

Maternal Folik Asit Suplementasyonunun Rat Yavrularında Doğum Ağırlığı ve Obezite Gelişimi Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi

Evaluation of Effects of Maternal Folic Acid Supplementation on Birth Weight and Obesity Development in the Offspring of Rats

Merve Şeyda Karaçil Ermumcu¹, Nilüfer Acar Tek²

Geliş tarihi/Received: 05.07.2019 • Kabul tarihi/Accepted: 29.08.2019

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada gebelik boyunca farklı miktarlarda folik aside (FA) maruz bırakılan rat yavrularının doğum ağırlığı ile obezite gelişimi üzerine etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Wistar türü dişi ratların (n=18) gebe kalmaları sağlanmış ve randomize şekilde üç gruba ayrılmıştır. Gebelik döneminde her gruba FA içerikleri farklı üç ayrı beslenme protokolü (Kontrol grubu [KG]: 2 mg/kg folik asit, Deney 1 grubu [D1]: 5 mg/kg folik asit, Deney 2 grubu [D2]: 40 mg/kg folik asit) uygulanmıştır. Kontrol ve deney grubu yavruların doğum ağırlığına bakılmıştır. Laktasyon dönemi sonrasında her gruptan 12 yavru (6 dişi ve 6 erkek) olmak üzere toplamda 36 yavrunun haftalık vücut ağırlığı takibi yapılmıştır. Yedi ve on ikinci haftaların sonunda yavruların obezite durumu (Lee indeksi) değerlendirilmiştir. Çalışmaya toplamda 18 anne ve 36 yavru olmak üzere 54 rat dahil edilmiştir.

Bulgular: En yüksek ortalama doğum ağırlığının, D2 grubundaki ratlardan doğan yavrularda olduğu belirlenmiştir (KG: 5.6±0.1 g; D1: 5.8±0.5 g; D2: 5.9±0.2 g; p<0.05). D2 grubu erkek (174.4±5.6 g) ve dişi (138.3±7.7 g) yavruların yedinci haftanın sonundaki vücut ağırlıklarının, KG (erkek: 151.6±10.6 g; dişi: 124.6±3.9 g) ve D1 grubundaki (erkek: 163.3±25.3 g; dişi: 130.8±13.0 g) yavrulardan daha yüksek olduğu belirlenmiştir (p<0.05). On ikinci hafta sonundaki erkek ve dişi yavruların ortalama vücut ağırlıkları ve vücut ağırlığı artışları benzer bulunmuştur (p>0.05). Yüksek miktarda folik aside maruz kalan annelerin yavrularının yedi haftalık iken vücut ağırlıkları normal aralıkta olmasına rağmen, on ikinci haftanın sonunda dişi yavruların tamamının, erkek yavruların ise üçte birinin obez olduğu (%33.3) belirlenmiştir.

Sonuç: Bu çalışma, maternal FA suplementasyon miktarının yavru ratlarda vücut ağırlığı artışıyla ilişkili bir risk faktörü olabileceğini ve yavrularda obeziteye yatkınlığa neden olabileceğini düşündürmüştür. Gebelerde FA suplementasyonu uygulamasında doza dikkat edilmelidir.

Anahtar kelimeler: Gebelik, folik asit, doğum ağırlığı, obezite

1. **İletişim/Correspondence:** Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Ankara, Türkiye
E-posta: merveseyda@gmail.com • <https://orcid.org/0000-0002-2023-8433>

2. Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Ankara, Türkiye
<https://orcid.org/0000-0002-8772-9608>

ABSTRACT

Aim: This study aimed to evaluate the effects of different amounts of maternal folic acid (FA) supplementation on birth weight and obesity development in the offspring of rats.

Material and Method: Wistar female rats (n=18) were mated and randomly divided into three groups. Three different feeding protocols were administered to each group during pregnancy (Control group [CG]: 2 mg/kg folic acid, Experimental group 1 [E1]: 5 mg/kg folic acid, Experimental group 2 [E2]: 40 mg/kg folic acid). Birth weights of pups in each group were recorded. Body weights of total 36 pups including 12 pups (6 females and 6 males) from each group were monitored weekly after lactation period. Pups were evaluated for obesity (Lee index) at the end of the 7th and 12th weeks. In total, 54 rats (18 mother rats and 36 pups) were included.

Results: The highest mean birth weight was found in E2 group pups (CG: 5.6±0.1 g; E1: 5.8±0.5 g; E2:5.9±0.2 g, p<0.05). Body weight of E2 group male (174.4±5.6 g) and female (138.3±7.7 g) pups were higher than CG (male: 151.6±10.6 g; female: 124.6±3.9 g) and E1 group pups (male: 163.3±25.3 g; female: 130.8±13.0 g) at the end of the 7th week (p<0.05). The mean body weight and body weight gain of male and female pups were similar at the end of the 12th week (p>0.05). At 7th week, body weight of pups in E2 group, who were exposed to high doses of FA were normal, however all female and one third of male pups (33.3 %) were obese at the end of 12th week.

Conclusion: This study suggested that amount of maternal FA supplementation may be a risk factor associated with body weight gain and may cause tendency to obesity in the offspring. Amount of FA supplementation should be considered in pregnant women.

