



Anneye ait yüksek yağlı besin tüketiminin yavru antimikrobiyal peptit salınımı üzerindeki etkileri: Anneden yavruya obezojenik özelliklerin aktarılması

Ali Kudret Adilođlu¹, Hikmet Taner Teker², Tülin Yanık³, Nilnur Eyerci⁴, Ferda Alparıslan Pınarlı⁵, Ceren Sucularlı⁶, Sedat Vezir¹, Ahmet Yeşilyurt⁵, Tuncay Delibaşı

¹Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniđi, Ankara

²Orta Dođu Teknik Üniversitesi Biyokimya Bölümü, Ankara

³Orta Dođu Teknik Üniversitesi Biyoloji Bölümü, Ankara

⁴Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Kars

⁵Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Genetik Kliniđi, Ankara

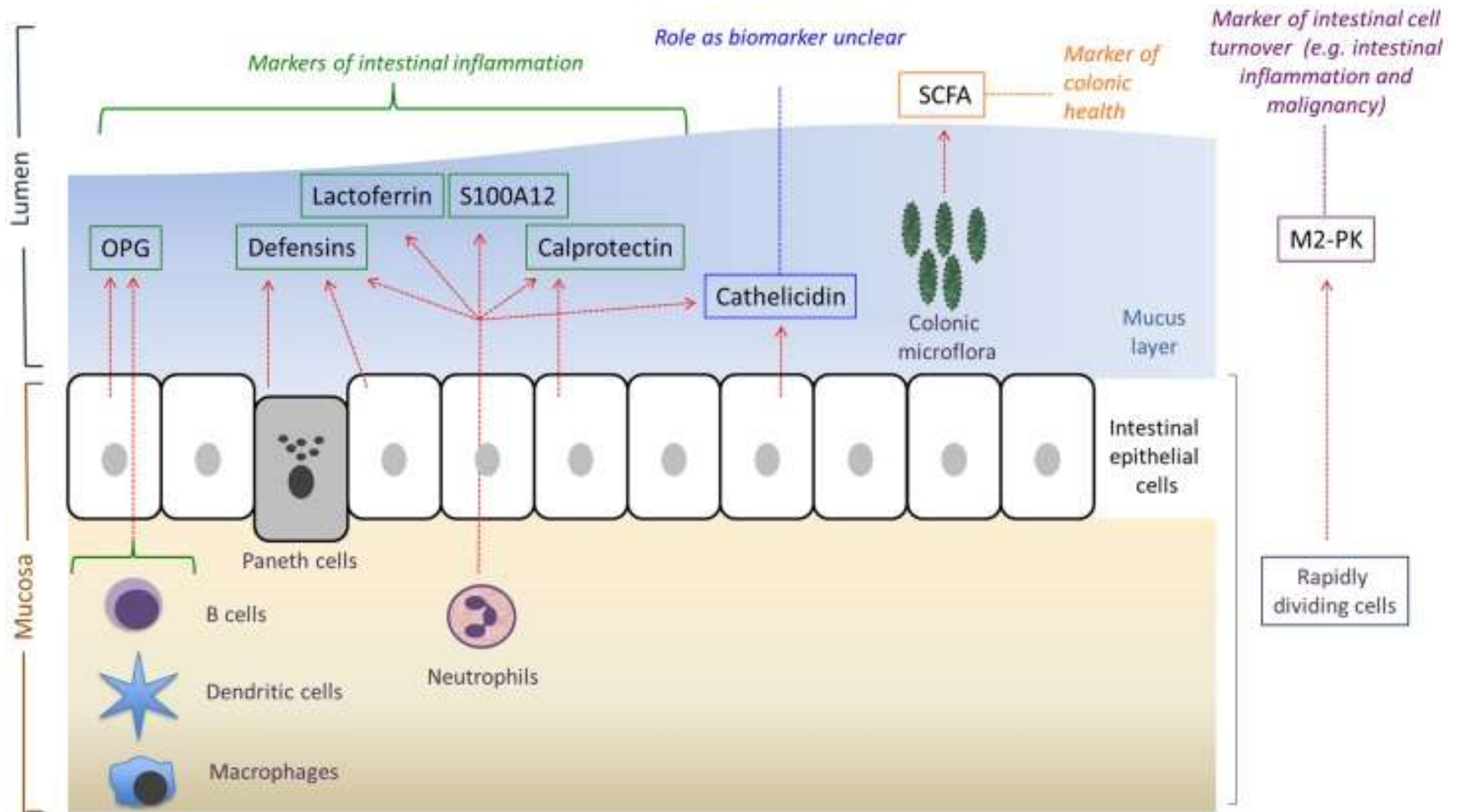
⁶Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyoinformatik Anabilim Dalı, Ankara

