



T.C.

İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

**SIÇANLARDA YÜKSEK FRUKTOZLU MISIR ŞURUBUYLA
İNDÜKLENEN KARACİĞER YAĞLANMASI MODELİNDE
PROBİYOTİK VE OMEGA-3 YAĞ ASİTLERİNİN ETKİLERİ**

NİLDEM KIZILASLAN

BESLENME VE DİYETETİK ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

Dr. Öğr. Üyesi NİHAL ZEKİYE ERDEM

İSTANBUL – 2020

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının yapılmasında bana yol gösteren, bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen değerli danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Nihal Zekiye ERDEM'e

Tezimin bu aşamaya gelmesinde önemli katkıda bulunan ve desteklerini benden esirgemeyen değerli tez izleme komitesi üyeleri hocalarım Sayın Prof.Dr. Mustafa ÖZTÜRK'e ve Sayın Doç.Dr. Nihal BÜYÜKUSLU'ya

Hayatım boyunca hep yanımda olan, varlıklarını her daim hissettiğim, bu süreçte beni motive eden ve destekleyen, bilimsel yaklaşımları ile yolumu aydınlatan babam Prof. Dr. Halil KIZILASLAN'a ve annem Prof.Dr. Nuray KIZILASLAN'a

Sevgi dolu güzel yürekleriyle her daim yanımda olan canım kardeşlerim Burak ve Ceylin'e en içten teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI.....	
BEYAN.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ.....	vii
TABLolar LİSTESİ.....	ix
RESİMLER VE ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xi
1. ÖZET.....	1
2. ABSTRACT.....	2
3. GİRİŞ VE AMAÇ.....	3
4. GENEL BİLGİLER.....	6
4.1. Tanım ve Tarihçesi.....	6
4.2. Epidemiyoloji	8
4.3. Etiyoloji.....	9
4.4. Patogenez.....	10
4.4.1. İnsülin Direnci (Two hit's hipotezi).....	11
4.4.2. Yağ dokusu/ Adipokin ve Sitokinler	13
4.4.2.1. Adinopektin	13
4.4.2.2. Leptin.....	14
4.4.2.3. Rezistin	15
4.4.2.4. TNF- α , IL-8, IL-6, PAI-1.....	15
4.4.3. Oksidatif Stres	16
4.4.4. Mitokondrial Disfonksiyon.....	18
4.5. Klinik Belirtiler ve Laboratuvar Bulguları.....	19
4.5.1. Tanı	21
4.6. Histopatolojik Bulgular	25
4.6.1. Brunt Sınıflaması	25
4.6.2. Kleiner Sınıflaması	26
4.6.3. Matteoni Sınıflaması	27
4.6.4. Mendler Sınıflaması	27

4.7. Tedavi.....	29
4.7.1. Yaşam Tarzı Değişiklikleri ve Kilo Kaybı.....	29
4.7.2. Fiziksel Aktivite.....	33
4.7.3. Farmakolojik Tedavi.....	35
4.7.4. Tıbbi Beslenme Tedavisi.....	37
4.8. Non Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığında Etkili Besin Öğeleri	40
4.8.1. Karbonhidrat.....	40
4.8.2. Yağ.....	43
4.8.3. Protein	45
4.9. Probiyotikler.....	46
4.9.1. Probiyotiklerin Tanımı, Tarihçesi ve Türleri	46
4.9.2. Probiyotiklerin Etki Mekanizması	50
4.9.3. İntestinal Mikrobiyota ve Non Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı İle İlişkisi.....	51
4.10. Omega-3 Yağ asitleri ve Non Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı İle İlişkisi	54
5. MATERYAL VE METOT.....	57
5.1. Araştırma Yeri Zamanı ve Örneklem Seçimi	57
5.2. Deney Grupları ve Besin Desteği	57
5.3. Verilerin Toplanması ve Ölçüm Yöntemleri.....	60
5.4. Histopatolojik Örneklemelerin İncelenmesi.....	63
5.5. Verilerin Analizinde Uygulanan İstatistiksel Yöntemler.....	65
6. BULGULAR.....	66
6.1. Sıçanların Yem Tüketim Düzeylerine İlişkin Değişimlerin Analizi.....	66
6.2. Sıçanların Sıvı Tüketim Düzeylerine İlişkin Değişimlerin Analizi.....	69
6.3. Sıçanların Vücut ve Karaciğer Ağırlıklarındaki Değişim Düzeylerinin Analizi.....	72
6.4. Sıçanların Gruplara Göre Yem ve Sıvı Tüketimleri ile Vücut Ağırlığı Arasındaki Korelasyon.....	76

6.5. Sıçanların Graplara Göre Glukoz, Karaciğer Enzimleri, Serum Kolesterol ve Trigliserid Düzeyleri.....	78
6.6. Sıçanların Graplara Göre Karaciğer Dokusu Trigliserid, Toplam Kolesterol ve Toplam Protein Düzeyleri.....	82
6.7. Sıçanların Graplara Göre İnflamatuvar Belirteçleri ve Antioksidan Düzeyleri.....	85
6.8. Histopatolojik Bulgular.....	89
6.9. Sıçanların Graplara Göre Yem ve Sıvı Tüketimleri, Ağırlık Değişimleri ile Karaciğer Ağırlığı, Serum ve Doku Parametreleri Arasındaki Korelasyon.....	95
7. TARTIşMA.....	105
8. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	116
9. KAYNAKLAR.....	124
10. ETİK KURUL ONAYI.....	154
11. ZGEÇMİş.....	155

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

AASLD	Amerikan Karaciğer Hastalıkları Araştırmaları Derneği
AGA	Amerikan Gastroenteroloji Derneği
AGE	Glikasyon Son Ürünleri
AIDS	Edinilmiş Bağışık Eksikliği Sendromu
ALP	Alkalın Fosfataz
ALT	Alanin Aminotransferaz
AST	Aspartat Aminotransferaz
ATP	Adonozin Trifosfat
BT	Bilgisayarlı Tomografi
ChREBP	Carbohydrate Response Element Binding Protein
CRP	C-Reaktif Protein
DHA	Dokosaheksaenoik asit
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
EASL-EASD-EASO	Avrupa Karaciğer, Diyabet, Obezite Araştırmaları Derneği
ELISA	Enzim Bağışıklık Testi
EPA	Eikosapentaenoik asit
ETC	Elektron Transport Zinciri
FAO	Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
GGT	Gama-Glutamil Transferaz
GI	Glisemik İndeks
GS	Glutasyon Sülfat
GSH	Glutasyon
GTP	Guanozin Trifosfat
HDL	Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
HOMA-IR	İnsülin Direnci
IgM	İmmunglobülin M
IL-6	İnterlökin-6
IL-8	İnterlökin-8
KASL	Kore Karaciğer Araştırmaları Derneği

LD	Laktat Dehidrojenaz
LDL	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
LPS	Lipopolisakkarit
MDA	Malondialdehit
MRC	Mitokondriyal Solunum Zinciri
MRG	Manyetik Rezonans Görüntüleme
MRS	Manyetik Rezonans Spektroskopi
MUFA	Tekli Doymamış Yağ Asitleri
NaCl	Sodyum Klorür
NAS	NAFLD Aktivite Skoru
NASH	Non Alkolik Steatohepatit
NAYKH	Non Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı
PAI-1	Plazminojen Aktivatör-1
PCOS	Polikistik Over Sendromu
PPAR- α	Peroxisom Proliferator Aktivatör Reseptör- α
PT	Protrombin Zamanı
PUFA	Çoklu Doymamış Yağ Asitleri
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
SFA	Doymuş Yağlar
SIBO	İnce Bağırsakta Aşırı Bakteri Üremesi
SOD	Süperoksit Dismutaz
SREBP-1c	Sterol Regulatory Binding Protein-1c
SYA	Serbest Yağ Asiti
TG	Trigliserid
TK	Total Kolesterol
TNF- α	Tümör Nekrozis Faktör
UDCA	Ursodeoksikolik asit
USG	Ultrasonografi
VKİ	Vücut Kütle İndeksi
VLDL	Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
YFMŞ	Yüksek Fruktozlu Mısır Şurubu

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 4.4.1. Karaciğer Yağlanması'nın İnsülin Direncindeki Rolü	12
Tablo 4.5.1 Karaciğer Fonksiyon Testleri	20
Tablo 4.5.2. Non Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığında Laboratuvar İncelemeleri..	20
Tablo 4.5.1.1. Karaciğer Yağlanması'nda Ultrasonografik Bulgular.....	23
Tablo 4.6.2. NAFLD Aktivite Skoru (NAS).....	26
Tablo 4.6.4.1. NASH Semikantitatif Derecelendirme Yöntemleri (Mandler MH)...	28
Tablo 4.6.4.2. NASH Histolojik Bulgularının Özeti	28
Tablo 4.7.1. Yaşam Tarzı Değişiklikleri ve Kilo Kaybı Kılavuzları.....	32
Tablo 4.7.2. Fiziksel Aktivite Kılavuzları.....	34
Tablo 4.7.3. NAYKH'nin Tedavisi İçin Potansiyel Terapötik Ajanlar.....	36
Tablo 4.9.1. Yaygın Kullanılan Probiyotik Türleri	49
Tablo 5.4. Non Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı Skorum Sistemi	63
Tablo 6.1. Sıçanlarda Haftalık Yem Tüketim Düzeyleri.....	68
Tablo 6.2. Sıçanlarda Haftalık Sıvı Tüketim Düzeyleri.....	71
Tablo 6.3. Sıçanların Vücut ve Karaciğer Ağırlıklarındaki Değişim Düzeyleri.....	74
Tablo 6.4. Sıçanların Yem ve Sıvı Tüketimleri ile Vücut Ağırlığı Arasındaki Korelasyon.....	76
Tablo 6.5. Sıçanların Glukoz, Karaciğer Enzimleri, Serum Kolesterol ve Trigliserid Düzeyleri.....	81
Tablo 6.6. Sıçanların Karaciğer Dokusu Trigliserid, Toplam Kolesterol ve Toplam Protein Düzeyleri.....	84
Tablo 6.7. Sıçanların Karaciğer Dokusu İnflamatuvar Belirteçleri ve Antioksidan Düzeyleri.....	88
Tablo 6.8. Sıçanların Karaciğer Dokusu Yağlanma Düzeyi Skoru Değerlendirmesi.....	94

Tablo 6.9. Kontrol Grubunda Yer Alan Sıçanların Yem, Sıvı Tüketimleri, Ağırlık Değişimleri ile Karaciğer Ağırlığı, Serum ve Doku Parametreleri Arasındaki Korelasyon.....	95
Tablo 6.10. YFMŞ Grubunda Yer Alan Sıçanların Yem, Sıvı Tüketimleri, Ağırlık Değişimleri ile Karaciğer Ağırlığı, Serum ve Doku Parametreleri Arasındaki Korelasyon.....	97
Tablo 6.11. YFMŞ+Omega-3 Yağ Asiti Grubunda Yer Alan Sıçanların Yem, Sıvı Tüketimleri, Ağırlık Değişimleri ile Karaciğer Ağırlığı, Serum ve Doku Parametreleri Arasındaki Korelasyon.....	99
Tablo 6.12. YFMŞ+Probiyotik Grubunda Yer Alan Sıçanların Yem, Sıvı Tüketimleri, Ağırlık Değişimleri ile Karaciğer Ağırlığı, Serum ve Doku Parametreleri Arasındaki Korelasyon.....	101
Tablo 6.13. YFMŞ+Omega-3 Yağ Asiti+Probiyotik Grubunda Yer Alan Sıçanların Yem, Sıvı Tüketimleri, Ağırlık Değişimleri ile Karaciğer Ağırlığı, Serum ve Doku Parametreleri Arasındaki Korelasyon.....	103

RESİMLER VE ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 4.1. Non Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığının Klinik Spektrumu	7
Şekil 4.4. Non Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı Patogenezi.....	11
Şekil 4.4.2. İkinci Darbe Hipotezi	19
Şekil 4.5.1. Non Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığına Tanısal Yaklaşım	24
Resim 5.3. Sıçanların Batın Bölgesinin Açılması ve Karaciğerin Çıkarılması.....	60
Şekil 6.1. Haftalık Yem Tüketim Miktarındaki Değişimler	67
Şekil 6.2. Haftalık Sıvı Tüketim Miktarındaki Değişimler	70
Şekil 6.3.1 Sıçanların Başlangıç, 3. Hafta ve Kesim Ağırlıkları (gr)	75
Şekil 6.3.2. Sıçanların Ağırlık Değişimleri (%).....	75
Şekil 6.3.3. Sıçanların Karaciğer Ağırlıkları ve Karaciğer İndeks Değerleri.....	75
Şekil 6.5.1 Sıçanların Serum Kolesterol ve Trigliserid Düzeyleri.....	80
Şekil 6.5.2. Sıçanların Karaciğer Enzim Düzeyleri.....	80
Şekil 6.6. Sıçanların Karaciğer Dokusu Trigliserid, Total Kolesterol ve Total Protein Düzeyleri.....	83
Şekil 6.7.1 Sıçanların Karaciğer Dokusu Antioksidan Düzeyleri.....	87
Şekil 6.7.2. Sıçanların Karaciğer Dokusu İnflamatuvar Belirteçleri.....	87
Şekil 6.8. Sıçanların Karaciğer Dokusu Yağlanma Düzeyi Skor Değerlendirmesi.....	91
Resim 6.8.1 Kontrol Grubu (A), YFMŞ grubu (B), YFMŞ+ Omega-3 yağ asiti grubu (C), YFMŞ+Probiyotik grubu (D), YFMŞ+Omega-3 yağ asiti+ Probiyotik grubu (E) (H+E; 100x).....	92
Resim 6.8.2. Kontrol Grubu (A), YFMŞ grubu (B), YFMŞ+ Omega-3 yağ asiti grubu (C), YFMŞ+Probiyotik grubu (D), YFMŞ+Omega-3 yağ asiti+ Probiyotik grubu (E) (H+E; 40x).....	93

1.ÖZET

SIÇANLARDA YÜKSEK FRUKTOZLU MISIR ŞURUBUYLA İNDÜKLENEN KARACİĞER YAĞLANMASI MODELİNDE PROBİYOTİK VE OMEGA-3 YAĞ ASİTLERİNİN ETKİLERİ

Non alkolik yağlı karaciğer hastalığı, patogenezi tam olarak anlaşılamayan, kompleks ve multifaktöriyel bir hastalıktır. Bu çalışmada, yüksek fruktozlu mısır şurubu (YFMS) karaciğer yağlanması modeli oluşturulan sıçanlarda probiyotik ve omega-3 yağ asitlerinin etkilerinin ortaya konulması amaçlanmıştır. Çalışmada 40 adet Wistar Albino cinsi erkek sıçanlar kullanılmış ve 5 gruba ayrılmıştır. Üç hafta boyunca YFMS dört grubun (2.Grup, 3.Grup, 4.Grup, 5.Grup) içme suyuna (%30'luk çözelti) olacak şekilde eklenmiştir ve ad libitum beslenmişlerdir. Üç haftanın sonunda 3.grup, 4. grup ve 5. gruptaki omega-3 yağ asiti (400 mg/kg) ve probiyotik ($1,5 \times 10^9$ kob/mL/gün) gavaj yöntemiyle 4 hafta boyunca verilmiştir. Bu süre sonunda, sıçanlardan kan örnekleri ve dokular alınıp sakrifiye edilmiştir. Bu çalışmada, YFMS grubuna göre YFMS+Omega-3 yağ asiti, YFMS+Probiyotik ve YFMS+Omega-3 yağ asiti+Probiyotik gruplarında kesim ağırlığı değişimi daha düşük bulunmuş olup arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir. Deney gruplarının ortalama serum düzeyleri arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur. En yüksek glukoz, ALT, ALP, serum kolesterol, trigliserid, AST, doku TNF- α , IL-6 düzeyi YFMS grubunda belirlenmiştir. En yüksek doku GSH ve MDA düzeyi YFMS+Omega-3 yağ asiti grubunda görülmüştür. En düşük ortalama steatoz düzeyinin kontrol grubunda, en yüksek ise YFMS grubunda olduğu belirlenmiştir. Kontrol grubunda lobular inflamasyon görülmezken, en yüksek düzey YFMS grubunda bulunmuştur. Sonuç olarak, YFMS ile oluşturulan karaciğer yağlanması modelinde probiyotik ve omega-3 yağ asiti desteğinin koruyucu etkisi histopatolojik ve biyokimyasal olarak gösterilmiştir. Omega-3 yağ asiti ve probiyotik desteğinin hastalığın remisyonu için alternatif bir yaklaşım olabileceği düşünülmektedir. Ancak rutin uygulanacak bir protokol oluşturulabilmesi için daha fazla çalışmaya gereksinim duyulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Beslenme, non alkolik yağlı karaciğer hastalığı, omega-3 yağ asitleri, probiyotik, yüksek fruktozlu mısır şurubu

2. ABSTRACT

THE EFFECTS OF PROBIOTICS AND OMEGA-3 FATTY ACIDS IN LIVER STEATOSIS INDUCED IN RATS BY HIGH-FRUCTOSE CORN SYRUP

Non-alcoholic fatty liver disease is a complex and multifactorial disease whose pathogenesis is not completely understood. This study aimed to investigate the effects of probiotics and omega-3 fatty acids in rats on which a liver steatosis model was established by high-fructose corn syrup (HFCS). The study included 40 male Wistar Albino rats divided into 5 groups. For three weeks, HFCS was added to the drinking water of four groups (Groups 2, 3, 4 and 5) (as a 30% solution), and the rats were fed ad libitum. At the end of the three weeks, in Groups 3, 4 and 5, omega-3 fatty acids (400 mg/kg) and probiotics (1.5×10^9 cfu/mL/day) were given for 4 weeks by the gavage method. At the end of this period, blood and tissue samples were collected from the rats, and the rats were sacrificed. The change in the slaughter weight in comparison to the HFCS group was found to be significantly lower in the HFCS + Omega-3 fatty acid, HFCS + Probiotics and HFCS + Omega-3 fatty acid + Probiotics groups. The differences between the mean serum levels of the experiment groups were statistically significant. The highest glucose, ALT, ALP, serum cholesterol, triglyceride, AST, tissue TNF- α and IL-6 levels were found in the HFCS group. The highest tissue GSH and MDA levels were found in the HFCS+Omega-3 fatty acid group. The lowest mean steatosis level was in the control group, while the highest one was in the HFCS group. While there was no lobular inflammation in the control group, the highest level was observed in the HFCS group. Consequently, the protective effect of probiotics and omega-3 fatty acid support in HFCS-induced liver steatosis model was demonstrated histopathologically and biochemically. It is considered that omega-3 fatty acid and probiotics support may be an alternative approach for the remission of the disease. However, to be able to establish a protocol to be routinely applied, more studies are needed.

Key Words: Nutrition, Non-alcoholic fatty liver disease, Omega-3 fatty acid, Probiotics, High-fructose corn syrup

3. GİRİŞ VE AMAÇ

Karaciğer yağlanması, karaciğer ağırlığının %5'den fazlasının yağ olması ve alkol ya da alkol dışı nedenler dahil olmak üzere herhangi bir nedenle karaciğerde yağlanmanın saptandığı bütün klinik tablolar şeklinde tanımlanmaktadır [1].

Non alkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAYKH) insidansı ve prevalansı tüm dünyada artmaktadır. Dünya Gastroenteroloji Örgütü Rehberine (2012) göre NAYKH prevalansı son 20 yılda iki katına çıkmıştır. Geçtiğimiz on yıl boyunca, non alkolik yağlı karaciğer hastalığı ve non alkolik steatohepatitin (NASH) batı ülkelerinde bir numaralı karaciğer hastalığı olduğu giderek daha belirgin hale gelmiştir. Non alkolik yağlı karaciğer hastalığının prevalansı son 20 yılda iki katına çıkarken, diğer kronik karaciğer hastalıklarının prevalansı sabit kalmıştır ve hatta azalmıştır. Bu hastalığın hem gelişmiş hem de az gelişmiş ülkelerde giderek daha yaygın bir karaciğer problemi olacağı, karaciğer hastalığının global yükünü artıracak ve halk sağlığı ve sağlık bakım maliyetlerini küresel olarak etkileyecek olan rakamlar artmaya devam etmektedir. Beş yıllık doğrudan ve dolaylı olarak tıbbi maliyetleri NAYKH / NASH'in, % 26 artıracığı tahmin edilmektedir [2]. Artan NAYKH prevalansı ile kronik bozukluklar (obezite, diyabet, kardiyovasküler hastalık, hipertansiyon, kanser ve metabolik sendrom) ve özellikle fruktoz arasında nedensel bir ilişki olduğu ileri sürülmüştür. "Fruktoz hipotezi" kısmen hayvan çalışmalarından, kısmen de tarihsel eğilimlerden kaynaklanmıştır. Özellikle hayvan çalışmalarında, yüksek fruktozun glikoz ile karşılaştırıldığında diyetlerin artmış hepatik trigliserit içeriğiyle sonuçlandığını göstermiştir. Non alkolik yağlı karaciğer hastalığının patogenezi halen net olarak bilinmemekle beraber, hem çevresel hem de genetik faktörlerin bir kombinasyonu şeklinde multifaktöriyel olarak ortaya çıktığı düşünülmektedir [3]. Patolojik süreçle ilgili birçok teori vardır ancak, en kabul göreni "two-hit hypothesis" denen çift vuruş hipotezidir. Yağlanma ile neticelenen hastalık sürecinde ilk darbe insülin direncidir. İnflamasyon ve fibrozisi getiren ikinci darbeden de, oksidatif stres, mitokondrial fonksiyon bozuklukları, tümör nekrozis faktör- α (TNF α) gibi sitokinler ve adiponektin, leptin gibi hormonlar sorumludur [4]. Non alkolik yağlı karaciğer hastalığında, 4 tip patolojik değişiklik olur. Yağ depolanmasına ilave olarak başlayan inflamasyon, giderek şiddetlenen ileri

inflamasyon ve balonlaşma dejenerasyonu takip eder. Bu süreç devam ederse; fibroz, mallory cisimciği ve sirozu takiben karaciğer yetmezliği gelişir [5]. Fruktozunda NAYKH patogenezinde rolü olabileceği belirtilmiştir. Fruktoz lipojeniktir ve trigliserit sentezini uyarmaktadır. Perfüzyon çalışmaları, karaciğerden fruktozun glikozdan daha yüksek trigliserit salgısı ürettiğini göstermektedir [3].

Günümüzde NAYKH için birincil tedavi diyet değişikliği ve egzersiz gerektiren, kilo kaybı ve insülin direncini ve hepatik steatozu / inflamasyonu azaltan yaşam tarzı terapisi [6]. Kilo kaybı hem serbest yağ asidi dağılımını düzenlemekte hem de periferik glukoz kullanımı artırarak ekstrahepatik insülin duyarlılığını arttırmaktadır. Ayrıca, adipoz dokudaki inflamasyonu ve serbest oksijen radikallerini azaltmaktadır. Kilo verme aşamalı olmalı ve bazal vücut ağırlığının yaklaşık %5-10 kadar olmalıdır. Son çalışmalar kilo verme ile transaminaz düzeylerinde ve lipid parametrelerinde önemli düzelme olduğunu göstermiştir [7].

Bu hastalığın, her döneminde medikal tedaviden önce mutlaka yaşam tarzı değişikliği ön plana çıkarılmalıdır. Ancak, yaşam tarzı modifikasyonunun etkinliği düşüktür ve zamanla azalmaktadır [6]. Bu nedenle, bu yaygın hastalık için daha etkili ve güvenli ajanlar geliştirmeye ihtiyaç vardır. Şu anda, NAYKH'nin tedavisi konusunda fikir birliği bulunmamaktadır. Omega-3 yağ asitleri son zamanlarda NAYKH için potansiyel bir tedavi olarak önerilmiştir. Yapılan çalışmalarda, hepatik steatozun omega-3 çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) ile azaldığı gösterilmiştir. Omega-3 yağ asitleri, obez farelerde adipoz dokuda ve karaciğerde insülin duyarlılığını artırmakta ve insülin toleransını iyileştirmektedir [8]. Sukrozla indüklenen ratlarda, omega-3 çoklu doymamış yağ asitleri tüketimi karaciğer ve adipoz dokuda membran özelliklerini ve insülin direnci ve obeziteye etki eden aktif lipid metabolitlerinin üretilmesi için mevcut substrat tipini değiştirmektedir [9]. Daugherty ve ark.'ları yaptıkları çalışmada, yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde karaciğer steatozu artmış, hepatit ve DNA hasarı oksidatif strese bağlanmıştır [10]. Dengesiz beslenme, yağ asitlerinin oksidasyonunu artırarak hiperinsülinemi ve insülin direncinin gelişmesine neden olmakta bununla beraber omega-3 yağ asitlerinin beslenmede olmaması durumunda karaciğerde oksidatif stresin başlamasına neden olmaktadır [11]. Probiyotikler, bağırsak mikrobiyotasının

modülasyonu için etkili biyolojik faktörler olarak kullanılmaktadır ve son zamanlarda karaciğer fonksiyonlarını iyileştirmek için doğal araçlar olarak önerilmektedir. Yapılan çalışmalar son çalışmalarda, bağırsak mikroflorasında ki değişikliğin NAYKH / NASH gelişimine olası bir etkisi olduğunu bildirmiştir [12,13]. Bir trilyon mikroorganizma insan bağırsağında yaşamaktadır ve bağırsak mikroflorası karaciğer üzerinde çift etkiye sahiptir. Bağırsak mikroflorası tarafından üretilen etanol, amonyak ve asetaldehit gibi fermantasyon ürünleri karaciğerde metabolize edilmektedir [14]. Sağlıklı bireylerde kolonize olmuş bağırsak florası, beslenme, hastalık, yaşlanma ve stres gibi birçok fizyolojik ve çevresel faktörden etkilenmektedir. Literatürde, sağlıklı bireylerde doğal bağırsak mekanizmasının dengesizliğini ve bozulmasını etkileyen temel parametreler üzerinde tartışılmaktadır [15]. Beslenme ve intestinal mikrobiyata, NAYKH gelişiminde kritik faktörler olarak düşünülmektedir [16,17]. Beslenmenin karaciğer fonksiyonunu etkilediği bilinmektedir. Çünkü beslenme mikrobiyatayı oluşturan ekosistemi öngören en güçlü faktörler arasında yer alması nedeniyle hem beslenmenin hem de mikrobiyomun NAYKH patogenezinde dikkate alınması gerekmektedir [18,19]. Bağırsakta yaşayan trilyonlarca bakteri karaciğer hastalıkları patogenezinde rol oynamaktadır [20,21]. Son 10 yılda kanıtların artmasıyla beraber mikrobiyatanın metabolizma üzerinde önemli rolü olduğu belirtilmiştir ve bu da konakta metabolik bir organ olduğunu göstermektedir [22]. Karaciğer-bağırsak aksı düşünüldüğünde bağırsak mikrobiyal metabolitleri ve dolaşımdaki yan ürünler karaciğer fonksiyonunda etkili olmaktadır [23]. Karaciğer, bağırsakta üretilen bakteriyel metabolitlere karşı, dolaşımda ilk organ bariyeri olarak bilinmektedir. Karaciğer makrofajları olarak kupffer hücreleri özellikle bakteriyel fagositoz ve endotoksin miktarını azaltmaktadır [15]. Non alkolik yağlı karaciğer hastalığı için önerilen tedavi olarak probiyotiklerin ve omega-3 yağ asitlerinin uygulanması bu alanda yeni bir tedavi yöntemine yol açmıştır. Bu nedenle, omega-3 yağ asitlerinin beslenmede olmasıyla beraber ortaya çıkan olumlu sonuçlar ve probiyotiklerin bağırsak florasını dengelemesi yararlı bir ajan olarak önerilmesi sonucunu doğurmuştur. Ancak, bu kavramı destekleyecek sınırlı sayıda çalışma vardır. Bu çalışmada, yüksek fruktozlu mısır şurubuyla karaciğer yağlanması modeli oluşturulan sıçanlarda probiyotik ve omega-3 yağ asitlerinin etkilerinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Tanım ve Tarihçesi

Non alkolik yağlı karaciğer hastalığı, herhangi bir inflamasyon bulgusu olmayan basit steatozdan, belirgin fibrozis ve hatta siroz ile birlikte görülen inflamasyon aktivitesine kadar değişen, çeşitli klinik durumları kapsayan bir kronik karaciğer hastalığıdır. Bu hastalık, hepatositler içerisinde trigliserit birikimi ile karakterizedir [24]. Yüksek yağlı beslenmeye bağlı yağ artışı, genellikle yağ dokusunda olmakla beraber, kas ve karaciğer dokusunda da görülmektedir. Non alkolik yağlı karaciğer hastalığı, karaciğerde biriken yağ miktarının, organ ağırlığının %5-%10'undan daha fazla olması şeklinde tanımlanır [25]. Karaciğer yağlanması, özellikle trigliseritlerin karaciğerde depolanmasına bağlı olarak insülin direnci gelişimi ve insülin sinyal yolu defektleri ile ilişkili olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir [26].

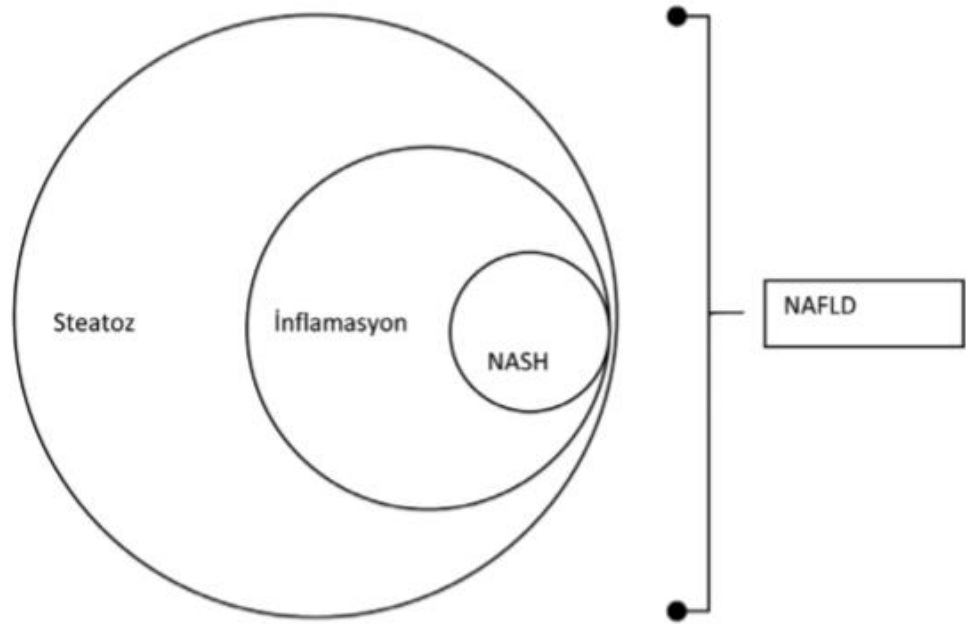
Karaciğer yağlanması, bir histopatolojik bulgu olarak uzun yıllardır bilinmesine rağmen, yakın zamana kadar özel bir hastalık olarak dikkate alınmamıştır. Bunun başlıca nedenlerinden biri, karaciğer yağlanmasının, çoğu zaman başka karaciğer hastalıklarının veya sistemik hastalıkların bir bulgusu olarak görülmesi ve bu hastalıkların klinik tablosu içerisinde değerlendirilmesidir [27].

Non alkolik yağlı karaciğer hastalığı, ilk olarak Ludwig ve ark.'ları tarafından 1980 yılında patolojik olarak alkolün yol açtığı karaciğer yağlanmasıyla benzerlik gösteren, ancak alkol kullanmayan hastalarda gelişen bir karaciğer sorunu olarak bildirilmiştir [28]. Sonraki zamanlarda, alkole bağlı olmayan karaciğer yağlanmalarının büyük kısmının hepatit bulgularını içermemesinden dolayı isimlendirmede karışıklıkların önüne geçilmesi için yeni bir tanımlama olan non alkolik yağlı karaciğer hastalığı ("Nonalcoholic fatty liver disease") kavramı öne çıkarılmıştır [4].

Non alkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAYKH): Alkol dışı nedenlere bağlı olarak meydana gelen karaciğer yağlanmalarını tanımlar. Bu tanım, kendi içerisinde bazı alt grupları barındırmaktadır.

1. Steatoz: Bu hastalarda karaciğerde yağlanma görülmekte, fakat iltihabi infiltrasyon bulunmamaktadır.

2. Non alkolik steatohepatit (NASH): Karaciğerde yağlanma ile birlikte alkolik karaciğer hastalığında olduğu gibi hepatositlerde balonlaşma, iltihabi infiltrasyon ve bazı olgularda Mallory cisimcikleri, megamitokondria, fibrozis gibi bulguların mevcut olduğu hastalıktır [29].



Şekil 4.1. Non Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığının Klinik Spektrumu [29].

4.2. Epidemiyoloji

Non alkolik yağlı karaciğer hastalığı, her ikisi de epidemik oranlara ulaşmış diyabet ve obezite ile yakın ilişkilidir. Dünya çapında yayılım göstermektedir ve giderek yaygın bir kronik karaciğer hastalığı haline gelmektedir. Dünya çapında en az 1.46 milyar obez yetişkin olduğu tahmin edilmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde, yaklaşık 6 milyon kişinin karaciğer yağlanması ve yaklaşık 600.000'den fazla kişinin karaciğer yağlanmasına bağlı siroz geçirdiği tahmin edilmektedir [2].

Karaciğer yağlanması, klinikte de erişkinlerde asemptomatik transaminaz yüksekliğinin en sık nedenidir. Olguların genellikle asemptomatik olması nedeni ile gerçek prevalansı bilinmemektedir. Erişkinlerde popülasyon bazlı tarama çalışmalarında NAYKH sıklığı %17-33, obezite varlığında %75, NASH sıklığı ise yaklaşık olarak %3'dür. Bu hastalığın sıklığı batı toplumlarında fazla olmakla birlikte tüm dünyada, beslenme alışkanlıklarının değişmesi ve sedanter yaşama geçişle birlikte belirgin bir artış göstermektedir. Basit steatozlu olguların bir kısmı NASH, tartışmalı olmakla birlikte NASH olgularının yaklaşık %20'si progresif fibrozis ve siroz ile sonuçlanmakta, sirotiklerin de %30-40 kadarı karaciğer ile ilişkili nedenlerle hayatını kaybetmektedir [30]. Non alkolik karaciğer yağlanmasının prevalansı ABD'de yapılan çalışmalarda %31 saptanmıştır [31]. Dünya Sağlık Örgütü'nün 2016 verilerine göre Türkiye %32,1 obezite prevalansı ile Avrupa'daki en obez ülke konumundadır. Türkiye'deki NAYKH prevalansı ise obezite ve diyabet prevalansında artış eğilimiyle beraber %30'dan fazla olarak tahmin edilmektedir. Son yıllarda Türkiye'de yapılan geniş çaplı tarama çalışmalarında NAYKH prevalansının %48,3- 60,1 arasında saptanması bu veriyi destekler niteliktedir [4].

Non alkolik yağlı karaciğer hastalığı, genellikle dört ve altıncı dekatta görülmesine rağmen obez çocuklarda, adölesanlarda ve ileri yaş erişkinlerde sıklığı giderek artmaktadır. İlk çalışmalarda hastaların çoğunluğu kadın olduğu ancak sonraki çalışmalarda NASH gibi daha riskli formların erkeklerde daha sık olduğu saptanmıştır. Bu hastalığın prevalansında etnik farklılıklar da belirtilmiştir. İspanyol kökenlilerde % 45 gibi yüksek prevalansta saptanmıştır. Beyaz ırkta %33 iken Afrikan amerikalılarda %24 prevalansta NAYKH tespit edilmiştir. Etnik ve ırksal

farklılığın nedeni bilinmemektedir. Ancak ırklar arası vücut yağ dağılımı farklılığı ve İspanyol kökenliler arasındaki metabolik sendromun sıklığının buna etken olabileceği düşünülmektedir [32]. İlk çalışmalar, kadınlarda NASH prevalansının yüksek olduğunu öne sürmektedir. Tanının %60- % 83'ünü oluşturduğu belirtilmektedir [33]. Yapılan daha sonraki çalışmalarda, NASH'ın erkek bireylerde daha fazla öne çıktığını işaret etmiştir [34]. Ancak, daha yeni veriler erkeklerin ve kadınların eşit olarak etkileneceğini göstermektedir [35]. Teşhiste, invaziv olmayan testlerin duyarlılığı sınırlıdır. Non alkolik yağlı karaciğer hastalığını teşhis etmek için karaciğer biyopsisi gereklidir. Bu nedenle, genel popülasyonda NASH prevalansının tahmin edilmesi zor olmuştur. Yapılan bir çalışmada 1977'de, motorlu taşıt kazalarında ölen rastgele hastaların %24'ünde steatoz görülmüştür ve %2.4'nde NASH bulunmuştur [36].

Histolojik kılavuzları kullanarak 1990'da yapılan bir çalışmada, non-alkolik, obez ve obez olmayan 351 hastanın % 6,3'ünde NASH otopsi ile bulunmuştur [37]. Williams ve ark.'ları 2011 yılında, bir ordu üssünde rastgele gönüllü bir grupta % 12,2 oranında biyopsi ile kanıtlanmış NASH'ın yaygınlığına dikkat çekmişlerdir [38]. Bu hastalığın yükünün öngörülen yıllık ekonomik etkisinin ABD'de 103 milyar dolar, İngiltere, Almanya, Fransa ve İtalya'da 35 milyar euro olduğu tahmin edilmektedir [39].

4.3. Etiyoloji

Karaciğer yağlanması etiyolojisinde başta diyabet, obezite, hiperlipidemi gibi metabolik nedenler yer almaktadır. En önemli primer faktör insülin direnci ve buna yol açabilen durumlardır. İnsülin direncinde ise genetik predispozisyon, enerji alımında artış, obezite ve sedanter yaşam en önemli risk faktörlerini oluşturmaktadır [30].

Tip 2 diyabet, hiperglisemi ve glukoz intoleransı gibi glikoz metabolizması bozuklukları, NAYKH ile güçlü bir ilişkiye sahiptir ve obezitenin varlığı ile daha da artan bir risk olan steatohepatit gelişimi için bağımsız bir risk oluşturmaktadır. Bazı çalışma gruplarında NASH'lı erişkinlerin % 20 - % 75'inin diyabet, hiperglisemi ve insülin direnci olduğu belirtilmiştir [33, 40]. Obezite, insülin direnci için bağımsız

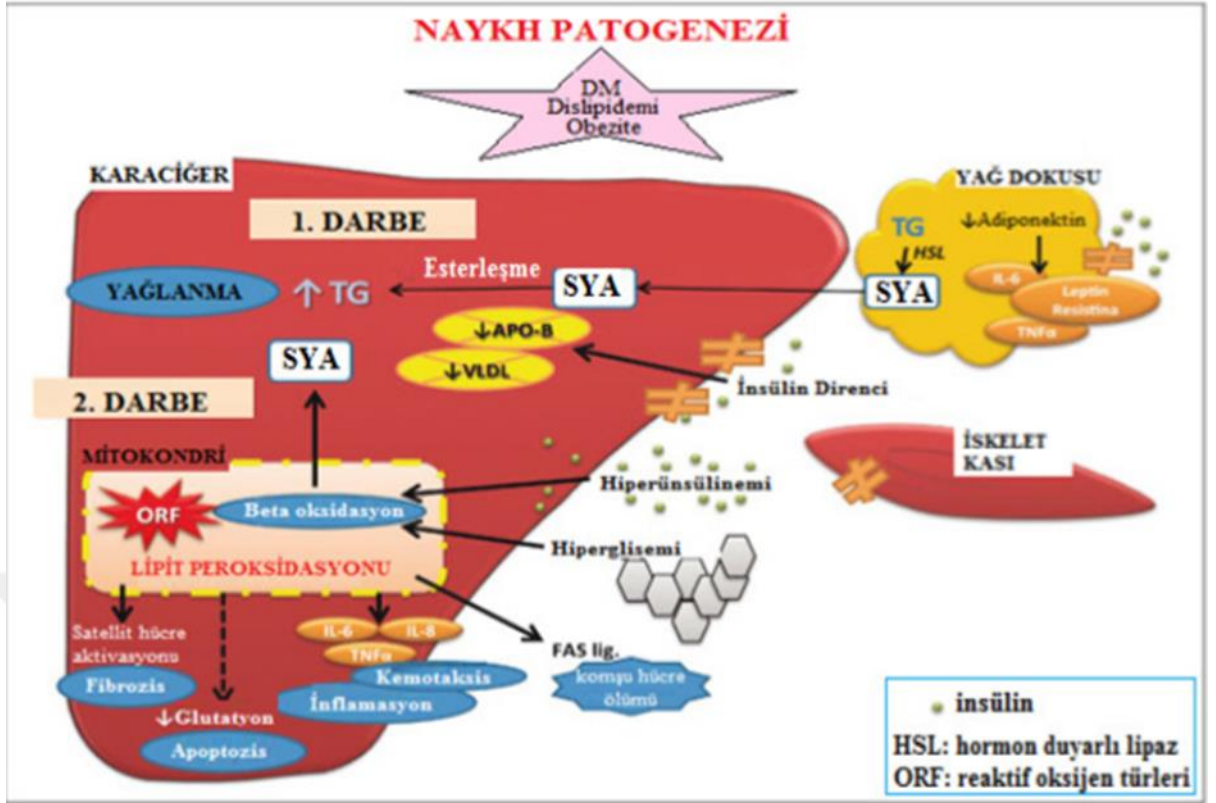
bir risk faktörüdür ve dolayısıyla NASH'ın oluşumuna katkıda bulunan bir faktör olarak kabul edilmektedir. Dislipidemi (hipertrigliseridemi, hiperkolesterolemi veya her ikisi de), NAYKH'a sahip hastaların % 20- % 92'sinde bildirilmiştir [41]. Bu hastalığın etiyolojisinde diyabet, obezite, hiperlipidemi, insülin direnci gibi metabolik, doğumsal, çevresel ve cerrahi nedenler yer almaktadır [42].

Non alkolik yağlı karaciğer hastalığında en önemli faktör obeziteye bağlı insülin direncidir. Buna ek olarak, oksidatif stres ve sitokinler steatoza sebep olarak ilerleyen karaciğer hasarı oluştururlar. Ayrıca hipertansiyon, hiperlipidemi, obezite, tip II diyabet, uyku apnesi, pozitif aile öyküsü, beyaz ırk ve sedanter yaşam tarzı NAYKH ve NASH için önemli risk faktörleridir. Obezite, diyabet ve metabolik sendroma sahip olan hastalarda NAYKH daha sık görülmektedir. Ayrıca, bu koşullar NASH ve karaciğer fibrozu için risk faktörleri olarak da tespit edilmiştir [2,43].

4.4. Patogenez

Non alkolik yağlı karaciğer hastalığının patogenezi halen net olarak bilinmemekle beraber, hem çevresel hem de genetik faktörlerin bir kombinasyonu şeklinde multifaktöriyel olarak ortaya çıktığı düşünülmektedir. Yağ dokusunda de novo yağ sentezi artışı, yağ dokusundan artmış nonesterifiye yağ asitleri salınımı ve diyetle aşırı yağ alımına karşın bozuk hepatik trigliserid atılımı ile azalmış beta oksidasyon sonucu ortaya çıkan dengesizliğin hepatositlerde yağlanmaya neden olduğu düşünülmektedir [3].

Patolojik süreçle ilgili birçok teori vardır ancak, en kabul göreni “two-hit hypothesis” denen çift vuruş hipotezidir. Yağlanma ile neticelenen hastalık sürecinde ilk darbe insülin direncidir. İnflamasyon ve fibrozisi getiren ikinci darbeden de, oksidatif stres, mitokondrial fonksiyon bozuklukları, tümör nekrozis faktör- α (TNF α) gibi sitokinler ve adiponektin, leptin gibi hormonlar sorumludur [4].



Şekil 4.4. Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı Patogenezi [44]

4.4.1. İnsülin Direnci (Two hit's hipotezi)

İlk darbe olarak insülin direnci ve karaciğerde artmış serbest yağ asidi (SYA) rol oynamaktadır [45].

Karaciğerde trigliserid birikimi ve ardından hepatoselüler hasara neden olan esas mekanizmalar henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Karaciğerde SYA miktarını arttıran, hepatik trigliserid üretimine katkıda bulunan insülin direnci önemlidir. Hiperinsülinemi ve hiperglisemi, "sterol regulatory binding protein-1c (SREBP-1c)" ve "carbohydrate response element binding protein (ChREBP)" gibi lipojenik transkripsiyon faktörlerini regüle ederek, de novo lipogenesisin artmasına neden olmaktadır [46].

Karaciğerde ilk yağ birikimi birkaç mekanizma ile gerçekleşmektedir. Obeziteyle birlikte metabolik sendrom, diyabet ve dislipidemi olan bireylerde aşırı miktarda yağ ve karbonhidrat alımı, bozulmuş lipid metabolizmasıyla sonuçlanmaktadır. Barsaklardan ve yağ dokusundan karaciğere serbest yağ asiti

miktarını arttırmaktadır. Serbest yağ asitlerinin miktarı, temel fonksiyonlar için gerekli olan miktarı aşmaktadır ve hepatik yağ birikimine neden olmaktadır [44,47].

Hiperinsülinemi, serbest yağ asidi oksidasyonunda azalmaya ve ardından karaciğerde yağ birikmesine neden olmaktadır. İnsülin direnci NAYKH'a sahip hastaların çoğunda görülmekte ve obez olmayan ve normal glukoz toleransı olan hastalarda da gözlenmektedir. İnsülin direnci, periferik lipolizde, trigliserit sentezinde ve karaciğer tarafından yağ asitlerinin alımında artış ile ilişkilidir ve bunların tümü hepatik yağ birikmesine neden olmaktadır. Adipokinler olarak adlandırılan leptin, resistin ve adinopektin gibi adipoz dokusundan türetilen bir dizi protein, insülin direnci üzerindeki etkileri yoluyla NASH'ın gelişmesinde rol oynamaktadır. Bunlarla ilgili veriler sınırlıdır, ancak NAYKH ve NASH'ın gelişiminde visceral adipozitenin önemini vurgulanmaktadır [48,49].

Non alkolik yağlı karaciğer hastalığı ile insülin direnci arasında belirgin bir ilişki bulunduğu bilinmekle birlikte insülin direnci bulunmaksızın yağlanma ve steatohepatit gelişen hastaların mevcudiyeti de bir gerçektir. İnsülin direncinin yağ birikimi dışındaki diğer bir sonucu TG ve kolesterol esterlerinin hepatositlerden perifere taşınmasında rol oynayan apolipoprotein B-100 sentezini baskılaması ve hepatositlerde de novo lipogenezisi arttırmasıdır. İnsülin direnci, insüline duyarlı hücrelerin insüline normal yanıt vermesindeki yetersizlik olarak tanımlanabilir. Yüksek kan şekeri ve yüksek insülin düzeyleri ile karakterizedir [4].