Keywords: Pregnancy, folic acid, birth weight, obesity

GİRİŞ

Folat, suda çözünen bir B grubu vitaminidir ve pek çok besinde doğal olarak bulunmaktadır. (1). Folatın sentetik formu olan folik asit (FA) ise zenginleştirilmiş ürünlerde ve besin desteklerinde yer almaktadır (1,2). Folat; gebelerde ve fetüs fizyolojisinde DNA sentezi, metilasyon reaksiyonları ve hücre bölünmesi üzerinde etkilidir (3). Gebelikte, maternal eritropoezi, fetal ve plasental büyümeyi desteklemek amacıyla folat gereksinimi artar (4,5). Artan folat gereksiniminin besinlerle karşılanması mümkün olmadığından, prekonsepsiyonel dönem ve gebelik döneminde FA desteği önerileri önem kazanmıştır (3,6). Bu nedenle Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 1998 yılından itibaren profilaktik olarak diyet ek olarak gebelik boyunca 400 mcg/gün FA desteğini önermektedir (7). Ülkemizde de DSÖ önerilerine benzer şekilde doğurganlık çağındaki tüm kadınlara prekonsepsiyonel dönemden başlayarak gebeliğin ilk üç ayı boyunca besin kaynaklarına ek olarak 400 mcg/gün FA desteğinin gerektiği vurgulanmaktadır (8).

Doğum ağırlığı ve zamanında doğum, bebeğin gelişim süreci ve ileri yaşamındaki sağlık durumuyla ilişkilendirilmektedir (9). Gebelerde artan folat gereksiniminin karşılanamaması sonucu ortaya çıkan düşük serum folat düzeyi, erken doğum ve düşük doğum ağırlığıyla ilişkilendirilmektedir (8). Günümüzde doğum ağırlığı ile maternal serum folat düzeyi arası pozitif ilişki bulan epidemiyolojik çalışmaların (10-14) yanında ilişkili olmadığını belirten çalışmalar da (15-17) bulunmaktadır. Ayrıca hücre bölünmesi, plasenta ve fetüs büyümesi için gerekli olan folatın fazla alınmasının, gebelik yaşına göre büyük doğum (large for gestational age, LGA) insidansını arttırabileceği hipotezi de ortaya atılmıştır (18). Wang et al. (5), gebeliğin ilk trimesterinden sonra alınmaya devam edilen FA desteğinin fetal gelişim üzerine etkilerini incelediği doğum kohort çalışmasında, gebeliğin ikinci ve üçüncü trimesterinde 400 mcg/gün FA desteği almaya devam eden annelerin yavrularında LGA doğum riskinin arttığını

belirtmiştir (5). Aynı zamanda bebeklerin doğum ağırlıklarının yanında baş ve göğüs çevrelerinin de daha yüksek olduğu belirlenmiştir (5). Benzer şekilde bir meta-analiz çalışmasında, birinci trimesterden sonra farklı miktarlarda FA kullanmaya devam eden gebelerde, FA kullanma miktarının doğum ağırlığıyla ilişkili olduğu ve FA alımı iki katına çıktığında doğum ağırlığının da %2 oranında arttığı gösterilmiştir (9).

Gebelik süresine göre doğum ağırlığının fazla olması, ilerleyen yaşlarda çocuklarda fazla kiloluluk ve obezite için önemli bir risk faktörüdür (18). Bu nedenle LGA'nın altında yatan nedenleri ve uzun dönemde ortaya çıkaracağı olumsuz sağlık etkilerini araştırmak oldukça önemlidir. Bu çalışmada gebelik boyunca farklı miktarlarda FA alımına maruz bırakılan rat yavrularında, FA takviyesinin doğum ağırlığı ile obezite gelişimi üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırma Yeri ve Süresi

Araştırmaya dahil edilen anne ratların gebelik öncesi, çiftleştirme, gebelik sırası ve laktasyon dönemindeki bakımları ile anne ratlara gebelik döneminde uygulanan diyet müdahaleleri ve yavru ratların takip edildikleri on iki hafta boyunca bakımları Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi'nde yürütülmüştür.

Deney Hayvanlarının Temini, Bakımı ve Çiftleştirme

Çalışmaya 8-10 haftalık daha önce çiftleşmemiş aynı soydan gelen Wistar türü dişi ratlar (n=18) dahil edilmiştir. Oda sıcaklığı 21.0 ± 2.0 °C, bağıl nemi %35-40, kafes içi ışık şiddeti 40 lüks, ışık periyodu 12 saat aydınlık/12 saat karanlık, gürültü düzeyi 85 dB'in altında kalacak şekilde kontrollü ve uygun havalandırma sisteminde barındırılmıştır. Dişi ratlar iki haftalık alışma sürecinden sonra çiftleştirilmiştir. Vajinal plak gözlenen ratlarda çiftleşmenin gerçekleştiği kabul edilmiştir. Yavrular

laktasyon dönemi sonuna kadar anneleriyle birlikte tutulmuştur. Laktasyon dönemi sonunda her batından bir erkek ve bir dişi olmak üzere iki yavru ayrılmıştır. Ayrılan yavruların yarısına yedinci haftanın sonunda diğer yarısına ise on ikinci haftanın sonunda ötenazi işlemi uygulanmıştır. Çalışmaya toplamda 18 anne ve 36 yavru olmak üzere 54 rat dahil edilmiştir.

