

Maternal Diyetle Fruktoz Alımının Anne ve Yavru Sıçanlarda Trigliserit ve Serbest Yağ Asidi Düzeyleri Üzerine Etkisi

The Effect of Maternal Fructose Intake in Terms of Triglyceride and Free Fatty Acid Levels in Mother Rats and Pups

Armağan Aytuğ Yürük¹, Reyhan Nergiz Ünal¹

¹ Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Ankara, Türkiye

ÖZET

Amaç: Bu çalışmanın amacı gebelik öncesi, gebelik ve laktasyon dönemlerinde maternal diyetle fazla miktarda fruktoz alımının anne ve yavru sıçanlarda kanda bazı lipid parametreleri ile karaciğerde trigliserit birikimi üzerine etkilerini incelemektir. **Gereç ve Yöntem:** Çalışmaya 10 adet aynı tür (Sprague Dawley) ve soydan gelen anne sıçan (her grupta n=5 adet), 23 adet fruktoz ve 29 adet maltodekstrin grubundan doğan toplam 52 adet yavru sıçan ile eşleşme için 2 adet erkek sıçan dahil edilmiştir. İki haftalık arınma (wash-out) süresi sonunda birinci gruba %20 w/v konsantrasyonunda fruktoz, ikinci gruba da aynı miktarda maltodekstrin verilmiştir. On iki haftalık diyet müdahalesi sonrası gebe kalan sıçanlar gebelik ve laktasyon dönemlerinde aynı şekilde beslenmiş ve laktasyon döneminin sonunda organ ve doku izolasyonu için ötanazi yapılarak deney sonlandırılmıştır. Sıçanların su ve yem tüketimleri kaydedilmiş, kanda trigliserit ve serbest yağ asitleri ile karaciğerde trigliserit birikimleri uygun olan kolorimetrik veya florometrik yöntemle analiz edilmiştir. **Bulgular:** Çalışma sonucunda sıçanların ortalama yem ve su tüketimleri ile terminal dönem vücut ağırlıkları için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Yüksek miktarda fruktoz alan anne sıçanlar ile maternal diyetle fruktoza maruz kalan yavru sıçanlarda plazma ve karaciğer trigliserit miktarları ile plazma toplam serbest yağ asitleri düzeyinde artış saptanmıştır (p=0.05). **Sonuç:** Sonuç olarak bu çalışma, fruktoza uzun dönem maruziyetin gelişimsel programlama hipotezine göre trigliserit ve yağ asit metabolizmasını etkileyerek erişkin başlangıçlı kardiyovasküler hastalıkların oluşum riskini artırabileceğini göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Fruktoz, gelişimsel programlama hipotezi, trigliserit, serbest yağ asitleri

ABSTRACT

Aim: The aim of this study was to examine the effects of high fructose intake during pre-conception, throughout pregnancy and lactation on some lipid parameters in the plasma and triglyceride accumulation in the liver of both mother rats and pups. **Materials and Methods:** This study was carried out on ten mother rats (n=5 for each group) total 52 pups (23 pups in the fructose group, 29 pups in the maltodextrin group) and two male rats for mating which were inbred Sprague Dawley strain. After two-weeks of wash out period rats were divided into two groups. Fructose (20% w/v) in water was administered to the first group and the same amount of maltodextrin was administered to the second group. After 12-weeks of dietary manipulation period the rats were mated for pregnancy. Rats were kept on same diets during pregnancy and lactation periods. At the end of lactation period, tissues and organs were isolated, then the animals were euthanised. Feed and water intake were recorded during the study. Triglyceride and free fatty acids in the blood and triglyceride accumulation in the liver were analysed with colorimetric or flourimetric methods as required. **Results:** As a result, there were no significant differences on feed and water intake, and terminal body weights of the rats. Furthermore, plasma and liver triglyceride levels, plasma free fatty acids of mothers and pups with high fructose exposure were found to be elevated (p=0.059). **Conclusion:** In conclusion, this study showed that chronic high fructose intake may increase the risk of cardiovascular diseases in the later life of offspring by affecting triglyceride and fatty acid metabolism via developmental programming.

Keywords: Fructose, developmental programming, triglyceride, free fatty acids

İletişim/Correspondence:

Yrd. Doç. Dr. Reyhan Nergiz Ünal

Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, D Blokları, 06100 Sımanpazarı, Ankara, Türkiye

E-posta: rnergiz@hacettepe.edu.tr

Geliş tarihi/Received: 03.03.2015

Kabul tarihi/Accepted: 20.04.2015

GİRİŞ

İlerleyen yaş ile birlikte oluşabilecek kronik hastalıklar, son yıllarda yapılan araştırmalarda prenatal/maternal beslenme ile ilişkilendirilmektedir (1,2). Gebelik döneminde beslenme, hem maternal gereksinimlerin karşılanması hem de fetüsün büyüme ve gelişmesi ile organizmanın metabolik dengesinin oluşturulmasında önemli bir yere sahiptir. Dolayısıyla diyetle yapılan uzun süreli değişiklikler birçok organ ve dokunun gelişmesine etki etmekte ve geri dönüşü olmayan etkilere (programlama) neden olmaktadır (3,4). Organizmada metabolizmanın düzenlenmesinde oluşan kalıcı değişiklikler, ilerleyen yaşlarda kronik hastalık riskinde artışa yol açabilmektedir (1,2). Kronik hastalıkların gelişimsel temellerinin beslenme yetersizliği ve/veya fruktoz gibi besin öğelerinin fazla alımı ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (5).

