

Aspartam

Metabolizması ve toksisitesi

ASPARTAME: METABOLISM AND TOXICITY

Terken BAYDAR*, Gönül ŞAHİN**

* Uz.Ecz.Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Toksikoloji ABD,

**Prof.Dr.Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Toksikoloji ABD, ANKARA

Sakarinin 1879 yılında keşfedilip ticari kullanıma girmesiyle özellikle düşük kalorili yeni tatlandırıcılar için yoğun araştırmalar başlamıştır. Bilindiği üzere sentetik tatlandırıcılar sadece diyabetli hastalar tarafından değil aşırı kilo sorunu olan kişilerce de sıklıkla kullanılmaktadır. Sakarinin güvenilirliği üzerindeki çeşitli tartışmalar ve siklamatların karsinojeniteleri nedeniyle kullanımlarına kısıtlama getirilmesi bu sektördeki çalışmalarını stimüle etmiş, bu yönde doğal orjinli bileşiklerin arayışına gidilmiştir. Bu maddelerden bazıları doğal proteinler veya polipeptidlerdir. Piyasaya sürüldüğü yıllarda dünyadaki tüm karbohidrat olmayan tatlandırıcıları satış dışı bırakan aspartam da bir dipeptittir (1,2).

Aspartam (ASP), L-aspartik asit ve L-fenilalanin olmak üzere iki amino asitten oluşmuş bir aspartilfenilalanin metil esteridir (Şekil 1). Aspartam fenilalanin (ağırlığın %50'si), aspartat (ağırlığın %40'ı) ve metanol (ağırlığın %10'u)'den meydana gelmiştir. Beyaz ve kokusuz kristal toz şeklindeki ASP, tatlı lezzetiyle bugün dünyada yaygın kullanılan ticari bir sentetik tatlandırıcıdır. Sukrozdan 180-200 kez daha tatlı olması ve aynı tatlılığı kalori içeriğinin sadece %5'i ile sağlaması aspartamı daha üstün ve popüler hale getirmiştir. Halen Amerika'da 1500'den fazla gıda ürününde bulunmaktadır (3,4).

Kristalize formda tamamen dayanıklıdır, sulu ortamlarda ise stabilitesinde üç faktör rol oynar:

süre, sıcaklık ve pH değeri. Uzun süre pişirme sırasında tatlılığı kaybeder. Nispeten dayanıklı sayılan ASP sıcaklık yükselmesi, pH aşırılıkları ve/veya nem miktarına bağlı olarak 2 farklı izomeri olan a ve b ASP ile siklo-ASP ve metanole dekompoze olur. Siklo-ASP ise aspartamın diketopiperazini olarak anılır (4-6). Şekil 2 ve 3'de sırasıyla sıcaklık yükselmesiyle oluşan diketopiperazin yüzdeleri ve sabit sıcaklıkta pH değişimi ile aspartamın stabilitesindeki değişiklikler görülmektedir.

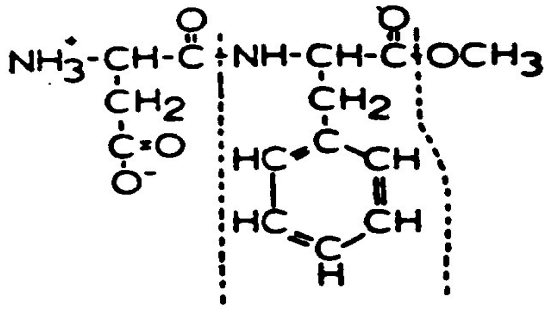
1965 yılında keşfedilen aspartam için 1971 yılında Gıda ve İlaç Birliğine (Food and Drug Administration-FDA) güvenilirliği konusunda yeterli verilerle başvuruda bulunulmuştur (3). FDA tarafından kuru gıdalarda 1981'de, karbonatlı alkolsüz içeceklerde 1983'de kullanılabilmesi için onay verilmiştir (4,7). FDA'ya göre günlük müsaade edilen alım miktarı (Acceptable Daily Intake- ADI) 50 mg/kg (vücut ağırlığı)'dır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) ise ADI değerini 40 mg/kg (vücut ağırlığı) olarak sınırlamıştır (7,8). Minimum letal doz kemiricilerde >5000 mg/kg olarak bildirilmiştir (9).

Farmakokinetiği

Aspartam, absorpsiyonu sırasında amid ve ester hidrolizini takiben hızla ve tamamen içerdiği amino asitlere (aspartik asit ve fenilalanin) ve metanole metabolize olur (Şekil 4) (10). Ya intestinal lümeninde fenilalanin, aspartat ve metanole hidrolize olur, bu bileşikler lümeninden absorblanır, ya da alternatif olarak peptid transport mekanizmasıyla mukoza hücrelerinde doğrudan absorblanır ve barsak veya karaciğerdeki intraselüler peptidazlarla fenilalanin, aspartat ve metanole hidroliz olur, portal dolaşıma girer (3,11) (Şekil 5) Tek doz as-

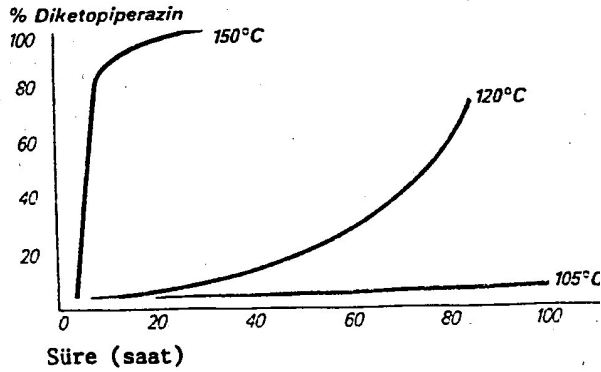
Geliş Tarihi: 04.10.1996

Yazışma Adresi: Dr.Terken BAYDAR
Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Toksikoloji ABD, 06100 ANKARA

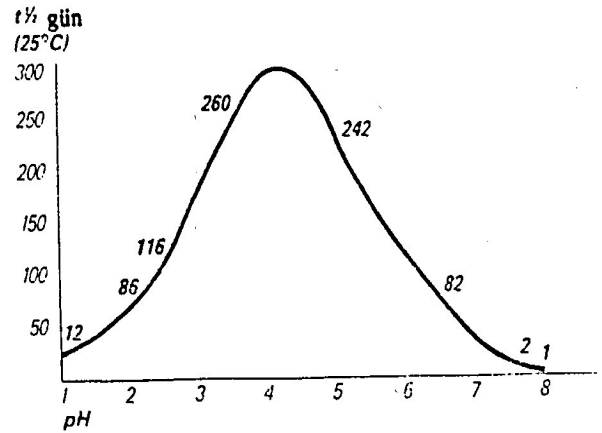


Şekil 1. Aspartamın kimyasal yapısı.

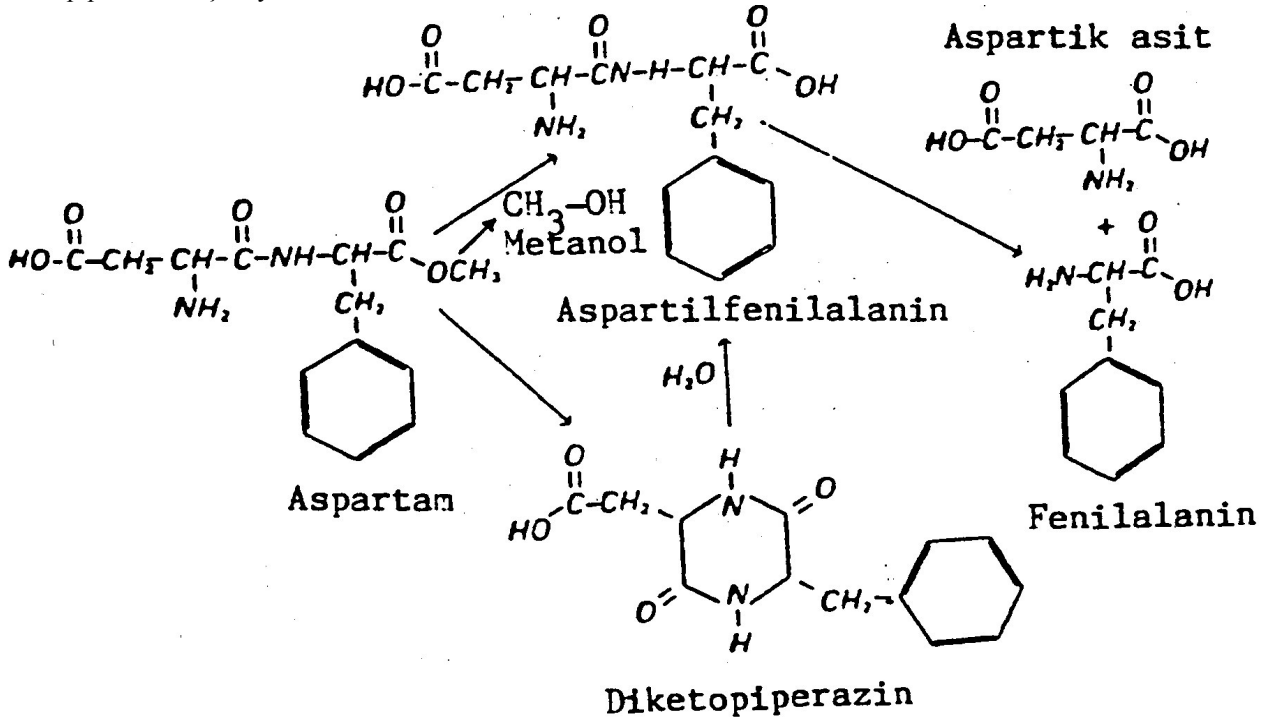
partam çalışmalarında aspartamın biriktiğini gösteren bir kanıt bulunamamıştır, hızlı bir metabolizması vardır. İşaretili aspartam ile yapılan çalışmalarda özellikle protein yapım ve yıkımının hızlı olduğu organlar başta olmak üzere, aspartamın bütün vücuda dağıldığı gösterilmiştir. [¹⁴C] aspartam ve [¹⁴C] metanol, [¹⁴C] aspartik asit, [¹⁴C] fenilalanin ile yapılan karşılaştırmalı çalışmalarda aspartamın metabolizmasının amino asit ve metanol kısımlarının metabolizmasına benzer şekilde olduğu ve idrar, feçes ve ekspire edilen havayla itirah edildiği deney hayvanlarında gösterilmiştir (12).



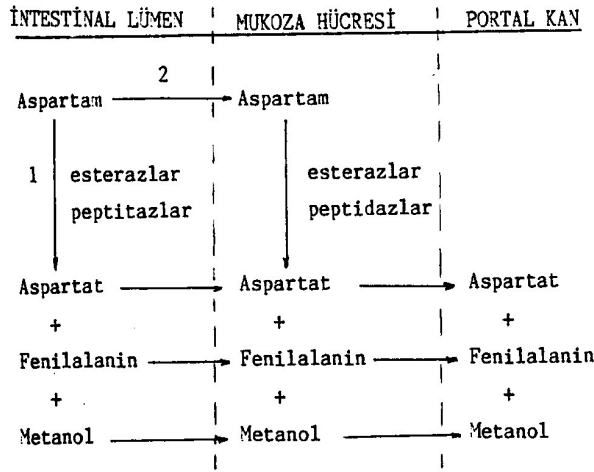
Şekil 2. Sıcaklık yükselmesine bağlı olarak aspartamdan diketopiperazin oluşma yüzdeleri.



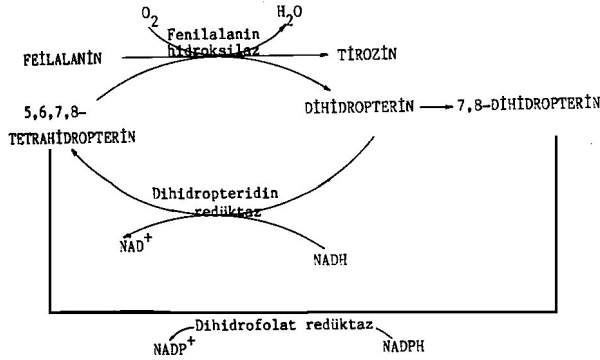
Şekil 3. Sabit sıcaklıkta pH değişimine bağlı olarak aspartamın stabilitesi.



Şekil 4. Aspartamın metabolizması.



Şekil 5. Aspartamın absorpsiyonu ve dağılımı.



Şekil 6. Fenilalaninin hidroksilasyonu.

Aspartamın metabolizması ve toksisitesi, yıkım ürünleri olan amino asitler (fenilalanin, aspartik asit) ve metanol olmak üzere iki kısımda değerlendirilecektir.

a) Fenilalanin

Aspartam molekülünün ağırlıkça yarısını oluşturan fenilalanin vücut proteinleri için esansiyel bir bileşik, normal vücut fonksiyonları için gerekli birçok aromatik bileşik için önemli bir prekürsördür. Aspartam içeren ürünlerin kullanılmaya başlanmasını takiben bildirilen istenmeyen etkilere ait raporlarla birlikte insan ve hayvanlarda yapılan davranış çalışmaları araştırılmaya ve tartışılmaya başlanmıştır. Sıçanlarda ve insanlarda aspartamın oral tüketilmesiyle vücutta sirküle olan fenilalanin konsantrasyonunun arttığına gösterilmesi ve buna bağlı olarak beyin fonksiyonlarının

değişebileceği görüşünü gündeme getirmiştir (3,13,14).

Memeliler sentez edemedikleri için fenilalanini gıdalardan alırlar. Yetişkin bir insan için ortalama günlük fenilalanin gereksiniminin yaklaşık 12 mg/kg olduğu bildirilmektedir (13). Fenilalanin mikrozomal enzim sisteminde geridönüşümsüz hidroksilasyonla tirozine dönüşmektedir. Tirozin α -ketoglutarat ile p-hidroksifenilpiruvata, p-hidroksifenilpiruvat oksidasyonla homogentisik aside ve yine oksidasyon ve hidroksilasyonla asetoasetat ve fumarata dönüşmektedir. Fumaratın ise glukoz prekürsörü olduğu bilinmektedir. Fenilalaninin tirozine dönüşümünde ana enzim fenilalanin hidroksilazdır (fenilalanin 4-monoksijenaz) ve sadece karaciğerde bulunmaktadır; ancak böbrek ve pankreasda da az miktarlarda saptanmıştır. Fenilalanin hidroksilaz dışında enzim sisteminde dihidropteridin redüktaz enziminin rol aldığı ve tetrahydrobiopterin (BH₄) ile redükte piridin nükleotidinin (NADPH) kofaktör olarak kullanıldığı gösterilmiştir. Ekimolar miktarlarda fenilalanin oksijen ve NADPH tüketerek ekimolar miktarda tirozin oluşturmaktadır. Ayrıca dihidrofolat redüktaz enzimi de inaktif 7,8-dihydrobiopterinden aktif BH₄ dönüşümünde gerekli yardımcı bir komponenttir (Şekil 6) (13). Bu enzim sisteminin aktivitesine etkili olan birçok faktör in vitro olarak incelenmesine rağmen in vivo çalışmaların çoğu henüz yetersizdir. Fenilalanin hidroksilazın allosterik olarak fenilalanin ile aktive olduğuna dair in vitro raporlar mevcuttur. Tetramer yapısındaki bu enzimin herbir monomeri bir fenilalanin bağlamaktadır. Ortamda fenilalanin bulunmadığında purifiye edilen enzimin inaktif ve 0.06 mM fenilalanin (pH 7.4) varken %50 oranında aktif olduğu gösterilmiştir. Ancak triptofan, metionin ve diğer birçok amino asit ile de ön inkübasyona bırakılan enzimin aktive olduğu gösterildiği için yüksek proteinli diyet veya fazla miktarda fenilalanin alımından sonra da fenilalanin hidroksilaz enziminin aktivitesinde büyük artış beklenebilir (13). Oysa diyetle yüksek fenilalanin yüklemesinin sıçan ve hamsterde karaciğer fenilalanin hidroksilaz aktivitesini deprese ettiğine ait birçok rapor olmasına rağmen in vivo etkiler henüz tam olarak açık değildir.