Deney Hayvanlarının Yem Bileşimi

Gebe kalan ratlar randomize bir şekilde kontrol (KG), deney 1 (D1) ve deney 2 (D2) grubu olmak üzere üç gruba ayrılmış ve FA içerikleri farklı olacak şekilde üç ayrı beslenme protokolü uygulanmıştır. Gebelik boyunca KG ratlara, insanlarda gebelere önerilen 400 mcg/gün FA miktarı ve Amerikan Beslenme Enstitüsü'nün (19) kemirgen diyetleri kapsamında gebelik ve laktasyon döneminde ratlara önerilen AIN-93G formülasyonlu diyetteki FA miktarı referans alınarak 2.0 mg/kg FA içeren standart yem; D1 grubuna insanlarda, gebelik döneminde tolere edilebilen üst düzey (1000 mcg/gün) alım miktarına denk gelen, rat gereksiniminin ise 2.5 katı olan 5 mg/kg FA içeren yem, D2 grubuna ise Huang et al. (20)'un çalışmasında belirtilen nöral tüp defektli doğum riski bulunan gebelere uygulanan yüksek doz FA suplemanına denk gelen, gebe ratlarda normal gereksinimin 20 katı olan 40 mg/kg FA içeren yem ve su gebelik boyunca ad libitum olarak verilmiştir. Laktasyon döneminde tüm annelerin, KG annelerin diyet FA içeriğiyle (2.0 mg/kg FA yem) aynı olan yemle beslenmeleri sağlanmıştır. Yavru ratlar çalışma boyunca Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen standart yemle ad libitum beslenmeleri sağlanmıştır.

Yavru Ratların Vücut Ağırlıklarının Ölçülmesi ve Ötenazi İşlemi

Tüm yavruların doğum ağırlıkları hassas teraziyile ölçülmüştür. Laktasyon döneminden sonra seçilen tüm yavru ratların takip edildikleri süre boyunca her hafta, aynı gün ve saatte (16.00-17.30) vücut ağırlıkları tartımı 0.1 grama duyarlı mutfak terazisiyle yapılmıştır.

Yavru Ratların Vücut Ağırlığı Artışı ve Obezite Durumunun Değerlendirilmesi

Yavru ratlarda vücut ağırlık artışı, laktasyon sonu vücut ağırlığı ve çalışma sonundaki vücut ağırlıkları kullanılarak hesaplanmıştır:

Vücut Ağırlık Artış (VAA) Miktarı = Çalışma sonu vücut ağırlığı – Laktasyon sonu vücut ağırlığı

Yavru ratların vücut ağırlıkları ötenazi işlemi öncesinde tartılmıştır. Ötenazi işleminin hemen ardından ise burun-anüs arasındaki mesafe esnemeyen mezura ile ölçülerek boy uzunluğu belirlenmiştir. Yavru ratlarda obezitenin değerlendirilmesinde, insanlarda kullanılan beden kütle indeksinin eşdeğeri olan Lee indeksi kullanılmıştır (21). Lee indeksi 0.3 'ten büyük olan ratlar obez kabul edilmiştir:

Lee indeksi (g/mm³) = [(vücut ağırlığı^{1/3} (g)/burun-anüs uzunluğu (mm)] × 10

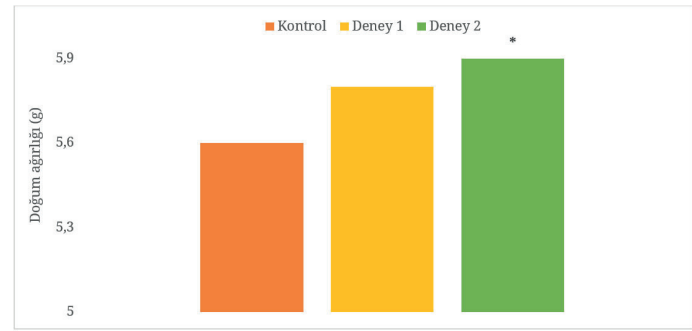
Bu çalışma Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 15.01.2018 tarihinde G.Ü.ET-18002 kayıt numaralı araştırma projesi olarak onaylanmıştır. Çalışmanın tüm aşamalarında Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu esaslarına uygun çalışılmıştır. Araştırmanın bütçesi Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'nden karşılanmıştır (Proje Kod No:47/2018-02).

Verilerin İstatistiksel Değerlendirmesi

Çalışmadan elde edilen veriler SPSS 16.0 paket programında değerlendirilmiştir. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu analitik yöntemlerle incelenmiştir. Yavru ratların kontrol ile deney gruplarına özgü doğum ve vücut ağırlığı, vücut ağırlığı değişimi ile enerji ve makro besin ögesi alımı ortalama ve standart sapma değerlerinin ($\bar{X} \pm SS$) karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Yavru ratlarda obezite durumunun maternal diyetle olan ilişkisinin değerlendirilmesinde ki kare (X^2) testi uygulanmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi p değeri $p < 0.05$ olarak belirlenmiştir.

BULGULAR

Kontrol ve deney gruplarındaki annelerin yavrularının ortalama doğum ağırlığı Şekil 1'de gösterilmiştir. Kontrol grubu yavru ratların ortalama doğum ağırlığı en düşük, D1 ve D2 grubu yavru ratların ortalama doğum ağırlığı ise benzer olarak belirlenmiş, D2 ve KG yavruların doğum ağırlığı arasındaki fark önemli bulunmuştur (KG: 5.6 ± 0.1 g; D1: 5.8 ± 0.5 g; D2: 5.9 ± 0.2 g, $p < 0.05$) (Şekil 1).