Güncel çalışmalar, kardiyovasküler hastalıklar, obezite, metabolik sendrom gibi kronik hastalıkların temel nedeninin intrauterin dönemde annenin maruz kaldığı beslenme düzeni başta olmak üzere bir çok fizyolojik ve çevresel etkenden kaynaklanabileceğini bildirmiştir (6-9). Bu durum maruz kalınan süre ve döneme göre “fetal orijinler hipotezi”, “gelişimsel programlama”, “yaşam seyri hipotezi” gibi farklı şekillerde tanımlanmaktadır (10-12). Hastalıkların gelişimsel temellerinin incelendiği bu hipotezlere göre gebelik öncesi, gebelik ve emzirme (laktasyon) sırasında beslenmenin bebekte yetişkin dönemdeki erişkin başlangıçlı kronik hastalık riski üzerine olan etkileri ile ilişkilendirilmektedir (10).

Fetal dönemde makro besin öğeleri (protein, karbonhidrat, yağ) ve enerji alımındaki dengesizlikler fetal ve plasental gelişmeyi etkileyerek ilerleyen yaşla birlikte kronik hastalıkların oluşumuna zemin hazırlayabilmektedir (2,13-15). Temel enerji kaynağı olan karbonhidratların diyetle tüketilen türü sağlıklı beslenme için önemlidir. Fruktoz basit yapılı karbonhidratlardan biri olup diğer karbonhidrat türlerinden farklı olarak vücutta emilimden sonra karaciğer hücrelerinde fruktoz-1-fosfata fosforile olarak yağ asitlerine dönüştürülebilir. Bu süreç hız kısıtlayıcı basamağı

(glukokinaz enzimi) atladığı için alınan fruktozun büyük kısmı maruz kalınan süre ve miktara bağlı olarak metabolize edilip, vücutta yağ asitleri sentezi yoluna girebilmektedir (16-18). Böylece fruktoz lipogenezi arttırarak obezite ve kardiyovasküler hastalıkları tetikleyebilmektedir (19,20). Ayrıca fazla fruktoz tüketiminin farelerde karaciğerde oksidatif stres parametrelerini etkileyerek endotel işlev bozukluğu, inflamasyon belirteçlerinin artışı, hipertansiyon gibi kardiyovasküler hastalıkların patogenezinde de önemli rol oynayabileceği bildirilmiştir (16,21).

Diyetteki başlıca fruktoz kaynakları bal, meyve, sükroz, yüksek fruktozlu mısır şurubu ve bunlarla tatlandırılmış çeşitli yiyecek ve içeceklerdir. Türkiye’ye Özgü Beslenme Rehberi en fazla 20-30 g/gün ilave şeker (glukoz, fruktoz, sükroz) önerirken (22), Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Avrupa ülkeleri (EFSA) günlük enerjinin %10’unu (23,24), Amerika (USDA) %25’ini (25) aşmamasını önermektedir. Ancak son yıllarda şekerli içeceklerde ve tatlıların endüstriyel üretiminde sükroz yerine yüksek fruktozlu mısır şurubunun fazla miktarda kullanılmasına bağlı olarak işlenmiş besinlerden alınan fruktoz miktarı çocuklarda ve gebe kadınlarda hızla artmaktadır (24,26,27).

Yüksek miktarda fruktoz tüketiminin sağlık üzerindeki etkilerini inceleyen bazı çalışmalar mevcuttur (28,29). Ancak hızlı bir ivme ile artan fruktoz alımının kronik hastalıkların “gelişimsel temelleri” üzerindeki etkileri ile ilgili yapılan çalışmalar yetersizdir. Dolayısıyla, bu çalışmanın amacı gebelik öncesi, gebelik ve laktasyon döneminde maternal diyetle fazla miktarda fruktoz alımının anne sıçanlarda ve maternal diyetle fruktoza maruz kalan yavru sıçanlarda trigliserit ve serbest yağ asitleri gibi bazı lipit parametreleri üzerine etkilerini incelemektir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Araştırma Yeri, Deney Hayvanlarının Sağlanması ve Bakımı

Bu çalışma, Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu’nun 2012/57-04

karar numarası ile onaylanmıştır. Çalışmaya fruktoz grubunda 5 adet, maltodekstrin grubunda 5 adet olmak üzere toplam 10 adet anne sıçan, eşleştirme için 2 adet erkek sıçan ve eşleşme sonrası doğan toplam 52 adet yavru sıçan (fruktoz grubunda 23 adet, maltodekstrin grubunda 29 adet) dahil edilmiştir ($n_{\text{toplam}} \text{ sıçan}=64$). Örneklem sayısı istatistiksel olarak güç analizi (power analysis) yapılarak kullanılabilir en az hayvan sayısı tercih edilerek hesaplanmıştır (30,31).

Sıçanların bakımları ve diyet müdahaleleri Hacettepe Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Araştırma ve Yetiştirme Ünitesi'nde yürütülmüştür. Her kafeste bir sıçan olacak şekilde yerleştirilen hayvanlara aynı bakım şartları (nem=%60, sıcaklık= $20 \pm 2^\circ\text{C}$, 12 saat dönüşümlü aydınlık/karanlık ortam) sağlanmış ve çalışma süresince izokalorik diyet ile beslenmişlerdir. Sıçanlara çalışma süresince kısıtlama olmaksızın (ad libitum) içme suyu ve standart laboratuvar yemi (chow) verilmiştir (31,32).

Anestezi altında kan alma, doku ve organ izolasyonları gibi cerrahi işlemler Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Ünitesi'nde araştırmacılar tarafından yapılmıştır (30,31). İzole edilen organ ve dokuların saklanması ve ileri laboratuvar analizleri ise Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü Araştırma Laboratuvarları'nda yapılmıştır.