⁷Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi (Kastammonu) İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara

Antimikrobiyal peptidler

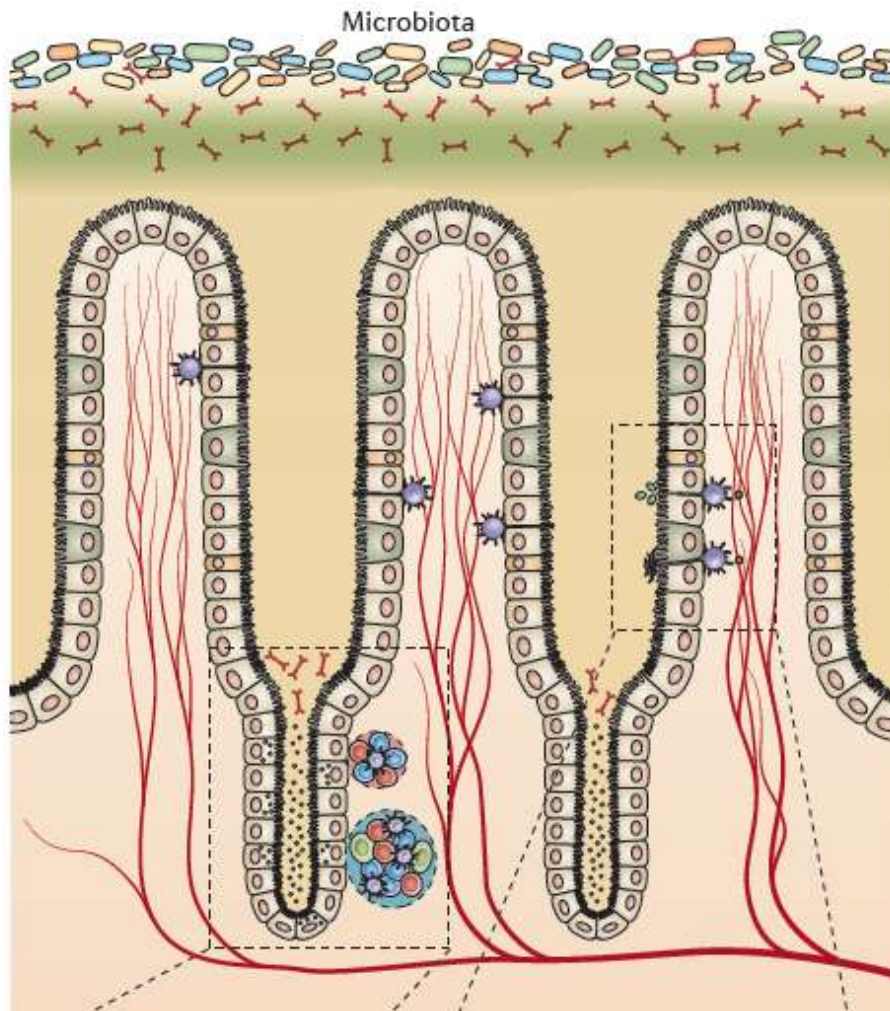
Bağırsak Epitel Dokusu Antimikrobiyal Proteinleri:

- Memelilerde deri, bağırsak, solunum yolları ve üreme sistemi dış çevre ile doğrudan etkileşim halindedir.
- Bu bölgeleri kaplayan tek veya çok katmanlı epitel hücreleri, paneth hücreleri, goblet hücreleri (mucus) ve immün sistem hücreleri tarafından antimikrobiyal peptitler (AMP) sentezlenmektedir.