Şekil 1. Kontrol ve deney grubu yavru ratların ortalama doğum ağırlığı (g)

Yavru ratların cinsiyete özgü, yedi ve on ikinci haftanın sonundaki ortalama vücut ağırlıkları, vücut ağırlık değişimleri ve Lee indeks değerleri Tablo 1'de gösterilmiştir. Yedinci haftanın sonunda D2 grubu erkek ve dişi yavruların vücut ağırlığı KG ve D1 grubu yavrularından daha yüksektir fakat sadece KG erkek ratlar arasındaki fark önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). Yedinci haftanın sonunda D2 grubu erkek ve dişi yavruların vücut ağırlığı artışı diğer gruplardan daha fazladır ($p < 0.05$). Erkek ve dişi yavruların on ikinci haftanın sonundaki ortalama vücut ağırlıkları ve vücut ağırlığı artışları D2 grubu yavrularında en fazla, KG ise en azdır ($p > 0.05$). Kontrol ve deney grubu yavru ratların yedi ve on ikinci haftanın sonundaki Lee indeks değerleri benzer bulunmuştur ($p > 0.05$, Tablo 1).

Yavru ratların haftasına, cinsiyetine ve maternal diyet özelliklerine göre obezite durumunun değerlendirilmesi Tablo 2'de gösterilmiştir. Yedinci haftanın sonunda KG ve D2 grubu erkek ve dişi yavruların normal ağırlıkta iken D1 grubu dişi

Tablo 1. Yavru ratların cinsiyet ve maternal diyet özelliklerine göre yedi ve on ikinci haftanın sonundaki ortalama vücut ağırlıkları, vücut ağırlık değişimleri ve Lee indeks değerleri

	Kontrol		Deney 1		Deney 2		p
	$\bar{X} \pm SS$	$\bar{X} \pm SS$	$\bar{X} \pm SS$	$\bar{X} \pm SS$	$\bar{X} \pm SS$	$\bar{X} \pm SS$	
Erkek (n=6)							
VA-7 h (g)	151.6±10.6 ^a	163.3±25.3 ^{a,b}	174.4±5.6 ^b				0.01*
VAA-7 h (g)	114.9±10.7 ^a	123.2±22.0 ^{a,b}	138.5±6.9 ^b				0.01*
Lee indeks-7 h (g/mm ³)	0.26±0.02	0.27±0.03	0.25±0.02				0.61
Dişi (n=6)							
VA-7 h (g)	124.6±3.9	130.8±13.0	138.3±7.7				0.05
VAA-7 h (g)	89.5±4.6 ^a	91.6±11.8 ^{a,b}	103.2±8.3 ^b				0.03*
Lee indeks-7 h (g/mm ³)	0.27±0.01	0.29±0.02	0.27±0.01				0.64
Erkek (n=3)							
VA-12 h (g)	267.4±12.1	283.5±20.4	300.3±12.2				0.11
VAA-12 h (g)	230.8±11.7	249.3±23.3	264.5±10.5				0.17
Lee indeks-12 h (g/mm ³)	0.29±0.06	0.30±0.01	0.29±0.01				0.43
Dişi (n=3)							
VA-12 h (g)	190.8±9.5	201.0±16.7	216.9±6.0				0.09
VAA-12 h (g)	155.3±8.7	165.7±17.5	181.9±7.4				0.09
Lee indeks-12 h (g/mm ³)	0.31±0.01	0.31±0.04	0.32±0.01				0.57

VA: Vücut ağırlığı, VAA: Vücut ağırlığı artış miktarı, h: hafta.

*p<0.05, Kruskal-Wallis Testi, ^{a,b,c} Farklı harflere ait gruplar için p<0.05, aynı harflere ait gruplar için p>0.05

Tablo 2. Yavru ratların cinsiyete, haftasına ve maternal diyet özelliklerine göre obezite durumunun değerlendirilmesi

	Kontrol		Deney 1		Deney 2		X ² , p
	S	%	S	%	S	%	
Erkek-7 h (n=6)							
Normal	6	100.0	4	66.7	6	100.0	X ² : 4.500
Obez	-	-	2	33.3	-	-	p: 0.10
Dişi-7 h (n=6)							
Normal	6	100.0	3	50.0	6	100.0	X ² : 7.200
Obez	-	-	3	50.0	-	-	p: 0.27
Dişi-12 h (n=3)							
Normal	1	33.3	-	-	-	-	X ² : 2.250
Obez	2	66.7	3	100.0	3	100.0	p: 0.32
Erkek-12 h (n=3)							
Normal	2	66.7	-	-	2	66.7	X ² : 3600
Obez	1	33.3	3	100.0	1	33.3	p: 0.16

Ki kare testi, p<0.05, h: hafta.

yavruların yarısı, erkek yavruların ise %33.3'ünün obez olduğu fakat gruplar arasında önemli bir fark olmadığı saptanmıştır (p>0.05). On ikinci haftanın sonunda D1 grubu yavruların tümünün, D2 grubu dişi yavruların tamamının, erkek yavruların ise

%33.3'ünün, KG'nda ise dişi yavruların %66.7'sinin, erkek yavruların ise %33.3'ünün obez olduğu belirlenmiştir (p>0.05, Tablo 2).

Yavruların haftasına, cinsiyete ve maternal diyet özelliklerine göre günlük ortalama enerji ve makro

Tablo 3. Yavru ratların haftasına, cinsiyete ve maternal diyet özelliklerine göre günlük ortalama enerji ve makro besin ögesi alım miktarlarının değerlendirilmesi

	Kontrol	Deney 1	Deney 2	p
	$\bar{X} \pm SS$	$\bar{X} \pm SS$	$\bar{X} \pm SS$	
Erkek-7 h (n=6)				
Enerji (kkal/gün)	39.3±0.9 ^a	45.3±6.9 ^{a,b}	49.0±5.6 ^b	0.01*
Yağ (g/gün)	0.3±0.0 ^a	0.4±0.1 ^{a,b}	0.4±0.0 ^b	0.01*
Protein (g/gün)	2.4±0.1 ^a	2.8±0.4 ^{a,b}	3.0±0.3 ^b	0.01*
Karbonhidrat (g/gün)	6.7±0.1 ^a	7.7±1.1 ^{a,b}	8.3±0.9 ^b	0.01*
Dişi-7 h (n=6)				
Enerji (kkal/gün)	35.8±1.7 ^a	43.5 ±2.04 ^b	46.5±2.7 ^c	0.000*
Yağ (g/gün)	0.3 ±0.0 ^a	0.4±0.0 ^b	0.4±0.0 ^c	0.000*
Protein (g/gün)	2.2±0.1 ^a	2.6±0.1 ^b	2.9±0.1 ^c	0.000*
Karbonhidrat (g/gün)	6.0±0.3 ^a	7.4±0.3 ^b	7.9±0.4 ^c	0.000*
Erkek-12 h (n=3)				
Enerji (kkal/gün)	57.6±0.5	60.6±7.7	57.7±0.4	0.73
Yağ (g/gün)	0.5±0.0	0.5±0.1	0.5±0.0	0.73
Protein (g/gün)	3.5±0.0	3.7±0.4	3.5±0.0	0.73
Karbonhidrat (g/gün)	9.7±0.1	10.3±1.3	9.8±0.0	0.73
Dişi-12 h (n=3)				
Enerji (kkal/gün)	52.1±4.3	54.9±1.4	59.3±1.0	0.06
Yağ (g/gün)	0.4±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0	0.06
Protein (g/gün)	3.2±0.2	3.3±0.1	3.6±0.1	0.06
Karbonhidrat (g/gün)	8.8±0.7	9.3±0.2	10.0±0.1	0.06

*p<0.05, Kruskal-Wallis Test, ^{a,b,c} Farklı harflere ait gruplar için p<0.05, aynı harflere ait gruplar için p>0.05, h: hafta

besin ögesi alım miktarlarının değerlendirilmesi Tablo 3'te gösterilmiştir. Yedi haftalık D2 grubu erkek ve dişi yavruların ortalama enerji ve makro besin ögesi alım miktarları en yüksektir (p<0.05). On iki haftalık erkek ve dişi yavruların ortalama enerji ve makro besin ögesi alım miktarları KG grubunda en düşük olmasına rağmen gruplar arasındaki fark önemli bulunmamıştır (p>0.05, Tablo 3).

TARTIŞMA

Günümüzde doğum ağırlığının, obezite, hipertansiyon, tip 2 diabetes mellitus ve kardiyovasküler hastalıklar olmak üzere bulaşıcı olmayan hastalıklarla ilişkisi üzerinde durulmaktadır. Özellikle maternal folat düzeylerinin doğum ağırlığıyla ilişkisinin ortaya konmasıyla birlikte gebelik döneminde FA desteği uygulamasının sorgulanması önem kazanmıştır (22). Bu çalışmada da gebelik boyunca farklı miktarlarda

FA alımına maruz bırakılan rat yavrularının doğum ağırlığı ve doğum ağırlığıyla ilişkilendirilen obezite gelişimi üzerine etkileri değerlendirilmiştir.

Maternal FA desteği fetal sağlığı olumlu etkiler ve düşük doğum ağırlıklı doğumu önlemektedir (23). Fakat gebelik döneminden bir ay önce 200-600 mcg arasında FA desteğine başlanan ve gebeliğin ilk üç ayı kullanmaya devam eden gebeler ile FA desteği almayan gebelerin karşılaştırıldığı prospektif bir çalışmada, FA desteğinin erken doğum ve düşük doğum ağırlığıyla herhangi bir ilişkisinin olmadığı belirtilmiştir (24). Farklı ülkelerin toplumlarına yer verilen ve maternal FA desteği ve doğum ağırlığı ilişkisinin değerlendirildiği bir meta analiz çalışması sonucunda gebelerde toplam FA alım miktarı arttıkça, doğum ağırlıklarının da arttığı belirtilmiştir (9). Ayrıca ülke politikası olarak FA desteğinin yanında zorunlu FA zenginleştirmesinin uygulandığı ülkelerde,

zenginleştirmeden sonra erken doğum ve düşük doğum ağırlıklı doğumların azaldığı bildirilmiştir (25). Fakat maternal dönemde yüksek miktarlarda folik aside maruziyetin fetal sağlık üzerine benzer olumlu etkiler gösterip göstermediği hala belirsizdir (20). Gebelik döneminde yüksek miktarda folik aside (40 mg/kg/yem) maruz kalan annelerin yavrularında ortalama doğum ağırlığının, önerilen (2 mg/kg/yem) ve tolere edilebilir üst limit kadar (5 mg/kg/yem) FA alan annelerin yavrularının ortalama doğum ağırlıklarına benzer olduğu (20), bir başka çalışmada ise yüksek miktarda folik aside maruz bırakılan annelerin yavrularının ortalama doğum ağırlıklarının kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu belirtilmiştir (26). Bu çalışmada ise yüksek miktarda folik aside maruz kalan annelerin yavrularının ortalama doğum ağırlığının, önerilen ve tolere edilebilir üst düzeyde FA alan annelerin yavrularından anlamlı olarak yüksektir (Şekil 1). Folik asit suplementasyonu yapılan gebe kadınlarda, metilasyonun, insülin benzeri büyüme faktörü 2 (Insulin like growth factor 2, IGF2) geninin düzenleyici bir bölgesinde etkili olabileceği ileri sürülmüş bu durumda intrauterin büyümeyi ve doğum ağırlığını etkileyebileceği görüşü ortaya konmuştur (27). Bu çalışmada yüksek miktarda folik aside maruz kalan annelerin yavrularının daha yüksek doğum ağırlığına sahip olması, maruz kalınan folik asidin IGF 2 geninde meydana getirdiği metilasyon reaksiyonların fetüsün gelişimindeki etkileriyle olduğu düşünülebilir.

Yüksek FA miktarına maruz bırakılan annelerin yavrularının ortalama vücut ağırlığının yaşlılık dönemine kadar izlendiği deneysel bir çalışmada, dişi yavruların on ikinci haftadan sonra yüksek fruktozla beslenmeleri sağlandığında, yetişkinlik ve yaşlılık dönemindeki vücut ağırlık artışının önemli düzeyde daha fazla olduğu gösterilmiştir (26). Farklı miktarlarda folik aside maruz bırakılan anne ratlarda yürütülen bir başka çalışmada ise, yavruların sekiz haftalık olana kadar vücut ağırlık artışının tüm gruplarda benzer olduğu belirlenmiştir (20). Sekizinci haftadan sonra yavruların yüksek yağlı diyetle beslenmeleri sağlandığında, çalışmanın

sonlandırıldığı 15. haftada ise yüksek miktarlarda folik aside maruz bırakılan annelerin yavrularının ortalama vücut ağırlıklarının daha yüksek olduğu belirlenmiştir (20). Bu çalışmada ise D2 grubu erkek ve dişi yavruların yedinci haftanın sonundaki vücut ağırlığı KG ve D1 grubu yavrularından daha yüksektir fakat sadece erkek yavrular arasındaki fark önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Yedinci ve on ikinci haftanın sonunda, D2 grubu erkek ve dişi yavruların vücut ağırlığı artışının diğer gruplardan daha fazla olduğu belirlenmiştir fakat gruplar arasında sadece yedinci haftanın sonundaki vücut ağırlığı artışlarında önemli fark bulunmuştur ($p<0.05$). Kontrol ve deney grubu yavru ratların yedinci ve on ikinci haftanın sonundaki Lee indeks değerleri ise benzer bulunmuştur ($p>0.05$, Tablo 2).

Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda, maternal FA desteğinin yavrularda gene özgü DNA metilasyonunu değiştirebildiği gösterilmiştir (28-30). Bu nedenle gebelik döneminde FA kısıtlaması veya aşırı alımının, epigenetik değişikliklerle yavru fenotipinde öngörülemeyen değişikliklere neden olabileceği ileri sürülmektedir (31). Gebelerde FA desteği ve obezite ilişkisini ortaya konan net bir mekanizma olmamakla beraber FA desteğinin POMC (proopiomelanokartin) promotöründe meydana getireceği epigenetik değişikliklerle obezite gelişimine neden olduğu ileri sürülmektedir (32). Yapılan bir çalışmada yüksek miktarlarda folik aside maruz bırakılan gebelerin yavrularının yüksek yağlı diyetle beslenmeleri sağlandığında daha yüksek adipozite indeksine sahip olduğu belirtilmiştir (20). Bu araştırmada ise yavru ratlarda Lee indeksine göre obezite durumu değerlendirildiğinde; sadece D1 grubu yavruların ikinci haftanın sonunda tamamının obez olduğu belirlenmiştir (Tablo 2). Gebelik döneminde FA desteği önerilerinin potansiyel olumsuz etkilere sahip olabileceği ileri sürülmesine rağmen (33,34) artmış maternal FA desteğinin yavrularda obezite gelişimine etkisinin değerlendirilmesi, çocuklarda yürütülecek farklı kohort ve randomize kontrollü çalışmaların izlenmesiyle mümkün olabilir (35).