Tablo 4.4.1. Karaciğer Yağlanması İnsülin Direncindeki Rolü [4]

	İnsülin Etkisi →	İnsülin direncinin sonucu
Kas Dokusu	Glikoz tutulumu ↑	Glikoz tutulumu ↓
Yağ dokusu	Trigliserit sentezi ↑ Lipoliz ↓	Lipoliz ↑
Karaciğer	Glikoneogenezis ↓ Lipid sentezi ↑ Lipid katabolizması ↓	Lipit sentezi ↑

4.4.2. Yağ dokusu / Adipokin ve Sitokinler

Son zamanlarda karaciğer yağlanması ve steatohepatitlerde yağ dokusu ile ilişkili sitokinlerin rolünü gösteren bulgular ortaya konulmuştur. Bu sitokinlerden adiponektin ve leptin insülin duyarlılığını artırıcı yönde etkili iken resistin, TNF- α ve IL-6 insülin direnci veya bunun neticesinde ortaya çıkan metabolik düzensizlikleri artırıcı etkilere sahiptir [4].

4.4.2.1. Adiponektin

Hastalardan elde edilen doku örneklerinde karaciğerdeki adiponektin ve adiponektin reseptör II düzeylerinin düşük bulunduğu gösterilmiştir. Adiponektin düzeyi ve gen ekspresyonu obezlerde ve Tip II diyabetlilerde de azalmaktadır. Bu yüzden gerek adiponektin, gerekse diğer sitokinlerle ilişkili verileri değerlendirirken bulguların karaciğer yağlanması için spesifik olduğu yanıtına düşülmemelidir [50].

Adiponektin, insanlarda insülin duyarlılığı ile kuvvetli bir ilişkiye sahiptir [50-53]. Karaciğerdeki yağ asitlerinin beta oksidasyonunu artırarak postabsorptif insülin aracılı hepatik glukoz çıkışının baskılanmasını iyileştirmekte ve makrofajlarda lipid birikimini azaltmaktadır. Metabolik etkilerinin ötesinde, adiponektin ayrıca doğrudan anti-inflamatuar etkiye sahiptir [54-57].

Xu ve arkadaşları, adiponektin uygulamasının farelerde non-alkolik karaciğer hastalığını hafiflettiğini bildirmiştir. Adiponektin uygulaması, ob / ob farelerinde hepatomegali ve steatozu, enflamasyonu ve serum alanin aminotransferaz seviyelerini iyileştirmiştir [58].

4.4.2.2. Leptin

Leptin, temel olarak besin alımını ve insan vücudunun enerji harcamasını düzenleyen bir peptid hormonudur. Vücut ağırlığının ve yağ kütlesinin düzenlenmesinde kritik rol oynayan adipoz dokudan salgılanan bir sitokindir. Obez farelerde leptin, kilo kaybına, enerji harcamasını ve yağ asidi oksidasyonunu arttırmaya, iştahı ve trigliserit sentezini azaltmaya ve insülinin lipojenik etkisine karşı koymaya neden olmaktadır [59, 60].

Serum leptin seviyeleri ile vücut yağ depolarının yüzdesi arasında yakın bir ilişki olduğu iyi bilinmektedir. Leptin obezite geninin (ob) bir ürünüdür. Leptin eksikliği insülin direnci, glukoz intoleransı ve karaciğer yağlanması gibi klinik sorunlarla beraber görülmektedir. Non alkolik steatohepatitli olgularda ise serum leptin düzeylerinin yüksek bulunduğuna ilişkin çalışmalar bulunmakta iken, NAYKH'da sorun doğrudan leptin düzeyi değil leptin direnci ile ilişkili görülmektedir [61,62].

Enerji alımının fazlalığı doğrudan serum leptin düzeyleriyle ilişkilidir. Farklı tipte yağ asitleri göz önüne alındığında: Doymuş yağlar (SFA) artan leptin seviyeleri ile ilişkiliyken, tekli doymamış yağ asitleri (MUFA) ve PUFA'nın ters bir etkisi olduğu belirtilmektedir [59]. Serum leptin düzeyinin NAYKH'na sahip bireylerde insülin direnci, oksidatif stres parametreleri ile ilişkisini incelemek amacıyla yapılmış bir çalışmada leptinin ilerlemiş karaciğer hasarından koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir [63].

Son zamanlarda yapılan bir meta-analiz, dolaşımdaki leptin seviyelerinin NAYKH'a sahip hastalarda kontrollere göre daha yüksek olduğunu ve yüksek serum leptin seviyelerinin, NAYKH'nın şiddetinin artması ile ilişkili olduğunu göstermektedir [60,64].

4.4.2.3. Rezistin

Adipokinler adı verilen adipoz dokusundan salınan sitokinler, NAYKH gelişiminde (steatozdan siroza kadar) önemli faktörler olarak görünmektedir. Adipokinlerin obezite, insülin direnci ve NAYKH arasında önemli bir bağlantı oluşturduğuna inanılmaktadır. Adipokinlerden biri resistindir. Hayvanlarda yağ dokusundan, insanlarda ise makrofajlardan salınmaktadır. Resistinin NAYKH patogenezindeki kesin rolü belirsizdir. Yapılan çalışmalarda, insülin direnci, steatoz, karaciğer iltihabı ve obezite ile ilişkisi öne sürülmüştür [65,66].

Rezistin, şişmanlık ve metabolik sendrom ile bağlantılı polipeptid yapılı bir hormondur. Vücut yağ kütleini düzenleyici etkisinin olduğu ve plazma düzeyinin şişmanlık ve insülin direnci gelişiminde yükseldiği görülmektedir. Bu etkisini insülinin uyardığı glikozun hücre içine alınımını bozarak karaciğer glikoz üretimini arttırıp ve glikoz toleransında bozulmaya neden olarak gösterip insülin direnci gelişmesine yol açar. Glikoz metabolizmasında etkili insülin antagonisti gibi çalışan hormon olarak görev yapmaktadır. Kadınlardaki düzeyi erkeklere göre daha yüksektir [67-69].

4.4.2.4. TNF- α , IL-8, IL-6, PAI-1

Sitokinler, obezite ile beraber bazı inflamatuvar ve metabolik hastalıkların patogenezinde önemli rol oynamaktadır [70-72].

İnflamasyon sırasında, tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α), hem doğal hem de adaptif immün yanıtları düzenleyen ana proinflamatuvar sitokinlerden biridir. Bu sitokin esasen vaskülerize dokulardaki eksojen veya endojen etiyolojik faktörlere cevap olarak endotel hücreleri ve infiltrate bağışıklık hücreleri tarafından üretilir [73-75]. İnterlökin-6 (IL-6), lokal ve sistemik proinflamatuvar yanıtlarda önemli rol oynayan proinflamatuvar bir sitokindir [76]. İnterlökin-6 temel olarak kemik iliği hücreleri ve hepatositler dahil olmak üzere çeşitli hücre türlerinden üretilir. B lenfositleri ve T hücre aktivasyonu, büyümesi ve farklılaşması gibi sayısız proinflamatuvar role sahiptir [77, 78].

Dolaşımdaki TNF- α 'nın en büyük kaynağı yağ dokusudur ve etkisini reseptörleri aracılığıyla göstermektedir. Vücut ağırlığının düzenlenmesinde leptine benzer rol oynamakta ve insülin sinyal mekanizmalarını etkileyerek çeşitli dokularda insülin direncine yol açmaktadır. Artan VKİ ve yağ doku miktarı ile TNF- α mRNA ekspresyonu arasında pozitif bir ilişkinin olduğu, ağırlık kaybı ve yağ dokunun azalması ile TNF- α üretiminin azaldığı gösterilmiştir. TNF- α lipolizi uyarmakta, adiponektin ve insülin salınımını azaltmakta, leptin, IL-6 ve plazminojen aktivatör-1 (PAI-1) üretimini arttırmaktadır. Karaciğer yağlanması ilerleyici hastalık formlarına dönüşmesinde belirleyici olan TNF- α 'nın ikinci darbeyi oluşturduğu düşünülmektedir. İnterlökin-6'nın yağ dokusundaki üretimi ve dolaşımdaki miktarı şişmanlık, bozulmuş glikoz toleransı ve insülin direnciyle pozitif ilişki gösterirken, ağırlık kaybı ile arasında negatif ilişki görülmektedir. İnterlökin-6 karaciğerde hepatik TG oluşumunu arttırmakta ve hipertrigliseridemiye neden olmaktadır. Artmış plazma yağ asidi ve yağ oksidasyonu ile yağ dokusu lipoprotein lipaz faaliyetinin azalmasına yol açarak enerji depolanmasını azaltmaktadır. Glikojen sentazı baskılayarak ve glikojen fosforilaz aktivitesini uyararak karaciğer glikoz üretiminde artışa sebep olmaktadır. Adipogenezi baskılayıp adiponektin salgılanmasını da azaltmaktadır. Karaciğer ve yağ dokusunda PAI-1 sentezlenmektedir. Visseral yağ hücre miktarına bağlı olarak artmaktadır. Şişmanlıkta ve insülin direnci durumunda PAI-1 düzeyleri artmaktadır ve metabolik sendrom belirtileriyle pozitif bir ilişki belirtilmektedir [69,70].

4.4.3. Oksidatif Stres

Karaciğerdeki prooksidan maddeler arasında sitokrom P 450 enzim sisteminden CYP2E-1, mitokondri kökenli reaktif oksijen metabolitleri, mitokondriyal ya da peroksizom kaynaklı hidrojen peroksid, nitroradikaller, kupffer hücre kökenli bazı maddeler, aktive olmuş nötrofiller ve makrofajlar yer alır. Ancak karaciğer hasarına yol açan temel olay karaciğerin temel antioksidanlarından olan glutatyon sülfatın (GS) mitokondriyal alım sistemindeki defekte bağlı miktarının azalmasıdır [79].

Reaktif oksijen türleri üretimi, tüm organizmalarda hücresel fonksiyonu ve homoeostazı derinden etkileyen oldukça düzenli bir süreçtir. Ökaryotik hücrelerde

ROS, mitokondriyal solunum ve detoksifikasyon ürünü olarak endoplazmik retikulum ve mitokondri dahil olmak üzere birçok organelde üretilmektedir. Yapılan çalışmalarda, oksidatif stresin, lipid peroksidasyonunda ve insanlarda doku ve hücrel molekülde oksidatif hasarların yaşlanma ve oksidatif strese bağlı hastalıklarda önemli bir rol oynadığını göstermektedir [80].

Karaciğer yağlanması, multifaktöriyel bir hastalıktır ve oksidatif stresle arasında neden-sonuç ilişkisi bulunamamasına rağmen, hastalığın patogenezinde oksidatif stres ortaya çıkmıştır [81,82].

Non alkolik yağlı karaciğer hastalığı patogenezinde, oksidatif stresin rolü metabolik değişiklikler ve proinflamatuvar transkripsiyon faktörü ekspresyonu ile ilişkili olarak tartışılmıştır. Sağlıklı deneklerle karşılaştırıldığında, NAYKH / NASH hastalarında artmış ROS ve lipid peroksidasyon seviyeleri gösterilmiştir. Antioksidan bileşiklerden süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve glutatyon gibi enzimlerde düşük seviyeler belirtilmiştir [83]. Karaciğer yağlanması olan hastalarda α -tokoferol, lutein, zeaksantin, likopen ve β -karoten seviyelerinin sağlıklı bireylere göre anlamlı derecede düşük olduğu belirtilmiştir [84]. Bu hastalarda, sağlıklı bireylerde gözlenenlere kıyasla daha yüksek seviyelerde reaktif karbonil türleri gözlenmiştir [83,85]. Birçok hayvan ve insan çalışmasında NAYKH / NASH hastalık durumu ile oksidatif stresin biyobelirteçleri arasındaki ilişki gözlemlenmiştir [86].

Bu hastalığın patogenezinde hepatositlerdeki lipidlerin birikmesi, mitokondride elektron transport zinciri (ETC)'ni baskılamakta ve mitokondriyal proteinlerin oksidatif hasarına yol açmakta ve ROS üretimini artırmaktadır. Bunun sonucunda, yağ asitlerinin oksidasyonunu tetiklenmektedir. Çalışmalar, NASH hastalarında mitokondriyal fonksiyonlarda bozulma olduğunu göstermektedir [87].

Mitokondriyal ROS üretiminin NAYKH'da artabileceği en az üç ana mekanizma vardır. İlk mekanizma mitokondriyal GSH'nin azaltılmasını, ikinci mekanizma, mitokondriyal solunum zincirindeki (MRC) bozulmayı ve üçüncü mekanizma CYP2E1 düzeylerini / aktivitesini arttırmayı içermektedir [88].

Weltman ve ark.'ları metionin-kolinden fakir diyetle oluşturdukları deneysel NASH modelinde steatohepatit ile oksidatif stres arasında güçlü bir ilişki olduğunu göstermiştir [89].

İnsanlardaki oksidatif stres ile NAYKH arasındaki ilişki, NAYKH olanların plazma ve karaciğer biyopsilerindeki lipit peroksidasyon ürünlerinin immunohistokimyasal olarak tespit edilmesi ile desteklenmiştir [90,91].

4.4.4. Mitokondrial Disfonksiyon

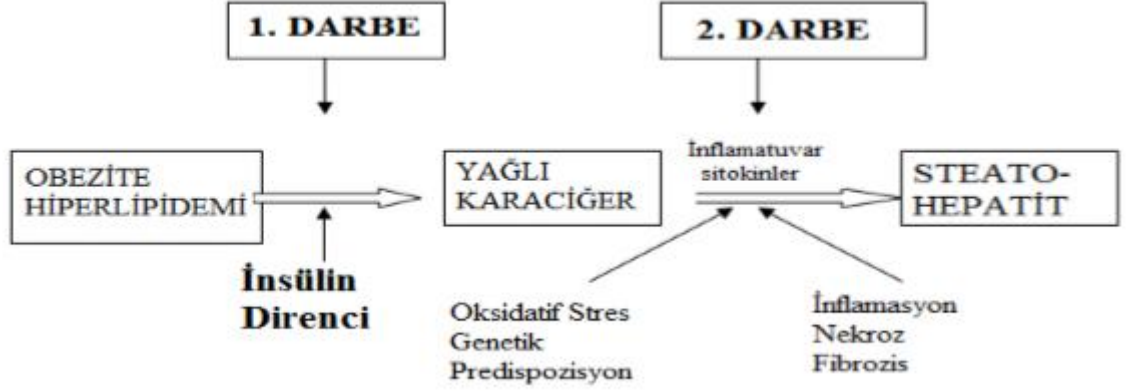
Mitokondriyal disfonksiyon NAYKH'da önemli bir rol oynamaktadır. Aşırı miktardaki intrasellüler yağ asitleri, oksidatif stres, adenosin trifosfat azalması ve mitokondriyal disfonksiyon yağlanmış karaciğerde hepatosellüler hasarın önemli sebepleridir. Mitokondriyal disfonksiyon yalnızca yağ birikime neden olmaz, aynı zamanda ROS oluşmasında sebep olmaktadır. Sonuçta, lipid peroksidasyonu, mitokondriyal hasar, ROS oluşumu, antioksidanların azalması ve sitokin salınımına neden olduğu için oksidatif stres genetik olarak yatkın bireylerde nekroinflamasyon ve fibrojenize neden olmaktadır [92,93].

Mitokondrial disfonksiyon oksidatif stresi oluşturan reaktif oksijen gruplarının temel kaynaklarından birisidir ancak NAYKH'daki rolü bununla sınırlı değildir. Serbest yağ asidi metabolizmasındaki bozukluklar (beta oksidasyon), serbest yağ asidi sentezindeki artış, hepatositlerde serbest yağ asidi esterleşmesindeki artış da mitokondrial disfonksiyonla ilişkili olarak yağlı karaciğer hastalığının patogeneğinde rol oynamaktadır [4, 94].

Adenosin trifosfat (ATP) hücresel bütünlüğü korumak için kritik olduğundan, tükenmesi hepatosellüler hasara neden olabilmektedir. Dianzani'nin 1960'lı yıllarda yaptığı çalışmasında, karaciğerdeki hepatik ATP seviyelerinin deneysel modellerde tükendiği belirtilmiştir [95,96]. Bu gözlemler, kolin eksikliği olan diyet modelini kullanan hayvan çalışmaları tarafından da desteklenmiştir [97].

Karaciğer yağlanmasına sahip 8 hastanın 7 kontrol hastasıyla karşılaştırıldığı çalışmada, her iki grupta da hepatik ATP dağılımının benzer olduğu gösterilmiştir, ancak NASH hastalarında ATP seviyelerinin düzelmesi önemli ölçüde gecikmiştir.

Hepatik ATP iyileşmesindeki gecikme büyüklüğü her iki grupta da beden kütle indeksi ile ilişkilidir [92,98].



Şekil 4.4.2. İkinci Darbe Hipotezi [27]

4.5. Klinik Belirtiler ve Laboratuvar Bulguları

Biyokimyasal belirteçler, karaciğer hastalığı geçirmiş veya şüphelenilen hastaları değerlendirmek ve izlemek için kullanılır. Enzim analizleri karaciğer enzimlerinin salınımını ve diğer testler karaciğer fonksiyonlarını ölçmektedir. Hepatobiliyer hastalıklar için tarama testleri serumda bilirubin, alkalın fosfataz, aspartat aminotransferaz ve alanin aminotransferaz düzeylerini içermektedir. Karaciğer hastalığı için hastaları teşhis etmek veya değerlendirmek için fiziki muayene ve teşhis prosedürleri (örn, Endoskopi) veya abdominal görüntüleme testleri (örn, abdominal ultrason, manyetik rezonans görüntüleme veya bilgisayarlı tomografi taraması) kullanılmaktadır. Karaciğer biyopsisi, hepatik inflamasyon ve fibroz şiddetini değerlendirmek için altın standart olarak kabul edilmektedir [99].

Tablo 4.5.1. Karaciğer Fonksiyon Testleri [100]

Fonksiyon	Testler
Hücre yaralanması / nekroz	Alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), AST / ALT oranı, laktat dehidrojenaz (LD)
Kolestaz / lezyon	Alkalen fosfataz (ALP), gama-glutamil transferaz (GGT), lösin aminopeptidaz (LAP), 5'Nükleotidaz (5'-N), bilirubin, kolesterol
Protein sentezi	Albumin, prealbumin, protrombin zamanı, parsiyel tromboplastin
Viral belirteçler	IgM anti-HBc, HBsAg, IgM anti-HAV, anti-HCV, HCV RNA.

Tablo 4.5.2. Non Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığında Laboratuvar İncelemeleri [4]

Karaciğer hastalığının araştırılması için gereken incelemeler	Metabolik bozuklukların araştırılması ve ayırıcı tanı için gereken incelemeler
ALT / AST Alkali fosfataz GGT Bilirubin Albumin / Globulin PT	Glikoz Kolesterol (HDL, LDL) Trigliserid OGTT Açlık insülin düzeyi Tiroid testleri (T3, T4, TSH) Demir, demir bağlama, ferritin Seruloplazmin Hepatit serolojisi Otoantikörler Diğer

Non alkolik yağlı karaciğer hastalığı çoğu zaman semptomsuz bir hastalıktır. Fiziki muayene bulguları birçok hastada mevcut olan obezite dışında karaciğer hastalığının evresi ile ilişkili olup sirotik dönemdeki az sayıda olgu dışında saptanabilen tek bulgu genelde çoğu defa görülen hepatomegalidir. Bu nedenle hastalığın tanısı daha çok laboratuvar bulgularına dayanmak durumundadır. Karaciğer yağlanması bulunan birçok kişide rutin karaciğer fonksiyonları tamamen normal sınırlar içerisinde olabilir. Hastaların bir bölümünde ise değişik düzeyde karaciğer fonksiyon bozuklukları görülmektedir. Hastalığın en sık rastlanılan bulgusu, normalin 1-3 kat kadar üzerine çıkabilen ALT, AST yüksekliğidir. Nadir bazı olgularda transaminaz artışı daha yüksek seviyelerde olabilir ancak bu durum genelde kısa süreli ve geçicidir. AST/ALT oranı sirotik evredeki hastaların haricinde 1'den küçüktür ($ALT > AST$). Bu bulgu AST'nin daha fazla arttığı alkolik karaciğer hastalığından ayırıcıda değer taşıyabilir. Birçok hastada GGT normalin üstündedir. Olguların yarısından azında hafif alkali fosfataz artışı görülebilir. Bilirubin, albümin, globülin düzeyleri ve protrombin zamanı siroz gelişen olguların dışında normal sınırlardadır. Biyokimyasal bulguların diğer nedenlere bağlı karaciğer hastalıklarından belirgin bir farklılık göstermediği ve karaciğer yağlanmasının spesifik bir biyokimyasal profilin bulunmadığı belirtilmektedir [94]. Hastalar karaciğer hastalığının biyokimyasal bulguları yönünden incelenirken aynı zamanda eşlik eden metabolik bozukluklar bakımından da araştırılmalıdır. Hastalarda açlık kan şekeri ile birlikte açlık insülin düzeyi de ölçülerek HOMA yöntemi ile insülin direncinin araştırılması yararlıdır [40].

4.5.1. Tanı

Bu hastalığın teşhisi birçok bireyde kolaydır. Çoğu hasta asemptomatiktir ve rutin laboratuvarlarda, üst sınırının 3 katından daha büyük olmayan hafif bir transaminet olduğu belirtilmiştir. Hastalarda halsizlik ve sağ üst kadranda karın ağrısı olabilmektedir. İlerlemiş sirozun belirtileri kolay morarma, kanama, prurit, koyu renkli idrar ve sarılık olabilmektedir. Dikkatli bir şekilde yaşam öyküsü alınmalıdır. Alkol kullanımı, alkol dışı nedenler araştırılmalıdır. Kilo öyküsü (obezite ve hızlı kilo alımı veya kilo kaybı), yağlı karaciğer ve anormal karaciğer fonksiyon testlerinin yükselmesine neden olabileceği için önemlidir.

Karaciğer hastalığının teşhisinde ve sirozun klinik bulgularını değerlendirmede fiziki muayene önemlidir. Karaciğer hastalığının fiziksel belirtileri arasında anjiomata, palmar eritem, dupuytren kontraktürü, küçük nodüler bir karaciğer veya genişlemiş bir karaciğer ve splenomegali bulunabilir. Karaciğer hastalığının ileri belirtileri ödem, asit ve sarılıktır. Spesifik olarak klinik, rutin laboratuvar veya antropometrik bulgular sıklıkla yağlı karaciğer ile ilişkilendirilirken ultrasonografi (USG) ve spesifik laboratuvar testleri karaciğer hastalıkları tanısı koymada yaygınlıkla kullanılmaktadır [42].

Laboratuvar testleri; bütün karaciğer fonksiyon testleri, tam kan sayımı, koagülasyon durumu, viral hepatit serolojisi, demir, serüloplazmin, α -1 antitripsin ve otoimmün göstergelerini içermektedir. İlk değerlendirmede sıklıkla USG gibi görüntüleme yöntemi kullanılmaktadır. Karaciğer biyopsisi, inflamasyon ve fibrozisin derecesini değerlendirmek ve ayrıca NASH'ı teşhis etmenin yanında NAYKH tanısında da altın standarttır. Biyopsi, sirozu veya ileri fibrozisi teşhis etmenin tek güvenilir yoludur. Karaciğer biyopsisi, pozitif otoimmün veya viral hepatit serolojileri olan hastalarda tanıyı netleştirmeye yardımcı olabilir. Son yıllarda kullanıma giren ve hepatik yağlanmayı kantitatif olarak gösteren manyetik rezonans spektroskopisi (MRS); USG, bilgisayarlı tomografi (BT) ve manyetik rezonans görüntüleme (MRG) yöntemlerine göre daha avantajlı bir tanı aracıdır [42].

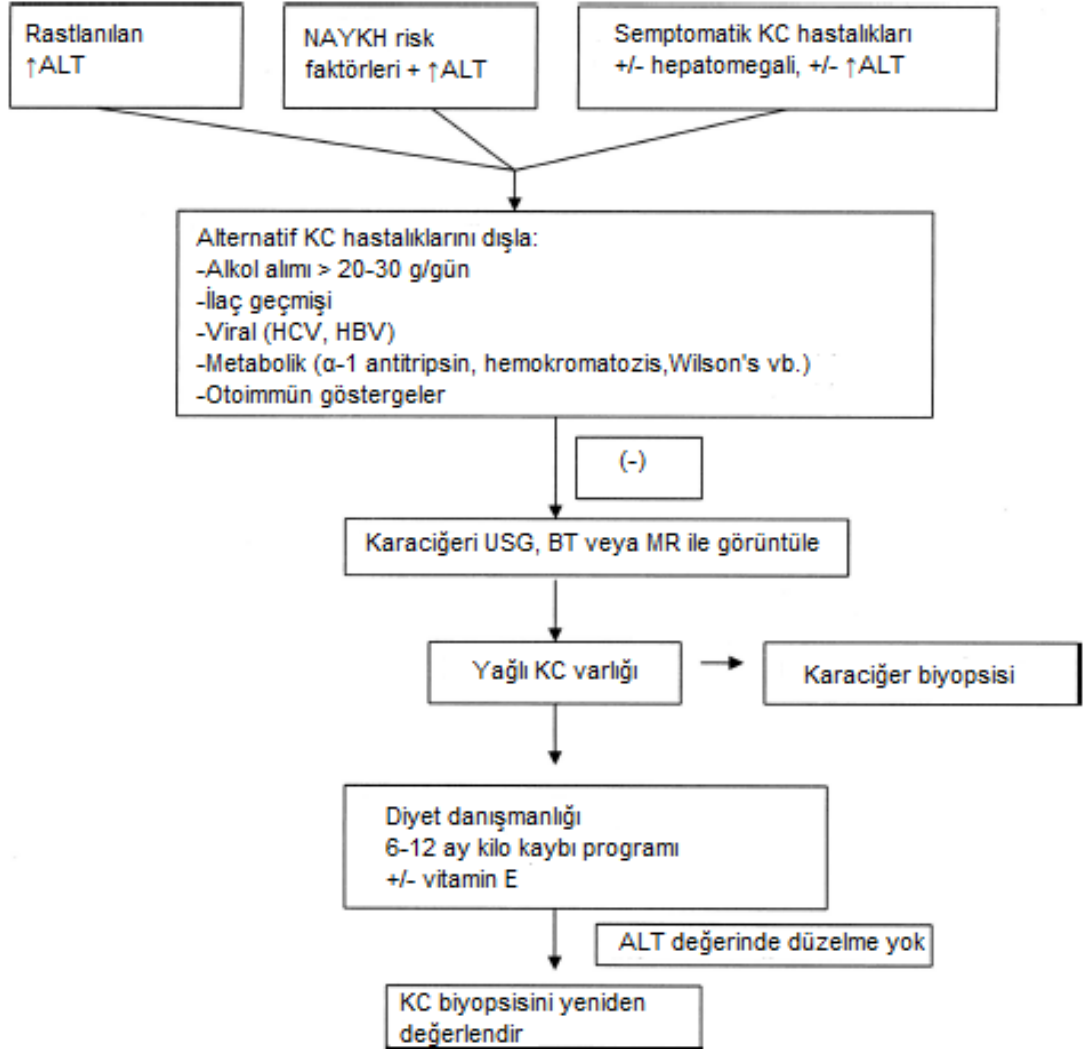
Bu hastalıkta biyopsinin klinik değerlendirmedeki rolü belirsizdir. Karaciğer biyopsisi NASH varlığını doğrulayabilir, fibrozis veya siroz olup olmadığını gösterebilir ve ayrıca kronik karaciğer hastalığının diğer nedenlerinin dışlanmasında faydalı olabilir [93].

Ayrıca, EASL (the European Association for the Study of the Liver) karaciğer fonksiyon testi anormallikleri, yaşlılık, metabolik sendromun çoklu öğeleri ve portal hipertansiyon varlığı olan ilerlemiş fibroza sahip olanlarda biyopsi yapılmasını önermektedir [42].

Tablo 4.5.1.1. Karaciğer Yağlanması Ultrasonografik Bulgular

Grade 1	Hafif difüz eko artışı vardır. Diyafram ve intrahepatik damar duvarları normal görünümündedir.
Grade 2	Orta derecede ekojenite artışı vardır. Diyafram ve intrahepatik damar duvarları görüntüsünde hafif silinme mevcuttur.
Grade 3	İleri derecede ekojenite artışı mevcuttur. Diyafram ve intrahepatik damar duvarlarında belirgin silinme, karaciğer sağ lob posteriorunun görüntüsünde silinme izlenir.

Yaygın bir uygulama şeklinde steatoz grade 1-3 arasında derecelendirilerek ifade edilmekle birlikte bu derecelendirmenin klinik önemi bulunmamaktadır [4,102].



Şekil 4.5.1. Non Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığında Tanısal Yaklaşım

[103]

4.6. Histopatolojik Bulgular

Karaciğer yağlanması, histolojik olarak alkol kullanımına bağlı karaciğer hasarından ayırt edilemeyen bulgulara sahiptir. Karaciğer biyopsi bulguları yağlanma, karışık iltihabi hücre infiltrasyonu, hepatositlerde balonlaşma ve nekroz, glikojen çekirdek, mallory hiyalin cisimcikleri ve fibrozistir [104].

Bu hastalığın alt sınıflarından yağlı karaciğer hastalığında sadece hepatik steatoz görülür iken; NASH'de buna ek olarak mallory cisimcikleri, lobüler nötrofilik inflamasyon, balon dejenerasyonu ve fibrozis göstergelerinden birisi bulunmaktadır [105].

Histopatolojik olarak değerlendirilmesinde Brunt ve ark.'nın önerdiği steatozu derecelendirme ve fibrozu evrelendirme sistemi yaygın olarak kullanılmaktadır [106].

4.6.1. Brunt Sınıflaması [106]

A. Steatozun Derecelendirilmesi

- Grade 1 (Hafif): Biyopsi materyalinin %66'sına kadar makroveziküler yağlanmanın ön planda olduğu steatoz, zon 3'de hepatositlerde balonlaşma nadir, polimorf nüveli lökositlerin bazen de lenfositlerin varlığı ile karakterize intraasiner inflamasyon görülmektedir. Portal inflamasyon yok veya hafiftir.
- Grade 2 (Orta): Herhangi bir derecede yağlanma, biyopsi materyalinin % 66' sını geçebilir. Zon 3'de hepatositlerde balonlaşma belirgin, intraasiner infiltrasyon daha yoğun, zon 3'de perisellüler fibrozis, hafif-orta derecede portal inflamasyon vardır.
- Grade 3 (Ciddi): >% 66 hepatositte, panasiner steatoz, zon 3'de hepatositlerde balonlaşma ve düzensizlik, intraasiner ve portal inflamasyon daha yükündür.

B. Fibrozun Evrelendirilmesi

- 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

4.6.2. Kleiner Sınıflaması [107]

Tablo 4.6.2. NAFLD Aktivite Skoru (NAS)

Steatoz Derecesi	Lobüler İnflamasyon	Hepatoselüler Balon	NAS (0-8) = Steatoz Derecesi + İnflamasyon Derecesi + Balon Derecesi
0: < %5	0: Yok	0: Yok	0:Yok
1: %5-%33	1: <2 odak / 200× alan	1: Hafif	1a: Hafif (hassas) zon 3 perisinüsoidal fibrozis 1b: Orta (yoğun) zon 3 perisinüsoidal fibrozis
2: %34-%66	2: 2-4/200x alan	2: Orta	1c: Yalnızca portal fibrozu 2: Periportal fibrozis ile zon 3 perisinüsoidal fibrozis 3: Köprü fibrozu 4: Fibrozis
3: >%66	3: >4/200x alan	-	

Karaciğer biyopsisinin faydası, NAFLD Aktivite Skoru olarak bilinen skorlama sistemi ile ilgilidir. Yapılan herhangi bir biyopsi ancak tedaviye rehberlik edebiliyorsa yararlıdır ve bu durumda NAFLD ile NASH arasındaki ayrım biyopsinin temel amacıdır. Burada dikkate alınan histopatolojik kriterlerin 4'ü semikantitatif olarak, 9'u var/yok şeklinde, birisi de lokalizasyonuna göre puanlanmış ve toplam skor NAFLD aktivite skoru (NAS) olarak adlandırılmıştır. $NAS \geq 5$ olan NAYKH olgularının NASH olduğu, $NAS = 4$ muhtemel steatohepatit, $NAS < 3$ olanların ise NASH olmadığı kabul edilmiştir. Bu sistem terapötik denemeler sırasında NAYKH'daki değişiklikleri ölçmek için bir araç olarak geliştirilmiştir ve günümüzde yaygın olarak kullanılmaya devam etmektedir (Tablo 4.6.2) [108].

4.6.3. Matteoni Sınıflaması

Farklı bir yaklaşım Matteoni ve arkadaşlarının yapmış olduğu sınıflandırmadır. Bu araştırmacılar NAYKH'nı histopatolojik bulguları temelinde 4 tipe ayırmışlardır.

Tip I: Sadece yağlanma bulunup iltihabi infiltrasyon görülmeyenler

Tip II: Yağlanma + lobular iltihabi infiltrasyon

Tip III: Yağlanma + hepatositlerde balonlaşma

Tip IV: Yağlanma + hepatositlerde balonlaşma + fibrozis veya Mallory cisimcikleri [41]

4.6.4. Mendler Sınıflaması

Sonraki yıllarda başka bazı skorlama sistemleri de önerilmiştir. Mendler ve arkadaşları portal fibrozis (0-6) ve lobular inflamasyon ve nekroz, Mallory cisimleri, hepatosit balonlaşması (0-3); perisinüzoidal fibrozis (0-3); yağlanma (1-4) arasında puanlayarak oluşturdukları aktivite skorunu kullanmışlardır. [109] (Tablo 4.6.4).

Tablo 4.6.4.1. NASH Semikantitatif Derecelendirme Yöntemleri (Mandler MH)

Grade I	Grade II	Grade III
AS: 0-4 ve Portal Fibrozis: 0-2	AS: 5-7 veya Portal Fibrozis: 3	AS: 8-12 veya Portal Fibrozis > 3

Tablo 4.6.4.2. NASH Histolojik Bulgularının Özeti [106]

NASH tanısı için gerekli	Tanı için zorunlu değil, ancak sıklıkla mevcut	Tanı için zorunlu değil, bazen görülebilir	NASH ile uyumsuz, diğer tanıları düşündürür
Stetoz (makroveziküler) Lobul içi iltihabi infiltrasyon (Mikst tip) Hepatositlerde balonlaşma	Zon 3 perisinüzoidal fibrozis Glikojenlenmiş nukleus Lipogranülomlar Yağ kistleri	Mallory cisimcikleri Periportal hepatositlerde demir birikimi Hepatositlerde megamitokondria	Mikroveziküler yağlanmanın belirgin olması Venookluziv lezyonlar Portal inflamasyonun lobul içi inflamasyondan fazla olması Safra yolu hasarı Epiteloid granülomlar

4.7. Tedavi

4.7.1. Yaşam Tarzı Değişiklikleri ve Kilo Kaybı

Karaciğer yağlanması, kronik karaciğer hastalığının önemli bir sebebidir. Tedaviye başlama kararı, NAYKH'nın NASH'e dönüştükten sonra siroz ve kansere ilerleme riski göz önünde bulundurularak verilmelidir [110].

Tedaviye, tüm hastalarda ilaçtan önce beslenme ve egzersiz ile başlanmalıdır. İlaç tedavisi; patogeneizde rol oynayan obezite, diyabet ve hiperlipidemi gibi hastalıkların durumuna göre şekillendirilmelidir [111-113].

Patogeneizde belirtilen metabolik sendrom NAYKH'nın hepatik komponenti olarak kabul edilmektedir. NAYKH tedavisinin de önemli bir kısmını metabolik sendrom ile mücadele oluşturmaktadır. Bu mücadelenin ilk basamağını insülin direnci, obezite, tip-2 diyabet, hiperlipidemi gibi risk faktörlerini ortadan kaldırmak oluşturmaktadır. İlk olarak seçilecek yaklaşım ise yaşam tarzı değişiklikleri olmalıdır [30].

Bergqvist'in çalışmasında, hepatolojistlerin % 95'i NAYKH'nın tedavisinde ağırlık kaybı ve fiziksel egzersiz tedavisinin gerekli olduğunu belirtmişlerdir. Yaşam tarzı değişikliğinin yanında ağırlık kaybı sağlayan ilaçlar ve bariatrik cerrahi NAYKH'da kabul edilirken, katılımcıların % 75'i karaciğere yönelik spesifik ilaç tedavisini kabul etmemiştir [114, 115].

Hepatologlar arasında yapılan Fransa araştırmasında, hastaların % 72'sinin sadece yaşam tarzı değişiklikleriyle tedavi edildiğini, % 28'inin ise farmakolojik olmayan müdahalelere ilaveten ilaçlarla tedavi edildiğini göstermiştir. En sık öngörülenler, metformin, ursodesoksikolik asit, flebotomi, glitazonlar ve E vitamini olarak belirtilmiştir. Yapılan çalışmada, % 42'si alkolden uzak durmayı tavsiye etmiştir, % 50'si erkeklerde 10-30 g, kadınlarda 10-20 g günlük alkol tüketimine izin vermektedir [116].

Tüm hastaları daha sağlıklı yaşam tarzlarını teşvik etmek ve NAYKH ile ilişkili hastalıkların sıkı kontrolünü sağlama amaçlı müdahalelere girmesi gerektiği konusunda genel bir fikir birliği vardır. Tüm kılavuzlar, ağırlık kaybı, diyet

değişiklikleri ve fiziksel egzersizle beraber yaşam tarzı değişikliklerinin tüm NAYKH'a sahip hastalarda her zaman birinci basamak seçenek olarak uygulanması gerektiği konusunda hemfikirdir. İtalyan kılavuzunda sadece kilolu bireylerde 0,5 kg / hafta kilo kaybı, Çin kılavuzunda ise 6-12 ay içinde % 5'ten fazla kilo kaybı önerilmiştir. Avrupa kılavuzu, fazla kilolu ve hafif obez hastalarda % 7'lik kilo kaybının olması gerektiğini önermektedir. Son olarak, Amerikan toplumları daha spesifik endikasyonlar sağlamaktadır. Steatozu iyileştirmek için vücut ağırlığının en az % 3-5 ila 5'i kayıp ve nekroinflamasyonun iyileştirilmesi için % 10'a kadar kayıp olması gerektiği önerilmiştir [116-120].

Amerikan Karaciğer Hastalıkları Araştırmaları Derneği (AASLD) 'dan alınan NAYKH'a yönelik tedavi tavsiyeleri arasında kilo kaybı, tiazolidinedionlar gibi insüline duyarlı ilaçlar ve E vitamini bulunmaktadır. AASLD Rehberi, NASH tedavisi için pioglitazonun (diyabet tedavisinde kullanılan oral antihiperglisemi ilaçları) kullanılabileceğini, ancak uzun süreli güvenlik ve etkinliği bilinmediğini belirtmektedir. E vitamini (800 IU / gün alfa tokoferol), diyabetli olmayan hastalarda NASH için ilk basamak tedavi olarak kabul edilmektedir [99].

Son çalışmalar kilo verme ile transaminaz düzeylerinde ve lipid parametrelerinde önemli düzelme olduğunu göstermiştir. Fiziksel aktivite, glukoz dengesi ve artmış insülin duyarlılığı gibi kilo kaybından bağımsız faydalı etkilerinden dolayı NAYKH'nın tedavisine entegre olmuştur. Ayrıca; fiziksel aktivite, hepatik trigliserid toplanmasını azaltmakta ve vücutta lipid oksidasyonunu düzeltmektedir [7].

Amerikan Gastroenteroloji Derneği (AGA) tarafından 2002 yılında yayınlanan obezite tedavisi önerilerinde NAYKH, NASH aşamasında olmasa dahi obezite komplikasyonları içinde tanımlanmıştır. Bu nedenle VKİ'si 25 kg/m²'den fazla olanlarda obezite tedavisi önerilmektedir [121].

Çin kılavuzu nicel detaylar sunarken (obez yetişkinler için günlük 500-1000 kcal alımı), hemen hemen bütün kılavuzlar nitel yönleri tanımlamaktadır [118].

Düşük karbonhidrat ve doymuş yağ alımı, fruktoz bakımından zenginleştirilmiş içeceklerin önlenmesi, lif ve antioksidan bakımından zengin meyve ve sebzelerin tüketiminin artması gibi öneriler sunulmaktadır [116-119].

Tüm klavuzlar, NAYKH hastalarında ağır alkol tüketiminden kaçınılması gerektiği konusunda hemfikirdir. Ancak, hiçbir kılavuz orta derecede alımı desteklememektedir [116-120].



Tablo 4.7.1. Yaşam Tarzı Değişiklikleri ve Kilo Kaybı Kılavuzları

Klavuzlar	Ağırlık kaybı	Diyet Kısıtlaması
AASLD (2012) [120]	- Ağırlığın %3 - %5 azalması → steatozu iyileştirmektedir. - Ağırlığın % 7 -% 10 azalması → fibroz dahil NASH'ın histopatolojik özelliklerinin çoğunu iyileştirmektedir.	Hipokalorik diyet (günlük 500-1.000 kkal azaltılmalıdır). Akdeniz diyeti: faydalı görünmektedir.
EASL-EASD-EASO (2016) [122]	Ağırlığın % 7 - % 10 azalması önerilmektedir.	500-1.000 g / kg ağırlık kaybına neden olmak için 500-1.000 kkal enerji azaltılmalıdır. Düşük-orta yağ ve orta-yüksek karbonhidrat alımı Düşük karbonhidratlı ketojenik diyetler veya yüksek proteinli diyetler Fruktoz içeren içeceklerden ve yiyeceklerden kaçınılmalıdır.
KASL (2013) [123]	Ağırlığın % 7 -% 10 azalması önerilmektedir.	400–500 kkal enerji kısıtlaması Düşük karbonhidrat diyeti ve düşük fruktoz diyeti önerilmektedir.

Amerikan Karaciğer Hastalıkları Araştırmaları Derneği (AASLD)

Avrupa Karaciğer, Diyabet, Obezite Araştırmaları Derneği (EASL-EASD-EASO)

Kore Karaciğer Araştırmaları Derneği (KASL)

4.7.2. Fiziksel Aktivite

Fiziksel aktivite bir yaşam tarzı değişikliği olarak ele alındığında fiziksel aktivitenin artması, NAYKH'a sahip hastalarda kilo kaybından bağımsız intrahepatik trigliserit içeriğini ve hepatoselüler hasar belirteçlerini azaltmaktadır.

Tüm kılavuzlar, hareketsizliğin önlenmesini ve fiziksel aktivitenin uygulanmasını tavsiye etmektedir. Avrupa kılavuzu, haftada en az 150 dakika orta şiddette fiziksel aktivite ve haftada en az 75 dakika şiddetli fiziksel aktivite önermektedir [116].

Benzer şekilde, Çin kılavuzu, haftada en az 4 kez orta düzeyde aerobik egzersiz yapılmasını ve minimum 150 dakikalık egzersiz süresi önermektedir [118].

Dahası, Avrupa toplumları ve Çin kılavuzu, davranış terapisini kilo vermede önemli olarak vurgulamaktadır [119].

Tablo 4.7.2. Fiziksel Aktivite Kılavuzları

AASLD (2012) [120]	Orta şiddette egzersiz hepatik steatoz için faydalıdır, ancak karaciğer histolojisinin diğer yönleri üzerindeki etkileri bilinmemektedir. Egzersizin optimal süresi ve yoğunluğu henüz belirlenmemiştir. NASH veya fibroz üzerindeki etkiler çok belirgin değildir.
EASL-EASD-EASO (2016) [122]	Genellikle toplam haftada 150–200 dk 3-5 seans orta yoğunlukta aerobik fiziksel aktivite tavsiye edilmektedir. Direnç eğitimi etkilidir. Fiziksel aktivite, doz-cevap ilişkisine sahiptir. NASH ve fibrozis için tam yarar sağlamaktadır.
KASL (2013) [123]	Hepatik steatozu azaltmak için haftada iki defadan fazla ve 30 dakikadan uzun süre egzersiz yapmak faydalıdır.

Amerikan Karaciğer Hastalıkları Araştırmaları Derneği (AASLD)

Avrupa Karaciğer, Diyabet, Obezite Araştırmaları Derneği (EASL-EASD-EASO)

Kore Karaciğer Araştırmaları Derneği (KASL)

Egzersizin kas hücrelerinin oksijen kapasitesini ve oksidasyon için yağ asitlerinin kullanımını arttırdığı gösterilmiştir. Bu durum mitositlerde yağ asidi ve TG birikimini azaltmakta, böylece insülin duyarlılığını iyileştirmektedir. İnsülin duyarlılığındaki iyileşme derecesi egzersizin şiddetine bağlıdır. Egzersiz birçok

bireyde tek başına ağırlık kaybını sağlamada yetersizdir. Ancak, ağırlık kaybı sağlandığında hepatik histolojinin iyileşmesi ile ilişkilendirilmektedir [124].

Fiziksel aktivite ile ilgili önemli bir husus, hangi fiziksel aktivite tipinin (aerobik ve direnç) NAYKH üzerinde daha yararlı etkilere sahip olduğunun belirlenmesidir. Hem şimdi hem de geçmişte, aerobik fiziksel aktivite, aspartat aminotransferaz ve alanin aminotransferaz seviyeleri gibi hepatik hasar belirteçlerini ve NAYKH aktivite skoru gibi NAYKH'nın histolojik özelliklerini geliştirmek için tavsiye edilmektedir [125-128]. Aerobik aktivite ve direnç eğitiminin NAYKH üzerindeki etkisini karşılaştıran son iki randomize çalışmada, bu iki fiziksel aktivite arasında hepatik hasar veya intrahepatik trigliseritlerdeki iyileşmelere ilişkin anlamlı bir fark bulunamamıştır [129,130]. Hallsworth ve ark.'ları direnç eğitiminin standart tedaviye kıyasla vücut ağırlığı değişiminden bağımsız olarak NAYKH'ı iyileştirdiğini bildirmişlerdir [131].

4.7.3. Farmakolojik Tedavi

Karaciğer yağlanması tedavisinde, günümüze kadar birçok ilaç araştırılmıştır. Ancak, tedaviye yönelik spesifik bir ilaç henüz ruhsatlandırma aşamasına gelememiştir. İnsülin direnci NAYKH'nda önemli bir problem olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu açıdan kullanılan ilaçlar insülin direncini hedeflemelidir. NAYKH'da insülin direncini azaltan ilaçlar biguanidler (metformin), glitazonlar (roziglitazon, pioglitazon) ile hepatoprotektif veya antifibrojenik olduğuna inanılan ursodeoksikolik asit (UDCA), betain, vitamin E, lesitin, beta-karoten and selenyum gibi ilaçlar çalışma aşamasındadır [110].