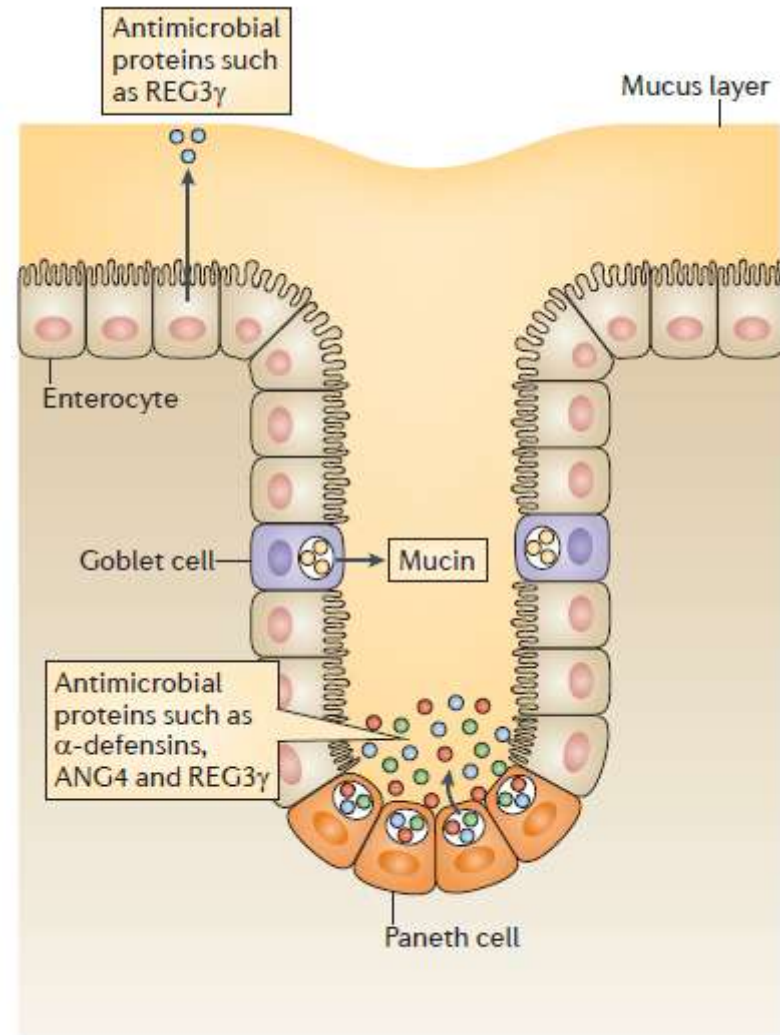


Pang T. et al. *Frontiers in Ped* 2014; 2: 1-12

Antimikrobiyal Savunma



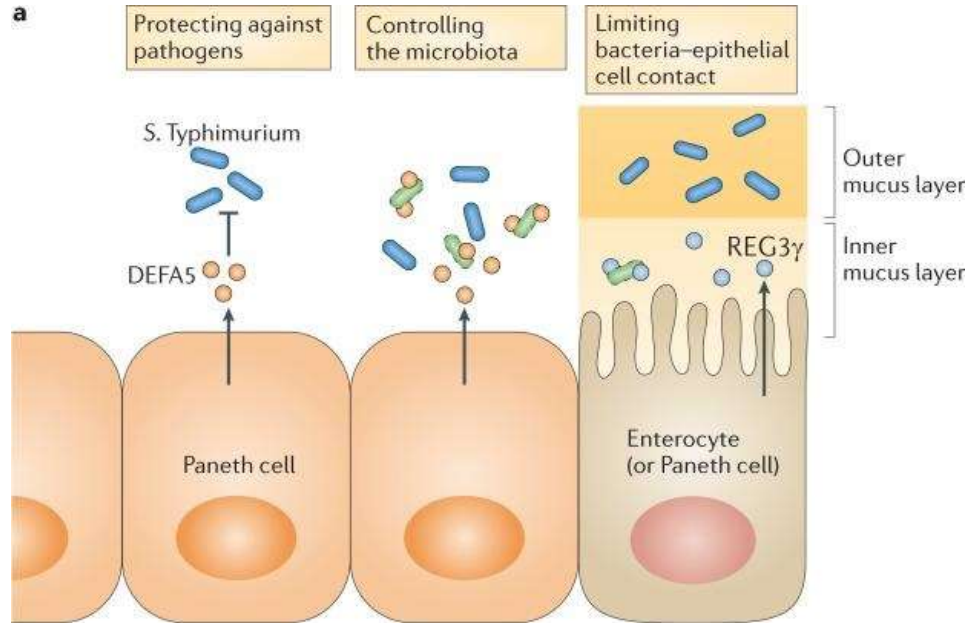
Sommer and Bäckhed - Nature 2013



Gallo and Hooper - Nature 2013

Antimikrobiyal peptidler

- Defensinler,
- Kalprotektinler,
- Kathedisilinler,
- C-type lektin,
- Ribonükneazlar,
- Galektinler,
- Lipocalinler
- Lizozim,
- Peptidoglikan tanıyan proteinler,
- Fosfolipaz A2,
- S100 proteinleri
- Psoriasin proteinleri
- Osteoprotegerinler

