler arasında yem tüketimi anlamlı bir farklılık göstermiş ve erkek ratların yem tüketimlerinin dişi ratlara göre daha fazla olduğu belirtilmiştir (Erkek:21.18±0.19 g, Dişi:15.25±0.17 g, $p<0.001$). Haftanın yem tüketimi üzerine olan etkisi de önemli bulunmuştur ($p<0.001$).

BGE ratlar KE ratlardan daha az yem tüketirken, BGD ratlar KD ratlardan daha fazla yem tükettikleri sonucuna varılmıştır (Erkek, BGE: 20.55±0.28 g, KE: 21.82±0.25 g; Dişi, BGD:15.68±0.22 g, KD: 14.83±0.25 g, $p<0.001$, maternal diyet-cinsiyet etkileşimi) (Şekil 4.5). Cinsiyet-hafta etkileşiminin de yem tüketimi üzerindeki etkisi istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p<0.001$).



Şekil 4.4. Kazein ve Buğday Gluteni Gruplarının Ortalama Yem Tüketim Miktarları



Şekil 4.5. Kazein ve Buğday Gluteni Gruplarındaki Erkek ve Dişi Ratların Ortalama Yem Tüketim Miktarları

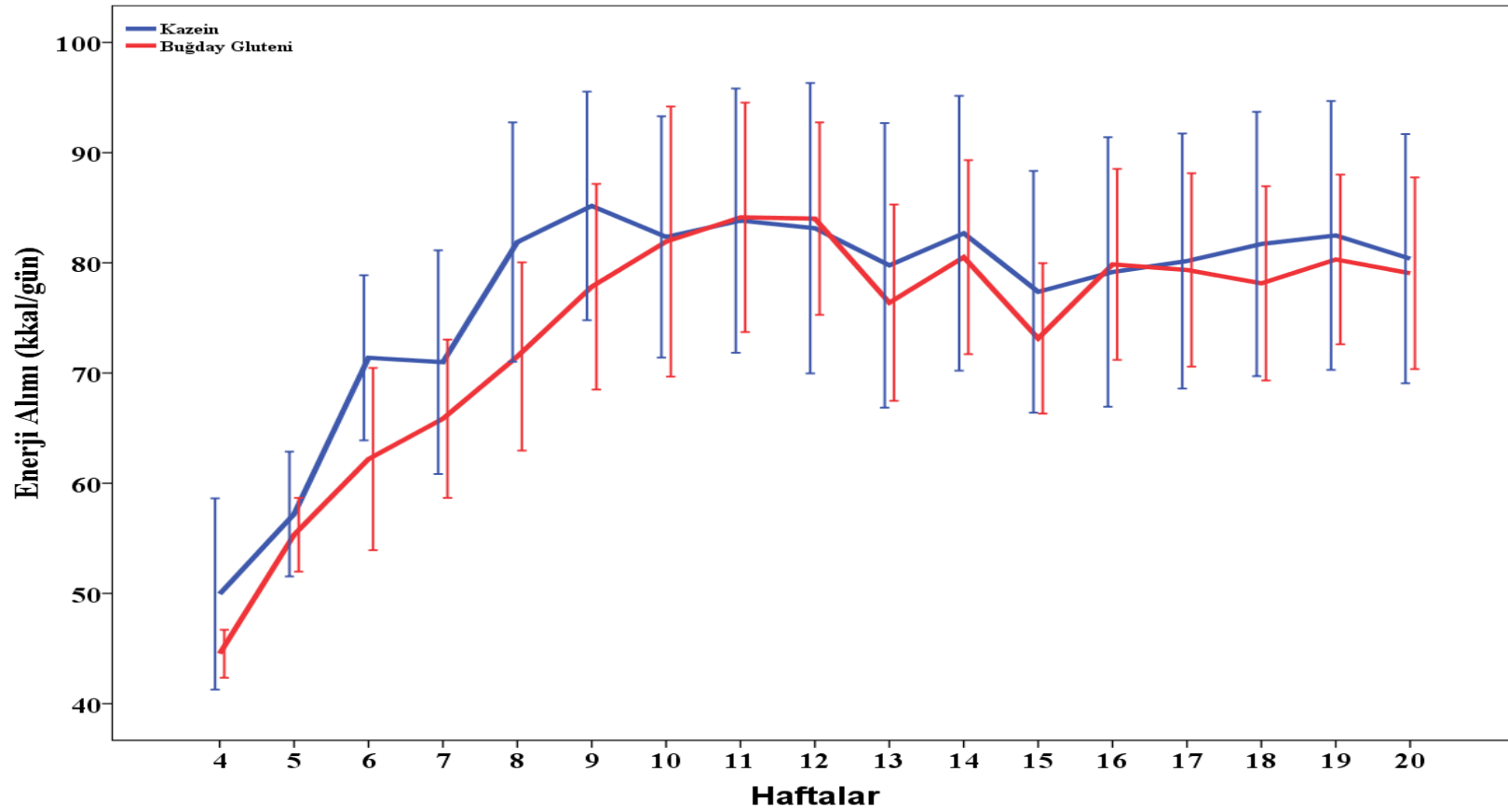
Maternal diyet-cinsiyet ve cinsiyet-hafta etkileşimlerinin etkisi anlamlıdır ($p < 0.001$).

Gruplardaki enerji alımı ve makro besin ögelerinin tüketim düzeylerine maternal diyetin anlamlı bir etkisi görülmemişken cinsiyet, hafta, maternal diyet-cinsiyet etkileşimi ($p<0.001$) ve cinsiyet-hafta etkileşiminin ($p<0.001$) önemli etkisi olduğu sonucuna varılmıştır. Erkek ratların enerji ve makro besin ögesi alımları dişi ratlardan daha fazla olduğu görülmüştür ($p<0.001$, cinsiyet). BGE ratların günlük ortalama enerji (kcal), karbonhidrat (g), protein (g) ve yağ (g) alım düzeyleri KE ratlardan daha düşük iken BGD ratların alım düzeyleri KD ratlardan daha fazla bulunmuştur ($p<0.001$) (Tablo 4.2). Ancak, günlük enerji ve makro besin ögesi alımı vücut ağırlığı başına olarak değerlendirildiğinde maternal diyet-cinsiyet, cinsiyet-hafta etkileşimi ortadan kalkmakta ($p>0.05$) ve sadece cinsiyet ve haftanın anlamlı bir etkisinin olduğu belirlenmiştir ($p<0.001$).

Tablo 4.2. Kazein ve Buğday Gluteni Gruplarındaki Erkek ve Dişi Ratların Ortalama Enerji ve Makro Besin Ögesi Alımları

Cinsiyet		Kazein		Buğday Gluteni		p
		Ortalama	Standart Hata	Ortalama	Standart Hata	
Erkek	Enerji Alımı (kkal/kg/gün)	391.33	6.14	392.26	6.72	0.368
	(kkal/gün)	91.73	1.06	86.40	1.16	<0.001 [§]
	Karbonhidrat Alımı (g/kg/gün)	70.64	1.11	70.80	1.21	0.375
	(g/gün)	16.56	0.19	15.59	0.21	<0.001 [§]
	Protein Alımı (g/kg/gün)	18.61	0.29	18.66	0.32	0.351
	(g/gün)	4.36	0.05	4.11	0.06	<0.001 [§]
	Yağ Alımı (g/kg/gün)	3.82	0.06	3.82	0.07	0.349
	(g/gün)	0.90	0.10	0.84	0.11	<0.001 [§]
Dişi	Enerji Alımı (kkal/kg/gün)	410.27	6.14	422.18	5.32	0.368
	(kkal/gün)	62.34	1.06	65.88	0.92	<0.001 [§]
	Karbonhidrat Alımı (g/kg/gün)	74.05	1.11	76.18	0.96	0.375
	(g/gün)	11.25	0.19	11.89	0.17	<0.001 [§]
	Protein Alımı (g/kg/gün)	19.51	0.29	20.10	0.25	0.351
	(g/gün)	2.97	0.05	3.14	0.04	<0.001 [§]
	Yağ Alımı (g/kg/gün)	4.00	0.06	4.12	0.05	0.349
	(g/gün)	0.61	0.01	0.64	0.01	<0.001 [§]

§ p<0.001 (maternal diyet - cinsiyet etkileşimi)



Şekil 4.6. Kazein ve Buğday Gluteni Gruplarının Günlük Ortalama Enerji Alımı
Maternal diyetin enerji alımı üzerinde anlamlı bir etkisi bulunmazken ($p>0.05$), hafta ($p<0.001$), maternal diyet-cinsiyet etkileşiminin ($p<0.001$) etkisi istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur.

4.3.Organ ve Yağ Doku Ağırlıklarına İlişkin Bulgular

K ve BG grubunda bulunan ratların 20. hafta sonundaki karaciğer, sağ ve sol böbrek, perirenal ve gonadal yağ dokusu ağırlıkları ortalaması Tablo 4.3’de yer alırken Tablo 4.4’de ise organ ağırlıkları vücut ağırlıklarına göre değerlendirilmiştir.

Maternal diyetin karaciğer, sağ ve sol böbrek, perirenal ve gonadal yağ dokusu ağırlıkları üzerinde istatistiksel açıdan anlamlı herhangi bir etkisi bulunmamıştır ($p>0.05$). Cinsiyete göre organ ve yağ doku ağırlıkları anlamlı bir farklılık gösterdiği ifade edilmiş ve erkek ratların organ ve yağ doku ağırlıkları dişi ratlara göre daha fazla bulunmuştur ($p<0.001$).

BGE ratların gonadal yağ doku ağırlık ortalaması KE ratlara göre daha fazla iken BGD ratların gonadal yağ doku ağırlık ortalaması KD ratlardan daha düşüktür (Erkek, BGE: 7.14 ± 0.55 g, KE: 5.72 ± 0.51 g; Dişi, BGD: 2.37 ± 0.44 g, KD: 3.34 ± 0.51 g, $p=0.027$, maternal diyet – cinsiyet etkileşimi). Karaciğer ağırlıkları karşılaştırıldığında ise BGE ratların KE ratlardan daha düşük, BGD ratların KD ratlardan daha fazla olması anlamlılık eğilimine neden olmuştur (Erkek, BGE: 10.07 ± 0.55 g, KE: 11.94 ± 0.51 g; Dişi, BGD: 6.54 ± 0.44 g, KD: 6.33 ± 0.51 g, $p=0.05$, maternal diyet – cinsiyet etkileşimi).

Organ ağırlıkları vücut ağırlıklarına göre değerlendirildiğinde ise maternal diyet-cinsiyet etkileşiminin karaciğer üzerindeki anlamlılık eğilimi artık görülmezken ($p=0.357$) gonadal yağ doku ağırlığı üzerindeki etkisinin devam ettiği görülmüştür ($p=0.023$) (Tablo 4.4).

Organ ve doku ağırlıklarının vücut ağırlığına göre değerlendirilmesinde cinsiyetin gonadal yağ doku üzerinde anlamlılık eğilimine neden olduğu görülmüş ve erkek ratlarda dişi ratlardan gonadal yağ dokunun (%) daha fazla olduğu belirlenmiştir ($p=0.073$, cinsiyet).

Tablo 4.3. Kazein ve Buğday Gluteni Gruplarının Cinsiyete Göre Organ ve Yağ Doku Ağırlıkları

Cinsiyet	Organlar	Kazein		Buğday Gluteni		p
		Ortalama	Standart Hata	Ortalama	Standart Hata	
Erkek	Karaciğer (g)	11.94	0.51	10.07	0.55	0.05‡
	Sağ Böbrek (g)	1.39	0.07	1.46	0.07	0.966
	Sol böbrek (g)	1.45	0.07	1.44	0.07	0.792
	Perirenal Yağ Dokusu (g)	6.17	0.64	5.80	0.70	0.223
	Gonadal Yağ Dokusu (g)	5.72	0.51	7.14	0.55	0.027*
Dişi	Karaciğer (g)	6.33	0.51	6.54	0.44	0.05‡
	Sağ Böbrek (g)	0.78	0.07	0.85	0.06	0.966
	Sol böbrek (g)	0.82	0.07	0.85	0.06	0.792
	Perirenal Yağ Dokusu (g)	2.18	0.64	3.40	0.55	0.223
	Gonadal Yağ Dokusu (g)	3.34	0.51	2.37	0.44	0.027*

*p<0.05 ‡ p< 0.1 (maternal diyet - cinsiyet etkileşimi)

Tablo 4.4. Kazein ve Buğday Gluteni Gruplarındaki Erkek ve Dişi Ratların Organ ve Yağ Doku Ağırlıklarının Vücut Ağırlığına Göre Değerlendirilmesi

Cinsiyet	Organlar	Kazein		Buğday Gluteni		p
		Ortalama	Standart Hata	Ortalama	Standart Hata	
Erkek	Karaciğer (%)	2.88	0.11	2.60	0.13	0.357
	Sağ Böbrek (%)	0.34	0.02	0.38	0.02	0.564
	Sol böbrek (%)	0.35	0.02	0.37	0.02	0.430
	Perirenal Yağ Doku (%)	1.47	0.19	1.49	0.21	0.277
	Gonadal Yağ Doku (%)	1.40	0.19	1.85	0.21	0.023*
Dişi	Karaciğer (%)	2.90	0.11	2.83	0.10	0.357
	Sağ Böbrek (%)	0.36	0.02	0.37	0.02	0.564
	Sol böbrek (%)	0.38	0.02	0.37	0.02	0.430
	Perirenal Yağ Doku (%)	0.99	0.19	1.44	0.17	0.277
	Gonadal Yağ Doku (%)	1.51	0.19	1.02	0.17	0.023*

*p<0.05 (maternal diyet - cinsiyet etkileşimi)

4.4. Plazma Amino Asit Konsantrasyonuna İlişkin Bulgular

K ve BG grubunda yer alan ratların plazma amino asit konsantrasyonları Tablo 4.5, Tablo 4.6 ve Şekil 4.7’de ifade edilmiştir. Maternal diyetin plazma amino asit profili üzerindeki etkisine bakıldığında glutamin, hidroksiprolin, triptofan amino asitleri üzerinde anlamlılık eğilimine ($p < 0.1$) neden olurken diğer hiçbir amino asit konsantrasyonu üzerinde istatistiksel açıdan anlamlı bir etkisi bulunmamıştır ($p > 0.05$). Glutamin ve hidroksiprolin amino asit konsantrasyonları K grubu ile karşılaştırıldığında BG grubunda daha az iken triptofan daha fazla bulunmuştur ($p < 0.1$).

Cinsiyetler arası farklılık değerlendirildiğinde ise alanin, aspartik asit, glisin, glisin-prolin, hidroksilizin, hidroksiprolin erkek ratlarda daha fazla iken triptofan da dişi ratlarda daha fazla bulunmuştur ($p < 0.05$). Erkek ratlarda asparajin ve β -aminoizobüterik asit konsantrasyonları dişi ratlara kıyasla daha fazla bulunurken dişi ratlarda da teronin amino asit konsantrasyonunun fazla bulunması anlamlılık eğilimi göstermiştir ($p < 0.1$).