Vücut ağırlığındaki değişim besin tüketimiyle de ilişkili olup literatürde gebelik döneminde yüksek miktarda folik aside maruziyetin yavruların besin tüketimine etkisine yönelik çalışmalar çok sınırlıdır (20,26,32). Gebelik döneminde yüksek miktarda folik aside maruz kalan annelerin dişi yavrularının besin alımlarının, önerilen miktarda folik aside maruz bırakılan annelerin yavrularından daha fazla olduğu belirlenmiştir. Fakat besin tüketimindeki artışın dişi yavrularında tutarlı olmadığı ve bozulmuş beslenme davranışı gözlemlenmiştir. Erkek yavrularda ise besin alımında azalma olduğu saptanmıştır (26). Başka bir çalışmada benzer şekilde farklı FA miktarlarına maruz bırakılan annelerin erkek yavrularında yüksek yağlı diyetle beslenmelerine rağmen besin alımlarında gruplar arası önemli bir fark saptanmamıştır (20). Bu çalışmada daha önce belirtilen çalışmalardan (20,26) farklı olarak yavrulara herhangi bir beslenme müdahalesi yapılmadan aynı enerji, makro ve mikro besin ögesi içeriğine sahip yemlerle beslenmeleri sağlanmıştır. Yüksek miktarda folik aside maruz kalan annelerin yedi haftalık erkek ve dişi yavruların ortalama enerji ve diğer besin ögesi alımlarının KG annelerin yavrularından önemli düzeyde daha yüksektir ($p<0.05$). On iki haftalık kontrol ve deney grubu erkek ve dişi yavrularının ortalama enerji ve makro besin alımları benzer bulunmuştur (Tablo 3). Bu araştırma sonuçları artmış FA alımının kısa dönemde yavrularının besin alımlarına etkisini ortaya koymuş iken, uzun dönemde bu etkinin ortadan kalktığını düşündürmektedir. Ama ilerleyen dönemlerde yavruların maruz kalacağı yanlış beslenme alışkanlıkları besin tüketimi ve beslenme davranışlarını etkileyebilir ve buna bağlı olarak metabolik bazı sağlık sorunların da ortaya çıkmasına neden olabilir. Çocuklarda beslenme davranışında gösterdiği değişikliklere bağlı olarak vücut ağırlığını etkileyebileceği düşünülmektedir.

Bu çalışma maternal FA suplementasyon miktarının yavrularda vücut ağırlığı artışıyla ilişkili bir risk faktörü olabileceğini ve yavrularda obeziteye yatkınlığa neden olabileceğini düşündürmüştür. Gebelere FA önerisinde bulunurken miktar konusunda

dikkatli olunmalıdır. Gebelere FA desteği DSÖ önerisi doğrultusunda prekonsepsiyonel dönemden başlayarak gebeliğin ilk üç ayı boyunca 400 mcg/gün uygulanmalı ve tolere edilebilir üst alım düzeyini (1000 mcg/gün) aşmayacak şekilde yapılmasına dikkat edilmelidir.

Teşekkür ▪ **Acknowledgement:** *Bu çalışmanın yürütülmesinde maddi destek sağlayan Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimine teşekkür ederiz. ▪ We want to acknowledge Gazi University Projects of Scientific Investigation Department for financial support.*

Çıkar çatışması ▪ **Conflict of interest:** *Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan ederler. ▪ The authors declare that they have no conflict of interest.*

Maddi destek ▪ **Funding sources:** *Araştırmanın bütçesi Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'nden karşılanmıştır (Proje Kod No: 47/2018-02). ▪ This research was funded by Gazi University Projects of Scientific Investigation Department (Project Code Number: 47/2018-02).*

KAYNAKLAR

1. Liew SC. Folic acid and diseases - supplement it or not? Rev Assoc Med Bras. 2016;62(1):90-100.
2. Keating E, Martel F, Araújo JR. Folic Acid and Gestational Diabetes: Foundations for Further Studies. In: Rajendram R, Preedy V, Patel V (editors). Nutrition and Diet in Maternal Diabetes. Humana Press, Cham; 2018. p.465-77.
3. Yan J, Zheng YZ, Cao LJ, Liu YY, Li W, Huang GW. Periconceptional folic acid supplementation in Chinese Women: A cross-sectional study. Biomed Environ Sci. 2017;30(10):737-48.
4. Cox JT, Carney VH. Nutrition for reproductive health and lactation. In: Mahan LK, Raymond JL (editors). Krause's food & the nutrition care process. 13th Edition. United States of America: Elsevier Health Sciences, 2016. p.239-99.
5. Wang S, Ge X, Zhu B, Xuan Y, Huang K, Rutayisire E, et al. Maternal continuing folic acid supplementation after the first trimester of pregnancy increased the risk of large-for-gestational-age birth: A population-based birth cohort study. Nutrients 2016;8(8):1-11.
6. Krishnaveni GV, Veena SR, Karat SC, Yajnik CS, Fall CH. Association between maternal folate concentrations during pregnancy and insulin resistance in Indian children. Diabetologia. 2014;57(1):110-21.

7. Procter SB, Campbell CG. Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: nutrition and lifestyle for a healthy pregnancy outcome. *J Acad Nutr Diet.* 2014;114(7):1099-103.
8. T. C. Sağlık Bakanlığı. Türkiye Beslenme Rehberi (TÜBER). Sağlık Bakanlığı Yayınları, Ankara. 2015; s. 288.
9. Fekete K, Berti C, Trovato M, Lohner S, Dullemeijer C, Souverein OW. Effect of folate intake on health outcomes in pregnancy: a systematic review and meta-analysis on birth weight, placental weight and length of gestation. *Nutr J.* 2012;11(1):75.
10. Yajnik CS, Deshpande SS, Jackson AA, Refsum H, Rao S, Fisher DJ et al. Vitamin B12 and folate concentrations during pregnancy and insulin resistance in the offspring: the Pune Maternal Nutrition Study. *Diabetologia.* 2008;51(1):29-38.
11. Muthayya S, Kurpad AV, Duggan CP, Bosch RJ, Dwarkanath P, Mhaskar A, et al. Low maternal vitamin B12 status is associated with intrauterine growth retardation in urban South Indians. *Eur J Clin Nutr.* 2006;60(6):791-801.
12. Scholl TO, Hediger ML, Schall JI, Khoo CS, Fischer RL. Dietary and serum folate: their influence on the outcome of pregnancy. *Am J Clin Nutr.* 1996;63(4):520-5.
13. Yajnik CS, Deshpande SS, Panchanadikar AV, Naik SS, Deshpande JA, Coyaji KJ. Maternal total homocysteine concentration and neonatal size in India. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2005;14(2):179-81.
14. Rao S, Yajnik CS, Kanade A, Fall CH, Margetts BM, Jackson AA et al. Maternal fat intakes and micronutrient status are related to fetal size at birth in rural India; the Pune Maternal Nutrition Study. *J Nutr.* 2001;131(4):1217-24.
15. Relton CL, Pearce MS, Parker L. The influence of erythrocyte folate and serum vitamin B12 status on birth weight. *Br J Nutr.* 2005;93(5):593-9.
16. Stewart CP, Christian P, Schulze KJ, Arguello M, LeClerq SC, Khattry SK et al. Low maternal vitamin B12 status is associated with offspring insulin resistance regardless of antenatal micronutrient supplementation in rural Nepal. *J Nutr.* 2011;141(10):1912-7.
17. Hogeveen M, Blom HJ, den Heijer M. Maternal homocysteine and small-for-gestational-age offspring: systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr.* 2012;95(1):130-6.
18. Xie K, Fu Z, Li H, Gu X, Cai Z, Xu P. High folate intake contributes to the risk of large for gestational age birth and obesity in male offspring. *J Cell Physiol.* 2018;233(12):9383-9.
19. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC Jr. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr.* 1993;123(11):1939-51.
20. Huang Y, He Y, Sun X, He Y, Li Y, Sun C. Maternal high folic acid supplement promotes glucose intolerance and insulin resistance in male mouse offspring fed a high-fat diet. *Int J Mol Sci.* 2014;15(4):6298-313.
21. Bernardis LL, Patterson BD. Correlation between 'Lee index' and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions. *J Endocrinol.* 1968;40(4):527-8.
22. Yajnik CS, Deshmukh US. Fetal programming: maternal nutrition and role of one-carbon metabolism. *Rev Endocr Metab Disord.* 2012;13(2):121-7.
23. Lucock M. Folic acid: nutritional biochemistry, molecular biology, and role in disease processes. *Mol Genet Metab.* 2000;71(1-2):121-38.
24. Martinussen MP, Bracken M., Triche EW, Jacobsen GW, Risnes KR. Folic acid supplementation in early pregnancy and the risk of preeclampsia, small for gestational age offspring and preterm delivery. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2015;195:94-9.
25. Shaw GM, Carmichael SL, Nelson V, Selvin S, Schaffer DM. Occurrence of low birthweight and preterm delivery among California infants before and after compulsory food fortification with folic acid. *Public Health Rep.* 2004;119(2):170-3.
26. Keating E, Correia-Branco A, Araujo JR, Meireles M, Fernandes R, Guardao L, et al. Excess perigestational folic acid exposure induces metabolic dysfunction in post-natal life. *J Endocrinol.* 2015;224(3):245-59.
27. Castano E, Pinunuri R, Hirsch S, Ronco AM. Folate and pregnancy, current concepts: It is required folic acid supplementation? *Rev Chil Pediatr.* 2017;88(2):199-206.
28. Lillycrop KA, Phillips ES, Jackson AA, Hanson MA, Burdge GC. Dietary protein restriction of pregnant rats induces and folic acid supplementation prevents epigenetic modification of hepatic gene expression in the offspring. *J Nutr.* 2005; 135(6):1382-6.
29. Finnell RH, Spiegelstein O, Wlodarczyk B, Triplett A, Pogribny IP, Melnyk S, et al. DNA methylation in Folbp1 knockout mice supplemented with folic acid during gestation. *J Nutr.* 2002;132(8):2457-61.
30. Ly A, Lee H, Chen J, Sie KK, Renlund R, Medline A, et al. Effect of maternal and postweaning folic acid supplementation on mammary tumor risk in the offspring *Cancer Res.* 2011;71(3):988-97.
31. Silva C, Keating E, Pinto E. The impact of folic acid supplementation on gestational and long term health: Critical temporal windows, benefits and risks. *Porto Biomed J.* 2017;2(6):315-32.
32. Cho CE, Sanchez-Hernandez D, Reza-Lopez SA, Huot PS,

- Kim YI, Anderson GH. High folate gestational and post-weaning diets alter hypothalamic feeding pathways by DNA methylation in Wistar rat offspring. *Epigenetics*. 2013;8(7):710-9.
33. Hu J, Oken E, Aris IM, Lin PD, Ma Y, Ding N, et al. Dietary patterns during pregnancy are associated with the risk of gestational diabetes mellitus: evidence from a Chinese prospective birth cohort study. *Nutrients*. 2019;11(2) pii:E405.
34. Zhu B, Ge X, Huang K, Mao L, Yan S, Xu Y, et. al. Folic acid supplement intake in early pregnancy increases risk of gestational diabetes mellitus: evidence from a prospective cohort study. *Diabetes Care*. 2016;39(3):36-7.
35. Yajnik CS. Nutrient-mediated teratogenesis and fuel-mediated teratogenesis: two pathways of intrauterine programming of diabetes. *Int J Gynaecol Obstet*. 2009;104(1):27-31.