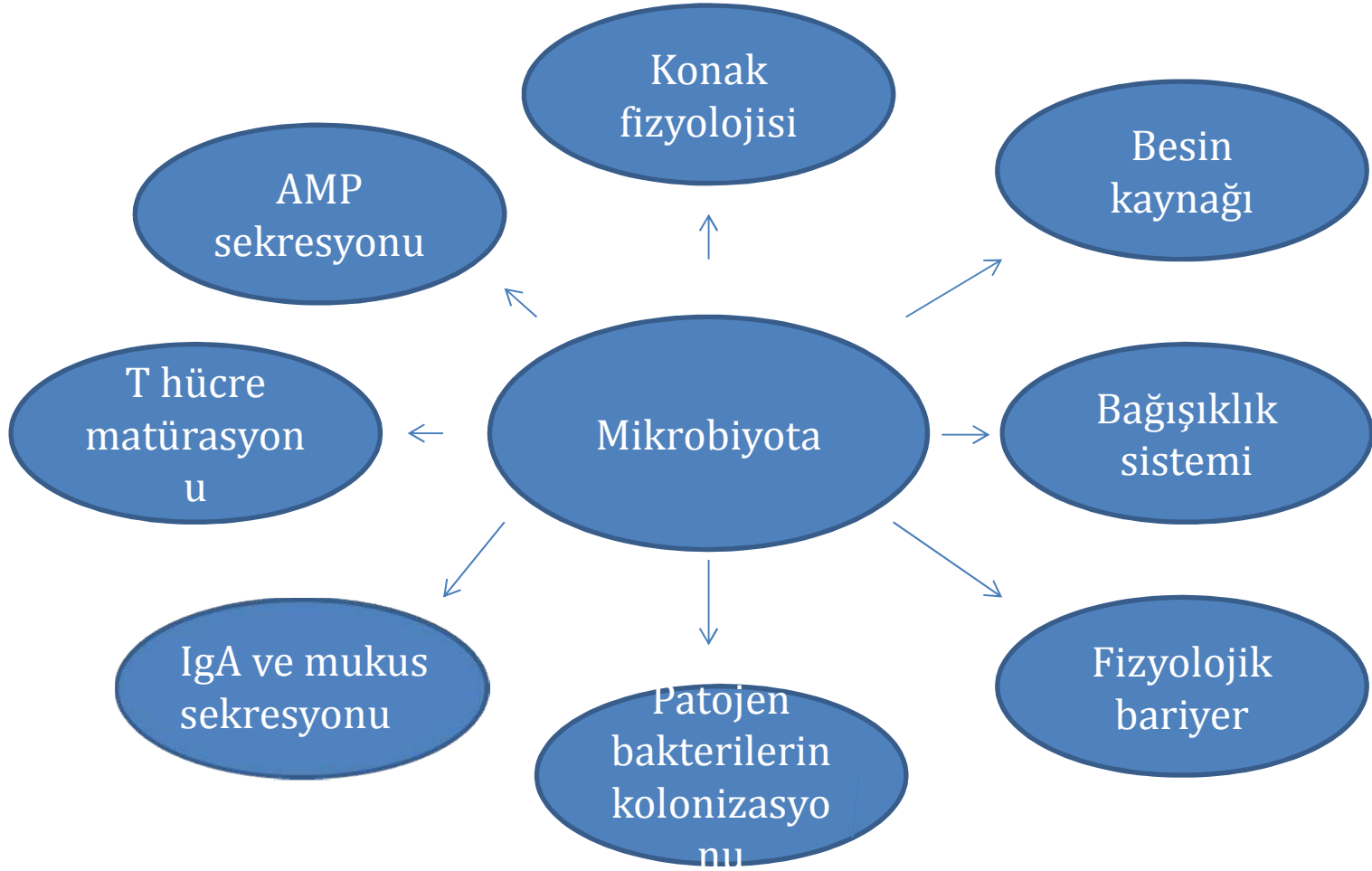


- Bu alandaki farklı çalışmalar, AMP' lerin

- patojen kolonizasyonunu engellemekte
- mikrobiyota popülasyonunu şekillendirmekte
- bakteri-epitel hücresi temasını sınırlamaktadır

Mikrobiyota

- Yetişkin insan bağırsağında yaklaşık olarak 100 trilyon (10^{14}) sapofit bakteri hücresi bulunmaktadır ve bu rakam bizim sahip olduğumuz hücre sayısının 10 katıdır.
- Bu mikrobiyota archeal ve bakteriyel hücreden oluşan ve yaklaşık 1000 türü kapsayan bir kompleks topluluktur.



Obezite ve Bağırsak Mikrobiyotası

Özellikle son 10 yılda yapılan çalışmalarda bağırsak mikrobiyotasının, konağın besinden enerji emilimini artırıp periferik metabolizmayı kontrol ederek obezite etiolojisinde rol oynayan bir faktör olduğu düşünülmektedir..

Obezitede değişen mikrobiyota nedeni ile metabolizma kontrolü yapılamamaktadır.

Çalışma Amacı

Anneye uygulanan yüksek yağlı diyetin, AMP ve bağırsak mikrobiyotasındaki değişikliklere bağlı olarak yavruda AMP ve mikrobiyota aracılı obezojenik altyapıyı oluşturup oluşturmadığını araştırmaktır

Deney Düzenegi

YYD Grubu, n=10, 184 kalori/gün/hayvan

5 haftalık dişi Wistar alımı
Kontrol/YYD diyet başlangıç



Kontrol grubu, n=10, 113 kalori/gün/hayvan

- Yavrular 20. güne kadar sadece anne sütü + 90. güne kadar standart yem ile beslendiler.
- Anneler 180 gün ve emzirme süreci boyunca 20. gün de YYD ile beslendiler.
- Yavru ratlar 20. günde süttten kesildiler/kestirildi.

Yüksek Yağlı Diyet

Enerji ve Besin Öğeleri (100 g)	Toplam kcal	Toplam yağ g	Toplam Karbonhidrat g	Protein g	Şeker g
Normal Yem: SC 7001 (Harlen)	382	4	54	25	0
Çay Keyfi (Eti)	462	20.4	67.8	5.8	28.5
Hoşbeş (Eti)	493	24.5	63.9	7.6	28.4
Hammeller (Ülker)	427	18.1	62.1	3.9	25.0
Doritos (Frito-Lay)	491	24.5	60.5	7.2	2.3
Lays Klasik (Frito-Lay)	529	33	51	7.0	0
Pringles	515	33	51	4.0	3.2
Crunch (Nestle)	486	26	69	6	51
Yaş pasta	567	33	57	3	33
Burçak (Eti)	450	17.7	71	7.2	20.4
Nesquik mısır gevreği (Nestle)	372	4.1	76.1	7.6	30.7
Kombo (Eti)	481	21.7	68.5	6.2	29.6
Çizi (Ülker)	473	21.4	64.3	5.8	0
Lays Wavy (Frito-Lay)	536	36	54	7	0