Fenilalanin, glutamik asit, histidin ve tirozin amino asitleri BGE ratlarda KE ratlara kıyasla daha fazla iken BGD ratlarda KD ratlara göre anlamlı düzeyde daha az olduğu bulunmuştur ($p < 0.05$, maternal diyet – cinsiyet etkileşimi). Bu amino asitlere ek olarak aspartik asit ve sistatyonin amino asitleri de BGE ratlarda KE ratlardan daha fazla iken BGD ratlarda KD ratlardan daha az oldukları tespit edilmiştir ($p < 0.01$, maternal diyet – cinsiyet etkileşimi).

BG grubundaki erkek ve dişi ratların lizin amino asidi konsantrasyonu K grubundaki erkek ve dişi ratlar ile karşılaştırıldığında lizin amino asidi, BGE ratlarda daha az iken BGD ratlarda önemli düzeyde daha fazla olduğu belirlenmiştir ($p < 0.05$, maternal diyet – cinsiyet etkileşimi). Glutamin konsantrasyonu ise BGE ve BGD ratlarda KE ve KD ratlara göre daha düşük bulunarak anlamlılık eğilimi gösterdiği bulunmuştur ($p = 0.088$, maternal diyet – cinsiyet etkileşimi).

Tablo 4.5. Kazein ve Buğday Gluteni Grubundaki Erkek Ratların Plazma Amino Asit Konsantrasyonları

Cinsiyet	Aminoasitler ($\mu\text{mol/L}$)	n	Kazein		n	Buğday Gluteni		p
			Ortalama	Standart Hata		Ortalama	Standart Hata	
Erkek	Alanin	6	835.06	56.66	5	872.49	62.07	0.155
	Asparajin	6	131.02	8.73	5	130.17	9.56	0.790
	Aspartik Asit	6	247.00	34.48	5	375.09	37.77	0.007**
	β -Aminoizobütirik asit	6	41.11	4.53	5	43.50	4.96	0.128
	Fenilalanin	6	164.87	68.05	5	397.64	74.54	0.022*
	Glisin	6	626.84	44.84	5	593.83	49.12	0.554
	Glisin-prolin	6	102.99	10.41	5	126.83	11.40	0.235
	Glutamik Asit	6	157.36	76.63	5	395.05	83.94	0.041*
	Glutamin	6	862.67	73.69	5	583.65	80.72	0.088‡
	Hidroksiprolin	6	57.59	5.44	5	42.27	5.96	0.291
	Histidin	6	119.16	144.03	5	541.73	157.78	0.043*
	İzolöysin	6	228.36	15.38	5	266.87	16.85	0.142
	Lizin	6	868.58	120.33	5	511.10	131.81	0.022*
	Lösin	6	359.94	23.97	5	394.97	26.26	0.148
	Metiyonin	6	83.31	7.63	5	84.64	8.36	0.850
	Ornitin	6	128.16	26.77	5	135.99	29.33	0.108
	Prolin	6	259.52	23.92	5	267.14	26.20	0.649
	Serin	6	499.91	40.49	5	486.41	44.34	0.879
	Sistatyonin	6	80.37	19.86	5	126.33	21.76	0.007**
	Sistin	6	43.28	6.70	4	59.52	8.21	0.417
	Tirozin	6	147.17	80.78	5	425.04	88.49	0.034*
	Teronin	6	346.90	31.60	5	332.16	34.61	0.603
	Triptofan	6	171.59	23.62	4	229.55	28.92	0.595
	Valin	6	490.31	44.07	5	513.34	48.28	0.184

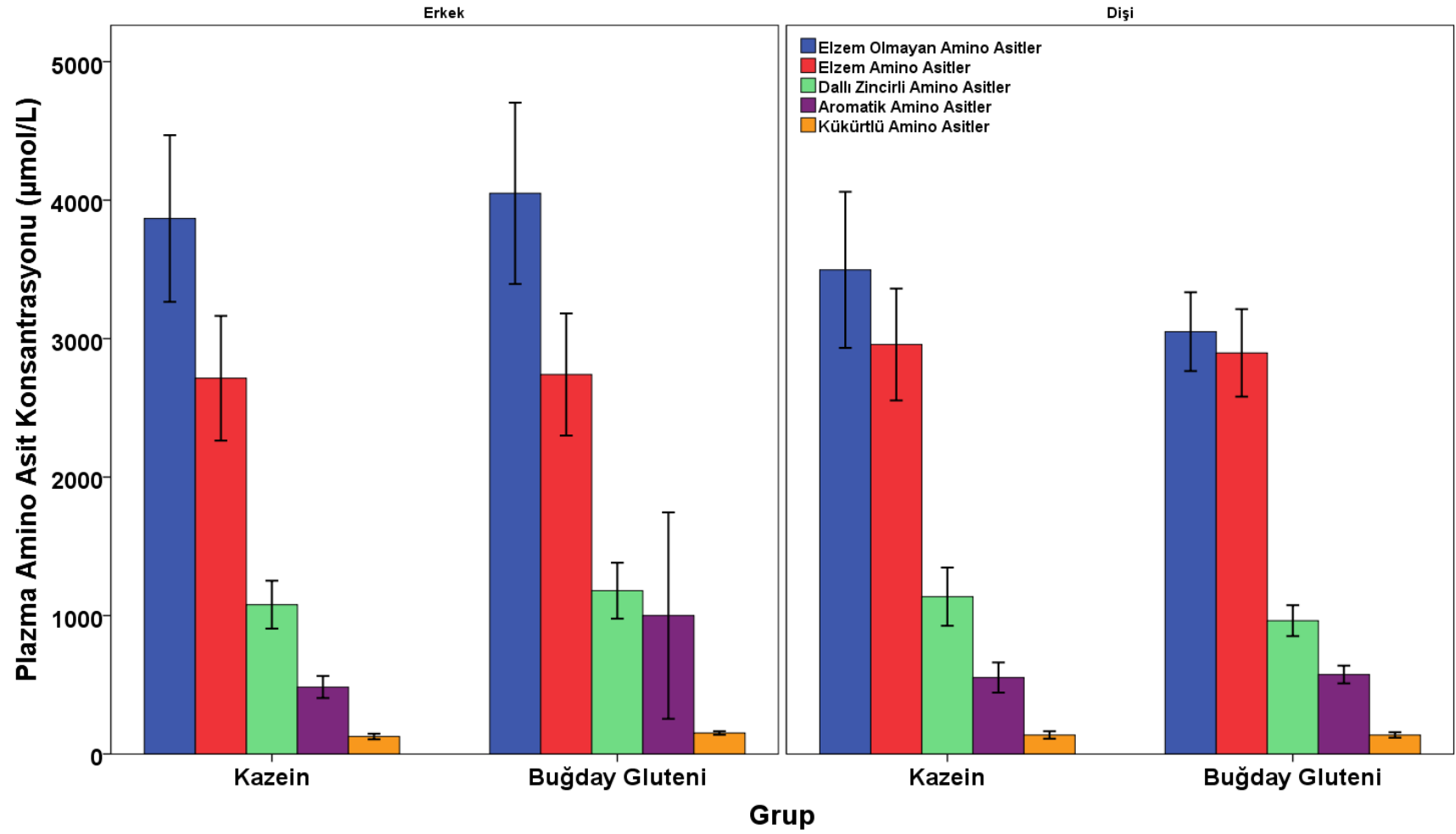
*p<0.05 **p<0.01 ‡ p< 0.1 (maternal diyet - cinsiyet etkileşimi)

Tablo 4.6. Kazein ve Buğday Gluteni Grubundaki Dişi Ratların Plazma Amino Asit Konsantrasyonları

Cinsiyet	Aminoasitler ($\mu\text{mol/L}$)	n	Kazein		n	Buğday Gluteni		p
			Ortalama	Standart Hata		Ortalama	Standart Hata	
Dişi	Alanin	6	729.26	56.66	8	600.40	49.07	0.155
	Asparajin	6	118.12	8.73	8	112.60	7.56	0.790
	Aspartik Asit	6	248.63	34.48	8	170.67	29.86	0.007**
	β -Aminoizobütirik asit	6	39.62	4.53	8	27.74	3.92	0.128
	Fenilalanin	6	249.87	68.1	8	148.70	58.93	0.022*
	Glisin	6	458.11	44.84	8	371.52	38.84	0.554
	Glisin-prolin	6	89.79	10.41	8	88.35	9.01	0.235
	Glutamik Asit	6	207.54	76.63	8	113.27	66.36	0.041*
	Glutamin	6	795.83	73.69	8	779.11	63.81	0.088 ‡
	Hidroksiprolin	6	39.10	5.44	8	35.49	4.72	0.291
	Histidin	6	292.37	144.03	8	97.76	124.74	0.043*
	İzolöysin	6	239.68	15.38	8	231.55	13.32	0.142
	Lizin	6	768.95	120.33	8	1000.61	104.21	0.022*
	Lösin	6	373.04	23.97	8	336.42	20.76	0.148
	Metiyonin	6	89.72	7.63	8	88.16	6.61	0.850
	Ornitin	6	157.85	26.77	8	76.25	23.19	0.108
	Prolin	6	275.27	23.92	8	260.91	20.71	0.649
	Serin	6	448.61	40.49	8	422.75	35.07	0.879
	Sistatyonin	6	119.88	19.86	8	47.65	17.20	0.007**
	Sistin	6	44.83	6.70	8	49.62	5.80	0.417
	Tirozin	6	220.57	80.78	8	133.83	69.95	0.034*
	Teronin	6	386.45	31.60	8	404.85	27.36	0.603
	Triptofan	5	260.23	25.87	8	291.25	20.45	0.595
	Valin	6	492.42	44.07	8	395.10	38.17	0.184

*p<0.05 **p<0.01 ‡ p< 0.1 (maternal diyet - cinsiyet etkileşimi)

Toplam elzem olmayan amino asit, elzem amino asit, dallı zincirli, kükürtlü ve aromatik amino asit plazma konsantrasyonları değerlendirildiğinde maternal diyetin sadece aromatik amino asit konsantrasyonunda iki grup arasında farklılığa neden olarak anlamlılık eğilimine neden olduğu bulunmuştur (BG: 716.24 ± 78.1 $\mu\text{mol/L}$, K: 517.83 ± 77.2 $\mu\text{mol/L}$, $p=0.087$). Erkek ratlarda elzem olmayan amino asit konsantrasyonu dişi ratlara göre daha fazla bulunarak anlamlı bir farklılık olduğu kaydedilmiştir (Erkek: 4113.49 ± 197.41 $\mu\text{mol/L}$, Dişi: 3318.01 ± 165.16 $\mu\text{mol/L}$, $p<0.01$, cinsiyet). BGE ratların KE ratlara göre elzem olmayan amino asit konsantrasyonu daha fazla iken BGD ratlarda KD ratlara göre elzem olmayan amino asit konsantrasyonu daha azdır (Erkek, BGE: 4359.58 ± 305.82 $\mu\text{mol/L}$, KE: 3867.40 ± 249.70 $\mu\text{mol/L}$; Dişi, BGD: 3050.16 ± 216.25 $\mu\text{mol/L}$, KD: 3585.85 ± 249.70 $\mu\text{mol/L}$, $p=0.060$, maternal diyet – cinsiyet etkileşimi) (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Kazein ve Buğday Gluteni Gruplarındaki Erkek ve Dişi Ratların Plazma Amino Asit Konsantrasyonları

5. TARTIŞMA

Ülkelerin gelişmişlik düzeyine göre protein kaynakları farklılık göstermesine rağmen tüm ülkelerin protein kaynakları düşünüldüğünde çok büyük bir kısmını protein kalitesi açısından düşük olan bitkisel kaynaklı proteinler oluşturmaktadır (159,160). Yüz onaltı ülkede protein alımına yönelik ve alınan proteinin kalitesine göre protein yetersizlikleri saptanmaya çalışılmıştır (160). Protein alımına yönelik değerlendirmede protein yetersizliği Liberya’da %60 ve Cibuti’de %10 iken protein kalitesine göre değerlendirildiğinde yetersizlikler sırasıyla %90 ve %40’a çıkmaktadır (160). Aradaki farkın bu kadar yüksek olmasındaki en temel etken bu ülkelerdeki protein kaynaklarının bitkisel protein olmasından ileri gelmektedir (161). Türkiye Beslenme ve Sağlık Araştırması 2010 verilerine göre Türkiye’de gebe, emzikli kadınların protein kaynakları ele alındığında toplam proteinin sırasıyla %56.8 ve %60.1’inin bitkisel kaynaklı proteinden oluştuğu görülmektedir (146). Bitkisel proteinin diyetin toplam proteinin %50’den fazlasını oluşturması durumunda diyetin protein kalitesi olumsuz etkilenmekte ve biyolojik değeri azalmaktadır (160).

Genel olarak değerlendirildiğinde diyetlerdeki sınırlı amino asitler metiyonin, lizin, triptofan ve teronin iken gelişmekte olan ülkelerde ise sınırlı amino asit olarak birinci sırada yer alan lizin amino asididir (159,162,163). Kazein ve buğday gluteninin amino asit örüntüleri karşılaştırıldığında ise aspartik asit, teronin, serin, alanin, valin, metiyonin, izolöysin, löysin, tirozin ve histidin amino asitleri buğday glutenin de daha düşük olup buğday gluteninin sınırlı amino asidi ise lizin amino asididir. Kazein ve buğday gluteni amino asit örüntüleri ‘Ek 4’ de gösterilmektedir (164).

Protein kalitesinin metabolizma üzerindeki etkilerinin değerlendirildiği çalışmalar literatürde olmasına rağmen gebelik ve emziklilik dönemindeki protein kalitesinin fetal programlama açısından metabolizma üzerinde ne gibi farklılıklara yol açtığına ilişkin literatürde sadece bir araştırma bulunmaktadır (153,165-168). Bu nedenle gebelik ve emziklilik dönemindeki maternal diyetin protein kalitesinin yetişkinlik dönem etkileri merak konusudur.

5.1. Antropometrik Sonuçların Değerlendirilmesi

Fetal genom, fetüsün büyüme ve gelişiminde çok önemli bir rol oynamaktadır. Ancak bunun yanında rahim içi faktörlerde fetüsün büyüme ve gelişiminde belirleyici faktör olarak yer almaktadırlar (4,169). Örneğin embriyo transfer çalışmalarında donör anneden ziyade alıcı annenin fetüsün büyümesinde daha fazla rol üstlendiği bildirilmiştir (5). Rahim içi çevrenin fetal genom ekspresyonunu değiştirebilmesi nedeniyle fetal büyümede baskın olan etmenlerin başında maternal beslenme yer almaktadır (4,169).

Konseptüsün büyüme ve gelişiminde besin öğeleri içerisinde amino asitler çok önemli rol üstlenmektedir. Çünkü amino asitler protein sentezi ve hücrel fonksiyonların aktivasyonu için elzem öğelerdir. Amino asitlerin elzem, yarı elzem ve elzem olmayan sınıflandırılmasının yanı sıra bir de fonksiyonel amino asitler bulunmaktadır (170). Fonksiyonel amino asitler ise protein sentezinin yanında büyüme, gelişme, üreme ve sağlığın sürdürülmesinde anahtar metabolik yolları düzenler. Bu amino asitler arjinin, sistein, glutamin, löysin, prolin ve triptofandır (23,170).

Arjinin, löysin ve glutamin mTOR hücrel sinyalizasyonu uyararak konseptüsün hücrelerinin hiperplazi, hipertrofi ve göçünde önemli rol oynarlar ve bu üç amino asit konseptüsün fizyolojik sıvı ve hücrelerinde yer alan proteinlerin yapısında oldukça fazla miktarda bulunur. Löysin ve arjinin amino asitleri mTOR hücrel sinyalizasyonu uyarımının dışında insülin benzeri büyüme faktörü-2 (IGF-2) ve nitrik oksit sentetaz gibi bazı gen ekspresyonlarını uyarır (170).

Bu fonksiyonel amino asitlerden oluşan ürünler ise arjinin ve prolin amino asitlerinden poliamin (putresin, spermidin, spermin), glutamin ve sisteinden ise glutatyon oluşur. Ayrıca arjinin amino asidinden NO oluşmaktadır. NO ve prolamin anijogenez, embriyogenez, plasental büyüme, utero-plasental kan akımı ve besin öğelerinin anneden fetüse transferinde çok önemli rol alır. Glutatyon ise konseptüsteki esas antioksidan öğe olup bunun yanında DNA sentezi, gen ekspresyonu ve hücrel sinyal iletiminde görev alır (170).

Arjinin ve glutamin amino asitlerinin diğer özellikleri ise her bir arjinin molekülünün yapısında bulunan dört nitrojen atomu fetüsteki en fazla nitrojen taşıyan molekül olarak bulunurken glutamin ise özellikle gebeliğin son döneminde en çok nitrojen sağlayan molekül olarak bilinmektedir (23).

Amino asitlerin fetal büyümedeki rolünün önemi bir çok çalışma ile desteklenmesi ve plasental amino asit profilinin maternal plazma amino asit profilinden yüksek oranda etkilenmesi nedeni ile maternal diyetin protein miktarının yanında protein kalitesinin de fetüsün büyüme ve gelişimi için önemli etkilere neden olacağı öngörülmektedir (23,24,171).

Bu araştırma ile gebelik ve emziklilik döneminde farklı protein kalitesine sahip diyetler ile beslenen annelerin yavrularının yetişkinlik dönemine etkisi ilk kez araştırılmıştır.

Gebelik ve emziklilik döneminde farklı protein kalitesi diyetlerine maruziyetin yavruların emziklilik sonu vücut ağırlığına nasıl etki ettiğine dair oldukça sınırlı sayıda araştırma bulunmaktadır (171-174). Gebelik ve laktasyon dönemlerinde %12.9 buğday gluteni içeren diyet ile beslenen ratların yavrularının laktasyonun 15. günkü ağırlıkları %12.5 metiyonin takviyesi yapılmış kazein diyeti ile beslenen yavrudan daha düşük bulunmuştur (173). Bu çalışmaya benzer şekilde Sampson ve Jansen'ın (172) ile Jansen ve Hunsaker'in (175) yaptığı araştırmalarda buğday gluteni (%25) ile beslenen ratların yavrularının laktasyonun 15. günkü ağırlığı kazein (%25) grubundan daha düşük bulunmuştur. Farklı bir araştırmada ise emziklilik sonu vücut ağırlığı buğday gluteni ile beslenen grupta daha az bulunmuş ve bir başka araştırmada da yine protein kalitesinin artışıyla, lizin ve teronin amino asidi ile zenginleştirilmiş beyaz ekmeği tüketen grubun emziklilik sonu vücut ağırlığı kazein grubu ile aynı bulunmuştur (171,174).

Bu araştırmada ise yukarıdaki araştırmalara paralel olarak laktasyon sonu (çalışma başlangıcı) vücut ağırlıkları BG grubunda daha az olmasına rağmen anlamlı bir fark görülmemiştir. Bu araştırmanın diğer çalışmalarla aynı sonucu vermemesi gebelik ve emziklilik dönemi protein kalitesinin yavruların laktasyon sonu vücut ağırlığını etkilemediği anlamından öte aslında fetal programlamanın tek bir besin

ögesinden değil de tüm diyetten etkilenmesidir. Örneğin fetal dönem düşük protein maruziyeti kan basıncının artışı ile ilişkilendirilirken diyetin karbonhidrat ve yağ asit örüntüsünün değiştirildiği farklı bir çalışmada ise düşük proteinli diyetin kan basıncına neden olmadığı görülmüştür (17,79,120,176). Bu nedenle çalışmalarda kullanılan diyetin tüm bileşenlerinin bilinmesi çalışmaları kıyaslamada kolaylık sağlayacaktır.

Protein kalitesi ile ilgili yapılan araştırmalarda, düşük kaliteli protein olarak buğday gluteni yüksek kaliteli protein olarak da kazein kullanılmıştır. Buğday gluteni ile beslenen grupların vücut ağırlığı, ağırlık kazanımı ve yem tüketimini kazein ile beslenen gruptan daha düşük olduğu birçok çalışma ile ifade edilmiştir (177-179).

Ratlar üzerinde yapılan araştırmalarla buğday gluteninin büyümeyi olumsuz yönde etkilediği net bir şekilde ifade edilmiştir. Erkek Sprague Dawley ratları üzerinde yapılan bir araştırmada ise kazeine kıyasla ağırlık kazanımı en az jelatine sonra ise buğday gluteninde olduğu görülmüştür (152,177-181).

İnsülin benzeri büyüme faktörleri (IGFs) doğum öncesi ve doğum sonrası dönemde insanlarda olduğu gibi kemirgenlerde de büyümede çok önemli bir yere sahiptir. Fetal dönemde ise insülin benzeri büyüme faktörlerinin üretimi büyüme hormonundan bağımsız gerçekleşmektedir. Büyüme hormonunun büyüme üzerindeki etkisi daha çok doğum sonrası ile ilişkili iken doğum öncesi dönemde insülin benzeri büyüme faktörleri görev alır (76). İnsülin benzeri büyüme faktörlerinden IGF-1 daha çok gebeliğin son dönemi ve doğum sonrası dönemdeki büyümeden sorumlu iken IGF-2 embriyogenik dönem büyümeden sorumludur (182).

İnsülin benzeri büyüme faktörlerinin seviyesi beslenme ile yakın bir ilişki içerisinde (182). Aynı zamanda diyetin protein miktarının yanında diyetin protein kalitesinden de etkilenmektedir (183,184). Çalışma sonuçları genel olarak değerlendirildiğinde buğday gluteni ile beslenen ratların IGF-1 seviyelerinin kazein ile beslenen gruptan daha düşük olduğu gösterilmiştir (185,186). Miura ve diğerlerinin (185) yaptığı çalışmada buğday gluteni ile beslenen erkek ratların karaciğerindeki IGF-1 seviyelerindeki azalma IGF-1 mRNA stabilitesindeki azalma ile ilişkilendirilmiştir. Bu çalışmaya paralel olarak lizin amino asidi kontrol grubu

diyetinin %20'si kadar olan diyet ile beslenen ratlarda da IGF-1 seviyesinin daha düşük olduğu ifade edilmiştir (187). Protein kalitesinin IGF-1 seviyesi üzerinde doğrudan bir etkisinin olması fetal dönemde de BG grubunda büyümeden sorumlu IGF-1 seviyesini etkilemiş olabileceği düşünülebilir.

Gestasyon haftasına göre düşük doğum ağırlığı olan bebekler (SGA)'ın büyük bir kısmı büyümeyi yakalarken bazıları bunu başaramamaktadır. Bunun altında yatan mekanizma araştırıldığında ise büyüme hormonu (BH) izoformlarının farklı olduğu ve IGF-1 seviyesinin de düşük olarak seyretmesi büyüme hormonu-IGF aksında kalıcı defekt olabileceği ileri sürülmektedir (188). Bu araştırmada da gebelik ve emzicilikten sonra kazein içeren diyet ile beslenen ratların vücut ağırlığı takibi ortalamasının BG grubunda K grubuna göre daha az bulunması BH-IGF-1 aksında programlamaya neden olabileceği hipotezi kurulabilir. Bu hipotezi destekleyen bir başka sonuç ise vücut ağırlık kazanım hızında BG grubunda görülen vücut ağırlık kazanımda spesifik hızın daha düşük çıkarak anlamlılık eğilimi göstermesidir.

Fetal programlama alanındaki birçok araştırmada olduğu gibi bu araştırmada da erkek ve dişi ratlarda farklı fenotipler görülmektedir (82,189,190). Elde edilen sonuçlara göre erkek ratlar yetişkin hastalıkların fetal dönemde programlanmasına daha yatkındırlar (82). Araştırma sonuçları dişilerin çevresel faktörlere karşı adaptasyonunun daha fazla olması, erkeklerin fetal dönemde dişilere göre daha hızlı büyümesi ve gösterdikleri bu hızlı büyüme sürecinde çevresel etkenlere daha fazla maruz kalması ve dişilerde östrojenin koruyucu bir rolü olması öne çıkan mekanizmalardır (191,192).

Bu araştırmada da fetal programlama etkileri erkek ve dişi ratlarda farklılık göstermektedir. Örneğin, BGE ratların çalışma sürecinde takip edilen vücut ağırlığı ortalaması KE ratlardan düşük iken BGD ratlarda ise KD ratlardan fazla bulunmuştur. Plazma lizin amino asit konsantrasyonunun BGE ratlarda düşük olması büyüme ve gelişme geriliğini açıklamaya yardımcı olabilir.

5.2. Besin Alımının Değerlendirilmesi

Vücut ağırlığındaki değişimin besin alımı ile yakın bir ilişkisi olduğu düşünülmektedir (177,193). Amino asit kompozisyonundaki dengesizliğin besin alımını etkilediği yapılan bir çok araştırma ile gösterilmiştir (194-198). Amino asit dengesizliğinin besin alımı üzerindeki etkisine dair yapılan araştırmalarda ise beynin anterior prepriform korteks (PPC)'indeki değişikliklerin ön plana çıktığı görülmüştür. Sınırlı amino asidin toplam amino asitlere olan oranının anterior prepriform kortekste değiştiği görülmüştür (199). Bu nedenle PPC vücudun esansiyel amino asit kimyasal sensörü (chemosensor) olduğu düşünülmektedir (193).

Amino asitlerden sentezlenen ve biyojenik aminler grubundaki nörotransmitterler serotonin, norepinefrin ve histamindir (200). Bu nörotransmitterlerden norepinefrinin amino asit örüntüsü dengeli olmayan diyet tüketen ratlarda norepinefrin düzeyinin PPC'de düştüğü ve besin alımının baskılanmasının görülmesi üzerine norepinefrin düzeyi ile besin alımının baskılanması ilişkilendirilmiştir (201). PPC'de görülen bir diğer farklılık ise ikincil haberci olarak görev alan ve nöronal sinyalizasyonda rol oynayan siklik adenosin monofosfat (cAMP)'in seviyesinin düşmesidir (193,202). cAMP konsantrasyonundaki düşme ise nörokimyasal değişiklikler ve PPC'deki protein sentezinin etkilenmesi olarak yorumlanmaktadır (193). PPC'de gerçekleşen bu değişimler ile besin alımının baskılandığı düşünülmektedir (193,199,203).

Kazein ve buğday gluteni ile yapılan araştırmalarda besin tüketimleri incelendiğinde buğday gluteni ile beslenen ratların daha az besin tüketiminin olduğu görülmüştür (196,197). Protein kalitesine bağlı besin tüketimindeki farklılığı açıklayan bir diğer mekanizma ise histamin 1 (H1) reseptörlerindeki değişimdir. Hipotalamusta bulunan histamin reseptörleri H1, H2 ve H3 substrat homeostazi, hipofaji ve hiperfaji süreçlerinde rol alır. Esansiyel amino asitlerden sınırlı olan diyetle beslenen ratlarda beyin histidin konsantrasyonunun arttığı bulunmuştur (204). Haq ve diğerlerinin (196) yaptığı çalışmada ise düşük kaliteli protein alan grubun H1 reseptörlerinin yüksek kaliteli protein alan gruba göre çok daha fazla olduğu ve besin tüketiminin azaldığı saptanmıştır. Bu sonuçta bazı esansiyel amino asit yada amino

asitlerin H1 reseptörlerinin düzenlenmesinde rol oynayabileceğini işaret ettiği şeklinde yorumlanmıştır.

Bu araştırmada da protein kalitesi düşük diyetle maruziyetin BGE ratların KE ratlardan daha az yem tüketmesine neden olurken dişilerde tam tersi olarak KD ratlardan daha fazla yem tükettikleri ifade edilmiştir. Ayrıca BGE ratların enerji (kkal), karbonhidrat (g), protein (g) ve yağ (g) alımları da KE ratlardan daha düşük bulunurken yine BGD ratlarda BGE ratlara zıt olarak KD ratlardan daha fazla olduğu ifade edilmiştir. Bu sonuç ile protein kalitesinin santral sinir sistemi yada histamin reseptör düzeylerini etkileyerek iştahı programlayabileceği hipotezi ileri sürülebilir.

Günlük enerji ve makro besin ögesi alımı vücut ağırlığı başına olarak değerlendirildiğinde bu anlamlı farklılık ortadan kalkmaktadır. BGE ratların KE ratlara göre ağırlık artışının az olması ve BGD ratların KD ratlardan ağırlık artışının fazla olmasındaki anlamlılık eğilimi ve vücut ağırlığı takip ortalamasının da BGE ratlarda düşük olup BGD ratlarda fazla olmasındaki istatistiksel anlamlılık ratlarda iştah metabolizmasının programlanması hipotezi ile açıklanabilir.

5.3. Organ ve Yağ Doku Ağırlıklarının Değerlendirilmesi

Diyetin protein kalitesindeki artışın organ ağırlıklarını olumlu yönde etkilediği görülmüştür. Pallora ve diğerlerinin (151) yaptığı çalışmada % 6.5 mısır unu ile beslenen grubun % 6.5 kazein ile beslenen gruptan timus bezi ve karaciğer ağırlıkları daha azdır. % 20 buğday gluteni ile beslenen grubunda yine karaciğer ağırlığı kazein ile beslenen gruptan %32 daha az olduğu görülmüştür (177). Doğumdan sonra buğday gluteni (%23) ile beslenen anne ratların karaciğer ağırlığı kazein (%23) grubuna göre daha az olduğu ifade edilmiştir (205). Farklı bir araştırmada ise gebelik ve emziklilik döneminde buğday gluteni ile beslenen anne ratların 15 günlük yavrularının karaciğer ağırlıkları kazein ile beslenen grubun yavrularının karaciğer ağırlıklarından daha az bulunmuştur (173).