Diyet Müdahalesi

Çalışma öncesi standart koşulları sağlayabilmek için her kafese bir sıçan yerleştirilip, tüm sıçanlara 2 hafta süresince aynı standart yem (chow) (Nükleon Laboratuvar Sistemleri Ltd. Şti., Ankara), su (içme suyu) ve bakım şartları sağlanmıştır. Türk Standartları Enstitüsü'nün yürürlükte bulunan Laboratuvar Hayvanı Yemleri Standardı'na (TS 9313) uygun yem kullanılmıştır (33). Kullanılan yemin enerjisi 265 kkal/100 g yem'dir. Makrobesin öğelerine bakıldığında protein içeriği 24 g/100 g yem, karbonhidrat ve yağ içeriği ise sırasıyla 60 g/100g yem ve 13 g/100 g yem'dir. Sıçanların vücut ağırlıkları ile günlük beklenen yem ve su tüketimleri göz önüne alınarak

günlük toplam enerjinin %28'i fruktozdan gelecek şekilde diyet planı oluşturulmuştur.

İkinci haftanın sonunda sıçanlar randomize olarak iki gruba ayrılmıştır. Birinci gruba (n=5) standart yem ve %20 (w/v) fruktoz (Egepak Gıda ve Ambalaj San. A.Ş. İzmir) eklenmiş su verilirken (fruktoz eklenmiş grup: F) ikinci gruba (n=5) standart yem ve fruktoz eklenen grupla izokalorik olacak şekilde maltodekstrin (Vankim Kimya Gıda Ltd. Şti. İstanbul) eklenmiş su (kontrol grubu: M) verilmiştir. Fruktoz veya maltodekstrin eklenen içme suyu ile 12 hafta süresince beslenen sıçanlar aynı cins, inbred, erkek sıçanlar ile eşleştirilmiştir. Sıçanlar, gebelik sırasında ve laktasyon süresince aynı şekilde beslenmeye devam etmiştir. Doğum yapan her bir sıçandan 6 yavru sıçan her iki cinsten randomize olarak seçilerek kendi annesi ile aynı kafeste kalarak anne sütü almıştır. Diyet müdahalesi süresince, sıçanların sıvı ve yem tüketimi, vücut ağırlık değişimleri hassas tartıda ölçülerek günün başına izlenip kaydedilmiştir. Laktasyon dönemi sona erdiğinde 5 saat açlık sonrası anne ve yavru sıçanlar ketamin (90 mg/kg, Richter Pharma, Avusturya) ve ksilazin (10 mg/kg, Alfasan International B.V. Hollanda) ile genel anestezi altına alınarak kan alımı sonrası eksanguinasyon yöntemiyle ötanazi edilip, doku ve organları izole edilmek üzere deney sonlandırılmıştır.

Doku İzolasyonu, Trigliserit ve Serbest Yağ Asitleri Analizi

Ötanazi uygulanan ratların karaciğerleri disekte edilmiştir. Kanlar sitrat içeren (12.9 mM) polipropilen tüplere alınmış, plazması mikrosantrifüj cihazı ile ayrılıp (Labnet International Inc., ABD) dondurularak (-80°C) saklanmıştır. Karaciğerler %0.09'lük sterilize serum fizyolojik solüsyonu ile perfüze edilmiştir. Karaciğerin her lobundan aynı miktarda doku örneği alınıp dondurularak (-80°C) saklanmıştır.

Homojenize edilen karaciğerlerde (İka Labortechnik, Almanya) ve santrifüj ile ayrılan plazmalarda trigliserit miktarı hazır kitler (Cayman Chemical Company, ABD) yardımıyla, kolorimetrik/ELISA yöntemiyle tayin edilmiştir.

Reaksiyon sonucu oluşan renk yoğunlukları Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü Araştırma Laboratuvarları'nda kolorimetrik mikropilaka okuyucu ile analiz edilmiştir (ChromMate 4300, Awareness Technology Inc, ABD). Plazma toplam serbest yağ asitleri (NEFA/FFA) miktarı hazır kitler yardımıyla, florometrik yöntemle tayin edilmiştir (Cayman Chemical Company, ABD). Konsantrasyona bağlı olarak oluşan farklı renk yoğunlukları uygun eksitasyon ve emisyon dalga boyları seçilerek, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda bulunan florometre cihazı ile analiz edilmiştir (SpectraMax M2 Multi-Mode, Molecular Devices, ABD).

Verilerin İstatistiksel Analizi

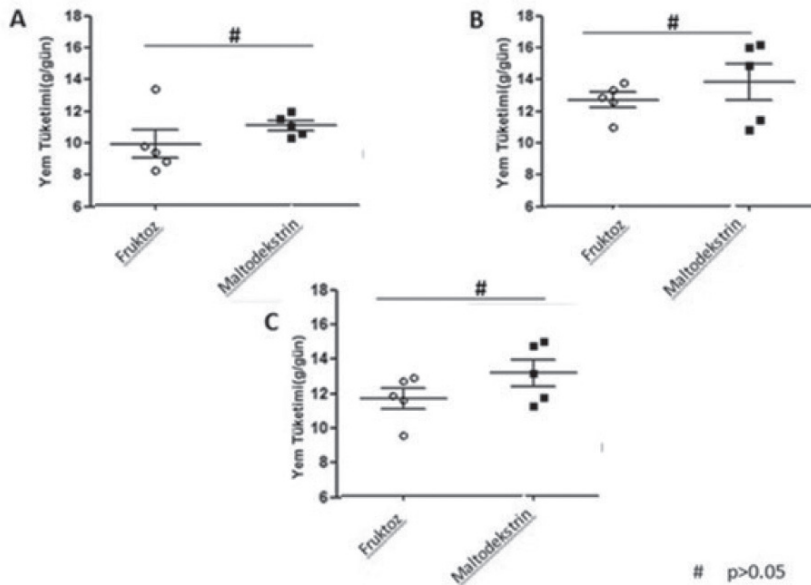
Çalışmadan elde edilen veriler SPSS 21.0 (Statistical Package for Social Sciences) istatistik programı ile değerlendirilerek ortalama (\bar{x}) ve standart hata (S) olarak ifade edilmiştir. Grupların karşılaştırılmasında verilere uygun olarak parametrik olmayan Mann Whitney U hipotez testi kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık $P=0.05$ değeri ile belirlenmiştir.

BULGULAR

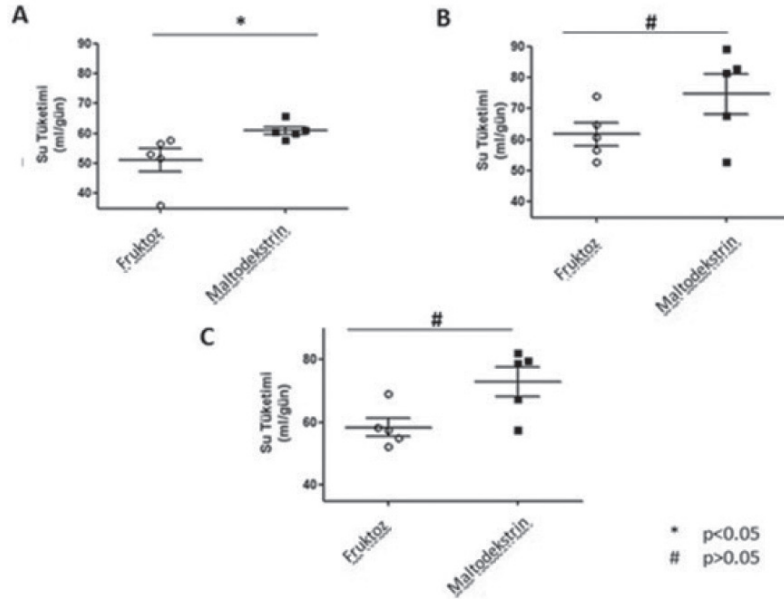
Sıçanların Yem ve Su Alımları ile Vücut Ağırlıkları

Bu çalışmada aynı enerji ve makro besin öğeleri oranına sahip diyetle farklı karbonhidrat kaynaklarının (fruktoz, maltodekstrin) anne sıçanlarda yem ve su alımı ile anne ve yavru sıçanların vücut ağırlığı üzerine etkileri incelenmiştir.

Anne sıçanların yem ve su tüketimi, çalışmanın ilk iki haftasında, gebelik öncesi, gebelik ve laktasyon dönemlerinde gruplar arasında farklılık göstermemiştir ($p>0.05$). Sıçanların çeşitli dönemlerde tükettikleri yem miktarına bakıldığında, gebelik öncesi dönemde ortalama yem tüketiminin fruktoz grubunda 9.5 ± 0.85 g/gün iken, maltodekstrin grubunda 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 ölçülmüştür ($p=0.31$). Buna göre iki grubun yem tüketiminde hiçbir dönemde anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (Şekil 1).



Şekil 1. Anne sıçanların yem tüketimleri. Anne sıçanların gebelik öncesi (A), gebelik (B) ve laktasyon dönemindeki (C) yem tüketimi ortalamaları. Her grup için n=5.



Şekil 2. Anne sıçanların su tüketimleri. Anne sıçanların gebelik öncesi (A), gebelik (B) ve laktasyon dönemindeki (C) su tüketimi ortalamaları. Her grup için n=5.

Anne sıçanların çeşitli dönemlerdeki fruktoz veya maltodekstrin içeren içme suyu tüketim miktarına bakıldığında gebelik öncesi dönemde fruktoz grubunun 54.2 ± 4.52 mL/gün iken maltodekstrin grubunun 65.8 ± 1.45 mL/gün olduğu saptanmıştır ($p=0.16$). 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 ölçülmüştür ($p=0.07$). Buna göre iki grubun su tüketimi maltodekstrin grubunda daha yüksek görünmesine rağmen bu fark bütün dönemler dikkate alınarak analiz edildiğinde, istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı saptanmıştır ($p>0.05$) (Şekil 2).

Yem ve su alımlarının yanısıra, sıçanların vücut ağırlıkları da izlenmiştir. Anne sıçanların çalışmanın her dönemdeki ortalama vücut ağırlıkları Tablo 1'de gösterilmiştir. Çalışmanın

çeşitli dönemlerindeki vücut ağırlıklarının ortalamalarına bakıldığında gebelik öncesi dönemde fruktoz grubunun ortalama vücut ağırlığı 188.6 ± 3.60 g iken, maltodekstrin grubununki 183.9 ± 4.65 g olarak bulunmuştur ($p=0.45$). Gebelik döneminde fruktoz ve maltodekstrin gruplarının ortalama vücut ağırlıkları sırasıyla 243.3 ± 15.87 g ve 239.7 ± 7.00 g'dır ($p=0.84$). Laktasyon dönemindeki vücut ağırlıkları ise sırasıyla 256.3 ± 17.44 g ve 252.9 ± 10.99 g olarak bulunmuştur ($p=0.87$). Çalışmanın ilk iki haftasında, gebelik öncesi, gebelik sırası ve laktasyon dönemlerinde her iki grubun vücut ağırlıkları arasında anlamlı bir fark yoktur ($p=1.00$).

Yavru sıçanlar doğum sonrası anne sütü ile beslendiği için yem ve su alımı izlenmeyip, vücut ağırlıkları ölçümü yapılmıştır. Birinci haftadaki vücut ağırlık ortalamalarına bakıldığında fruktoz

Tablo 1. Anne sıçanların terminal vücut ağırlığı, trigliserit ve serbest yağ asit düzeyleri

Ölçümler	Fruktoz	Maltodekstrin
	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	$\bar{x} \pm S\bar{x}$
Vücut ağırlığı, terminal (g)	256.3 ± 17.44	252.9 ± 10.99
Plazma trigliseritleri (mg/dL) *	49.4 ± 25.0	35.7 ± 12.31
Karaciğer trigliseritleri (mg/dL) *	118.7 ± 12.14	103.1 ± 4.63
Plazma toplam serbest yağ asitleri (μ M) *	376.9 ± 36.3	318.5 ± 26.12

Değerler ortalama \pm standart hata $\bar{x} \pm S\bar{x}$ olarak verilmiştir.

*Mann Whitney U Hipotez Testi uygulanmıştır. * $p=0.05$

Toplam n=10 (fruktoz grubu n=5, maltodekstrin grubu n=5).

Tablo 2. Yavru sıçanların terminal vücut ağırlığı, trigliserit ve serbest yağ asit düzeyleri

Ölçümler	Fruktoz	Maltodekstrin
	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	$\bar{x} \pm S\bar{x}$
Vücut ağırlığı, terminal (g)	35.7 ± 2.42	32.1 ± 4.85
Plazma trigliseritleri (mg/dL) *	43.4 ± 4.53	41.6 ± 4.71
Karaciğer trigliseritleri (mg/dL) *	150.6 ± 34.06	126.8 ± 21.11
Plazma toplam serbest yağ asitleri (µM) *	293.6 ± 28.34	265.2 ± 19.02

Değerler ortalama±standart hata ($\bar{x} \pm S\bar{x}$) olarak verilmiştir.

*Mann Whitney U Hipotez Testi uygulanmıştır. *p=0.05

Toplam n=52 (fruktoz grubu n=23, maltodekstrin grubu n= 29).

grubundaki yavruların ortalama vücut ağırlığı 17.2±1.05 g iken maltodekstrin grubundaki yavruların vücut ağırlığı 15.0±1.54 g'dır. Son haftadaki vücut ağırlıklara bakıldığında fruktoz grubundaki yavrular 35.7±2.42 g ve maltodekstrin grubundaki yavruların ortalama vücut ağırlığı 32.1±4.85 g olarak bulunmuştur (Tablo 2). Üç haftalık vücut ağırlıklarının ortalamalarına bakıldığında fruktoz ve maltodekstrin grubundaki yavruların vücut ağırlıkları sırasıyla 27.1±1.71 g ve 24.0±3.39 g olarak bulunmuştur. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir (p=0.44).

Sıçanların Trigliserit ve Serbest Yağ Asitleri Düzeyleri

Bu çalışmada aynı enerji ve makro besin öğeleri oranına sahip diyetle farklı karbohidrat kaynaklarının (fruktoz, maltodekstrin) anne ve yavru sıçanlarda kan ve karaciğerde trigliserit ile kanda serbest yağ asit düzeyleri üzerine etkileri de değerlendirilmiştir.

Anne sıçanların plazma trigliserit düzeyine bakıldığında fruktoz grubunda 49.4±25.00 mg/dL iken maltodekstrin grubunun plazma trigliserit düzeyi 35.7±12.31 mg/dL olduğu saptanmıştır (p=0.05) (Tablo 1). 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)(Tablo 1). Dolayısıyla, fruktoz grubundaki anne sıçanların hem plazma hem de karaciğer trigliserit miktarları maltodekstrin grubundakilere göre yükselme eğilimi göstermektedir. Anne sıçanların plazma serbest yağ asitleri düzeylerine bakıldığında fruktoz grubu 376.9±36.30 µM iken maltodekstrin grubunun plazma serbest yağ asitleri değeri 318.5±26.12 µM olduğu saptanmıştır (p=0.05) (Tablo 1). Plazma toplam serbest yağ

asitleri açısından fruktoz grubu maltodekstrine göre yükselme eğilimi göstermektedir.

Fetal dönemde plasenta aracılığı ve laktasyon döneminde anne sütü aracılığı ile maternal diyet değişimine maruz kalan yavru sıçanların plazma trigliserit miktarları değerlendirildiğinde, fruktoz ve maltodekstrin gruplarında sırasıyla 43.4±4.53 mg/dL ve 41.6±4.71 mg/dL olduğu görülmüştür (p=0.05) (Tablo 2). Yavru sıçanların karaciğer trigliserit miktarları karşılaştırıldığında fruktoz ve maltodekstrin grubunda sırasıyla ortalama 150.6±34.06 mg/dL ve 126.8±21.11 mg/dL olduğu görülmüştür (p=0.05) (Tablo 2). Yavru sıçanların plazma serbest yağ asitleri miktarı ortalamalarına bakıldığında fruktoz ve maltodekstrin gruplarında sırasıyla 293.6±28.34 µM ve 265.2±19.02 µM olduğu bulunmuştur (p=0.05) (Tablo 2). Hem plazma hem de karaciğer trigliserit düzeyleri ile plazma serbest yağ asitleri düzeyleri fruktoz alan annelerin yavrularında artma eğilimindedir.

TARTIŞMA

Kronik hastalıkların gelişimsel programlanması hipotezine göre erişkin yaşlardaki hastalıkların oluşumunda gebelik ve laktasyon dönemlerinin yanında, gebelik öncesi, erken postnatal dönem ve sonraki dönemlerde maruz kalınan şartların da etkisi olduğu düşünülmektedir (10-12). Bu duruma fruktoz açısından bakıldığında, artan fruktoz alımının kronik hastalıkların gelişimsel temelleri üzerine etkileri ile ilgili yapılan çalışmalar yetersizdir. Bu nedenle bu çalışmada gebelik öncesi, gebelik ve laktasyon süresince fazla miktarda fruktoz alan anne ile fetal dönemde plasenta ve laktasyon döneminde anne sütü ile fruktozun olası etkilerine maruz kalan yavru sıçanlar üzerine etkileri incelenmiştir.

Fruktoz ve maltodekstrinin tatlılık dereceleri ve metabolizması farklı olduğu için iştahı değiştirebileceği hipotezine dayanarak sıçanların yem ve su tüketimleri incelenmiştir (34,35). Fruktoz veya maltodekstrinin içme suyu ile verildiği bu çalışmada, gruplar arasında anne sıçanların yem ve su tüketimi açısından farklılık gözlenmemiştir. Bu çalışmaya paralel olarak 16 hafta süresince %60 fruktoz (enerji) verilen farelerde yem tüketiminin değişmediği bildirilmiştir (36,37). Başka bir çalışmada, yüksek fruktozla (%60 enerji) uzun dönem beslenen sıçanlarda yem tüketimi ve vücut ağırlığının değişmediği bildirilmiştir (38). Öte yandan 100 g/L fruktozla beslenen sıçanların aynı miktarda glukoz tüketenlere göre daha fazla yem ve daha az su tükettiği ancak vücut ağırlıklarında değişme olmadığı saptanmıştır (39). Verilen fruktozun dozu ve süresi ile örneklemin büyüklüğü bu etkileri değiştirebilmektedir.

İştah veya lipogenez artışını değerlendirebilmek için vücut ağırlığındaki değişimler izlenmiştir. Bu çalışmada her iki gruptaki anne ve yavru sıçanların vücut ağırlık ortalamalarının birbirinden farklı olmadığı bulunmuştur. Literatüre bakıldığında yüksek miktarda (enerjinin %2.8-65'i) fruktoz tüketiminin etkilerinin incelendiği hayvan çalışmalarının bazılarında leptin aracılığı ile olduğu düşünülen vücut ağırlık artışı saptanmış (39,40), bazılarında iştah etkilenmeyip değişiklik görülmemiş (37,41,42), bazılarında da tatlılık derecesine göre yem alımının azalması ile vücut ağırlığının azaldığı rapor edilmiştir (43). Dolayısıyla yapılan çalışmanın kapsamı, denek sayısı, diyetin diğer besin öğeleri ve toplam enerji içeriği bu sonuçları etkilemektedir.

Bu çalışmada fetal dönemde plasenta ve laktasyon süresince anne sütü ile maternal fruktoza maruz kalan yavru sıçanların vücut ağırlıklarının maltodekstrin grubundan istatistiksel olarak farklı olmadığı görülmüştür. 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 (39,43). Diğer yandan, güncel bir çalışmada sıçanlarda laktasyon sırasında maternal fruktoz alımının (0.1 g/mL gün) yavrularda

yem alımı ve vücut ağırlığında artmaya neden olduğu bildirilmiştir (41). Ancak yalnızca fruktoz miktarının değil alım yaşı (doğumdan sonra fruktoza ilk olarak maruz kalınan yaş), süresi gibi etmenlerin de önemli olabileceği düşünülmektedir (3,4).

Fruktoz içeriği yüksek olan diyetin (toplam enerjinin %34'ü) vücut ağırlığını değiştirmeden lipit parametrelerini yüksek yağlı diyetle benzer şekilde arttırabileceği, yani plazma ve karaciğer trigliserit düzeylerini etkilediği bildirilmiştir (37). Benzer şekilde bu çalışmada anne sıçanların plazma ve karaciğer trigliserit düzeyleri artma eğilimindedir. Bu eğilim istatistiksel olarak anlamlılık sınırında olduğu için örneklem sayısının artırılması gerekebilir. Yüksek miktarda fruktoz tüketimi ile de novo lipogenezin artarak plazma ve karaciğer trigliserit düzeylerini yükseltebildiği hatta karaciğer yağlanması (alkolik olmayan) patogenezinde rol oynayabileceği düşünülmektedir (44-46). İnsanlarda uzun dönem (≥ 2 hafta), enerjinin %20-25'ini karşılayan fruktoz tüketiminin açlık trigliserit düzeylerini arttırdığı bazı çalışmalarda gösterilmiştir (28,29). Bu çalışmaya paralel olarak 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 (39,47).

Plazma serbest yağ asitlerinin kaynağı büyük oranda trigliseritler veya bu çalışmada diyetle alınan fruktozdan sentezlenen yağ asitleridir. Bu çalışmada maternal diyetle fruktoz alan anne sıçanlar ile fruktoza maruz kalan yavru sıçanların plazma serbest yağ asitleri miktarları maltodekstrin grubuna göre daha yüksek olma eğilimindedir. Gebelik ve laktasyon sırasında yüksek miktarda fruktoz (enerjinin %60'ı) alımının etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, fruktozun annelerde ve yavrularda plazma serbest yağ asitlerini arttırarak dislipidemi ve hepatik lipit birikimine neden olduğu bildirilmiştir (48). Ancak bu çalışmalarda yağ asidi türleri analiz edilmemiştir. Gelecek çalışmalarda yağ asidi türleri ile okside formları analiz edilirse fruktoz tüketiminin yağ asit türlerindeki değişimlere olası etkileri daha iyi aydınlatılabilir.

SONUÇ

Sonuç olarak gebelik öncesi, gebelik ve laktasyon dönemlerinde yüksek miktarda fruktoz alan anne sıçanlar ile maternal diyetle fruktoza maruz kalan yavru sıçanlarda plazma ve karaciğer trigliserit miktarları ile plazma toplam serbest yağ asitleri düzeyinde artış olabileceği görülmüştür. Böylece maternal diyetle yüksek miktarda fruktoz tüketimi etkisiyle, yavruların kardiyovasküler hastalıklara yatkınlık (predispozisyon) geliştirebileceği düşünülmektedir.