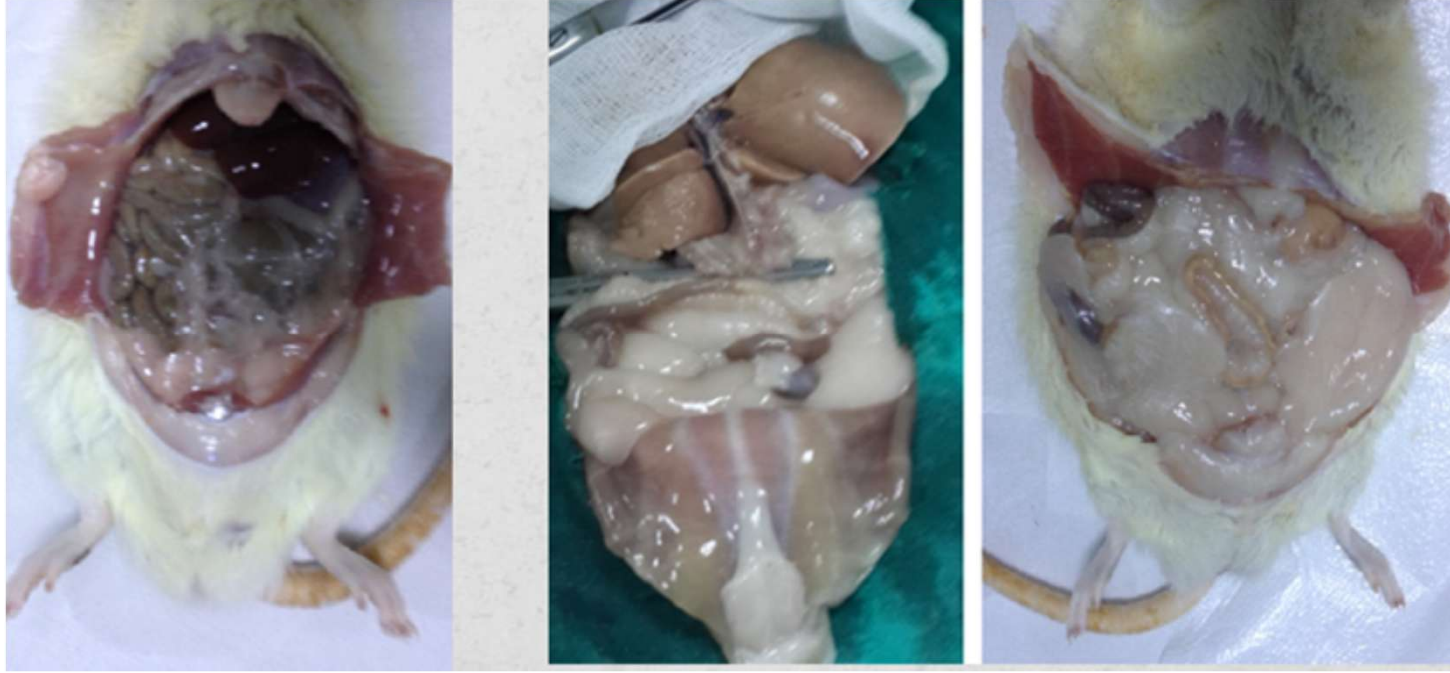
Bakılacak Parametreler

- Annede kilo ve insülin direnci
- Yavrularda 20, 30 ve 90 günlük hayvanların bağırsak mukozasındaki mucin 2 ekspresyonu
- Antimikrobiyal peptitlerin ekspresyonu
- Sitokin ekspresyonuna microarray yöntemi ile bakıldı.





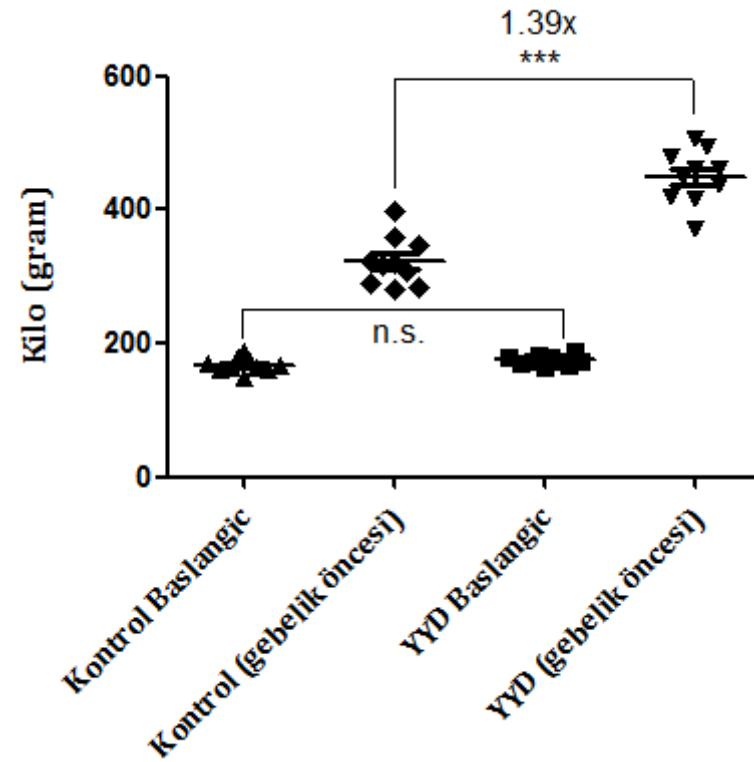
Diyet Sonrası



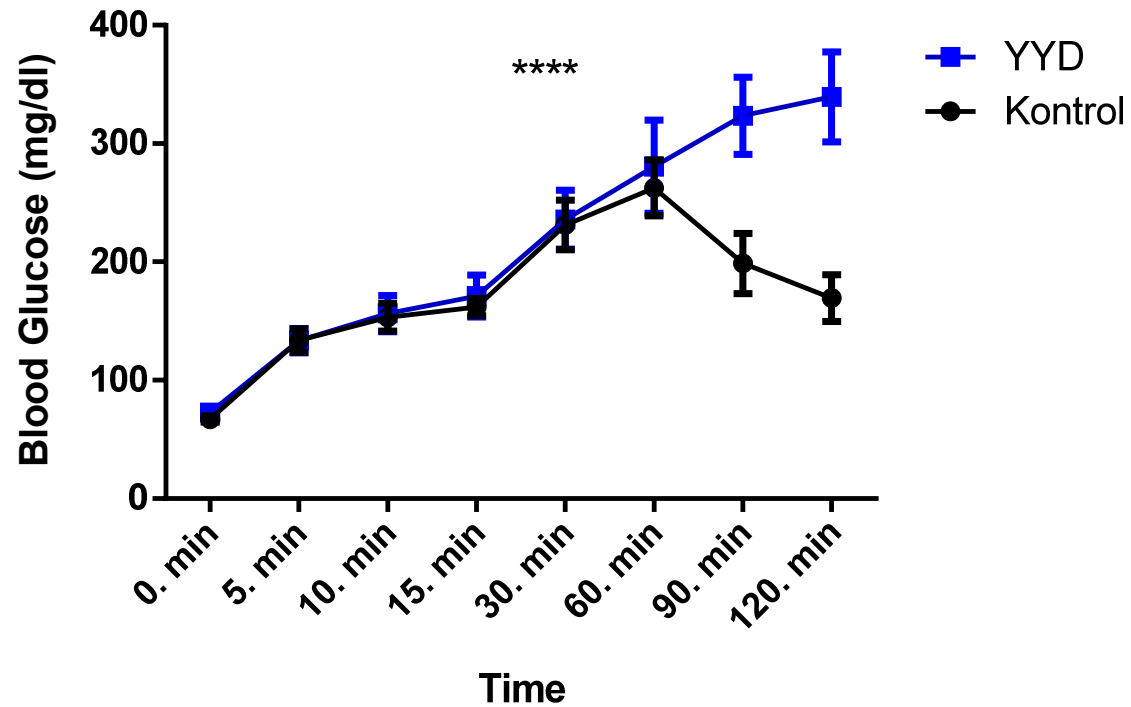
Kontrol

Yüksek Yağlı Diyet

Beslenmenin Etkileri



Annelere Ait Glukoz Tolerans Testi



Bulgular ve Tartışma

Laboratuvar parametreleri

- 2 kat ve üzerinde değişiklik gösteren parametreler anlamlı olarak değerlendirildi.
- 20. ve 30. günde en az 2 kat artan ve azalan tüm parametreler 90. günde 2 katın altında değişim gösterdiler.

Bulgular

- AMP lerin en önemli grubu olan defensinler (defensin alpha-like 1 Defal1, defensin NP-4 precursor (Np4), defensin beta 43 (Defb43), defensin alpha 9 (Defa9) genlerinin hem 20. hem de 30. günlük ratlarda kontrol grubuna göre en az 2 kat azaldılar ve 90. günde değişiklik kayboldu.
- C-type lektin ailesinden genlerde sadece 20 günlük ratlarda azalma saptanmış bu değişiklik 30. ve 90. günlerde kaybolmuştur.

Bulgular

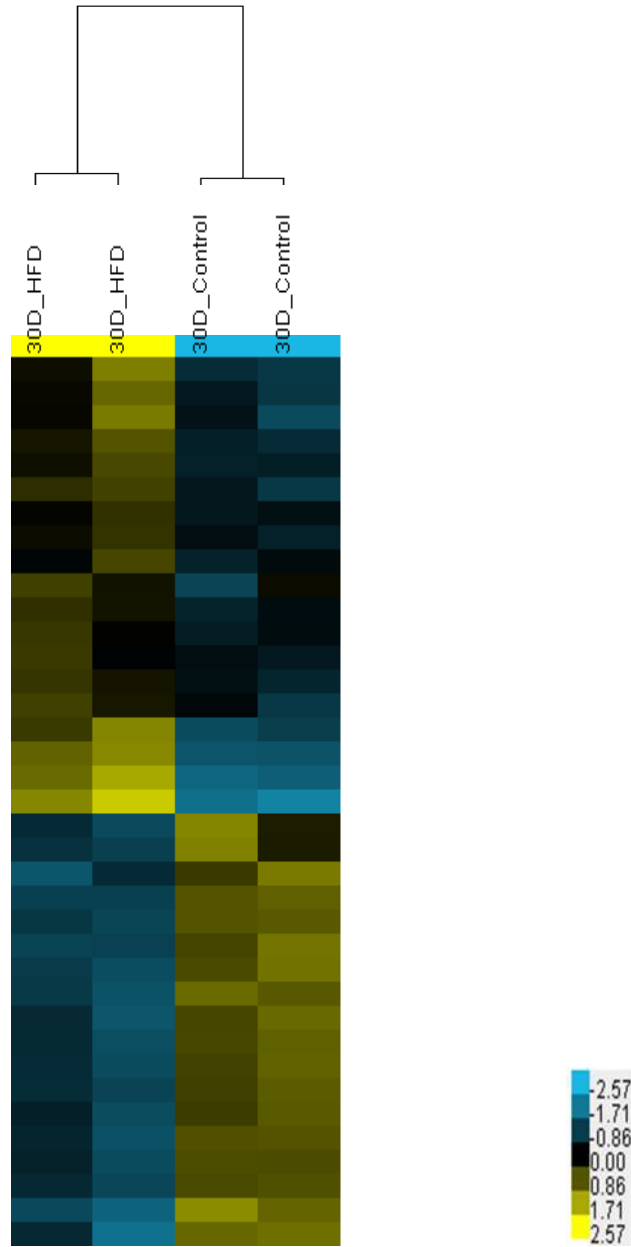
- Chemokin ligandlardan 20 ve 6 20. ve 30. günlerde azalırken CC ligand 3 anlamlı düzeyde artmıştı. Her üç ligand da 90. günde anlamsız düzeye indi.
- IL profillerinden IL1,7,11,21 , 20. günde en az 2 kat azalma saptanırken bu değişim 30. ve 90. gün ratlarında kayboldu.

- 30 günlük yavrularda mukus tabakasını oluşumunda rol alan mucin 1 gen ifadesinde en az 2 kat azalma saptandı.

20 gün HF grubunda
ifadesi anlamlı olarak
değişen anti microbial
genler



Bu clusterdaki genler 30 gün HF grubunda ifadesi anlamlı olarak değişen anti microbial genler





Bu clusterdaki genler 20 gün HF ve 30 gün HF grubunda ifadesi anlamlı olarak değişen anti microbial genlerin 3 aylık örneklerdeki değişimini gösteryor.

Tartışma

- Yüksek yağlı diyetle (YYD) beslenme sonrası probiyotik kolonizasyonunun önemli ölçüde azaldığı ve patojen bakterilerin kolonizasyonuna zemin hazırladığı önceki çalışmalarda belirtilmektedir.
- Bizim çalışmamızda da YYD grubunda probiyotik bakteri kolonizasyonunda azalma/değişiklik olduğu, dolaylı olarak anlaşılmaktadır.

Tartışma

- YYD grubunda probiyotik kolonizasyon kaybı/değişiklik nedeni ile probiyotikler tarafından oluşturulan basal immün stimülasyon azalmış ve sitokin salınım düzeyleri azalmıştır.

Tartışma

- Yine YYD grubunda probiyotik kolonizasyon kaybı nedeni ile antimikrobiyal peptidlerin en önemli grubu olan defensin sekresyonu azalmıştır. Bu yüzden YYD grubunda enfeksiyona yatkınlık artmıştır.

Tartışma

- C-tipi lektin ailesi Ca^+ iyonları varlığında karbonhidrat bağlayan protein domainleridir.
- Hücre-hücre adezyonu, patojenlere karşı bağışık yanıt ve apoptozdan sorumlu moleküllerdir.
- Bakterilerin üzerinde bulunan kompleks oligosakkaritler ve kanda bulunabilen glikoproteine bağlanırlar.

Tartışma

- YYD grubunda, probiyotik kolonizasyonuna bağlı olarak bakteri-immün hücre kontaktının azaldığı ve bu nedenle C-tipi lektinlerin sentezinde azalma olduğu, ve 90 günde sentez seviyelerinin kontrol grubu ile eşitlendiği saptanmıştır.

Tartışma

- Yavru ratlar sadece 20 gün anne sütü aldıklarından 20-90 gün arası probiyotik kompozisyonlarının düzeldiği, bu sayede de anlamlı değişen tüm parametrelerin (C-tipi lektinler, defensinler ve interlökinler) kontrol grubu ile seviye farkları kalmadığı saptanmıştır.

TEŐEKKÜRLER