

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SIÇANLARDA MATERNAL DİYETLE FRUKTOZ ALIMININ
FETÜSE ETKİLERİNİN BAZI LİPİT PARAMETRELERİ VE LİPOGENEZ
AÇISINDAN İNCELENMESİ

Dyt. Armağan Aytuğ YÜRÜK

Diyetetik Programı

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANKARA

2014

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SIÇANLARDA MATERNAL DİYETLE FRUKTOZ ALIMININ
FETÜSE ETKİLERİNİN BAZI LİPİT PARAMETRELERİ VE LİPOGENEZ
AÇISINDAN İNCELENMESİ

Dyt. Armağan Aytuğ YÜRÜK

Diyetetik Programı

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Yrd. Doç. Dr. Reyhan NERGİZ ÜNAL

ANKARA

2014

ONAY SAYFASI

Anabilim Dalı :Beslenme ve Diyetetik
 Program :Diyetetik
 Tez Başlığı :Sıçanlarda maternal diyetle fruktoz alımının fetüse etkilerinin bazı lipit parametreleri ve lipogenez açısından incelenmesi
 Öğrenci Adı-Soyadı :Armağan Ayтуğ Yürük
 Savunma Sınavı Tarihi :08.09.2014

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

Jüri Başkanı: Doç. Dr. Gülhan Samur
 Hacettepe Üniversitesi



Tez danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Reyhan Nergiz Ünal
 Hacettepe Üniversitesi



Üye: Doç. Dr. Mendane Saka
 Başkent Üniversitesi



Üye: Doç. Dr. Aylın Ayaz
 Hacettepe Üniversitesi



Üye: Doç. Dr. Hülya Gökmen Özel
 Hacettepe Üniversitesi



ONAY

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



Prof. Dr. Ersin FADILLIOĞLU

Müdür y

TEŞEKKÜR

Bu güne kadar eğitimime katkısı olan bütün hocalarıma,

Tezimin planlanması ve yürütülmesindeki katkılarının yanında ihtiyaç duyduğum her anda desteğini, emeğini ve zamanını esirgemeyen, akademik bilgilerini ve deneyimlerini benimle paylaşmaktan çekinmeyen sayın hocam Yrd. Doç. Dr. Reyhan NERGİZ ÜNAL'a,

Çalışmanın planlanması aşamasında destek olan bir önceki danışmanım Prof. Dr. H. Tanju BESLER'e,

Ders dönemine denk gelen laboratuvar analizlerine zaman yaratmama izin veren sayın hocalarım Prof. Dr. Neslişah RAKICIOĞLU ve Doç. Dr. Emine AKAL YILDIZ'a,

Birlikte görev aldığımız derslerde iş yükümü azaltıp tezime daha fazla zaman ayırmamı sağlayan çalışma arkadaşlarım Uzm. Dyt. Tuba YALÇIN, Uzm. Dyt. İnci TÜRKOĞLU ve Uzm. Dyt Aylin ÇERÇİ'ye,

Her ihtiyaç duyduğumda yanımda olan, destek ve fikir veren sevgili arkadaşlarım Uzm. Dyt. Esra ERÇİM ve Uzm. Dyt. Elif İNAN'a,

Çalışmam süresince yaşadığım ruh hali değişimlerimi sabır ve anlayışla karşılayan sevgili oda arkadaşlarım Uzm. Dyt. Nesli ERSOY, Uzm. Dyt. Funda TAMER ve Dyt. Neslihan ÜLGER'e,

Son olarak bu süreçte her çıkmaza girdiğimde tecrübelerinden faydalanarak farklı bir bakış açısı kazandıran ve yol gösteren babama, her zaman olduğu gibi bu çalışma sırasında da sevgi ve desteklerini esirgemeyen anneme ve tüm davranışlarımı sabır ve anlayışla karşılayarak uzaktan manevi güç veren sevgili ablama,

TEŞEKKÜRLERİMİ SUNARIM.

Ar. Gör. Armağan YÜRÜK

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 013D034001001 numaralı proje kapsamında desteklenmiştir.

ÖZET

Yürük, A. Sıçanlarda maternal diyetle fruktoz alımının fetüse etkilerinin bazı lipit parametreleri ve lipogenez açısından incelenmesi. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Diyetetik Programı, Yüksek Lisans Tezi. Ankara, 2014. Bu çalışmanın amacı gebelik öncesi, sırası ve laktasyon dönemlerinde maternal diyetle fazla miktarda fruktoz alımının hem anne hem de yavru sıçanlarda bazı kan ve karaciğer lipit parametrelerine, insülin ve vücutta yağlanma miktarına etkisini incelemektir. Çalışmaya 10 adet Sprague Dawley cinsi, dişi, virjin sıçan dahil edilerek iki gruba ayrılmıştır. Birinci gruba 0.2 g/ml (%20 w/v) olacak şekilde fruktoz, ikinci gruba da aynı miktarda maltodekstrin verilmiştir. Belirtilen şekilde 12 hafta beslenen sıçanların gebe kalmaları sağlanmıştır. Sıçanlar gebelik ve laktasyon dönemlerinde aynı şekilde beslenmeye devam etmiş, laktasyon döneminin sonunda ötanazi uygulanarak kan ve doku izolasyonu yapılmıştır. Çalışma sonucunda sıçanların yem tüketimleri açısından gruplar arasında fark bulunmazken sadece gebelik öncesi dönemdeki su tüketimleri maltodekstrin grubunda daha yüksek bulunmuştur ($p=0.016$). Hem anne hem yavru sıçanlarda vücut ağırlıkları, plazma ve karaciğer trigliserit miktarları, plazma toplam serbest yağ asitleri miktarlarının gruplar arasında farklılık göstermemiştir. Plazma insülin düzeyleri fruktoz grubundaki anne sıçanlarda ve yavrularında daha yüksek olduğu saptanmıştır (sırasıyla; $p=0.049$, $p= 0.005$). Toplam vücut yağı fruktoz grubundaki annelerde daha yüksek bulunurken ($p=0.029$) bu parametre için yavrularda gruplar arasında fark görülmemiştir. Çalışmanın sonucunda yüksek miktarda fruktoz alımının özellikle plazma insülin düzeyinde ve toplam vücut yağ miktarında artışa neden olduğu; maternal diyetle fruktoza maruz kalan yavrularda ise plazma insülin düzeylerini arttırdığı saptanmıştır. Bu çalışmanın sonuçları; erişkin başlangıçlı tip II diyabet, obezite gibi kronik hastalıkların oluşum riskini azaltmak için gebelik öncesi, gebelik sırası ve laktasyon dönemlerinde fruktoz tüketimine dikkat edilmesi gerektiğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Fruktoz, fetal programlama, trigliserit, serbest yağ asitleri, insülin

ABSTRACT

Yuruk, A. Determination the effect of maternal fructose intake in terms of lipogenesis and some lipid parameters in rats. Hacettepe University, Health Sciences Institute, Master of Science Thesis in Dietetics. Ankara, 2014. The aim of this study was to examine the effects of high fructose intake during preconception, throughout pregnancy and lactation on some lipid parameters and insulin level in the plasma, triglyceride accumulation in the liver and total body fat accumulation of both the mother rats and pups. Therefore, this study was carried out on Sprague Dawley strain, virgin female rats (n=10). After a two-week wash out period rats were divided into two groups. The fructose with a concentration of 0.2 g/mL (20% w/v) in water was administered to the first group and the same amount of maltodextrin was administered to the other group. After a 12-week dietary manipulation period the rats were mated for pregnancy. The dietary manipulation continued in the same way during pregnancy and lactation periods. At the end of lactation period, blood and tissues were isolated from the rats and animals were immediately sacrificed. As a result, it was found that there were no differences on *chow* intake while water intake of maltodextrin group was higher ($p=0.016$). Body weights, plasma and liver triglyceride levels, plasma free fatty acids of both mothers and pups were found similar. Plasma insulin levels were significantly different in the mothers and pups ($p=0.049$ and $p=0.005$, respectively). Total body fats of mothers in the fructose group were higher ($p=0.029$) but there was no difference in total body fats of pups between the two groups. Consequently, it was found that high fructose intake elevated plasma insulin level and total body fat and high fructose intake with maternal diet elevated plasma insulin levels. In conclusion, this study showed that to reduce the risk of chronic diseases such as type II diabetes mellitus and obesity in the later life of children, fructose intake in preconception, pregnancy and lactation periods might be restricted.

Key Words: Fructose, fetal programming, triglyceride, free fatty acids, insulin.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
TABLolar DİZİNİ	xiv
1. GİRİŞ	1
1.1. Kuramsal Yaklaşımlar	1
1.2. Amaç ve Varsayımlar	2
1.3. Hipotezler	3
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Gebelik Öncesi ve Gebelik Dönemlerinde Beslenmenin Anne ve Bebek Sağlığına Etkisi	5
2.2. Hastalıkta ve Sağlıkta Gelişimsel Temeller	6
2.3. Fetal Programlama Hipotezi	8
2.4. Kronik Hastalıkların Gelişimsel Temelleri	11
2.4.1. Obezite ve Gelişimsel Temelleri	12
2.4.2. Kardiyovasküler Sistem Hastalıkları ve Gelişimsel Temelleri	14
2.4.3. Tip II Diabetes Mellitus, İnsülin Direnci ve Gelişimsel Temelleri	16
2.4.4. Diğer Hastalıkların Gelişimsel Temelleri	17
2.5. Beslenme ve Gelişimsel Temeller	18
2.6. Mikrobeyin Öğelerinin Etkisi	19
2.7. Protein ve Lipitlerin Etkisi	20
2.8. Karbonhidratların Etkisi	21
2.8.1. Fruktozun Etkisi	22

3.GEREÇ VE YÖNTEM	33
3.1. Araştırma Yeri, Zamanı ve Örneklem Seçimi	33
3.2. I. Aşama: Hayvanların Temini, Diyet Müdahalesi ve Eşleştirme	34
3.2.1. Hayvanların Temini ve Bakımı	34
3.2.2. Uygulanan Diyet Müdahalesi	35
3.2.3. Eşleştirme, Gebelik ve Laktasyon	36
3.3. II. Aşama: Anestezi, Kan Alma, Doku Toplama ve Ötanazi	37
3.3.1. Anestezi	37
3.3.2. Kan Alma ve Ötanazi	37
3.3.3. Karaciğer Diseksiyonu ve Karkasların Saklanması	38
3.4. III. Aşama: Kan ve Doku Analizleri	39
3.4.1. Karaciğer ve Plazmada Yapılan Analizler	39
3.4.2. Toplam Vücut Yağı Miktarı Tayini	42
3.5. Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi	44
4.BULGULAR	45
4.1. Anne Sıçanlara Ait Bulgular	45
4.1.1. Yem ve Su Tüketimleri, Enerji Alımları ve Vücut Ağırlıkları	45
4.1.2. Karaciğer ve Plazmada Biyokimyasal Analizler	55
4.1.3. Toplam Vücut Yağı Miktarları	58
4.2. Yavru Sıçanlara Ait Bulgular	59
4.2.1. Ağırlık Değişimleri	59
4.2.2. Biyokimyasal Analizler	62
4.2.3. Toplam Vücut Yağı Miktarı Analizi	65
5. TARTIŞMA	69
5.1. Anne Sıçanlara Ait Bulguların Değerlendirilmesi	70
5.1.1. Anne Sıçanların Yem ve Su Tüketimleri, Enerji Alımı ve Vücut Ağırlığı	70
5.1.2. Anne Sıçanların Karaciğer ve Kan Biyokimyasal Bulguları	72
5.1.3. Anne Sıçanların Toplam Vücut Yağı Miktarları	76
5.2. Yavru Sıçanlara Ait Bulguların Değerlendirilmesi	77
5.2.1. Yavru Sıçanların Vücut Ağırlıkları	77

5.2.2. Yavru Sıçanların Karaciğer ve Kan Biyokimyasal Bulguları	78
5.2.3. Yavru Sıçanların Toplam Vücut Yağı Miktarları	80
6.SONUÇLAR	81
7.ÖNERİLER	83
KAYNAKLAR	85
EKLER	112
EK1: Etik Kurul Onayı	112

SİMGELER VE KISALTMALAR

5-HT	5 Hidroksi Triptamin
ACC	Asetil CoA Karboksilaz
ACL	ATP Fosfat Liyaz
ACTH	Adrenokortikotropik Hormon (<i>Adrenocorticotropik Hormone</i>)
ApoB	Apolipoprotein B
ASP	Asilasyon Uyarıcı Protein
BKİ	Beden Kütle İndeksi
CoA	Koenzim A
CPT1	Karnitin Palmitol Transferaz
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DNL	<i>De novo</i> Lipogenez
EFSA	Avrupa Besin Güvenliği Otoritesi (<i>European Food Safety Authority</i>)
FAS	Yağ Asit Sentaz
GLUT	Glikoz Taşıyıcı Protein
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
HPA	Hipotalamik Ptiüter Aks (<i>Hypothalamic Pituitary Axis</i>)
IGF (2)	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (2) (<i>Insulin Like Growth Factor</i>)
IgM	Immünoglobulin M
IL-6	İnterlökin 6
IRS-1	Serin İnsülin Reseptör Substratı-1
KVH	Kardiyovasküler Hastalıklar
LDL	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein (<i>Low Density Lipoprotein</i>)
LPL	Lipoprotein Lipaz
MAPK8	Mitojen Aktive Protein Kinaz 8
MKK7	Mitojen Aktive Protein Kinaz 7
mRNA	Mesajcı Ribonükleik Asit
NAFLD	Non Alkolik Karaciğer Yağlanması (<i>Non Alcoholic Fatty Liver Disease</i>)
NASH	Non Alkolik Steatohepatit (<i>Non ALcoholic Steatohepatitis</i>)

PPAR α	Peroksizom Proliferatör Aktive Edici Reseptör Alfa
ROS	Reaktif Oksijen Türleri (<i>Reactive Oxygen Species</i>)
SYA	Serbest Yağ Asitleri
TS	Türk Standartları
TSH	Tiroid Uyarıcı Hormon (<i>Thyroid Stimulating Hormone</i>)
UCP-2	Uncouple Protein 2
USDA	Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı (<i>United States Department of Agriculture</i>)
VLDL	Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
WHO	Dünya Sağlık Örgütü (<i>World Health Organisation</i>)
YFMŞ	Yüksek Fruktozlu Mısır Şurubu

ŞEKİLLER

	Sayfa
2.1. Kronik hastalıkların gelişimsel temelleri şeması	12
2.2. Yenidoğan sıçanlara yüksek karbonhidratlı formula verilmesi sonucu oluşan kısa ve uzun dönem etkiler	22
2.3. Fruktoz metabolizması	28
3.1. Deney şeması	34
3.3. Trigliserit analiz reaksiyonları	39
3.4. Serbest yağ asitleri analiz reaksiyonları	41
4.1. Fruktoz (A) ve maltodekstrin (B) gruplarındaki anne sıçanların yem tüketimlerinin haftalara göre değişimi	45
4.2. Gruplara göre anne sıçanların gebelik öncesi (A), gebelik (B) ve laktasyon dönemindeki (C) yem tüketimi ortalamaları	46
4.3. Fruktoz (A) ve maltodekstrin (B) gruplarındaki anne sıçanların günlük ortalama su tüketimlerinin haftalara göre değişimi	47
4.4. Gruplara göre anne sıçanların gebelik öncesi (A), gebelik (B) ve laktasyon dönemindeki (C) su tüketimi ortalamaları	48
4.5. Gruplara göre anne sıçanların müdahale öncesi (A), gebelik öncesi (B), gebelik sırası (C) ve laktasyon (D) dönemlerinde günlük aldıkları enerjinin yem ve sudan gelen yüzdeleri	49
4.6. Gruplara göre anne sıçanların gebelik öncesi (A), gebelik (B) ve laktasyon (C) dönemlerindeki günlük aldıkları toplam enerji ortalamaları	50
4.7. Fruktoz grubundaki anne sıçanların toplam (A), sudan gelen (B) ve yemden gelen (C) enerji alımlarının haftalara göre değişimi	51
4.8. Maltodekstrin grubundaki anne sıçanların toplam (A), sudan gelen (B) ve yemden gelen (C) enerji alımlarının haftalara göre değişimi	52
4.9. Fruktoz (A) ve maltodekstrin (B) grubundaki anne sıçanların haftalık vücut ağırlığı değişimleri ile grupların vücut ağırlığı ortalamaları (C)	53
4.10. Gruplara göre anne sıçanların gebelik öncesi (A), gebelik (B) ve laktasyon dönemindeki (C) vücut ağırlıkları	54
4.11. Gruplara göre anne sıçanların ortalama plazma trigliserit konsantrasyonları	55

4.12.	Gruplara göre anne sıçanların ortalama karaciğer trigliserit konsantrasyonları	56
4.13.	Gruplara göre anne sıçanların ortalama plazma toplam serbest yağ asitleri konsantrasyonları	57
4.14.	Gruplara göre anne sıçanların ortalama plazma insülin konsantrasyonları	58
4.15.	Gruplara göre anne sıçanların ortalama toplam vücut yağı ortalamaları	59
4.16.	Fruktoz (A) ve maltodekstrin (B) grubundaki yavru sıçanların vücut ağırlıkları ortalamaları	60
4.17.	Fruktoz (A) ve maltodekstrin (B) grubundaki yavru sıçanların haftalık vücut ağırlığı değişimleri ile grupların vücut ağırlığı ortalamaları (C)	61
4.18.	Gruplara göre yavru sıçanların ortalama plazma trigliserit konsantrasyonları	62
4.19.	Gruplara göre yavru sıçanların ortalama karaciğer trigliserit konsantrasyonları	63
4.20.	Gruplara göre yavru sıçanların ortalama plazma toplam serbest yağ asitleri konsantrasyonları	64
4.21.	Gruplara göre yavru sıçanların ortalama plazma insülin konsantrasyonları	65
4.22.	Gruplara göre yavru sıçanların toplam vücut yağı ortalamaları	65

TABLOLAR

		Sayfa
2.1.	Maltodekstrin ve fruktozun bazı özelliklerinin karşılaştırılması	26
4.1.	Gruplara göre anne sıçanların terminal vücut ağırlıkları, biyokimyasal parametreleri ve toplam vücut yağı analizlerinin ortalama değerleri	67
4.2.	Gruplara göre yavru sıçanların terminal vücut ağırlıkları, biyokimyasal parametreleri ve toplam vücut yağı analizlerinin ortalama değerleri	68

FORMÜLLER

	Sayfa
3.1. Soxhlet analizinde yağ miktarının hesaplanması	43

1. GİRİŞ

1.1. Kuramsal Yaklaşımlar

Gebelik; döllenmeyle başlayıp doğuma kadar süren, maternal metabolik düzene fetal büyüme ve gelişmenin de eklendiği, fizyolojik ve metabolik değişimlerin yoğun olarak gerçekleştiği bir süreçtir. Gebelik döneminde beslenme hem maternal gereksinimleri karşılamak hem de fetal büyüme ve gelişmeyi sağlamak açısından oldukça önemlidir. Beslenme, fetüsün büyüme ve gelişmesinde ve organizmada metabolik dengenin oluşturulmasında yer almakta olup, diyetle yapılan değişiklikler birçok organ ve dokunun gelişimini etkilemekte ve kalıcı değişikliklere neden olmaktadır (1-3). Organizmada metabolizmanın düzenlenmesi sırasında oluşan kalıcı değişiklikler, daha sonra oluşabilecek kronik hastalık riskini arttırabilmektedir (4,5). Erişkin yaşlarda ortaya çıkan kronik hastalıklar (kardiyovasküler hastalıklar, metabolik sendrom, obezite vb.), son yıllarda yapılan araştırmalarda prenatal/maternal beslenme ile ilişkilendirilmektedir (4-7). Genel olarak “fetal programlama hipotezi” olarak bilinen bu hipotez, gebelik sırasındaki maternal beslenmenin bebeğin yetişkin dönemdeki sağlığı üzerine etkilerini açıklamaktadır. Bu hipotezi ileri süren David Barker’a göre fetal dönemde maruz kalınan ortam, erişkin başlangıçlı kronik hastalıklar ile ilişkilendirilmektedir (8).

Annenin maruz kaldığı malnutrisyon, metabolik değişiklikler, hormonlar, enfeksiyon, inflamasyon, çeşitli kimyasallar ve diğer uyanların fetüste yapısal, fizyolojik ve metabolik değişiklikler yaratmasının kronik hastalıkların oluşumuna neden olabildiği görüşü yapılan araştırmalarla günümüzde de desteklenmektedir (9). Güncel çalışmalar; kardiyovasküler hastalıklar, obezite, metabolik sendrom ve tip II diyabet gibi kronik hastalıkların temel intrauterin dönemdeki büyüme ve gelişme yetersizliklerinden kaynaklanabileceğini bildirmiştir (10-12).

Diyetin protein ve yağ içeriğindeki dengesizlikler fetal ve plasental gelişmeyi etkileyerek düşük doğum ağırlığına ve erişkin dönemde kardiyovasküler hastalıklara

neden olmaktadır (13,14). Diğer bir makro besin öğesi olan karbonhidrat alımı ve fetal programlama ile yapılmış çalışmalar protein ve yağa göre sayıca daha azdır.

Diyetteki başlıca fruktoz kaynakları bal, meyve, sükröz, yüksek fruktozlu mısır şurubu ve bunlarla tatlandırılmış çeşitli alkolsüz içecekler ve tatlılardır (15). Türkiye şeker Kurumu'nun verilerine göre dünyada kişi başına düşen ilave şeker tüketimi 21 kg/yıldır. Türkiye'de 2012/2013 döneminde kişi başına düşen pancar şekeri miktarı 29 kg/yıldır (16). Son yıllarda Avrupa ve Amerika'da yüksek fruktozlu mısır şurubunun artan kullanımı ile fruktoz günlük alınan enerjinin yaklaşık %10'unu oluşturmaktadır (17,18). Ülkemizde fruktoz tüketim miktarına yönelik herhangi bir veri bulunmamaktadır. İşlenmiş besinlerden alınan fruktoz miktarının çocuklarda ve gebe kadınlarda hızla arttığı dikkatleri çekmektedir (19-21).

Basit yapılı bir karbonhidrat olan fruktozun, insüline bağımlı kan glukozunu etkilememesinin yanı sıra lipogenezi arttırarak obezite ve kardiyovasküler hastalıkları tetikleyebilmektedir. Yüksek fruktoz tüketiminin vücutta insülin duyarlılığı ve insülinin intraselüler sinyal yolaklarını etkileyerek diyabet riskini artırabildiği ile ilgili birkaç çalışma mevcuttur (22-24). Ayrıca fazla fruktoz tüketiminin farelerde karaciğerde oksidatif stres parametrelerini etkileyerek karbonhidrat metabolizmasında değişikliklere neden olabildiği; endotel disfonksiyon, inflamasyon belirteçlerinin artışı, hipertansiyon gibi kardiyovasküler hastalıkların patogenezinde de önemli rol oynayabileceği yayınlanmıştır (25-28).

1.2. Amaç ve Varsayımlar

Hızlı bir ivme ile artan maternal fruktoz alımının fetal programlama üzerindeki etkileri ile ilgili yapılan çalışmalar yetersizdir. Bu çalışmada gebelerde fazla miktarda fruktoz tüketiminin yavruların sağlığı üzerindeki etkileri incelenmiştir. Böylece fruktozun gebelik öncesi, gebelik ve laktasyon sırasında fazla miktarda alınmasının anne ve yavrularda vücutta yağ depolanması, karaciğerde trigliserit birikimi ile plazmada lipit ve insülin seviyeleri üzerine etkilerinin belirlenmesi planlanmıştır. Bu çalışmayla maternal diyetle alınan fruktozun, yavrunun kronik

hastalık riski gelişimi üzerine etkileri preliminer düzeyde saptanması öngörülmüştür. Böylece, ileriye dönük olarak besin ve beslenme politikalarının, tıbbi beslenme tedavilerinde yeni yaklaşımların geliştirilebilmesi konusunda diğer hayvan ve insan çalışmaları için altyapı niteliğinde veri elde edilmesi planlanmıştır.

Tezin birinci amacı; gebelik öncesi, sırası ve laktasyon döneminde fazla miktarda alınan fruktozun anne sıçanlarda; bazı kan lipit parametreleri, insülin düzeyi, karaciğerde trigliserit birikimi ve obezite ile ilişkili olan vücut yağ miktarı üzerindeki etkilerini incelemektir. İkinci amacı ise; maternal diyetle fazla miktarda alınan fruktozun yavru sıçanlarda; bazı kan lipit parametreleri, insülin düzeyi, karaciğerde trigliserit birikimi ve obezite ile ilişkili olan vücut yağ miktarı üzerindeki etkilerini incelemektir.

1.3. Hipotezler

Bu araştırmanın birinci hipotezi; fazla miktarda fruktoz alımı (>%20 enerji) anne sıçanlarda; bazı kan lipit parametreleri, insülin düzeyi, karaciğerde trigliserit birikimi ve toplam vücut yağını artırmaktadır. İkinci hipotezi ise; maternal diyetle fazla miktarda fruktoz alımı (>%20 enerji) fruktoza maruz kalan yavru sıçanlarda; bazı kan lipit parametreleri, insülin düzeyi, karaciğerde trigliserit birikimi ve toplam vücut yağını artırmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

Besinlerin sağlıkla olan yakın ilişkisi günümüzden yüzyıllar önce fark edilmiştir. Hipokrat “ Besinler ilacınız, ilacınız besinler olsun” diyerek beslenmenin önemini yaklaşık 2500 yıl önce vurgulamıştır. Besinlerin sağlık üzerindeki etkilerinin fark edilmesi, zamanla “sağlıklı beslenme” terimini ortaya çıkarmıştır. 20. yüzyılın başlarında makro ve mikro besin öğelerinin keşfedilmesinden sonra sağlıklı beslenme terimi daha çok “bireylerin bu öğeleri yeterli ve dengeli bir şekilde alması” olarak açıklanmıştır (29). Besinlerin yapısındaki biyoaktif bileşenlerin keşfi ve bunların sağlığa etkileri öğrenildikçe sağlıklı beslenme teriminin altı bu kavramlarla biraz daha doldurulmuştur.

Yaklaşık son 50 yılda yapılan çalışmalarla bireylerin sağlık durumuna genetik faktörler ve beslenmenin yanında anne karnında maruz kaldığı çeşitli etmenlerin de etkili olduğu bulunmuştur (30-32). Bu etki temelde iki yolla ortaya çıkmaktadır. Birincisi; bu etkenler fetal büyüme ve gelişmeyi direkt olarak etkileyerek çeşitli sorunlar oluşturabilir. Örneğin annenin gebelik sırasında maruz kaldığı X ışınları gebelik yaşı ve doza göre değişmekle birlikte bebeğin nörolojik gelişimini etkiler ve bebekte bilişsel gelişim geriliği, mikrosefali gibi sorunlar ortaya çıkmaktadır (33). İkinci etki daha çok gelişim ve farklılaşma mekanizmaları ile ilişkilidir ve sadece gebeliği değil gebelik öncesi dönemi de kapsamaktadır. Bireylerin erişkin dönemindeki hastalık ve sağlığı ile ilgili bazı kodlamaların birey henüz dünyaya gelmeden oluştuğu düşünülmektedir. Annenin gebelik sırasında ve gebelikten önceki dönemlerde karşılaştığı çeşitli etkenler bireylerin hastalıklara yatkınlığını etkilemektedir. Örneğin; fetal dönemde fazla miktarda glikokortikoide maruz kalan bireylerde erişkin yaşamda ateroskleroz, hiperkolesterolemi, tip II diabetes mellitus gibi hastalıkların görülme riski artmaktadır (34). Beslenme; organizmada gerçekleşen metabolik olaylar için enerji ve diğer elzem öğeleri sağlayarak, vücuttaki çeşitli yapıların gelişimini ve işlevini direkt olarak etkiler. Bu nedenle özellikle gebelik, büyüme, yaşlılık ve hastalık gibi yaşamın kritik dönemlerinde beslenme oldukça önemlidir. Annenin gebelik sırasındaki beslenme durumu yukarıda

bahsedilen fetüsü etkileyen etmenlerden bir tanesidir ve sonraki bölümde ayrıntılı olarak açıklanmıştır.

2.1. Gebelik Öncesi ve Gebelik Döneminde Beslenmenin Anne ve Bebek Sağlığına Etkisi

Gebelik; döllenmeyle başlayıp doğuma kadar süren, maternal metabolik düzene fetal büyüme ve gelişmenin de eklendiği, fizyolojik ve metabolik değişimlerin yoğun olduğu bir süreçtir. Fetal büyüme ve gelişme anneden plasenta aracılığı ile gelen oksijen, besin öğeleri, hormon gibi maddelere bağlıdır. Gebeliğin ilk günlerinde embriyodan iki tip hücre farklılaşmaktadır. Dış taraftaki trofoblast hücreler plasentayı oluştururken; iç taraftaki hücreler fetüsü oluşturmaktadır. Yani plasenta tıpkı fetüs gibi döllenmiş yumurtadan oluşmaktadır (32). Temel görevi anne ve fetüs arasındaki madde alışverişini dolaşım sistemlerini birbirine karıştırmadan sağlamaktır. Plasenta, fetüsün büyüme ve gelişmesi için ihtiyaç duyduğu oksijen, besin öğeleri ve diğer maddeleri anne vücudundan fetüse iletirken fetal metabolizma sonucu ortaya çıkan atık maddeleri ve karbon dioksidi anne vücuduna göndererek ortamdan uzaklaşmasını sağlamaktadır. Plasentanın oluşturduğu maternal-fetal kan bariyerinden oksijen, karbondioksit, besin öğeleri, insülin geçişine izin verilirken, bakterilerin çoğu, proteinlerin çoğu, İmmunoglobulin M (IgM), maternal trigliserit, kolesterol ve fosfolipidler, heparin gibi bazı ilaçlar geçememektedir. Madde alışverişini sağlamanın yanında, plasenta bazı hormonları da salgılamaktadır. Progesteron, östrojen, tiroid uyarıcı hormon (TSH), adrenokortikotropik hormon (ACTH), human plasental laktojen ve relaksin hormonları ile leptin ve insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) gibi maddeler de plasenta tarafından salgılanmaktadır.

Gebelik döneminde beslenme hem maternal gereksinimleri karşılamak hem de fetal büyüme ve gelişmeyi sağlamak açısından oldukça önemlidir. Bu nedenle gebelik süreci beslenmeyi büyük ölçüde etkilemektedir. Normal ağırlıklı gebelerle karşılaştırıldığında obez gebelerin gestasyonel diabetes mellitusa yakalanma riski

dört kat, preeklampsi gelişim riski ise iki kat daha yüksektir (35-37). Maternal obezite varlığı; doğum sırasında maternal açıdan; ölüm, sezeryan, hemoraji ve enfeksiyonla; fetal açıdan ise; neonatal ve infant ölümü, doğum travması ve makrozomi ile ilişkili olduğu bulunmuştur (38-40).

Gebelik sırasında yetersiz beslenme de hem anne hem bebek açısından olumsuz sonuçlar doğurmaktadır. Bir çalışmada annelerin gebeliğe başlangıç ağırlığının düşük olduğu (Beden Kütle İndeksi (BKİ)<18.5 kg/m²) gebeliklerde 28. haftadan sonra preterm doğum riskinin arttığı gösterilmiştir (41). Gebelik sırasında mikro besin öğelerinden yetersiz beslenmek de çeşitli sorunlara yol açmaktadır. Doğum sonrası 6-8. haftalarda demir yetersizliği anemisi görülen annelerin çocukları 10. hafta- 9. ay arasında anemi görülmeyen annelerin çocuklarına göre daha düşük seviyede gelişim göstermiştir (42). Üreme çağında ve gebelik sırasında plazma çinko konsantrasyonu düşük olan kadınların çocuklarında uzun dönemde büyüme, immunité ve metabolik durumda istenmeyen etkiler görüldüğü bildirilmiştir (43). Gebelik öncesinde veya ilk trimesterde iyot takviyesiyle, iyot yetersizliğine bağlı kretenizm oluşumu önlenabilmektedir. Bir çalışmada iyot yetersizliği görülen ülkelerde yapılan iyot takviyesiyle doğum ağırlığında küçük bir artış sağlandığı gösterilmiştir (44).

2.2. Hastalıkta ve Sağlıkta Gelişimsel Temeller

Normal ve sağlıklı gebeliklerden doğan bebeklerin boy, ağırlık ve diğer parametrelerindeki farklılıklar bazı araştırmacıların dikkatini çekmiştir. Akrabaların doğum ağırlıklarının araştırıldığı çalışmalar ve çeşitli hayvanlarla yapılan çapraz emzirme çalışmaları sonucunda bu farklılıkların fetal genomik farklılıklardan çok intrauterin çevreden kaynaklandığı bulunmuştur (45).

Gebelik sırasında makro besin öğeleri (protein, karbohidrat, yağ) alımındaki dengesizlikler fetal ve plasental gelişmeyi etkileyerek düşük doğum ağırlığına, erişkin dönemde kan basıncı artışına ve kardiyovasküler hastalıklara neden olmaktadır (13,14,46,47).

Yapılan çalışmalar gebelik sırasında makro besin öğelerinin yanı sıra özellikle folik asit, B2, B6, B12, D vitamini, kalsiyum, demir, çinko, magnezyum gibi mikro besin öğelerinin fazla ya da az alımı bireylerin erişkin yaşamında oluşabilecek hastalıklarla ilişkili bulunmuştur (48,49). Gebelik sırasında maternal beslenme bebeğin erişkin başlangıçlı kronik hastalıklara yatkınlığını etkiler. Bu durum “fetal orijinler hipotezi, fetal programlama, gelişimsel programlama veya hırsız genler hipotezi” olarak adlandırılmaktadır (8).

Fetal programlama hipotezi; maternal etkenlerin bebeğin erişkin dönemindeki sağlığı üzerine etkilerini açıklamaktadır. Gebelik, fetüsün büyüme ve gelişmesinin tamamen anneden gelen etmenlerle şekillendiği bir dönemdir. Bu nedenle annenin beslenme durumu fetüsü ve sonraki yaşamındaki sağlık durumunu direkt olarak etkilemektedir. Bunun yanında yapılan bazı çalışmalar babanın yaşı, maruz kaldığı ortam ve beslenme durumunun da çocuklarının sağlığını etkilediğini göstermiştir. Bir çalışmada obez babaların erkek yavrularında üreme fonksiyonlarında bozukluklar meydana geldiği rapor edilmiştir (50). Ayrıca 9 hafta yüksek yağlı (%21) diyetle beslendikten sonra 9 hafta egzersiz ve/veya diyet yaptırılan erkek sıçanlar eşleştirildikten sonra erkek yavrularının üreme fonksiyonlarının incelendiği bir çalışmada babanın yaptığı diyet ve/veya egzersizin yavruların üreme fonksiyonlarını geliştirici yönde etki ettiği güncel bir çalışmada bulunmuştur (51). Anne sıçanlarda folat yetersizliği olmamasına rağmen eşleşme sırasında erkek sıçanlardaki folat yetersizliğinin yavruların beyin deoksiribonükleik asit (DNA) metilasyonunu ve insülin benzeri büyüme faktörü-2 (IGF-2) ekspresyonunu etkilediği bulunmuştur (52). Başka bir çalışmada 11 yaşından önce sigara içmeye başlayan babaların erkek çocuklarının bel çevresi ve vücut yağ kütlesi daha sonraki yaşlarda sigaraya başlayan erkeklerin çocuklarına göre daha yüksek bulunmuştur (53). Babanın döllenme öncesindeki metabolik durumunun yavru sağlığını etkilediği düşünüldüğünde gebelik ve laktasyon dönemi boyunca anne ile sıkı temas halinde olan yavruların annelerin metabolik ve fizyolojik durumlarından etkilenmesi tahmin edilebilir bir sonuçtur.

Gebelik sırasında yetersiz beslenmenin bireylerin erişkin hastalıklarına olan etkisi çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. Genel olarak fetüsün büyüme ve gelişiminde etkili olan kritik dönemlerin varlığı fetal programlama hipotezinden daha önce tartışılmaya başlanmıştır (32,54). Plasental ve fetal büyümenin maternal beslenme durumundan en çok etkilendiği zaman genellikle gebeliğin henüz farkına varılmadığı; gelişimin ilk birkaç haftasındaki preimplantasyon ve hızlı plasental büyümenin olduğu dönemdir (55). Bu kritik dönemler daha çok hızlı hücre farklılaşmalarının olduğu periyotlar olarak tanımlanabilmektedir. Bu periyotlarda fetüsün oksijen ya da besin ögesi alımı azalırsa ilk olarak; kritik dönemdeki hücrelerin farklılaşma hızı azaltılarak adaptasyon sağlanmaktadır. Bazı organlarda bu duruma yanıt hücre sayısını azaltmak olarak da verilebilmektedir. Böylece fetüsün yetersiz beslenme ile ilgili edindiği bilgiler farklılaşmış hücrelerin dağılımını değiştirmektedir. Bu da insülin, büyüme hormonu gibi bazı büyüme faktörleri ve hormonların konsantrasyonunu azaltmaktadır (54). Ayrıca fetal organların gelişmeye başladığı dönemde oluşan yetersizlik durumunda fetüs alınan yetersiz besin ögesi veya oksijeni daha hayati organların gelişimi için kullanmaktadır. Bu durum böbrek gibi fetal önceliği daha düşük olan organların gelişiminde sorunlar oluşturmakta ve erişkin dönemde böbrek hastalıkları oluşum riskini arttırmaktadır (88). Bu durumda fetüs yaşamına bazı hastalıklar geliştirme konusunda kodlanarak başlamaktadır.

2.3. Fetal Programlama Hipotezi

Fetal programlama konusu araştırmacıların dikkatini ilk olarak 1970'li yıllarda çekmiştir ve bu konuda yapılan çalışmalar son yıllarda hızla artmaktadır (8,30,56). Barker ve ark. yaptığı çalışmalarda 20. yüzyılın başlarında İngiltere'nin bazı bölgelerinde çok fazla çocuk ölümü gerçekleştiği gözlenmiştir (8). Belli bir süre sonra aynı bölgelerde koroner kalp hastalığının en önemli erişkin ölüm nedeni olduğu bulunmuştur. Retrospektif olarak incelenen kayıtlarda bebek ölümlerinin düşük doğum ağırlığından kaynaklandığı gözlenmiştir. Bunun üzerine düşük ağırlıkla doğan ve hayatta kalan bireylerin kayıtları incelendiğinde koroner kalp hastalığı oranı

yüksek bulunmuştur. Böylece düşük doğum ağırlığı ile koroner kalp hastalığı arasında bir korelasyon bulunduğu hipotezi oluşturulmuştur (8). Bu korelasyonun altında yatan mekanizmayı araştıran çalışmalarda kardiyovasküler hastalıkların iki büyük risk faktörü olan hipertansiyon ve tip II diyabet ile ilgili olabileceği sonucuna varılmıştır (57). Barker'ın hipotezine karşı çıkanlar fetal ve infant gelişimin erken beslenme ile ilişkisinin dolaylı olarak belirlendiğini, özellikle fetal büyüme ve beslenme durumunun şüpheli bir ölçüt olduğunu iddia etmişlerdir. Ancak günümüzde bu hipotez yaygın olarak kabul görmüştür.

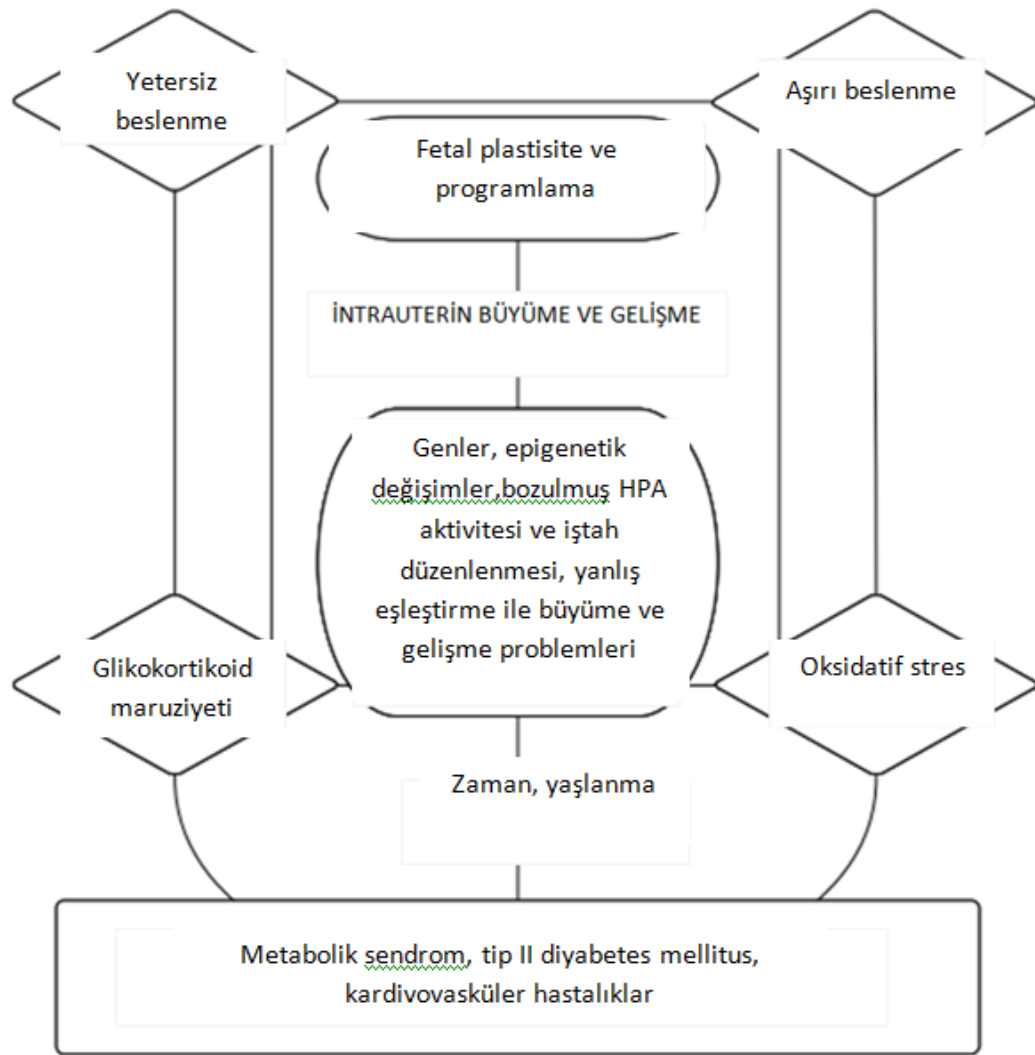
İkinci Dünya Savaşı sırasında Almanya, Hollanda'nın yoğun nüfuslu bir bölgesini işgal etmiş ve bu bölgede başlayan bir partizan aktivitesi ve demiryolu işçilerinin ülke çapında yaptığı greve karşılık olarak bölgedeki gıda maddelerini Almanya'ya sevk ederek burada ciddi bir gıda ambargosu uygulamıştır. 1944 kışında üç ay süren bu ağır açlık sırasında hamileliğinin üçüncü ve daha sonraki aylarında olan kadınların çocuklarında plasenta ağırlığının arttığı ama doğum ağırlığında bir değişim olmadığı gözlenmiştir (31). "Holanda Açlık Kışı" olarak tarihe geçen bu dönemin kayıtlarından elde edilen sonuçların en önemlilerinden biri fetüsün gebelik sırasında maruz kaldığı şartların bireylerin erişkin yaşamında oluşabilecek hastalık riskini arttırabilmesidir. Üstelik bu durum doğum ağırlığında bir değişim olmadan da gerçekleşebilmektedir. Gebeliğinin ortasında veya son döneminde açlığa maruz kalan annelerin çocuklarının ciddi olarak düşük doğum ağırlığına sahip olduğu; ancak maternal açlığı gebeliğin erken döneminde yaşayan bebeklerin erişkin yaşlarda obezite oranının, gebeliğin son döneminde açlık yaşayan ve hiç açlık yaşamayan bebeklere göre daha fazla olduğu gösterilmiştir (58). Bu kayıtların diğer bir önemli özelliği açlığın gebeliğin farklı dönemlerinde farklı etkilere neden olduğunu göstermesidir. Sadece gebeliğin son döneminde açlığa maruz kalan annelerin bebekleri açlık yaşamayanlara göre daha küçük doğmuştur ve hayatları boyunca obezite prevalansı düşük olmuştur. Gebeliğin erken dönemlerinde açlık yaşayan bebeklerde lipit profili değişiklikleri, obezite ve kardiyovasküler hastalıkların oranı daha fazladır. Öte yandan sadece gebeliğin ortasında açlığa maruz kalan annelerin

bebeklerinde böbrek fonksiyonunda azalma gözlenmiştir (58). Bu durum daha önce belirtilen gelişimde kritik dönemler olduğu fikrini desteklemektedir (54).

Hollanda açlık kışı kayıtları kullanılarak açlığa maruziyetin insülin ve glikoz düzeylerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada gebeliğin özellikle orta ve erken dönemlerinde maternal açlığa maruz kalan bireylerde insülin sekresyonunda bozukluk ve bozulmuş glikoz toleransı oranı yüksek bulunmuştur (59). Benzer şekilde BKİ ve bel çevresinden bağımsız olarak açlık yaşayan gebelerin kız çocuklarında açlık yaşamayanlara göre total kolesterol, trigliserit, düşük dansiteli lipoprotein (LDL) kolesterol düzeyleri yüksek bulunmuştur ancak erkek çocuklarda böyle bir ilişki gösterilmemiştir (60). Gebeliğin erken dönemlerinde maternal açlığa maruz kalan bebeklerin erişkin yaşlarında koroner kalp hastalığı prevalansı daha yüksek bulunmuştur (61). Ayrıca koroner kalp hastalığı olan bireyler arasında daha düşük doğum ağırlıklı ve doğumdaki baş çevresi ölçümü daha düşük olan bireyler sayıca fazladır. Daha önceki bölümlerde bahsedildiği gibi plasenta anne ve fetüs arasındaki oksijen ve besin öğelerini taşımakla görevlidir. Gebelik sırasında bu maddelerde yetersizlik oluşursa fetüse daha fazla besin ögesi sağlamak için plasenta yüzeyi genişletilmektedir. Yani plasenta ağırlığının fazla olması gebelik sırasında yetersiz beslenmenin bir belirtisidir. Yapılan çalışmalarda plasenta ağırlığı arttıkça bireylerin erişkin yaşamlarındaki kan basınçlarının da arttığı bildirilmiştir (32). Ayrıca plasenta ağırlığı sadece kan basıncıyla değil bozulmuş glikoz toleransı, kan koagülasyonunda bozulmalar ve koroner kalp hastalıkları ile de ilişkili bulunmuştur (32). Sonuç olarak plasental ağırlığın artması hipertansiyon için bir marker değildir ancak yetersiz fetal gelişimin bir göstergesidir (45). Fetal programlamanın temel amacı; fetal dönemde karşılaşılan beslenme yetersizliklerinden vücut için birincil derecede öneme sahip organların daha az etkilenecek yetersizliklerden korunmasını sağlamak amacıyla daha az önemli olan organlara besin ögesi akışının azaltılması olarak açıklanabilmektedir.

2.4. Kronik Hastalıkların Gelişimsel Temelleri

Bazı besin öğelerinin fazla ya da az alınmasıyla fetal dönemde gerçekleşen plastisite intrauterin büyüme ve gelişmeyi etkilemekte ve ilerleyen yaşla birlikte kronik hastalıkların oluşumuna zemin hazırlamaktadır (32,62,63). Metabolik sendrom, tip II diabetes mellitus ve kardiyovasküler hastalıkların gelişimsel temelleri beslenme yetersizliği/fazla beslenmeyle ilişkilidir (64) (Şekil2.1.). Oluşum mekanizması Şekil 2.1.'de görülmektedir. Özetle fetal plastisite ve programlama birçok faktörün etki etmesiyle başlamaktadır. Bunlar; yetersiz ya da aşırı beslenme, intrauterin yaşamda glikokortikodlara maruziyet ve hücrelerde oksidatif stres gibi faktörlerdir ve intrauterin büyüme ve gelişmeyi etkileyerek epigenetik değişimlere, hipotalamik pitüiter aksın (HPA) aktivasyonunda ve iştah mekanizmasının düzenlenmesinde bozulmalara neden olabilmektedir. Yaşamın ilk dönemlerinde bu şekilde yanlış programlanan organizmanın erişkin dönemde yaşlanma ve diğer olumsuz etkenlere maruz kalmasıyla birlikte metabolik sendrom, tip II diyabet ve kardiyovasküler hastalıkların oluşum riski artmaktadır.



Şekil 2.1. Kronik hastalıkların gelişimsel temelleri şeması (64)

2.4.1. Obezite ve Gelişimsel Temelleri

Obezitenin fetal programlanması birçok faktörün etkisi altında farklı mekanizmalarla gerçekleşmektedir. Bu faktörlerin en çok bilinenleri düşük doğum ağırlığı, oksidatif stres, aşırı miktarda glikokortikoide maruziyet ve maternal obezite olarak özetlenebilir. Obezitenin programlanmasıyla ilgili çalışmalar maternal yetersiz/fazla beslenme, gestasyonel diyabet ve düşük proteinli diyet alımının yavruların arkuat nükleusunda özellikle nöropeptid Y ve galanin gibi iştah ve yeme davranışı ile ilgili peptidlerde değişikliklere neden olduğu bildirilmiştir (65-68). Ancak

bu değişikliklerin fetal programlamanın bir işareti mi olduğu yoksa yavruda vücut ağırlığı ve adipozite ile ilgili leptin, insülin gibi hormonların değişiminden mi kaynaklandığı bilinmemektedir (64).

Doğum ağırlığı ve erişkin yaşıardaki obezite arasında U- veya J- şeklinde bir ilişki olduğu bilinmektedir (69,70). Maternal diyetle yetersiz beslenen sıçanların vücut ağırlığına oranla retroperitoneal yağ dokuları ve açlık leptin konsantrasyonları daha yüksek bulunmuştur (71). Düşük doğum ağırlığı ile ilgili yapılan çalışmalarda maternal yetersiz beslenme sırasında adipozit metabolizması ve yağ kütlesine yönelik programlamalar olduğu, bu durumun da özellikle doğumdan sonra fazla beslenme ile ilişkili olarak ileri dönemde obeziteye yol açtığı bildirilmiştir (3,63). Düşük doğum ağırlıklı hayvanlarla yapılan bir çalışmada adipozit fonksiyonunda meydana gelen değişikliklerin özellikle yağ metabolizmasının düzenlenmesinde anahtar rol oynayan uncouplin protein-2 (UCP2) ve peroksizom proliferatör aktive reseptör alfa (PPAR α) moleküllerinin mesajcı ribonükleik asitlerinin (mRNA) ekspresyonunda artışla meydana geldiği gösterilmiştir (72). Bir çalışmada farelerde oksidatif stres yaratıldıktan sonra eşleştirildiğinde dişi yavrularda glikoz toleransı ve adipoz doku artışı olduğu saptanmıştır (73).

Yetersiz maternal beslenme durumunda erişkin yaşamda obezite gelişiminin mekanizmasında rol oynayan iki faktör fetüsün yetersiz beslenmesi (9) ve glikokortikoidlere maruz kalması olarak bildirilmiştir (74,75). Aşırı miktarda glikokortikoide maruziyet; glikokortikoid reseptörleri ve glikokortikoidlerin düzenleyici enzimlerinin ekspresyonunda ve fonksiyonundaki değişikliklerin ya da hipotalamus- hipofiz- adrenal aksın erken aktivasyonu sonucu olabileceği düşünülmüştür (76). Yapılan bir kohort çalışmasında gebelik öncesinde annelerin BKİ'leri arttıkça çocuklarının 10 yaşıardaki adipozite ve BKİ, bel çevresi, deri altı yağ dokusu, viseral adipozite ve lipit parametreleri gibi metabolik risk faktörlerinin de arttığı bildirilmiştir (77).

2.4.2. Kardiyovasküler Sistem Hastalıkları ve Gelişimsel Temelleri

Kardiyovasküler hastalıkların fetal programlaması konusunda yapılan çalışmaların çoğu yetersiz protein alımı ve hipertansiyonla ilişkilendirilmektedir. Maternal diyetle yetersiz protein alan yavru sıçanların kardiyomiyosit sayıları daha az olarak doğduğu, sol ventriküldeki interstisyel fibrozların kontrol grubuna göre %15 daha fazla olduğu, dolaşımında daha fazla epinefrin bulunduğu, β_1 - adrenerjik reseptörlerin azaldığı ve β agonistlerine cevabın değiştiği çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (78-82). Ayrıca maternal düşük sodyumlu diyetin yavrularda kardiyak hipertrofiyle ilişkili olan atriyal natriüretik peptid seviyesini arttırdığı bildirilmiştir (83).

Erişkin başlangıçlı kardiyovasküler hastalıkların mekanizmasını anlamak için yaygın olarak iki hayvan modeli kullanılmaktadır. Birinci modelde sıçanlara düşük proteinli diyet, ikincisinde ise koyunlara birinci trimesterde 48 saatlik steroid infüzyonu verilmektedir (84). Her iki modelde de hayvanlar normal kardiyovasküler fenotipte doğmakta ancak 4-6. aylarda hipertansiyon ve kardiyak hipertrofi geliştirmektedirler (84). Gebelik sırasında maternal olarak düşük proteinli diyet alan yetişkin sıçanların kalplerinin iskemiye daha duyarlı olduğu bir çalışmada gösterilmiştir (85). Reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretiminin artmasının kardiyovasküler hastalıkların fetal programlanmasında bir faktör olabileceği düşünülmektedir (84). Yapılan çalışmalar KVH gelişen hayvanların koroner arterlerinde ROS artışı olduğunu bildirmiştir (86). Steroid verilen koyunların kardiyak mitokondrilerinde üretilen ROS ve salınan hidrojen peroksit (H_2O_2) miktarlarının ölçülerek kontrol grubuyla karşılaştırıldığı bir çalışmada deney grubunda H_2O_2 salınımı daha yüksek bulunmuştur (84). Bu durumla bağlantılı olarak kardiyovasküler hastalıklara programlanan deney grubunun mitokondriyal matriksinde H_2O_2 'i suya dönüştüren katalaz enziminin daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Gebelik ve laktasyon sırasında metil donörlerinden yetersiz diyetle beslenen sıçanların yavrularında miyokardiyak kalınlaşma, kardiyomiyosit büyüklüğünde artma, mitokondriyal yağ asit oksidasyonunda bozulmaya eşlik eden kalp hipertrofisi gelişmiştir (87).

Helsinki kohort çalışmasından alınan verilere göre boyu kısa olan kadınların (<160 cm) çocuklarında plasenta alanının azalmasına bağlı olarak hipertansiyon oranı daha yüksek bulunmuştur (88). Kısa boylu kadınların uzunlara göre daha az organ ağırlığına sahip olduğu ve gebelik sırasında aminoasitlerin kullanımının daha az olduğu düşünülmüştür. Annenin dolaşımdaki aminoasit oranı daha az olduğunda plasenta gelişiminin kısıtlandığı ve anneden fetüse aminoasit geçişinin azaldığı; bunun sonucunda plasenta yüzeyinin fetüse daha fazla besin ögesi iletmek için genişlediği bildirilmiştir. Ancak yetersizlik devam ederse fetüsün besin ögelerini büyük bir plasenta ile paylaşmak zorunda kalacağı ve bu durumun ekstra bir metabolik yük getirebileceğine dikkat çekilmiştir. Maternal diyetle yetersizlik durumunda hipertansiyon gelişimi fetal metabolizmada böbreklerin önceliğinin daha düşük olmasına bağlı olarak geri planda kalması olabileceği düşünülmüştür (89).

Bazı çalışmalar kardiyovasküler hastalıklar ile plasental yüzeyin şekli ve büyüklüğünün ilişkili olduğunu bildirmiştir (90,91). Helsinki kohort çalışmasında, koroner kalp hastalığı sebebiyle oluşan ani ölüm ile plasenta kalınlığı arasında anlamlı bir ilişki saptamıştır (4). Mekanizmasına bakıldığında, yetersiz beslenme nedeniyle plasentanın incelmesinin, fetüsün otonom sinir sisteminde değişimlere neden olduğu böylece sempatik sinir sisteminin fazla norepinefrin salınımı sonucunda miyokart kontraksiyonu ve diğer anomalilere yol açtığı bildirilmiştir (92). Diğer yandan fetal büyüme gelişme geriliği olan bebeklerin; erişkinlik döneminde kan total kolesterol, LDL kolesterol, apolipoprotein B (ApoB), fibrinojen ve koagülasyon faktörü VII düzeyleri daha yüksek bulunmuştur (93,94). İntrauterin büyüme geriliğinin karaciğer kolesterol ile koagülasyon faktörlerinin regulasyonundaki kalıcı değişikliklere neden olabileceği de ileri sürülmüş diğer mekanizmalar arasındadır (95).

Annenin gebelik boyunca ağırlık kazanımının az olması erişkin dönemde koroner kalp hastalığı ve hipertansiyon riskinde artışa neden olurken; yüksek yağlı diyetle beslenmenin kardiyovasküler hastalıklar ve glukoz intoleransı gelişiminde

etkili olduğu bildirilmiştir (96,97). Maternal yüksek yağlı diyetle beslenen farelerin yavrularında daha fazla vücut ağırlığı, glikoz intoleransı ve insülin direnci olduğu, ayrıca bu farelerin ikinci nesillerinde insülin direnci olduğu saptanmıştır (98). Mekanizmalara bakıldığında, glukokortikoid ve kortizol artışının bu etkilere neden olabildiği yayınlanmıştır (5,99,100).

2.4.3. Tip II Diabetes Mellitus, İnsülin Direnci ve Gelişimsel Temelleri

Diyabet ve insülin direnci gibi sorunların fetal programlanmasına bakıldığında en önemli etken olan intrauterin beslenme yetersizliğinin yanında maternal diyabet ve annenin gebelik öncesindeki ağırlığının da etkili olabileceği düşünülmektedir.

Fetal gelişimin kritik dönemleri sırasında maternal diyetin makro/mikro besin ögesi kompozisyonunda meydana gelen değişiklikler plasenta ve fetüs üzerinde büyük ihtimalle epigenetik mekanizmaların neden olduğu çeşitli değişikliklerle metabolik sendrom gelişimine kadar neden olan bir dizi etki yapmaktadır (101). Gebelik ve laktasyon döneminde yetersiz protein alan sıçanlarda β hücreleri fonksiyonunda bozulma görülmektedir. Bu bozulmanın nedenleri; β hücre ölümünün artması ve β hücre proliferasyonunun azalması sonucunda β hücre sayısındaki azalma olarak sıralanmıştır (102).

Maternal diyabet; ani düşük, fetal ölüm, preeklamsi, prematüre doğum, neonatal respiratuar distres sendromu gibi maternal ve fetal sonuçlara yol açabilmektedir (103). Maternal diyabet plasentaya zarar verir ancak mekanizması henüz açıklanamamıştır. Pedersen hipotezine göre hiperglisemik kan plasenta aracılığıyla fetüse geldiğinde fetal pankreas yüksek miktarda insülin salgılayarak fetal hiperinsülinemiye yol açmaktadır (104). Artan endojen insülin fetüste büyüme faktörü gibi etki göstererek fetüsün glikozu glikojen ve yağ olarak depolamasına ve normal fetüslerden daha büyük olmasına neden olmaktadır. Daha büyük fetüs daha fazla oksijene ihtiyaç duymakta ve rahim içinde hipoksi gelişmektedir. Bu durum plasentanın yapı ve fonksiyonunda hem direkt hem dolaylı yollardan değişiklikler yapabilmektedir (105). İntrauterin insülin düzeyindeki bu değişim fetüsün

pankreatik gelişimini (57,106,107) ve pankreasta β hücre fonksiyonunu (108) bozarak diyabet ya da insülin direnci gibi sorunlara yol açabilmektedir. Öte yandan diyabetik annelerin plasentalarının incelendiği bir çalışmada insanlarda ve sıçanlarda farklı genlerin ekspresyonlarında değişiklikler meydana geldiği bulunmuştur (103). Bunun yanında doğumdan sonra besin alımı arttığında bu adaptasyonun metabolik uyumsuzlığa yol açtığı ve erişkin dönemde insülin direnci ve glukoz intoleransı gelişmesine neden olduğu düşünülmektedir (99).

2.4.4. Diğer Hastalıkların Gelişimsel Temelleri

Intrauterin dönemde karşılaşılan hipoksi, hipoksi sonrası yeniden oksijenlenme, enfeksiyonlar şizofreni, dikkat eksikliği/hiperaktivite, otizm gibi prenatal sonuçları olabilen fetal nöron gelişimiyle ilgili bozukluklara yol açabilmektedir (109). Fetal hipoksinin bazı hassas nöronlarda ölüme neden olduğu bazı hayvan modellerinde gösterilmiştir (110). Gebelik sırasında maruz kalınan ortamın erişkin yaşamdaki nörogelişimsel hastalıklara nasıl yol açtığı bilinmemektedir ancak bu mekanizmada plasentanın anahtar rolü olduğu düşünülmektedir (111,112). Plasenta infant beyni için önemli olan ve bazı etkenlerden etkilenebilen birçok molekülü aktif olarak salgılamaktadır (113,114). Leptin adipositlerden salınmasının yanında çok küçük bir miktarda olsa da plasentadan salınmaktadır. (115,116). Ayrıca leptinin parakrin ve/veya otokrin görev aldığı beyinde de salgılandığına dair çalışmalar vardır ancak beyinde üretilen leptinin fonksiyonu henüz bilinmemektedir (115,117,118). Leptin inflamatuvar sitokin olan interlökin 6 (IL-6) ile aynı protein ailesinden gelmektedir (119-121). Dolayısıyla son zamanlarda leptin düzenlenmesindeki bozuklukların psikopatoloji ile ilişkili olmasının leptinin inflamatuvar fonksiyonundan kaynaklanabileceği düşünülmektedir (122).

Gebeliğin erken, orta dönemlerinde maternal adrenal androjene maruz kalan dişi maymunlarda adrenal hiperandrojenizm görüldüğü, bu durumun polikistik over sendromuna neden olduğu bazı çalışmalarda gösterilmiştir (123-125). Ayrıca

maternal diyet yetersizliği olan yavrularda akciğerde DNA metilasyonunun bozulmasıyla ilişkili olarak pulmoner arter vazodilatasyonu bozulduğu, hipoksinin neden olduğu pulmoner hipertansiyon ve sağ ventriküler hipertrofi geliştiği bildirilmiştir (126).

2.5. Beslenme ve Gelişimsel Temeller

Fetal programlama hipotezi, intrauterin dönemde benzer şartlara maruz kalan bireylerin tamamında benzer sonuçlar ortaya çıkmaması nedeniyle eleştirilebilmektedir. Bu durum bireylerin erişkin dönemde şevreleriyle olan dinamik değişim ve etkileşimlerinin intrauterin stresten daha bđyđk bir etki yapabileceği şeklinde açıklanabilmektedir. Buna gđre ancak ilerleyen dönemde ek bir fizyolojik stres geliştiğinde (obezite, yđksek yağlı diyet... vb) intrauterin stresin hastalıklara yol aşmasından sđz edilebileceği bildirilmiştir (127,128). Fetal programlama hipotezine getirilen eleştirilerden biri uzun dđnem sorunlara yol aşması açısından erken postnatal stresin de intrauterin stres kadar etkili olabileceği yđnündedir. Bu gđrđř “yaşam seyri hipotezi” (life course approach) adı verilen bir hipotez ortaya aşarmaktadır (127,128). Tđm bu gđrđřler birleştirildiğinde fetal dönemde kronik hastalıklar açısından bazı programlamaların olduğu; ancak bu fizyolojik programlamanın hastalıklara neden olması için erken postnatal stres, yaşlanma veya diğer olumsuz durumlara maruz kalınması gerektiği sonucu aşıkarılabilir. Bu duruma örnek olarak intrauterin yetersiz beslenmenin ardından ilerleyen dönemde fazla besin alımının geręekleřtiđi dđřđk ve orta sosyoekonomik seviyeye sahip đlkelerde artan diyabet insidansı gđsterilmektedir (129). Nedeni her ne olursa olsun erişkin dđnem hastalıklarının temellerinin gebelik őrnesi, gebelik, laktasyon ve sonraki dđnemlerde atıldığı ve bireylerin bu hastalıklara yatkın hale geldikleri bir geręektir. Bireylerin hem kendi sağlıklarını hem de gelecek nesilleri korumak için yaşamın bđtđn evrelerinde beslenmelerine dikkat etmeleri gerekmektedir.

2.6. Mikrobesein Öğelerinin Etkisi

Diyetle tetiklenen fetal programlamanın epigenetik mekanizmasının DNA metilasyonundaki tek karbon metabolizmasında görev alan mikro besin öğeleri ile ilgili olduğu bildirilmiştir (130,131). Folik asit, B2, B6 ve B12 vitaminleri tek karbon metabolizmasında aktif rol oynamaktadır. Maternal diyetle bu mikrobesein öğelerinin yetersiz ya da dengesiz alımının DNA metilasyonu üzerinden fetal etkilere neden olabileceği yapılan birçok araştırmada yayınlanmıştır (130-135). Gebelik sırasında maternal B12 konsantrasyonunun yüksek olması yenidoğan B12 seviyelerini de arttırarak intrauterin büyümeyle ilgili bir genin metilasyonunda azalmaya neden olduğu düşünülmektedir (130). Öte yandan Yajnik ve ark. yaptığı kohort çalışmasında düşük B12 ve yüksek folik asit konsantrasyonu olan gebelerin bebeklerinde 6 yaşında insülin direnci, yüksek vücut yağ yüzdesi ve artmış abdominal yağlanma olduğunu göstermiştir (131). Ayrıca maternal B12, folik asit ve metil düzeylerinin düşük olması erişkin yaşlarda immün fonksiyon ve kan basıncında bozulmalara neden olmaktadır. Maternal düşük folat düzeylerinin yavrunun erişkin yaşamında hipometilasyona neden olduğu ve bu durumun kanser gelişimiyle ilişkili olduğu bildirilmiştir. Gebeliğin birinci trimesterinde yüksek folat ve B12 alımı atopik dermatit, astım ve hırıltı gelişimine neden olabilmektedir. Yapılan bir kohort çalışmasında postnatal D vitamini suplementasyonunun tip I diabetes mellitus insidansını 8 kat azalttığı görülmüştür (136). Gebelik ve laktasyon dönemlerindeki D vitamini yetersizliği romatoid artrit gibi otoimmün hastalıklar, alerji, multipl skleroz, tip I diabetes mellitus ve bazı kanserlerin gelişimi ile ilişkili bulunmuştur (137). Fetal dönemde yüksek doz multivitamine maruz kalan yavruların doğum ağırlıkları normal olmasına rağmen yetişkin dönemlerinde vücut ağırlığı, besin alımı ve kan basıncı artışı ile insülin direnci oluştuğu gözlenmiştir (138).

Vitaminlerin yanı sıra demir, kalsiyum gibi bazı minerallerin gebelik sırasında yetersiz ya da fazla alımının yavrunun erişkin yaşamında kardiyovasküler, renal ve pulmoner sistemde çeşitli sorunlar oluşmasına yol açtığı bildirilmiştir (130). Gebelik sırasında kronik krom, magnezyum, demir, çinko ve kalsiyum yetersizliğinin yavrularda adipozite artışına neden olduğu gösterilmiştir (139,140). Ayrıca gebelik

sırasında çinko yetersizliğine maruz kalan yavrularda doğum ağırlığından bağımsız olarak ileri dönemlerde vücut ağırlığı artışına, kan glikoz seviyesinde yükselmeye ve insülin hassasiyetinin azalmasına neden olduğu gösterilmiştir (141).

Bazı mikrobesein öğeleri veya diyet bileşenleri organizmada antioksidan olarak ya da antioksidan enzimlerin kofaktörleri olarak görev aldıkları için antioksidan sistemin parçasıdırlar (142). Gebelik sırasında antioksidanların yetersiz olmasının reaktif oksijen türlerini arttırarak embriyonik gelişim bozukluğuna ve organ hasarına yol açabileceği düşünülmektedir. Bir çalışmada selenyum, folik asit, C ve E vitaminlerinin prenatal suplemantasyonu intrauterin makrobesein öğesi yetersizliğinden kaynaklanan ileri yaşlardaki kardiyovasküler hasarı önlediği bildirilmiştir (143). Yüksek antioksidan aktivitesi olduğu bilinen flavonoidlerin fetal programlama üzerindeki etkileri tam olarak açıklanamamıştır ancak bu moleküllerin plasentadan geçerek fetüste birikebildiği bazı çalışmalarda gösterilmiştir (144,145).

2.7. Protein ve Lipitlerin Etkisi

Makrobesein öğeleri ile ilgili yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde düşük protein ve yüksek yağ içeren diyetlerle ilgili çok sayıda çalışma olduğu dikkatleri çekmektedir (146-149). Maternal diyetle düşük protein alımının yeme davranışına etkisinin incelendiği bir çalışmada düşük proteinli diyetin dışı yavrularda daha az yağ alımına neden olduğu ancak erkek yavrularda böyle bir etkinin gözlenmediği bildirilmiştir (150). Aynı çalışmada prenatal dönemde düşük proteine maruz kalan sıçanlarda hepatik glikojen seviyelerinin arttığı yayınlanmıştır. Gebelik sırasında düşük protein verilen sıçanların yavrularında 8. haftada hipertansiyon geliştiği bildirilmiştir (151). Prenatal dönemde düşük proteine maruz kalan yavrularda aortik ve periferel kan basınçları arasındaki farkın periferel vasküler dirençle ilişkili olarak kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu ve bu durumun kardiyovasküler hastalık oluşum riskini arttırdığı gösterilmiştir (151). Gebelik ve laktasyon döneminde düşük proteinle beslenen sıçanların yavrularında plazma glikoz, insülin, trigliserit ve kolesterol miktarlarında kontrol grubuna göre başlangıçta fark görülmesi de

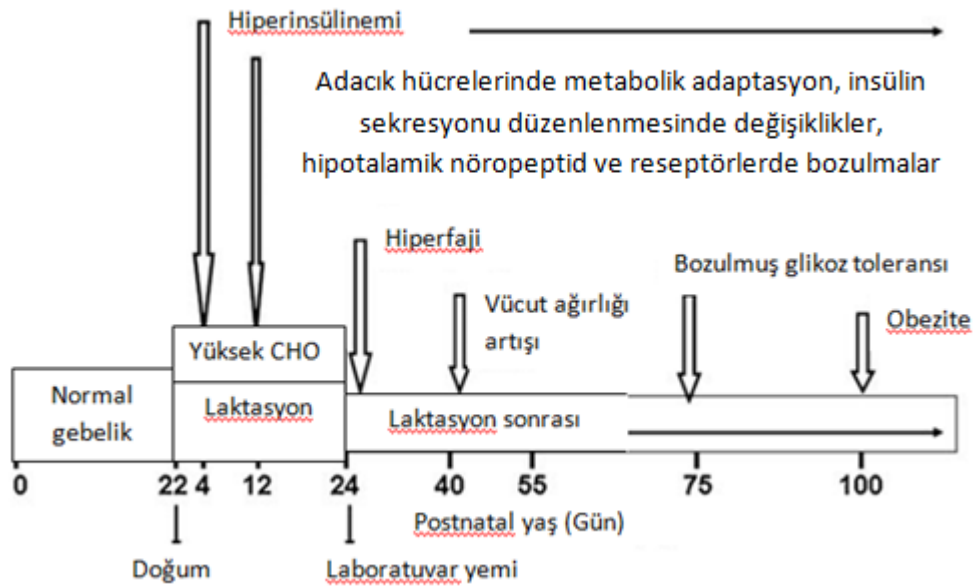
doğumdan sonraki 18. ayda hipertrigliseridemi ve insülin direnci olduğu yayınlanmıştır (152). Gebelik sırasında düşük proteinle beslenen sıçanlarda kan basıncında artış, endotel disfonksiyon, insülin direnci olduğu ve glikoz dengesinde oluşan bozuklukların sonraki üç nesilde de görüldüğü bildirilmiştir (153). Bu etkiler diyete glisin veya folik asit eklendiğinde geri döndürülebilirken alanin ya da üre eklenmesinin bir etkisi görülmemiştir (153-155). Benzer şekilde yetersiz protein alımından kaynaklanan hepatik PPAR ve glikokortikoid reseptörlerinin hipometilasyonu da folik asit desteğiyle engellenebilmektedir (156).

2.8. Karbonhidratların Etkisi

Sıçanlarda gebelik sırasında yetersiz karbonhidrat alımının fetal sağkalımı, fetal vücut ağırlığını ve fetal hepatik glikojen depo miktarını azalttığı yayınlanmıştır (157). Glikoz gelişmekte olan beyinin birincil enerji kaynağı olduğu için maternal diyetin farklı miktardaki karbonhidrat içerikleri fetal beyin glikojen depolarını, triptofan ve 5- hidrositriptamin (5-HT) düzeylerini etkileyebilmektedir. 5-HT'in fetal beyinde ilk oluşan nörostranmitter molekül olduğu bilinmektedir (158). Bu molekülün azalması beyin büyüme ve gelişmesini bozacağı öngörülebilir bir etkidir (159). Gebelik öncesi, sırası ve laktasyon dönemlerinde obezogenik kafeterya diyeti ile beslenmenin yavrularda glikoz intoleransına yol açabileceği sıçanlarla yapılan bir çalışmada bildirilmiştir (47).

Doğumu takip eden 24 saat içinde yüksek karbonhidratlı formuyla beslenen yenidoğan sıçanların plazma insülin seviyesinin kontrol grubuna göre 6 kat arttığı yayınlanmıştır (160). Benzer diğer çalışmalarda plazma insülin düzeylerinin yüksek olmasına rağmen plazma glikozunun normal olduğu bildirilmiştir (161). Bu sonuçlar yüksek karbonhidratlı beslenmenin insülin direncine yol açabileceğini göstermektedir. Patel ve ark. tarafından yayınlanan bir derlemede yenidoğan sıçanlara verilen yüksek karbonhidratlı formulanın kısa ve uzun dönem etkileri incelenmiştir (162). Buna göre normal bir gebelikten sonra doğumun hemen ardından verilen yüksek karbonhidrat, plazma insülin seviyelerini arttırmaktadır

(Şekil 2.2.). Doğumdan sonraki 12. günden sonra pankreasın adacık hücrelerinde adaptasyon, insülin sekresyonunda değişiklikler (160) ve leptin gibi hipotalamik nöropeptid reseptörlerinde bozulmalar (161) olduğu bildirilmiştir. 24. günden sonra hiperfaji ve hiperfajiye bağlı vücut ağırlığı artışı görülmektedir. 75. günden sonra bozulmuş glikoz toleransı ve 100. günden sonra obezite gelişebildiği bildirilmiştir (162).



Şekil 2.2. Yenidoğan sıçanlara yüksek karbonhidratlı formula verilmesi sonucu oluşan kısa ve uzun dönem etkiler (162)

2.8.1. Fruktozun Etkisi

Tatlı meyvelerde ve balda serbest halde bulunduğu için meyve şekeri olarak adlandırılan fruktozun molekül formülü $C_6H_{12}O_6$ 'dır. Tatlılık düzeyi en yüksek olan karbonhidrattır. Glikoz referans karbonhidrat olarak kabul edilip tatlılık derecesi 100 alındığında fruktozun tatlılık derecesi 173 olarak bulunmuştur (163). Bir disakkarit olan sükrozun ve bir polisakkarit olan inulinin yapısında fruktoz bulunur. D ve L formları bulunan fruktoz doğada daha çok D formunda bulunur, sentetik formu L olarak adlandırılmaktadır ve suda kolay çözünür (164).

İnsan diyetinde önemli yer tutan fruktoz balda, taze ve kurutulmuş meyvelerde büyük miktarlarda bulunan bir monosakkarittir. İnsanlar binlerce yıl boyunca diyetlerinde büyük ölçüde taze meyvelerden sağlanan fruktozu ortalama 16-20 g/gün olacak şekilde tüketmişken, günümüzde alınan enerjinin yaklaşık %15-20'sinin kaynağı, işlenmiş hazır gıdalara eklenen yapay fruktozdur (yaklaşık 85-100 g/gün) (165). Fruktozun diğer önemli bir kaynağı da hazır gıda üretiminde yaygın olarak kullanılan yüksek fruktozlu mısır şurubudur (YFMŞ). YFMŞ, mısır şurubundaki glikozun bir miktarının fruktoza izomerleştirilmesi ile elde edilmektedir. İçeriğinde %55 fruktoz ve %42 glikoz bulunan YFMŞ-55 birçok tatlandırılmış içecekte kullanılırken, YFMŞ-42 (%42 fruktoz; %53 glikoz) diğer ürünleri (örneğin şekerlemeler) tatlandırmak için kullanılmaktadır. 1960'ların ortasından önce, sükroz (%50 glikoz ve %50 fruktoz) en etkili tatlandırıcı iken sonraki dönemlerde gıda endüstrisinde meydana gelen gelişmelerle YFMŞ üretimindeki artışla fruktoz sükrozun yerini almıştır (166).

Dünyada birçok ülkenin fruktoz alımına yönelik önerileri henüz yer almazken, karbonhidrat ve şeker alımı için farklı önerileri bulunmaktadır. Türkiye maksimum 20-30g/gün ilave şeker (glukoz, fruktoz sükroz) önerirken (15), Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Avrupa ülkeleri (EFSA) alınan günlük enerjinin ilave şekerlerden gelen oranının <%10 olmasını (167,168), Amerika (USDA) ise ilave şeker ve bal/pekmez/reçel gibi tatlıların, günlük enerjinin %25'ini aşmamasını önermektedir (169). Türk Şeker Kurumunun verilerine göre, 2005/2006 döneminde dünyada kişi başına beyaz şeker tüketimi yılda 21 kg civarındayken, kişi başına YFMŞ tüketimi kuru madde bazında 2 kg civarında olduğu rapor edilmiştir (16). Fruktoz tüketim miktarına yönelik bir öneri ise henüz bulunmamaktadır. Ülkemizde diyetle günlük ortalama fruktoz alımına ve tüketilmesi gereken fruktoz miktara yönelik bir veri bulunmamaktadır (170).

USDA'nın 2000 kilo kalorilik standart bir diyete 40 g ekstra şeker eklenebileceği önerisine karşılık (171), Livesey ve Taylor (172) yaptıkları meta analiz sonucunda, fruktoz tüketimini; 0-50g/gün orta düzeyde tüketim, 50-100g/gün

yüksek tüketim, >100-150g/gün ise çok yüksek alım olarak sınıflandırmışlardır. Orta düzeyde tüketimin glisemi kontrolünde potansiyel yararları olduğu, ancak yüksek ve çok yüksek tüketimlerde ise disglisemi ve dislipidemi risklerin ortaya çıkardığı belirtilmiştir. Yapılan epidemiyolojik bir çalışmada 1967 yılında yüksek fruktozlu mısır şurubu ticari olarak üretime girince fruktoz tüketiminin çok ciddi bir oranda artış gösterdiği ve kişi başına yıllık tüketimin 0 kg'dan 29 kg'a kadar çıktığı, doğal kaynaklardan sağlanan fruktoz tüketiminin ise sabit kaldığı belirlenmiştir (173).

Diyetteki başlıca fruktoz kaynakları yalnızca doğal olarak alınan bal, meyve, sükroz değil ayrıca yüksek fruktozlu mısır şurubu ve bunlarla tatlandırılmış çeşitli alkolsüz içecekler ve tatlılardır. Özellikle şekerli içeceklerde ve tatlılarda sükroz yerine yüksek fruktozlu mısır şurubu kullanılması diyetle alınan fruktoz miktarını arttırmaktadır. Az sayıda çalışma özel olarak serbest fruktoz (YFMŞ) ile bağlı fruktozu (sükroz) ele almıştır (28,174-176). Son 30 yılda dünyada toplam YFMŞ tüketiminde %15'in üzerinde dramatik artış sonucu diyet sükrozunun yerini önemli ölçüde YFMŞ almıştır (ABD'de ortalama fruktoz tüketimi 1970'lerin sonunda yaklaşık tüketim 37 g/gün'den 1999-2004 yılları arasında bu tüketim yaklaşık 49 g/gün'e yükselmiştir) (177). Bunun sonucu olarak serbest fruktoz tüketimi önemli derecede artarken glukozla bağlı fruktoz tüketiminde önemli ölçüde düşüşler olmuştur. Bu durum serbest fruktozun daha zararlı etkilerinin olduğu savının ortaya çıkmasına neden olmuştur. Diyete eklenen YFMŞ'den gelen fruktozun, meyve ya da balla alınan fruktozdan daha olumsuz metabolik etkilere sahip olabileceğine yönelik bazı yayınlar vardır (174,176). Bunun nedeninin ise meyve ve balla alınan fruktozla birlikte doğal antioksidan ve posa da alınması ve genellikle besinlerde olan fruktozun D formunun olabileceği düşünülmektedir (28,175).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, fruktozun maltodekstrin gibi doyma hissi oluşturmadığına dikkat çekilmiştir. Bu nedenle gıdalarla tüketilen glikoz miktarı azaldıkça ve bununla birlikte fruktoz miktarı arttıkça, bireyde daha geç doyma hissi olduğu ve daha çok yeme isteği gelişebildiği bildirilmiştir (178,179). Fast-food olarak ifade edilen tüketim kültürünün en önemli unsurlarından bir tanesi de yoğun

miktarda enerji sağlamasıdır. Bu nedenle fark etmeden tüketilen yüksek fruktoz obezite ve obezite ile ilgili hastalıkların ortaya çıkmasında yeni bir sağlık tehdidi olarak kabul edilmektedir (180). Ancak, diyet karbonhidratlarının tüm çeşitleri bu enerji metabolizması üzerinde aynı etkiyi yapmamaktadır. Fruktoz, glikozun aksine pankreatik hücrelerden insülin sekresyonunu stimüle etmemektedir (181). Ancak diğer yandan, yüksek oranda fruktoz alımının (>50g/gün) tip II diabetes mellitusun ve metabolik sendromun etiyolojik nedeni olabildiğine dair çalışmalar bulunmaktadır (182-184).

Gıda sanayinde viskosite ve kristalizasyonun sağlanması amacıyla kullanılan diğer bir karbonhidrat ise maltodekstrindir. Maltodekstrin nişastanın kısmi hidrolizi ile oluşur. Suda çözünür ve tatlılık derecesi fruktoza göre oldukça düşüktür (163). Tablo 2.1.'de maltodekstrin ve fruktozun bazı özellikleri karşılaştırılmıştır. Buna göre fruktozun tatlılık derecesi maltodekstrinden yaklaşık 3 kat fazladır. Fruktozun glisemik indeksi 19 iken maltodekstrininki 80-120 arasındadır. Sonuç olarak kompleks bir karbonhidrat olan maltodekstrin kan şekerini fruktoza göre çok daha hızlı yükseltmektedir. Ancak metabolik etkileri bununla paralel değildir.

Tablo 2.1. Maltodekstrin ve fruktozun bazı özelliklerinin karşılaştırılması (163).

CHO Türü	Tatlılık Oranı*	Kan Glikozuna Etkisi**	Açıklama
Fruktoz	1.6-1.9	19	Piyasada kristalize veya fruktoz şurupları içerisinde çözelti halinde bulunur.
Maltodekstrin	0.05-0.7	80-120	Nişasta molekülleridir. Hidroliz derecesi düşük olduğu için tatlılığı oldukça azdır.

*Referans olarak sükroz kabul edilmiştir(Sükroz=1.0)

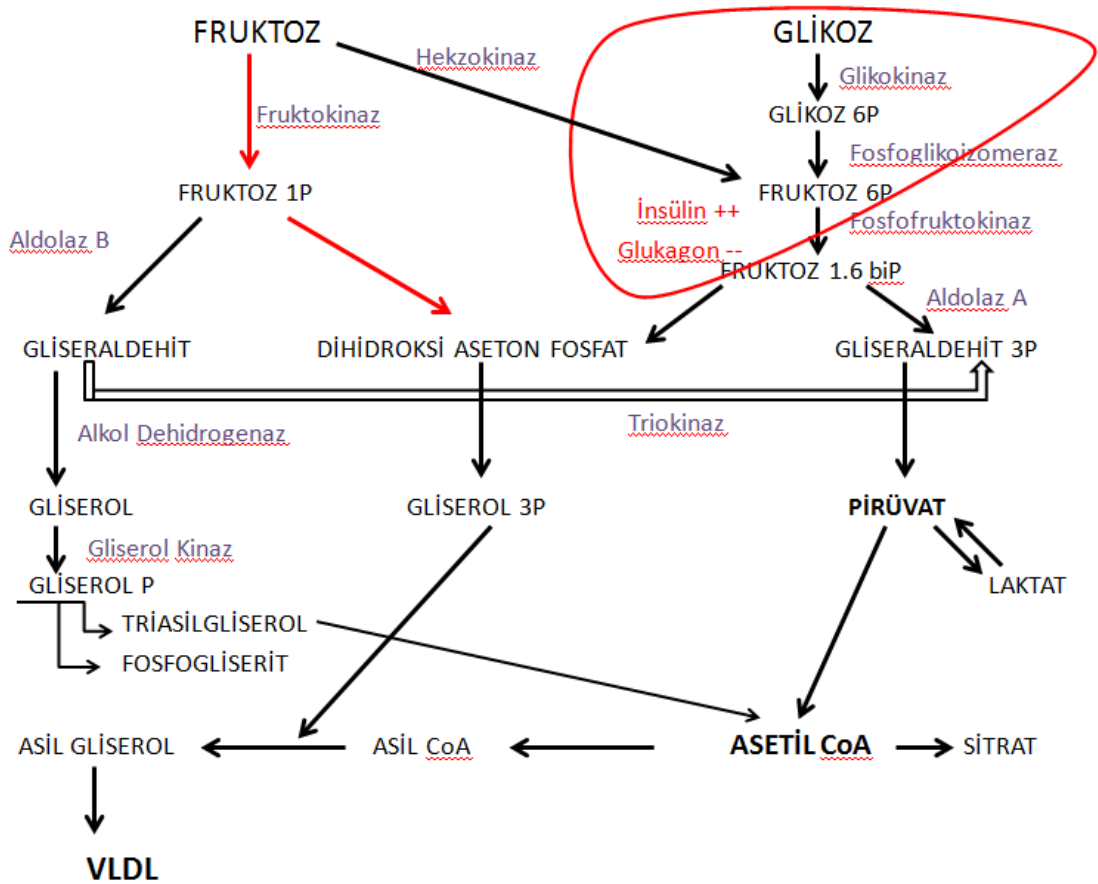
**Kan glikozuna etkisi glisemik indeks olarak verilmiştir.

Hepatik Fruktoz Metabolizması

Fruktoz vücuda birkaç farklı formda alınabilmektedir. Serbest monosakkarit olarak YFMŞ, meyve ve baldan alınmaktadır. Ayrıca bir disakkarit olan sükroz formunda alındığında sükrozun ince bağırsaklarda hidroliziyle oluşmaktadır. Kaynağı ne olursa olsun alınan fruktozun ince bağırsaklardan emilimi intestinal mukoza hücrelerinin apikal membranlarından özelleşmiş fruktoz taşıyıcısı olan GLUT5 (glikoz taşıyıcı protein 5) yardımıyla kolaylaştırılmış difüzyon ile taşındığı düşünülmektedir (185). Gastrointestinal epitel hücrelerin bazolateral zarlarından geçişi ise özelleşmiş hekzoz taşıyıcı GLUT2 yardımıyla gerçekleşmektedir (186) . GLUT5'in mRNA ekspresyonu diyet fruktozu ile arttırılırken GLUT2'nin mRNA ekspresyonunun diyet fruktozu ve glikozu ile arttırıldığı bildirilmiştir (187). Yapılan bir çalışmada yüksek doz fruktozla veya düşük doz karbonhidratla beslenen farelerin intestinal fırça yüzeyleri izole edilip buradan fruktoz alımına bakıldığında fruktozla beslenen grupta, düşük doz karbonhidrat alan gruba göre 5.7 kat daha fazla fruktoz geçişi olduğu ve fruktoz alımından %60 oranında GLUT2'nin sorumlu olduğu bulunmuştur (187). Ayrıca

yüksek fruktoz alan fareler düşük karbonhidrat alanlara göre toplamda 2.1 kat daha fazla fruktoz almıştır. Bu çalışmadan; fruktoz emiliminde esas görevli olan taşıyıcının GLUT5 olduğu ancak fırça yüzey hücreleri yüksek doz fruktoza maruz kaldığında geliştirdiği adaptasyon sonucunda GLUT2'nin de emilim için kullanılabildiği sonucu çıkarılmaktadır (57). İncebağırsaklardan emilen fruktoz karaciğere taşınarak burada metabolize edilmektedir.

Diyetle çeşitli formlarda alınan fruktoza ek olarak mannoz ve sorbitol karaciğerde heksokinaz ve sorbitol dehidrojenaz enzimleri yardımıyla fruktoza dönüştürülmektedir (188). Karaciğerde fruktoz metabolizmasının ilk basamağı, fruktozun fosforlanarak aktive edilmesidir. Bu fosforilasyonda heksokinaz ve fruktokinaz enzimleri görev almaktadır. Heksokinaz birçok hekzoza etki etmektedir ve fruktoza ilgisi düşüktür. Bu nedenle fruktoz fosforilasyonundan büyük oranda fruktokinaz sorumludur (29,188).



ŞEKİL2.3. Fruktoz Metabolizması (29,188).

Şekil 2.3.'te özetlendiği gibi; fruktoz metabolizmasını, hegzokinaz, fruktoz 6-fosfat üzerinden; fruktokinaz ise fruktoz 1-fosfat üzerinden başlatmaktadır. Paralel olarak devam eden bu yollar çeşitli basamaklarda birbirlerine dönüşebilmektedir. Fruktoz 6-fosfat fosfofruktokinaz enzimiyle fruktoz 1.6 bifosfata dönüşmektedir. Bu molekülden dihidroksi aseton fosfat ve aldolaz A yardımıyla gliseraldehit 3-fosfat oluşmaktadır. Fruktoz 1-fosfat ise aldolaz B enzimiyle D-gliseraldehit ve dihidroksi aseton fosfata dönüşmektedir (29,188,189).

Oluşan gliseraldehit gliserol fosfat üzerinden fosfogliserit ve tri asil gliserole dönüştürülmektedir. Dihidroksi aseton fosfat iki farklı yola girebilmektedir. İlk olarak gliserol 3-fosfata dönüşmekte ve asil CoA'dan asil gliserol oluşumuna katılmaktadır. İkinci yol ise trioz fosfat izomeraz enzimi ile gliseraldehit 3-fosfata dönüşümüdür. Hem dihidroksi aseton fosfattan hem de fruktoz 1.6 bi-fosfattan oluşan gliseraldehit

3-fosfatın bir kısmı glikoneogeneze katılırken büyük bir kısmı pruvata dönüşmekte ve sitrik asit döngüsüne katılarak yağ asidi ve kolesterol sentezinin öncü molekülü olan asetil CoA'yı oluşturmaktadır (29,188,189).

Fruktoz ve Lipit Biyosentezi Patojenezi

Fruktoz metabolizması özet olarak; alınan fruktozun emiliminden sonra fruktoz 1-fosfata fosforile olarak yağ asitlerine dönüştürülmesi sürecidir. Fruktoz; glikolizin kontrol edildiği fosfofruktakinaz basamağını atlayıp metabolik yola sonraki basamaktan katıldığı için alınan fruktozun tamamı metabolize edilerek de novo lipit sentezine katılabilmektedir. Diyetle alınan fruktoz miktarı arttıkça asetil CoA sentezi ve de novo lipogeneze katılacak olan pruvat miktarı da artmaktadır. Hepatik de novo lipogenez karaciğerde malonil CoA üretimi yolunda yağ asit oksidasyonunu sınırlamakta, bu da yağ asitlerinin mitokondriye girişini azaltmaktadır. Böylece fruktozla tetiklenen de novo lipogenez hepatik lipitleri sadece endojen yağ asidi sağlayarak değil yağ asitlerinin intrahepatik kullanımını artırarak da artırabilmektedir (190).

Fruktoz insüline bağımlı olarak hücre içine alınmazken bazı çalışmalarda plazma glikoz ve insülin düzeylerini arttırarak insülin direncine yol açtığı bildirilmiştir (191). Orta ya da uzun vadeli fruktoz tüketiminin insülin sinyal yollarını bozarak hiperglisemiye ve sonrasında hiperinsülinemiye yol açabildiği yayınlanmıştır. Fruktozun karaciğerde mitojen aktive protein kinaz 7 (MAP2K7, MKK7) ve mitojen aktive protein kinaz 8 (MAPK8)'i aktive etmesiyle serin insülin reseptör substratı (IRS-1) fosforile olmaktadır. Bu durum hücrenin glikoz alımının baskılamakta, kan glikozunu yükselterek insülin salınımını arttırmaktadır (191). Fruktoz tüketiminin metabolik sendrom gelişimini adipozite ve insülin direnci artışıyla ilerlettiği bilinmektedir (192). Yüksek fruktoz alımı nedeniyle hepatik yağ girişinin bir sonucu olarak hepatik insülin direnci artmaktadır (193). Fruktozun karaciğerde serbest yağ asitlerinin oksidasyonunu hem direkt hem de indirekt olarak inhibe edebildiği gösterilmiştir (194). Direkt yolda; fruktoz metabolizması sonucu oluşan asetil CoA

mitokondri kapasitesini aşarak sitrata dönüşebilmektedir. Sitrat hepatik lipogenezi arttıran de novo lipogenezin substratıdır. Asetil CoA'nın malonil CoA'ya dönüşümü karnitin palmitoil transferaz (CPT1) aktivitesini inhibe edebilmektedir. Böylece serbest yağ asitlerinin mitokondriyal oksidasyonu engellenebilmektedir (195). Ayrıca fruktoz asetil CoA karboksilaz (ACC) ve yağ asit sentaz (FAS) gibi de novo lipogenez enzimlerinin sentezini kontrol eden SREBP-1c ve ChREBP gibi transkripsiyon faktörlerini aktive edebilmektedir. Serbest yağ asitleri okside olmayınca re-esterifikasyonla non alkolik yağlı karaciğer hastalığına neden olabilen trigliseritlere ve çok düşük dansiteli lipoproteinlere (VLDL) dönüşmekte ya da intrahepatik yağ olarak depolanmaktadır (196). Artan hepatik lipid seviyelerinin artan VLDL- özellikle VLDL 1- sentezi ve salınımı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (197). Diyetle yüksek miktarda fruktoz alımı diyetle alınan lipidleri ince bağırsaklardan sistematik dolaşıma taşıyan ApoB48'in enterositlerden salınımını uyardığıdır (197). ApoB intraselüler trigliseritlerin VLDL içine girmesi için gereklidir ve hepatik lipidler arttığında ApoB yıkımı azalmaktadır. Fruktoz tüketen deneklerde önceki günün enerji alımı ve öğün sonrası ApoB ve trigliserit konsantrasyonu arasındaki pozitif ilişki; pozitif enerji dengesinin aynı zamanda hepatik lipidlerin kullanımını da artırdığını göstermektedir (198).

Bir çalışmada öğün sonrası insülin sentezi ve insülin duyarlılığının fruktoz tüketen deneklerde glikoz tüketenlere göre azalmasının öğün sonrası lipoprotein lipaz (LPL) aktivitesinin azalmasına neden olabileceği yayınlanmıştır (198). LPL'nin aktifleştirilmesinde insülinin etkisine deri altı yağ dokusunun viseral yağ dokuya göre daha hassas olduğu gösterilmiştir. Bu durum fruktoz tüketenlerde deri altı yağ doku ağırlığının, glikoz tüketenlerde viseral yağ doku ağırlığının artmasına neden olabileceği düşünülmektedir (198).

Dünya çapında prevalansı artan non alkolik karaciğer yağlanması (NAFLD); obezite, metabolik sendrom ve diyabet gibi hastalıklarla birlikte görülebilmektedir. NAFLD, karaciğer fonksiyonu bozukluğudur ancak ilerleyerek non alkolik steatohepatit (NASH), karaciğer sirozu ve hepatoselüler karsinomaya dönüşme

riskinin bulunduğu bildirilmiştir (199). Şekerli içecek tüketiminin dolayısıyla fruktozun metabolik sendromdan ya da obezite, tip II diabetes mellitus veya hiperlipidemi gibi risk faktörlerinden bağımsız olarak NAFLD patogenezinde önemli rol oynadığı yayınlanmıştır (200). NAFLD gelişiminin mekanizması ilk kez 1998 yılında Day ve James tarafından ortaya atılan “iki darbe teorisi” ile açıklanmıştır (201). Buna göre fruktoz tüketimiyle artan de novo lipogenez, yağ asitlerinin beta oksidasyonunun azalması ve trigliserit klirensinde oluşan bozulmalar hepatic trigliserit birikimini arttırmaktadır (202). Fruktozun NAFLD patogenezinde rol oynayan iki darbe teorisinin inflamasyonla ilgili olan ikincil mekanizması şu şekilde açıklanmaktadır: Serbest yağ asitleri esterifikasyonla trigliseritlere dönüştürüldükten sonra trigliseritlerin ApoB ile birleşmesiyle oluşan VLDL partikülleri içinde karaciğerden taşınmaktadır. Trigliserit biyosentezi arttığında ApoB degradasyonunun azalması sonucunda fruktoz metabolizması sırasında ApoB seviyesi yükselmektedir (203). ApoB degradasyonunun azalması hepatosit endoplazmik retikulumunda ApoB birikimine neden olarak endoplazmik retikulum stresine yol açtığı yayınlanmıştır (204).

Fruktoz ve Gelişimsel Temeller

Fruktozlu tatlandırıcı içeren işlenmiş gıdalar bireylerin enerji alımını arttıran en önemli sebeplerdendir. Yıllar boyunca yapılan çalışmalarla fazla miktarda fruktoz alımının etkilerinin sadece bir kısmı ve etki mekanizmaları aydınlatılabilmektedir. Ancak gebelik öncesi dönemden başlayarak fruktozun erişkin hastalıklarının temellerine etkisi yeni bir araştırma alanıdır.

Yapılan bir çalışmada maternal fruktoz alımının doğum ağırlığına etki etmeden plasenta ağırlığını azalttığı ancak bu değişimin sadece dişi fetüslerde görüldüğü bildirmiştir (205). Fruktozun fetal programlamadaki etki mekanizmasının anlaşılabilmesi için fruktozun plasental etkilerinin incelenmesi gerekmektedir ama bu konuda yeterince çalışma bulunmamaktadır. Öte yandan bazı hayvan çalışmalarında fetal fruktoz miktarının maternal dolaşımdakinden daha yüksek

olduđu yayınlanmıřtır (206,207). Bu durum fruktozun plasentadan geçiřinin aktif tařıma ile gerçekleřtiđini dűřündürmektedir.

Fruktoz metabolizmasında diđer basit yapılı karbonhidratlardan farklı olarak alınan fruktozun tamamı metabolize edilerek vűcutta yađ yapımı yoluna girebilmektedir (22,23,27,208-210). Hayvanlarda yapılan çalıřmalarda, maternal yűksek fruktozla beslenmenin hepatik karbonhidrat ve lipit metabolizmasında deđiřikliklere ve plazma insűlin seviyesinde artıřa neden olabildiđi bildirilmiřtir (25,26,211). Aynı miktarda glikoz alımıyla karřılařtırıldıđında maternal diyetle fruktoz tűketiminin hem anne hem de yavru sıçanların SREBP-1c mRNA ve protein ekspresyonunu ve maternal yađ asit sentaz enziminin ekspresyonunu arttırdıđı yayınlanmıřtır (212). Fruktoz 1- fosfatın ATP fosfat liyaz (ACL), asetil CoA karboksilaz (ACC) ve yađ asit sentaz (FAS) gibi de novo lipogenezi uyaran enzimlerin ekspresyonunu arttıran anahtar SREBP-1c proteinleri arttırarak hepatik lipit birikimine neden olduđu dűřűnűlmektedir (212).

Gebelik ۆncesi, gebelik sırası ve sonrasında ađırlık olarak %30 fruktoz ve doymuř yađ asitlerinden zengin diyet alan diři sıçanların yavrularında dođum ađırlıđı, toplam yađ doku ađırlıđı ve leptin hassasiyetleri azalırken açlık plazma insűlin deđerlerinin yűkseldiđi bildirilmiřtir (213,214). Bu deđiřimlere plazma insűlin ve leptin konsantrasyonlarındaki ve leptinin mRNA ekspresyonundaki artıřa ek olarak adiponektin dűzeylerinde gۆrűlen azalmanın ve retroperitoneal adipositlerin geniřlemesinin yol açtıđı dűřűnűlmektedir (214).

Laktasyon dۆneminde fruktozla beslenen anne sıçanların sűt miktarının deđiřmediđi ancak sűtlerinin yađ içeriđinin arttıđı bildirilmiřtir (215). Bařka bir hayvan çalıřmasında sűt miktarının ve sűtteki laktoz dűzeylerinin artmasına karřılık protein miktarının azaldıđı yayınlanmıřtır (216). Benzer řekilde laktasyon dۆneminde yűksek fruktozla beslenmenin kalsiyum metabolizmasında bozulmaya ve kemik mineral yođunluđunda azalmaya neden olduđu gۆsterilmiřtir (217).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

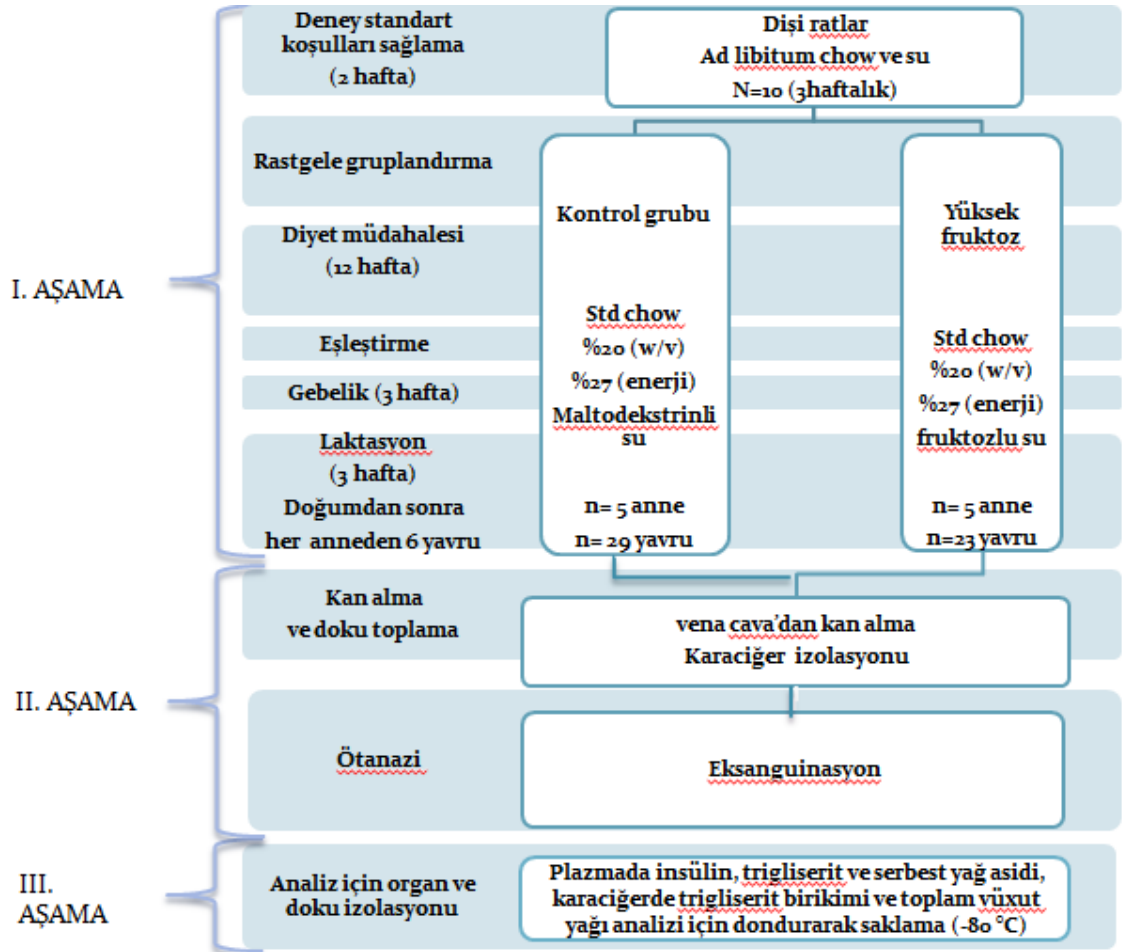
Bu çalışma, Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu'nun 10.01.2013 tarihili toplantısında 2012/57-04 karar numarası ile onaylanmıştır.

Araştırmanın bütçesi Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nden alınan BAB 6080-Destek Projesi ile karşılanmıştır. (Proje no: 013D03401001)

3.1. Araştırma Yeri, Zamanı ve Örneklem Seçimi

Bu araştırma için kullanılacak denek sayısını belirlemek için güç analizi yapılmıştır. Yapılan çalışmalar referans alındığında (213,218); her grupta kullanılacak sıçan sayısı 4 olarak belirlenmiş ve çevresel nedenlerle oluşabilecek hayvan kayıpları göz önüne alındığında her gruptaki anne sıçan sayısı 5 olarak düzenlenmiştir. İki grupta, toplam olarak 10 adet anne sıçan, eşleştirme için 2 adet erkek sıçan ve eşleşme sonrası doğan yavru sıçanlar (n=52) çalışmaya dahil edilmiştir.

Bu tez yapısı itibariyle üç aşamadan oluşmaktadır. Sprague Dawley cinsi sıçanların bakımı ve diyet müdahalesini kapsayan birinci kısımda sıçanların gebelik öncesi, gebelik sırası, eşleştirme ve laktasyon sırasında bakımları ve bu dönemlerdeki diyet müdahaleleri Hacettepe Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Araştırma ve Yetiştirme Ünitesi'nde yürütülmüştür. Çalışmanın ikinci kısmında anestezi altında kan alma; doku ve organ izolasyonları gibi cerrahi işlemler yer almaktadır ve bu aşama Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Ünitesi'nde yapılmıştır. Üçüncü aşamada izole edilen organ ve dokuların saklanması ve ileri laboratuvar analizleri ise Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü Araştırma Laboratuvarları'nda yürütülmüştür.



Şekil 3.1. : Deney Şeması

3.2. I. Aşama: Hayvanların Temini, Diyet Müdahalesi ve Eşleştirme

3.2.1. Hayvanların Temini ve Bakımı

Çalışmada kullanılan inbred (aynı soydan gelen), 3 haftalık, sütten yeni kesilmiş, Sprague Dawley cinsi 10 adet dişi, virgin sıçanlar ile 2 adet erkek eşleştirme sıçanları Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Yetiştirme Ünitesi'nden temin edilmiştir. Teslim alınan sıçanlar 0.1 grama duyarlı hassas terazi ile tartılarak kafeslerine yerleştirilmiştir. Çalışmada sıçanların su ve yem tüketimleri bireysel olarak kaydedileceği için her sıçan ayrı bir kafese yerleştirilmiştir. Sıçanların hepsi aynı koşullarda (20 ± 2 °C, 12 saat dönüşümlü aydınlık/karanlık ortam) bakılmıştır. Çalışma boyunca ratların ağırlıkları araştırmacı tarafından iki günde bir ölçülerek kayıt edilmiştir.

3.2.2. Uygulanan Diyet Müdahalesi

Diyet planı sıçanların ağırlık ve günlük beklenen yem ve su tüketimleri göz önüne alınarak 26.5 kkal/gün yemden, 28.8 kkal/gün sudan olmak üzere toplamda 55.3 kkal/gün enerji alacakları şekilde oluşturulmuştur. Buna göre toplam enerjinin %28'i ve 100 g diyetin %20'si fruktozdan gelmektedir.

Sıçanlara Verilen Yem

Diyet müdahalesi öncesinde su ve yem tüketimi düzeyinde farklılık olan sıçan olup olmadığını belirlemek ve standart koşulları sağlayabilmek için sıçanların hepsine çalışmanın ilk iki haftasında sınırsız (*ad libitum*) olarak su ve izokalorik standart laboratuvar yemi (*chow*) verilmiştir.

Sıçanlar, ikinci haftanın sonunda rastgele olarak iki gruba ayrılmıştır. Sıçanların tamamına aynı standart laboratuvar yemi *ad libitum* olarak verilmiştir (Nükleon Laboratuvar Sistemleri Ltd. Şti., Ankara). Kullanılan yemin metabolize edilebilir enerjisi 265 kkal/100 g yem'dir. Makrobesin öğelerine bakıldığında protein içeriği ağırlık olarak en az 24 g/100 g yem, karbonhidrat ve yağ içeriği sırasıyla en az 60 g/100 g yem ve 13 g/100 g yem'dir. Türk Standartları Enstitüsü'nün yürürlükte bulunan Hayvan yemleri-Laboratuvar hayvanı yemleri Standardı'na (TS 9313) uygun yem kullanılmıştır (219). Çalışma süresince sıçanların yem ve su tüketimleri ile vücut ağırlıkları araştırmacı tarafından gün aşırı ölçülerek kayıt edilmiştir.

Sıçanlara Verilen Su

Bahsedilen iki haftalık standart koşulların ardından sıçanlar rastgele olarak iki gruba ayrılmıştır. Birinci gruba (fruktoz eklenen grup: F) *ad libitum* olarak 0.2 g/ml fruktoz eklenmiş su (%20 w/v) verilmiştir (Egepak Gıda ve Ambalaj San. A.Ş. İzmir). İkinci gruba (maltodekstrin eklenen grup: M) izokalorik olacak şekilde maltodekstrin eklenmiş su (0.2 g/ml, %20 w/v) *ad libitum* olarak verilmiştir (Vankim Kimya Gıda Ltd. Şti., İstanbul). Sıçanların suları bir ya da iki günde bir değiştirilerek sulukları

yıkanmış ve dezenfekte edilip yeniden hazırlanarak verilmiştir. Suluklarda kalan su ölçülerek sıçanların günlük tükettikleri su miktarı hesaplanmıştır.

3.2.3. Eşleştirme, Gebelik ve Laktasyon

Sprague Dawley cinsi, inbred, virjin sıçanlar belirtilen şekilde 12 hafta boyunca beslendikten sonra Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Yetiştirme Ünitesi'nden temin edilen Sprague Dawley cinsi, inbred iki adet erkek sıçan ile eşleştirilmiştir. Bunun için; erkek ve dişi sıçanlar üç gün boyunca aynı kafeste bırakılmıştır. Kafesin altına koyu renk bir kağıt serilmiş, üçüncü günün sonunda kağıttaki semen izine bakılarak eşleşmenin gerçekleşip gerçekleşmediği kontrol edilmiştir. Genetik faktörlerin etkisini minimuma indirmek için erkek sayısı az ($n=2$) kullanılıp inbred erkek sıçanlar tercih edilmiştir. Eşleştirme sonucu gebe kalan sıçanlar gebelik süresince yani üç hafta boyunca aynı şekilde fruktoz veya maltodekstrin eklenmiş diyetle beslenmeye devam etmiştir.

Doğum yapan her bir sıçandan 6-7 adet yavru rastgele olarak seçilmiş ve beslenmesine devam etmek üzere annesiyle aynı kafeste bırakılmıştır. Annesinden ayrılan yavrular servikal dislokasyon ile ötanazi edilmiştir. Anne sıçanlar, doğumdan sonraki üç haftalık laktasyon döneminde aynı diyetlerine devam ederken yavru sıçanlar anne sütü almışlardır. Laktasyon döneminin sonunda hem anne hem de yavru sıçanlar ötanazi edilmiştir.

Sonuç olarak anne ratlar fruktoz ya da maltodekstrin eklenmiş suyla 18 hafta boyunca beslenmiştir. Ancak çalışma sırasında her iki gruptan birer sıçanın gebe kalmaması ya da yavrularına uyguladıkları kanibalizm davranışı sonucunda yeniden eşleştirilmesi gerekmiştir (sıçan kodu: F5 ve M2). Böylece bu iki sıçan diyet müdahalesine diğerlerinden yaklaşık üç hafta daha fazla maruz kalmıştır.

Çalışmanın başlangıcında her anneden 7 yavru alınması planlanmış; ancak bazı annelerin ($(n_{\text{maltodekstrin}}=1)$, $(n_{\text{fruktoz}}=3)$) beklenenden daha az sayıda doğum yapması ya da yavrularının bir kısmına zarar vermesi (kanibalizm) sebebiyle hedeflenen yavru

sayısına ($n_{\text{hedef}}=70$) ulaşamamıştır. Maltodekstrin grubunda 5 adet anne, 29 adet yavru sıçan varken; fruktoz grubunda 5 adet anne ve 23 adet yavru sıçan çalışmaya katılmıştır. Bu çalışma toplamda 10 adet anne ve 52 adet yavru sıçan ile yürütülmüştür ($n_{\text{toplam}}=62$).

3.3. II. Aşama: Anestezi, Kan Alma, Doku Toplama ve Ötanazi

Laktasyon döneminin sonunda, hem anne hem de yavru sıçanlar anestezi altında kan alma, doku/organ izolasyonu ve ötanazi işlemleri için Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Ünitesi'ne götürülmüştür. Cerrahi müdahale en az beş saatlik açlık sonrasında yapılmıştır. Müdahalenin beş saat öncesinde anne sıçanların kafesteki yemleri ve suları alınmış, yavrular ise anneden ayrılarak süt alımları engellenmiştir (220,221).

3.3.1. Anestezi

Sıçanlar enjeksiyon öncesinde tartılıp vücut ağırlığına göre 90 mg/kg ketamin (Richter Pharma, Avusturya) ve 10 mg/kg ksilazin (Alfasan International B.V., Hollanda) kullanılarak hazırlanan kokteylin subkutan enjeksiyonu ile genel anestezi altına alınmıştır.

Diğer sıçanların anestezi işlemini görmesini engellemek için işleme alınacak sıçan boş bir kafes yardımıyla diğerlerinden ayrılarak müdahale odasına alınmış ve zaman kaybetmeden enjeksiyon yapılmıştır. Beşinci dakikadan sonra sıklıkla anestezi derinliği parmak kıstırma yöntemiyle izlenmiş, tepki vermediği noktada cerrahi müdahaleye başlanmış ve anestezi derinliği izlemine devam edilmiştir.

3.3.2. Kan Alma ve Ötanazi

Derin anestezi altında olduğuna emin olunduktan sonra sıçanlar sabitlenerek cerrahi işleme başlanmıştır. Antikoagülan olarak laboratuvar koşullarında tri-

sodyum sitrat (Merck Chemicals, Almanya) ile hazırlanan sitrat çözeltisi kullanılarak enjektör ve tüpler sitratlanmıştır.

Cerrahi operasyona gergin şekilde duran sıçanın alt orta kadranından başlanmış, her iki yandan yukarı doğru kaburgalara gelinceye kadar deri ve kas doku yavaşça kesilerek iç organların ortaya çıkması sağlanmıştır. İçinde sitrat solüsyonu bulunan enjektörle vena kava'ya girilerek damardaki kan yavaşça enjektöre çekilmiştir. Kan alındıktan sonra vena kava kesilip vücuttaki tüm kanın damar dışına çıkması sağlanarak cerrahi işlem sırasında eksanguinasyon yöntemiyle ötanazi yapılmıştır. Alınan sitratlı kan (12.9 mM) polipropilen santrifüj tüplerine koyulup mikrosantrifüj cihazıyla 10000 rpm (9400g)'de 10 dk santrifüj edildikten sonra plazma kısmı ayrılarak aynı şekilde ikinci kez santrifüj edilmiştir (Labnet International Inc., USA). Plazmalar dikkatle pipetlenerek temiz santrifüj tüplerine alınmış ve -80 °C'deki dondurucuda analiz gününe kadar bekletilmiştir.

3.3.3. Karaciğer Diseksiyonu ve Karkasların Saklanması

Ötanazi sonrası, karaciğer % 0.9'luk sterilize serum fizyolojik ile perfüze edilmiştir. Karaciğerin dört lobundan birer gramlık doku alınmıştır. Karaciğerde trigliserit analizi sırasında hayvanların bütün karaciğer loblarından alınan örnekler kullanılmıştır. Analiz gününe kadar -80 °C'deki dondurucuda saklanmıştır. Doku izolasyonu tamamlandıktan sonra karkasların saklanması için hazırlık aşamasına geçilmiştir. Öncelikle karkaslar tartılarak ağırlıkları kaydedilmiştir. Analiz gününe kadar -80 °C'deki dondurucuda kapalı, sterilize paketler içerisinde bekletilmiştir.

3.4. III. Aşama: Kan ve Doku Analizleri

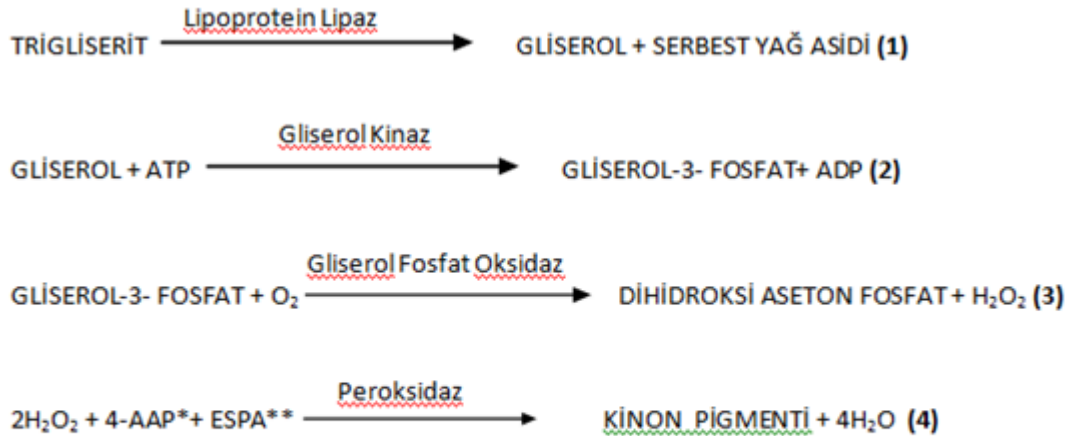
3.4.1. Karaciğer ve Plazmada Yapılan Analizler

Sıçanlardan izole edilen plazmalarda; trigliserit, serbest yağ asitleri ve insülin miktarı ile karaciğerde trigliserit miktarı tayini yapılmıştır. Ayrıca saklanan karkaslarda Soxhlet yöntemiyle toplam vücut yağı miktarı analizi yapılmıştır.

Trigliserit Analizi

Analiz öncesinde mikrohomojenizatör (T25 İka Labortechnik, Almanya) ile homojenize edilen karaciğerler ve santrifüj ile ayrılan plazmalarda trigliserit analizi hazır kitler yardımıyla, kolorimetrik/ELISA yöntemiyle plazma ve karaciğerde dublike olarak çalışılmıştır (Cayman Chemical Company, USA).

Seçilen kit, plazmadaki trigliseritleri lipaz yardımıyla gliserol ve serbest yağ asitlerine hidroliz etmektedir. Daha sonra gliserol üzerinden Şekil 3.3.'de gösterilen bir dizi enzimatik reaksiyonla renk değişimi sağlamaktadır.



*4-AAP: 4- Amino antipirin

**ESPA: N-Etil-N-(3-sülfooroolil)-m-anisidin

Şekil 3.3. Trigliserit Analiz Reaksiyonları

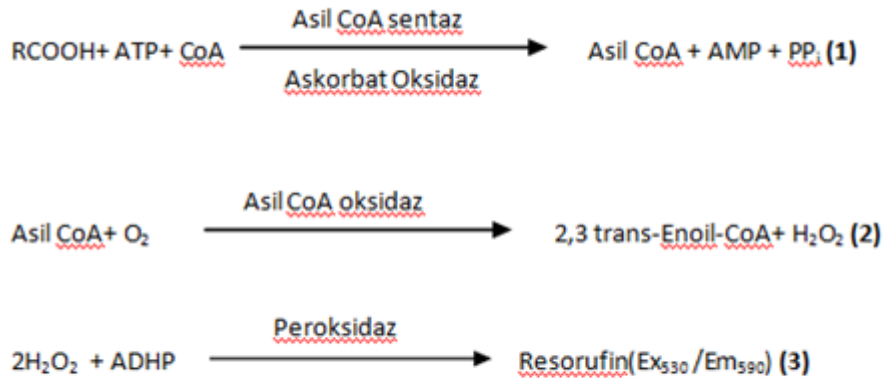
Şekil 3.3.'te görüldüğü gibi trigliserit yapısından ayrılan gliserol; ATP ve gliserol kinaz yardımıyla fosfatlanmaktadır. Fosfatlanmış gliserol, gliserol fosfat oksidaz enzimi ile dihidroksi aseton fosfata okside olurken hidrojen peroksit açığa çıkmaktadır. Son basamakta peroksidaz hidrojen peroksidin redoks reaksiyonunu katalize ederek parlak mor renk oluşturan kinon açığa çıkarmaktadır.

Gliserol miktarına paralel olarak oluşan renk yoğunlukları Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü Araştırma Laboratuvarları'nda kolorimetrik mikropilaka okuyucu ile okunmuştur (ChromMate 4300, Awareness Technology Inc, USA). Kit içeriğinde bulunan ve trigliserit konsantrasyonları bilinen standart solüsyonların absorban değerleri kullanılarak oluşturulan "trigliserit standart eğrisi" yardımıyla her örneğin içerdiği trigliserit miktarı hesaplanmıştır.

Toplam Serbest Yağ Asitleri Analizi

Toplam serbest yağ asitleri (SYA) analizi hazır kitler yardımıyla, fluorometrik yöntemle dublike olarak plazmada yapılmıştır (Cayman Chemical Company, USA).

Seçilen kit, plazmadaki toplam serbest yağ asitleri konsantrasyonlarını Şekil3.4.'de gösterilen bir dizi enzimatik reaksiyonu kullanarak belirlemektedir.



*ADHP: 10-asetil-3,7-dihidroksifenoksazin

Şekil 3.4. Serbest Yağ Asitleri Analiz Reaksiyonları

Şekil 3.4'te görüldüğü üzere; asil CoA sentaz CoA'nın yağ asidi asilasyonunu katalize etmektedir. Oluşan asil CoA, asil CoA oksidaz enzimi tarafından okside edilerek hidrojen peroksit açığa çıkarmaktadır. Hidrojen peroksit de peroksidaz varlığında ADHP ile reaksiyona girerek yüksek oranda floresan olan pembe renkli resorufini oluşturmaktadır.

Konsantrasyona bağlı olarak oluşan farklı renk yoğunlukları uygun eksitasyon ve emisyon dalga boylarında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda bulunan fluorometre cihazı ile okunmuştur (SpectraMax M2 Multi-Mode Microplate Reader, Molecular Devices, USA).

Kit içeriğinde bulunan ve toplam serbest yağ asitleri konsantrasyonları bilinen standart solüsyonların floresan değerleri kullanılarak oluşturulan "toplam serbest yağ asitleri standart eğrisi" yardımıyla her örneğin içerdiği toplam serbest yağ asitleri miktarı hesaplanmıştır.

İnsülin Analizi

İnsülin analizi hazır kitler yardımıyla, kolorimetrik/ ELISA yöntemiyle dublike olarak plazmada yapılmıştır (Bertin Pharma, CNIM Company, Montigny-le-Bretonneux, France).

Seçilen kit, plazmadaki insülin konsantrasyonlarını, anti sıçan insülin için sınırlı spesifik olan kobay anti serum alanlarına bağlanmak için yarışan işaretlenmemiş sıçan insülini ve asetilkolin esteraza bağlı sıçan insülini (tracer) arasındaki ilişki üzerinden belirlemektedir. Kompleks kobay antiserum- sıçan insülini (serbest ya da tracer) plaka hücrelerinde bağlı olarak bulunan keçi anti kobay antikörlerine bağlanmaktadır. Hücreler yıkanıp enzimatik substrat içeren sıvı eklendiğinde sarı renkli bileşikler oluşmaktadır.

Konsantrasyonla ilişkili olarak oluşan farklı renk yoğunlukları kolorimetrik mikropilaka okuyucu ile okunmuştur (ChromMate 4300, Awareness Technology Inc, USA). Kit içeriğinde bulunan ve insülin konsantrasyonları bilinen standart solüsyonların absorban değerleri kullanılarak oluşturulan “insülin standart eğrisi” yardımıyla her örneğin içerdiği insülin miktarı hesaplanmıştır.

3.4.2. Toplam Vücut Yağı Miktarı Tayini

Planlanan toplam vücut yağ miktarı anne ve yavru sıçanlardan oluşturulan örnek havuzunda Soxhlet yöntemiyle analiz edilmiştir.

Analiz Öncesi Hazırlıklar

Ağırlıkları tartılıp sterilize kapalı poşetler içinde -80°C 'de saklanan karkaslar inkübatörde çözdürülmüştür (Binder GmbH, Almanya). Çözdürülen karkaslar yapışma, taşma ve zarar görmeden kaynaklanan doku kayıplarını önlemek için alüminyum pişirme kaplarına koyularak 80°C 'deki fırına yerleştirilmiştir (Gallenkamp, Fistreem International Limited, UK). Karkaslardaki ağırlık

sabitlendiğinde yapıdaki tüm suyun buharlaştığına karar verilerek fırın kapatılmıştır. Fırından çıkarılan karkaslar önceden petrol eter, etil alkol ve saf su ile temizlenen porselen havanda (yavrular) veya aynı şekilde temizlenmiş elektrikli karıştırıcıda (anneler) homojenize edilmiştir (Waring Commercial Blender, USA). Homojenize edilen karkaslar analiz öncesinde desikatörde bekletilmiştir.

Birkaç gün önceden sabit ağırlığa getirilmiş Soxhlet balonları inkübatörden çıkarıldıktan sonra analiz öncesinde desikatörde bekletilmiştir.

Soxhlet Analizi

Homojenize edilmiş karkaslardan eşit miktarda örnek alınarak kartuşa yerleştirilmiş, sodyum sitrat (Merck ilaç, Ecza ve Tic. A.Ş., İstanbul) eklenmiş ve cam pamukla sıkıştırılmıştır. Kartuş ekstraktöre koyulduktan sonra ekstraktör balona bağlanmıştır. Petrol eteri (Merck ilaç, Ecza ve Tic. A.Ş., İstanbul) ekstraktörün açık ucundan döküldükten sonra soğutucuya bağlanarak eterin sistem içinde dolaşması sağlanmıştır. Bu döngü örnekteki tüm yağın balona geçmesini sağlamıştır. Sürenin sonunda ekstraktörden alınan balon evaporatöre yerleştirilerek içindeki eterin tamamı ayrılmıştır (Büchi 461 Rotavapor, Switzerland). Balon içinde sadece örnekten ekstrakte edilen yağ kaldığında balonun yeniden sabit ağırlığına gelmesi için tekrar inkübatöre alınmış, burada başlangıçta sabit ağırlığa getirilirken beklediği süre kadar bekletilmiştir. Bu süre içinde yine düzenli tartım yapılarak ağırlık değişimi kayıt edilmiştir. Balon sabit ağırlığa geldiğinde tartılarak karkaslardaki yağ miktarı aşağıdaki formül yardımıyla yüzde olarak hesaplanmıştır.

$$\text{Yağ Miktarı \%} = \frac{(\text{Balon +Yağ(g)})-(\text{Balon(g)})}{\text{Örnek Miktarı (g)}}$$

Formül 3.1.: Soxhlet Analizinde Yağ Miktarı Hesaplaması

3.5. Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Çalışmadan elde edilen veriler SPSS (Statistical Package for Social Science) 15.0 istatistik programı ile değerlendirilmiş ve ortalama (\bar{X}), standart hata (S_x) olarak ifade edilmiştir. Grupların karşılaştırılmasında verilere uygun olan parametrik olmayan hipotez testleri kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık $P < 0.05$ değeri ile belirlenmiştir.

4. BULGULAR

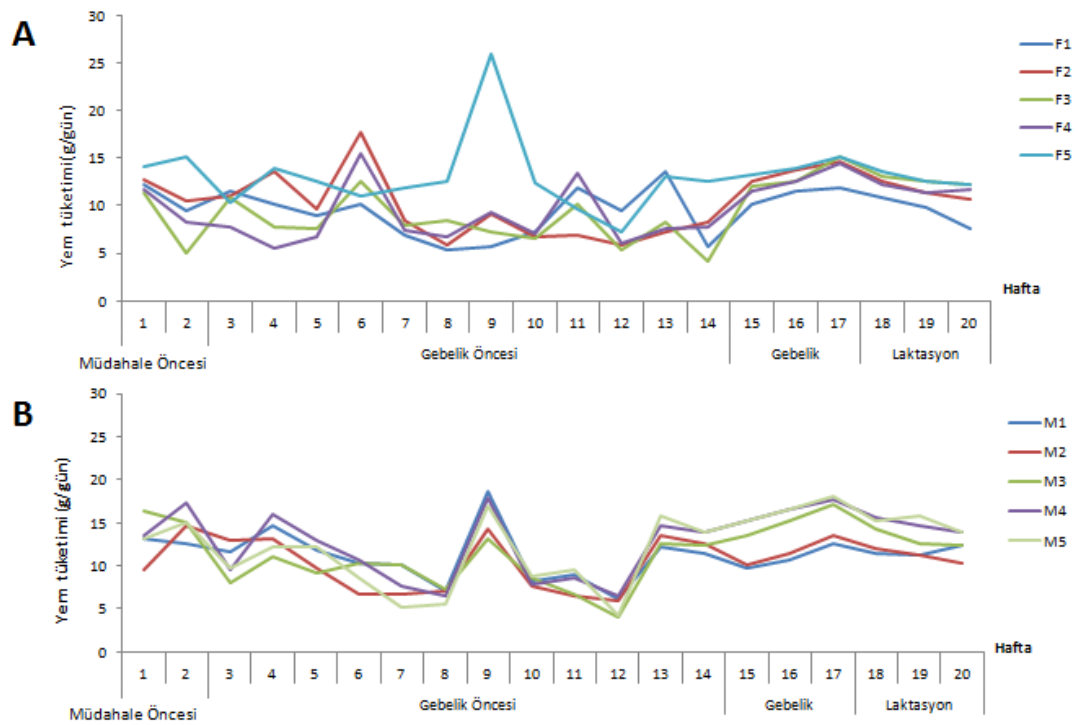
Bulgular anne ve yavru sıçanlar için daha ayrıntılı olarak aşağıda irdelenmiştir.

4.1. Anne Sıçanlara Ait Bulgular

4.1.1. Yem ve Su Tüketimleri, Enerji Alımları ve Vücut Ağırlıkları

Yem Tüketimi

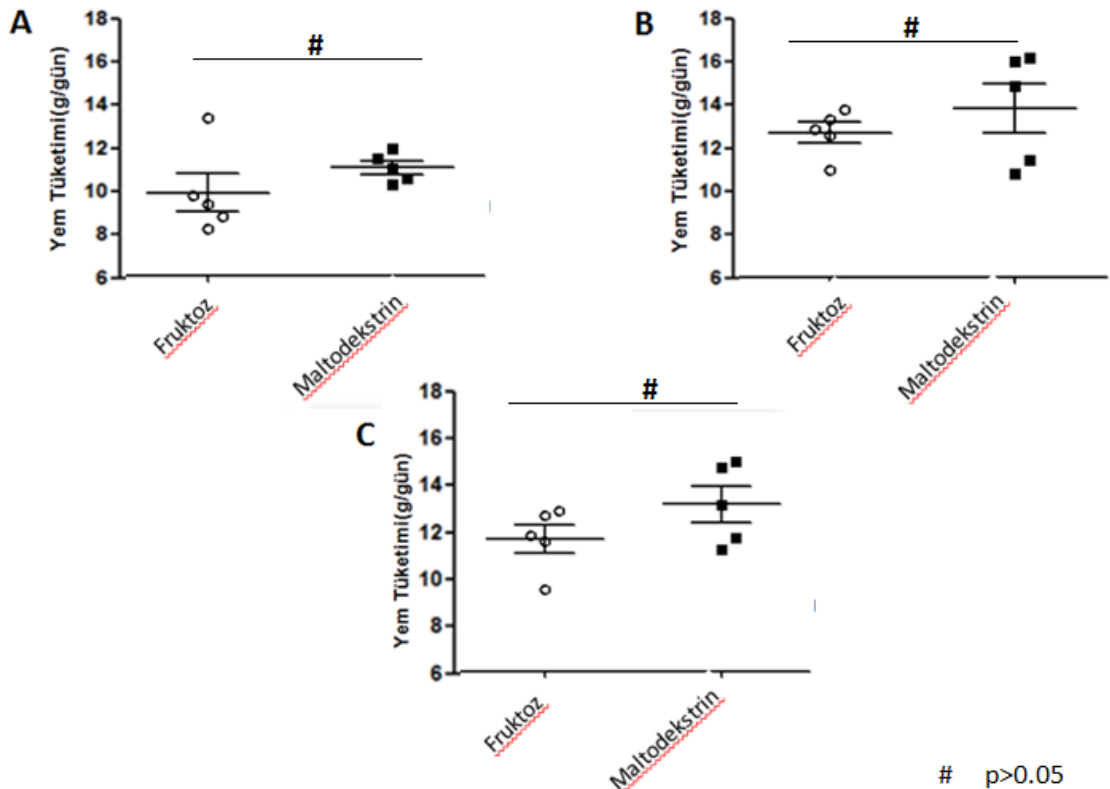
Anne sıçanların günlük ortalama yem tüketimleri Şekil 4.1.'de verilmiştir.



Şekil 4.1. Fruktoz (A) ve maltodekstrin (B) gruplarındaki anne sıçanların yem tüketimlerinin haftalara göre değişimi

Çalışmanın ilk iki haftasında yem tüketimi açısından gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p=0.056$). Benzer şekilde gebelik öncesinde ($p=0.15$), laktasyon öncesinde ($p=0.15$) ve çalışmanın son haftasında ($p=0.22$) yem tüketimleri gruplar arasında farklılık göstermemiştir.

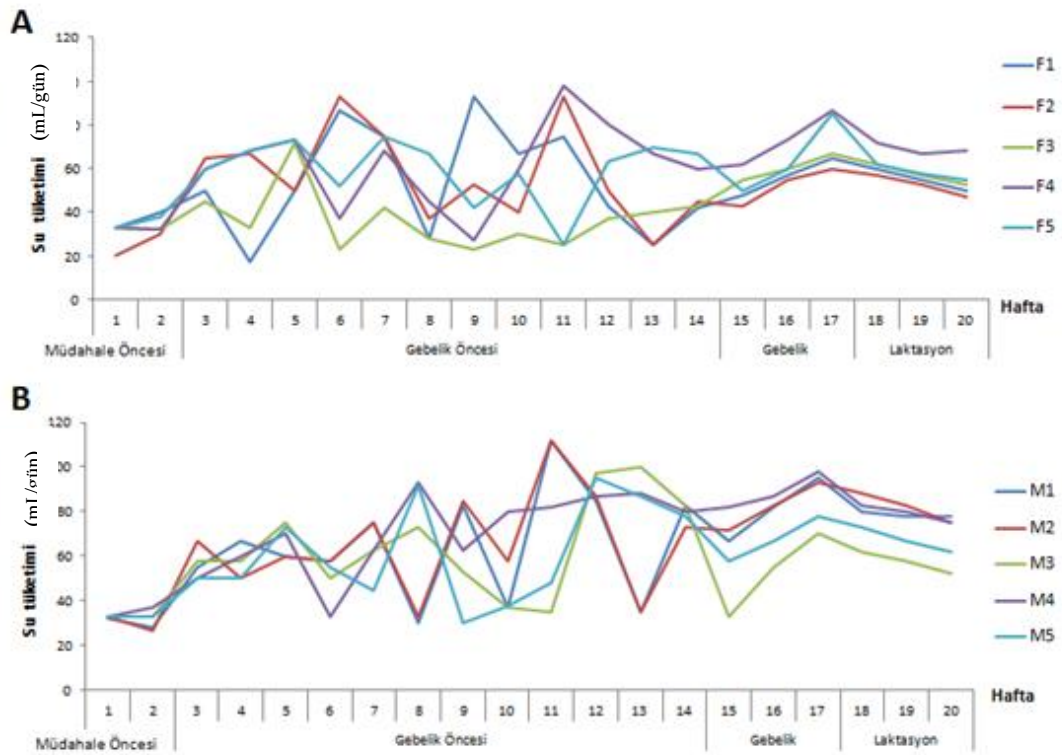
Sıçanların çeşitli dönemlerdeki yem tüketimi ortalamalarına bakıldığında gebelik öncesi dönemde fruktoz grubu 9.5 ± 0.85 g/gün iken maltodekstrin grubunun yem tüketiminin 10.3 ± 0.32 g/gün olduğu gözlenmiştir ($p=0.15$). Gebelik döneminde fruktoz ve maltodekstrin gruplarının ortalama yem tüketimleri sırasıyla 13.0 ± 0.50 g/gün ve 14.2 ± 1.21 g/gün'dür ($p=0.55$). Laktasyon dönemindeki yem tüketimleri ise sırasıyla 11.6 ± 0.59 g/gün ve 13.1 ± 0.76 g/gün olarak bulunmuştur ($p=0.31$). Buna göre iki grubun yem tüketiminde hiçbir dönemde anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Anne sıçanların çalışmanın her bir dönemindeki ortalama yem tüketimleri Şekil 4.2.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.2. Gruplara göre anne sıçanların gebelik öncesi (A), gebelik (B) ve laktasyon dönemindeki (C) yem tüketimi ortalamaları

Su Tüketimi

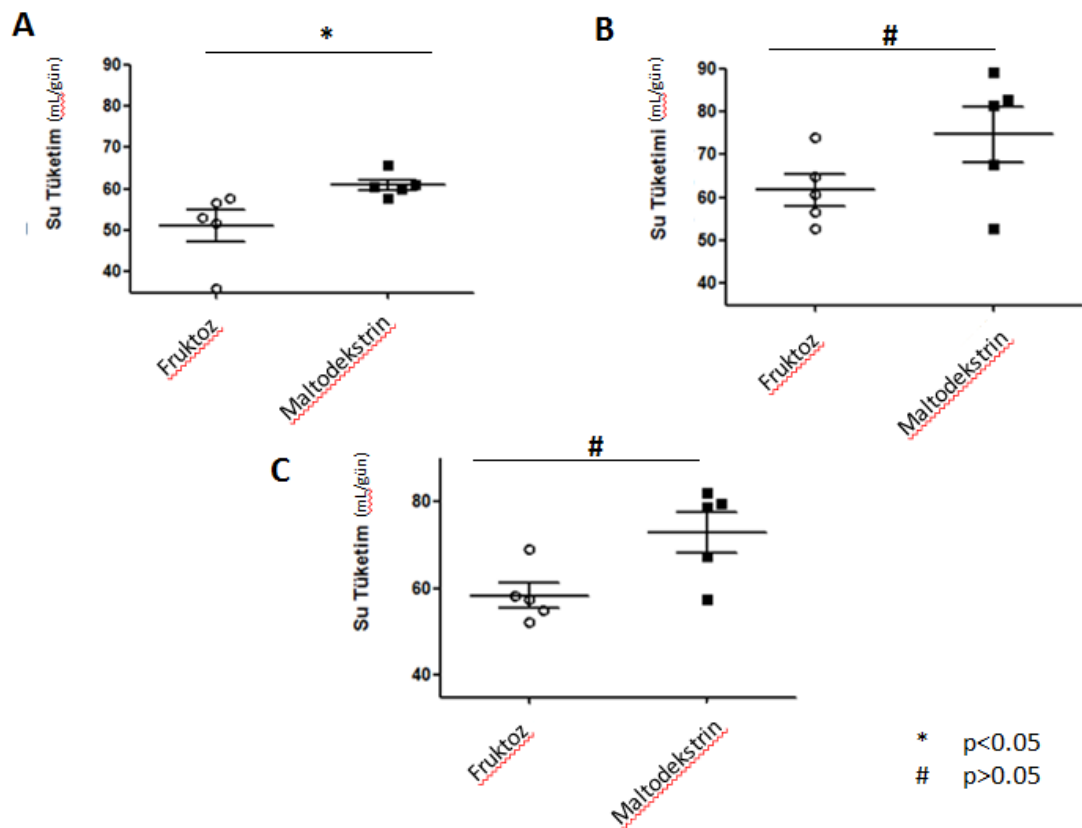
Çalışmanın ilk iki haftasında fruktoz veya maltodekstrin içeren su tüketimi açısından gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.83$). Ancak; gebelik öncesinde ($p=0.016$), laktasyon öncesinde ($p=0.032$) ve çalışmanın son haftasında ($p=0.032$) içme suyu tüketimleri gruplar arasında istatistiksel olarak farklıdır. Anne sıçanların çalışma boyunca su tüketimindeki değişimler Şekil 4.3.'te gösterilmiştir.



Şekil 4.3. Fruktoz (A) ve maltodekstrin (B) gruplarındaki anne sıçanların günlük ortalama su tüketimlerinin haftalara göre değişimi

Anne sıçanların çalışmanın her bir dönemindeki ortalama su tüketimleri Şekil 4.4.'te gösterilmiştir. Sıçanların çeşitli dönemlerdeki su tüketimi ortalamalarına bakıldığında gebelik öncesi dönemde fruktoz grubu 54.2 ± 4.52 mL/gün iken maltodekstrin grubunun su tüketiminin 65.8 ± 1.45 mL/gün olduğu gözlenmiştir.

($p=0.016$). Gebelik döneminde fruktoz ve maltodekstrin gruplarının ortalama su tüketimleri sırasıyla 61.8 ± 3.68 mL/gün ve 74.7 ± 6.51 mL/gün'dür ($p=0.17$). Laktasyona kadar olan dönemde su tüketimleri ise sırasıyla 58.4 ± 2.84 mL/gün ve 72.9 ± 4.64 mL/gün olarak bulunmuştur ($p=0.07$). Buna göre iki grubun su tüketimi sadece gebelik öncesi dönemde birbirinden farklı olup maltodekstrin grubunda daha yüksektir.

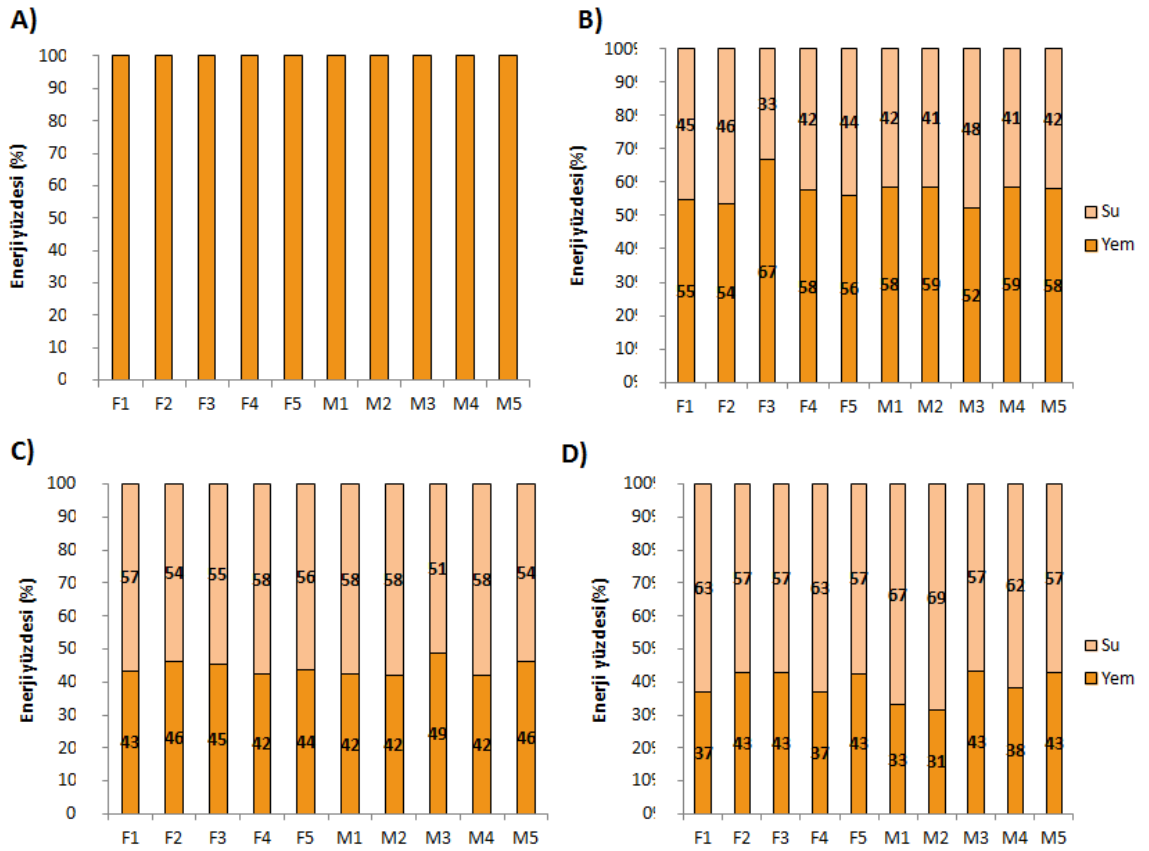


Şekil 4.4. Gruplara göre anne sıçanların gebelik öncesi (A), gebelik (B) ve laktasyon dönemindeki (C) su tüketimi ortalamaları

Enerji Alımı

Çalışmanın dizaynı açısından sıçanların iki farklı enerji kaynağı bulunmaktadır. Birincisi standart laboratuvar yeminden gelen enerji; ikincisi ise suya eklenen karbonhidrattan gelen enerjidir. Şekil 4.5.'te gösterilen veriler günlük alınan

toplam enerjiyi göstermektedir. Sıçanların yemden ve sudan aldıkları enerji yüzdesi ortalamaları dönemlere göre incelendiğinde yemden gelen enerji toplam enerjinin; gebelik öncesi dönemde %57'si, gebelik döneminde %44'ü ve laktasyon döneminde ise %39'udur (Şekil 4.5.). Sıçanların günlük aldıkları enerjinin fruktoz veya maltodekstrinden gelen oranlarına bakıldığında gebelik öncesi dönemde yemden gelen enerji toplam enerjinin %43'ü, gebelik döneminde %56'sı ve laktasyon döneminde ise %61'idir (Şekil 4.5.).

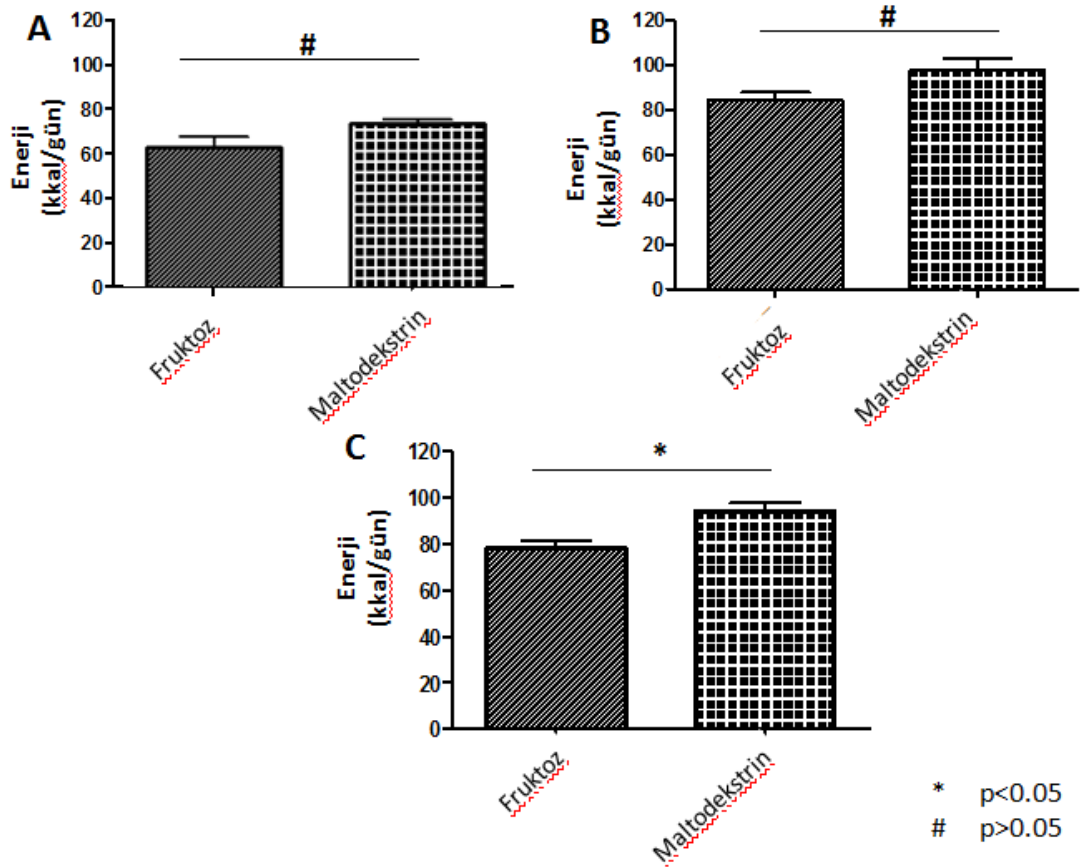


Şekil 4.5. Gruplara göre anne sıçanların müdahale öncesi (A), gebelik öncesi (B), gebelik sırası (C) ve laktasyon (D) dönemlerinde günlük aldıkları enerjinin yem ve sudan gelen yüzdeleri

Anne sıçanların çalışmanın her bir dönemindeki ortalama enerji alımları Şekil 4.6.'da gösterilmiştir. Sıçanların çeşitli dönemlerdeki enerji alımı ortalamalarına bakıldığında gebelik öncesi dönemde fruktoz grubu 68.9 ± 5.04 kkal/gün iken maltodekstrin grubunun enerji alımının 80.3 ± 1.68 kkal/gün olduğu gözlenmiştir

($p=0.095$). Gebelik döneminde fruktoz ve maltodekstrin gruplarının ortalama enerji alımları sırasıyla 84.5 ± 3.41 kkal/gün ve 97.9 ± 5.15 kkal/gün'dür ($p=0.056$). Laktasyon dönemindeki enerji alımları ise sırasıyla 78.0 ± 3.06 kkal/gün ve 93.9 ± 3.55 kkal/gün olarak bulunmuştur ($p=0.028$). Buna göre iki grubun günlük enerji alımı arasındaki fark sadece laktasyon döneminde istatistiksel açıdan anlamlıdır.

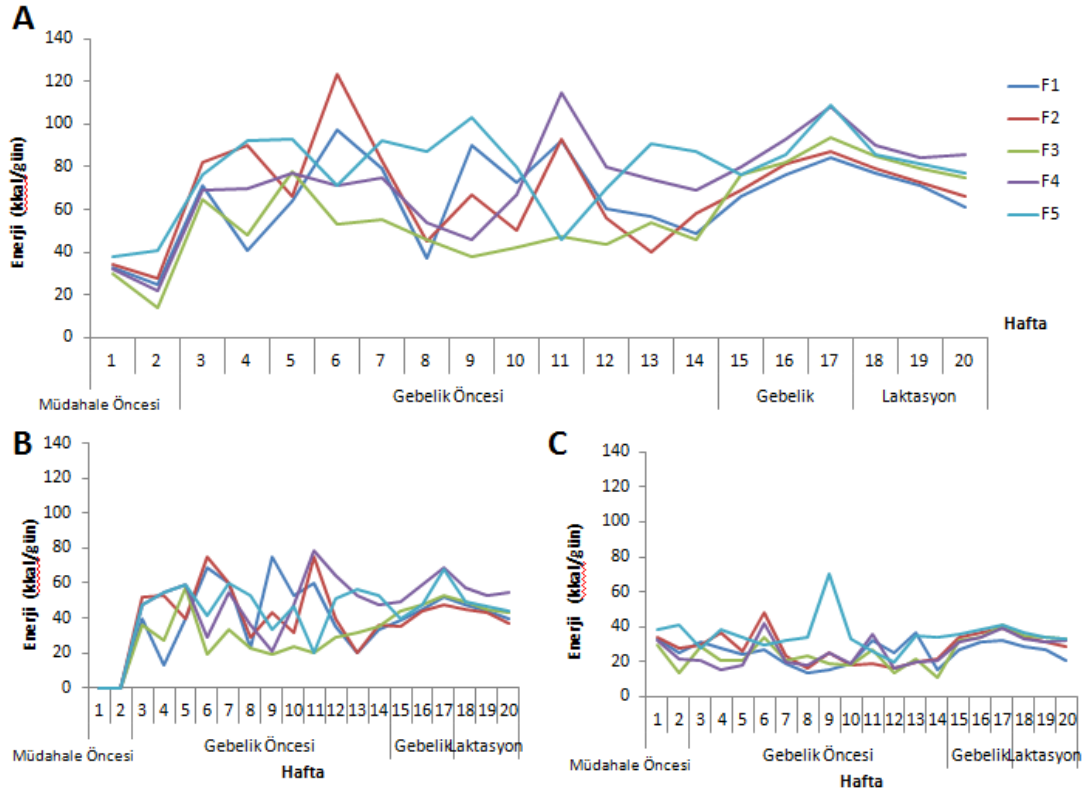
Çalışmanın ilk iki haftasında ($p=0.056$), gebeliğe kadar (ilk 12 hafta) ($p=0.095$) ve laktasyona (ilk 17 hafta) kadar olan dönemde ($p=0.095$) enerji alımı açısından gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Ancak; çalışmanın sonunda (18 haftanın tamamında) ($p=0.032$) enerji alımları gruplar arasında istatistiksel olarak farklıdır.



Şekil 4.6. Gruplara göre anne sıçanların gebelik öncesi (A), gebelik (B) ve laktasyon (C) dönemlerindeki günlük aldıkları toplam enerji ortalamaları

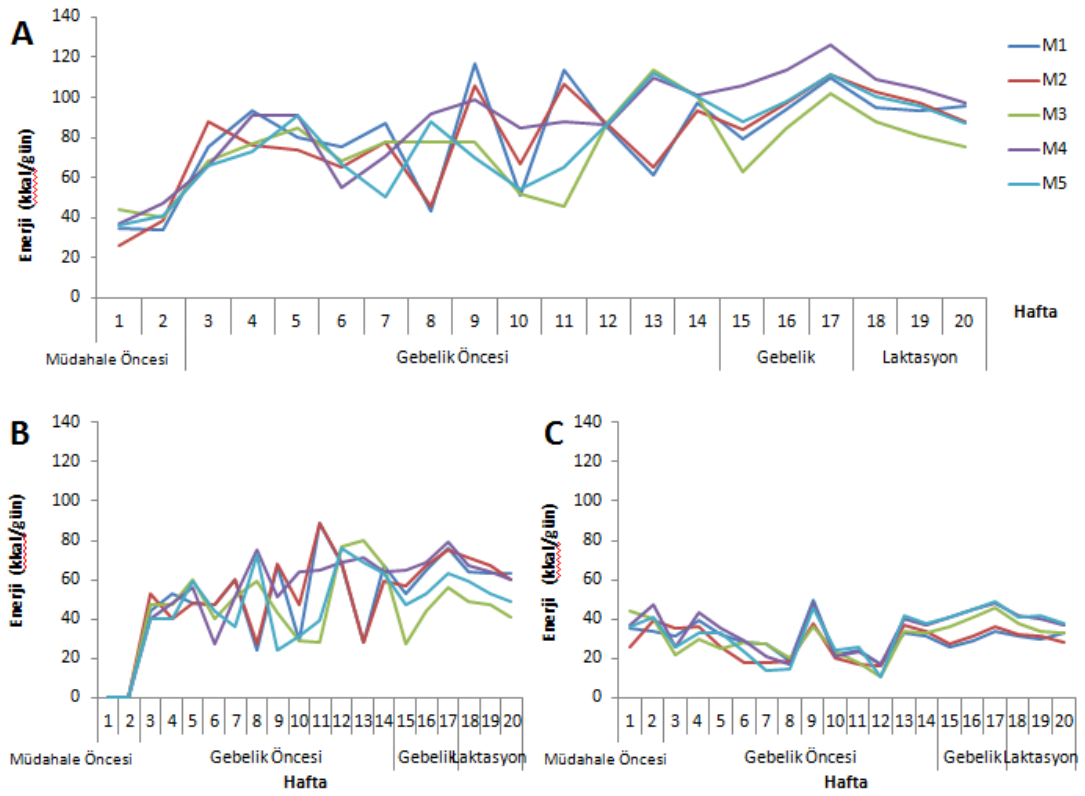
Fruktoz grubundaki sıçanların enerji alımlarına bakıldığında çalışmanın 9. haftasında bir sıçanın diğerlerinden ve kendi ortalama tüketiminden daha fazla yem tükettiği

için yemden gelen enerji oranı bu haftada arttığı görülmüştür. Fruktoz grubundaki sıçanların enerji alımlarına genel olarak bakıldığında müdahale öncesi dönemde birbirine paralel değişiklikler olurken fruktoz eklenmesinin ardından her sıçanın enerji alımları farklı yönde değişiklik göstermiştir (Şekil 4.7.).



Şekil 4.7. Fruktoz grubundaki anne sıçanların toplam (A), sudan gelen (B) ve yemden gelen (C) enerji alımlarının haftalara göre değişimi

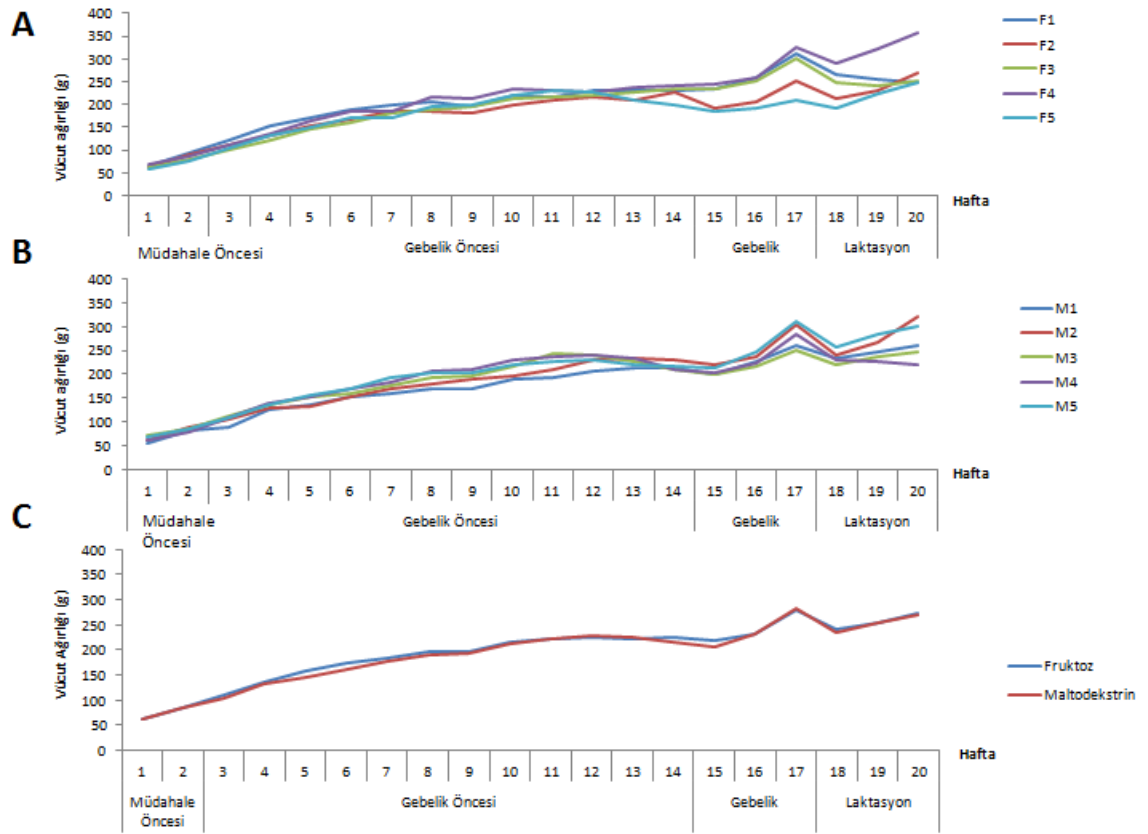
Maltodekstrin grubundaki sıçanların yemden aldıkları enerji birbirine paraleldir. Ancak sudan aldıkları enerji değişiklik gösterdiği için toplam enerji alımları da farklı yönde değişmiştir (Şekil 4.8.).



Şekil 4.8. Maltodekstrin grubundaki anne sıçanların toplam (A), sudan gelen (B) ve yemden gelen (C) enerji alımlarının haftalara göre değişimi

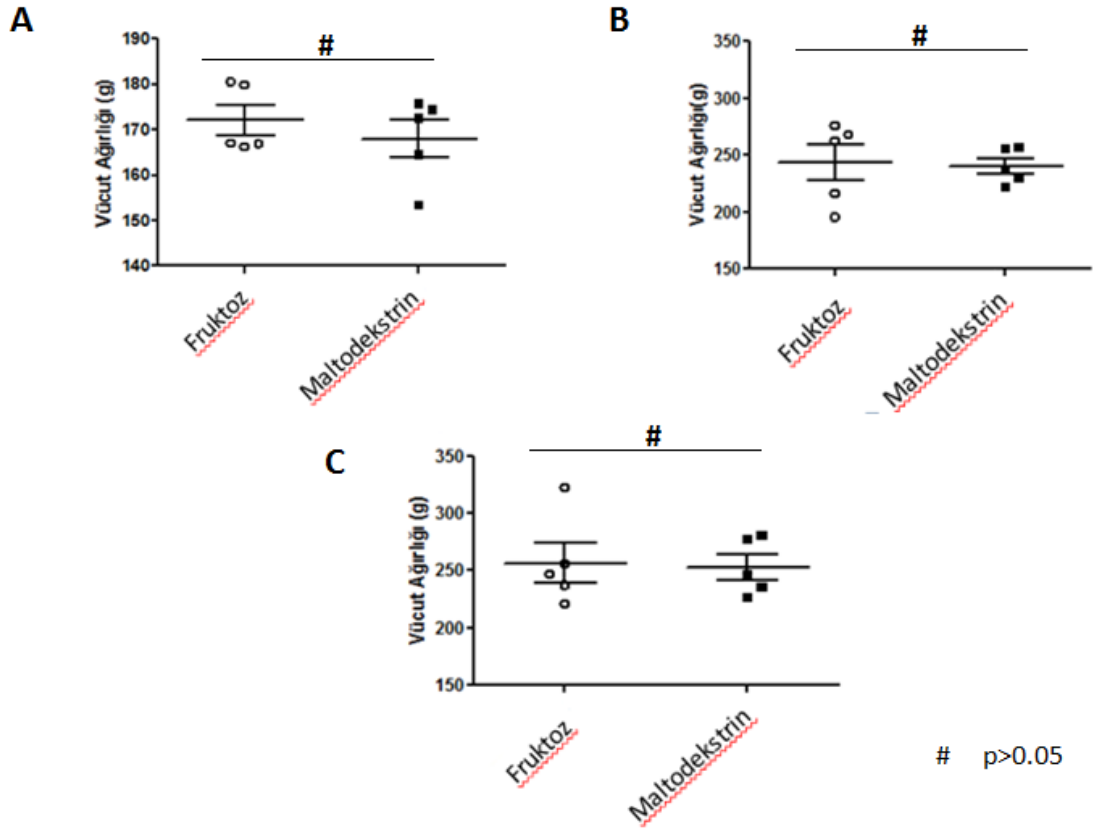
Vücut Ağırlığı

Çalışmanın ilk iki haftasında her iki grubun ağırlıkları arasında bir fark bulunmamıştır ($p=1.000$). Gebelik öncesi döneme denk gelen ilk 14 haftada ($p=0.548$), gebeliği de kapsayan ilk 17 haftada ($p=0.690$) ve laktasyon dahil olmak üzere tüm müdahale dönemlerini içeren 20 haftada ($p=0.690$) ağırlıklar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Anne sıçanların vücut ağırlıkları değişimi Şekil4.9.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.9. Fruktoz (A) ve maltodekstrin (B) grubundaki anne sıçanların haftalık vücut ağırlığı değişimleri ile grupların vücut ağırlığı ortalamaları (C)

Anne sıçanların çalışmanın her dönemdeki ortalama vücut ağırlıkları Şekil 4.10.'da gösterilmiştir. Çalışmanın çeşitli dönemlerindeki ağırlıkların ortalamalarına bakıldığında gebelik öncesi dönemde fruktoz grubunun ortalama ağırlığı 188.6 ± 3.60 g iken maltodekstrin grubununki 183.9 ± 4.65 g olarak bulunmuştur ($p=0.45$) (Şekil 4.10.).



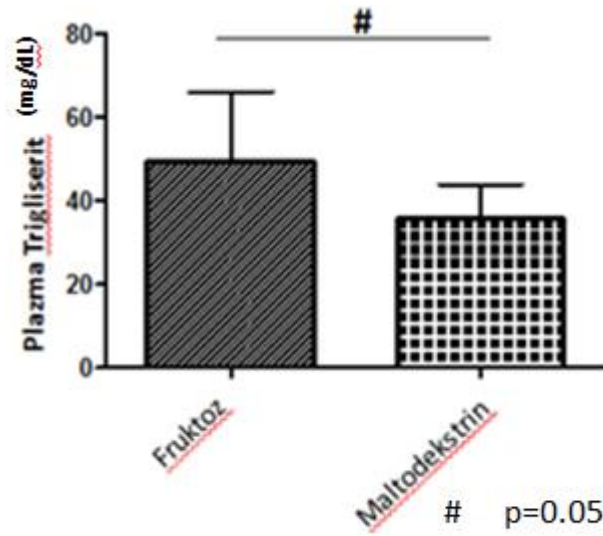
Şekil 4.10. Gruplara göre anne sıçanların gebelik öncesi (A), gebelik (B) ve laktasyon dönemindeki (C) vücut ağırlıkları

Gebelik döneminde fruktoz ve maltodekstrin gruplarının ortalama ağırlıkları sırasıyla 243.3 ± 15.87 g ve 239.7 ± 7.00 g'dır ($p=0.84$). Laktasyon dönemindeki ağırlıkları ise sırasıyla 256.3 ± 17.44 g ve 252.9 ± 10.99 g olarak bulunmuştur ($p=0.87$). Buna göre iki grubun ağırlık değişiminde hiçbir dönemde anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir.

4.1.2. Karaciğer ve Plazmada Biyokimyasal Analizler

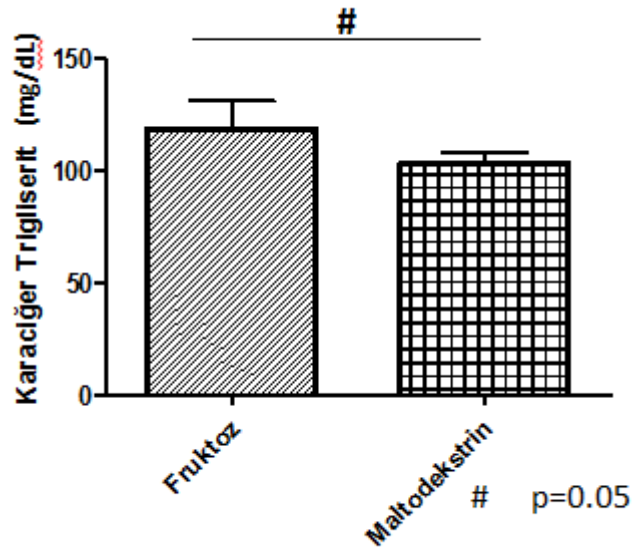
Trigliserit Analizi

Anne sıçanların plazma trigliserit ortalamalarına bakıldığında fruktoz grubu 49.4 ± 25.00 mg/dL iken maltodekstrin grubunun plazma trigliserit değeri 35.7 ± 12.31 mg/dL olduğu saptanmıştır ($p=0.05$) (Şekil 4.11.).



Şekil 4.11. Gruplara göre anne sıçanların ortalama plazma trigliserit konsantrasyonları

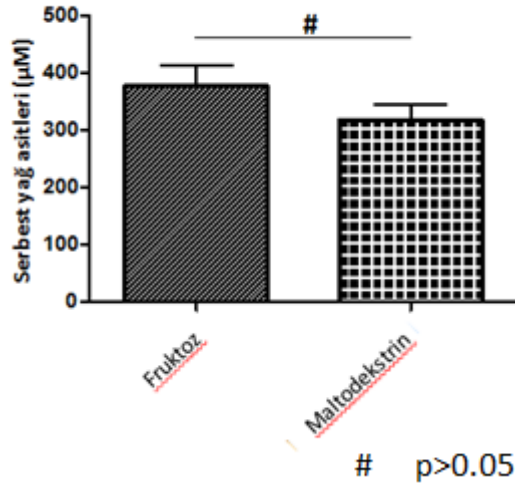
Anne sıçanların karaciğer trigliserit ortalamalarına bakıldığında fruktoz grubunun 118.7 ± 12.14 mg/dL ve maltodekstrin grubunun 103.1 ± 4.63 mg/dL olduğu bulunmuştur ($p=0.05$) (Şekil 4.12.). Hem plazma hem de karaciğer trigliserit miktarları açısından gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık bulunmasa da fruktoz grubunda daha yüksektir.



Şekil 4.12. Gruplara göre anne sıçanların ortalama karaciğer trigliserit konsantrasyonları

Serbest Yağ Asitleri Analizi

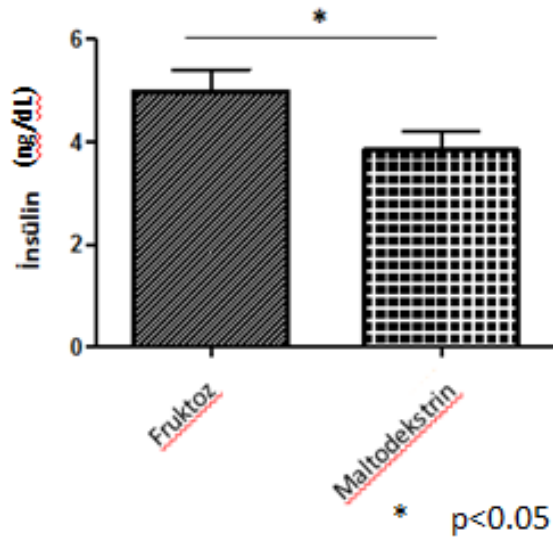
Anne sıçanların plazma serbest yağ asitleri ortalamalarına bakıldığında fruktoz grubu $376.9 \pm 36.30 \mu\text{M}$ iken maltodekstrin grubunun plazma serbest yağ asitleri değeri $318.5 \pm 26.12 \mu\text{M}$ olduğu gözlenmiştir ($p=0.730$) (Şekil 4.13.). Plazma toplam serbest yağ asitleri için gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır.



Şekil 4.13. Gruplara göre anne sıçanların ortalama plazma toplam serbest yağ asitleri konsantrasyonları

İnsülin Analizi

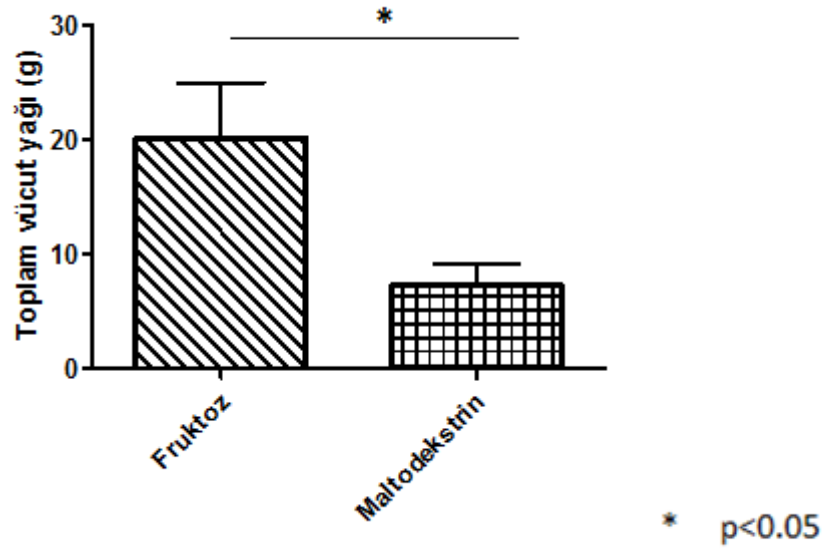
Anne sıçanların plazma insülin değerlerinin ortalamalarına bakıldığında fruktoz grubunun plazma insülin değeri 4.9 ± 0.26 ng/dL iken maltodekstrin grubunun 4.1 ± 0.36 ng/dL olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.14.). Buna göre anne sıçanların plazma insülin değerlerinin gruplar arasındaki farkı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0.049$). Özetle fruktoz alan anne sıçanların açlık kan insülin konsantrasyonu maltodekstrin alan anne sıçanlara göre daha yüksek bulunmuştur.



Şekil 4.14. Gruplara göre anne sıçanların ortalama plazma insülin konsantrasyonları

4.1.3. Toplam Vücut Yağı Miktarları

Anne sıçanların toplam vücut yağı ortalamalarına bakıldığında fruktoz grubu 20.2 ± 8.5 g iken maltodekstrin grubunun toplam vücut yağı miktarının 7.3 ± 3.17 g olduğu gözlenmiştir ($p=0.029$) (Şekil 4.15.). Buna göre fruktoz ve maltodekstrin gruplarındaki anne sıçanların toplam vücut yağı miktarları istatistiksel açıdan anlamlı şekilde birbirinden farklı olup fruktoz grubunda yüksektir.

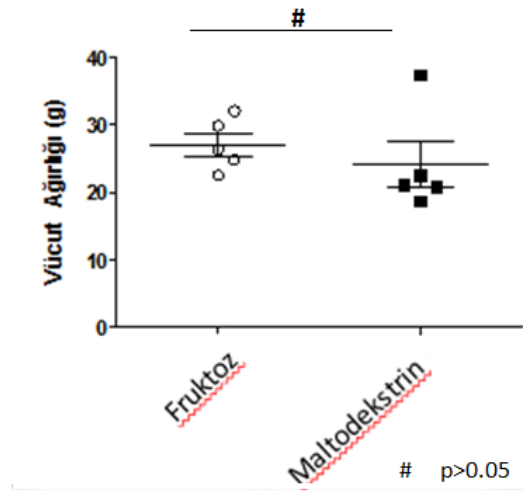


Şekil 4.15. Gruplara göre anne sıçanların ortalama toplam vücut yağı ortalamaları

4.2. Yavru Sıçanlara Ait Bulgular

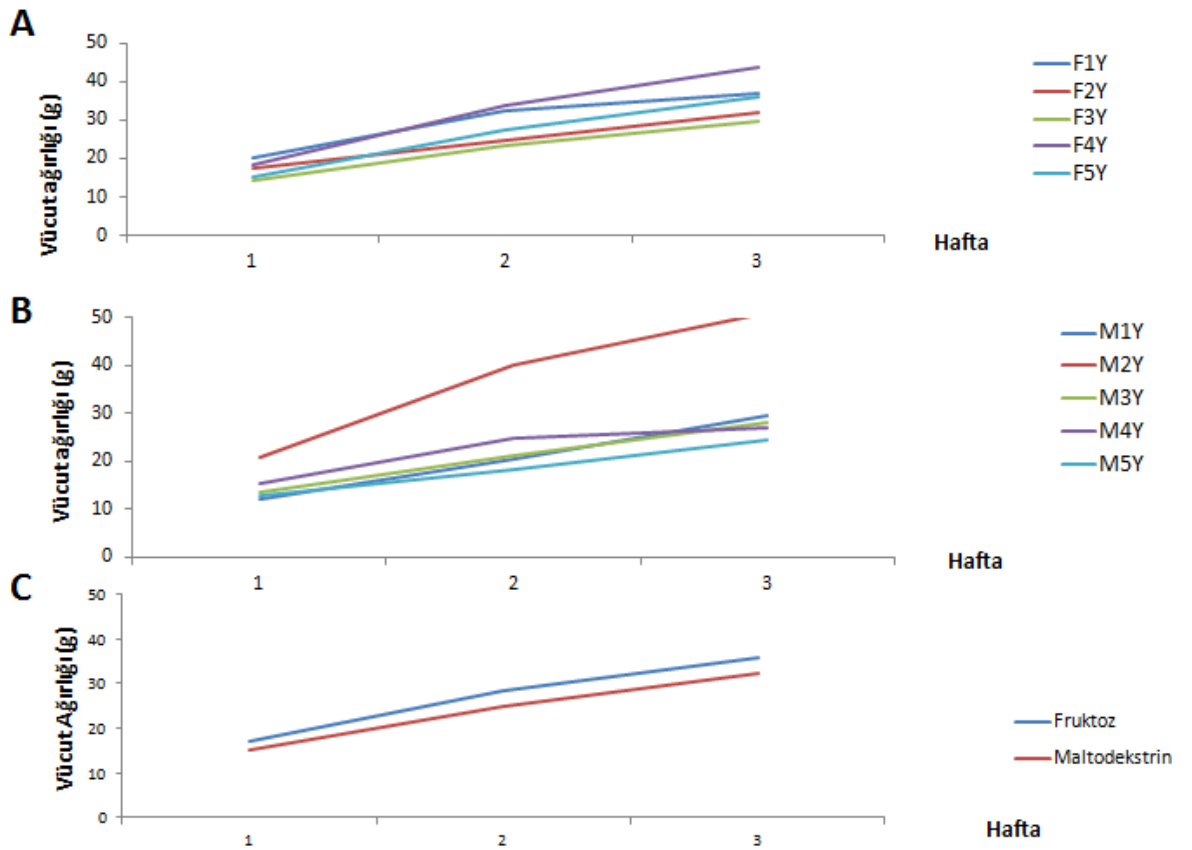
4.2.1. Ağırlık Değişimleri

Yavru sıçanların üç haftalık ağırlıklarının ortalamalarına bakıldığında fruktoz grubu 27.1 ± 1.71 g ve maltodekstrin grubundaki yavruların vücut ağırlıkları 24.0 ± 3.39 g olarak bulunmuştur. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0.440$) (Şekil 4.16).



Şekil 4.16. Fruktoz (A) ve maltodekstrin (B) grubundaki yavru sıçanların vücut ağırlıkları ortalamaları

Gruplara göre yavru sıçanların haftalık ağırlık değişimleri Şekil 4.17.'de gösterilmiştir. Yavru sıçanların vücut ağırlıklarına bakıldığında fruktoz grubundaki yavruların ağırlık artışı birbirine benzer olarak devam etmiştir. Maltodekstrin grubundaki yavruların ağırlık artışı da birbirine paraleldir ancak M2 kodlu anne sıçanın sadece iki yavrusu vardır ve bu yavruların ortalaması diğerlerinden daha yüksektir (Şekil 4.17.).



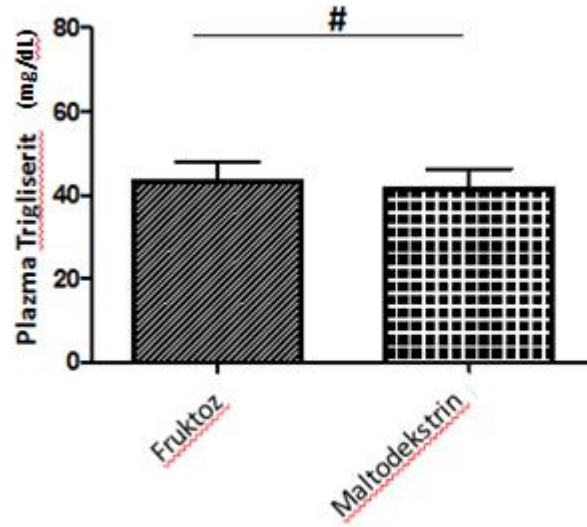
Şekil 4.17. Fruktöz (A) ve maltodekstrin (B) grubundaki yavru sıçanların haftalık vücut ağırlığı değişimleri ile grupların vücut ağırlığı ortalamaları (C)

Fruktöz ve maltodekstrin grubundaki yavruların birinci haftadaki ağırlık ortalamalarına bakıldığında fruktoz grubundaki yavruların ortalama ağırlığı 17.2 ± 1.05 g iken maltodekstrin grubundaki yavruların ağırlığı 15.0 ± 1.54 g'dır. Son haftadaki ağırlıklara bakıldığında fruktoz grubundaki yavrular 35.7 ± 2.42 g ve maltodekstrin grubundaki yavruların ortalama ağırlığı 32.1 ± 4.85 g olarak bulunmuştur.

4.2.2. Biyokimyasal Analizler

Trigliserit Analizi

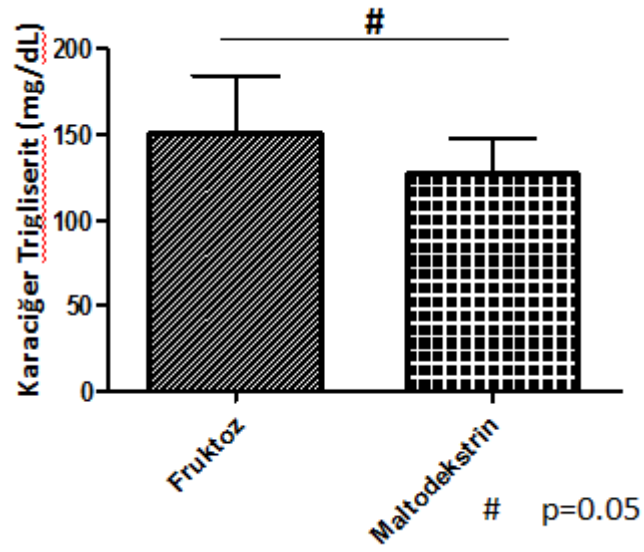
Yavru sıçanların plazma trigliserit miktarı ortalamaları fruktoz ve maltodekstrin gruplarının sırasıyla 43.4 ± 4.53 mg/dL ve 41.6 ± 4.71 mg/dL'dir ($p=0.05$) (Şekil 4.18).



$p=0.05$

Şekil 4.18. Gruplara göre yavru sıçanların ortalama plazma trigliserit konsantrasyonları

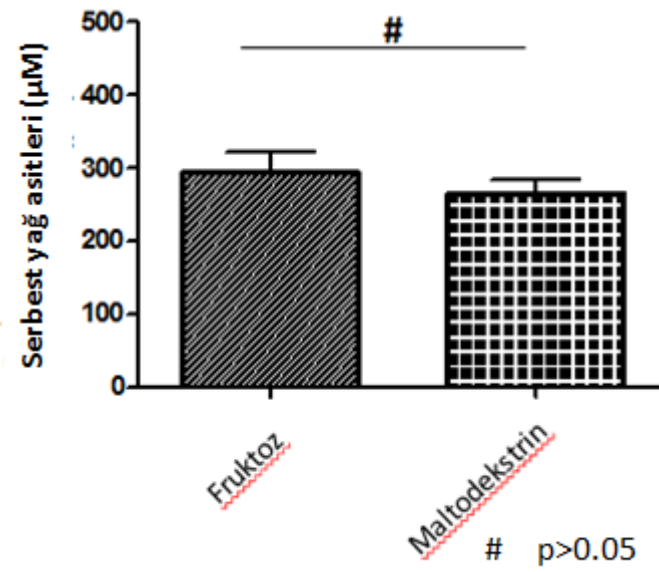
Yavru sıçanların karaciğer trigliserit miktarları karşılaştırıldığında fruktoz ve maltodekstrin grubunun ortalamaları sırasıyla 150.6 ± 34.06 mg/dL ve 126.8 ± 21.11 mg/dL olarak bulunmuştur ($p=0.05$) (Şekil 4.19). Hem plazma hem de karaciğer trigliserit düzeyleri fruktoz grubundaki yavrularda artma eğilimindedir.



Şekil 4.19. Gruplara göre yavru sıçanların ortalama karaciğer trigliserit konsantrasyonları

Toplam Serbest Yağ Asitleri Analizi

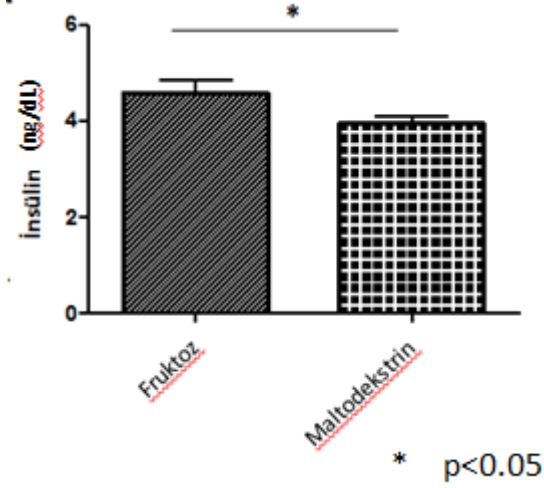
Yavru sıçanların plazma serbest yağ asitleri miktarı ortalamalarına bakıldığında fruktoz ve maltodekstrin gruplarının sırasıyla $293.6 \pm 28.34 \mu\text{M}$ ve $265.2 \pm 19.02 \mu\text{M}$ olduğu bulunmuştur ($p=0.114$) (Şekil 4.20.). Ancak bu farkın istatistiksel anlamlılığı bulunmamaktadır.



Şekil 4.20. Gruplara göre yavru sıçanların ortalama plazma toplam serbest yağ asitleri konsantrasyonları

İnsülin Analizi

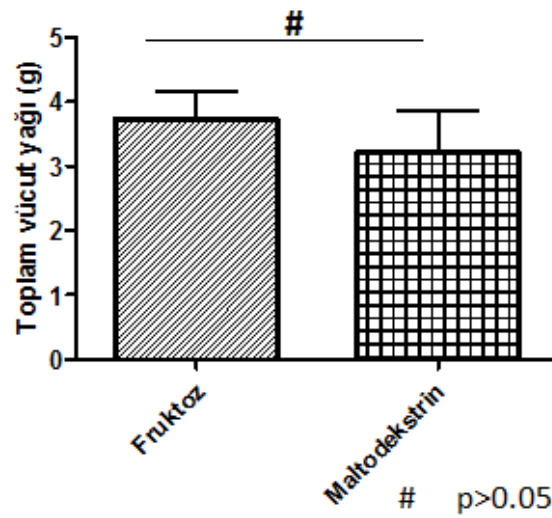
Yavru sıçanların plazma insülin miktarı ortalamalarına bakıldığında fruktoz ve maltodekstrin gruplarının sırasıyla 4.6 ± 0.26 ng/dL ve 4.0 ± 0.16 ng/dL olduğu bulunmuştur ($p=0.005$) (Şekil 4.21.). Gruplar arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır. Fruktoza maruz kalan yavru sıçanların plazma insülin konsantrasyonları maltodekstrine maruz kalanlara göre anlamlı olarak daha yüksektir.



Şekil 4.21. Gruplara göre yavru sıçanların ortalama plazma insülin konsantrasyonları

4.2.3. Toplam Vücut Yağı Miktarı Analizi

Yavru sıçanların toplam vücut yağı miktarı ortalamalarına bakıldığında fruktoz ve maltodekstrin gruplarının sırasıyla 3.7 ± 0.63 g ve 3.2 ± 0.96 g olduğu bulunmuştur ($p=0.105$) (Şekil 4.22.). Buna göre her iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.



Şekil 4.22. Gruplara göre yavru ratların toplam vücut yağı ortalamaları

Bulgular genel olarak Tablo 4.1. ve 4.2.'de özetlenmiştir. Sıçanların çalışma sürecindeki ortalama vücut ağırlıkları, plazma ve karaciğerdeki trigliserit miktarları, plazma toplam serbest yağ asitleri miktarı, plazma insülin miktarı ve toplam vücut yağı miktarı anneler için Tablo 4.1.'de; yavrular için Tablo 4.2.'de gösterilmiştir. Tablo 4.1.'de özetlendiği gibi; annelerin ortalama vücut ağırlıkları fruktoz grubunda 256.3 ± 17.44 g ve maltodekstrin grubunda 252.9 ± 10.99 g olarak bulunmuştur. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0.870$). Benzer şekilde annelere ait biyokimyasal parametrelerden plazma trigliserit, karaciğer trigliserit, plazma toplam serbest yağ asitleri miktarları gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemiştir. Anne sıçanların plazma insülin düzeyleri fruktoz ve maltodekstrin gruplarında sırasıyla; 4.9 ± 0.26 ve 4.1 ± 0.36 olarak bulunmuştur ($p=0.049$). Toplam vücut yağı miktarları fruktoz grubunda 20.2 ± 8.50 g iken maltodekstrin grubunda 7.3 ± 3.17 g olarak bulunmuştur ($p=0.029$).

Yavru sıçanların vücut ağırlıklarında fruktoz ve maltodekstrin grupları arasında fark olmasına rağmen istatistiksel açıdan anlamlı değildir. Benzer şekilde biyokimyasal parametrelerden plazma trigliserit, karaciğer trigliserit ve plazma toplam serbest yağ asitleri miktarları için de gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Ancak hem anne hem de yavru ratlar için plazma ve karaciğer trigliserit düzeyleri ($p=0.05$) artma eğilimindedir. Yavru sıçanların plazma insülin düzeyleri fruktoz grubunda 4.6 ± 0.26 ng/dL iken maltodekstrin grubunda 4.0 ± 0.16 ng/dL olarak bulunmuştur ($p=0.005$). Anne sıçanlardan farklı olarak yavrularda toplam vücut yağı miktarları gruplar arasında farklılık göstermemiştir.

Tablo 4.1. Gruplara göre anne sıçanların terminal vücut ağırlıkları, biyokimyasal parametreleri ve toplam vücut yağı analizlerinin ortalama değerleri

	Fruktoz grubu	Maltodekstrin grubu	İstatistik Değerlendirme ⁸	
	$\bar{X} \pm S_x$	$\bar{X} \pm S_x$	p	t
Terminal Vücut Ağırlığı (g)	256.3±17.44	252.9±10.99	0.870	0.503
Plazma Trigliseritleri (mg/dL)	49.4±25.0	35.7±12.31	0.050 [#]	0.741
Plazma Toplam Serbest Yağ Asitleri (mM)	376.9±36.3	318.5±26.12	0.730	0.242
Plazma İnsülin (ng/dL)	4.9±0.26	4.1±0.36	0.049*	0.040
Karaciğer Trigliseritleri (mg/dL)	118.7±12.14	103.1±4.63	0.050 [#]	0.334
Toplam Vücut Yağı (g)	20.2±8.50	7.3±3.17	0.029*	0.060
Toplam Alınan Enerji (kkal)	68.7±3.64	80.8±2.19	0.030*	0.031
Karbonhidrattan Alınan Enerji (kkal)	52.5±2.20	53.7±2.38	1.000	1.002

*P<0.05

[#]p=0.05

⁸ Mann Whitney U Hipotez Testi testi uygulanmıştır.

Tablo 4.2. Gruplara göre yavru sicanların terminal vücut ağırlıkları, biyokimyasal parametreleri ve toplam vücut yağı analizlerinin ortalama değerleri

	Fruktoz grubu	Maltodekstrin grubu	İstatistik Değerlendirme ⁸	
	$\bar{X} \pm S_x$	$\bar{X} \pm S_x$	p	t
Terminal Vücut Ağırlığı (g)	27.1±1.71	24.0±3.39	0.440	0.808
Plazma Trigliseritleri (mg/dL)	43.4±4.53	41.6±4.71	0.050 [#]	0.264
Plazma Toplam Serbest Yağ Asitleri (mM)	293.6±28.34	265.2±19.02	0.114	1.677
Plazma İnsülin (ng/dL)	4.6±0.26	4.0±0.16	0.005*	0.020
Karaciğer Trigliseritleri (mg/dL)	150.6±34.06	126.8±21.11	0.050 [#]	0.461
Toplam Vücut Yağı (g)	3.7±0.63	3.2±0.96	0.105	0.697

*p<0.05

[#]p=0.05

⁸ Mann Whitney U Hipotez Testi testi uygulanmıştır

5. TARTIŞMA

İlerleyen yaş ile birlikte oluşabilecek kronik hastalıklar, son yıllarda yapılan araştırmalarda prenatal/maternal beslenme ile ilişkilendirilmektedir (4-7). Gebelik öncesi, sırası ve sonrasındaki maternal beslenme ve fetal dönemde maruz kalınan ortam ile erişkin başlangıçlı kronik hastalıklar (kardiyovasküler hastalıklar, metabolik sendrom, obezite vb) arasında bir ilişki olduğu düşünülmektedir (8).

Beslenme, fetüsün büyüme ve gelişmesinde ve organizmada metabolik dengenin oluşturulmasında yer almakta olup, diyetle yapılan değişiklikler birçok organ ve dokunun gelişimini etkilemekte ve geri dönüşü olmayan etkilere (programlama) neden olmaktadır (1-3,222-224). Organizmada metabolizmanın düzenlenmesi sırasında oluşan kalıcı değişiklikler, erişkin yaşlarda kronik hastalık riskinde artışa yol açabilmektedir (4,5). Annenin maruz kaldığı malnutrisyon, metabolizma, hormonlar, enfeksiyon, inflamasyon, çeşitli kimyasallar ve diğer uyarıların fetüste yapısal, fizyolojik ve metabolik değişiklikler yaratmasının kronik hastalıkların oluşumuna neden olabildiği görüşü günümüzde de desteklenmektedir (9). Güncel çalışmalar; kardiyovasküler hastalıklar, obezite, metabolik sendrom ve tip II diyabet gibi kronik hastalıkların temel sebebinin intrauterin dönemdeki büyüme ve gelişme yetersizlikleri ve dengesizliklerinden kaynaklanabileceğini bildirmiştir (10-12,95). Fetal programlamanın, büyüme ve gelişmenin yanı sıra vücutta adipoz doku dağılımını, pankreasta beta hücre fonksiyonunu, hormonal yanıtı ve vasküler esnekliği etkilediği gösterilmiştir (11,225-227). Bu etkilerin mekanizmalarının tamamı henüz bilinmemektedir. Gebelik ve laktasyon sırasında yüksek miktarda fruktoz alımının yavruların sağlığına olan etkileri büyük ölçüde bilinmemektedir.

Artan fruktoz alımının kronik hastalıkların gelişimsel temelleri üzerindeki etkileri ile ilgili yapılan çalışmalar yetersizdir. Bu nedenle bu çalışmada gebelerde fazla miktarda fruktoz tüketiminin yavruların sağlığı üzerindeki etkileri incelenmiştir. Elde edilen bulgular; anne ve yavru sıçanlar için ayrı ayrı olmak üzere yem ve su

tüketimi, enerji alımı ve vücut ağırlıkları (a), organ ve dokularda biyokimyasal analizler (b) ve toplam vücut yağı analizleri (c) olmak üzere üç başlık altında değerlendirilmiştir.

5.1. Anne Sıçanlara Ait Bulguların Değerlendirilmesi

5.1.1. Anne Ratların Yem ve Su Tüketimi, Enerji Alımı ve Vücut Ağırlığı

Fruktozun enerji dengesi ve adipozitenin endokrin düzenlemesiyle ilgili anahtar proteinlerin; insülin, leptin, ghrelin ve adiponektin olduğu bildirilmiştir (25,26,209-211,228). Fruktoz tüketilen bir öğünde aynı miktardaki glikoza kıyasla daha az insülin salgılandığı; bu durumun da daha fazla ghrelin, daha az leptin salınımına neden olarak besin alımını arttırdığı ve böylece obeziteye yol açtığı düşünülmektedir (228).

Anne sıçanların yem tüketimi açısından gruplar arasında farklılık gözlenmemiştir (Şekil 4.2.). Yapılan çalışmalara bakıldığında 16 hafta boyunca % 60 fruktoz (enerji) verilen farelerde yem tüketiminin değişmediği bildirilmiştir (229,230). Öte yandan 100 g/L fruktozla beslenen sıçanların aynı miktarda glikoz tüketenlere göre daha fazla yem ve daha az su tükettiği ancak vücut ağırlıklarında değişme olmadığı yayınlanmıştır (231). Bir çalışmada kronik olarak yüksek fruktozla (% 60 enerji) beslenen sıçanlarda yem tüketimi ve vücut ağırlığının değişmediği fakat leptin direnci geliştiği bildirilmiştir (232).

Bu çalışmada fruktoz veya maltodekstrin içeren su tüketimleri sadece gebelik öncesi dönemde maltodekstrin grubunda anlamlı olarak yüksektir ($p= 0.016$) (Şekil 4.4.). Bu durumun nedeninin sulara eklenen karbonhidrat kaynaklarının tatlılık dereceleri arasındaki fark olabileceği düşünülmektedir (Tablo 3.2.). Fruktozun tatlılık derecesinin maltodekstrinden çok daha yüksek olması sonucu fruktoz grubundaki ratların su tüketiminin daha az olduğu düşünülmektedir. Bu çalışma ile benzer şekilde, sularına fruktoz ve glikoz eklenen (% 60 enerji) veya herhangi bir ekleme

yapılmayan ratların su tüketimleri karşılaştırıldığında glikoz eklenen grubun kontrol ve fruktoz gruplarına göre daha fazla miktarda su tükettiği yayınlanmıştır (231). Suya eklenen glikoz ve maltodekstrin, fruktoz gibi aşırı tatlılık vermemekte ancak normal su kadar tatsız da olmamaktadır. Bu da glikoz ve maltodekstrin gruplarının fruktoz grubundan ve ekleme yapılmayan kontrol grubundan daha fazla su tüketmesini sağlayabilmektedir. Ancak yem ve su tüketimleri ile ilişkili olarak günlük alınan enerji ortalamasının maltodekstrin grubunda daha fazla olduğu gösterilen bu çalışmada bu durum istatistiksel olarak anlamlı değildir. (Şekil 4.6.).

Bu çalışmanın gebelik döneminde ve doğumdan sonra, olası çevresel etkenler ve laboratuvar koşullarından dolayı bazı sıçanların strese girip yavrularına zarar vermesi (kanibalizm) nedeniyle stresi azaltmak için gebelik sırasında ve laktasyon döneminde ağırlık ölçümü planlanandan farklı olarak haftada bir kez yapılmıştır. Bu çalışmada her iki gruptaki sıçanların vücut ağırlıklarının birbirinden farklı olmadığı bulunmuştur (Şekil 4.10.). Literatüre bakıldığında yüksek miktarda (enerjinin % 2.8 ile 65'i arasında) fruktoz tüketiminin etkilerinin incelendiği hayvan çalışmalarının bazılarında ağırlık artışı saptanmış (24,28,226,228,231,233,234), bazılarında değişiklik görülmemiş (214,223,225,229,235,236), bazılarında da vücut ağırlığının azaldığı rapor edilmiştir (205). Dolayısıyla yapılan çalışmanın kapsamı, denek sayısı, insanlar veya hayvanlar üzerinde yapılması ve diyet içeriği sonuçları etkileyebilmektedir.

Sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde bu çalışmada maltodekstrin tüketen grubun yem ve su tüketimi artışına bağlı olarak enerji alımının daha fazla olduğu bulunmuştur. Ancak laktasyon dönemi dışında ($p= 0.028$) bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. Başka bir çalışmada da toplam enerjinin %63'ü kadar fruktoz alan grubun yem tüketiminin kontrol grubundan daha az olmasına rağmen vücut ağırlıkları arasında fark olmadığı bildirilmiştir (237). Enerji alımının düşük olması fruktoz grubundaki sıçanların vücut ağırlığının da düşük olması beklentisini ortaya çıkarmaktadır. Fakat bu çalışmada istatistiksel olarak anlamlı olmasa da fruktoz grubundaki sıçanların ortalama vücut ağırlıklarının matematiksel olarak

maltodekstrin grubundakilerden daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu durum; fruktozun vücut ağırlığını leptin, ghrelin gibi moleküllerle iştahın düzenlenme mekanizması üzerinden değil plazma asilasyon uyarıcı protein (ASP) ve adiponektin seviyeleri aracılığıyla değiştirdiğini düşündürmektedir. Yapılan çalışmalarda obezite ile dolaşımdaki adiponektin düzeyi arasında ters ilişki olduğu bildirilmiştir (238). Fazla miktarda fruktoz tüketiminin daha çok viseral adipoz doku ağırlığında artışa neden olduğu bilinmektedir (239). Adiponektin viseral adipoz dokudan salınan bir proteindir. Ancak viseral adipoz doku ağırlığı arttıkça adiponektin salınımının azaldığı yayınlanmıştır (240). Fruktoz tüketiminin artması viseral adipoz doku ağırlığının artışına; bu da dolaşımdaki adiponektin miktarının azalmasına ve obezite gelişimine yol açabileceği düşünülmektedir ancak bu hipotezin doğruluğu henüz kanıtlanmamıştır. Fruktoz tüketiminin vücut ağırlığına etki mekanizmasını anlayabilmek için plazma ASP ve adiponektin moleküllerinin de araştırılması gerekmektedir.

Çalışma sırasında her iki gruptan birer sıçanın gebe kalmaması ya da yavrularına uyguladıkları kanibalizm davranışı sonucunda yeniden eşleştirilmesi gerekmiştir (sıçan kodu: F5 ve M2). Böylece bu iki sıçan diyet müdahalesine diğerlerinden yaklaşık üç hafta daha fazla maruz kalmıştır. Gebelik öncesi dönemdeki yem tüketimi ile gebelik ve laktasyon dönemlerindeki su tüketimlerine bakıldığında fruktoz grubundaki sıçanın (F5) diğerlerinden daha fazla yem ve su tükettiği anlaşılmaktadır (Şekil 4.2. ve 4.4.). Bu durum fruktozun daha uzun süre tüketiminin enerji alımı üzerinde daha belirgin etkiler yapabileceğini göstermektedir. Ayrıca gebelik ve laktasyon döneminde maltodekstrin grubunda bir sıçanın (M3) idiyopatik olarak diğerlerine göre belirgin şekilde daha az su tükettiği de görülmüştür (Şekil 4.4.).

5.1.2. Anne Sıçanların Karaciğer ve Kan Biyokimyasal Bulguları

Yüksek miktarda fruktoz tüketimi ile metabolize edilen fruktoz miktarı artışıyla de novo lipogenez artarak plazma ve karaciğer trigliserit düzeylerini

yükseltebilmektedir (239,241,242). Bu çalışmanın sonucunda anne sıçanların plazma ve karaciğer trigliserit düzeyleri gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık göstermemiştir ($p=0.051$) (Şekil 4.11. ve 4.12.). Ayrıca yem ve su tüketimi yüksek olan bir sıçanın (F3) diğerlerinden belirgin şekilde daha fazla plazma trigliserit konsantrasyonuna sahip olduğu görülmüştür (Şekil 4.11.). Fruktozun trigliserit düzeyleri üzerindeki etkilerini inceleyen çalışmalarda çelişkili sonuçlar bulunmuştur. Bir çalışmada fruktozla beslenen sıçanların plazma trigliserit düzeylerinin gruplar arasında fark göstermediği bildirilmiştir (243). Ancak insanlarda uzun dönem (≥ 2 hafta), enerjinin %20-25'ini karşılayan fruktoz tüketiminin açlık trigliserit düzeylerini arttırdığı bazı çalışmalarda gösterilmiştir (190,232,244). Sonuçların birbiriyle çelişme nedeninin bireyler ve gruplar arasındaki çeşitlilikle, alınan fruktozun kaynağı ve miktarı ile ilgili olabileceği düşünülmektedir. İnsanlarda yapılan bir çalışmada 6 hafta boyunca fruktozun toplam enerjinin %17' sini oluşturduğu diyetin izokalorik glikoz içeren bir diyetle karşılaştırıldığında sağlıklı erkeklerde öğün sonrası trigliserit konsantrasyonunu arttırdığı ama kadınlarda böyle bir etkinin olmadığı rapor edilmiştir (245). Diğer çalışmalarda kadınlarda vücut yağı, yaş ve menapozal durumun öğün sonrası trigliserit konsantrasyonunu etkilediği gösterilmiştir (198,246,247). ASP, trigliseritlerin adipoz dokuda depolanarak plazmadaki düzeylerinin düşürülmesinde önemli rol oynamaktadır (238). Fruktoz içeren bir öğün sonrası plazma trigliserit konsantrasyonuyla plazma ASP seviyesi arasında pozitif ilişki olduğu gösterilmiştir (240). Fruktoz metabolizması sonucu artan de novo lipogenezin hepatik lipitler ile VLDL üretimi ve salınımını arttırması, öğün sonrası insülin cevabının azalması sonucu lipoprotein lipaz aktivitesini azaltması ve VLDL ile şilomikronların lipoprotein lipazın bağlanma alanları için yarış halinde olmasının ASP ve plazma trigliserit konsantrasyonları arasındaki ilişkinin muhtemel mekanizmaları olabileceği düşünülmektedir (238). Bu nedenle yapılacak yeni çalışmalarda bu moleküllerin düzeylerindeki değişimlerin de araştırılması gerekmektedir. Yüksek fruktozlu (toplam enerjinin %34'ü) veya yüksek yağlı (%42) diyetle beslenen farelerde hem plazma hem de karaciğer trigliserit düzeylerinin kontrol grubuna göre yüksek olduğu ve fruktoz içeriği yüksek olan diyetin vücut ağırlığını değiştirmeden

lipit parametrelerini yüksek yağlı diyetle benzer şekilde arttırdığı bulunmuştur (229). Dünya çapında prevalansı artan non alkolik karaciğer yağlanması patogenezinde fruktozun de novo lipogenez ve karaciğerde trigliserit birikimine neden olarak rol oynayabileceği bildirilmiştir (200).

Bu çalışmada maternal diyetle yüksek miktarda fruktoz alan sıçanların plazma toplam serbest yağ asitleri konsantrasyonu maltodekstrin grubuna göre yüksektir ancak bu fark istatistiksel açıdan anlamlı değildir (Şekil 4.13.). Fruktoz grubunda daha fazla miktarda enerji alımı olan sıçanın (F3) plazma trigliserit düzeylerine paralel olarak plazma toplam serbest yağ asitleri düzeyi de yüksek bulunmuştur (Şekil 4.13.). Bu çalışmanın sonuçlarına paralel olarak yüksek miktarda fruktoz (% 60-65 enerji) verilen sıçanlarda plazma toplam serbest yağ asitleri düzeyinin kontrol grubundan farklı olmadığı çeşitli çalışmalarda yayınlanmıştır (237,248,249). Yüksek miktarda fruktoz (%60 enerji) alımının etkilerinin araştırıldığı diğer bir çalışmada fruktozun plazma serbest yağ asitlerini etkileyerek dislipidemi ve hepatik lipit birikimine neden olduğu bildirilmiştir (236,250). Yüksek miktarda fruktoz tüketiminin, plazma toplam serbest yağ asitlerinin üretimini ve bunun yanı sıra oksidasyonunu arttırarak fazla miktarda insülin salınmasına yol açtığı ve insülin direncine neden olduğu da bildirilmiştir (249). Öte yandan ASP'nin adipozitlerde trigliserit sentezi için serbest yağ asitlerinin oksidasyonunu uyardığı rapor edilmiştir (238). Plazma serbest yağ asitlerinin kaynağı büyük oranda trigliseritlerdir. Obez bireylerde artan adipoz dokunun serbest yağ asitleri oluşumunu arttırdığı ve serbest yağ asitlerinin hepatik klirensini azaltarak plazmadaki düzeylerini arttırdığı düşünülmektedir (238). Genel olarak, yüksek miktarda fruktoz tüketimi sonucu de novo lipogenez artışı plazma ASP düzeylerini yükselterek plazma trigliserit ve toplam serbest yağ asitleri düzeylerini arttırdığı hipotezi günümüzde araştırılmaya devam etmektedir. Bu çalışmada plazma toplam serbest yağ asitleri ölçülmüş ancak yağ asit türleri analiz edilmemiştir. Gelecek çalışmalarda yağ asit türleri ve okside formları analiz edilirse fruktoz tüketiminin yağ asit türlerindeki değişimlere olası etkileri aydınlatılabilir.

Plazma serbest yağ asitlerinin yüksek olmasının insülin direnci ve adipoz doku artışına neden olduğu bilinmektedir. Bazı çalışmalarda plazma serbest yağ asitleri düzeylerinin düşürülmesi diyabetik, non diyabetik ve diyabete yatkınlığı olan bireylerde kronik insülin direncini %25-50 oranında azalttığı gösterilmiştir (251,252). Serbest yağ asitlerinin insülin direncine yol açma mekanizması insülin sinyalizasyonunun bozulması olarak gösterilmiştir (253). Bu çalışmada yüksek miktarda fruktoz alımının vücut ağırlığını anlamlı olarak değiştirmeden insülin düzeylerini yükselttiği bulunmuştur (Şekil 4.14.). Paralel olarak yüksek fruktozlu (60g/100g yem) diyetle beslenen sıçanlarda kontrol grubuna göre plazma insülin konsantrasyonları artış göstermiştir (236). Yüksek fruktozlu veya yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde intraperitoneal insülin tolerans testi sonucunun fruktoz alan grupta yağ grubundan %11, kontrol grubundan %49 daha yüksek olduğu bulunmuştur (229). Benzer şekilde plazma insülin konsantrasyonları da kontrol grubundan anlamlı şekilde yüksektir. Yapılan bir çalışmada 8-10. haftalarda toplam enerjinin %65'i kadar fruktoz alan grubun plazma insülin düzeyleri kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (243). Öte yandan başka bir çalışmada kronik olarak yüksek fruktozla (%60 enerji) beslenen sıçanlarda açlık plazma insülin düzeylerinin değişmediği bildirilmiştir (232). Fruktoz alım miktarı ve süresi bu etkinin oluşmasında önemli yere sahiptir.

Yapılan diğer bir çalışmada yüksek yağın yanında sükroz ya da maltodekstrinle (% 30 enerji) beslenen sıçanlarda öğün sonrası glikoz düzeyleri değişmezken insülin düzeyleri sükroz alan grupta daha yüksek bulunmuştur (254). Bu durumun farklı karbonhidrat türlerinin farklı gastrik boşalma hızlarına sahip olmasından kaynaklandığı bildirilmiştir. Yani suda daha çok çözünen karbonhidratlar gastrointestinal kanalı daha hızlı terk etmektedir (96). Sükrozla beslenen sıçanlarda öğünden sonraki üçüncü saatte en yüksek insülin konsantrasyonu görülmüştür (254). İnsülinin normal düzeye gelmesindeki gecikme glikoz intoleransının göstergesidir. Fruktoz ya da glikoz içeren içecekler tüketen bireylerle yapılan bir çalışmada bireylerde vücut ağırlığı ve yağ kütlelerinde artış olmasının yanında insülin duyarlılığında azalma saptanmıştır ancak bu değişimlerin birbiriyle ilişkili olmadığı

yayınlanmıştır (190). Ancak deneklerde ağırlık artışının meydana gelmesi nedeniyle fruktozun ağırlık artışı olmadan insülin duyarlılığını nasıl değiştirdiği bilinmemektedir.

Yüksek miktarda fruktoz tüketimi sonucunda insülin değerlerinin yükselmesine fruktozun insülin salınımını arttırarak mı yoksa insülin duyarlılığını azaltarak mı neden olduğu net olarak bilinmemektedir. Yüksek fruktoz (toplam enerjinin yaklaşık % 65'i) tüketiminin vücutta insülin duyarlılığını ve insülinin intraselüler sinyal yollarını etkileyerek diyabet riskini artırabildiği ile ilgili birkaç çalışma mevcuttur (22-24,27). Bu çalışmalar doğrultusunda fruktoz alan grubun vücut ağırlığı değişmeden insülin düzeylerinde yükselme meydana gelmesinin nedeninin insülin sinyal yollarının bozulması olabileceği; istatistiksel olarak anlamlı olmasa da klinik olarak plazma serbest yağ asitleri seviyelerinin artmasının da plazma insülin seviyelerinde artışa neden olabileceği düşünülmüştür. Bundan sonra yapılacak olan çalışmalarda transkripsiyon faktörleri ve insülin sinyal yollarının incelenmesi bu mekanizmanın daha iyi anlaşılmasını sağlayacaktır.

5.1.3. Anne Sıçanların Toplam Vücut Yağı Miktarı

Bu çalışmanın sonucunda fruktoz grubundaki sıçanların toplam vücut yağı miktarlarının maltodekstrin grubuna göre anlamlı şekilde yüksek olduğu saptanmıştır (Şekil 4.15.). Fruktoz, anne sıçanların vücut ağırlıklarını istatistiksel olarak anlamlı şekilde değiştirmeden toplam vücut yağ miktarını arttırmaktadır. Bir çalışmada farelerde 6 ay boyunca kronik olarak %60 (enerji) fruktoz içeren bir diyet tüketiminin toplam vücut yağ miktarını değiştirmedeği bildirilmiştir (232). Fruktoz ve sükrozun ağırlık kazanımları ve yağlanma durumlarının lipojenik enzimlerin gen ekspresyonundaki farklılıklara göre karşılaştırıldığı bir insan çalışmasında fruktoz tüketiminin viseral adipoz doku ağırlığını arttırdığı, glikoz tüketiminin ise deri altı adipoz doku ağırlığında artışa yol açtığı yayınlanmıştır (190). Benzer şekilde yüksek miktarda fruktoz tüketiminin (% 60 enerji) viseral adipoz doku ağırlığını arttırdığını başka çalışmalarda da yayınlanmıştır (239,255). Vücut yağ kütlesi ile adipozit sayısı

arasında pozitif ilişki bulunmaktadır. Adipozit sayısındaki artışla intraabdominal yağ dokusu artmaktadır. Bir çalışmada küçük boyutlu adipozitlerin insülin direnci oluşumuyla ilişkili olabileceği bildirilmiştir (256). Yapılan bir çalışmada yüksek miktarda fruktoz (%60 enerji) tüketen sıçanlarda küçük boyutlu çok sayıda adipozit olduğu gösterilmiştir (239). Bu durumda fruktoz tüketimi ile insülin duyarlılığı arasındaki ilişkide adipoz dokudaki adipozit boyutlarının ve sayısının da etkili olabileceği düşünülebilmektedir. Bu çalışmada fruktoz grubundaki anne sıçanlar için hem plazma insülin düzeyleri hem de toplam vücut yağı miktarlarının yüksek olması insülin duyarlılığı ile adipoz doku arasındaki ilişkiyi doğrulamaktadır.

Epididimal yağ dokusu ağırlıklarının tartılarak fruktozun etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada yağ doku ağırlığı daha erken fruktoz alan grupta sonradan fruktoz alan gruba göre anlamlı şekilde daha yüksek bulunmuştur (243). Fruktoz miktarının yanında fruktozun tüketim yaşının ve süresinin de vücut yağlanmasında etkili olabileceği düşünülmektedir. Bu etkinin mekanizmasının belirlenmesi için yavru ratların erişkin dönem parametrelerinin (ağırlık kazanımı, yem-su tüketimi, plazma trigliserit ve insülin değerleri) de incelenmesi önem taşımaktadır.

5.2. Yavru Sıçanlara Ait Bulguların Değerlendirilmesi

5.2.1. Yavru Sıçanların Vücut Ağırlıkları

Bu çalışmada maternal diyetle fruktoza maruz kalan yavru sıçanların vücut ağırlıklarının maltodekstrin grubundan istatistiksel olarak farklı olmadığı görülmüştür (Şekil 4.16). Maltodekstrin grubunda bir sıçanın sadece iki yavrusu bulunmaktadır. Bu iki yavrunun hem doğum ağırlıkları hem de çalışma sürecindeki ağırlık kazanımları diğerlerinden oldukça yüksektir (Şekil 4.17.). Bu durum maltodekstrin grubundaki sıçanların ortalama vücut ağırlığını arttırarak istatistiksel anlamlılığı baskılamış olabilir. Bu çalışmanın sonuçlarına benzer şekilde gebelik ve laktasyon sırasında maternal diyetle (100 g/L ve %20 enerji) fruktoz alan yavru sıçanların vücut ağırlıklarında kontrol grubuna göre fark olmadığı bazı çalışmalarda

bildirilmiştir (205,231). Farklı olarak laktasyon sırasında maternal fruktoz alımının (0,1g/ml gün) yavrularda besin alımı, vücut ağırlığı ve leptin seviyelerinde artmaya neden olduğu güncel bir çalışmada bildirilmiştir (214). Pedersen hipotezine göre fetal hiperinsülinemi durumunda insülin fetüste büyüme faktörü gibi etki göstererek fetüsün glikozu glikojen ve yağ olarak depolamasına ve normal fetüslerden daha büyük olmasına neden olmaktadır (98). Bu çalışmada fruktoz grubundaki yavruların insülin düzeylerinin yüksek olmasına rağmen vücut ağırlığında değişme olmaması dikkat çekmektedir. Huynh ve ark. yaptığı bir çalışmada iki günlük yavru sıçanlar anne sütü veya fruktoz içeren izokalorik formula ile beslenmiştir. Çalışmanın 8. haftasında anne sütü alan yavruların yarısına %65 (enerji) fruktoz içeren yem verilmiştir. 8,10 ve 11. haftalarda fruktoz alan grubun ağırlığı anne sütü alan gruba göre anlamlı olarak daha yüksek bulunurken fruktoz alan her iki gruptaki yavru sıçanların yem tüketimlerinde farklılık gözlenmemiştir (243). Diğer yandan 8-10. haftalarda plazma leptin seviyeleri fruktoz grubunda sonradan fruktoz alan gruba göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Diğer çalışmalarla da desteklendiği gibi daha erken yaşta fruktoz alan yavru sıçanlar daha fazla ağırlık kazanmıştır ve bu yönüyle yalnızca fruktoz miktarının değil alım yaşı, süresi vb. faktörlerin de önemli olduğuna dikkat çekmektedir. (1-3,222).

5.2.2. Yavru Sıçanların Karaciğer ve Kan Biyokimyasal Bulguları

Fruktoz grubundaki yavru sıçanların plazma ve karaciğer trigliserit miktarları maltodekstrin grubuna göre daha yüksek bulunmuştur ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir (Şekil 4.18. ve 4.19.). Bu çalışmaya paralel olarak gebelik ve laktasyon sırasında fruktozla (toplam enerjinin % 60'ı) beslenen sıçanların yavrularında karaciğer trigliserit düzeylerinin kontrol grubundan farklı olmadığı bulunmuştur (236). Bu durumun fruktoz tüketimi sonucu oluşan serbest yağ asitlerinin karaciğer yerine iskelet kası gibi insüline duyarlı diğer dokulara taşınması sonucu gerçekleşmiş olabileceği düşünülmektedir (236). Öte yandan gebelik ve laktasyon sırasında yüksek fruktozla (toplam enerjinin % 10-60'ı) beslenen

sıçanlarda fetal karaciğer trigliseritlerinin yükseldiği, karaciğer ağırlığı ve hipertrigliseridemi olduğu başka çalışmalarda gösterilmiştir (212,231,257).

Fruktoz grubundaki yavruların plazma toplam serbest yağ asitleri ortalamalarının maltodekstrin grubundan farklı olmadığı görülmüştür (Şekil 4.20). Fruktoz grubunda iki kez eşleştirilen sıçanın (F5) yavrularında plazma serbest yağ asitleri diğerlerine göre oldukça yüksek olduğu Şekil 4.20.'de görülmektedir. Bu durum daha uzun süre fruktoz alımının annelerin kan parametrelerini değiştirmesinin yanında yavruların plazma toplam serbest yağ asitlerini de arttırdığını göstermektedir ancak grup içindeki bu farklılık örneklem sayısının yetersiz olmasından dolayı istatistiksel olarak incelenememiştir. Gebelik ve laktasyon sırasında fruktoz tüketen (enerjinin %60'ı) sıçanların yavrularında toplam plazma serbest yağ asitleri konsantrasyonlarının arttığı yapılan diğer bir çalışmada bildirilmiştir (236).

Gebelik sırasında fruktozla (günlük enerjinin %20'si) beslenen sıçanların yavrularında fruktozun cinsiyetlere farklı olarak etki ettiği, plazma insülin, fruktoz ve glikoz seviyelerinin arttığı ve dişilerin metabolik değişimlere daha hassas olduğu gösterilmiştir (30,205). Bu çalışmanın sonunda fruktoz grubundaki yavru sıçanların plazma insülin düzeylerinin maltodekstrin grubundan anlamlı şekilde farklı olduğu bulunmuştur ($p=0.005$) (Şekil 4.21.). Fruktoz grubundaki yavru sıçanların insülin düzeylerinde artış meydana gelmesinin mekanizması açık değildir. Bu durum maternal ya da fetal kaynaklı olabilir. Olası maternal kaynaklı etkiye bakıldığında annenin dolaşımdaki insülin düzeyinin yüksek olması sonucu maternal insülinin plasenta aracılığıyla fetüse geçerek hiperinsülinemi oluşturabileceği düşünülmektedir (258). Fetal kaynaklı hiperinsülineminin mekanizmasına bakıldığında maternal hiperglisemi durumunda fazla miktardaki glikozun plasentadan geçerek fetüsün insülin salgılamasına neden olabileceği yayınlanmıştır (258). Hiperglisemi sonucu oluşan hiperinsülineminin pankreasındaki β hücrelerinde hiperplazi ve hiperaktiviteye neden olarak yavrunun erişkin yaşamında insülin direnci oluşumuna neden olabileceği düşünülmektedir (258). Ancak bu çalışmada

plazma glikoz düzeyleri araştırılmadığı için yavrulardaki hiperinsülinemi durumunu insülinin plasentadan geçiş mekanizmasıyla açıklamak daha doğru olabilir.

Bu çalışmanın sonuçlarının daha iyi irdelenebilmesi için yavru sıçanların erişkin dönemdeki parametrelerinin (ağırlık kazanımı, yem ve su tüketimi..vb) izlenmesi, çalışma süresince sıçanların kan parametrelerinin kontrol edilmesi, yağlanma miktarının yanında yağ birikim bölgesinin ve adipoz dokunun saptanması, etki mekanizmasını açıklamaya yönelik plazma glikoz ve kolesterol seviyeleri ile transkripsiyon faktörleri, inflamasyon belirteçleri ve insülin sinyal yollarının analizlerin yapılması gerekmektedir.

5.2.3. Yavru Sıçanların Toplam Vücut Yağı Miktarı

Bu çalışmanın sonuçlarına göre yavru sıçanların toplam vücut yağ miktarları gruplar arasında farklılık göstermemektedir (Şekil 4.22). Laktasyon sırasında maternal fruktoz alımının (0,1g/ml gün) yavrularda besin alımı ve vücut ağırlığında artmaya neden olduğu, retroperitoneal yağ, insülin ve leptin seviyelerinde artış gibi nöroendokrin ve metabolik bozukluklara yol açtığı güncel bir çalışmada bildirilmiştir (214). Benzer şekilde maternal fruktozun (0.1 g/mL) yavrularda vücut ağırlığının yanında yağ depolarını da arttırdığı bazı çalışmalarda gösterilmiştir (205,211). Ancak bu çalışmada (0.2 g/gün) fruktoz verildiği halde aynı etkiler görülmemiştir.

6. SONUÇLAR

Yüksek fruktoz veya maltodekstrine maruz kalan Sprague Dawley cinsi anne ve yavru sıçanlarda bazı lipit parametreleri ve lipogenez üzerine olası etkilerinin araştırıldığı bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Yetiştirme Ünitesi ile Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü Araştırma Laboratuvarları'nda gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar aşağıda maddeler halinde sunulmuştur.

1. Araştırmaya 10 adet anne sıçan ile başlanmış, maltodekstrin grubunda 29; fruktoz grubunda 23 adet yavrunun doğumuyla birlikte toplam sıçan sayısı 62'ye ulaşmıştır.
2. Anne sıçanların yem tüketimi gebelik öncesi dönemde fruktoz grubunda 9.5 ± 0.85 g/gün, maltodekstrin grubunda 10.33 ± 0.32 g/gün ($p=0.15$); gebelik sırasında fruktoz grubunda 13.0 ± 0.5 g/gün, maltodekstrin grubunda 14.2 ± 1.21 g/gün ($p=0.55$); laktasyon döneminde fruktoz grubunda 11.6 ± 0.59 g/gün, maltodekstrin grubunda 13.1 ± 0.76 g/gün'dür ($p=0.31$).
3. Anne sıçanların su tüketimleri gebelik öncesi dönemde fruktoz grubunda 54.2 ± 4.52 mL/gün, maltodekstrin grubunda 65.8 ± 1.45 mL/gün ($p=0.016$); gebelik sırasında fruktoz grubunda 61.8 ± 3.68 mL/gün, maltodekstrin grubunda 74.7 ± 6.51 mL/gün ($p=0.17$); laktasyon döneminde fruktoz grubunda 58.4 ± 2.84 mL/gün, maltodekstrin grubunda 72.9 ± 4.64 mL/gündür ($p=0.07$).
4. Anne sıçanların yemden gelen enerjileri toplam enerjinin gebelik öncesi dönemde fruktoz grubunda %57.8'i, maltodekstrin grubunda %57.2'si; gebelik sırasında hem fruktoz hem de maltodekstrin grubunda %44.3'ü; laktasyon döneminde fruktoz grubunda %40.4'ü, maltodekstrin grubunda %37.9'udur.
5. Anne sıçanların ortalama enerji alımları gebelik öncesi dönemde fruktoz grubunda 68.9 ± 5.04 kkal/gün, maltodekstrin grubunda 80.3 ± 1.68 kkal/gün ($p=0.095$); gebelik sırasında fruktoz grubunda 84.5 ± 3.41 kkal/gün, maltodekstrin grubunda 97.9 ± 5.15 kkal/gün ($p=0.056$); laktasyon döneminde fruktoz grubunda 78.0 ± 3.06 kkal/gün, maltodekstrin grubunda 93.9 ± 3.55 kkal/gün'dür ($p=0.056$).

6. Anne sıçanların basit karbonhidratlardan (fruktoz) aldığı enerji toplam enerjinin gebelik öncesinde %43, gebelik sırasında %56 ve laktasyon döneminde %61'idir.
7. Fruktoz grubundaki anne sıçanların vücut ağırlığı gebelik öncesi dönemde fruktoz grubunda 188.6 ± 3.60 g, maltodekstrin grubunda 183.9 ± 4.65 g ($p=0.45$); gebelik sırasında fruktoz grubunda 243.3 ± 15.87 g, maltodekstrin grubunda 239.7 ± 7.00 g ($p=0.84$); laktasyon döneminde fruktoz grubunda 256.3 ± 17.44 g, maltodekstrin grubunda 252.9 ± 10.99 g dir ($p=0.44$).
8. Anne sıçanların plazma trigliserit düzeyleri fruktoz grubunda 49.4 ± 25.0 mg/dL maltodekstrin grubunda 35.7 ± 12.31 mg/dL'dir ($p=0.05$).
9. Anne sıçanların karaciğer trigliserit düzeyleri fruktoz grubunda 118.7 ± 12.14 mg/dL maltodekstrin grubunda 103.1 ± 4.63 mg/dL'dir ($p=0.05$).
10. Anne sıçanların plazma serbest yağ asitleri düzeyleri fruktoz grubunda 376.9 ± 36.30 μ M, maltodekstrin grubunda 318.5 ± 26.12 μ M'dir ($p=0.730$).
11. Anne sıçanların plazma insülin düzeyleri fruktoz grubunda 4.9 ± 0.26 ng/dL maltodekstrin grubunda 4.1 ± 0.36 ng/dL'dir ($p=0.049$).
12. Anne sıçanların toplam vücut yağı miktarı fruktoz grubunda 20.2 ± 8.50 g, maltodekstrin grubunda 7.3 ± 3.17 g olarak bulunmuştur ($p=0.029$).
13. Fruktoz grubundaki yavruların ortalama ağırlığı 27.1 ± 1.71 g iken maltodekstrin grubundaki yavruların ağırlığı 24.0 ± 3.39 g'dir ($p=0.440$).
14. Yavru sıçanların plazma trigliserit düzeyleri fruktoz grubunda 43.4 ± 4.53 mg/dL maltodekstrin grubunda 41.6 ± 4.71 mg/dL'dir ($p=0.05$).
15. Yavru sıçanların karaciğer trigliserit düzeyleri fruktoz grubunda 150.6 ± 34.06 mg/dL, maltodekstrin grubunda 126.8 ± 21.11 mg/dL'dir ($p=0.05$).
16. Yavru sıçanların plazma serbest yağ asitleri düzeyleri fruktoz grubunda 293.6 ± 28.34 μ M, maltodekstrin grubunda 265.2 ± 19.02 μ M'dir ($p=0.114$).
17. Yavru sıçanların plazma insülin düzeyleri fruktoz grubunda 4.6 ± 0.26 ng/dL, maltodekstrin grubunda 4.0 ± 0.16 ng/dL'dir ($p=0.005$).
18. Yavru sıçanların toplam vücut yağı yüzdesi fruktoz grubunda 3.7 ± 0.63 g, maltodekstrin grubunda 3.2 ± 0.96 g'dir ($p=0.105$).

7. ÖNERİLER

Kronik hastalıkların fetal programlanmasından farklı olarak yaşam seyri hipotezine göre erişkin yaşlardaki kronik hastalıkların oluşumunda gebelik öncesi, gebelik ve laktasyon dönemlerinin yanında; erken postnatal dönem ve sonraki dönemlerde maruz kalınan şartların da etkisi vardır. Yani genetik faktörlerden bağımsız olarak benzer şartlar altında yaşayan iki bireyden birinde kronik hastalık oluşumu görülürken diğerinde görülmemesi bireylerin yalnızca maternal dönemde değil, gebelik öncesinde de maruz kaldığı ortamla ilişkili olabilmektedir. Bu duruma fruktoz açısından bakıldığında maternal diyetle fazla fruktoz alımının bireyde (başlangıçta hastalıklara ilişkin bulgu göstermese bile) bazı kodlamalara neden olabildiği; erken postnatal stres, yetersiz/dengesiz beslenme, oksidatif stres ve yaşlanmanın etkisiyle önceden kodlanan erişkin başlangıçlı obezite, tip II diyabet ve insülin direnci gibi kronik hastalıkların oluşumuna neden olabildiği düşünülmektedir.

Bu çalışma fruktozun yaşam seyri hipotezi ve obezitenin gelişimsel temelleri üzerindeki etkisi konusunda preliminer düzeyde bilgi sağlamıştır. Sonuç olarak gebelik öncesi, gebelik sırası ve laktasyon dönemlerinde fruktoz tüketiminin annelerde vücut yağı ve insülin düzeyleri ile yavrularda insülin düzeyini etkilediğini göstermiştir. Buradan hareketle bu dönemlerde yüksek miktarda fruktoz tüketiminin yavruların erişkin hayatlarında insülin direnci, tip II diabetes mellitus ve obezite gibi kronik hastalıklara yol açabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada sıçanlar günlük alınan toplam enerjinin yaklaşık %30'u kadar fruktoz almıştır ve fruktozun bazı olumsuz etkileri görülmüştür. Ancak insanlar ve sıçanlar arasında bulunan fizyolojik farklılıklardan dolayı bu değer insanların için kullanılması ve bu çalışmanın sonuçlarına bakarak insanlar için fruktoza özel bir öneri geliştirilmesi söz konusu değildir. Ancak, yapılacak yeni hayvan veya insan çalışmaları için altyapı niteliği taşıyan bu çalışma ile birlikte örneklem sayısının daha fazla olduğu; yavru sıçanların erişkin dönemindeki parametrelerin (ağırlık kazanımı, yem ve su tüketimi..vb) izlendiği daha uzun süre devam eden, çalışma süresince sıçanların kan parametrelerinin kontrol edildiği, yağlanma miktarının yanında yağ birikim

bölgesinin ve adipoz dokunun saptandığı, etki mekanizmasını açıklamaya yönelik transkripsiyon faktörleri, inflamasyon belirteçlerinin, insülin sinyal yollarının analizlerin yapıldığı daha kapsamlı çalışmalar yapılması önerisi getirilebilir.

Böylece ileriye dönük olarak bir yandan besin ve beslenme politikaları ve tıbbi beslenme tedavilerinde yeni yaklaşımların geliştirilebilmesi konusunda; diğer yandan da yapılması planlanan diğer hayvan ve insan çalışmaları için biyokimyasal fetal mekanizmalar açısından altyapı niteliğinde veri elde edilmiş olup bu tez yeni çalışmalar için bir başlangıç niteliği taşımaktadır.

KAYNAKLAR

1. Newnham, J.P. (2002). Discovering the mechanisms of fetal programming. *Clin Sci (Lond)*, 103 (6), 641-642.
2. Allen, L.H. (2001). Biological mechanisms that might underlie iron's effects on fetal growth and preterm birth. *J Nutr*, 131 (2S-2), 581S-589S.
3. Budge, H., Gnanalingham, M.G., Gardner, D.S., Mostyn, A., Stephenson, T., Symonds, M.E. (2005). Maternal nutritional programming of fetal adipose tissue development: long-term consequences for later obesity. *Birth Defects Res C Embryo Today*, 75 (3), 193-199.
4. Barker, D.J., Larsen, G., Osmond, C., Thornburg, K.L., Kajantie, E., Eriksson, J.G. (2012). The placental origins of sudden cardiac death. *Int J Epidemiol*.
5. Langley-Evans, S.C., Alexander, B., McArdle, H.J., Sloboda, (2012). Developmental origins of health and disease. *J Nutr Metab*, 2012, 838640.
6. Ruder, E.H., Dorgan, J.F., Kranz, S., Kris-Etherton, P.M., Hartman, T.J. (2008). Examining breast cancer growth and lifestyle risk factors: early life, childhood, and adolescence. *Clin Breast Cancer*, 8 (4), 334-342.
7. Lopuhaa, C.E., Roseboom, T.J., Osmond, C., Barker, D.J., Ravelli, A.C., Bleker, O.P. ve diğ erleri. (2000). Atopy, lung function, and obstructive airways disease after prenatal exposure to famine. *Thorax*, 55 (7), 555-561.
8. Barker, D.J., Osmond, C. (1986). Infant mortality, childhood nutrition, and ischaemic heart disease in England and Wales. *Lancet*, 1 (8489), 1077-1081.
9. Barker, D.J. (1995). Fetal origins of coronary heart disease. *BMJ*, 311 (6998), 171-174.
10. Rinaudo, P., Wang, E. (2012). Fetal programming and metabolic syndrome. *Annu Rev Physiol*, 74, 107-130.
11. Portha, B., Chavey, A., Movassat, J. (2011). Early-life origins of type 2 diabetes: fetal programming of the beta-cell mass. *Exp Diabetes Res*, 2011, 105076.

12. Siddiqui, N., Hladunewich, M. (2011). Understanding the link between the placenta and future cardiovascular disease. *Trends Cardiovasc Med*, 21 (7), 188-193.
13. Tsukuda, K., Mogi, M., Iwanami, J., Min, L.J., Jing, F., Ohshima, K. ve diğeri. (2012). Influence of angiotensin II type 1 receptor-associated protein on prenatal development and adult hypertension after maternal dietary protein restriction during pregnancy. *J Am Soc Hypertens*, 6 (5), 324-330.
14. Yajnik, C.S., Deshmukh, U.S. (2012). Fetal programming: maternal nutrition and role of one-carbon metabolism. *Rev Endocr Metab Disord*, 13 (2), 121-127.
15. T.C. Sağlık Bakanlığı, Hacettepe Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü. (2004). Türkiye'ye Özgü Beslenme Rehberi (1 bs.). Ankara
16. Türk Şeker Kurumu. Erişim: 14.08.2014, <http://www.sekerkurumu.gov.tr/ssss.aspx>
17. Vos, M.B., Kimmons, J.E., Gillespie, C., Welsh, J., Blanck, H.M. (2008). Dietary fructose consumption among US children and adults: the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Medscape J Med*, 10 (7), 160.
18. Gibney, M., Sigman-Grant, M., Stanton, J.L., Jr., Keast, D.R. (1995). Consumption of sugars. *Am J Clin Nutr*, 62 (1 Suppl), 178S-193S; discussion 194S.
19. Ventura, E.E., Davis, J.N., Goran, M.I. (2011). Sugar content of popular sweetened beverages based on objective laboratory analysis: focus on fructose content. *Obesity (Silver Spring)*, 19 (4), 868-874.
20. Englund-Ogge, L., Brantsaeter, A.L., Haugen, M., Sengpiel, V., Khatibi, A., Myhre, R. ve diğeri. (2012). Association between intake of artificially sweetened and sugar-sweetened beverages and preterm delivery: a large prospective cohort study. *Am J Clin Nutr*, 96 (3), 552-559.
21. Halldorsson, T.I., Strom, M., Petersen, S.B., Olsen, S.F. (2010). Intake of artificially sweetened soft drinks and risk of preterm delivery: a prospective cohort study in 59,334 Danish pregnant women. *Am J Clin Nutr*, 92 (3), 626-633.
22. Bizeau, M.E., Pagliassotti, M.J. (2005). Hepatic adaptations to sucrose and fructose. *Metabolism*, 54 (9), 1189-1201.

23. Spolarics, Z., Meyenhofer, M. (2000). Augmented resistance to oxidative stress in fatty rat livers induced by a short-term sucrose-rich diet. *Biochim Biophys Acta*, 1487 (2-3), 190-200.
24. Wu, T., Giovannucci, E., Pischon, T., Hankinson, S.E., Ma, J., Rifai, N. ve diğeri. (2004). Fructose, glycemic load, and quantity and quality of carbohydrate in relation to plasma C-peptide concentrations in US women. *Am J Clin Nutr*, 80 (4), 1043-1049.
25. Francini, F., Castro, M.C., Schinella, G., Garcia, M.E., Maiztegui, B., Raschia, M.A. ve diğeri. (2010). Changes induced by a fructose-rich diet on hepatic metabolism and the antioxidant system. *Life Sci*, 86 (25-26), 965-971.
26. Francini, F., Castro, M.C., Gagliardino, J.J., Massa, M.L. (2009). Regulation of liver glucokinase activity in rats with fructose-induced insulin resistance and impaired glucose and lipid metabolism. *Can J Physiol Pharmacol*, 87 (9), 702-710.
27. Castro, M.C., Francini, F., Schinella, G., Caldiz, C.I., Zubiria, M.G., Gagliardino, J.J. ve diğeri. (2012). Apocynin administration prevents the changes induced by a fructose-rich diet on rat liver metabolism and the antioxidant system. *Clin Sci (Lond)*, 123 (12), 681-692.
28. Busserolles, J., Zimowska, W., Rock, E., Rayssiguier, Y., Mazur, A. (2002). Rats fed a high sucrose diet have altered heart antioxidant enzyme activity and gene expression. *Life Sci*, 71 (11), 1303-1312.
29. Stipanuk, M., Caudill, M. (2013). Biochemical, Physiological and molecular aspects of human nutrition (3 bs.): Elsevier.
30. Galjaard, S., Devlieger, R., Van Assche, F.A. (2013). Fetal growth and developmental programming. *J Perinat Med*, 41 (1), 101-105.
31. Lumey, L.H. (1998). Reproductive outcomes in women prenatally exposed to undernutrition: a review of findings from the Dutch famine birth cohort. *Proc Nutr Soc*, 57 (1), 129-135.
32. Barker, D.J. (1997). Maternal nutrition, fetal nutrition, and disease in later life. *Nutrition*, 13 (9), 807-813.

33. Chau, V., Taylor, M.J., Miller, S.P. (2013). Visual function in preterm infants: visualizing the brain to improve prognosis. *Doc Ophthalmol*, 127 (1), 41-55.
34. Cottrell, E.C., Holmes, M.C., Livingstone, D.E., Kenyon, C.J., Seckl, J.R. (2012). Reconciling the nutritional and glucocorticoid hypotheses of fetal programming. *FASEB J*, 26 (5), 1866-1874.
35. Torloni, M.R., Betran, A.P., Horta, B.L., Nakamura, M.U., Atallah, A.N., Moron, A.F. ve diğerleri. (2009). Prepregnancy BMI and the risk of gestational diabetes: a systematic review of the literature with meta-analysis. *Obes Rev*, 10 (2), 194-203.
36. Tsoi, E., Shaikh, H., Robinson, S., Teoh, T.G. (2010). Obesity in pregnancy: a major healthcare issue. *Postgrad Med J*, 86 (1020), 617-623.
37. Sohlberg, S., Stephansson, O., Cnattingius, S., Wikstrom, A.K. (2012). Maternal body mass index, height, and risks of preeclampsia. *Am J Hypertens*, 25 (1), 120-125.
38. Stothard, K.J., Tennant, P.W., Bell, R., Rankin, J. (2009). Maternal overweight and obesity and the risk of congenital anomalies: a systematic review and meta-analysis. *JAMA*, 301 (6), 636-650.
39. Gunatilake, R.P., Perlow, J.H. (2011). Obesity and pregnancy: clinical management of the obese gravida. *Am J Obstet Gynecol*, 204 (2), 106-119.
40. Gilboa, S.M., Correa, A., Botto, L.D., Rasmussen, S.A., Waller, D.K., Hobbs, C.A. ve diğerleri. (2010). Association between prepregnancy body mass index and congenital heart defects. *Am J Obstet Gynecol*, 202 (1), 51 e51-51 e10.
41. Shaw, G.M., Wise, P.H., Mayo, J., Carmichael, S.L., Ley, C., Lyell, D.J. ve diğerleri. (2014). Maternal prepregnancy body mass index and risk of spontaneous preterm birth. *Paediatr Perinat Epidemiol*, 28 (4), 302-311.
42. Perez, E.M., Hendricks, M.K., Beard, J.L., Murray-Kolb, L.E., Berg, A., Tomlinson, M. ve diğerleri. (2005). Mother-infant interactions and infant development are altered by maternal iron deficiency anemia. *J Nutr*, 135 (4), 850-855.
43. King, J.C. (2000). Determinants of maternal zinc status during pregnancy. *Am J Clin Nutr*, 71 (5 Suppl), 1334S-1343S.

44. Zimmermann, M.B. (2012). The effects of iodine deficiency in pregnancy and infancy. *Paediatr Perinat Epidemiol*, 26 Suppl 1, 108-117.
45. Carr-Hill, R., Campbell, D.M., Hall, M.H., Meredith, A. (1987). Is birth weight determined genetically? *Br Med J (Clin Res Ed)*, 295 (6600), 687-689.
46. Goyal, R., Longo, L.D. (2012). Maternal protein deprivation: sexually dimorphic programming of hypertension in the mouse. *Hypertens Res*.
47. Akyol, A., McMullen, S., Langley-Evans, S.C. (2012). Glucose intolerance associated with early-life exposure to maternal cafeteria feeding is dependent upon post-weaning diet. *Br J Nutr*, 107 (7), 964-978.
48. Black, R.E., Victora, C.G., Walker, S.P., Bhutta, Z.A., Christian, P., de Onis, M. ve diğeri. (2013). Maternal and child undernutrition and overweight in low-income and middle-income countries. *Lancet*, 382 (9890), 427-451.
49. Bhutta, Z.A., Ahmed, T., Black, R.E., Cousens, S., Dewey, K., Giugliani, E. ve diğeri. (2008). What works? Interventions for maternal and child undernutrition and survival. *Lancet*, 371 (9610), 417-440.
50. Fullston, T., Palmer, N.O., Owens, J.A., Mitchell, M., Bakos, H.W., Lane, M. (2012). Diet-induced paternal obesity in the absence of diabetes diminishes the reproductive health of two subsequent generations of mice. *Hum Reprod*, 27 (5), 1391-1400.
51. McPherson, N.O., Fullston, T., Bakos, H.W., Setchell, B.P., Lane, M. (2014). Obese father's metabolic state, adiposity, and reproductive capacity indicate son's reproductive health. *Fertil Steril*, 101 (3), 865-873.
52. Kim, H.W., Kim, K.N., Choi, Y.J., Chang, N. (2013). Effects of paternal folate deficiency on the expression of insulin-like growth factor-2 and global DNA methylation in the fetal brain. *Mol Nutr Food Res*, 57 (4), 671-676.
53. Northstone, K., Golding, J., Davey Smith, G., Miller, L.L., Pembrey, M. (2014). Prepubertal start of father's smoking and increased body fat in his sons: further characterisation of paternal transgenerational responses. *Eur J Hum Genet*.
54. Schulz, L.C. (2010). The Dutch Hunger Winter and the developmental origins of health and disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 107 (39), 16757-16758.

55. Wu, G., Bazer, F.W., Cudd, T.A., Meininger, C.J., Spencer, T.E. (2004). Maternal nutrition and fetal development. *J Nutr*, 134 (9), 2169-2172.
56. McArdle, H.J., Andersen, H.S., Jones, H., Gambling, L. (2006). Fetal programming: causes and consequences as revealed by studies of dietary manipulation in rats -- a review. *Placenta*, 27 Suppl A, S56-60.
57. Hales, C.N., Barker, D.J., Clark, P.M., Cox, L.J., Fall, C., Osmond, C. ve diğeri. (1991). Fetal and infant growth and impaired glucose tolerance at age 64. *BMJ*, 303 (6809), 1019-1022.
58. Roseboom, T., de Rooij, S., Painter, R. (2006). The Dutch famine and its long-term consequences for adult health. *Early Hum Dev*, 82 (8), 485-491.
59. de Rooij, S.R., Painter, R.C., Phillips, D.I., Osmond, C., Michels, R.P., Godsland, I.F. ve diğeri. (2006). Impaired insulin secretion after prenatal exposure to the Dutch famine. *Diabetes Care*, 29 (8), 1897-1901.
60. Lumey, L.H., Stein, A.D., Kahn, H.S., Romijn, J.A. (2009). Lipid profiles in middle-aged men and women after famine exposure during gestation: the Dutch Hunger Winter Families Study. *Am J Clin Nutr*, 89 (6), 1737-1743.
61. Roseboom, T.J., van der Meulen, J.H., Osmond, C., Barker, D.J., Ravelli, A.C., Schroeder-Tanka, J.M. ve diğeri. (2000). Coronary heart disease after prenatal exposure to the Dutch famine, 1944-45. *Heart*, 84 (6), 595-598.
62. Bellinger, L., Lilley, C., Langley-Evans, S.C. (2004). Prenatal exposure to a maternal low-protein diet programmes a preference for high-fat foods in the young adult rat. *Br J Nutr*, 92 (3), 513-520.
63. Bispham, J., Gardner, D.S., Gnanalingham, M.G., Stephenson, T., Symonds, M.E., Budge, H. (2005). Maternal nutritional programming of fetal adipose tissue development: differential effects on messenger ribonucleic acid abundance for uncoupling proteins and peroxisome proliferator-activated and prolactin receptors. *Endocrinology*, 146 (9), 3943-3949.
64. Brenseke, B., Prater, M.R., Bahamonde, J., Gutierrez, J.C. (2013). Current thoughts on maternal nutrition and fetal programming of the metabolic syndrome. *J Pregnancy*, 2013, 368461.

65. Lopez, M., Seoane, L.M., Tovar, S., Garcia, M.C., Nogueiras, R., Dieguez, C. ve diğeri. (2005). A possible role of neuropeptide Y, agouti-related protein and leptin receptor isoforms in hypothalamic programming by perinatal feeding in the rat. *Diabetologia*, 48 (1), 140-148.
66. Plagemann, A. (2006). Perinatal nutrition and hormone-dependent programming of food intake. *Horm Res*, 65 Suppl 3, 83-89.
67. Plagemann, A., Harder, T., Rake, A., Voits, M., Fink, H., Rohde, W. ve diğeri. (1999). Perinatal elevation of hypothalamic insulin, acquired malformation of hypothalamic galaninergic neurons, and syndrome x-like alterations in adulthood of neonatally overfed rats. *Brain Res*, 836 (1-2), 146-155.
68. Plagemann, A., Harder, T., Rake, A., Melchior, K., Rohde, W., Dorner, G. (2000). Hypothalamic nuclei are malformed in weanling offspring of low protein malnourished rat dams. *J Nutr*, 130 (10), 2582-2589.
69. Rogers, I. (2005). Birth weight and obesity and fat distribution in later life. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 73 (7), 485-486.
70. Curhan, G.C., Willett, W.C., Rimm, E.B., Spiegelman, D., Ascherio, A.L., Stampfer, M.J. (1996). Birth weight and adult hypertension, diabetes mellitus, and obesity in US men. *Circulation*, 94 (12), 3246-3250.
71. Vickers, M.H., Breier, B.H., Cutfield, W.S., Hofman, P.L., Gluckman, P.D. (2000). Fetal origins of hyperphagia, obesity, and hypertension and postnatal amplification by hypercaloric nutrition. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 279 (1), E83-87.
72. Greenwood, P.L., Hunt, A.S., Hermanson, J.W., Bell, A.W. (1998). Effects of birth weight and postnatal nutrition on neonatal sheep: I. Body growth and composition, and some aspects of energetic efficiency. *J Anim Sci*, 76 (9), 2354-2367.
73. Lane, M., McPherson, N.O., Fullston, T., Spillane, M., Sandeman, L., Kang, W.X. ve diğeri. (2014). Oxidative stress in mouse sperm impairs embryo development, fetal growth and alters adiposity and glucose regulation in female offspring. *PLoS One*, 9 (7), e100832.

74. Edwards, C.R., Benediktsson, R., Lindsay, R.S., Seckl, J.R. (1993). Dysfunction of placental glucocorticoid barrier: link between fetal environment and adult hypertension? *Lancet*, 341 (8841), 355-357.
75. Seckl, J.R. (2004). Prenatal glucocorticoids and long-term programming. *Eur J Endocrinol*, 151 Suppl 3, U49-62.
76. Correia-Branco, A., Keating, E., Martel, F. (2014). Maternal Undernutrition and Fetal Developmental Programming of Obesity: The Glucocorticoid Connection. *Reprod Sci*.
77. Kaar, J.L., Crume, T., Brinton, J.T., Bischoff, K.J., McDuffie, R., Dabelea, D. (2014). Maternal Obesity, Gestational Weight Gain, and Offspring Adiposity: The Exploring Perinatal Outcomes among Children Study. *J Pediatr*.
78. Corstius, H.B., Zimanyi, M.A., Maka, N., Herath, T., Thomas, W., van der Laarse, A. ve diğeri. (2005). Effect of intrauterine growth restriction on the number of cardiomyocytes in rat hearts. *Pediatr Res*, 57 (6), 796-800.
79. Lim, K., Zimanyi, M.A., Black, M.J. (2006). Effect of maternal protein restriction in rats on cardiac fibrosis and capillarization in adulthood. *Pediatr Res*, 60 (1), 83-87.
80. Fernandez-Twinn, D.S., Ekizoglou, S., Wayman, A., Petry, C.J., Ozanne, S.E. (2006). Maternal low-protein diet programs cardiac beta-adrenergic response and signaling in 3-mo-old male offspring. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 291 (2), R429-436.
81. Petry, C.J., Dorling, M.W., Wang, C.L., Pawlak, D.B., Ozanne, S.E. (2000). Catecholamine levels and receptor expression in low protein rat offspring. *Diabet Med*, 17 (12), 848-853.
82. Port, J.D., Bristow, M.R. (2001). Altered beta-adrenergic receptor gene regulation and signaling in chronic heart failure. *J Mol Cell Cardiol*, 33 (5), 887-905.
83. Battista, M.C., Calvo, E., Chorvatova, A., Comte, B., Corbeil, J., Brochu, M. (2005). Intra-uterine growth restriction and the programming of left ventricular remodelling in female rats. *J Physiol*, 565 (Pt 1), 197-205.

84. von Bergen, N.H., Koppenhafer, S.L., Spitz, D.R., Volk, K.A., Patel, S.S., Roghair, R.D. ve diğeri. (2009). Fetal programming alters reactive oxygen species production in sheep cardiac mitochondria. *Clin Sci (Lond)*, 116 (8), 659-668.
85. Elmes, M.J., Gardner, D.S., Langley-Evans, S.C. (2007). Fetal exposure to a maternal low-protein diet is associated with altered left ventricular pressure response to ischaemia-reperfusion injury. *Br J Nutr*, 98 (1), 93-100.
86. Roghair, R.D., Miller, F.J., Jr., Scholz, T.D., Lamb, F.S., Segar, J.L. (2008). Endothelial superoxide production is altered in sheep programmed by early gestation dexamethasone exposure. *Neonatology*, 93 (1), 19-27.
87. Garcia, M.M., Gueant-Rodriguez, R.M., Pooya, S., Brachet, P., Alberto, J.M., Jeannesson, E. ve diğeri. (2011). Methyl donor deficiency induces cardiomyopathy through altered methylation/acetylation of PGC-1 α by PRMT1 and SIRT1. *J Pathol*, 225 (3), 324-335.
88. Duggleby, S.L., Jackson, A.A. (2001). Relationship of maternal protein turnover and lean body mass during pregnancy and birth length. *Clin Sci (Lond)*, 101 (1), 65-72.
89. Barker, D.J., Bagby, S.P., Hanson, M.A. (2006). Mechanisms of disease: in utero programming in the pathogenesis of hypertension. *Nat Clin Pract Nephrol*, 2 (12), 700-707.
90. Eriksson, J.G., Kajantie, E., Thornburg, K.L., Osmond, C., Barker, D.J. (2011). Mother's body size and placental size predict coronary heart disease in men. *Eur Heart J*, 32 (18), 2297-2303.
91. Conen, D., Tedrow, U.B., Cook, N.R., Buring, J.E., Albert, C.M. (2010). Birth weight is a significant risk factor for incident atrial fibrillation. *Circulation*, 122 (8), 764-770.
92. Volders, P.G. (2010). Novel insights into the role of the sympathetic nervous system in cardiac arrhythmogenesis. *Heart Rhythm*, 7 (12), 1900-1906.
93. Barker, D.J., Martyn, C.N., Osmond, C., Hales, C.N., Fall, C.H. (1993). Growth in utero and serum cholesterol concentrations in adult life. *BMJ*, 307 (6918), 1524-1527.

94. Martyn, C.N., Meade, T.W., Stirling, Y., Barker, D.J. (1995). Plasma concentrations of fibrinogen and factor VII in adult life and their relation to intra-uterine growth. *Br J Haematol*, 89 (1), 142-146.
95. de Boo, H.A., Harding, J.E. (2006). The developmental origins of adult disease (Barker) hypothesis. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*, 46 (1), 4-14.
96. Guilloteau, P., Zabielski, R., Hammon, H.M., Metges, C.C. (2009). Adverse effects of nutritional programming during prenatal and early postnatal life, some aspects of regulation and potential prevention and treatments. *J Physiol Pharmacol*, 60 Suppl 3, 17-35.
97. Srinivasan, M., Katewa, S.D., Palaniyappan, A., Pandya, J.D., Patel, M.S. (2006). Maternal high-fat diet consumption results in fetal malprogramming predisposing to the onset of metabolic syndrome-like phenotype in adulthood. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 291 (4), E792-799.
98. Dunn, G.A., Bale, T.L. (2009). Maternal high-fat diet promotes body length increases and insulin insensitivity in second-generation mice. *Endocrinology*, 150 (11), 4999-5009.
99. Demir, H., (2011). Erişkin dönemdeki hastalıkların fetal programlanması: beslenmenin rolü. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 54, 45-50.
100. Seckl, J.R., Meaney, M.J. (2004). Glucocorticoid programming. *Ann N Y Acad Sci*, 1032, 63-84.
101. McMillen, I.C., Robinson, J.S. (2005). Developmental origins of the metabolic syndrome: prediction, plasticity, and programming. *Physiol Rev*, 85 (2), 571-633.
102. Petrik, J., Reusens, B., Arany, E., Remacle, C., Coelho, C., Hoet, J.J. ve diğerleri. (1999). A low protein diet alters the balance of islet cell replication and apoptosis in the fetal and neonatal rat and is associated with a reduced pancreatic expression of insulin-like growth factor-II. *Endocrinology*, 140 (10), 4861-4873.

103. Perimenis, P., Bouckenoghe, T., Delplanque, J., Moitrot, E., Eury, E., Lobbens, S. ve diğerleri. (2014). Placental antiangiogenic prolactin fragments are increased in human and rat maternal diabetes. *Biochim Biophys Acta*.
104. Arshad, R., Karim, N., Ara Hasan, J. (2014). Effects of insulin on placental, fetal and maternal outcomes in gestational diabetes mellitus. *Pak J Med Sci*, 30 (2), 240-244.
105. Madazli, R., Tuten, A., Calay, Z., Uzun, H., Uludag, S., Ocak, V. (2008). The incidence of placental abnormalities, maternal and cord plasma malondialdehyde and vascular endothelial growth factor levels in women with gestational diabetes mellitus and nondiabetic controls. *Gynecol Obstet Invest*, 65 (4), 227-232.
106. Rahier, J., Wallon, J., Henquin, J.C. (1981). Cell populations in the endocrine pancreas of human neonates and infants. *Diabetologia*, 20 (5), 540-546.
107. Van Assche, F.A., De Prins, F., Aerts, L., Verjans, M. (1977). The endocrine pancreas in small-for-dates infants. *Br J Obstet Gynaecol*, 84 (10), 751-753.
108. Economides, D.L., Proudler, A., Nicolaides, K.H. (1989). Plasma insulin in appropriate- and small-for-gestational-age fetuses. *Am J Obstet Gynecol*, 160 (5 Pt 1), 1091-1094.
109. Fatemi, S.H., Folsom, T.D., Rooney, R.J., Mori, S., Kornfield, T.E., Reutiman, T.J. ve diğerleri. (2012). The viral theory of schizophrenia revisited: abnormal placental gene expression and structural changes with lack of evidence for H1N1 viral presence in placentae of infected mice or brains of exposed offspring. *Neuropharmacology*, 62 (3), 1290-1298.
110. Rees, S., Harding, R., Walker, D. (2011). The biological basis of injury and neuroprotection in the fetal and neonatal brain. *Int J Dev Neurosci*, 29 (6), 551-563.
111. Hsiao, E.Y., Patterson, P.H. (2012). Placental regulation of maternal-fetal interactions and brain development. *Dev Neurobiol*, 72 (10), 1317-1326.
112. Rapoport, J.L., Giedd, J.N., Gogtay, N. (2012). Neurodevelopmental model of schizophrenia: update 2012. *Mol Psychiatry*, 17 (12), 1228-1238.

113. Bonnin, A., Levitt, P. (2011). Fetal, maternal, and placental sources of serotonin and new implications for developmental programming of the brain. *Neuroscience*, 197, 1-7.
114. McKay, R. (2011). Developmental biology: Remarkable role for the placenta. *Nature*, 472 (7343), 298-299.
115. Ahima, R.S., Osei, S.Y. (2004). Leptin signaling. *Physiol Behav*, 81 (2), 223-241.
116. Senaris, R., Garcia-Caballero, T., Casabiell, X., Gallego, R., Castro, R., Considine, R.V. ve diğeri. (1997). Synthesis of leptin in human placenta. *Endocrinology*, 138 (10), 4501-4504.
117. Morash, B., Li, A., Murphy, P.R., Wilkinson, M., Ur, E. (1999). Leptin gene expression in the brain and pituitary gland. *Endocrinology*, 140 (12), 5995-5998.
118. Wiesner, G., Vaz, M., Collier, G., Seals, D., Kaye, D., Jennings, G. ve diğeri. (1999). Leptin is released from the human brain: influence of adiposity and gender. *J Clin Endocrinol Metab*, 84 (7), 2270-2274.
119. Baumann, H., Morella, K.K., White, D.W., Dembski, M., Bailon, P.S., Kim, H. ve diğeri. (1996). The full-length leptin receptor has signaling capabilities of interleukin 6-type cytokine receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 93 (16), 8374-8378.
120. Fantuzzi, G., Faggioni, R. (2000). Leptin in the regulation of immunity, inflammation, and hematopoiesis. *J Leukoc Biol*, 68 (4), 437-446.
121. Zhang, Y., Olbort, M., Schwarzer, K., Nuesslein-Hildesheim, B., Nicolson, M., Murphy, E. ve diğeri. (1997). The leptin receptor mediates apparent autocrine regulation of leptin gene expression. *Biochem Biophys Res Commun*, 240 (2), 492-495.
122. Valleau, J.C., Sullivan, E.L. (2014). The impact of leptin on perinatal development and psychopathology. *J Chem Neuroanat*.
123. Liu, J., Li, X.D., Vaheri, A., Voutilainen, R. (2004). DNA methylation affects cell proliferation, cortisol secretion and steroidogenic gene expression in human adrenocortical NCI-H295R cells. *J Mol Endocrinol*, 33 (3), 651-662.

124. Weaver, I.C., Cervoni, N., Champagne, F.A., D'Alessio, A.C., Sharma, S., Seckl, J.R. ve diğerleri. (2004). Epigenetic programming by maternal behavior. *Nat Neurosci*, 7 (8), 847-854.
125. Abbott, D.H., Zhou, R., Bird, I.M., Dumesic, D.A., Conley, A.J. (2008). Fetal programming of adrenal androgen excess: lessons from a nonhuman primate model of polycystic ovary syndrome. *Endocr Dev*, 13, 145-158.
126. Rexhaj, E., Bloch, J., Jayet, P.Y., Rimoldi, S.F., Dessen, P., Mathieu, C. ve diğerleri. (2011). Fetal programming of pulmonary vascular dysfunction in mice: role of epigenetic mechanisms. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 301 (1), H247-252.
127. Ben-Shlomo, Y., Kuh, D. (2002). A life course approach to chronic disease epidemiology: conceptual models, empirical challenges and interdisciplinary perspectives. *Int J Epidemiol*, 31 (2), 285-293.
128. Kuh, D., New Dynamics of Ageing Preparatory, N. (2007). A life course approach to healthy aging, frailty, and capability. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 62 (7), 717-721.
129. Chan, J.C., Malik, V., Jia, W., Kadowaki, T., Yajnik, C.S., Yoon, K.H. ve diğerleri. (2009). Diabetes in Asia: epidemiology, risk factors, and pathophysiology. *JAMA*, 301 (20), 2129-2140.
130. Vanhees, K., Vonhogen, I.G., van Schooten, F.J., Godschalk, R.W. (2014). You are what you eat, and so are your children: the impact of micronutrients on the epigenetic programming of offspring. *Cell Mol Life Sci*, 71 (2), 271-285.
131. Yajnik, C.S., Deshpande, S.S., Jackson, A.A., Refsum, H., Rao, S., Fisher, D.J. ve diğerleri. (2008). Vitamin B12 and folate concentrations during pregnancy and insulin resistance in the offspring: the Pune Maternal Nutrition Study. *Diabetologia*, 51 (1), 29-38.
132. McKay, J.A., Groom, A., Potter, C., Coneyworth, L.J., Ford, D., Mathers, J.C. ve diğerleri. (2012). Genetic and non-genetic influences during pregnancy on infant global and site specific DNA methylation: role for folate gene variants and vitamin B12. *PLoS One*, 7 (3), e33290.

133. McKay, J.A., Waltham, K.J., Williams, E.A., Mathers, J.C. (2011). Folate depletion during pregnancy and lactation reduces genomic DNA methylation in murine adult offspring. *Genes Nutr*, 6 (2), 189-196.
134. Sharland, E., Montgomery, B., Granell, R. (2011). Folic acid in pregnancy - is there a link with childhood asthma or wheeze? *Aust Fam Physician*, 40 (6), 421-424.
135. Kiefte-de Jong, J.C., Timmermans, S., Jaddoe, V.W., Hofman, A., Tiemeier, H., Steegers, E.A. ve diğerleri. (2012). High circulating folate and vitamin B-12 concentrations in women during pregnancy are associated with increased prevalence of atopic dermatitis in their offspring. *J Nutr*, 142 (4), 731-738.
136. Hypponen, E., Laara, E., Reunanen, A., Jarvelin, M.R., Virtanen, S.M. (2001). Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. *Lancet*, 358 (9292), 1500-1503.
137. Javaid, M.K., Crozier, S.R., Harvey, N.C., Gale, C.R., Dennison, E.M., Boucher, B.J. ve diğerleri. (2006). Maternal vitamin D status during pregnancy and childhood bone mass at age 9 years: a longitudinal study. *Lancet*, 367 (9504), 36-43.
138. Szeto, I.M., Aziz, A., Das, P.J., Taha, A.Y., Okubo, N., Reza-Lopez, S. ve diğerleri. (2008). High multivitamin intake by Wistar rats during pregnancy results in increased food intake and components of the metabolic syndrome in male offspring. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 295 (2), R575-582.
139. Venu, L., Harishankar, N., Krishna, T.P., Raghunath, M. (2004). Does maternal dietary mineral restriction per se predispose the offspring to insulin resistance? *Eur J Endocrinol*, 151 (2), 287-294.
140. Padmavathi, I.J., Rao, K.R., Venu, L., Ganeshan, M., Kumar, K.A., Rao Ch, N. ve diğerleri. (2010). Chronic maternal dietary chromium restriction modulates visceral adiposity: probable underlying mechanisms. *Diabetes*, 59 (1), 98-104.
141. Jou, M.Y., Philipps, A.F., Lonnerdal, B. (2010). Maternal zinc deficiency in rats affects growth and glucose metabolism in the offspring by inducing insulin resistance postnatally. *J Nutr*, 140 (9), 1621-1627.

142. Mistry, H.D.,Williams, P.J. (2011). The importance of antioxidant micronutrients in pregnancy. *Oxid Med Cell Longev*, 2011, 841749.
143. Franco Mdo, C., Ponzio, B.F., Gomes, G.N., Gil, F.Z., Tostes, R., Carvalho, M.H. ve diğerleri. (2009). Micronutrient prenatal supplementation prevents the development of hypertension and vascular endothelial damage induced by intrauterine malnutrition. *Life Sci*, 85 (7-8), 327-333.
144. Bonacasa, B., Siow, R.C.,Mann, G.E. (2011). Impact of dietary soy isoflavones in pregnancy on fetal programming of endothelial function in offspring. *Microcirculation*, 18 (4), 270-285.
145. Schroder-van der Elst, J.P., van der Heide, D., Rokos, H., Morreale de Escobar, G.,Kohrle, J. (1998). Synthetic flavonoids cross the placenta in the rat and are found in fetal brain. *Am J Physiol*, 274 (2 Pt 1), E253-256.
146. Liu, X., Qi, Y., Tian, B., Chen, D., Gao, H., Xi, C. ve diğerleri. (2014). Maternal protein restriction induces alterations in hepatic tumor necrosis factor-alpha/CYP7A1 signaling and disorders regulation of cholesterol metabolism in the adult rat offspring. *J Clin Biochem Nutr*, 55 (1), 40-47.
147. Liu, X., Lin, Y., Tian, B., Miao, J., Xi, C.,Liu, C. (2014). Maternal protein restriction alters VEGF signaling and decreases pulmonary alveolar in fetal rats. *Int J Clin Exp Pathol*, 7 (6), 3101-3111.
148. Velayo, C., Ito, T., Dong, Y., Endo, M., Sugibayashi, R., Funamoto, K. ve diğerleri. (2014). Molecular patterns of neurodevelopmental preconditioning: a study of the effects of antenatal steroid therapy in a protein-restriction mouse model. *ISRN Obstet Gynecol*, 2014, 193816.
149. Belluscio, L.M., Berardino, B.G., Ferroni, N.M., Ceruti, J.M.,Canepa, E.T. (2014). Early protein malnutrition negatively impacts physical growth and neurological reflexes and evokes anxiety and depressive-like behaviors. *Physiol Behav*, 129, 237-254.
150. Bellinger, L.,Langley-Evans, S.C. (2005). Fetal programming of appetite by exposure to a maternal low-protein diet in the rat. *Clin Sci (Lond)*, 109 (4), 413-420.

151. Swali, A., McMullen, S., Langley-Evans, S.C. (2010). Prenatal protein restriction leads to a disparity between aortic and peripheral blood pressure in Wistar male offspring. *J Physiol*, 588 (Pt 19), 3809-3818.
152. Erhuma, A., Salter, A.M., Sculley, D.V., Langley-Evans, S.C., Bennett, A.J. (2007). Prenatal exposure to a low-protein diet programs disordered regulation of lipid metabolism in the aging rat. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 292 (6), E1702-1714.
153. Brawley, L., Torrens, C., Anthony, F.W., Itoh, S., Wheeler, T., Jackson, A.A. ve diğeri. (2004). Glycine rectifies vascular dysfunction induced by dietary protein imbalance during pregnancy. *J Physiol*, 554 (Pt 2), 497-504.
154. Torrens, C., Brawley, L., Anthony, F.W., Dance, C.S., Dunn, R., Jackson, A.A. ve diğeri. (2006). Folate supplementation during pregnancy improves offspring cardiovascular dysfunction induced by protein restriction. *Hypertension*, 47 (5), 982-987.
155. Jackson, A.A., Dunn, R.L., Marchand, M.C., Langley-Evans, S.C. (2002). Increased systolic blood pressure in rats induced by a maternal low-protein diet is reversed by dietary supplementation with glycine. *Clin Sci (Lond)*, 103 (6), 633-639.
156. Lillycrop, K.A., Phillips, E.S., Jackson, A.A., Hanson, M.A., Burdge, G.C. (2005). Dietary protein restriction of pregnant rats induces and folic acid supplementation prevents epigenetic modification of hepatic gene expression in the offspring. *J Nutr*, 135 (6), 1382-1386.
157. Fergusson, M.A., Koski, K.G. (1990). Comparison of effects of dietary glucose versus fructose during pregnancy on fetal growth and development in rats. *J Nutr*, 120 (11), 1312-1319.
158. Ismahan, G., Parvez, H., Parvez, S. (1979). Influence of progressive starvation upon brain and adrenal monoaminergic activity in developing rats of two different ages. *Biol Neonate*, 35 (5-6), 224-234.

159. Koski, K.G., Lanoue, L., Young, S.N. (1993). Restriction of maternal dietary carbohydrate decreases fetal brain indoles and glycogen in rats. *J Nutr*, 123 (1), 42-51.
160. Haney, P.M., Estrin, C.R., Caliendo, A., Patel, M.S. (1986). Precocious induction of hepatic glucokinase and malic enzyme in artificially reared rat pups fed a high-carbohydrate diet. *Arch Biochem Biophys*, 244 (2), 787-794.
161. Srinivasan, M., Mitrani, P., Sadhanandan, G., Dodds, C., Shbeir-ELDika, S., Thamotharan, S. ve diğeri. (2008). A high-carbohydrate diet in the immediate postnatal life of rats induces adaptations predisposing to adult-onset obesity. *J Endocrinol*, 197 (3), 565-574.
162. Patel, M.S., Srinivasan, M., Laychock, S.G. (2009). Metabolic programming: Role of nutrition in the immediate postnatal life. *J Inherit Metab Dis*, 32 (2), 218-228.
163. Glycemic Index Foundation, (2014). Carbohydrate Sweeteners, 2014, Ağ Sitesi: **www.gisymbol.com**
164. Baysal, A. (2004). Beslenme (10. baskı bs.). Ankara: Hatiboğlu Yayınevi.
165. Drewnowski, A., Bellisle, F. (2007). Liquid calories, sugar, and body weight. *Am J Clin Nutr*, 85 (3), 651-661.
166. Melanson, K.J., Zukley, L., Lowndes, J., Nguyen, V., Angelopoulos, T.J., Rippe, J.M. (2007). Effects of high-fructose corn syrup and sucrose consumption on circulating glucose, insulin, leptin, and ghrelin and on appetite in normal-weight women. *Nutrition*, 23 (2), 103-112.
167. European Food Safety Authority. (2010). Scientific opinion on dietary reference values for carbohydrates and dietary fibre (Rapor No).
168. Nishida, C., Uauy, R., Kumanyika, S., Shetty, P. (2004). The joint WHO/FAO expert consultation on diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: process, product and policy implications. *Public Health Nutr*, 7 (1A), 245-250.
169. Haley S., J.A. (2008). Sugar and sweeteners outlook. Electronic Outlook Report from the Economic Research Service... *United States Department of Agriculture (USDA)*.

170. Basciano, H., Federico, L., Adeli, K. (2005). Fructose, insulin resistance, and metabolic dyslipidemia. *Nutr Metab (Lond)*, 2 (1), 5.
171. United States Department of Agriculture. (1992). United States Dept of Agriculture: The food guide pyramid. Washington DC.
172. Livesey, G., Taylor, R. (2008). Fructose consumption and consequences for glycation, plasma triacylglycerol, and body weight: meta-analyses and meta-regression models of intervention studies. *Am J Clin Nutr*, 88 (5), 1419-1437.
173. Nakagawa, T., Tuttle, K.R., Short, R.A., Johnson, R.J. (2005). Hypothesis: fructose-induced hyperuricemia as a causal mechanism for the epidemic of the metabolic syndrome. *Nat Clin Pract Nephrol*, 1 (2), 80-86.
174. Tappy, L., Le, K.A., Tran, C., Paquot, N. (2010). Fructose and metabolic diseases: new findings, new questions. *Nutrition*, 26 (11-12), 1044-1049.
175. Livesey, G., Brown, J.C. (1995). Whole body metabolism is not restricted to D-sugars because energy metabolism of L-sugars fits a computational model in rats. *J Nutr*, 125 (12), 3020-3029.
176. White, J.S. (2008). Straight talk about high-fructose corn syrup: what it is and what it ain't. *Am J Clin Nutr*, 88 (6), 1716S-1721S.
177. Marriott, B.P., Cole, N., Lee, E. (2009). National estimates of dietary fructose intake increased from 1977 to 2004 in the United States. *J Nutr*, 139 (6), 1228S-1235S.
178. Kolancı, Ç. (2009). Referans Temel ve Klinik Biyokimya (c. 2. Bölüm). İstanbul: Medikal Yayıncılık.
179. Melanson, K.J., Angelopoulos, T.J., Nguyen, V., Zukley, L., Lowndes, J., Rippe, J.M. (2008). High-fructose corn syrup, energy intake, and appetite regulation. *Am J Clin Nutr*, 88 (6), 1738S-1744S.
180. Isganaitis, E., Lustig, R.H. (2005). Fast food, central nervous system insulin resistance, and obesity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 25 (12), 2451-2462.
181. Porte, D., Jr., Baskin, D.G., Schwartz, M.W. (2002). Leptin and insulin action in the central nervous system. *Nutr Rev*, 60 (10 Pt 2), S20-29; discussion S68-84, 85-27.

182. Montonen, J., Jarvinen, R., Knekt, P., Heliovaara, M., Reunanen, A. (2007). Consumption of sweetened beverages and intakes of fructose and glucose predict type 2 diabetes occurrence. *J Nutr*, 137 (6), 1447-1454.
183. Beck-Nielsen, H., Pedersen, O., Lindskov, H.O. (1980). Impaired cellular insulin binding and insulin sensitivity induced by high-fructose feeding in normal subjects. *Am J Clin Nutr*, 33 (2), 273-278.
184. Hallfrisch, J., Ellwood, K.C., Michaelis, O.E.t., Reiser, S., O'Dorisio, T.M., Prather, E.S. (1983). Effects of dietary fructose on plasma glucose and hormone responses in normal and hyperinsulinemic men. *J Nutr*, 113 (9), 1819-1826.
185. Douard, V., Ferraris, R.P. (2008). Regulation of the fructose transporter GLUT5 in health and disease. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 295 (2), E227-237.
186. Cheeseman, C.I. (1993). GLUT2 is the transporter for fructose across the rat intestinal basolateral membrane. *Gastroenterology*, 105 (4), 1050-1056.
187. Jones, H.F., Butler, R.N., Brooks, D.A. (2011). Intestinal fructose transport and malabsorption in humans. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 300 (2), G202-206.
188. Lippincoat. (2007). *Biyokimya (3 bs.): Nobel Tıp Kitabevi*. Ankara.
189. Nelson, D., Cox, M. (2013). *Lehninger Biyokimyanın Temelleri (5. basım)*. Ankara: Palme Yayıncılık
190. Stanhope, K.L., Schwarz, J.M., Keim, N.L., Griffen, S.C., Bremer, A.A., Graham, J.L. ve diğerleri. (2009). Consuming fructose-sweetened, not glucose-sweetened, beverages increases visceral adiposity and lipids and decreases insulin sensitivity in overweight/obese humans. *J Clin Invest*, 119 (5), 1322-1334.
191. Coate, K.C., Smith, M.S., Shiota, M., Irimia, J.M., Roach, P.J., Farmer, B. ve diğerleri. (2013). Hepatic glucose metabolism in late pregnancy: normal versus high-fat and -fructose diet. *Diabetes*, 62 (3), 753-761.
192. Stanhope, K.L., Havel, P.J. (2010). Fructose consumption: recent results and their potential implications. *Ann N Y Acad Sci*, 1190, 15-24.

193. Elliott, S.S., Keim, N.L., Stern, J.S., Teff, K., Havel, P.J. (2002). Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome. *Am J Clin Nutr*, 76 (5), 911-922.
194. Delarue, J., Normand, S., Couet, C., Pachiardi, C., Urbain, C., Lamisse, F. ve diğeri. (1996). Effects of free fatty acids on the metabolic response to oral fructose in lean healthy humans. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 20 (2), 130-136.
195. McGarry, J.D. (1995). Malonyl-CoA and carnitine palmitoyltransferase I: an expanding partnership. *Biochem Soc Trans*, 23 (3), 481-485.
196. Lim, J.S., Mietus-Snyder, M., Valente, A., Schwarz, J.M., Lustig, R.H. (2010). The role of fructose in the pathogenesis of NAFLD and the metabolic syndrome. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 7 (5), 251-264.
197. Nunes, P.M., Wright, A.J., Veltien, A., van Asten, J.J., Tack, C.J., Jones, J.G. ve diğeri. (2014). Dietary lipids do not contribute to the higher hepatic triglyceride levels of fructose- compared to glucose-fed mice. *FASEB J*, 28 (5), 1988-1997.
198. Stanhope, K.L., Griffen, S.C., Bair, B.R., Swarbrick, M.M., Keim, N.L., Havel, P.J. (2008). Twenty-four-hour endocrine and metabolic profiles following consumption of high-fructose corn syrup-, sucrose-, fructose-, and glucose-sweetened beverages with meals. *Am J Clin Nutr*, 87 (5), 1194-1203.
199. Neuschwander-Tetri, B.A. (2005). Nonalcoholic steatohepatitis and the metabolic syndrome. *Am J Med Sci*, 330 (6), 326-335.
200. Abid, A., Taha, O., Nseir, W., Farah, R., Grosovski, M., Assy, N. (2009). Soft drink consumption is associated with fatty liver disease independent of metabolic syndrome. *J Hepatol*, 51 (5), 918-924.
201. Day, C.P., James, O.F. (1998). Steatohepatitis: a tale of two "hits"? *Gastroenterology*, 114 (4), 842-845.
202. Nomura, K., Yamanouchi, T. (2012). The role of fructose-enriched diets in mechanisms of nonalcoholic fatty liver disease. *J Nutr Biochem*, 23 (3), 203-208.
203. Taghibiglou, C., Carpentier, A., Van Iderstine, S.C., Chen, B., Rudy, D., Aiton, A. ve diğeri. (2000). Mechanisms of hepatic very low density lipoprotein

- overproduction in insulin resistance. Evidence for enhanced lipoprotein assembly, reduced intracellular ApoB degradation, and increased microsomal triglyceride transfer protein in a fructose-fed hamster model. *J Biol Chem*, 275 (12), 8416-8425.
204. Su, Q., Tsai, J., Xu, E., Qiu, W., Bereczki, E., Santha, M. ve diğerleri. (2009). Apolipoprotein B100 acts as a molecular link between lipid-induced endoplasmic reticulum stress and hepatic insulin resistance. *Hepatology*, 50 (1), 77-84.
205. Vickers, M.H., Clayton, Z.E., Yap, C., Sloboda, D.M. (2011). Maternal fructose intake during pregnancy and lactation alters placental growth and leads to sex-specific changes in fetal and neonatal endocrine function. *Endocrinology*, 152 (4), 1378-1387.
206. Holmberg, N.G., Kaplan, B., Karvonen, M.J., Lind, J., Malm, M. (1956). Permeability of human placenta to glucose, fructose, and xylose. *Acta Physiol Scand*, 36 (4), 291-299.
207. Hagerman, D.D., Viljee, C.A. (1952). The transport of fructose by human placenta. *J Clin Invest*, 31 (10), 911-913.
208. Le, K.A., Tappy, L. (2006). Metabolic effects of fructose. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 9 (4), 469-475.
209. Havel, P.J. (2001). Peripheral signals conveying metabolic information to the brain: short-term and long-term regulation of food intake and energy homeostasis. *Exp Biol Med (Maywood)*, 226 (11), 963-977.
210. Fernandez-Fernandez, R., Martini, A.C., Navarro, V.M., Castellano, J.M., Dieguez, C., Aguilar, E. ve diğerleri. (2006). Novel signals for the integration of energy balance and reproduction. *Mol Cell Endocrinol*, 254-255, 127-132.
211. Alzamendi, A., Giovambattista, A., Raschia, A., Madrid, V., Gaillard, R.C., Rebolledo, O. ve diğerleri. (2009). Fructose-rich diet-induced abdominal adipose tissue endocrine dysfunction in normal male rats. *Endocrine*, 35 (2), 227-232.

212. Mukai, Y., Kumazawa, M., Sato, S. (2013). Fructose intake during pregnancy up-regulates the expression of maternal and fetal hepatic sterol regulatory element-binding protein-1c in rats. *Endocrine*, 44 (1), 79-86.
213. Chen, C.Y., Crott, J., Liu, Z., Smith, D.E. (2010). Fructose and saturated fats predispose hyperinsulinemia in lean male rat offspring. *Eur J Nutr*, 49 (6), 337-343.
214. Alzamendi, A., Castrogiovanni, D., Gaillard, R.C., Spinedi, E., Giovambattista, A. (2010). Increased male offspring's risk of metabolic-neuroendocrine dysfunction and overweight after fructose-rich diet intake by the lactating mother. *Endocrinology*, 151 (9), 4214-4223.
215. Campbell, W.J., Brendemuhl, J.H., Bazer, F.W. (1990). Effect of fructose consumption during lactation on sow and litter performance and sow plasma constituents. *J Anim Sci*, 68 (5), 1378-1388.
216. White, C.E., Head, H.H., Bachman, K.C., Bazer, F.W. (1984). Yield and composition of milk and weight gain of nursing pigs from sows fed diets containing fructose or dextrose. *J Anim Sci*, 59 (1), 141-150.
217. Douard, V., Suzuki, T., Sabbagh, Y., Lee, J., Shapses, S., Lin, S. ve diğ erleri. (2012). Dietary fructose inhibits lactation-induced adaptations in rat 1,25-(OH)₂D₃ synthesis and calcium transport. *FASEB J*, 26 (2), 707-721.
218. Cambri, L.T., de Araujo, G.G., Ghezzi, A.C., Botezelli, J.D., Mello, M.A. (2011). Metabolic responses to acute physical exercise in young rats recovered from fetal protein malnutrition with a fructose-rich diet. *Lipids Health Dis*, 10, 164.
219. Türk Standartları Enstitüsü. (1991). Laboratuvar Hayvanı Yemleri, 2014, Ağ Sitesi: <https://intweb.tse.org.tr/Standard/Standard/Standard.aspx?>
220. Nergiz-Unal, R., Kuijpers, M.J., de Witt, S.M., Heeneman, S., Feijge, M.A., Garcia Caraballo, S.C. ve diğ erleri. (2013). Atheroprotective effect of dietary walnut intake in ApoE-deficient mice: involvement of lipids and coagulation factors. *Thromb Res*, 131 (5), 411-417.
221. Kuijpers, M.J., Gilio, K., Reitsma, S., Nergiz-Unal, R., Prinzen, L., Heeneman, S. ve diğ erleri. (2009). Complementary roles of platelets and coagulation in

- thrombus formation on plaques acutely ruptured by targeted ultrasound treatment: a novel intravital model. *J Thromb Haemost*, 7 (1), 152-161.
222. Dabelea, D., Hanson, R.L., Lindsay, R.S., Pettitt, D.J., Imperatore, G., Gabir, M.M. ve diğeri. (2000). Intrauterine exposure to diabetes conveys risks for type 2 diabetes and obesity: a study of discordant sibships. *Diabetes*, 49 (12), 2208-2211.
223. Whincup, P.H., Kaye, S.J., Owen, C.G., Huxley, R., Cook, D.G., Anazawa, S. ve diğeri. (2008). Birth weight and risk of type 2 diabetes: a systematic review. *JAMA*, 300 (24), 2886-2897.
224. Jones, J.H. (2005). Fetal programming: adaptive life-history tactics or making the best of a bad start? *Am J Hum Biol*, 17 (1), 22-33.
225. Symonds, M.E., Pearce, S., Bispham, J., Gardner, D.S., Stephenson, T. (2004). Timing of nutrient restriction and programming of fetal adipose tissue development. *Proc Nutr Soc*, 63 (3), 397-403.
226. Veiga-Lopez, A., Astapova, O.I., Aizenberg, E.F., Lee, J.S., Padmanabhan, V. (2009). Developmental programming: contribution of prenatal androgen and estrogen to estradiol feedback systems and periovulatory hormonal dynamics in sheep. *Biol Reprod*, 80 (4), 718-725.
227. Leach, L., Taylor, A., Sciota, F. (2009). Vascular dysfunction in the diabetic placenta: causes and consequences. *J Anat*, 215 (1), 69-76.
228. Teff, K.L., Grudziak, J., Townsend, R.R., Dunn, T.N., Grant, R.W., Adams, S.H. ve diğeri. (2009). Endocrine and metabolic effects of consuming fructose- and glucose-sweetened beverages with meals in obese men and women: influence of insulin resistance on plasma triglyceride responses. *J Clin Endocrinol Metab*, 94 (5), 1562- 1569.
229. Schultz, A., Neil, D., Aguila, M.B., Mandarim-de-Lacerda, C.A. (2013). Hepatic adverse effects of fructose consumption independent of overweight/obesity. *Int J Mol Sci*, 14 (11), 21873-21886.
230. Haring, S.J., Harris, R.B. (2011). The relation between dietary fructose, dietary fat and leptin responsiveness in rats. *Physiol Behav*, 104 (5), 914-922.

231. Rawana, S., Clark, K., Zhong, S., Buison, A., Chackunkal, S., Jen, K.L. (1993). Low dose fructose ingestion during gestation and lactation affects carbohydrate metabolism in rat dams and their offspring. *J Nutr*, 123 (12), 2158-2165.
232. Shapiro, A., Mu, W., Roncal, C., Cheng, K.Y., Johnson, R.J., Scarpace, P.J. (2008). Fructose-induced leptin resistance exacerbates weight gain in response to subsequent high-fat feeding. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 295 (5), R1370-1375.
233. Thirunavukkarasu, V., Anitha Nandhini, A.T., Anuradha, C.V. (2004). Cardiac lipids and antioxidant status in high fructose rats and the effect of alpha-lipoic acid. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 14 (6), 351-357.
234. Roberts, C.K., Barnard, R.J., Sindhu, R.K., Jurczak, M., Ehdaie, A., Vaziri, N.D. (2006). Oxidative stress and dysregulation of NAD(P)H oxidase and antioxidant enzymes in diet-induced metabolic syndrome. *Metabolism*, 55 (7), 928-934.
235. Jackson, C.M., Alexander, B.T., Roach, L., Haggerty, D., Marbury, D.C., Hutchens, Z.M. ve diğ erleri. (2012). Exposure to maternal overnutrition and a high-fat diet during early postnatal development increases susceptibility to renal and metabolic injury later in life. *Am J Physiol Renal Physiol*, 302 (6), F774-783.
236. Ching, R.H., Yeung, L.O., Tse, I.M., Sit, W.H., Li, E.T. (2011). Supplementation of bitter melon to rats fed a high-fructose diet during gestation and lactation ameliorates fructose-induced dyslipidemia and hepatic oxidative stress in male offspring. *J Nutr*, 141 (9), 1664-1672.
237. Zou, M., Arentson, E.J., Teegarden, D., Koser, S.L., Onyskow, L., Donkin, S.S. (2012). Fructose consumption during pregnancy and lactation induces fatty liver and glucose intolerance in rats. *Nutr Res*, 32 (8), 588-598.
238. Rezvani, R., Cianflone, K., McGahan, J.P., Berglund, L., Bremer, A.A., Keim, N.L. ve diğ erleri. (2013). Effects of sugar-sweetened beverages on plasma acylation stimulating protein, leptin and adiponectin: relationships with metabolic outcomes. *Obesity (Silver Spring)*, 21 (12), 2471-2480.

239. Bursac, B.N., Vasiljevic, A.D., Nestorovic, N.M., Velickovic, N.A., Vojnovic Milutinovic, D.D., Matic, G.M. ve diğeri. (2014). High-fructose diet leads to visceral adiposity and hypothalamic leptin resistance in male rats--do glucocorticoids play a role? *J Nutr Biochem*, 25 (4), 446-455.
240. Swarbrick, M.M., Havel, P.J. (2008). Physiological, pharmacological, and nutritional regulation of circulating adiponectin concentrations in humans. *Metab Syndr Relat Disord*, 6 (2), 87-102.
241. Bocarsly, M.E., Barson, J.R., Hauca, J.M., Hoebel, B.G., Leibowitz, S.F., Avena, N.M. (2012). Effects of perinatal exposure to palatable diets on body weight and sensitivity to drugs of abuse in rats. *Physiol Behav*, 107 (4), 568-575.
242. Cambri, L.T., Ghezzi, A.C., Ribeiro, C., Dalia, R.A., de Mello, M.A. (2010). Recovery of rat growth and lipid profiles in adult rats subjected to fetal protein malnutrition with a fructose-rich diet. *Nutr Res*, 30 (2), 156-162.
243. Huynh, M., Luiken, J.J., Coumans, W., Bell, R.C. (2008). Dietary fructose during the suckling period increases body weight and fatty acid uptake into skeletal muscle in adult rats. *Obesity (Silver Spring)*, 16 (8), 1755-1762.
244. Swarbrick, M.M., Stanhope, K.L., Elliott, S.S., Graham, J.L., Krauss, R.M., Christiansen, M.P. ve diğeri. (2008). Consumption of fructose-sweetened beverages for 10 weeks increases postprandial triacylglycerol and apolipoprotein-B concentrations in overweight and obese women. *Br J Nutr*, 100 (5), 947-952.
245. Bantle, J.P., Raatz, S.K., Thomas, W., Georgopoulos, A. (2000). Effects of dietary fructose on plasma lipids in healthy subjects. *Am J Clin Nutr*, 72 (5), 1128-1134.
246. Nabeno, Y., Fukuchi, Y., Matsutani, Y., Naito, M. (2007). Influence of aging and menopause on postprandial lipoprotein responses in healthy adult women. *J Atheroscler Thromb*, 14 (3), 142-150.
247. Kolovou, G.D., Anagnostopoulou, K.K., Pilatis, N.D., Giannopoulou, M., Hoursalas, I.S., Pavlidis, A.N. ve diğeri. (2004). The influence of natural menopause on postprandial lipemia in heterozygotes for familial hypercholesterolemia. *J Womens Health (Larchmt)*, 13 (10), 1119-1126.

248. Jung, M.H., Seong, P.N., Kim, M.H., Myong, N.H., Chang, M.J. (2013). Effect of green tea extract microencapsulation on hypertriglyceridemia and cardiovascular tissues in high fructose-fed rats. *Nutr Res Pract*, 7 (5), 366-372.
249. Liu, L., Yang, M., Lin, X., Li, Y., Liu, C., Yang, Y. ve diğerleri. (2013). Modulation of hepatic sterol regulatory element-binding protein-1c-mediated gene expression contributes to *Salacia oblonga* root-elicited improvement of fructose-induced fatty liver in rats. *J Ethnopharmacol*, 150 (3), 1045-1052.
250. Jensen, M.D., Haymond, M.W., Rizza, R.A., Cryer, P.E., Miles, J.M. (1989). Influence of body fat distribution on free fatty acid metabolism in obesity. *J Clin Invest*, 83 (4), 1168-1173.
251. Santomauro, A.T., Boden, G., Silva, M.E., Rocha, D.M., Santos, R.F., Ursich, M.J. ve diğerleri. (1999). Overnight lowering of free fatty acids with Acipimox improves insulin resistance and glucose tolerance in obese diabetic and nondiabetic subjects. *Diabetes*, 48 (9), 1836-1841.
252. Cusi, K., Kashyap, S., Gastaldelli, A., Bajaj, M., Cersosimo, E. (2007). Effects on insulin secretion and insulin action of a 48-h reduction of plasma free fatty acids with acipimox in nondiabetic subjects genetically predisposed to type 2 diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 292 (6), E1775-1781.
253. Boden, G., Chen, X. (1995). Effects of fat on glucose uptake and utilization in patients with non-insulin-dependent diabetes. *J Clin Invest*, 96 (3), 1261-1268.
254. Hallfrisch, J., Cohen, L., Reiser, S. (1981). Effects of feeding rats sucrose in a high fat diet. *J Nutr*, 111 (3), 531-536.
255. Tappy, L., Le, K.A. (2010). Metabolic effects of fructose and the worldwide increase in obesity. *Physiol Rev*, 90 (1), 23-46.
256. Faraj, M., Lu, H.L., Cianflone, K. (2004). Diabetes, lipids, and adipocyte secretagogues. *Biochem Cell Biol*, 82 (1), 170-190.
257. Rodriguez, L., Panadero, M.I., Roglans, N., Otero, P., Alvarez-Millan, J.J., Laguna, J.C. ve diğerleri. (2013). Fructose during pregnancy affects maternal and fetal leptin signaling. *J Nutr Biochem*, 24 (10), 1709-1716.

258. Pedersen, J., Bojsen-Moller, B., Poulsen, H. (1954). Blood sugar in newborn infants of diabetic mothers. *Acta Endocrinol (Copenh)*, 15 (1), 33-52.

EKLER

EK-1: Etik Kurul Onayı



HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

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

Sayı: B.30.2.HAC.0.05.06.00/06


14 Ocak 2013

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL KARARI

TOPLANTI TARİHİ	: 10.01.2013 (PERŞEMBE)
TOPLANTI SAYISI	: 2013/1
DOSYA KAYIT NUMARASI	: 2012/57
KARAR NUMARASI	: 2012/57-04
ARAŞTIRMA YÜRÜTÜCÜSÜ	: Dr. Reyhan Nergiz Ünal
HAYVAN DENEYLERİNDEN SORUMLU ARAŞTIRMACI	: Dr. Reyhan Nergiz Ünal
YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR	: Armağan Yürük
ONAYLANAN HAYVAN TÜRÜ ve SAYISI	: 10 adet Sprague Dawley Rat

Üniversitemiz Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü öğretim görevlilerinden Dr. Reyhan Nergiz Ünal'ın araştırma yürütücüsü olduğu 2012/57 kayıt numaralı "*Sıçanlarda Maternal Diyetle Fruktöz Alımının Fetüse Etkilerinin Bazı Lipit Parametreleri ve Lipogenez Açısından İncelenmesi*" isimli çalışma Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi'ne göre uygun bulunarak oy birliği ile onaylanmasına karar verilmiştir.

Sorumlu araştırmacı deneylere başlangıç tarihini Etik Kurula bildirmekle yükümlüdür


Prof. Dr. Sema ÇALIŞ
Etik Kurul Başkan V.