Maternal diyetle fazla fruktoz alımının başlangıçta hastalıklara ilişkin bulgu göstermese bile bazı kodlamalara neden olabileceği, yağ asit biyosentez metabolizması üzerine etkisiyle önceden kodlanan erişkin başlangıçlı kardiyovasküler hastalıklar gibi kronik hastalıkların oluşum riskini arttırabileceği düşünülmektedir.

Ancak insanlar ve kemirgenler arasında bulunan fizyolojik farklılıklardan dolayı, bu sonuçların insanlar için kullanılması ve bu çalışmanın sonuçlarına dayanılarak insanlar için fruktoza özel bir öneri geliştirilmesi söz konusu değildir. Yapılacak yeni hayvan veya insan çalışmaları için altyapı niteliği taşıyan bu çalışma sonuçlarına göre, etki mekanizmasını açıklamaya yönelik transkripsiyon etmenleri ve diğer moleküler belirteçler ile sinyal yollarının analizlerinin yapılması önerilebilir.

Çıkar çatışması/Conflict of interest: Yazarlar ya da yazı ile ilgili bildirilen herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

Teşekkür/Acknowledgement: Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi Hızlı Destek Projesi ile desteklenmiştir (Proje No: 013D03401001).

KAYNAKLAR

- Barker DJ, Larsen G, Osmond C, Thornburg KL, Kajantie E, Eriksson JG. The placental origins of sudden cardiac death. *Int J Epidemiol* 2012; 41:1394-1399
- Langley-Evans SC, Alexander B, McArdle HJ, Sloboda DM. Developmental origins of health and disease. *J Nutr Metab* 2012; 838640:1-2
- Budge H, Gnanalingham MG, Gardner DS, Mostyn A, Stephenson T, Symonds ME. Maternal nutritional programming of fetal adipose tissue development: long-term consequences for later obesity. *Birth Defects Res C Embryo Today* 2005;75(3):193-199.
- Newnham JP. Discovering the mechanisms of fetal programming. *Clin Sci* 2002;103(6):641-642.
- Brenseke B, Prater MR, Bahamonde J, Gutierrez JC. Current thoughts on maternal nutrition and fetal programming of the metabolic syndrome. *J Pregnancy* 2013;2013,368461:1-13
- Barker DJ. Fetal origins of coronary heart disease. *BMJ* 1995;311(6998):171-174.
- Portha B, Chavey A, Movassat J. Early-life origins of type 2 diabetes: Fetal programming of the beta-cell mass. *Exp Diabetes Res* 2011;2011,105076:1-16
- Rinaudo P, Wang E. Fetal programming and metabolic syndrome. *Annu Rev Physiol* 2012;74:107-130.
- Siddiqui N, Hladunewich M. Understanding the link between the placenta and future cardiovascular disease. *Trends Cardiovasc Med* 2011;21(7):188-193.
- Barker DJ, Osmond C. Infant mortality, childhood nutrition, and ischaemic heart disease in England and Wales. *Lancet* 1986;1(8489):1077-1081.
- Ben-Shlomo Y, Kuh D. A life course approach to chronic disease epidemiology: Conceptual models, empirical challenges and interdisciplinary perspectives. *Int J Epidemiol* 2002;31(2):285-293.
- Kuh D. New dynamics of ageing preparatory, A life course approach to healthy aging, frailty, and capability. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2007;62(7):717-721.
- Barker DJ. Maternal nutrition, fetal nutrition, and disease in later life. *Nutrition* 1997;13(9):807-813.
- Tsukuda K, Mogi M, Iwanami J, Min LJ, Jing F, Ohshima K, et al. 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* 2012;6(5):324-330.
- Yajnik CS, Deshmukh US. Fetal programming: Maternal nutrition and role of one-carbon metabolism. *Rev Endocr Metab Disord* 2012;13(2):121-127.
- Castro MC, Francini F, Schinella G, Caldiz CI, Zubiria MG, Gagliardino JJ, et al. Apocynin administration prevents the changes induced by a fructose-rich diet on rat liver metabolism and the antioxidant system. *Clin Sci (Lond)* 2012;123(12):681-692.
- Fernandez-Fernandez R, Martini AC, Navarro VM, Castellano JM, Dieguez C, Aguilar E, et al. Novel signals for the integration of energy balance and reproduction. *Mol Cell Endocrinol* 2006;254-255:127-132.
- Le KA, Tappy L. Metabolic effects of fructose. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2006;9(4):469-475.
- Bizeau ME, Pagliassotti MJ. Hepatic adaptations to sucrose and fructose. *Metabolism* 2005;54(9):1189-1201.
- Wu T, Giovannucci E, Pischon T, Hankinson SE, Ma J, Rifai N, et al. Fructose, glycemic load, and quantity and quality of carbohydrate in relation to plasma C-peptide concentrations in US women. *Am J Clin Nutr* 2004;80(4):1043-1049.
- Francini F, Castro MC, Schinella G, Garcia ME, Maiztegui B, Raschia MA, et al. Changes induced by a fructose-rich diet on hepatic metabolism and the antioxidant system. *Life Sci* 2010;86(25-26):965-971.