Büyük miktarlarda ASP alımının orta derecede fenilalanin ve tirozin plazma düzeylerinin arttırdığı

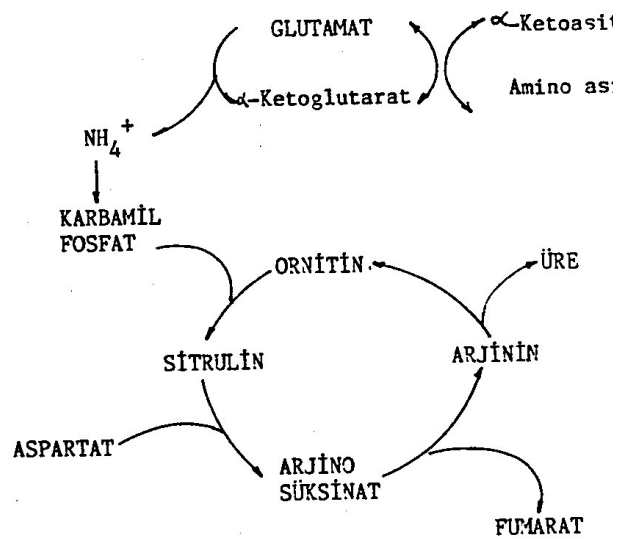
insanlarda ve deney hayvanlarında gösterilmiştir. Tirozinin beyinde katekolamin nörotransmitterleri olan dopamin ve norepinefrin; tiroidin, tiroksin ve triiyodotironin hormonları; deri ve diğer organlardaki melanin pigmenti ile elektron transportunda koenzim Q için prekürsör olduğu bilinmektedir (3,13). Amino asitlerin metabolizmasındaki genetik hastalıklarda bir veya daha çok amino asidin kanda akümüasyonu mental fonksiyonun bozulmasına eşlik etmektedir. Plazma ve beyin amino asit modelindeki değişiklikler ve amino asitlerin diyetle düzensiz olarak alınması nörotransmitterlerin prekürsörleri olan amino asitlerin beyine alımlarını ve beyin nörotransmitter konsantrasyonlarını değiştirecektir (10,13). Çünkü kandan amino asitlerin (Large Neutral Amino Acids-LNAA) beyine geçmesi için stereospesifik ve doyurulabilir bir transport sistemi vardır. Çeşitli substratlar bu transport sisteminde aynı bölgeye bağlanmak için yarışır ve hayvanlarda fenilalaninin taşıyıcıya afinitesinin fazla olduğu gösterilmiştir. Ayrıca LNAA taşıyıcı sistemi normalde doygunluğa yakın olduğu için plazmada fenilalanin konsantrasyonundaki bir artış diğer esansiyel amino asitlerin plazma konsantrasyonlarında uygun bir yükselmenin dışında kompetitif inhibisyonla bu amino asitlerin kan-beyin engelini geçmelerini azaltacaktır. Ancak yine de insandaki bu taşıyıcı sistem için kan-beyin engelinde amino asitlerin relatif affiniteleri in vivo olarak tam bilinmemektedir. Ama izole edilmiş insan beyin kapillerinde yapılan in vitro deneyler sonucunda fenilalanin için biri yüksek ($K_m=0.26 \mu\text{mol/L}$) ve diğeri düşük ($K_m=22.3 \mu\text{mol/L}$) olmak üzere iki affiniteli taşıyıcı sistem bulunduğu gösterilmiştir. Düşük affiniteli taşıyıcının kan-beyin engelinde önemli olduğu öne sürülmektedir (15). Bu yolla fenilalanin ve tirozinin aynı transport sınıfında yer alan diğer amino asitlere (lösin, izölösin, triptofan gibi) göre plazma oranlarının artma yönünde değişmesi diğer LNAA'lerin santral sinir sistemine (SSS) girişini azaltmaktadır. Norepinefrin, dopamin ve 5-hidroksitriptamin (serotonin) prekürsörleri olan fenilalanin, tirozin ve triptofanın beyin içeriğindeki konsantrasyonlarının değişimi nörotransmitter konsantrasyonunu değiştirecek ve SSS'e reseptör bağlanmasına etkili olacaktır. Bu yönlü nörotransmitter fonksiyonlarını etkilediği ve böylece davranış bozukluğunu indüklediği öne

sürülse de henüz bir çok çalışmada aspartam alımının sorumlu tutulduğu bu istenmeyen etkiler kesinlik kazanmamıştır. Aspartamın uzun süre alınmasıyla, amin nörotransmitter reseptörlerinin nörokimyasal etkilerinin kısıktırıldığı ama hipokampal veya serebral kortikal norepinefrin, serotonin ve dopamin veya striatal dopamin konsantrasyonlarının değişmediği gösterilmiştir. Ancak fenilalanin (veya tirozin) düzeyindeki bir artışın beyin nörotransmitterleri olan serotoninin prekürsörü triptofanın alımını azaltacağı ve fenilalanin artışının serotoninin biyosentez düzeyini dolaylı olarak etkileyeceği, böylece beyin fonksiyonlarının değişebileceği düşünülmektedir (10,16-18).

b) Aspartat

Aspartam molekülünün ağırlıkça %40'ını oluşturan aspartik asit esansiyel olmayan bir amino asittir. Yaygın bir gıda aditifi olarak kullanılan glutamata kimyasal olarak çok benzerdir; her iki amino asit de dekarboksilik asit yapısındadır. Glutamat ve aspartat çeşitli vücut dokularında, özellikle mitokondride, nispeten yüksek düzeyde bulunurlar. Glutamat ve aspartat nitrojen ve enerji metabolizmasında önemli rol oynamaktadırlar. Hücrenin fonksiyonel enerji üreten komponenti olan trikarboksilik asit siklusunun ana girişinde yer alırlar (Şekil 7) (10,19).

Glutamat, hücrenin sitoplazmik ve mitokondriyel fraksiyonlarında glutamat dehidrojenaz enzi-



Şekil 7. Nitrojen transferinde aspartik asit ve glutamatın rolü.

mi ile a-ketoglutarat ve amonyum iyonlarına dönüşür. Mitokondride glutamatın hemen okside olmasıyla NADH oluşmaktadır. a-Ketoglutarat ise trikarboksilik asit siklusunda karbondioksit ve suya oksitlenir, bu sırada ATP meydana gelir. Aspartat da metabolizmaya benzer şekilde girmektedir. Aspartatın mitokondriye girişi transaminasyonla ve a-ketoasitler ile oksaloasetat oluşturmaktır (19).

Glutamat ve aspartat diyetel proteinlerdeki total amino asitlerin içerisinde önemli miktarlarda yer alırlar. Özellikle süt %20-25 oranda bu amino asitleri içerir. İntestinal lümeninden absorpsiyonları glutamatın ve aspartatın serbest veya bağlı formda olmalarına bağlıdır. Serbest olarak alındıklarında intestinal lümeninden aktif transportla absorplanırlar. Eğer proteine bağlı formda iseler spesifik intraselüler peptidazlarla amino asit içeriğine hidroliz olurlar. Serbest veya bağlı formda diyetel alımları farklı plazma konsantrasyonlarına neden olmaktadır (3,19).

Amerika'da parenteral beslenmede kullanılan birçok amino asit solüsyonu glutamat ve aspartat içermemektedir. Bu amino asitleri parenteral solüsyonların dışında bırakan bir neden de bazı hayvan türlerinde bildirilen nörotoksisite potensiyelidir. Bu amino asitlerin plazma düzeylerinin çok büyük oranda yükseldiği durumlarda nörotoksisite bildirilmiştir. İnsanlarda serbest veya bağlı aspartat veya glutamat içeren gıdaların tüketilmesiyle meydana gelen nörotoksisite raporu olmasa bile beslenmeyle plazma düzeylerinin ne yönde etkilendiğinin bilinmesi önemlidir. Buna ilaveten protein ve karbonhidratca zengin diyetle aynı zamanda alındıklarında plazma glutamat/aspartat düzeylerinin suya kıyasla azalma yönünde etkilendiği bildirilmektedir (10,19).

Nöral nekroz oluşmasında en önemli faktörlerden biri glutamatın ve aspartatın kan-plazma ve beyindeki toplam konsantrasyonlarıdır. Bu amino asitlerin kandan beyine geçişleri kan-beyin engeline bağlıdır ve genelde bu bariyerle geçişleri engellenir. Ancak sirkumventriküler organlar geçişi sağlamaktadır ki büyük dozlarda glutamat ve aspartat verilmesiyle oluşan nöral nekroz, kavisli nukleus veya preoptik bölge gibi sirkumventriküler organlara bitişik bölgelerde tipik olarak gözlenmektedir (10).

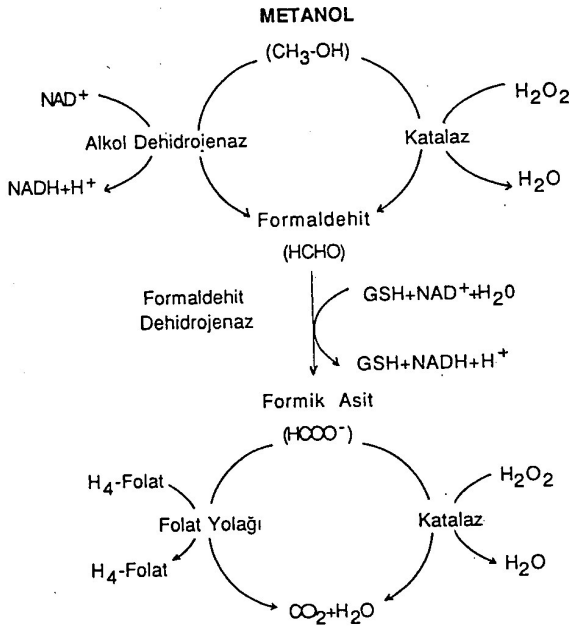
Henüz kan-beyin engeli tam olarak fonksiyonelleşmeyen neonatal grup glutamat ve aspartatın indüklediği nöral hasara karşı çok hassastırlar. Ayrıca glutamat/aspartat metabolizmaları yetişkinlere göre daha yavaş olduğu için yüksek plazma konsantrasyonlarına sahiptirler (10). Kemiricilerin yaklaşık %20'sinde aspartat veya glutamat veya bunların kombinasyon dozlarında (500 mg/kg) hipotalamik nekrozun histopatolojik belirtileri gözlenmiştir. Patofizyolojik mekanizmalar bilinmemekle beraber glutamat ve aspartatın eksitator nörotransmitter gibi davrandıkları bilinmektedir (3).

Fare, maymun ve insanlarda yapılan araştırmalar türler arası aspartat ve glutamat metabolizmasının farklılığını ve primat yavrularında bu amino asitlerin nöronal nekroz oluşturma kapasitelerinin şüpheli olduğunu ortaya koymuştur (10,19,20).

c) Metanol

Aspartam molekülünün ağırlıkça %10'unu oluşturan üçüncü önemli bileşenidir. Bir dipeptid metil esterli olan aspartamın peptid kısmının absorpsiyonu ve metabolizması sırasında metanol salınmaktadır (3). Büyük miktarlarda metanol alınmasının kan metanol ve formik asit konsantrasyonunun yükselmesine, metabolik asidoz ve körlük gibi çeşitli toksik etkilere neden olduğu bilindiği için aspartamın bu kısmını toksikolojik açıdan ayrıca değerlendirmek ve metanolden biraz söz etmek yerinde olacaktır. Metanol endüstride çözücü olarak yaygın kullanılmaktadır. Alkollü içkilerde safsızlık olarak bulunabildiği gibi alkol bağımlılarında da kasti veya kazai olarak tüketilmektedir (20). Bunların dışında taze meyva ve sebzelerin tüketimiyle ince barsak bakterileri veya metanol oluşturan enzimlerin hipofizde S-adenozilmetioninin üzerine etkisiyle metabolik yolla da endojen olarak metanol oluşabilir. Diğer taraftan aminopirin, diazepam ve kodein gibi metil grubu içeren ilaçların çoğu dahil olmak üzere birçok ksenobiyotiğin özellikle demetilasyonu ve/veya geri redüksiyonu ile endojen olarak metanol oluşmaktadır (21,22).

İnsanda metanol toksisitesi 12-24 saatlik latent periyodu ve bunu takiben oluşan formik asit nedeniyle metabolik asidoz, şiddetli optik hasar ve kalıcı körlük ile karakterizedir. Endojen nedenlerle oluşan metanolün normal kan konsantrasyonu yak-



GSH: Glutatyon
H₄-Folat: Tetrahidrofolat

Şekil 8. Metanolün biyotransformasyonu.

laşık 0.05 mg/dL'dir. Bu düzey toksik kabul edilmemektedir. 20 mg/dL metanol kan konsantrasyonu olan kişilerde zehirlenme belirtisi görülme bile belirti ve semptomlar dikkatle izlenmelidir. 50 mg/dL kan metanol konsantrasyonunda ağır asidoz ve 100 mg/dL'nin üzerinde kalıcı körlük gözlenmektedir (20,23).

Şekil 8'de metanolün biyotransformasyonu görülmektedir. Ancak metanol metabolizması ve toksisitesi türler arasında büyük farklılıklar göstermektedir (23,24). Metanolün insanlarda toksisite oluşturan miktarları bireysel değişkenlik göstermektedir. %40'luk metanolden 15 mL gibi küçük miktarlarda tüketilmesini takiben ölümlerin görülmesi yanında 500 mL gibi büyük miktarlarda toksisite görülmeyen kişiler de rapor edilmiştir. Bireysel faktörlerin yanında kişilerin folik asit düzeylerinin de metanolün formik aside dönüşümünde en önemli diğer faktör olduğu bildirilmektedir (23). Kronik alkolizmde B12 vitamininin ve folat koenzimlerinin fonksiyonları, yetersiz alım veya absorpsiyon ile bozulmaktadır. Bu nedenle özellikle folat düzeylerini değiştiren benzer patolojik durumlarda aspartam kullanımı metanol içeriği nedeniyle izlenmelidir.

Stegink ve ark. (25) değişik dozlarda (34,50,100,150 ve 200 mg/kg) aspartam verilen insanlarda kan metanol konsantrasyonlarını incelemişler, istatistiksel olarak anlamlı artışlar kaydetmişlerdir. Ancak yükselen kan-metanol konsantrasyonları toksisite riski oluşturmayacak kadar düşük bulunmuştur. Aynı çalışmada, metanolün toksik metaboliti olan formik asidin kan ve idrar konsantrasyonları da araştırılmıştır. Kan düzeylerinde anlamlı bir değişim olmazken idrar-formik asit düzeyleri anlamlı olarak artmıştır. Bu sonuçlara göre aspartamın normal kişilerde metanol kısmı nedeniyle taşıdığı toksisite potansiyeli düşüktür. Ancak uzun süre yüksek doz aspartam kullanımında kan ve idrar formik asit düzeylerinin artışı önemlidir ve bu konuda henüz kapsamlı bir çalışma yoktur.

Teorik olarak 555 mg/L aspartam içeren alkolsüz içki içilmesiyle vücutta 60 mg/L metanol oluşacağı hesaplanmaktadır. Bu değer ise normalde meyva sularındaki ortalama metanol içeriğinden (140 mg/L) daha düşük olduğu bildirilmektedir (26). Çeşitli doğal ürünlerde ve aspartam içeren içeceklerde metanol içeriği Tablo 1'de görülmektedir (27).

Ayrıca FDA'nın isteğiyle Amerika'da Hastalık Kontrol Merkezi (CDC-Center of Disease Control) aspartam bulunan aynı ya da farklı gıdaları tüketen 231 kişiyi takip etmiş, en sıklıkla başağrısı; anksiyete, iritasyon ve depresyon gibi ruhi değişiklikler; uykusuzluk, baş dönmesi ve yorgunluk semptomları kaydetmişlerdir (Tablo 2). CDC'nin yaptığı bu araştırmada en çok göze çarpan medikal komplikasyonlardan biri görme bozukluğu olmuş, görme ile ilgili problemlerin metanolle ilişkili

Tablo 1. Çeşitli içeceklerde metanol içeriği

	Metanol konsantrasyonu (mg/L)
Domates suyu	180-218
Üzüm suyu	12-680
Beyaz şarap	20-36
Kırmızı şarap	99-271
Brendi	181-2425
Alkolsüz içecek	55
(aspartamla tatlandırılmış)	

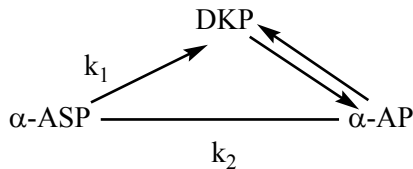
Tablo 2. Hastalık kontrol merkezinin aspartam tüketen 231 kişi üzerinde yaptığı araştırma sonuçları

Semptomlar	%
SİNİR SİSTEMİ	(n=91)
Baş ağrısı	45
Anksiyete, iritasyon, depresyon	43
Uykusuzluk	22
Baş dönmesi	21
Yorgunluk	20
Görme bozukluğu	9
Duygusuzluk	7
GASTROİNTESTİNAL	(n=35)
Karın ağrısı	46
Mide bulantısı	43
Diyare	31
Kusma	23
DERİ	(n=23)
Kızarıklık (veya diğer allerjik semptomlar)	
MENSTRUAL DÜZENSİZLİK (n=8)	

olduğu düşünülmüş, ancak metanolün oluşturduğu optik disk hasarlarıyla yaygın ve çeşitli iskemik optik nöropatilerin ayırt edilmesinin güç olması nedeniyle bu komplikasyonlar aspartamın metanol kısmına mal edilememiştir (3,28,29).

d) Diketopiperazin

Aspartamın kristal formu tamamen dayanıklıdır fakat sulu ortamda nispeten hızla bozulmaya uğrar. Isı ve pH farklılıklarıyla deşetasyon ilaveten hızlanmaktadır. Aspartam siklizasyonla diketopiperazin (3-fenilmetil-2,5 diketopiperazin-6-asetik asit, DKP) formuna veya hidroksilasyonla aspartil fenilalanin (α -AP) formuna dönüşmektedir, bu esnada metanol salınmaktadır. Nötral ve alkali pH'larda aspartamın deşetasyon yolağı aşağıdaki gibidir:



Dolayısıyla eğer aspartamla tatlandırılmış karbonatlı içecek 30°C'de 8 hafta saklanırsa aspar-

tamın %38'i bozulur ve oluşan kırılma ürünlerinin %12'sini DKP teşkil eder (3,30).

Diketopiperazin 1970'lerin başında bir toksin olarak dikkatleri üzerine çekmesine rağmen çok yüksek dozlarda bile karaciğerde detoksifiye olabileceği bildirilmiştir (3). Deney hayvanlarında genetik aktiviteye etkisinin olmadığı (31) ve mesanede tümörjenik etkisinin gözlenmediği (32) bildirilmiştir. DSÖ'nün bildirdiği ADI değeri 7.5 mg/kg dır (33).

I. Aspartam ve Patolojik Durumlarda Kullanımı

I.1. Fenilketonüri

Hidroksilasyon proseslerinin defektif fonksiyonu klinik olarak otozomal resesif bir hastalık olan hiperfenilalaninemi ya da fenilketonüri olarak isimlendirilmektedir (34). Ülkemizde fenilketonüri görülme sıklığı 1/3634'tür (35). Fenilketonüride total veya totale yakın hepatik fenilalanin hidroksilaz aktivitesinin yokluğu söz konusudur. Bu hastalar fenilalanin içermeyen diyetle beslenerek tedavi edilmektedir. Bununla birlikte hastaların %1-5'inin bu diyetle cevap vermesi ve nörolojik problemlerin ilerlemesi nedeniyle yapılan araştırmalar sonucu dihidropteridin redüktaz (DHPR) aktivitesindeki ya da tetrahydrobiopterin sentezindeki bir bozukluğa bağlı olarak da fenilketonüri gelişebileceği tespit edilmiş ve atipik fenilketonüri olarak isimlendirilmiştir (34). Türkiye'de tetrahydrobiopterin eksikliklerinin tüm hiperfenilalaninemilere oranı %15 gibi yüksek bir rakamdır (36). Bu genetik bir hastalıktır ve neden olan otozomal homozigot resesif geni 1:60 kişi taşımaktadır (10). Heterozigot fenilketonürlilerde plazma fenilalanin konsantrasyonu genelde az yükselmiştir ve fenilalanin klirensi normal kişilere göre daha uzundur. Fenilalanince sınırlı diyet uygulamayan fenilketonürlü homozigotlarda plazma konsantrasyonu 100-3600 $\mu\text{mol/L}$ yükseldiğinde mental retardasyon meydana gelmektedir (10). Resesif fenilketonüri geni taşımayan kişiler normalde 46-67 $\mu\text{mol/L}$ sınırlarında hızlı plazma fenilalanin konsantrasyonuna sahiptirler. Proteince zengin diyet alan yetişkinlerde bu düzey 90-120 $\mu\text{mol/L}$ 'e ulaşmaktadır (10).

Homozigot fenilketonüri rahatsızlığı olan ve bu nedenle fenilalanin sınırlı diyet uygulayan kişi-

lerin mutlaka aspartam tüketiminden kaçınması gerekmektedir. Atipik fenilketonüriyeliler ise aspartam kullanımında fenilalanin içeriğini gözönüne almalıdırlar. Çünkü şimdiye kadar akut doz aspartam ile yapılan çalışmalarda aspartamın bu grupta istenmeyen etkiler oluşturmadığı henüz kesinlik kazanmamıştır. Duyarlı kişilerde davranış ve kavrayış fonksiyonları üzerinde uzun dönem çalışmalara ihtiyaç vardır (14). Yapılan çalışmalar ışığında aspartam ADI limitleri içerisinde normal kişilerce veya heterozigot fenilketonüriyelilerce tüketilirse plazma fenilalanin konsantrasyonlarının pratik olarak yemek sonrası fenilalanin konsantrasyonları sınırları içerisinde olacağı bildirilmektedir (10).

1.2. Epilepsi

Sıçan ve farelerde yapılan çalışmalarda aspartam verilmesinden sonra nöbet yatkınlığının artmasıyla katekolamin konsantrasyonunun değişmesi arasında bir korelasyon olduğu bildirilmektedir. Aspartamın kendisi konvülsan ajan değildir, fakat kemiricilerde (sıçanda) değişik şiddetlerde nöbetleri potansiyelize ettiği gösterilmiştir.

Aşırı dozlarda aspartam (750 mg/kg gibi) verilmesinin metrazolün oluşturduğu konvülsiyonları potansiyelize ettiği fakat beyin nörotransmitter düzeylerindeki değişiklikler ile verilen aspartam arasındaki ilişkinin anlamlı olmadığı bulunmuştur (14,18,37).

İnsanlarda yapılan sistemik çalışmalarda epilepsili kişilerce aspartam tüketilmesine bağlı olarak nöbetlerin sıklığının ve şiddetinin arttığı doğrulanmıştır. Deneysel nöbet modellerinde bulunan sonuçlar çelişkilidir. Aspartamın aşırı dozlarında bile konvülsan etkili olduğuna dair bir çalışma yoktur, ancak kimyasal olarak indüklenebilen konvülsiyonlar için konvülsiyon eşliğini azaltan bir prokonvülsan olduğu öne sürülmektedir (38). Prokonvülsan etkisinin olmadığı fare ve kobaylarda gösterilmiştir (18,39).

1.3. Karaciğer Hastalıkları

Aspartamın yaygın kullanımı ve metabolitlerinin absorpsiyon karakteristikleri nedeniyle çeşitli karaciğer hastalığı olan kişilerde kullanımının güvenilirliği hakkında spekülasyonlar vardır. Başta bahsedildiği üzere ağırlıkca %50'si fe-

nilalaninden meydana gelen aspartamın bu kişilerce kullanılması karaciğer hastalığı olanlarda amino asit profilinin değişmesine ve ensefalopatik mental değişikliklerin oluşumuna sebep olabilir (40). Etiyolojisinde birçok faktörün rol aldığı portal sistemik ensefalopatide dallanmış zincirli amino asitler (isölösin, lösin, valin) ile aromatik amino asitler (fenilalanin, tirozin, triptofan) arasındaki oranın önemli olduğu ve plazmada bu oranın azalması ile portal sistemik ensefalopati arasında korelasyon olduğu düşünülmektedir. Ancak bu iddiaların yanında dallanmış zincirli ve aromatik amino asitler arasındaki oranın normal olmasına rağmen portal sistemik ensefalopatinin mevcut olduğu veya karaciğer bozukluğunda plazma amino asitlerindeki değişikliğin (düzensizliğin) her zaman ensefalopati ile sonuçlanamayacağı da gösterilmiştir. Alkolik karaciğer hastalığı olan kişilerde az çok yüksek aspartam verilmesinin plazma fenilalanin konsantrasyonunu yükselttiği fakat portal sistemik ensefalopatinin temelini etkilemediği de gösterilmiştir (41). Bunun yanısıra folat metabolizmasının değişeceği (alımın azaldığı, ıtrahın arttığı) kronik alkolizmde muhtemeldir ki karaciğere bağlı olarak metanol metabolizması da değişecektir. Metanol akümülyasyonu ve formik asit gibi toksik metabolitlerin oluşumu yüksek doz aspartam kullanımını ile muhtemelen artacak, bozulmuş olan karaciğer yeterince metabolizasyon yapamayacaktır. Eğer bunun doğru olduğu kabul edilirse bu grup hastalarda tespit edilmeyen önemli bir sağlık sorunu bildirilmektedir (41).

1.4. Diabetes Mellitus

Birçok çalışmada aspartamın diyabette glisemik kontrolü değiştirmedeği bildirilmiştir. İnsulin bağımlı ve bağımsız kişilere 18 hafta boyunca aspartam verilmesinin (2.7 g/gün) açlık kan şekeri ve glikolize hemoglobin düzeylerinin başlangıçtaki değerden veya plasebo verilen kontrol grubunun düzeylerine göre farklı olmadığı bulunmuştur (42). Başka bir çalışmada ise belirli bir süre aspartam verilen geniş bir grupta kan glukoz, trigliserit ve total lipidlere etkisinin olmadığı bildirilmiştir (43). İnsulin, glukagon veya büyüme hormonunun sekresyonuna etkisinin olmadığı bildirilmektedir (42).

II. Fizyolojik Dönemlerde Aspartam Tüketiminin Olası Riskleri

II.1. Gebelikte Aspartam Kullanımı

Bilindiği üzere annenin fizyolojik düzeni gebelik esnasında olağanüstü değişikliklere uğrar ve bunlardan bir çoğu da alınan bileşiklerin absorpsiyonu, dağılımı ve metabolizmasındaki değişikliklerdir. Gastrointestinal motilite, tahminen progesteronun düz kaslardaki inhibitör etkisi ile yavaşlamıştır ve absorpsiyon artma eğilimindedir. Dağılım hacminin büyümesi, idrar atılımının artması sonucu ekstraselüler sıvı boşluğu büyümüştür (43). Tüm memeli türlerinde serbest amino asitlerin çoğu fetusa anneden geçmektedir. Amino asit içeriği ve metanol içeriği nedeniyle de aspartamın plasental transferi ve metabolizması bu grupta önem kazanmaktadır.

Normal gebe kadınlarda fenilalanin plazma konsantrasyonu ortalama 3-5 µmol/dL (0.5-0.8 mg/dL)'dir. Fetal plazma düzeyi ise yaklaşık annenin 2 katıdır (3).

Maternofetal fenilalanin transferi konusunda yapılan akut doz çalışmalarında anneye verilen [¹⁴C] fenilalaninin fetal sirkülasyonda akümüle olduğu gösterilmiştir. Fetusa verilen işaretli maddenin anneye transferi ise minimal bulunmuştur. Bu çalışmada anneden fetusa aktif bir plasental fenilalanin transport mekanizması olduğu gösterilmiştir. Gebe tavşanlarda aspartamla yapılan kronik çalışmalarda da Ranney ve ark. hem fenilalaninin hem de tirozinin transplasental gradiyenti etkilemeksizin fetal kanda ve amniyotik sıvıda arttığını göstermişlerdir. Kerr ve ark. ise rhesus maymunlarına gestasyonda fenilalanince zengin diyet verildiğinde doğumda yükselmiş plazma fenilalanin düzeyi bulmuşlardır (43).

Aspartatın infant farede nörotoksik etkilere sebep olması nedeniyle plasental aspartat transferi plazmada normalde bulunan glutamatla beraber çalışılmıştır. Çünkü gelişmekte olan fetal beyinde, aspartatın anne tarafından alınmasıyla fetusda nöronal nekroz yapabileceği bildirilmiştir. Bunun üzerine bir grup araştırmacı çeşitli amino asitlerle plasentayı inkübe etmişler ve glutamat ve aspartatın intraselüler olarak tutulduğunu fakat plasental dokuca salınmadığını göstermişlerdir (44). Daha sonraki bir çalışmada ise gebe rhesus maymunları-

na aspartat ve işaretli aspartatı birlikte verilerek anne plazma aspartat düzeyinin dozla orantılı olarak arttığı, plasental transferin de olduğu gösterilmiştir. Ancak fetal sirkülasyonda aspartatın konsantrasyonunun edilmediği de bildirilmiştir. Bunun yanında anne plazma aspartat düzeyi normal plazma değerinin 100-500 katı olduğu zaman plasental transferin meydana geldiği gösterilmiştir (43).

Aspartamdan salınan metanolün plasental transferi ve fetal etkileri hakkındaki bilgiler azdır. Ancak yüksek dozlarda fetal maruziyette metanolün teratojen ve nörotoksik olduğu gösterilmiştir (45).

Gestasyon sırasında gavajla aspartam verilen tavşanların yavrularında doğum ağırlığı, mobilite veya iskelet malformasyonunda değişiklik görülmemiştir (45).

II.2. Çocuklarda Aspartam Kullanımı

Çocukların, özellikle ilk bir yaş içinde, fizyolojik fonksiyonları ve organ yapısı erişkinlere göre farklılık gösterir. Bu nedenle de ilaç etkilerinde belirgin bir çeşitlilik ortaya çıkar. Yine ilaçların farmakokinetik özelliklerini belirleyen çalışmalar çoğunlukla yetişkinler üzerinde yapıldığı için ilaçların çocuklardaki özellikleri ile ilgili veriler kısıtlıdır. Yorumlar daha çok hayvan deneylerine göre öngörülmektedir.

Neonatal ve infant farelerde yüksek dozlarda aspartam verilmesini takiben kan aspartik asit konsantrasyonlarının yükselmesiyle hipotalamik nöronal nekroz geliştiği gösterilmiştir (10,32). Bununla beraber primatlarda monosodyum glutamatlı (1 g/kg) veya monosodyum glutamatsız aspartamın (2 g/kg) plazma aspartat ve glutamat düzeylerini yükseltmesine rağmen nöronal nekroz oluşturmadığı da gösterilmiştir (46,47). İnfant fare ve maymunlarda yapılan çalışmalarda, özellikle büyük doz verildiği zaman glutamatı infant hayvanların yetişkinlere göre daha yavaş metabolize ettikleri bulunmuştur (47). Olney ve ark. da insan infantlarının glutamat ve aspartatı yetişkinlere göre daha yavaş metabolize ettiklerini bildirmişlerdir (47). Eğer infantlar bu amino asitleri içeren bileşikler alıyorsa plazma glutamat ve/veya aspartat konsantrasyonlarının artışı nöronal hasar için bir potansiyel risk taşımaktadır. Bunun tersine Filer ve ark.

ise yetişkin, 1 yaş ve 2 yaş normal çocuklarda aspartam ile yaptıkları araştırmada aspartat ve fenilalanin gibi peptid bağlı amino asitleri infantların yetişkinler gibi metabolize ettiklerini göstermişler (47). Yine bu grup başka bir çalışmada düşük doğum ağırlıklı infantlarda bu amino asitlerin metabolizmalarının yeterli olduğunu göstermişlerdir (47).

Deney hayvanlarında yapılan davranış çalışmalarında üreme, gestasyon ve laktasyon döneminde aspartam verilen annelerin yavrularında artmış mortalite ve göz açma, su yüzüne çıkma ve yüzme gelişiminin bozulduğu gösterilmiştir. Bunun yanında açık alanda hipoaktivite, sese yanıtta gecikme tespit edilmiştir (48). Tekrarlanan dozlarda aspartam verilmesinin hayvanlarda davranışa etkisinin çok az olduğu, akut ve tekrarlanan dozlarda nörobiyolojik aktiviteye etkisinin anlamsız olduğu bildirilmektedir (39). Ancak gelişmiş hayvanlarda tekrarlanan dozlarda aspartamın sensorimotor fonksiyonlara etkisinin anlaşılmasında daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

McAnulty ve ark. farelerde uterusu yüksek doz aspartam uygulamasının ne fiziksel ne de fonksiyonel gelişimi değiştirmediğini göstermişlerdir. Ayrıca görme sisteminin gelişimine etkisinin olmadığı da bildirilmiştir (49).

Bu çalışmaların çoğu klasik fenilketonürlü çocuklarda yükselmiş bulunan kan fenilalanin konsantrasyonlarının mental retardasyona eşlik ettiğinin bilinmesi açısından önemlidir. Fenilketonürlü çocukların aspartam almalarıyla diyet fenilalaninin, yükselmiş fenilalanin konsantrasyonunu daha da artırmaya yeteceği düşünülmektedir. Fenilalanin düzeylerinin artmasıyla mental retardasyon oluşma riskinin aspartam kullanımıyla daha da artması fenilketonürlü çocuklar açısından önem arz etmektedir (3,10).

II.3. Laktasyon Döneminde Aspartam Kullanımı

Baker ve ark. Amerika'da infantların %60'ının hayatlarının ilk birkaç ayında anne sütü ile beslendiklerini, %27'sinin ise 6 aya kadar anne sütüyle beslenmeye devam ettiklerini bildirmektedirler. Bu yüzdeler anne sütünün hiçbir gıda katkı maddesi içermemesi açısından önemli bulunmaktadır. Özellikle amino asit kısmı nedeniyle, gıda

aditif olarak kullanılan aspartamın laktasyon döneminde kullanımının önemli olduğu düşünülmektedir. Aspartatın ve fenilalaninin doğal olarak anne sütünde bulunduğu gösterilmiştir. Gıda aditif olarak aspartamdan daha yaygın kullanılan glutamatın insan sütündeki etkileri incelenmiş; 6 g monosodyum glutamat verilen laktasyon dönemindeki kadınlarda plazma glutamat düzeyleri 7 kat (normal değerden) artmış, buna rağmen süt düzeylerinde anlamlı bir artış olmamıştır (50). Devam eden çalışmalarda aspartam verilmesini takiben anne sütünde fenilalanin ve aspartat düzeyleri ölçülmüş, aspartatın anne sütündeki küçük artışı ise istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır, günlük ilave alımın ancak 4.6 $\mu\text{mol/kg}$ yani 0.77 mg/kg olduğu bildirilmiştir. Aspartatdan türeyen asparajın, glutamat ve glutaminin akümüle olduğuna dair de bir delil bulunamamıştır. 50 mg/kg aspartam verilmesinden sonra ne eritrosit ne de plazma aspartat düzeylerinde değişiklik saptanmıştır (50). Ancak aspartam verilmesinden sonra sütte fenilalanin ve tirozin düzeyleri çok az ama anlamlı olarak artmıştır. Bu etkinin yani farklılığın ise biyolojik öneminin minimal olduğu bildirilmiştir (50).

Süt örneğinin alınmasından sonra 4 saat diyet uygulanan kadınlara daha sonra her zamanki öğünleri verilmiş ve tekrar süt örneği alınmış, her iki örnekte de benzer fenilalanin ve tirozin düzeyleri tespit edilmiştir. İnsan sütünde bulunan fenilalanin ve tirozin miktarındaki bu hafif artışın infantın alacağı total amino asit düzeylerini çok az etkileyeceği bildirilmektedir. Çünkü bu dozda aspartam alan emziren bir kadının günlük süt fenilalanin düzeyi 1.8 $\mu\text{mol/100 mL}$ artacaktır. Bu da sütle beslenen bir bebeğin kg başına ilaveten 3.1 μmol (0.5 mg/kg) fenilalanin almasına neden olacaktır. Günde 79 mg/kg esansiyel amino asit alan bir infant için düşünüldüğünde fenilalanin alımına etkisi son derece azdır. 50 mg/kg aspartam alımıyla insan sütündeki küçük fakat istatistiksel olarak anlamlı fenilalanin, tirozin ve aspartat artışı sadece yemek sonrası periyotlar içinde kalmıştır (50).

II.4. Yaşlılıkta Aspartam Kullanımı

Yaş ile birlikte organların ve vücudun çalışma kapasitesinin azalması yanında kişilere göre değişkenlik gösteren metabolik işlevlerde de farklılıklar meydana gelir. Gastrik pH bazik yönde ar-

tar, kan akımı ve gastrik boşalma azalır, intestinal motilite bozulur, hücre dışı ve total sıvı hacimleri azalır, yağ dokusunun hacmi artar, plazma proteinlerine bağlanma ve hepatik kapasite azalır, metabolizma gecikir ve kreatin klirensi azalır. Ancak bu önemli fizyolojik dönemde aspartam kullanımı ile ilgili henüz bir çalışma yoktur.

Reproduksiyon, mutajenite, teratojenite ve kanserojenite çalışmalarında aspartamın bu yönde bir etkisi saptanmamıştır (32,51,52).

KAYNAKLAR

1. Inglett GE. A history of sweeteners, natural and synthetic. *J Toxicol Environ Health* 1976; 2:207-14.
2. Inglett GE. Sweeteners-An overall perspective. In: Stegink LD, Filer LJ, eds. *Aspartame-Physiology and Biochemistry*. New York: Marcel Dekker Inc. 1984: 11-25.
3. Potenza DP, El-Mallakh RS. Aspartame-Clinical update. *Conn Med* 1989; 53:395-400.
4. Homler, BE. Properties and stability of aspartame. *Food Technology* 1984; 38:50-55.
5. Lipton WE, Li YN, Younoszai MK, Stegink LD. Intestinal absorption of aspartame decomposition products in adult rats. *Metabolism* 1991; 40:1337-45.
6. Homler BE. Aspartame: Implications for the food scientist. In: Stegink LD, Filer LJ, eds. *Aspartame-Physiology and Biochemistry*. New York: Marcel Dekker Inc. 1984: 247-62.
7. Leon AS, Hunninghake DB, Bell C, Rassin DK, Tephly TR. Safety of long-term large doses of aspartame. *Arch Intern Med* 1989; 149:2318-24.
8. Stegink LD, Filer LJ, Bell EF, Ziegler EE, Tephly TR, Krause WL. Repeated ingestion of aspartame-sweetened beverages, further observations in individuals heterozygous for phenylketonuria. *Metabolism* 1990; 39:1076-81.
9. Molinary SV. Preclinical studies of aspartame in nonprimate animals. In: Stegink LD, Filer LJ, eds. *Aspartame-Physiology and Biochemistry*. New York: Marcel Dekker Inc. 1984: 289-305.
10. Janssen PJCM, Heijden CA. Aspartame-Review of recent experimental and observational data. *Toxicology* 1988; 50:1-26.
11. Matthews DM. Absorption of peptides, amino acids, and their methylated derivatives. In: Stegink LD, Filer LJ, eds. *Aspartame-Physiology and Biochemistry*. New York: Marcel Dekker Inc. 1984: 29-46.
12. Opperman JA. Aspartam metabolism in animals. In: Stegink LD, Filer LJ, eds. *Aspartame-Physiology and Biochemistry*. New York: Marcel Dekker Inc. 1984: 141-59.
13. Harper AE. Phenylalanine metabolism. In: Stegink LD, Filer LJ, eds. *Aspartame-Physiology and Biochemistry*. New York: Marcel Dekker Inc. 1984: 77-109.
14. Guiso G, Diomede L, Romano M, Caccia S, Sarati S., Salmona M. Effect of tyrosine on the potentiation by aspartame and phenylalanine of metrazol induced convulsions in rats. *Food Chem Toxicol* 1991; 29:855-7.
15. Koeppel RA, Shulkin BL, Rosensire KC, Show LA, Betz LA, Mangner T, Price JC, Agranoff BW. Effect of aspartame-derived phenylalanine on neutral amino acid uptake in human brain. *J Neurochem* 1991; 56:1526-35.
16. Yokogoshi H, Roberts CH, Caballero B, Wurtman RJ. Effects of aspartame and glucose administration on brain and plasma levels of large neutral amino acids and brain 5-hydroxyindoles. *Am J Clin Nutr* 1984; 40:1-7.
17. Reilly MA, Debler EA, Fleischer A, Lajtha A. Lack of effect of chronic aspartame ingestion on aminergic receptors in rat brain. *Biochem Pharmacol* 1989; 38:4339-41.
18. Diomede L, Romano M, Guiso G, Caccia S, Nava S, Salmona M. Interspecies and interstrain studies on the increased susceptibility to metrazol-induced convulsions in animals given aspartame. *Food Chem Toxicol* 1991; 29:101-6.
19. Stegink LD. Aspartate and glutamate metabolism. In: Stegink LD, Filer LJ, eds. *Aspartame-Physiology and Biochemistry*. New York: Marcel Dekker Inc. 1984: 47-75.
20. Baydar T, Şahin G. Metanol metabolizması ve toksisitesi. *Biyokimya Der* 1993; 18:95-109.
21. Axelrod J, Daly J. Enzymic formation of methanol from S-adenosylmethionine. *Science* 1965; 150:892-3.
22. Roine RP, Eriksson CJP, Ylikahri R, Penttila A, Salaspuro M. Methanol as a marker of alcohol abuse. *Alcohol Clin Exp Res* 1989; 13:172-5.
23. Tephly TR, McMartin KE. Methanol metabolism and toxicity. In: Stegink LD, Filer LJ, eds. *Aspartame-Physiology and Biochemistry*. New York: Marcel Dekker Inc. 1984: 111-40.
24. Tephly TR. The toxicity of methanol. *Life Sci* 1991; 48:1031-41.
25. Stegink LD, Brummel Mc, McMartin K, Martin-Amat G, Filer LJ, Baker GL, Tephly TR. Blood methanol concentrations in normal adult subjects administered abuse doses of aspartam. *J Toxicol Environ Health* 1981; 7:281-90.
26. Stegink LD. Aspartame metabolism in humans: Acute dosing studies, In: Stegink LD, Filer LJ, eds. *Aspartame-Physiology and Biochemistry*. New York: Marcel Dekker Inc. 1984: 509-53.
27. Filer LJ, Stegink LD. Aspartame metabolism in normal adults, phenylketonuric heterozygotes, and diabetic subjects. *Diabetes Care* 1989; 12:67-74.
28. Broadstock MK, Serdula MK, Marks JS, Barnard RJ-CRane NT, Remington PL, Trowbridge FL. Evaluation of reactions to food additives: The aspartame experience. *Am J Clin Nutr* 1986; 43:464-9.
29. Dobersen DT. Calculation of aspartame intake in children. *J Am Diet Assoc* 1989; 89(6):831-3.
30. Bell LN, Labuza TP. Aspartame degradation as a function of "water activity". *Adv Exp Med Biol* 1991; 302:337-49.
31. Ishii H. Chronic feeding studies with aspartame and its diketopiperazine. In: Stegink LD, Filer LJ, eds. *Aspartame-Physiology and Biochemistry*. New York: Marcel Dekker Inc. 1984: 307-19.
32. Bryan GT. Artificial sweeteners and bladder cancer: Assessment of potential urinary bladder carcinogenicity of aspartame and its diketopiperazine derivative in mice. In: Stegink LD, Filer LJ, eds. *Aspartame-Physiology and Biochemistry*. New York: Marcel Dekker Inc. 1984: 321-48.

- 33.Reynolds JEF: Martindale-The Extra Pharmacopoeia, Part 1, London: The Pharmaceutical Press, 1989: 1256.
- 34.Altındağ Z, Şahin G. Dihidropteridin redüktaz enzimi ve klinik açıdan önemi. FABAD J. Pharm. Sci 1995; 20: 21-7.
- 35.Özalp, İ. Fenilketonüri ve ülkemizde görülme sıklığı. Sürekli Tıp Eğitim Dergisi 1992; 1, 178-80.
- 36.Coşkun T, Özalp I, Tokatlı A, Blau N, Niederwieser A. Hyperphenylalaninaemia due to tetrahydrobiopterin deficiency. J Inher Metab Dis 1993; 16:605-7.
- 37.Tilson HA, Thai L, Zhao D, Sobotka TJ, Hong JS. Oral administration of aspartame is not proconvulsant in rats. Neurotoxicol 1989; 10:229-38.
- 38.Camfield PR, Camfield CS, Dooley JM, Gordon K, Jollymore S, Weaver DF. Aspartame exacerbates EEG spike-wave discharge in children with generalized absence epilepsy. Neurology 1992; 42:1000-03.
- 39.Tilson HA, Hong JS, Sobotka TJ. High doses of aspartame have no effects on sensorimotor function or learning and memory in rats. Neurotoxicol Teratol 1991; 13:27-35.
- 40.Uribe M. Potential toxicity of a new sugar substitute in patients with liver disease. N Engl J Med 1982; 306:173-4.
- 41.Hertelendy ZJ, Mendenhall CI, Rouster SD, Marshall L, Weesner R. Biochemical and clinical effects of aspartame in patients with chronic, stable alcoholic liver disease. Am J Gastroenterol 1993; 88:737-43.
- 42.Horwitz DL. Aspartame use by persons with diabetes. In: Stegink LD, Filer LJ, eds. Aspartame-Physiology and Biochemistry. New York: Marcel Dekker Inc. 1984: 633-41.
- 43.Pitkin RM. Aspartame ingestion during pregnancy, In: Stegink LD, Filer LJ, eds. Aspartame-Physiology and Biochemistry. New York: Marcel Dekker Inc. 1984: 555-64.
- 44.Schneider H, Dancis J. Amino acid transport in human placentar slices, Am J Obstet Gynecol 1974; 120:1092-98.
- 45.Costantini MG: Health effects of methanol exposure. HEI 1989 Research Agenda, 7:23.
- 46.Reynolds WA, Bauman AF, Stegink LD. Developmental assessment of infant macaques receiving dietary aspartame or phenylalanine. In: Stegink LD, Filer LJ, eds. Aspartame-Physiology and Biochemistry. New York: Marcel Dekker Inc. 1984: 405-24.
- 47.Filer LJ, Bakor GL, Stegink LD. Aspartame ingestion by human infants. In: Stegink LD, Filer LJ, eds. Aspartame-Physiology and Biochemistry. New York: Marcel Dekker Inc. 1984: 579-92.
- 48.Butcher RE, Vorhees CV. Behavioral testing in rodents given food additives, In: Stegink LD, Filer LJ, eds. Aspartame-Physiology and Biochemistry. New York: Marcel Dekker Inc. 1984: 379-404.
- 49.McAnulty PA, Collier MJ, Enticott J, Tesh JM, Mayhew DA, Comer CP, Hjelle JJ, Kotsonis FN. Absence of developmental effects in CF-1 Mice exposed to aspartame in utero. Fundam Appl Toxicol 1989; 13:296-302.
- 50.Baker GL. Aspartame ingestion during lactation. In: Stegink LD, Filer LJ, eds. Aspartame-Physiology and Biochemistry. New York: Marcel Dekker Inc. 1984: 565-78.
- 51.Koestner A. Aspartam and brain tumors: Pathology issues. In: Stegink LD, Filer LJ, eds. Aspartame-Physiology and Biochemistry. New York: Marcel Dekker Inc. 1984: 447-58.
- 52.Cornell RG, Wolfe RA, Sanders PG. Aspartam and brain tumors: Statistical issues, In: Stegink LD, Filer LJ, eds. Aspartame-Physiology and Biochemistry. New York: Marcel Dekker Inc. 1984: 459-80.