Tablo 4.7.3. Non Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığının Tedavisi İçin Potansiyel Terapötik Ajanlar

Sınıf	Metabolik Etki	İlaç	Steatoz	İnflamasyon	Fibroz
Biguanidler	↓ Hepatik glikoz çıkışı	Metformin	↓ a, b	↔	↔
Tiazolidinedionlar	↑ Adipoz, hepatik ve kas insülin duyarlılığı	Pioglitazone	↓ a, b	↓	↔
DPP-4 İnhibitörleri	↑ GLP-1'in endojen seviyesi	Sitagliptin	-	-	-
		Vildagliptin	↓ b	-	-
GLP-1 reseptörü agonistleri	↑ Glukoza bağımlı insülin sekresyonu	Exenatide	↓ b	-	-
	↓ Gastrik boşluk ve iştah	Liraglutide	↓ a, b	↓	↔
SGLT inhibitörleri 2	↓ Renal glukozun yeniden emilimi	Canagliflozin	-	-	-
		Dapagliflozin	-	-	-
Antioksidanlar / suplementler	↓ Lipid peroksidasyonu	E vitamini	↓ a, b	↓	↔
	↓ Sitokin üretimi				
Lipit düşürücü ilaçlar	↓ VLDL-TG ve Apo B Sentezi	Omega-3 yağ asiti	↔ a, b	↔	↔
	↓ VLDL'nin hepatik sekresyonu	Fibrates	↔ b	-	-
	↓ HMG CoA redüktaz ile kolesterol biyosentezi	Statinler	↔ a, b	↔	↔
PDE inhibitörleri	↓ TNF-a	Pentoxiphyline	↓ a, b	↓	↔
	↑ Hücre içi cAMP				

a: NAYKH histoloji tarafından değerlendirilmiştir,

b: NAYKH, görüntüleme (ultrason, BT veya 1H-MRS) ile değerlendirilmiştir [132].

4.7.4. Tıbbi Beslenme Tedavisi

Obeziteye ve eşlik eden komorbiditelere yol açan dengesiz beslenme NAYKH için önemli bir risk faktörüdür [133]. Ayrıca, bazal VKİ'ne bakılmaksızın, sadece kilo alınması (3-5 kg bile olsa), NAYKH'nın gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır [134].

NAYKH'a sahip hastalarda kilo kaybına neden olan müdahaleler gereklidir. Bu hastalığa sahip obez kişiler, sağlıklı bireylere kıyasla sıklıkla daha fazla miktarda kalori, doymuş yağ ve kolesterol ve daha düşük miktarda çoklu doymamış yağ asitleri, lif, C ve E vitamini almaktadırlar. Yetersiz beslenme alışkanlıkları ve kilo alımının neden olduğu metabolik değişimler göz önüne alındığında, çalışmalar kilo kaybının sadece hepatik yağın hacmini düşürmekle kalmayıp aynı zamanda NASH ile ilişkili iltihap ve fibrozu azalttığını göstermiştir [135].

Elias ve ark.'ları yaptıkları çalışmada, diyet protokolü kalori kısıtlama (500-1000 kcal / gün) ve önceden belirlenmiş miktarda besin öğelerinden (% 55 karbonhidrat, % 15 protein, % 30 yağ (% 8-10 doymuş yağ asitleri, >% 15 tekli doymamış yağ asitleri, >%10 çoklu doymamış yağ asitleri ve <300 mg / gün kolesterol) ve 20-30 g lif / gün den oluşturulmuştur. Sonuçta, doymuş yağ miktarının ve kalorinin azalmasıyla 6 ay sonunda 31 bireyin VKİ, ALT, GGT seviyeleri, visceral yağ ve karaciğer yağlanması, HOMA-IR indeksi düşmüştür [136].

Sadece dengesiz beslenme değil, aynı zamanda besin tüketiminin gün boyunca dağılma şeklide karaciğerde yağ birikimini etkilemektedir. Altı haftalık randomize kontrollü bir çalışmada, yüksek yağlı yüksek şeker ve yüksek şeker hiper kalorili diyetler ana yemekler ile birlikte veya aralarında atıştırılmalıklar olarak tüketilmiştir. Hiperkalorili diyetler, karaciğer yağını (manyetik rezonans spektrometresi ile ölçülmüş) ve karında yağlanmayı (manyetik rezonans görüntüleme ile ölçülmüş) arttırmıştır, bu da Batı diyetinde ortak bir özellik olan atıştırmanın bağımsız olarak hepatik steatoza katkıda bulunduğunu göstermektedir. Ana ve ara öğünlerde enerji dengesi önem taşımaktadır [137].

Kılavuzlar, fiziksel aktiviteye sahip olsun veya olmasın kalorik kısıtlaması ile elde edilen kademeli ağırlık azalmasının, serum karaciğer enzimleri, karaciğer yağı,

hepatik inflamasyon derecesi ve fibrozisin iyileşmesine yol açtığı fikrine varmışlardır [122, 138].

Deneyisel çalışmalar, omega-3 PUFA ile zenginleştirilmiş diyetlerin insülin duyarlılığını arttırdığını, intrahepatik trigliserit içeriğini azalttığını ve steatohepatiti iyileştirdiğini göstermiştir [139,140]. Epidemiyolojik çalışmalarda normal kilolu NASH hastaların, kontrollere göre diyetleri doymuş yağ ve kolesterol açısından zengin, PUFA'dan ise fakir olduğu belirtilmiştir [141,142].

Çoklu doymamış yağ asitleri içinde, omega-6 PUFA'lara göre omega-3 PUFA'lar ve alt tipleri daha üstündür; eikosapentaenoik asit (EPA) ve dokosaheksaenoik asit (DHA) (her ikisi de balık yağında bulunur). Epidemiyolojik çalışmalar, kontrol grubuna kıyasla NAYKH ve NASH hastalarında daha düşük omega-3 PUFA tüketimi ve NAYKH ve NASH hastalarında daha yüksek n-6 / n-3 oranına işaret etmektedir. PUFA ve SFA ile dengesiz beslenme, insanlarda karaciğer ve viseral yağ birikimi üzerinde belirgin etkilere sahiptir. Yedi haftalık bir çalışmada, doymuş yağ ve omega 6-PUFA'yı aşırı tüketen bireylerde ağırlık artışı görülmüştür, ancak SFA'lar PUFA'larla karşılaştırıldığında karaciğer yağını belirgin şekilde arttırmış ve PUFA'lara kıyasla visseral yağda iki kat artışa neden olmuştur [143].

Geleneksel Akdeniz diyeti, tekli doymamış yağdan (MUFA), fındık, meyve ve baklagiller, sebzeler ve balıklar bakımından zengin ve düşük miktarda kırmızı et, işlenmiş etler ve tatlılar, yüksek miktarda zeytinyağı alımı ile karakterizedir. % 30 yağ içeren düşük yağ diyetinin aksine, Akdeniz diyetindeki kalorilerin % 40'ı çoğunlukla MUFA ve omega-3 PUFA yağlarından elde edilir. Lipid profili üzerinde MUFA olumlu bir etkiye sahiptir [144,145].

Ayrıca, Akdeniz diyetinin metabolik profilde faydalı bir rol oynadığı ve NAYKH hastalarında oldukça önemli iki sonuç olan kardiyovasküler hastalık ve diyabet riskini azalttığı gösterilmiştir [146-148].

Akdeniz diyetinin ilkelerinden biri, işlenmiş ve yüksek şekerli yiyecekleri en aza indirmektir. İşlenmiş ve yüksek fruktozlu gıdalardaki azalma aynı zamanda ileri glikasyon son ürünlerinin (AGE'ler) alımının azalmasına yol açmaktadır [149,150]. Trovato ve ark.'ları yaptıkları çalışmada, Akdeniz diyeti düzenine uymanın

NAYKH'a sahip aşırı kilolu hastalarda karaciğer yağında önemli bir azalmaya yol açtığı öne sürülmüştür [151].

Bu tip 2 diyabeti olan veya olmayan NAYKH'a sahip hastalarda iki kısa süreli randomize çalışma ile desteklenmiştir. Her iki çalışmada da, hastalara iki izokalorik diyet verilmiştir; Bir çalışmada düşük yağlı yüksek karbonhidrat diyeti ve 8 hafta yüksek MUFA diyeti, diğer çalışmada düşük yağlı yüksek karbonhidrat diyeti ve 6 hafta Akdeniz diyeti verilmiştir. Her iki grupta da ağırlık stabil kalmasına rağmen, karaciğer yağ içeriği MUFA ve Akdeniz diyetinde yaklaşık % 35 azalmıştır [152,153]. Bunların yanında, akdeniz diyeti orta düzeyde alkol tüketimini savunmasına rağmen, NAYKH hastalarının bu tavsiyeyi benimsemelerinin gerekip gerekmediği açık değildir [154,155].

Ayrıca, Akdeniz diyeti karbonhidrat alımını, şeker ve rafine edilmiş karbonhidratların tüketimini azaltmaktadır. Bu, kısmen NAYKH'daki yararlı etkisini açıklamaktadır. Akdeniz diyetinin etkilerini test eden uzun süreli denemeler garanti altına alınmıştır. Kilo kaybını sürdürmek ve vücut ağırlığını korumak için diyetler genellikle düşük yağ, düşük karbonhidrat, düşük kalorili ve çok düşük kalorili olmak üzere dört kategoriye ayrılmaktadır [156,157].

Altı randomize kontrollü çalışmanın (12-18 ay süren) meta analizinde, diyet tipleri (düşük kalorili, düşük karbonhidrat ve düşük yağ) arasında, ağırlık kaybı bakımından (bazal ağırlığın yaklaşık % 4'ü) farklı bulunmamıştır. Bazı ağır obez hastalarda çok düşük kalorili diyetler, olumsuz yan etkilerle ilişkili olduğundan ve hızlı kilo kaybına (1.5-2.5 kg/hafta) neden olduğu için önerilmemektedir [158].

Ayrıca, ağırlıktaki büyük dalgalanmalar karaciğer hasarını şiddetlendirmekte ve NASH'li hastalarda karaciğer yetmezliğine neden olabilmektedir (118,120, 159,160). Tedavi ve takip sırasında yavaş ve sürekli kilo kaybına ulaşmak özellikle önemlidir. Ayrıca, uzun süreli diyet çalışmaları diyet yapanların çoğunluğunun, diyetlerini veya egzersiz programlarını sürdürüp sürdürmediklerine bakılmaksızın, diyet sonrası kaybedilen ağırlığın neredeyse tümünü kazandıklarını göstermektedir. Bu nedenle, kilo kaybının sürdürülmesi diyet müdahalesi açısından NAYKH hastalarında hala en büyük zorluklarından biri olduğu belirtilmektedir [157].

4.8. Non Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığında Etkili Besin Öğeleri

4.8.1. Karbonhidrat

Karbonhidratlar, kompleks karbonhidratlar ve basit karbonhidratlar (monosakkaritler ve disakkaritler) olarak ayrılmaktadır. Özellikle şekerler, dolaşımdaki insülin ve trigliserit konsantrasyonlarının artmasına neden olmakta ve karaciğerde fruktozun lipojenik potansiyeli nedeniyle hepatik de novo lipogenezinin artmasına ve karaciğerde insülin duyarlılığının azalmasına yol açmaktadır [161,162]. Son zamanlarda yapılan genomla ilgili çalışmalarda, karbonhidrat ve şeker tüketimine ilişkin genlerin bazıları ile birlikte karaciğerde yağ birikimine neden olan birkaç polimorfizm tanımlamıştır [163,164].

Düşük karbonhidrat diyetleri (<45%) obezite ve NAYKH tedavisi için giderek daha fazla önerilmeye başlanmıştır. Ağırlık kaybını arttırdıkları, intrahepatik trigliserit içeriğini azalttıkları ve obezite hastalarının metabolik parametrelerini iyileştirdiği gösterilmiştir. Ancak, insanlarda düşük karbonhidratlı diyetlerin uzun dönemde insülin direnciyle ilişkisi açıklanamamıştır. Bunun yanında, yulaf gibi düşük glisemik indeksli ($GI \leq 55$) yiyeceklerin iştahı arttırdığı, kalori alımını azalttığı ve plazma glukozunu ve toplam kolesterol seviyesini azalttığı gösterilmiştir [158-160, 165].

Yapılan bir meta-analiz çalışmasında, yüksek lifli ve düşük GI yiyeceklerin glisemik cevap ve kolesterol konsantrasyonu üzerindeki etkileri gözden geçirilmiş ve bu gibi diyet bileşenlerinin insülin direnci olan kişiler için yararlı olabileceği sonucuna varılmıştır [166]. Düşük glisemik indeksli bir kahvaltının, ikinci öğünde etkisini arttırdığı ve hem erkek hem de kadınlarda öğünden sonra dolaşımdaki serbest yağ asitlerini ve insülin seviyelerini azalttığı bildirilmiştir [167, 168]. Bu nedenle GI, NAYKH'a sahip hastalarda diyet önerileri verirken göz önünde bulundurulması gereken önemli bir faktör olarak belirtilmiştir. Ancak, insanlarda özellikle bu hastalarda GI'nin etkilerini inceleyen bir çalışma bulunmamasına karşın, NAYKH'a sahip hastaların diyetlerinde önerilmesinin, postprandiyal glikoz ve insülin yanıtını belirleyici olması nedeniyle NAYKH ile ilişkilendirilen komorbiditelerde etkili olacağı düşünülmektedir [160, 169].

Ancak, hayvan modellerinde düşük karbonhidratlı diyetlerin uzun süre devam ettirilmesi, NAYKH ve glukoz intoleransının gelişimini uyarmaktadır [165]. İnsanlarda, total ve LDL kolesterolün artışıyla ilişkili bulunmuştur [170]. Karbonhidrat kısıtlaması olmayan diyetlerle karşılaştırıldığında, düşük karbonhidratlı diyetler kısa süreli kilo kaybı (6 ay) açısından daha etkili gibi görünmektedir, ancak bu fark bir yıl sonra devam etmemektedir. Ayrıca, hızlı kilo kaybı NAYKH'a sahip bazı hastalarda hastalığın ilerlemesine neden olabilmektedir [165].

Aşırı karbonhidrat alımı, NAYKH hastalarında inflamatuvar durum ve hastalığın ilerlemesi ile ilişkili olduğu belirtilmektedir. Bir meta-analizde, 2800 kişide düşük karbonhidrat ve düşük yağlı ($\leq 25\%$) diyetleri karşılaştıran çalışmalar değerlendirilmiştir. Düşük karbonhidrat diyeti ile trigliseritlerde önemli bir azalma ve HDL'de artış olduğunu belirtilmiştir [170].

Serbest fruktoz direk olarak intestinal lümeninden emilirken, büyük CHO moleküllerindeki fruktoz lümeninden ayrılmaktadır. İntestinal fruktozun, glukoz taşıyıcı 5 (GLUT 5/SLC2A5) ve GLUT 2 aracılığıyla transportu kolaylaşmakta ve portal dolaşıma girdikten sonra heksoz taşıyıcıları ile karaciğere taşınmaktadır. Hepatik fruktoz metabolizması, fruktozun ketohekzokinaz aracılığıyla fruktoz-1-fosfata fosforilasyonu ile gerçekleşmektedir. Fruktoz-1fosfat, aldolaz B ve triokinazın aktivasyonu ile, gliserolaldehit ve dihidroksiaseton fosfata dönüşmektedir. Glikoliz basamağında, fruktoliz bypass edilerek hızı azalmakta ve fruktozun sindirimi ara metabolitlerle sonuçlanmaktadır. Bu aşamayla glikoz ve fruktoz metabolizması birleşmektedir. Gliserolaldehit fosforlanarak gliserolaldehit-3 fosfata dönüşmektedir. Fruktoliz, glikoneogenez, glikojen sentezi, laktat üretimi veya asetil-CoA üretimi için kullanılabilir. Asetil-CoA da lipogenezde kullanılmak üzere okside olabilir. Subakut dönemden uzun döneme fruktozun de novo lipogenezi destekleyici etkisi, kronik fruktoz maruziyetinin, prolipojenik mekanizmayı indüklediği yönündedir [171].

Bu hastalığa sahip kişilerde, karbonhidrat türünün modülasyonu miktarlardan daha önemlidir. Yüksek fruktoz içerikli diyetler (yiyeceklere, özellikle mısır şurubu olarak eklenen), metabolik sendrom ve NAYKH gelişimi ile ilişkilidir; de novo lipogenezini (yağ asitlerinin yeniden sentezi) uyarmaktadır ve doyumunu azaltan ve

kalori alımının artmasına katkıda bulunan leptin salgılanmasını inhibe etmektedir [172]. Obezite, diyabet ve NAYKH'daki artışa paralel olarak, özellikle içecek formunda dünya çapında fruktoz tüketimi artmıştır ve bazı çalışmalar doğrudan bir ilişki ileri sürmüştür [120, 160]. Epidemiyolojik çalışmalar, sukroz, fruktoz, yüksek fruktozlu mısır şurubu ve NAYKH arasında bir ilişki olduğuna dair ikna edici kanıtlar göstermektedir [173-175]. Ayrıca, hayvan çalışmalarında fruktoz alımı, bağırsak mikrobiyotasındaki değişiklikler, artmış bağırsak geçirgenliği, endotoksemi, artmış hepatik tümör nekroz faktörü üretimi, lipid peroksidasyonu ve hepatik steatoz ile ilişkilidir [176-178].

Bu hastalığa sahip bireyler üzerine yapılan, artmış bağırsak geçirgenliği ve endotoksinde fruktoz rolünü destekleyen kanıtlar gün geçtikçe artmaktadır [179]. Fruktoz ayrıca oksidatif strese ve insülin direncine neden olabilecek ürik asit üretimini sağlamaktadır. Epidemiyolojik çalışmalarda, serum ürik asidin siroz ve NAYKH gelişimi ile ilişkili olduğu ve VKİ'den bağımsız olarak artmış serum ALT düzeyleri ile pozitif bir ilişkisi olduğu gösterilmiştir [180, 181]. Ayrıca, kola gibi içecekler, insülin direncini, iltihapları, karaciğer zedelenmesini, steatohepatiti ve karaciğer fibrozisini arttırmaktadır [182].

Ma ve ark.'ları 2.634 kişi ile yaptıkları Framingham Kalp Çalışması kohortunda, meşrubatlar ve yağlı karaciğer hastalığı arasında bir ilişki gösterilmiştir. Tüketmeyenlere kıyasla %61 daha fazla yağlı karaciğer hastalığı riski bulunmuştur. Ayrıca, şekerli meşrubat tüketimi, ALT seviyeleri ile pozitif olarak ilişkilendirilmiştir [183]. Abdelmalek ve ark.'ları yaptıkları gözlemsel bir çalışmada, NAYKH hastalarında fruktoz içeren alkolsüz içecekler günlük olarak tüketilirse, daha şiddetli fibroz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [184]. Le ve ark.'ları yaptıkları çalışmada, normo-kalorik bir diyet ile günde 3g fruktoz / kg hepatik yağ birikimini ve serum TG seviyesini arttırmıştır ve yetişkin erkeklerde insülin duyarlılığını azaltmıştır [185]. Benzer bir çalışmada, günde 1 den fazla soft içecek tüketilmesi (360 ml/gün), metabolik sendrom gelişim riskini arttırmıştır, ancak günde 1'den az tüketenlerde bu risk gözlenmemiştir [186, 187].

4.8.2. Yağ

Yağ açısından zengin bir diyet hepatik steatozu tetiklemektedir [188]. Yağ birikimi, adipositlerdeki lipolizi tetiklemektedir ve plazma adiponektin seviyelerinin azalması, kaslarda beta-oksidasyonu artırmakta ve serbest yağ asitlerinin artmasıyla sonuçlanmaktadır. Fu ve ark.'ları yaptıkları bir çalışmada, pediatrik NASH tavşan modeli geliştirilmiştir ve yüksek yağlı beslenmenin vücut ağırlığını, karaciğer ağırlığını ve ALT, TG, IL-6, TNF- α düzeylerini arttırdığını, buna karşın serum adiponektin ve IL-10 seviyelerini azalttığı tespit edilmiştir [189]. Benzer şekilde Shi ve ark.'ları yaptıkları başka bir çalışmada, obez NAYKH ve NASH'a sahip çocuklarda yüksek seviyede hyaluronik asit, serum ferritin, serum tip III prokollajen, ALT ve aspartat aminotransferaz (AST) rapor edilmiştir [190].

Doymuş yağ asitleri, sıçanlarda endoplazmik retikulum (ER) stresi ve hepatosit hasarını indüklemektedir [191]. Obezite ve buna bağlı metabolik komplikasyonlara yol açan hipotalamik inflamasyonu indüklemektedir [192]. Ullah ve ark.'ları yaptıkları çalışmada, NAYKH'a sahip bireylerin toplam enerjilerinin % 14'ünü doymuş yağlardan aldığını, kontrol grubundaki bireylerin ise % 10'nun doymuş yağlardan aldığını ortaya koymuştur. Doymuş yağlardan gelen toplam enerjinin % 10'undan fazla alımı insülin direncine neden olurken, doymuş yağlardan gelen toplam enerjinin %10'undan azı plazma LDL ve TG seviyelerini azaltmaktadır. Bununla birlikte, doymuş yağlardan gelen toplam enerjinin % 7'sinden azı NAYKH'ı iyileştirmemektedir, hatta zarar vermektedir (168). Tekli doymamış yağ asitleri, HDL'de azalma olmadan LDL kolesterol, TC ve TG seviyelerini azaltmaktadır [193, 194].

Karbonhidratların ve doymuş yağların tekli doymamış yağ asitleriyle değiştirilmesi, HDL'yi arttırmaktadır ve diyabetik bireylerde glikoz ve kan basıncını azaltmaktadır. Ayrıca, yüksek karbonhidratlı bir diyetle (toplam enerji alımının % 28'i) MUFA açısından zengin diyet (toplam enerji alımının %40'ı) karşılaştırıldığında, VLDL kolesterolü yoğun şekilde azalttığı ve diyabetik bireyler için kabul edilebilir olduğu bildirilmiştir [195].

Bozzetto ve ark.'ları yaptıkları çalışmada, günlük toplam kalorisinin % 20'si MUFA'dan oluşan bir diyetin yağ asidi oksidasyonunu arttırdığını bildirilmiştir. Fiziksel egzersiz olmaksızın, yüksek MUFA alımı diyabetik bireylerde hepatik yağ içeriğini önemli ölçüde azaltmıştır. Kanıtlar, doymuş yağ asiti ve karbonhidrat bakımından zengin bir diyetin MUFA bakımından zengin bir diyetle değiştirilmesinin NAYKH tedavisinde faydalı olabileceğini düşündürmektedir [152].

Çoklu doymamış yağ asitleri deniz balıklarında, yeşil yapraklı sebzelerde, kolza yağı ve keten tohumlarında bulunur ve NAYKH'a sahip hastalarda faydalı olduğu bildirilmiştir. Kruse ve ark. yaptıkları bir çalışmada, 4 hafta boyunca obez erkeklerde 50 g / gün kolza tohumu / kanola yağı alımının, 50 g / gün zeytinyağı tüketenlere kıyasla TC, LDL ve hepatik enzimlerinin daha sağlıklı bir aralıkta kaldığı gösterilmiştir [196].

Omega-3 ve omega-6 önemli çoklu doymamış yağ asitleridir ve NAYKH patogenezinde rol oynamaktadır. Yapılan çalışmalarda, omega-3 yağ asitlerinin faydalı olabileceği, ancak omega-6 yağ asitlerinden inflamatuvar belirteçleri artırma potansiyellerinden dolayı kaçınılması gerektiği belirtilmektedir [197]. Kargulewicz ve ark.'ları yaptıkları çalışmada, NAYKH'a sahip hastaların yüksek omega-6 yağ asitleri alımına ve omega-3 / omega-6 yağ asitleri oranına sahip olduğunu bildirilmişlerdir [198]. Bu nedenle omega-3 ile omega-6 oranı 1: 1 - 1: 4 olması önerilmektedir. Omega-3 yağ asitleri, hepatik lipid metabolizmasında, yağ asidi oksidasyonunda ve pro-inflamatuvar genlerin ekspresyonunda yer alan gen ekspresyonunu düzenlemektedir. Hepatik steatoz ve inflamatuvar belirteçlere karşı yararlı etkileri olduğu ve insülin duyarlılığını ve kardiyovasküler hastalığı iyileştirdiği bildirilmiştir [199- 201].

Bu hastalıkta omega-3 yağ asitlerinin azalması, yüksek plazma ve hepatik serbest yağ asitleri ile ilişkilidir. Bu nedenle, günlük doymuş yağ asitlerinin alımının azaltılması ve omega-3 yağ asitlerinin sağlanması çocuklarda NAYKH'ı iyileştirdiği belirtilmektedir [202-204].

Nobili ve ark.'ları, Janczyk ve ark.'ları yaptıkları çalışmalar, NAYKH'a sahip çocuklarda 6 ay boyunca omega-3 yağ asidi desteğinin ALT seviyelerini

iyileştirmediğini bildirmiştir [205, 206]. Ancak, Nobili ve ark.'ları NAYKH'a sahip çocuklarda 18 ay boyunca omega-3 yağ asitleri vermiştir ve ALT seviyelerinde anlamlı bir iyileşme gözlenmiştir [203]. Omega-3 yağ asitleri lipid profilini, insülin duyarlılığını iyileştirmektedir ve plazma TG seviyelerini, hepatik steatoz ve sitokin üretimini azaltmaktadır [204].

4.8.3. Protein

Proteinlerin NAYKH patogenezindeki rolü ile ilgili çalışmalar sınırlıdır. NAYKH gelişiminde ve tedavisinde proteinlerin miktarının, kalitesinin ve bileşiminin etkisi hakkında çok az şey bilinmektedir. Klinik çalışmalar, protein alımının NAYKH'ın patogenezinin etkilediğini bildirmiştir [198]. Malnütrisyon ve protein eksikliği hepatik steatozu ve NASH'ı indüklemektedir [207,208]. Yüksek protein ve düşük karbonhidratlı diyetler yeni lipogenezi inhibe ederek, karbonhidrat metabolizmasını ve karaciğer steatozunu iyileştirmektedir [198].

Duarte ve ark.'ları Brezilya'da yaptıkları çalışmada, yüksek proteinli düşük karbonhidratlı hipokalorik diyet (1.200-1.400 kcal / gün, hayvansal ve bitkisel protein % 35) verilmiştir. Vücut ağırlığında, vücut çevresinde ve vücut yağında bir değişiklik bulamamışlardır. Sonuçta, HDL kolesterolün arttığı, total LDL ve VLDL kolesterol, TG, AST, gama glutamiltransferaz (GGT), alkalik fosfataz (AP) ve açlık kan şekerinin azaldığı belirtilmiştir. Bu çalışma, vücut ağırlığı ve vücut yağı üzerindeki etkisinden bağımsız olarak, yüksek proteinli düşük karbonhidratlı bir diyetin lipid profilini, insülin homeostazını ve karaciğer enzimlerini iyileştirdiğini göstermektedir [209]. Protein alımı, hepatosit rejenerasyonu için önemlidir ve karaciğerde yağ birikmesini önleyen önemli amino asitler sağlamaktadır [208].

Arciero ve ark.'ları enerjinin % 25'ini proteinden almanın hiçbir yan etkisinin olmadığını ve vücut yağ içeriğini yüksek protein diyeti kadar azalttığını kanıtlamış ve bu nedenle NAYKH hastaları için normal seviyelerde protein tüketimi önermiştir [210].

Watanabe ve ark.'ları yaptıkları bir çalışmada, maş fasulyesinde bulunan proteinlerin erkek farelerde yüksek yağlı yemlerin neden olduğu NAYKH'a karşı yararlı olduğu bildirilmiştir [211]. Yang ve ark.'ları yaptıkları çalışmada, soya

proteini plazma kolesterol seviyelerini ve vücuttaki yağ birikimini azaltarak NASH'a karşı olumlu etkiler göstermiştir. Soya proteini ayrıca karaciğerde TG birikimini, sıçanlarda insülin duyarlılığını ve antioksidan aktivitelerini azaltmıştır [212]. Benzer bir çalışmada, soya proteininin NAYKH'a sahip hastalarda rolünü incelemek için, yetişkin NAYKH hastalarına düşük kalorili, düşük karbonhidrat soya içeren diyet verilmiştir. Soyanın ALT seviyelerini düşürdüğü, ancak lipid profilini etkilemediği bulunmuştur [213].

4.9. Probiyotikler

4.9.1. Probiyotiklerin Tanımı, Tarihçesi ve Türleri

Vücudumuzun içinde ve üzerinde bulunan mikroplar simbiyotik bir süperorganizma oluşturan dinamik bir topluluktur. Bu sayısız bakteri topluluğu (10^{14}), insan hücre sayısının 10 katını ve insan genomundaki gen sayısının 150 kat daha fazlasını oluşturmaktadır. Genel olarak yetişkin mikrobiyomunun 1000'den daha fazla tür ve 7000 üzerinde suştan oluştuğu kabul edilmektedir. İnsan, diğer memeliler gibi vücudun iç yüzeylerinde büyük miktarlarda bulunan ortakçı mikroorganizmalarla eş-evrimsel bir ilişki içinde yaşamaktadır. Belirli bir ortamdaki mikroorganizmaların tamamına mikrobiyota veya mikroflora denmektedir [214].

Probiyotiklerin kullanımı bakterilerin keşfedilmesinden önceki zamanlara kadar uzanmaktadır. Fermente süt ürünleri Mısır hiyerogliflerinde resmedilmiş ve geleneksel olarak Tibet göçebeleri tarafından uzun yürüyüşleri sırasında kullanılmıştır [215].

Fermente süt ürünleri tüketiminin belirgin sağlık etkisi 1800'lerde bilim adamları tarafından fark edilmiştir, ancak bu sağlık etkilerinin nedeni keşfedilmemiştir. Louis Pasteur, fermantasyon işleminden sorumlu bakteri ve mayaları belirlemiştir, ancak bu bakterileri herhangi bir sağlık etkisine bağlamamıştır [216].

1905 yılında, 1860'larda Pasteur'la birlikte çalışan Elie Metchnikoff, Bulgar köylülerinin ömrünü uzattığına inanmıştır ve tükettikleri yoğurda değil, daha ziyade

yoğurtları mayalamakta kullanılan laktobasil ve kolonda bu laktobasillerin varlığına dikkat çekmiştir [217].

1906'da Henry Tissier, Bifidobacterium'u bir bebekten izole etmiştir ve bağırsaktaki patojen bakterilerin yerini alabileceğini belirtmiştir [218].

Bu keşifler sağlığı teşvik eden bakterilerle ilgili araştırmaları ve hastalıkların önlenmesindeki rollerini hızlandırmıştır. İlk insan çalışmalarından biri olan 1922'de, kronik kabızlık, ishal veya egzaması olan 30 hastada Lactobacillus acidophilus kullanılmıştır ve her 3 durum içinde iyileşmeler tespit edilmiştir [219].

1932'de yapılan bir çalışmada, kabızlık ve mental bozukluğu olan hastalarda L. acidophilus'un etkisi doğrulanmıştır [220].

1930'larda, yoğurt içerisindeki bakterilerin (Lactobacillus bulgaricus ve Streptococcus thermophilus) insan bağırsağında kolonileşme yeteneğine sahip olmadığı, probiyotikler için yoğurtların en iyi araç olduğu fikri sorgulanmıştır. Farklı bir suş olan L. acidophilus süte ilave edilmiştir ve insan kolonunda kolonize olduğu bulunmuştur [221].

1940'lı yıllardaki mikrobiyolojik araştırmaların çoğu, patojenik bakterileri, bakteri ve mayaların sağlığı teşvik eden suşlarını tanımlamaya odaklanmıştır. 1950'lerde ve 1980'lerde, probiyotik araştırmaları doğada veya insan konaklarındaki izolatlardan potansiyel probiyotik suşları taramaya ve probiyotik suşları için etki mekanizmalarını tanımlamaya odaklanmıştır [222].

“Probiyotik” terimi ilk önce Lilley ve Stillwell tarafından 1965 yılında bir mikroorganizmanın salgıladığı ve büyümesini teşvik eden maddeleri tarif etmek için kullanılmıştır [223].

1974'te Parker bu tanımı “bağırsağın mikrobiyal dengesine katkıda bulunan organizmalar ve maddeler” olarak değiştirmiştir [224].

Yunancadan gelen probiyotik kelimesi ‘yaşam için’ anlamına gelmektedir. 2001 yılında Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) ve Gıda ve Tarım Örgütü (FAO)

probiyotikleri, yeterli miktarda tüketildiğinde konağa fayda sağlayan canlı organizmalar olarak tanımlamıştır.

Dünya Sağlık Örgütü, bağırsaktaki yararlı etkilerini gösterebilmeleri için probiyotikleri, ‘sindirim kanalı boyunca safra ve asitlere karşı dayanıklılık gösterebilmeli’olarak nitelendirmiştir [225,226].

2013 yılında, Dünya Gastroenteroloji Örgütü, probiyotik ve prebiyotiklerle ilgili global kılavuz ilkelerini yayınlamıştır ve probiyotiklerin etkinliğinin suşa ve doza özgü olduğunu teyit etmiştir ve birçok kişinin yoğurdu probiyotik olarak kabul ettiği efsanesini reddetmiştir [227].

Probiyotikler, cins, tür ve suşlarına göre tanımlanmakta ve protiyotik amaçlı kullanılan birçok mikroorganizma bulunmaktadır [228].

Probiyotik suşları, familya, tür ve alt türler aracılığıyla belirlenmektedir. DSÖ/FAO, Uluslararası Yaşam Bilimleri Enstitüsü ve Avrupa Besin ve Beslenme Birliği, probiyotikler için birtakım kriterler belirlemiştir. Güvenirlik, teknolojik ve fonksiyonellik özelliklerine göre probiyotiklerin seçilme kriterleri: İnsan orijinli olmalı, gram (+) organizma olmalı, gastrik ve safra asidine karşı dirençli olmalı, barsakta mukozaya ve epitelyal yüzeylere tutunabilmeli, barsakta çoğalabilmeli, dozaj ve kullanım süresi tanımlanmalı, patojenik ve karsinojenik bakterilere karşı antagonistik aktiviteye sahip olmalı, sağlığa yararlı etkisi, in vitro/hayvan ve /veya insan testleriyle belirlenmiş olmalı, klinik olarak sağlık etkisi kanıtlanmış olmalıdır [229,230].

Probiyotik organizmaların, maksimum terapötik etki göstermelerini sağlamak için bazı özellikler gerekmektedir. Bu özelliklerden bazıları, bir probiyotik için mide asidi ve safra tuzu stabilitesi, bağırsak mukozasına yapışma kabiliyeti ve bağırsak kanalını kolonize etme kabiliyeti de dahil olmak üzere terapötik etkilere sahip olmak için gerekli görülen bazı hususlar vardır [231].

En yaygın kullanılan probiyotik türleri, laktobasilller, bifidobakteriler ve saccharomyces türleridir [228].

Tablo 4.9.1. Yaygın Kullanılan Probiyotik Türleri [228]

<i>Lactobacillus spp.</i>	<i>acidophilus</i> <i>plantarum</i> <i>rhamnosus</i> <i>paracasei</i> <i>fermentum</i> <i>reuteri</i> <i>johnsonii</i> <i>brevis</i> <i>casei</i> <i>lactis</i> <i>delbrueckii gasseri</i>
<i>Bifidobacterium spp.</i>	<i>breve</i> <i>infantis</i> <i>longum</i> <i>bifidum</i> <i>thermophilum</i> <i>adolescentis</i> <i>animalis</i> <i>lactis</i>
<i>Bacillus spp.</i>	<i>Coagulans</i>
<i>Streptococcus spp.</i>	<i>Thermophilus</i>
<i>Enterococcus spp.</i>	<i>Faecium</i>
<i>Saccharomyces spp.</i>	<i>Cerevisiae</i>

4.9.2. Probiyotiklerin Etki Mekanizması

Probiyotiklerin bağırsak üzerinde olumlu etkileri bulunmakla birlikte, gerçekleştirdikleri mekanizmalar tam olarak açıklanamamıştır. Ancak, olumlu etkilerini açıklayan birçok mekanizma bulunmaktadır [228].

Probiyotiklerin mekanizmaları arasında, epitelyal bariyer fonksiyonunun güçlendirilmesi, antimikrobiyal maddelerin üretimi, intestinal mukozaya adezyonda rekabet, immün sistemin modülasyonu bulunmaktadır. Probiyotikler, goblet hücreleri aracılığıyla mukus sekresyonunu indükleyerek, tight junction proteinleri ve hücre iskeletini koruyarak, antimikrobiyal maddeler üreterek ve sekretuvar IgA salınımını artırarak korumaktadır. Bağırsak bariyeri, epitelyal bütünlüğü ve organizmayı çevreden koruyan önemli bir savunma mekanizmasıdır [232].

Bariyer fonksiyonu bozulursa, bakteriyel ve gıda antijenleri submukoza ulaşabilir ve inflamatuvar bağırsak hastalığı gibi bağırsak rahatsızlıklarına yol açabilecek inflamatuvar tepkilere neden olabilir [233]. Patojen olmayan bakterilerin, bağırsak bariyer fonksiyonuna katkıda bulunabileceği belirtilmiştir. Ancak, probiyotiklerin bağırsak bariyer fonksiyonunu geliştirdiği mekanizmalar tam olarak anlaşılmamıştır. Bağırsak mukozasına yapışma, kolonizasyon için ön koşul olarak kabul edilir ve probiyotik suşları ile konak arasındaki etkileşim için önemlidir. Probiyotiklerin bağırsak mukozasına yapışması, bağışıklık sisteminin modülasyonu ve patojenlere karşı antagonizm için de önemlidir [234, 235].

Probiyotikler, patojenik organizmaların virulansını ve büyümesini inhibe eden bakteriosin, rutein, hidrojen peroksit, nitrik oksit ve kısa zincirli yağ asiti gibi maddeler üreterek antimikrobiyal etki göstermekte ve barsak mikro çevresini değiştirebilmektedir [228, 236-238].

Uluslararası Probiyotik Derneği probiyotiklerin; patojen bakterilerin büyümesine ve hayatta kalmasına karşı müdahale ettiğini; mukozal bariyer fonksiyonlarını ya da mukozal immün sistemin gelişmesini sağladığını, organ fonksiyonlarında, hormonların ve karsinojenlerin metabolizmasında olumlu etkileri olduğunu, K vitamini, pantotenik asit, B6 ve biotin ile kısa zincirli yağ asitleri sentezinde yararlı bir rol aldıklarını bildirmiştir [239].

4.9.3. İntestinal Mikrobiyota ve Non alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı İle İlişkisi

Mikrobiyota terimi, ökaryotlar, bakteriler, virüsler gibi kompleks bir ekosistemi içeren mikroorganizmaların tümünü içeren ve bulunduğu yeri belirten bir kavramdır [240].

Yetişkin bir insan bağırsağında 500-1000 farklı türden 10-100 trilyon mikroorganizma bulunmakta ve bu mikroorganizmalar metabolik ve biyolojik fonksiyonları açısından konağa fayda sağlamaktadır [241, 242]. Non alkolik yağlı karaciğer hastalığının patogenezi ve intestinal mikrobiyota ile ilişkisi kompleks, multifaktöriyel ve tek bir mekanizmaya bağlı değildir [243].

Hastalığın patogenezi ve mikrobiyotanın ilişkisi, mikrobiyota ile karaciğer reseptörleri arasındadır ve bu durum ‘Bağırsak-karaciğer eksenı’ olarak tanımlanmıştır [244, 245].

Bir trilyon mikroorganizma insan bağırsağında yaşamaktadır ve bağırsak mikroflorası karaciğer üzerinde çift etkiye sahiptir. Bağırsak mikroflorası tarafından üretilen etanol, amonyak ve asetaldehit gibi fermentasyon ürünleri karaciğerde metabolize edilmektedir. Ayrıca, bağırsak mikro florasındaki lipopolisakarit, endotoksin olarak sürekli olarak salınır ve TLR-4 reseptörü ile kılcal damarlara taşınır [14]. Bu, sitokinlerin oluşumunu ve karaciğerden salgılanmasını sağlamaktadır. Karaciğer hasarının ve fibrozun kısmen lipopolisakkarit (LPS) gibi bakteri ürünlerine maruz kalmasından kaynaklanabileceği ileri sürülmektedir [246].

Son zamanlarda yapılan çalışmalar, bağırsak mikro florasındaki çeşitliliğin NAYKH / NASH gelişimine olası bir etkisi olabileceğini bildirmiştir [12,13]. Bu hastalığa sahip bireylerin mikrobiyotalarında bakteri sayısı ve çeşitliliği değişmektedir. Disbiyozis durumu oluşmaktadır [247,248]. Disbiyozis hepatik steatoz gelişiminde ve inflamasyonda önemlidir [249]. Mevcut araştırmalar, NAYKH ve diğer birçok hastalıkta disbiyozun modüle edilmesinde probiyotiklerin kullanımını önermektedir.

Miele ve ark.'ları NAYKH'in, artan bağırsak geçirgenliği ile ve bu hastalarda ince bağırsakta aşırı bakteri üreme (SIBO) prevalansı ile ilişkili olduğuna dair ilk kanıtları sağlamıştır. Artan geçirgenlik, bağırsaktaki hücreler arası bağlantıların kopmasından kaynaklanıyor gibi görünmektedir ve NAYKH patogenezinde önemli bir rol oynayabilmektedir [250]. Probiyotikler zararlı bakterilerin çoğalmasını engellemekte, SIBO'yu azaltmakta, gastrointestinal bariyer fonksiyonunu güçlendirmekte ve bağışıklık sistemini düzenlemektedir [251]. Loguercio ve ark.'ları probiyotiklerin karaciğer hasarını azaltabileceğini ve karaciğer fonksiyonunu iyileştirebileceğini göstermiştir [252].

Probiyotikler, belirli dozajlarda alındığında yararlı mikroorganizmalardır. Bazı çalışmalar, probiyotik takviyeleri ile bağırsak mikrobiyota manipülasyonunun karaciğer yetmezliği, LPS konsantrasyonunun azalması ve bununla birlikte aminotransferaz konsantrasyonlarının azalması ile ilişkili olduğunu göstermiştir [253].

Geçtiğimiz on yılda NAYKH'da bağırsak mikrobiyotası, farelerde ve insanlarda hem obezite hem de obezite patogenezinde giderek artan bir kritik faktör olarak kabul edilmiştir [254]. Obezite veya diyabeti olmayan birçok hastada NAYKH görülmektedir. Bunun nedeni olarak başka faktörler üzerinde durulmaktadır. Örneğin, barsakta bakteriyel aşırı çoğalmanın rol oynadığı düşünülmektedir. Burada, barsak florasının ürettiği amonyak ve asetaldehit gibi toksik maddelerin karaciğer üzerindeki toksik etkileri gösterilmektedir. Üretilen bu maddeler karaciğer tarafından metabolize edilmekte ve endotoksinler aracılığıyla salınan sitokinler, Kupfer hücrelerinin hiperplazisine yol açmaktadır [113]. Sağlıklı bireylerde kolonize olmuş bağırsak florası, beslenme, hastalık, yaşlanma ve stres gibi birçok fizyolojik ve çevresel faktörden etkilenmektedir. Bu nedenle, probiyotikler bağırsak florasını dengelemek için yararlı bir ajan olarak önerilmektedir. Bağırsakla fonksiyonel bağlantısı olan karaciğer, sürekli olarak salınan bağırsaktan türetilmiş bakteri fraksiyonlarına ve metabolitlerine karşı ilk organ bariyeri olarak bilinmektedir. Karaciğer makrofajları olarak kupffer hücreleri özellikle bakteriyel fagositoz ve endotoksin miktarını azaltmaktadır [15].

Bağırsak mikrobiyomunun NAYKH'ın önlenmesinde ve tedavisinde önemi, NAYKH'lı farelerden yapılan fekal transplantasyonun, NAYKH'a neden olduğu gerçeğiyle vurgulanmaktadır [255]. Bunlara ek olarak, mikrobiyota değişimi hastalık şiddetini de değiştirebilmektedir [256]. Bu nedenle probiyotikler, bağırsak mikro florasının modülasyonu için etkili biyolojik faktörler olarak kullanılmaktadır ve son zamanlarda karaciğer fonksiyonlarını iyileştirmek için doğal araçlar olarak önerilmektedir [257].

Non alkolik yağlı karaciğer hastalığı için, Amerikan Karaciğer Hastalıkları Çalışma Derneği, Amerikan Gastroenteroloji Akademisi ve Amerikan Gastroenteroloji Derneğinin 2013 yılında yayınladığı kılavuzda probiyotik kullanımı ile ilgili herhangi bir kanıt ve öneri bulunmamaktadır [120].

İngiltere'nin 2016 yılında çıkardığı kılavuzda, NAYKH'da probiyotik kullanımı ile ilgili olarak çalışmaların yetersiz olduğu ve çift kör, randomize plasebo kontrollü çalışmalara gereksinim duyulduğu belirtilmiştir [258].

Dünya Gastroenteroloji Organizasyonu tarafından 2017 yılında yayınlanan Global Kılavuzda probiyotiklerin, HOMA, kolesterol, TNF- α , AST ve ALT değerlerinde düzelme sağladığı ancak sağlık üzerine uzun dönem etkisinin değerlendirilebilmesi için daha fazla çalışmaya gereksinim duyulduğunu belirtilmiştir [227].

Ülkemizde Türk Gastroenteroloji Derneği de Amerikan kılavuzlarına atıfta bulunarak, NAYKH'da rutin probiyotik kullanımından bahsetmemektedir [259]. Bu hastalık için önerilen tedavi olarak probiyotiklerin uygulanması bu alanda yeni bir görüşe yol açmıştır. Ancak, bu kavramı destekleyecek sınırlı sayıda çalışma vardır. Daha fazla araştırmaya gereksinim duyulmaktadır.

4.10. Omega-3 Yağ Asitleri ve Non alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı İle İlişkisi

Çoklu doymamış yağ asitleri omega-3 ve omega-6 yağ asitleri olmak üzere ikiye ayrılır ve insan sağlığı açısından gereklidir. Omega-3 ve omega-6 yağ asitlerinin dengesi insan sağlığı açısından önemlidir ve istenen oran 4:1 dir. Ancak yapılan çalışmalarda, NAYKH'a sahip hastalarda omega-6 yağ asitlerinin oranının yüksek, omega-3 yağ asitleri oranının düşük olduğu bulunmuştur. NAYKH'a sahip hastalarda bu oran 20-25: 1'dir [260, 261]. Bu yüzden NAYKH tedavisinde ve hastalığın önlenmesinde omega-3 yağ asitlerinin gerekli olduğu belirtilmektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, yağ türlerinin hepatositleri iltihaplanma sürecine duyarlı hale getirdiğini ortaya koymaktadır [262].