22. Türkiye'ye Özgü Beslenme Rehberi. T.C. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, Ankara, 2004.
23. World Health Organisation. Report of a Joint FAO/WHO Consultation: Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases. Geneva: World Health Organisation, 2003.
24. European Food Safety Authority (EFSA). Scientific opinion on dietary reference values for carbohydrates and dietary fibre. *EFSA Journal*, 2010;8:1-15
25. Haley S., Sugar and sweeteners outlook. Electronic Outlook Report from the Economic Research Service. United States Department of Agriculture (USDA), 2008.
26. Ventura EE, Davis JN, Goran MI. Sugar content of popular sweetened beverages based on objective laboratory analysis: Focus on fructose content. *Obesity (Silver Spring)*, 2011;19(4):868-874.
27. Vos MB, Kimmons JE, Gillespie C, Welsh J, Blanck HM. Dietary fructose consumption among US children and adults: the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Medscape J Med* 2008;10(7):160.
28. Stanhope KL, Schwarz JM, Keim NL, Griffen SC, Bremer AA, Graham JL, et al. Consuming fructose-sweetened, not glucose-sweetened, beverages increases visceral adiposity and lipids and decreases insulin sensitivity in overweight/obese humans. *J Clin Invest* 2009;119(5):1322-1334.
29. Swarbrick MM, Stanhope KL, Elliott SS, Graham JL, Krauss RM, Christiansen MP, et al. Consumption of fructose-sweetened beverages for 10 weeks increases postprandial triacylglycerol and apolipoprotein-B concentrations in overweight and obese women. *Br J Nutr* 2008;100(5):947-952.
30. Kuijpers MJ, Gilio K, Reitsma S, Nergiz-Unal R, Prinzen L, Heeneman S, et al. Complementary roles of platelets and coagulation in thrombus formation on plaques acutely ruptured by targeted ultrasound treatment: A novel intravital model. *J Thromb Haemost*, 2009;7(1):152-161.
31. Nergiz-Unal R, Kuijpers MJ, de Witt SM, Heeneman S, Feijge MA, Garcia Caraballo SC, et al. Atheroprotective effect of dietary walnut intake in ApoE-deficient mice: involvement of lipids and coagulation factors. *Thromb Res* 2013;131(5):411-417.
32. Kuijpers MJ, de Witt S, Nergiz-Unal R, van Kruchten R, Korporaal SJ, Verhamme P, et al. Supporting roles of platelet thrombospondin-1 and CD36 in thrombus formation on collagen. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2014;34(6):1187-1192.
33. Türk Standartları Enstitüsü (TSE). Laboratuvar Hayvanı Yemleri. 1991. Erişim: <https://intweb.tse.org.tr/Standard/Standard.aspx>. Erişim Tarihi: 24.02.2014
34. Alwahsh SM, Xu M, Schultze FC, Wilting J, Mihm S, Raddatz D, et al. Combination of alcohol and fructose exacerbates metabolic imbalance in terms of hepatic damage, dyslipidemia, and insulin resistance in rats. *PLoS One* 2014;9(8):e104220.
35. Tillman EJ, Morgan DA, Rahmouni K, Swoap SJ. Three months of high-fructose feeding fails to induce excessive weight gain or leptin resistance in mice. *PLoS One* 2014;9(9):e107206.
36. Haring SJ, Harris RB. The relation between dietary fructose, dietary fat and leptin responsiveness in rats. *Physiol Behav* 2011;104(5):914-922.
37. Schultz A, Neil D, Aguila MB, Mandarim-de-Lacerda CA. Hepatic adverse effects of fructose consumption independent of overweight/obesity. *Int J Mol Sci* 2013;14(11):21873-21886.
38. Shapiro A, Mu W, Roncal C, Cheng KY, Johnson RJ, Scarpace PJ. Fructose-induced leptin resistance exacerbates weight gain in response to subsequent high-fat feeding. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2008;295(5):R1370-1375.
39. Rawana S, Clark K, Zhong S, Buisson A, Chackunkal S, Jen KL. Low dose fructose ingestion during gestation and lactation affects carbohydrate metabolism in rat dams and their offspring. *J Nutr* 1993;123(12):2158-2165.
40. Thirunavukkarasu V, Anitha Nandhini AT, Anuradha CV. Cardiac lipids and antioxidant status in high fructose rats and the effect of alpha-lipoic acid. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2004;14(6):351-357.
41. Alzamendi A, Castrogiovanni D, Gaillard RC, Spinedi E, Giovambattista A. Increased male offspring's risk of metabolic-neuroendocrine dysfunction and overweight after fructose-rich diet intake by the lactating mother. *Endocrinology* 2010;151(9):4214-4223.
42. Jackson CM, Alexander BT, Roach L, Haggerty D, Marbury DC, Hutchens ZM, et al. 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* 2012;302(6):F774-783.
43. Vickers MH, Clayton ZE, Yap C, Sloboda DM. Maternal fructose intake during pregnancy and lactation alters placental growth and leads to sex-specific changes in fetal and neonatal endocrine function. *Endocrinology* 2011;152(4):1378-1387.
44. Bocarsly ME, Barson JR, Hauca JM, Hoebel BG, Leibowitz SF, Avena NM. Effects of perinatal exposure to palatable diets on body weight and sensitivity to drugs of abuse in rats. *Physiol Behav* 2012;107(4):568-575.
45. Bursac BN, Vasiljevic AD, Nestorovic NM, Velickovic NA, Vojnovic Milutinovic DD, Matic GM, et al. High-fructose diet leads to visceral adiposity and hypothalamic leptin resistance in male rats--do glucocorticoids play a role? *J Nutr Biochem* 2014;25(4):446-455.
46. Abid A, Taha O, Nseir W, Farah R, Grosovski M, Assy N. Soft drink consumption is associated with fatty liver disease independent of metabolic syndrome. *J Hepatol* 2009;51(5):918-924.
47. Rodriguez L, Panadero MI, Roglans N, Otero P, Alvarez-Millan JJ, Laguna JC, et al. Fructose during pregnancy affects maternal and fetal leptin signaling. *J Nutr Biochem* 2013;24(10):1709-1716.
48. Ching RH, Yeung LO, Tse IM, Sit WH, Li ET. 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* 2011;141(9):1664-1672.