Bu araştırmada ise BGE ratların karaciğer ağırlıkları KE ratların karaciğer ağırlıklarına göre daha az iken BGD ratlarda KD ratlardan daha fazla bulunarak anlamlılık eğilimi gösterdiği bulunmuştur. Yapılan çalışmalarda düşük kaliteli protein diyetinin DNA seviyesinin azalmasına neden olarak hücre bölünmesini

etkileyebileceği ya da RNA seviyesini olumsuz yönde etkileyerek protein sentezinin etkilenmesi sonucu organ ağırlığındaki azalma açıklanmaya çalışılmıştır (205,206). Organ ağırlıkları vücut ağırlığına göre değerlendirildiğinde karaciğer (%) oranı üzerinde bir araştırmada protein kalitesinin anlamlı etkisi bulunurken farklı bir araştırmada serebral korteksin (%) ağırlığında protein kalitesinin anlamlı bir etkisinin olmadığı görülmüştür (177,207). Bu araştırmada da organ ağırlıklarının vücut ağırlığına göre değerlendirildiğinde anlamlı herhangi bir etkinin olmadığı görülmüştür.

Organ ağırlıkları gruplar arasında herhangi bir farklılığa neden olmasa da organ işlevleri açısından da bir farklılık olmadığı anlamına gelmemektedir. Örneğin fetal dönemde protein kısıtlamasına maruz kalmış ratların vücut ağırlığına göre serebellum ağırlıkları arasında herhangi bir fark yok iken protein kısıtlamasına maruz kalan ratlarda serebral korteks vaskülerizasyonunun daha az olduğu bulunmuştur (3). Farklı bir çalışmada fetal dönem protein kısıtlaması maruziyeti yaşayan ratların vücut ağırlığına göre karaciğer ağırlığı aynı iken karaciğer lobül sayısının kontrol grubunun yarısı kadar olduğu gösterilmiştir (86). Bu nedenle fetal dönem protein kalitesinin organ ağırlığı ve organların fonksiyonel yapıları üzerinde nasıl etki ettiğine dair çok fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Karnitinin ön ögesi olan lizin amino asidinden yetersiz beslenen ratlarda karaciğer, kalp ve iskelet kasında toplam yağ miktarında artış ve palmitat yağ asit oksidasyonunda azalma görülmüştür. Buğday glutenine lizin ve teronin amino asitlerinin eklendiği grupta ise palmitat oksidasyonunda artış ve dokulardaki trigliserit konsantrasyonunda azalma görülmüştür. Bu sonuçta lizin amino asit yetersizliğinin karnitin seviyesini olumsuz yönde etkileyerek yağ asit oksidasyonunun azalmasına neden olduğu şeklinde yorumlanmıştır (208). Bu araştırmada ise maternal diyet-cinsiyet etkileşiminin perirenal yağ doku üzerinde herhangi anlamlı bir etkisi görülmezken gonadal yağ doku ağırlığı ve vücut ağırlığına göre %'si BGE ratlarında KE ratlarına göre daha fazla iken BGD ratlarda KD ratlara göre daha az bulunmuştur. Bu sonuçta yağ asit oksidasyonu ve karnitin seviyelerinin fetal dönemde özellikle erkek ratlarda programlandığını gösteriyor olabilir. BGE

ratlarda lizin amino asit konsantrasyonunun KE ratlara göre daha düşük çıkması bu sonucu desteklemektedir.

5.4. Plazma Amino Asit Profilinin Değerlendirilmesi

Protein kalitesinin serum amino asit profili yada karaciğer gibi organ amino asit profilini etkilediği çalışmalarda gösterilmiştir. Bu çalışmalarda diyetin protein kalitesinin artışıyla esansiyel amino asit konsantrasyonlarının da arttığı gözlenmiştir (207,209).

Literatürde maternal düşük kaliteli protein diyetinin emziklilik sonu amino asit profili üzerindeki etkisini gösteren sadece bir araştırma yer alırken, yetişkinlik dönemi amino asit profili üzerindeki etkisini değerlendiren herhangi bir çalışma yer almamaktadır (153). Bu çalışmada ilk kez fetal ve emziklilik döneminde buğday gluteni içeren diyetin yetişkinlik dönemi plazma amino asit profiline olan etkisi araştırılmıştır.

Glutamin, amonyağın karaciğere taşınması, asparajin amino asidinin sentezi, enterositler, lenfosit ve makrofajlar için enerji kaynağı olması, ince bağırsaklarda bağırsak atrofisini engellemesi (127,132), pürin ve pirimidin sentezinde rol oynaması, hücreleri koruyan ısı-şok yada stres proteinleri olarak bilinen proteinlerin sentezini artırması ve inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu azaltması gibi organizma için çok önemli roller üstlenmektedir (125). Bu özelliklerinin yanında ayrıca asit-baz dengesinde de görev almaktadır (210). Bu çalışmada ise BG grubunda hem erkek hem de dişi ratlarda plazma glutamin konsantrasyonunun K grubuna göre daha az olması anlamlılık eğilimine neden olmuştur. Glutaminin organizma üzerinde bu kadar çok önemli aktif rol üstlenmesi nedeniyle plazma konsantrasyonundaki azalma metabolizma üzerinde olumsuz etkilere neden olabilir.

Kume ve diğerlerinin (211) Sprague-Dawley türü ratlar üzerinde yaptığı çalışmada görülen oksidatif stresin artış göstermesiyle hidroksiprolin seviyesindeki düşüş arasında bir ilişki olabileceği düşünülmüştür. Çünkü oksidatif stres durumunda prolin amino asidinin oksidasyonundaki değişim gibi amino asitlerin

modifikasyonunda farklılık görülebilmektedir (212). Plazma hidroksiprolin seviyesinin BG grubunda daha düşük olmasının anlamlılık eğilimi göstermesi oksidatif stres ile ilişkili olabilir.

Serotonin triptofan amino asidinden sentezlenir. Serotonin bir nörotransmitterdir ve uyku, iştah, ruh hali, hafıza ve bilişsel fonksiyonları etkiler. Bunlara ek olarak serotonin vazokonstriksiyonu da sağlar (125). BG grubunda triptofan seviyesindeki yüksekliğin anlamlılık eğilimi göstermesi serotonin konsantrasyonunda artışa neden olarak sinir sistemi ve ruh hali gibi birçok durumu etkileyebilir.

Üre döngüsünde azot kaynağı olarak işlev gören aspartik asit yapısındaki α -amino grubunu vererek arjininosüksinatın oluşumunu sağlarken kendisi de fumarat molekülüne dönüşmektedir (132). BG grubundaki dişilerde aspartik asit konsantrasyonundaki düşüklüğün anlamlılık eğilimi göstermesi amonyak detoksifikasyonunun tam sağlanamamasına neden olabilir.

Glutamat ve aspartik asit eksitator amino asitler grubunda yer alan santral sinir sisteminin ana nörotransmitterlerindendir (213). Beyinde oldukça yüksek miktarda bulunurlar ve aspartata kıyasla glutamat konsantrasyonu beyinde daha fazladır (213,214). Bu amino asitler sinaptik geçişi yönlendirir ve nöron içine geçişini kontrol ederler. Bu özellikleri ile nöronal yaşam, sinaps yapımı, nöronal plastisite, öğrenme ve hafıza üzerinde etkili bulunmuşlardır. Bu eksitator amino asitler sinir iletiminden sorumlu olmakla birlikte bir taraftan da nörotoksisitenin potansiyel kaynaklarıdır (213). Örneğin, glutamat konsantrasyonunda ki azalma normal uyarımın bozulmasına neden olurken glutamat konsantrasyonunun aşırı yükselmesi ise kalsiyum homeostazını bozarak eksitoksisiteye ve hücre ölümüne neden olabilir (213). Bu sebeple BG grubundaki dişilerde glutamik asit seviyesinde görülen düşüklük sinir sistemi işlevlerinde aksamalara sebep olabilir.

Glutamat ve aspartik asit postsinaptik hücre yüzey etkilerini belirli reseptörlerle etkileşime girerek oluştururlar. Bu reseptörlerden üzerinde en çok çalışılanı ise N-metil-D-aspartat (NMDA)'tır (213). NMDA, glutamat ve diğer agonistler ile etkileşime girer. Reseptör içindeki iyon kanalının açılmasını sağlayarak

uyarının oluşmasını sağlar. Stimülasyonun sürmesi durumunda ise patolojik eksitotoksik etki ortaya çıkar (213). Aspartik asidin NMDA sentezinde öncül bileşik olması nedeniyle aspartik asit konsantrasyonundaki artış beyinde NMDA seviyesinde de artışa yol açabilir (215). BGE ratlarda KE ratlara kıyasla hem glutamat hem de aspartik asit seviyelerinin fazla olması sinir sisteminde hasara neden olabilir.

Kazein grubu ile karşılaştırıldığında BGE ratların fenilalanin ve tirozin seviyeleri daha fazla iken BGD ratlarda daha düşüktür. Bu farklılık adrenalin, noradrenalin, dopamin gibi katekolamin sentezini etkileyerek metabolizma üzerinde farklı durumlara sebep olabilir. Örneğin katekolaminlerin glikojenolizi ve glukoneojenezi uyarması ve glukagon hormonu salınımının uyarılması gibi anti-insülinemik özellikleri ve katekolaminlerin kan basıncını artırmaları nedeniyle BGE ratlarda kan glukozu homeostazında bozulmalara ve kan basıncında artışa neden olabilir.

Fenilalanin ve tirozin seviyeleri düşük olan BGD ratların tiroid hormonları sentezi etkilenebilir. Çünkü tiroid hormonları tirozin kalıntılarının iyodinasyonu sonucu oluşmaktadır (216). Tiroid hormonunun ise metabolizma üzerinde Na-K ATPaz sentezini hızlandırarak termojenik bir etki oluşturması ve ATP tüketimini artırması, pankreas β hücrelerinin duyarlılığını artıran tiroid hormonları optimal insülin salınımı sağlaması, kolesterolün bağırsaklardan emilimini azaltması, kolesterolden safra asitlerinin oluşumunu artırması ile serum kolesterol düzeyinin azalmasını sağlaması gibi metabolizma üzerine önemli fonksiyonlara sahiptir. Bu işlevlere ek olarak protein sentezi için gerekli olan oksidatif tepkimeler ile ilgili pozitif azot dengesi oluştururken düşük dozlarda ise bu hormonlar tam tersi olarak protein katabolizmasını artırarak negatif azot dengesine neden olmaktadır (216).

BGE ratlarda görülen sistatyonin seviyesindeki anlamlı artış oksidatif stres göstergesi olarak değerlendirilebilir. Oksidatif stres durumlarında homosistein-metiyonin dönüşümü yerine homosisteinin transsülfürasyon ile sistatyonine dönüşür. Bu adaptasyondaki temel amaç ise glutatyon üretimi için gerekli olan sistein üretimini sağlayabilmektir (217).

Histamin, histidin amino asidinin dekarboksilasyonu sonucu elde edilir ve nörotransmitter olarak görev alır. Histidin konsantrasyonunun artışı histamin üretimini artırır ve bunun sonucunda besin alımının baskılandığı kemirgenler üzerinde yapılan araştırmalarda gösterilmiştir (218,219). BGE ratlarının histidin amino asit konsantrasyonlarının yüksek olması yem tüketiminin KE ratlara göre daha az olmasını açıklayabilir.

Alerjik reaksiyonlarda allerjenlerin mukozal bariyeri aşıp mast hücreleri ve bazofillere bağlı IgE antikorlarına ulaştıklarında prostoglandin ve lökotrien gibi mediyatörlerin yanında histaminde salgılanmaktadır (220). Ayrıca akyuvar infiltrasyonunu kolaylaştırmak için kılcal damar geçirgenliğini ve yabancı antijen fagositozunu artırır. Bu özelliklerinin yanında histamin nörotransmitter olarak sinir sisteminde rol oynamaktadır (125,126). BGD ratların histidin amino asit konsantrasyonunun KD ratlara göre az olması histaminin metabolizma üzerindeki etkilerinin aksamasına neden olabilir.

Ayrıca histidin amino asidinden sentezlenen karnozin eşlenmemiş elektrona sahip hem reaktif oksijen hem de nitrojeni temizleyerek antioksidan özellik göstermektedir. Karnozin ön ögesi histidin amino asit konsantrasyonunun az olması karnozin sentezinde azalmaya neden olarak BGD ratlarda antioksidan sistemde bozulmalara yol açabilir (221).

Lizin konsantrasyonu ele alındığında ise lizin amino asidi BGE ratlarda KE ratlardan düşük iken BGD ratlarda KD ratlardan yüksek olduğu bulunmuştur. Lizin konsantrasyonunda ki düşüklük BGE ratların KE ratlara göre vücut ağırlığının daha az olmasını açıklamaya yardımcı olabilmektedir. Lizin yetersizliğinin büyüme ve gelişme geriliğine neden olduğu çalışmalarda ifade edilmiştir (187,222). Lizin türevi olan trimetillizin uzun zincirli yağ asit taşıyıcısı olan karnitin sentezinde kullanılmasıyla lizin seviyesindeki düşüklük karnitin seviyesini de olumsuz etkileyebilir (125,126).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

6.1. Sonuçlar

Fetal ve emziklilik döneminde düşük kaliteli protein diyetine maruz kalan ratların emziklilik sonrası büyüme ve gelişimleri ve yetişkinlik dönemindeki plazma amino asit profiline olan etkisinin araştırıldığı bu araştırmadan aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

- Çalışma başlangıcı (emziklilik sonu) vücut ağırlığı bakımından K ve BG grupları arasında herhangi bir fark yoktur ($p>0.05$).
- Çalışma sonu vücut ağırlığı BGE ratların vücut ağırlığı KE ratların vücut ağırlığından daha az iken BGD ratların vücut ağırlığı KD ratların vücut ağırlığından daha fazla olması anlamlılık eğilimi göstermiştir ($p<0.1$).
- Çalışma sonu erkek ratların vücut ağırlığı dişi ratlardan daha fazla bulunmuştur ($p<0.001$).
- Vücut ağırlığı artış miktarı ve vücut ağırlığının yüzde cinsinden kazanımında gruplar arasında bir farklılık olmadığı görülmüştür ($p>0.05$).
- Vücut ağırlığı artış miktarı ve vücut ağırlığının yüzde cinsinden kazanımında erkek ratların daha fazla ağırlık artışı ve ağırlık kazanımı (%) olduğu saptanmıştır ($p<0.001$).
- Vücut ağırlık artışında BGE ratlar KE ratlardan daha az, BGD ratlar KD ratlardan daha fazla ağırlık kazanımı anlamlılık eğilimi göstermiştir ($p<0.1$).
- Çalışma sürecinde takip edilen vücut ağırlıklarının ortalaması BG grubunda K grubuna kıyasla anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p<0.001$).
- Çalışma süreci takibinden elde edilen BGE ratların vücut ağırlığı KE ratlardan daha az iken BGD ratların vücut ağırlığı KD ratlardan daha fazladır ($p<0.001$).
- BG grubunun vücut ağırlığı kazanımındaki spesifik hız K grubuna göre daha az olması anlamlılık eğilimi göstermiştir ($p<0.1$).
- Vücut ağırlık kazanımında haftanın etkisinin önemli olduğu görülmüştür ($p<0.05$).
- Lee İndeks değerleri açısından gruplar arasında herhangi bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

- Grupların tükettikleri yem miktarları açısından herhangi bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$).
- Erkek ratlar dişi ratlara göre daha fazla yem tüketmiştir ($p<0.001$).
- Haftanın yem tüketimi üzerinde etkisi önemli bulunmuştur ($p<0.001$).
- BGE ratlar KE ratlardan daha az yem tüketirken BGD ratlar KD ratlardan daha fazla yem tüketmiştir ($p<0.001$).
- Enerji alımı ve makro besin ögesi alımı açısından gruplar arasında herhangi bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$).
- Erkek ratlar dişi ratlara göre daha fazla enerji (kkal), karbonhidrat (g), protein (g) ve yağ (g) almışlardır ($p<0.001$).
- BGE ratlar KE ratlara göre daha az enerji ve makro besin ögesi alırken BGD ratlar KD ratlardan daha fazla almıştır ($p<0.001$).
- Günlük enerji ve makro besin ögesi alımı vücut ağırlığı başına göre değerlendirildiğinde maternal diyet - cinsiyet ve cinsiyet - hafta etkileşimi ortadan kalkmıştır ($p>0.05$).
- Gruplar organ ağırlıkları ve yağ dokuları açısından karşılaştırıldığında karaciğer, sağ ve sol böbrek, perirenal ve gonadal yağ dokusu bakımından bir fark görülmemiştir ($p>0.05$).
- Erkek ratların organ ve yağ doku ağırlıkları dişi ratlara göre daha fazladır ($p<0.001$).
- BGE ratların karaciğer ağırlığı KE ratlardan daha az olması ve BGD ratların KD ratlardan daha fazla olması anlamlılık eğilimine neden olmuştur ($p<0.1$).
- BGE ratların gonadal yağ doku ağırlığı KE ratlardan daha fazla iken BGD ratların gonadal yağ doku ağırlığı KD ratlardan daha azdır ($p<0.05$).
- Organ ve yağ doku ağırlıkları vücut ağırlığına göre değerlendirildiğinde karaciğer ağırlığı üzerindeki farklılık artık görülmezken gonadal yağ doku ağırlığı üzerindeki etkinin devam ettiği saptanmıştır ($p<0.05$).
- Plazma amino asit profiline bakıldığında BG grubunun glutamin ve hidroksiprolin seviyeleri daha az iken triptofan seviyesinin K grubuna göre fazla olması anlamlılık eğilimi göstermiştir ($p<0.1$).

- Erkek ratlarda alanin, aspartik asit, glisin, glisin-prolin, hidroksilizin, hidroksiprolin daha fazla iken triptofan da dişi ratlarda daha fazla bulunmuştur ($p<0.05$).
- Erkek ratlarda asparajin ve β -aminoizobütirik asit konsantrasyonları dişi ratlardan daha fazla bulunurken, dişi ratlarda da teronin amino asit konsantrasyonunun fazla bulunması anlamlılık eğilimi göstermiştir ($p<0.1$).
- BGE ratlarda fenilalanin, glutamik asit, histidin ve tirozin amino asitleri KE ratlara kıyasla daha fazla iken BGD ratlarda KD ratlara göre anlamlı düzeyde daha az olduğu bulunmuştur ($p<0.05$).
- BGE ratlarda aspartik asit ve sistatyonin amino asitleri KE ratlardan daha fazla iken BGD ratlarda daha az bulunmuştur ($p<0.001$).
- BGE ratlarda lizin amino asidi KE ratlardan daha az iken BGD ratlarda KD ratlardan daha fazladır ($p<0.05$).
- Glutamin konsantrasyonu ise BGE ve BGD ratlarda KE ve KD ratlara göre daha düşük bulunarak anlamlılık eğilimi gösterdiği bulunmuştur ($p<0.1$).
- Toplam elzem olmayan amino asit, elzem amino asit, dallı zincirli, kükürtlü ve aromatik amino asit plazma konsantrasyonu açısından değerlendirildiğinde sadece aromatik amino asit konsantrasyonun BG grubunda fazla olması ile anlamlılık eğilimine neden olduğu bulunmuştur ($p<0.1$).
- Erkek ratlarda elzem olmayan amino asit konsantrasyonunun dişilerden daha fazla olduğu saptanmıştır ($p<0.01$).
- BGE ratlarda KE ratlara göre elzem olmayan amino asit konsantrasyonu daha fazla iken BGD ratlarda KD ratlara göre daha azdır ($p<0.1$).
- Bu alışma ile gebelik ve emziliklik döneminde maruz kalınan protein kalitesinin yetişkinlik dönemindeki plazma amino asit profilini etkilediği gösterilmiştir.

6.2. Öneriler

Fetal dönem ve emzicilik döneminde düşük kaliteli proteine olan maruziyetin yetişkinlik dönemine olan etkilerinin araştırıldığı bu araştırmadan çıkan sonuçlar doğrultusunda aşağıdaki öneriler verilebilir:

- Gebelik ve emzicilik döneminde günlük tüketilen protein miktarının yanında protein kalitesi de göz önünde bulundurulmalıdır.
- Gebelik ve emzicilik döneminde diyetin protein örüntüsü hayvansal ve bitkisel protein açısından yeterli ve dengeli olmalıdır.
- Gebe ve emzikli annelere verilen beslenme eğitiminde protein kalitesi ve öneminden bahsedilmeli ve protein kalitesi yüksek besinler vurgulanmalıdır.
- Protein kalitesi düşük besinlerin protein kalitesini artırmaya yönelik pratik beslenme eğitimleri verilebilir.
- Vejetaryen, vegan yada sosyo-ekonomik düzeyi düşük gebeler elzem amino asit eksikliğini giderebilmek için protein tüketimlerini artırmalıdır.
- Protein kaynaklarının çok büyük bir kısmı tahıla dayalı olan ülkelerde buğday unu gibi bazı besinlerin sınırlı amino asit açısından zenginleştirilebilir.
- Ulusal ve uluslararası beslenme rehberlerinde özellikle gebe ve emzikli bireyler için protein gereksinimleri, protein kalitesi de belirtilerek verilebilir.
- Bazı ülkelerde hem tüketilen protein miktarının hem de tüketilen protein kalitesinin düşük olması nedeniyle protein kalitesi düşük-sınırlı proteinin etkisi de merak konusudur.
- Fetal programlamadaki bazı kronik hastalıkların yetişkinlik döneminin farklı evrelerinde ortaya çıkabildiği için daha uzun süreli hayvan model çalışmalarına ihtiyaç vardır.
- Yüksek ya da düşük kaliteli protein diyetlerin yanında farklı protein kalitesine sahip diyetlerin etkileri de merak konusudur.
- Protein kalitesinin fetal programlama ile olan ilişkisini irdeleyen çok fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Bu konudaki çalışma sayısı artırılmalıdır.

KAYNAKLAR

- 1.Lumey, L.H., Ravelli, A.C.J., Wiessing, L.G., Koppe, J.G., Treffers, P.E.,Stein, Z.A. (1993) The Dutch famine birth cohort study design, validation of exposure and selected chracteristics of subjects after 43 years follow-up. *Pediatric and Perinatal Epidemiology*, 7, 354-367.
- 2.Gambling, L., Dunford, S., Wallace, D.I., Zuur, G., Solanky, N., Srai, S.K. ve diğlerleri. (2003) Iron deficiency during pregnancy affects postnatal blood pressure in the rat. *Journal of Physiology*, 552 (Pt 2), 603-610.
- 3.Bennis-Taleb, N., Remacle, C., Hoet, J.J.,Reusens, B. (1999) A low-protein isocaloric diet during gestation affects brain development and alters permanently cerebral cortex blood vessels in rat offspring. *The Journal of Nutrition*, 129 (8), 1613-1619.
- 4.Wu, G., Bazer, F.W., Cudd, T.A., Meininger, C.J.,Spencer, T.E. (2004) Maternal nutrition and fetal development. *The Journal of Nutrition*, 134 (9), 2169-2172.
- 5.Brooks, A., Johnson, M., Steer, P., Pawson, M.,Abdalla, H. (1995) Birth weight: nature or nurture? *Early Human Development*, 42 (1), 29-35.
- 6.Barker, D.J.P. (2007) The origins of the developmental origins theory. *Journal of Internal Medicine*, 261 (5), 412-417.
- 7.Godfrey, K.M.,Barker, D.J.P. (2001) Fetal Programming and Adult Health. *Public Health Nutrition*, 4 (2B), 611-624.
- 8.Calkins, K.,Devaskar, S.U. (2011) Fetal Origins of Adult Disease. *Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care*, 41 (6), 158-176.
- 9.Langley-Evans, S.C. (2006) Developmental programming of health and disease. *Proceedings of the Nutrition Society*, 65 (1), 97-105.
- 10.Liang, C., Oest, M.E.,Prater, M.R. (2009) Intrauterine exposure to high saturated fat diet elevates risk of adult-onset chronic diseases in C57BL/6 mice. *Birth Defects Research Part B: Developmental and Reproductive Toxicology*, 86 (5), 377-384.
- 11.Sedova, L., Seda, O., Kazdova, L., Chylikova, B., Hamet, P., Tremblay, J. ve diğlerleri. (2007) Sucrose feeding during pregnancy and lactation elicits distinct metabolic response in offspring of an inbred genetic model of

- metabolic syndrome. *AJP: Endocrinology and Metabolism*, 292 (5), E1318-E1324.
12. Alzamendi, A., Castrogiovanni, D., Gaillard, R.C., Spinedi, E., Giovambattista, A. (2010) Increased male offspring's risk of metabolic-neuroendocrine dysfunction and overweight after fructose-rich diet intake by the lactating mother. *Endocrinology*, 151 (9), 4214-4223.
 13. Kind, K.L., Clifton, P.M., Grant, P.A., Owens, P.C., Sohlstrom, A., Roberts, C.T. ve diğeri. (2003) Effect of maternal feed restriction during pregnancy on glucose tolerance in the adult guinea pig. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 284 (1), R140-R152.
 14. Bourque, S.L., Komolova, M., Nakatsu, K., Adams, M.A. (2008) Long-term circulatory consequences of perinatal iron deficiency in male Wistar rats. *Hypertension*, 51 (1), 154-159.
 15. Tomat, A., Elesgaray, R., Zago, V., Fasoli, H., Fellet, A., Balaszczuk, A.M. ve diğeri. (2010) Exposure to zinc deficiency in fetal and postnatal life determines nitric oxide system activity and arterial blood pressure levels in adult rats. *British Journal of Nutrition*, 104 (03), 382-389.
 16. Petrik, J., Reusens, B., Arany, E., Remacle, C., Coelho, C., Hoet, J.J. ve diğeri. (1999) A Low Protein Diet Alters the Balance of Islet Cell Replication and Apoptosis in the Fetal and Neonatal Rat and Is Associated. *Endocrinology*, 140 (10), 4861-4873.
 17. 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 Sciences*, 64 (11), 965-974.
 18. Cherif, H., Reusens, B., Dahri, S., Remacle, C. (2001) A Protein-Restricted Diet During Pregnancy Alters in Vitro Insulin Secretion from Islets to Wistar Rats. *The Journal of Nutrition*, 131 (5), 1555-1559.
 19. Langley-Evans, S.C., Phillips, G.J., Benediktsson, R., Gardner, D.S., Erdwards, C.R.W., 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.

20. Bellinger, L., Lilley, C., Langley-Evans, S.C. (2007) Prenatal exposure to a maternal low-protein diet programmes a preference for high-fat foods in the young adult rat. *British Journal of Nutrition*, 92 (03), 513.
21. Young, V.R., Pellett, P.L. (1994) Plant proteins in relation to human protein and amino acid nutrition. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 59 (5), 1203S-1212S.
22. Baysal, A. (2012). Proteinler. A. Baysal (Ed.). Beslenme (s. 53-74). Ankara: Hatipoğlu Baskı ve Yayımlar San. Tic. Ltd. Şti.
23. Lin, G., Wang, X., Wu, G., Feng, C., Zhou, H., Li, D. ve diğerleri. (2014) Improving amino acid nutrition to prevent intrauterine growth restriction in mammals. *Amino Acids*, 46 (7), 1605-1623.
24. Wu, G., Pond, W.G., Ott, T., Bazer, F.W. (1998) Maternal dietary protein deficiency decreases amino acid concentrations in fetal plasma and allantoic fluid of pigs. *The Journal of Nutrition*, 128 (5), 894-902.
25. Barker, D.J.P., Eriksson, J.G., Forsen, T., Osmond, C. (2002) Fetal origins of adult disease: strength of effects and biological basis. *International Journal of Epidemiology*, 31 (6), 1235-1239.
26. Stanner, S.A., Bulmer, K., Andres, C., Lantseva, O.E., Borodina, V., Poteen, V.V. ve diğerleri. (1997) Does malnutrition in utero determine diabetes and coronary heart disease in adulthood? Results from the Leningrad siege study, a cross sectional study. *British Medical Journal*, 315, 1342-1349.
27. Resnik, R. (2002) Intrauterine Growth Restriction. *Obstetrics & Gynecology*, 99 (3), 490-496.
28. Suhag, A., Berghella, V. (2013) Intrauterine Growth Restriction (IUGR): Etiology and Diagnosis. *Current Obstetrics and Gynecology Reports*, 2 (2), 102-111.
29. Hendrix, N., Berghella, V. (2008) Non-placental causes of intrauterine growth restriction. *Seminars in Perinatology*, 32 (3), 161-165.
30. Lucas, A. (1994) Role of nutritional programming in determining adult morbidity. *Archives of Disease in Childhood*, 71 (4), 288-290.
31. Barker, D.J.P., Osmond, C. (1986) Infant Mortality, Childhood Nutrition, and Ischaemic Heart Disease in England and Wales. *The Lancet*, 327 (8489), 1077-1081.