Zelber-Sagi ve ark.'ları yaptıkları kesitsel bir çalışmada, NAYKH tanılı bireylerin belirgin bir şekilde daha fazla et tüketimine ve omega-3 yağ asitleri bakımından zengin balıkların düşük tüketimine meyilli oldukları bulunmuştur. Omega-6 / Omega-3 yağ asitleri oranının yüksekliğinin nedeni olarak omega-6 yağ asitlerinin ette bulunmasından kaynaklandığı belirtilmektedir [173].

Omega-3 yağ asitleri sadece serbest oksijen reaktifleri ve insülin direnci üzerine değil aynı zamanda peroksizom proliferator aktivatör reseptör- α (PPAR- α), sterol regülatör element-binding protein-1, karbonhidrat responsive element-binding protein gibi düzenleyici gen transkripsiyon faktörleri vasıtasıyla ateroskleroz, endotelial disfonksiyon, hiperlipidemi ve hipertansiyon gibi kardiyometabolik risk faktörleri üzerine de faydalı etkileri vardır. Ayrıca, omega-3 yağ asitleri, hepatik beta oksidasyonu artırmakta, endojen lipid üretimini ve TNF-a ve IL-6 gibi proinflamatuvar moleküllerin üretimini önemli ölçüde azaltmaktadır [263]. Çoklu doymamış yağ asitlerinden olan omega-3 yağ asitleri lipid metabolizmasını, inflamasyonu ve kardiyovasküler hastalıkları iyileştirmektedir [264, 265]. Takeuchi ve ark.'ları yaptıkları çalışmada, PUFA'nın hepatosteatozu baskıladığını bildirilmiştir [266].

Ancak omega-3 yağ asitlerinin hepatosteatoz veya fibroz üzerindeki etkilerine karşı insan çalışmaları için tutarsız raporlar belirtilmiştir [267]. Omega-3 yağ asitleri

klınkte hıpertrıglıserıdemı tedavısnnde kullarılmaktadır [268]. Omega-3'ün hepattk TG bırıkımnı bastırđına ve azalttığına ve böylece hayvan modellernde NAYKH azalttığına dair kanıtlar belırtılmektedir. Ancak, NAYKH'da omega-3'ün yararının klınık kanıtı belırtılmemıştır [269]. Deneyssel çalışmalar, omega-3 yağ asıtı ile zengınleştırılmış diyetlerin sıçanlarda insülin duyarlılığını arttırdığını [270] intrahepatık trıglıserıt içeriğını azalttığını ve steatohepatıtı iyileştirdiğını göstermıştır [139]. Pacıfıco ve ark.'ları yaptıkları çalışmada, NAYKH'a sahıp 51 çocık değerlendirılmıştır. Bır gruba 250 mg/gün DHA suplemıntı verılmıştır. Dığer gruba 290 mg/gün plasebo verılmıştır. 6 ay süren çalışmada sonuç olarak, NAYKH'a sahıp çocık ve ergenlerde DHA desteğı karacığer ve viseral yağı azaltmıştır ve metabolık anormallıkleri iyileştirmıştır [271].

Scorletti ve ark.'ları yaptıkları çift kör, randomize kontrollü bır çalışmada, NAYKH' a sahıp 103 hasta 2 gruba ayrılmıştır. İlk gruba DHA+EPA (51 kışı) 4 g/gün (Omacor/lovaza) verılmıştır. İkncı gruba (52 kışı) plasebo verılmıştır. Çalışma 15 ay sürmüştür. Sonuçta DHA+EPA alan grupta karacığer yağ yüzdesı anlamlı derecede azalmıştır [267]. Argo ve ark.'ları yaptıkları çalışmada, 34 NAYKH hastası 2 gruba ayrılmıştır. 1 yıl boyunca 17 kışı 3000 mg/gün omega-3 takvıyesi, 17 kışı de plasebo almıştır. Tüm bıreylerin kalori alımları ve fıızksel aktıvıtelere kayıt edılmıştır. Bu çalışma, omega-3 PUFA'nın NAYKH hıstolojik aktıvıtesı üzerinde 1 yıllık tedavi ile önemli bır etkıye sahıp olmadığını göstermektedır, ancak bulgular n-3 PUFA'nın karacığer yağı içeriğında azalmaya ve lıpit kompozısyonundakı değerışıklıkleredenen olduğunu göstermektedır [272]. Depner ve ark.'ları yaptıkları çalışmada, erkek Ldlr-/- (C57BL/6) fareler 5 gruba ayrılmıştır. Her grupta 8 fare yer almıştır. 16 hafta boyunca bır grup zeytın yağı (OO)+ batı diyeti, İkncı gruba batı diyeti+ EPA, üçüncü gruba batı diyeti+ DHA, beşıncı gruba batı diyeti+ (EPA + DHA) ile takvıye edılmıştır. Batı diyeti (WD) + OO ile beslenme hepatosteatoz, inflamasyon, oksıdatıf stres ve fıbrozıs ile karakterize olan cıddı NASH fenotıpını indüklemıştır. Batı diyeti (WD) ve omega-3 PUFA'nın, tüm ana metabolık yolları etkıleyen hepattk metabolızma üzerinde genış etkılerı olduğu ortaya konulmuştur [273].

Konuma ve ark.'ları yaptıkları çalışmada, MC4R-KO fareleri üzerinde EPA'nın etkisi araştırılmıştır. EPA tedavisinin, MC4R-KO farelerinde karaciğer fibrozunun gelişmesini ve ilerlemesini etkili bir şekilde önlediğini ve hepatik steatozun belirgin bir şekilde azaldığı gösterilmiştir. Bu çalışma, EPA'nın yeni bir anti-fibrotik mekanizmasını açığa çıkarmakta ve böylece NASH tedavisi için klinik bir sonuç ortaya koymaktadır [274].

Suzuki-Kemuriyama ve ark.'ları yaptıkları çalışmada, aterojenik yüksek yağlı diyetle indüklenen NAYKH'ın önlenmesinde omega-3 PUFA'ların eikosapentaenoik asit (EPA, C20: 5) ve dokosaheksaenoik asitin (DHA, C22: 6) etkileri 4 hafta araştırılmış ve karşılaştırılmıştır. EPA ve DHA, hepatik lobüler inflamasyon ve artmış serum transaminaz aktivitesi gibi NASH' ın patolojik özelliklerini azaltmıştır [275].

Omega-3 yağ asitleri ile ilgili cesaret verici çalışmalar olmakla beraber iyi dizayn edilmiş randomize kontrollü, büyük çalışmalara ihtiyaç vardır.

5.MATERYAL VE METOT

5.1. Araştırma Yeri Zamanı ve Örneklem Seçimi

Araştırmaya, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından alınan 13.12.2018 tarihli ve 17-9 sayılı kararı ile başlanmıştır. Araştırma örneklem büyüklüğü ve güç analizinin hesaplanması için G-Power 3.1.3 paket programı kullanılmıştır. Bu araştırma, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Birimi (DETAB) 'nde sağlıklı, 8-12 haftalık, 200-250 g ağırlığındaki 40 adet Wistar Albino cinsi erkek sıçanlar üzerinde yürütölmüştür. Çalışma boyunca Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan alınan izin doğrultusunda deney hayvanları ile çalışma ilkelerine bağlı kalmıştır.

Hayvanlar, çalışmadan bir hafta öncesinden 21 ± 2 C' de sabit oda ısısında, doğal gece-gündüz siklusları korunup, ad libitum olarak taze içme suyu ve standart laboratuvar yemi verilerek saklanmıştır. Çalışmaya başlandığı zaman rastgele bir şekilde sıçanlar beş guruba ayrılıp her grupta 8 hayvan olacak şekilde yerleştirilmiştir.

5.2. Deney Grupları ve Besin Desteği

Sıçanlar 5 gruba ayrılmıştır ve 7 hafta süresince izlenmiştir.

1.Grup: Kontrol grubu

2.Grup: Yüksek Fruktozlu Mısır şurubu (YFMş) grubu

3.Grup: Yüksek Fruktozlu Mısır şurubu (YFMş) + Omega-3 yağ asidi

4.Grup: Yüksek Fruktozlu Mısır şurubu (YFMş) + Probiyotik

5.Grup: Yüksek Fruktozlu Mısır şurubu (YFMş) + Probiyotik + Omega-3 yağ asidi

1.Grup: Çalışma süresince standart laboratuvar yemi ve su ile beslenmiştir.

2.Grup: Yüksek Fruktozlu Mısır Şurubu (%55 fruktoz, % 45 glikoz) temin edilmiştir ve içme suyuna eklenmiştir. Deney süresi boyunca standart laboratuvar yemi ile beslenmiştir.

3.Grup: Yüksek Fruktozlu Mısır Şurubu (%55 fruktoz, % 45 glikoz) ile beraber 400 mg/kg omega-3 yağ asidi gavaj yöntemiyle verilmiştir. Deney süresi boyunca standart laboratuvar yemi ile beslenmiştir.

4. Grup: Yüksek Fruktozlu Mısır Şurubu (%55 fruktoz, % 45 glikoz) ile beraber $1,5 \times 10^9$ kob/mL/gün canlı probiyotik bakteri içecek şekilde probiyotik gavaj yöntemiyle verilmiştir. Deney süresi boyunca standart laboratuvar yemi ile beslenmiştir.

5.Grup: Yüksek Fruktozlu Mısır Şurubu (%55 fruktoz, % 45 glikoz) ile beraber 400 mg/kg omega-3 yağ asidi ve $1,5 \times 10^9$ kob/mL/gün canlı probiyotik bakteri içecek şekilde probiyotik gavaj yöntemiyle verilmiştir. Deney süresi boyunca standart laboratuvar yemi ile beslenmiştir.

Çalışma süresince sıçanların yem ve su tüketimi, günlük verilen yem ve su miktarından artan yem ve su miktarı çıkartılarak tüketilen yem ve su miktarı bulunmuş ve 7 hafta süreyle kayıt altına alınmıştır. Sıçanların vücut ağırlığı deneye başlamadan önce, 3. haftanın sonunda ve son hafta sakrifiye edilmeden önce aynı saatte ölçülmüş ve kaydedilmiştir. 3 hafta boyunca yüksek fruktozlu mısır şurubu dört grubun (2.Grup, 3.Grup, 4.Grup, 5.Grup) içme suyuna (%30'luk çözelti) olacak şekilde eklenmiştir ve ad libitum beslenmişlerdir. 3 haftanın sonunda 3.Grup, 4. Grup ve 5. Gruba omega-3 yağ asiti ve probiyotik gavaj yöntemiyle 4 hafta boyunca verilmiştir. 1. ve 2. gruba da aynı stresi oluşturmak için %0,9'luk NaCl, 0.2 cc gavaj yöntemiyle verilmiştir. Probiyotik, omega-3 yağ asidi ve serum fizyolojik uygulamaları her gün aynı saate ve aynı grup sırası izlenerek yapılmıştır. 7 haftanın sonunda sıçanlardan kan örnekleri ve dokular alınıp sakrifiye edilmiştir.

Probiyotik Desteği

Sıçanlar 3 hafta süresince, probiyotik desteği almaksızın standart pellet yem ve kontrol grubu hariç yüksek fruktozlu mısır şurubu eklenmiş içme suyu ile beslenmiştir. 3.haftanın sonundan itibaren 4 hafta boyunca 4. ve 5. Gruptaki sıçanlara gavaj yoluyla her uygulamada $1,5 \times 10^9$ kob/mL/gün canlı probiyotik bakteri içerecek şekilde, günlük standart diyetine ek olarak VSL#3 probiyotik preparatı (Alfasigma USA, Inc.) eklenmiştir. VSL#3 içerisinde *Lactobacillus acidophilus*, *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lb. casei*, *Lb. plantarum*, *Bifidobacterium breve*, *B. longum*, *B. infantis* ve *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* probiyotik bakteri suşları bulunmaktadır.

Omega-3 Yağ Asidi Desteği

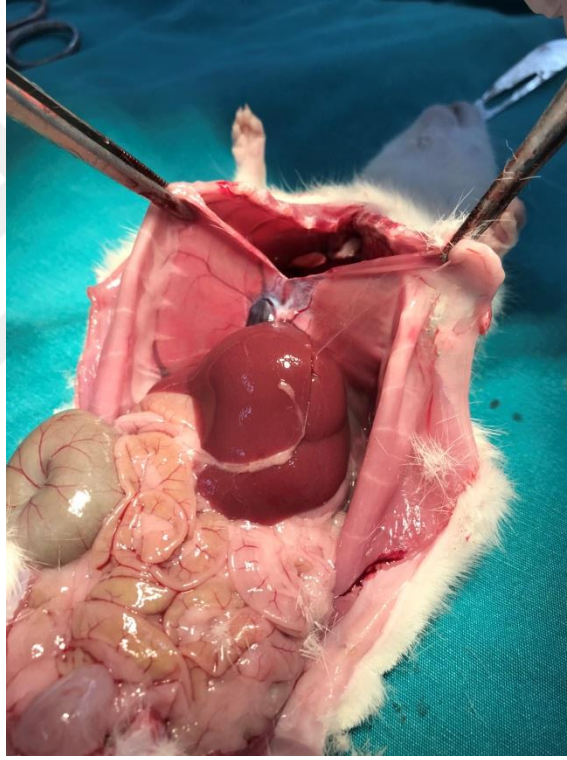
Sıçanlar 3 hafta süresince, omega-3 desteği almaksızın standart pellet yem ve kontrol grubu hariç yüksek fruktozlu mısır şurubu eklenmiş içme suyu ile beslenmiştir. 3.haftanın sonundan itibaren 4 hafta boyunca 3. ve 5. gruptaki sıçanlara gavaj yoluyla 400 mg/kg/gün omega-3 olmak üzere, günlük standart diyetine ek olarak ‘Omega-3 950 (Solgar Inc) verilmiştir. Omega-3 950, her bir yumuşak kapsülde, 504 mg eikosapentaenoik asid (EPA), 378 mg dokosahekzaenoik asid (DHA) olmak üzere toplam 950 mg omega-3 yağ asidi içermektedir.

Probiyotik ve Omega-3 Yağ Asidi Desteği

Sıçanlar 3 hafta süresince, omega-3 ve probiyotik desteği almaksızın standart pellet yem ve kontrol grubu hariç yüksek fruktozlu mısır şurubu eklenmiş içme suyu ile beslenmiştir. 3 haftanın sonunda 5. gruba omega-3 950 (Solgar® Inc.) ve VSL #3 probiyotik preparatı (Alfasigma® USA, Inc.) gavaj yöntemiyle 4 hafta boyunca verilmiştir.

5.3. Verilerin Toplanması ve Ölçüm Yöntemleri

Yedi haftalık çalışmanın sonunda, kesim ağırlıkları kayıt altına alındıktan sonra 100 mg/kg ketamin, 10 mg/kg ksilazin intreperitoneal yoldan uygulanarak anestezi yapılmıştır. Sıçanların kuyruklarından uyarıcı vererek anestezinin derinliği kontrol edilmiştir. Sıçanlardan intrakardiyak olarak 5cc kan örnekleri alındıktan sonra batin bölgesi batikonlanarak cerrahi prosedüre geçilmiştir. Karaciğer hızlı bir şekilde çıkarılmıştır ve hassas terazide tartılmıştır. Karaciğerin yarısı histoloji için %10 formalin solüsyonuna konulmuştur. Diğer yarısı biyokimyasal parametreler için alimünyum folyaya sarılarak -80 °C 'de muhafaza edilmiştir.



Resim 5.3. Sıçanların Batin Bölgesinin Açılması ve Karaciğerin Çıkarılması

Biyokimyasal Parametrelerin İncelenmesi

Yedinci haftanın sonunda hayvanlar ketamin hidroklorid (100 mg/kg) ve ksilazin hidroklorid (10 mg/kg) anestezisi altında intrakardiyak yoldan kan alınarak sakrifiye edilmiştir. EDTA kaplı tüp ve jelli kuru tüp içine alınarak 4°C'de 4400 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Böylece plazma ve eritrosit hemolizati elde

edilmiştir. Alınan kan örneklerinden elde edilen serumlar aynı gün içinde laboratuvara gönderilmiştir.

Laboratuvarda tüm gruplara ait serum örneklerinde serum glukoz, total kolesterol (TK), trigliserit (TG), karaciğer enzimleri olan alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST), Alkalen fosfataz (ALP) seviyeleri ölçülmüştür. Bu biyokimyasal parametrelerin çalışılmasında, Roch Cobas c501 cihazıyla Roch kitleri kullanılmıştır.

Karaciğer Dokusunda Yapılan İncelemeler

Karaciğer Dokusu Homojenatlarının Hazırlanması: Karaciğer doku örnekleri -80 °C’de dondurulmuştur. Biyokimya çalışmaları öncesinde homojenize edilmek üzere karaciğer doku örnekleri kesilmiş ve tartılmıştır. Sonraki aşamada dokular buz üzerinde manüel olarak mekanik parçalanmaya tabi tutulmuştur. Ardından örnekler +4°C’de 14.000 rpm’de 30 dakika santrifüj edilmiş ve supernatantlar toplanmıştır.

Karaciğer Dokusu Trigliserid, Total Kolesterol Düzeylerinin Ölçümü

Doku Homojenizasyonu ve Lipit Ekstrelerinin Hazırlanması: Karaciğer dokusu tartılarak, Potter-Elvehjem doku homojenizatöründe, soğuk 0.15 M KCl çözeltisi ile % 10’luk homojenat (a/h) hazırlanmıştır. Hazırlanan homojenatlardan Folch ve ark.’ larının yöntemine göre 0.25 mL alınarak, üzerine 3.75 mL kloroform: metanol (2:1) karışımı eklenmiştir. İyice karıştırılmıştır, 1 saat ara sıra karıştırılarak beklenmiştir. Daha sonra süzülerek son hacimler kloroform:metanol (2:1) karışımı ile 4 mL’ye tamamlanarak lipit ekstreleri hazırlanmıştır [276].

İşlem: Hazırlanan lipit ekstresinden 1 mL alınmıştır ve kaynar su banyosunda uçurulmuştur. Daha sonra lipit kalıntısı üzerine 0.4 mL etanol: dietileter (3:1) karışımı eklenmiştir, vorteks ile iyice karıştırılmıştır. Bu ekstreten, 0.1 mL alınmıştır; üzerine TK ve TG tayinleri için kullanılan kitlerdeki (BIOLABO SA, Maizy-France) ayıraçlardan 1 mL eklenmiştir. Tüpler 37 °C’de 5 dk tutulmuştur ve oluşan renk 505 nm’de spektrofotometrede okunmuştur. Sonuçlar µmol kolesterol/g doku ve µmol TG/g doku olarak verilmiştir.

Karaciğer Dokusu Total Protein Düzeyi Ölçümü

Doku protein miktarı, BCA metodu ile belirlenmiştir.

Ayırıcılar: BCA (Bicinchoninic acid solution, # B 9643; Sigma, USA) , % 4 CuSO₄ , Protein renklendirme ayırıcı: 10 mL BCA çözeltisi üzerine 0.2 mL % 4 CuSO₄ eklenerek hazırlanmıştır.

İşlem: 200 µL protein renklendirici ayırıcı üzerine sulandırılmış karaciğer süpernatantlarından 10 µL ilave edilmiştir. Karıştırıldıktan sonra 370 °C’de 30 dk beklenmiştir. Oda ısısında soğutulmuştur ve oluşan rengin absorbansı 562 nm’ de mikropłaka okuyucusunda okunmuştur [277].

Karaciğer Dokusu Lipid Peroksidasyon (MDA) ve Glutatyon (GSH) Tayini

Yağ asitlerinin, serbest radikallerle reaksiyonu sonucu oluşan başlıca peroksidasyon ürünlerinden malondialdehid (MDA), tiyobarbiturik asit (TBA) ile pembe kırmızı renkli oluşturduğu bileşik 532 nm’de spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Glutatyondaki sülfidril (SH) gruplarının 5,5-dithiobis-2-nitrobenzoik asit (DTNB) ile oluşturduğu sarı renkli bileşiğin absorbansı 412 nm’de spektrofotometre ile ölçülmüştür [278].

Karaciğer Dokusu Sitokin Tayini

Dokuların, IL-6, TNF-α düzeylerinin belirlenmesi sıçanlardan alınan karaciğer dokularının homojenize edilmesi ile elde edilen homojenizatın, uygun ticari kitler kullanılarak değerlendirilmesi yoluyla gerçekleştirilmiştir. Dokulardan yapılacak olan sitokin (IL-6, TNF-α) tayininde, karaciğer dokularının homojenize edilmesi ile elde edilen homojenizat, uygun ticari kitler kullanılarak ELISA yöntemiyle değerlendirilmiştir. Enzim bağlantılı bağışıklık testi (ELISA) kiti ile (Sunredbio, Shanghai, Çin) sıçanlarda test edilmek istenen belirteç, çift-antikor sandviç tekniği prensibine dayalı yapılmıştır.

5.4. Histopatolojik Örneklerin İncelenmesi

Karaciğer dokuları % 10 formalin çözeltisinde 1 gün bekletilmiştir. 24 saat fikse edildikten sonra trimleme işlemi yapılmıştır. 24 saat sonra yıkama işlemine geçilmiştir. Dokular sırasıyla (%70, %80, %96, %100) alkolde 1'er saat tutulmuştur. Dokular rutin takibe alınarak parafin bloklara gömülmüştür. Parafin bloklardan 5µ'luk kesitler alınarak hemotoksilen eozin ile boyanmıştır. Işık mikroskopunda (Olympus CX21- Japan) incelenerek, bulguların fotoğrafları çekilmiştir. Histopatolojik skora, Kleiner sınıflamasına göre yapılmıştır. Histopatolojik incelemeler körleme yapılmıştır.

Tablo 5.4. Non Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı Skorlama Sistemi [107]

Steatoz		Lobular İnflamasyon		Hepatosellüler Balonlaşma	
0	<%5	0	Yok	0	Yok
1	%5-33	1 alan	<2 odak / x 200	1	Hafif (az)
2	%34-66	2 alan	2-4 odak /x 200	2	Orta (belirgin)
3	>%66	3 alan	>4 odak / x 200		

Karaciğer Dokusunda Hemotoksilen Eozin Protokolü;

- 1. Deparafinizasyon:** Dokular 10'ar dakika 3 farklı Xylende bekletilmiştir.
- 2. Dehidrasyon:** Dokular sırasıyla 5'er dakika %100- %90- %80- %70 alkolde bekletilmiştir.
- 3. Yıkama:** Dokular 5-10 dakika boyunca distile suda yıkanmıştır.
- 4. Mayer's hemotoksilen aşaması:** 10 dakika boyunca bekletilmiştir.
- 5. Yıkama:** Tekrar dokular 5-10 dakika boyunca distile suda yıkanmıştır.
- 6. Eosin aşaması:** 3 dakika boyunca bekletilmiştir.
- 7. Yıkama:** Tekrar dokular 5-10 dakika boyunca distile suda yıkanmıştır.
- 8. Alkol aşaması:** Sırasıyla %70 ve %80 alkolde 1 dakika, %90 ve %100 alkolde 2 dakika bekletilmiştir.
- 9. Xylen aşaması:** Dokular 3 farklı Xylende 5 dakika bekletilmiştir.
- 9. Yapıştırma:** Xylendeki dokular yapıştırma için alınmıştır. Burada teker teker çıkarılıp sentetik reçine (Entellan) ile yapıştırılıp kurumaya bırakılmıştır.

5.5. Verilerin Analizinde Uygulanan İstatistiksel Yöntemler

Araştırmanın istatistiksel analizlerinde SPSS 22.0 istatistik programı kullanılmıştır. İstatistiksel analizde veriler tanımlayıcı değerler, aritmetik ortalama $\pm$ standart sapma, minimum, maksimum olarak ifade edilmiştir. Verilerin analizinde serilerin normal dağılıma uygun olup olmadığını ortaya koymak amacıyla Kolmogorov-Smirnov testi uygulanmıştır. Uygulanan bu teste göre serilerin normal veya normal olmayan dağılım gösterdiği belirlenmiştir. Normal dağılım gösteren bağımsız iki grubun analizinde Unpaired t testi, normal olmayan dağılım gösteren serilerde ise Mann-Whitney U testi uygulanmıştır. Üç ya da daha fazla grubun karşılaştırılmasında ise, normal dağılım gösteren serilerde One Way ANOVA testi, normal olmayan dağılım gösteren serilerde ise Kruskal-Wallis H testi uygulanmıştır. Bir grubun önce ve sonra yapılan/alınan ölçümlerin karşılaştırılmasının analizinde normal dağılım gösteren serilerde Paired t testi, normal dağılım göstermeyen serilerde ise Wilcoxon Testi kullanılmıştır. İki sayısal ölçüm arasında doğrusal bir ilişki olup olmadığını, varsa bu ilişkinin yönünü ve şiddetinin ne olduğunu belirlemek için korelasyon analizi yapılmıştır. Korelasyon analizinde, verilerin normal dağılıma sahip olması durumunda Pearson korelasyon katsayısı, verilerin normal dağılmadığı durumda ise Spearman Rank korelasyon katsayısı tercih edilmiştir. Grupların tanımlayıcı istatistikleri grafiklerle gösterilmiştir. Elde edilen analiz sonuçları $p \leq 0.05$, $p \leq 0.01$ ve $p \leq 0.001$ anlamlılık düzeyinde değerlendirilerek yorumlanmıştır.

6. BULGULAR

6.1. Sıçanların Yem Tüketim Düzeylerine İlişkin Değişimlerin Analizi

Sıçanların gruplara göre yem tüketim miktarında meydana gelen değişimler Tablo 6.1.' de ve Şekil 6.1. 'de verilmiştir.

Tabloda görüldüğü gibi, deney süresince grupların haftalık yem tüketim miktarındaki farklılıklar istatistiksel anlamda önemli bulunmuştur ($P \leq 0.001$).

1.hafta yem tüketimi kontrol grubuna göre YFMŞ, YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik grubunda daha düşük olduğu ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti grubu ile YFMŞ+Probiyotik grubunun yem tüketiminin ise YFMŞ grubuna göre daha yüksek olup istatistiksel anlamda önemli olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.001$). Yine 1. hafta yem tüketimi YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik grubunda YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti grubu ve YFMŞ+Probiyotik grubuna göre daha düşük ve istatistiksel açıdan anlamlı olduğu bulunmuştur ($P \leq 0.001$).

2. ve 3.hafta yem tüketimi kontrol grubuna göre diğer gruplarda daha düşük bulunmuş ve istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlenmiştir ($P \leq 0.001$). Ancak 2. ve 3.hafta yem tüketimi kontrol grubu dışındaki gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P \geq 0.05$).

4.5.6.7. hafta yem tüketimi kontrol gruba göre diğer gruplarda daha düşük ve istatistiksel açıdan önemlidir ($P \leq 0.001$). 4.haftada, YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti grubunun yem tüketimi YFMŞ grubuna göre yüksek olup istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($P \leq 0.05$). Yine 4.haftada YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik grubunun yem tüketimi YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti ve YFMŞ+Probiyotik grubuna göre daha düşük ve istatistiksel açıdan önemli farklılık söz konusudur ($P \leq 0.05$).

5.hafta YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik grubu yem tüketimi YFMŞ, YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti ve YFMŞ+Probiyotik gruplarına göre daha düşük saptanmış olup, bu düşüş istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0.001$).

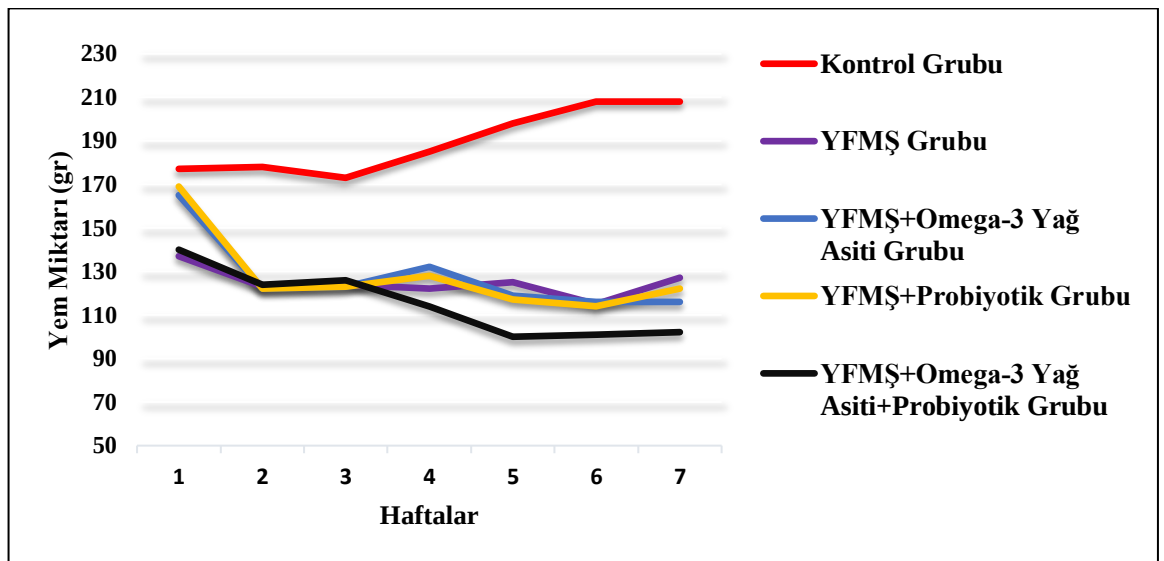
6.hafta YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik grubu yem tüketimi YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti grubuna göre daha düşük ve istatistiki anlamda önemlidir ($P \leq 0.05$).

7. ve son hafta YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik grubu yem tüketiminin YFMŞ, YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti ve YFMŞ+Probiyotik grubuna göre daha düşük olarak bulunmuş olup, istatistiksel açıdan aralarındaki fark önemli bulunmuştur ($P \leq 0.001$).

Deney süresince her bir grubun kendi içerisindeki yem tüketiminde meydana gelen değişimler analiz edildiğinde, kontrol grubunda başlangıç haftasından son haftaya kadar yem tüketiminde artış olduğu gözlemlenmiştir. Kontrol grubu 3.-4. hafta, 4.-5. hafta ve 5.-6. hafta arasındaki yem tüketim miktarında artış istatistiksel anlamda önemli bulunmuştur ($P \leq 0.05$).

YFMŞ grubu yem tüketim miktarı özellikle 2.haftadan sonra azalmaya başlamış olup 1.-2. hafta yem tüketim miktarında azalma istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($P \leq 0.05$).

YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti grubu, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik grubu yem tüketimi 3.haftadan sonra sıçanlara Omega-3 ve Probiyotik uygulamalarına bağlı olarak daha da azalmıştır. YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti grubunun 4. ve 5. hafta yem tüketimindeki azalma istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0.05$). Yine gerek YFMŞ+Probiyotik ve gerekse YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik gruplarındaki 3.-4. ve 4.-5. haftalar arasında yem tüketimindeki azalma istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0.05$).



Şekil 6.1. Haftalık Yem Tüketim Miktarındaki Değişimler

Tablo 6.1. Sıçanlarda Haftalık Yem Tüketim Düzeyleri

Yem miktarı(gr)									
Haftalar	Kontrol Grubu (n=8) Ort±SD	YFMŞ (n=8) Ort±SD	Grubu	YFMŞ+Omega-3 Yağ Asiti Grubu (n=8) Ort±SD	YFMŞ+Probiyotik Grubu(n=8) Ort±SD	YFMŞ+Omega-3 Asiti+Probiyotik Grubu(n=8) Ort±SD	Yağ	P*	
1	177,71±16,15	137,14±12,88 ^{a3**}		165,14±11,12 ^{b3**}	168,57±13,85 ^{b3**}	140,00±13,74 ^{a3,c3,d3**}		0,000	
2	178,00±15,88	123,00±11,74 ^{a3**}		122,00±11,86 ^{a3**}	122,42±12,73 ^{a3**}	124,00±12,16 ^{a3**}		0,002	
P***	0,680	0,034		0,018	0,018	0,028			
3	173,28±14,20	123,71±11,02 ^{a3**}		122,57±12,09 ^{a3**}	122,53±12,83 ^{a3**}	125,71±13,68 ^{a3**}		0,002	
P***	0,114	0,785		0,705	0,931	0,083			
4	185,00±14,98	122,00±10,34 ^{a3**}		132,00±11,97 ^{a3,b1**}	128,28±11,95 ^{a3**}	113,85±12,15 ^{a3,c1,d1**}		0,000	
P***	0,018	0,680		0,108	0,043	0,049			
5	198,57±14,04	125,14±11,78 ^{a3**}		118,57±13,77 ^{a3**}	117,28±12,24 ^{a3**}	100,14±12,66 ^{a3,b3,c1,d1**}		0,000	
P***	0,016	0,109		0,017	0,028	0,043			
6	208,85±12,66	114,85±11,85 ^{a3**}		116,28±13,63 ^{a3**}	113,57±11,07 ^{a3**}	101,00±12,05 ^{a3,c1**}		0,001	
P***	0,014	0,063		0,336	0,733	0,414			
7	208,14±12,53	126,85±12,83 ^{a3**}		115,71±13,94 ^{a3**}	117,85±7,78 ^{a3**}	101,71±10,73 ^{a3,b3,c1,d3**}		0,000	
P***	0,680	0,091		0,593	0,464	0,799			

*Kruskal-Wallis H Testi **Mann-Whitney U Testi ***Wilcoxon Testi

a. Kontrol Grubuna Göre: $P \leq 0.05^{a1}$ $p \leq 0.01^{a2}$ $p \leq 0.001^{a3}$

b. YFMŞ Grubuna Göre: $P \leq 0.05^{b1}$ $p \leq 0.01^{b2}$ $p \leq 0.001^{b3}$

c. YFMŞ+Omega-3 Yağ Asiti Grubuna Göre: $P \leq 0.05^{c1}$ $p \leq 0.01^{c2}$ $p \leq 0.001^{c3}$

d. YFMŞ+Probiyotik Grubuna Göre: $P \leq 0.05^{d1}$ $p \leq 0.01^{d2}$ $p \leq 0.001^{d3}$

6.2. Sıçanların Sıvı Tüketim Düzeylerine İlişkin Değişimlerin Analizi

Sıçanların haftalık sıvı tüketim düzeyindeki değişimler Tablo 6.2 ve Şekil 6.2’de verilmiştir.

Tabloda görüldüğü gibi, sıçanların gruplar itibariyle 1. hafta sıvı tüketim miktarları istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P \geq 0.05$). Bu haftada YFMŞ grubu sıvı tüketimi kontrol grubuna göre daha yüksek ve istatistiksel açıdan önemlidir ($P \leq 0.01$). Ancak 1.haftadan sonra deney süresince 2.-7. hafta sıvı tüketim miktarları tüm gruplar itibariyle istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0.01$).

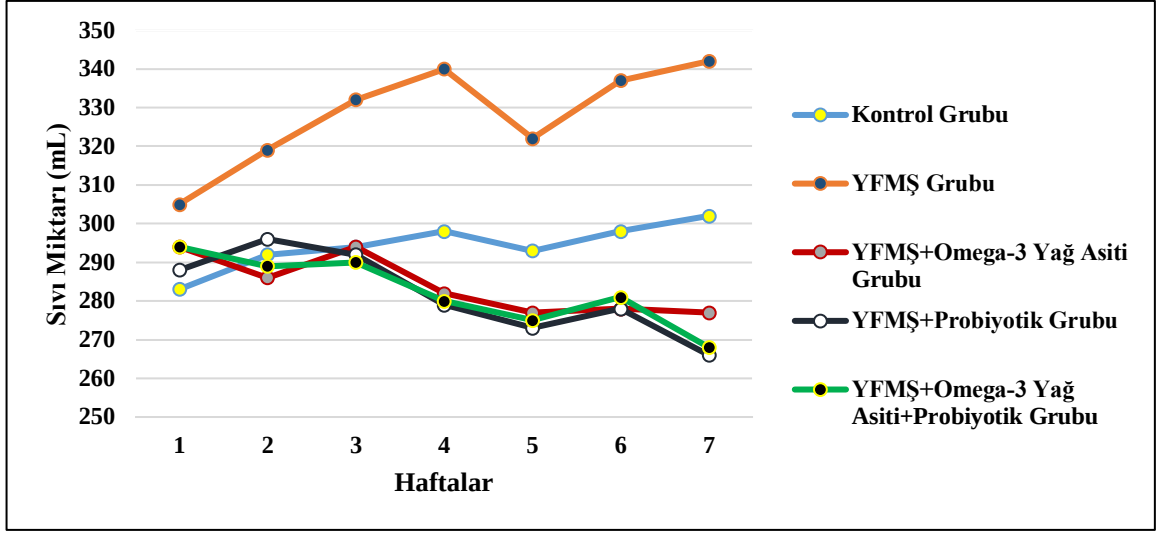
1.-7. hafta sıvı tüketimi kontrol gruba göre YFMŞ grubunda daha yüksek ve istatistiksel açıdan anlamlıdır ($P \leq 0.05$). 1.-7.hafta sıvı tüketim miktarı YFMŞ grubuna göre YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik grubunda daha düşük ve istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0.01$).

4.-7. hafta sıvı tüketim miktarı kontrol grubuna göre YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik grubunda daha düşük bulunmuştur ve sonuç istatistiksel olarak önemlidir ($P \leq 0.01$). Ancak 1. ve 7. hafta sıvı tüketim miktarları YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik grupları arasında istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır ($P \geq 0.05$).

Yapılan analizde kontrol grubunun sıvı tüketim miktarı haftalar itibariyle artış göstermiş olup bu artış istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P \geq 0.05$).

YFMŞ grubu sıvı tüketim miktarındaki değişim 1. ve 2. hafta, 2. ve 3. hafta, 3. ve 4. hafta, 5. ve 6. hafta arasında istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0.05$).

Deney süresince sıvı tüketim miktarı YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik gruplarında haftalar itibariyle azalmıştır. Ancak bu gruplarda 1.-7. haftalar arasındaki azalma istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P \geq 0.05$).



Şekil 6.2. Haftalık Sıvı Tüketim Miktarlarındaki Değişimler

Tablo 6.2. Sıçanlarda Haftalık Sıvı Tüketim Düzeyleri

Sıvı Tüketim Miktarları(mL)								
Haftalar	Kontrol (n=8) Ort±SD	Grubu	YFMŞ (n=8) Ort±SD	Grubu	YFMŞ+Omega-3 Yağ Asiti Grubu (n=8) Ort±SD	YFMŞ+Probiyotik Grubu(n=8) Ort±SD	YFMŞ+Omega-3 Yağ Asiti+Probiyotik Grubu(n=8) Ort±SD	P*
1	282,57±10,29		304,42±19,07 ^{a2**}		294,28±12,91	287,71±13,02	294,14±10,62	0,080
2	292,28±15,39		317,85±18,10 ^{a1**}		285,71±14,97 ^{b3**}	296,28±10,54 ^{b2**}	289,85±16,96 ^{b2**}	0,006
P***	0,173		0,017		0,446	0,063	0,612	
3	294,28±14,84		331,57±15,76 ^{a3**}		293,42±15,39 ^{b3**}	292,00±15,08 ^{b3**}	290,14±15,18 ^{b3**}	0,003
P***	0,672		0,027		0,228	0,518	0,752	
4	297,85±13,56		340,28±15,76 ^{a3**}		281,57±10,99 ^{a1,b3**}	278,71±10,35 ^{a2,b3**}	279,71±11,70 ^{a1,b3**}	0,000
P***	0,271		0,028		0,128	0,064	0,204	
5	293,14±10,05		321,42±18,67 ^{a1**}		276,42±10,17 ^{a2,b3**}	272,85±13,09 ^{a3,b3**}	275,00±13,16 ^{a2,b3**}	0,000
P***	0,310		0,176		0,176	0,237	0,310	
6	298,14±11,69		337,28±18,63 ^{a1**}		278,00±10,27 ^{a3,b3**}	277,85±15,75 ^{a1,b3**}	281,28±13,02 ^{a1,b3**}	0,001
P***	0,236		0,018		0,799	0,463	0,293	
7	301,57±12,50		341,85±15,91 ^{a1**}		277,42±9,27 ^{a3,b3**}	270,14±12,03 ^{a3,b3**}	272,71±9,92 ^{a3,b3**}	0,000
P***	0,735		0,345		0,674	0,249	0,108	

*Kruskal-Wallis H Testi

**Mann-Whitney U Testi

***Wilcoxon Testi

a. Kontrol Grubuna Göre: $P \leq 0.05^{a1}$ $p \leq 0.01^{a2}$ $p \leq 0.001^{a3}$

b. YFMŞ Grubuna Göre: $P \leq 0.05^{b1}$ $p \leq 0.01^{b2}$ $p \leq 0.001^{b3}$

6.3. Sıçanların Vücut ve Karaciğer Ağırlıklarındaki Değişim Düzeylerinin Analizi

Sıçanların vücut ve karaciğer ağırlıkları ile karaciğer indeksleri Tablo 6.3 ve Şekil 6.3.1, 6.3.2, 6.3.3' de verilmiştir.

Tabloda görüldüğü gibi, sıçanların başlangıç, 3. hafta ağırlığı ve kesim ağırlığı gruplar itibariyle istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P \geq 0.05$).

Deney süresinde sıçanların vücut ağırlığında meydana gelen değişimleri gözleyebilmek amacıyla ağırlık değişim üç farklı şekilde hesaplanmıştır. Yapılan analiz sonucunda 1. 2. ve 3. ağırlık değişimi gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0.001$). 1. ağırlık değişimi en düşük kontrol grubunda (%8,67), en yüksek ise YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti grubunda (%16,38) gerçekleşmiştir. 1. ağırlık değişimi kontrol grubuna göre YFMŞ, YFMŞ +Omega-3 Yağ asiti, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik gruplarında daha yüksek ve istatistiksel olarak önemlidir ($P \leq 0.001$). 1. ağırlık değişimi YFMŞ grubuna göre YFMŞ +Omega-3 Yağ asiti ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik grubunda daha yüksek ve istatistiksel olarak önemlidir ($P \leq 0.001$).

2. ağırlık değişimi en düşük YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik grubunda (%-5,67) en yüksek ise YFMŞ grubunda (%17,15) belirlenmiştir. 2. ağırlık değişimi kontrol ve YFMŞ grubuna göre YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik gruplarına göre daha düşük ve istatistiksel olarak önemlidir ($P \leq 0.001$).

3. ağırlık değişimi en düşük YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik grubunda (%8,15) en yüksek ise YFMŞ grubunda (%31,96) belirlenmiştir. 3. ağırlık değişimi kontrol grubuna göre YFMŞ grubunda yüksek, YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik grubunda düşük olup istatistiksel olarak önemlidir ($P \leq 0.01$). Yine YFMŞ grubuna göre YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik gruplarında 3. ağırlık değişimi daha düşük bulunmuş olup arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P \leq 0.01$).

Sıçanların karaciğer ağırlığı en düşük YFMŞ+Probiyotik grubunda en yüksek YFMŞ grubunda belirlenmiştir. Tüm gruplar itibariyle karaciğer ağırlığı bakımından

söz konusu fark istatistiksel olarak önemlidir ($P \leq 0.05$). YFMŞ grubuna göre YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik grubu karaciğer ağırlığı daha düşük ve istatistiksel olarak önemlidir ($P \leq 0.01$). Yine YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik grubu karaciğer ağırlığı YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti grubuna göre daha düşük ve istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0.001$).

Yapılan hesaplamalarda gruplar arasında karaciğer indeksi açısından istatistik olarak önemli bir fark bulunmamıştır ($P \geq 0.05$). En düşük karaciğer indeksine sahip grup YFMŞ+Probiyotik grubu en yüksek ise YFMŞ grubu olarak belirlenmiştir.



Tablo 6.3. Sıçanların Vücut ve Karaciğer Ağırlıklarındaki Değişim Düzeyleri

Ağırlık(gr)	Kontrol Grubu (n=8) Ort±SD	YFMŞ Grubu (n=8) Ort±SD	YFMŞ+Omega-3 Yağ Asiti Grubu (n=8) Ort±SD	YFMŞ+Probiyotik Grubu(n=8) Ort±SD	YFMŞ+Omega-3 Yağ Asiti+Probiyotik Grubu(n=8) Ort±SD	P*
Başlangıç Ağırlığı	265,75±47,01	263,75±38,96	261,25±28,57	251,50±28,73	275,75±32,65	0,756
3.Hafta Ağırlığı	288,12±47,64	296,25±38,10	303,62±28,96	285,25±30,16	315,87±32,79	0,453
P***	0,004	0,006	0,007	0,002	0,012	
Kesim Ağırlığı	324,25±49,96	346,00±37,06	313,75±38,78	303,55±21,42	299,50±48,12	0,170
P***	0,015	0,019	0,123	0,017	0,007	
¹ Ağırlık Değişimi(%)	8,67±1,31	12,62±2,11 ^{a2} **	16,38±1,81 ^{a3,b3**}	13,53±1,30 ^{a3**}	14,76±2,11 ^{a3,b1**}	0,000
² Ağırlık Değişimi(%)	12,73±3,84	17,15±5,68	3,16±6,23 ^{a3, b3**}	6,76±4,46 ^{a1, a3, b3**}	-5,67±6,78 ^{a3,b3,d3**}	0,000
P***	0,018	0,034	0,001	0,001	0,001	
³ Ağırlık Değişimi(%)	22,45±4,66	31,96±7,97 ^{a2**}	20,04±7,04 ^{b3**}	21,25±6,20 ^{b2**}	8,15±6,42 ^{a3,b3,c3,d3**}	0,000
P***	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
Karaciğer Ağırlığı	10,75±1,03	11,87±1,35	10,12±1,7 ^{b1**}	9,62±1,76 ^{b1**}	9,87±1,95 ^{b3,c3**}	0,049
⁴ Karaciğer İndeksi	3,34±0,26	3,43±0,09	3,21±0,23	3,15±0,38	3,28±0,24	0,236

¹Ağırlık değişimi(%) : (3.Hafta ağırlığı-Başlangıç ağırlığı)/Başlangıç ağırlığı)x100

²Ağırlık değişimi(%) : (Kesim ağırlığı-3.Hafta ağırlığı)/3.Hafta ağırlığı)x100

³Ağırlık değişimi(%) : (Kesim ağırlığı-Başlangıç ağırlığı)/Başlangıç ağırlığı)x100

⁴Karaciğer indeksi: (Karaciğer ağırlığı/Kesim ağırlığı)x100

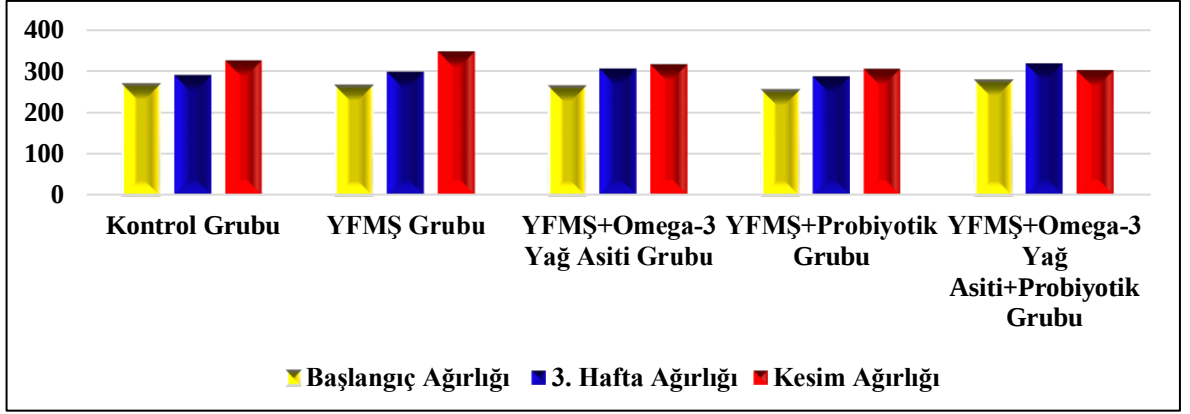
*One-Way ANOVA **Unpaired t Testi ***Paired t Testi

a. Kontrol Grubuna Göre: P≤0.05^{a1} p≤0.01^{a2} p≤0.001^{a3}

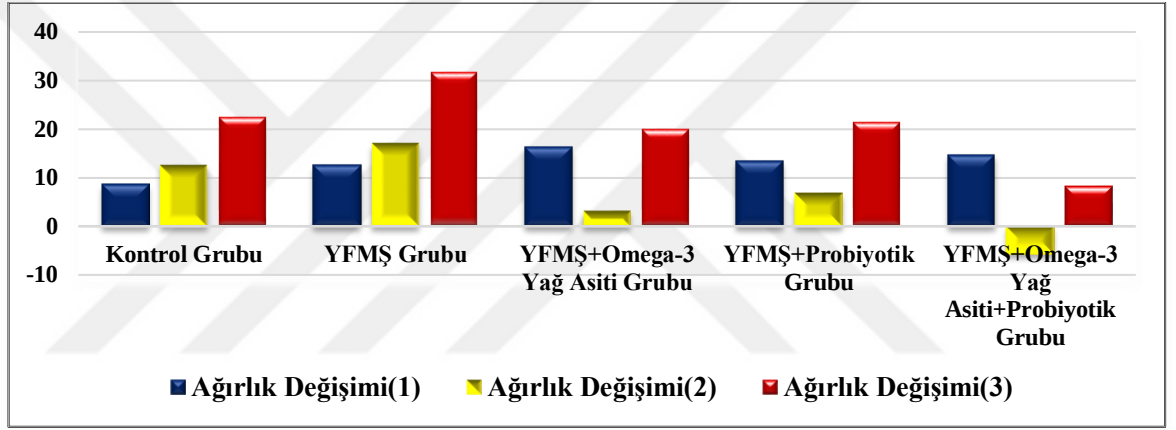
b. YFMŞ Grubuna Göre : P≤0.05^{b1} p≤0.01^{b2} p≤0.001^{b3}

c. YFMŞ+Omega-3 Yağ Asiti Grubuna Göre: P≤0.05^{c1} p≤0.01^{c2} p≤0.001^{c3}

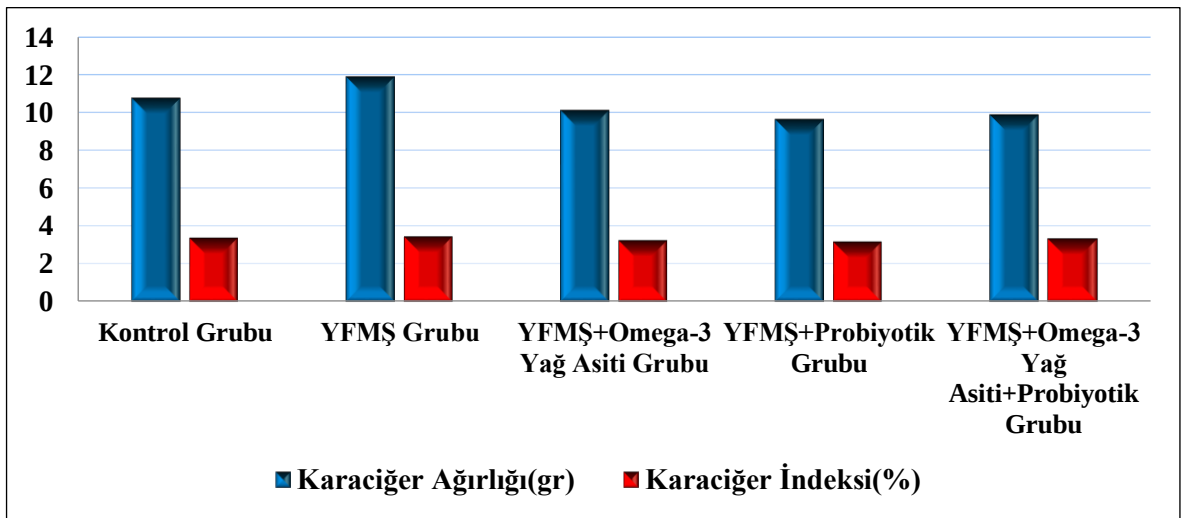
d. YFMŞ+Probiyotik Grubuna Göre: P≤0.05^{d1} p≤0.01^{d2} p≤0.001^{d3}



Şekil 6.3.1. Sıçanların Başlangıç, 3.Hafta ve Kesim Ağırlıkları (gr)



Şekil 6.3.2. Sıçanların Ağırlık Değişimleri (%)



Şekil 6.3.3. Sıçanların Karaciğer Ağırlıkları ve Karaciğer İndeks Değerleri

6.4. Sıçanların Gruplara Göre Yem ve Sıvı Tüketimleri ile Vücut Ağırlığı Arasındaki Korelasyon

Sıçanların gruplara göre yem ve sıvı tüketimleri ile vücut ağırlığı arasındaki korelasyon Tablo' 6.4 de verilmiştir.

Tablo 6.4. Sıçanların Yem ve Sıvı Tüketimleri ile Vücut Ağırlığı Arasındaki Korelasyon

Kontrol Grubu				Katsayı(r)
	Yem	Sıvı	Ağırlık(gr)	ve Önem
	Tüketimi(gr)	Tüketimi(mL)		Düzeyi(p)
Yem Tüketimi(gr)	1	0,019	0,443	r
		0,897	0,030*	p
Sıvı	0,019	1	0,400	r
Tüketimi(mL)	0,897		0,050*	p
Ağırlık(gr)	0,443	0,400	1	r
	0,030*	0,050*		p
YFMS Grubu				
Yem Tüketimi(gr)	1	-0,064	-0,289	r
		0,660	0,170	p
Sıvı	-0,064	1	0,605	r
Tüketimi(mL)	0,660		0,002**	p
Ağırlık(gr)	-0,289	0,605	1	r
	0,170	0,002**		p
YFMS+Omega-3 Yağ Asiti Grubu				
Yem Tüketimi(gr)	1	0,367	0,500	r
		0,010*	0,013*	p
Sıvı	0,367	1	0,106	r
Tüketimi(mL)	0,010*		0,621	p
Ağırlık(gr)	0,500	0,106	1	r
	0,013*	0,621		p
YFMS+Probiyotik Grubu				
Yem Tüketimi(gr)	1	0,329	0,671	r
		0,021*	0,000***	p
Sıvı	0,329	1	0,151	r
Tüketimi(mL)	0,021*		0,480	p
Ağırlık(gr)	0,671	0,151	1	r
	0,000***	0,480		p
YFMS+Omega-3 Yağ Asiti+Probiyotik Grubu				
Yem Tüketimi(gr)	1	0,319	0,334	r
		0,025*	0,110	p
Sıvı	0,319	1	0,314	r
Tüketimi(mL)	0,025*		0,135	p
Ağırlık(gr)	0,334	0,314	1	r
	0,110	0,135		p

Önem Düzeyi: $P \leq 0.05^*$ $p \leq 0.01^{**}$ $p \leq 0.001^{***}$

Kontrol grubunda, yem ve sıvı tüketim miktarları ile vücut ağırlığı arasında pozitif korelasyon saptanmışken ($P \leq 0.05$). yem tüketim miktarı ile sıvı tüketim miktarı arasında korelasyon olmadığı belirlenmiştir ($P \geq 0.05$).

YFMS grubunda, sıvı tüketim miktarları ile vücut ağırlığı arasında pozitif korelasyon ($P \leq 0.01$) söz konusu iken, yem tüketim miktarı ile sıvı tüketim miktarı ve yem tüketim miktarı ile vücut ağırlığı arasında korelasyon bulunmamıştır ($P \geq 0.05$).

YFMS+Omega-3 Yağ Asiti grubunda, yem tüketim miktarı ile sıvı tüketim miktarı ve vücut ağırlığı arasında pozitif korelasyon belirlenmiştir ($P \leq 0.01$). YFMS+Omega-3 Yağ Asiti grubunda, sıvı tüketim miktarı ile vücut ağırlığı arasında korelasyon saptanmamıştır ($P \geq 0.05$).

YFMS+Probiyotik grubunda, yem tüketim miktarı ile sıvı tüketim miktarı ve vücut ağırlığı arasında pozitif korelasyon belirlenmiştir ($P \leq 0.001$). YFMS+probiyotik grubunda, sıvı tüketim miktarı ile vücut ağırlığı arasında korelasyon saptanmamıştır ($P \geq 0.05$).

YFMS+Omega-3 Yağ Asiti+Probiyotik grubunda ise, yem tüketim miktarı ile sıvı tüketim miktarı arasında pozitif korelasyon belirlenmiştir ($P \leq 0.05$). YFMS+Omega-3 Yağ Asiti+Probiyotik grubunda sıvı tüketim miktarı ile vücut ağırlığı arasında ve yem tüketim miktarı ile vücut ağırlığı arasında korelasyon bulunmamıştır ($P \geq 0.05$).

6.5. Sıçanların Gruplara Göre Glukoz, Karaciğer Enzimleri, Serum Kolesterol ve Trigliserid Düzeyleri

Sıçanların glukoz, karaciğer enzimleri, serum kolesterol ve trigliserid düzeyleri Tablo 6.5 ve Şekil 6.5.1 ve 6.5.2’de verilmiştir.

Deney gruplarının ortalama glukoz düzeyleri karşılaştırıldığında gruplar arası fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0.05$). En düşük glukoz düzeyi kontrol grubunda ($132,98 \pm 21,09$ mg/dL) en yüksek glukoz düzeyi ise YFMŞ grubunda ($164,73 \pm 15,78$ mg/dL) bulunmuştur.

Gruplar arası farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını test etmek amacıyla yapılan analizde, kontrol grubuna göre YFMŞ grubunun ortalama glukoz düzeyi yüksek ve istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($P \leq 0.01$). YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik gruplarının ortalama glukoz düzeyleri YFMŞ grubuna göre düşük ve istatistiksel açıdan önemlidir ($P \leq 0.05$). YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik grupları arasındaki ortalama glukoz düzeyleri ise istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P \geq 0.05$).

Deney gruplarının ortalama ALT düzeylerine bakıldığında gruplar arası fark istatistiksel açıdan önemlidir ($P \leq 0.001$). En düşük ALT düzeyi YFMŞ+Probiyotik grubunda ($28,67 \pm 6,54$ U/L), en yüksek ALT düzeyi ise, YFMŞ grubunda ($67,06 \pm 10,42$ U/L) bulunmuştur.

Gruplar arası farklılık analiz edildiğinde, kontrol grubuna göre YFMŞ+Probiyotik grubunun ortalama ALT düzeyi düşük olup istatistiksel olarak önemlidir ($P \leq 0.05$). YFMŞ grubuna göre, YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik gruplarının ortalama ALT düzeyleri daha düşük olup istatistiksel açıdan önemli olduğu saptanmıştır ($P \leq 0.05$). YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik grubunun ALT değeri YFMŞ+Probiyotik grubuna göre yüksek ve istatistiksel olarak önemlidir ($P \leq 0.05$).

Deney gruplarının ortalama AST düzeylerine karşılaştırıldığında gruplar arası fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0.01$). En düşük AST değeri

YFMŞ+Probiyotik grubunda (97,63±26,89 U/L), en yüksek AST değeri ise YFMŞ grubunda (169,38±32,30 U/L) bulunmuştur.

Ortalama AST değeri kontrol grubuna göre YFMŞ grubunda yüksek ve istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($P \leq 0.05$). YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik gruplarının ortalama AST değerleri YFMŞ grubuna göre düşük ve istatistiksel olarak gruplar arası fark önemlidir ($P \leq 0.001$).

Kontrol grubu, YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik grupları arasındaki ortalama AST değerleri istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P \geq 0.05$).

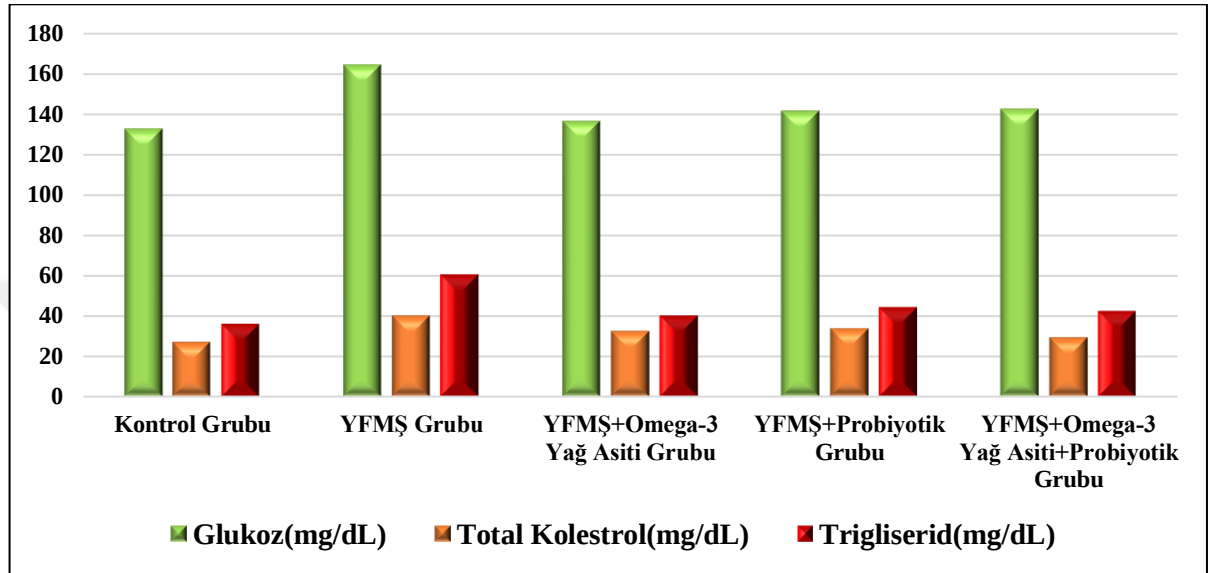
Deney gruplarının ortalama ALP değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P \geq 0.05$). En düşük ALP değeri YFMŞ+Probiyotik grubunda (90,25±16,85 U/L), en yüksek ALP değeri ise YFMŞ grubunda (99,12±23,28 U/L) saptanmıştır.

Deney grupları ortalama serum total kolesterol düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0.001$). En düşük ortalama serum total kolesterol düzeyi kontrol grubunda (27,13±5,39 mg/dL), en yüksek ise YFMŞ grubunda (40,22±6,43 mg/dL) saptanmıştır.

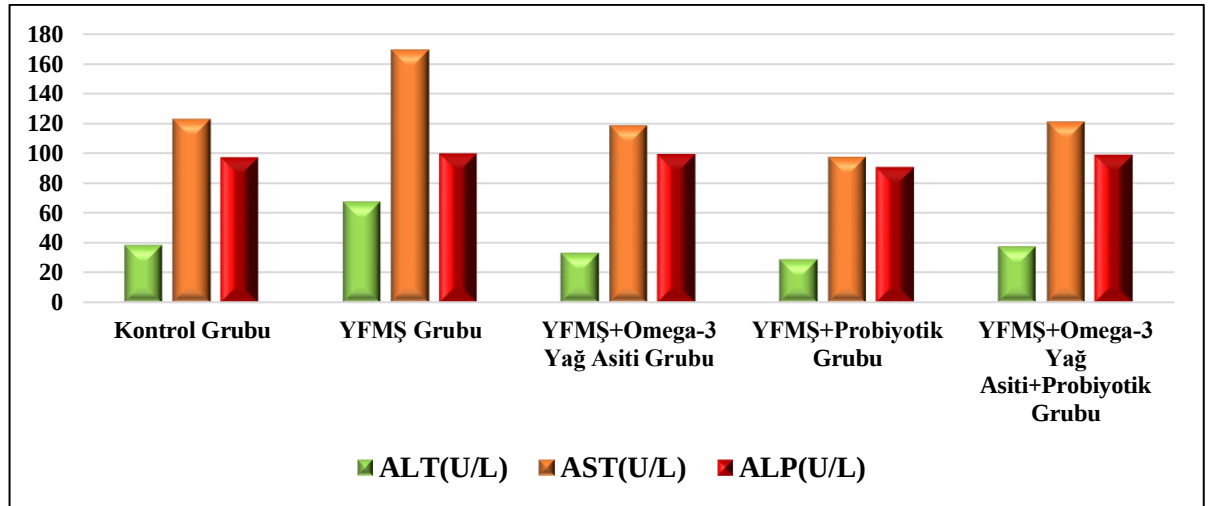
Grupların farklılığının hangi gruptan kaynaklandığını test etmek amacıyla yapılan analizde, kontrol grubuna göre YFMŞ grubu ve YFMŞ+Probiyotik grubu serum total kolesterol düzeyi yüksek ve istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0.05$). YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik grubu total kolesterol düzeyi YFMŞ grubuna göre düşük olup, istatistiksel anlamda farklılık önemlidir ($P \leq 0.01$).

Deney grupları ortalama serum total trigliserid düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0.05$). En düşük ortalama serum trigliserid düzeyi kontrol grubunda (36,01±13,37 mg/dL), en yüksek ise YFMŞ grubunda (60,60±16,73 mg/dL) belirlenmiştir. Yapılan analizde kontrol grubuna göre YFMŞ grubu serum trigliserid düzeyi yüksek ve gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P \leq 0.01$). YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti, YFMŞ+Probiyotik ve

YFMS+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik grupları ortalama serum total trigliserid düzeyi YFMS grubuna göre düşük olup, istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0.05$). Ancak YFMS+Omega-3 Yağ asiti, YFMS+Probiyotik ve YFMS+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik grupları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P \geq 0.05$).



6.5.1. Sıçanların Serum Kolesterol ve Trigliserid Düzeyleri



Şekil 6.5.2. Sıçanların Karaciğer Enzim Düzeyleri

Tablo 6.5. Sıçanların Glukoz, Karaciğer Enzimleri, Serum Kolesterol ve Trigliserid Düzeyleri

Parametreler	Kontrol Grubu (n=8) Ort±SD	YFMŞ Grubu (n=8) Ort±SD	YFMŞ+Omega-3 Yağ Asiti Grubu (n=8) Ort±SD	YFMŞ+Probiyotik Grubu(n=8) Ort±SD	YFMŞ+Omega-3 Yağ Asiti+Probiyotik Grubu(n=8) Ort±SD	P*
Glukoz(mg/dL)	132,98±21,09 (94,50-155,00)	164,73±15,78 ^{a2**} (149,70-197,40)	136,73±15,90 ^{b2**} (117,50-162,00)	141,92±21,52 ^{b1**} (109,30-175,00)	142,67±24,21 ^{b1**} (110,00-178,00)	0,031
ALT(U/L)	38,32±7,21 (29,00-50,80)	67,06±10,42 ^{a3**} (54,80-85,70)	33,28±5,09 ^{b3**} (24,70-41,50)	28,67±6,54 ^{a1,b3**} (21,90-39,80)	37,23±8,52 ^{b3,d1**} (27,20-50,00)	0,000
AST(U/L)	123,10±68,49 (81,50-282,50)	169,38±32,30 ^{a1**} (128,50-226,70)	118,37±17,34 ^{b3**} (97,30-152,40)	97,63±26,89 ^{b3**} (68,60-146,90)	121,15±16,36 ^{b3**} (90,60-141,50)	0,003
ALP(U/L)	96,75±22,95 (70,00-138,00)	99,12±23,28 (54,00-131,00)	99,00±18,67 (80,00-126,00)	90,25±16,85 (62,00-119,00)	98,50±13,85 (71,00-113,00)	0,645
Total Kolesterol(mg/dL)	27,13±5,39 (19,70-33,90)	40,22±6,43 ^{a3**} (33,60-51,30)	32,55±3,94 ^{b2**} (28,70-40,20)	33,86±4,09 ^{a1,b1**} (29,00-38,90)	29,55±2,49 ^{b3**} (26,10-32,40)	0,001
Trigliserid(mg/dL)	36,01±13,37 (18,00-51,70)	60,60±16,73 ^{a2**} (32,00-82,00)	40,15±10,84 ^{b2**} (23,70-62,30)	44,46±9,87 ^{b1**} (26,70-60,60)	42,35±25,87 ^{b1**} (20,70-100,90)	0,049

*Kruskal-Wallis H Testi **Mann-Whitney U Testi

a. Kontrol Grubuna Göre: $P \leq 0.05^{a1}$ $p \leq 0.01^{a2}$ $p \leq 0.001^{a3}$

b. YFMŞ Grubuna Göre: $P \leq 0.05^{b1}$ $p \leq 0.01^{b2}$ $p \leq 0.001^{b3}$

d. YFMŞ+Probiyotik Grubuna Göre: $P \leq 0.05^{d1}$ $p \leq 0.01^{d2}$ $p \leq 0.001^{d3}$

6.6. Sıçanların Gruplara Göre Karaciğer Dokusu Triglicerid, Toplam Kolesterol ve Toplam Protein Düzeyleri

Deney gruplarına göre karaciğer dokusu triglicerid, toplam kolesterol ve toplam protein düzeyleri Tablo 6.6. ve Şekil 6.6'da verilmiştir.

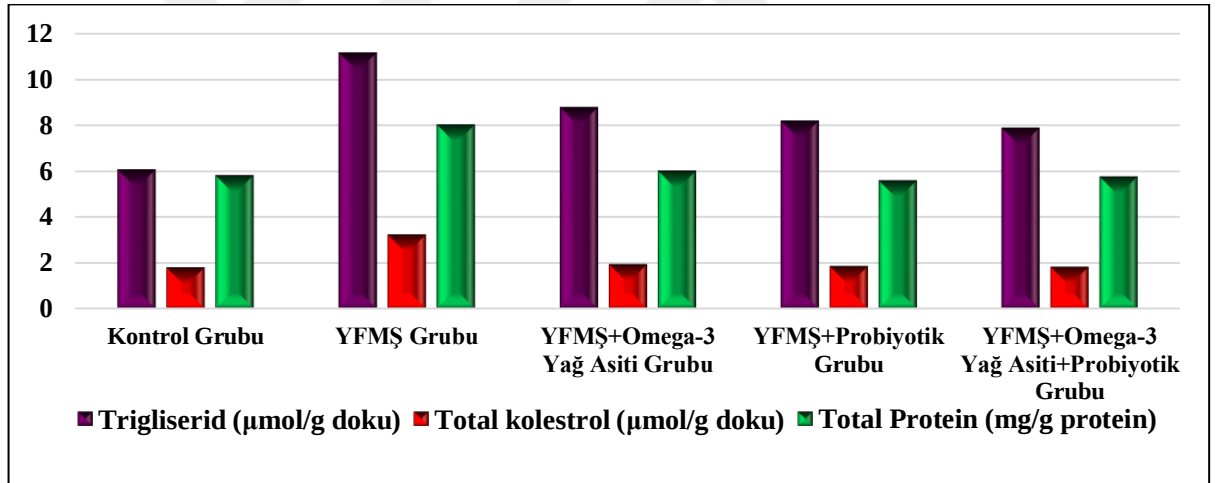
En düşük ortalama doku triglicerid düzeyine kontrol grubu ($6,08 \pm 0,91 \mu\text{mol/g}$ doku) sahipken, en yüksek doku triglicerid düzeyine ise YFMŞ grubunun ($11,16 \pm 1,55 \mu\text{mol/g}$ doku) sahip olduğu görülmüştür. Karaciğer dokusu ortalama triglicerid düzeyleri açısından gruplar arası fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0.001$). Farklılığa neden olan grubu belirleyebilmek amacıyla yapılan analizde, kontrol grubuna göre, YFMŞ, YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik grubu doku triglicerid düzeyi yüksek ve sözkonusu farklılıklar istatistiksel olarak önemlidir ($P \leq 0.001$). YFMŞ grubuna göre, YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik grubu doku triglicerid düzeyi daha düşük bulunmuş olup, farkın istatistiksel anlamda önemli olduğu görülmüştür ($P \leq 0.001$). YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik grubu doku triglicerid düzeyleri arasındaki fark ise istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P \geq 0.05$).

En düşük ortalama doku kolesterol düzeyi kontrol grubu ($1,78 \pm 0,63 \mu\text{mol/g}$ doku) sahipken, en yüksek doku kolesterol düzeyine ise YFMŞ grubunun ($3,23 \pm 0,39 \mu\text{mol/g}$ doku) sahip olduğu belirlenmiştir.

Deney gruplarının karaciğer dokusu toplam kolesterol düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0.001$). Farklılığı test etmek amacıyla yapılan analizde, kontrol grubuna göre YFMŞ grubunun ortalama doku kolesterol düzeyi daha yüksek olup, aralarındaki fark istatistiksel açıdan önemlidir ($P \leq 0.001$). Yine YFMŞ grubu grubuna göre, YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik grubu doku kolesterol düzeyi daha düşük bulunmuş olup, gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P \leq 0.001$). Ancak kontrol, YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik grubu doku kolesterol düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P \geq 0.05$).

En düşük ortalama doku protein düzeyi YFMŞ+Probiyotik grubu ($5,61 \pm 0,80$ mg/g protein) sahipken, en yüksek doku protein düzeyine ise YFMŞ grubunun ($8,02 \pm 1,05$ mg/g protein) sahip olduğu saptanmıştır.

Deney gruplarının karaciğer dokusu toplam protein düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0.01$). Farklılığı test etmek amacıyla yapılan analizde, kontrol grubuna göre YFMŞ grubunun ortalama doku protein düzeyi daha yüksek olup, aralarındaki farkın istatistiksel açıdan önemli olduğu saptanmıştır ($P \leq 0.001$). Yine YFMŞ grubu grubuna göre, YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik grubu doku protein düzeyi daha düşük bulunmuş olup, gruplar arası fark istatistiksel olarak önemlidir ($P \leq 0.001$). Ancak kontrol, YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik grubu doku protein düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P \geq 0.05$).



Şekil 6.6. Sıçanların Karaciğer Dokusu Trigliserid, Total Kolesterol ve Total Protein Düzeyleri

Tablo 6.6. Sıçanların Karaciğer Dokusu Trigliserid, Toplam Kolesterol ve Toplam Protein Düzeyleri

Parametreler	Kontrol Grubu (n=8) Ort±SD	YFMŞ Grubu (n=8) Ort±SD	YFMŞ+Omega-3 Yağ Asiti Grubu (n=8) Ort±SD	YFMŞ+Probiyotik Grubu (n=8) Ort±SD	YFMŞ+Omega-3 Yağ Asiti+Probiyotik Grubu (n=8) Ort±SD	P*
Trigliserid (µmol/g doku)	6,08±0,91 (4,94-7,66)	11,16±1,55 ^{a3**} (9,32-13,61)	8,26±0,91 ^{a3,b3**} (6,94-9,57)	8,21±1,38 ^{a3,b2**} (6,68-10,75)	7,88±1,23 ^{a2,b3**} (5,45-9,81)	0,000
Total kolesterol (µmol/g doku)	1,78±0,63 (0,90-2,92)	3,23±0,39 ^{a3**} (2,69-3,79)	1,94±0,37 ^{b3**} (1,45-2,46)	1,86±0,32 ^{b3**} (1,47-2,33)	1,82±0,23 ^{b3**} (1,51-2,12)	0,001
Total Protein (mg/g protein)	5,81±1,48 (3,24-7,38)	8,02±1,05 ^{a3**} (6,49-9,31)	6,01±0,65 ^{b3**} (4,86-6,91)	5,61±0,80 ^{b3**} (4,56-6,45)	5,76±0,31 ^{b3**} (5,17-6,10)	0,002

*One-Way ANOVA **Unpaired t Testi

a. Kontrol Grubuna Göre: $P \leq 0.05^{a1}$ $p \leq 0.01^{a2}$ $p \leq 0.001^{a3}$

b. YFMŞ Grubuna Göre: $P \leq 0.05^{b1}$ $p \leq 0.01^{b2}$ $p \leq 0.001^{b3}$

6.7. Sıçanların Gruplara Göre İnflamatuvar Belirteçleri ve Antioksidan Düzeyleri

Deney gruplarına göre karaciğer dokusu inflamatuvar belirteçleri ve antioksidan düzeyleri Tablo 6.7’de ve Şekil 6.7.1. ve Şekil 6.7.2.’de verilmiştir.

En düşük ortalama doku GSH düzeyine kontrol grubu ($5,70 \pm 1,44$ mmol/mg) sahipken, en yüksek doku GSH düzeyine ise YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti grubunun ($8,25 \pm 1,04$ mmol/mg) sahip olduğu belirlenmiştir. Karaciğer dokusu ortalama GSH düzeyleri açısından gruplar arası fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0.001$). Farklılığa neden olan grubu belirleyebilmek amacıyla yapılan analizde, kontrol ve YFMŞ gruplarına göre, YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik gruplarının doku GSH düzeyleri yüksek ve aralarındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P \leq 0.001$).

Ancak kontrol grubu ile YFMŞ grubu doku GSH düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P \geq 0.05$). Aynı şekilde YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik grupları arasında doku GSH düzeyleri açısından istatistiksel olarak önemli bir farkın olmadığı saptanmıştır ($P \geq 0.05$).

En düşük ortalama doku MDA düzeyine kontrol grubu ($0,16 \pm 0,03$ mmol/mg) sahipken, en yüksek doku MDA düzeyine ise YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti grubu ($0,24 \pm 0,04$ mmol/mg) sahiptir. Karaciğer dokusu ortalama MDA düzeyleri açısından gruplar arası fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0.01$). Farklılığa neden olan grubu belirleyebilmek amacıyla yapılan analizde, kontrol grubuna göre, YFMŞ, YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik gruplarının doku MDA düzeyleri yüksek ve aralarındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P \leq 0.01$).

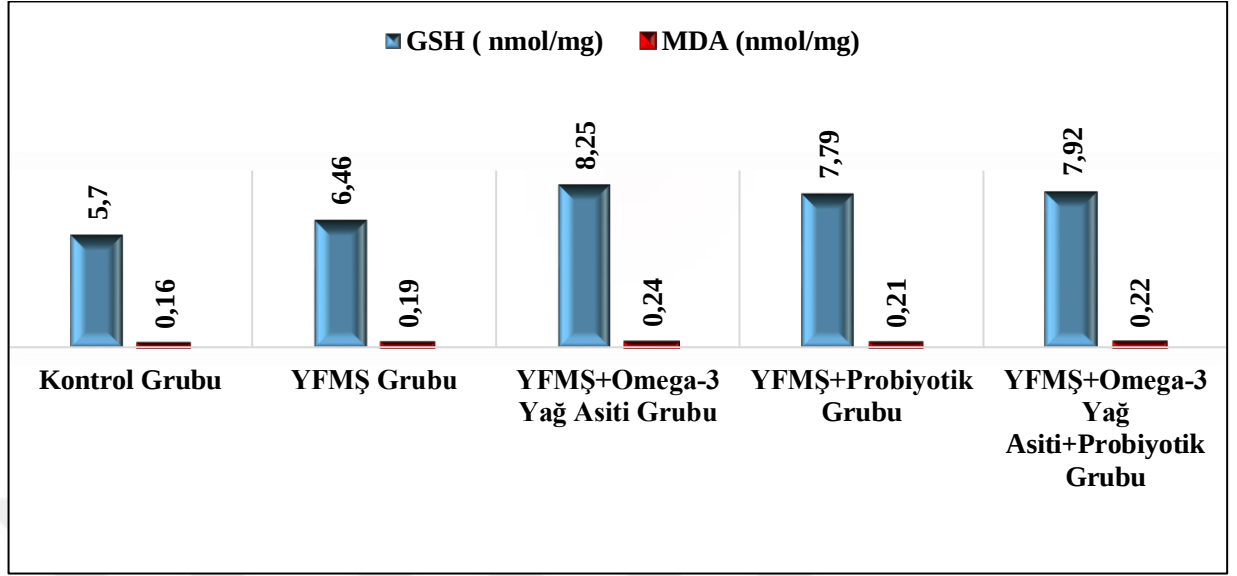
Yine YFMŞ grubuna göre, YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti doku MDA düzeyi yüksek olup arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P \leq 0.05$). Ancak YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik grupları arasında doku MDA düzeyleri açısından istatistiksel olarak önemli bir farkın olmadığı saptanmıştır ($P \geq 0.05$).

En düşük ortalama doku IL-6 düzeyine kontrol grubu ($23,72 \pm 2,93$ pg/mg protein) sahipken, en yüksek doku IL-6 düzeyine ise YFMŞ grubunun ($57,36 \pm 11,27$ pg/mg protein) sahip olduğu belirlenmiştir. Karaciğer dokusu ortalama IL-6 düzeyleri açısından gruplar arası fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0.001$). Farklılığa neden olan grubu belirleyebilmek amacıyla yapılan analizde, kontrol grubuna göre YFMŞ grubunun doku IL-6 düzeyi yüksek ve aralarındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P \leq 0.001$). YFMŞ grubuna göre, YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik gruplarının doku IL-6 düzeyleri düşük ve aralarındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P \leq 0.001$).

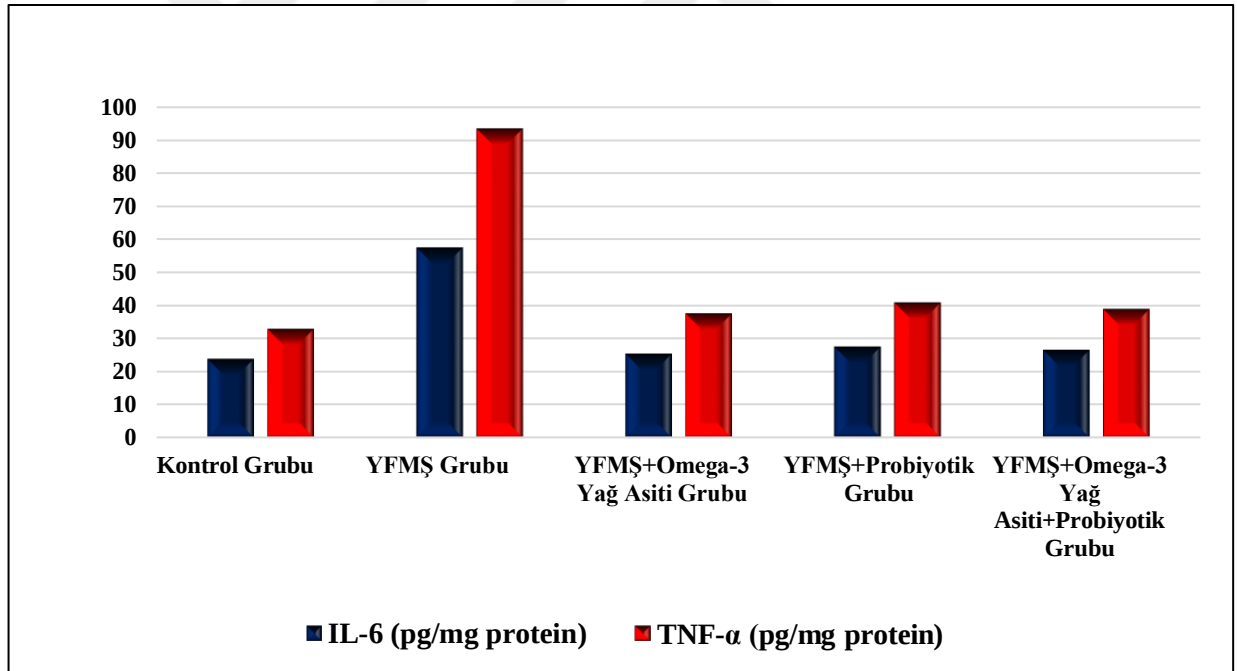
Ancak kontrol, YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik grupları arasında doku IL-6 düzeyleri açısından istatistiksel olarak önemli bir farkın olmadığı saptanmıştır ($P \geq 0.05$).

En düşük ortalama doku TNF- α düzeyine kontrol grubu ($32,92 \pm 12,31$ pg/mg protein) sahipken, en yüksek doku TNF- α düzeyine ise YFMŞ grubunun ($93,34 \pm 15,39$ pg/mg protein) sahip olduğu belirlenmiştir. Karaciğer dokusu ortalama TNF- α düzeyleri açısından gruplar arası fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0.001$). Farklılığa neden olan grubu belirleyebilmek amacıyla yapılan analizde, kontrol grubuna göre YFMŞ grubunun doku TNF- α düzeyi yüksek ve aralarındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P \leq 0.001$). YFMŞ grubuna göre, YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik gruplarının doku TNF- α düzeyleri düşük ve aralarındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P \leq 0.001$).

Ancak kontrol, YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik grupları arasında doku TNF- α düzeyleri açısından istatistiksel olarak önemli bir farkın olmadığı saptanmıştır ($P \geq 0.05$).



Şekil 6.7.1. Sıçanların Karaciğer Dokusu Antioksidan Düzeyleri



Şekil 6.7.2. Sıçanların Karaciğer Dokusu İnflamatuvar Belirteçleri

Tablo 6.7. Sıçanların Karaciğer Dokusu İnflamatuvar Belirteçleri ve Antioksidan Düzeyleri

Parametreler	Kontrol Grubu (n=8) Ort±SD	YFMŞ Grubu (n=8) Ort±SD	YFMŞ+Omega-3 Yağ Asiti Grubu (n=8) Ort±SD	YFMŞ+Probiyotik Grubu (n=8) Ort±SD	YFMŞ+Omega-3 Yağ Asiti+Probiyotik Grubu (n=8) Ort±SD	P*
GSH (nmol/mg)	5,70 ± 1,44 (3,82-7,81)	6,46 ± 0,98 (4,63-8,05)	8,25 ± 1,04 ^{a3,b3} (6,78-9,54)	7,79 ± 1,09 ^{a2,b2} (6,54-9,61)	7,92± 0,92 ^{a3,b3} (6,52-9,52)	0,000
MDA (nmol/mg)	0,16 ± 0,03 (0,13-0,21)	0,19 ± 0,02 ^{a1} (0,17-0,23)	0,24 ± 0,04 ^{a3,b1} (0,19-0,30)	0,21 ± 0,03 ^{a1} (0,17-0,27)	0,22 ± 0,04 ^{a3} (0,19-0,31)	0,003
IL-6 (pg/mg protein)	23,72±2,93 (20,20-29,30)	57,36±11,27 ^{a3} (38,80-72,80)	25,43±3,36 ^{b3} (19,20-30,10)	27,46±3,85 ^{b3} (21,30-33,20)	26,43±4,07 ^{b3} (20,10-32,20)	0,000
TNF-α (pg/mg protein)	32,92±12,31 (20,10-58,30)	93,34±15,39 ^{a3} (65,50-118,60)	37,53±12,0 ^{b3} (24,20-56,20)	40,84±6,42 ^{b3} (30,30-52,40)	39,03±11,13 ^{b3} (25,30-57,50)	0,000

*Kruskal-Wallis H Testi

**Mann-Whitney U Testi

a. Kontrol Grubuna Göre: P≤0.05^{a1} p≤0.01^{a2} p≤0.001^{a3}

b. YFMŞ Grubuna Göre : P≤0.05^{b1} p≤0.01^{b2} p≤0.001^{b3}

6.8. Histopatolojik Bulgular

Deney gruplarına göre karaciğer dokusu yağlanma düzeyine ilişkin mikroskopik skorlama değerleri Tablo 6.8’de ve Şekil 6.8’de verilmiştir.

En düşük ortalama steatoz düzeyine kontrol grubu ($0,18 \pm 0,11$), en yüksek steatoz düzeyine ise YFMŞ grubunun ($2,05 \pm 0,17$) sahip olduğu belirlenmiştir (Resim 6.8.1- Resim 6.8.2.). Steatoz düzeyleri açısından gruplar arası fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0.001$). Farklılığa neden olan grubu belirleyebilmek amacıyla yapılan analizde, kontrol grubuna göre, YFMŞ, YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik gruplarının steatoz düzeyleri yüksek ve aralarındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P \leq 0.001$). YFMŞ grubuna göre, YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik gruplarının steatoz düzeyleri düşük olup, gruplar arası fark istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($P \leq 0.001$). YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti grubuna göre, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik gruplarının steatoz düzeyleri düşük ve istatistiksel olarak önemlidir ($P \leq 0.05$). YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik grubuna göre, YFMŞ+Probiyotik grubunun steatoz düzeyinin yüksek olduğu ve bunun istatistiksel açıdan önemli olduğu saptanmıştır ($P \leq 0.001$).

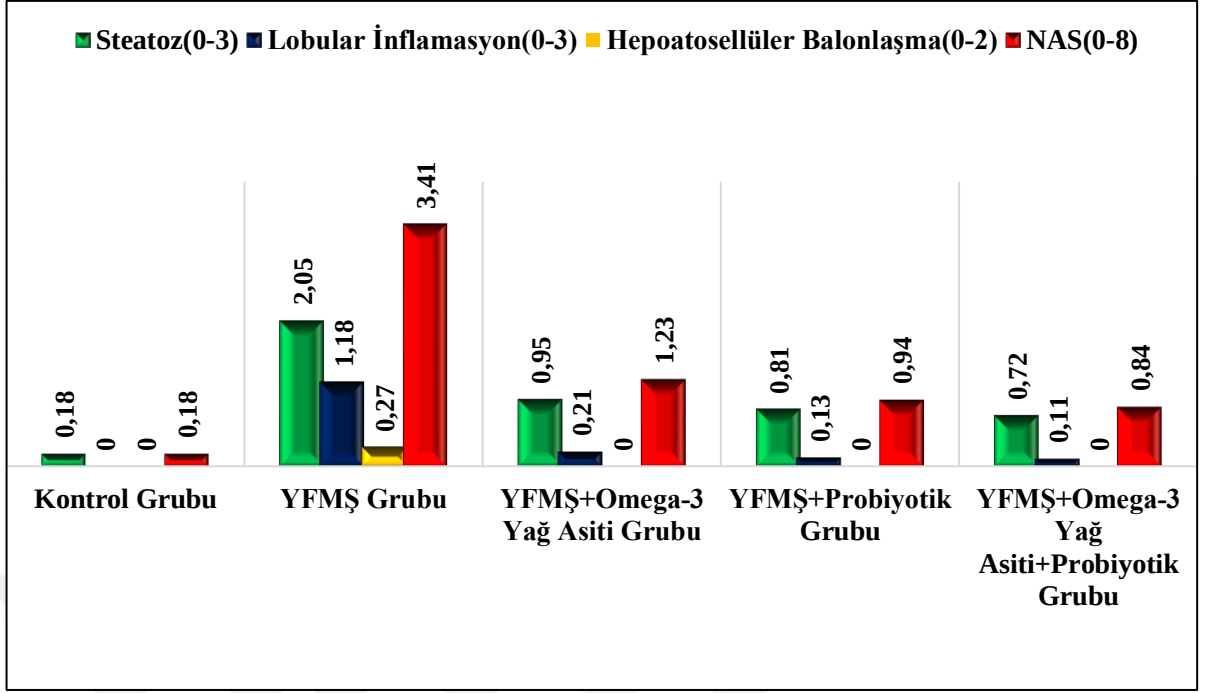
Kontrol grubunda lobular inflamasyon görülmezken, en yüksek lobular inflamasyon düzeyine ise YFMŞ grubunun ($1,08 \pm 0,12$) sahip olduğu belirlenmiştir (Resim 6.8.1- Resim 6.8.2.). Lobular inflamasyon düzeyleri açısından gruplar arası fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0.001$). Farklılığa neden olan grubu belirleyebilmek amacıyla yapılan analizde, kontrol grubuna göre, YFMŞ, YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik gruplarının lobular inflamasyon düzeyleri yüksek ve aralarındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P \leq 0.001$). YFMŞ grubuna göre, YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik gruplarının lobular inflamasyon düzeyleri düşük olup, gruplar arası fark istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($P \leq 0.001$). YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti grubuna göre,

YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik grubunun lobular inflamasyon düzeyi düşük ve istatistiksel olarak önemlidir ($P \leq 0.05$).

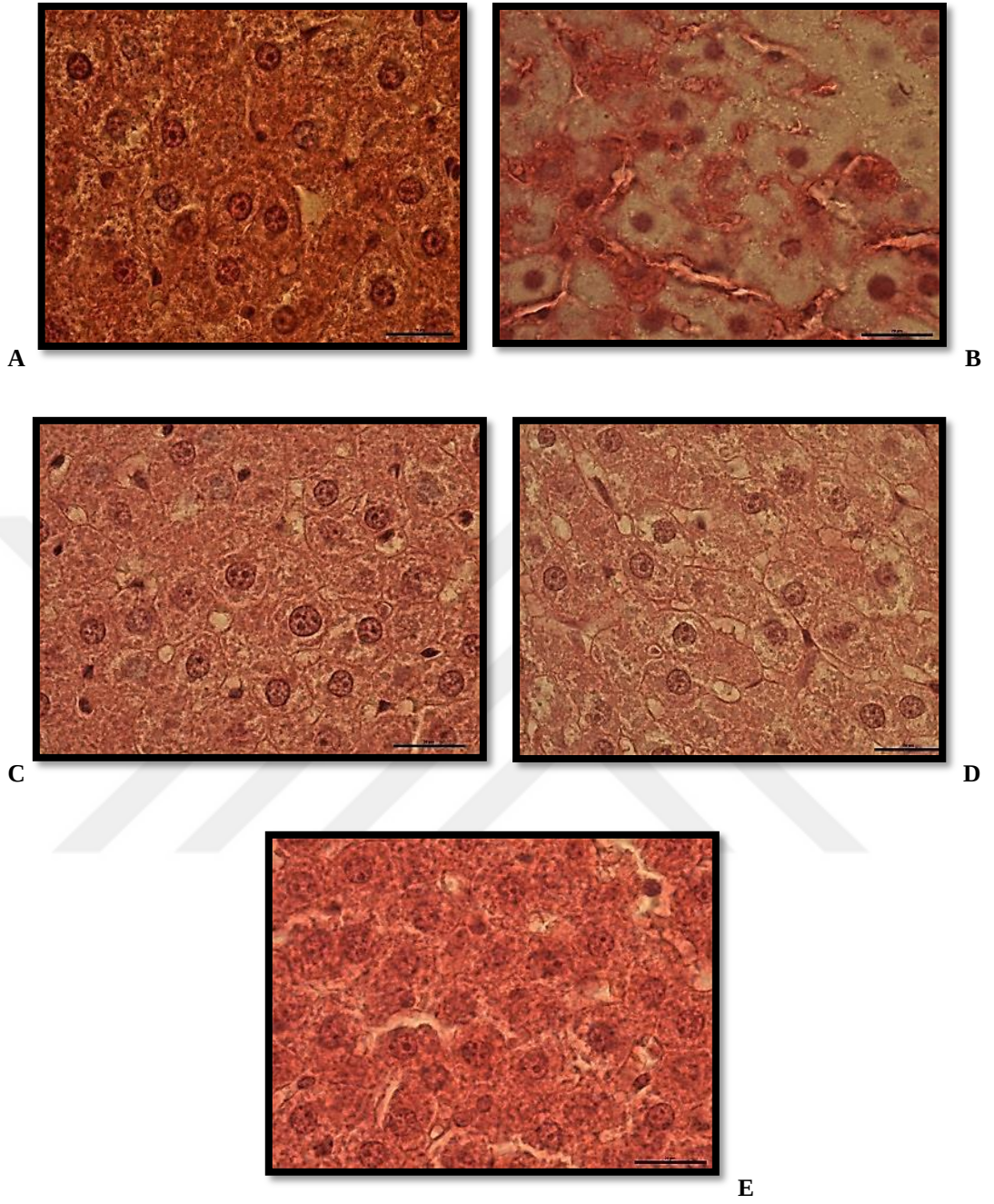
Kontrol, YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik gruplarında hepatosellüler balonlaşma görülmemiştir (Resim 6.8.1- Resim 6.8.2.). YFMŞ grubunun hepatosellüler balonlaşma düzeyi $0,27 \pm 0,06$ olarak bulunmuştur. YFMŞ grubuna göre, kontrol, YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik gruplarının hepatosellüler balonlaşma düzeyi düşük olup istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0.001$).

En düşük ortalama NAS düzeyine kontrol grubu ($0,18 \pm 0,11$), en yüksek NAS düzeyine ise YFMŞ grubunun ($3,41 \pm 0,24$) sahip olduğu belirlenmiştir. NAS düzeyleri açısından gruplar arası fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0.001$). Farklılığa neden olan grubu belirleyebilmek amacıyla yapılan analizde, kontrol grubuna göre, YFMŞ, YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik gruplarının NAS düzeyleri yüksek ve aralarındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P \leq 0.001$). YFMŞ grubuna göre, YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik gruplarının NAS düzeyleri düşük olup, gruplar arası fark istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($P \leq 0.001$). YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti grubuna göre, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik gruplarının NAS düzeyleri düşük ve gruplar arası fark istatistiksel olarak önemlidir ($P \leq 0.001$).

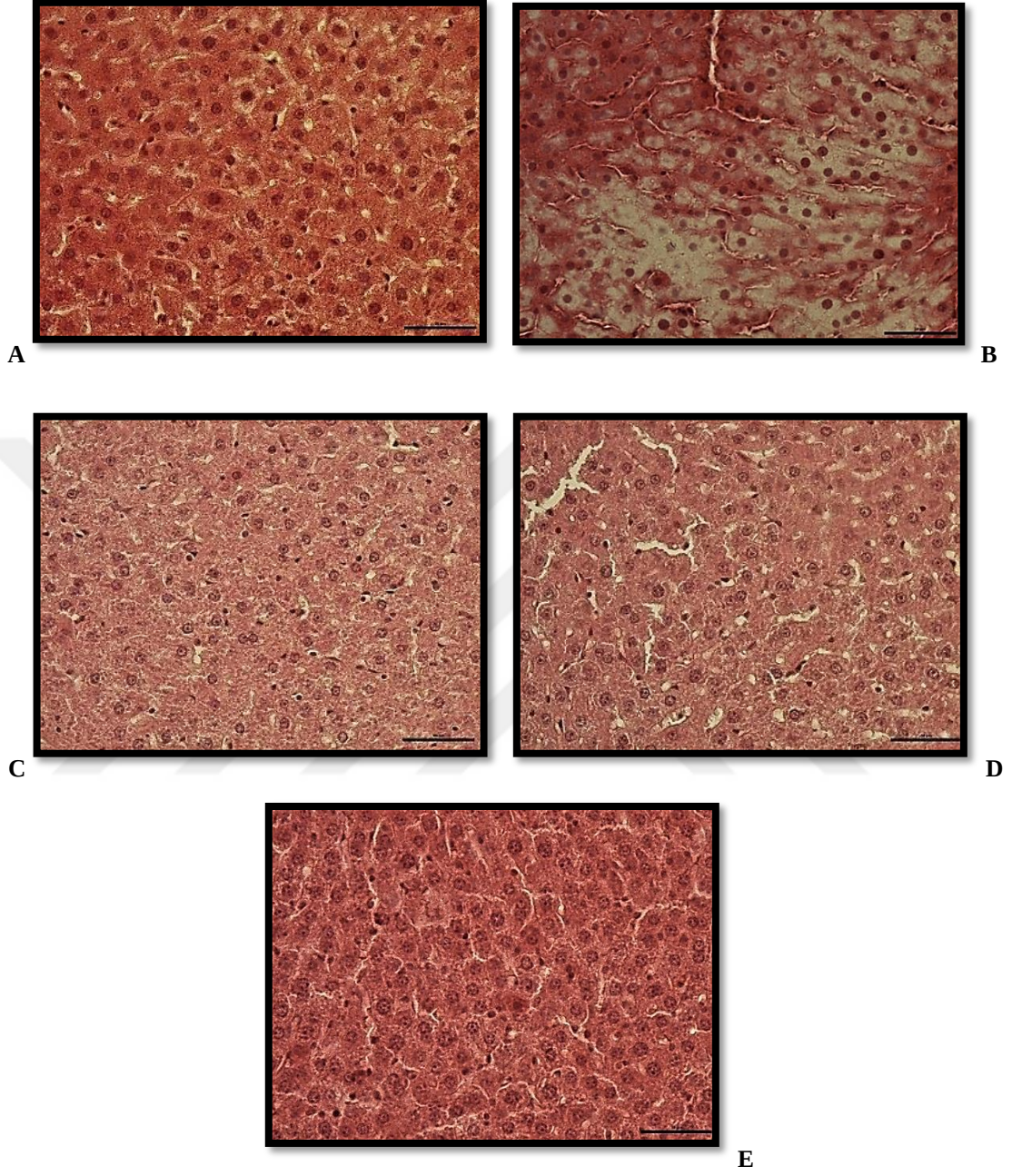
Bu sonuçlara göre, histolojik görünüm dikkate alındığında YFMŞ grubu dışında diğer grupların karaciğerlerinin histolojik açıdan normal olduğu görülmüştür (Resim 6.8.1- Resim 6.8.2).



Şekil 6.8. Sıçanların Karaciğer Dokusu Yağlanma Düzeyi Skor Değerlendirmesi



Resim 6.8.1. Kontrol Grubu (A), YFMS grubu (B), YFMS+ Omega-3 yağ asiti grubu (C), YFMS+Probiyotik grubu (D), YFMS+Omega-3 yağ asiti+ Probiyotik grubu (E) (H+E; 100x).



Resim 6.8.2. Kontrol Grubu (A), YFMS grubu (B), YFMS+ Omega-3 yağ asiti grubu (C), YFMS+Probiyotik grubu (D), YFMS+Omega-3 yağ asiti+ Probiyotik grubu (E) (H+E; 40x).

Tablo 6.8. Sıçanların Karaciğer Dokusu Yağlanma Düzeyi Skor Değerlendirmesi

Mikroskopik Skorlama	Kontrol (n=8) Ort±SD	Grubu YFMŞ (n=8) Ort±SD	Grubu YFMŞ+Omega- 3 Yağ Asiti (n=8) Ort±SD	YFMŞ+Probiyotik Grubu(n=8) Ort±SD	YFMŞ+Omega-3 Yağ Asiti+Probiyotik Grubu(n=8) Ort±SD	P*
Steatoz(0-3)	0,18±0,11 (0,10-0,42)	2,05±0,17 ^{a3**} (1,80-2,33)	0,95±0,12 ^{a3,b3**} (0,84-1,24)	0,81±0,10 ^{a3,b3,c2**} (0,65-1,02)	0,72±0,11 ^{a3,b3,c2,d1**} (0,62-0,98)	0,000
Lobular İnflamasyon(0-3)	0,00±0,00 (0,00-0,00)	1,08±0,12 ^{a3**} (0,92-1,31)	0,21±0,10 ^{a3,b3**} (0,11-0,43)	0,13±0,05 ^{a3,b3**} (0,10-0,27)	0,11±0,02 ^{a3,b3,c1**} (0,10-0,17)	0,000
Hepatosellüler Balonlaşma(0-2)	0,00±0,00 (0,00-0,00)	0,27±0,06 ^{a3**} (0,21-0,43)	0,00±0,00 ^{b3} (0,00-0,10)	0,00±0,00 ^{b3} (0,00-0,00)	0,00±0,00 ^{b3} (0,00-0,00)	0,000
NAS(0-8)	0,18±0,11 (0,10-0,42)	3,41±0,24 ^{a3**} (3,10-3,73)	1,23±0,13 ^{a3,b3**} (1,11-1,45)	0,94±0,12 ^{a3,b3,c3**} (0,76-1,15)	0,84±0,13 ^{a3,b3,c3**} (0,73-1,11)	0,000

*Kruskal-Wallis H Testi

**Mann-Whitney U Testi

a. Kontrol Grubuna Göre: $P \leq 0.05^{a1}$ $p \leq 0.01^{a2}$ $p \leq 0.001^{a3}$

b. YFMŞ Grubuna Göre: $P \leq 0.05^{b1}$ $p \leq 0.01^{b2}$ $p \leq 0.001^{b3}$

c. YFMŞ+Omega-3 Yağ Asiti Grubuna Göre: $P \leq 0.05^{c1}$ $p \leq 0.01^{c2}$ $p \leq 0.001^{c3}$

d. YFMŞ+Probiyotik Grubuna Göre: $P \leq 0.05^{d1}$ $p \leq 0.01^{d2}$ $p \leq 0.001^{d3}$

6.9. Sıçanların Gruplara Göre Yem ve Sıvı Tüketimleri, Ağırlık Değişimleri ile Karaciğer Ağırlığı, Serum ve Doku Parametreleri Arasındaki Korelasyon

Kontrol grubunun yem ve sıvı tüketimleri, ağırlık değişimleri ile karaciğer ağırlığı, serum ve doku parametreleri arasındaki korelasyon Tablo 6.9’ da verilmiştir.

Tablo 6.9. Kontrol Grubunda Yer Alan Sıçanların Yem, Sıvı Tüketimleri, Ağırlık Değişimleri ile Karaciğer Ağırlığı, Serum ve Doku Parametreleri Arasındaki Korelasyon

Parametreler	Yem Tüketimi(gr)	Sıvı Tüketimi(mL)	Ağırlık Değişimi(%)	Katsayı(r) ve Önem Düzeyi(p)
Glukoz(mg/dL)	0,191 0,651	0,085 0,842	0,467 0,243	r p
ALT(U/L)	0,299 0,472	0,148 0,726	-0,052 0,903	r p
AST(U/L)	0,081 0,849	0,090 0,833	-0,315 0,447	r p
ALP(U/L)	0,361 0,376	0,322 0,437	-0,363 0,377	r p
Total Kolesterol(mg/dL)	-0,642 0,086	0,123 0,772	0,224 0,594	r p
Trigliserid(mg/dL)	-0,544 0,164	-0,285 0,494	0,038 0,929	r p
Trigliserid(μmol/g doku)	-0,108 0,799	-0,035 0,935	-0,501 0,207	r p
Total kolesterol (μmol/g doku)	-0,495 0,212	-0,050 0,991	0,082 0,848	r p
Total Protein(mg/g protein)	-0,674 0,067	0,068 0,873	0,294 0,480	r p
GSH (nmol/mg)	-0,411 0,312	0,539 0,168	0,559 0,150	r p
MDA (nmol/mg)	0,503 0,204	-0,501 0,206	-0,660 0,075	r p
IL-6 (pg/mg protein)	0,202 0,632	-0,715 0,046*	0,021 0,960	r p
TNF-α (pg/mg protein)	-0,643 0,085	0,221 0,599	0,048 0,909	r p
Karaciğer Ağırlığı(gr)	0,817 0,013*	0,475 0,235	0,941 0,000***	r p

Önem Düzeyi: $P \leq 0.05^*$ $p \leq 0.01^{**}$ $p \leq 0.001^{***}$

Kontrol grubunda glikoz, karaciğer enzimleri, serum total kolesterol, trigliserid, doku trigliserid, doku kolesterol, doku protein, GSH, TNF- α ve MDA düzeyleri ile yem ve sıvı tüketim miktarları, ağırlık değişimleri arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon olmadığı belirlenmiştir ($P \geq 0.05$). IL-6 düzeyi ile sıvı tüketim miktarı arasında negatif korelasyon belirlenmiştir ($P \leq 0.05$). Karaciğer ağırlığı ile ağırlık değişimi ve yem tüketimi arasında ise pozitif yönde ve yüksek düzeyde bir korelasyon bulunmuştur ($P \leq 0.001$). YFMS grubunun yem ve sıvı tüketimleri, ağırlık değişimleri ile karaciğer ağırlığı, serum ve doku parametreleri arasındaki korelasyon Tablo 6.9’ da verilmiştir.



Tablo 6.10. YFMŞ Grubunda Yer Alan Sıçanların Yem, Sıvı Tüketimleri, Ağırlık Değişimleri ile Karaciğer Ağırlığı, Serum ve Doku Parametreleri Arasındaki Korelasyon

Parametreler	Yem	Sıvı	Ağırlık	Katsayı(r)
	Tüketimi(gr)	Tüketimi(mL)	Değişimi(%)	ve Önem
				Düzeyi(p)
Glukoz(mg/dL)	-0,567 0,142	0,828 0,011*	0,323 0,434	r p
ALT(U/L)	-0,508 0,199	0,298 0,473	0,898 0,020*	r p
AST(U/L)	-0,287 0,491	0,138 0,744	0,406 0,318	r p
ALP(U/L)	0,143 0,735	0,203 0,630	-0,157 0,710	r p
Total Kolesterol(mg/dL)	-0,476 0,233	0,435 0,281	0,167 0,697	r p
Trigliserid(mg/dL)	0,167 0,692	0,044 0,917	0,016 0,970	r p
Trigliserid(μmol/g doku)	-0,348 0,398	0,029 0,946	0,398 0,329	r p
Total kolesterol (μmol/g doku)	-0,446 0,268	0,393 0,336	0,495 0,212	r p
Total Protein(mg/g protein)	0,382 0,350	0,407 0,316	0,007 0,988	r p
GSH (nmol/mg)	-0,639 0,091	0,329 0,426	0,562 0,147	r p
MDA (nmol/mg)	0,048 0,910	0,305 0,462	-0,251 0,548	r p
IL-6 (pg/mg protein)	0,556 0,153	0,451 0,262	0,087 0,838	r p
TNF-α (pg/mg protein)	-0,023 0,957	0,727 0,041*	0,136 0,748	r p
Karaciğer Ağırlığı(gr)	0,494 0,213	0,535 0,172	0,913 0,002**	r p

Önem Düzeyi: $P \leq 0.05^*$ $p \leq 0.01^{**}$ $p \leq 0.001^{***}$

YFMŞ grubunda glukoz ile sıvı tüketim miktarı arasında pozitif yönde ve yüksek düzeyde bir korelasyon bulunmuştur ($P \leq 0.05$). ALT düzeyi ile ağırlık değişimi ($P \leq 0.05$) ve karaciğer ağırlığı ile ağırlık değişimi ($P \leq 0.01$) arasında pozitif korelasyon olduğu belirlenmiştir. TNF-α düzeyi ile sıvı tüketim miktarı arasında pozitif yönde bir korelasyon bulunmuştur ($P \leq 0.05$). AST ve ALP karaciğer

enzimleri, serum total kolesterol, trigliserid, doku trigliserid, doku kolesterol, doku protein, MDA düzeyleri ile yem ve sıvı tüketim miktarları, ağırlığı değişimleri arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon olmadığı belirlenmiştir ($P \geq 0.05$).



Tablo 6.11. YFMŞ+Omega-3 Yağ Asiti Grubunda Yer Alan Sıçanların Yem, Sıvı Tüketimleri, Ağırlık Değişimleri ile Karaciğer Ağırlığı, Serum ve Doku Parametreleri Arasındaki Korelasyon

Parametreler	Yem Tüketimi(gr)	Sıvı Tüketimi(mL)	Ağırlık Değişimi(%)	Katsayı(r) ve Önem Düzeyi(p)
Glukoz(mg/dL)	0,061 0,855	0,312 0,452	0,403 0,323	r p
ALT(U/L)	0,806 0,016*	0,191 0,650	0,431 0,286	r p
AST(U/L)	0,033 0,939	0,150 0,723	-0,239 0,569	r p
ALP(U/L)	0,591 0,122	0,273 0,513	-0,465 0,246	r p
Total Kolesterol(mg/dL)	0,539 0,168	0,426 0,293	-0,510 0,197	r p
Trigliserid(mg/dL)	-0,097 0,819	0,415 0,306	0,287 0,491	r p
Trigliserid(μmol/g doku)	-0,692 0,057	0,068 0,873	0,392 0,337	r p
Total kolesterol (μmol/g doku)	-0,115 0,787	0,287 0,490	0,108 0,799	r p
Total Protein(mg/g protein)	0,340 0,410	0,495 0,212	0,309 0,457	r p
GSH (nmol/mg)	-0,237 0,572	-0,137 0,746	-0,848 0,008**	r p
MDA (nmol/mg)	0,206 0,624	-0,126 0,767	-0,808 0,015*	r p
IL-6 (pg/mg protein)	-0,766 0,027*	0,133 0,754	-0,277 0,506	r p
TNF-α (pg/mg protein)	-0,013 0,975	0,704 0,050*	0,563 0,146	r p
Karaciğer Ağırlığı(gr)	0,249 0,552	0,182 0,666	0,850 0,007**	r p

Önem Düzeyi: $P \leq 0.05^*$ $p \leq 0.01^{**}$ $p \leq 0.001^{***}$

YFMS+Omega-3 Yağ Asiti grubunda glikoz, AST, ALP karaciğer enzimleri, serum total kolesterol, trigliserid, doku trigliserid, doku kolesterol, doku protein düzeyleri ile yem ve sıvı tüketim miktarları, ağırlığı değişimleri arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon olmadığı belirlenmiştir ($P \geq 0.05$). Karaciğer enzimlerinden ALT düzeyi ile yem tüketimi arasında pozitif korelasyon saptanmıştır ($P \leq 0.05$). IL-6 düzeyi ile yem tüketim miktarı arasında negatif korelasyon belirlenmiştir ($P \leq 0.05$). GSH düzeyi ile ağırlık değişimi ($P \leq 0.01$) ve MDA düzeyi ile ağırlık değişimi ($P \leq 0.05$) arasında negatif yönde korelasyon bulunmuştur. Karaciğer ağırlığı ile ağırlık değişimi arasında ise pozitif yönde bir korelasyon olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.01$).

Tablo 6.12. YFMS+Probiyotik Grubunda Yer Alan Sıçanların Yem, Sıvı Tüketimleri, Ağırlık Değişimleri ile Karaciğer Ağırlığı, Serum ve Doku Parametreleri Arasındaki Korelasyon

Parametreler	Yem Tüketimi(gr)	Sıvı Tüketimi(mL)	Ağırlık Değişimi(%)	Katsayı(r) ve Önem Düzeyi(p)
Glukoz(mg/dL)	-0,176 0,676	0,254 0,544	0,366 0,373	r p
ALT(U/L)	0,170 0,687	-0,641 0,089	0,120 0,778	r p
AST(U/L)	-0,124 0,769	-0,404 0,321	0,137 0,746	r p
ALP(U/L)	-0,561 0,148	-0,229 0,585	0,569 0,141	r p
Total Kolesterol(mg/dL)	0,439 0,277	0,530 0,176	0,425 0,294	r p
Trigliserid(mg/dL)	0,322 0,437	0,649 0,082	0,390 0,339	r p
Trigliserid(μmol/g doku)	0,374 0,361	0,165 0,696	-0,275 0,510	r p
Total kolesterol(μmol/g doku)	-0,155 0,715	-0,212 0,614	0,846 0,011*	r p
Total Protein(mg/g protein)	-0,431 0,287	0,226 0,590	0,434 0,283	r p
GSH (nmol/mg)	0,097 0,819	0,558 0,151	-0,226 0,590	r p
MDA (nmol/mg)	0,643 0,085	0,460 0,251	-0,781 0,022*	r p
IL-6 (pg/mg protein)	-0,189 0,655	0,191 0,651	0,076 0,859	r p
TNF-α (pg/mg protein)	-0,680 0,063	0,013 0,977	0,765 0,027*	r p
Karaciğer Ağırlığı(gr)	0,934 0,001***	0,215 0,610	0,968 0,000***	r p

Önem Düzeyi: $P \leq 0.05^*$ $p \leq 0.01^{**}$ $p \leq 0.001^{***}$

Karaciğer dokusu total kolesterol, TNF- α düzeyi, karaciğer ağırlığı ile ağırlık değişimi arasında pozitif korelasyon olduğu, MDA düzeyi ile ağırlık değişimi arasında ise negatif yönde bir korelasyon olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.05$). Karaciğer ağırlığı ile yem tüketim miktarı arasında da pozitif yönde bir korelasyon olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.001$). AST ve ALP karaciğer enzimleri, serum total kolesterol, trigliserid, doku trigliserid, doku protein, GSH, IL-6 düzeyleri ile yem ve sıvı tüketim miktarları, ağırlığı değişimleri arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon olmadığı belirlenmiştir ($P \geq 0.05$).



Tablo 6.13. YFMS+Omega-3 Yağ Asiti+Probiyotik Grubunda Yer Alan Sıçanların Yem, Sıvı

Tüketimleri, Ağırlık Değişimleri ile Karaciğer Ağırlığı, Serum ve Doku Parametreleri Arasındaki Korelasyon

Parametreler	Yem Tüketimi(gr)	Sıvı Tüketimi(mL)	Ağırlık Değişimi(%)	Katsayı(r) ve Önem Düzeyi(p)
Glukoz(mg/dL)	-0,175 0,678	-0,186 0,659	-0,099 0,816	r p
ALT(U/L)	0,105 0,805	-0,359 0,382	0,453 0,259	r p
AST(U/L)	0,743 0,035*	0,432 0,285	-0,356 0,387	r p
ALP(U/L)	0,591 0,122	-0,077 0,856	-0,215 0,610	r p
Total Kolesterol(mg/dL)	-0,207 0,623	-0,370 0,368	0,054 0,900	r p
Trigliserid(mg/dL)	0,231 0,582	-0,149 0,724	0,739 0,036*	r p
Trigliserid(μmol/g doku)	0,052 0,902	0,165 0,696	-0,500 0,207	r p
Total kolesterol (μmol/g doku)	0,117 0,783	0,205 0,626	-0,323 0,436	r p
Total Protein(mg/g protein)	0,059 0,889	-0,190 0,652	-0,228 0,586	r p
GSH (nmol/mg)	0,587 0,126	0,516 0,191	-0,844 0,008**	r p
MDA (nmol/mg)	0,499 0,208	0,510 0,197	-0,792 0,019*	r p
IL-6 (pg/mg protein)	0,761 0,028*	-0,040 0,993	-0,292 0,483	r p
TNF-α (pg/mg protein)	-0,603 0,113	0,713 0,047*	0,309 0,457	r p
Karaciğer Ağırlığı(gr)	0,417 0,304	-0,084 0,844	0,843 0,009**	r p

Önem Düzeyi: $P \leq 0.05^*$ $p \leq 0.01^{**}$ $p \leq 0.001^{***}$

YFMS+Omega-3 Yağ Asiti+Probiyotik grubunda AST düzeyi ile yem tüketim miktarı arasında pozitif yönde bir korelasyon bulunmuştur ($P \leq 0.05$). Serum trigliserid düzeyi ile ağırlık değişimi ($P \leq 0.05$) ve karaciğer ağırlığı ile ağırlık değişimi ($P \leq 0.01$) arasında pozitif korelasyon olduğu belirlenmiştir. GSH düzeyi ile ağırlığı değişimi ($P \leq 0.01$) ve MDA düzeyi ile ağırlığı değişimi ($P \leq 0.05$) arasında negatif yönde bir korelasyon bulunmuştur. IL-6 düzeyleri ile yem tüketim miktarları arasında pozitif yönde bir korelasyon saptanırken ($P \leq 0.05$), TNF- α düzeyi ile sıvı tüketim miktarı arasında da yine pozitif yönde bir korelasyon bulunmuştur ($P \leq 0.05$). Glukoz, ALT ve ALP karaciğer enzimleri, serum total kolesterol, doku trigliserid, doku protein düzeyleri ile yem ve sıvı tüketim miktarları, ağırlığı değişimleri arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon olmadığı belirlenmiştir ($P \geq 0.05$).

7.TARTIŞMA

İnsanlarda probiyotik kullanımının, NAYKH'a sahip obez bireylerde yaşam tarzı değişikliklerinin etkinliğini artırdığı, konvansiyonel karaciğer fonksiyon testlerini geliştirebileceği ve lipid peroksidasyonu belirteçleri azalabileceği gözlenmiştir. Ancak yeterli miktarda veri sağlanamamıştır. Omega-3 yağ asitleri ile ilgili cesaret verici çalışmalar sağlanmış olmasına rağmen çalışma sayısı azdır. Ayrıca mevcut literatür de, NAYKH'da probiyotik ve omega-3 desteğinin etkisinin ayrı ayrı incelendiği sınırlı çalışmalar olsa da, birlikte incelendiği bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Non alkolik yağlı karaciğer hastalığı için önerilen tedavi olarak probiyotiklerin ve omega-3 yağ asitlerinin uygulanması bu alanda yeni bir tedavi yöntemine yol açmıştır. Bu nedenle, omega-3 yağ asitlerinin beslenmede olmasıyla beraber ortaya çıkan olumlu sonuçlar ve probiyotiklerin bağırsak florasını dengelemesi yararlı bir ajan olarak önerilmesi sonucunu doğurmuştur. Özellikle bu çalışmada her iki desteği de kullanmamız çalışmayı özgün hale getirmiştir. Bu yaklaşımdaki temel amaç, hem histolojik hem de biyokimyasal açıdan her iki desteğinde etkisini gözlemleyebilmektir. Burada, yüksek fruktozlu mısır şurubu, omega-3 yağ asitleri ve probiyotiklerin hem biyokimyasal hem de histolojik açıdan karaciğer yağlanması üzerine etkilerini ortaya koyan tartışmaya geçilmiştir.

Fast food ya da kafeterya tarzı yiyeceklerin içeriğinin temeli yüksek doymuş yağlar, kolesterol ve fruktozdur [279]. Yüksek miktarda tüketilen fruktozun de novo lipojeneze neden olduğu bilinmektedir. İnsanlarda diyetle yüksek miktarda fruktoz metabolik sendrom, obezite ve NAYKH ile ilişkilidir. Fruktoz, karaciğerde reaktif oksijen türlerinin oluşumuna neden olmaktadır [280]. Fruktozdan zengin bir beslenme şekli, yüksek derecelerde makrovesiküler ve mikrovesiküler steatoz ve bazı deneylerde, iltihaplanma ve periportal fibrozisi indüklemektedir [281, 282].

İnsülin direnci, dislipidemi, proinflamatuvar sitokinler ve hepatik lipid peroksidasyonuna neden olduğu belirtilmektedir. Bu yüzden fruktozla zenginleştirilmiş diyetlerle beslenen deneysel sıçanların NAYKH ve NASH için iyi bir model olduğu belirtilmektedir [283]. Fruktoz ile yapılan çalışmalarda Sprague-Dawley ve Wistar türü sıçanlar 2 hafta içinde metabolik sendrom oluşturabileceği belirtilmiştir. Kalp ve hepatik steatozda, ventriküler dilatasyon, ventriküler hipertrofi,

azalmış ventriküler kasılma fonksiyonu, inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonunu indüklemektedir [284].

Bu nedenle, fruktozun beslenmede yer alması NAYKH'ın fare modellerinde fibrozis, hepatoselüler balonlaşma ve adipoz doku inflamasyonunun gelişimine neden olduğunu göstermektedir. Bu hastalarda yüksek fruktozlu mısır şurubu içeren yiyecek tüketiminin yaygın olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Bundan hareketle, bu çalışmada karaciğer yağlanması modeli için yüksek fruktozlu mısır şurubu kullanılmıştır [174, 184]. Yüksek fruktozlu mısır şurubundaki fruktoz krep siklusunda enerji üretiminden ziyade karaciğerde trigliserit ve vücut yağına dönüşmektedir [285]. Chung ve ark.'ları yaptıkları çalışmada, enerji alımındaki veya vücut ağırlığındaki artışların, NAYKH üzerine özellikle fruktoz gibi yüksek miktarda monosakkarit ve disakkarit alımlarının etkilerini doğrudan göstermiştir [286].

Fruktoz karaciğerde karbonhidrat metabolizmasını önemli derecede etkilemektedir. Vücuda alınan glikoza az miktarlarda fruktoz eklenmesi insanlarda karaciğerde glikojen sentezini artırmakta ve Tip 2 diyabetli kişilerde glisemik yanıtı azaltmaktadır. Fakat YFMŞ gibi kaynaklardan aşırı miktarda fruktoz alındığı zaman problemler çıkmaktadır. Böylece aşırı fruktoz, olumsuz sağlık etkileri olan, karaciğerde lipogenezis için hazır bir karbon kaynağı oluşturmaktadır [287].

Özellikle son yıllarda hemen hemen bütün tatlı gıdaların bileşimine girdiği için sağlık üzerine etkisi sorgulanmaya başlanmış ve bu konuda yapılan araştırmaların sayısı artmıştır. Yapılan araştırmalarda, yüksek fruktozlu mısır şurubunun ve aşırı fruktoz tüketiminin daha ziyade şişmanlık, koroner hastalıklar, olumsuz metabolik değişimler, plazma trigliserit seviyesinin artması ve hepatik insülin direnci gibi insan sağlığını olumsuz etkileyen faktörlerle ilişkisi belirlenmeye çalışılmıştır [288].

Chen ve ark.'ları yaptıkları çalışmada, yüksek fruktozlu mısır şurubuyla indüklenen sıçanların enerji alımları, vücut ağırlıkları kontrol grubuna göre önemli derecede arttığı belirtilmiştir [289]. Charlton ve ark.'ları yaptıkları bir çalışmada, içme suyuna enerjinin % 40 yağ ve yüksek fruktozlu mısır şurubu (42 gr / lt) eklenmiştir. Sonucunda obezite, insülin direnci ve steatoz ile metabolik sendromun

özelliklerini tekrarlamıştır [290]. Masterjohn ve ark.'ları dokuz hafta boyunca yüksek fruktoz diyeti ile beslenen sıçanlarda yaptıkları başka bir çalışmada, yüksek fruktoz diyeti alan grubun çalışma sonu vücut ağırlıklarının arttığı görülmüştür [291]. Alisi ve ark.'ları yaptıkları randomize çalışma da, yağlı karaciğer şiddeti ultrason ile değerlendirilen ve 4 ay boyunca bifidobakteri, laktobasil ve *S. thermophilus* suşları ile (VSL#3) tedavi edilen NAYKH sahip çocukların VKİ'sinde belirgin bir azalma olduğunu göstermiştir. Bu veriler, bu suşların karaciğer yağını azaltabileceğini ve dolayısıyla NAYKH'nın ilerlemesini önleyebildiğini göstermektedir [292]. Cani ve ark.'ları yaptıkları hayvan modellerinde oligofruktoz ile tedavi NAYKH'a sahip hastaların glukoz toleransı ve vücut ağırlığında azalmaya yol açmıştır [293].

Bu çalışmada da, yapılan analiz sonucunda başlangıç, 3.hafta ve kesim ağırlıkları değişimi gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. YFMS grubuna göre YFMS+Omega-3 Yağ asiti, YFMS+Probiyotik ve YFMS+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik gruplarında kesim ağırlığı değişimi daha düşük bulunmuş olup arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir. Bu sonuç, YFMS'nun insan sağlığında olumsuz etkiler yaratabileceğini, desteklerin ise bunu koruyucu yönde etkileyebileceğini düşündürmektedir. YFMS grubuna göre probiyotik grubunun ağırlık değişiminin düşük olması iştah azaltıcı etkisine bağlanmıştır. Probiyotiklerin antiobezite etkisi, bağırsak mikrobiyotasının değişimi ve glukoz, lipid metabolizması ve enerji homeostazı üzerinden gerçekleştirdiği belirtilmektedir. Omega-3 yağ asitlerinin ise YFMS grubuna göre düşük olmasının nedeni iştahı baskılaması, yağ oksidasyonu ve enerji harcamasını artırması hipotezlerine dayandırılmaktadır. YFMS'nin obeziteye neden olabileceği bu durumda ilerleyen zamanlarda hepatik yağ seviyesini artırabileceği düşünülmektedir.

Chen ve ark.'ları yaptıkları çalışmada, yüksek fruktozla indükledikleri farelerin vücut ve karaciğer ağırlığının diğer gruplara göre önemli derecede yüksek olduğunu göstermişlerdir [289]. Masterjohn ve ark.'ları yaptıkları bir çalışmada fruktoz ile beslenen sıçanların, karaciğer kütlesinin, hepatik lipid, TG veya glikojen değişiminden bağımsız olarak arttığını belirtmişlerdir [291]. Benzer bir çalışmada, yüksek fruktozlu mısır şurubu (42 g/l) beslenen sıçanların karaciğer ağırlığında önemli bir artış meydana gelmiştir [290]. Bu çalışmada, YFMS grubuna göre

YFMS+Omega-3 Yağ asiti, YFMS+Probiyotik ve YFMS+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik grubu karaciğer ağırlığı daha düşük ve istatistiksel olarak önemlidir. Bu sonuçta, diğer çalışmalara göre YFMS'de karaciğer ağırlığının daha düşük seviyede artması süre ve doza dayandırılmaktadır. YFMS grubuna göre diğer grupların kontrol grubuna yakın olması karaciğerde bu desteklerin koruyucu özellik gösterdiğini düşündürmektedir.

Bellisle ve ark.'ları fruktoz ile iştah arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışmada da, fruktoz alımının iştah mekanizmasını etkilediği belirlenmiştir [294].

Chen ve ark.'ları yaptıkları çalışmada, yüksek fruktozlu mısır şurubuyla indüklenen sıçanların kontrol grubuna göre yem ve su tüketimleri önemli derecede düşük bulunmuştur [289]. Panchal ve ark.'ları yaptıkları çalışmada, yüksek fruktoz alan sıçanların 16 hafta boyunca kontrol grubuna göre günlük ortalama yem ve su tüketimlerinin azaldığını bildirmişlerdir [295]. Narayanan ve ark.'ları yaptıkları çalışmada, yüksek fruktozlu mısır şurubuyla beslenen sıçanların kontrol grubuna göre yem ve su tüketimleri arasında farklılık olmadığını rapor etmişlerdir [296]. Masterjohn ve ark.'ları yaptıkları çalışmada, 9 hafta boyunca yüksek fruktoz ile beslenen sıçanların yem tüketimleri arasında farklılık olmadığını belirtmişlerdir [291].

Bu çalışmada da, deney süresince grupların haftalık yem tüketim miktarındaki farklılıklar istatistiksel anlamda önemli bulunmuştur. Deney süresince her bir grubun kendi içerisindeki yem tüketiminde meydana gelen değişimler analiz edildiğinde, kontrol grubunda başlangıç haftasından son haftaya kadar yem tüketiminde artış olduğu gözlemlenmiştir. YFMS grubu yem tüketim miktarı özellikle 2.haftadan sonra azalmaya başlamış olup 1.-2. hafta yem tüketim miktarında azalma istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur. YFMS+Omega-3 Yağ asiti grubu, YFMS+Probiyotik ve YFMS+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik grubu yem tüketimi 3.haftadan sonra sıçanlara omega-3 ve probiyotik uygulamalarına bağlı olarak daha da azalmıştır ve istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Yüksek fruktozlu içme suyu tüketimi, yem alımında azalmayla sonuçlanmıştır, ancak enerji alımında artışa neden olduğu düşünülmektedir. Bu durum vücut ağırlığındaki değişimle paralel sonuç göstermektedir. Diğer gruplarda yapılan korelasyonda yem

tüketimi ile ağırlık arasında pozitif korelasyon görülmektedir. Bu durum hipotezi destekler niteliktedir.

Bu çalışmada, sıçanların gruplar itibariyle 1. hafta sıvı tüketim miktarları istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. YFMŞ grubu sıvı tüketim miktarındaki değişim 1. ve 2. hafta, 2. ve 3. hafta, 3. ve 4. hafta, 5. ve 6. hafta arasında istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Deney süresince sıvı tüketim miktarı YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik gruplarında haftalar itibariyle azalmıştır. Ancak bu gruplarda 1.-7. haftalar arasındaki azalma istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Bu sonuç, diğer gruplara göre YFMŞ grubunun sıvı tüketim miktarındaki değişikliğin yem alımındaki azalmanın nedenini gösterdiği düşünülmektedir. Yüksek fruktozlu içme suyuna olan eğilimin sağlıksız beslenmeyle beraber hepatik yağ içeriğini arttırmış olabileceği kanısına varılmaktadır. Yapılan korelasyonda YFMŞ grubunda sıvı tüketimi ve ağırlık arasında pozitif korelasyon görülmektedir. Bu durum hipotezi destekler niteliktedir. Diğer gruplarda sıvı tüketimindeki değişikliğin özellikle gavaj uygulamasına başladıktan sonra azalma göstermesi bu desteklerin olumlu sonuçlar gösterdiğine dayandırılmaktadır.

Zhu ve ark.'ları omega-3 yağ asitleri üzerine yaptıkları bir çalışmada, hiperlipidemiye bağlı NAYKH'a sahip 144 hasta, 24 hafta boyunca randomize kontrollü çalışmaya dahil edilmiştir. Hastalar iki gruba randomize edilmiştir. Grup A (n = 72) günde üç kez, tavsiye edilen diyet ve 2 gr omega-3 PUFA almıştır. B grubu (n = 72) günde 3 kez önerilen diyet ve 2 gr plasebo almıştır. Sonuçta, omega-3 PUFA, hiperlipidemiyle ilişkili NAYKH hastaları için güvenli ve etkili olduğu ve ALT, serum lipit seviyelerini normal düzeylere indirdiği sonucuna varılmıştır [297]. Loguercio ve ark.'ları İtalya'da yaptıkları bir çalışmada, 22 NASH, 20 ASH ve 36 HCV hastasında (20 KCH, 16 siroz) probiyotiklerin kronik kullanımının etkilerine bakılmıştır. Bütün hastalara VSL#3 probiyotik verilmiştir. AST ve ALT düzeyleri VSL#3 probiyotik tedavisi sonrası NASH ASH ve kronik C hepatit olgularında belirgin olarak düzelmiştir [252]. Aller ve ark.'ları yaptıkları bir çalışmada, karaciğer fonksiyonları ve kardiyovasküler risk faktörlerini araştırmak için L. bulgaris ve S. thermophilus'un farklı parametreler üzerinde etkileri ölçülmüştür. Bu tedavi, ALT,

aspartat amino transferaz (ASP) ve γ -GTP düzeylerinde azalma göstermiştir [298]. Wong ve ark.'ları yaptıkları çalışmada, NASH'lı hastalar 6 ay boyunca lepicol probiyotik kullanmışlardır. Probiyotik tedavisi karaciğer yağlanmasını ve AST seviyelerini azaltmıştır [253].

Bu çalışmada da, deney gruplarının ortalama serum düzeylerine bakıldığında gruplar arası fark istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur. En yüksek ALT, serum kolesterol, AST düzeyi YFMS grubunda belirlenmiştir. YFMS+Omega-3 Yağ asiti, YFMS+Probiyotik ve YFMS+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik gruplarının ortalama ALT, AST, serum kolesterol değerleri YFMS grubuna göre düşük ve istatistiksel olarak gruplar arası fark önemlidir. Klinikte AST ve ALT düzeylerindeki anormallikler hepatik hasarın göstergesi olarak belirtilmektedir. Bu durum, NAYKH hastalığının histopatolojik olarak bir göstergesi olabileceğini düşündürmektedir. Yapılan korelasyonda YFMS grubundaki ağırlık değişimi ile ALT arasında pozitif korelasyon bulunmuştur. Bu durum hipotezi desteklemektedir. Diğer gruplardaki bu durum probiyotik ve omega-3 yağ asitlerinin antiinflamatuvar ve antioksidatif aktivite gösterdiği hipotezine dayandırılmaktadır.

Vajro ve ark.'ları yaptıkları bir çalışmada, 8 hafta L. Rhamnosus ile tedavi edilen NAYKH sahip çocuklarda ALT, TNF-a değerlerinin azaldığı gösterilmiştir [299]. Malaguarnea ve ark.'ları yaptıkları çalışmada, 66 NASH'a sahip hasta 2 gruba ayrılmıştır. İlk gruba Bifidobacterium longum+ Fruktooligosakkarit (FOS) ikinci grup plasebo olarak ayrılmıştır. 24 hafta sonunda bifidobacterium longum+ FOS verilen grup plasebo ile karşılaştırıldığında TNF-a, CRP, AST, HOMA-IR seviyeleri ve yağlanma önemli derecede azalmıştır [300]. Esposito ve ark.'ları yaptıkları çalışmada, ratlar 3 gruba ayrılmıştır. 1. grup standart yem, 2. grup yüksek yağ içeren yem (%71) 3.grup ise yüksek yağ içeren yemle beraber VSL#3 (13×10^9 bakteri $\text{kg}^{-1}\text{d}^{-1}$) almıştır. 4 hafta sonra yüksek yağ içeren yemlerle beslenen sıçanların vücut ve karaciğer ağırlığı standart yemle beslenen gruba göre artmıştır. Yüksek yağlı yemle beraber VSL#3 probiyotik ile beslenen grupta sadece yüksek yağlı yemle beslenen gruba göre TNF-a önemli derecede düşük bulunmuştur [301]. Bu çalışmada da, sıçanların karaciğer ağırlığı en düşük YFMS+Probiyotik grubunda en yüksek YFMS grubunda belirlenmiştir. Marsman ve ark.'ları 3 hafta boyunca metiyonin ve kolinden

fakir diyetle besledikleri ratlarda steatoz oluşturmuşlardır. 2 hafta boyunca omega-3 yağ asitleri, standart lipid solüsyonu ve NACI vermişlerdir. Standart diyet alan kontrol hayvanlarıyla karşılaştırıldığında, omega-3 yağ asitleri ile tedavi edilen hayvanlarda daha düşük alanin aminotransferaz (ALT) ve TNF- α seviyeleri ve yüksek antioksidan kapasitesi bulunmuştur [302].

Bu çalışmada da, karaciğer dokusu ortalama TNF- α düzeyleri açısından gruplar arası fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Kontrol grubuna göre YFMŞ grubunun doku TNF- α düzeyi yüksek ve aralarındaki fark istatistiksel olarak önemlidir. YFMŞ grubuna göre, YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik gruplarının doku TNF- α düzeyleri düşük ve aralarındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Bu sonuç, YFMŞ'nin inflamatuvar etkisine, probiyotik ve omega-3 yağ asitlerinin antiinflamatuvar etkisine dayandırılmaktadır. Yapılan korelasyonda YFMŞ grubunda sıvı tüketimi ile TNF- α arasında pozitif korelasyon olması bunu desteklemektedir.

Qin ve ark.'ları yaptıkları bir çalışmada, hiperlipidemiye bağlı NAYKH'a sahip 80 hasta balık yağı (n = 40, 4 gr / gün) ve mısır yağı kapsülleri (n = 40, 4 gr / gün) tüketmek üzere randomize edilmiştir. 3 ay boyunca balık yağı takviyesi (4 g) lipid ve glikoz seviyelerini, karaciğer fonksiyonlarını ve dolaşımdaki biyobelirteçleri iyileştirmiştir ve hiperlipidemi ile ilişkili NAYKH hastalarında antiinflamatuvar fonksiyonlarını yerine getirmiştir. Balık yağı ile takviyenin, NAYKH ile ilişkili metabolik anormalliklerin tedavisinde yarar sağlayabileceğini göstermektedir [303]. Nogueira ve ark.'ları yaptıkları bir çalışmada, 60 NAYKH hastası 2 gruba ayrılmıştır. 27 kişi 0.315 gr/gün omega-3 PUFA almıştır. 23 kişi plasebo grubu olarak ayrılmıştır. Sonuçta, omega-3 PUFA ile takviye, NAYKH hastalarının lipid profilini potansiyel olarak omega-6 yağ asitleri seviyelerini ve serum trigliserit düzeylerini önemli ölçüde etkilediği belirtilmiştir [265]. Nabavi ve ark.'ları yaptıkları çift kör randomize kontrollü bir klinik çalışmada, NAYKH'a sahip hastalara 8 hafta boyunca günde 300 gr L. acidophilus La5 ve B. lactis Bb12 ile probiyotik yoğurt tüketirilmiştir. L. acidophilus La5 ve B. lactis Bb12 tüketimi, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ALT, ASP, TC ve LDL-C serum seviyelerinde düşüşe neden olmuştur [304].

Bu çalışmada da, en düşük ortalama doku trigliserid düzeyine kontrol grubu sahipken, en yüksek doku trigliserid düzeyine ise YFMS grubunun sahip olduğu görülmüştür. YFMS grubuna göre, YFMS+Omega-3 Yağ asiti, YFMS+Probiyotik ve YFMS+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik grubu doku trigliserid düzeyi daha düşük bulunmuş olup, farkın istatistiksel anlamda önemli olduğu görülmüştür. Bu sonuç, YFMS'nin hepatik yağ içeriğini arttırdığını destekler niteliktedir. Diğer gruplarda yüksek fruktozlu beslenmenin devam etmesine rağmen trigliserid düzeyinin daha düşük bulunması probiyotik ve omega-3 yağ asitlerinin lipit profilini iyileştirdiğini düşündürmektedir.

Aller ve ark.'ları NAYKH'a sahip hastalarda yaptıkları çalışmada, probiyotiğin (*Lactobasillus bulgaricus*+*Streptococcus thermophilus* 500x10⁶ /gün) etkisi araştırılmıştır. Başlangıç ve 3 ay sonundaki VKİ, vücut ağırlığı, yağ kütlesi, bel/kalça oranı, glukoz, insülin, HOMA-IR, kolesterol, trigliserit, IL-6 ve TNF- α parametrelerinde istatistiksel bir fark bulunmamıştır [298]. Bizim çalışmamızda bu çalışmanın aksine, deney gruplarının ortalama glukoz ve IL-6 düzeyleri karşılaştırıldığında gruplar arası fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Yapılan analizde, kontrol grubuna göre YFMS grubunun ortalama glukoz ve IL-6 düzeyi yüksek ve istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur. Bu sonuç, YFMS grubunun sıvı tüketimi ile glukoz arasında pozitif korelasyon göstermesini desteklemektedir. Diğer gruplara göre YFMS grubunun IL-6 düzeyinin yüksek çıkmasının nedeni inflamasyon durumuna bağlanmaktadır.

Gülçen ve ark.'ları yaptıkları bir çalışmada, 16 adet Wistar Albino cinsi erişkin erkek sıçan iki gruba ayrılarak kullanılmıştır. Deney grubundaki sıçanlara 6 hafta boyunca 400 mg/kg vücut ağırlığı dozu olacak şekilde omega- 3 yağ asidi intragastrik gavaj yöntemi ile verilmiştir. Sonuç olarak omega -3 yağ asitlerinin sıçan karaciğer dokusu üzerinde oksidatif hasarı önlediği ve antioksidan sistemi güçlendirdiği gösterilmiştir [305]. Cani ve ark.'ları yaptıkları hayvan modellerinde oligofruktoz ile tedavi, yağ dokusu iltihabı ve oksidatif stresi azaltmıştır [293]. Bu çalışmada da en yüksek doku GSH ve MDA düzeyine YFMS+Omega-3 Yağ asiti grubunun sahip olduğu belirlenmiştir. Karaciğer dokusu ortalama GSH ve MDA düzeyleri açısından gruplar arası fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

Kontrol ve YFMŞ gruplarına göre, YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik gruplarının doku GSH, MDA düzeyleri yüksek ve aralarındaki fark istatistiksel olarak önemlidir. Bu sonuç, serbest radikallerin yüksek fruktoz kaynaklı insülin direnci patogenezine dayandırılmaktadır. Yüksek fruktozun inflamasyonla beraber GSH ve MDA aktivite ve ekspresyonunu azalttığı düşünülmektedir. Oksidatif strese, antioksidanlar ve reaktif oksijen türleri arasındaki dengenin bozulması, hücrel hasara yol açmaktadır. Diğer gruplara göre omega-3 yağ asitlerinin doku GSH ve MDA seviyelerinin yüksek olması antioksidan aktivitesine bağlanmaktadır. Yapılan korelasyonda YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti grubunda ağırlık değişimi ile GSH ve MDA düzeylerinin negatif korelasyon göstermesi bunu destekler niteliktedir.

Literatürde sıçanlarda probiyotikle ve omega-3 yağ asitleri ile yapılan çalışmalarda steatozu değerlendiren çok fazla çalışma bulunmamaktadır [306].

Lee ve ark.'ları yaptıkları çalışmada, yüksek fruktoz içeriğinin doymuş yağ ve kolesterol yüksek diyetle eklenmesi, büyük hayvanlarda balonlanma da dahil olmak üzere NAYKH'nın tüm özelliklerini yeniden oluşturduğu belirtilmiştir [307]. Tetri ve ark.'ları yaptıkları bir çalışmada, farelerin içme suyuna (42 g/l) %55 fruktoz ve %45 glukoz eklenmiştir. İnsülin direnci, obezite ve ciddi karaciğer steatozu gelişmiştir [279]. Jia ve ark.'ları yaptıkları çalışmada bir probiyotik kombinasyonu olan Golden bifid ve laktuloz tedavisi tiyoactamide ile oluşturulan deneysel minimal hepatik ensefalopati rat modelinde kullanılmıştır. Her iki grupta da tedavi sonrası tedavi öncesine göre kan amonyak düzeyi, endotoksin düzeyi ve karaciğerdeki sentrolobuler nekroz bölgelerinde belirgin azalma gözlenmiştir [308]. Ma ve ark.'ları yaptıkları çalışmada, C57BL-6 fareleri 2 gruba ayrılmıştır. 1. gruba yüksek yağlı yem (%60) 2.gruba standart pelet yem verilmiştir. Fareler 4 hafta gavajla VSL#3 probiyotik ($1,5 \times 10^9$ koloni/fare/gün) almışlardır. Probiyotik tedavisi steatozda ve insülin direncinde önemli iyileşme sağlamıştır [309]. Velayudham ve ark.'ları yaptıkları çalışmada, 16 adet C57BL-6 fareleri 2 gruba ayrılmıştır. Her iki grupta 6 hafta methionin ve kolinden eksik yemlerle beslenmiştir. Bir grup ayrıca VSL#3 probiyotik ile desteklenmiştir. Bir paket VSL#3 (450 milyar koloni / paket) 1L suda karıştırılarak farelere verilmiştir. VSL#3 probiyotik karaciğerde fibrozisi modüle

etmiştir [310]. Nogueira ve ark.'ları yaptıkları bir çalışmada, 27 kişiye 0.315 gr/gün omega-3 PUFA verilmiştir. n-3 PUFA'larının plazma artışı (özellikle DHA'nın) daha iyi karaciğer histolojisiyle ilişkili bulunmuştur [265]. Xu ve ark.'ları probiyotik suplementasyonunun mikrobiyal flora ve hepatik lipid birikimine etkisini araştırdığı bir çalışmada, yüksek yağlı diyet alan model grubunda, santral ven çevresinde lipid birikimi ile mikro ve makroveziküler steatoz oluşmuştur. Kontrol grubunda, hayvanların karaciğerinde hepatik lipid birikimi oluşmamış ve karaciğer lobları normal yapıda değerlendirilmiştir [311]. Rodriguez ve ark.'ları omega-3 yağ asitlerinin NAYKH'a sahip bireylerdeki etkisini araştırdığı çalışmada, C57BL/6 farelerini standart, yüksek yağlı, yüksek fruktozlu yemle 16 hafta boyunca beslemişlerdir. 14.günde 3 grubada omega-3 yağ asiti verilmiştir. Sonuçta obez farelerde serum parametrelerinin ve histolojinin tedavi gruplarında iyileştiğini ve omega-3 yağ asitlerinin koruyucu olabileceğini belirtmişlerdir [312]. Alwayn ve ark.'ları yaptıkları çalışmada, omega-3 yağ asitlerinin fare modellerinde hepatik steatozu azalttığını belirtmişlerdir. Steatoz ve anormal karaciğer enzimleri ile sonuçlanan beslenme modelinde, omega-3 yağ asitlerinin profilaktik olarak verildiğinde fare karaciğerinin hepatik steatoza karşı korunduğu bulunmuştur. Aynı grup, leptin eksikliği olan obez farelerde omega-3 yağ asitlerinin hepatik steatozdan koruduğunu belirtmiştir [313]. Oliveira ve ark.'ları yaptıkları çalışmada, yüksek yağlı diyetle beraber omega-3 yağ asiti verilmiştir. Omega-3 yağ asitleri takviyesi hepatik steatozdan ve lipid peroksidasyonundan korumuştur [314]. Marsman ve ark.'ları 3 hafta boyunca metiyonin ve kolinden fakir diyetle besledikleri ratlarda steatoz oluşturmuşlardır. 2 hafta boyunca omega-3 yağ asitleri, standart lipid solüsyonu ve sodyum klorür (NACI) vermişlerdir. Standart diyet alan kontrol hayvanlarıyla karşılaştırıldığında, omega-3 yağ asitleri ile tedavi edilen hayvanlarda hafif makrovesiküler steatozun histolojik kanıtları görülmüştür. Fakat, hem standart lipid solüsyonunda hem de NACI gruplarında ciddi makrovesiküler steatoz bulunmuştur [302].

Bu çalışmada da, en düşük ortalama steatoz düzeyine kontrol grubu, en yüksek steatoz düzeyine ise YFMS grubunun sahip olduğu belirlenmiştir. Steatoz düzeyleri açısından gruplar arası fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Kontrol grubunda lobular inflamasyon görülmezken, en yüksek lobular inflamasyon

düzeyine ise YFMS grubunun sahip olduğu belirlenmiştir. Lobular inflamasyon düzeyleri açısından gruplar arası fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Kontrol, YFMS+Omega-3 Yağ asiti, YFMS+Probiyotik ve YFMS+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik gruplarında hepatosellüler balonlaşma görülmemiştir. Bu sonuç, steatoz açısından omega-3 ve probiyotikler üzerindeki tutarsız sonuçlara ışık olabilecek niteliktedir. Omega-3 yağ asitlerinin ve probiyotiklerin trigliserid birikimini bastırdığı ve azalttığı kanısına varılmıştır. Steatoz açısından bu desteklerin koruyucu özellik gösterdiği düşünülmektedir. Tek başına verilen probiyotik ve omega-3 desteklerinin de etkili olduğunu ancak kombine desteğin steatozdan korumada daha etkili olduğu düşünülmektedir.



8. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç

Yüksek fruktozlu mısır şurubuyla (YFMŞ) karaciğer yağlanması modeli oluşturulan sıçanlarda probiyotik ve omega-3 yağ asitlerinin etkilerinin ortaya konulması amaçlayan bu çalışmada aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

1.Deney süresince grupların haftalık yem tüketim miktarındaki farklılıklar istatistiksel anlamda önemli bulunmuştur ($P \leq 0.001$). Deney süresince her bir grubun kendi içerisindeki yem tüketiminde meydana gelen değişimler analiz edildiğinde, kontrol grubunda başlangıç haftasından son haftaya kadar yem tüketiminde artış olduğu gözlemlenmiştir. Kontrol grubu 3.-4. hafta, 4.-5. hafta ve 5.-6. hafta arasındaki yem tüketim miktarında artış istatistiksel anlamda önemli bulunmuştur ($P \leq 0.05$). YFMŞ grubu yem tüketim miktarı özellikle 2.haftadan sonra azalmaya başlamış olup 1.-2. hafta yem tüketim miktarında azalma istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($P \leq 0.05$). YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti grubu, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik grubu yem tüketimi 3.haftadan sonra sıçanlara Omega 3 ve Probiyotik uygulamalarına bağlı olarak daha da azalmıştır. YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti grubunun 4. ve 5. hafta yem tüketimindeki azalma istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0.05$). Yine gerek YFMŞ+Probiyotik ve gerekse YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik gruplarındaki 3.-4. ve 4.-5. haftalar arasında yem tüketimindeki azalma istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0.05$).

2. Sıçanların gruplar itibariyle 1. hafta sıvı tüketim miktarları istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P \geq 0.05$). YFMŞ grubu sıvı tüketim miktarındaki değişim 1. ve 2. hafta, 2. ve 3. hafta, 3. ve 4. hafta, 4. ve 5. hafta ve 5. ve 6. hafta arasında istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0.05$). Deney süresince sıvı tüketim miktarı YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik gruplarında haftalar itibariyle azalmıştır. Ancak bu gruplarda 1.-7. haftalar arasındaki azalma istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P \geq 0.05$).

3. Deney süresinde sıçanların vücut ağırlığında meydana gelen değişimleri gözleyebilmek amacıyla ağırlık değişim üç farklı şekilde hesaplanmıştır. Yapılan analiz sonucunda 1. 2. ve 3. ağırlık değişimi gruplar arasında istatistiksel olarak

önemli bulunmuştur ($P \leq 0.001$). 1. ağırlık değişimi en düşük kontrol grubunda (%8,67), en yüksek ise YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti grubunda (%16,38) gerçekleşmiştir. 2. ağırlık değişimi en düşük YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik grubunda (%-5,67) en yüksek ise YFMŞ grubunda (%17,15) belirlenmiştir. 2. ağırlık değişimi kontrol ve YFMŞ grubuna göre YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik gruplarına göre daha düşük ve istatistiksel olarak önemlidir ($P \leq 0.001$). 3. ağırlık değişimi en düşük YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik grubunda (%8,15) en yüksek ise YFMŞ grubunda (%31,96) belirlenmiştir. YFMŞ grubuna göre YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik gruplarında 3. ağırlık değişimi daha düşük bulunmuş olup arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P \leq 0.01$).

4. Sıçanların karaciğer ağırlığı en düşük YFMŞ+Probiyotik grubunda en yüksek YFMŞ grubunda belirlenmiştir. Tüm gruplar itibariyle karaciğer ağırlığı bakımından söz konusu fark istatistiksel olarak önemlidir ($P \leq 0.05$). Yapılan hesaplamalarda gruplar arasında karaciğer indeksi açısından istatistik olarak önemli bir fark bulunmamıştır ($P \geq 0.05$). En düşük karaciğer indeksine sahip grup YFMŞ+Probiyotik grubu en yüksek ise YFMŞ grubu olarak belirlenmiştir.

5. Kontrol grubunda, yem ve sıvı tüketim miktarları ile vücut ağırlığı arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. YFMŞ grubunda, sıvı tüketim miktarları ile vücut ağırlığı arasında pozitif korelasyon belirlenmiştir ($P \leq 0.01$). YFMŞ+Omega-3 Yağ Asiti grubunda, yem tüketim miktarı ile sıvı tüketim miktarı ve vücut ağırlığı arasında pozitif korelasyon belirlenmiştir ($P \leq 0.01$). YFMŞ+Probiyotik grubunda, yem tüketim miktarı ile sıvı tüketim miktarı ve vücut ağırlığı arasında pozitif korelasyon belirlenmiştir ($P \leq 0.001$). YFMŞ+Omega-3 Yağ Asiti+Probiyotik grubunda ise, yem tüketim miktarı ile sıvı tüketim miktarı arasında pozitif korelasyon belirlenmiştir ($P \leq 0.05$).

6. Deney gruplarının ortalama glukoz düzeyleri karşılaştırıldığında gruplar arası fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0.05$). En düşük glukoz düzeyi kontrol grubunda ($132,98 \pm 21,09$ mg/dL) en yüksek glukoz düzeyi ise YFMŞ grubunda ($164,73 \pm 15,78$ mg/dL) bulunmuştur.

7. Deney gruplarının ortalama ALT düzeylerine bakıldığında gruplar arası fark istatistiksel açıdan önemlidir ($P \leq 0.001$). En düşük ALT düzeyi YFMŞ+Probiyotik grubunda ($28,67 \pm 6,54$ U/L), en yüksek ALT düzeyi ise, YFMŞ grubunda ($67,06 \pm 10,42$ U/L) bulunmuştur.

8. Deney gruplarının ortalama AST düzeylerine karşılaştırıldığında gruplar arası fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0.01$). En düşük AST değeri YFMŞ+Probiyotik grubunda ($97,63 \pm 26,89$ U/L), en yüksek AST değeri ise YFMŞ grubunda ($169,38 \pm 32,30$ U/L) bulunmuştur.

9. Deney gruplarının ortalama ALP değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P \geq 0.05$). En düşük ALP değeri YFMŞ+Probiyotik grubunda ($90,25 \pm 16,85$ U/L), en yüksek ALP değeri ise YFMŞ grubunda ($99,12 \pm 23,28$ U/L) saptanmıştır.

10. Deney grupları ortalama serum total kolesterol düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0.001$). En düşük ortalama serum total kolesterol düzeyi kontrol grubunda ($27,13 \pm 5,39$ mg/dL), en yüksek ise YFMŞ grubunda ($40,22 \pm 6,43$ mg/dL) saptanmıştır.

11. Deney grupları ortalama serum total trigliserid düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0.05$). En düşük ortalama serum trigliserid düzeyi kontrol grubunda ($36,01 \pm 13,37$ mg/dL), en yüksek ise YFMŞ grubunda ($60,60 \pm 16,73$ mg/dL) belirlenmiştir.

12. En düşük ortalama doku trigliserid düzeyine kontrol grubu ($6,08 \pm 0,91$ μ mol/g doku) sahipken, en yüksek doku trigliserid düzeyine ise YFMŞ grubunun ($11,16 \pm 1,55$ μ mol/g doku) sahip olduğu görülmüştür. Karaciğer dokusu ortalama trigliserid düzeyleri açısından gruplar arası fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0.001$).

13. En düşük ortalama doku kolesterol düzeyi kontrol grubu ($1,78 \pm 0,63$ μ mol/g doku) sahipken, en yüksek doku kolesterol düzeyine ise YFMŞ grubunun ($3,23 \pm 0,39$ μ mol/g doku) sahip olduğu belirlenmiştir. Deney gruplarının karaciğer dokusu toplam kolesterol düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0.001$).

14. En düşük ortalama doku protein düzeyi YFMS+Probiyotik grubu ($5,61\pm0,80$ mg/g protein) sahipken, en yüksek doku protein düzeyine ise YFMS grubunun ($8,02\pm1,05$ mg/g protein) sahip olduğu saptanmıştır. Deney gruplarının karaciğer dokusu toplam protein düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P\leq0.01$).

15. En düşük ortalama doku GSH düzeyine kontrol grubu ($5,70\pm1,44$ mmol/mg) sahipken, en yüksek doku GSH düzeyine ise YFMS+Omega-3 Yağ asiti grubunun ($8,25\pm1,04$ mmol/mg) sahip olduğu belirlenmiştir. Karaciğer dokusu ortalama GSH düzeyleri açısından gruplar arası fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P\leq0.001$).

16. En düşük ortalama doku MDA düzeyine kontrol grubu ($0,16\pm0,03$ mmol/mg) sahipken, en yüksek doku MDA düzeyine ise YFMS+Omega-3 Yağ asiti grubu ($0,24\pm0,04$ mmol/mg) sahiptir. Karaciğer dokusu ortalama MDA düzeyleri açısından gruplar arası fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P\leq0.01$).

17. En düşük ortalama doku IL-6 düzeyine kontrol grubu ($23,72\pm2,93$ pg/mg protein) sahipken, en yüksek doku IL-6 düzeyine ise YFMS grubunun ($57,36\pm11,27$ pg/mg protein) sahip olduğu belirlenmiştir. Karaciğer dokusu ortalama IL-6 düzeyleri açısından gruplar arası fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P\leq0.001$).

18. En düşük ortalama doku TNF- α düzeyine kontrol grubu ($32,92\pm12,31$ pg/mg protein) sahipken, en yüksek doku TNF- α düzeyine ise YFMS grubunun ($93,34\pm15,39$ pg/mg protein) sahip olduğu belirlenmiştir. Karaciğer dokusu ortalama TNF- α düzeyleri açısından gruplar arası fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P\leq0.001$).

19. En düşük ortalama steatoz düzeyine kontrol grubu ($0,18\pm0,11$), en yüksek steatoz düzeyine ise YFMS grubunun ($2,05\pm0,17$) sahip olduğu belirlenmiştir. Steatoz düzeyleri açısından gruplar arası fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P\leq0.001$).

20. Kontrol grubunda lobular inflamasyon görülmezken, en yüksek lobular inflamasyon düzeyine ise YFMS grubunun ($1,08\pm0,12$) sahip olduğu belirlenmiştir.

Lobular inflamasyon düzeyleri açısından gruplar arası fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0.001$).

21. Kontrol, YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik gruplarında hepoatosellüler balonlaşma görülmemiştir. YFMŞ grubunun hepoatosellüler balonlaşma düzeyi $0,27 \pm 0,06$ olarak bulunmuştur. YFMŞ grubuna göre, kontrol, YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti, YFMŞ+Probiyotik ve YFMŞ+Omega-3 Yağ asiti+Probiyotik gruplarının hepoatosellüler balonlaşma düzeyi düşük olup istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0.001$).

22. En düşük ortalama NAS düzeyine kontrol grubu ($0,18 \pm 0,11$), en yüksek NAS düzeyine ise YFMŞ grubunun ($3,41 \pm 0,24$) sahip olduğu belirlenmiştir. NAS düzeyleri açısından gruplar arası fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0.001$).

23. Kontrol grubunda IL-6 düzeyi ile sıvı tüketim miktarı arasında negatif korelasyon belirlenmiştir ($P \leq 0.05$). Karaciğer ağırlığı ile ağırlık değişimi ve yem tüketimi arasında ise pozitif yönde ve yüksek düzeyde bir korelasyon bulunmuştur ($P \leq 0.001$).

24. YFMŞ grubunda glukoz ile sıvı tüketim miktarı arasında pozitif yönde ve yüksek düzeyde bir korelasyon bulunmuştur ($P \leq 0.05$). ALT düzeyi ile ağırlık değişimi ($P \leq 0.05$) ve karaciğer ağırlığı ile ağırlık değişimi ($P \leq 0.01$) arasında pozitif korelasyon olduğu belirlenmiştir. TNF- α düzeyi ile sıvı tüketim miktarı arasında pozitif yönde bir korelasyon bulunmuştur ($P \leq 0.05$).

25. YFMŞ+Omega-3 Yağ Asiti grubunda karaciğer enzimlerinden ALT düzeyi ile yem tüketimi arasında pozitif korelasyon saptanmıştır ($P \leq 0.05$). IL-6 düzeyi ile yem tüketim miktarı arasında negatif korelasyon belirlenmiştir ($P \leq 0.05$). GSH düzeyi ile ağırlık değişimi ($P \leq 0.01$) ve MDA düzeyi ile ağırlık değişimi ($P \leq 0.05$) arasında negatif yönde korelasyon bulunmuştur. Karaciğer ağırlığı ile ağırlık değişimi arasında ise pozitif yönde bir korelasyon olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.01$).

26. YFMŞ+Probiyotik grubunda karaciğer dokusu total kolesterol, TNF- α düzeyi, karaciğer ağırlığı ile ağırlık değişimi arasında pozitif korelasyon olduğu, MDA düzeyi ile ağırlık değişimi arasında ise negatif yönde bir korelasyon olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.05$). Karaciğer ağırlığı ile yem tüketim miktarı arasında da pozitif yönde bir korelasyon olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.001$).

27. YFMŞ+Omega-3 Yağ Asiti+Probiyotik grubunda AST düzeyi ile yem tüketim miktarı arasında pozitif yönde bir korelasyon bulunmuştur ($P \leq 0.05$). Serum trigliserid düzeyi ile ağırlık değişimi ($P \leq 0.05$) ve karaciğer ağırlığı ile ağırlık değişimi ($P \leq 0.01$) arasında pozitif korelasyon olduğu belirlenmiştir. GSH düzeyi ile ağırlığı değişimi ($P \leq 0.01$) ve MDA düzeyi ile ağırlığı değişimi ($P \leq 0.05$) arasında negatif yönde bir korelasyon bulunmuştur. IL-6 düzeyleri ile yem tüketim miktarları arasında pozitif yönde bir korelasyon saptanırken ($P \leq 0.05$), TNF- α düzeyi ile sıvı tüketim miktarı arasında da yine pozitif yönde bir korelasyon bulunmuştur ($P \leq 0.05$).

Öneriler

Non alkolik yağlı karaciğer hastalığının (NAYKH) pathogenezi kompleks, multifaktöriyel ve tek bir mekanizmaya bağlı değildir. Bu hastalık, halk sağlığı açısından bakıldığında dünya çapında hızlı büyümesi ve yüksek fruktozlu mısır şurubunun özellikle gıdaların bileşiminde kullanılmasının artması nedeniyle gittikçe endişe verici bir durum almaktadır. Günümüzde tedavinin temel dayanakları beslenme tedavisi, ağırlık kaybı ve egzersize dayanmaktadır. Fakat bu müdahaleler kalıcı olmamaktadır ve etkinliği düşüktür. Omega-3 yağ asitleri ve probiyotikler son zamanlarda bu hastalık için tartışılan tedavi yöntemleri arasına girmiştir. Bağırsak-karaciğer aksı, diyet faktörleri, mikrobiyota ve bağırsak bariyer bütünlüğü arasındaki etkileşimin, yüksek fruktoz içeren bir beslenme şeklinin ve omega-3 yağ asitlerinden fakir diyetlerin bağırsak mikrobiyotasındaki disbiyozis ile NAYKH'nın gelişiminde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Omega-3 yağ asitleri ve probiyotikler steatozun ilerlemesini yavaşlatmakta ve hatta durdurmaktadır. Yüksek fruktozlu beslenme modelinde bu desteklerin karaciğer yağlanması önemli olan bazı serum ve karaciğer dokusu parametreleri üzerinde yararlı etkisi olduğu görülmüştür. Bu çalışma, aynı zamanda karaciğerde histopatolojik değişikliklerin tersine çevrilmesinin önemini vurgulamaktadır. Mevcut literatürde, NAYKH'da probiyotik ve omega-3 desteğinin etkisinin ayrı ayrı incelendiği sınırlı çalışmalar olsa da, birlikte incelendiği bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Probiyotik ve omega-3 yağ asitleriyle takviye uygulamasının, hepatik yağ içeriğini azalttığı gösterilmiştir ve özellikle beslenme müdahalesi ile birleştirildiğinde NAYKH'da yararlı bir tedavi gibi görünmektedir. Omega-3 yağ asitleri ve probiyotikler güvenli, iyi tolere edilir ve çok az yan etkiye sahiptir. Bu hastalıkta, omega-3 yağ asitlerinin ve probiyotiklerin faydalarını tam olarak değerlendirmek için daha uzun süre yeterli büyüklükte ve uygun şekilde kontrol edilen randomize klinik çalışmalara ihtiyaç vardır. Yüksek dozların güvenliği de değerlendirilmelidir. Doz çalışması yapılmalıdır. Bu çalışma, yüksek fruktozla indüklenen karaciğer yağlanması modelinde omega-3 yağ asitleri ve probiyotiklerin yüksek fruktozun karaciğer üzerindeki yan etkilerinden koruyabileceğini göstermiştir. Bu sebeple, NAYKH'daki omega-3 yağ asidi ve probiyotik desteğinin hastalığın remisyonu için alternatif bir yaklaşım olabileceği

düşünülmektedir. Kesin etki mekanizmalarını ve muhtemel terapötik seçenekleri açıklamak için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.



9. KAYNAKLAR

1. Erdem NZ. Metabolik ve Bariatrik Cerrahide Beslenme Tedavisi ve Besin Desteği. Hastalıklarda Beslenme Tedavisi. Ankara: Hatipoğlu Yayınları, Beslenme ve Diyetetik Dizisi. p. 313-346, 5th ed. Alphan MET, 2019.
2. World Gastroenterology Organisation Global Guidelines. Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis. Erişim: <http://www.worldgastroenterology.org/guidelines/global-guidelines/naflid-nash/naflid-nash-english> Erişim tarihi: 15.02.2019.
3. Durazzo M, Belci P, Collo A, Grisoglio E, Bo S. Focus on therapeutic strategies of nonalcoholic fatty liver disease. *Int J Hepatol.* 464706,2012.
4. Sonsuz A. Alkole bağlı olmayan karaciğer yağlanması. Türkiye'de sık karşılaşılan hastalıklar II Sempozyum dizi kitapçığı. 91-98,2007.
5. Dabhi A, Brahmbhatt K, Pandya T, Thorat P, Shah M. Nonalcoholic fatty liver disease. *JIACM.* 9(1):3641,2008.
6. Yan J, Guan B, Gao H, Peng X. Omega-3 polyunsaturated fatty acid supplementation and non-alcoholic fatty liver disease: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Medicine.* 97:37, 2018.
7. Vajro P, Lenta S, Pignata C, Salerno M, Aniello R, Micco I et al. Therapeutic options in pediatric non alcoholic fatty liver disease: current status and future directions. *Ital J Pediatr.* 38:55, 2012.
8. Assy N. Nutritional recommendations for patients with nonalcoholic fatty liver diseases. *World J Gastroenterol.* 17(29):3375–76,2011.
9. Alexander-Aguilera A, Berruezo S, Hernández-Díaz G, Angulo O, Oliart-Ros R. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids modify fatty acid composition in hepatic and abdominal adipose tissue of sucrose-induced obese rats. *J Physiol Biochem.* 67(4):595–604, 2011.
10. Daugherty EK, Balmus G, Al Saei A, Moore ES, Abi Abdallah D, Rogers AB, et al. The DNA damage checkpoint protein ATM promotes hepatocellular apoptosis and fibrosis in a mouse model of non-alcoholic fatty liver disease. *Cell Cycle.* 11(10):1918–28, 2012.

11. Miller NJ, Johnston JD, Collis CS, Rice-Evans CA, Serum total antioxidant activity after myocardial infarction. *Ann Clin Biochem.* 34(Pt 1):85–90,1997.
12. 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.* 96(4):1200-4,2001.
13. Solga SF, Diehl AM. Non-alcoholic fatty liver disease: lumenliver interactions and possible role for probiotics. *J Hepatol.* 38(5):681-7,2003.
14. Szabo G, Bala S, Petrasek J, Gattu A. Gut-liver axis and sensing microbes, *Dig Dis.* 28(6):737-44, 2010.
15. Day CP. Non-alcoholic steatohepatitis (NASH): where are we now and where are we going? *Gut.* 50(5):585-8,2002.
16. Wilfred de Alwis NM, Day CP. Genetics of alcoholic liver disease and nonalcoholic fatty liver disease. *Semin Liver Dis.* 27:44–54, 2007.
17. Ghaemi A, Taleban FA, Hekmatdoost A, Rafiei A, Hosseini V, Amiri Z, et al. How much weight loss is effective on nonalcoholic fatty liver disease? *Hepat Mon.* 13:e15227, 2013.
18. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, Bittinger K, Chen YY, Keilbaugh SA, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science.* 334: 105–8, 2011.
19. Sima H, Hekmatdoost A, Ghaziani T, Alavian SM, Mashayekh A, Zali MR. The prevalence of celiac autoantibodies in hepatitis patients. *Iran J Allergy Asthma Immunol.* 9:157–62, 2010.
20. Schnabl B, Brenner DA. Interactions between the intestinal microbiome and liver diseases. *Gastroenterology.* 146:1513–24, 2014.
21. Balmer ML, Slack E, De Gottardi A, Lawson MA, Hapfelmeier S, Miele L, et al. The liver may act as a firewall mediating mutualism between the host and its gut commensal microbiota. *Sci Transl Med.* 6:23766, 2014.
22. Round JL, Mazmanian SK. The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease. *Nat Rev Immunol.* 9:313–23, 2009.
23. Racanelli V, Rehermann B. The liver as an immunological organ. *Hepatology.* 43(2, Suppl 1):S54–62, 2006.

24. Mensink Ronald P, Plat J, Schrauwen P. Diet and non alcoholic fatty liver disease. *Curr Opin Lipidol.* 19: 25-9, 2008.
25. Satia-Abouta J, Patterson RE, Schiller RN, Kristal AR. Energy from fat is associated with obesity in US men: result from the prostate cancer prevention trial. *Prev Med.* 34: 493-501, 2002.
26. Petta S, Muratore C, Craxi A. Non-alcoholic fatty liver disease pathogenesis: the present and the future. *Dig Liver Dis.* 41:615–625, 2009.
27. Yurdakul D, Şentürk H, Tuncer MM. *Gastroenterolojide Klinik Yaklaşım*, p.171-80, 1 th ed. Göksoy E, Deomed Medikal Yayıncılık, 2004.
28. Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB, Oh BJ. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. *Mayo Clin Proc.* 55(7): 434-438, 1980.
29. McCullough AJ. Update on nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Gastroenterol.* 34: 255-62, 2002.
30. Çolak Y, Tuncer İ. Non alkolik karaciğer yağlanması ve steatohepatit. *İst Tıp Fak Derg.* 73(3): 85-89, 2010.
31. Szczepaniak L, Nurenberg P, Leonard D. Magnetic resonance spectroscopy to measure hepatic triglyceride content: Prevalence of hepatic steatosis in the general population. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 288:462-8, 2005.
32. Perry A, Applegate E, Jackson M. Racial differences in visceral adipose tissue but not anthropometric markers of health-related variables. *J Appl Physiol.* 89:636-43, 2000.
33. Reid AE. Nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology.* 121:710-723, 2001.
34. Arun J, Clements RH, Lazenby AJ, Leeth RR, Abrams GA. The prevalence of nonalcoholic steatohepatitis is greater in morbidly obese men compared to women. *Obes Surg.* 16:1351-1358, 2006.
35. Bacon BR, Farahvash MJ, Janney CG, Neuschwander-Tetri BA. Nonalcoholic steatohepatitis: an expanded clinical entity. *Gastroenterology.* 107:1103-09, 1994.
36. Hilden M, Christoffersen P, Juhl E, Dalgaard JB. Liver histology in a 'normal' population: examinations of 503 consecutive fatal traffic casualties. *Scand J Gastroenterol.* 12:593-7, 1977.

37. Wanless IR, Lentz JS. Fatty liver hepatitis (steatohepatitis) and obesity: an autopsy study with analysis of risk factors. *Hepatology*. 12:1106-10, 1990.
38. Williams CD, Stengel J, Asike MI, Torres DM, Shaw J, Contreras M, et al. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis among a largely middle-aged population utilizing ultrasound and liver biopsy: a prospective study. *Gastroenterology*. 140:124-131, 2011.
39. Neuschwander-Tetri, B. Non-alcoholic fatty liver disease. *BMC Med*. 15: 45, 2017.
40. Marchesini G, Bugianesi E, Forlani G, Cerrelli F, Lenzi M, Manini R, et al. Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. *Hepatology*. 37:917-923, 2003.
41. Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, Boparai N, Liu YC, McCullough AJ. Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology*. 116:1413-1419, 1999.
42. Kopec KL, Burns D. Nonalcoholic fatty liver disease: a review of the spectrum of disease, diagnosis, and therapy. *Nutrition in Clinical Practice*. 26(5): 565-573, 2011.
43. Bellentani S, Scaglioni F, Marino M, Bedogni G. Epidemiology of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Digestive Diseases*. 28:155–61, 2010.
44. Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two "hits"?. *Gastroenterology*. 114(4): 842–845, 1998.
45. Sanyal A.J. AGA technical review on nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 123, 1705–25, 2002.
46. Azzout-Marniche D, Becard D, Guichard C, Foretz M, Ferre P, Foufelle F. Insulin effects on sterol regulatory-element-binding protein-1c (SREBP-1C) transcriptional activity in rat hepatocytes. *Biochem J*. 350: 389 – 393, 2000.
47. Coyle EF, Jeukendrup AE, Wagenmakers AJ, Saris WH. Fatty acid oxidation is directly regulated by carbohydrate metabolism during exercise. *Am J Physiol*. 273: E268-E275, 1997.
48. Cohen B, Novick D, Rubinstein M. Modulation of insulin activities by leptin. *Science*. 274:1185-1188, 1996.

49. Satoh H, Nguyen MT, Miles PD, Imamura T, Usui I, Olefsky JM. Adenovirus-mediated chronic “hyper-resistinemia” leads to in vivo insulin resistance in normal rats. *J Clin Invest.* 114:224-231, 2004.
50. Kaser S, Moschen A, Cayon A, Kaser A, Crespo J, Pons- Romero F, et al. Adiponectin and its receptors in non-alcoholic steatohepatitis. *Gut.* 54: 117-21, 2005.
51. Berg AH, Combs TP, Scherer PE. Acrp30/adiponectin: an adipokine regulating glucose and lipid metabolism. *Trends Endocrinol Metab.* 13:84–9, 2002.
52. Steppan CM, Lazar MA. Resistin and obesity-associated insulin resistance. *Trends Endocrinol Metab.* 13:18–23, 2002.
53. Pellme F, Smith U, Funahashi T, Matsuzawa Y, Brekke H, Wiklund O, et al. Circulating adiponectin levels are reduced in nonobese but insulin-resistant first-degree relatives of type 2 diabetic patients. *Diabetes.* 52:1182–6, 2003.
54. Fruebis J, Tsao TS, Javorschi S, Ebbets- Reed D, Erickson MR, Yen FT, et al. Proteolytic cleavage product of 30-kDa adipocyte complement-related protein increases fatty acid oxidation in muscle and causes weight loss in mice. *Proc Natl Acad Sci.* 98:2005–10, 2001.
55. Berg AH, Combs TP, Du X, Brownlee M, Scherer PE. The adipocyte-secreted protein Acrp30 enhances hepatic insulin action. *Nat Med.* 7:947–53, 2001.
56. Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Nishida M, Matsuyama A, Okamoto Y, et al. Adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, suppresses lipid accumulation and class A scavenger receptor expression in human monocyte-derived macrophages. *Circulation.* 103:1057–63, 2001.
57. Yokota T, Oritani K, Takahashi I, Ishikawa J, Matsuyama A, Ouchi N, et al. Adiponectin, a new member of the family of soluble defense collagens, negatively regulates the growth of myelomonocytic progenitors and the functions of macrophages. *Blood.* 96:1723–32, 2002.
58. Xu A, Wang Y, Keshaw H, Xu LY, Lam KS, Cooper GJ. The fat-derived hormone adiponectin alleviates alcoholic and nonalcoholic fatty liver diseases in mice. *J Clin Invest.* 112:91–100, 2003.

59. Izadi V, Saraf-Bank S, Azadbakht L. Dietary intakes and leptin concentrations. *ARYA Atheroscler*. 10:266–272, 2014.
60. Petta S, Gastaldelli A, Rebelos E, Bugianesi E, Messa P, Miele L. et al. Pathophysiology of Non Alcoholic Fatty Liver Disease. *Int J Mol Sci*. 17(12): 2082, 2016.
61. Uygun A, Kadayifci A, Yesilova Z, Erdil A, Yaman H, Saka M, et al. Serum leptin levels in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol*. 95: 3584-9, 2000.
62. Chitturi S, Farrell G, Frost L, Kriketos A, Lin R, Fung C, et al. Serum leptin in NASH correlates with hepatic steatosis but not fibrosis: a manifestation of lipotoxicity? *Hepatology*. 36: 403-9, 2002.
63. Canbakan B, Tahan V, Balci H. Leptin in nonalcoholic fatty liver disease. *Annals of hepatology*. 7(3): 249-254, 2008.
64. Polyzos SA, Aronis KN, Kountouras J, Raptis DD, Vasiloglou MF, Mantzoros CS. Circulating leptin in non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review and meta-analysis. *Diabetologia*. 59:30–43, 2016.
65. Orlik B, Handzlik G, Olszanecka-Glinianowicz M. The role of adipokines and insulin resistance in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *Postepy Hig Med Dosw*. 64: 212-219, 2010.
66. Musso G, Gambino R, Cassader M, Pagano G. Meta-analysis: natural history of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and diagnostic accuracy of non-invasive tests for liver disease severity. *Ann Med*. 43: 617-649, 2011.
67. Banerjee RR, Rangwala SM, Shapiro JS, Rich AS, Rhoades B, Qi Y, et al. Regulation of fasted blood glucose by resistin. *Science*. 303: 1195-1198, 2004.
68. Gieriej P, Gieriej B, Kalinowski P, Wroblewski T, Paluszkiewicz R, Kobryn K. et al. Expression of resistin in the liver of patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Polish Journal of Pathology*. 3/vol.68, 2017.
69. Cesur G, Gökçimen A. Yağ dokusunun işlevsel sırları. *ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi*. 13(2): 47-53, 2012.
70. Borish LC, Steinke JW. Cytokines and chemokines, *J Allergy Clin Immunol*. 111; pp. S460-S475, 2003.

71. Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature*, 444. pp. 860-867, 2006.
72. Lumeng CN, Saltiel AR. Inflammatory links between obesity and metabolic disease. *J Clin Invest*. 121, pp. 2111-17, 2011.
73. Jorge A, Andrade J, Paraiso A, Jorge G, Silveira C, Souza L. et al. Body mass index and the visceral adipose tissue expression of IL-6 and TNF-alpha are associated with the morphological severity of non-alcoholic fatty liver disease in individuals with class III obesity, *Obesity Research & Clinical Practice*. 12(Suppl 2):1-8, 2018.
74. Locksley RM, Killeen N, Lenardo MJ. The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology *Cell*. 104, pp. 487-501, 2001.
75. Bazzoni F, Beutler B. The tumour necrosis factor ligand and receptor families. *N Engl J Med*. 334, pp. 1717-1725, 1996.
76. Akira S, Hirano T, Taga T, Kishimoto T. Biology of multifunctional cytokines: IL-6 and related molecules (IL 1 and TNF), *Faseb J*. pp. 2860-2867, 1990.
77. Fernando MR, Reyes JL, Iannuzzi J, Leung G, McKay DM. The pro-inflammatory cytokine, interleukin-6, enhances the polarization of alternatively activated macrophages, *Plos One*. 9, p. e94188, 2014.
78. Papanicolaou DA, Wilder RL, Manolagas SC, Chrousos GP. The pathophysiologic roles of interleukin-6 in human disease, *Ann Intern Med*. 128, pp. 127-137, 1998.
79. Cankurtaran M, Arslan S. Non alkolik steatohepatit etyopatogenezinde oksidatif stres, lipid peroksidasyonu, mitokondriyal hasar, sitokinler ve endotoksinlerin rolü. *Güncel Gastroenteroloji*. 6(1): 5-8, 2002.
80. Negre-Salvayre A, Auge N, Ayala V, Basaga H, Boada J, Brenke R, et al. Pathological aspects of lipid peroxidation. *Free Radic Res*. 44:1125–1171, 2010.
81. Sumida Y, Niki E, Naito Y, Yoshikawa T. Involvement of free radicals and oxidative stress in NAFLD/NASH. *Free Radic Res*. 47:869–880, 2013.
82. Anderson N, Borlak J. Molecular mechanisms and therapeutic targets in steatosis and steatohepatitis. *Pharmacol Rev*. 60:311–357, 2008.

83. Videla LA, Rodrigo R, Orellana M, Fernandez V, Tapia G, Quinones L, et al. Oxidative stress-related parameters in the liver of non-alcoholic fatty liver disease patients. *Clin Sci (Lond)*. 106:261–268, 2004.
84. Erhardt A, Stahl W, Sies H, Lirussi F, Donner A, Haussinger D. Plasma levels of vitamin E and carotenoids are decreased in patients with Nonalcoholic Steatohepatitis (NASH). *Eur J Med Res*. 16:76–78, 2011.
85. Liu S, Shi W, Li G, Jin B, Chen Y, Hu H, et al. Plasma reactive carbonyl species levels and risk of non-alcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol Hepatol*. 26:1010–1015, 2011.
86. Koek GH, Liedorp PR, Bast A. The role of oxidative stress in non-alcoholic steatohepatitis. *Clin Chim Acta*. 412:1297–1305, 2011.
87. Caldwell SH, Swerdlow RH, Khan EM, Iezzoni JC, Hespeneide EE, Parks JK, Parker WD, Jr. Mitochondrial abnormalities in non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol*. 31:430–434, 1999.
88. Ashraf NU, Sheikh TA. Endoplasmic reticulum stress and Oxidative stress in the pathogenesis of Non-alcoholic fatty liver disease. *Journal Free Radical Research*. Vol.49/12, p.1405-1418, 2015.
89. Weltman MD, Farrell GC, Liddle C. Increased hepatocyte CYP2E1 expression in a rat nutritional model of hepatic steatosis with inflammation. *Gastroenterology*. 111: 1645-1653, 1996.
90. Chalasani N, Deeg MA, Crabb DW. Systemic lipid peroxidation and its metabolic and dietary correlates in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol*. 99: 1497-1502, 2004.
91. Seki S, Kitada T, Yamada T, Sakaguchi H, Nakatani K, Wakasa K, et al. In situ detection of lipid peroxidation and oxidative DNA damage in non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. 37: 56-62, 2002.
92. Neuschwander-Tetri BA, Cadwell SH. Nonalcoholic steatohepatitis: Summary of a AASLD single topic conference. *Hepatology*. 37: 1202-1219, 2003.
93. Kara M, Erdal M. Sıklığı Artan Bir Halk Sağlığı Sorunu: Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı, *TAF Prev Med Bull*. 13(1):65-76, 2014.

94. Sanyal AJ, Campbell-Sargent C, Mirshahi F, Rizzo WB, Contos MJ, Sterling RK, et al. Nonalcoholic steatohepatitis: association of insulin resistance and mitochondrial abnormalities. *Gastroenterology*. 120: 1183-92, 2001.
95. Dianzani MU. Uncoupling of oxidative phosphorylation in mitochondria from fatty livers. *Biochim Biophys Acta*. 14:514-532, 1954.
96. Dianzani MU. The content of adenosine polyphosphates in fatty livers. *Biochem J*. 65:116-124, 1957.
97. Vendemiale G, Grattagliano I, Caraceni P, Caraccio G, Domenicali M, Dall'Agata M, Trevisani F, et al. Mitochondrial oxidative injury and energy metabolism alteration in rat fatty liver: effect of the nutritional status. *Hepatology*. 33: 808-815, 2001.
98. 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*. 282:1659-1664, 1999.
99. Mahan LK, Raymond JL. Medical Nutrition Therapy for Hepatobiliary and Pancreatic Disorders. In: Hasse JM, Matarese LE. *Krause's Food & The Nutrition Care Process*. 14 TH Edition, p.560-585, 2017.
100. Knight J. Liver function tests: their role in the diagnosis of hepatobiliary diseases. *J Infus Nurs*. 28(2):108-17, 2005.
101. Saadeh S, Younossi ZM, Remer EM, Gramlich T, Ong JP, Hurley M, et al. The utility of radiological imaging in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 123:745-50, 2002.
102. Vuppalanchi R, Cummings OW, Saxena R, Ulbright TM, Martis N, Jones DR, et al. Relationship among histologic, radiologic, and biochemical assessments of hepatic steatosis: a study of human liver samples. *J Clin Gastroenterol*. 41: 206-10, 2007.
103. Sass DA, Chang P, Chopra KB. Nonalcoholic fatty liver disease: a clinical review. *Digestive Diseases and Sciences*. 50(1): 171-180, 2005.
104. Angulo P, Lindor KD. Non-alcoholic fatty liver disease: Quadrennial review *The Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 17:186- 190, 2002.
105. Yalçın S. Karaciğer Hastalıkları ve Hepatosteatoz 'İç Hastalıkları' 1. cilt Büyüköztürk K (Ed), p.811- 848. Nobel Yayıncılık, 1993.

