

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**FRUKTOZLA OLUŞTURULAN NONALKOLİK YAĞLI
KARACİĞER MODELİNDE RİFAKSİMİN'İN ÖNLEYİCİ ROLÜ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr.Neşe ÇABUK ÇELİK**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. İbrahim Halil BAHÇECİOĞLU**

**Elazığ
2014**

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. İrfan ORHAN

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Emir DÖNDER

İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. İbrahim Halil BAHÇECİOĞLU

Danışman

Uzmanlık Tezi Değerlendirme Jüri Üyeleri

.....

.....

.....

.....

.....

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim sürecinde, eğitimime büyük katkıları olan başta tez danışmanım saygıdeğer hocam Prof. Dr. İbrahim Halil BAHÇECİOĞLU'na, İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Emir DÖNDER ile diğer hocalarım Prof. Dr. Ayhan DOĞUKAN, Prof. Dr. Ahmet IŞIK, Prof. Dr. Hüseyin ÇELİKER, Prof. Dr. Yusuf ÖZKAN, Prof. Dr. Mehmet YALNIZ, Doç. Dr. Süleyman Serdar KOCA, Doç. Dr. Bilge AYGEM, Doç. Dr. Ulvi Demirel, Doç. Dr. Burak Uz'a, Yrd. Doç. Dr. Leyla Kılıç'a ve Yrd. Doç. Dr. Kader Uğur'a teşekkür ederim.

Histopatolojik ve biyokimyasal analizlerde destek olan Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Ana Bilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. İbrahim H. ÖZERCAN, Biyokimya A.D. öğretim üyesi Prof. Dr. Necip İLHAN, Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Bilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Kazım ŞAHİN, Fen Fakültesi Biyoloji A.D. öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Mehmet TUZCU'ya teşekkür ederim.

Tezimin her aşamasında desteklerini gördüğüm Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Bilim Dalı Doç. Dr. Cemal ORHAN'a, Fen Fakültesi Biyoloji A.D. Arş. Gör. Hasan GENÇOĞLU'na teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimi aldığım İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda çalışan araştırma görevlisi, hemşire, personel arkadaşlarıma ve uzmanlık eğitimimin başından sonuna kadar desteklerini esirgemeyen sevgili eşime, çok kıymetli anneme, babama, abime ve yeğenime niçten duygularıyla teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı dünyada en sık görülen karaciğer hastalığıdır. Bu durumun yaygın olarak metabolik sendrom kaynaklı olduğu bilinmektedir. Bu tablonun artan fruktoz tüketimi ile ilgili olabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada fruktoz ile oluşturulan deneysel yağlı karaciğer modelinde rifaksiminin koruyucu etkisini araştırıldı. Çalışmada 42 adet Erkek Sprague-Dawley rat eşit sayıda 6 gruba bölündü. Kontrol grubu; %50 fruktoz çözeltisi verilen; fruktoz çözeltisiyle beraber haftada 1 kez rifaksim; fruktoz çözeltisi ve haftada 3 kez rifaksim; normal diyet ve haftada 1 kez rifaksim ve normal diyet ile haftada 3 kez rifaksim alacak şekilde beslendi. Sekiz hafta sonunda ratlardan histopatolojik inceleme ve MDA, TNF- α , Collagen type 1, NF-kappaB, Nrf-2 ve HO-1 düzeyleri için uygun şekilde rat karaciğerlerinden doku örnekleri alındı. Biyokimyasal inceleme, plazma Glutatyon peoksidaz, TNF- α , 4-hydroxynonenal düzeyleri için kan örnekleri alındı.

Yapılan histopatolojik incelemede %50'lik fruktoz ile beslenen grupta hepatosteatoz bulgularından; balonlaşma dejenerasyonu, inflamasyon ve makroveziküler yağlanma geliştiği görüldü. Rifaksim alan grupta hepatosteatoz bulgularında anlamlı azalma gözlemlendi. Plazma ve doku TNF- α düzeyleri, NF- κ B, MDA, tip 1 kollojen düzeyi, plazma 4-HNE düzeyleri rifaksim alan gruplarda anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Ayrıca rifaksim alan grupta GSH-Px, Nrf-2, HO-1 düzeyleri yüksek tespit edildi. Rifaksimini yüksek ve düşük dozda alan gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmadı. Fruktozlu diyetle oluşturulan NAYK modelinde rifaksim yağlanma, balonlaşma dejenerasyonu ve inflamasyonu azalttı.

Rifaksiminin intestinal bakteriyel dekontaminasyon ile oksidatif stresi baskılayarak steatohepatiti gelişimini engelleyebileceğini düşündürmüştür. Bu konuda yapılacak yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: Fruktozla oluşturulan non alkolik yağlı karaciğer hastalığı, Rifaksim

ABSTRACT

THE PROTECTIVE ROLE OF RIFAXIMIN IN NON ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE CREATED WITH FRUCTOSE

Non-alcoholic fatty liver disease is the most frequent liver disease in the worldwide. In addition it is commonly interested with the metabolic syndrome. There is possibility that the disease may be associated with the increase fructose consumption.

In this study, which will be created with fructose in an experimental model of fatty liver, we aimed to investigate the protective effects of rifaximin. There are 42 male Sprague-Dawley rats in the study. They were divided into 6 equal groups according to following feed types: Control group; given the 50% fructose solution; given one time rifaximin per week with fructose solution; given three times rifaximin per week with fructose solution; normal diet with given one time rifaximin per week; normal diet with given three times rifaximin per week. After eight weeks, the tissue samples, getting from rat liver, were taken for histopathological examination and levels of MDA, TNF- α , Collagen type 1, NF-kappaB, Nrf-2 ve HO-1. Blood samples were taken for biochemical examination and levels of plasma Glutathione peroxidase, TNF- α , 4-hydroxynonenal.

It was seen in histopathological examination that the development of ballooning degeneration, inflammation and macrovesicular steatosis which they are the findings of hepatic steatosis in the group of feeding with 50% fructose solution. On the other hand, the meaningful decreasing in the findings of hepatic steatosis was observed in group of taking % 50 fructose solution with rifaximin. The level of TNF- α of plasma and tissue, NF-kB, MDA, type 1 collagen level, plasma 4-HNE were observed as low in the group taken rifaximin placed with pathogenesis of hepatosteatosis. However, levels of GSH-Px, Nrf-2 HO-1 observed as high in treatment group. In the group receiving high doses of Rifaximin did not differ significantly.

Rifaximin; ballooning degeneration and inflammation were reduced in fructose diet NAYK model created. It was thought that rifaximin prevent the steatohepatitis providing oxidative stress with intestinal decontamination. New studies on this subject are needed.

Key words: Non alcoholic fatty liver disease created with dietary fructose, Rifaximin

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLO LİSTESİ	viii
ŞEKİL LİSTESİ	ix
KISALTAMALAR LİSTESİ	x
1. GİRİŞ	1
1.1. Genel Bilgiler	2
1.1.1. Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı Tanısı ve Önemi	2
1.1.1.1. Epidemiyoloji	3
1.1.1.2. Etiyoloji	4
1.1.1.3. Histopatoloji	6
1.1.1.4. Patogenez	9
1.1.1.4.1. NAYKH/NASH Gelişiminde İlk Darbe	10
1.1.1.4.1.1. Hepatik Steatoz, Obezite, İnsülin Direnci	10
1.1.1.4.2. NAYKH/NASH Gelişiminde İkinci Darbe	10
1.1.1.4.2.1. Oksidatif Stres, İnflamasyon, Serbest Yağ Asitleri	10
1.1.1.5. Klinik Özellikler	14
1.1.1.6. Laboratuvar Verileri	14
1.1.1.7. Tedavi	15
1.1.2. Metabolik Sendrom	15
1.1.3. Yüksek Fruktoz İçeren Mısır Şurubu	17
1.1.3.1. Fruktozun Kimyasal Yapısı	18
1.1.3.2. Fruktozun Absorpsiyonu	18
1.1.3.3. Fruktozun Metabolizması	20
1.1.3.5. Fruktoz ve Oksidatif Stres	22
1.1.3.6. Fruktozun Karaciğer Yağ Akümüasyonu ile İlişkisi	24

1.1.3.7. Diyetle Yüksek Fruktoz İçeren Mısır Şurubu ile Yapılan Deneysel Çalışmalar	27
1.1.4. Rifaksimim	28
1.1.4.1. Farmakodinamik Özellikler	28
1.1.4.2. Farmakokinetik Özellikler	29
2. GEREÇ VE YÖNTEM	30
2.1. Deney Hayvanlarının Temini ve Grupların Oluşturulması	30
2.2. Biyokimyasal Analizlerin Yapılması	31
2.2.1. HPLC’de Analiz	31
2.2.2. Western Blot Analizi ile Protein Ekspresyonunun Ölçümü	31
2.3. Histopatolojik Değerlendirme	32
2.4. İstatistik değerlendirme	34
3. BULGULAR	35
3.1. Bazal ve son ağırlık ölçümleri	35
3.2. Karaciğer ağırlıkları	35
3.3. Biyokimyasal ölçümler	36
3.3.1. Biyokimyasal parametreler	36
3.3.2. Trigliserid	37
3.3.4. Plazma GSH-Px düzeyi	38
3.3.5. Plazma TNF- α düzeyler	39
3.3.6. Doku TNF- α düzeyleri	39
3.3.7. Doku NF- κ B düzeyleri	40
3.3.8. Lipid peroksidasyonu bulguları	41
3.3.9. Doku tip 1 kollajen düzeyleri	42
3.3.10. Doku Nrf-2	43
3.3.11. Doku HO-1	44
3.3.12. Plazma 4-HNE	45
3.4. Histopatolojik bulgular	46
4. TARTIŞMA	51
5. KAYNAKLAR	56
6. ÖZGEÇMİŞ	72

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Brunt Sınıflaması	7
Tablo 2. NAYKH Çalışma Grubu Skorlama Sistemi	8
Tablo 3. Steatohepatitin Patogenetik Mekanizmaları	9
Tablo 3. Gruplardaki rat ve karaciğer ağırlıkları	35
Tablo 5. Gruplara ait biyokimyasal parametre sonuçları	36
Tablo 6. Gruplara HOMA-IRdeğerleri	38
Tablo 7. Hepatosteatozun mikroskopik değerlendirilmesi sonucu	47

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	NAYKH/NASH patogenezindeki iki darbe hipotezi	13
Şekil 2.	Glikoz, fruktoz ve sükrozun kimyasal yapıları	18
Şekil 3.	Karaciğerde fruktoz metabolizması	20
Şekil 4.	Fruktozla oluşan insülin rezistansını açıklayan olası mekanizmalar	22
Şekil 5.	Non-alkolik hepatik steatozisin karaciğer ve adipozdokuda oluşumu	25
Şekil 6.	Karaciğer ağırlıkları	35
Şekil 7.	Gruplara ait trigliserid düzeyleri	37
Şekil 8.	Plazma GSH-Px düzeyleri	40
Şekil 9.	Plazma TNF- α düzeyleri	41
Şekil 10.	Karaciğer dokusu TNF-a düzeyleri	40
Şekil 11.	Karaciğer dokusu NF- κ B düzeyleri	41
Şekil 12.	Gruplara ait MDA düzeyleri	42
Şekil 13.	Karaciğer dokusu Collagen-1 düzeyleri	43
Şekil 14.	Karaciğer dokusu Nrf-2 düzeyleri	44
Şekil 15.	Karaciğer dokusu HO-1 düzeyleri	45
Şekil 16.	Karaciğer dokusu HNEdüzeyleri	46
Şekil 17.	Kontrol grubu ratlara ait karaciğer dokusunun histopatolojik görünümü	47
Şekil 18.	%50'luk fruktoz çözeltiyle beslenen grupta yer alan rat karaciğeri	48
Şekil 19.	%50'luk fruktoz çözeltisinin yanı sıra haftada 1 kez rifaksimin verilen grupta yer alan rat karaciğer	48
Şekil 20.	% 50'luk fruktoz çözeltisiyle beslenen ve haftada 3 kez rifaksimin verilen grupta yer alan rat karaciğeri	49
Şekil 21.	Normal diyet ile beslenen ve haftada 1 kez rifaksimin alan grupta yer alan rat karaciğer	49
Şekil 22.	Normal diyet ile beslenen ve haftada 3 kez rifaksimin alan grupta yer alan rat karaciğer	50

KISALTAMALAR LİSTESİ

AGE	: Glikozillenmiş son ürün
ALP	: Alkaleen fosfat
ALT	: Alanin aminotransferaz
AMA	: Antimitokondriyal antikor
ANA	: Antinükleer antikor
ApoB	: Apolipoprotein B
AST	: Aspartat aminotransferaz
ATP	: Adenozin trifosfat
CYP2E1	: Sitokrom P450
DM	: Diyabetes mellitus
FAA	: Serbest yağ asitleri
GGT	: Gama glutamil transpeptidaz
GLUT	: Glikoz taşıyıcısı
GSH-Px	: Glutasyon peroksidaz
HBV	: Hepatit B virusu
HCV	: Hepatit C virusu
HFCS	: Yüksek fruktozlu mısır şurubu
HFE	: Hemokromatozis
HNE	: 4-hydroxynonenal
HO-1	: Hemoksijenaz-1
IL	: İnterlökin
iNOS	: İndüklenebilen nitrik oksit sentaz
JNK-1	: c-Jun N-terminal Kinaz
MDA	: Malondialdehit
MIC	: Minimum Inhibitory Concentration
NASH	: Non-alkolik steatohepatit
NAYKH	: Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı
NF-κB	: Nuclear Factor kappa B
Nrf-2	: Nükleer faktör eritroid 2-ilişkili faktör
ORO	: Oil Red O
PPARγ	: Peroksizom proliferatör-aktive edici reseptör-γ

RNA	: Ribonükleik asit
SMA	: Düz kas antikoru
SREBP-1c	: Sterol reseptör elemanlarını bağlayıcı protein-1c
TGF-β	: Transforming growth factor beta
TNF	: Tümör nekroz faktörü
TNFR1	: Tümör nekroz faktör alfa reseptör 1
YFMS	: Fruktozdan zengin mısır şur

1. GİRİŞ

Non alkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAYKH), batı ülkelerinde en sık görülen karaciğer hastalığıdır (1). Basit steatozisten, karaciğer sirozuna kadar değişen geniş bir spektrumuvardır (2).

Non alkolik yağlı karaciğer hastalığı saptanan bireylerde genel ve karaciğer ile ilişkili mortalite artmıştır. Karaciğer ile ilişkili ölüm nedenleri NAYKH olan bireylerde 3. sırada NAYKH olmayan bireylerde ise 13. sıradadır. Obezite, insülin direnci ve metabolik sendromun artan prevalansı, kronik karaciğer hastalığının geleceği için önemli belirteçlerdir (3). Endüstrileşmiş toplumlarda diyetdeki fruktoz tüketiminin artması, diyabet ve obezite de artışa buna paralel olarak da NAYKH artışına neden olduğu öne sürülmektedir (4). A.B.D’de total kalorinin 1977’de %3.9’u, 2001’de %9.1’ison yıllarda ise %15’e yakını fruktoz oluşturmaktadır (5). Fruktozun uzun süreli verilmesi, ratta hepatik makro ve mikroveziküler yağlanmaya ve hepatik trigliseridde %98 artışa, karaciğer kolesterol içeriğinde %89 artışa yol açmıştır (6).

Fruktoz barsaklardan aktif transportla emilir; hücrelere geçişi için insülin gerekir; böylece glisemik yanıt oluşturur; metabolizmasının feedback kontrolü vardır; Fruktoz metabolizması glukozdan farklıdır. Fruktoz-1-fosfataz ile fruktozun fosforilasyonu olur. Fruktoza spesifiktir ve hız kontrolü yoktur.

Karaciğerde yüksek fruktokinaz aktivitesi vardır. Fruktozun fruktoz-1-fosfata fosforilasyonu ATP depleksiyonuna neden olur. Karaciğerde fruktozun ATP depleksiyonuna neden olduğu insanlarda gösterilmiştir (7). NAYKH gelişiminde endotoksin bağımlı Kupffer aktivasyonu, serbest radikal formasyonuna, TNF- α indüksiyonuna ve insülin direncinin oluşmasına neden olur. Fruktoz alımı karaciğer lipid peroksidasyonu ve inflamatuvar yolda artışa yol açar.

Endoksine bağlı sitokin üretiminin NAYKH/NASH patogenezinde rolünü destekleyen bulgular vardır. NASH’li hastalarda sağlıklı kontrol grubuna göre ince barsaklarda artmış bakteriyel aşırı çoğalma olduğu bulunmuştur (8). NASH’de sitokinler, özellikle TNF alfa barsaklardaki floradansalgılanan endotoksine cevap olarak Kupffer hücrelerinden ve aynı zamanda artan serbest yağ asitlerine bağlı olarak hepatositlerden ve yağ dokusu makrofajlarından salgılanır. Kupffer hücre aktivasyonu, TNF alfa’nın hepatosit mitokondriyumunda, peroksizom ve

mikrozomunda serbest yağ asidi oksidasyonu artmasına bağlı olarak oksidatif stres artar (9).

Fruktozdan zengin diyetle beslenenlerde TLR-4 mutant farelerde steatohepatitin bulguları oluşmazken, wild tipte oluşmuştur (10).

Rifaximin gastrointestinal traktustan absorbe olmayan, minimal sistemik etkileri olan bir antibiyotiktir. Rifaximin hepatik ensefalopatide ve son zamanlarda irritable barsak sendromun tedavisinde etkili bulunmuştur. Rifaximin, bakteriyel translokasyonu inhibe ederek ve bakteriyel dekontaminasyon yaparak etkili olmaktadır (11).

Bu çalışmada fruktozla oluşturulmuş deneysel NAYK modelinde rifaximinin önleyici rolünü araştırmak amaçlanmıştır.

1.1. Genel Bilgiler

1.1.1. Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı Tanısı ve Önemi

Yüzelli yıl önce yağlı karaciğer Viyanalı patolog Rokitansky tarafından tanımlansa da (12), 1980 yılında Ludwig ve ark. (13) tarafından yapılan tanımlama literatürdeki ilk tanımlamadır. Alkol kullanmaksızın karaciğer biyopsilerinde yağlanmaya bağlı inflamasyon saptanan olguları Non alkolik steatohepatit (NASH) olarak tanımlanmıştır. Ludwig ve ark. (13) çalışmalarında bu tabloyu; sıklıkla orta yaşlı, obez, tip II diyabetli kadınlarda görülen karaciğer biyopsisinde belirgin yağlanma, lobuler hepatit, fokal nekroz, mikst tipte iltihabi infiltrasyon bulguları, çoğu hastada Mallory cisimcikleri ve fibrozis bulunan bir durum olarak nitelendirmişlerdir

Ayrıca literatürde NASH için; psödoalkolik karaciğer hastalığı, alkol-benzeri hepatit, diyabetik hepatit, nonalkolik Laennec's hastalığı ve steatonekroz gibi terimler kullanılmıştır (14).

Birçok histopatolojik kriterleri gerektiren NASH tanımlaması geniş bir patolojik tanımlamaya sahip olduğu için isimlendirme konusunda karışıklıklaramevcuttur. 1986 yılından itibaren, bu karışıklıklar nedeniyle en çok kullanılan tanımlama, nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAYKH) terimi olmuştur (12).

Tanı sırasında NAYKH olan hastalarının çoğu asemptomatiktir. NAYKH olan hastalarla kriptojenik sirozlu hastalardaki klinik ve demografik özelliklerin çoğu

benzerdir. Sebebi bilinmeyen karaciğer sirozlu olguların çoğunun NAYKH olması olasıdır (15). Dünyaki 1,1 milyardan fazla insan kilolu olarak kabul edilmektedir, bunların 312 milyonunun aşikar obez olduğu düşünülmektedir. Obezitenin artmasıyla beraber farklı ülkelerde NAYKH genel popülasyonun yaklaşık % 10-24 'lük kesimini etkileyen bir sağlık sorunu haline gelmiştir. Çünkü obez bireylerde, NAYKH prevalansı 4-6 kat artmakta ve % 57,5-% 74'e kadar yükselmektedir (16). NAYKH gelişen olguların ise yaklaşık %10-15'i gerçek NASH olup bu olgularının %20-30'unda ilerleyici fibrozis ve siroz gelişmektedir (17).

Dünya genelinde NAYKH, sıklığı giderek artan, patogeneğinde genetik faktörlerin ve hayat tarzının önemli rol oynadığı karmaşık bir metabolik durumdur. NASH, NAYKH'nın en ciddi formudur. Kronik karaciğer hastalığı, siroz ve hepatosellüler karsinoma dönüşebilir. Obezite, diyabet, hipertansiyon ve hiperlipidemi içeren metabolik sendrom ve bunun sonucunda gelişen kardiyovasküler hastalıklarla, sıkı bir birliktelik söz konusudur (18). Dolayısıyla bu tür hastalarda karaciğer patolojisinin yanı sıra kardiyovasküler patolojilerde bağlı mortalitede artmıştır (19).

1.1.1.1. Epidemiyoloji

Tüm dünyada sık görülen NAYKH prevalansı coğrafik farklılıklar göstermektedir. Amerika'da NAYKH prevalansı %20 (%5-39), NASH prevalansı %2-3 (%2-4.8) olarak hesaplanmaktadır. Amerika'da en yaygın karaciğer hastalığı NAYKH'dır (20). Amerika'da 12241 kişinin incelendiği "Ulusal Sağlık ve Beslenme Araştırması"nda tüm popülasyonun %24'ünde NAYKH vardır (21). NAYKH herhangi bir karaciğer patolojisi olmayan olgularda anormal karaciğer enzim yüksekliğinin %90 sebebidir (22).

Obezite, tip 2 diyabet ve hiperlipidemi sıklıkla NAYKH ilişkili patolojilerdir. Vücut kitle indeksi VKİ >30 kg/m² olanlarda NAYKH sıklığı % 60-95, tip 2 diyabetiklerde %28-55 ve hiperlipidemisi olanlarda %20-92 olarak bildirilmiştir (23). Diyabet ile obezitenin birlikteliği, ek bir risk daha oluşturmaktadır. Diyabeti olan şiddetli obez hastaların %100'ünde hafif steatoz, %50'sinde steatohepatit, %19'unda siroz gözlenmiştir (24). TURDEP çalışmasına göre, erişkin Türk toplumunun %7.2'sinin tip 2 diyabetli ve %22.3'ünün obez olduğu göz önüne

alındığında, ülkemizde NAYKH sıklığının küçümsenmeyecek oranlarda olduğu gerçeği görülmektedir (25, 26).

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı olgularının çoğu orta ve ileri yaşlardadır. Yaşla birlikte prevalans artar; çocuklarda %2-6 iken, 40-59 yaş arası bireylerde %26 oranında görülür (27). 40-60'lı yaşlar en sık görüldüğü yaş grubudur. İlk yapılan çalışmalarda olguların çoğu kadındı. Yapılan son çalışmalarda kadınlara nazaran erkek oranların da artış gözlenmiştir (28).

1.1.1.2. Etiyoloji

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalarının %8-20'sinde lipid metabolizması bozuktur. Özellikle NAYKH patogenezi ile hipertrigliserideminin birlikteliği bilinmektedir. Hipertrigliseridemi tedavisi ile karaciğer testlerinde düzelme saptanmıştır. Uzun süreli total parenteral nutrisyon (TPN) alan çocuklarda sıklıkla kolestaz gelişirken, erişkinlerde karaciğer steatozu ve NASH daha sık gelişmektedir. NAYKH gelişimine, obezite için uygulanan cerrahi girişimler, uzun süreli açlık sonrası hızlı kilo kaybı, geniş barsak rezeksiyonları, sekonder bir karaciğer hastalığı varlığında yatkınlık oluşturabilir. Karaciğerde mitokondriyal glutatyonu azaltarak ve açlık lipolizi arttırarak ve steatoz oluşturabilir. Jejunoileal bypass sonrası hepatosteatoz, steatohepatit, siroza ilerleyen fibrozis oluşabilir. Karaciğer fibrozisi kilo kaybı döneminden sonra gelişirken, steatohepatit maksimum kilo kaybı döneminde gelişir. NAYKH'e jejunioileal bypass, kilo kaybı, beslenme eksikliği, fonksiyonsuz barsakta aşırı bakteri çoğalması sonucu oluşan endotoksinler ile neden olur (28-30).

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı birçok nedene bağlı olabileceği gibi, herhangi bir neden bulunmaksızın da oluşabilir. Karaciğerdeki yağ asidi birikiminin hastalığın bir sonucu olduğu kabul edilmektedir. İster NAYKH olsun, isterse NASH gelişmiş olsun insülin direnci, hemen hemen tüm olgularda görülmektedir. Daha önceden hastalığın edinsel olduğu düşünülmüşse de, günümüzde artık genetik yatkınlığın ve çevresel faktörlerinde etkili olduğu anlaşılmıştır (31).

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığının en sık birlikte görüldüğü durum obezitedir. Obezlerde, kilosunu normal kişilere göre NAYKH sıklığı, 6 kat daha fazla bulunmuştur. Diyabet ve yaştan bağımsız olarak obezite; fibrozis şiddeti ile ilişkili bir risk faktörüdür. Morbid obezlerin %75'inden fazlasında karaciğer

steatozu, %24'inde NASH, %3-11'inde siroz geliştiği bildirilmiştir. Diyabetes mellitus (DM) ile NAYKH arasında ilişkide bir başka önemli durumdur. DM tanısında NAYKH hastalarının %30'undan fazlasında tespit edilmiştir. Diyabetiklerde steatohepatit riski 2.6 kat artmıştır. DM, NAYKH olan hastalarda, karaciğer fibrozisi için güçlü bağımsız bir göstergedir. Şiddetli fibrozisi olan hastaların çoğu diyabetiktir (21, 29, 32).

Psödoalkolik karaciğer hastalığı bir yıldan fazla Amiodaron kullanan hastaların yaklaşık %1'inde, oluşur. Olguların yaklaşık yarısında Mallory cisimcikleri bulunur. Amiodaronun sebep olduğu NAYKH ilaç kesilmesinden sonrada devam edebilir. Metastatik prostat kanseri tedavisinde kullanılan Stilbestrol, NAYKH oluşturabilir. Meme kanseri tedavisinde kullanılan östrojen reseptör antagonisti Tamoksifenin; hepatosteatoz, NAYKH ve siroza neden olduğu bildirilmiştir. NAYKH yüksek doz kortikosteroid kullanımı da oluşabilmektedir. 50 yaş üzeri, obez, tip 2 diyabetik ya da eşlik eden karaciğer hastalığı olanlarda Methotreksat kullanımı NAYKH'e yatkınlık oluşturur. Methotreksat kullanımına bağlı gelişen NAYKH'nin karaciğer fibrozisi gelişiminde risk faktörü olduğu ileri sürülmüştür. Nifedipin ve Diltiazemin NAYKH'e neden olduğu bildirilmiştir. Avrupa'da angina pectoris tedavisinde yaygın olarak kullanılan Perheksilin adlı ilacın, hastaların 1/3'de steatohepatitis ve mikronodüler siroza neden olduğu rapor edilmiştir. Karbon tetraklorür, DDT, sarı fosfor içeren maddelerin akut yağlı karaciğer yetmezliğine neden olabildiği de rapor edilmiştir (21, 29, 33).

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı insülin reseptör mutasyonları, şiddetli insülin direnci olan lipodistrofi gibi herediter sendromlarda da görülebilmektedir. Glutensiz diyet yapılabilinen çölyak hastalığında tedavi sonrası hızlı kilo alımı sonucunda NAYKH olguları belirlenmiştir. Karaciğerde steatoz ve mallory cisimcikleri gelişmesi, Wilson hastalığının karakteristik özelliğidir (29, 33). Lipoprotein B'nin sekresyon bozukluğu nedeni ile karaciğer ve ince barsakta trigliserid birikmesine neden olan otozomal geçişli abetalipoproteinemili hastalarda, NAYKH gelişebilir (33, 34).

Son yıllarda yapılan sınıflamaya göre NAYKH etiyolojik açıdan 2 gruba ayrılmıştır. Hiperlipidemi, tip 2 DM ve obezite gibi metabolik sendrom ile ilişkili hastalıklar sonucu oluşan karaciğer yağlanması primer NAYKH olarak

adlandırılırken; ilaçlar, cerrahi, metabolik, genetik, sistemik hastalıklar ve beslenme ile ilişkili hastalıklar gibi diğer nedenlere bağlı olarak gelişen karaciğer yağlanması Sekonder NAYKH olarak tanımlanır.

1.1.1.3. Histopatoloji

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı, geniş spektrumlu klinik durumlarda görülen karaciğer hücrelerinde yağ birikimi (steatoz) ve ilerleyici nekroinflamatuvar karaciğer hastalığı (steatohepatit) ile karakterize olgularda kullanılan bir terimdir. Makroveziküler tipte yağlanmaspesifik olarak görülür ve hepatositlerde nukleusun periferite itildiği geniş bir vakuol olarak görülür. Şiddetli olgularda mikroveziküler steatoz eşlik edebilir. Makroveziküler steatoz, hücre içi trigliserid birikimi ile sonuçlanan; lipidlerin, metabolizması, taşınması, sentezi ve atılımı ile ilgili kompleks anormalliklerden kaynaklanırken, mikroveziküler steatoz ise yağ asitlerinin β -oksidasyonundaki defektlerle karakterize üre sentez bozuklukları, Reye sendromu, mitokondriyal hastalıklar, gebeliğin akut yağlı karaciğeri ve çeşitli ilaçların toksik etkileriyle ortaya çıktığı düşünülmektedir (35). NAYKH spektrumu içerisindeki NASH'i basit steatozdan ayırt etmek gerekir. NASH; karaciğer biyopsisinde hepatositlerde balonlaşma dejenerasyonu ile birlikte zon 3'te dominant olan makroveziküler yağlanma ve mixt tipte inflamasyon ile karakterizedir. Bu duruma periselüler ve perisinuzoidal fibrozis eşlik edebilir. NASH tanısı için tek başına histopatolojik bulgular yeterli değildir. Ayrıca bulguların yanı sıra hastanın ciddi düzeyde alkol almaması gibi klinik durumun kanıtlanması gerekir (36).

Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığında görülen inflamatuvar aktivitede zon 1 zarar görmemiştir. Daha çok asiner zon 3'te görülür. Bazı istisnalar bildirilmiştir. Çocuklarda örneğin hasar diffüz olabilir. Negore tarafından diyabetik steatohepatitlerin %50'sinden fazlasında yağlanma, balonlaşma ve mallory cisimlerinin zon 1'de olduğu gösterilmiştir. Yağlanmış hepatositler sirotik süreç sonunda yapılanma bozulduysa tüm nodülde izlenebilir. İnflamasyon tipik olarak hafiftir, portal alanlardan daha çok lobüler alanları tutar. Lobüler infiltrat mikros kronik inflamatuvar hücre tipleri ve polimorf nüveli lökositleri (PNL) içerir. NASH için Lobüler inflamatuvar infiltrasyonda PNL görülmesi spesifiktir. Diğer akut ve kronik karaciğer hasarlarının ayırımında önemlidir. Ayrıca değişik miktarlarda Mallory hyalin cisimleri, glikojenize nukleus ve fokal hepatosit dejenerasyonu da görülebilir (37). Fibrozisde kollagen depolanması başlangıçta zon 3'te perivenüler;

perisinüzoidal alanlarda diğer lezyonlarla birlikte görülür. İnce kollajeni gözleyebilmek için erken dönemde özel boyama yapılmalıdır. Alkolik karaciğer hastalığında olduğu gibi bazı alanlarda perisellüler kollajen birikimi görülür. Bu fibrozis paterni alkolik ve nonalkolik steatohepatiti portal fibrozis görülen diğer kronik karaciğer hastalıklarından ayırır. NASH'in ilerlemesiyle portal fibrozis, santral-portal, portal-portal septumlar (köprüleşme) oluşur ve sonuçta siroz gelişir. Tipik lezyon olan perisinüzoidal kollajen ileri evrede artık seçilemez. Ayrıca sirotik karaciğerde steatoz ve inflamasyon gibi diğer karakteristik morfolojik bulgular da kaybolur (38).

Non-alkolikyağlı karaciğer hastalığında histopatolojik bulguları karşılaştırmak amacıyla çeşitli derecelendirme ve evrelendirme sistemleri mevcuttur. Bunlardan en sık kullanılanı Brunt ve ark. (37) tarafından geliştirilmiştir. Bu sistemde derecelendirme parankim parametrelerinin yarı kantitatif olarak değerlendirilmesine dayanıp NAYKH'in aktivitesini gösterirken, evrelendirme parankim hasarı sonucu gelişen değişimleri esas alıp fibrozisin derecesini yansıtmaktadır (Tablo 1).

Tablo 1. Brunt Sınıflaması (37)

A. Steatozun Derecelendirilmesi
<ul style="list-style-type: none">• Grade 1 (Hafif): Biyopsi materyalinin %66'sına kadar makroveziküler yağlanmanın ön planda olduğu steatoz, zon 3 hepatositlerde balonlaşma nadir, polimorf nüveli lökositlerin bazen de lenfositlerin varlığı ile karakterize intraasiner inflamasyon. Portal inflamasyon yok veya hafiftir.• Grade 2 (Orta): Herhangi bir derecede yağlanma, biyopsi materyalinin %66'sını geçebilir. Zon 3 hepatositlerde balonlaşma belirgin, intraasiner infiltrasyon daha yoğun, zon 3 perisellüler fibrozis, hafif-orta derecede portal inflamasyon vardır.• Grade 3 (Ciddi): yağlanma >%66 hepatositte, panasiner steatoz, zon 3 hepatositlerde balonlaşma ve düzensizlik, intraasiner ve portal inflamasyon daha yoğundur.
B. Fibrozun Evrelendirilmesi
<ul style="list-style-type: none">• Evre 1: Zon-3 ile sınırlı (perivenüler, perisinüzoidal, perisellüler; fokal veya yaygın)• Evre 2: Evre 1'e ek olarak, fokal veya yaygın periportal fibroz• Evre 3: Fokal veya yaygın köprüleşen fibroz• Evre 4: Siroz

Klinik çalışmalarda Brunt ve ark. (37) 1999 yılında oluşturduğu bu derecelendirme sistemi yetersiz görülmüş ve NAYKH çalışma grubu tarafından yeni bir histolojik değerlendirme sistemi geliştirilmiştir. 14 histolojik bulgu kullanılanbu sistemde NAYKH aktivite skoru (NAS) geliştirilmiştir. Skorlama sistemine göre $NAS \geq 5$ ise NASH tanısı, $NAS < 3$ ise de basit yağlanma olarak değerlendirilmiştir (37) (Tablo2).

Tablo 2. NAYKH Çalışma Grubu Skorlama Sistemi

Steatoz derecesi

- 0: <%5
- 1: %5-33
- 2: %34-66
- 3: >%66

Lobuler inflamasyon

- 0: yok
- 1: <2 odak/20x alan
- 2: 2-4/20x alan
- 3: >4/20x alan

Hepatoselluler balonlaşma

- 0: yok
- 1: hafif, az
- 2: orta-belirgin, çok

Fibrozis skoru

- 0: yok
- 1: 1a hafif (ince) zon 3 perisinüzoidal fibrozis
1b orta (yoğun) zon 3 perisinüzoidal fibrozis
1c sadece portal fibrozis
- 2: zon 3 perisinüzoidal fibrozis ve periportal fibrozis
- 3: köprüleşen fibrozis
- 4: siroz

Mikrogranülom

- 0: Yok
- 1: Var

Geniş lipogranülom

- 0: Yok
- 1: Var

Portal inflamasyon

- 0: Yok ya da minimal
- 1: Minimalden daha belirgin

Asidofil cisimcik

- 0: Yok
- 1: Var

Pigmente makrofaj

- 0: Yok
- 1: Var

Megamitokondri

- 0: Yok veya nadir
- 1: Belirgin

Mallory cisimcigi

- 0: Yok veya nadir
- 1: Belirgin

Glikojenlenmiş nükleus

- 0: Yok veya nadir
 - 1: Belirgin
-

1.1.1.4. Patogenez

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığının patogenezi tam olarak aydınlatılmamış ve kompleks bir tablodur. Bazı hastalarda sadece steatoz gelişirken bazılarında ise NASH ve fibrozis gelişmektedir (38). Tam olarak aydınlatılmaması da antioksidan sistemdeki farklılıklar, vücut yağ dağılımı ve genetik yatkınlık suçlanmaktadır. İnsülin direncinin tüm patolojinin çıkış noktası olan en önemli mekanizmadır. Bifazik bir hipotez olan “iki darbe” veya "iki zararlı faktör" hipotezi NAYKH patogenezi açıklayan en önemli görüştür. Birinci zararlı faktör basit bir yağlı karaciğer gelişmesine neden olan metabolik faktörleri içerir. Basit yağlı karaciğerin yükselmiş trigliserid miktarı, kişisel yatkınlıkla birlikte lipid peroksidasyonun aktivasyonu, proinflatuar ve profibrotik son ürünlerin üretimindeki artışa neden olmaktadır. Dolayısıyla karaciğer, yağlanmayla birlikte ikinci zararlı bir faktöre karşı daha duyarlı hale gelir. NAYKH yolundaki ilk zararlı faktör yağlı karaciğer gelişmesine, ikinci zararlı faktör ise oksidatif stres, endotoksinler ve sitokinler aracılığı ile NASH gelişmesine yol açmaktadır (39) (Tablo 3).

Tablo 3. Steatohepatitin Patogenetik Mekanizmaları (39)

İlk Darbe
Steatoz
Dolasımdaki insülin artışı
Lipoliz ve FFA sentezinde artış
Beta-oksidasyonda azalma
İkinci Darbe
Oksidatif stres; CYP2E1 (sitokrom p 450) aktivite artışı
Genetik modifikasyon; PPAR- γ , CYP2E1/ 3A4 polimorfizmi
Besin deplesyonu; VLDL yapımında azalma
Sitokin artışı; TNF α , IKK-7, NF- κ B artışı
Kupffer hücre disfonksiyonu; Endotoksin sensitivitesi, artmış fibrojenez
Mitokondri disfonksiyonu; ATP homeostaz değişikliği,
UCP-2 Oksidatif stres artışı
Hepatosit adaptasyonu; Rejenerasyon sürecinde yetersizlik
Fibrojenez; Stellat hücrelerde fibrojenik sitokinler ve büyüme faktörleri

1.1.1.4.1. NAYKH/NASH Gelisiminde İlk Darbe

1.1.1.4.1.1. Hepatik Steatoz, Obezite, İnsülin Direnci

Hepatik steatoz karaciğerde trigliseridlerin aşırı miktarda birikmesi ile ortaya çıkar ve NASH gelişimi için ilk darbeyi oluşturur (40). İnsülin direnci, hepatic lipid metabolizmasının alım, sentez, yıkım ve salınım basamaklarındaki bozuklukta önemli rol oynar. Yağ birikimi insülin direnci sonucunda hiperinsülinemi ve lipoliz ile hepatositlerde olur. Hepatositlere yüksek oranda yağ asitlerinin girişiyle, mitokondrial beta-oksidasyon doyumluğa ulaşır ve yağ asitleri hepatositlerde birikir. İnsülin direnci durumlarında hepatic yağ asidi serbestleşmesinin temel yolu olan çok küçük dansiteli lipoproteinlerin (VLDL) ve apoprotein B 100 (apo B) yıkımının arttığı, karaciğerde fazla yağ asidi serbestleşmesinin azaldığı saptanmıştır (41). Ayrıca CYP2E1 ekspresyonu artarak prooksidanlar oluşur. Sonuçta yağ asitlerinin üretimi hepatic metabolizmanın hızını aşar ve özellikle trigliseridler birikmeye başlar. İnsülin direncini oluşturan mekanizmalar başlıca 4 grupta toplanabilir:

1-Prereseptör nedenler: Anormal insülin ve insülin antikoru, kan akım bozukluğu.

2-Reseptöre ait nedenler: Azalmış reseptör sayısı ve afinitesi.

3-Postreseptör nedenler: Anormal sinyal iletimi ve fosforilasyon. İnsülin sinyalizasyonu, postreseptör tirozin kinaz aktivitesi ile olur. İnsülin reseptör substrate 1 (IRS-1) postreseptör insülin rezistansından sorumlu temel mekanizmadır (41, 42)

4- GLUT 4 (Glikoz transport edici protein)'in azalması (43)

Artmış intrahepatik yağ asidi düzeyleri, steatozdan steatohepatit ve siroza ilerlemede büyük oranda sorumlu olan oksidatif stres için kaynak teşkil eder.

1.1.1.4.2. NAYKH/NASH Gelişiminde İkinci Darbe

1.1.1.4.2.1. Oksidatif Stres, İnflamasyon, Serbest Yağ Asitleri

Oksidatif stres; steatozlu bireylerde hepatosit inflamasyonu, balonlaşma dejenerasyonu, nekroz ve fibrozise gidişte önemli rol oynar. Hepatositdeki zedelenmenin temeli NASH'dir (40-44). Serbest oksijen radikalleri mitokondrilerde üretilmektedir (45). Endoplazmik retikulumda bulunan CYP2E1 sistemi serbest radikal üretimi için önemlidir. Klasik bir NASH tablosu metionin/kolin bulunmayan

bir diyetle beslenen sıçanlarda karaciğerde CYP2E1 ekspresyonunun en güçlü olduğu yerlerde yağlanma ve inflamasyonla seyrettiği gözlenmektedir (46).

Serbest oksijen radikallerin üretiminin; insülin direnci, lipoliz, karaciğere gelen serbest yağ asitlerinin artışı ve beta oksidasyon ile arttığı saptanmıştır. Serbest oksijen radikallerinin oluşumuna CYP2E1 ve CYP3A4 sistemlerinin aktivasyonu ve hepatik demir birikimi neden olur (47, 48). Buise serbest radikallerin, lipid peroksidasyon ürünlerinin ve sitokinlerin elektron transport zincirinin ve tüm hücre metabolizmasının aktivitesini azaltmaları anlamına gelir. Buna bağlı olarak steatohepatit hastalarında elektronmikroskopik mitokondri değişiklikleri, hücre solunumunda ve enerji elde edilmesinde azalma olur. Fazla demir varlığında serbest yağ asitleri peroksizomal beta oksidasyonu şant yaparak hidrojen peroksid oluşturmakta ve bu da reaktif hidroksil radikallerine dönüşmektedir (49).

Sitokrom P450 NAYKH'de oksidatif stres kaynakları içinde önemli bir yere sahiptir. NAYKH patogenezinde CYP2E1; oksidatif stres moleküllerin oluşumu, inflamatuvar hücre aktivasyonu ve inflamatuvar sitokin oluşumuna sebep olmaktadır. Özellikle alkolik karaciğer hasarlanmasında süperoksid oluşumu, hidroksil ve hidroksietil radikallerinin oluşumunda rol oynamaktadır (50-52).

Serbest oksijen radikalleri; lipid membranların peroksidasyonuna ve adipoz doku, hepatositler ve kuppfer hücrelerinden proinflamatuvar sitokin olan TNF- α (tümör nekrozis faktör) salınımına neden olur (53). TNF- α diğer redoks sensitif kinazlardan, inhibitör kappa B kinase (IKK- β) aktivasyonuna neden olur. Bu da proinflamatuvar sitokinlerin transkripsiyon faktörü olan nükleer faktör-k β (NF-k β) aktivasyonuna, daha fazla TNF- α salınımına ve daha fazla insülin rezistansına sebep olmaktadır (54, 55). TNF- α insülin ile hepatosit membranlarında eksprese olan insülin reseptörü veya reseptöre bağımlı sinyal transdüksiyonu için rekabete girerek (56), glukozun hücreye alınmasını azaltmaktadır. Nötrofil kemotaksisi, apoptotik süreç ve fibrojenezde artmış TNF- α 'nın rolü raporlanmıştır. Artan TNF- α , lipoliz ve serbest yağ asitlerinin artışı anlamına gelmektedir (57, 58).

Lipopolisakkarit alımı ile karaciğerde IFN- γ ve m-RNA (Messenger ribonükleik asit)'sında artış olmaktadır. Obez steatohepatitlilerde intestinal etanol üretimi daha yüksek saptanmıştır. Bu hastalarda etanol oluşumu, inflamasyon ve sitokrom-P450 aktivasyonu, intestinal bakteriyel aşırı çoğalmasının patofizyoloji

ile ilgili olduğu düşünülmektedir. NAYKH'da Kupffer hücre disfonksiyonu gözlenmiştir. Steatohepatitte Kupffer hücreler fibrozis gelişiminde anahtar rol oynar (59, 60). UCP-2'nin mitokondrilerdeki elektron taşıma sisteminde aksaklıklar, ATP depleksiyonuna ve hepatositte hasarlanmasının kolaylaşmasına sebep olduğu öne sürülmektedir (61).

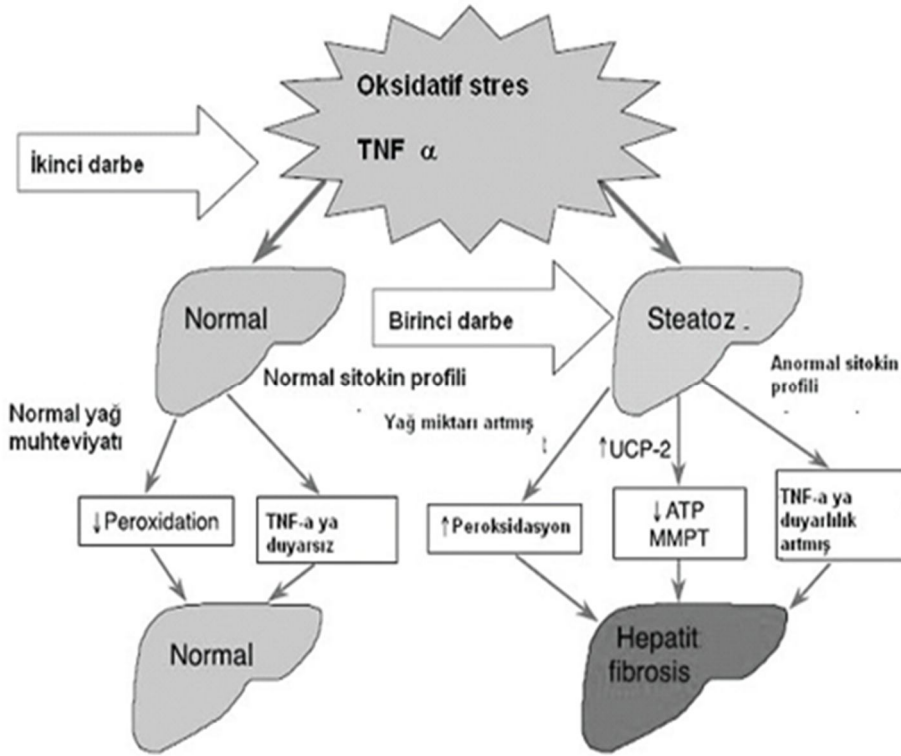
Non-alkolik steatohepatit hastalarında, mega mitokondriler, mitokondrial uncoupling protein-2 (UCP-2) sentez artışı, mitokondrilerde inklüzyon kristal oluşumu ve ATP (Adenozin trifosfat) sentez defektleri saptanmıştır. Hayvan deneylerinde kronik oksidatif stres varlığında hepatosit mitokondrilerinde adaptasyonlar geliştiği gösterilmiştir (62). NASH'li hastalarda Kupffer hücreleri TNF- α aktivasyonunun modüle eden interferon- γ (IFN- γ), interlekin (IL) IL-6, 10, 12 ve prostaglandin E2 (PGE2) salgılar (63, 64).

Azalmış hücre rejenerasyon kapasitesinde steatohepatit patofizyolojisinin de rol oynamaktadır. Deneysel steatohepatit geliştirilmiş farelerde yağlı hepatositlerin, G1 fazından S fazına geçemedikleri ve rejenerasyonun azaldığı gösterilmiştir (65).

İnsülin direnci yaratanserbest yağ asitleri ayrıca direk hepatositlere de toksik etki göstermektedir. Özellikle çoklu doymamış yağ asitleri lipid peroksidasyonunu arttırarak hepatositte hasarlanmaya sebep olur, doymuş yağ asitleri ise koruyucudur. Serbest yağ asitleri, periferik dokularda ve özellikle hepatositlerde; insülin reseptör etkileşmesi, postreseptör sinyalizasyon, glukoz taşıyıcı proteinlerin sentez ve hücre membranına yerleşmesi basamaklarında aksamalara yol açar (66).

Aşırı kilolu ve yağlı karaciğer bulunan tüm hayvan modellerinde insülin direncinin dolayısı ile hiperinsülinizm, hiperglisemi, TNF- α 'nın aşırı ekspresyonu ve leptin eksikliği birlikte görülür (67).

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı/NASH patogenezindeki iki darbe hipotezi Şekil 1'de özetlenmiştir.



Şekil 1. NAYKH/NASH patogenezindeki iki darbe hipotezi (30)

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı olan hastalarda son dönemlerde, fibrozis tüm yönleriyle aydınlatmaya çalışılmaktadır. Bu çalışmalarda, immunohistokimyasal yöntemlerle, kollajen üreten perisinüzoidal hücreler olarak bilinen hepatik stellat hücreler ve fibrozisin diğer ekstrasellüler komponentleri üzerinde çalışılmaktadır (68).

Kupffer hücrelerinde NAYKH' li hastalarda kitotriozidazın fazla yapıldığı bir çalışmada raporlanmıştır. Bu enzim NAYKH'de sürecin ilerlemesinde rol oynar ve komplikasyonsuz steatozun, ileri fibrozisli steatohepatite ilerlemesinde etkilidir (69,70). Hepatik stellat ve portal myofibroblastik hücreler CB2 (Cannabinoid reseptör 2) ekspresyonu yapar. İleri derecede NAYKH oluşmasındahepatositlerde bu reseptörlerin ekspresyonu etkilidir. Normal karaciğerde, hatta fibrozis olmayan durumlarda yoktur (71). CAR nükleer reseptörü (nuclear constitutive androstane receptor) ilaç metabolizmasındaki enzimlerin regülasyonunda önemli rol oynar. CAR, NASH gelişiminde araştırılmaktadır. NASH diyet modellerinde CAR, fibrozis ve hepatik hasarın kötüleşmesine neden olur (72).

1.1.1.5. Klinik Özellikler

Tanı konduğu anda hastaların çoğu karaciğer hastalığı ile ilgili semptom ve belirtiyeye sahip değildir. Genellikle NAYKH vakaları karaciğer hastalığı veya diğer nedenlerden dolayı yapılan tetkikler sırasında tesadüfen tanı alır. Hastaların bazılarında ise yorgunluk, kırgınlık ve sağ üst kadranda hassasiyet veya dolgunluk gibi semptomlar vardır. Fizik muayene hepatomegali hemen hemen tek bulgu olup, hastaların yaklaşık olarak %25'inde saptanır. Kronik karaciğer hastalığına ait bulgular (jinekomasti, palmar eritem, telenjektazi gibi) son dönem karaciğer hastalığı oluşmadan görülmez (73).

1.1.1.6. Laboratuvar Verileri

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı genellikle rutin laboratuvar tahlilleri sırasında artmış ALT düzeyleri ile teşhis edilir. Açıklanamayan persistan ALT düzey artışının en sık nedeni; Hepatit C ve diğer kronik karaciğer hastalıkları hariç tutulduğunda NAYKH'dir (74). NAYKH da çoğunlukla hafif veya orta düzeyde artmış serum transaminaz düzeyleri en sık ve tek anormal laboratuvar bulgusudur (75). Serum transaminaz artışı ile hepatik inflamasyon veya fibrozisin histolojik düzeyi arasında anlamlı bir ilişki yoktur (76, 77). Aspartat transaminaz/ alanin transaminaz (AST/ALT) oranı genellikle <1'dir (77). Siroz gelişimi ile birlikte AST/ALT oranında artma eğilimi gözlenir ve bu nedenle tanıdaki güvenilirliği azalır (76). Serum alkalen fosfataz (ALP) ve Gama Glutamil Transferaz (GGT) düzeylerinde hastaların 1/3'ünde önemsenmeyecek düzeyde artış görülebilir (78). GGT düzeyindeki artışın, insülin direncinin duyarlı bir belirteci olduğuna dair bazı kanıtlar mevcuttur. Bu nedenle GGT artışı, NAYKH için erken biyokimyasal bulgular arasında yer alır (79). Karaciğer yetmezliği tablosu oturduğunda hiperbilirubinemi, hipoalbuminemi ve uzamış protrombin zamanı gözlenir bunun dışında genellikle normaldirler. NAYKH'lı hastalarda yükselmiş serum lipid profili ve glukoz konsantrasyonu sık karşılan bir durum olup hastaların %25-75'inde bildirilmiştir (14).

Olguların bazılarında, düz kas antikoru (SMA) da az titrede artabilir. Antinükleer antikor (ANA) değeri, 1/40 ile 1/320 oranında pozitif bulunabilir. Seruloplazmin ve alfa-1 antitripsin seviyeleri normaldir. Antimitokondriyal antikor

(AMA) ve karaciğer böbrek mikrozomal antikorları negatiftir (78). NAYKH hastalığının patogeneğinde demirin rolü tartışmalı olup, hastaların yaklaşık %50'sinde transferin saturasyonu ve serum ferritin düzeylerinde artışın saptandığı çalışmalar mevcuttur (76, 78). Artmış demirin NASH'deki fibrozis ile ilişkili olduğu da yine tartışmaya açık bir durumdur. Ayrıca bu hastalarda hemokromatozis (HFE) gen heterozigotluğu saptanabilir. Ancak genetik hemokromatozis sıklığı normal popülasyondan farklılık göstermemektedir (79).

1.1.1.7.Tedavi

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı için etkili tek bir tedavi yöntemi henüz yoktur. Kilo verme, hiperlipidemi, hipergliseminin tedavisi ve toksik olan ilaçların bırakılması NAYKH'in en önemli tedavi yaklaşımıdır. Metabolik sendrom varsa, komponentlerine yönelik tedavi yapılmalıdır (80).

1.1.2. Metabolik Sendrom

Dr. Reaven, sendromu 1988 yılında ilk kez (o zaman syndrom x olarak) tanımlanmıştır (81). Bu açıklamasından 5 yıl geçtikten sonra bir araştırmasında şu açıklamayı yapmaktadır: "İnsüline bağımlı şeker emilimine karşı direnç geliştirmiş olan insanlarda oluşan değişimler bir sendrom altında toplanabilir görüşümdedir. Bu sendromun yetişkin tipi diyabet, hipertansiyon ve koroner kalp hastalığı gelişiminde önemli bir rol oynadığı düşünülebilir" (81).

Metabolik sendrom tanısı çok basit ölçümlerle fark edilebilen, insanların kalp hastalığı, şeker hastalığı, kanser gibi kronik hastalık riskleri ile ilgili bilgi verir (82). Metabolik sendromu olan 172.573 kişide yapılan bir araştırmanın sonuçlarına göre erkeklerde kalp-damar hastalığı gelişme riski metabolik sendromu olmayanlara göre 1,78 kat, kadınlarda ise 2,63 kat daha fazla olduğu saptanmıştır (83). Tip II diyabet (erişkin tipi) olmaksızın metabolik sendromu olanlarda tip II diyabet gelişme olasılığı olmayanlara göre 5 kat fazla olarak saptanmıştır (84).

Gelişmiş toplum metabolik sendromun yaygınlaşmasında bireylerinin hareketsiz yaşamları, beslenme şekilleri ve çevresel unsurların yanında genetik faktörler etkili olmaktadır (85).

Bel çevresi obezitesi, bozulmuş glikoz toleransı, dislipidemi ve hipertansiyonu içeren bir takım fizyolojik anormallikler olarak metabolik sendrom

tanımlanmıştır (85). Sıklığı gelişen ülkelerdeki yetişkinlerde %20'nin üzerinde bir artış göstermiştir (86,87). Metabolik sendrom sıklığının yaş ile artması diyabet ve kardiyovasküler hastalıkların gelişmesinde önemli bir risk faktörüdür (86, 88, 89).

Metabolik sendrom gelişimine çevresel ve kalıtsal faktörler katkı sağlar. Fakat bu bozukluğun sebepleri açık değildir. Esas sebebin insülin rezistansı olduğu ve buna bağlı olarak da kardiyovasküler hastalıkların geliştiği en çok kabul gören hipotezdir (85-90). İnsülin rezistansı hiperinsülinemi ile birlikte insülin etkisinde bir duyarsızlaşma olarak tanımlanmaktadır (91). Ayrıca, deney hayvanları ve insan çalışmaları metabolik sendrom tablosunda hiperinsülineminin oluşturduğu vasküler insülin rezistansının hipertansiyona yol açabileceği görülmüştür (92, 93).

Günümüzde, görülen karbonhidrat tüketimindeki dramatik artışın endüstrileşmiş toplumlarda metabolik sendromun yaygınlaşmasına neden olan en önemli faktör olduğu düşünülmektedir (94, 95)

Deney hayvanları (92, 96)ve insan (97, 98) üzerinde yapılan araştırmalarda diyet içinde alınan fruktoz ve sükrözün metabolik sendrom belirtilerine yol açtığı gösterilmiştir. Metabolik sendromun ortaya çıkmasında diyet içindeki makrobesinlerin rolünün bilinmesiyle birlikte genetik faktörlerinde önemli olduğu bilinmektedir (93-99).

Abdominal bölge yağlanması metabolik sendromun göstergelerinden biri olarak kabul edilir ve insülin direnci sonucunda ortaya çıkan vücuttaki anormal yağ dağılımı ile ilgili olduğu ileri sürülmektedir (100). Yapılan çalışmada bir grup insana normal günlük beslenmeleri yanı sıra fruktozla tatlandırılmış ve diğer gruba ise glikozla tatlandırılmış meşrubat verilmiştir. 8 haftanın sonunda her iki gruptaki deneklerde ortalama 1,5 kg ağırlık artışı oluşmuştur. Karın yağ miktarı fruktozlu meşrubat içen grupta artarken, glikozlu meşrubat içenlerde karın yağlarında bir değişim saptanmamıştır (101). Öte yandan yüksek fruktozlu mısır şurubu (YFMS)'nin şişmanlığa yol açmadan da metabolik sendroma neden olabileceğini gösteren çalışmalarda bulunmaktadır (102).

Birçok araştırmacı insülin rezistansının ana nedeninin metabolik sendromda ortaya çıkan hipertansiyonun olduğunu ileri sürmektedirler (87). Deneysel çalışmalarda ve insanlarda insülin rezistansı hipertansiyon ve hiperinsülineminin birlikte seyrettiği bildirilmiştir (103). Buna destek olarak çeşitli spontan hipertansif

sıçanlarda ve hipertansif deney modellerinde insülin rezistansı bulunduğu gösterilmiştir (86).

Fruktoz ile beslenerek hipertansiyon yapılmış deney hayvanlarındaki insülin rezistansının düzeltilmesinden sonra hipertansiyonun ortadan kalktığı tespit edilmiştir (104, 105). İlâveten insülin sensitivitesini geliştiren pek çok bileşik (metformin, vanadyum bileşikleri (106), tiyazolidinedionlar (107) metabolik sendromlu sıçanlardaki kan basıncı artışını düzelttiği gösterilmiştir.

1.1.3. Yüksek Fruktoz İçeren Mısır Şurubu

Yüksek fruktoz içeren mısır şurubu meşrubat, meyve suları, konserve meyveler, reçel, kahvaltılık mısır gevreği ve pastane ürünleri içinde alınan kalorinin en büyük kaynağını oluşturmaktadır. Yüksek fruktoz içeren mısır şurubu ABD’de 1970’li yıllarda bütün yiyecekler içinde alınan kalorinin yaklaşık %1’i kaynağıyken, 1980’li yıllarda bu tatlandırıcının kullanımındaki büyük artışlar yüzünden 2000’li yıllarda toplam kalorinin %42’sini kapsayacak düzeye ulaşmıştır (108). YFMŞ %55 ile %90 arasında fruktoz içermektedir ve böylece diyetdeki fruktozun asıl kaynağını oluşturmaktadır. ABD’de son 30 yılda YFMŞ tüketimindeki artışla birlikte obezite sıklığında çok belirgin bir artış kaydedilmiştir (109). Günümüzde gıda sanayisinde 3 tip YFMŞ kullanılmaktadır. Bunlar YFMŞ-42 (HFCS-42), YFMŞ-55 (HFCS-55) ve YFMŞ-90 (HFCS-90)’dır. YFMŞ-42, %42 oranında fruktoz, %55 oranında glikoz ve %3 başka şekerler içeren YFMŞ’dir. YFMŞ-55 de fruktoz %55, glikoz %42, diğer şekerler %3 dolayındadır. F-90 ise %90 fruktoz içermektedir. Meşrubat sanayisinde genellikle YFMŞ-55 kullanılmaktadır (110).

Deney hayvanlarında ve insanlarda fruktoz tüketiminin ağırlık artışı lipid profili ve glikoz metabolizması üzerine etkileri incelenmiştir. Bu araştırmaların çoğu fruktozdan zengin diyetin obezite, metabolik sendrom ve diyabet riskini artırdığını ileri sürmektedir (111, 112). İnsanlar üzerinde yapılan bir araştırmada enerjinin %25’inin fruktozdan karşılanması durumunda visseral yağlanma, hiperlipidemi ve insülin rezistansı geliştiği gösterilmiştir (113). Bazı araştırmalarda fruktoz ile tatlandırılmış içeceklerin tüketilmesi ile insülin rezistansı geliştiği fakat glikozlu içeceklerin bu bozukluğa yol açmadığı gösterilmiştir (114-117).

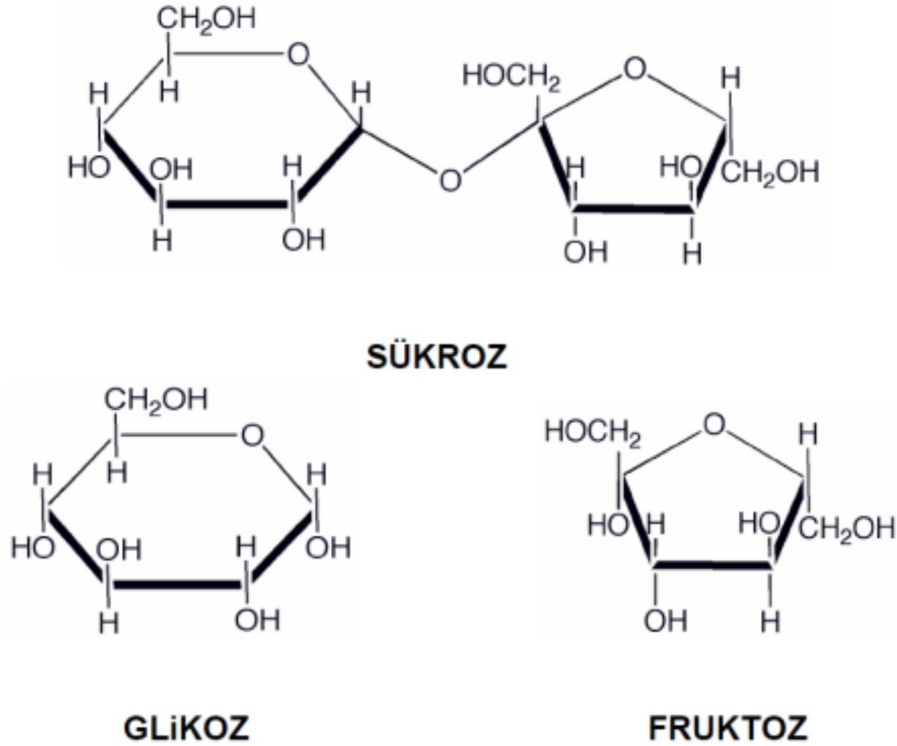
Son yıllarda ülkemizde şişmanlık ve buna bağlı hastalıklarda belirgin bir artış görülmektedir (118).

1.1.3.1. Fruktozun Kimyasal Yapısı

Bir monosakkarit olan fruktoz birçok meyve ve sebze içeriğinde bulunur. Fruktoz ile glikozun kimyasal formülleri aynı olduğu halde kimyasal yapıları farklıdır. Yapısında 2. karbona bağlanmış bir keton grubu taşıyan fruktoz, beş karbonlu halkaya sahiptir. Ancak altı karbonlu glikoz 1. karbondaki aldehit grubu taşıyan yapıdadır. Yiyeceklerde bulunan bir disakkarit olan sükrozun içerisinde glikoz ve fruktoz vardır. Fruktoz ve glikoz sükroz içinde 1-4 glikozit bağı ile bağlıdır (Şekil 1) (99).

1.1.3.2. Fruktozun Absorbsiyonu

Fruktoz batı diyeti içinde hem tatlandırıcı hem de meyveler içinde doğal olarak bulunan bir monosakkarittir. Kronik diyare ve karın ağrısı gibi semptomlar fruktoz malabsorbsiyonlu hastalarda ortaya çıkmaktadır. Fruktoz malabsorbsiyon durumunda ince bağırsaktan emilmeden kalın bağırsağa geçebilmekte ve bakteri gelişimine yol açabilmektedir. Aslında şeker malabsorbsiyonu disakkaritler için örneğin laktoz için söz konusu olan bir durumdur. Laktozu tolere edemeyen kişilerde ortaya çıkan bir durumdur.



Şekil 2. Glikoz, fruktoz ve sükrozun kimyasal yapıları

Bir monosakkarit olan fruktozun enzimatik parçalanması gerekmediği halde, absorpsiyon kapasitesinin üzerinde alınması durumunda, fruktoz malabsorpsiyonu söz konusu olabilir (119). Glikoz taşıyıcısı (GLUT)-5 knock-out farelerde diyet içinde alınan fruktozun absorpsiyonunun bozulduğu saptanmıştır. Bu model fruktoz malabsorpsiyonu sonucu oluşan biyolojik değişikliklerin incelenmesinde bir araç olarak kullanılabilir (120).

Fruktozun intestinal epitelyum hücrelerinden kolaylaştırılmış taşıyıcılar aracılığıyla taşındığı bilinmektedir. Bu taşıyıcıları içinde GLUT-5 intestinal epitelyum hücrelerinin apikal membranı boyunca fruktozun taşınmasını sağlar. GLUT-5 düşük afiniteli fakat yüksek kapasiteli bir fruktoz taşıyıcısıdır (119-121). Diyet içinde alınan fruktoz miktarı arttıkça GLUT-5 mRNA ekspresyonunun yükseldiği gösterilmiştir (122). Fruktozun gastrointestinal epitelyum hücrelerinin vazolateral membranı boyunca transportu bir heksoz transportu olan GLUT-2 ile de gerçekleşmektedir. GLUT-2 kolaylaştırılmış bir taşıyıcı olup heksoz şekerlerden glikoz ve fruktozu birlikte taşıma kapasitesine sahiptir (123).

Glikoz taşıyıcısı-2mRNA ekspresyonu hem glikoz hem fruktoz ile ayarlanabilmektedir. Yüksek glikoz diyeti ile beslenen farelerde fruktoz absorpsiyonunun artması ortak taşıyıcı GLUT-2'nin up-regülasyon ile açıklanabilir (119). GLUT-5 knock-out farelerde fruktoz absorpsiyonunun jejunumdan %75 oranında azaldığı ve serum fruktoz konsantrasyonunun %90 oranında düştüğü gösterilmiştir (120).

Yüksek fruktoz diyetiyle beslenen farelerde GLUT-5 taşıyıcısı silindiği zaman çekum ve proksimal kolonun genişlediği, çekal içeriğinin arttığı, sıvı ve gaz oluşumunun ve gaz miktarının arttığı gösterilmiştir. Bu hayvanlarda GLUT-2 taşıyıcısının apikal ve vazolateral membranda miktarının ya da ekspresyonunun GLUT-2 protein miktarının arttığı saptanmıştır fakat bu GLUT-5 eksikliğinin giderilmesinde yeterli olmamıştır (120).

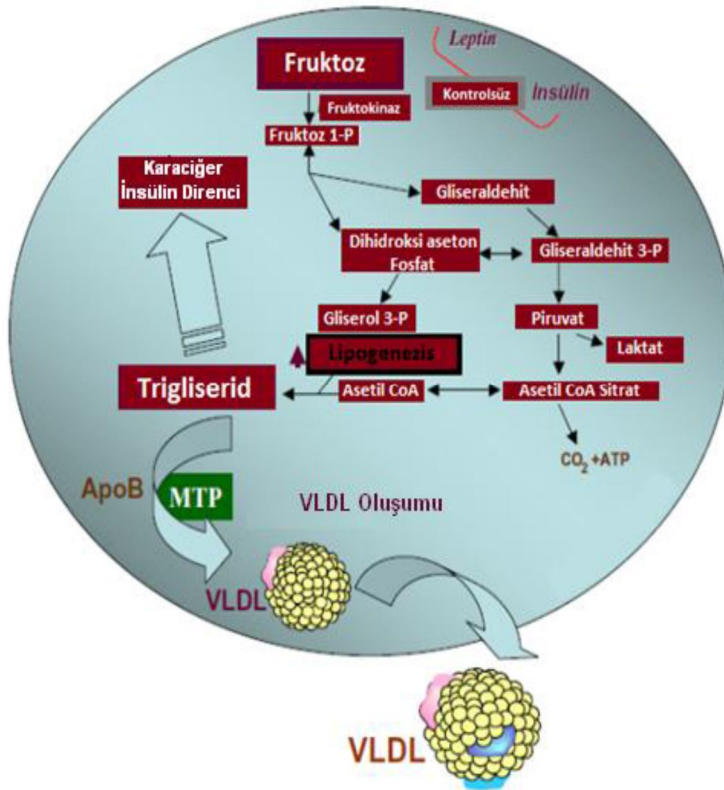
Sağlıklı kişilerde fruktozun %80-90 oranında absorbe edilebildiği ve absorpsiyon derecesinin kişiler arasında değişebildiği bildirilmiştir (124). Sağlıklı kişilerde açlık kan fruktoz konsantrasyonunun 1 gr/dl'nin altında olduğu gösterilmiştir. Aşırı miktarda fruktoz alımı ile bu değer 13 g/dl'ye kadar çıktığı belirlenmiştir. Fruktoz alımından 60 dakika sonra kan fruktoz düzeyinin en üst

noktaya çıktığı görülmüştür (125). Sükroz içinde alınan fruktozun serbest halde alınan fruktoza göre konsantrasyonunun %40 daha düşük olduğu gösterilmiştir. Ayrıca meyve ve sebzelerin içindeki fruktozun neredeyse tamamı bağırsak ve karaciğer enzimleri tarafından metabolize edildiği bildirilmiştir (126).

1.1.3.3. Fruktozun Metabolizması

Alınan fruktoz ATP oluşumuna katkıda bulunur. Ayrıca vücutta trigliserite ve kısmen de glikoza dönüşür. Fruktoz glikozdan farklı olarak doğrudan yağ asitlerine dönüştürülür. Fruktoz metabolizması insüline bağımlı olmadığı için ilk zamanlarda diyabet hastalarına tavsiye edilmiştir fakat daha sonraları çok ciddi olumsuz etkileri ortaya çıkınca görüşler tersine dönmüştür (127).

Besinlerle alınan fruktoz tümüyle karaciğerde metabolize olur (128). GLUT-5 aracılığı ile bağırsaklardan absorbe edilen fruktoz karaciğerde fruktozun spesifik enzimi olan fruktokinaz ile fosforile edilerek fruktoz-1-fosfata dönüşür. Akabinde bu ürün üç karbonlu gliseraldehite veya dihidroksiasetonfosfata dönüşür. Oluşan ara ürünlerin bir kısmı glikoza ya da laktat ve trigliserite metabolize olur (129).



Şekil 3. Karaciğerde fruktoz metabolizması (113)

1.1.3.4. Fruktozun İnsülin Rezistansı ile İlişkisi

Hayvan deneylerinde insülin direnci oluşturmak için tercih edilen yollardan birisi de yüksek konsantrasyonda fruktoz verilmesidir (130, 131). Fruktozun insülin direnci oluşturma mekanizmaları incelendiğinde, etkili mekanizmalar olarak karaciğerde VLDL üretiminin arttırması ve kanda trigliserit seviyesini yükseltmesi ileri sürülmektedir (132). Fruktozdan zengin bir öğün beslendikten sonra kan insülin ve leptin düzeyinde 24 saat süreyle düşme görülürken açlık trigliserit düzeyi yükselmektedir (133).

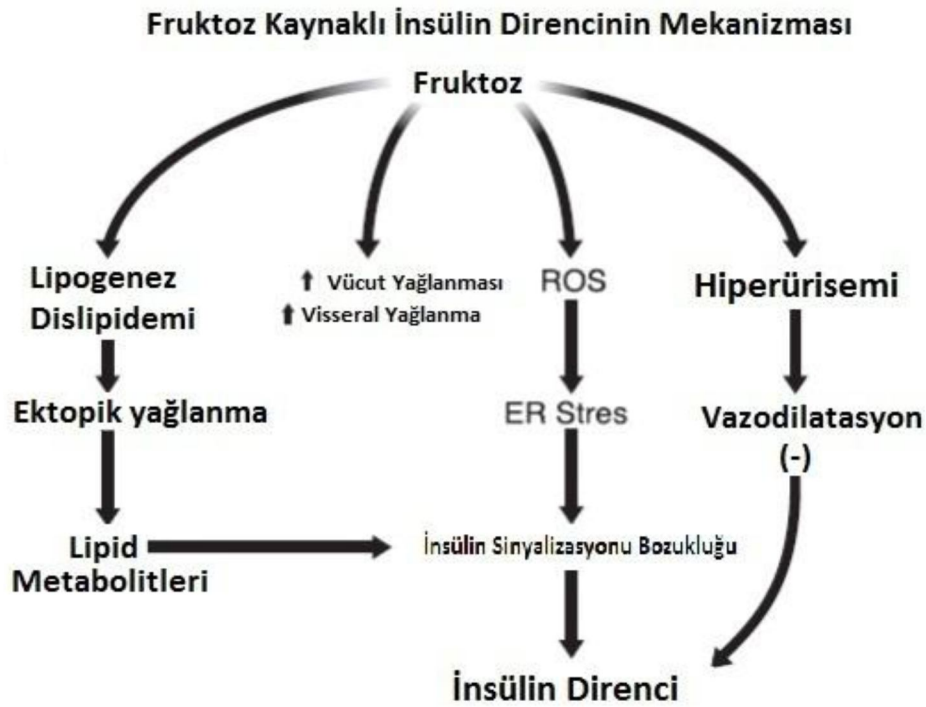
İnsülinin hepatik glikoz oluşumunu baskılamadaki yetersizliği, insülin rezistansı olarak tanımlanabilir. Sıçanlarda fruktozla beslenme sonucu glikoz salınımı insülin ile baskılanamamaktadır. Yapılan çalışmalarla fruktoz ile beslenen sıçanların çoğunda insülin duyarlılığında azalma, bütün vücut hücrelerinde gözlemlendiği saptanmıştır (134). Yapılan bazı çalışmalarda deney hayvanlarında fruktoz ile beslenen sıçanlarda plazma glikoz düzeyinin yüksek olduğu bildirilmiştir (135).

Farelerde, karbonhidrat ve yağdan zengin diyeti inceleyen bir çalışmada, diyet içeriğinin total kalorisinin %58'inin doymuş yağdan oluşturulduğu ve içme suyu içinde YFMS'den %4,2 oranında verilmiş. Çalışmada 16 hafta sonunda vücut yağ kitlesinde, vücut ağırlığında ciddi artışlar kaydedilmiştir. Aynı zamanda kan insülin ve glikoz düzeyinin de yükseldiği saptanmış, glikoz tolerans testinde insülin rezistansı geliştiği gösterilmiştir. Karaciğer histolojisi incelendiğinde ise hematoksil-eozin (HE) boyaması, lobüler inflamasyon skorunda önemli artışlar olduğunu göstermiştir. Fibrozis alanının daha çok portal bölgede yoğunlaştığı ve 14. haftadan başlayarak portal ven alanında yoğunlaştığı saptanmıştır. Hayvanların %33'ünün 16. haftada 1. basamak, %16'sında 2. basamak portal ve periportal fibrozis geliştiği gösterilmiştir. Hepatik kollajen-1 mRNA ekspresyonunda bu beslenme grubundaki hayvanlarda yüksek olduğu gösterilmiştir. Plazma trigliseritinde bir farklılık olmadığı fakat serum kolesterol düzeylerinin yüksek olduğu saptanmıştır (136).

Erkek fareler üzerinde yapılan bir çalışmada içme suyu içerisinde %20 fruktozun ve %72 lipit içeren yağlı diyetle beslenme sonucunda 8 hafta boyunca verildiğinde hayvanların vücut ağırlığı, karaciğer ağırlığı ve plazma insülin düzeyin

arttığı glikoz düzeyinin değişmediği görülmüştür. Karaciğer dokusunda yapılan HE histolojik araştırma da ise mikroveziküler ve makroveziküler lipit damlacıklarının belirgin olarak arttığı sağlanmıştır (137).

Fruktozla yapılan yine bir çalışmada içme suyu içinde %30 fruktozun 4 hafta boyunca erkek Sprague–Dawley sıçanlara verilmesi sonucunda karaciğer zedelenmesi ve steatozis oluşturulmuş. Karaciğer trigliserit ve kolesterol düzeyinin, karaciğer ağırlığının, plazma glikoz düzeyinin ve insülin düzeyinin arttığı saptanmıştır (138).



Şekil 4.Fruktozla oluşan insülin rezistansını açıklayan olası mekanizmalar (139)

1.1.3.5. Fruktoz ve Oksidatif Stres

Oksidatif stresin bir nedeninde fazla fruktozun olduğuna dair birkaç mekanizmadan söz edilmektedir. Bunlar içerisinde en çok üzerinde durulan mekanizma, artmış fruktoz metabolizmasının, oksidatif strese hücreleri daha duyarlı hale getiren hücresel ATP yoksunluğuna neden olması olarak açıklanmaktadır. In vitro çalışmalarda da, yüksek fruktozun süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikali ürettiği kabul edilmektedir (140).

Fruktozla beslenen ratlarda inflamatuvar cevapla uyumlu olarak, yüksek aktivite etkisi gösteren protein-1 aktivitesine bağı olarak c-Jun N-terminal kinaz (JNK) ara yolunda değişiklikler yapılan alışmalrda gözlenmiştir.

TNF- α aracılığıyla diyabet gelişimine obezite ve yağ asidi ile uyarılmış insülin rezistansının katkı sağladığı düşünülmektedir. TNF- α 'nın lipolize ve insülin rezistansına neden olduğu bilinmekte fakat bu duruma neden olan kesin mekanizma (lar) net olarak açıklanamamıştır. Son dönemlerde diyete bağlı obezite ile c-Jun N-terminal kinaz aktivitesi arasındaki bir ilişkiden bahsedilmektedir (141).

Yapılan bir çalışmada, fareler 1 yıl boyunca ticari gıdalar ile beslenmiş ve randomize olarak suya ve 250 g/L fruktoz, glikoz veya sükroz içeren solüsyonlarla beslenmişlerdir. şeker solüsyonlarının hiçbiri plazma glikoz derişimlerine etki etmemiştir. Ancak, idrarda ölçülen glikozillenmiş hemoglobin seviyeleri ve lipid peroksidasyon ürünlerinin derişimleri, fruktoz ile beslenmiş farelerde, sakkaroz, glikoz veya su ile beslenmiş farelerden daha fazladır. Buna ek olarak, yaşlandırma ltlerinden znrlk, çapraz bağların ve kollojenin olurtuğu fruktoz grubunda, diğer gruplardan daha fazla bulunmuştur. Bu bulgular, uzun süreli fruktoz tüketiminin yaşlanma sürecini hızlandırabileceğini göstermektedir (142).

Fruktozun yemek yapımında kullanılması da potansiyel olumsuz etkiler doğurabilir. AGE'ler (glikozillenmiş son ürün), sıradan yiyeceklerin ısıtılması esnasında oluşurlar ve *in vivo* AGE oluşumunun aksine, pişme esnasında çok daha hızlı ve çok daha büyük derişimlerde gelişebilirler. Mideye ulaşmış AGE'lerin yaklaşık olarak yüzde 10'u emilir. Bunların da üçte ikisi dokularda reaktif bir şekilde tutulur (143).

Besinsel AGE'lerin neden olduğu diyabetin hayvan modelinde hayatta kalma süresini azalttığı görülmüştür. Pişirme esnasındaki AGE oluşum oranı, sukroza kıyasla fruktoz bulunduğunda çok daha fazladır. AGE içeriğinin çoğu tipik bir Batı diyetinde, etler, tereyağı ve peynir gibi yüksek proteinli ya da yüksek yağ içeren ürünlerin ısıtılması yüzünden meydana gelse de, ekmeklerin, pastaların, keklerin ve diğer yiyeceklerin pişirilmesinde kullanılan HFCS kullanımının besinsel AGE seviyelerini daha da arttırdığı düşünülmektedir (144).

1.1.3.6. Fruktozun Karaciğer Yağ Akümülyasyonu ile İlişkisi

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAYKH) vakalarının %70'i metabolik sendrom ile ilişkilidir. Yanlış beslenme tarzı bu hastalığın gelişmesindeki büyük etkidir. Özellikle tatlandırıcı olarak YFMSŞ kullanıldığı meşrubat tüketimi karaciğer yağlanmasına yol açmaktadır (145).

Metabolik sendrom ve NAYKH birbirlerini tetikleyen patolojik unsurlardır (146, 147). Non-alkolik karaciğer yağlanması olan hastaların bir bölümünde non-alkolik steatohepatit (NASH) gelişir. NASH gelişmesinde, NAYKH ile hasara uğramış karaciğerde ön planda oksijen radikallerinin hücresel bozulmalara yol açması düşünülmektedir. NASH'de apoptotik hücre ölümü öne çıkan en önemli unsurdur (145).

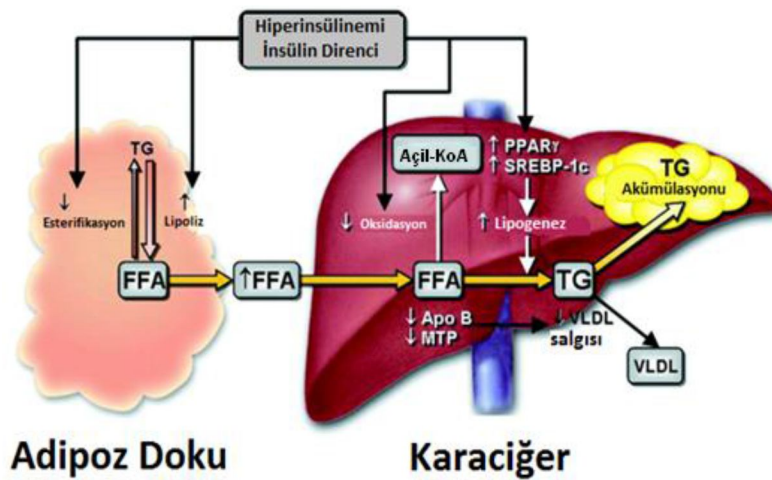
İki darbe teorisine göre NAYKH, karaciğerin ilk darbeyi "modern beslenme" nedeniyle alınan aşırı fruktozun yağa dönüşüp bu yağların karaciğer içinde depolanmasıyla oluşur. İkinci darbe ise ortaya çıkan inflamatuvar etkiyle yağlı karaciğer iltihabı (non-alkolik steatohepatit) gelişmesidir (27).

Ackerman ve ark. (131) 2005 yılında fruktozdan zengin diyetle beslenmenin sıçanlarda karaciğerde non-alkolik karaciğer yağlanması oluşturulabileceği tanımlanmıştır. Bu çalışmada araştırmacılar yaklaşık 200 g ağırlığında olan Sprague-Dawley ırkı sıçanları 5 hafta boyunca %60 fruktoz içeren diyetle beslemişlerdir. Bu sürenin sonunda karaciğer histolojisi HE ve Oil Red O (ORO) boyamalarıyla incelendiğinde fruktozla beslenen grupta makrovizküler ve mikroveziküler steatoz, lobüler inflamasyon ve fibrozis geliştiği saptanmıştır. Fruktozla beslenen hayvanların plazma ölçümlerinde glikoz, kolesterol, alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) düzeylerinde bir değişiklik olmadığı gösterilmiştir. Fakat insülin ve trigliserit düzeyleri yükseldiği görülmüştür. Aynı çalışmada fruktozlu grupta karaciğer trigliserit ve kolesterol miktarının arttığı bildirilmiştir.

Non-alkolik karaciğer yağlanması obezite ile birlikte seyreden yetişkinlerin yaklaşık %20-30'unu etkileyen en sık görülen karaciğer bozukluğu olarak gözlenmiştir (148). Rodentler üzerinde yapılan araştırmada fruktoz tüketiminin karaciğer dokusunda çeşitli histolojik değişikliklere neden olduğu ve bu değişikliklerin periportal bölgede lokal inflamasyon, periportal alanda makroviziküler steatozis, makroviziküler ve mikroveziküler steatozis olarak

bildirilmiştir (149, 150). Yüksek fruktoz içeren diyetle beslenen sıçanlarda 5 hafta sonra portal inflamasyon ve lobüler inflamasyonun belirgin olarak ortaya çıktığı gösterilmiştir (151).

Yapılan bir çalışmada yüksek yağlı ve şekerli diyet ile beslenmenin insanlarda artan metabolik sendromun ana unsurlarından biri olduğunu ileri sürülmüş ve 5-6 haftalık C57BL/6 erkek farelere kalorisinin %45'ini yemdeki doymuş yağlardan sağlayan bir diyet uygulaması yapılmış. Aynı zamanda hayvanlara içme suyu içinde %4,2 YFMŞ uygulaması yapılmıştır. Hayvanların kafeslerindeki bölmeler kaldırılarak da hareketsiz yaşam sağlanmıştır. İzlem periyodunun 16. haftası sonunda hayvanların vücut ağırlığı, karaciğer ağırlığı, karaciğer trigliserit konsantrasyonu, kan insülin düzeyi ile plazma kolesterol, trigliserit ve ALT düzeylerinde belirgin artışlar kaydedilmiştir. Beslenme periyodu 4 haftanın sonunda bile HE boyaması incelenen karaciğer histoloji çalışması, yağ damlacıkları ve steatozis oluştuğu saptanmıştır (152). Karaciğer parankim dokusunda mikroveziküler yağlanmayı arttırdığı saptanmıştır. Fakat nekroinflamatuvar değişiklikler izlenememiştir (153). Fruktoz metabolizmasının sağlandığı ana organ olan karaciğerde fruktozun glikoliz sürecine fosfofruktokinaz enzimi by-pass ederek fruktoz-1-fosfat halinde girmesiyle ölçsüz miktarda asetil koenzim-A, gliserol-3-fosfat ve diğer lipojenik maddelerin oluşması hepatik lipogeneze neden olur. Bununla beraber fruktozun insülininden bağımsız olarak sterol reseptör elemanlarını bağlayıcı protein-1c (SREBP-1c)'yi aktive ederek de karaciğer içi yağ oluşumuna neden olduğu gösterilmiştir (154)



Şekil 5. Non-alkolik hepatik steatozisin karaciğer ve adipozdokuda oluşumu (27).

İnsülin rezistansı adipoz dokuda trigliserit lipolizisini arttırır ve serbest yağ asitlerinin esterifikasyonunu inhibe eder. Sonuçta serum ve karaciğerdeki serbest yağ asitlerinin miktarı artar. Karaciğer trigliserit sentezi serbest yağ asitlerinin karaciğere girişiyle kontrol edilir. İnsülin yağ asitlerinin oksidatif metabolizmasını inhibe eder (27)

Kawasaki ve ark. (151) 5 haftalık Wistar sıçanları steatohepatitin derecesini değerlendirmek için 5 hafta farklı diyet ile %70 (a/a) mısır nişastası (kontrol), %70 yüksek fruktoz, %70 yüksek sükroz, %15 yüksek yağ ve %15 yüksek yağ ve %50 yüksek fruktoz oranında beslemişlerdir. Son vücut ağırlıkları kıyaslandığında, yüksek fruktozlu grubun vücut ağırlıkları sırasıyla yağlı diyetle beslenen gruptan ve yağlı-fruktozlu beslenen gruptan küçüktür. Buna ek olarak yağlı diyetle beslenen deney gruplarındaki vücut ağırlıklarındaki artış kontrol, yüksek fruktoz ve yüksek sükroz ile beslenmiş gruplara göre belirgin bir artış sağlamıştır. Yüksek yağlı beslenen gruplarda makroveziküler steatozis gözlenmemiştir. Yüksek fruktoz grubunun hepatik trigliserit konsantrasyonu diğer 4 gruptan belirgin ölçüde yüksektir. Bunlara ek olarak yüksek fruktoz grubunun karaciğer/vücut ağırlığı oranı diğer gruplara göre anlamlı olarak daha fazladır.

İçme suyu içinde %30 fruktozun 8 hafta boyunca verilmesi farelerde hepatik trigliserit içeriğini belirgin bir şekilde artırdığı, HE ve ORO boyamalarda karaciğer histolojisinde yağlanmayı gösteren önemli değişiklikler olduğu saptanmıştır. Tümör nekrozis faktör alfa reseptör 1 (TNFR1) geni çıkartılmış farelerde ise fruktozun oluşturduğu bu değişikliklerin belirgin ölçüde azaldığı saptanmıştır. Karaciğerde indüklenebilen nitrik oksit sentaz (iNOS) protein ekspresyonunun fruktozla arttığı fakat TNF- α reseptör geni çıkartılmış hayvanlarda bu artışın değişmediği bildirilmiştir. Fruktoz içen hayvanlarda yağ asitlerini sağlayan enzim (fatty acid synthase; FAS) mRNA ekspresyonunun kontrol hayvanlara göre belirgin olarak yüksek olduğu gösterilmiştir (155).

Yapılan bir çalışmada fruktozdan zengin diyet ile (%60 fruktoz içeren diyet) beslenen Wistar sıçanlarda egzersizin metabolik sendrom üzerine etkisi incelenmiştir. Günde 1 saat haftada 5 gün 28. ile 120. gün arasında yüzme egzersizi uygulanan sıçanlarda, serum ALT düzeyi gruplar arasında farklılık göstermemiştir fakat serum AST ve karaciğer lipitlerinin anlamlı ölçüde düştüğü saptanmıştır.

Fruktozla beslenen ve yüzme egzersinetabi tutulan sıçanlarda serum trigliserit konsantrasyonunun yüksek olduğu bildirilmiştir (156).

Tatlandırılmış içeceklerin haftada 3 gün 10 hafta boyunca sıçanlara verilmesinin karşılaştırıldığı bir çalışmada içme suyu içerisinde %15 mısır şurubu ve fruktoz uygulamasının hayvanlar serum kolesterol vetrigliserit düzeyinin artırdığı fakat karaciğer histolojisinde belirgin bir değişiklik yapmadığı sadece serum ALT düzeyini yükselttiği bildirilmiştir (157).

1.1.3.7. Diyette Yüksek Fruktoz İçeren Mısır Şurubu ile Yapılan Deneysel Çalışmalar

Mide-bağırsak kanalından hızlı emilimin gösteren şekerli içeceklerin, tokluk hissi oluşturmadığı ve yeniden besin tüketme isteği yaratmasından dolayı yüksek enerji alımına yol açtığı belirtilmiştir. İlâveten sıvı içecek içindeki şekerin katı besinlerdekine göre bağırsaklardan daha fazla emildiği belirtilmiştir. Aşırı kalori alımının en büyük sorumlusu olarak günümüzde şekerli içecekler gösterilmektedir (127).

Diyet suyu içinde %60 sükroz, %30 glikoz ve %30 fruktoz kombinasyonun karşılaştırıldığı bir çalışmada 8 haftalık beslenme periyodu sonunda karaciğer trigliserit ve ürik asit düzeyi ile karaciğer yağlanmasının düzeyinin, fruktoz-glikoz kombinasyonu ile beslenen grupta sükroz grubundan daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmanın bulguları serbest fruktoz ve glikoz kombinasyonunun, sükroz içindeki bağlı fruktoz-glikoz'a göre karaciğer üzerinde daha zararlı olabileceği gösterilmiştir (149).

Farklı şeker içeriklerinin metabolik ve endokrin fonksiyon üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada dişi Sprague–Dawley sıçanlara içme suyu içinde %13 glikoz, fruktoz, sükroz ve yüksek fruktoz içeren mısır şurubu (HFCS-55) 8 hafta boyunca verilmiştir. Tatlandırılmış içecek alan hayvanların katı yem tüketiminde belirgin bir azalma olduğu fakat total enerji kalori alımının yükseldiği saptanmıştır. Bu şekerlerden yalnız YFMS'da ağırlık artışı ve yağ kitlesinde artış olduğu saptanmıştır. Şekerli içeceklerle beslenmenin serum glikoz ve insülin düzeyleri ile lipit profilleri üzerinde belirgin bir değişiklik oluşturmadığı gözlemlenmiştir (158).

Mısır şurubu ve sükrozun sıçanlarda damak tadı üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada mısır şurubunun sükroza ve fruktoz-glikoz karışımına göre hayvanlar tarafından daha çok tercih edildiği saptanmıştır. Mısır şurubu ile oluşan bu farklılığın içerdiği çok küçük %3'lük glikoz polimerlerinin tad üzerine olumlu etkilerinden kaynaklandığı ileri sürülmüştür (159).

Metiyonin-kolin eksikliğinin fruktoz ile oluşturulan karaciğer yağlanması üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada farelere 21 gün boyunca fruktozdan zengin diyet uygulanması sonucunda metiyonin-kolin eksikliği olan grupta karaciğer ağırlığının ve trigliserit içeriğinin arttığı fakat vucüt ağırlığı ve gonadal yağ kitlesinde azalma, serum trigliserit ve serum kolesterol ve glikoz düzeyinde belirgin bir azalma olduğu saptanmıştır. Karaciğer de inflamatuvar faktörlerden TNF'nin ekspresyonunun arttığı da bildirilmiştir. Metiyon-kolin eksik olan grupta yağ asidi oksidasyonunu arttığı fakat lipogenezisin azaldığı gösterilmiştir. Karaciğer kesitlerinde yapılan HE boyanması sonucunda ise fruktozla beslenen ve metiyonin-kolin eksikliği olan hayvanlarda hepatik steatozis ve inflamasyonun daha ciddi olduğu saptanmıştır (160).

1.1.4. Rifaksimim

Rifaksimim geniş spektrumlu bir antibiyotiktir. Rifaksimim ilk olarak 1985 yılında İtalya'da akut bakteriyel diyare için lisans aldı.2010 yılında hepatik ensefalopati,2004 yılında ise E.Coli'ye bağlı turist ishali tedavisinde kullanılmak üzere FDA tarafından onaylanmıştır. Günümüzde 33 ülkede kullanım için onay almıştır (161). Rifaksimim, akut gastrointestinal enfeksiyonlarda, turist diyaresinde, kronik bağırsak enflamasyonu ile giden gastrointestinal hastalıklarda, kolorektal cerrahi enfektif komplikasyonların profilaksisinde, hepatik ensefalopati gibi hiperamoneminin koadjuvan tedavisinde endikedir.

1.1.4.1. Farmakodinamik Özellikler

Rifaksimim yarı sentetik rifamisin tabanlı sistemik olmayan bir antibiyotiktir (161). Rifamisin grubu antibiyotiklerin diğer üyeleri gibi bakteriyel DNA bağımlı RNA polimeraz enziminin beta alt ünitesine geriye dönüşümsüz bir şekilde bağlanır ve sonuç olarak bakteriyel RNA ve protein sentezini inhibe eder. Enzimle geriye dönüşümsüz bir şekilde bağlanma nedeniyle rifaksimim duyarlı bakterilere karşı bakterisittir. Rifaksimimin antimikrobiyal etki spektrumu geniştir; seyahat edenlerin

diyaresi dahil olmak üzere gastrointestinal enfeksiyonlardan sorumlu hem gram negatif, hem gram pozitif aerop ve anaerop bakterilerin çoğunu içine alır. Bunlar gram negatif aeroplara: Salmonella Spp. , Shigella Spp. Enteropatojenik suşlar dahil olmak üzere E.Coli, Proteus Spp. Campylobacter spp. , Pseudomonas spp.; Yersinia spp. Enterobacter spp. Klebsiella spp., H. pylori gram negatif anaeroplara: Bacteroides Fragilis dahil olmak üzere bacteroides spp. Fusobacterium Nucleatum gram pozitif aeroplara: Streptococcus spp. Enterococcus faecalis dahil olmak üzere enterococcus spp. Stafilokokkus spp. , gram pozitif anaeroplara: Clostridium difficile, Clostridium perfringens dahil olmak üzere Clostridium spp. Peptostreptococcus spp. olmak üzere etkili olduğu etkenlerdir. Oral yolla verilen rifaksiminin gastrointestinal emilimi, ihmal edilebilir düzeydedir (%1'den az). Sonuç olarak antibiyotik barsaklarda, test edilen enteropatojenlerin MİC'lerinden önemli derecede daha yüksek konsantrasyonlara ulaştığı bölgede lokal olarak etki gösterir. Bu durum rifaksiminin hedef bölgeye yerleşen duyarlı patojen türlerini ortadan kaldıran etkin antibakteriyel etkiyi yürütmesini sağlar.

Rifaksiminin geniş antibakteriyel spektrumu aynı zamanda çeşitli patolojik durumlarda sorumlu veya bu durumlarla ilgisi olan intestinal bakteri yükünü azaltmasını kolaylaştırır. Sonuç olarak rifaksimin mukozadaki immunoregulasyonda ve/veya bariyer fonksiyonunda genetik olarak belirlenen patoloji varlığı durumunda kronik barsak inflamasyonunu uyaran ya da devam ettiren antijenik uyarıları sağlar. Rifaksimin, ayrıca kolorektal cerrahide enfektif komplikasyon riskini azaltır. Gastrointestinal pasajdan emilimi olmadığı için sistemik yan etki riski yoktur (162).

1.1.4.2. Farmakokinetik Özellikler

Yapılan çalışmalarda farmakokinetik olarak oral alınan rifaksimin emilimi hemen hemen bulunmamaktadır (%1'den az). Sağlıklı veya Ülseratif Kolit/Crohn hastalarında hasarlı intestinal mukoza zemininde kullanılan teropotik dozlardaki rifaksiminin plazma düzeyleri tespit edilemez veya ihmal edilebilir seviyededir. Birbirini izleyen doz alımı sonrasında ilaç birikimine dair kanıt bulunamamıştır. Rifaksimin neredeyse hiç değişmemiş olarak feçesle atılır. Elimine edilen rifaksiminin üriner yolla açığa çıkan miktarı verilen dozun % 0.5 ini aşmaz. Oral alınan rifaksiminin hemen hemen hepsi çok yüksek konsantrasyonlara ulaştığı intestinal sistemde mevcuttur (163).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Deney Hayvanlarının Temini ve Grupların Oluşturulması

Çalışma Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu (FÜHADEK) onayı alındıktan sonra, standart deneysel hayvan çalışmaları etik kurallarına uygun olarak, Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi (FÜDAM)'nde yapıldı. Bu çalışmada ağırlıkları ortalama 220 gram olan 42 adet Sprague-Dawley cinsi erkek rat kullanıldı. Ratlar 22 ± 1 °C sıcaklık ve 12 saat ışık/karanlık siklusunun sağlandığı ortamda etik kurallara uygun olarak muhafaza edildi. Hayvanların beslenmesinde, standart pellet yemi ve çeşme suyu kullanıldı. Tüm deney süresince ratların vücut ağırlıkları takip edildi.

Ratlar her bir grupta 7 tane olmak üzere toplam 6 gruba ayrıldı:

Grup 1 (n=7): 8 hafta boyunca normal diyet verildi.

Grup 2 (n=7): 8 hafta boyunca fruktozdan zengin diyet verildi. (%50 fruktoz içme suyuna ilave edildi).

Grup 3 (n=7): 8 hafta boyunca Fruktozdan zengin diyet + haftada bir orogastrik sonda ile rifaximin verildi.

Grup 4 (n=7): 8 hafta boyunca fruktozdan zengin diyet + haftada 3 gün orogastrik sonda ile rifaximin verildi,

Grup 5 (n=7): 8 hafta boyunca normal diyet+ haftada bir orogastrik sonda ile rifaximin, verildi.

Grup 6 (n=7): 8 hafta boyunca normal diyet +haftada 3 gün rifaximin orogastrik sonda ile rifaksimin verildi.Rifaximin 15 mg/kg dozunda uygulandı.

Yemler, özel çelik kaplarda ve %50'luk fruktoz çözeltisi paslanmaz çelik bilyeli biberonlarda normal musluk suyu ile hazırlanarak verildi. Fruktoz çözeltisi nedeniyle biberonlarda herhangi bir patojen etkenin üremesine engel olmak için, 8 hafta boyunca 2 günde bir biberonlar yıkanarak, çözelti tazelendi. Rifaximin 15 mg/kg dozunda uygulandı.

Deney protokolünün 8. haftası tamamlandıktan sonra ratlar bir gecelik açlığı takiben anestezi altında dekapite edildi ve kan örnekleri alındı. Alınan kan örnekleri 5000 rpm'de 5 dakika süre ile santrifüj edildikten sonra elde edilen serum örnekleri analiz edilinceye kadar -20°C de saklandı. Abdomenleri açılıp karaciğerleri doku

bütünlüğü bozulmadan çıkartıldıktan sonra tartıldı ve kaydedildi. Karaciğerin farklı bölgelerinden doku örnekleri alınıp % 10'luk formalin solüsyonu ile tespit edildi. Mevcut karaciğer örnekleri için Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında parafin blokları hazırlandı.

2.2. Biyokimyasal Analizlerin Yapılması

Serum AST, ALT, GGT, ALP, kolesterol, trigliserid, insülin, glikoz ve ürik asit, düzeyleri Olympus AU 600 otoanalizörle Olympus kitler kullanılarak çalışıldı. Serum GSH-Px, TNF- α ve 4-HNE düzeyleri için uygun ticari kit kullanılarak ELİSA yöntemiyle çalışıldı. Doku TNF- α (Anti-TNF alpha antibody, Abcam, Cambridge, UK), NF- κ B (Anti- NF κ Bp65 antibody, Abcam, Cambridge, UK), kollajen tip 1 (Anti-Collagene type I antibody, Abcam Cambridge, UK), Nfr-2 (Nuclear factor (erythroid-derived 2)-like Abcam Cambridge, UK), HO-1 (Hemoksijenaz -1 Abcam Cambridge, UK), kitleri kullanılarak Western Blot yöntemiyle çalışıldı.

2.2.1. HPLC'de Analiz

Lipid peroksidasyonu, membran lipid peroksidasyonunun önemli bir ürünü olan malondialdehid (MDA) oluşumu açısından Karatepe'den modifiye edilerek yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC, Shimadzu, Tokyo, Japonya) yöntemiyle Shimadzu UV-Vis SPD-10 AVP detektör ve C18- ODS - 3,5 μ m, 4.6 \times 250 mm kolon kullanılarak ölçüldü.

- Hareketli faz olarak 30 mM KH₂PO₄ - metanol (% 82.5–17.5; pH: 3.6) kullanıldı.

- Kromatogramları 250 nm'de takip edildi ve enjeksiyon hacmi 20 μ l idi.

- Akış hızı 1.2 ml/dakika olarak belirlendi.

2.2.2. Western Blot Analizi ile Protein Ekspresyonunun Ölçümü

Karaciğer dokusu 1: 10 (w/v) oranında homojenizasyon solüsyonunda (10 mM Tris-HCl, ph 7.4, 0.1 mM NaCl, 0.1 mM fenilmetilsulfonyl fulorür (PMSF), tripsin inhibitörü olarak, 5 μ M soya (solubl toz; Sigma, St. Luis, MO, USA) içinde homojenize edildi. Doku homojenatları 15.000 x g at 4°C de 30 dk süreyle santrifüje edildi. Süpernatantlar yeni tüplere alındı. Protein konsantrasyonu Lowry prosedürüne uygun şekilde protein ölçüm kiti kullanılarak (Sigma, St. Luis, MO, USA) ölçüldü. Süpernatantlara, %2'lik β -merkaptoetanol içeren sodyum dodecyl sülfat poliakrilamid

jel (SDS-PAGE) elektroforezi tamponu eklendi. SDS-PAGE jel içinde eşit mikterlarda (20 µg) protein, elektroforez için kullanıldı. Arkasından nitrosellülöz membranlara (Schleicher and Schuell Inc, Keene, NH, USA) aktarıldı. Nitrosellülöz blotlar PBS içinde 5 dk süreyle 2 kez yıkandı ve %1'lik sığır serum albümini ile primer antikor uygulamasından önce 1 saat bekletildi. Primer antikor (Anti-Nrf2 antikor, Anti-NF-κB p65 antikor, Anti-TNF-α antikor, Anti Heme Oxygenase 1 antikor, Anti-alfa 1 kollojen antikor, (abcam, Cambridge, UK) % 0.05 Tween-20 içeren aynı tampon içinde 1: 1000 oranında dilüe edildi. Nitrosellülöz membran gece boyunca 4°C'de protein antikorları ile inkübe edildi. Blotlar yıkandı ve horseradish peroksidaz-conjugated goat anti rabbit veya anti-mause IgG (Santa Cruz Biotechnology Inc, CA, USA) ile inkübe edildi. Spesifik bağlanma, diaminobenzidin ve H2O2 substratları kullanılarak tespit edildi. Protein yükleme β-aktin antikora (A5316; Sigma) karşı monoklonal bir mause antikor kullanılarak kontrol edildi. Protein düzeyleri bir görüntü analiz sistemi (Image J; National Institute of Health, Bethesda, USA) ile dansitometrik olarak analiz edildi.

2.3. Histopatolojik Değerlendirme

Karaciğer, abdomen açıldıktan sonra karaciğer lobları bütün olarak çıkarılmış, kurutma kağıdı ile ıslaklığı hafifçe alındıktan sonra tartılmış ve histopatolojik incelemeler için %10'luk formol ve serum fizyolojik solüsyonu içerisine alınmıştır.

Hematoksilen-Eozin (HE) boyama yapılabilmesi için karaciğer sağ lobundan 2 mm kalınlığında yaklaşık 1.5x1 cm'lik doku örneği alınarak doku kasetine koyulmuş ve %10'luk formol içerisinde fiksasyon (tesbit) işlemine devam edilmiştir. Her hayvandan benzer şekilde alınan ve kasetlenen doku örnekleri otomatik doku tesbit cihazındaki kaset sepetlerine yerleştirilmiştir. Doku örnekleri, cihaz içerisinde dehidratasyon amacıyla etanol ile artan konsantrasyonlarda (%70'den %99'a kadar) olacak şekilde belirli periyotlarda muamele edilmiştir. Daha sonra, dokuların daha temiz ve şeffaf olması için ksilol ile muamele edilmiştir. Çıkan suyun yerine boşlukları doldurmak amacıyla dokular sıvı parafin ile muamele edilmiştir. Doku kasetinden çıkarılan doku örnekleri bloklama cihazında kalıplar içerisine alınarak üzerlerine sıvı parafin döküldükten sonra, buzlukta sertleştirilmiştir. Elde edilen parafin bloklardan mikrotom ile 4 mikronluk kesitler alınmış ve kesitler 56oC'deki

su banyosuna yavaşça bırakılmıştır. Kesitler lam ile temas edince lamın üstüne yapışmış ve doku örneğinden alınan kesit lam üstüne alınmıştır. Tüm kesitler lam sepetine sıralanmış ve boyama işleminden önce 80 derece santigratta 30 dakika bekletilerek kesitlerin deparafinizasyonu sağlanmıştır. Daha sonra 15 dakika Ksilende, 5 dakika alkolde tutularak dokular temizlenmiştir. Çeşme suyunda 2 dakika yıkandıktan sonra, boyama işlemi için otomatik boyama cihazına alınan lam sepeti, 7 dakika Hematoksilen boyasında bekletilmiş ve ardından yine cihaz içerisindeki çeşme suyunda 2 dakika süreyle yıkanmıştır. Asit alkol ile (%80'likalkol) 10 saniye muamele edilen kesitler, çeşme suyunda 2 dakika yıkandıktan sonra amonyaklı suya 10 saniye daldırılmıştır. %80'lik alkolde 1 dakika tutulduktan sonra, 2 dakika Eozin boyasında bekletilmiştir. Bunu takiben %95'lik alkolden her biri 2 dakika olmak üzere 2 kez geçirilmiştir. Asetonda ile 10 saniye bekletilen kesitler ksilende 7 dakika tutularak artıklardan arındırılarak şeffaflandırılmıştır. Boyama işleminin tamamlanmasından sonra cihazın ayrı bir bölümünde entellan ve lamel yardımıyla otomatik kapatma işlemi gerçekleştirilmiştir. Mikroskopik inceleme için hazır hale gelmiş kesitler, . Olympus BX-50 ışık mikroskobu ile x40, x100, x200 ve x400 büyütmelemede bu konuda uzman patolog tarafından olarak incelendi. Kesitler incelenirken, rastgele 10 alanda hepatik inflamasyon, makroveziküler yağlanma ve balonlaşma dejenerasyonu açısından skorlama yapıldı (164).

Mallory body var/ yok şeklinde değerlendirilirken, inflamasyon yüzde olarak belirlenip skorlandı. İnflamasyon dört puanlık bir ölçekte değerlendirildi. X200 büyütmelerde inflamatuvar odak yok: grade 0, x200'lük büyütmede 2'den az odak varsa: grade 1, 2-4 odak varsa grade 2, 4'den fazla odak varsa grade 3 olarak değerlendirildi. Balonlaşma dejenerasyonu ise yok: 0, hafif: 1, yaygın: 2 şeklinde değerlendirildi. Fibrozis skorlanırken, fibrozis yok ise evre: 0, perisinüzoidal veya periportal fibrozis evre: 1, perisinüzoidal veya portal veya periportal evre: 2, evre: 3'te ise siroz tablosu oluşmuş ve portal alanda ciddi inflamasyon gelişmiş. Steatoz, bulgulara göre ortalama olarak grade: 0, hepatositlerin %5'inde steatoz içeren grade: 1, %33 grade: 2, %33-66 grade: 3, >%66 grade: 4 olarak skorlandı. NAYKH aktivite puanları toplandı ve >5 NASH olarak kabul edildi (164).

2.4. İstatistik değerlendirme

Çalışma sonucunda elde edilen veriler ortalama \pm standart sapma olarak verildi. Parametrelerin gruplar arasından değerlendirilmesinde Paired T testi, ikili değerlendirmelerde ise Mann Whitney U testi ile değerlendirme yapıldı. Ayrıca bazı parametreler için Pearson Spearman korelasyon testleri kullanıldı. İstatistik değerlendirmeler SPSS 12.0 paket program kullanılarak yapıldı. $p < 0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi.

3. BULGULAR

3.1. Bazal ve son ağırlık ölçümleri

Tablo 3. Gruplardaki rat ve karaciğer ağırlıkları*

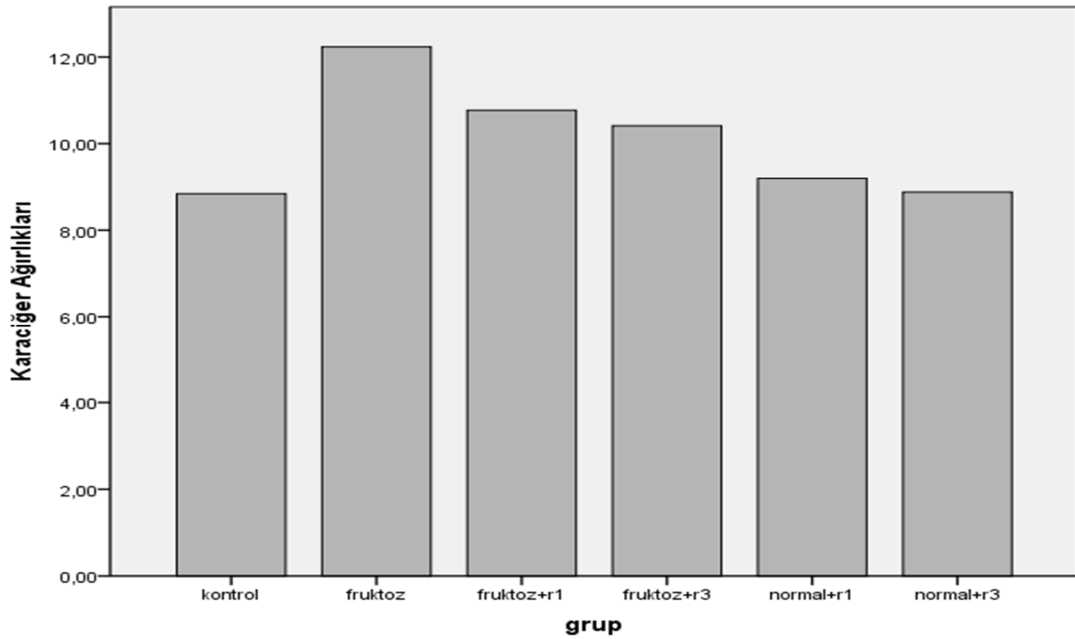
Gruplar	Bazal ağırlık	Son ağırlık	KC ağırlığı
Grup 1 (kontrol)	219±20.4 ^a	280±13.2 ^b	8.84±1.19 ^b
Grup 2 (fruktoz)	219±44.5 ^a	355±6.8 ^a	12.23±1.30 ^a
Grup 3 (fruktoz+R1)	220±20.1 ^a	352.14±13.1 ^a	10.7±1.40 ^a
Grup 4 (fruktoz+R3)	220±30.1 ^a	350.86±6.81 ^a	10.4±1.49 ^a
Grup 5 (normal diet+ R1)	220±26.0 ^a	265±6.8 ^b	9.1±1.09 ^b
Grup 6 (normal diet+ R3)	220±30.5 ^a	273±6.8 ^b	8.88±1.01 ^b

* Veriler ortalama ± Standart hata olarak sunulmuştur

a–d: Aynı satırda farklı harfi taşıyan gruplar arası fark istatistiki olarak anlamlıdır (p<0.05)

Kontrol grubuna göre fruktoz diyeti alan gruplarda anlamlı ağırlık artışı tespit edildi (p<0.05). Fruktoz diyeti alan grup ve fruktoz diyetiyle beraber farklı dozlarda rifaksimin tedavisi alan gruplar arasında ağırlık artışı bakımından anlamlı bir fark gözlenmedi (p>0.05). Normal diyetle beraber rifaksimin tedavisi alan grup ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi.

3.2. Karaciğer ağırlıkları



Şekil 6. Karaciğer ağırlıkları

Çalışma sonunda karaciğer ağırlıkları değerlendirilen ratlardan; fruktoz diyeti alan grubun karaciğer ağırlığı kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksekti ($p<0.05$). Fruktoz ile beslenen grup ile fruktoz ile beraber farklı dozlarda rifaksimin alan gruplar arasında vücut ağırlığında olduğu gibi karaciğer ağırlığında da anlamlı bir farklılık gözlenmedi ($p>0.05$). Yine kontrol grubu ile normal diyetle beraber rifaksimin alan gruplar arasında karaciğer ağırlığı bakımından anlamlı fark görülmedi ($p>0.05$).

3.3. Biyokimyasal ölçümler

3.3.1. Biyokimyasal parametreler

Tablo 5. Gruplara ait biyokimyasal parametre sonuçları

	Glikoz	Ürik asit	AST	ALT	ALP	GGT	Kolesterol
Kontrol	110.43±3.7 ^a	1.29±0.54 ^c	160±6.8 ^c	60±6.8 ^b	306.7±6.4 ^b	0.43±0.1 ^c	53±2.9 ^b
Fruktoz	109.86±2.4 ^a	4.54±1.59 ^a	314±41 ^a	75.2±5.0 ^a	463.1±60.9 ^a	1.5±0.2 ^a	68.4±3.78 ^a
Fruktoz+Rifl	112.29±10.3 ^a	3.07±0.30 ^b	249.1±40.8 ^b	66.7±1.6 ^b	395.5±77.3 ^b	1.0±0.2 ^b	58±7.3 ^b
Fruktoz+R3	112.57±2.7 ^a	2.21±0.62 ^b	169.8±26.7 ^c	61±10.6 ^b	350.8±49.1 ^b	0.74±0.22 ^b	55.7±10.7 ^b
Normal+R1	111.43±6.29 ^a	1.36±0.34 ^c	164.2±68.8 ^c	62.8±2.19 ^b	314.4±25.7 ^b	0.46±0.21 ^c	54.7±3.3 ^b
Normal+R3	110.14±8.1 ^a	1.50±0.25 ^c	163.4±35.5 ^c	62.7±6.6 ^b	310.8±20.8 ^b	0.44±0.17 ^c	56.5±4.9 ^b

*Veriler ortalama ± Standart hata olarak sunulmuştur.

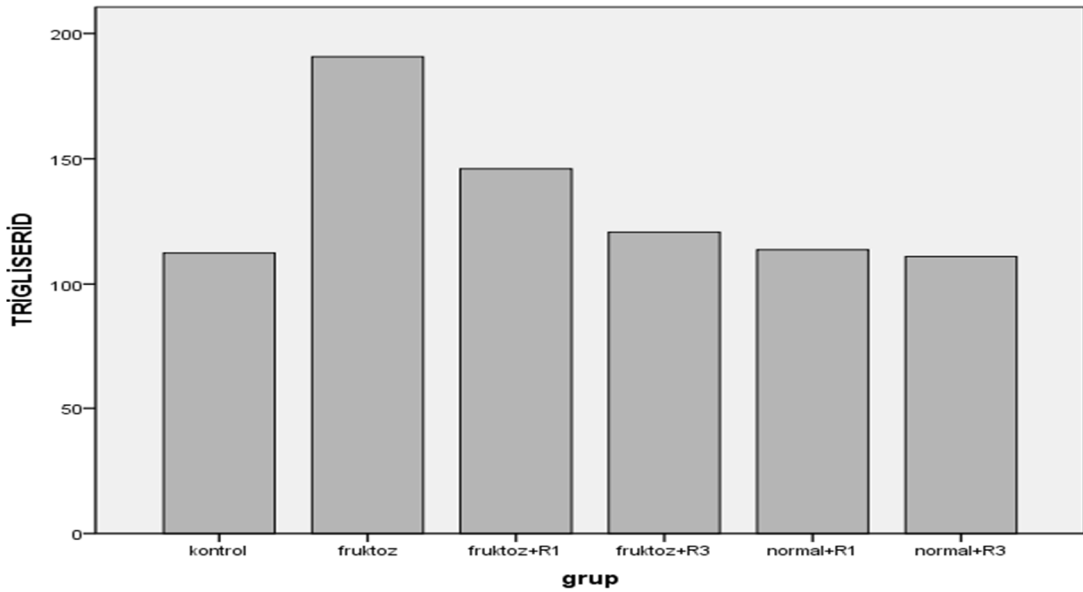
a–d: Aynı satırda farklı harfi taşıyan gruplar arası fark istatistiki olarak anlamlıdır. $p<0.05$

Çalışmamızda, NAYK modeli oluşturululan ratların biyokimyasal parametreleri incelendiğinde; glikoz değeri için tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görüldü. AST değerleri incelendiğinde fruktoz diyeti alan grup kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı yüksek tespit edildi ($p<0.05$). AST değeri için fruktoz diyeti alan grup ile fruktoz diyeti ile beraber rifaksimin tedavisi alan gruplar karşılaştırıldığında; tedavisiz grupta anlamlı yüksek olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$). Öte yanda fruktoz diyeti ile beraber haftada 1 kez tedavi alan grupta haftada 3 kez tedavi alan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı yükseklik saptandı ($p<0.05$). Kontrol grubu ile normal diyet alan gruplar ve fruktoz diyeti ile haftada 3 kez tedavi alan grup arasında anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$). ALT değerleri incelendiğinde fruktoz diyeti alan grup kontrol grubunun yanı sıra tüm diğer gruplarla karşılaştırıldığında anlamlı yüksek tespit edilirken ($p<0.05$) diğer grupların kendi aralarında anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0.05$). ALP ve GGT değerleri incelendiğinde her iki değerdefruktoz diyeti alan grupta kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı yüksek bulundu ($p<0.05$). Fruktoz diyeti alan grup ile

tedavi alan gruplar mukayese edilirse ALP değerleri arasında anlamlı yükseklik gözlemlendi ($p<0.05$). Tedavi grubunda doz bağımlı farklılık gözlemlenmedi ($p>0.05$). GGT değerlerinde yine doz bağımlı farklılık gözlemlenmezken ($p>0.05$), normal diyetli ve kontrol grubuna göre anlamlı yüksek saptandı ($p<0.05$). Ürik asit düzeyleri incelendiğinde fruktoz diyeti alan grup kontrol grubuna göre anlamlı yüksek gözlemlendi ($p<0.05$). Fruktoz diyeti alan grup tedavi gruplarına göre anlamlı yüksek iken ($p<0.05$), tedavi grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında doz bağımlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$). Kolesterol değerleri fruktoz diyetialan gruba göre tedavi almayan ve alan tüm fruktoz alan gruplarda anlamlı yüksek saptandı ($p<0.05$), ayrıca fruktoz diyeti alan grup ile farklı dozlarda rifaksimin tedavisi alın grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlenmedi ($p>0.05$).

3.3.2. Trigliserid

Trigliserid düzeyleri incelendiğinde; fruktoz alan grup kontrol grubu dahil diğer tüm gruplara göre anlamlı yüksek tespit edildi ($p<0.05$). Fruktoz alan grupta tedavi alan iki gruba göre anlamlı yüksek saptandı ($p<0.05$). Fruktoz diyeti alan tüm gruplarda normal diyet ve kontrol grubuna göre anlamlı yüksek tespit edildi ($p<0.05$).



Şekil 7. Gruplara ait trigliserid düzeyleri

3.3.3. Grupların İnsülin Direnci (HOMA-İR) Açısından Karşılaştırılması

Gruplardan kandan insülin ve glikoz değerleri belirlenerek insülin direncini somut olarak ortaya koymak için HOMA-İR testi kullanıldı.

HOMA-İR: açlık kan şekeri x açlık insülini / 405 şeklinde formülize edilen en çok kullanılan hesaplama yöntemidir. HOMA-İR'nin 2,5'in üzerinde olduğu durumlarda insülin direncinin olduğu kabul edilmektedir (165).

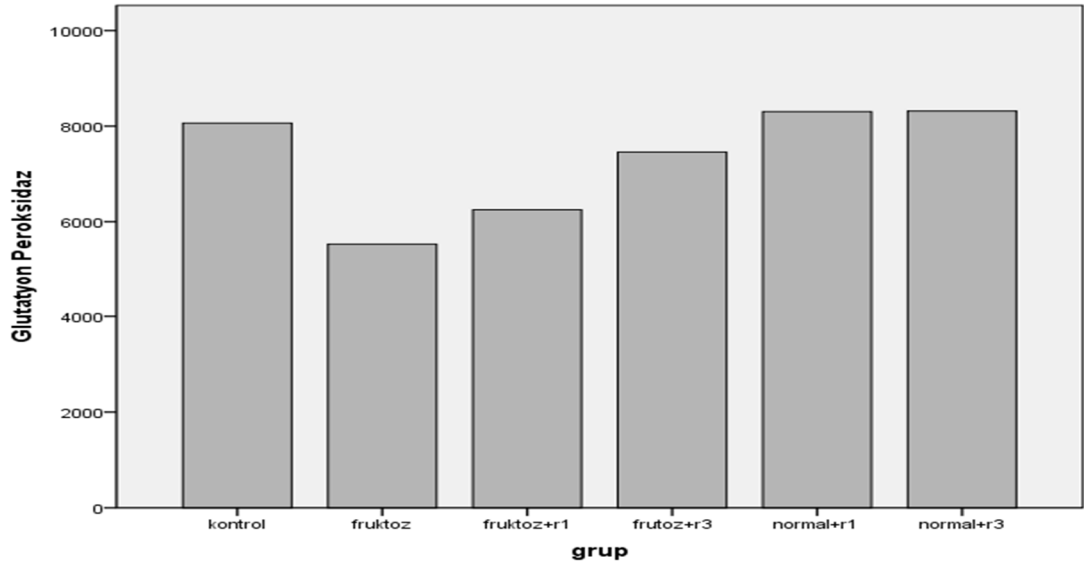
Tablo 6. Gruplara HOMA-İRdeğerleri

	Kontrol	fruktoz	Fruktoz+R1	Fruktoz+R3	Normal+R1	Normal+R3	P*
HOMA-İR	0.08±0.034	0.08±0,041	0.09±0,087	0.06±0.063	0.04±0.021	0.13±0.06	0,171

*Kruskal-Wallis p değeridir

Grupların HOMA-İR değerleri hesaplandı ve 2.5'in üzerinde bir değere rastlanmaması nedeniyle gruplarda henüz insülin direnci gelişmediği tespit edildi.

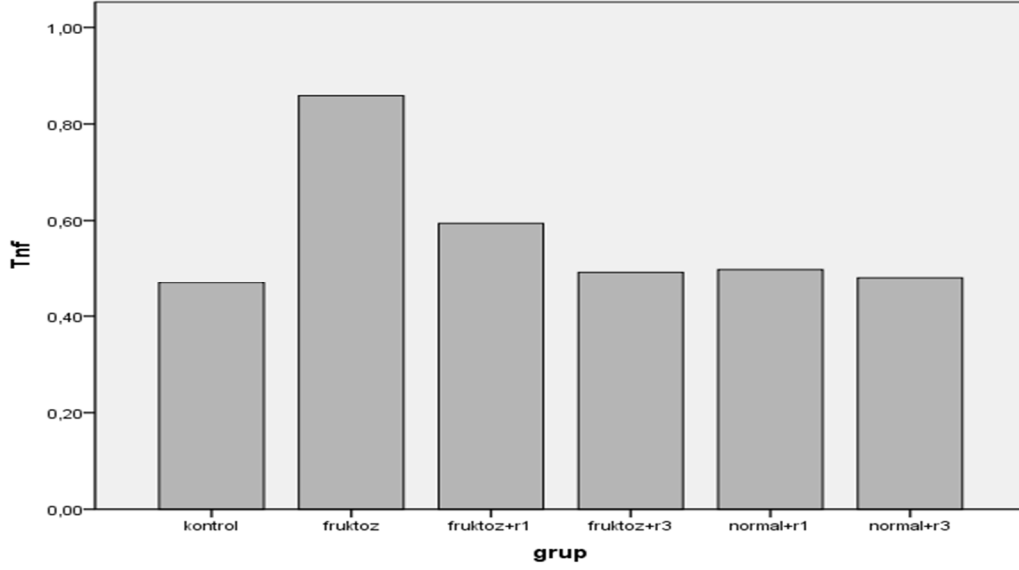
3.3.4. Plazma GSH-Px düzeyi



Şekil 8. Plazma GSH-Px düzeyleri

Çalışmada, fruktoz diyeti alan grup kontrol grubuyla karşılaştırıldığında plazma GSH-Px düzeyleri anlamlı olarak düşük tespit edildi ($p < 0.05$). Fruktoz diyeti ve fruktoz diyeti ile beraber farklı dozlarda rifaksimin alan grup karşılaştırıldığında anlamlı bir fark gözlenmedi ($p > 0.05$). Fruktoz diyeti ile beraber farklı dozlarda önleyici rifaksimin alan iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi ($p > 0.05$).

3.3.5. Plazma TNF- α düzeyler

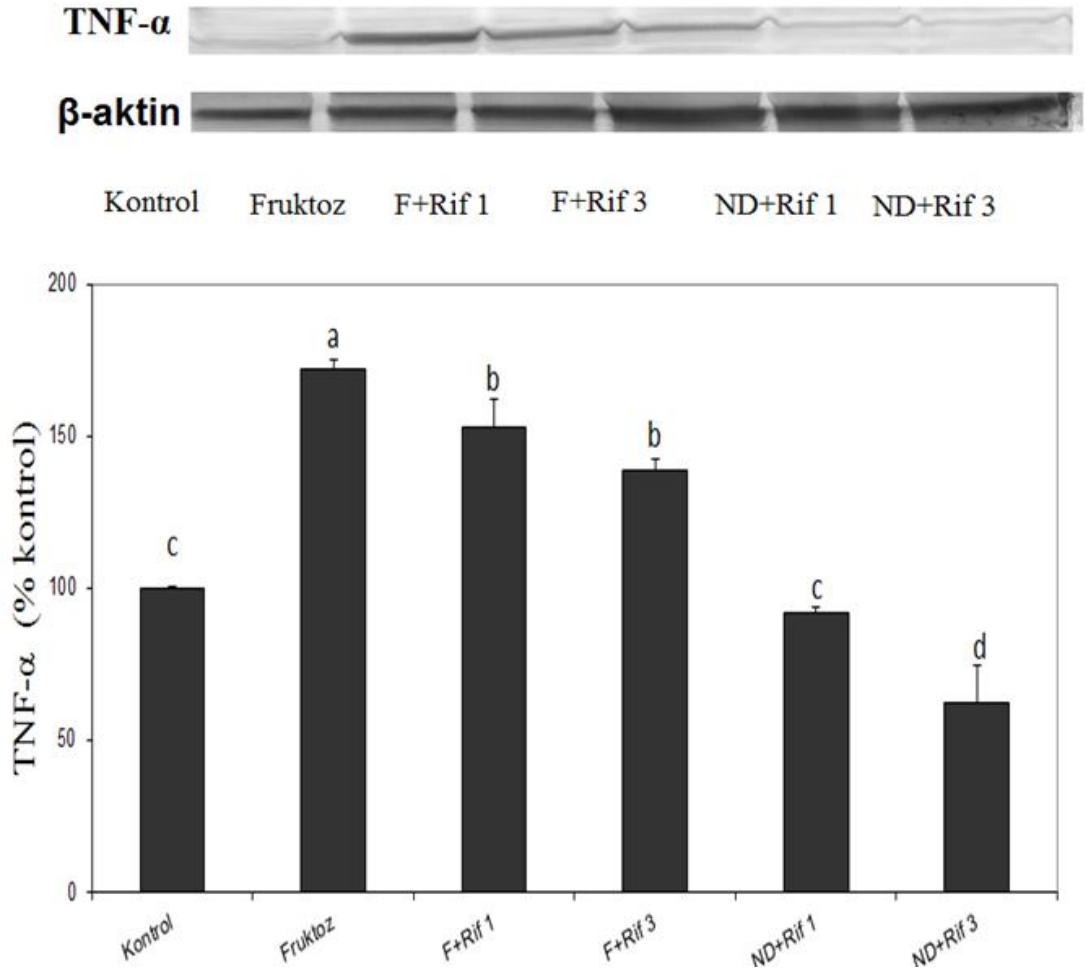


Şekil 9. Plazma TNF- α düzeyleri

Oksidatif stres durumunda artan önemli sitokinlerdenbiri olan TNF- α düzeylerine plazmada inceledik. Çalışmada kontrol grubuna göre fruktoz diyeti alan grupta TNF- α düzeyi anlamlı yüksek tespit edildi ($p<0.05$).Fruktoz ile beslenen grup ve fruktozla beraber farklı dozlarda rifaksimin alan gruplar karşılaştırıldığında; fruktoz diyeti alan grupta anlamlı yükseklik ($p<0.05$).Rifaksimin alan grupta ise almayan gruba göre anlamlı düşük olduğu saptandı ($p<0.05$). Yani TNF- α düzeyi rifaksimin ile düştüğü tespit edildi. Ayrıca fruktozla beslenen grup ile beraber farklı dozlarda rifaksimin alan ve normal diyetle rifaksimin alan gruplar arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$).

3.3.6. Doku TNF- α düzeyleri

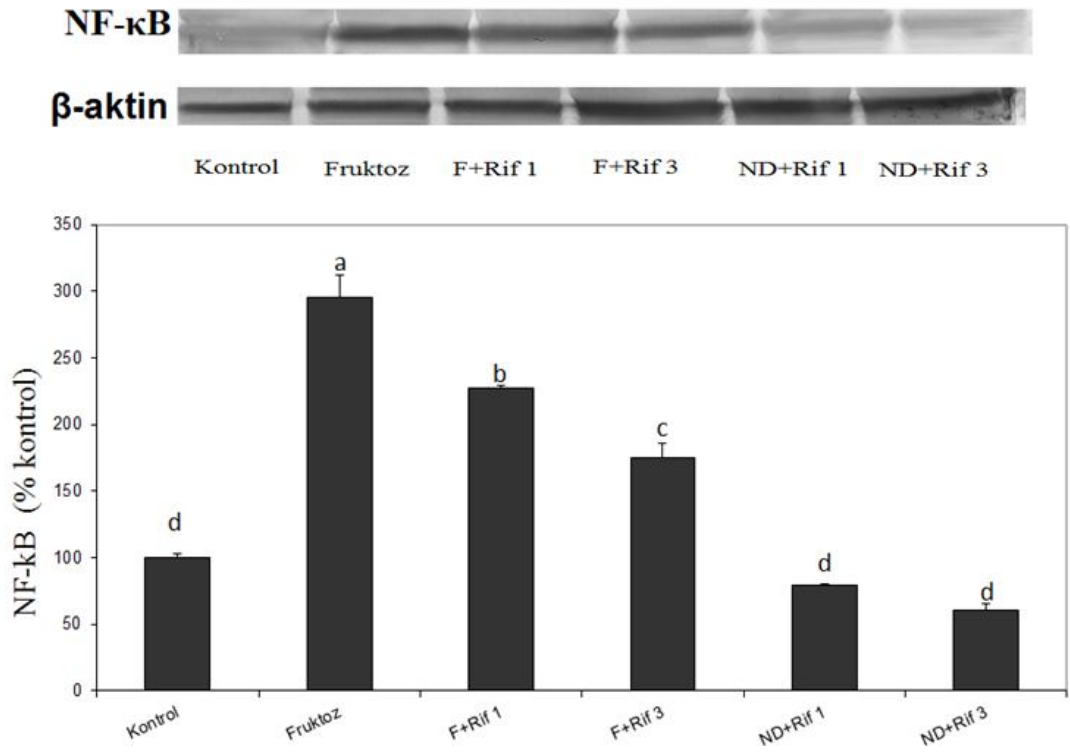
Çalışmamızda doku TNF-alfa düzeyi fruktoz alan grupta diğer gruplara göre anlamlı yüksek saptanırken ($p<0.05$), fruktozlu diyetle beraber farklı dozlarda rifaksimin alan 2 grupta daha düşük seviyede tespit edildi. Fakat istatistiksel olarak doz artışı ile anlamlı bir düşme saptanmadı ($p>0.05$).Normal diyet ve farklı dozlarda rifaksimin alan grup ve kontrol grubunda fruktoz alan gruplara göre TNF-alfa düzeyi daha düşük seviyede tespit edildi ($p<0.05$). Normal diyet alan gruplardarifaksimin dozu arttıkça TNF-alfa düzeyinin anlamlı olarak düştüğü saptanmıştır ($p<0.05$).



Şekil 10. Karaciğer dokusu TNF- α düzeyleri

3.3.7. Doku NF- κ B düzeyleri

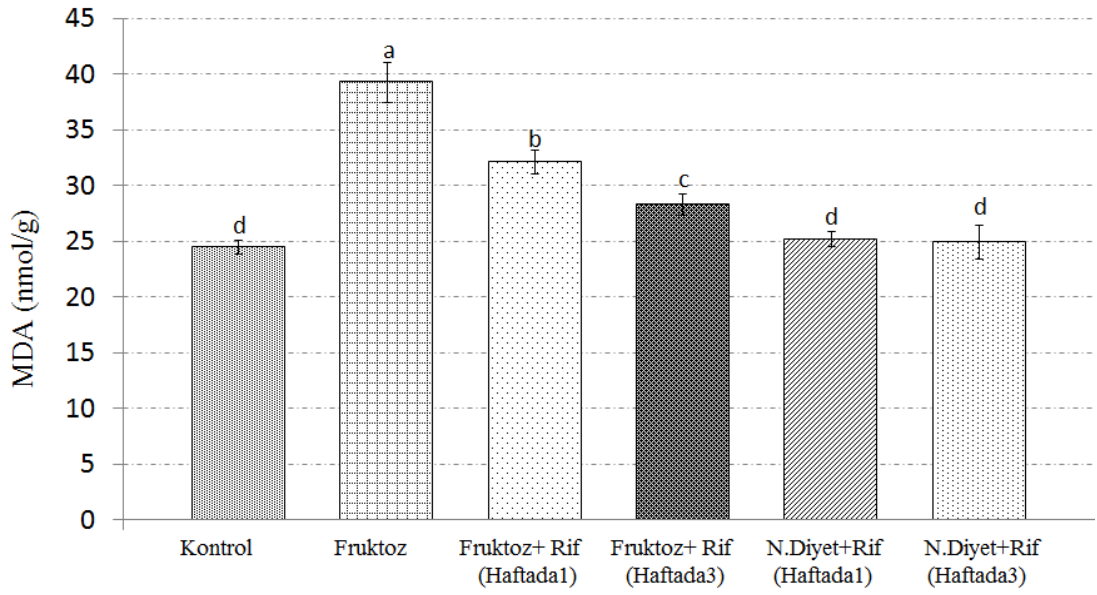
Proinflamatuvar sitokin artışına neden olan sitokinlerin ekspresyonunda görevli bir transkripsiyon faktörü NF- κ B düzeyleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında fruktozlu diyet alan grupta anlamlı yüksekti ($p < 0.001$), fruktozlu diyetle beraber rifaksimin alan gruplarda sadece fruktoz alan gruba göre anlamlı düşük olarak saptandı ($p < 0.05$). Normal diyet ile beraber rifaksimin alan ve kontrol grubunda düşük olarak ölçülen NF- κ B değerinde ($p < 0.05$) grupların kendi aralarında yapılan ölçümde anlamlı bir fark olmadığı saptandı ($p > 0.05$).



Şekil 11. Karaciğer dokusu NF- κB düzeyleri

3.3.8. Lipid peroksidasyonu bulguları

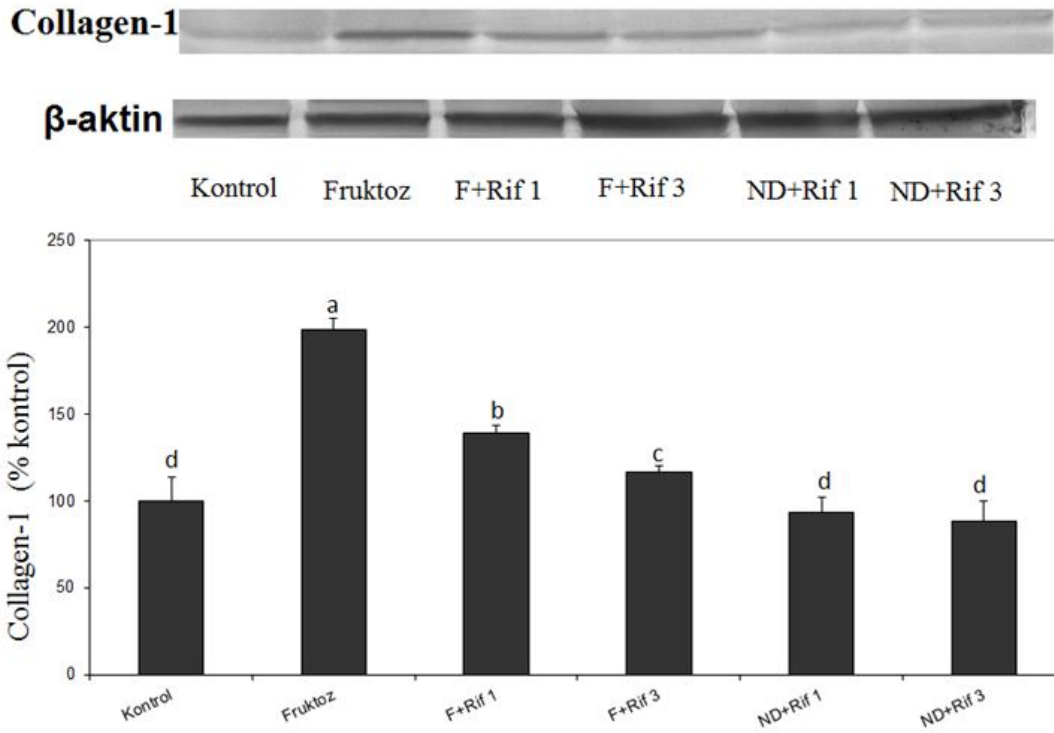
Lipid peroksidasyonu son ürünü olan MDA düzeyleri incelendiğinde yine sadece fruktoz alan grupta diğer gruplarla karşılaştırıldığında anlamlı yüksek tespit edildi ($p < 0.05$). Doz bağımlı rifaksimin tedavisiyle MDA düzeylerinde anlamlı düşme tespit edilirken, ($p < 0.05$) normal diyet ve rifaksimin tedavisi alan gruplarla kontrol grubunda en düşük seviyede saptanırken aralarında anlamlı fark gözlenmedi ($p < 0.05$)



Şekil 12. Gruplara ait MDA düzeyleri

3.3.9. Doku tip 1 kollajen düzeyleri

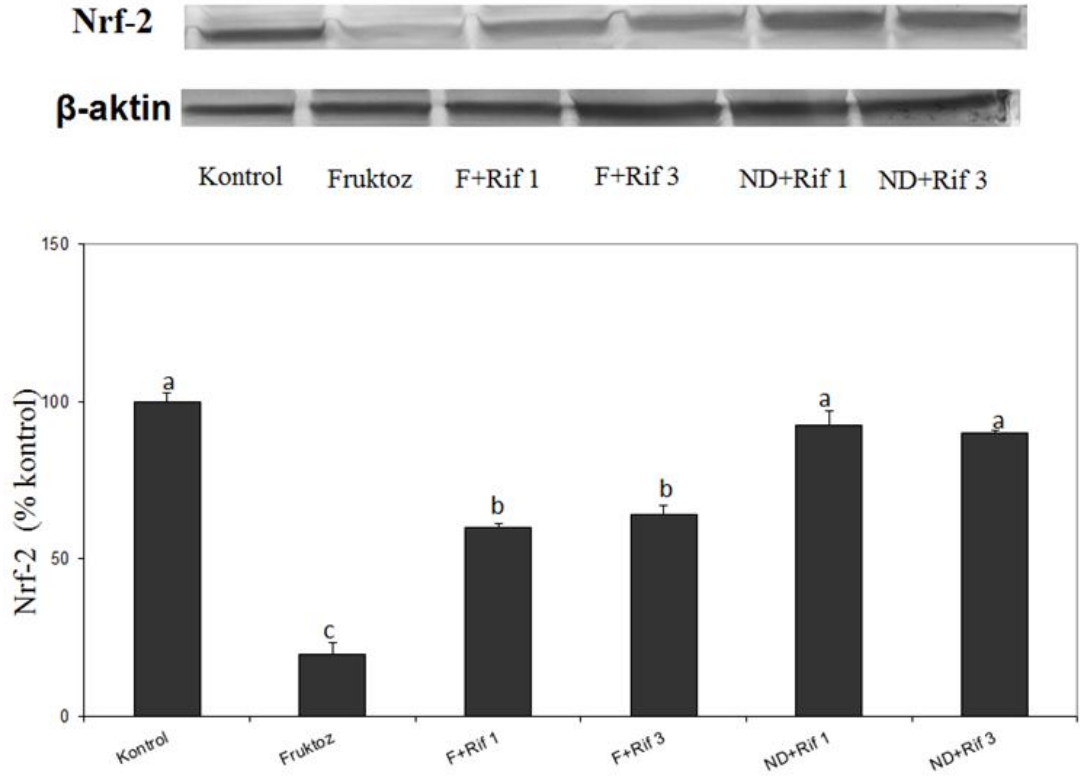
Çalışmada doku tip 1 kollojen düzeyleri değerlendirildiğinde inflamasyonda artış gösteren diğer markerlar gibi sadece fruktoz alan grupta anlamlı yüksek tespit edilirken ($p < 0.05$), fruktozlu diyetle beraber rifaksimin alan gruplardadoz bağımlı daha düşük seviyede tespit edildi ($p < 0.05$). Kontrol grubu ve normal diyetle beraberrifaksimin alan gruplarda fruktozla beslenen tüm gruplara göre daha düşüktü ($p > 0.05$). Farklı dozlarda anlamlı bir fark yoktu ($p > 0.05$).



Şekil 13. Karaciğer dokusu Collagen-1 düzeyleri

3.3.10. Doku Nrf-2

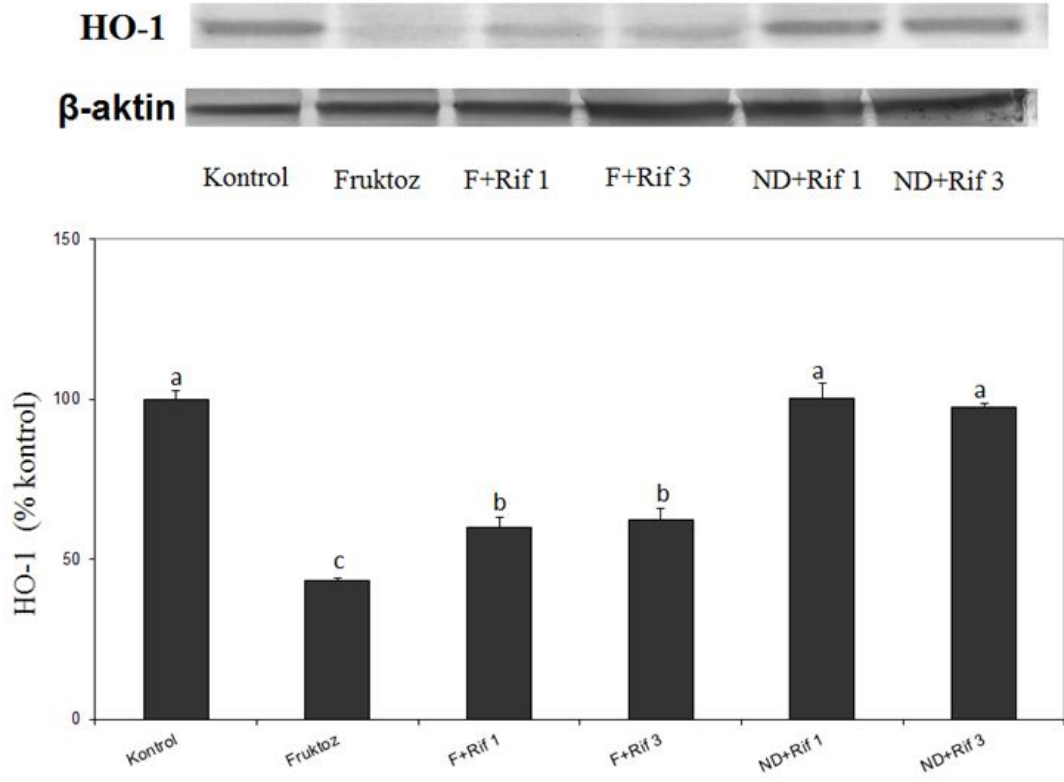
Oksidatif stres durumunda seviyesi düşen bir antioksidan olan Nfr-2 değeri sadece fruktoz alan grupta yüksek anlamlı seyrederken ($p < 0.001$) fruktoz diyeti ile beraber rifaksimin alan gruplarda daha yüksekti ($p < 0.05$). Farklı dozlarda anlamlı fark yoktu ($p > 0.05$). Kontrol grubu ve normal diyetle beraber farklı dozlarda rifaksimin kullanan gruplar arasında fruktozlu diyet alan gruplara göre anlamlı yüksek iken ($p < 0.05$) kendi aralarında anlamlı bir fark gözlenmedi ($p > 0.05$)



Şekil 14. Karaciğer dokusu Nrf-2 düzeyleri

3.3.11. Doku HO-1

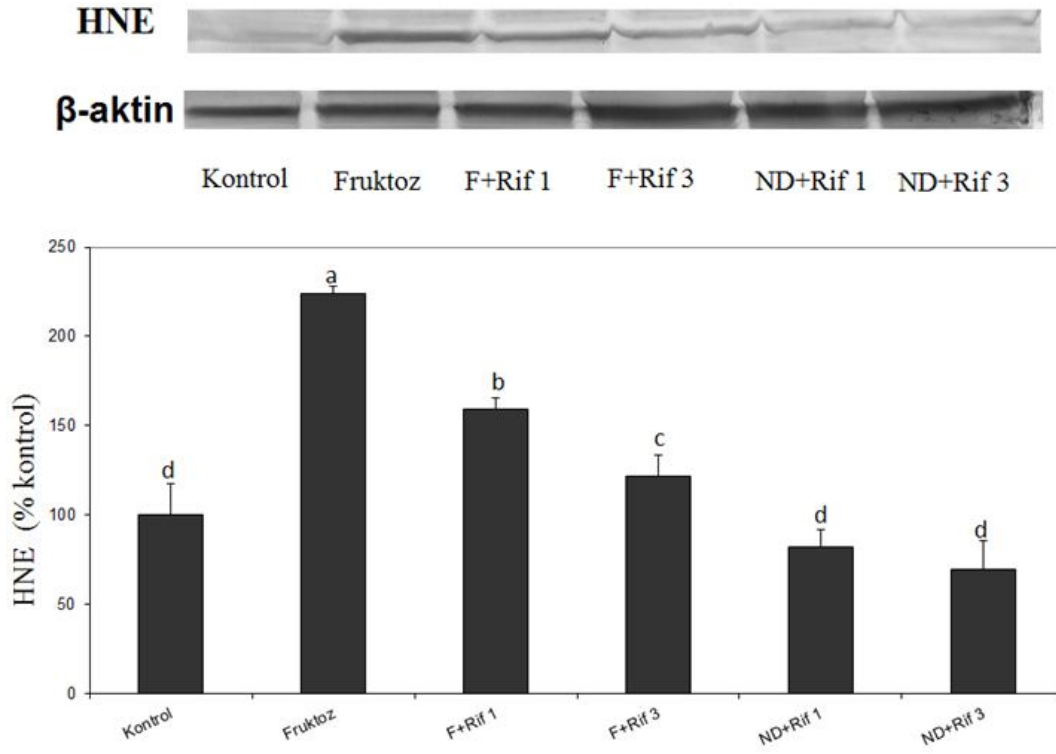
Çalışmamızda oksidatif strese düşüş gösteren HO-1 enzim değeri, sadece fruktoz alan grupta anlamlı düşük seyrederken ($p < 0.05$), rifaksimin alan gruplarda sadece fruktoz alan gruptan daha yüksek olduğu saptandı ($p < 0.05$). Ayrıca kontrol grubu ve normal diyetle beraber farklı dozlarda rifaksimin alan gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmedi ($p > 0.05$).



Şekil 15. Karaciğer dokusu HO-1 düzeyleri

3.3.12. Plazma 4-HNE

4-HNE düzeyi %50'lik fruktoz alan grupta anlamlı yüksek seviyede ölçüldü ($p < 0.05$). Kontrol grubu ve normal diyet ile beraber rifaksimini farklı dozlarda alan gruplarda 4-HNE seviyesi fruktoz diyeti alan gruplara göre düşük seviyede tespit edilirken kendi aralarında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p > 0.05$). Fruktozlu diyet ile beraber rifaksimin alan gruplarda doz bağımlı 4-HNE düzeylerinin anlamlı düşük seyrettiği tespit edilmiştir ($p < 0.05$).



Şekil 16. Karaciğer dokusu HNE düzeyleri

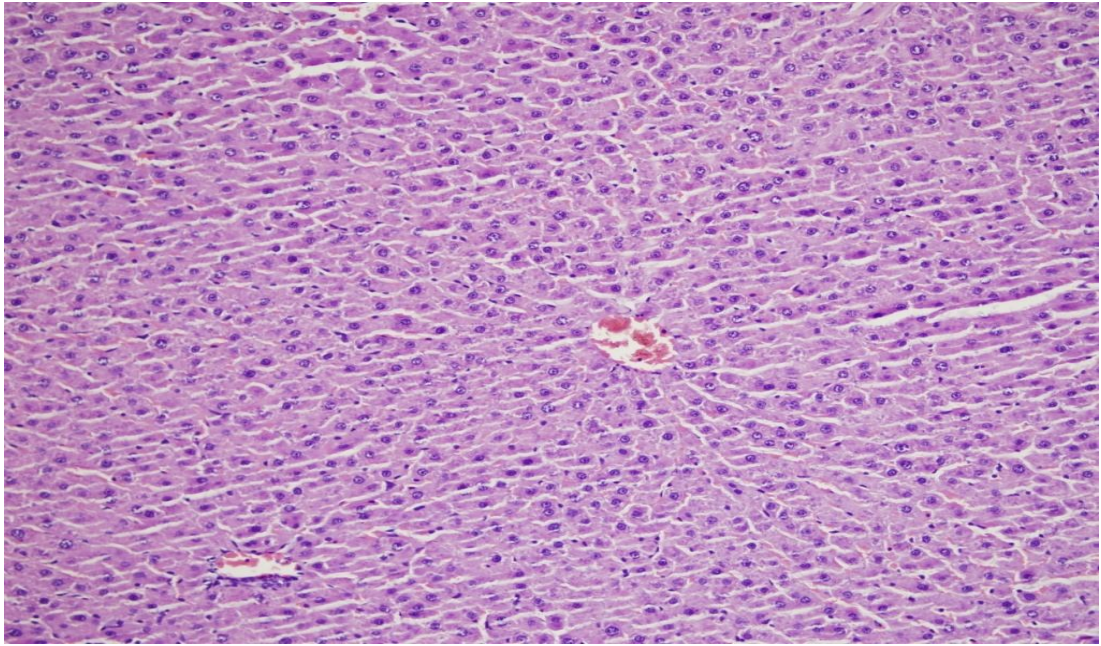
3.4. Histopatolojik bulgular

Histopatolojik incelemede fruktoz diyeti ile steatohepatit gelişti. Balonlaşma dejenerasyonu, lobüler inflamasyon ve makroveziküler yağlanma bulgularının en belirgin olarak gözleendiği grup fruktoz diyeti alan gruptu. Fruktoz diyeti ile beraber farklı dozlarda rifaksimin alan gruplar karşılaştırıldığında, rifaksimin alan gruplardayağlanma bulgularının azalmış olduğu gözleendi. Kontrol grubu ve normal diyet alan gruplarda yağlanma bulguları açısından anlamlı bir fark tespit edilmedi. Fibrozis hiçbir grupta görülmedi.

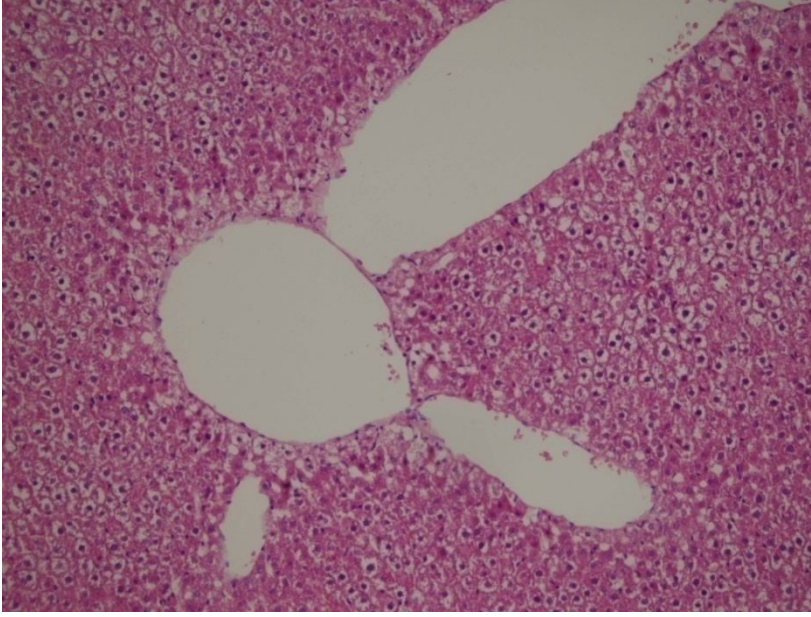
Tablo 7. Hepatosteatozun mikroskopik değerlendirilmesi sonucu

	Kontrol	Fruktoz	Fruktoz+R1	Fruktoz+R3	Normal R1	Normal R3	p*
İnlamatuar	0.14±0.378	1.29±0.488	0.43±0.535	0.43±0.535	0.14±0.378	0.14±0.378	0.003
Fokus							
Makroveziküler	0.00±0.00	1±0.00	0.575±0.535	0.57±0.535	0.00±0.00	0.00±0.00	<0.001
Yağlanma							
Balonlaşma	0.14±0.378	2.71±0.488	2±0.577	1.86±0.690	0.14±0.378	0.29±0.488	<0.001
Dejenerasyonu							
Perisellüler	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	>0.005
Fibrozis							

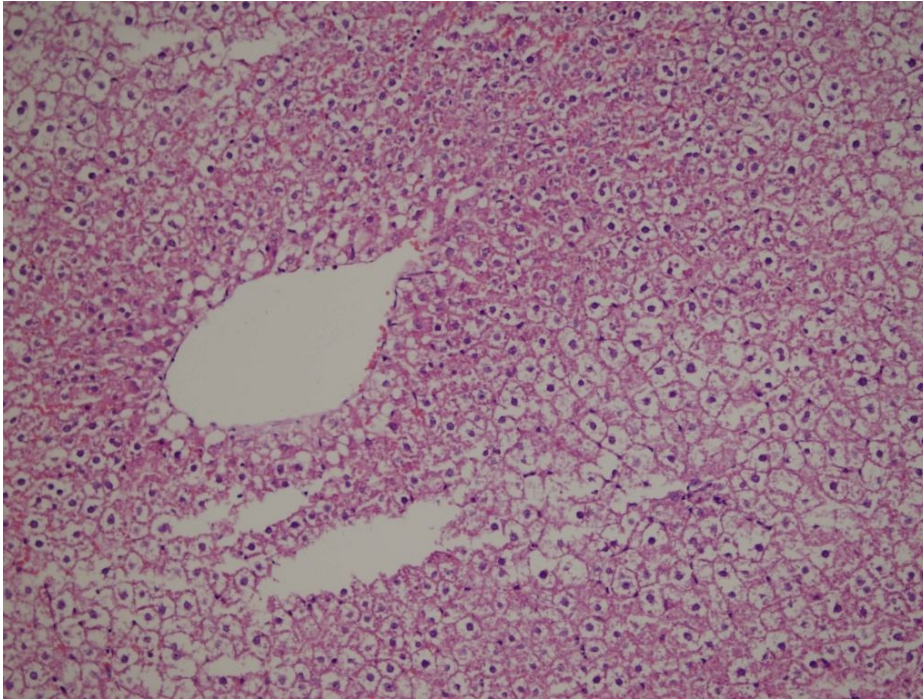
*Kruskal-Wallis test değeri



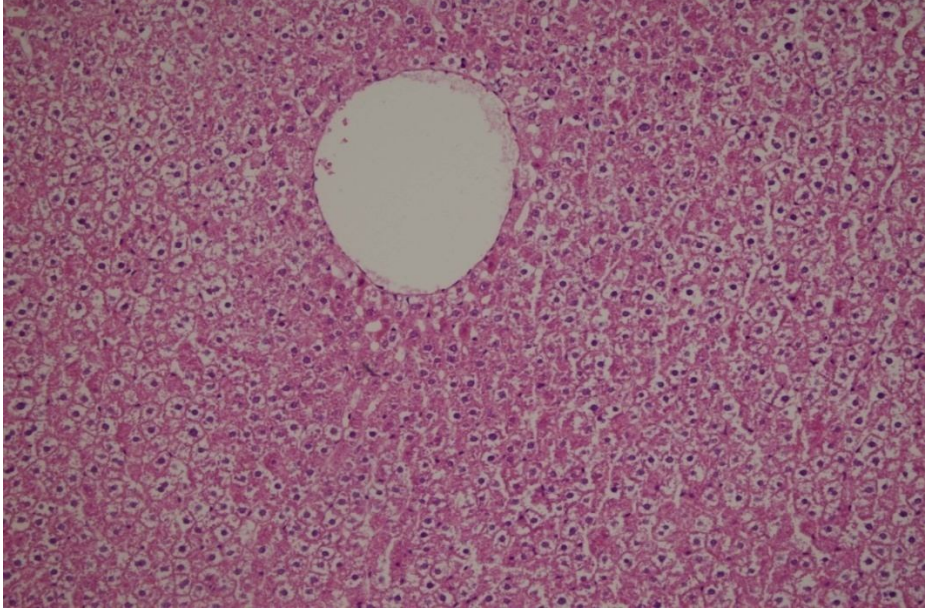
Şekil 17. Kontrol grubu ratlara ait karaciğer dokusunun histopatolojik görünümü (H&E, x200).



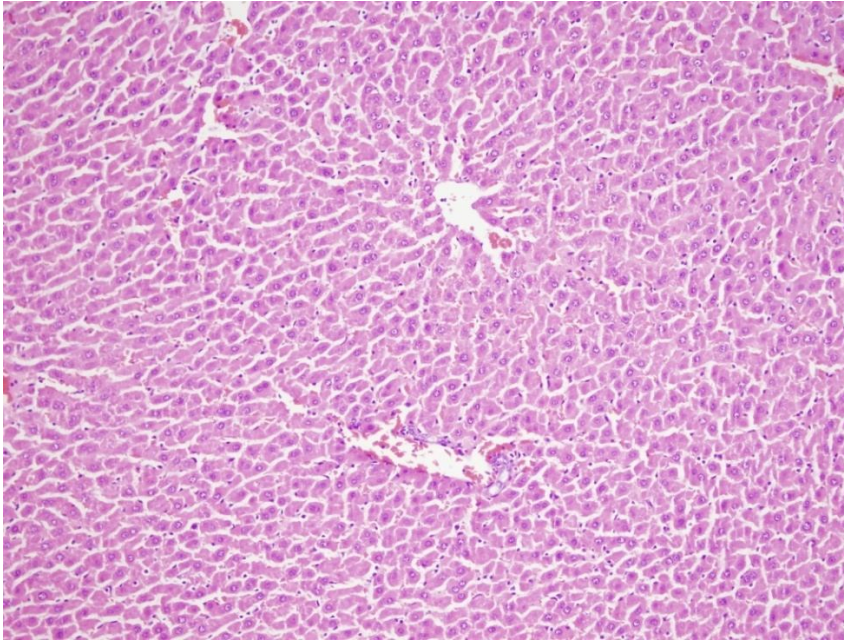
Şekil 18. %50'luk fruktoz çözeltiyle beslenen grupta yer alan rat karaciğerinde özellikle ciddi balonlaşma dejenerasyonu yer yer hepatik inflamasyon tespit edilmiştir. Hepatosteatoz açısından patolojik bulguların en yaygın gözlemlendiği grup olarak tespit edildi. (H&E, x200).



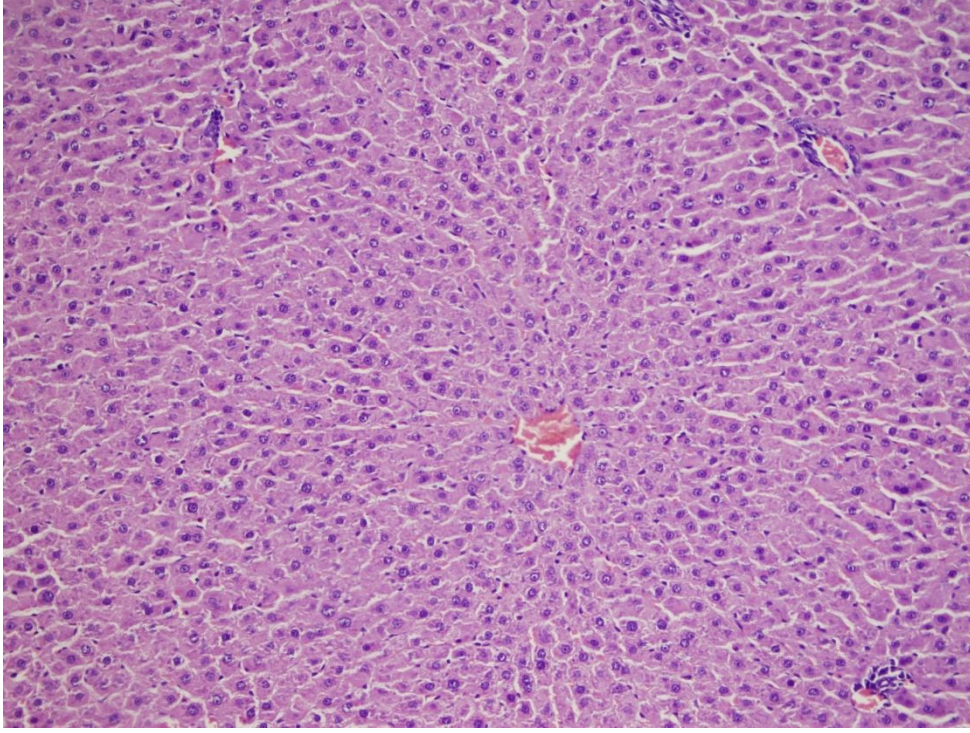
Şekil 19. %50'luk fruktoz çözeltisinin yanı sıra haftada 1 kez rifaksimisin verilen grupta yer alan rat karaciğerinde balonlaşma dejenerasyonunda, sadece fruktoz diyet alan grup ile karşılaştırıldığında gerileme tespit edilmiştir (H&E, x200).



Şekil 20. % 50'luk fruktoz çözeltisiyle beslenen ve haftada 3 kez rifaksimin verilen gruptayer alan rat karaciğerinde makroveziküler yağlanma, ciddi bir balonlaşma dejenerasyonu ya da perisellüler fibrozis gibi bir bulguya rastlanmadı. Fruktozlu diyet alan diğer gruplara göre en hafif bulgular yine bu grupta gözlemlendi (H&E, x200).



Şekil 21. Normal diyet ile beslenen ve haftada 1 kez rifaksimin alan grupta yer alan rat karaciğerinde inflamatuvar odak dışında ciddi bir karaciğer patolojisi gözlemlenmedi (H&E, x200).



Şekil 22. Normal diyet ile beslenen ve haftada 3 kez rifaksimim alan grupta yer alan rat karaciğerinde kontrol gubuyla benzer bulgular tespit edilmiş olup ciddi bir karaciğre patolojisi gözlenmedi (H&E, x200).

4. TARTIŞMA

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı batı ülkelerinde en sık görülen karaciğer hastalığıdır (13). Endüstrileşmiş toplumlarda diyetteki fruktoz tüketiminin artması diyabet, obezite ve buna paralel olarak NAYKH'nın artışına neden olduğu öne sürülmektedir (137).

Günümüzde fruktoz tüketim oranının oldukça arttığı, toplam kalorisinin %42'nin fruktozdan zengin mısır şurubu ile karşılandığı bilinmektedir (100).

Çalışmamızda ratların içme suyuna %50'lik çözelti oluşturacak şekilde fruktoz ekledik. Fruktoz ile beslenen ratların karaciğerlerinin histopatolojik incelemesinde karaciğerde anlamlı derecede inflamasyon, makroveziküler yağlanma ve balonlaşma dejenerasyonu bulgularıyla steatohepatit geliştiğini saptadık. Fruktozla beraber rifaksimın alan gruplarda yağlanma bulgularının çok hafif seyrettiği tespit edildi. Rifaksimın dozu arttıkça yağlanma bulgularının azaldığı saptadık. Ayrıca kontrol grubu ve normal diyetle beraber farklı dozlarda rifaksimın alan gruplarda ciddi hepatik bir patoloji gözlemlenemedi. Bu duruma rifaksimın kullanımının, fruktoz ile oluşturulan NAYKH'nı engellemede faydalı olabileceğini düşündürdü. Yapılan çalışmalardan, Bergheim ve ark. (166) yaptığı bir çalışmada fruktoz diyeti verilerek NAYK modeli oluşturulan ratlarda intestinal bakteri yükü nedeniyle ortaya çıkan endotoksin bağımlı hepatosteatoz tablosunu engellemesi öngörülerek sistemik emilimi olmayan polimisin B ve neomisin önleyici preparat olarak kullanılmış ve çalışma sonunda hepatik lipid birikiminde azalma gözlemlenmiştir. Yadav ve ark. (167) yaptığı iki çalışmanın birinde yüksek fruktozlu diyetle beslenmiş sıçanlarda probiyotiklerin antidiabetik rolü araştırılmıştır. Çalışmada tedavi grubunda glikoz intoleransı, hiperglisemi, hiperinsülinemi, dislipidemi ve oksidatif stres parametrelerinde tedavi almayan gruplara göre düşme gözlenmiştir. Yadav ve ark. (168) yaptığı çalışmada yüksek fruktozla beslenen ratlarda yoğurdun ve kaymağı alınmış sütün; kan glukozuna, insüline ve lipid profiline etkisi araştırılmış. Yoğurt ve kaymaksız sütün fruktoz ilişkili diyabet ve dislipidemiye engelleyici rolü gözlenmiştir. Tüm bu çalışmalarla beraber değerlendirildiğinde yaptığımız çalışmada intestinal bakteriyel yükün hepatosteatozdaki demonstratif etkisi ortaya çıkmaktadır. Yaptığımız bu çalışma, NAYKH'nın rifaksimınle engellenmesi amacıyla kullanımı literatürdeki ilk çalışmadır.

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığının patogenezi incelendiğinde oksidatif stres, endotoksinler ve bunun sonucunda oluşan sitokinler aracılığıyla oluştuğu düşünülmektedir (32).

Endotoksine bağlı sitokin üretiminin NAYKH patogenezinde rolünü destekleyen bulgular mevcuttur. Yapılan çalışmalarda NAYKH tanısı alan hastalarda, sağlıklı kontrol grubuna göre ince barsaklarda bakteriyel aşırı çoğalma tespit edilmiş (21, 23, 169).

Bu yolla sitokinler içinde en göze çarpanı TNF- α 'dır (46). TNF- α çeşitli mekanizmalarla proinflamatuvar sitokinlerin artışına neden olan NF- κ B aktivasyonunu sağlayarak, daha fazla TNF- α salınımına ve sonuçta hepatosteatoz ve insülin rezistansı gelişmesine neden olmaktadır (47).

Biz çalışmamızda, diyetle fruktoz kullanarak rat karaciğerinde oluşturduğumuz NAYK modelinde, intestinal bakteri aşırı çoğalması nedeniyle salınan endotoksinlere bağlı sitokin oluşumunu önlemeyi amaçladık. İntestinal dekontaminasyonu sağlamak için sistemik emilimi olmayan, pasajda bakteri yükünü ve translokasyonu azaltan rifaksimini kullandık (153).

Çalışmamızda NAYKH patogenezinde kritik rolü olan TNF- α düzeylerinin yükselmesini öngörerek kanda ve karaciğer dokusunda TNF- α düzeylerini inceledik. Kanuri ve ark. (147) yaptığı çalışmada fruktozlu diyet alan ratlarda TNF alfa reseptör-1 (TNFR1) çıkarılan grupta kontrol grubuna göre karaciğer dokusunda yağlanmayı gösteren önemli değişikliklere rastlanmamıştır. Biz çalışmamızda, hem serumda hem karaciğer dokusunda, fruktozlu diyet alan grupta TNF- α düzeyinin diğer tüm gruplara göre anlamlı yüksek olduğunu gördük. Fruktozla beslenen grupta oluşan oksidatif stres ve oksidatif stresin göstergesi olan sitokin düzeylerinin artmış olduğunu saptadık. Normal diyet alan gruplarda TNF- α düzeyinde anlamlı farklılık izlenmemesi literatürde görüldüğü gibi (56, 57). NAYKH'nın patogenezinde oksidatif stres mekanizmasıyla olduğunun en iyi göstergesiydi. Fakat rifaksimini alan gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında doz artışıyla anlamlı bir fark gözlenmemesi doz bağımsız olarak düşürdüğünü göstermiştir

Proinflamatuvar sitokin artışına neden olan sitokinlerin ekspresyonunda görevli bir transkripsiyon faktörüolan ve yapılanbirçok çalışmada NAYKH'da yükseldiği bilinen (47, 48) NF-κB değerleri, karaciğer dokusunda ölçüldü. Fruktozlu diyet alan grupta anlamlı yüksek seyrederken, fruktozlu diyetle beraber rifaksimin tedavisi alan gruplarda doz bağımlı olarak sadece fruktoz alan gruba göre anlamlı düşük olarak gözlenmesi yine oksidatif stresin NAYKHpatofizyolojideki rolünün farklı bir kanıtıydı. Bu bulgular bizebakteriyel translokasyon azaldıkça oksidatif stresin baskılanarak önlenbilir.

Lipid peroksidasyonu son ürünü olanMDA düzeyleri incelendiğinde, yine sadece fruktoz alan grupta diğer gruplarla karşılaştırıldığında anlamlı yüksek tespit ettik. Rifaksimin tedavisiyle MDA seviyelerinin düşmesi çalışmada rifaksiminin oluşansteatohepatit tablosunu sınırlayabileyeceğini göstermektedir.

Oksidatif stres durumunda cevap olarak yükselme eğiliminde olan 4-HNE (164) ve inflamasyonda artış gösteren bir marker olan kollajen tip 1 düzeyleri (170) karaciğer dokusunda incelendi ve NF-κB ile MDA düzeylerinin ölçümünde olduğu gibi fruktoz diyeti alan grupta anlamlı yüksek tespit edildi. Bizim çalışmamızda olduğu gibi, Rajasekar ve ark. (132) yaptığı yüksek fruktozlu diyet ile beslenen ratlarda süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikali üretilerek oksidatif stres cevabında artışın olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda oksidatif stres durumunda düşüş gösteren enzim olan HO-1ve bir antioksidan olan Nrf-2'nin (171) karaciğer dokusundaki düzeyi sadece fruktoz alan grupta anlamlı düşük bulundu. Ayrıca fruktozlu diyet ile rifaksimin alan grupta kontrol grubuna göre yükselmesi rifaksiminden fayda sağladığını görüldü. Fakat normal diyetli diğer gruplarda anlamlı yüksek seyretmesi rifaksimin verilse dahi fruktozun karaciğere olan toksik etkisinin en güzel kanıtıdır. Bu sonuçlarla rifaksiminin, oluşan endotoksinlerin ve dolayısıyla oksidatif stresin şiddetini azaltarak bu değerlerin yükselmesini sağladığı tespit edildi. İnsülin direnci, hepatic lipid metabolizmasının alım, sentez, yıkım ve salınım basamaklarındaki bozuklukta önemli rol oynar. Yağ birikimi insülin direnci sonucunda hiperinsülinemi ve lipoliz ile hepatositlerde olur (41, 130, 131). Buradan yola çıkarak çalışmamızda insülin direncini tespit etmek için hesaplanan HOMA-IR değerlerinin grupların tamamında <2.5 çıkması ratlarda henüz insülin direncinin gelişmediğini düşündürmüştür. Öte yandan çalışmanın süresinin uzatılması halinde ya da fruktoz dozu artırılarak kilo artışının devamı sağlanması halinde yapılan

çalışmalar ışığında (136-138) insülin direnci gelişebileceğini düşündürmektedir. Ayrıca çalışmamızda periferik kandan alınan insülin ve glikoz değerleri ile insülin direnci incelenmiştir. Belki de karaciğer dokusundaki insülin ve glikoz değerleri ile insülin direncini hesaplasaydık insülin direncinin arttığı tespit edilebilirdi. Ama çalışmamızda dokudaki değerlere bakılmadı.

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı metabolik bozukluklardan olantrigliserid yüksekliği ile birlikte dir. Yapılanbirçok çalışmada uzun süre fruktoz ile beslenen rat karaciğerinde histopatolojik olarak makro ve mikroveziküler yağlanma gözlenirken, biyokimyasal incelemede serum trigliserid düzeylerinde artış ve ayrıca ratlarda insülin rezistansı tespit edilmiştir (61, 123, 130). Çalışmamızda fruktozlu diyetle beraber önleyici tedavi almayan grupta trigliseridde anlamlı yükselme gözlendi ve insülin rezistansının geliştiği görüldü. Tüm gruplar arasında kan glikoz düzeylerinde anlamlı bir farklılık tespit edilmedi. Bu bize belki de çalışmada, daha yüksek doz fruktoz kullanılsaydı veya fruktozlu diyete daha uzun süre devam edip kiloda daha fazla artış sağlasaydı, ratlarda hiperglisemik bir tablo elde edilerek diabet oluşturabilinirmiydi sorusunu sorduruyor. Literatürde, hem klinik hem de deneysel yapılan çalışmalarda plazma AST, ALT, GGT ve ALP gibi karaciğer fonksiyon belirteçlerinin plazma düzeylerinin NAYKH tablosunda artma eğiliminde olduğu gözlenmiştir (68, 69, 71, 72). Yaptığımız bu çalışmada fruktozlu diyet alan önleyici tedavi almayan gruplarda karaciğer enzimlerinde yükselme saptandı. Tedavi grubunda enzimlerde gerileme olması rifaksiminin önleyici rolünün başka bir göstergesiydi. Bir metabolik sendrom tablosunun oluşması beklenen ratlarda özellikle fruktozlu diyet alan grupta hem vücut ağırlığında hem de karaciğer ağırlığında anlamlı artış olduğu görüldü. Rifaksimin alan fruktoz ile beslenen grupta, rifaksiminsiz fruktozla beslenen grup arasında kilo bakımından anlamlı bir fark olmaması rifaksiminin bu anlamda etkili bir preperat olmadığını düşündürdü. Belki de metabolik bozuklukların artışı için daha uzun süre fruktoz vererek daha farklı bir tablo oluşturabilinirdi.

Sonuç olarak; bu çalışmada gördük ki; fruktoz ile beslendiğinde steatohepatit gelişmektedir. Oral rifaksimin alımı fruktoz ile oluşturulan Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığında önleyici rol oynamaktadır. Rifaksimin, intestinal orjinli endotoksemiye önleyerek, proinflatuar sitokin ve oksidatif stersi azaltarak etkili olmaktadır. Rifaksiminin haftada 1ve haftada 3 kez verilen dozları arasında fark

görünmemektedir. Rifaksimın NASH/NAYKH tedavisinde etkili bir ilaç olabilir. Bu konuda yeni yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

5. KAYNAKLAR

1. Sundaresan S, Vijayagopal P, Mills N, Imrhan V, Prasad C. A mouse model for nonalcoholic steatohepatitis.
2. Vuppalanchi R, Chalasani N. Nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis: Selected practical issues in their evaluation and management 2009; 49: 306-307.
3. Ong JP, Pitts A, Younossi ZM. Increased overall mortality and liver-related mortality in nonalcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 2008; 49: 608-612.
4. Ouyang X, Cirillo P, Sautin Y, McCall S, Bruchette JL, Diehl AM, Johnson RJ, Abdelmalek MF. Fructose consumption as a risk factor for non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. 2008; 48: 993-999.
5. Ackerman Z, Oron-Herman M, Grozovski M, Rosenthal T, Pappo O, Link G, Sela BA. Fructose-induced fatty liver disease: hepatic effects of blood pressure and plasma triglyceride reduction. *Hypertension* 2005; 45: 1012-1018.
6. Havel PJ. Dietary fructose: implications for dysregulation of energy homeostasis and lipid/carbohydrate metabolism. *Nutr Rev* 2005; 63: 133-157.
7. Bode JC, Zelder O, Rumpelt HJ, Wittkamp U. Depletion of liver adenosine phosphates and metabolic effects of intravenous infusion of fructose or sorbitol in man and in the rat. *Eur J Clin Invest* 1973; 3: 436-434.
8. Wigg AJ, Dymock RB, McCarthy PJ, Grose RH, Cummins AG. The role of small intestinal bacterial overgrowth, intestinal permeability, endotoxaemia, and tumour necrosis factor alpha in the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis. *Gut* 2001; 48: 206-211
9. Musso G, Gambino R, Biroli G, Carello M, Fagà E, Pacini G, et al. Hypoadiponectinemia predicts the severity of hepatic fibrosis and pancreatic Beta-cell dysfunction in nondiabetic nonobese patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 2438-2446.

10. Spruss A, Kanuri G, Wagnerberger S, Haub S, Bischoff SC, Bergheim I , et al. Toll-like reseptor 4is involved in the develoment of fructose-induced hepatic steatosis in mice. *Hepatology* 2009; 50: 1094-1104.
11. Rivkin A, Gim S. Rifaximin: new therapeutic indication and future directions. *Clin Ther* 2011; 33: 812-827.
12. Schaffner F, Thaler H. Nonalcoholic fatty liver disease. *Prog Liver Dis* 1986. 8: 283-298.
13. Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB, Oh BJ. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. *Mayo Clin Proc* 1980; 55: 434-438.
14. Sheth, SG, Gordon FD, Chopra S. Nonalcoholic steatohepatitis. *Ann Intern Med* 1997; 126: 137-145.
15. Caldwell SH, Oelsner DH, Iezzoni JC, Hespenheide EE, Battle EH, Driscoll CJ. Cryptogenic cirrhosis: clinical characterization and risk factors for underlying disease. *Hepatology* 1999; 29: 664-669.
16. Bellentani S, Saccoccio G, Masutti F, Crocè LS, Brandi G, Sasso F, et al. Prevalence of and risk factors for hepatic steatosis in Northern Italy. *Ann Intern Med* 2000; 132: 112-117.
17. Younossi ZM, Diehl AM, Ong JP. Nonalcoholic fatty liver disease: an agenda for clinical research. *Hepatology* 2002; 35: 746-752.
18. Anne B, Non alcoholic fatty liver disease, non-alcoholic steatohepatitis and orthotopic liver transplantation. *Am J Transplan* 2004; 4: 686-693.
19. Adams LA, Lymp JF, St Sauver J, Sanderson SO, Lindor KD, Feldstein A, Angulo P. The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: a population-based cohort study. *Gastroenterol* 2005; 129: 113-121.
20. Malnick SD, Beergabel JP, Knobler H. Non-alcoholic fatty liver: a common manifestation of a metabolic disorder. *QJM* 2003; 96: 699-709.

21. Clark JM, Brancati FL, Diehl AM. Nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterol* 2002; 122: 1649-1657.
22. Daniel S, Ben-Menachem T, Vasudevan G, Ma CK, Blumenkehl M. Prospective evaluation of unexplained chronic liver transaminase abnormalities in asymptomatic and symptomatic patients. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 3010-3014.
23. Lee RG. Nonalcoholic steatohepatitis: a study of 49 patients. *Hum Pathol* 1989; 20: 594-598.
24. Silverman JF, Pories WJ, Caro JF. Liver pathology in diabetes mellitus and morbid obesity. Clinical, pathological, and biochemical considerations. *Pathol Annu* 1989; 24: 275-302.
25. Satman I, Yilmaz T, Sengül A, Salman S, Salman F, Uygur S, et al. Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: results of the Turkish diabetes epidemiology study (TURDEP). *Diabetes Care* 2002; 25: 1551-1556.
26. Hatemi I, Balci H, Canbakan B, Yenice N, Senturk H. A population survey for screening chronic liver diseases in 4261 individuals from Turkey. *Hepatology* 2003; 38: 751.
27. Adams LA, Angulo P, Lindor KD. Nonalcoholic fatty liver disease. *CMAJ* 2005; 172: 899-905.
28. Diehl AM. Nonalcoholic steatohepatitis. *Semin Liver Dis* 1999; 19: 221-229.
29. Chitturi S, Farrell GC. Etiopathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Semin Liver Dis* 2001; 21: 27-41.1.
30. Barker KB, Palekar NA, Bowers SP, Goldberg JE, Pulcini JP, Harrison SA, et al. Non-alcoholic steatohepatitis: effect of Roux-en-Y gastric bypass surgery. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 368-373.
31. Duman DG. Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı: karaciğerin en sık görülen hastalığı. *Türk Aile Hek Derg* 2004; 8: 9-13.

32. Ruhl CE, Everhart JE. Relation of elevated serum alanine aminotransferase activity with iron and antioxidant levels in the United States. *Gastroenterol* 2003; 124: 1821-1829.
33. Gören B. Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı. *Turkiye Klinikleri J Med Sci* 2005; 25: 841-850.
34. Shaffer EA, Nonalcoholic steatohepatitis: more than just being fat. *Can J Gastroenterol* 2002; 16: 318-321.
35. Burt AD, MuttonA, DayCP. Diagnosis and interpretation of steatosis and steatohepatitis. *Semin Diagn Pathol* 1998; 15: 246-258.
36. Neuschwander-Tetri BA, CaldwellSH. Nonalcoholic steatohepatitis: summary of an AASLD Single Topic Conference. *Hepatology* 2003; 37: 1202-1219.
37. Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 2467-2474.
38. Gunsar F. Nonalkolik steatohepatit. *Guncel Gastroenteroloji* 2005; 9: 167-176.
39. Gümüüşdiş G. Yağlı karaciğer. *Ege Dahili Tıp Günleri Özet Kitabı* 2002: 47-72
40. Letteron P, Fromenty B, Terris B, Degott C, Pessayre D. Acute and chronic hepatic steatosis lead to in vivo lipid peroxidation in mice. *J Hepatol* 1996; 24: 200-208.
41. James O, DayC. Non-alcoholic steatohepatitis: another disease of affluence. *Lancet* 1999; 353: 1634-1636.
42. Neuschwander-Tetri BA. A resistance movement in NASH. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 2813-2814.
43. Saltiel AR. New perspectives into the molecular pathogenesis and treatment of type 2 diabetes. *Cell* 2001; 104: 517-529.
44. Hsiao PJ, Kuo KK, Shin SJ, Yang YH, Lin WY, Yang JF, et al. Significant correlations between severe fatty liver and risk factors for metabolic syndrome. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 2118-2123.

45. de la Maza MP, Hirsch S, Petermann M, Suazo M, Ugarte G, Bunout D. Changes in microsomal activity in alcoholism and obesity. *Alcohol Clin Exp Res* 2000; 24: 605-610.
46. Pessayre D, Berson A, Fromenty B, Mansouri A, Mitochondria in steatohepatitis. *Semin Liver Dis* 2001; 21: 57-69.
47. Weltman MD, FarrellGC, LiddleC. Increased hepatocyte CYP2E1 expression in a rat nutritional model of hepatic steatosis with inflammation. *Gastroenterol* 1996; 111: 1645-1653.
48. George DK, Goldwurm S, MacDonald GA, Cowley LL, Walker NI, Ward PJ, et al. Increased hepatic iron concentration in nonalcoholic steatohepatitis is associated with increased fibrosis. *Gastroenterol* 1998; 114: 311-318.
49. Leclercq IA, Farrell GC, Field J, Bell DR, Gonzalez FJ, Robertson GR. CYP2E1 and CYP4A as microsomal catalysts of lipid peroxides in murine nonalcoholic steatohepatitis. *J Clin Invest* 2000; 105: 1067-75.
50. Yang, S.Q, Disrupted signaling and inhibited regeneration in obese mice with fatty livers: implications for nonalcoholic fatty liver disease pathophysiology. *Hepatology* 2001; 34: 694-706.
51. Weltman MD, Farrell GC, Hall P, Ingelman-Sundberg M, Liddle C. Hepatic cytochrome P450 2E1 is increased in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 1998; 27: 128-133.
52. Woodcroft KJ, Novak RF. Insulin differentially affects xenobiotic-enhanced, cytochrome P-450 (CYP)2E1, CYP2B, CYP3A, and CYP4A expression in primary cultured rat hepatocytes. *J Pharmacol Exp Ther* 1999; 289: 1121-1127.
53. Bacon BR, O'Neill R, BrittonRS. Hepatic mitochondrial energy production in rats with chronic iron overload. *Gastroenterol* 1993; 105: 1134-1140.
54. Kern PA, Saghizadeh M, Ong JM, Bosch RJ, Deem R, Simsolo RB. The expression of tumor necrosis factor in human adipose tissue. Regulation by obesity, weight loss, and relationship to lipoprotein lipase. *J Clin Invest* 1995; 95: 2111-2119.

55. Yuan M, Konstantopoulos N, Lee J, Hansen L, Li ZW, Karin M, Shoelson SE. Reversal of obesity- and diet-induced insulin resistance with salicylates or targeted disruption of Ikkbeta. *Science* 2001; 293: 1673-1677.
56. Kim JK, Kim YJ, Fillmore JJ, Chen Y, Moore I, Lee J, et al. Prevention of fat-induced insulin resistance by salicylate. *J Clin Invest* 2001; 108: 437-446.
57. Valverde AM. Tumor necrosis factor-alpha causes insulin receptor substrate-2-mediated insulin resistance and inhibits insulin-induced adipogenesis in fetal brown adipocytes. *Endocrinology* 1998; 139: 1229-1238.
58. Crespo J, Cayón A, Fernández-Gil P, Hernández-Guerra M, Mayorga M, Domínguez-Díez A, et al. Gene expression of tumor necrosis factor alpha and TNF-receptors, p55 and p75, in nonalcoholic steatohepatitis patients. *Hepatology* 2001; 34: 1158-1163.
59. Lee FY, Li Y, Yang EK, Yang SQ, Lin HZ, Trush MA, et al. Phenotypic abnormalities in macrophages from leptin-deficient, obese mice. *Am J Physiol* 1999; 276: 386-394.
60. Cope K, Risby T, Diehl AM. Increased gastrointestinal ethanol production in obese mice: implications for fatty liver disease pathogenesis. *Gastroenterol* 2000; 119: 1340-1347.
61. Nair S, Cope K, Risby TH, Diehl AM. Obesity and female gender increase breath ethanol concentration: potential implications for the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 1200-1204.
62. Canbay A, Friedman S, Gores GJ. Apoptosis: the nexus of liver injury and fibrosis. *Hepatology* 2004; 39: 273-278.
63. Chavin KD, Yang S, Lin HZ, Chatham J, Chacko VP, Hoek JB, et al. Obesity induces expression of uncoupling protein-2 in hepatocytes and promotes liver ATP depletion. *J Biol Chem* 1999; 274: 5692-5700.
64. Decker K. Biologically active products of stimulated liver macrophages (Kupffer cells). *Eur J Biochem* 1990; 192: 245-261.

65. Nanji AA, Jokelainen K, Tipoe GL, Rahemtulla A, Dannenberg AJ. Dietary saturated fatty acids reverse inflammatory and fibrotic changes in rat liver despite continued ethanol administration. *J Pharmacol Exp Ther* 2001; 299: 638-644.
66. Cortez-Pinto H, Chatham J, Chacko VP, Arnold C, Rashid A, Diehl AM. Alterations in liver ATP homeostasis in human nonalcoholic steatohepatitis: a pilot study. *JAMA* 1999; 282: 1659-1664.
67. Woodcroft KJ, HafnerMS, NovakRF. Insulin signaling in the transcriptional and posttranscriptional regulation of CYP2E1 expression. *Hepatology* 2002; 35: 263-73.
68. Nieto N, FriedmanSL, CederbaumAI. Stimulation and proliferation of primary rat hepatic stellate cells by cytochrome P450 2E1-derived reactive oxygen species. *Hepatology* 2002; 35: 62-73.
69. Friedman SL. Seminars in medicine of the Beth Israel Hospital, Boston. The cellular basis of hepatic fibrosis. Mechanisms and treatment strategies. *N Engl J Med* 1993; 328: 1828-1835.
70. Malaguarnera L, Di Rosa M, Zambito AM, dell'Ombra N, Nicoletti F, Malaguarnera M. Chitotriosidase gene expression in Kupffer cells from patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Gut* 2006; 55: 1313-1320.
71. Malaguarnera L, Di Rosa M, Zambito AM, dell'Ombra N, Di Marco R, Malaguarnera M. Potential role of chitotriosidase gene in nonalcoholic fatty liver disease evolution. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 2060-2069.
72. Mendez-SanchezN, Zamora-Valdes D, Pichardo-Bahena R, Barredo-Prieto B, Ponciano-Rodriguez G, Bermejo-Martínez L, et al. Endocannabinoid receptor CB2 in nonalcoholic fatty liver disease. *Liver Int* 2007; 27: 215-219.
73. Yamazaki Y, Kakizaki S, Horiguchi N, Sohara N, Sato K, Takagi H, et al. The role of the nuclear receptor constitutive androstane receptor in the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis. *Gut* 2007; 56: 565-574.
74. Kocaman O, Hulagu S, Senturk O. Echinacea-induced severe acute hepatitis with features of cholestatic autoimmune hepatitis. *Eur J Intern Med* 2008; 19: 148.

75. Clark JM, Brancati FL, Diehl AM. The prevalence and etiology of elevated aminotransferase levels in the United States. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 960-967.
76. Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med* 2002; 346: 1221-1231..
77. Angulo P, Lindor KD. Non-alcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol Hepatol*, 2002; 17: 186-190.
78. Powell EE, Cooksley WG, Hanson R, Searle J, Halliday JW, Powell LW. The natural history of nonalcoholic steatohepatitis: a follow-up study of forty-two patients for up to 21 years. *Hepatology* 1990; 11: 74-80.
79. Mishra P, YounossiZM. Current treatment strategies for non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Curr Drug Discov Technol* 2007; 4: 133-140.
80. Bacon BR, Farahvash MJ, Janney CG, Neuschwander-Tetri BA. Nonalcoholic steatohepatitis: an expanded clinical entity. *Gastroenterol* 1994; 107: 1103-1109.
81. Reaven GM, ChenYD. Role of insulin in regulation of lipoprotein metabolism in diabetes. *Diabetes Metab Rev* 1988; 4: 639-652.
82. Demirkol KK. Früktozdan zengin mısır şurubu ve sağlık sakıncaları Available from:(http://www.tuba.gov.tr/images/stories/userfiles/file/files_tr/guncelbilgiler/fruktoz/ProfKenanDemirkol.pdf).
83. Gami AS, Witt BJ, Howard DE, Erwin PJ, Gami LA, Somers VK, Montori VM. Metabolic syndrome and risk of incident cardiovascular events and death: a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *J Am Coll Cardiol* 2007; 49: 403-414.
84. Grundy SM, Metabolic syndrome pandemic. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008; 28: 629-636.
85. Aydın AF, Küçükgergin C, Ozdemirler-Erata G, Koçak-Toker N, Uysal M. The effect of carnosine treatment on prooxidant-antioxidant balance in liver, heart and brain tissues of male aged rats. *Biogerontology* 2010; 11: 103-109.
86. Hanson RL, Imperatore G, Bennett PH, Knowler WC. Components of the "metabolic syndrome" and incidence of type 2 diabetes. *Diabetes* 2002; 51: 3120-3217.

87. Laaksonen DE, Lakka HM, Niskanen LK, Kaplan GA, Salonen JT, Lakka TA. Metabolic syndrome and development of diabetes mellitus: application and validation of recently suggested definitions of the metabolic syndrome in a prospective cohort study. *Am J Epidemiol* 2002; 156: 1070-1077.
88. Lorenzo C, Okoloise M, Williams K, Stern MP, Haffner SM. San Antonio Heart Study. The metabolic syndrome as predictor of type 2 diabetes: the San Antonio heart study. *Diabetes Care* 2003; 26: 3153-3159.
89. Isomaa B, Almgren P, Tuomi T, Forsén B, Lahti K, Nissén M, et al. Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. *Diabetes Care* 2001; 24: 683-689.
90. Ginsberg HN. Insulin resistance and cardiovascular disease. *J Clin Invest* 2000; 106: 453-458.
91. DeFronzo RA. Insulin resistance, hyperinsulinemia, and coronary artery disease: a complex metabolic web. *J Cardiovasc Pharmacol* 1992; 20: 1-16.
92. DeFronzo RA, Ferrannini E. Insulin resistance. A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease. *Diabetes Care* 1991; 14: 173-194.
93. Verma S, Insulin resistance and hypertension: pharmacological and mechanistic studies. *Can J Diabetes Care* 2000; 23: 23-42.
94. Lakka HM, Laaksonen DE, Lakka TA, Niskanen LK, Kumpusalo E, Tuomilehto J, Salonen JT. The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle-aged men. *JAMA* 2002; 288: 2709-2716.
95. Malik S, Wong ND, Franklin SS, Kamath TV, L'Italien GJ, Pio JR, Williams GR. Impact of the metabolic syndrome on mortality from coronary heart disease, cardiovascular disease, and all causes in United States adults. *Circulation* 2004; 110: 1245-1250.
96. Reaven GM. Insulin resistance, hyperinsulinemia, hypertriglyceridemia and hypertension. Parallels between human disease and rodent models. *Diabetes Care* 1991; 14: 195-202.

97. Hunt KJ. National cholesterol education program versus world health organization metabolic syndrome in relation to all-cause and cardiovascular mortality in the san antonio heart study. *Circulation* 2004; 110: 1251-1257
98. Bhanot S, McNeillJH. Insulin and hypertension: a causal relationship? *Cardiovasc Res* 1996; 31: 212-221.
99. Aydın A. Uzun Süre Fruktöz İçen Sıçanlarda Resveratrol Verilmesinin Vazodilatör Cevap Üzerine Etkisinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Ankara: Gazi Üniversitesi, 2009.
100. Dekker MJ, Su Q, Baker C, Rutledge AC, Adeli K. Fructose: a highly lipogenic nutrient implicated in insulin resistance, hepatic steatosis, and the metabolic syndrome. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2010; 299: 685-694.
101. Stanhope KL, HavelPJ. Fructose consumption: potential mechanisms for its effects to increase visceral adiposity and induce dyslipidemia and insulin resistance. *Curr Opin Lipidol* 2008; 19: 16-24.
102. Ferder L, FerderMD, InserraF. The role of high-fructose corn syrup in metabolic syndrome and hypertension. *Curr Hypertens Rep* 2010; 12: 105-112.
103. Hwang IS, Ho H, Hoffman BB, Reaven GM. Fructose-induced insulin resistance and hypertension in rats. *Hypertension* 1987; 10: 512-516.
104. Reaven GM. Insulin resistance and human disease: a short history. *J Basic Clin Physiol Pharmacol* 1998; 9: 387-406.
105. Reaven GM, HoH, HoffmannBB. Somatostatin inhibition of fructose-induced hypertension. *Hypertension* 1989; 14: 117-120.
106. Bhanot S, Michoulas A, McNeillJH. Antihypertensive effects of vanadium compounds in hyperinsulinemic, hypertensive rats. *Mol Cell Biochem* 1995; 153: 205-209.
107. Kotchen TA, ReddyS, ZhangHY. Increasing insulin sensitivity lowers blood pressure in the fructose-fed rat. *Am J Hypertens* 1997; 10: 1020-1026.

108. Putnam JJ. Food consumption, prices and expenditures, 1970–97. US Department of Agriculture Economic Research Service statistical bulletin no. 965. Washington DC: US Government Printing Office, 1999.
109. Schulze MB, Ludwig DS, Colditz GA, Stampfer MJ, Willett WC, et al. Sugar-sweetened beverages, weight gain, and incidence of type 2 diabetes in young and middle-aged women. *JAMA* 2004; 292: 927–934.
110. White JS. Straight talk about high-fructose corn syrup: what it is and what it ain't. *Am J Clin Nutr* 2008; 88: 1716–1721.
111. Lim JS, Valente A, Schwarz JM, Lustig RH, The role of fructose in the pathogenesis of NAFLD and the metabolic syndrome. *Nat* 2010; 7: 251–64.
112. Tappy L. Metabolic effects of fructose and the worldwide increase in obesity. *Physiol* 2010; 90: 23-46.
113. Basciano H, Federico L, Adeli K. Fructose, insulin resistance, and metabolic dyslipidemia. *Nutr Metab (Lond)* 2005; 2: 5.
114. Bacon BR, Janney CG, Neuschwander-Tetri BA, Nonalcoholic steatohepatitis: an expanded clinical entity. *Gastroenterol* 1994; 107: 1103-1109.
115. Bantle JP, Thomas W, Georgopoulos A, Effects of dietary fructose on plasma lipids in healthy subjects. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 1128–134.
116. Nomura TY. The role of fructose-enriched diets in mechanisms of nonalcoholic fatty liver disease. *J Nutritional Biochem* 2011; doi: 10.1016/j.jnutbio. 2011.09.006.
117. Gami AS, Howard DE, Erwin PJ, Gami LA, Somers VK, Montori VM. Metabolic syndrome and risk of incident cardiovascular events and death: a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *J Am Coll Cardiol* 2007; 49: 403-414.
118. Demirkol K. Früktozdan zengin mısır şurubu ve sağlık sakıncaları. <http://www.dogader.org/index.php/sagligimiz-icin/650-kansere-neden-olan-beslenme>
119. Jones HF, Butler RN, Brooks DA. Intestinal fructose transport and malabsorption in humans. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2011; 300: 202-206.

120. Barone S, Fussell SL, Singh AK, Lucas F, Xu J, Kim C, et al. Slc2a5 (Glut5) is essential for the absorption of fructose in the intestine and generation of fructose-induced hypertension. *J Biol Chem* 2009; 284: 5056-5066.
121. Douard V, Ferraris RP. Regulation of the fructose transporter GLUT5 in health and disease. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2008; 295: 227-237.
122. Corpe CP, Bovelander FJ, Munoz CM, Hoekstra JH, Simpson IA, Kwon O, et al. Cloning and functional characterization of the mouse fructose transporter, GLUT5. *Biochim Biophys Acta* 2002; 1576: 191-197.
123. Kellett GL, Brot-Laroche E, Mace OJ, Leturque A. Sugar absorption in the intestine: the role of GLUT2. *Annu Rev Nutr* 2008; 28: 35-54.
124. Cook GC. Absorption products of D (-) fructose in man. *Clin Sci* 1969; 37: 675-687.
125. Macdonald IA, Keyser Pacy D. Some effects, in man, of varying the load of glucose, sucrose, fructose, or sorbitol on various metabolites in blood. *Am J Clin Nutr* 1978; 31: 1305-1311.
126. Alan R. Adverse Effects of Dietary Fructose. *Alternative Med Rev* 2005; 10: 294-306.
127. Akar F. Şeker ve hazır gıdalara eklenen früktozun toplum sağlığı üzerine etkileri. *Türk Farmakoloji Derneği Bülteni* 2011; 108: 16-18.
128. Bray GA. How bad is fructose? *Am J Clin Nutr* 2007; 86: 895-896.
129. Tran LT, Yuen VG, McNeill JH. The fructose-fed rat: a review on the mechanisms of fructose-induced insulin resistance and hypertension. *Mol Cell Biochem* 2009; 332: 145-159.
130. Xing SS, Bi XP, Tan HW, Zhang Y, Xing QC, Zhang W. Overexpression of interleukin-18 aggravates cardiac fibrosis and diastolic dysfunction in fructose-fed rats. *Mol Med* 2010; 16: 465-470.
131. Ackerman Z, Oron-Herman M, Grozovski M, Rosenthal T, Pappo O, Link G, Sela BA. Fructose-induced fatty liver disease: hepatic effects of blood pressure and plasma triglyceride reduction. *Hypertension* 2005; 45: 1012-1018.

132. Cordain L, EadesMR, EadesMD. Hyperinsulinemic diseases of civilization: more than just Syndrome X. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 2003; 136: 95-112.
133. Havel PJ. Dietary fructose: implications for dysregulation of energy homeostasis and lipid/carbohydrate metabolism. *Nutr Rev* 2005; 63: 133-157.
134. Navarro-Cid J, Maeso R, Perez-Vizcaino F, Cachofeiro V, Ruilope LM, Tamargo J, Lahera V. Effects of losartan on blood pressure, metabolic alterations, and vascular reactivity in the fructose-induced hypertensive rat. *Hypertension* 1995; 26: 1074-1078.
135. Chen S, Noguchi Y, Izumida T, Tatebe J, Katayama S. A comparison of the hypotensive and hypoglycaemic actions of an angiotensin converting enzyme inhibitor, an AT1a antagonist and troglitazone. *J Hypertens* 1996; 14: 1325-1330.
136. Kohli R. High-fructose, medium chain trans fat diet induces liver fibrosis and elevates plasma coenzyme Q9 in a novel murine model of obesity and nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2010; 52: 934-944.
137. Sohet FM, Neyrinck AM, Pachikian BD, de Backer FC, Bindels LB, Niklowitz P, et al. Coenzyme Q10 supplementation lowers hepatic oxidative stress and inflammation associated with diet-induced obesity in mice. *Biochem Pharmacol* 2009; 78: 1391-400.
138. Song M, Schuschke DA, Zhou Z, Chen T, Pierce WM, Wang R, et al. High fructose feeding induces copper deficiency in Sprague-Dawley rats: a novel mechanism for obesity related fatty liver. *J Hepatol* 2012; 56: 433-440.
139. Tappy L, LeKA. Metabolic effects of fructose and the worldwide increase in obesity. *Physiol Rev* 2010; 90: 23-46.
140. Rajasekar P, Palanisamy N, AnuradhaCV. Increase in nitric oxide and reductions in blood pressure, protein kinase C beta II and oxidative stress by L-carnitine: a study in the fructose-fed hypertensive rat. *Clin Exp Hypertens* 2007; 29: 517-530.
141. Kelley, GL, AllanG, AzharS. High dietary fructose induces a hepatic stress response resulting in cholesterol and lipid dysregulation. *Endocrinology* 2004; 145: 548-555.

142. Levi B, WermanMJ. Long-term fructose consumption accelerates glycation and several age-related variables in male rats. *J Nutr* 1998; 128: 1442-1449.
143. Vlassara H, Cai W, Crandall J, Goldberg T, Oberstein R, Dardaine V, et al. Inflammatory mediators are induced by dietary glycotoxins, a major risk factor for diabetic angiopathy. *Proc Natl Acad Sci* 2002; 99: 15596-15601.
144. Goldberg T, Cai W, Peppia M, Dardaine V, Baliga BS, Uribarri J, Vlassara H. Advanced glycoxidation end products in commonly consumed foods. *J Am Diet Assoc* 2004; 104: 1287-1291.
145. Wree A, Kahraman A, Gerken G, Canbay A. Obesity affects the liver-the link between adipocytes and hepatocytes. *Digestion* 2011; 83: 124-133.
146. Browning JD, Szczepaniak LS, Dobbins R, Nuremberg P, Horton JD, Cohen JC, et al. Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity. *Hepatology* 2004; 40: 1387-1395.
147. Bugianesi E, Leone N, Vanni E, Marchesini G, Brunello F, Carucci P, et al. Expanding the natural history of nonalcoholic steatohepatitis: from cryptogenic cirrhosis to hepatocellular carcinoma. *Gastroenterol* 2002; 123: 134-140.
148. Neuschwander-Tetri BA. Nonalcoholic steatohepatitis and the metabolic syndrome. *Am J Med Sci* 2005; 330: 326-335.
149. Sánchez-Lozada LG, Mu W, Roncal C, Sautin YY, Abdelmalek M, Reungjui S, Le M, et al. Comparison of free fructose and glucose to sucrose in the ability to cause fatty liver. *Eur J Nutr* 2010; 49: 1-9.
150. Armutcu F, Coskun O, Gürel A, Kanter M, Can M, Ucar F, Unalacak M. Thymosin alpha 1 attenuates lipid peroxidation and improves fructose-induced steatohepatitis in rats. *Clin Biochem* 2005; 38: 540-547.
151. Kawasaki T, Igarashi K, Koeda T, Sugimoto K, Nakagawa K, Hayashi S, et al. Rats fed fructose-enriched diets have characteristics of nonalcoholic hepatic steatosis. *J Nutr* 2009; 139: 2067-2071.
152. Tetri LH, Basaranoglu M, Brunt EM, Yerian LM, Neuschwander-Tetri BA. Severe NAFLD with hepatic necroinflammatory changes in mice fed trans fats and a high-

- fructose corn syrup equivalent. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008; 295: 987-995.
153. Collison KS, Saleh SM, Bakheet RH, Al-Rabiah RK, Inglis AL, Makhoul NJ, et al. Diabetes of the liver: the link between nonalcoholic fatty liver disease and HFCS-55. *Obesity (Silver Spring)* 2009; 17: 2003-2013.
 154. Matsuzaka T, Shimano H, Yahagi N, Amemiya-Kudo M, Okazaki H, Tamura Y, et al. Insulin-independent induction of sterol regulatory element-binding protein-1c expression in the livers of streptozotocin-treated mice. *Diabetes* 2004; 53: 560-569.
 155. Kanuri G, Spruss A, Wagnerberger S, Bischoff SC, Bergheim I. Role of tumor necrosis factor alpha (TNFalpha) in the onset of fructose-induced nonalcoholic fatty liver disease in mice. *J Nutr Biochem* 2011; 22: 527-534.
 156. Botezelli JD, Mora RF, Dalia RA, Moura LP, Cambri LT, Ghezzi AC, et al. Exercise counteracts fatty liver disease in rats fed on fructose-rich diet. *Lipids Health Dis* 2010; 9: 116.
 157. Figlewicz DP, Ioannou G, Bennett Jay J, Kittleson S, Savard C, Roth CL. Effect of moderate intake of sweeteners on metabolic health in the rat. *Physiol Behav* 2009; 98: 618-624.
 158. Light HR, Tsanzi E, Gigliotti J, Morgan K, Tou JC. The type of caloric sweetener added to water influences weight gain, fat mass, and reproduction in growing Sprague-Dawley female rats. *Exp Biol Med (Maywood)* 2009; 234: 651-661.
 159. Ackroff K, Sclafani A. Rats' preferences for high fructose corn syrup vs. sucrose and sugar mixtures. *Physiol Behav* 2011; 102: 548-552.
 160. Pickens MK, Ogata H, Soon RK, Grenert JP, Maher JJ. Dietary fructose exacerbates hepatocellular injury when incorporated into a methionine-choline-deficient diet. *Liver Int* 2010; 30: 1229-1239.
 161. Cottreau J, DuPont HL, Garey KW, Rifaximin: a nonsystemic rifamycin antibiotic for gastrointestinal infections. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2010; 8: 747-760.
 162. United States Food and Drug Administration Gastrointestinal Drugs Advisory Committee Xifaxan® (rifaximin) Tablets 550 mg for Hepatic Encephalopathy http://www.fda.gov/oc/ohrt/2012/01/20120124_gi_drugs_advisory_committee_xifaxan_rifaximin_tablets_550_mg_for_hepatic_encephalopathy.pdf

[//www.fda.gov/downloads/advisorycommittees/committeesmeetingmaterials/drugs/gastrointestinaldrugsadvisorycommittee/ucm203248.pdf](http://www.fda.gov/downloads/advisorycommittees/committeesmeetingmaterials/drugs/gastrointestinaldrugsadvisorycommittee/ucm203248.pdf). 2008.

163. Ruiz J. Development of Escherichia coli rifaximin-resistant mutants: frequency of selection and stability. *J Antimicrob Chemotherapy* 2008; 61: 1016–1019.
164. Sundaresan S, Vijayagopal P, Mills N, Imrhan V, Prasad C. A mouse model for nonalcoholic steatohepatitis. *J Nutr Biochem* 2011; 22: 979-984.
165. Abbasi F, Okeke Q, Reaven GM. Evaluation of fasting plasma insulin concentration as an estimate of insulin action in nondiabetic individuals: comparison with the HOMA-IR. *Acta Diabetol* 2014; 51: 193-197
166. Bergheim I, Weber S, Vos M, Krämer S, Volynets V, Kaserouni S, et al. Antibiotics protect against fructose-induced hepatic lipid accumulation in mice: role of endotoxin. *J Hepatol* 2008; 48: 6983–6992.
167. Yadav H, Jain S, Sinha PR. Antidiabetic effect of probiotic dahi containing Lactobacillus acidophilus and Lactobacillus casei in high fructose fed rats. *Nutrition* 2007; 23: 62-68.
168. Yadav H, Jain S, Sinha PR. Effect of skim milk and dahi (yogurt) on blood glucose, insulin and lipid profile in rats fed with high fructose diet. *J Med Food* 2006; 9: 328-335.
169. United States Food and Drug Administration. Gut microbiota and nonalcoholic fatty liver disease. <http://www.fda.gov/downloads/advisorycommittees/committeesmeetingmaterials/drugs/gastrointestinaldrugsadvisorycommittee/ucm203248.pdf>
170. Buettner R, Gäbele E, Hellerbrand C, Kob R, Bertsch T, Bollheimer LC. Olive oil attenuates the cholesterol-induced development of nonalcoholic steatohepatitis despite increased insulin resistance in a rodent model. *Horm Metab Res* 2013; 45: 795-801.
171. Wu Q, Zhang D, Tao N, Zhu QN, Jin T, Shi JS, Liu J. Induction of Nrf2 and metallothionein as a common mechanism of hepatoprotective medicinal herbs. *Am J Chin Med* 2014; 42: 207-221.

6.ÖZGEÇMİŞ

1982’de Malatya’da doğdum. İlkokulu Malatya Gazi İlkokul’unda, ortaokulu Atatürk Ortaokulu’nda, liseyi Malatya Turgut Özal Anadolu Lisesi’nde okudum. 2001 yılında Dokuz Eylül Üniversitesi Mimarlık bölümünde bir yıl eğitim aldım. 2003 yılında başladığım Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi’ni 2009 yılında bitirdim.2009 yılında Siirt Ulus Sağlık ocağı ve Siirt Devlet Hastanesi Acil servisinde çalıştım.2009 yılında Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Adli Tıp Bölümünde çalıştım. 2010 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı’nda başladığım uzmanlık eğitimime halen devam etmekteyim.