32. Godfrey, K.M., Barker, D.J. (2000) Fetal nutrition and adult disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 71 (5), 1344S-1352S.
33. 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.
34. Nicholas, C., Barker, D. (2001) The thrifty phenotype hypothesis. *British Medical Bulletin*, 60 (1), 5-20.
35. Hales, C., Barker, D. (2013) Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. *International Journal of Epidemiology*, 42 (5), 1215-1222.
36. Gluckman, P.D., Hanson, M.A., Spencer, H.G. (2005) Predictive adaptive responses and human evolution. *Trends in Ecology & Evolution*, 20 (10), 527-533.
37. Wells, J.C. (2012) A critical appraisal of the predictive adaptive response hypothesis. *International Journal of Epidemiology*, 41 (1), 229-235.
38. Fowden, A.L. (1992) The role of insulin in fetal growth. *Early Human Development*, 29 (1-3), 177-181.
39. Hattersley, A.T., Tooke, J.E. (1999) The fetal insulin hypothesis: an alternative explanation of the association of low birth weight with diabetes and vascular disease. *The Lancet*, 353 (9166), 1789-1792.
40. Hattersley, A.T., Beards, F., Ballantyne, E., Appleton, M., Harvey, R., Ellard, S. (1998) Mutations in the glucokinase gene of the fetus result in reduced birth weight. *Nature Genetics*, 19 (3), 268-270.
41. Kermack, W., McKendrick, A., McKinlay, P. (1934) Death-rates in Great Britain and Sweden: Expression of Specific Mortality Rates As Products of Two Factors, And Some Consequences Thereof. *Journal of Hygiene*, 34 (04), 433-457.
42. Kermack, W., McKendrick, A., McKinlay, P. (2001) Death-rates in Great Britain and Sweden. Some general regularities and their significance. *International Journal of Epidemiology*, 30, 678-683.

43. Forshdahl, A. (1977) Are poor living conditions in childhood and adolescence an important risk factor for arteriosclerotic heart disease?. *British Journal of Preventive and Social Medicine*, 31, 91-95.
44. 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. *British Medical Journal*, 291, 1534-1538.
45. Barker, D.J.P., Osmond, C. (1986) Infant mortality childhood nutrition and ischaemic heart disease in England and Wales. *The Lancet*, 327 (8489), 1077-1081.
46. Osmond, C., Barker, D.J.P., Winter, P.D., Fall, C.H.D., Simmonds, S.J. (1993) Early Growth and Death from Cardiovascular Disease in Women. *British Medical Journal* 307 (6918), 1519-1524.
47. Painter, R.C., Roseboom, T.J., Bleker, O.P. (2005) Prenatal exposure to the Dutch famine and disease in later life: an overview. *Reproductive Toxicology*, 20 (3), 345-352.
48. Roseboom, T., de Rooij, S., Painter, R. (2006) The Dutch famine and its long-term consequences for adult health. *Early Human Development*, 82 (8), 485-491.
49. Ravelli, A.C., van der Meulen, J.H., Michels, R., Osmond, C., Barker, D.J., Hales, C. ve diğ erleri. (1998) Glucose tolerance in adults after prenatal exposure to famine. *The Lancet*, 351 (9097), 173-177.
50. Banning, C. (1946) Food shortage and public health, first half of 1945. *The ANNALS of the American Academy of Political and Social Science*, 93-110.
51. Ravelli, A.C.J., van der Meulen, J.H.P., Michels, R.P.J., Osmond, C., Barker, D.J.P., Hales, C.N. ve diğ erleri. (1998) Glucose tolerance in adults after prenatal exposure to famine. *The Lancet*, 351 (9097), 173-177.
52. Ravelli, A.C.J., van der Meulen, J.H., Barker, D.J., Bleker, O.P. (1999) Obesity at the age of 50 y in men and women exposed to famine prenatally. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 70 (5), 811-816.
53. Stanner, S.A., Bulmer, K., Andres, C., Lantseva, O.E., Borodina, V., Poteen, V.V. ve diğ erleri. (1997) Does malnutrition in utero determine diabetes and

- coronary heart disease in adulthood? Results from the Leningrad siege study, a cross sectional study. *British Medical Journal*, 315 (7119), 1342-1348.
54. Rotar, O., Moguchaia, E., Boyarinova, M., Kolesova, E., Khromova, N., Freylikhman, O. ve diğerleri. (2015) Seventy years after the siege of Leningrad. *Journal of Hypertension*, 33 (9), 1772-1779.
55. Kannisto, V., Christensen, K., Vaupel, J.W. (1997) No increased Mortality in Later Life for Cohorts Born during Famine. *American Journal of Epidemiology*, 145 (11), 987-994.
56. Fall, C.H.D., Vijayakumar, M., Barker, D.J.P., Osmond, C., Duggleby, S. (1995) Weight in infancy and prevalence of coronary heart disease in adult life. *British Medical Journal*, 310 (6971), 17-20.
57. Forsen, T., Eriksson, J.G., Tuomilehto, J., Osmond, C., Barker, D.J. (1999) Growth in utero and during childhood among women who develop coronary heart disease: longitudinal study. *British Medical Journal*, 319 (7222), 1403-1407.
58. Hales, C.N., Barker, D.J., Clark, P.M., Cox, L.J., Fall, C., Osmond, C. ve diğerleri. (1991) Fetal and infant growth and impaired glucose tolerance at age 64. *British Medical Journal*, 303 (6809), 1019-1022.
59. Stein, A. (2004). Birthweight and the Development of Overweight and Obesity S. C. Langley-Evans (Ed.). *Fetal Nutrition and Adult Disease: Programming of Chronic Disease through Fetal Exposure to Undernutrition* (1st bs., s. 195-210). Wallingford, Oxfordshire: CABI
60. Barker, D.J., Osmond, C., Winter, P.D., Margetts, B., Simmonds, S.J. (1989) Weight in infancy and death from ischaemic heart disease. *The Lancet*, 334 (8663), 577-580.
61. Barker, D.J., Godfrey, K.M., Fall, C., Osmond, C., Winter, P.D., Shaheen, S.O. (1991) Relation of birth weight and childhood respiratory infection to adult lung function and death from chronic obstructive airways disease. *British Medical Journal*, 303 (6804), 671-675.
62. Joseph, K.S., Kramer, M.S. (1996) Review of the evidence on fetal and early childhood antecedents of adult chronic disease. *Epidemiologic Reviews*, 18 (2), 158-174.

63. Gliksman, M.D., Kawachi, I., Hunter, D., Colditz, G.A., Manson, J.E., Stampfer, M.J. ve diğeri. (1995) Childhood socioeconomic status and risk of cardiovascular disease in middle aged US women: a prospective study. *Journal of Epidemiology and Community Health*, 49 (1), 10-15.
64. Barker, D.J., Martyn, C.N., Osmond, C., Hales, C.N., Fall, C.H. (1993) Growth in utero and serum cholesterol concentrations in adult life. *British Medical Journal*, 307 (6918), 1524-1527.
65. Barker, D.J., Meade, T.W., Fall, C.H., Lee, A., Osmond, C., Phipps, K. ve diğeri. (1992) Relation of fetal and infant growth to plasma fibrinogen and factor VII concentrations in adult life. *British Medical Journal*, 304 (6820), 148-152.
66. McMullen, S., Mostyn, A. (2009) Animal models for the study of the developmental origins of health and disease. *Proceedings of the Nutrition Society*, 68 (3), 306-320.
67. Symonds, M.E., Budge, H. (2009) Nutritional models of the developmental programming of adult health and disease. *Proceedings of the Nutrition Society*, 68 (02), 173.
68. Langley-Evans, S.C. (2004). Experimental models of hypertension and cardiovascular disease. S. C. Langley-Evans (Ed.). *Fetal Nutrition and Adult Disease: Programming of Chronic Disease through Fetal Exposure to Undernutrition* (s. 129-156). Wallingford, Oxfordshire: CABI
69. Kiani, A., Olaf Nielsen, M. (2012) Metabolic Programming: Origin of Non-Communicable Diseases in Early Life Nutrition. *International Journal of Endocrinology & Metabolism*, 9 (3), 409-415.
70. Benevenga, N.J., Calvert, C., Eckhert, C.D., Fahey, G.C., Greger, J.L., Keen, C. ve diğeri. (1995). Nutrient Requirements of the Laboratory Rat. Nutrient Requirements of Laboratory Animals. (s. 11-58). Washington, D.C.: The National Academies Press
71. Clarke, H., Coates, M., Eva, J., Ford, D., Milner, C., O'donoghue, P. ve diğeri. (1977) Dietary standards for laboratory animals: report of the Laboratory Animals Centre Diets Advisory Committee. *Laboratory Animals*, 11 (1), 1-28.

72. Aihie Sayer, A., Dunn, R., Langley-Evans, S., Cooper, C. (2001) Prenatal exposure to a maternal low protein diet shortens life span in rats. *Gerontology*, 47 (1), 9-14.
73. Jennings, B., Ozanne, S., Dorling, M., Hales, C. (1999) Early growth determines longevity in male rats and may be related to telomere shortening in the kidney. *FEBS Letters*, 448 (1), 4-8.
74. Burdge, G.C., Slater-Jefferies, J., Torrens, C., Phillips, E.S., Hanson, M.A., Lillycrop, K.A. (2007) Dietary protein restriction of pregnant rats in the F0 generation induces altered methylation of hepatic gene promoters in the adult male offspring in the F1 and F2 generations. *British Journal of Nutrition*, 97 (3), 435-439.
75. Benyshek, D.C., Johnston, C.S., Martin, J.F. (2006) Glucose metabolism is altered in the adequately-nourished grand-offspring (F3 generation) of rats malnourished during gestation and perinatal life. *Diabetologia*, 49 (5), 1117-1119.
76. Delisle, H. (2002) Programming of chronic disease by impaired fetal nutrition. *Evidence and implications for policy and intervention strategies*. Suiza: World Health Organization.
77. Langley-Evans, S., Gardner, D., Jackson, A. (1996) Association of disproportionate growth of fetal rats in late gestation with raised systolic blood pressure in later life. *Journal of Reproduction and Fertility*, 106 (2), 307-312.
78. Sherman, R.C., Langley-Evans, S.C. (1998) Early administration of angiotensin-converting enzyme inhibitor captopril, prevents the development of hypertension programmed by intrauterine exposure to a maternal low-protein diet in the rat. *Clinical Science*, 94 (4), 373-382.
79. Langley, S.C., Jackson, A.A. (1994) Increased systolic blood pressure in adult rats induced by fetal exposure to maternal low protein diets. *Clinical Science*, 86 (2), 217-222.
80. Mackenzie, H.S., Brenner, B.M. (1995) Fewer nephrons at birth: a missing link in the etiology of essential hypertension? *American Journal Of Kidney*

Diseases: The Official Journal Of The National Kidney Foundation, 26 (1), 91-98.

81. Langley-Evans, S.C. (2009) Nutritional programming of disease: unravelling the mechanism. *Journal of Anatomy*, 215 (1), 36-51.
82. Langley-Evans, S.C., Gardner, D.S., Jackson, A.A. (1996) Maternal protein restriction influences the programming of the rat hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *The Journal of Nutrition*, 126 (6), 1578.
83. Langley-Evans, S., Sherman, R., Welham, S., Nwagwu, M., Gardner, D., Jackson, A. (1999) Intrauterine programming of hypertension: the role of the renin-angiotensin system. *Biochemical Society Transactions*, 27 (2), 88-93.
84. Sherman, R.C., Langley-Evans, S.C. (2000) Antihypertensive treatment in early postnatal life modulates prenatal dietary influences upon blood pressure in the rat. *Clinical Science*, 98 (3), 269-275.
85. Bertin, E., Gangnerau, M.-N., Bailbé, D., Portha, B. (1999) Glucose metabolism and β -cell mass in adult offspring of rats protein and/or energy restricted during the last week of pregnancy. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*, 277 (1), E11-E17.
86. Burns, S.P., Desai, M., Cohen, R.D., Hales, C.N., Iles, R.A., Germain, J.P. ve diğ erleri. (1997) Gluconeogenesis, glucose handling, and structural changes in livers of the adult offspring of rats partially deprived of protein during pregnancy and lactation. *Journal of Clinical Investigation*, 100 (7), 1768.
87. Kind, K.L., Simonetta, G., Clifton, P.M., Robinson, J.S., Owens, J.A. (2002) Effect of maternal feed restriction on blood pressure in the adult guinea pig. *Experimental Physiology*, 87 (04), 469-477.
88. Lesage, J., Blondeau, B., Grino, M., Breant, B., Dupouy, J.P. (2001) Maternal Undernutrition during Late Gestation Induces Fetal Overexposure to Glucocorticoids and Intrauterine Growth Retardation, and Disturbs the Hypothalamo-Pituitary Adrenal Axis in the Newborn Rat. *Endocrinology*, 142 (5), 1692-1702.
89. 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. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*, 279 (1), E83-E87.
- 90.Kind, K.L. (2004) Chronic maternal feed restriction impairs growth but increases adiposity of the fetal guinea pig. *AJP: Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 288 (1), R119-R126.
- 91.Hawkins, P., Steyn, C., McGarrigle, H.H., Saito, T., Ozaki, T., Stratford, L.L. ve diğ erleri. (2000) Effect of maternal nutrient restriction in early gestation on responses of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis to acute isocapnic hypoxaemia in late gestation fetal sheep. *Experimental Physiology* 85 (01), 85-96.
- 92.Borwick, S.C., Rae, M.T., Brooks, J., McNeilly, A.S., Racey, P.A.,Rhind, S.M. (2003) Undernutrition of ewe lambs in utero and in early post-natal life does not affect hypothalamic-pituitary function in adulthood. *Animal Reproduction Science*, 77 (1-2), 61-70.
- 93.Palou, M., Priego, T., Sanchez, J., Palou, A.,Pico, C. (2010) Sexual dimorphism in the lasting effects of moderate caloric restriction during gestation on energy homeostasis in rats is related with fetal programming of insulin and leptin resistance. *Nutrition Metabolism*, 7, 69.
- 94.Gallaher, B.W., Breier, B.H., Keven, C.L., Harding, J.E.,Gluckman, P.D. (1998) Fetal programming of insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF-binding protein-3: evidence for an altered response to undernutrition in late gestation following exposure to periconceptual undernutrition in the sheep. *Journal of Endocrinology*, 159 (3), 501-508.
- 95.Lisle, S.J.M., Lewis, R.M., Petry, C.J., Ozanne, S.E., Hales, C.N.,Forhead, A.J. (2007) Effect of maternal iron restriction during pregnancy on renal morphology in the adult rat offspring. *British Journal of Nutrition*, 90 (01), 33.
- 96.Lewis, R.M., Petry, C.J., Ozanne, S.E.,Hales, C.N. (2001) Effects of maternal iron restriction in the rat on blood pressure, glucose tolerance, and serum lipids in the 3-month-old offspring. *Metabolism*, 50 (5), 562-567.

- 97.Lewis, R.M., Forhead, A.J., Petry, C.J., Ozanne, S.E.,Hales, C.N. (2002) Long-term programming of blood pressure by maternal dietary iron restriction in the rat. *British Journal of Nutrition*, 88 (3), 283-290.
- 98.Komolova, M., Bourque, S.L., Nakatsu, K.,Adams, M.A. (2008) Sedentariness and increased visceral adiposity in adult perinatally iron-deficient rats. *International Journal of Obesity*, 32 (9), 1441-1444.
- 99.Shah, D.,Sachdev, H.P.S. (2006) Zinc Deficiency in Pregnancy and Fetal Outcome. *Nutrition Reviews*, 64 (1), 15-30.
- 100.Venu, L., Harishankar, N., Krishna, T.P.,Raghunath, M. (2004) Does maternal dietary mineral restriction per se predispose the offspring to insulin resistance? *European Journal of Endocrinology*, 151 (2), 287-294.
- 101.Padmavathi, I.J.N., Kishore, Y.D., Venu, L., Ganeshan, M., Harishankar, N., Giridharan, N.V. ve diğerleri. (2009) Prenatal and perinatal zinc restriction: effects on body composition, glucose tolerance and insulin response in rat offspring. *Experimental Physiology*, 94 (6), 761-769.
- 102.Tomat, A.L., Inserra, F., Veiras, L., Vallone, M.C., Balaszczuk, A.M., Costa, M.A. ve diğerleri. (2008) Moderate zinc restriction during fetal and postnatal growth of rats: effects on adult arterial blood pressure and kidney. *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 295 (2), R543-549.
- 103.Hanna, L.A., Clegg, M.S., Ellis-Hutchings, R.G., Niles, B.J.,Keen, C.L. (2010) The influence of gestational zinc deficiency on the fetal insulin-like growth factor axis in the rat. *Experimental Biology and Medicine*, 235 (2), 206-214.
- 104.Sullivan, E.L., Smith, M.S.,Grove, K.L. (2011) Perinatal Exposure to High-Fat Diet Programs Energy Balance, Metabolism and Behavior in Adulthood. *Neuroendocrinology*, 93 (1), 1-8.
- 105.Guo, F.,Jen, K.L.C. (1995) High-Fat Feeding During Pregnancy and Lactation. *Physiology & Behavior*, 57 (4), 681-686.
- 106.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. *The Journal of Physiology*, 567 (3), 951-961.

107. McCurdy, C.E., Bishop, J.M., Williams, S.M., Grayson, B.E., Smith, M.S., Friedman, J.E. ve diğerleri. (2009) Maternal high-fat diet triggers lipotoxicity in the fetal livers of nonhuman primates. *Journal of Clinical Investigation*, 119 (2), 323-335.
108. D'Alessandro, M.E., Oliva, M.E., Ferreira, M.R., Selenscig, D., Lombardo, Y.B., Chicco, A. (2012) Sucrose-rich feeding during rat pregnancy-lactation and/or after weaning alters glucose and lipid metabolism in adult offspring. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 39 (7), 623-629.
109. Oliveros, L., Callegari, E., Giménez, M.S. (2015) Effect of Sucrose Feeding on Glucose Tolerance and their Relationship with Lipid Metabolism in Maternal and Fetal Livers in Rat. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 105 (7), 640-644.
110. D'Alessandro, M.E., Oliva, M.E., Fortino, M.A., Chicco, A. (2014) Maternal sucrose-rich diet and fetal programming: changes in hepatic lipogenic and oxidative enzymes and glucose homeostasis in adult offspring. *Food & Function*, 5 (3), 446.
111. Chen, C.Y., Crott, J., Liu, Z., Smith, D.E. (2010) Fructose and saturated fats predispose hyperinsulinemia in lean male rat offspring. *European Journal of Nutrition*, 49 (6), 337-343.
112. Li, M., Reynolds, C.M., Sloboda, D.M., Gray, C., Vickers, M.H. (2015) Maternal taurine supplementation attenuates maternal fructose-induced metabolic and inflammatory dysregulation and partially reverses adverse metabolic programming in offspring. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 26 (3), 267-276.
113. Mutlu, A.A. (2015) Epigenetik: Fetal Beslenme ve Erişkin Çağı Hastalıkları. *Türkiye Klinikleri Journal of Nutrition and Dietetics-Special Topics*, 1 (1), 15-19.
114. Simmons, R.A. (2007) Developmental origins of diabetes: the role of epigenetic mechanisms. *Current Opinion In Endocrinology, Diabetes, And Obesity*, 14 (1), 13-16.
115. Chen, M., Zhang, L. (2011) Epigenetic mechanisms in developmental programming of adult disease. *Drug Discovery Today*, 16 (23), 1007-1018.

- 116.İzmirli, M. (2013) Epigenetik Mekanizmalar ve Kanser Tedavisinde Epigenetik Yaklaşımlar. *Van Tıp Dergisi*, 20 (1), 48-51.
- 117.Chen, M.,Zhang, L. (2011) Epigenetic mechanisms in developmental programming of adult disease. *Drug Discovery Today*, 16 (23-24), 1007-1018.
- 118.Lillycrop, K.A., Phillips, E.S., Jackson, A.A., Hanson, M.A.,Burdge, G.C. (2005) Dietary protein restriction of pregnant rats induces and folic acid supplementation prevents epigenetic modification of hepatic gene expression in the offspring. *The Journal of Nutrition*, 135 (6), 1382-1386.
- 119.McMullen, S.,Langley-Evans, S.C. (2005) Maternal low-protein diet in rat pregnancy programs blood pressure through sex-specific mechanisms. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 288 (1), R85-R90.
- 120.Vehaskari, V.M., Aviles, D.H.,Manning, J. (2001) Prenatal programming of adult hypertension in the rat. *Kidney International*, 59 (1), 238-245.
- 121.Guyton, C.A.,Hall, E.J. (2007). Böbreküstü Bezi Korteks Hormonları Ç. H. & Y. Berrek (Ed.). Tıbbi Fizyoloji (s. 944-959). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri
- 122.Edwards, C.R.W.,Benediktsson, R. (1993) Dysfunction of placental glucocorticoid barrier: Link between fetal environment and adult. *Lancet*, 341 (8841), 355.
- 123.Champe, P.C., Harvey, R.A.,Ferrier, D.R. (2007). Amino Asitler. (E. Ulukaya, Çev.). Biyokimya (3. bs., s. 1-12): Nobel Tıp Kitabevleri
- 124.Aksoy, M. (2000). Proteinler. Beslenme Biyokimyası (s. 195-261). Ankara: Hatipoğlu Basım ve Yayım San. Tic. Ltd. Şti.
- 125.Gropper, S.S.,Smith, J.L. (2013). Protein. Advanced Nutrition and Human Metabolism (6. bs., s. 183-248). Canada: WADSWORTH Cengage Learning
- 126.Matthews, E.D. (2014). Proteins and Amino Acids. A. C. Ross, B. Caballero, R. J. Cousins, K. L. Tucker & T. R. Ziegler (Ed.). Modern Nutrition in Health and Disease (11. bs., s. 3-35). China: Lippincott Williams & Wilkins
- 127.Önel, P., Gürdöl, F., Bakan, E.,Haklar, G. (2002). Amino Asitler, Peptidler ve Proteinler. T. Onat, K. Emerk & E. Y. Sözmen (Ed.). İnsan Biyokimyası (1. bs., s. 81-195). Ankara: Palme Yayıncılık

- 128.Bergström, J., Fürst, P., Noree, L.,Vinnars, E. (1974) Intracellular free amino acid concentration in human muscle tissue. *Journal of Applied Physiology*, 36 (6), 693-697.
- 129.Champe, P.C., Harvey, R.A.,Ferrier, D.R. (2007). Amino Asitler: Azotun Uzaklaştırılması. (E. Ulukaya, Çev.). Biyokimya (3. bs., s. 243-258): Nobel Tıp Kitabevleri
- 130.Lay, İ.S. (2014). Protein Döngüsü ve Amino Asit Katabolizması. (A. Denizli & A. Özden Kevser, Çev.). J. M. Berg, L. J. Tymoczko, L. Stryer & G. J. Gatto (Ed.). Biyokimya (1. bs., s. 673-697). Ankara: Palme Yayıncılık
- 131.Brosnan, M.E., Brosnan, J.T.,Young, V.R. (2011). Integration of Metabolism 3: Protein and Amino Acids. I. A. Macdonald & H. M. Roche (Ed.). Nutrition and Metabolism (2. bs., s. 72-101). United Kingdom: Wiley-Blackwell
- 132.Brosnan, M.E.,Brosnan, J.T. (2013). Amino Acid Metabolism. M. H. Stipanuk & M. A. Caudill (Ed.). Biochemical, Physiological, and Molecular Aspects of Human Nutrition (3. bs., s. 287-330). Missouri: Elsevier
- 133.Uçar, G. (2014). Amino Asitlerin Biyosentezi. (A. Denizli & A. Özden Kevser, Çev.). J. M. Berg, L. J. Tymoczko, L. Stryer & G. J. Gatto (Ed.). Biyokimya (1. bs., s. 705-734). Ankara: Palme Yayıncılık
- 134.Wasserman, R., Comar, C., Schooley, J.,Lengemann, F. (1957) Interrelated effects of L-lysine and other dietary factors on the gastrointestinal absorption of calcium 45 in the rat and chick. *The Journal of Nutrition*, 62 (3), 367-376.
- 135.Civitelli, R., Villareal, D., Agnusdei, D., Nardi, P., Avioli, L.,Gennari, C. (1991) Dietary L-lysine and calcium metabolism in humans. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*, 8 (6), 400-405.
- 136.Anthony, T.G.,McNurlan, M. (2013). Protein Synthesis and Degradation. M. H. Stipanuk & M. A. Caudill (Ed.). Biochemical, Physiological, and Molecular Aspects of Human Nutrition (3. bs., s. 256-286). Missouri: Elsevier
- 137.Küçüköner, M. (2013) Kanser tedavisinde mTOR sinyal yolağı ve mTOR inhibitörleri. *Dicle Tıp Dergisi*, 40 (1), 156-160.
- 138.Doğan, A.L.,Güç, D. (2004) Sinyal iletimi mekanizmaları ve kanser. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 35, 34-42.

139. Levesque, C.L., Ball, R.O. (2013). Protein and Amino Acid Requirements. M. H. Stipanuk & M. A. Caudill (Ed.). Biochemical, Physiological, and Molecular Aspects of Human Nutrition (3. bs., s. 331-356). Missouri: Elsevier
140. World Health Organization. (2007). Protein and amino acid requirements in human nutrition: Report of Joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation. (Rapor No: 935). Geneva: FAO.
141. Institute of Medicine. (2005). Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids. Washington, D.C.: National Academy Press.
142. TC Sağlık Bakanlığı. (2004). Türkiye'ye Özgü Beslenme Rehberi. Ankara.
143. World Health Organization. (1985). Energy and protein requirements: Report of a Joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation. (Rapor No: 724). Geneva: World Health Organization.
144. Consultation, R. (2011) Dietary protein quality evaluation in human nutrition. *Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of The United Nations.*
145. Pellett, P. (1996) World essential amino acid supply with special attention to South-East Asia. *Food and Nutrition Bulletin*, 17, 204-234.
146. TC Sağlık Bakanlığı (2014). Türkiye Beslenme ve Sağlık Araştırması 2010: Beslenme Durumu ve Alışkanlıklarının Değerlendirilmesi Sonuç Raporu. Ankara: TC Sağlık Bakanlığı.
147. Leser, S. (2013) The 2013 FAO report on dietary protein quality evaluation in human nutrition: Recommendations and implications. *Nutrition Bulletin*, 38 (4), 421-428.
148. 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. *Archives of Oral Biology*, 58 (4), 427-434.
149. Reeves, P.G., Nielsen, F.H., Fahey Jr, G.C. (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. *The Journal of Nutrition*, 123 (11), 1939-1951.
150. Alippi, R.M., Picasso, E., Huygens, P., Bozzini, C.E., Bozzini, C. (2012) Growth-dependent effects of dietary protein concentration and quality on the

- biomechanical properties of the diaphyseal rat femur. *Endocrinología y Nutrición*, 59 (1), 35-43.
151. Pallaro, A., Slobodianik, N.H. (1999) Dietary protein quality and zinc levels in growing rats. *Nutrition Research*, 19 (7), 1089-1095.
 152. Kiriyaama, S., Iwao, H., Ashida, K. (1967) Dietary protein quality and liver arginase activity of rats. *Agricultural and Biological Chemistry*, 31 (6), 671-674.
 153. Kabasakal Cetin, A., Dasgin, H., Gülec, A., Onbasilar, İ., Akyol, A. (2015) Maternal Low Quality Protein Diet Alters Plasma Amino Acid Concentrations of Weaning Rats. *Nutrients*, 7 (12), 9847-9859.
 154. Hughes, P., Tanner, J. (1970) A longitudinal study of the growth of the black-hooded rat: methods of measurement and rates of growth for skull, limbs, pelvis, nose-rump and tail lengths. *Journal of Anatomy*, 106 (Pt 2), 349.
 155. Bernardis, L., Patterson, B. (1968) Correlation between 'Lee index' and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions. *Journal of Endocrinology*, 40 (4), 527-528.
 156. Novelli, E., Diniz, Y., Galhardi, C., Ebaid, G., Rodrigues, H., Mani, F. ve diğ erleri. (2007) Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. *Laboratory Animals*, 41 (1), 111-119.
 157. EZ:faast Free (Physiological) Amino Acid Analysis by GC-FID or GC-NPD User's Manual. USA: Phenomenex.
 158. Kul, S. (2014) İstatistik Sonuçlarının Yorumu: p Değ eri ve Güven Aralığı Nedir? *Bulletin of Pleura/Plevra Bülteni*, 8 (1), 11-13.
 159. Millward, D.J. (1999) The nutritional value of plant-based diets in relation to human amino acid and protein requirements. *Proceedings of the Nutrition Society*, 58 (02), 249-260.
 160. Ghosh, S., Suri, D., Uauy, R. (2012) Assessment of protein adequacy in developing countries: quality matters. *British Journal of Nutrition*, 108 (S2), S77-S87.
 161. Ghosh, S. (2013) Assessment of Protein Adequacy in Developing Countries: Quality Matters. *Food and Nutrition Bulletin*, 34 (2), 244-246.

- 162.Schönfeldt, H.C.,Gibson Hall, N. (2012) Dietary protein quality and malnutrition in Africa. *British Journal of Nutrition*, 108 (S2), S69-S76.
- 163.Millward, D.J., Layman, D.K., Tomé, D.,Schaafsma, G. (2008) Protein quality assessment: impact of expanding understanding of protein and amino acid needs for optimal health. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 87 (5), 1576S-1581S.
- 164.Yokogoshi, H., Hayase, K.,Yoshida, A. (1992) The quality and quantity of dietary protein affect brain protein synthesis in rats. *The Journal of Nutrition*, 122 (11), 2210.
- 165.Peng, Y., Gubin, J., Harper, A., Vavich, M.,Kemmerer, A. (1973) Food intake regulation: amino acid toxicity and changes in rat brain and plasma amino acids. *The Journal of Nutrition*, 103 (4), 608-617.
- 166.Shibata, K., Fukuwatari, T., Iguchi, Y., Kurata, Y., Sudo, M.,Sasaki, R. (2006) Comparison of the effects of di (2-ethylhexyl) phthalate, a peroxisome proliferator, on the vitamin metabolism involved in the energy formation in rats fed with a casein or gluten diet. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 70 (6), 1331-1337.
- 167.Endo, Y., Fu, Z., Abe, K., Arai, S.,Kato, H. (2002) Dietary protein quantity and quality affect rat hepatic gene expression. *The Journal of Nutrition*, 132 (12), 3632-3637.
- 168.Peret, J., Chanez, M., Cota, J.,Macaire, I. (1975) Effects of quantity and quality of dietary protein and variation in certain enzyme activities on glucose metabolism in the rat. *The Journal of Nutrition*, 105 (12), 1525-1534.
- 169.Godfrey, K.,Robinson, S. (1998) Maternal nutrition, placental growth and fetal programming. *Proceedings of the Nutrition Society*, 57 (01), 105-111.
- 170.Bazer, F.W., Johnson, G.A.,Wu, G. (2015). Amino Acids and Conceptus Development During the Peri-Implantation Period of Pregnancy. *Cell Signaling During Mammalian Early Embryo Development* (s. 23-52): Springer
- 171.Kwong, E.,Barnes, R.H. (1977) Comparative contributions of dietary protein quality and quantity to growth during gestation, lactation and postweaning in the rat. *The Journal of Nutrition*, 107 (3), 420-425.

- 172.Sampson, D.A.,Jansen, G.R. (1985) The effect of dietary protein quality and feeding level on milk secretion and mammary protein synthesis in the rat. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 4 (2), 274-283.
- 173.Jansen, G.R., Grayson, C.,Hunsaker, H. (1987) Wheat gluten during pregnancy and lactation: effects on mammary gland development and pup viability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 46 (2), 250-257.
- 174.Jansen, G.,Monte, W. (1977) Amino acid fortification of bread fed at varying levels during gestation and lactation in rats. *The Journal of Nutrition*, 107 (2), 300-309.
- 175.Jansen, G.R.,Hunsaker, H. (1986) Effect of dietary protein and energy on protein synthesis during lactation in rats. *The Journal of Nutrition*, 116 (6), 957-968.
- 176.Langley-Evans, S.C. (2000) Critical differences between two low protein diet protocols in the programming of hypertension in the rat. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 51 (1), 11-17.
- 177.Mattar, M.A.,Obeid, O.A. (2010) Feed Efficiency of Rats Maintained on a Diet with Varied Casein to Gluten Ratios. *Current Topics in Nutraceuticals Research*, 8 (2/3), 95.
- 178.Burns, R.A., LeFaivre, M.H.,Milner, J.A. (1982) Effects of dietary protein quantity and quality on the growth of dogs and rats. *The Journal of Nutrition*, 112 (10), 1843-1853.
- 179.Herzberg, G.,Rogerson, M. (1984) Hepatic lipogenesis in young rats given proteins of different quality. *British Journal of Nutrition*, 52 (01), 131-137.
- 180.Seguro, K., Kumazawa, Y., Kuraishi, C., Sakamoto, H.,Motoki, M. (1996) The epsilon-(gamma-glutamyl) lysine moiety in crosslinked casein is an available source of lysine for rats. *The Journal of Nutrition*, 126 (10), 2557.
- 181.Sampson, D.A., Harrison, S.C., Clarke, S.D.,Yan, X. (1994) Dietary Protein Quality Alters Ornithine Decarboxylase Activity but Not Vitamin B-6 Nutritional Status in Rats. *The Journal of Nutrition*, 125 (8), 2199-2207.
- 182.Gluckman, P.,Harding, J. (1997) The physiology and pathophysiology of intrauterine growth retardation. *Hormone Research in Paediatrics*, 48 (Suppl. 1), 11-16.

183. Noguchi, T. (2000) Protein nutrition and insulin-like growth factor system. *British Journal of Nutrition*, 84 (S2), S241-S244.
184. Maiter, D., Fliesen, T., Underwood, L., Maes, M., Gerard, G., Davenport, M. ve diğ erleri. (1989) Dietary Protein Restriction Decreases Insulin-Like Growth Factor I Independent of Insulin and Liver Growth Hormone Binding*. *Endocrinology*, 124 (5), 2604-2611.
185. Miura, Y., Uchijima, Y., Takahashi, S.-i., Noguchi, T. (1993) Effect of the quantity and nutritional quality of dietary proteins on the transcriptional activity of insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor binding protein-1 genes. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 57 (2), 358-359.
186. Takahashi, S., Kajikawa, M., Umezawa, T., Takahashi, S.-I., Kato, H., Miura, Y. ve diğ erleri. (1990) Effect of dietary proteins on the plasma immunoreactive insulin-like growth factor-1/somatomedin C concentration in the rat. *British Journal of Nutrition*, 63 (03), 521-534.
187. Takenaka, A., Oki, N., Takahashi, S.-I., Noguchi, T. (2000) Dietary restriction of single essential amino acids reduces plasma insulin-like growth factor-I (IGF-I) but does not affect plasma IGF-binding protein-1 in rats. *The Journal of Nutrition*, 130 (12), 2910-2914.
188. Boguszewski, M., Bjarnason, R., Jansson, C., Rosberg, S., Albertsson-Wikland, K. (1997) Hormonal status of short children born small for gestational age. *Acta Paediatrica*, 86 (S423), 189-192.
189. Ozaki, T., Nishina, H., Hanson, M., Poston, L. (2001) Dietary restriction in pregnant rats causes gender-related hypertension and vascular dysfunction in offspring. *The Journal of Physiology*, 530 (1), 141-152.
190. Woods, L.L., Ingelfinger, J.R., Rasch, R. (2005) Modest maternal protein restriction fails to program adult hypertension in female rats. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 289 (4), R1131-R1136.
191. Aiken, C.E., Ozanne, S.E. (2013) Sex differences in developmental programming models. *Reproduction*, 145 (1), R1-R13.

- 192.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.
- 193.Gietzen, D.W. (1993) Neural mechanisms in the responses to amino acid deficiency. *Journal of Nutrition*, 123, 610-625.
- 194.Gietzen, D.W., Erecius, L.F.,Rogers, Q.R. (1998) Neurochemical changes after imbalanced diets suggest a brain circuit mediating anorectic responses to amino acid deficiency in rats. *The Journal of Nutrition*, 128 (4), 771-781.
- 195.Leung, P.M.,Rogers, Q.R. (1969) Food intake: regulation by plasma amino acid pattern. *Life Sciences*, 8 (2), 1-9.
- 196.Haq, A.-U., Bundrant, H.M.,Mercer, L.P. (1996) Food intake is inversely correlated with central nervous system histamine receptor (H1) concentrations in male Sprague-Dawley rats fed normal, low protein, low energy or poor quality protein diets. *The Journal of Nutrition*, 126 (12), 3083.
- 197.Aoyama, Y.,Wada, M. (1999) Effects of dietary protein type on the response of lipid metabolism to orotic acid in rats. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 63 (11), 2005-2008.
- 198.Tobin, G.,Boorman, K. (1979) Carotid or jugular amino acid infusions and food intake in the cockerel. *British Journal of Nutrition*, 41 (01), 157-162.
- 199.Park, B.-C. (2006) Amino acid imbalance-biochemical mechanism and nutritional aspects. *Asian Australasian Journal of Animal Sciences*, 19 (9), 1361-1368.
- 200.Nelson, D.L.,Gehlert, D.R. (2006) Central nervous system biogenic amine targets for control of appetite and energy expenditure. *Endocrine*, 29 (1), 49-60.
- 201.Gietzen, D.W., Leung, P.M.,Rogers, Q.R. (1986) Norepinephrine and amino acids in prepyriform cortex of rats fed imbalanced amino acid diets. *Physiology & Behavior*, 36 (6), 1071-1080.
- 202.Montminy, M. (1997) Transcriptional regulation by cyclic AMP. *Annual Review of Biochemistry*, 66 (1), 807-822.

203. Beverly 3rd, J., Gietzen, D.W., Rogers, Q.R. (1991) Protein synthesis in the prepyriform cortex: effects on intake of an amino acid-imbalanced diet by Sprague-Dawley rats. *The Journal of Nutrition*, 121 (5), 754-761.
204. Mercer, L.P., Dodds, S.J., Schweisthal, M.R., Dunn, J.D. (1989) Brain histidine and food intake in rats fed diets deficient in single amino acids. *The Journal of Nutrition*, 119 (1), 66-74.
205. Sampson, D.A., Jansen, G.R. (1984) Protein synthesis during lactation: no circadian variation in mammary gland and liver of rats fed diets varying in protein quality and level of intake. *The Journal of Nutrition*, 114 (8), 1470-1478.
206. Muramatsu, K., Takeuchi, H., Funaki, Y., Chisuwa, A. (1972) Influence of protein source on growth-depressing effect of excess amino acids in young rats. *Agricultural and Biological Chemistry*, 36 (8), 1269-1276.
207. Ohsumi, M., Shi, X., Tuchiya, T., Tujioka, K., Lyo, 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.
208. Khan, L., Bamji, M.S. (1979) Tissue carnitine deficiency due to dietary lysine deficiency: triglyceride accumulation and concomitant impairment in fatty acid oxidation. *Journal of Nutrition*, 109 (1), 24-31.
209. 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. *The Journal of Nutrition*, 116 (3), 376-387.
210. Kim, H. (2011) Glutamine as an immunonutrient. *Yonsei Medical Journal*, 52 (6), 892-897.
211. Kume, S., Yamato, M., Tamura, Y., Jin, G., Nakano, M., Miyashige, Y. ve diğerleri. (2015) Potential biomarkers of fatigue identified by plasma metabolome analysis in rats. *Plos One*, 10 (3), e0120106.
212. Berlett, B.S., Stadtman, E.R. (1997) Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. *Journal of Biological Chemistry*, 272 (33), 20313-20316.
213. Görgülü, A., Kırış, T. Eksitör Aminoasitler ve Eksitotoksikite Bölüm I. *Türk Nöroşirürji Dergisi*, 15 (1), 33-38.

- 214.Akbostancı, M.C.,Yiğit, A. (1993) Eksisatör Amino Asitlerin Nörolojik Hastalıkların Oluşumundaki Rolü. *Düşünen Adam The Journal of Psychiatry and Neurological Sciences* 6(3), 57-64.
- 215.Friedman, M.,Levin, C.E. (2012) Nutritional and medicinal aspects of d-amino acids. *Amino Acids*, 42 (5), 1553-1582.
- 216.Ersöz, B. (2002). Hormonlar. T. Onat, K. Emerk & E. Y. Sözmen (Ed.). İnsan Biyokimyası (1. bs., s. 464-466). Ankara: Palme Yayıncılık
- 217.Lord, R.S.,Bralley, J.A. (2008) Clinical applications of urinary organic acids. Part I: Detoxification markers. *Alternative Medicine Review*, 13 (3), 205-215.
- 218.Itowi, N., Nagai, K., Nakagawa, H., Watanabe, T.,Wada, H. (1988) Changes in the feeding behavior of rats elicited by histamine infusion. *Physiology & Behavior*, 44 (2), 221-226.
- 219.Sheiner, J.B., Morris, P.,Anderson, G.H. (1985) Food intake suppression by histidine. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 23 (5), 721-726.
- 220.Arıcan, Ö.,Hacımustafaoğlu, O.Y. (2002) Besin Allerjisi. *Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıp Dergisi*, XIII (2), 142-146.
- 221.Budzeń, S.,Rymaszewska, J. (2012) The biological role of carnosine and its possible applications in medicine. *Advances in Clinical and Experimental Medicine: official organ Wroclaw Medical University*, 22 (5), 739-744.
- 222.Graham, G.G., MacLean Jr, W.C.,Lopez, d.R.G. (1981) Prolonged consumption by infants of wheat-based diets with and without casein or lysine supplementation. *The Journal of Nutrition*, 111 (11), 1917-1927.

EKLER

Ek 1: Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı-I



HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

06100 Sıhhiye-Ankara
Telefon: 0 (312) 305 1090-1082 • Faks: 0 (312) 310 0580
www.etikkurul.hacettepe.edu.tr/index_hdk.php

Sayı: 52338575 - 40

26 Mart 2014

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL KARARI

TOPLANTI TARİHİ : 21.03.2014 (CUMA)
TOPLANTI SAYISI : 2014/03
DOSYA KAYIT NUMARASI : 2014/17
KARAR NUMARASI : 2014/17-02
ARAŞTIRMA YÜRÜTÜCÜSÜ : Yrd.Doç.Dr. Aslı AKYOL
HAYVAN DENEYLERİNDEN SORUMLU ARAŞTIRMACI : Yrd.Doç.Dr. Aslı AKYOL, Öğr. Gör. Atilla GÜLEÇ,
Araş. Gör. Arzu KABASAKAL
YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR : -
ONAYLANAN HAYVAN TÜRÜ ve SAYISI : 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: Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı-II



HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

06100 Sıhhiye-Ankara
Telefon: 0 (312) 305 1090-1082 • Faks: 0 (312) 310 0580
www.etikkurul.hacettepe.edu.tr/index_hdk.php

Sayı: B.30.2.HAC.0.05.06.00/

Yrd.Doç.Dr. Ash AKYOL
Sağlık Bilimleri Fakültesi
Beslenme ve Diyetetik Bölümü
Öğretim Üyesi

Sayın Yrd.Doç.Dr. AKYOL,

Sorumlu araştırmacısı olduğunuz Kurulumuzun 21.03.2014 tarihli toplantısında onaylanan, 2014/17 dosya kayıt numaralı ve *"Ratlarda Maternal Düşük Kaliteli Protein Diyetinin Fetal Gelişim ve Plazma Amino Asit Profili Üzerine Etkisi"* başlıklı çalışmaya Halil DAŞGIN'ın sorumlu araştırmacılar grubuna eklenmesi Kurulumuzun 03.02.2014 tarihli toplantısında görüşülmüş olup, uygun bulunmuştur.

Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.

Prof. Dr. Sema ÇALIŞ
Etik Kurul Başkanı

Ek 3: Yem İçeriği

İçindekiler	Kazeinli Yem	Buğday Glutenli Yem
Protein (%)	20	20
Yağ (%)	4.1	4.1
Karbonhidrat (%)	75.9	75.9
Enerji (kkal)	420.2	420.2

Ek 4: Yemlerin Amino Asit Kompozisyonları

Amino Asitler (mmol/100 g diyet)	%20 Kazein İçeren Diyet	%20 Buğday Gluteni İçeren Diyet
Aspartik Asit	11.0	5.7
Teronin	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

*Kazein içeren diyetle ekstra bir metiyonin ilavesi olmadığı için bu değeri yansıtmayacaktır.

Ek 5: Çalışmada Kullanılan Araç ve Gereçler

Çalışma kapsamında aşağıda listelenmiş olan araç ve gereçler kullanılmıştır.

- Cerrahi eldiven,
- Enjektör (10 ml),
- Otomatik Pipet,
- 7'li cerrahi set,
- Ependorf tüpü (1,5 ml),
- Sıvı nitrojen tankı,
- Lityum Heparinli Tüp,
- Labnet Prism santrifüj cihazı,
- SF-400A model mutfak terazisi,
- Precisa 220A analitik terazisi,
- EZ:faast aminoasit kiti – Phenomenex,
- Vorteks,
- Alev iyonlaşma dedektörüne sahip gaz kromatografi cihazı.