106. Brunt EM, Janney CG, Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR. Nonalcoholic Steatohepatitis: A Proposal for Grading and Staging the Histologic Lesions. *AJG*. 94: 2467-2474, 1999.
107. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 41(6):1313–21,2005.
108. Sweet P, Khoo T, Nguyen S, Nonalcoholic Fatty Liver Disease, *Prim Care Clin Office Pract*. 44, 599–607, 2017.
109. Mendler MH, Kanel G, Govindarajan S. Proposal for a histological scoring and grading system for non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int*. 25: 294-304, 2005.
110. Trappoliere M, Tuccillo C, Federico A, Di Leva A, Niosi M. The treatment of NAFLD. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 9(5):299-304, 2005.
111. Clark J. Weight loss as a treatment for nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin. Gastroenterol*. 40(Sup 1):39-43, 2006.
112. Harrison S, Kadakia S, Lang K, Schenker S. Nonalcoholic steatohepatitis: what we know in the new millennium. *Am J Gastroenterol*. 97(11):2714-24, 2002.
113. Acay A. Current Medical Treatment in NAFLD, *Kocatepe Medical Journal*. 16: 67-76, 2015.
114. Bergqvist CJ, Skoien R, Horsfall L. Awareness and opinions of non-alcoholic fatty liver disease by hospital specialists. *Intern Med J*. 43: 247–253, 2013.
115. Nascimbeni F, Pais R, Bellantani S. From nafld in clinical practice to answers from guidelines. *Journal of Hepatology*. 59: 859–871, 2013.
116. Ratziu V, Cadranel JF, Serfaty L, Denis J, Renou C, Delassalle P, et al. A survey of patterns of practice and perception of NAFLD in a large sample of practicing gastroenterologists in France. *J Hepatol*. 57, pp. 376-383, 2012.
117. Farrell GC, Chitturi S, Lau GK, Sollano JD. Asia-Pacific Working Party on NAFLD. Guidelines for the assessment and management of non-alcoholic fatty liver disease in the Asia-Pacific region: executive summary. *J Gastroenterol Hepatol*. 22, pp. 775-777, 2007.

118. Fan JG, Jia JD, Li YM, Wang BY, Lu LG, Shi JP, et al. Guidelines for the diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease. *J Dig Dis.* 12, pp. 38-44, 2011.
119. Loria P, Adinolfi LE, Bellentani S, Bugianesi E, Grieco A, Fargion S, et al. Practice guidelines for the diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease. A decalogue from the Italian Association for the Study of the Liver (AISF) Expert Committee. *Dig Liver Dis.* 42, pp. 272-282, 2010.
120. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, et al. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: Practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Hepatology.* 55, pp. 2005-2023, 2012.
121. Duman DG, Tözün N. Non alkolik yağlı karaciğer: karaciğerin en sık görülen hastalığı. *Türk Aile Hek Derg* 8(1): 9-13, 2004.
122. European Association for the Study of the Liver (EASL) European Association for the Study of Diabetes (EASD) European Association for the Study of Obesity (EASO) EASL-EASD-EASO clinical practice guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol.* 64:1388–1402, 2016.
123. Korean Association for the Study of the Liver (KASL) KASL clinical practice guidelines: management of nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Mol Hepatol.* 19:325–348, 2013.
124. Jakicic JM, Winters C, Lang W. Effects of intermittent exercise and use of home exercise equipment on adherence, weight loss, and fitness in overweight women: a randomized trial. *JAMA.* 282:1554–1560, 1999.
125. Katsagoni CN, Georgoulis M, Papatheodoridis GV, Panagiotakos DB, Kontogianni MD. Effects of lifestyle interventions on clinical characteristics of patients with non-alcoholic fatty liver disease: A meta-analysis. *Metabolism.* 68:119-132, 2017.
126. Hashida R, Kawaguchi T, Bekki M, Omoto M, Matsuse H, Nago T, et al. Aerobic vs. resistance exercise in non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review. *J Hepatol.* 66(1):142-152, 2017.

127. Houghton D, Thoma C, Hallsworth K, Cassidy S, Hardy T, Burt AD, et al. Exercise Reduces Liver Lipids and Visceral Adiposity in Patients With Nonalcoholic Steatohepatitis in a Randomized Controlled Trial. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 15(1):96-102.e3, 2017.
128. Kwak M, Kim D, Non-alcoholic fatty liver disease and lifestyle modifications, focusing on physical activity. *Korean J Intern Med*. 33(1): 64–74, 2018.
129. Bacchi E, Negri C, Targher G, Faccioli N, Lanza M, Zoppini G, et al. Both resistance training and aerobic training reduce hepatic fat content in type 2 diabetic subjects with nonalcoholic fatty liver disease (the RAED2 Randomized Trial). *Hepatology*. 58(4):1287-95, 2013.
130. Shamsoddini A, Sobhani V, Ghamar Chehreh ME, Alavian SM, Zaree A. Effect of aerobic and resistance exercise training on liver enzymes and hepatic fat in iranian men with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepat Mon*. 15:e31434, 2015.
131. Hallsworth K, Fattakhova G, Hollingsworth KG, Thoma C, Moore S, Taylor R, et al. Resistance exercise reduces liver fat and its mediators in non-alcoholic fatty liver disease independent of weight loss. *Gut*. 60(9):1278-83, 2011.
132. Barb D, Sanchez P, Cusi K. Pharmacological management of nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism*. 65(8):1183-95, 2016.
133. Younossi Z.M, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology*. 64, pp. 73-84, 2016.
134. Zelber-Sagi S, Lotan R, Shlomai A, Webb M, Harrari G, Buch A, et al. Predictors for incidence and remission of NAFLD in the general population during a seven-year prospective follow-up. *J Hepatol*. 56, pp. 1145-1151, 2012.
135. Moschen AR, Tilg H. Nutrition in pathophysiology and treatment of nonalcoholic fatty liver disease. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*. 11(5):620–625, 2008.

136. Elias MC, Parise ER, Carvalho LD, Szejnfeld D, Netto JP. Effect of 6-month nutritional intervention on non-alcoholic fatty liver disease. *Nutrition*. 26(11-12):1094–1099, 2010.
137. Koopman KE, Caan MW, Nederveen AJ, Pels A, Ackermans MT, Fliers E, et al. Hypercaloric diets with increased meal frequency, but not meal size, increase intrahepatic triglycerides: a randomized controlled trial. *Hepatology*. 60, pp. 545-553, 2014.
138. Vilar-Gomez E, Martinez-Perez Y, Calzadilla-Bertot L, Torres-Gonzalez A, Gra-Oramas B, Gonzalez-Fabian L, et al. Weight loss through lifestyle modification significantly reduces features of nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology*. 149, pp. 367-378, 2015.
139. Sekiya M, Yahagi N, Matsuzaka T, Najima Y, Nakakuki M, Nagai R, et al. Polyunsaturated fatty acids ameliorate hepatic steatosis in obese mice by SREBP-1 suppression. *Hepatology*. 38, pp. 1529-1539, 2003.
140. Levy JR, Clore JN, Stevens W. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids decrease hepatic triglycerides in Fischer 344 rats. *Hepatology*. 39, pp. 608-616, 2004.
141. Musso G, Gambino R, De Michieli F, Cassader M, Rizzetto M, Durazzo M, et al. Dietary habits and their relations to insulin resistance and postprandial lipemia in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 37, pp. 909-916, 2003.
142. Toshimitsu K, Matsuura B, Ohkubo I, Niiya T, Furukawa S, Hiasa Y, et al. Dietary habits and nutrient intake in non-alcoholic steatohepatitis. *Nutrition*. 23, pp. 46-52, 2007.
143. Rosqvist F, Iggman D, Kullberg J, Cedernaes J, Johansson HE, Larsson A, et al. Overfeeding polyunsaturated and saturated fat causes distinct effects on liver and visceral fat accumulation in humans. *Diabetes*. 63, pp. 2356-2368, 2014.
144. Mensink RP, Zock PL, Kester AD, Katan MB. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. *Am J Clin Nutr*. 77, pp. 1146-1155, 2003.

145. Garg A. High-monounsaturated-fat diets for patients with diabetes mellitus: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr.* 67, pp. 577S-582S, 1998.
146. Grosso G, Mistretta A, Frigiola A, Gruttadauria S, Biondi A, Basile F, et al. Mediterranean diet and cardiovascular risk factors: a systematic review. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 54, pp. 593-610, 2014.
147. Estruch R, Ros E, Salas-Salvado J, Covas MI, Corella D, Aros F, et al. Primary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet. *N Engl J Med.* 368, pp. 1279-1290, 2013.
148. Salas-Salvado J, Bullo M, Estruch R, Ros E, Covas MI, Ibarrola-Jurado N, et al. Prevention of diabetes with Mediterranean diets: a subgroup analysis of a randomized trial. *Ann Intern Med.* 160, pp. 1-10, 2014.
149. Uribarri J, Del Castillo MD, De la Maza MP, Filip R, Gugliucci A, Luevano-Contreras C, et al. Dietary advanced glycation end products and their role in health and disease. *Advances in nutrition.* 6, pp. 461-473, 2015.
150. Kellow NJ, Savige GS. Dietary advanced glycation end-product restriction for the attenuation of insulin resistance, oxidative stress and endothelial dysfunction: a systematic review. *Eur J Clin Nutr.* 67, pp. 239-248, 2013.
151. Trovato FM, Catalano D, Martines GF, Pace P, Trovato GM. Mediterranean diet and non-alcoholic fatty liver disease: the need of extended and comprehensive interventions. *Clin Nutr.* 34, pp. 86-88, 2015.
152. Bozzetto L, Prinster A, Annuzzi G, Costagliola L, Mangione A, Vitelli A, et al. Liver fat is reduced by an isoenergetic MUFA diet in a controlled randomized study in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care.* 35, pp. 1429-1435, 2012.
153. Ryan MC, Itsiopoulos C, Thodis T, Ward G, Trost N, Hofferberth S, et al. The Mediterranean diet improves hepatic steatosis and insulin sensitivity in individuals with non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol.* 59, pp. 138-143, 2013.
154. Moriya J, Iwasaki Y, Ohguchi S, Kayashima E, Mitsumune T, Taniguchi H, et al. Roles of alcohol consumption in fatty liver: a longitudinal study. *J Hepatol.* 62, pp. 921-927, 2015.

155. Kwon HK, Greenson JK, Conjeevaram HS. Effect of lifetime alcohol consumption on the histological severity of non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int.* 34, pp. 129-135, 2014.
156. Strychar I. Diet in the management of weight loss. *CMAJ.* 174: 56–63, 2006.
157. Moyer VA. U.S. Preventive Services Task Force. Screening for and management of obesity in adults: U.S. Preventive Services Task Force recommendation statement. *Ann. Intern. Med.* 157: 373–378, 2012.
158. Sacks FM, Bray GA, Carey VJ, Smith SR, Ryan DH, Anton SD, et al. Comparison of weight-loss diets with different compositions of fat, protein, and carbohydrates. *N Engl J Med.* 360: 859–873, 2009.
159. Carvalhana S, Machado MV, Cortez-Pinto H. Improving dietary patterns in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.* 15: 468–473, 2012.
160. McCarthy EM, Rinella ME. The role of diet and nutrient composition in nonalcoholic Fatty liver disease. *J. Acad. Nutr. Diet.* 112: 401–409, 2012.
161. Maersk M, Belza A, Stodkilde-Jorgensen H, Ringgaard S, Chabanova E, Thomsen H, et al. Sucrose-sweetened beverages increase fat storage in the liver, muscle, and visceral fat depot: a 6-mo randomized intervention study. *Am. J. Clin. Nutr.* 95: 283–289, 2012.
162. Ferolla SM, Ferrari TC, Lima ML, Alves C. Dietary patterns in Brazilian patients with nonalcoholic fatty liver disease: a cross-sectional study. *Clinics (Sao Paulo).* 68: 11–17, 2013.
163. De Wit NJ, Afman LA, Mensink M, Müller M. Phenotyping the effect of diet on non-alcoholic fatty liver disease. *J. Hepatol.* 57: 1370–1373, 2012.
164. Goran MI, Walker R, Allayee H. Genetic-related and carbohydrate-related factors affecting liver fat accumulation. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.* 15: 392–396, 2012.
165. Schugar RC, Crawford PA. Low-carbohydrate ketogenic diets, glucose homeostasis, and nonalcoholic fatty liver disease. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.* 15: 374–380, 2012.

166. Anderson JW, Randles KM, Kendall CW, Jenkins DJ. Carbohydrate and fiber recommendations for individuals with diabetes: a quantitative assessment and meta-analysis of the evidence. *Journal of the American College of Nutrition*. 23: 5-17, 2004.
167. Brighenti F, Benini L, Del Rio D, Casiraghi C, Pellegrini N, Scazzina F, et al. Colonic fermentation of indigestible carbohydrates contributes to the second-meal effect. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 83: 817-22, 2006.
168. Ullah R, Rauf N, Nabi G, Ullah H, Shen Y, Zhou Y et al. Role of Nutrition in the Pathogenesis and Prevention of Non-alcoholic Fatty Liver Disease: Recent Updates. *International Journal of Biological Sciences*. 15(2): 265-276, 2019.
169. Fan GJ, Cao XH. Role of diet and nutritional management in non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 28: 81–87, 2013.
170. Hu T, Mills KT, Yao L, Demanelis K, Eloustaz M, Yancy WS, et al. Effects of low-carbohydrate diets versus low-fat diets on metabolic risk factors: a meta-analysis of randomized controlled clinical trials. *American Journal of Epidemiology*. 176(supplement 7):S44–S54, 2012.
171. Ter Horst WK, Serlie JM. Fructose consumption, lipogenesis, and non-alcoholic fatty liver disease. *Nutrients* 9(9). 2017.
172. Zivkovic AM, German JB, Sanyal AJ. Comparative review of diets for the metabolic syndrome: implications for nonalcoholic fatty liver disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 86(2):285–300, 2007.
173. S. Zelber-Sagi D, Nitzan-Kaluski R, Goldsmith M, Webb L, Blendis Z, Halpern, et al. Long term nutritional intake and the risk for non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): a population based study. *J Hepatol*. 47, pp. 711-717, 2007.
174. Ouyang X, Cirillo P, Sautin Y, McCall S, Bruchette JL, Diehl AM. et al. Fructose consumption as a risk factor for non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. 48, pp. 993-999, 2008.

175. Assy N, Nasser G, Kamayse I, Nseir W, Beniashvili Z, Djibre A, et al. Soft drink consumption linked with fatty liver in the absence of traditional risk factors. *Can J Gastroenterol*. 22, pp. 811-816, 2008.
176. Abid A, Taha O, Nseir W, Farah R, Grosovski M, Assy N. Soft drink consumption is associated with fatty liver disease independent of metabolic syndrome. *J Hepatol*. 51, pp. 918-924, 2009.
177. Vos MB, McClain CJ. Fructose takes a toll. *Hepatology*. 50, pp. 1004-1006, 2009.
178. Bergheim I, Weber S, Vos M, Kramer S, Volynets V, Kaserouni S, et al. Antibiotics protect against fructose-induced hepatic lipid accumulation in mice: role of endotoxin. *J Hepatol*. 48, pp. 983-992, 2008.
179. Vos MB, Lavine JE. Dietary fructose in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 57, pp. 2525-2531, 2013.
180. Xu C, Yu C, Xu L, Miao M, Li Y. High serum uric acid increases the risk for nonalcoholic Fatty liver disease: a prospective observational study. *PLoS One*. 5, p. e11578, 2010.
181. Zelber-Sagi S, Ben-Assuli O, Rabinowich L, Goldstein A, Magid A, Shalev V, et al. The association between the serum levels of uric acid and alanine aminotransferase in a population-based cohort. *Liver Int*. 59, pp. 109-116, 2015.
182. Leung C, Herath CB, Jia Z, Goodwin M, Mak KY, Watt MJ, et al. Dietary glycotoxins exacerbate progression of experimental fatty liver disease. *J Hepatol*. 60, pp. 832-838, 2014.
183. Ma J, Fox CS, Jacques PF, Speliotes EK, Hoffmann U, Smith CE, et al. Sugar-sweetened beverage, diet soda, and fatty liver disease in the Framingham Heart Study cohorts. *J Hepatol*. 63, pp. 462-469, 2015.
184. Abdelmalek MF, Suzuki A, Guy C, Unalp-Arida A, Colvin R, Johnson RJ, et al. Increased fructose consumption is associated with fibrosis severity in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 51, pp. 1961-1971, 2010.

185. Le KA, Bortolotti M. Role of dietary carbohydrates and macronutrients in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*. 11: 477-82, 2008.
186. Nseir W, Nassar F, Assy N. Soft drinks consumption and nonalcoholic fatty liver disease. *World Journal of Gastroenterology*. 16: 2579-88, 2010.
187. Dhingra R, Sullivan L, Jacques PF, Wang TJ, Fox CS, Meigs JB, et al. Soft Drink Consumption and Risk of Developing Cardiometabolic Risk Factors and the Metabolic Syndrome in Middle-Aged Adults in the Community. *Circulation*. 116: 480, 2007.
188. Dongiovanni P, Lanti C, Gatti S, Rametta R, Recalcati S, Maggioni M, et al. High fat diet subverts hepatocellular iron uptake determining dysmetabolic iron overload. *PloS one*. 10: e0116855, 2015.
189. Fu JF, Fang YL, Liang L, Wang CL, Hong F, Dong GP. A rabbit model of pediatric nonalcoholic steatohepatitis: the role of adiponectin. *World J Gastroenterol*. 15: 912-8, 2009.
190. Shi H, Fu J, Wang C. Clinical value of hepatic fibrosis parameters and serum ferritin in obese children with nonalcoholic fatty liver disease. *Journal of Zhejiang University Medical sciences*. 37: 245-9, 2008.
191. Wang D, Wei YR, Pagliassotti MJ. Saturated fatty acids promote endoplasmic reticulum stress and liver injury in rats with hepatic steatosis. *Endocrinology*. 147: 943-51, 2006.
192. Milanski M, Degasperi G, Coope A, Morari J, Denis R, Cintra DE, et al. Saturated fatty acids produce an inflammatory response predominantly through the activation of TLR4 signaling in hypothalamus: implications for the pathogenesis of obesity. *J Neurosci*. 29: 359-70, 2009.
193. Lapointe A, Couillard C, Lemieux S. Effects of dietary factors on oxidation of low-density lipoprotein particles. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 17: 645-58, 2006.
194. Sacks FM, Katan M. Randomized clinical trials on the effects of dietary fat and carbohydrate on plasma lipoproteins and cardiovascular disease. *The American journal of medicine*. 113: 13-24, 2002.

195. Julius U. Fat modification in the diabetes diet. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes*. 111: 60-5, 2003.
196. Kruse M, von Loeffelholz C, Hoffmann D, Pohlmann A, Seltsmann AC, Osterhoff M, et al. Dietary rapeseed/canola-oil supplementation reduces serum lipids and liver enzymes and alters postprandial inflammatory responses in adipose tissue compared to olive-oil supplementation in obese men. *Molecular nutrition & food research*. 59: 507-19, 2015.
197. Reiner Z, Catapano AL, De Backer G, Graham I, Taskinen MR, Wiklund O, et al. ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias. *European heart journal*. 32: 1769-818, 2011.
198. Kargulewicz A, Stankowiak-Kulpa H, Grzymisławski M. Dietary recommendations for patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Przegląd Gastroenterologiczny*. 9: 18-23, 2014.
199. Alisi A, Nobili V. Non-alcoholic fatty liver disease in children now: Lifestyle changes and pharmacologic treatments. *Nutrition*. 28: 722-6, 2012.
200. Flachs P, Rossmeisl M, Bryhn M, Kopecky J. Cellular and molecular effects of n-3 polyunsaturated fatty acids on adipose tissue biology and metabolism. *Clinical Science*. 116: 1-16, 2009.
201. Masterton GS, Plevris JN, Hayes PC. Review article: omega-3 fatty acids - a promising novel therapy for non-alcoholic fatty liver disease. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 31: 679-92, 2010.
202. Mencin AA, Lavine JE. Advances in Pediatric Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Pediatric Clinics of North America*. 58: 1375-92, 2011.
203. Nobili V, Carpino G, Alisi A, De Vito R, Franchitto A, Alpini G, et al. Role of Docosahexaenoic Acid Treatment in Improving Liver Histology in Pediatric Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Plos One*. 9, 2014.
204. Janczyk W, Socha P, Lebensztejn D, Wierzbicka A, Mazur A, Neuhoff-Murawska J, et al. Omega-3 fatty acids for treatment of non-alcoholic fatty liver disease: design and rationale of randomized controlled trial. *Bmc Pediatrics*. 13, 2013.
205. Nobili V, Bedogni G, Alisi A, Pietrobbattista A, Rise P, Galli C, et al. Docosahexaenoic acid supplementation decreases liver fat content in children

- with non-alcoholic fatty liver disease: double-blind randomised controlled clinical trial. *Archives of Disease in Childhood*. 96: 350-3, 2011.
206. Janczyk W, Lebensztejn D, Wierzbicka-Rucińska A, Mazur A, Neuhoﬀ-Murawska J, Matusik P, et al. Omega-3 Fatty Acids Therapy in Children with Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Randomized Controlled Trial. *The Journal of Pediatrics*. 166: 1358-63.e3, 2015.
 207. Meghellibouchenak M, Belleville J, Boquillon M. Hepatic Steatosis And Serum Very Low-Density Lipoproteins During 2 Types Of Protein-Malnutrition Followed By Balanced Refeeding. *Nutrition*. 5: 321-9, 1989.
 208. Leclercq IA, Horsmans Y. Nonalcoholic fatty liver disease: the potential role of nutritional management. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*. 11: 766-73, 2008.
 209. Duarte SMB, Faintuch J, Stefano JT, Oliveira MBSD, Mazo DFdC, Rabelo F, et al. Hypocaloric high-protein diet improves clinical and biochemical markers in patients with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Nutricion hospitalaria*. 29: 94-101, 2014.
 210. Arciero PJ, Gentile CL, Pressman R, Everett M, Ormsbee MJ, Martin J, et al. Moderate protein intake improves total and regional body composition and insulin sensitivity in overweight adults. *Metabolism-Clinical and Experimental*. 57: 757-65, 2008.
 211. Watanabe H, Inaba Y, Kimura K, Asahara SI, Kido Y, Matsumoto M, et al. Dietary Mung Bean Protein Reduces Hepatic Steatosis, Fibrosis, and Inflammation in Male Mice with Diet-Induced, Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *The Journal of Nutrition*. 147: 52-60, 2017.
 212. Yang HY, Tzeng YH, Chai CY, Hsieh AT, Chen JR, Chang LS, et al. Soy protein retards the progression of non-alcoholic steatohepatitis via improvement of insulin resistance and steatosis. *Nutrition*. 27: 943-8, 2011.
 213. Kani AH, Alavian SM, Esmailzadeh A, Adibi P, Azadbakht L. Effects of a novel therapeutic diet on liver enzymes and coagulating factors in patients with non-alcoholic fatty liver disease: A parallel randomized trial. *Nutrition*. 30: 814-21, 2014.

214. Özenoğlu A, Ünal G. İntestinal Mikrobiyotanın Nörogelişimsel Bozukluklarla İlişkisi, Beslenme ve Diyetetik Güncel Konular-2, Hatipoğlu Yayınevi 1.Baskı, 2015.
215. Guo X, Long R, Kreuzer M, Ding L, Shang Z, Zhang Y, et al. Importance of functional ingredients in yak milk-derived food on health of Tibetan nomads under high-altitude: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 54:292–302, 2014.
216. Barnett JA. A history of research on yeasts 2: Louis Pasteur and his contemporaries, p.1850–1880. 16:755–71, 2000.
217. Metchnikoff E, Chapter V. Lactic acid as inhibiting intestinal putrefaction. In: The prolongation of life. Optimistic studies. New York, London: G.P. Putnam's Sons. 161–83, 1908.
218. Tissier H. Treatment of intestinal infections using bacterial flora of the intestine [in French]. *Crit Rev Soc Biol.* 60:359–61, 1906.
219. Rettger LF Cheplin HA. *Bacillus acidophilus* and its therapeutic application. *Arch Intern Med.* 29:357–67, 1922.
220. Kopeloff N Blackman N McGinn B. The incidence of *Lactobacillus acidophilus* in adults. *J Infect Dis.* 50:426–9, 1932.
221. Ferrer FP Boyd LJ. Effect of yogurt with prune whip on constipation. *Am J Dig Dis.* 22:272–3, 1955.
222. McFarland L. From Yaks to Yogurt: The History, Development, and Current Use of Probiotics. *Clinical Infectious Diseases.* Vol 60, Issue suppl_2, p. S85–S90, 2015.
223. Lilly DM Stillwell RH. Probiotics: growth-promoting factors produced by microorganisms. *Science.* 147:747–8, 1965.
224. Hawrelak JBNat (Hons). Probiotics. In: Pizzorno JE, Murray MT, editors. *Textbook of Natural Medicine.* 4th ed. St. Louis, Missouri: Churchill Livingstone Elsevier; p. 979–94, 2013.
225. Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization Working Group. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Report of a joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for

- the evaluation of probiotics in food. London, Ontario, Canada, 2002.
Available at: <ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/wgreport2.pdf>.
226. Patel D, Patel F, Mandal P. Potential molecular mechanism of probiotics in alcoholic fatty liver disease. *Alcohol Drug Depend.* 5(4):1-11, 2017.
227. Guarner F, Khan AG, Garisch J, Eliakim R, Gangl A, Thomson A, et al. World Gastroenterology Organisation Global Guidelines: probiotics and prebiotics. *J Clin Gastroenterol.* 46:468–81, 2012.
228. Khalighi A, Reza Behdani R, Kouhestani S. Probiotics: A comprehensive review of their classification, mode of action and role in human nutrition. *Probiotics and Prebiotics in Human Nutrition and Health* (Rao V, ed). 19-39, 2016.
229. Singh S, Kolta GN, Lal RU. Omnipresence of probiotics in diversified clinical practices. *J Prob Health.* 3 (1):1-9, 2014.
230. Ganguly NK, Bhattacharya SK, Sesikeran B, Hemalatha R. ICMR-DBT Guidelines for evaluation of probiotics in food. *Indian J Med Res.* 134(1): 22–25, 2011.
231. Dunne C, Mahony L, Murphy L, Thornton G, Morrissey D, Halloran S, et al. In vitro selection criteria for probiotic bacteria of human origin: correlation with in vivo findings. *The American Journal of Clinical Nutrition.* 73(2 Suppl):386s–92s, 2001.
232. Ohland CL, Macnaughton WK: Probiotic bacteria and intestinal epithelial barrier function. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 298:G807–G819, 2010.
233. Hooper LV, Stappenbeck TS, Hong CV, Gordon JI: Angiogenins: a new class of microbicidal proteins involved in innate immunity. *Nat Immunol.* 4:269–273, 2003.
234. Juntunen M, Kirjavainen PV, Ouwehand AC, Salminen SJ, Isolauri E: Adherence of probiotic bacteria to human intestinal mucus in healthy infants and during rotavirus infection. *Clin Diag Lab Immunol.* 8:293–296, 2001.
235. Beachey EH: Bacterial adherence: adhesin-receptor interactions mediating the attachment of bacteria to mucosal surfaces. *J Infect Dis.* 143:325–345, 1981.

236. Jain M, Gupta K, Jain P. Significance of probiotics and prebiotics in health and nutrition. *Malaya Journal of Biosciences*. 1(3):181–195, 2014.
237. Gogineni KV, Morrow EL, Malesker AM. Probiotics: Mechanisms of action and clinical applications. *J Prob Health*. 1:1, 2013.
238. Kerry GR, Patra KJ, Gouda S, Park Y, Shin H, Das G. Benefaction of probiotics for human health: A review. *Journal of Food and Drug Analysis*. 26: 927-939, 2018.
239. Gibson GR, Hutkins R, Sanders ME, Prescott SL, Reimer RA, Salminen SJ. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. vol 14, pages 491–502, 2017.
240. Wieland A, Frank ND, Harnke B. Systematic review: microbial dysbiosis and nonalcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 42:1051–1063, 2015.
241. Doulberis M, Kotronis G, Gialamprinou D, Kountouras J, Katsinelos P. Non-alcoholic fatty liver disease: An update with special focus on the role of gut microbiota. *J Metabol*. 71:182-197, 2017.
242. AISF position paper on nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD): Updates and future directions. The Italian Association for the Study of the Liver (AISF). *Dig and Liver Dis*. 49:471–483, 2017.
243. Arab PJ, Arrese M, Trauner M. Recent insight into the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *Annual Review of Pathology: Mechanism of Disease*. 13:321-350, 2018.
244. Buzzetti E, Pinzani M, Tsochatzis EA. The multiple-hit pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Metabolism Clinical and Experimental*. 1038-1048, 2016.
245. Federico A, Dallio M, Godos J, Loguercio C, Salomone F. Targeting gut-liver axis for the treatment of nonalcoholic steatohepatitis: translational and clinical evidence. *Trans Res*. 167(1):116-124, 2016.
246. Lafyatis R, Farina A. New insights into the mechanisms of innate immune receptor signalling in fibrosis. *Open Rheumatol J*. 6:72-9, 2012.

247. Zhu L, Baker SS, Gill C, Liu W, Alkhouri R, Baker RD, Gill SR. Characterization of gut microbiomes in nonalcoholic steatohepatitis (NASH) patients: a connection between endogenous alcohol and NASH. *Hepatology*. 57:601–9, 2013.
248. Mouzaki M, Comelli EM, Arendt BM, Bonengel J, Fung SK, Fischer SE, McGilvray ID, Allard JP. Intestinal microbiota in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 58:120–7, 2013.
249. Henao-Mejia J, Elinav E, Jin C, Hao L, Mehal WZ, Strowig T, et al. Inflammasome-mediated dysbiosis regulates progression of NAFLD and obesity. *Nature*. 482:179–85, 2012.
250. Miele L, Valenza V, La Torre G, Montalto M, Cammarota G, Ricci R, et al. Increased intestinal permeability and tight junction alterations in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 49: 1877-1887, 2009.
251. Ma Y, Yu C, Shen Z, Chen L, Li Y. Effects of probiotics on nonalcoholic fatty liver disease: A meta-analysis. *World J Gastroenterol*. 19(40): 6911-6918, 2013.
252. Loguercio C, Federico A, Tuccillo C, Terracciano F, Auria MV, De Simone C, Del Vecchio Blanco C. Beneficial effects of a probiotic VSL#3 on parameters of liver dysfunction in chronic liver diseases. *J Clin Gastroenterol*. 39: 540-543, 2005.
253. Wong VW, Won GL, Chim AM, Chu WC, Yeung DK, Li KC, Chan HL. Treatment of nonalcoholic steatohepatitis with probiotics: a proof-of-concept study. *Ann Hepatol*. 12:256–62, 2013.
254. Moschen AR, Kaser S, Tilg H. Non-alcoholic steatohepatitis: a microbiota-driven disease. *Trends Endocrinol Metab*. 24(11):537–545, 2013.
255. Le Roy T, Llopis M, Lepage P, Bruneau A, Rabot S, Bevilacqua C, et al. Intestinal microbiota determines development of non-alcoholic fatty liver disease in mice. *Gut*. 62:1787–94, 2013.
256. Duvnjak M, Lerotic I, Barsic N, Tomasic V, Virovic Jukic L, Velagic V. Pathogenesis and management issues for non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 13(34):4539-50, 2007.

257. Jonkers D, Stockbrugger R. Review article: Probiotics in gastrointestinal and liver diseases. *Aliment Pharmacol Ther.* 26(Suppl 2):133-48, 2007.
258. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): assessment and management. NICE guideline. Erişim: (<https://www.nice.org.uk/guidance/ng49>). Erişim tarihi: 27.05.2019.
259. Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığının tanısı ve yönetimi. Erişim: (http://www.tgd.org.tr/pdf/Non-AlkolikYagli_KaracigerHastaliginin.pdf). Erişim Tarihi:27.05.2019.
260. Simopoulos AP. Importance of the omega-6/omega-3 balance in health and disease: evolutionary aspects of diet. *World Rev Nutr Diet.* 102: 10–21, 2011.
261. Araya J, Rodrigo R, Videla LA, Thielemann L, Orellana M, Pettinelli P, et al. Increase in long-chain polyunsaturated fatty acid omega-6 / omega-3 ratio in relation to hepatic steatosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Clinical science.* 106(6):635-43, 2004.
262. Zambo V, Simon-Szabo L, Szelenyi P, Kereszturi E, Banhegyi G, Csala M. Lipotoxicity in the liver. *World J Hepatol.* 5:550–557, 2013.
263. Minno M, Russolillo A, Lupoli R, Ambrosino P, Minno A, Tarantino G. Omega-3 fatty acids for the treatment of non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol.* 18(41):5839–47, 2012.
264. Calder PC. n-3 polyunsaturated fatty acids ,inflammation, and inflammatory diseases. *Am J Clin Nutr.* 83:1505s–1519s, 2006.
265. Nogueira MA, Oliveira CP, Ferreira Alves VA, Stefano JT, Rodrigues LS, Torrinhas RS, et al. Omega-3 polyunsaturated fatty acids in treating non-alcoholic steatohepatitis: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Clin Nutr.* 35(3):578-86, 2015.
266. Takeuchi Y, Yahagi N, Izumida Y, Nishi M, Kubota M, Teraoka Y, et al. Polyunsaturated fatty acids selectively suppress sterol regulatory element-binding protein 1 through proteolytic processing and autoloop regulatory circuit. *J Biol Chem.* 285:11681–11691, 2010.
267. Scorletti E, Bhatia L, McCormick KG, Clough GF, Nash K, Hodson L, et al. Effects of purified eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in

- nonalcoholic fatty liver disease: results from the Welcome* study. *Hepatology*. 60:1211–21, 2014.
268. Yokoyama M, Origasa H, Matsuzaki M, Matsuzawa Y, Saito Y, Ishikawa Y, et al. Effects of eicosapentaenoic acid on major coronary events in hypercholesterolaemic patients (JELIS): a randomised openlabel, blinded endpoint analysis. *Lancet*. 369: 1090-1098, 2007.
 269. Botolin D, Wang Y, Christian B, Jump DB. Docosahexaenoic acid (22:6, n-3) regulates rat hepatocyte SREBP-1 nuclear abundance by Erk- and 26S proteasome-dependent pathways. *J Lipid Res*. 47: 181-192, 2006.
 270. Storlien LH, Kraegen EW, Chisholm DJ, Ford GL, Bruce DG, Pascoe WS. Fish oil prevents insulin resistance induced by high-fat feeding in rats. *Science*. 237:885–8, 1987.
 271. Pacifico L, Bonci E, Martino MD, Chiesa C. A double-blind, placebo-controlled randomized trial to evaluate the efficacy of docosahexaenoic acid supplementation on hepatic fat and associated cardiovascular risk factors in overweight children with nonalcoholic fatty liver disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 25:734–41, 2015.
 272. Argo CK, Patrie JT, Lackner C. Effects of N-3 fish oil on metabolic and histological parameters in NASH: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *J Hepatol*. 62:190–7, 2015.
 273. Depner CM, Traber MG, Bobe G, Kensicki E, Bohren KM, Milne G, Jump DB. A metabolomic analysis of omega-3 fatty acid mediated attenuation of western diet-induced non-alcoholic steatohepatitis in LDLR $-/-$ mice. *PloS One*. 8 (12) : e83756, 2013.
 274. Konuma K, Itoh M, Suganami T, Kanai S, Nakagawa N, Sakai T, et al. Eicosapentaenoic acid ameliorates non-alcoholic steatohepatitis in a novel mouse model using melanocortin 4 receptor deficient mice. *PloS One*. 10(3): e0121528, 2015.
 275. Suzuki-Kemuriyama N, Matsuzaka T, Kuba M, Ohno H, Han SI, Takeuchi Y, Shimano H. Different effects of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids on atherogenic high fat diet-induced non-alcoholic fatty liver disease in mice. *PloS One*. 11(6): e0157580, 2016.

276. Folch J, Lees M, Stanley GHS. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem.* 226: 497-509, 1956.
277. Smith PK, Krohn RI, Hermanson GT, Mallia AK, Gartner FH, Provenzano MD, Fujimoto EK, Goeke NM, Olson BJ, Klenk DC. Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Anal Biochem.* 150: 76-85, 1985.
278. Beutler E. *Red Cell Metabolism: A Manual of Biochemical Methods.* Academic Press. London, 1971.
279. Tetri LH, Basaranoglu M, Brunt EM, Yerian LM, Neuschwander-Tetri BA. Severe NAFLD with hepatic necroinflammatory changes in mice fed trans fats and a highfructose corn syrup equivalent. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 295, G987– 995, 2008.
280. Lim JS, Mietus-Snyder M, Valente A, Schwarz JM, Lustig RH. The role of fructose in the pathogenesis of NAFLD and the metabolic syndrome. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 7, 251–264, 2010.
281. Ackerman Z, Oron-Herman M, Grozovski M, Rosenthal T, Pappo O, Link G, et al. Fructose-induced fatty liver disease: hepatic effects of blood pressure and plasma triglyceride reduction. *Hypertension.* 45, 1012–1018, 2005.
282. Armutcu F, Coskun O, Gürel A, Kanter M, Can M, Ucar F ve ark. Thymosin alpha 1 attenuates lipid peroxidation and improves fructose-induced steatohepatitis in rats. *Clin. Biochem.* 38, 540–547, 2005.
283. 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.* 139, 2067–2071, 2009.
284. Basciano H, Federico L, Adeli K. Fructose, insulin resistance, and metabolic dyslipidemia. *NutrMetab (Lond).* 21;2(1):5, 2005.
285. Morell SF, Nagel R. Worse Than We Thought The Lowdown on High Fructose Corn Syrup and Agave “Nectar”. *Spring.* 44-52, 2009.
286. Chung M, Ma J, Patel K, Berger S, Lau J, Linchtenstein A. Fructose, high-fructose corn syrup, sucrose, and nonalcoholic fatty liver disease or indexes of liver health: a systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr.* 100:833–49, 2014.

287. Parker K, Salas M, Nwosu VC. High fructose corn syrup: Production, uses and public health concerns. *Biotechnology and Molecular Biology Review*. 5(5): 71 – 78, 2010.
288. Tappy L, Le KA, Tran C, Paquot N. Fructose and metabolic diseases: New findings, new questions. *Nutrition*. 26: 1044–1049, 2010.
289. Chen HL, Tsai TC, Tsai YC, Liao JW, Yen CC, Chen CM. Kefir peptides prevent high-fructose corn syrup-induced nonalcoholic fatty liver disease in a murine model by modulation of inflammation and the JAK2 signaling pathway. *Nutrition & Diabetes*. 6, e237, 2016.
290. Charlton M, Krishnan A, Viker K, Sanderson S, Cazanave S, McConico A, et al. Fast food diet mouse: novel small animal model of nash with ballooning, progressive fibrosis, and high physiological fidelity to the human condition. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 301: G825–834, 2011.
291. Masterjohn C, Park Y, Lee J. Dietary fructose feeding increases adipose methylglyoxal accumulation in rats in association with low expression and activity of glyoxalase-2. *Nutrients*. 5: 3311–3328, 2013.
292. Alisi A, Bedogni G, Baviera G, Giorgio V, Porro E, Paris C, et al. Randomised clinical trial: The beneficial effects of VLS#3 in obese children with non-alcoholic steatohepatitis. *Aliment. Pharmacol. Ther*. 39, 1276–1285, 2014.
293. Cani PD, Neyrinck AM, Fava F, Knauf C, Burcelin RG, Tuohy KM, et al. Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia. *Diabetologia*. 50: 2374–2383, 2007.
294. Bellisle F, Drewnowski A. Intense sweeteners, energy intake and the control of body weight. *Euro J Clin Nutr*. 61; 691–700, 2007.
295. Panchal SK, Poudyal H, Iyer A. High-carbohydrate, high-fat diet-induced metabolic syndrome and cardiovascular remodeling in rats. *J Cardiovasc Pharmacol*. 57(5): 611–624, 2011.
296. Narayanan J, Jesudoss V. Hepatoprotective potential of zingerone against nonalcoholic fatty liver disease in rats fed with fructose-enriched diet. *Gen. Physiol. Biophys*. 35, 185–194, 2016.

297. Zhu FS, Liu S, Chen XM, Huang ZG, Zhang DW. Effects of n-3 polyunsaturated fatty acids from seal oils on nonalcoholic fatty liver disease associated with hyperlipidemia. *World J Gastroenterol*. 14:6395–400, 2008.
298. Aller R, De Luis DA, Izaola O, Conde R, Gonzalez Sagrado M, Primo D, et al. Effect of a probiotic on liver aminotransferases in nonalcoholic fatty liver disease patients: A double blind randomized clinical trial. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 15, 1090–1095, 2011.
299. Vajro P, Mandato C, Licenziati MR, Franzese A, Vitale DF, Lenta S, et al. Effects of *Lactobacillus rhamnosus* strain GG in pediatric obesity-related liver disease. *J. Gastroenterol. Nutr.* 52, 740–743, 2011.
300. Malaguarnera M, Vacante M, Antic T, Giordano M, Chisari G, Acquaviva R, et al. *Bifidobacterium longum* with fructo-oligosaccharides in patients with non alcoholic steatohepatitis. *Dig Dis Sci*. 57:545–553, 2012.
301. Esposito E, Iacono A, Bianco G, Autore G, Cuzzocrea S, Vajro P, et al. Probiotics reduce the inflammatory response induced by a high-fat diet in the liver of young rats. *J Nutr.* 139(5):905–11, 2009.
302. Marsman HA, Heger M, Kloeck JJ, Nienhuis SL, Kate FJ, Van Gulik TM. Omega-3 fatty acids reduce hepatic steatosis and consequently attenuate ischemia-reperfusion injury following partial hepatectomy in rats. *Dig Liver Dis*. 43: 984-990, 2011.
303. Qin Y, Zhou Y, Chen SH, Zhao XL, Ran L, Zeng XL, et al. Fish oil supplements lower serum lipids and glucose in correlation with a reduction in plasma fibroblast growth factor 21 and prostaglandin E2 in nonalcoholic fatty liver disease associated with hyperlipidemia: a randomized clinical trial. *PLoS One*. 10: e0133496, 2015.
304. Nabavi S, Rafrat M, Somi M.H, Homayouni-Rad A, Asghari-Jafarabadi, M. Effects of probiotic yogurt consumption on metabolic factors in individuals with nonalcoholic fatty liver disease. *J. Dairy Sci*. 97, 7386–7393, 2014.
305. Gülcen B, Özcan E, Kuş M, Saygılı Ö, Kaman D, Ögetürk M, ve ark. Omega -3 Yağ Asitlerinin Sıçan Karaciğer Dokusunda Bir Grup Metabolik Enzim Aktivitesi Üzerine Olumlu Etkileri. *Balikesir Saglik Bil Derg*. 5(2), 2016.

306. Eslamparast T, Egtesad S, Hekmatdoost A, Poustchi H. Probiotics and Nonalcoholic Fatty liver Disease. *Middle East J Dig Dis.* 5:129-36, 2013.
307. Lee L, Alloosh M, Saxena R, Van Alstine W, Watkins BA, Klaunig JE, et al. Nutritional model of steatohepatitis and metabolic syndrome in the Ossabaw miniature swine. *Hepatology.* 50:56–67, 2009.
308. Jia L, Zhang MH. Comparison of probiotics and lactulose in the treatment of minimal hepatic encephalopathy in rats. *World J Gastroenterol.* 11(6):908-11, 2005.
309. Ma X, Hua J, Li Z. Probiotics improve high fat diet-induced hepatic steatosis and insulin resistance by increasing hepatic NKT cells. *J Hepatol.* 49(5):821–30, 2008.
310. Velayudham A, Dolganiuc A, Ellis M, Petrasek J, Kodys K, Mandrekar P, et al. VSL#3 probiotic treatment attenuates fibrosis without changes in steatohepatitis in a diet-induced nonalcoholic steatohepatitis model in mice. *Hepatology.* 49(3):989–97, 2009.
311. Xu R, Wan Y-P, Fang Q, Lu W, Cai W. Supplementation with probiotics modifies gut flora and attenuates liver fat accumulation in rat nonalcoholic fatty liver disease model. *J. Clin. Biochem. Nutr.* 50 (1): 72–77, 2012.
312. Rodriguez-Echevarria R, Macias-Barragan J, Parra- Vargas M, Rebeca Davila-Rodriguez J, Amezcua-Galvez E, Armendariz-Borunda J. Diet switch and omega-3 hydroxy-fatty acids display differential hepatoprotective effects in an obesity/ nonalcoholic fatty liver disease model in mice. *World J Gastroenterol.* 28, 24(4): 461-474, 2018.
313. Alwayn IP, Gura K, Nose V, Zausche B, Javid P, Garza J, et al . Omega-3 fatty acid supplementation prevents hepatic steatosis in a murine model of nonalcoholic fatty liver disease. *Pediatr Res.* 57: 445–52, 2005.
314. Oliveira CP, Coelho AM, Barbeiro HV, Lima VM, Soriano F, Ribeiro C et al. Liver mitochondrial dysfunction and oxidative stress in the pathogenesis of experimental nonalcoholic fatty liver disease. *Braz J Med Biol Res.* 39: 189–94, 2006.

10. ETİK KURUL ONAYI

Ek 1: Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulunun
13.12.2018 tarihli 17-9 sayılı kararı

T.C
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
REKTÖRLÜĞÜ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

Sayı : 51879863- 17-9
Konu : Karar

13.12.2018

Sayın: Dr.Öğretim Üyesi Nihal Zekiye ERDEM

HADYЕК'na değеrlendirilmek üzere sunmuş olduğunuz "Sıçanlarda yüksek fruktozlu mısır şurubuyla indüklenen karaciğеr yağlanması modelinde probiyotik ve omega-3 yağ asitlerinin etkileri" başlıklı 2018 HADYЕК-46 nolu projeniz kurumumuz tarafından değеrlendirilerek etik açıdan uygun bulunmuştur.
Bilgilerinize rica ederim.

Prof. Dr. Serriha Gülsüm KURT
HADYЕК Bşk.

Prof. Dr. Ataç ÇELİK (Başkan Yrd.)
ÜYE

Doç.Dr. Serbülent YİĞİT
ÜYE

Dr.Öğretim Üyesi Mehmet TOKATLI
ÜYE

Atilla BULDUK
(SİVİL ÜYE)

Doç. Dr. Arda KILDIRIM
ÜYE

Dr.Öğretim Üyesi Adem SOYDAN
ÜYE

Dr.Öğretim Üyesi İbrahim ERDİM
ÜYE

Eczacı Osman Atıf ÖZMEN
ÜYE (Katılmadı)

11. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Nildem	Soyadı	KIZILASLAN
Doğum Yeri	TOKAT	Doğum Tarihi	16.11.1992
Uyruğu	T.C.	TC Kimlik No	
E-mail	nildemkizilaslan@gmail.com	Tel	05427831077

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora/Uzmanlık	İstanbul Medipol Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik	2020
Yüksek Lisans	İstanbul Medipol Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik	2016
Lisans	Doğu Akdeniz Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik	2014
Lise	Atatürk Lisesi	2010

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.			-
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*
İngilizce	İyi	Orta	İyi

* Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

Yabancı Dil Sınav Notu ☐

YÖKDİL	YDS	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE
75	60							

☐☐ Başarılmış birden fazla sınav varsa, tüm sonuçlar yazılmalıdır

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	67,21		
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office Programları	Çok İyi
SPSS	Çok İyi
BEBIS	Çok iyi

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin