T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KOLOSTRUM TAKVİYESİ ALAN SPORCULARDA DALLI ZİNCİRLİ AMİNO ASİT DÜZEYLERİ

Birgül YALÇIN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

Danışman

Doç. Dr. Hüsamettin VATANSEV

KONYA-2016

T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KOLOSTRUM TAKVİYESİ ALAN SPORCULARDA DALLI ZİNCİRLİ AMİNO ASİT DÜZEYLERİ

Birgül YALÇIN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

Danışman

Doç. Dr. Hüsamettin VATANSEV

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 14202017 Proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA-2016

ÖNSÖZ

Bu çalışma Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Doç. Dr. Hüsamettin VATANSEV yönetiminde hazırlanmış olup, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'ne yüksek lisans tezi olarak sunulmuştur.

Tez çalışmam sırasında bilgi ve görüşleriyle beni yönlendiren ve her daim bana sabır gösterip yardımcı olan değerli danışman hocam Doç. Dr. Hüsamettin VATANSEV'e çok teşekkür ederim.

Tez çalışmam sırasında gerekli yardım, tavsiye ve yönlendirme ile destek olan hocalarım Prof. Dr. Ali ÜNLÜ'ye, Doç. Dr. Bahadır ÖZTÜRK'e, Doç. Dr. Abdullah SİVRİKAYA'ya, Yrd. Doç. Dr. Sedat ABUŞOĞLU'na, Doç. Dr. Esma MENEVŞE'ye, Uzm. Dr. Fikret AKYÜREK'e, Uzm. Dr. Beyza SARAÇLIGİL'e; Doç. Dr. Gürkan UÇAR'a, Öğr. Gör. Dr. Ali Osman KIVRAK'a, tezimin istatiksel kısmında bana yardımcı olan Doç. Dr. Şükrü Serdar BALCI'ya, tezimin deneysel çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen arkadaşlarım Yüksek Kimyager Gülsüm TEKİN'e, Yüksek Biyolog Yasemin KAHVECİ'ye, Kimyager Oğuzhan TOK'a çok teşekkür ederim.

Hayatım boyunca bana her aşamada destek olan annem, babam ve eşim Eyüp YALÇIN'a, çocuklarım YİĞİT ve CEYDA'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım…

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ ..... **ii**
TABLOLAR LİSTESİ ..... **v**
SİMGELER VE KISALTMALAR ..... **vi**
ÖZET ..... **viii**
1. GİRİŞ **1**
1.1. Beslenme 3
1.1.1. Yeterli beslenme 3
1.1.2. Dengeli Beslenme 3
1.2. Sporcu Beslenmesi 3
1.3. Kolostrumun Özellikleri 7
1.3.1. Kolostrum Kullanımının Tarihçesi 8
1.3.2. İnek ve İnsan Kolostrumunun Özellikleri 9
1.3.3. Kolostrumda Bulunan İmmun ve Büyüme Faktörleri 11
1.3.4. Vitaminler ve mineraller 13
1.3.5. Kolostrumun Sağlık Üzerine Etkileri 13
1.3.6. Kolostrumun Taşıması Gereken Özellikler 14
1.3.7. Kolostrum Tüketimi 15
1.3.8. Kolostrumun Kullanım Şekilleri 15
1.3.9. Kolostrum Kullanımının Yan Etkileri 16
1.3.10. Kolostrumun Sporcularda Kullanımı 16
1.3.11. Kolostrumun Amino Asit İçeriği 18
1.4. Amino Asitlerin Genel özellikleri 18
1.4.1. Amino Asitlerin Sınıflandırılması 19
1.4.2. Protein ve Amino Asit Metabolizması 22
1.4.3. Dallı Zincirli Aminoasitler 23
1.4.4. Absorbsiyon sonrasında organlar arasında amino asit alış- verişi 24
1.4.5. Toklukla dallı zincirli amino asitlerin organlar arası değiş tokuşu 25
1.4.6. Dallı Zincirli Amino Asitlerin Katabolizması 28
1.4.7. Dallı Zincirli Amino Asitlerin Sporcular İçin Önemi 29
1.5. Amino Asit Analizi 30
1.5.1. Kapiller Elektroforez 31
1.5.2. İyon Değiştirici Sıvı Kromatografisi 31
1.5.3. Gaz Kromatografisi (GC) 31
1.5.4. Likit kromatografi/Ardışık Kütle Spektrometresi (LC/MS-MS) 32
1.5.5. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) 32
1.6. Amino Asit Profili 34
2. GEREÇ ve YÖNTEM **37**
2.1. Gereçler 37
2.1.1. Kullanılan Kimyasallar 37
2.1.2. Cihazlar ve Laboratuvar gereçleri 37
2.2. METOD 38
2.2.1. Araştırma Grubu 38
2.2.2. Valin , Lösin ve İzolösin Analizi 39
2.3. İstatiksel Analiz 42
3. BULGULAR **43**
3.1. Valin Standart Çalışması 43

3.2. Lösin Standart Çalışmaları 44
3.2. İzolösin Standart Çalışması 45
3.3. Valin, Lösin ve İzolösin Sonuçları 46
4. TARTIŞMA 49
5. SONUÇ ve ÖNERİLER 51
6. KAYNAKLAR 52
7. ÖZGEÇMİŞ 56

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1.1 Kolostrum ve Süt Bileşenleri.....8
Tablo 1.2 İnek ve İnsan Kolostrumlarının Bileşimi.....10
Tablo 1.3 Kolostrum ve Normal Sütte İmmunoglobulin Konsantrasyonu (gr/lt).....12
Tablo 1.4 Kolostrum ve Normal Sütteki Büyüme Faktörleri Konsantrasyonu (µg/lt) .12
Tablo 2.1 Mobil fazların akış şeması.(Akış hızı 0.400 ml/dk).....41
Tablo 3.1 Valin konsantrasyonlarına karşılık bulunan alanlar.....44
Tablo 3.2 Lösin konsantrasyonlarına karşılık bulunan alanlar. 44
Tablo 3.3 İzolösin konsantrasyonlarına karşılık bulunan alanlar.....46
Tablo 3.4 Kolostrum grubu ve kontrol grubu arasında serum dallı zincirli amino asit düzeylerinin karşılaştırılması 47
Tablo 3.5 Kolostrum kullanan sporcuların dallı zincirli amino asit düzeylerinin başlangıç 0. gün, 30.gün ve 60.gün ölçümlerinin karşılaştırılması.....48

SİMGELER VE KISALTMALAR

Asetil CoA	Asetil Koenzim A
BCAA	Dalli zincirli amino asitler
BCKA	Dallı zincirli keto asitler
cm	Santimetre
CO_2	Karbondioksit
COOH	Karboksil grubu
CE	Kapiller elektroforez
DNA	Deoksiribonükleik asit
EGF	Epidermal büyüme faktörü
EKG	Elektro kardiyo grafi
EDTA	Etilendiamintettraasetik asit
FGF	Fibroplast büyüme Faktörü
FMOC-CI	Florenilmetiloksikarbonil klorid
gr	Gram
GC	Gaz kromatografisi
HCI	Hidroklorik asit
HDL	Yüksek yoğunluklu lipoprotein
HIV	Human ımmunodeficiency virüs
HPLC	Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
Ig	İmmunoglobulin
IgA	İmmunoglobulin A
IgD	İmmunoglobulin D
IgE	İmmunoglobulin E
IgF	İmmunoglobulin F
IgG	İmmunoglobulin G
IgM	İmmunoglobulin M
IGF 1	İnsülin benzeri büyüme faktörü 1
IGF 2	İnsülin benzeri büyüme faktörü 2
kg	Kilogram
kkal	Kilokalori
LC/MS-MS	Likit kromatografi kütle spektrofotometresi
LDL	Yüksek yoğunluklu lipoprotein

l	Litre
M	Molarite
mg	Miligram
ml	Mililitre
N	Normalite
NH2	Amino grubu
ODS	Oktadesilsilan
OH	Hidroksil grubu
OPA	o-Fitaldehit
Örn	Örneğin
PDGF	Trombosit büyüme faktörü
PICT	Fenilizosiyotiyosiyonat
PRP	Prolince zengin polipeptitler
R	Radikal yan zincir grubu
SSA	Sülfosalisilik asit
TGF	Dönüştürücü büyüme faktörleri
uv	Ultraviyole
µ	Mikro
µM	Mikromolar
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
2-ME	2-Merkaptoetanol

ÖZET

T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Kolostrum Takviyesi alan Sporcularda Dallı Zincirli Amino Asit Düzeyleri

Birgül YALÇIN

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

YÜKSEK LİSANS TEZİ / KONYA–2016

Bu çalışma, sporcularında inek kolostrumu kullanımının dallı zincirli amino asit düzeylerine etkisini araştırmak üzere yapılmıştır.

Kolostrum dişi memeliler tarafından doğumdan hemen sonra salgılanan, bileşimi ve görünüşü normal sütten farklı olan koyu besleyici değeri yüksek bir salgıdır. Kolostrum protein, karbonhidratlar, yağ, vitamin ve minerallere ilaveten vücudun immun ve büyüme fonksiyonları için gerekli bazı biyolojik aktif molekülleri de içermektedir.

Araştırmaya, selçuk üniversitesi beden eğitimi ve spor yüksekokulu öğrencilerinden antrene düzeyde ve 48 erkek sporcu katılmıştır. Sporcular kendi içinde 24 kontrol, 24 deney olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Deney grubu kolostrum tablet (250mg/gün) kullanmıştır.

Sporculardan araştırmanın (0.gün, 30.gün, 60.gün) olmak üzere üç defa kan örnekleri alınarak, dallı zincirli amino asit düzeyleri yüksek basınçlı sıvı kromatografi yöntemi kullanılarak analiz edilmiştir. Sporculardaki deney ile kontrol grupları arasında istatistiksel analizler yapılmış ve değerlendirilmiştir.

Öncelikle ilk karşılaştırmamızı kolostrum grubu ve kontrol grubu arasında gerçekleştirdik. Başlangıçta valin, lösin arasında anlamlı fark yok iken izolosin de anlamlı fark bulundu ($p=0,001$). Ancak total BCAA düzeyine bakıldığında bir fark görülmedi.

Kolostrum kullanan grubun tekrarlayan ölçümleri kendi arasında karşılaştırıldığında valin için anlamlı bir fark bulunamadı. Lösin için 0.gün ile 30.gün ölçüm değerleri arasında istatiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur ($p=0,018$). İzolösin için ise 0.gün ile 30.gün ölçümleri değerleri ve 30.gün ile 60.gün değerleri arasında istatiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmuştur (sırasıyla $p= 0,044$, $p=0,005$).Total BCAA düzeyleri değerlendirildiğinde ise gruplar arasında anlamlı fark görülmemiştir.

Sonuç olarak, bizim çalışmamızda sporcularda kolostrum takviyesinin serum dallı zincirli amino asit düzeyleri üzerine anlamlı bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Kolostrumun farklı spor branşları ve değişik yaş gruplarında özellikle sporcuların bağışıklık, rejenerasyon ve performans gibi kriterleri dikkate alınarak araştırmaların yapılmasının uygun olacağı kanaatine varılmıştır. Biyokimyasal olarak amino asit analizinin oldukça önemli olduğunu, bizim çalışmamızın amino asit analizi adına bir başlangıç olduğunu ve uyguladığımız metodun geliştirilerek valide edilmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

Anahtar Sözcükler: Dallı zincirli amino asit; Kolostrum; Sporcu.

SUMMARY

REPUBLIC of TURKEY
SELÇUK UNIVERSITY
HEALTH SCIENCES INSTITUTE

Colostrum Supplements field Branched Chain Amino Acid Levels in Athletes

Birgül YALÇIN
Department of Medical Biochemistry

MASTER/ KONYA-2016

In this study, the cow colostrum use in athletes was undertaken to evaluate the effect on the branched-chain amino acid level.

Colostrum is secreted by female mammals immediately after birth, composition and appearance is different from the normal milk secretion dark nutritional value is high. Colostrum proteins, carbohydrates, fat, vitamins and minerals in addition to the body's immune functions essential for growth and also contains various biologically active molecules.

The study, Selçuk University physical education and sport in schools to the entrance level of the students and 48 male athletes participated. Athletes control 24 itself is divided into two groups as experiment 24. The experimental group received colostrum tablets (250 mg / day) was celebrated.

Blood samples were taken three times (0^{th} day,30^{th} day,60^{th} day), including the study of the athlete, the branched chain amino acid levels were analyzed using high pressure liquid chromatography method. Statistical analysis made between the experimental and control groups in athletes and evaluated.

First, we realized our first comparison between the colostrum group and control group. Initially, valine, leucine, while no significant difference isoleucine also a significant difference ($p = 0.001$). However, no significant difference when looking at the total level of BCAA.

Repeated measurements of the group using colostrum no significant difference when compared to the governor of their own. Leucine for a statistically significant difference was found between 0th day and 30th day measurements ($p = 0.018$). For isoleucine is 0th day and 30th day measurement values and the results were statistically significant value between 30th day and 60th day ($p = 0.044$, $p = 0.005$). The total assessed value BCAA is no significant difference between the groups.

In conclusion, our study of colostrum supplements in athletes have been found to have a significant effect on the serum branched chain amino acid level. Colostrum has reached the conclusion that it is appropriate for different sports branches and conducting research taking into account criteria such as regeneration and performance of athletes in various age groups. Biochemical analysis of the amino acid is very important in our work on behalf of our amino acid analysis is a beginning and we think that should be developed and validated methods we apply.

Keywords: Branched chain amino acid; Colostrum; Athlete.

1. GİRİŞ

Sporcu beslenmesi her yıl yayınlanan yüzlerce araştırma makalesi ile birlikte sürekli gelişen bir alandır. Özellikle antrenman ve müsabaka dönemlerinde sporcuların yüksek performansa ulaşmasında beslenme en önemli faktörlerin birisidir (Ersoy 2004).

Sporcular antrenman verimi yanı sıra spor performansının artmasını desteklemek, amacıyla doping sayılmayan besin öğelerini kullanırlar. Bu tür besin desteklerine "besinsel ergojenik yardım" denilmektedir. Besin desteği beslenmede yer alan besinlere ilave anlamına gelmektedir. Genellikle kişiye özel bir uygulamadır. Vitaminler, mineraller, aminoasitler, esansiyel yağ asitleri, çeşitli bitkiler ve bunların ekstrelerini kapsayan geniş bir yelpazeye sahiptir (Tek ve Pekcan 2008).

Kolostrum dişi memeliler tarafından doğumdan hemen sonra bileşimi ve görünüşü normal sütten farklı olan koyu kıvamlı, sarımtırak renkte, acı lezzetli, besleyici değeri yüksek bir salgıdır. Kolostrum protein, karbonhidratlar, yağ, vitamin ve minerallere ilaveten vücudun immun ve büyüme fonksiyonları için gerekli bazı biyolojik aktif molekülleri de içermektedir (Bayarer ve ark 2006).

İnek kolostrumu insanlarda çeşitli hastalıkların tedavisi ve önlenmesinde önemli rollere sahiptir. Antioksidan ve yaşlanmayı geciktirici özellikleri de, yaşın getirdiği çeşitli problemlerle başa çıkmada yardımcı olur. Kolostrum çeşitli mukozal, deri ve kas zedelenmelerinin iyileştirilmesinde ve gelişmesinde de yardımcı niteliktedir (Thapa 2005).

Kolostrumun besleyici öğeler açısından zengin olduğu kadar spesifik fonksiyonlar üzerine de etkili olan bir çok biyolojik aktif maddeyi yapısında bulundurduğu bilinmektedir. Bu nedenle immun sistemi güçlendirmesi, hücre gelişimini teşvik etmesi, dokuları onarması gibi etkileri ile sağlığı koruyan bir gıdadır (Henderson ve Mitchell 2000).

Son yıllarda kolostrum üzerine yapılan araştırmalar bağışıklık geliştirme, mide, bağırsak sağlığı ve sporcu performansını artırmaya yönelik yapılmaktadır. Bazı çalışmalar da dallı zincirli amino asitlerin özellikle de lösinin protein sentez hızını arttırarak kastaki proteinin yıkım hızını düşürerek, protein metabolizması üzerine anabolik etkisi olduğunu göstermiştir (Buckley ve ark 2002, Coombes ve ark 2002).

Beslenme de proteinler; enerji kaynağı olmaktan çok vücutta sentez edilemeyen esansiyel amino asitleri sağladıkları için önem taşımaktadır. Proteinin bileşiminde esansiyel amino asitlerin bulunması, besinin protein kalitesini yükseltir. Sporcunun beslenmesinde özellikle kas çalışması gerektiren egzersizlerde proteinlerin ve proteinleri oluşturan amino asitlerin öneminin arttığı bilinmektedir. Bu konuda ki yayınlar, iskelet kasının, en az sekiz amino asidi mitokondri yoluyla okside ettiğini ancak egzersiz sırasında dallı zincirli amino asitlerin (izolösin, lösin, valin) daha çok okside edildiğini bildirmektedir (Blomstrand ve ark 2006, Hoffman ve ark 2006).

Amino asit analizi biyokimyasal, farmasötik ve biyomedikal alanlarda çok fazla aplikasyonu olan önemli bir tekniktir. Amino asitlerin profilinin görüntülenmesi aynı zamanda klinik durumlar için de büyük ilgi uyandırmaktadır. Birçok hastalığın amino asit metabolizmasıyla ilgili olduğu bilinmektedir (Deyi ve ark 1986, Qureshi 1989).

Bizim bu tez çalışmasındaki amacımız, kolostrum kullanmış olan sporcularda, kolostrumun dallı zincirli aminoasit düzeylerine etkisini araştırmak ve HPLC metodu ile tek bir kromatogramda üç aminoasitin düzeylerini birlikte göstermektir.

1.1. Beslenme

Bilimsel anlamda beslenmenin tanımı; canlıların gereksinim duydukları enerjiyi ve dokuların yapımında kullanacakları kimyasal maddeleri yeterli ve dengeli bir şekilde almaları, onları fiziksel ve kimyasal olaylardan geçirerek özümlemeleridir. Buna göre iyi beslenmenin yeterli ve dengeli beslenme olmak üzere iki ana unsuru vardır (Sencer 1987, Ekin 1988).

1.1.1. Yeterli beslenme

Kişinin yaşına, cinsiyetine, çalışma ve özel durumuna (gebelik, emzikli olma, çeşitli hastalıklar, yaralanma, yaşlılık, alkol kullanımı ve egzersiz yapmak vs.) göre gereksinmesi olan enerjiyi ve her türlü besin öğesini yeterli miktarda sağlayabilmektir. Sporcuların besinsel gereksinimleri sporcu olmayanlara göre farklı olduğu gibi değişik spor dallarında da farklılıklar görülmüştür (Holt 1993).

1.1.2. Dengeli Beslenme

Maliyeti yüksek olmayan, kişinin alışkanlıklarına ters düşmeyen besinleri, değerini yitirmeden hazırlayıp pişirmek, vücudun ihtiyacı olan tüm besin öğelerini içeren besinleri almak ve vücudun en elverişli kullanımı için 3-5 öğünde tüketmektir. Yetersiz beslenme, besin bulamamak ve fakirlik sebebiyle olabilirken, özel durumlarda (egzersiz gibi) artan ihtiyaçları yerine koyamamak sebebiyle de olabilir. Dengesiz beslenme ise genellikle bilinçsizlikten kaynaklanmaktadır. Yanlış beslenme eksik ve dengesiz olduğu kadar besinlerin aşırı alınmasını da ifade eder (Last 1992).

1.2. Sporcu Beslenmesi

Sporcu beslenmesinde amaç, sporcunun yaşına, cinsiyetine, günlük fiziksel aktivitesine ve yaptığı spor çeşidine göre antrenman ve müsabaka dönemlerine yönelik düzenlemeler yapılması ve besinlerin yeterli ve dengeli biçimde alınmasını sağlamaktır. Sporcu için gerekli olan beslenme programı yapılırken, göz önünde bulundurulması gereken durumlar sporcunun boyu, kilosu, cinsiyeti, vücut yağ

yüzdesi, beslenme alışkanlıkları, sağlık durumları, yaptığı antrenman programı ve sosyal ve ekonomik koşulları olmalıdır (Güneş 2000).

Sporcuların günlük aldığı besinlerin kalori, karbonhidrat, protein, yağ karşılığı değerleri ile alması gereken günlük kalori, karbonhidrat, protein, yağ ihtiyacı değerleri eşit olmak zorundadır. Bu kural aynı zamanda vitaminler, mineraller ve su için de geçerlidir. Miktarlar kişinin cinsiyeti, yaşı ve sağlık durumuna göre günlük alınması önerilen makro ve mikro tüketim sınırları arasında olmalıdır (Pehlivan 2005).

Sporcunun ilk ve temel enerji maddesi karbonhidrattır. Karbonhidratlar hemen kalori sağlayarak vücudun fizik ve zihin çalışmaları için gerekli enerjiyi verirler. Diğer besinlerin vücutça alınmasına, sindirilmesine yardım ederler. Karbonhidratlar; ekonomik, çabuk ve fazla oksijen gerektirmeyen enerji kaynağıdırlar. Yağ ve proteinlere oranla daha fazla enerji kaynağı olarak kullanılırlar (Saygılı ve Balcıoğlu 1996).

Egzersiz sırasında enerjinin temel kaynağı karbonhidratlardır. Yiyeceklerle alınan karbonhidratlar, karaciğer ve kaslarda glukojen olarak depolanır. Kaslarda 300-400 gram, karaciğerde 75-100 gram kadar glukojen deposu bulunmaktadır. Spor yapmayan kişilere, enerjinin karbonhidrattan gelen oranının % 50-55 civarında olması önerilirken, sporcularda bu değerler % 60-65'e, çok yoğun antrenmanlarda ve dayanıklılık sporcularında ise %70'e kadar çıkmaktadır. Sporcuların glukojen depoları ne kadar fazlaysa performansları o kadar yüksek olmaktadır. Sporcular, yüksek karbonhidratlı beslenme ile glukojen depolarını yaklaşık 1.5-2 kat kadar arttırabilirler. Sporcularda glukojen depolarının çok azalması veya tükenmesi (antrenman sonrasında veya yetersiz karbonhidrat alımı nedeni ile olabilir) kronik yorgunluğa neden olabilmektedir (Ersoy 2004).

Sporcuların karbonhidrat gereksinimleri vücut ağırlığına göre de hesaplanmakta, egzersiz şiddeti ve süresine göre günlük 5-10 gr/kg karbonhidrat alımı önerilmektedir. Örneğin 70 kg ağırlığındaki bir sporcunun, günde 1 saat antrenman yaptığında karbonhidrat gereksinimi günlük 5-6 gr/kg' dan (350- 420 gram) hesaplanırken, 3-4 saat yoğun antrenman yapıldığı günlerde ortalama günlük

8-10 gr/kg' a (560-700 gram) kadar çıkmaktadır. Özellikle yüksek enerji alan sporcularda, enerjinin % 50'sinin karbonhidratlardan alınması, ağırlık başına önerilen karbonhidrat miktarlarını karşılarken (7-8 gr/kg), günlük enerjinin 2000 kkal' den az olması durumunda enerjinin % 60'ının karbonhidratlardan sağlanması bile ağırlık başına karbonhidrat miktarı için yeterli olmamaktadır (4-5 gr/kg). Bu nedenle özellikle yüksek ve düşük enerji alan sporcularda karbonhidrat gereksinimlerinin hesaplanmasında hem yüzde, hem de vücut ağırlığı başına önerilen değerler bir arada düşünülerek hesaplama yapılmalıdır (Teko 2003).

Proteinler vücudun temel yapı taşlarıdır. Proteinler, büyük ve karmaşık bir yapıya sahiptir. Protein sağlık ve fiziksel performans için gerekli olan aminoasitler tarafından oluşturulan nitrojen içerikli bir besin maddesidir. Proteinler vücutta pek çok fonksiyona hizmet ederler (Göbelez 1999, Aksoy 2000, Gürsoy ve ark 2001).

Yiyecekler ile alınan proteinler vücutta, yapı taşları olan amino asitlere parçalandıktan sonra, yeni doku yapımı, hücre onarımı, bazı hormon ve enzimlerin yapımında kullanılırlar. İnsan organizmasındaki temel görevleri hücre yapımı ve onarımı olan proteinler, sadece karbonhidrat ve yağların olmadığı zamanlarda (uzun açlık dönemleri vb) enerji yapımı için kullanılırlar (Baysal 2007).

Spor yapmayan kişilerin protein gereksinimleri 0,8-1,0 gr/kg'dır. Sporcularda ise protein gereksinimi enerjinin % 12-15'inden hesaplanabileceği gibi egzersizin türüne göre, ağırlık başına 1,2-1,8 gr/kg' a kadar çıkabilmektedir (Teko 2003).

Yağlar, enerji sağlamalarının yanı sıra, yağda çözünen vitaminlerin vücutta kullanılmalarını sağlamaktadır. Ayrıca yağların bileşiminde yer alan ve vücut tarafından yapılmayan bazı yağ asitlerinin yiyeceklerle alınması, büyüme ve deri sağlığı için de önem kazanmaktadır. Sporcular da yağlar, özellikle uzun süreli egzersizlerde enerji kaynağı olarak kullanılmaktadır (Baysal 2007).

Karbonhidratların vücutta sınırlı deposunun bulunmasına karşın, vücuttaki her 0,5 kg' lık yağ deposu ortalama 3500 kkal. enerji sağlamaktadır. Sporcularda enerjinin yağdan gelen oranı % 20-25 civarında tutulmalıdır. Yağ tüketiminin

artırılması ile, karbonhidrat tüketiminin azalmasına bağlı olarak performans olumsuz yönde etkilenebilmektedir (Teko 2003).

Vitaminler, sağlıklı büyüme ve gelişmeyi sağlayan, yaşam için gerekli besin öğeleridir. Organizmada biyokimyasal ve fizyolojik süreçlere katılarak; besin öğelerinden enerji oluşmasına, sinir ve sindirim sisteminin normal çalışmasına, vücut sağlığının korunmasına ve büyümeye yardımcı olurlar. Vücutta genel olarak vitaminler; enerji oluşumunda, sinir ve sindirim sisteminin normal çalışmasında ve kas kasılmalarında önemli görevler üstlenirler. İnsanlar vitaminlerin çoğunu kendi organizmasında üretemediğinden dışarıdan almak zorundadır (Karakaş 1987).

Besin desteği; vitamin ve minerallerin yüksek dozlara karşılık gelen miktarlarının hap, kapsül, şurup şeklinde kullanılabilir formları olarak tanımlanabilmektedir. Beslenmemizde yer alan besinlere ilave anlamına gelmektedir. Yeterli ve dengeli beslenmede besin desteğine ihtiyaç duyulmaktadır. Besin desteği genellikle kişiye özel bir uygulamadır. Vitamin, mineral, posa, aminoasitler, fotokimyasallar, otlar ve botanik ürünleri kapsamaktadır. Katkı maddesi olarak kullanılan besin öğelerinin çoğu günlük diyette doğal olarak bulunmaktadır. Amerika'da DSHEA (Dietary Supplement Health and Education Act) tarafından besin destekleri; diyeti desteklemek amacıyla alınan bir veya birden fazla vitamin, mineral, şifalı bitki veya aminoasitleri içeren sigara dışındaki ürünler olarak tanımlanmaktadır (Tek ve Pekcan 2008).

Sporcular antrenman verimi yanı sıra spor performansının artmasını desteklemek amacıyla doping sayılmayan besin öğelerini kullanırlar. Bu tür besin desteklerine besinsel ergojenik yardım denilmektedir. Besin destekleri 3 grup altında sınıflandırılabilir;

1.Enerji oluşumunu artıran besin destekleri (Karbonhidrat, protein, kreatin, vitamin/ mineraller veya bitkisel ürünler).

2.Vücut bileşimini değiştiren besin destekleri (Protein).

3.Toparlanmayı hızlandıran besin destekleri (Karbonhidrat, vitamin/ mineraller veya bitkisel ürünler) (Tek ve Pekcan 2008).

1.3. Kolostrumun Özellikleri

Doğumdan hemen sonra başlayıp ilk 24-48 saat boyunca annenin meme bezlerinden salgılanan sarımsı renkte, tuzlu tatta, koyu kıvamlı, bileşimi normal süte oranla farklı olan ve yavrunun sağlığı açısından son derece yararlı olan süte kolostrum denilmektedir (Tekinşen ve Nizamlıoğlu 2001).

İkinci ve sekizinci sağımlar arasındaki süt, yapısının giderek normal süt haline dönüşmesi ve absorbsiyonunun yeterince sağlanamaması nedeniyle "transit süt" olarak tanımlanmaktadır. Kolostrumun normal süte dönüş süresi ırk, tür ve fertlere göre değişiklik gösterir. Kolostrum yaklaşık 48 saat içinde transit süt, 72 saat içinde de normal süt halini almaktadır (Tekinşen ve Nizamlıoğlu 2001).

Kolostrum keskin bir koku, acı bir lezzet ve hafif kırmızımsı sarı bir renge sahiptir. Süt proteinlerini, özellikle immun proteinler, kalsiyum, sodyum, magnezyum, fosfor ve tuzlarını yüksek, buna karşılık laktoz, potasyum ve pantotenik asidi az miktarda içerir. Kolostrumdaki immunglobüllerin yüksek oranda olması yavruların enfeksiyonlara karşı korunmaları bakımından önemlidir. Kolostrumun yağ oranı normal sütünkinden biraz fazladır. Ama yağda çözünen vitaminler yönünden beş kat daha zengindir. Bunun yanında B ve C vitaminleri yönünden oldukça zengindir. Kolostrumun normal süte dönüşümü yaklaşık beş gün kadardır. Bu süre içinde protein, kalsiyum, fosfor ve klor konsantrasyonları azalır, laktoz ve su oranları artar (Tekinşen ve Nizamlıoğlu 2001). Kolostrum ve sütün bazı bileşenlerinin değerleri çizelge 1.1'de gösterilmektedir.

Kolostrumun yapısı daha çok kanın yapısını andırır. Bunun da fizyolojik açıdan önemi vardır. Daha çok yeni doğan yavrunun beslenmesine uygundur. Yüksek besleyici değeri yanında, bağışıklık maddelerin intikalinde rol oynar. Bileşimindeki madensel maddeler, özellikle magnezyum tuzları, kolostrumun laksatif bir etkiye sahip olmasını sağlar. Bu etki yavrunun bağırsaklarındaki mekonyumun atılmasını sağlar (Tekinşen ve Nizamlıoğlu 2001).

Çizelge 1.1 Kolostrum ve Süt Bileşenleri (Tekinşen ve Nizamlıoğlu 2001).

Değişken	**Kolostrum**	**Süt**
Özgül Ağırlık	1.056	1.032
Toplam Kuru Madde %	23.9	12.5
Yağ %	6.7	3.6
Toplam Protein %	14.0	3.2
İmmunoglobinler %	6.0	0.09
IgG %	3.2	0.06
Laktoz %	2.7	4.9
Kalsiyum %	0.26	0.13
Magnezyum %	0.04	0.01
Potasyum %	0.14	0.15
Sodyum %	0.14	0.15
Klorür %	0.12	0.07
Demir mg/100ml	0.2	0.05

İnek kolostrumunda bulunan immunglobülinlerin, insan sindirim kanalındaki sindirim enzimleri tarafından tahrip edilmesinden koruyan proteaz inhibitörlerini içerdiği saptanmıştır. Böylece bu immunglobunlinler bir değişikliğe uğramadan bağırsaklara geçmekte, mukozal alana yapışmakta ve yararlı etkiler göstermektedir (Warny ve ark 1999).

Kolostrum bazı büyüme faktörlerinin tek doğal kaynağıdır. Bu moleküller hastalıkların tedavisinde ve fiziksel performansı artırmada önemli aktiviteye sahiptirler. Sadece bebekler için değil çocuklar, yetişkinler ve sporcularında kullandığı bir gıda maddesidir. Herhangi bir ilaç ve gıda ile negatif interaksiyona girmeyen, toksik, alerjik olmayan özelliklere sahiptir. Kolostrumun bu üstün değerlerinden daha fazla yararlanmak amacıyla son yıllarda özel olarak üretilip satışa sunulan tablet, kapsül, toz, sıvı ve değişik gıda maddelerine ilave edilerek tüketime sunulmuş, sağlık yiyecekleri sınıfında yerini almıştır (Bayarer ve ark 2006).

1.3.1. Kolostrum Kullanımının Tarihçesi

Kolostrum, binlerce yıl önce Hindistan'da fiziksel ve psikolojik rahatsızlıkların tedavisinde kullanılmıştır. İskandinav ülkelerinde insanlar, yeni

doğan buzağının sağlığını kolostrum ve baldan yapılmış pudingi hazırlayıp yiyerek kutladıkları bildirilmektedir. 1799'da doktor Hufeland kolostrumun sütten farklı bir madde olduğunu yeni doğan yavruların hızlı gelişimini ve sağlıklı olmalarını sağladığını bildirmiştir. 19. yüzyılın sonlarında kolostrum ile ilgili birçok araştırma yapılmıştır. İkinci Dünya Savaşından sonra, antibiyotiklerin ve kimyasal ilaçların ortaya çıkmasından önce doğal antibiyotik özelliğinden dolayı kullanıldığı bilinmektedir. 1950'li yıllarda romatizmal eklem iltihaplanmasının tedavisinde kullanılmıştır. Çocuk felci aşısını bulan Albert Sabin, çocuk felci antikorlarını inek kolostrumundan izole etmiş ve 1962 yılında başarılı bir aşı geliştirmiştir (Sabin 1962, Pakkanen ve Aalto 1997, Uruakpa ve ark 2002).

Bu ilk çalışmalardan sonra dünya genelinde kolostrumla ilgili birçok araştırma yapılmıştır. Kolostrumun iyileştirici etkisi, bileşimi ve hastalıklarla savaşma yeteneği hakkında birçok bilgi verilmiştir. 1980'li yılların ortalarında rota virüsün neden olduğu diyareli çocukların inek kolostrumu ile başarılı bir şekilde tedavi edilmeleri kolostrumun iyileştirici gücünü ortaya çıkarmıştır (Davidson ve ark 1989).

Sonraki çalışmalar, kolostromun aynı zamanda enfeksiyonlu diyare ve özellikle immun sistemi zayıflayan kişilerde etkili olduğunu göstermiştir (Mitra ve ark 1995, Ungar ve ark 1990).

Son yıllarda kolostrum üzerine yapılan araştırmalar bağışıklık geliştirme, mide bağırsak sağlığı ve sporcu performansını artırmaya yönelik yapılmaktadır (Buckley ve ark 2002).

1.3.2. İnek ve İnsan Kolostrumunun Özellikleri

İnsanlar çok az miktarda kolostrum üretirken, inekler doğumdan sonraki ilk 36 saat boyunca yaklaşık 40 lt üretmektedir. Kolostrum immunglobülinleri, büyüme faktörlerini, antikorları, vitaminleri, mineralleri, enzimleri, aminoasitleri içermektedir (Pakkanen ve Aalto 1997).

İnsan kolostrumuna güvenli bir alternatifin inek kolostrumu olduğu, inek kolostrumunda bulunan immun ve büyüme faktörlerin hemen hemen insan kolostrumu ile aynı olup inek kolostrumunda immun faktörlerin 4 kat daha fazla olduğu bildirilmektedir. Çizelge 1.3'de, insan ve inek kolostrumların bileşimi verilmiştir (Sandholm ve ark 1980).

Çizelge 1.2 İnek ve İnsan Kolostrumlarının Bileşimi (Sandholm ve ark 1980).

BİLEŞİM	**İNSAN**	**İNEK**
% Yağ	1.45 – 4. 08	0.15 – 12.0
% Protein	8.6	21.32
% Albumin	-	5.06
% Globulün	20 – 25	18
%Mineral Maddeler	0.48	2.31

Gıda ingradienti olarak insan kolostrumu yerine inek kolostrumunun tercih edilmesinde 4 önemli faktör vardır. Bunlar;

1. İnek kolostrumunda bulunan immun ve büyüme faktörlerini moleküler yapısı insan kolostrumuna çok benzemektedir.

2. İnek kolostrumunda ki bazı faktörler, insan kolostrumuna göre daha yüksek düzeydedir. İnsan kolostrumu antibiyotiklere karşı dayanıklı birçok mikroorganizmaya karşı etkili olan IgG' yi sadece % 2 oranında içerirken, inek kolostrumu % 38 oranında içermektedir. Bu da mikroorganizmalarla savaşta antibiyotiklerin yetersiz kalması ve kolostrum kullanımının önemini ortaya çıkarmaktadır. İnek kolostrumu çocuklar ve yetişkinler için ideal bir gıda ingradienti olarak düşünülse de, bebekler için ilk tercih şüphesiz anne sütü ve kolostrumu olmalıdır.

3. İnek kolostrumunun kalitesi kontrol edilebilmektedir. İnekler kontamine olmamış, yüksek kalitede kolostrum üretimine izin veren kontrollü koşullarda yetiştirilebilirler, izlenebilirler ve beslenebilirler, Optimal ürün sağlamak için toplama ve üretim işlemleri düzenlenebilmektedir.

4. İnek kolostrumu, insan midesindeki sindirim suyunun, kolostrumdaki immun ve büyüme faktörlerini yok etmesinden koruyan glikoprotein ve tripsin inhibitörleri olarak adlandırılan özel bileşikleri içermektedir. Bu inhibitörler olmadan inek kolostrumunun insan vücudunda iyileştirici özelliğinin imkansız olduğu ifade edilmiştir (Davidson ve ark 1989, Kiecolt-Glaser ve Glaser 1991, Tacket ve ark 1992, Henderson ve Mitchell 2000).

İnsan kolostrumunun besin maddesi veya katkısı olarak kullanılmasının zorlukları vardır. Özellikle annelerden kolostrumun toplanmasının ahlaki ve etik olmadığı belirtilmektedir. Ayrıca insan kolostrumunun kalitesinin düzenlemenin çeşitli nedenlerle (annenin hamileliği boyunca sigara, alkol veya ilaç kullanması ve aktif tüberkülozun varlığı v.b.) zor olmasından dolayı her örneğin test edilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu yüzden inek kolostrumunun, insan kolostrumuna göre daha uygun bir seçim olacağı bildirilmiştir (Bayarer ve ark 2006).

1.3.3. Kolostrumda Bulunan İmmun ve Büyüme Faktörleri

Kolostrumda bulunan en önemli iki bileşen immun ve büyüme faktörleridir. İmmun faktörler yaşamın ilk haftalarında enfeksiyonlara karşı korumayı ve immuniteyi sağlamakta, büyüme faktörleri ise yeni doğanın büyüme ve gelişimini desteklemektedir (Bayarer ve ark 2006).

İmmun faktörler, bakterilerin, virüslerin, mantar, protozoa ve diğer hastalıklara neden olan mikroorganizmaların etkisini azaltan ve hastalıklardan koruyan, vücuda yardım eden maddelerdir. Kolostrum bu önleyici ve koruyucu faktörleri sağlayan tek gıda maddesidir. İnek kolostrumunda bulunan en önemli ve en yaygın immun faktörler immunglobulinler ve antikorlardır (Bayarer ve ark 2006).

İmmunglobulinler inek kolostrumunda ki temel aktif bileşenlerdir ve insanlarıda içine alan tüm memelilerde bulunmaktadırlar. İmmunglobulinler viral ve bakteriyel enfeksiyonların, alerjilerin hem tedavi hem de önlenmesinde üstün bir koruma sağlamaktadır. Kolostrumda IgA, IgD, IgE, IgG ve IgM olmak üzere 5 tip immunglobulin vardır. İnek kolostrumu en çok IgG'yi, az miktarda da IgA, IgD, IgE ve IgM içermektedir. Çizelge 1.3'te kolostrumda ki immunoglobulin fraksiyonlarının konsantrasyonunun normal süte göre daha fazla olduğu görülmektedir (Pakkanen ve Aalto, 1997; Uruakpa ve ark, 2002).

Çizelge 1.3 Kolostrum ve Normal Sütteki İmmunoglobulin Konsantrasyonu (gr/lt) (Pakkanen ve Aalto 1997)

İmmunoglobulin	Kolostrum	Normal Süt
IgG1	52.0 – 87.0	0.31 – 0.40
IgG2	1.6 - 2.1	0.03 – 0.08
IgA	3.2 – 6.2	0.04 – 0.06
IgM	3.7 – 6.1	0.03 – 0.06

Kolostrumda bulunan diğer immun faktörler; prolince zengin polipeptitler (Proline Rich Polypeptide-PRP), laktoferrin, sitokinler (lenfokin), lizozim ve laktoperoksidazlar, lökositler, peroksidaz ve ksantin oksidaz enzimleri, laktalbuminler, glikoproteinler ve tripsin inhibitörleri, oligopolisakkaritler ve glikokonjugatlardır (Tacket ve ark., 1992).

Büyüme faktörleri; kemiği, kasları, sinirleri, kıkırdağı inşa ederek, koruyarak ve onararak iyileştirme etkisini arttıran faktörlerdir. Ayrıca yağ metabolizmasını sitümüle eder, kan şeker seviyesini dengede tutar. Bunun yanı sıra ruhsal durumu kontrol eden, beyin kimyasallarının düzenlenmesine yardım eden bileşikleri içermektedir. Büyüme faktörleri ayrıca yaşlanma belirtileri geciktirir, kırışıklıkları azaltır ve derinin daha genç görünmesini sağlar. Çizelge 1.4'de kolostrum ve normal sütte bulunan bazı büyüme faktörlerinin düzeyleri görülmektedir (Pakkanen ve Aalto 1997, Uruakpa ve ark 2002).

Çizelge 1.4 Kolostrum ve Normal Sütteki Büyüme Faktörleri Konsantrasyonu (µg/lt) (Pakkanen ve Aalto 1997)

Büyüme Faktörü	Kolostrum	Normal süt
IGF 1	50 – 2000	<10
IGF 2	200 - 600	<10
$TGF\beta_1$	iz	4.3
$TGF\beta_2$	iz	İz
EGF	iz	< 2

Kolostrumda bulunan büyüme faktörleri insülin benzeri büyüme faktörü 1 ve 2 (IGF 1-2) , epidermal büyüme faktörü (EGF), fibroplast büyüme faktörü (FGF), dönüştürücü büyüme faktörleri (TGF) , trombosit büyüme faktörü (PDGF) 'dür (Pakkanen ve Aalto 1997, Uruakpa ve ark 2002).

1.3.4. Vitaminler ve mineraller

Vitamin ve mineraller normal metabolizma, büyüme ve gelişim için en önemli besin unsurlarıdır. Vücudun her tarafında koenzim olarak hareket ederler. Kolostrumda fazlasıyla C, E ve A vitaminleri mevcuttur. Bu vitaminler, kolostrumun vücutta bir antioksidan gibi hizmet vermesini sağlar (Ahmed ve ark 2004).

1.3.5. Kolostrumun Sağlık Üzerine Etkileri

Kolostrumun besleyici öğeler açısından zengin olduğu kadar spesifik fonksiyonlar üzerine de etkili olan bir çok biyolojik aktif maddeyi yapısında bulundurduğu bilinmektedir. Bu nedenle immun sistemi güçlendirmesi, hücre gelişimini teşvik etmesi, dokuları onarması gibi etkileri ile sağlığı koruyan bir gıda olduğu belirtilmiştir (Bayarer ve ark 2006).

İnek kolostrumunun insanlarda çeşitli hastalıkların tedavisi ve önlenmesinde önemli rollere sahip olduğu gösterilmiştir. Anneden geçen pasif bağışıklığın, çocuklarda çeşitli diyaretik rahatsızlıkların tedavisine ve önlenmesine yardımcı olabildiği belirtilmiştir. Antioksidan ve yaşlanmayı geciktirici özellikleri de, yaşın getirdiği çeşitli problemlerle başa çıkmada yardımcı olmaktadır. Kolostrumun çeşitli mukozal, deri ve kas zedelenmelerinin iyileştirilmesinde ve gelişmesinde de yardımcı nitelikte olduğu bildirilmiştir (Thapa 2005).

İnsan sağlığını tehdit eden unsurların başında mikroorganizmalar gelmektedir. Özellikle antibiyotiklere karşı kısmen ya da tamamen dirençli olan mikroorganizmalar artarak halk sağlığını tehdit etmektedir. Bunun yanında sigara, toksinler, pestisitler, radyasyon ve egzoz dumanı gibi çevresel faktörlerde sağlığı tehdit eden diğer unsurlardır. Bu faktörler özellikle immun sistemi zayıf kişiler için daha da tehlikelidir. Kolostrumun gerek mikroorganizmalara gerekse de çevresel

faktörlere karşı vücudu koruyabileceği, antibiyotiklere dirençli mikroorganizmalara karşı etkili olabileceği belirtilmiştir (Bayarer ve ark 2006).

Kanser, genel özelliği kontrol edilemeyen anormal hücre büyümesi olan bir hastalıktır. Kalıtım, sigara, çevresel toksinler, fazla güneş ışığı, pestisitler, alkol, virüsler gibi birçok farklı faktör bu hücre büyümesine neden olmaktadır. Kolostrum, immun sistemi artıran ve bu risk faktörlerinin neden olduğu zararı önlemeye yardımcı olan maddeleri sağlamaktadır. Kolostrumda bulunan immun faktörlerin kanser konusunda olumlu sonuçlar verdiği gösterilmiştir (Tokuyama ve Tokuyama 1993, Henderson ve Mitchell 2000).

Kolostrum büyümeyi sağlar, rejenerasyona yardım eder, orijinal kas, deri, kollajen, kemik, kıkırdak ve sinir dokularının onarımını hızlandırır. Büyüme faktörleri aktivite esnasında vücutta enerji için yağın yakılmasını sağlar. Aynı zamanda yanık olaylarında, yaralanmalarda ve deri gençleştirmesinde de kolostrumun etkili olduğu bildirilmiştir (Bhora ve ark 1995).

1.3.6. Kolostrumun Taşıması Gereken Özellikler

Kolostrum, ilaçlar, gıda veya ek gıdalar ile hiçbir negatif interaksiyona girmeyen, toksik ve alerjik olmayan bir gıda katkısıdır. Kolostrumun taşıması gereken özellikler şöyle sıralanabilir (Henderson ve Mitchell 2000).

- Alınan herhangi bir kolostrum ürünü tamamen suda çözülebilir olmalı ya da suda çözülebilir kolostrum içermelidir.
- Soğutulmuş olmalı ancak dondurulmuş olmamalıdır.
- Zorunlu olmamakla birlikte tercihen merada beslenen ve hormonlar, ağır metaller, pestisidler ve antibiyotikleri içermediği sertifikalanan ineklerden elde edilmelidir.
- İneklerin ikinci doğumundan sonra ilk beş günlük sütlerinden toplanan sütler tercih edilmelidir.
- Filtre ve homojenize edilmiş kolostrumlar, pastörize edileceği zamanda özellikle uzun zincirli proteinlerin (immunglobulinlerin) parçalanmasının en az düzeyde olması için minimum sıcaklık ve süre tercih edilmelidir.

- Kolostrumun *Salmonella* ve *E.coli* gibi hastalık yapıcı patojenlerin bulunmadığı akredite bir laboratuvarda test edilmelidir.
- Yeterli sayıda faydalı bağırsak bakterisinin kanıtı için akredite bir laboratuvarda test edilmelidir.
- Raf ömrünü arttırmak için yağdan arındırılmış olmalıdır.
- Akredite ve gıda güvenliği şartlarını yerine getiren bir süt işletmesi tarafından toplanmalı ve işlenmelidir (Henderson ve Mitchell 2000).

1.3.7. Kolostrum Tüketimi

Kolostrumdan en fazla yararın sağlanacağı miktarı kişiye göre değişiklik göstermektedir. Koruma ihtiyacı için birçok yetişkinin günde 2 kez 3 kapsül (480–500 mg her bir kapsül) veya mg olarak aynı miktarda kapsül-toz kombinasyonu tüketebileceği bildirilmiştir. Kolostrum her zaman boş mideye (genellikle yemek yedikten en az 2 saat sonra) ve mümkün olduğunca hızlı bir şekilde kolostrumun bağırsaklara ulaşması için 250–350 ml su ile tüketilmelidir. Kolostrum alındıktan sonra 20 dakika başka bir gıda tüketilmemesi gerektiği önerilmiştir. Kolostrum kullanımında istenilen sonuçları elde edinceye kadar dozun azar azar arttırılıp, sonuç alındığında da o dozda kalınması gerektiği bildirilmiştir. Çocukların ise kolostrumu yaşı ve vücut ağırlığı ile orantılı olacak dozda tüketmeleri, ifade edilmiştir (Henderson ve Mitchell 2000).

1.3.8. Kolostrumun Kullanım Şekilleri

Kolostrumun ticari olarak farklı formları özellikle Amerika Birleşik Devletleri, Kanada, Japonya ve Avrupa Birliği ülkelerinde kullanılmaktadır. Ancak bu formların her şekli aynı optimal faydayı sağlamayabilmektedir. Kolostrumun kapsül, tablet, toz ve sıvı şeklindeki formları ticari olarak üretilip, tüketime sunulduğu bildirilmektedir (Henderson ve Mitchell 2000).

Kolostrum kapsülleri farklı şekillerde bulunmaktadır. Kapsüller tatsız ve kokusuzdur. Su ile yutulabilmektedir. Kolostrum formları arasında en çok üretilen formu tablet şeklidir (Bayarer ve ark 2006).

1.3.9. Kolostrum Kullanımının Yan Etkileri

Kolostrumu kullanan kişilerde çok önemli bir yan etkiye rastlanmamıştır. Baş ağrısı, kas ağrısı veya kaşıntı gibi geçici belirtiler rapor edilmiş, bu belirtilerin çoğunlukla bir iki gün sonra ortadan kalktığı bildirilmiştir. Kanser, tiroid ve immun sistem hastalıklarında kolostrumun, hastalığın gidişine etki edebileceği için doktor kontrolünde alınması tavsiye edilmiştir (Henderson ve Mitchell 2000).

1.3.10. Kolostrumun Sporcularda Kullanımı

Sporcu beslenmesinde protein alımı oldukça önemlidir. En çok kullanılan proteinlerin başında süt proteinleri gelmektedir. Kas ve vücut gelişmesinde oldukça önemlidir. Kolostrum son yıllarda özellikle atletler tarafından iyi bir protein kaynağı, immun sistemi takviye eden ve yarışmalarda stresi azaltan faktör olarak kullanılmaktadır. Yapılan araştırmalar sonucunda özellikle atletler başta olmak üzere vücut geliştirme sporcuları, bisikletçiler, hokeyciler gibi dayanıklılık gerektiren sporlarla uğraşan kişilerde kolostrum kullanılması tavsiye edilmektedir (Antonio ve ark 2001, Buckley ve ark 2002).

Sporcular kolostrumdan en fazla faydayı gören bireylerdir. Sporcularda yüksek düzeyde bir antremandan sonra, immun sistem T-hücreleri ve doğal öldürücü hücrelerin üretimi geçici olarak azalmaktadır. İmmun sistemdeki bu durum birkaç saat sonra son bulmakta ve ardından sistem önceki durumuna geri dönmektedir. Bazı sporlardaki antrenman sistemi sporcuları bu döngünün içine sokmakta, hasta olma olasılıkları da artmaktadır. Bu koşullarda kolostrum, fırsatçı patojenlere karşı vücudun zor duruma düşmesini önlemektedir. Özellikle kas gelişiminin aşırı gerekli olduğu sporlarda bu soruna daha sık rastlanmaktadır. Bu tip antrenmanlarda sporcular her zaman yağlarını yakmanın, kasları yapılandırmanın ve kuvvet kazanmanın yolunu aramaktadırlar. Kolostrum IGF-1 ve 2'yi içeren büyüme faktörleri ve büyüme hormonları sayesinde bunu gerçekleştirebilmektedir (Francis 1986).

Kolostrumdaki IGF-1 kan glukoz alımını artırır ve enerji seviyesini yüksek tutmayı sağlayan glukozun kaslara iletilmesini kolaylaştırır. Yoğun antrenmanlar ve

müsabakalardan sonra oluşan protein yıkımını yavaşlatmaktadır. Yağ depolanmasında artış olmadan yağ dışı kas kütlesi ile sonuçlanan protein sentezini hızlandırmaktadır (Antonio ve ark 2001, Kıvrak ve Uçar 2012).

Kolostrumun sporcularda; güç ve dayanıklılığı artırdığı, yağ dışı kas kütlesini desteklediği, vücuttaki yağı yaktığı, yoğun çalışmadan sonra düşen bağışıklık seviyesini yükselttiği, iyileşme süresini kısalttığı ve yaraların iyileşmesini hızlandırdığı bildirilmiştir (Sparling ve ark 1993, Antonio ve ark 2001, Buckley ve ark 2002).

Kolostrum kullanımının sporcularda güç ve dayanıklılığa etkileri araştırmalarla ortaya konmuştur. Kuipers ve ark (2002), kolostrum kullanılmasının özellikle atletizm sporcularında performansı artırdığını bildirmişlerdir.

İnek kolostrumu kullanılmasının atletik performans üzerindeki etkilerini test eden çalışmada destek periyodunun en az 8 hafta olması gerektiği bildirilmiştir. Atletizm ile uğraşan sporcular üzerinde yapılan çalışmada uzun süreli inek kolostrumu takviyesinin fiziksel performansı ve dayanıklılığı arttırdığını ifade etmişlerdir (Buckley 2002, Coombes ve ark 2002).

Leppäluoto ve ark (2000), yaptıkları bir deneysel çalışmayla, genç sporcularda kolostrum takviyesinin koşma ve atlama performansını geliştirdiğini belirtmişlerdir. Kolostrum kullanımının sporcularda ağır eğitim dönemlerinde yararlı olduğunu ifade etmişlerdir.

Kolostrum, yeni doğan hayvanlarda, iskelet kas protein sentezini canlandıran bir besin maddesi olarak gösterilmektedir ve inek kolostrumunun yetişkin insanlarda da benzer etkiyi gösterebileceği ifade edilmiştir (Burrin ve ark 1995).

Kolostrumun kas gelişimine yardım ettiği, özellikle insülin benzeri büyüme faktörleri, büyüme hormonları ile bu özelliği sağladığı bildirilmektedir. İnek kolostrumu, insan kolostrumuna göre daha fazla IGF-1 içerdiğinden vücut geliştirme sporu yapanlar, atletler ve kas kitlesini artırmak için çalışan sporcuların kolostrum kullandıkları belirtilmiştir (Antonio ve ark 2001).

İnek kolostrumu takviyesinin kas fonksiyonu, performans kapasitesi ve fiziksel olarak aktif insanların sağlık durumları üzerinde pozitif etkileri olduğu, yağ dışı vücut kütlesini arttırabildiği ve egzersiz performansını geliştirebildiği belirtilmiştir (Mero ve ark 2002, Buckley 2002).

1.3.11. Kolostrumun Amino Asit İçeriği

Kolostrumun içeriği, normal süt içeriği ile karşılaştırıldığında; esansiyel aminoasitler ve dallı zincirli aminoasitler açısından zengin bir kaynak olduğu gösterilmiştir. Zanker ve ark.(2000), kolostrum ve sütte bulunan serbest amino asit konsantrasyonlarını analiz etmişlerdir (Tablo1.1). Kolostrum ve olgun sütte bulunan dallı zincirli amino asit konsantrasyonları karşılaştırıldığında, kolostrumda valinde yaklaşık 4 kat, lösin ve izolösinde ise yaklaşık 3 kat yükseklik görülmüştür.

	Kolostrum					
	1.Gün	2.Gün	3.Gün	4.Gün	5.Gün	Olgun Süt
Lys	n.m.	4.5	3.5	3.2	3.2	3.3
Met	6.0	5.9	3.7	3.6	3.2	n.m.
Phe	9.7	7.1	5.6	3.6	n.m.	3.4
Thr	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.
Trp	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.
Val	46.5	36.8	28.2	21.4	17.7	11.6
Leu	23.7	15.1	11.1	7.1	6.3	6.0
Ile	19.1	13.3	9.4	7.3	6.4	6.8
His	n.m.	n.m.	357.9	246.1	182.3	130.7
Arg	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	7.2
Total EAA	105.0	82.7	419.4	292.3	219.1	169.0
Gln	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	16.0
Glu	10.0	71.5	79.1	80.8	80.1	108.6
Ala	55.6	177.7	266.2	77.9	467.2	66.2
Tyr	9.0	6.5	5.5	5.0	3.3	4.6
Asn	6.8	8.8	10.6	11.9	11.7	15.0
Asp	15.0	23.8	26.5	24.1	18.7	13.2
Ser	n.m.	n.m.	18.8	16.5	13.8	15.2
Cys	26.4	34.0	18.4	15.5	19.1	n.m.
Tau	193.7	299.0	304.0	260.8	190.1	15.6
Gly	56.3	125.7	230.2	254.0	240.0	46.0
Orn	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.
Pro	56.4	55.4	50.9	44.3	37.3	31.2
OH-Pro	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.
Total NEAA	429.2	802.4	1010.2	790.8	1081.3	331.6

Şekil 1.1 Kolostrumda bulunan amino asit içeriği (Zanker 2000).

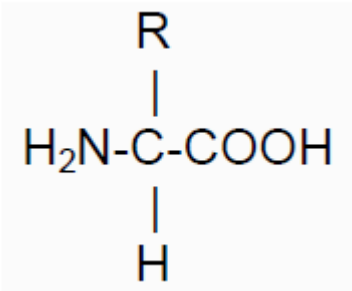
1.4. Amino Asitlerin Genel özellikleri

Proteinler, DNA tarafından kodlanan 20 farklı α-amino asitten meydana gelen, lineer ve dallanmamış polimerlerdir. Proteinlerin enzimatik kataliz, hormonal

düzenleme, taşıma ve depolama, kasılma, deri ve kemiklerin yapıtaşını oluşturma ve immün savunma gibi çok önemli işlevleri vardır (Secreto ve ark 1990).

Amino asitler, proteinlerin monomerik birimleri veya yapıtaşlarıdır ve peptid bağlarıyla birbirlerine bağlanırlar. Doğada 300'den fazla amino asit tanımlanmış olmasına rağmen, memeli proteinlerinin yapısında sadece 20 tanesi bulunmaktadır. Prolin dışındaki her bir amino asitin α-karbon atomuna bağlı bir karboksil, bir amino ve bir de belirleyici yan zincir grubu (R grubu) bulunur (Secreto ve ark 1990 ,Stryer 1995).

Amino asitler molekülünde hem amin grubu ($–NH_2$), hem de karboksilik asit grubu (–COOH) bulunan organik bileşiklerdir. Bir amino asit genel olarak şekil 1.2'deki gibi gösterilebilir (R= çeşitli fonksiyonel gruplar). Proteinlerde bu karboksil ve amino gruplarının tamamı peptid bağının yapısında yer alır ve genellikle kimyasal reaksiyonlara girmez. Bu nedenle, bir amino asitin, bir proteinin yapısında oynadığı rol yan zincirin özelliklerine göre belirlenir ve sınıflandırma da yine buna göre yapılır (Tüzün 1998).



Şekil 1.2 Amino asitlerin genel yapısı

1.4.1. Amino Asitlerin Sınıflandırılması

Amino asitler, farklı ölçütlere göre sınıflandırılırlar (Erdik ve Sarıkaya 2004).

A. Moleküllerinde bulunan amino ve karboksil grupları sayısına göre:
    1. Monoamino monokarboksilik asitler
    2. Monoamino dikarboksilik asitler
    3. Diamino monokarboksilik asitler
    4. Diamino dikarboksilik asitler

B. Moleküllerinde bulunan zincir ve halka yapıları esas alınarak:

1. Alifatik amino asitler

Alifatik amino asitler, zincir şeklinde yapıları olan amino asitlerdir. Bu gruptaki amino asitler 4 alt grupta incelenirler:

a) Nötral Amino Asitler

Çözelti halinde nötr reaksiyon gösteren amino asitlerdir.

b) Asidik Amino Asitler ve Bunların Amitleri

Aspartik asit ve glutamik asit, çözelti halinde asidik davranan amino asitlerdir. Bunların karboksil gruplarından birisindeki –OH grubu yerine $–NH_2$ grubunun girmesiyle amitleri oluşur. Asparajin, aspartik asidin; glutamin, glutamik asidin amitidir. Gerek asparajin ve gerekse glutamin nötral amino asitlerdir.

c) Bazik Amino Asitler

Çözelti halinde bazik reaksiyon gösterirler.

d) Kükürt İçeren Amino Asitler

2. Aromatik amino asitler

Aromatik amino asitler, yapılarında benzen halkası bulunan amino asitlerdir.

3. Heterosiklik amino asitler

Heterosiklik amino asitler, yapılarında heterosiklik halka bulunan amino asitlerdir.

C. Çözelti halinde asit, baz veya nötr tepkime göstermeleri esas alınarak:

1. Asidik amino asitler
2. Bazik amino asitler
3. Nötral amino asitler

D. Amino asitlerin yan zincirinin kimyasal özellikleri esas alınarak:

1. Apolar yan zinciri bulunan amino asitler
2. Yüksüz polar yan zinciri bulunan amino asitler
3. Yüklü polar yan zinciri bulunan amino asitlerdir.

Amino asitlerin kimyasal yapısının ilk olarak açıklanması 1806 yılındadır. Son olarak da, 1938'de treonin saptanmıştır. Amino asitlerin her birinde şekil, büyüklük, çözünebilirlik ve elektrokimyasallık gibi ayırıcı özellikleri sağlayan farklı yan zincirler bulunmaktadır. Vücutta sentezlenemeyen, diyetle alınması gerekli olan amino asitlere "esansiyel amino asitler" denilmektedir. Bu amino asitler; histidin, lösin, izolösin, valin, lizin, triptofan, treonin, metionin, fenilalanindir. Esansiyel olmayan olmayan amino asitler ise; alanin, arginin, asparagin, aspartik asit, sistein,

glutamik asit, glutamin, glisin, prolin, serin, tirozindir. Diyetle alınan amino asitler içinde %20-30 kadarını dallı zincirli amino asitler (lösin, izolösin, valin) oluşturmaktadır. Dallı zincirli amino asitler (BCAA), diğer amino asitlerden farklı olarak bağırsak ve karaciğerde metabolize olmazlar. BCAA'lar iskelet kası, kalp, adipoz doku ve böbrek gibi periferal dokulardaki protein sentezi için gereklidir (Whitney ve Rolfes 1996).

İnsan vücudu tahmini olarak 10 bin ile 50 bin kadar farklı protein içermekte ve bunların yaklaşık 1000 kadarı üzerinde çalışma yapılmaktadır. Her insan vücut yapılarındaki protein dizilişlerinin ve yapılarının farklı olması sebebiyle tek ve benzersizdir ve bu durum genetik ile açıklanmaktadır (Whitney ve Rolfes 1996).

Büyüme, yapım ve onarımda rol alan proteinler, dokuda ana yapıda yer almalarının yanı sıra vücutta düzenleyici rol oynamaktadırlar. Proteinler, vücutta farklı şekillerde bulunmakta ve fonksiyonları aşağıdaki şekilde özetlenebilmektedir:

1. Büyüme ve var olan yapıyı korumada: Deri, tendonlar, zarlar, kaslar, organlar ve kemiklerin yapısında bulunan, büyümeyi ve dokuların onarımını sağlayan proteinlerdir.
2. Enzimlerin yapısında: Kimyasal reaksiyonları katalize eden proteinlerdir.
3. Hormonların yapısında: Vücuttaki işlevleri düzenleyen proteinlerdir.
4. Antijenler: Yabancı maddeleri etkisiz hale getiren proteinlerdir.
5. Sıvı ve elektrolit dengesinin sağlanmasında: Vücut sıvılarının bileşimini ve sıvı hacminin kontrolünü sağlamaktadır.
6. Asit-baz dengesinin sağlanmasında: Proteinler tamponlayıcı etki göstererek asit-baz dengesini sağlamaktadır.
7. Taşıyıcı olarak: Vücutta lipidler, vitamin-mineraller ve oksijen gibi maddeleri taşıyan proteinlerdir (örn. lipoproteinler, hemoglobin).
8. Enerji kaynağı olarak: Proteinler vücudun enerji gereksiniminin arttığı ve uzun açlık dönemlerinde yakıt olarak kullanılabilmektedir (Whitney ve Rolfes 1996).

1.4.2. Protein ve Amino Asit Metabolizması

Amino asit yıkımının ilk aşaması transaminasyon ve glutamatın oksidatif deaminasyonu ile α-amino gruplarının ayrılması sonucunda amonyak serbestleşmesi ve α-ketoasit oluşumunu kapsar. Serbest amonyak büyük oranda üre sentezi için kullanılır, az bir kısmı idrarla atılır. İkinci aşamada, α-ketoasitlerin karbon iskeletleri, CO_2, su, glukoz, yağ asidi veya keton cisimlerine metabolize olabilen ara ürünlere dönüşür (Rodwel 1993).

Başlıca görevi enerji sağlamak olan karbonhidratlar ve triaçilgliserollerin aksine, proteinlerin öncelikli görevi, biyosentez reaksiyonlarında, özellikle doku proteinlerinin sentezinde görev almaktır. Yakıt olarak kullanımları ikincil önemdedir. Besinlerle gelen amino asitler özellikle esansiyal amino asit içerikleri bakımından değerlidir. Fazla miktarda alınan amino asitler, triaçilgliserol veya glikojen gibi depo edilmez. Bunların, karbon iskeletleri glukoz veya yağa, amino grupları da amonyağa çevrilir (Rodwel 1993).

Sağlıklı ve uygun beslenen bir erişkinin, idrar, deri ve gaita ile kaybettiği günlük azot miktarı, günlük toplam alınan azot miktarına denkse, azot dengesi söz konusudur. Azot kaybı, alımdan fazlaysa negatif azot dengesi söz konusudur. Bu durum doku kaybı olan hastalıklar ve açlıkta olur. Vücut proteinlerinin kaybı toplamın 1/3'üne ulaşırsa ölümcül olur. Azot kazancı kayıptan fazlaysa pozitif azot dengesi söz konusudur. Büyüme çağındaki çocuklarda böyledir. İnsülin ve tiroid hormonları da pozitif azot dengesini desteklerler. Azotun vücutta başlıca kaynağı beslenmeyle alınan amino asitlerdir. Atılımı ise, üre, amonyak ve amino asit metabolizmasının diğer metabolitleri şeklinde olur (Stryer 1995).

Besinlerle veya doku proteinlerinin yıkımından gelen, ya da de novo sentez ile de amino asitler, vücutta dağılmış olan diğer serbest amino asitlerle karışarak 100 gr kadar amino asit içeren amino asit havuzunu oluştururlar. Metabolizma ve protein dışı moleküllerin sentezinde de kullanıldıklarından, amino asitlerin hepsi protein sentezinde kullanılamaz. Bu nedenle besinlerle de amino asit alınması gerek-mektedir (Rodwel 1993).

Organizmada bulunan dinamik amino asit havuzuna amino asitlerin katılımı üç yolla sağlanmaktadır. Bunlar besinlerle protein alınımı, esansiyel proteinlerin hidrolizi ve esansiyel amino asit sentezi ile olur. Gelişmiş canlılarda 20 amino asidin sentezinin ancak bir kısmı de novo sentez ile olmaktadır (Stryer 1995).

Piruvat ve sitrik asit döngüsünün ara maddeleri glikoneogenez ile glukoza dönüşebildikleri için bunları oluşturan amino asitlere glikojenik amino asitler denilmektedir. Bu amino asitler prolin, histidin, metiyonin, arginin, aspartik asit, asparagin, glutamik asit, glutamin, sistein, treonin, serin, alanin, valin ve glisindir. Asetil KoA ve asetoasetat üzerinden yağa dönüşebilen amino asitler ketojenik amino asitler olarak adlandırılır. Bu amino asitler lösin ve lizindir. İzolösin, fenilalanin, triptofan ve tirozin hem ketojenik hem de glikojenik karakterli amino asitlerdir (Secreto ve ark 1990, Stryer 1995).

1.4.3. Dallı Zincirli Aminoasitler

Valin, lösin ve isolösin, bağlı moleküler dizilişe sahip protein zinciri ile dallı zincirli aminoasitleri oluştururlar. Dallı zincirli amino asitler, özellikle kaslar, yağ dokusu, böbrek ve beyin dokusunda yakıt olarak okside olurlar. Bunlar kas proteinin 1/3'ünü oluşturur ve protein sentezi metabolizmasında önemli rolleri bulunmaktadır. Dallı zincirli amino asitler, hem açlıkta beyine enerji sağlarlar, hem de toklukta kaslar tarafından tutulup, kaslarda enerji ve azot kaynağı olurlar (Onat 2002).

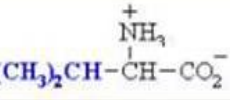
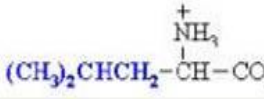
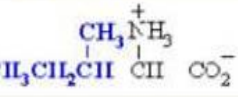
BCAA metabolizması hem sitoplazma hem de mitokondri içinde oluşur. Esansiyel amino asitlerden olan lösin, isolösin ve valin nötral alifatik amino asit grubundan olup yan zincir olarak metil grubu taşıdıkları için dallı zincirli amino asit adını alırlar (Chuang ve Shih 1995).

Valin: Proteinlerin hidrolizlenmesiyle elde edilen bir aminoasittir. İlk kez 1901'de Alman kimyacı Emil Fischer tarafından kazeinden elde edilmiştir. Valin, stimülan etkilere sahip olup eksikliğinde vücutta negatif hidrojen dengesi oluşur. Valin, lösin ve isolösin ile birlikte daha iyi kas metabolizması, doku onarımı ve azot dengesi temini için kullanılır. Memelilerde vücutta sentezlenemediğinden besinlerle

alınması gereken esansiyel aminoasitlerden biridir. Bitkilerde ve mikroorganizmalarda pürivik asitten sentezlenir (Devlin 1993).

Lösin: Bazı proteinlerin hidroliziyle elde edilen bir aminoasittir. İlk kez 1819'da kas liflerinde ve yünde bulunmuştur. Lösin yükselmiş olan kan glukoz seviyesini düşürür. Daima isolösin ve valin ile birlikte dengeli bir şekilde alınmalıdır. Bu önemli amino asit kemiklerin, cilt ve kas dokusunun iyileşmesinde rol oynar. Hemoglobinin yapısında yer alan (yaklaşık %15) bu aminoasit insanların, kümes hayvanlarının ve memelilerin vücutlarında sentezleyemedikleri, bu nedenle yiyeceklerden almak zorunda oldukları esansiyel aminoasitlerden biridir. Buna karşılık bitkiler ve mikroorganizmalar pirüvik asitten lösini sentezleyebilirler (Deyi ve ark 1986).

İzolösin: Birçok proteinin yapısına giren aminoasittir. Kas dokusunda metabolize edilir. Daima lösin ve valin ile birlikte dengeli halde alınmalıdır. Eksikliğinde hipoglisemiye benzer semptomlar oluşur. İlk kez 1904'te fibrinden elde edilen izolösin, kuş yavrularının, üstün yapılı hayvanların ve insanların vücutlarında sentezleyemedikleri, bu nedenle yiyeceklerden almak zorunda oldukları esansiyel aminoasitlerden biridir. Buna karşılık mikroorganizmalar ve bitkiler treoninden izolösini sentezleyebilirler (Devlin 1993).

Valine	Val (V)	
Leucine	Leu (L)	
Isoleucine	Ile (I)	

Şekil 1.3 Dallı zincirli amino asitlerin genel formülü

1.4.4. Absorbsiyon sonrasında organlar arasında amino asit alış- verişi

Öğünler arasında, dolaşımdaki plazma amino asitlerinin konsantrasyonlarının sabit koşullarda sürdürülmesi endojen protein depolarından salıverilme ile çeşitli dokular tarafından kullanılma arasındaki dengeye bağlıdır. Total vücut serbest amino

asit havuzlarının %50 sinden fazlasının ortaya çıkışından kaslar sorumlu iken karaciğer, azotlu atıkların atılması için gerekli üre döngüsü enzimlerinin bulunduğu yerdir. Böylelikle, kaslar ve karaciğer amino asitlerin dolaşımdaki düzeylerinin ve dönüşümlerinin belirlenmesinde temel görev yaparlar (Murray ve ark 1990).

Kaslar: Alanin ve glutamin, kas dokusundan salıverilen total α-amino asit azotunun %50'sinden fazlasından sorumludur. Kaslar, dolaşımdan sürekli ama küçük miktarlarda serin, sistein ve glutamat alırlar.

Karaciğer ve Bağırsaklar: Kaslar tarafından salınan alanin ve glutamini plazmadan alırlar. Alanin karaciğerde glutamin ise bağırsakta tutulur. Bağırsaklarda glutaminin amino gruplarının çoğu, alanin ya da serbest amonyak olarak salınır.

Böbrekler: Serin salıverilmesinin ana kaynağıdırlar. Küçük miktarlarda da alanin salıverirler. Dolaşımdan glutamin, prolin ve glisin alırlar. Böylelikle amino asitlerin çoğunun periferik kaslardan dışa verilmeleri ile splanknik dokular tarafından tutulmaları arasında oldukça yakın bir ilişki vardır.

Beyin: Beynin valini tutması, diğer bütün amino asitlerden fazladır. Dallı zincirli amino asitleri okside etme yeteneği, kas ve karaciğerden dört kat fazladır. Absorpsiyon sonrası kastan dallı zincirli amino asitler salınsa da karaciğer tarafından çekilmezler ve bu nedenle olasılıkla bu amino asitlerin primer kullanım yerleri beyindir.

1.4.5. Toklukla dallı zincirli amino asitlerin organlar arası değiş tokuşu

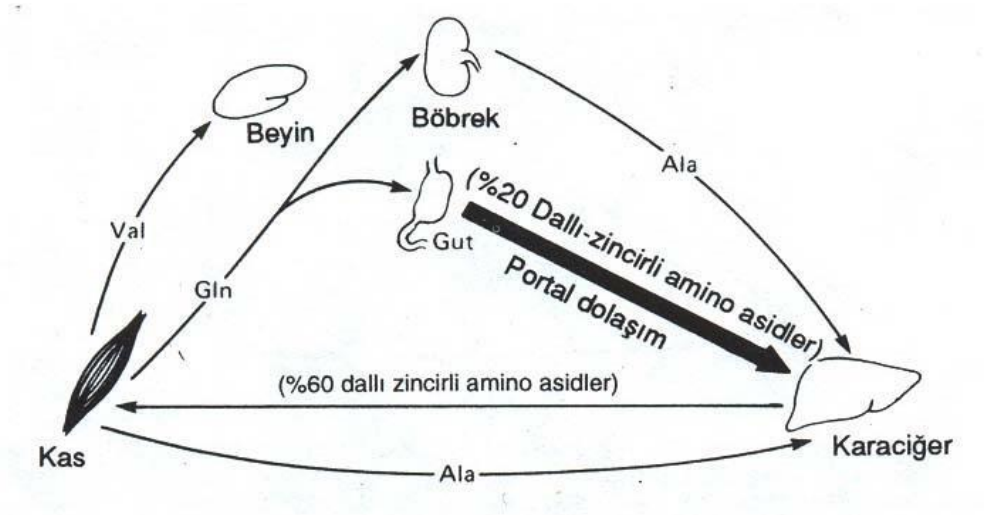
Proteinden zengin bir yemek yendikten sonra, splanknik dokular, büyük miktarda amino asitleri, baskın olarak dallı zincirli amino asitleri salıverirken periferal kaslar, amino asitleri yine baskın olarak dallı zincirli amino asitleri, alıp tutarlar. Karaciğerden dolaşıma geçerek kas dokusu tarafından alınan amino asitlerin %60' ı da dallı zincirli amino asitlerdir (Freund ve ark 1978). Beslenmeye yanıt olarak, kasta okside olabilen dallı zincirli amino asitler, olasılıkla pirüvatın alanine transaminasyonunda, temel amino grubu vericisi olarak iş görür. Dallı zincirli

amino asitler insan organizmasının ihtiyaç duyduğu toplam amino asit miktarının % 40-45'ini oluşturur (Skeie ve ark 1990).

Dallı zincirli amino asitlerin azot metabolizmasında özel bir rolü vardır; açlıkta beyne bir enerji kaynağı sağlarken, toklukta karaciğerin aldığının dışında kalan kısmı, en çok kaslar tarafından çekilip alınır. Kasta bunlar, azot ve enerji kaynağı olarak kullanılır (Freund ve ark 1978).

Dallı zincirli amino asitlerin metabolik özellikleri ve etkileri yönünden göze çarpan üç önemli ve özgün özelliği vardır (Skeie ve ark 1992). Birinci olarak, başlangıç metabolizmaları karaciğerden çok kas dokusunda meydana gelir. Bu durum kas dokusunun kendisinden çok, vücuttaki diğer doku ve organlar için daha önemli olabilir. İkinci özellikleri, dallı zincirli amino asitlerin, protein sentezinde prekürsör olarak rol almalarının yanı sıra başka özel mekanizmalarla protein döngüsü hızını da düzenleme özelliğine sahip olmalarıdır. Lösin protein döngüsü hızını düzenlemede önemli rol almaktadır. Dallı zincirli amino asitlerin üçüncü özellikleri ise beyne aromatik amino asitlerle aynı taşıyıcıyı kullanarak geçmeleridir. Bu durum dallı zincirli amino asitlerin beyne geçişte aromatik amino asitler ile yarışmasına neden olur. Sonuç olarak aromatik amino asitlerden sentezlenen bazı nörotransmitterlerin sentez hızı ve dolayısıyla bu nörotransmitterlerin beyin düzeylerini etkileyebilir. Bu yolla dallı zincirli amino asitler davranışı etkileyebilirler (Skeie ve ark 1990).

Sepsis ve travma gibi organizmanın stres altında kaldığı durumlarda kas dokusunun yağ ve karbonhidratları enerji kaynağı olarak kullanma yeteneği azalır ve bu da protein yıkımıyla sonuçlanır (Lopes ve ark 1982, Clowes ve ark 1983). Organizma stres altındayken karaciğerde protein sentezi artar, ancak tüm vücuttaki protein yıkım hızı sentez hızını aştığından net etki protein yıkımının artması şeklinde ortaya çıkar (Cerra 1989). Proteinlerin yıkılmasıyla dolaşımdaki dallı zincirli amino asitlerin düzeyi düşerken aromatik amino asitlerin düzeyi artmaktadır (Cerra 1992). Bu da dallı zincirli amino asitlerin stres durumunda kas dokusu tarafından enerji kaynağı olarak kullanıldığını göstermektedir (Freund ve ark 1978).

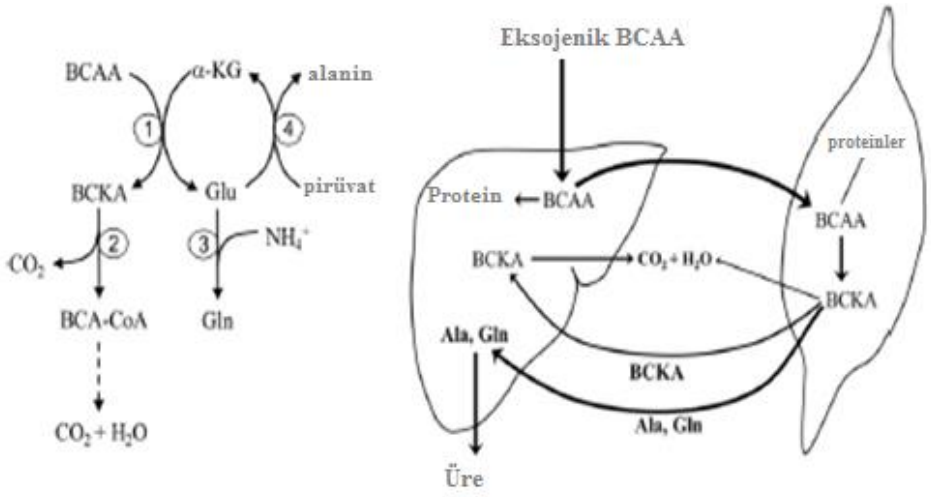


Şekil 1.4 Yemekten sonra organlar arasında amino asit alışverişi (Harper'ın Biyokimyası'ndan alınmıştır. Val: valin, Gln: glutamin, Ala: alanin, Gut: splanknik dokular).

Dallı zincirli amino asitlerin protein sentezini uyarıcı etkisi ve inhibitör etkisi uzun yıllardır bilinmektedir. Özellikle, lösin iskelet kasında protein sentezinin stimülasyonu için önemli bir amino asittir. Lösin doğrudan pankreas β-hücrelerinden mTOR sinyal yolağı ile insülin salınımını artırır ve protein sentezini uyarır (Holecek 2016).

Dallı zincirli amino asitlerin protein sentezi üzerindeki etkisinin dallı zincirli keto asitler ve beta-hidroksi-beta-metilbutirat aracılığıyla olduğu düşünülmektedir. Dallı zincirli amino asitlerin katabolizmasında iskelet kası başlangıç yeridir. Yüksek aktiviteli dallı zincirli α amino asit aminotransferaz enzimi, α-keto glutarat üzerinden glutamatın ve dallı zincirli keto asitlerin oluşturulması için dallı zincirli amino asitlerin amino grubunun aktarılmasını sağlar (Holecek 2016).

Glutamik asitin konsantrasyonundaki artış, glutamin sentaz ve alanin aminotransferaz enzimleri sayesinde glutamin ve alaninin sentezinin artmasına yol açar. Bu amino asitler, dallı zincirli keto asitler ile beraber daha çok iskelet kasından birlikte kana serbest bırakılır (Holecek 2016).



Şekil 1.5 İskelet kasında BCAA metabolizması (Holecek 2016)

1.4.6. Dallı Zincirli Amino Asitlerin Katabolizması

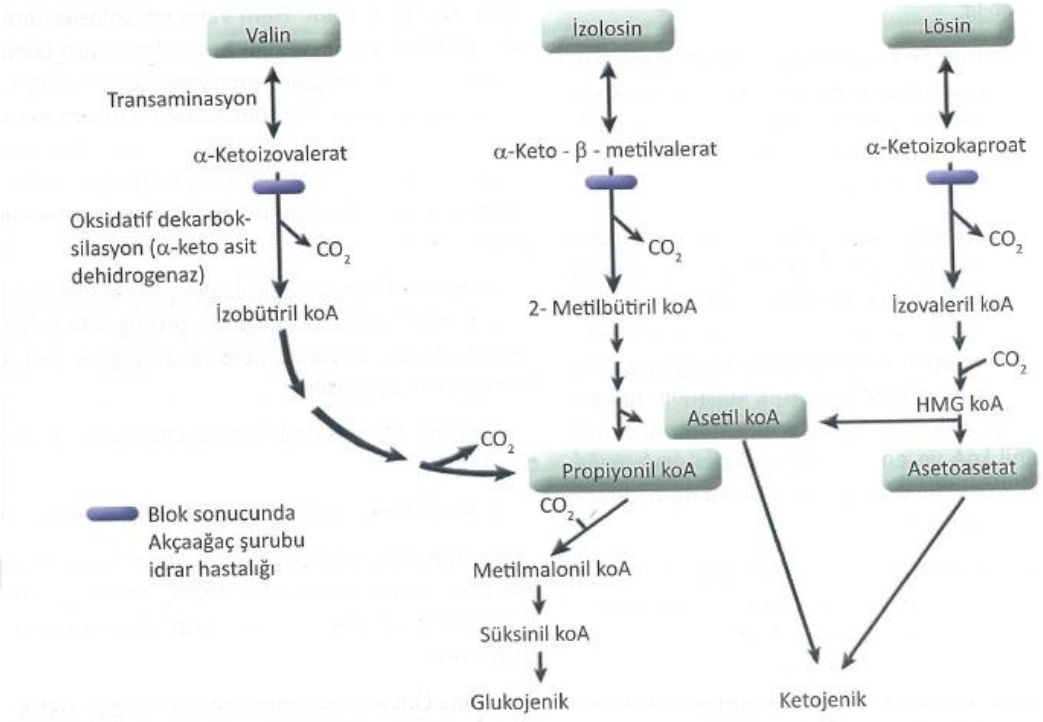
Dallı zincirli amino asitler, izolösin, lösin ve valin esansiyel amino asitlerdir. Diğer amino asitlere zıt olarak, karaciğer yerine daha çok periferik dokularda metabolize olurlar. Katabolizmaları benzerdir (Dancis ve Levitz 1972).

a) **Transaminasyon:** İzolösin, lösin ve valinin amino gruplarının uzaklaştırılması tek bir enzim ile gerçekleştirilir ve bu enzim dallı zincirli α-amino asit aminotransferaz olarak adlandırılır.

b) **Oksidatif dekarboksilasyon:** İzolösin, lösin ve valinden türeyen α-keto asitlerin karboksil gruplarının uzaklaştırılması da tek bir enzim kompleksi ile olur ve bu da dallı zincirli α-keto asit dehidrogenaz kompleksidir. Dallı zincirli α-keto asit dehidrogenaz'ın kalıtsal eksikliği dallı zincirli keto asit substratlarının idrarda atılımının artışı ile sonuçlanır. Tatlı kokuları nedeniyle mapple syrup disease-akçaağaç şurubu hastalığı denilmiştir.

c) **Dehidrojenasyon:** Oksidatif dekarboksilasyon ile oluşan ürünlerin oksidasyonu ile α-β-doymamış asil CoA türevleri oluşur.

d) **Son ürünler:** İzolösin katabolizması sonucu asetil CoA ve süksinil CoA meydana gelir ve bu da izolösinin hem glukojenik hem de ketojenik olarak nitelendirilmesine neden olur. Valin katabolizması sonucu süksinil CoA oluşur ve bu nedenle valin glukojeniktir. Lösin asetoasetat ve asetil CoA'ya metabolize olur ve bu nedenle ketojeniktir.



Şekil 1.6 Dallı zincirli amino asitlerin katabolizması (Sunguroğlu 2014).

1.4.7. Dallı Zincirli Amino Asitlerin Sporcular İçin Önemi

Sporcunun beslenmesinde özellikle kas çalışması gerektiren kuvvet egzersizlerinde proteinlerin ve proteinleri oluşturan amino asitlerin (esansiyel/esansiyel olmayan olmayan) öneminin arttığı bilinmektedir. Bu konudaki yayınlar, iskelet kasının, en az sekiz amino asidi mitokondri yoluyla okside ettiğini (alanin, asparagin, aspartat, glutamat, izolösin, lösin, lizin, valin), ancak egzersiz sırasında dallı zincirli amino asitlerin daha çok okside edildiğini bildirmektedir (Blomstrand ve ark 2006, Hoffman ve ark 2006).

Blomstrand ve arkadaşları (Blomstrand ve ark 2006); dallı zincirli amino asitlerin özellikle de lösinin protein sentez hızını artırarak kastaki proteinin yıkım hızını düşürerek, protein metabolizması üzerine anabolik etkisi olduğunu bildirmişlerdir.

Dallı zincirli aminoasitlerin (BCAA) protein metabolizmasındaki etkilerine dair birçok çalışma bulunmaktadır. Dallı zincirli aminoasitlerin protein

metabolizması üzerinde protein sentezini artırıp, protein yıkımını azaltarak anabolik bir etkisi olduğu rapor edilmiştir. BCAA' ların anabolik ve büyüme hormonunu uyarıcı olduğu ve özellikle ısı stresi sırasında aerobik kapasite, kuvvet, kas dayanıklılığını artırdığı bilinmektedir. Aerobik egzersiz protein yıkımını artırmaktadır. Egzersizden sonra proteinler yeniden yapılansa da eğer hedef yağsız vücut kütlesini artırmak ise, proteinler yıkıma karşı korunmalıdır. Kısaca; dallı zincirli amino asitlerin varlığı kas proteinlerinin yıkımını minimize etmekte veya kana salınımını yavaşlatmaktadır (Hoffman ve ark 2006).

1.5. Amino Asit Analizi

Amino asit analizi biyokimya ve biyomedikal alanlarda çok fazla aplikasyonu olan önemli bir tekniktir. Amino asit analizi proteinlerin, besinlerin ve hayvan yemlerinin analizinde önemli rol oynamaktadır. Amino asitlerin profilinin görüntülenmesi aynı zamanda klinik durumlar için de büyük ilgi uyandırmaktadır. Amino asitlerin analizi aynı zamanda evlilik öncesi ve evlilik sonrası yeni doğan metabolizma bozukluğunun, genetik açıdan önlenmesi ihtimaline karşı da önem taşımaktadır. Çeşitli kalıtsal hastalıklar, amino asit metabolizmasındaki bozukluklardan oluşur. Bu hastalıkların büyük kısmında amino asitlerin normal metabolizmasında görevli anahtar bir enzimin eksikliği veya bloğu söz konusudur (Devi ve ark 1986,Qureshi 1989).

Biyolojik örneklerdeki aminoasit ölçümleri için birçok teknik vardır. Patolojik bozuklukların tanısında amino asit analizleri için önemli testler şunlardır: (Tietz 1994)

A. İnce tabaka kromatografisi, fotometrik testler ve Guthrie testi gibi tarama testleri,
   1. İnce Tabaka Kromatografisi
   2. Guthrie Testleri
   3. Fotometrik Tarama Testleri

B. Tedavinin izlenmesi ve ilk tanının doğrulanması için yapılan nicel testler,
    1. Kapiller elektroforez (CE)
    2. İyon değiştirici sıvı kromatografisi
    3. Gaz kromatografisi (GC)
    4. Likit kromatografisi /Ardışık kütle spekrometresi (LC/MS-MS)
    5. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC)

1.5.1. Kapiller Elektroforez

Küçük iyonlardan, makromoleküllere, proteinler veya nükleik asitlere kadar çok çeşitli analitler için kullanılan, çok verimli, hızlı, duyarlı ve çok yönlü analitik bir tekniktir (Walker ve Mills 1995).

1.5.2. İyon Değiştirici Sıvı Kromatografisi

Maddelerin iyonik grupları ile iyon değiştiricideki iyonik grupların eşdeğer miktarlarının karşılıklı yer değiştirmesi esasına dayanır. Extraksiyon işleminden sonra elüsyonla alınan amino asitler postkolon bir reaktörde ninhidrin veya bazı indikatörlerle karıştırılır. Oluşan renkli ürünler spektrofotometre veya diğer ölçüm cihazları ile ölçülür. Amino asitler, örnek içindeki bileşenlerin çıkış sürelerini, referans bileşiklerinki ile karşılaştırılarak tanımlanır (Willams 1986).

1.5.3. Gaz Kromatografisi (GC)

Gaz kromatografisinin önemli avantajları az miktarda örneğin analizi edilebilmesi, duyarlılığı ve hızıdır. Fakat bu tekniğin çalıştığı sıcaklıklar, amino asitlerin uçuculuğunun düşük olması nedeniyle çalışmayı kısıtlayan bir durumdur. Ancak amino asitler, uçuculuklarının arttırılması, kromatografik ve saptanma özelliklerinin arttırılması için türevlendirici maddeler ile reaksiyona sokulabilir. Özellikle organik asidürilerin araştırılmasında bu teknik kullanılmaktadır (Walker ve Mills 1995).

1.5.4. Likit kromatografi/Ardışık Kütle Spektrometresi (LC/MS-MS)

Kompleks biyolojik örneklerdeki spesifik analitlerin hızlı analizi için LC/MS-MS kullanılmaktadır. Fenilketonüri, akçaağaç şurubu idrar hastalığı, tirozinemi, hipermetiyonemi ve homosistinüri gibi yenidoğan amino asit bozukluklarını taramak için kullanılmaktadır. Başlangıçta, cihaz maliyeti yüksek ve türevlendirme gerekli olmasına karşın, otomatik bir teknik olduğu ve birkaç hastalık aynı anda tarandığı için yüksek düzeyde maliyet-yararlıdır (Walker ve Mills 1995).

1.5.5. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)

HPLC kimyasal bir karışımı, öncelikle sıvı bir solvent içinde çözünmüş bileşenlerini yüksek basınç altında bir kolondan geçirerek, ayırmak için kullanılan bir kromatografi tekniğidir. Karışımda bulunan bileşenler, sabit faz denilen kolon boyunca mobil faz aracılığı ile taşınırlar. Bileşenlerin polarite, moleküler büyüklükleri ve elektriksel yüklerinin neden olduğu, taşınma hızlarındaki farklılığa bağlı olarak, ayırım sağlanır (Yıldırım 1994).

Son derece duyarlı, yüksek ayırma gücü ve nispeten kısa analiz süreli olduğu için HPLC biyolojik örneklerdeki amino asitlerin ölçümlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. HPLC'nin GC'ye göre en önemli üstünlüğü GC'de örnek uçuculuğu için gerekli yüksek ısının HPLC'de gerekli olmamasıdır. Böylece yüksek sıcaklıkta amino asitlerin bozulma konusu ekarte edilmiş olur (Walker ve Mills 1995).

HPLC analizörlerinde yaygın olarak kullanılan elektrokimyasal dedektörlerle, sadece birkaç amino asit belirlenmektedir. Bu nedenle amino asitlerin HPLC'de analiz edilebilmeleri için türevlendirilmeleri gerekir. Bazı kolonlar post kolon türevlendirmeyi kullanır ki bunlar devamında ninhidrin ile türevlendirmeyi kapsar. Bunun yanında yine türevlendirme de kullanılanlar arasında fluorescamin, o-fitaldehit (OPA), fenilizotiyosiyanat (PICT), 9-florenilmetil kloroformat (FMOC) ve 6-amino quinolil- N- hidroksisüksinimil karbamat bulunmaktadır (Deyi ve ark 1986).

HPLC dedektörleri, kolon içeriğindeki bileşenin konsantrasyonu ile doğru orantılı olarak oluşan sinyalleri tanıyıp, veri işlemcisine aktarımı sağlamaktadır. Duyarlılık, tanıma yöntemi, sinyal aralığı ve doğrusallık, bir dedektörün temel performans özelliklerini göstermektedir (Yıldırım 1994). Dedektör çeşitleri arasında, elektrokimvasal dedektör, UV spektrofotometrik absorbsivon dedektörü, floresans dedektör, fotodiod-ışın dedektörü ve refraktif indeks dedektör sayılabilir (Schram 1981).

Sabit fazı oluşturan kolon, açık tubuler bir yapı olup, en sık kullanılan dolgu materyali silika jeldir. Dolgu materyalinden başka, ayrıştırmayı etkileyen kolona ait özelliklerden birisi de partikül büyüklüğüdür. Günümüzde en sık kullanılan, 5 mikron por çapı genişliğine sahip kolonlar olup, partikül genişliği büyüdükçe, kolon etkinliğinin azalacağı da unutulmamalıdır. Kolon olarak, genellikle C18 (ODS-oktadesilsilan) fonksiyonel grupları ile kaplı kolonlar kullanılmaktadır (Schram 1981).

Her ne kadar amino asitlerin analizi için birçok teknik mevcut olsa da örneğin hızlı bir şekilde net, doğru, güvenilir ve birçok ön basamaktan geçmeden analiz edilebilmesi plazma amino asitleri için oldukça önemlidir. Ön basamaklarda örneğin toplanması, santrifüj edilmesi, depolama koşulları ve deproteinizasyon işlemi oldukça önemlidir (Walker ve Mills 1995). Deproteinizasyon fizyolojik sıvılarda amino asit analizi için majör problemlerden birisidir. Plazma içeriği çözünebilir peptid ve proteinleri içermekte olup bunlar örnekten uzaklaştırılmak zorundadır. Plazmayı hazırlamak ve plazma proteinlerini uzaklaştırmak için kullanılan metot en son alınan kromatogramlar da önemli bir etkiye sahiptir. Bunlar içerisinde deproteinizasyon için en yaygın kullanılan reaktif 5-sülfosalisilik asit (SSA) ve devamında çöktürülen proteinlerin santrifüj edilmesidir (Deyi ve ark 1986).

OPA (o-Fitaldehit) Metodu

Prekolon türevlendirme yöntemlerinden olan o-fitaldehit (OPA) ile türevlendirme son zamanlarda oldukça popülerdir. Bir tiyol bileşiği varlığında ve alkali pH'da o-fitaldehit (OPA) primer amino asitlerle reaksiyona girer ve yüksek oranda floresans izoindol türevlerini oluşturur. Bu türevlendirme prosedürü

genellikle kolay olup, reaksiyon oda sıcaklığında hızlı bir şekilde oluşur. Ekstra bir saflaştırma prosedürü gerektirmez (Deyi 1986).

O-fitaldehit (OPA) türevleri orijinal amino asitlerden daha az polardır ve kolaylıkla ters faz sıvı kromatografi ile ayrımı gerçekleştirilebilir. Bu yüzden reaktif kendi başına floresans vermez ve sonuç olarak hiçbir interferan pik oluşturmaz. o-fitaldehit (OPA) türevleştirmesinin bir dezavantajı 2-merkaptoetanol (2-ME) kullanılarak oluşturulan o-fitaldehit (OPA) türevlerinin stabilitesinin düşük olmasıdır. Reaksiyon ürünleri stabil olmayıp, yarılanma ömrü çok kısadır. OPA türevleştirmesinin diğer bir dezavantajı da OPA'nın sadece primer aminlerle reaksiyona girmesi neticesinde sekonder amino asitlerin yani imino asitlerin tespit edilememesidir. 9-florenmetil-kloroformat (FMOC-CI) yüksek oranda reaktif bir bileşik olup bu da peptid sentezindeki amino protektif grupları saptamada kullanılabilir. En az OPA kadar sensitif olup, sekonder amino asitlerle, primer aminlerle reaksiyona girdiği gibi reaksiyona girebilir. Oluşan türevler stabil olup, yüksek oranda floresansdır (Van Elik ve ark 1988).

1.6. Amino Asit Profili

Amino asit analizi biyokimyasal alanlarda çok fazla aplikasyonu olan önemli bir tekniktir. Bir çok hastalığın amino asit metabolizmasıyla ilgili olduğu bilinmektedir. Amino asitlerin profilinin analizi aynı zamanda klinik durumlar için de önemlidir (Deyi 1986).

Yapılan çalışmalarda amino asit analizi için başvuran hastaların daha çok hiperlizinemi, nonketotik hiperglisinemi, dallı zincirli amino asit metabolizma bozuklukları ve arjininosüksinaz eksikliğinden yakınmakta olup, bunlar en sık rastlanan hastalıklar olarak bildirilmiştir (Sherwood 1990).

Plazma amino asitlerinin analizinde, amino asit profilinde değişikliklere neden olan birçok sebep bulunmaktadır. Bunlar arasında örnek toplanması, santrifüj, hemoliz, kromatografik analiz süresince yaşanan değişmeler sayılabilir (Walker ve ark 1995).

Sirkadiyen ritim, protein alımı, gebelik, bireyin fiziksel durumu, bireyin kan vermeden önceki fiziksel aktivitesi, menstural siklus, cinsiyet ve yaş farklılıklarıyla analizi interfere edebilecek ilaç tedavileri gibi fizyolojik faktörlerde plazma amino asit düzeylerini değiştirebilir (Walker ve ark 1995).

Patolojik durumlar da ise mutlaka klinik olarak hastanın durumu öğrenildikten sonra bu faktörlerin hepsinin beraber değerlendirilmesi şarttır. Amino asit analizinin kesinliği her zaman örneğin bütünlüğüyle ilgilidir. Yani bütün örnek içerisinde temizliğin düzgün yapılması ve kullanılan reaktiflerinde saf olması gereklidir. Tuzların, metallerin ve deterjanların eser miktarda bulunması dahi sonuçların kesinliğini etkilemektedir (Sherwood 1990).

Sağlıklı insanlarda yaş gruplarına göre plazmadaki amino asit profili şekil 1.7'de gösterilmiştir.

Plazma Amino Asit	1.hafta	1 hafta-1 ay	1-4 ay	4 ay-2 yaş	2-10 yaş	10-18 yaş	>18 yaş
Taurin	14–238	9–201	19–139	19–139	24–92	10–162	6–126
Aspartat	1–21	5–37	6–30	0–16	3–15	4–28	1–9
Hidroksiprolin	18–66	20–72	22–54	6–30	0–16	0–44	0–33
Treonin	53–141	55–187	66–182	36–136	48–140	72–192	102–190
Serin	62–206	60–240	85–221	42–174	77–169	75–175	68–160
Asparajin	38–114	22–94	28–80	26–70	24–64	32–64	35–63
Glutamat	32–104	0–109	29–81	24–68	11–51	11–59	1–57
Glutamin	198–886	178–670	368–652	337–709	373–709	396–740	435–721
Prolin	120–344	65–457	98–254	53–201	93–221	75–307	88–290
Glisin	101–317	20–356	73–241	74–290	113–261	148–324	123–319
Alanin	108–448	116–376	182–378	144–348	158–314	192–508	182–552
Sitrülin	5–33	10–50	16–32	6–34	18–50	17–49	16–46
2-Aminobütirat	3–39	10–26	9–33	10–46	12–40	10–38	7–32
Valin	65–201	59–199	96–228	79–267	133–273	142–278	144–269
Sistin	20–60	28–52	33–57	43–67	24–52	32–64	35–63
Metiyonin	6–50	13–53	19–51	9–29	11–27	16–36	12–32
İzolösin	22–82	22–94	28–84	32–92	31–83	38–94	34–84
Lösin	47–175	47–167	55–155	53–149	64–164	76–168	78–160
Tirozin	38–178	40–160	31–115	14–114	34–82	40–92	35–84
Fenilalanin	21–85	21–93	29–85	26–70	35–67	38–78	39–74
Etanolamin	26–93	10–50	5–25	1–9	0–10	0–12	0–11
Ornitin	31–207	10–214	51–123	9–105	24–64	20–84	27–98
Histidin	25–113	33–121	55–115	30–110	54–106	58–106	67–109
Lizin	67–291	42–242	56–172	56–148	77–181	105–221	111–248
Triptofan	16–72	25–65	32–92	27–59	5–57	27–75	30–95
Arjinin	12–116	12–104	38–102	18–78	38–98	45–125	46–128

Şekil 1.7 Plazma Amino Asit Konsantrasyonları (Laboratory Guide to the Methods in Biochemical Genetics 2008)

2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. Gereçler

2.1.1. Kullanılan Kimyasallar

1. Phthaldialdehyde for fluorescence (Sigma 79760)
2. 3-Mercaptopropionic Acid (Sigma 63768)
3. Sodium acetate trihydrate (Sigma S86259)
4. Ethylenediaminetetraacetic acid (Sigma)
5. Boric Acid (Merck M100165.0500)
6. HPLC Grade Water (Merck M115333.2500)
7. Methanol (Merck M106007.2500)
8. Acetic Acid (Merck M100056.2500)
9. 2-Propanol (Merck M101040.2500)
10. Sulfhosalicylic Acid (Merck M800691.0250)
11. Lithium Citrate Hydrate (Sigma 213209-500)
12. Citric Acid Monohydrate (Merck M100244.1000)
13. Sodium Hydrokside (Merck M06498.1000)
14. Deiyonize su
15. L-Valine Standart (Sigma V0500-25)
16. L-Leucine Standart (Sigma L8000-25)
17. L-İsoleucine Standart (Sigma I2752-25)
18. L-Norvaline Standart (Sigma N7627-5)

2.1.2. Cihazlar ve Laboratuvar gereçleri

1. Agilent HPLC 1200 cihazı Floresans dedektör
2. Santrifüj: Sigma 1-15K
3. Mikropipet (1000, 200, 100µl): Brand
4. Agilent Eclipse C18 kolon 5µm 150mm x 4,6mm
5. Guard HPLC kolon C18
6. Buzdolabı (+4 °C ve -20 °C): Arçelik
7. Vortex: Heidolph
8. Ependorf: Labosel

9. Pipet ucu: Labosel
10. Hassas terazi
11. Magnetik karıştırıcı, magnetik bar
12. pH Metre
13. Ultrasonik su banyosu

2.2. METOD

2.2.1. Araştırma Grubu

Çalışmamız Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul Komisyonun 03.09.2013 tarih ve 2013/290 numaralı etik kurul kararı ile tez projesi olarak onaylanmış; sonrasında Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeler Koordinatörlüğü tarafından 14202017 numarası ile desteklenmesine karar verildikten sonra çalışılmaya başlanmıştır.

Bu çalışma için 'Futbol ve Basketbol Sporcularında İnek Kolostrumu Kullanımının İmmunglobulinler, Mineraller ve Vitamin Düzeyleri ile Vücut Kompozisyonlarına Etkisi' isimli tez çalışmasına ait artan serumlar kullanılmıştır.

Selçuk Üniversitesi Beden Eğitimi ve Spor Yüksekokulu öğrencilerinden antrene düzeyde 48 erkek sporcu çalışmaya alınmıştır. Futbol ve basketbolcular kendi içinde 12 deney, 12 kontrol olmak üzere iki gruba ayrılmış olup kontrol gruplarına herhangi bir madde verilmeyip sadece antrenman ve beslenme programları takip edilmiş, deney gruplarına ise kahvaltıdan 2 saat sonra kolostrum kapsülü (günde 1 kapsül 250 mg) verilmiştir. Araştırmada kullanılan kolostrum kapsülleri GNC firması tarafından üretilen Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı 17.02.2009 tarih ve 906000285 nolu izni ile ithal edilen 60 kapsül içeren kolostrum kapsülleridir.

Araştırmaya katılacak tüm sporcuların, sağlık kontrolleri Selçuk Üniversitesi Selçuklu Tıp Fakültesi Hastanesinde gerçekleştirilmiştir. Sporcuların tam kan analizleri yapılmış, EKG ve akciğer röntgeni çekilmiş araştırmaya uygun olmayan sporcular çalışmaya dahil edilmemiştir.

Çalışma süresince incelenen parametrelerin etkilenmemesi için araştırmaya katılan sporcuların normal antrenman ve beslenme programlarına uymaları sağlanmıştır.

Sporcular araştırmaya başlanıldığı gün (0. gün, 30. gün, 60. gün) olmak üzere üç defa kan analizlerine tabi tutulmuşlardır.

Sporcuların kan analizleri için alınan 0. gün, 30. gün ve 60. gün alınan kanlar santrifüj edildikten sonra elde edilen serum örnekleri -80^{0}C'de saklandı ve çalışma günü çözdürüldükten sonra amino asit analizini gerçekleştirdik.

2.2.2. Valin , Lösin ve İzolösin Analizi

Mobil Faz Solüsyonlarının Hazırlanması

Valin, lösin ve izolösin düzeyleri gradient pompa kullanılarak analiz edildi. Gradient mobil faz olarak Mobil faz A ve B hazırlandı.

Mobil Faz A'nın Hazırlanması

Sodyum asetat stok solüsyonu için 68,04 gr sodyum asetat trihidrat ve 187,5 mg EDTA 500 ml HPLC grade suda çözüldü. 5 ml sodyum asetat stok solüsyonu 500 ml HPLC grade su ile çözüldü. Üzerine 50 ml metanol eklenip pH=5,75 'e asetik asit ile ayarlanarak mobil faz A hazırlandı.

Mobil Faz B'nin Hazırlanması

500 ml metanol üzerine 10 ml izopropanol ve 50 ml HPLC grade su eklenerek mobil faz B hazırlandı. Hazırlanan mobil faz 0,45µ filtreler kullanılarak filtre edildi. Degaze işlemi ultrasonik su banyosu ile sağlandı.

Valin, Lösin ve İzolösin Standart Hazırlanması

Valin, lösin ve izolösin stok standart solüsyonları (1000 µM) 0,1 N HCl içinde hazırlanıp buzdolabında saklandı. Hazırlanan 1000µM stok standart solüsyonlarından 0,1 N HCl ile seri dilüsyonlarla sırasıyla 500µM, 250µM, 125µM, 62,5µM, 31,25µM, 15,625µM olmak üzere standart çözeltiler hazırlandı. Hazırlanan standartlar derivatizasyon işleminden sonra otomatik örnekleme cihazına konularak 20 µl cihaza enjekte edildi. Alınan pik alanlarıyla valin, lösin ve izolösin için standart grafiği oluşturuldu. Çalışmamızda internal standart olarak norvalin kullanıldı. Norvalin stok standart solüsyonu 1000µM olacak şekilde 0,1 N HCl içinde hazırlanıp buzdolabında saklandı.

%35'lik Sülfosalisilik Asit (SSA) Hazırlanması

35 gr Sülfosalisilik Asit 100 ml deiyonize suda çözüldü.

Lityum Sitrat Buffer Hazırlama

1,124 gr lityum sitrat 20 ml deiyonize suda çözüldü. pH=3'e 12 N sitrik asit çözeltisi ile ayarlandı.

Numune Hazırlanması

Analiz gününe kadar -80^{0}C'de saklanan serumlar çalışma günü çözüldü. Serumdan 300 µl alınıp üzerine 50 µl norvalin (1000 µM) ve 50 µl %35'lik sülfosalisilik asit ilave edilip 30 dakika 2-8^{0}C'de bekletildi. 10000 x g devirde 4^0 C'de 10 dakika santrifüj edildi. Deproteinizasyon işleminden sonra üstte kalan süpernatanttan 150 µl alınıp 150 µl lityum sitrat buffer eklenip valin, lösin ve izolösin analizi yapıldı.

Derivatizasyon

Standart ve numuneler o-fitaldialdehid (OPA) kullanılarak türevlendirildi. Türevlendirme için 25 mg OPA, 0,5 ml metanol ve 4,5 ml 0,1 M borat tamponunda

(pH=10) çözüldü. Hazırlanan solüsyona 25 µL merkaptopropiyonik asit eklendi. Hazırlanan derivatizasyon çözeltisinin stabilitesi 2 gün olduğundan her analiz öncesi taze olarak hazırlandı. Cihaz üzerinde yapılan bir enjeksiyon programı yardımıyla 20 µL numune süpernatantı ile 10 µL OPA solüsyonu ile karıştırılıp 1 dakika sonrasında cihaza verildi.

Analiz süresinin sonunda bulunan piklerin alanları yardımıyla, standart grafiğinden faydalanılarak örneklerin valin, lösin ve izolösin değerleri hesaplandı.

Pompa

Gradyent mobil faz kullanıldı. Mobil faz A ve B aşağıda gösterildiği şekilde dakikada 0,400 ml olacak şekilde sistemde pompalandı.

Tablo 2.1 Mobil fazların akış şeması.(Akış hızı 0,400 ml/dk)

ZAMAN (dk)	**A (%)**	**B (%)**
0,0	95	5
0,1	95	5
8	90	10
25	65	35
40	40	60
41	0	100
43	95	5
50	95	5

Dedeksiyon

Floresans dedektör eksitasyon için 330 nm. ve emisyon için 450 nm'ye ayarlandı. Agilent 1200 serisi HPLC cihazı, 150 mm x 4,6 mm x 5µm Agilent Exclipse kolon, guard kolon ve floresans dedektör kullanıldı. Toplam analiz süresi 50 dakika olacak şekilde ayarlandı.

2.3. İstatiksel Analiz

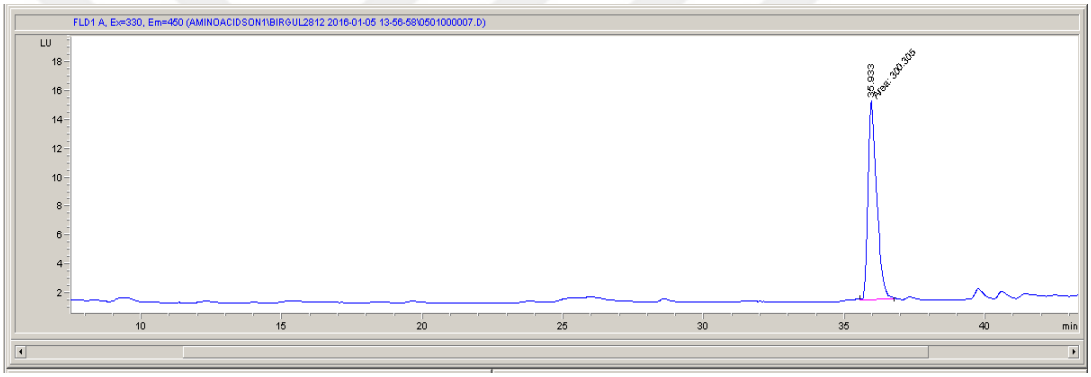
Veriler bilgisayar ortamına aktarılarak SPSS 15,0 programı yardımıyla istatistiksel analizler yapıldı. Verilerin normal dağılıma uygun olup olmadığını test etmek için Kolmogorov-Smirnov testi yapıldı. Yapılan bu testin sonucuna göre tüm değerlerin normal dağılıma uygun olduğu görüldü. Bunun üzerine parametrik test olarak Paired Samples T testi yapıldı. Kolostrum kullanan ve kullanmayan grupların karşılaştırılması için İndependent Samples T Testi yapıldı. $p<0,05$ anlamlılık derecesi olarak kabul edildi.

3. BULGULAR

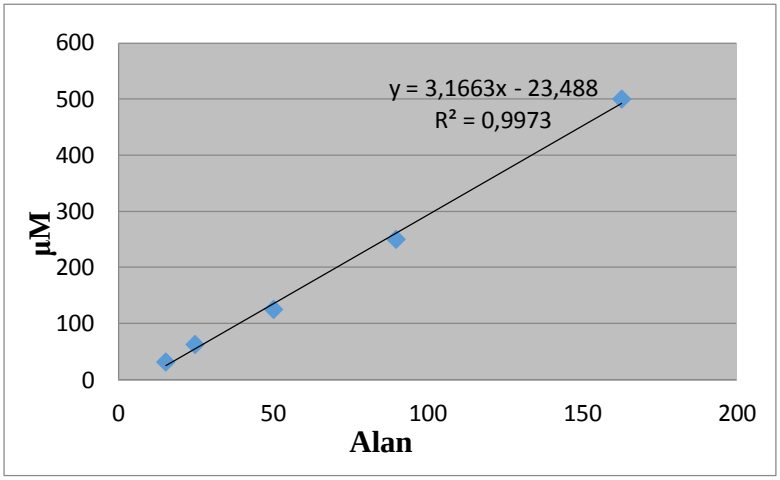
Araştırmada son yıllarda sporcular tarafından besin desteği olarak kullanılan kolostrumun, dallı zincirli amino asit düzeylerine etkisini araştırmak amaçlanmıştır. Araştırmada kolostrum kullanan ve kullanmayan sporcuların serum valin düzeyleri, serum lösin düzeyleri ve serum izolösin düzeyleri incelendi.

3.1. Valin Standart Çalışması

Valin için retansiyon süresi 35,15 dakika olarak belirlendi. Valin standart kromatogram örneği şekil 3.1'de gösterilmiştir**.** Konsantrasyon ve alanlar aşağıdaki gibidir.



Şekil 3.1 Valin 1000 µM standart kromatogram örneği



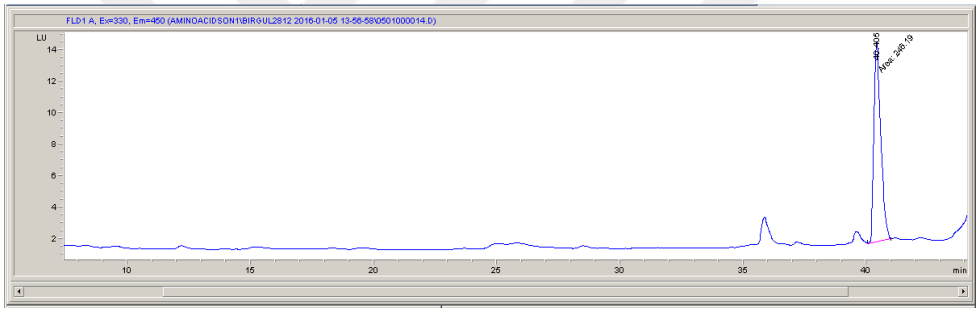
Şekil 3.2 Valin standart eğrisi.

Çizelge 3.1 Valin konsantrasyonlarına karşılık bulunan alanlar.

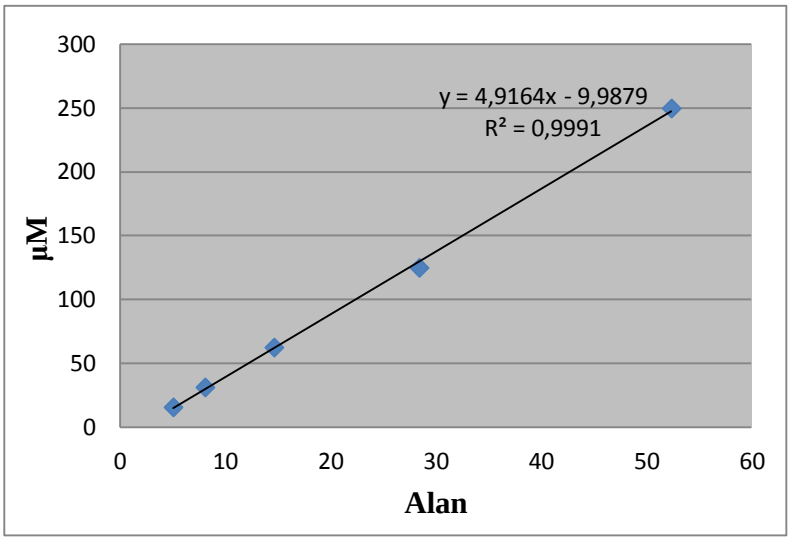
KONSANTRASYON (µM)	ALAN
31,25	15,28
62,5	24,76
125	50,20
250	89,87
500	162,94

3.2. Lösin Standart Çalışmaları

Lösin için retansiyon süresi 39,66 dakika olarak belirlendi. Lösin standart kromatogram örneği şekil 3.3' de gösterilmiştir. Konsantrasyon ve alanlar aşağıdaki gibidir.



Şekil 3.3 Lösin 1000 µM standart kromatogram örneği



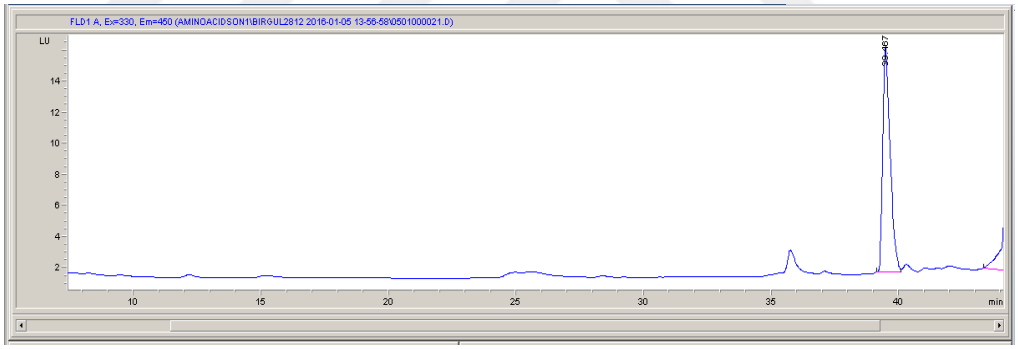
Şekil 3.4 Lösin standart grafiği.

Çizelge 3.2 Lösin konsantrasyonlarına karşılık bulunan alanlar.

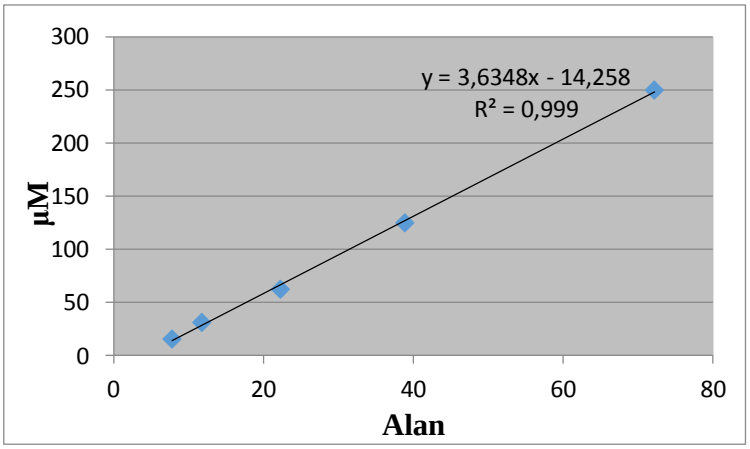
KONSANTRASYON (µM)	ALAN
15,625	5,06
31,25	8,09
62,5	14,65
125	28,45
250	52,43

3.3. İzolösin Standart Çalışması

İzolösin için retansiyon süresi 38,85 dakika olarak belirlendi. İzolösin standart kromatogram örneği şekil 3.5' te gösterilmiştir. Konsantrasyon ve alanlar aşağıdaki gibidir.



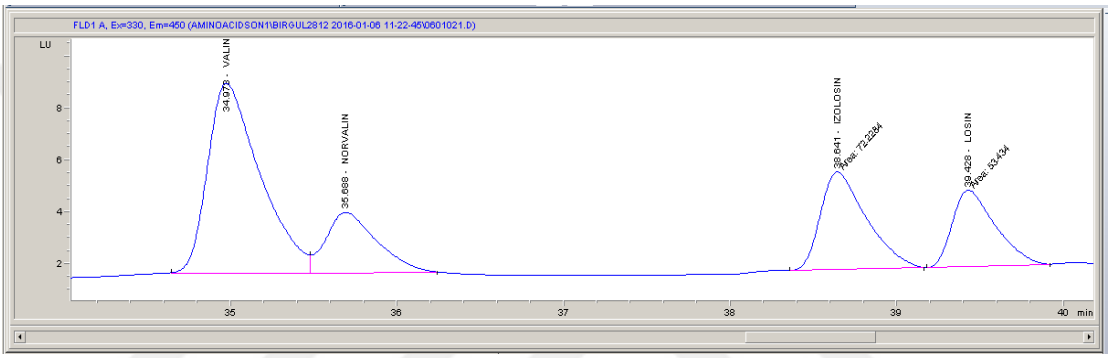
Şekil 3.5 İzolösin 1000 µM standart kromatogram örneği



Şekil 3.6 İzolösin standart grafiği.

Çizelge 3.3 İzolösin konsantrasyonlarına karşılık bulunan alanlar.

KONSANTRASYON (µM)	ALAN
15,625	7,77
31,25	11,75
62,5	22,25
125	38,88
250	72,22



Şekil 3.7 500 µM valin, 250 µM lösin ve 250 µM standardına ait mix kromatogram örneği

3.4. Valin, Lösin ve İzolösin Sonuçları

Çalışmamızda sporcu katılımcılarda (n=48), kolostrum kullanan ve kontrol gruplarının serumdaki valin, lösin ve izolösin ve total BCAA için ortalama ve standart sapma (SD) değerleri hesaplanmıştır.

Öncelikle tüm katılımcıların 0. gün kanları alınarak; ilk karşılaştırmamızı kolostrum grubu ve kontrol grubu arasında gerçekleştirdik (Çizelge 3.4). Kolostrum grubu ve kontrol grubu arasında başlangıç ölçümü değerlendirildiğinde valin, lösin arasında anlamlı fark yok iken izolösin de anlamlı fark görüldü (p=0,001). Ancak total BCAA düzeyine bakıldığında bir fark görülmedi.

Çizelge 3.4 Kolostrum grubu ve kontrol grubu arasında serum dallı zincirli amino asit düzeylerinin karşılaştırılması

	0.Gün		p	30.Gün		p	60.Gün		p
	Kolostrum grubu Ort±SD n=24	Kontrol grubu Ort±SD n=24		Kolostrum grubu Ort±SD n=24	Kontrol grubu Ort±SD n=24		Kolostrum grubu Ort±SD n=24	Kontrol grubu Ort±SD n=24	
VALİN	489,45±57,13	457,21±89,54	p=0,145	529,01±154,35	468,53±183,48	p=0,223	442,97±126,28	403,51±126,14	p=0,284
LÖSİN	229,33±49,12	248,17±59,98	p=0,24	286,25±88,75	232,19±98,75	p=0,520	242,23±47,76	258,44±68,76	p=0,348
İZOLÖSİN	183,27±18,68	150,59±37,32	p=0,001*	161,83±50,38	145,38±55,65	p=0,289	192,52±42,44	194,52±47,13	p=0,860
TOTAL BCAA	902,05±98,92	855,98±167,82	p=0,254	977,08±291,07	846,11±333,74	p=0,154	877,41±200,44	856,46±229,55	p=0,738

*p<0,05

Araştırmada kolostrum kullanan sporcuların 0. gün, 30. gün ve 60. gün ölçümlerinin kendi aralarında karşılaştırılması çizelge 3.5'te gösterilmiştir.

Kolostrum kullanan grubun tekrarlayan ölçümleri kendi arasında karşılaştırıldığında valin için anlamlı bir fark bulunamadı. Lösin için 0. gün ile 30. gün ölçüm değerleri arasında istatiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur (p=0,018). İzolösin için ise 0. gün ile 30. gün ölçümleri değerleri ve 30. gün ile 60. gün değerleri arasında istatiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmuştur (sırasıyla p= 0,044, p=0,005). Total BCAA düzeyleri değerlendirildiğinde ise gruplar arasında anlamlı fark görülmemiştir.

Çizelge 3.5 Kolostrum kullanan sporcuların dallı zincirli amino asit düzeylerinin 0. gün, 30.gün ve 60.gün ölçümlerinin karşılaştırılması

	0.Gün Ort±SD n=24	30.Gün Ort±SD n=24		0.Gün Ort±SD n=24	60.Gün Ort±SD n=24		30.Gün Ort±SD n=24	60.Gün Ort±SD n=24	
VALİN	489,45±57,12	529,01±154,35	p=0,255	489,45±57,12	442,97±126,28	p=0,102	529,01±154,35	442,97±126,28	p=0,065
LÖSİN	229,33±49,12	286,25±88,75	p=0,018*	229,33±49,12	242,23±47,76	p=0,386	286,25±88,75	242,23±47,76	p=0,063
İZOLÖSİN	183,27±18,68	161,83±50,38	p=0,044*	183,27±18,68	192,52±42,44	p=0,337	161,83±50,38	192,52±42,44	p=0,005*
TOTAL BCAA	902,05±98,92	977,08±291,07	p=0,254	902,05±98,92	877,41±200,44	p=0,575	977,08±291,07	877,41±200,44	p=0,222

*p<0,05

4. TARTIŞMA

İskelet kası büyümesi kas protein sentezi ve protein yıkımı arasındaki oran ilişkisine bağlıdır. Kas metabolizmasını etkileyen faktörler arasında hormonal durum ve egzersizsin yanı sıra beslenmenin de büyük önemi vardır. Özellikle sporcuların beslenmesinde, kas çalışması gerektiren egzersizlerde proteinlerin ve proteinleri oluşturan amino asitlerin öneminin arttığı bilinmektedir.

Yapılan çalışmalar, egzersiz sırasında iskelet kasında baskın olarak dallı zincirli amino asitlerin (izolösin, lösin, valin) okside edildiğini söylemektedir (Blomstrand ve ark 2006).

Kolostrum, proteince zengin, immün ve büyüme faktörlerini içeren, kas-iskelet sisteminde onarım ve büyümeyi destekleyici özellikleri de olan bir salgıdır. Son yıllarda kolostrum üzerine yapılan araştırmalar sporcu performansını artırmaya yöneliktir (Buckley ve ark 2003).

Mero ve ark. (2005) tarafından yapılan bir çalışmada, sporcularda 2 haftalık kolostrum takviyesinden sonra, kas protein ve serum aminoasit düzeylerini analiz etmişlerdir. Kolostrum kullanan sporcularda serum esansiyel aminoasit ve dallı zincirli aminoasit düzeylerinin arttığı, fakat toplam protein dengesinde net bir değişim olmadığını gözlemişlerdir.

Kolostrum takviyesi alan sporcularda kolostrumun serumdaki lösin konsantrasyonunu arttırdığını ve bunun da protein sentezi ile lösin oksidasyonunu stimüle ettiğini göstermişlerdir. Yoğun egzersiz sırasında lösinin çok önemli rolleri olduğunu, egzersiz yapan grupta egzersizden sonra glukoneogenezdeki glukoz alanin siklusundan dolayı alaninin salınımının arttığını göstermişler. Artan alanin salınımı sonucu olarak, kaslarda lösinin oksidasyonunun arttığını ifade etmişlerdir (Mero ve ark 2005). Biz çalışmamızda kolostrum takviyesinin serum dallı zincirli amino asit düzeylerine bir etkisinin olmadığını gözlemledik.

Gleeson ve ark. (2000) sporcularda egzersizin, protein kullanımını artıran ve gereksinimini değiştiren bir faktör olduğunu belirtmişlerdir. Dayanıklılık egzersizleri

yapanlarda enerji kaynağı olarak dallı zincirli amino asit (BCAA) oksidasyonunun arttığını fakat ortamda glukojenin olmasından dolayı dallı zincirli amino asitlerin enerji için kullanımının baskıladığını, bir başka deyişle kas proteinlerini koruduğunu göstermişlerdir.

Zanetti ve ark. (1999) dallı zincirli amino asitler ve aromatik amino asitlerce zenginleştirilmiş amino asit karışımı verdikleri gönüllülerde, bu amino asitlerin kas protein anabolizması üzerindeki fizyolojik etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada özellikle lösinin hüçre içi taşınma ve protein sentezini arttırdığını göstermişlerdir.

Amino asit analizi biyokimyasal alanlarda çok fazla aplikasyonu olan önemli bir tekniktir. Deyi (1986) yaptığı bir çalışmada birçok hastalığın amino asit metabolizmasıyla ilgili olduğu söylemektedir. Amino asitlerin profilinin analizinin aynı zamanda klinik durumlar için de önemli olduğunu vurgulamaktadır.

Sherwood (1990) yaptığı çalışmalarda amino asit analizi için başvuran hastaların daha çok hiperlizinemi, nonketotik hiperglisinemi, dallı zincirli amino asit metabolizma bozuklukları ve arjininosüksinaz eksikliğinden yakınmakta olduklarını ve bu hastalıkların en sık rastlanan hastalıklar olduğunu bildirilmiştir.

Walker ve ark. (1995) plazma amino asitlerinin analizinde, amino asit profilinde değişikliklere neden olan birçok sebep göstermişlerdir. Bunlar arasında örnek toplanması, santrifüj, hemoliz, kromatografik analiz süresince yaşanan değişmeler sayılabilir. Sirkadiyen ritim, protein alımı, gebelik, bireyin fiziksel durumu, bireyin kan vermeden önceki fiziksel aktivitesi, menstural siklus, cinsiyet ve yaş farklılıklarıyla analizi interfere edebilecek ilaç tedavileri gibi fizyolojik faktörlerinde plazma amino asit düzeylerini değiştirebileceğini ifade etmişlerdir (Walker ve ark 1995).

Çalışmamızda sporcularda kolostrum kullanımının serum dallı zincirli amino asit düzeyleri üzerine anlamlı bir etkisinin olmadığını tespit ettik. Bununla beraber amino asit analizinin metabolik bozuklukları tespit etmek adına oldukça önemli bir analiz olduğunu, yaptığımız çalışmanın da bölümümüzde amino asit analizi yapma adına büyük bir adım olduğunu düşünmekteyiz.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışma kapsamında, 48 adet sporcu araştırmaya alınmış olup 24 sporcudan oluşan deney grubuna 60 gün süreyle günde bir kez olmak üzere kolostrum kapsülü verilmiştir. Araştırmanın başlangıç 0. gün, 30. gün ve 60. gününde sporcuların kanları alınarak serumda dallı zincirli amino asit düzeyleri incelenmiştir.

Kolostrum kullanan sporcular arasında 0.gün değeri ve kontrol grubu karşılaştırmasında izolosin açısından anlamlı fark gözlemlenmiş olsa da total BCAA değerlendirildiğinde fark görülmemiştir.

Araştırmada kolostrum kullanan gruptaki sporcuların tekrarlayan ölçümleri kendi arasında karşılaştırıldığında valin sonuçlarında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Lösin sonuçlarında, başlangıç 0. gün ile 30. gün ölçüm değerleri arasında istatiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüştür (p=0,018). İzolösin sonuçlarında ise 0. gün ile 60. gün ölçüm değerleri arasında ve 30. gün ve 60. gün ölçüm değerleri arasında istatiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur (sırasıyla p=0,044 p=0,005). Kolostrum kullanan gruptaki sporcuların tekrarlayan ölçümlerinin total BCAA değerleri karşılaştırıldığında ise istatiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

Sonuç olarak, bizim çalışmamızda sporcularda kolostrum takviyesinin serum dallı zincirli amino asit düzeyleri üzerine anlamlı bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Kolostrumun farklı spor branşları ve değişik yaş gruplarında özellikle sporcuların bağışıklık, rejenerasyon ve performans gibi kriterleri dikkate alınarak araştırmaların yapılmasının uygun olacağı kanaatine varılmıştır. Biyokimyasal olarak amino asit analizinin oldukça önemli olduğunu, bizim çalışmamızın amino asit analizi adına bir başlangıç olduğunu ve uyguladığımız metodun geliştirilerek valide edilmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

6. KAYNAKLAR

Ahmed L, Nazrul Islam SK, Khan MNI, Hugue S, Ahsan M, 2004. Antioxidant micronutrient profile of Vitamin E,C,A, copper, zinc, of colostrum: association with mother characteristics. J Trop Pediatr, 50: 357–358.

Aksoy M, 2000. Beslenme Biyokimyası, Hatipoğlu Yayınevi, Ankara, 38-62.

Antonio J, Sanders MS, Van Gammeren D, 2001. The effects of bovine colostrum supplementation on body composition and exercise performance in active men and women. Nutrition, 17: 243–247.

Baysal A, 2007. "Beslenme" kitabından, yazarı: A Baysal, Yenilenmiş 11. Baskı, Hatiboğlu Yayınları:93, Hatipoğlu Yayınevi, Ankara.

Bayarer M, Karagözlü C, Akbulut N,2006. İnsan Beslenmesinde kolostrumun önemi ve kullanım olanakları, Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 10 (3/4): 11–21

Buckley JD, Abbott MJ, Brinkworth GD, Whyte PBD, 2002. Bovine colostrum supplementation during endurance running training improves recovery from exercise, but not performance. J Sci Med Sport, 5: 65–79.

Buckley JD, 2002. Bovine Colostrum: Does it Improve Athletic Performance. Nutrittion, 18(9): 776–777.

Burrin DG, Davis TA, Ebner S, Schoknecht PA, Fiorotto ML, Reeds PJ, McAvoy S, 1995. Nutrient-independent and nutrient-dependent factors stimulate protein synthesis in colostrum-fed newborn pigs. Pediatr Res. 37: 593–599.

Bhora F, Dinkin B, Batzri S, 1995. Effect of growth factors on cell proliferation and epithelization in human skin. J Surg Res. 59: 236–244.

Blomstrand E, Eliasson J, Karlsson, HK, Kohnke R, 2006. Branched-chain amino acids activate key enzymes in protein synthesis after physical exercise. J Nutr, 136 (1 Suppl), 269S-273S.

Cerra FB, 1989. Nutrition in trauma, stress and sepsis. In: Textbook of Critical Care (Eds: Shoemaker WC, Ayres S, Grenvik A, Holbrook PR, Thomson WL), Second Ed, Philadelphia, WB Saunders Company, 1118-1125.

Cerra FB, 1992. Nutritional support: Relevance to hepatic and neurologic failure. In: Multple System Organ Failure, (Ed: Fry DE), Mosby Year Book, Mosby-Year Book Inc, St. Louis, 267-277.

Coombes J, Conacher M, Austen S, Marshall P, 2002. Dose effects of oral bovine colostrum supplementation on physical work capacity in cyclists. Med Sci Sports Exercise, 34: 1184–1188.

Chuang DT, Shih VE, 1995. Disorders of branched chain amino acid and keto acid metabolism. In: Scriver C. R, Beaudet A L, Siy W S, Valle D: Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. New York: McGraw-Hill (pub.) (7^{,h} ed.) pp. 1239-1277.

Clowes GHA, George BC, Villee CA, Saravis CA, 1983. Muscle proteolysis induced by a circulating peptide in patients with sepsis or trauma. The New England Journal of Medicine 308(10):;545-552.

Dancis J, Levitz M, 1972. Abnormalities of branched-chain amino acid metabolism. In: Stanbury J. B, Wyngaarden J. B, Fredrickson D. S: The Metabolic Basis of Inherited Disease. New York: McGraw-Hill (pub.) (3rd ed.), 426-439.

Davidson GP, Daniels E, Nunan H, Moore AG, Whyte PBD, Franklm K, McCloud PI, Moore DJ, 1989. Passive immunization of children with bovine colostrum containing antibodies to human rotavirus. Lancet, 23: 709–712.

Deyi Z, Hyanek J, and Horakova M, 1986. Profiling of amino acids in body fluids and tissues by means of liquid chromatography. J. Chromatog, 379, 177– 250.

Devlin TM,1993. Textbook of Biochemistry with clinical correlations. 3rd edition, New York, John VViley & Sons İne, 508-509.

Ekin İ, 1988. Dengeli Beslenme. Ankara Okan Yayınları, 9-14.

Erdik E, 2004Sarıkaya Y, Temel üniversite kimyası. Gazi kitapevi, 493- 499.

Ersoy E, Bayşu N, 1986. Biyokimya, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları, No:408, Ankara, 215–216.

Ersoy G, 2004. "Egzersiz ve Spor Yapanlar için Beslenme" kitabından, Yazarı: G. Ersoy, Geliştirilmiş 3. baskı, Nobel Yayın No:621, Nobel Basımevi, Ankara, Mart.

Francis GL, Upton FM, Ballard F, McNeil KA, Wallace JC, 1988. Insulin-like growth Factors 1 and 2 in bovine colostrum, Biochemical Journal, 251: 95–103.

Francis GL,1986. Purification and partial sequence analysis of insulin-like growth Factor 1 from bovine colostrum, Biochemical Journal, 233(1): 207–213.

Freund H, Yoshimura N, Lunetta L, Fischer JE, 1978. The role of the branched-chain amino acids in decreasing muscle catabolism in vivo. Surgery, 83(6): 611-618.

Güneş H, 1999. Sitokinlerin hücre döngüsü üzerinde etkileri, Turkish Journal of Biology, 23: 283-292.

Güneş Z, 2000. Spor ve Beslenme Antrenör ve Sporcu El Kitabı. Nobel Yayın Dağıtım, Ankara, 12-42.

Gürsoy R. Aktaş Ö, Dane Ş, 2001. Beslenme ve Besinsel Ergojenikler I: Karbonhidrat, Yağ ve Proteinler, Atatürk Üniversitesi Beden Eğitimi ve Spor Bilimleri Dergisi, Erzurum, 1(2): 19-27.

Göbelez M, 1999. Gıdalar ve Sağlığımız, Mars Matbaacılık, Ankara, 11-14.

Gleeson N, Bishop NC, 2000. Special Future for the Olympics: Effects of Exercise on the Immune Responses to Exercise by Carbohydrate, Glutamine and Antioxidant Supplements. Immune Cell Biol, 78(5): 554-561.

Henderson DR, Mitchell D, 2000. Colostrum. CNR Publications ISBN-9676514-0-9 Sedona, AZ, USA, 54.

Hoffman JR, Ratamess NA, Kang J, Falvo MJ, Faigenbaum AD,2006. Effect of protein intake on strength, body composition and endocrine changes in strength/power athletes. J Int Soc Sports Nutr, 3, 12-18.

Holecek M, Siman P, Vodenicarovova M, Kandar R, 2016. Alterations in protein and amino acid metabolism in rats fed a branched-chain amino acid- or leucine-enriched diet during postprandial and postabsorptive states. Nutrition & Metabolism, 13:12

Holt WS Jr, 1993. Nutrition and athletes. Am Fam Physican, 47(8): 1757-64.

Karakaş ES, 1987. Sporcu Sağlığı. Alp Reklam Yayınevi, Kayseri, 30-44.

Kavas A, 2000. Sağlıklı Yaşam İçin Doğru Beslenme, Mart Matbaacılık, İstanbul, 20-30.

Kıvrak AO, Uçar G, 2012. Kolostrumun Özellikleri ve Sporcularda kullanımı. Selçuk Üniversitesi Beden Eğitimi ve Spor Bilim Dergisi, 14(2): 138-142

Kiecolt - Glaser JK, Glaser R, 1991. Stress and immune system: Human studies. in: Tasman and Riba, MB (eds), Annual Review ofPsychiatry, 11: 169–180.

Kuipers H, van Breda E, Verlaan G, Smeets R, 2002. Effects of oral bovine colostrum supplementation on serum insulin-like growth factor-I levels., Nutrition, 18(7-8):566-567.

Laboratory Guide to the Methods in Biochemical Genetics (2008)

Last JM. Wallace RB, 1992. Public Health&Preventive Medicine. 13th ed. Appleton&Lange, 995-1004.

Leppäluoto J, Rasi S, Martikkala V, Puukka M, 2000. Bovine Colostrum Supplementation Enhances Physical Performance on Maximal Exercise Tests. Pre-Olympic Congress Sports Medicine and Physical Education International Congress on Sport Science. Brisbane, Australia. 7-13 September, 2000.

Lopes J, Russell DM, Whitwell J, Jeejeebhoy KN,1982. Skelatal muscle fimction in malnutrition. The American Journal of Clinical Nutrition, 36: 602-610.

Mero A, Kahkönen J, Nykanen T, Parviainen T, Jokinen I, Takala T, Nikula T, Rasi S, Leppaluoto J, 2002. IGF–1, IgA, and IgG responses to bovine colostrum supplementation during training. J Appl Physiol, 93: 732–739.

Mitra AK, Mahalanabis D, Ashraf H, Unicomb L, Eeckels R, Tzipori S,1995. Hyperimmune cow colostrum reduces diarrhea due to rotavirus: a double blind study, cotrolled clinical trial. Acta Paediatrica, 84: 996–1001.

Murray R, Granner D, Mayes P, Rodwell V,1990. Harper'ın Biyokimyası, 22. baskı, İzmir, Barış Kitapevi, 350

Onat T, 2002. Amino Asitler, Peptid ve proteinler. Onat T, Emerk K, Sözmen EY, editörler. İnsan Biyokimyası'nda. Ankara: Palme Yayıncılık, 602-5.

Pakkanen R, Aalto J, 1997. Growth factor and antimicrobial factors of bovine colostrum. Int Dairy Journal, 7: 285-297.

Pehlivan A, 2005. Sporda Beslenme. Morpa Yayınları, İstanbul, 21: 209-217.

Qureshi GA, and Qureshi AR, 1989. Determination of free amino acids in biological samples: problems of quantitation. J. Chromatog, 491, 281–289.

Rodwel VW, 1993. Catabohsm of the carbon skeletons of amino acids. In Harper' s Biochemistry (Eds: Murray RK, Gramer DK, Menes PA, Rodwel VW), Twenty-third Ed, USA, Appleton & Lange, 303-325.

Rodwel VW,1993. Catabohsm of proteins and amino acid nitrogen. In: Harper' s Biochemistry (Eds: Murray RK, Gramer DK, Menes PA, Rodwel VW), Twenty-third Ed, USA, Appleton & Lange, 293-302.

Sabin AB, 1962. Antipoliomylitic activity of human and bovine colostrum and milk. Pediatrics, 29: 105–115.

Sandholm M, Honkanen-Buzalski T, 1980. Colostral trypsin-inhibitor capacity in different animal species. Acta Veterinaria Scandinavica, 20(4): 469–476.

Saygılı S, Balcıoğlu İ, 1996. Dengeli Beslenme Sağlıklı Zayıflama, Timaş Yayınları, İstanbul, 15.

Secreto G, Recchione C, Ballerini P, Callegari L, Fariselli G, Attili A, Moglia D, 1990. Cations and active androgens in breast cyst fluid. Ann NY Acad Sci, 586: 88-92.

Sencer E, 1987. Beslenme ve Diyet, İstanbul: Beta Basım Yayım Dağıtım AŞ, 1.

Schram SB, 1981. The LDC basic book on liquid chromatography, 3rd Edition, St. Petersburg, Milton Roy Company, 11-17

Sherwood RA, Titheradge AC, and Richards, DA, 1990. Measurement of plasma and urine amino acids by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection using phenylisothiocyanate derivatization. J. Chromatog, 528, 293–303.

Skeie B, Kvetan V, Gil KM, Rothkopf MM, Newsholme EA, Askanazi J, 1990. Branched-chain amino acids: Their metabolism and clinical utility. Critical care Medicine, 18(5): 549-571.

Skeie B, Söreide E, Askanazi J, 1992. The role of branched chain amino acids in critical illness. In: Principles of Critical Çare (Eds: Hail JB, Schmidt GA, Wood LDH), Second Ed, New York, McGraw-Hül, 1081-1092.

Sparling PB, Nieman DC, O'Connor PJ, 1993. Selected scientific aspects of marathon racing. An update on fluid replacement, immune function, psychological factors and the gender difference. Sports Medicine, 15(2): 116-132.

Stryer L, 1995. Protein, Structure and Function. Stryer L, editor. Biochemistry. 4. ed. New York: WH Freeman and Company, 18-23.

Sunguroğlu K, 2014. Biyokimya. Ülkar SE, editör. Aminoasitler ve Proteinler. Ankara: Akademisyen Tıp Kitapevi, 36

Şimşek B, 1998. Epidermal büyüme faktörü ve çene cerrahisindeki yeri. Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi, (1,2): 126-128.

Tacket CO, Binion SB, Bostwick E, Losonsky G, Roy MJ, Edelman R, 1992. Efficacy of bovine milk immunoglobulin concentrate in preventing illness after Shigella flexner challenge. American J Tropical Medical and Hygiene, 47: 276–283.

Tek NA, Pekcan G, 2008. Besin Destekleri Kullanılmalı mı? Birinci baskı, Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Klasmat Matbaacılık, Ankara, 1-8.

Tekinşen OC, Nizamlıoğlu M, 2001. Süt Kimya, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Birinci baskı, Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, 18–19–128–129.

Teko Ş, 2003. Sporcu Beslenmesi, Spor Sakatlıkları ve Sporcu Sağlığı, Ed M Ünal, TFF Sağlık Kurulu Başkanlığı, Doktor, Fizyoterapist ve Masör Gelişim Semineri-II kitabından, 24-25 Aralık 2002, Yeşilyurt- İstanbul.

Tietz NW,(Ed.) 1994.Textbook of Clinical Chemistry, 2nd Edition, Philadelphia, VV.B. Saunders Company, p.625-634, p.242- 246.

Tokuyama Y, Tokuyama H, 1993. Purification and identification of TGF-beta–2-relted growth factors in muscle development. Journal of Dairy Research, 60: 99 -109.

Tuckett S, 2002. On-Farm factors affecting the quality of bovine colostrum for use in the nutraceutical market. Latrobe University School of Agricultural Sciences.

Tüzün C, 1998. Organik Kimya, Amino asitler, Peptitler ve Proteinler. Okan Yayınları, 17. Ankara.

Thapa BR, 2005. Health factors in colostrum. Indian journal of pediatrics, 72 (7):579–581.

Ungar BLP, Ward DJ, Fayer R, Quinn CA, 1990. Cessation of Crytosporidium-associated diarrhea in AIDS patient after treatment with hyper immune bovine colostrum. Gastroenterolog, 98: 486-489.

Uruakpa FO, Ismond MAH, Akobundu ENT, 2002. Colostrum and its benefits: a review. Nutrition Research, 22: 755–767.

Van Elik HMH, Van Der Heijden MAH, Van Berlo CLH, 1988. Soeters P.B.ıFully automated liquid chromatographic determination of amino acids. Clin. Chem, 34: 2510-2513.

Walker V, Mills GA, 1995Quantitative methods for amino acid analysis in biological fluids. Ann. C//n.B/oc/7em, 32; 28-57.

Warny M, Fatimi A, Bostwick EF, Laine C, Lebel F, LaMont JT, Pothoulakıs C, Kelly CP, 1999. Bovine immunoglobulin concentrate-Clostridim difficile retains C. difficile toxin neutralising activity after passage through the human stomach and small intestine. Gut, 44 (2): 212-217.

Willams AP, 1986. General problems associated with the analysis of amino acids by automated ion-exchange chromatography. J. Chromatogr, 373:175-190,

Whitney EN, Rolfes RS, 1996. Understanding Nutrition. USA: West Publishing Company.

Yıldırım G, 1994. Serbest idrar Katekolaminlerinin Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile ölçümü ve klinik tanıdaki yeri (Uzmanlık Tezi) Ankara.

Zanetti M, Barazzoni R, Kiwanuka E,Tessari P, 1999. Effects of branched-chain-enriched amino acids and insulin on forearm leucine kinetics. Clinical Science, 97, 437–448

Zanker IA, Hammon HM, Blum JW, 2000. Plasma Amino Acid Pattern during the First Month of Life in Calves Fed the First Colostrum at 0–2 h or at 24–25 h after Birth. J. Vet. Med, A 46,107-121.

7. ÖZGEÇMİŞ

1977 yılında Karapınar' da doğdu. İlk ve orta tahsilini Karapınar' da yaptı. 1999 yılında Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünden mezun oldu. 2012 yılında Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladı.