



T.C.

İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

**ALKOLİK OLMAYAN YAĞLI KARACİĞER MODELİNDE
OMEGA-3, DALLI ZİNCİRLİ AMİNOASİT VE DEVE DİKENİ
DESTEKLERİNİN BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELERE
ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

BERKİN ÖZYILMAZ KIRCALI

BESLENME VE DİYETETİK ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. GÖKHAN BAYSOY

İSTANBUL – 2020

TEŞEKKÜR

Tezimin nihai haline ulaşmasında, hem eğitimci kimliği, hem mesleki duayenliği ile bana çok şey kazandıran; yoğun iş temposu içinde hep sabırla yaklaşan, yardımlarını esirgemeyerek her konuda bana koşulsuz destek olan kıymetli danışman hocam Prof. Dr. Gökhan Baysoy'a;

Akademik yolumda, bana hep ışık olan, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım ve bu sayede hem hayata hem akademik camiaya dair pek çok şey öğrendiğim, beni yüreklendiren, desteğini ve güvenini hep arkamda hissettiğim saygıdeğer mentörüm, Prof. Dr. Funda Elmacıoğlu hocama;

Çalışmamın her aşamasında benimle aynı yolda yürüyüp, aldığı her kararı destekleyen, hayatım boyunca ve çalışmam süresince her türlü desteği sunan, varlıklarına her saniye şükrettiğim, koşulsuz sevgilerini hissettirerek hep yanımda olup beni motive eden annem Berrin Özyılmaz, babam Gültekin Özyılmaz, annem Sevim Kırçali, kardeşim Cenk Özyılmaz ve ailesine,

Tüm kaprislerime bir an bile sitem etmeyen, bana sonuna kadar inanan, çalışmamın başından sonuna dek hep yanı başımda olup benimle birlikte bu yolu göğüsleyen ve harika bir hayat arkadaşı olup varlığı ile bana güç katan, sevgili eşim, iyiki'm Can Kırçali' ya;

Bu zorlu süreçte rabbimin bana armağanı olan, tüm zorlukların üstesinden gelebilmemde bana manevi güç katarak çalışmalarımı kolaylaştıran kıymetlim canım oğlum Toprak Kırçali' ya;

Yüreğim her sıkıştığında o eşsiz mırıldanmaları ile beni sakinleştiren, sessiz kahramanlarım, canım kedilerim Osman, Süleyman ve Tayyar'ıma;

Tüm kalbimle ve içtenliğimle sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Berkin ÖZYILMAZ KIRCALI

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI.....	i
BEYAN.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ.....	vi
ŞEKİL VE RESİMLER LİSTESİ.....	viii
TABLolar LİSTESİ.....	ix
1.ÖZET.....	1
2.ABSTRACT.....	2
3.GİRİŞ VE AMAÇ	3
4.GENEL BİLGİLER.....	6
4.1. Karaciğer Hastalıklarına Giriş	6
4.1.1. Alkolik Olmayan Yağlı Karaciğer Hastalığı Tanımı	7
4.1.2. Alkolik Olmayan Yağlı Karaciğer Hastalığının Epidemiyolojisi.....	9
4.1.3. Alkolik Olmayan Yağlı Karaciğer Hastalığının Etiyolojisi.....	11
4.1.4. Alkolik Olmayan Yağlı Karaciğer Hastalığının Patogenezi	12
4.1.4.1. Çevresel Etmenler	16
4.1.4.2. Genetik Yatkınlık	17
4.1.4.3. Beslenme Alışkanlıkları	17
4.2. Karaciğer Hastalıklarında Tedavi.....	19
4.2.1. Alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı tedavisi	19
4.2.1.1. Medikal Tedavi	21
4.2.1.2. Beslenme Tedavisi ve Besin Destekleri	22
4.2.1.2.1. Yağ asitleri ve karaciğer hastalıkları.....	25
4.2.1.2.2. Aminoasitler ve karaciğer hastalıkları.....	27
4.2.1.2.3. Devedikeni ve karaciğer hastalıkları	28
4.3. Deneysel Yağlı Karaciğer Hastalığında Hayvan Modellemeleri.....	31
4.3.1. Kimyasal ajanlar kullanılarak indüklenen modeller	31
4.3.1.1. Streptozotosin Modeli	31
4.3.1.2. Karbon tetraklorür (CCl ₄) Modeli	32
4.3.1.3. Dietilnitrozamin (DEN) Modeli.....	32
4.3.2. Diyetel Modeller.....	32
4.3.2.1. MCD diyeti ile oluşturulan model	32

4.3.2.2. Atherojenik diyet ile oluşturulan model	33
4.3.2.3. Yüksek fruktoz diyeti ile oluşturulan model.....	33
4.3.2.4.Yüksek yağlı diyet ile oluşturulan model.....	33
5.MATERYAL VE METOT	35
5.1. Genel Çalışma Planı.....	35
5.2. Hayvanların Temini	35
5.3. Deneysel Alkolik olmayan Yağlı Karaciğer Modelinin Oluşturulması, Besin Desteklerinin Doz Ayarlama ve Uygulanma Prosesleri	36
5.4. Numunelerin Toplanması ve Değerlendirilmesi	39
5.5. İstatistiksel Analizler ve Raporlama	43
5.6. Çalışmanın Kısıtlılıkları ve Üstünlükleri	43
6.BULGULAR	44
6.1. Deney gruplarının yem türü ve besin desteği kullanılma durumuna göre vücut ağırlık ortalamalarının karşılaştırılması.....	45
6.2. Deney gruplarının çalışmanın başı, ortası ve sonundaki vücut ağırlık değişimlerinin değerlendirilmesi	47
6.3. Deney gruplarının besin destekleri öncesi kan biyokimyalarının karşılaştırılması.....	49
6.4. Deney gruplarının besin destekleri sonrası kan biyokimyalarının karşılaştırılması	51
6.5. Deney gruplarına özgü besin desteği öncesi sonrası verilerin karşılaştırılması	57
7. TARTIŞMA	58
8. SONUÇ.....	73
9. KAYNAKLAR	76
10.EKLER.....	94
11.ETİK KURUL ONAYI.....	97
12.ÖZGEÇMİŞ.....	101

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

ACC	: Asetil CoA Karboksilaz
ALD	: Alkolik Karaciğer Hastalığı
ALT	: Alanin Aminotransferaz
APOC – 3	: Apolipoprotein C-III
ARA	: Araşidonik Asit
AASLD	: Amerikan Karaciğer Hastalıkları Çalışma Derneği
AST	: Aspartat Aminotransferaz
Ath	: Atherojenik Diyet
BCAA	: Dalı Zincirli Aminoasit
BKI	: Beden Kütle İndeksi
BPA	: Bisfenol – A
CCI4	: Karbon Tetraklorür
CDHF	: Kolin Kısıtlı Yüksek Yağlı Diyet
DEN	: Dietilnitrozamin
DHA	: Dokosaheksaenoik Asit
EASD	: Avrupa Diyabet Araştırmaları Derneği
EASL	: Avrupa Karaciğer Çalışmaları Derneği
EASO	: Avrupa Obezite Çalışmaları Derneği
EDC	: Endokrin Bozucu Kimyasal
EPA	: Eikosapentaenoik Asit
EDTA	: Etilendiamin Tetraasetik Asit
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi

HCC	: Hepatoselüler Karsinom
HDL	: Yüksek Dansiteli Lipoprotein
HFD	: Yüksek Yağlı Diyet
IL – 6	: İnterlökin – 6
LDL	: Düşük Dansiteli Lipoprotein
LCPUFA	: Uzun Zincirli Çoklu Doymamış Yağ Asitleri
MCD	: Metionin ve Kolin Kısıtlı Diyet
M TORC – 1	: Rapamisin kompleksinin memeli hedefi 1
NAFLD	: Alkolik Olmayan Yağlı Karaciğer Hastalığı
NASH	: Alkolik Olmayan Steatohepatit
NASPGHAN	: Amerikan Pediatrik Gastroenteroloji, Hepatoloji ve Beslenme Derneği
PPAR	: Peroksizom proliferatör aktive edici reseptör
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SAMe	: S -Adenozil - L -Metionin
SREBP1c	: Sterol düzenleyici element bağlayıcı transkripsiyon faktörü 1
TNF – α	: Tümör Nekroz Faktör - α
VLDL	: Çok Düşük Dansiteli Lipoprotein
WAT	: Beyaz Adipoz Doku

ŞEKİL VE RESİMLER LİSTESİ

Şekil 1. 2018 yılı beş yaş altı Hafif Şişman Çocukların Dağılımı.....	6
Şekil 2. Pediatrik NAFLD prevalansı haritası.....	10
Şekil 3. NAFLD ve Tip 2 Diyabet prevalansının coğrafi dağılımı.....	13
Şekil 4. Lipid transportu ve depolanması.....	13
Şekil 5. NAFLD gelişiminde çoklu vuru hipotezi.....	15
Şekil 6. Karaciğerde hasar aşamaları.....	19
Şekil 7. Pediatrik NAFLD spektrumunda yaşam tarzı modifikasyonları ve yeni umut vaad eden tedaviler.....	24
Şekil 8. Temel besin öğelerinin NAFLD patobiyolojik yolaklarını düzenleyen moleküler mediatörler üzerine etkisi.....	30
Resim.1 Anne sütü ile beslenen yenidoğanlar ve büyüme aşamaları.....	36
Resim 2. Gruplarda yer alan bir sığana gavaj uygulanması.....	38
Resim 3. Anestezi altındaki sığanın batın bölgesinin açılması.....	39
Resim 4. Anestezi altındaki sığandan örneklerin toplanması.....	40
Resim 5. Grup 1 ile Grup 2 otopsi sonuçları karşılaştırması.....	41

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Obez çocuklarda vücut ağırlığı ilişkili komorbiditeler.....	7
Tablo 2. Alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı ilişkili tanımlar.....	8
Tablo 3. Pediatrik NAFLD ve NASH de yağlı karaciğer etiyolojileri.....	12
Tablo 4. Çocuk ve Yetişkin NAFLD Arasındaki Farklar.....	16
Tablo 5. NAFLD Tedavisi. Otoriteler tarafından önerilen klinik uygulama rehberleri.....	21
Tablo 6. Çalışma Tasarımının Özetlenmesi.....	42
Tablo 6.1. Verilerin normallik test sonuçları.....	44
Tablo 6.2. Çalışma gruplarının standart sıçan yemi ve yüksek yağlı diyet başlangıcındaki ağırlık ortalamalarının karşılaştırılması.....	45
Tablo 6.3. Yüksek yağlı diyetin başlangıcı ve yüksek yağlı diyet + besin destekleri başlangıcının birinci gününe göre çalışma grupları arasında vücut ağırlık ortalamalarının karşılaştırılması.....	46
Tablo 6.4. Besin destekleri başladıktan sonra 1., 31. ve 60. gün ölçümlerine göre çalışma gruplarının vücut ağırlık ortalamalarının karşılaştırılması.....	47
Tablo 6.5. Çalışma gruplarının çalışma başı, ortası ve sonundaki ağırlıklarının karşılaştırılması.....	48
Tablo 6.6. Deney gruplarının besin destekleri öncesi biyokimyasal kan parametrelerinin karşılaştırılması.....	49
Tablo 6.7. Deney gruplarının besin destekleri sonrası bazı biyokimyasal kan parametrelerinin karşılaştırılması.....	51
Tablo 6.8. Standart sıçan yemi ile beslenen kontrol grubunda çalışma başı ve sonundaki biyokimyasal kan parametrelerinin karşılaştırılması.....	54
Tablo 6.9. Yüksek yağlı diyet ile beslenen kontrol grubunda çalışma başı ve sonundaki biyokimyasal kan parametrelerinin karşılaştırılması.....	55

Tablo 6.10. Dallı zincirli aminoasit ve omega-3 yağ asidi desteği alan grupta besin desteği öncesi ve sonrasındaki biyokimyasal kan parametrelerinin karşılaştırılması..55

Tablo 6.11. Deve dikenli ve omega-3 yağ asidi desteği alan grupta besin desteği öncesi ve sonrasındaki biyokimyasal kan parametrelerinin karşılaştırılması.....56

Tablo 6.12. Dallı zincirli aminoasit ve deve dikenli desteği alan grupta besin desteği öncesi ve sonrasındaki biyokimyasal kan parametrelerinin karşılaştırılması.....56

Tablo 6.13. Besin desteklerinin kombine verildiği grupta besin desteği öncesi ve sonrasındaki biyokimyasal kan parametrelerinin karşılaştırılması.....57



1.ÖZET

ALKOLİK OLMAYAN YAĞLI KARACİĞER MODELİNDE OMEGA-3, DALLI ZİNCİRLİ AMİNOASİT VE DEVE DİKENİ DESTEKLERİNİN BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı (NAFLD) pediatrik popülasyonda patogenezi netleştirilemeyen, karmaşık ve multifaktöriyel bir hastalıktır. Hastalığın patogenezinin, genetik faktörler, çevresel etmenler ve beslenme alışkanlıklarını kapsayan kompleks bir süreç olduğu bilinmektedir. Medikal tedavisi bulunmayan hastalığın tedavisinde beslenme ve egzersiz alışkanlıklarını içeren yaşam tarzı modifikasyonları altın standart olarak bildirilmiştir. Bu çalışmada infant sıçanlarda yüksek yağlı beslenme ile oluşturulan alkolik olmayan yağlı karaciğer modelinde, omega 3 yağ asitleri, dallı zincirli aminoasitler (BCAA) ve deve dikenini desteklerinin ikiyeşerli veya üçlü kombinasyonların biyokimyasal parametreler üzerine etkisi incelenmiştir. Çalışmada, 36 adet Sprague Dawley cinsi dişi infant sıçan kullanılmış ve sıçanlar 6 gruba ayrılmıştır. Sağlıklı kontrol grubuna standart sıçan yemi+plasebo verilirken, diğer gruplara sırasıyla; yüksek yağlı sıçan yemi (HFD)+plasebo, HFD+BCAA+Omega-3, HFD+deve dikenini+omega-3, HFD+BCAA+deve dikenini, HFD+BCAA+Omega-3+deve dikenini kombinasyonları 7 hafta + 9 hafta süresince verilmiştir. 16 haftanın sonunda sıçanların kan örnekleri alınarak karaciğer dokuları çıkarılmıştır. Grupların besin desteği sonrası serum ALT düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel önemli farklılık olduğu ($p=0,000$), en yüksek ALT sonuç ortalamasının, HFD+plasebo ile beslenen kontrol grubunda, en düşük ALT sonuç ortalamasının ise tüm besin desteklerinin kombine olarak verildiği grupta olduğu saptanmıştır. Grupların serum kolesterol ($p=0,000$), trigliserit ($p=0,009$) düzey farklılığı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ve en yüksek lipid profil ortalaması HFD+plasebo grubunda saptanmıştır. Sonuç olarak üçlü kombinasyon tedavisinin kan biyokimyasını iyileştirdiği ve en az etkinin omega-3 yağ asitleri ile gözlendiği saptanmıştır. Pediatrik NAFLD tedavisinde besin desteği kullanımına yönelik ileri çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

Anahtar Sözcükler: Alkolik olmayan yağlı karaciğer, dallı zincirli aminoasit, deve dikenini, omega-3 yağ asitleri, yüksek yağlı diyet.

2.ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF OMEGA-3 FATTY ACIDS BRANCHED-CHAIN AMINOACIDS AND MILK THISTLE SUPPLEMENTATION ON SOME BIOCHEMICAL PARAMETERS IN NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER MODEL

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is a complex and multifactorial disease whose pathogenesis cannot be clarified in the pediatric population. It is known that the pathogenesis of the disease is a complex process that covers genetic factors, environmental factors and nutritional habits. Lifestyle modifications, including nutritional and exercise habits, have been reported as the gold standard in the treatment of the disease, which does not have a medical treatment yet. In this study, the effect of double or triple combination of omega3, branched chain aminoacids (BCAA) and milk thistle supports on biochemical parameters in NAFL model induced by high-fat diet in infant rats was investigated. The study was carried out by dividing 36 Sprague Dawley female infant rats into 6 groups. While the healthy control group was given standard rat food + placebo, the other groups are respectively given; high-fat diet (HFD) + placebo, HFD+BCAA+Omega-3, HFD+milk thistle+omega-3, HFD+BCAA+milk thistle, HFD+BCAA+Omega-3+milk thistle combinations for 7 weeks + 9 weeks. At the end of 16 weeks, blood samples of rats were taken, and liver tissues were removed. When the serum ALT levels of the groups were compared after the nutritional support, it was found that there was a statistically significant difference ($p = 0,000$), the highest ALT result average was in the control group fed with high fat diet + placebo, and the lowest ALT result average was in the group in which all nutritional supplements were given in combination. Serum cholesterol ($p = 0,000$), triglyceride ($p = 0.009$) level difference of the groups was found statistically significant and the highest lipid profile was found in the high fat diet + placebo group. As a result, triple combination therapy has been observed to improve blood biochemistry and it has been found that the least effective nutritional supplement is omega-3. New studies to use of nutritional supplements are needed in the treatment of pediatric NAFLD.

Key Words: Non-alcoholic fatty liver, branched-chain amino acids, milk thistle, omega-3 fatty acids, high-fat diet.

3.GİRİŞ VE AMAÇ

Günümüzde, karaciğer hastalıkları küresel sağlık öncelikleri olan hastalık grubu olarak hızla yayılım göstermekte olup, dünya genelinde siroz komplikasyonları, viral hepatitler ve hepatoselüler karsinom (HCC) nedeni ile, yılda yaklaşık 2 milyon insanın ölümüne neden olmaktadır. (1, 2). Küresel anlamda halk sağlığı sorunu olarak belirtilen alkolik karaciğer hastalığı (ALD) ve alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı (NAFLD) ise, kronik karaciğer hastalığının ortaya çıkmasındaki en yaygın ve en önemli nedenler olarak belirlenmiş ve her iki hastalık için de altta yatan ortak paydanın karaciğerde aşırı yağ birikimi olduğu ifade edilmiştir (1).

Obezite prevalansının gün geçtikçe arttığı ve son yıllardaki artışın ciddi boyutlara ulaştığı bilinmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 2016 raporuna göre, özellikle çocukluk çağı obezitesi, dünyadaki her ülkeyi etkileyen ciddi küresel halk sağlığı sorunlarından biri haline gelmiştir. Çocukluk çağında obezite, yeni pediatrik epidemiy veya salgın olarak değerlendirilmektedir (3). Yaygınlığının hızla arttığını belirten Dünya Sağlık Örgütü, yayınlamış olduğu raporunda, beş yaş altı şişman çocuk sayısının tahminen 41 milyonun üstünde olduğunu, son 40 yıl içinde obez olan okul çağı ve adolesan çocuk sayısının, 10 katın üstünde artış göstererek, 11 milyondan 124 milyona yükseldiğini bildirmiştir (3, 4, 5). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada özellikle, obezite ve bununla ilişkili komorbiditelerin (tip 2 diyabet, hipertansiyon, dislipidemi, obstrüktif uyku apnesi ve hareket bozukluğu) çocuklarda hızla artmasının ve teşhislerin giderek daha genç yaşlarda konulmasının endişe verici olduğu vurgulanmaktadır (6). Obezite, önemli organ sistemlerinin tümünü etkileyen majör komplikasyonlarla ilişkili olup, son çalışmalar obez çocuklarda alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı (NAFLD) prevalansının arttığını göstermektedir (7, 8, 9).

Her ne kadar 2 yaş altı hastalarda pediatrik NAFLD ve 8 yaş altı hastalarda pediatrik alkolik olmayan steatohepatit (NASH) ile ilişkili siroz vakaları bildirilmiş olsa da çoğunlukla klinik olarak bu vakalar 10 yaşın üzerinde görülmektedir. Ortalama tanı yaşı 11 – 13 arasında değişen alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı, genellikle diyetle yüksek enerji alımı ile ilişkili olup, karaciğerde trigliserit birikimi ile karakterize bir hastalık olarak tanımlanmaktadır (10).

Pediatric NAFLD tanısı genellikle rutin kontroller sırasında kan biyokimyasında yüksek serum aminotransferaz değerlerinin tespiti sonrası konmaktadır. Birçok merkez, yüksek riskli çocuklarda, özellikle metabolik sendromun klinik belirtileri ile başvuran pediatrik hastalarda, NAFLD için bir tarama programı geliştirmiştir. NAFLD tanısı için altın standart olan karaciğer biyopsisi, basit yağlanma ve steatohepatiti birbirinden ayırabilen, karaciğer hasarını, yapısındaki değişiklikleri, fibrozisin varlığını ve derecesini belirleyen bir yöntem olup, otoimmün hepatit gibi eşlik eden diğer hastalıkların saptanması bakımından da oldukça önemli bir işlemdir. Karaciğer fonksiyon testlerinden, aminotransferazların normal sınırlar içerisinde olması NAFLD ilişkili karaciğer hasarını dışlamaz. Bununla birlikte, özellikle metabolik sendromun karakteristik özelliklerine sahip tipik hastada, yağlı karaciğer hastalığının teşhisini doğrulamak için ilk adım olarak rutin invaziv olmayan (biyokimyasal parametreler, görüntüleme testleri ve serum biyobelirteçleri gibi) değerlendirme parametreleri kullanılmaktadır (11).

Alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı için belirlenen tedavi yöntemlerinin amacı, alkolik olmayan steatohepatitin neden olabileceği komplikasyonları düzeltebilmek, steatozdan steatohepatite, siroza ve hepatoselüler karsinoma ilerleyen aşamaları engellemek ve bunlar sonucu oluşan mortaliteyi azaltabilmektir (12).

Epidemiyolojik kanıtlar sağlıklı yaşam tarzı ile alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı arasında sıkı bir ilişki olduğunu göstermekte olup, yayınlanan rehberlerde tüm hastalar için beslenme ve egzersizin vurgulandığı yaşam tarzı değişiklikleri önerilmektedir. Yapılan çalışmalarda, yaşam tarzı müdahalesiyle kilo kaybının hepatik steatoz, inflamasyon ve fibroziste önemli bir iyileşme sağladığı belirtilmiştir (12, 13).

Her ne kadar yaşam tarzı değişiklikleri olumlu sonuçlar ortaya çıkarsa da pediatrik NAFLD'li birçok çocuk yaşam tarzı değişikliği tedavisini sürdürmekte güçlük çekebilmektedir. Bu hastalar için farmakolojik müdahalelerin potansiyel olarak yararlı olabileceği bildirilmiştir. Günümüzde pediatrik NAFLD için FDA tarafından onaylanmış herhangi bir farmakoterapi bulunmamaktadır; ancak yapılan çalışmalar hepatik yağ birikiminin azaltılması, oksidatif stresin azaltılması, bağırsak

mikrobiyomunun veya disbiyozisin düzeltilmesi ve hepatik fibrozisin azaltılması gibi terapötik stratejilere odaklanmıştır (13).

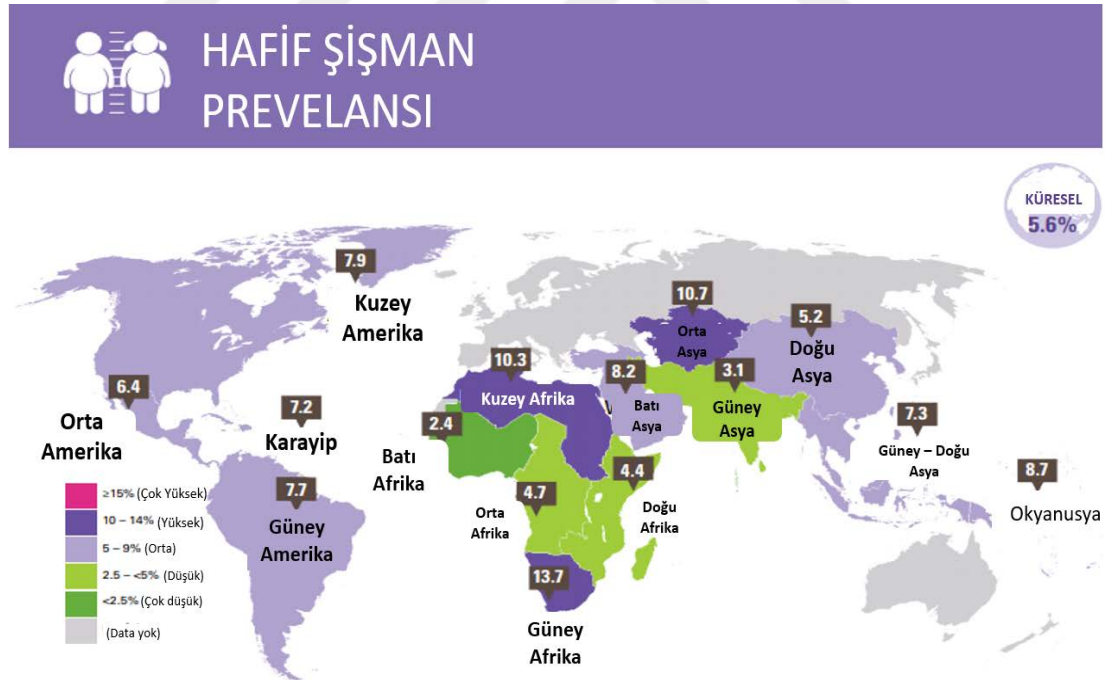
Yetişkinlerde olduğu gibi pediatrik NAFLD için yapılan klinik çalışmalarda çok sayıda farmakolojik strateji test edilmiş ve insülin direnci, dislipidemi, oksidatif stres ve bağırsak mikrobiyomunda iyileşme sağlanması hedeflenmiştir. Yaşam tarzı değişikliğinin pediatrik NAFLD için altın standart olarak görüldüğü ve besin destekleri ile sürecin daha da olumlu sonuçlanabileceğini gösteren çalışmalar mevcut olup, son yıllarda yapılan çalışmalar omega 3 yağ asitleri, probiyotikler, silymarin, D vitamini, polifenolik bileşikler gibi bazı besin takviyelerinin pediatrik NAFLD prognozu üzerinde etkilerine odaklanmıştır (13, 14, 15).

Tüm bu nedenler ile planlanan bu çalışmanın hipotezi *“İnfant sıçanlarda yüksek yağlı beslenme ile oluşturulan alkolik olmayan yağlı karaciğer modelinde (NAFLD) omega-3 yağ asidi, dallı zincirli aminoasitler (BCAA) ve deve dikenini desteklerinin kombine olarak verilmesi, hastalığa bağlı olarak kötüleşen bazı biyokimyasal parametreleri olumlu yönde etkiler”* şeklinde oluşturulmuştur. Çalışmanın amacı, infant sıçanlarda yüksek yağlı diyet (%60 yağ içeren sıçan yemi) ile indüklenen alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığında deve dikenini, omega-3 yağ asidi ve dallı zincirli aminoasit desteklerinin kombine olarak verilmesinin bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkilerini değerlendirmektir. Bu çalışma ile yüksek mortalite ve morbidite nedeni olan yağlı karaciğer hastalığında biyokimyasal belirteçlerde olumlu yönde iyileşme sağlanarak, sağlığın geliştirilmesi hedeflenmiştir.

4.GENEL BİLGİLER

4.1. Karaciğer Hastalıklarına Giriş

Günümüzde teknoloji alanında gerçekleşen hızlı değişimler, özellikle çocukların gün içinde aktif geçirdikleri sürenin azalmasına ve sedanter yaşam biçimi sürmelerine neden olmaktadır. Hareketsiz yaşam biçimi, alınan – harcanan enerji dengesizliği sonucu çocukluk çağıının en sık görülen kronik hastalıklarından biri olan obezite sıklığının giderek artmasına ve bu eğilimin dünya çapında endişe verici bir epidemi oluşturmaya neden olmuştur. Son 30 yılda çocukluk dönemi obezite salgınının gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde dramatik olarak arttığı bildirilmiş olup, Birleşmiş Milletler Çocuk Fonu (United Nations Children Fund-UNICEF), Dünya Sağlık Örgütü ve Dünya Bankası'nın 2018 yılı raporunda, 2017 yılı itibariyle beş yaş altı hafif şişman çocuk sayısının 38,3 milyon olduğu (%5,6) ve 2025 yılında bu rakamların 70 milyona ulaşmasının öngörüldüğü bildirilmiştir (Şekil 1) (16, 17, 18, 19).



Şekil 1. 2018 yılı beş yaş altı Hafif Şişman Çocukların Dağılımı
(Kaynak 18'den alınmıştır.)

Çocukluk çağıında görülen obezite, birtakım komorbiditeleri de beraberinde getirmektedir (Tablo 1). Obez çocuklar kardiyovasküler hastalıklara, metabolik

değişikliklere, ortopedik komplikasyonlara ve düşük benlik saygısı, kaygı ve zayıf akademik performans gibi psikososyal bozukluklara daha duyarlılardır. Aynı zamanda bu çocuklarda üreme sistemi, nörolojik ve karaciğer anormalliklerinin yanı sıra, artmış kan basıncı, bozulmuş glikolipit metabolizması ve uyku apnesi gibi sorunlar da görülebilmektedir (19).

Tablo 1. Obez çocuklarda vücut ağırlığı ilişkili komorbiditeler

Hipertansiyon
Alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı
Dislipidemi
Kardiyovasküler hastalıklar, Erken ateroskleroz
İnsülin direnci, Tip 2 diabetes mellitus
Uyku apnesi
Ortopedik hastalıklar
Erken ergenlik
Polikistik over sendromu
Pseudotumor serebri

(Kaynak 19'dan alınmıştır.)

Çocukluk ve adölesan dönemde görülen obezite, yetişkinlik dönemi hastalıkları ile ilişkili olup, obeziteye ikincil gelişen komorbiditelerden en önemlisi ve üzerinde çokça çalışılan pediatrik alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığıdır.

4.1.1. Alkolik Olmayan Yağlı Karaciğer Hastalığı Tanımı

En büyük viseral organ olarak bilinen karaciğer, sıklığı artan “karaciğer yağlanması” ile son yıllarda hem yetişkin hem pediatri popülasyonunda sıklıkla çalışılan konu haline gelmiştir. Karaciğer yağlanması, organın kendi ağırlığının yüzde beşten fazlasının yağ olması ve herhangi bir nedenden ötürü (alkol ve/veya alkol dışı nedenler) karaciğerde yağlanmanın tespit edildiği tüm klinik semptomlar şeklinde tanımlanmaktadır (20). Obezite prevalansındaki son artışla birlikte, pediatrik NAFLD'in son yirmi yılda çocuk doktorları için tıbbi bir zorluk olarak ortaya çıktığı bildirilmiştir (21). Pediatrik alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı (NAFLD), genel

popülasyonda %8, obez çocuklarda %26 yaygınlık oranları ile çocuk ve ergenlerde en sık görülen kronik karaciğer hastalıklarından biri olarak belirtilmektedir (22).

1849 yılında Avusturyalı patolog Carl Von Rokitansky, sirozun yağ birikiminden kaynaklanabileceği hipotezini kurmuş; ancak, yağlı karaciğer hastalığının hem kalori alımı hem de diyabet ile arasındaki ilişki literatürde bir asırdan fazla bir süre sonra tanımlanmıştır (23, 24). Karaciğer yağlanması ilk olarak 1980 yılında Ludwig tarafından özgün bir hastalık olarak yetişkinler için tanımlanmış olup, çocuklarda ilk kez 1983 yılında Moran J.R. ve ark. tarafından tanımlanmıştır (25). Alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı histolojik olarak ikiye ayrılmaktadır. Bunlar alkolik olmayan steatohepatit (NASH) ve alkolik olmayan yağlı karaciğer (NAFL)'dir. Alkolik olmayan yağlı karaciğer, NAFLD'nin iyi prognozlu türü olup, karaciğerde trigliserit formunda aşırı yağ birikimi yani steatozis (steatohepatit) ile tanımlanmaktadır. Karaciğer hücre hasarı ve inflamasyonun da eşlik ettiği alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığında, oksidatif stres ve sitokin düzeylerinde görülen artış hastalığın gelişimi için önemli faktörler olarak belirtilmektedir (26). Alkolik olmayan steatohepatit (NASH) ise karaciğerde yağlanma ile birlikte megamitokondri, hepatositlerde balonlaşma, Malory cisimcikleri, iltihabi infiltrasyon ve fibrozis gibi bulguların eşlik ettiği hastalıktır. Alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı, metabolik sendrom kriterleri arasında yer alan tip II diyabet, obezite ve dislipidemi ile ilişkilendirilmekte olup, hastalığı tanımlayan diğer bazı kavramlar tablo 2'de verilmiştir (27).

Tablo 2. Alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı ilişkili tanımlar

NAFLD	Alkol tüketimi olmaksızın steatozdan, steatohepatit ve siroza kadar, yağlı karaciğer hastalığının tümünü kapsamaktadır
NAFL	Hepatositlerin balonlaşması veya fibrozis bulgusu gibi hepatoselüler hasar bulgusu olmadan %5 hepatik steatoz varlığıdır. Siroz ve karaciğer yetmezliğine ilerleme riski minimal kabul edilir.
NASH	Fibrozis veya fibrozis olmadan inflamasyon ve hepatosit hasarı (balonlaşma) ile %5 hepatik steatoz

	varlığını ifade etmektedir. Bu durum siroz, karaciğer yetmezliği ve nadiren karaciğer kanserine ilerleyebilir.
NASH Siroz	Geçmişte steatoz veya steatohepatitin histolojik bulgusu ya da şu anda siroz varlığı söz konusudur.
Kriptojenik Siroz	Etiyolojisi belli olmayan siroz varlığı olup, bu hastalarda ciddi ölçüde metabolik sendrom ve obezite gibi metabolik risk faktörleri bulunmaktadır.
NAS (NAFLD Aktivite Skoru)	Lobüler inflamasyon ve balonlaşma skorları, steatozun bileşimini oluşturur. Klinik çalışmalarda NAS, NAFLD'li hastalarda karaciğer histolojisindeki değişiklikleri ölçmede kullanılan yararlı bir araçtır. Fibrozis ayrıca skorlanır.
SAF (Steatoz Aktivite Fibrozis) Skoru	Steatoz miktarının yarı kantitatif skorlaması, aktivitesi (balonlaşma + lobüler inflamasyon) ve fibrozisi içermektedir.

Kaynak 26'dan alınmıştır.

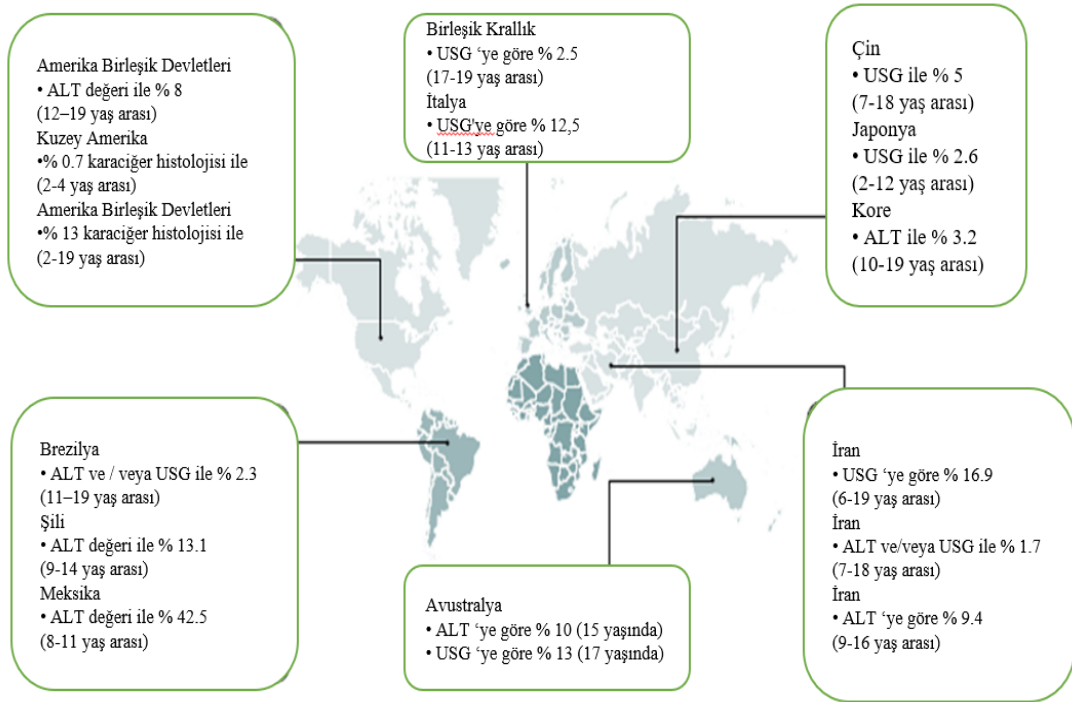
4.1.2. Alkolik Olmayan Yağlı Karaciğer Hastalığının Epidemiyolojisi

Dünya genelinde görülen karaciğer hastalıklarının en sık nedeni alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığıdır. 2018 verilerine göre dünya nüfusunun yaklaşık %25'inde alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı olduğu tahmin edilmektedir. Bu hastalık pediatrik popülasyon da dahil olmak üzere her yaş grubunda görülmekte olup, prevalansının yaş, cinsiyet ve vücut ağırlığına göre farklılık gösterdiği bildirilmiştir (26, 28).

Yapılan pek çok çalışmada hepatik steatozun indirekt belirteçleri kullanıldığından pediatrik NADLF'in prevalansını belirlemenin zor olduğu ifade edilmektedir. Ayrıca, NASH'in belirleyici tanısında karaciğer biyopsisi yolu ile histolojik tanılama gerektiğinden; bu yöntem nüfus temelli çalışmalar için uygun değildir. Ultrasonografik görüntüleme ya da yüksek serum aminotransferaz değerlerini içeren indirekt ölçümlere göre, NAFLD prevalansının genel popülasyondaki çocuk ve adolesanlar arasında %7, obez çocuklar arasında ise %34'ten fazla olduğu rapor

edilmiştir. Polonya, Türkiye ve Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan otopsi çalışmaları göz önünde bulundurulduğunda, dünya genelinde pediatrik NAFLD prevalansının %4,2 – 9,6 arasında değişmekte olduğu ve obez olanlarda bu oranın %38'e yükseldiği belirtilmiştir. Pediatrik çalışmalarda sorunun çoğunlukla erken pubertal dönemde ve erkeklerde tespit edildiği bildirilmiştir (26, 27, 28).

Dünya Sağlık Örgütü 2016 verilerinde, Avrupa'daki en yüksek obezite oranına sahip ülkenin %32,1 ile Türkiye olduğu bildirilmiş olup, bu veriye paralel olarak alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı prevalansının da Türkiye'de %30'dan fazla olduğu tahmin edilmektedir (3, 26). Yapılan prevalans çalışmaları sayısının yeterli olmadığı, bu çalışmaların tek merkezli ve az sayıda örneklem ile yapıldığı ifade edilse de henüz yayınlanmayan ve sağlıklı olduğu kabul edilen 113,239 örneklem ile yapılan bir çalışmada, ülkemizde alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı prevalansı %48,3 olarak bulunmuştur (26).



Şekil 2. *Pediatrik NAFLD prevalansı haritası.* (Seçilmiş bazı ülkelerdeki çocuklarda NAFLD'nin genel prevalansı. ALT: alanin aminotransferaz, US: ultrasonografi) (Kaynak 15'ten alınmıştır.)

Son yıllarda çocuk ve adölesanlarda alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı insidansının giderek artması, batı tipi beslenme alışkanlıkları ve sedanter yaşam tarzı sonucu gelişen obezite, insülin direnci ve metabolik sendrom ile ilişkilendirilmiştir.

Dünya genelinde hem yetişkin hem de pediatrik NAFLD'nın prevalansı için yeterli çalışmanın mevcut olmadığı; mevcut prevalans çalışmalarının ise, tek tip tarama yöntemlerinin eksikliği ve tanı kriterlerindeki tutarsızlıklar (kullanılan diagnostik yöntemlerin farklılığı) nedeni ile, hastalığın gerçek prevalansını yansıtmadığı pek çok bilimsel araştırmada sıklıkla belirtilmektedir (27, 28).

4.1.3. Alkolik Olmayan Yağlı Karaciğer Hastalığının Etiyolojisi

Küresel obezite pandemisinin bir yansıması olarak NAFLD prevalansı birkaç on yıl içinde artış göstermiştir. Alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı şu anda dünya çapında pediatrik nüfusun yaklaşık %10'unu etkileyen, çocuk ve adölesanlarda en sık görülen kronik karaciğer hastalığı etiyolojisini temsil etmektedir (28). Pediatrik NAFLD, yetişkinlerde görülen NAFLD'dan etiyolojik olarak farklılık göstermekte olup, altta yatan nedenler incelendiğinde genetik / metabolik bozukluklar, enfeksiyonlar, steatojenik ilaçların kullanımı, alkol tüketimi veya yetersiz beslenme gibi sekonder nedenlerin dışlandığı kronik hepatik steatoz olarak tanımlanmaktadır. Pediatrik alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığının daha çok obezite ile ilişkili olduğu, primer veya sekonder nedenlere bağlı olmaksızın geliştiği bildirilmiştir (29, 30, 31).

Çoğu çocukta, NAFLD, artmış trigliserit ve azalmış yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) kolesterol seviyeleri ile tanımlanan insülin direnci, santral obezite ve dislipidemi ile ilişkilendirilmiştir (31). Her ne kadar NAFLD'li çocukların çoğunda obezite görülse de, obez olan her çocukta NAFLD gelişimi görülmeyebilir. Öyle ki, beden kitle indeksi düşük olan zayıf çocuklarda da alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığının sıklıkla meydana geldiği bildirilmiştir. Tüm bu nedenler ile kapsamlı değerlendirmeler alternatif etiyolojilerin belirlenmesi için oldukça önemli görülmektedir (28)

Tablo 3. Pediatrik NAFLD ve NASH de yağlı karaciğer etiyolojileri

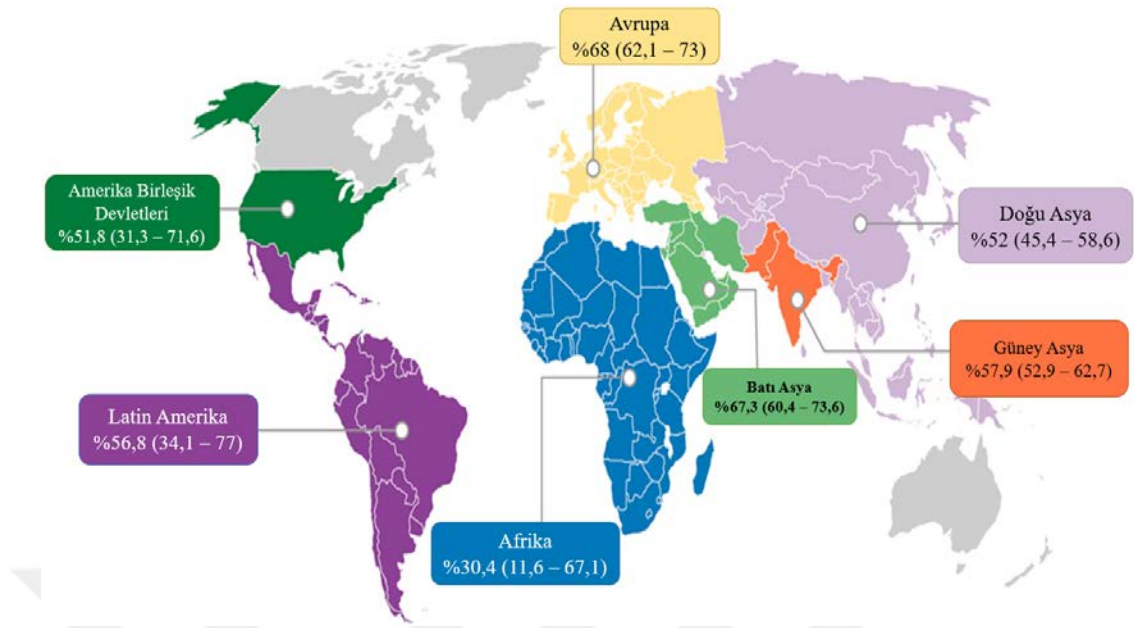
Gastrointestinal/ Nütrisyonel/ Endokrin/ Hepatik Nedenler	Genetik ve Metabolik Nedenler	Toksikler ve İlaçlar
Çölyak Hastalığı	α - ve β - oksidasyon defektleri	Kokain
İnflamatuvar bağırsak hastalığı (İBH)	Abeta & hipobetalipoproteinemi	Ekstazi
Anoreksiya Nervosa	Kolesterol ester depo hastalığı	Etanol
Obezite	Sitrin eksikliği	Pestisitler
Ağır malnutrisyon	Kistik Fibrozis	Solventler
Tip 1 DM	Glikojen depo hastalığı	Amiodarone
Hipotalamik – hipofizer bozukluklar	Kalıtımsal fruktoz intoleransı	Antiretroviral ilaçlar
Hipotiroidizm	Mitokondriyal ve peroksizomal defektler	Aspirin
Polikistik over sendrom	Shwachman – Diamond sendromu	Glukokortikoidler
Otoimmün hepatit	Turner sendromu	Metotraksat
Viral hepatit	Üre döngüsü bozuklukları	Sodyum valproat
	Wilson’s hastalığı	Tetrasilin

(Kaynak 32’den alınmıştır.)

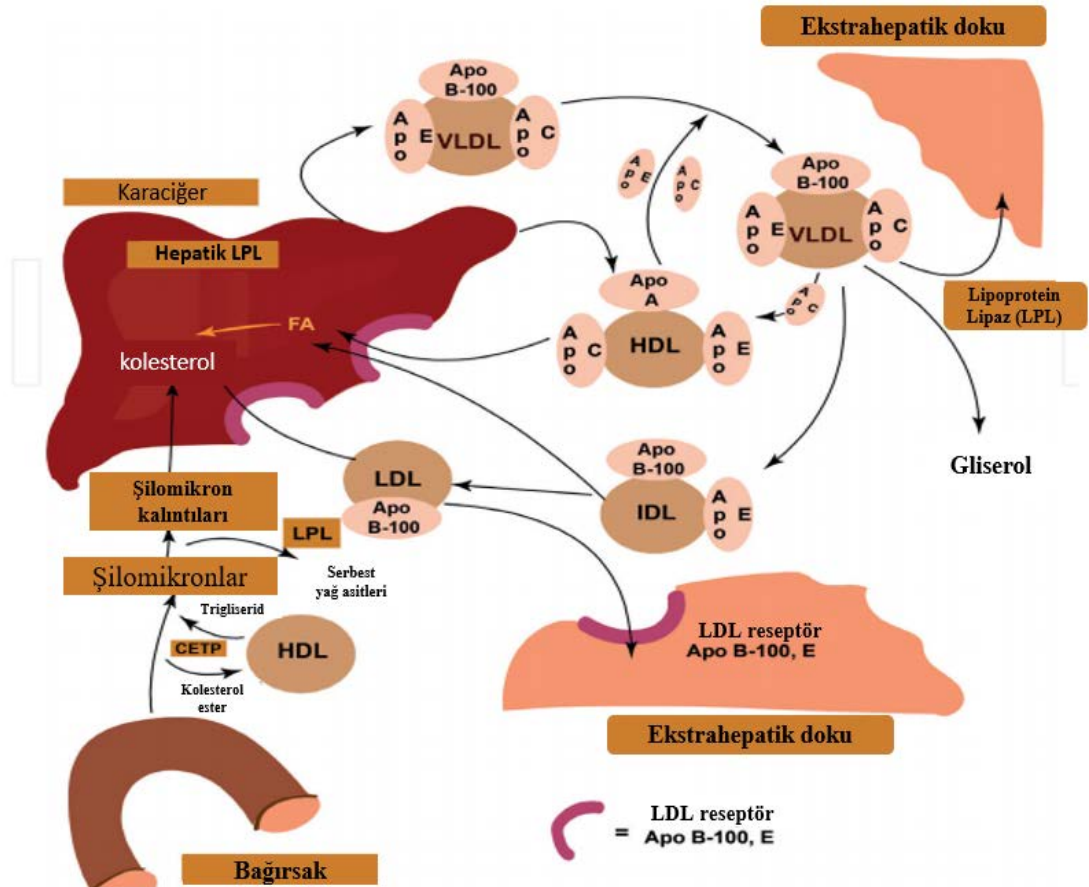
4.1.4. Alkolik Olmayan Yağlı Karaciğer Hastalığının Patogenezi

Geçtiğimiz on yıl boyunca, kapsamlı multidisipliner çalışmalar, yetişkinlerde NAFLD spektrumunun karmaşık patofizyolojisinin daha iyi anlaşılmasına katkıda bulunmuştur. NAFLD patogenezinin kritik düğümleri üzerinde iki temel ilkedden bahsedilmekte olup, bunlardan ilki hastalık oluşturma düğümü olan insülin direnci ve lipotoksikite iken, diğeri ise hastalık ilerleme düğümü olan lipotoksik yağ asitlerinin hücrel hasara yol açarak inflamasyon ve fibrojenizi tetiklemesidir (33).

Günümüzde pediatrik alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı üzerine yapılan çalışmalarda hastalığın patogenezinin tam olarak anlaşılamadığından bahsedilmiştir. Metabolik sendromun karaciğer komponenti olarak ifade edilen NAFLD’nın, tüm popülasyonda insülin direnci, dislipidemi, obezite gibi metabolik bozukluklar ile yakından ilişkili olduğu ve kardiyovasküler hastalıklar, kronik böbrek hastalıkları ve diyabet için de risk oluşturduğu bildirilmiştir (33, 34, 35).



Şekil 3. NAFLD ve Tip 2 Diyabet prevalansının coğrafi dağılımı. (%95 güven aralığında Tip 2 diyabetli hastalarda NAFLD yaygınlığı 43,7 – 63,4 bulunmuştur.) (Kaynak 35'ten alınmıştır.)

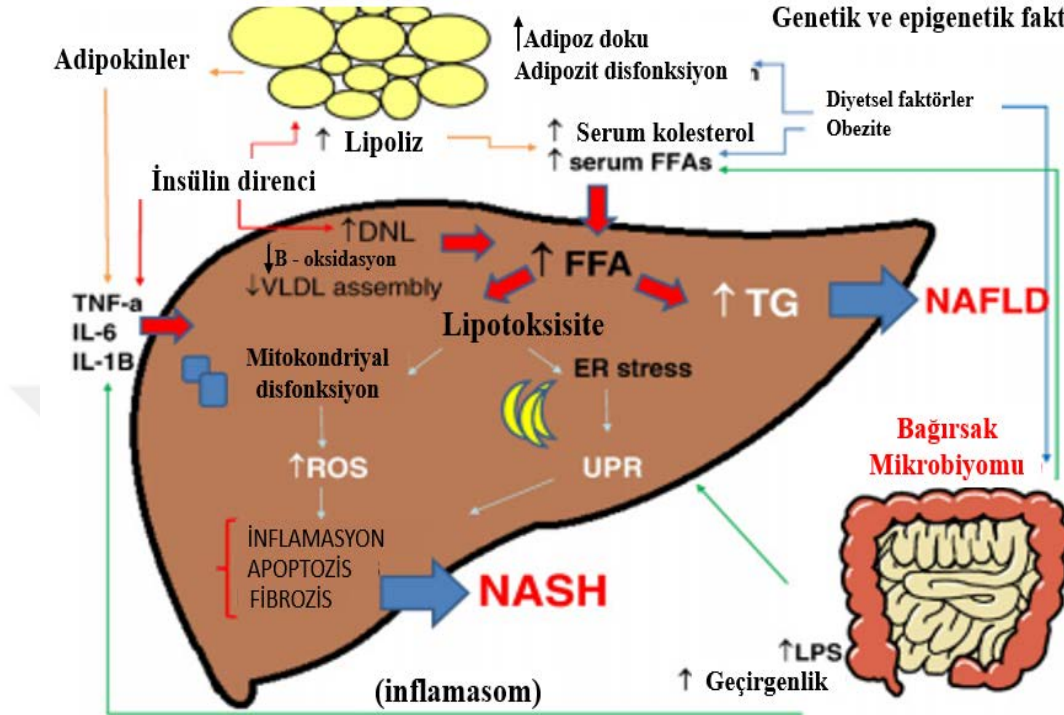


Şekil 4. Lipid transportu ve depolanması. (Şilomikron kalıntılarında trigliserit ve kolesterol, karaciğerde endojen olarak üretilir ve apo B-100 içeren VLDL'de sekrete edilir.) (Kaynak 37'den alınmıştır.)

Lipidlerin ana kaynağı olan, adipozitlerdeki trigliserit depolarından hidrolize edilen ve dolaşıma salınan yağ asitleri mitokondrilerde oluşan Asetil-CoA'lardan sentezlenirler. Sentezlenen bu serbest yağ asitleri karaciğere üç temel kaynak ile ulaşmaktadır. Bu kaynaklardan ilki periferik adipozitler olup, burada depolanan triaçilgliseroller hormona duyarlı lipaz aracılığı ile gliserol – 3 – fosfat ve serbest yağ asitlerine hidrolize edilirler. İkinci kaynak günlük tüketilen besinler ile vücuda şilomikron formunda alınan triaçilgliserollerdir ve bu yapılar lipoprotein lipaz tarafından hidrolize edilmektedir. Son kaynak ise endojen yağ asit sentezi olup, bu kaynak karaciğerin kendi yağ asit yükünü oluşturmaktadır. Bu üç farklı yoldan elde edilen yağ asitleri, karaciğerde farklı metabolik yollar ile metabolize olurlar. İlk metabolik yolak çok düşük dansiteli lipoproteinlerin (VLDL) oluşturulmasıdır. Serbest yağ asitlerinden sentezlenen trigliseridler apoprotein B-100, apoprotein C ve apoprotein E ile birleşerek, karaciğerde VLDL'yi oluşturur ve sentezlenen VLDL'ler yapısında endojen olarak karaciğerde sentezlenen trigliseritleri bulundurur. Mitokondride serbest yağ asitlerinin β - oksidasyonu sonucu oluşan Asetil-CoA molekülleri Krebs siklusunda oksitlenerek enerji açığa çıkarılırlar. Mitokondride β -oksidasyon kapasitesi doyumluğa ulaştığında, Asetil-CoA moleküllerinin fazlası keton cisimcikleri adı verilen yapılara dönüştürülür. Tüm bu yollar içerisinde birçok hücrenel, hormonal ve biyokimyasal mekanizma lipid metabolizmasının kontrol noktasını oluşturmaktadır (36, 37). Çok daha kapsamlı ve farklı nedenler ile oluşabilen karaciğer yağlanması patogenezinin basit bir süreç olarak açıklanabilmesi mümkün olmamakla birlikte, sitokin regülasyon bozuklukları, mitokondriyal disfonksiyon, oksidatif stres ve insülin direnci gibi metabolik süreçlerin bu patogenetik mekanizmalardan sorumlu olabileceği düşünülmektedir (36, 38, 39).

Alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığının oluşabilmesi için hepatik yağ birikimi gerekli olan ilk adımdır. Önceleri yağlanmadan steatohepatite ilerleyen süreci açıklamak için ileri sürülen ilk temel mekanizma çoklu vuru hipotezi olup, bu hipotezin iki aşamada gerçekleştiği bildirilmiştir. Birinci vuru aşamasında insülin direnci geliştikten sonra lipoliz artışının gerçekleşmesi sonucu serbest yağ asit konsantrasyonunun arttığı, bu artışın karaciğerde lipid depolanmasını artırarak steatozisin ilk basamağının gerçekleştiğinden bahsedilmektedir. Karaciğerde aşırı biriken trigliseridler, oksidatif stres tetikleyerek yağ asit oksidasyonunun artırır.

Bunun sonucunda inflamasyon, hepatoselüler hasar ve fibroze neden olan mitokondriyal disfonksiyon, proinflamatuvar sitokinlerin salınımı ve lipid peroksidasyonu gelişir. Bu süreç ise ikinci vuru olarak açıklanmaktadır (40 – 42).



Şekil 5. NAFLD gelişiminde çoklu vuru hipotezi. (Beslenme ve çevresel faktörler, obezite ile birlikte, serbest yağ asitleri ve kolesterolün serum düzeylerinin artmasına, insülin direnci gelişmesine, adiposit proliferasyonu ve disfonksiyonuna ve bağırsak mikrobiyomundaki değişikliklere yol açmaktadır. İnsülin direnci, adiposit disfonksiyonunu kötüleştiren adipoz dokuya etki eder, lipolizi, TNF- α , IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin ve adipokinlerin salınımı indükler. Karaciğerde de novo lipogenezis artar. Tüm bu süreçler nedeni ile artmış hepatik serbest yağ asit konsantrasyonları iki farklı duruma yol açar: ilki, serbest yağ asitlerinin toksik düzeye gelerek aşırı trigliserid sentezi ve birikimi; ikincisi, oksidatif stres ile mitokondriyal disfonksiyona ve katlanmamış protein yanıtının aktivasyonu ile endoplazmik retikulum stresi ve reaktif oksijen türleri (ROS)’nin üretilmesine neden olan diğer lipid metabolitleri ve serbest kolesterol düzeylerinin tümünün hepatik inflamasyonu. Genetik faktörler ve epigenetik modifikasyonlar, hepatosit yağ içeriği, enzimatik süreçler ve karaciğer inflamasyonunu üzerinde etkin olarak hastalığın inflamasyon ve fibroze ilerleme riskini (NASH) veya stabil evrede kalmasını (NAFLD) belirler. (Kaynak 42’den alınmıştır.)

Şekil 5’te NAFLD Patogenezini açıklayan çoklu vuru (“multiple – hit”) hipotezinde, fibrozis gelişimi steatozdan çok hepatik inflamasyonun bir sonucu olarak belirtilmektedir. Altta yatan patolojik durumlar ise genetik varyasyonlar, oksidatif/endoplazmik retikulum stresi, bozulmuş lipid metabolizması, disbiyozis olarak ifade edilmektedir (42, 43).

Küresel anlamda NAFLD prevalansı artmasına rağmen, çocuk ve yetişkinlerde görülen NAFLD'ın iki farklı patolojik mekanizmaya mı bağlı olduğu, yoksa aynı hastalığın sadece yaşa bağımlı belirtiler mi taşıdığı sorularına henüz cevap bulunamamış olsa da Nobili ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada yetişkinlerde ve çocuklarda görülen NAFLD'ın benzerlikleri ve farklılıkları ayrıntılı olarak verilmiştir (Tablo 4) (25). Bu nedenle NAFLD patogenezinin, genetik, çevresel, beslenme gibi faktörler arasındaki etkileşimler ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (34, 40, 44).

Tablo 4. Çocuk ve Yetişkin NAFLD Arasındaki Farklar

Parametre Tipi	Yetişkin	Çocuk
HİSTOLOJİK ÖZELLİKLER		
Steatozis	Genellikle Hafif – Orta	Genellikle Orta – Şiddetli
Balonlaşma	Yaygın	Nadir
İnflamasyon	Çoğunlukla lobüler	Çoğunlukla portal
Fibrozis	Periselüler göğüs kafesi	Genelde portal-periportal
SONUÇ		
Siroz	%5 – 10	%1 – 2
Hepatoselüler Karsinom	Güçlü Klinik Bulgu	Nadir
Metabolik Sendrom	Güçlü Klinik Bulgu	Güçlü Klinik Bulgu
Kardiyovasküler Hast.	Güçlü Klinik Bulgu	Artmış risk

4.1.4.1. Çevresel Etmenler

Endokrin bozucu kimyasallar (EDC'ler) gibi çevresel ajanlara maruz kalmanın metabolik sendrom gelişimine neden olarak, NAFLD progresyonunu hızlandırdığı bildirilmiştir. Yapılan pek çok çalışmada, maternal kan, idrar, amniyotik sıvı, plasenta, kordon kanı ve anne sütündeki saptanabilir EDC'ler (veya metabolitleri) ölçülmüş ve maruziyetin doğum öncesi gerçekleştiği sonucuna varılmıştır. Bisfenol A (BPA) ve dioksinler gibi çeşitli endokrin bozucular, yüksek aminotransferaz düzeyleri veya ultrasonografide yağlı karaciğer varlığı ile ilişkili bulunmuştur. Çocuklar üzerinde yapılan ilk kesitsel çalışmada, BPA ile şüpheli NAFLD (aşırı kilolu çocuklarda artmış serum ALT düzeyleri ve insülin direncinin varlığı olarak tanımlanır) arasındaki ilişki değerlendirilmiş ve idrardaki BPA'nın en yüksek çeyreğinde NAFLD riskinin arttığı

saptanmıştır. EDC'lerin hormon reseptörlerine doğrudan bağlanma, mitokondriyal fonksiyonun bozulması, intestinal mikrobiyomunun değiştirilmesi ve epigenomun modifikasyonu gibi çeşitli mekanizmalar aracılığı ile çalıştığı görülmektedir (10, 14, 45).

4.1.4.2. Genetik Yatkınlık

NAFLD gelişiminde genetik faktörler de oldukça önemli görülmektedir. Belirli bir genetik altyapıya sahip bir bireyin yağlı karaciğere yatkın hale geldiği yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir. İlgili genlerin inflamasyon, lipid metabolizması ve oksidasyon süreçlerini kapsadığı ve ilerleyen karaciğer hastalığı, insülin direnci, tip 2 diyabet ve daha yüksek hepatoselüler karsinom riski ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (42, 44). Metabolik disfonksiyonlar üzerinde bazı tek gen polimorfizm etkilerinin pediatrik NAFLD ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar olup, özellikle PNPLA3 geni 1148M alleli, Glukokinaz Regülatör Proteini (GCKR), Apolipoprotein C-III (APOC3), TM6SF2, PPARGC1A, β -Klotho genlerinin pediatrik NAFLD patogenezinin sorumlu olduğu bildirilmiştir (28, 34, 40, 42, 46). Ayrıca MBOAT7, rs626283 ve rs641738 genleri ile yapılan çalışmalarda hem yetişkin hem de çocuklarda iki hepatik gen snapsının NAFLD ile ilişkili olduğu ve karaciğer hasarının ilerlemesini destekleyebileceği bildirilmiştir (44, 47, 48).

4.1.4.3. Beslenme Alışkanlıkları

Beslenme, NAFLD patogenezinin etkileyen temel faktörlerden biridir. Farklı diyet bileşenlerinin NAFLD'nin prognozu ve gelişimini etkilediği pek çok çalışma ile ortaya konmuştur. Bu nedenle, NAFLD'nin ilerlemesi, gelişimi ve önlenmesinde beslenmenin rolünü kapsamlı bir şekilde tartışılmaktadır (49 – 51).

NAFLD ve NASH de temel sorun aşırı beslenme olarak görüldüğünden özellikle NAFLD teşhisi sonrası ilk odaklanılması gereken durum beslenme ve vücut ağırlığı kontrolü olarak belirtilmektedir. Her ne kadar fazla kilolu ve obez bireylerde NAFLD ve NASH'in tedavi protokolü olarak kilo kaybı önerilse de (1 kg/hafta), hızlı ve kontrolsüz kilo kaybının zararlı olabileceği ve hatta her iki durumu daha da kötüleştirdiği bildirilmiştir (49).

Her bir besin ögesinin NAFLD patogenezinde ayrı bir önemi bulunmakta olup, özellikle karbonhidrat, yağ ve proteinlerin içinde bulunan bazı biyoaktif bileşikler

hastalığın patogeneğinde önleyici veya ilerletici rol oynamaktadır. Bu üç makro besin ögesinden biri olan karbonhidratlar, hepatik serbest yağ asit üretimi için önemli bir kaynak olması nedeni ile büyük bir endişe konusu olmuştur. Tüketilen günlük karbonhidrat miktarına ek olarak, türü ve tipinin de NAFLD patogeneğinde önemli olduğu vurgulanmıştır (49, 52, 53). Bunlardan en çok üzerinde durulan karbonhidrat türü fruktozdur. Fruktoz NAFLD'lı çocuklarda metabolik komplikasyonları kolayca indükleyebilmekte ve özellikle fruktozdan zengin alkolsüz içecek tüketimi fazla olan çocuklarda insülin direnci geliştirerek, NAFLD prognozunu olumsuz etkileyebilmektedir. Yüksek fruktoz alımının lipogeneze, trigliserit sentezine ve karaciğer steatozuna neden olduğu ördek ve sıçanlar üzerinde yapılan çalışmalar ile ortaya konmuştur (49). Ayrıca yüksek fruktoz alımının leptin sekresyonunu inhibe ederek tokluk sinyallerini negatif yönde etkilediği bildirilmiştir (49, 54).

Bir diğer makro besin ögesi olan yağların da hepatik steatozu indüklediğini gösteren çalışmalar mevcuttur. Yüksek miktarda alınan yağlar, adipozitlerde lipolizi tetikleyerek, plazma adiponektin seviyeleri ile lipit klirensinin azalmasına ve kaslarda beta-oksidasyonun artmasına neden olan serbest yağ asit miktarını artırır. Yağların NASH üzerine olası etkilerini saptamaya yönelik yapılan pediatrik NASH tavşan modeli çalışmalarında, yüksek yağlı diyet ile beslenme sonucu vücut ağırlığı ve karaciğer ağırlığının arttığı, serum ALT, TG, IL-6 ve TNF- α düzeylerinde artış olduğu ve serum adiponektin ve IL-10 düzeylerinde düşüşe neden olduğu saptanmıştır (49, 55, 56). Benzer şekilde yağ türlerinin de NAFLD patogenezi üzerinde etkili olabileceğinin belirtildiği çalışmalarda, doymuş yağ asitlerinin, trans yağların lipid profili üzerinde tam rolü ve etki mekanizması henüz açık olma da, NAFLD'ın beslenme önerilerinde işlenmiş ve trans yağ asitleri ile zenginleştirilmiş gıdalardan uzak durulması gerektiği önerilmektedir (30, 31, 53, 55).

Son makro besin ögesi olan proteinlerin de NAFLD patogenezi üzerinde etkili olabileceği bildirilmekte olup, literatürde yüksek miktarda protein alımının daha çok renal fonksiyon bozuklukları ile ilişkisi üzerinde çalışılmıştır. NAFLD ve protein alımı arasındaki ilişkinin araştırıldığı sınırlı sayıda klinik çalışmalarda yetersiz beslenme ve protein eksikliğinin hepatik steatozu ve alkolik olmayan steatohepatiti tetiklediği bildirilmiştir. Beslenme şekli ve alışkanlıklarının NAFLD patogeneğinde etkili olduğu açık olsa da beslenmenin rolünün net bir şekilde ortaya koyulabilmesi için daha fazla

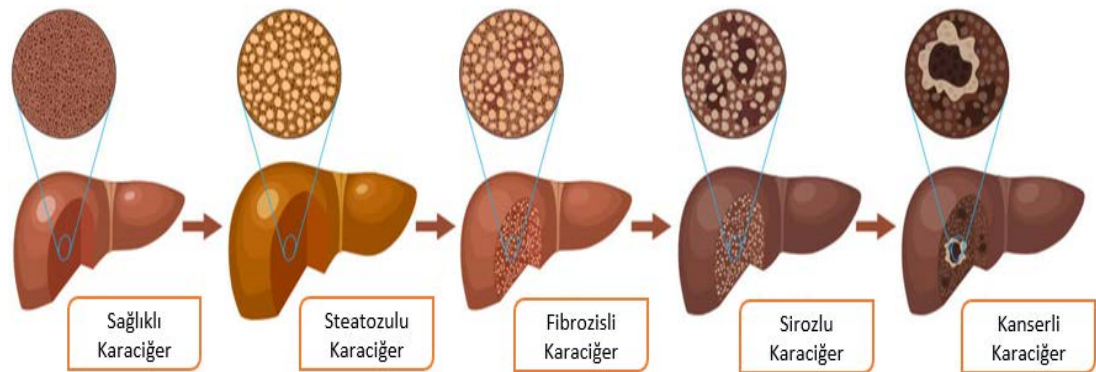
preklinik ve klinik çalışmaya ihtiyaç duyulduğu yapılan çalışmalarda sıklıkla vurgulanmaktadır (49, 57, 58).

4.2. Karaciğer Hastalıklarında Tedavi

Karaciğer hastalıkları, nedenleri ve organ üzerine olan etkilerine göre sınıflandırılmakta olup, çeşitli enfeksiyonlar, ilaçlar ve toksik maddelere maruziyet, genetik yatkınlık veya otoimmün süreçler hastalığın nedenleri arasında yer almaktadır. Her ne sebeple olursa olsun genel anlamda karaciğer hastalıklarının tedavisinde en önemli süreç, ileri derecede komplikasyon oluşumunun önlenmesi, hastalığa neden olan faktörlerin tespiti ve sağlam kalan karaciğer fonksiyonlarının korunarak desteklenmesidir. Tedavide hastalığa özgü ilaçlardan cerrahiye, hatta karaciğer transplantına kadar genişleyebilen protokoller mevcuttur (59).

4.2.1. Alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı tedavisi

Alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı daha önce de bahsedildiği üzere genetik, çevresel ve metabolik stresle ilişkili faktörlerin neden olduğu, klinik olarak hepatositlerde aşırı yağ birikimi ile karakterize, klinikopatolojik bir sendrom olarak belirtilmektedir (60). Spesifik olarak, yağ birikimi hepatik ağırlığın %5'ini aşmakta veya hepatositlerin 1/3'ünden fazlasının yağ içeriğinde değişiklik meydana gelmektedir. Patolojik olarak, alkolik olmayan yağlı karaciğer (NAFL), alkolik olmayan steatohepatit (NASH), yağlı hepatik fibrozis ve siroza dönüşebilmektedir.



Şekil 6. Karaciğerde hasar aşamaları (1- normal karaciğer, 2- karaciğer steatozu (yağ depolanması nedeniyle karaciğerde büyüme görülür), 3- karaciğer fibrozu (Skarlaşmanın oluşması), 4- karaciğer sirozu (sağlıklı dokunun yerini skarlaşmış doku alır), 5- karaciğer kanseri (malign tümör oluşumu başlar).)

NAFLD'lı hastalarda, hastalığın karmaşık etiyolojiye sahip olması, teşhisindeki zorluklar, geniş evrelerin varlığı ve eşlik eden komorbiditeler nedeniyle tedavide başarılı olunması oldukça zor bir süreç olarak bildirilmiştir. Bu nedenle sadece alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığında değil, aynı zamanda alkolik olmayan steatohepatitte de bireye özgü tedavi protokolünün benimsenmesinin gerekliliği üzerinde durulmaktadır. Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda NAFLD ile sağlıksız yaşam tarzı arasında sıkı bir bağlantı olduğu gösterilmiş olup, yaşam tarzı modifikasyonlarının tüm hastalar için zorunlu başlangıç noktası olduğu belirtilmiştir (60, 61).

Avrupa Karaciğer Çalışmaları Derneği (EASL), Avrupa Diyabet Araştırmaları Birliği (EASD) ve Avrupa Obezite Araştırmaları Derneği (EASO) Klinik Uygulama Rehberlerine göre, erişkinlerde NAFLD'nın tedavisi için kapsamlı yaşam tarzı değişiklikleri tanımlanmıştır (12). Bu değişiklikler;

- Günlük enerji alımının kısıtlanması (500 – 1000 kcal/gün),
- Makro besin ögesi kompozisyonu değişikliği (düşük – orta seviye yağ ve orta – yüksek seviye karbonhidrat alımı),
- Fruktoz içeren yiyecek ve içeceklerin eliminasyonu,
- Alkol tüketiminde kısıtlayıcı limit olması (erkeklerde <30gr/gün kadınlarda <20 gr/gün) ve
- Fiziksel aktivitenin eklenmesi (150 – 200 dk/ hafta, orta şiddette 3 – 5 seans)

kombinasyonlarını kapsamalıdır (12, 61). Belirtilen bu yaşam tarzı değişikliği kombinasyonları ağırlık kaybı ve metabolik kontrol üzerinde olumlu etkiler göstermekte olup, NAFL ve NASH'in erken evresinde (henüz fibrozisin başlamadığı ya da hafif fibrozisli; F0 – F1) olan hastalar için oldukça etkili ilk tedavi şekli olarak tanımlanmaktadır. Progresif NASH hastalarında ($\geq$ F2 evresi) ise yaşam tarzı modifikasyonlarına ek olarak farmakoterapinin önerildiği bildirilmiştir (60, 61).

Tablo 5. NAFLD Tedavisi. Otoriteler tarafından önerilen klinik uygulama rehberleri

Hastalık		Mevcut Tedavi	Gelecekteki perspektifler
NAFL	Basit Steatoz	Yaşam tarzı değişiklikleri Enerji kısıtlaması	Cenicriviroc Elafibranor
	Steatozis ve hafif inflamasyon	Makro besin ögesi bileşimi Fruktoz alım eliminasyonu Alkol tüketimi kısıtlaması Fiziksel aktivite	Obetikolik asit Liraglutid Semaglutid
NASH	Fibrozis evre (F0 – F1)	Bariatrik cerrahi	
NASH	Fibrozis evre (F2 – F3)	Yukarıdakilere ilave statinler Farmakoterapi Pioglitazon E Vitamini	
Siroz	Fibrozis geç evre (F4)	Karaciğer transplantasyonu	
Hepatoselüler Karsinom	Karaciğer tümörü	Rezeksiyon Radyoterapi Kemoterapi (örn. Sorafenib)	JX-594 Hepcortes penlisimut-L

(Kaynak 61’den alınmıştır.)

4.2.1.1. Medikal Tedavi

Ne yazık ki, yapılan yoğun araştırmalara rağmen, alkolik olmayan steatohepatitin tedavisi için Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından onaylanmış, ruhsatlı bir ilaç bulunmamakta olup, spesifik bir medikal tedavi önerilememektedir. Buna rağmen, dünya genelinde hastalığın tedavisine olumlu yanıt verdiği gösterilen ve kullanılmakta olan bazı ilaçlar bulunmaktadır (61, 62).

NAFLD’nin tedavisi için geliştirilen çeşitli ilaçlar, etki mekanizmaları ve farmakolojik hedeflerine bağlı olarak belirli kategorilere ayrılmışlardır. Tedavide PPAR, FXR agonistleri, de novo lipogenez inhibitörleri ve fibroblast büyüme faktörü-21 analogları gibi heterojen bazı faktörler, karaciğerde yağ birikimini hedeflerken; başka bir grup ilaç oksidatif stres, apoptozis ve inflamasyonu hedeflemektedir. Son yıllarda yapılan tedavi çalışmalarında üçüncü grup ilaçların ise disbiyozis ve metabolik endotoksemi üzerinde yoğunlaştığı bildirilmiştir (63, 64).

Güncel rehberler farmakoterapinin, fibrozis evre 2 aşamasında olan NASH hastaları için farklı, potansiyel olarak hastalığın ilerlemesine neden olacak birçok risk faktörüne sahip olan hastalar için farklı olmak üzere ayrılmasını önerdiğinden, çoğu klinik çalışma NASH üzerine odaklanmıştır (63, 65).

Pediyatrik NAFLD'in medikal tedavisi için az sayıda pediyatrik ilaç çalışması yapılmış olup, bu çalışmalarda hapatik lipit metabolizması, insülin direnci, hapatik inflamasyon ve oksidatif stres durumlarının tedavisi üzerinde durulmuştur (66).

Genel anlamda medikal tedavi başlığı altında toplanabilecek ilaçların;

- insülin direncini azaltmayı hedefleyen metformin, pioglitazon;
- tip 2 diyabetin kontrolünün sağlanması amacıyla glikagon benzeri peptid – 1 (GLP-1) agonistleri (semaglutid ve liraglutid) ve SGLT2 inhibitörleri;
- antihiperlipidemik etkileri sayesinde prognozu olumlu yönde etkilemesi beklenen fibratlar, statinler;
- NASH fibrozis progresyonunu önlemeyi hedefleyen FXR agonistleri ve FGF analogları, PPARa/d agonistleri, Asetil-CoA karboksilaz (ACC) inhibitörleri ve
- antifibrotik ajanlardan oluştuğu görülmektedir (67).

Pediyatrik NAFLD/NASH çalışmalarında çeşitli ilaçların test edildiği ve çalışmaların sonunda sistemik alanin aminotransferaz (ALT) düzeyleri, ultrasonografik hapatik steatozis ve karaciğer histolojisi açısından bir miktar iyileşme sağladığı saptanmış olup, çoğu plasebo kontrollü çalışmanın önemli ölçüde iyileşme sağlamadığı bildirilmiştir (66).

Hem yetişkin hem de pediyatrik pek çok NASH hastası için, farmakoterapik tedavinin karaciğer fibrozunu ve inflamasyonunu azaltmada yeterli kanıt sağlamadığı belirtilmiştir. Histolojik lezyonların iyileşmesi ile ilgili güncel sorunlar, hastalığın yönetiminde beslenme ve egzersiz alışkanlıklarını içeren modifikasyonlara ek olarak yeni geniş çaplı, prospektif, plasebo kontrollü farmakoterapilerin geliştirilmesine acil ihtiyaç olduğunu göstermektedir (61, 64, 65).

4.2.1.2. Beslenme Tedavisi ve Besin Destekleri

Pediyatrik karaciğer hastalıklarında beslenme tedavisi, hastalığın etiyolojisine göre değişmektedir. Kronik karaciğer hastalığı olan pediyatrik hastalarda, uygun büyüme ve gelişmenin sağlanması için beslenmenin önemi göz önüne alındığında, beslenme durumunun saptanması tedavinin önemli bir parçası olarak belirtilmektedir. Özellikle pediyatrik NAFLD'da kötü beslenme durumu, artmış morbidite, mortalite ve malnutrisyon ile ilişkili bulunmuştur (68).

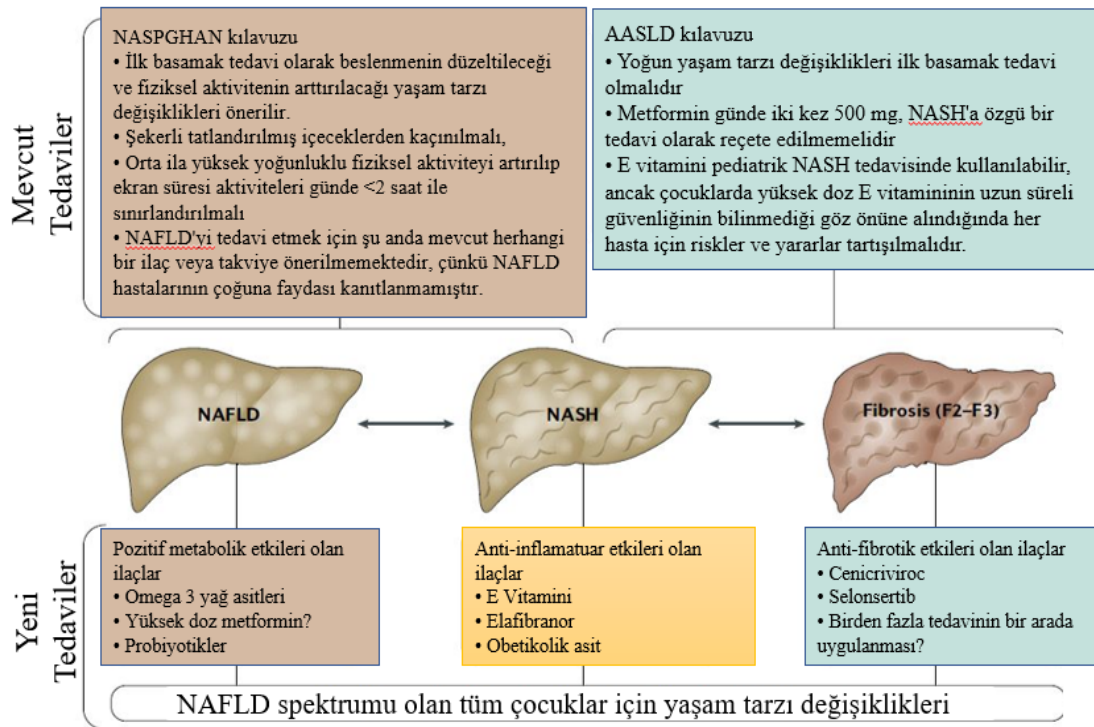
Pediatric NAFLD'ın beslenme tedavisinde amaç, çocuğun hayat kalitesinin artırılarak, kardiyovasküler komplikasyonlar ile karaciğer ilişkili morbidite ve mortalitenin azaltılması iken; tedavinin hedefleri insülin direncinin iyileştirilip metabolik dengesizliklerin düzeltilmesi, visceral yağlanma, serbest oksijen radikalleri ve inflamasyonun azaltılmasıdır (69, 70). Pediatric NAFLD'ın en sık üzerinde durulan tedavi şekli, BKİ'nin kademeli olarak azaltılması yöntemi olup, bu sürece beslenme düzeni ve egzersizin dahil edilmesi önerilmiştir (28); ancak her NAFLD hastası obez ya da kilolu olmayıp, bazı NASH görülen çocukların ideal vücut ağırlığında olduğu bildirilmiştir. BKİ'de sağlanan düşüş ile birlikte hepatik steatoz ve steatohepatitin düzelebildiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Literatürde serum ALT düzeylerinde düşüş ve histolojik düzelmenin gözlemlendiğini de bildiren çalışmalar mevcut olup, bu çalışmalarda %10'luk vücut ağırlık kaybına rağmen serum transaminaz değerlerinde düşüş gözlenmemesi halinde karaciğer biyopsisi yapılması önerilmektedir. Ani, hızlı ve önerilenden fazla ağırlık kayıplarının bu hasta grubu üzerinde yarar sağlamadığı, portal inflamasyonda ve fibroziste artışa neden olarak, hepatik yetmezliği tetikleyebileceği bildirilmiştir. İdeal vücut ağırlık kaybının 0,5 kg/hafta olduğu belirlenmiş olup, >1,5 kg/hafta vücut ağırlık kaybı olan çocuklarda kolelitiazis riskinde artış olduğu belirtilmektedir (69).

Diyet örüntüsünün NAFLD üzerindeki etkisini araştıran çalışmalarda, düşük karbonhidratlı ve düşük yağlı hipokalorik diyetlerin, vücut ağırlık kaybına ek olarak intrahepatik yağ içeriğinde de benzer oranda azalma sağladığı bulunmuştur. Son yıllarda yapılan çalışmalar fruktoz üzerine yoğunlaşmakta olup, yüksek miktarda fruktoz tüketiminin, intrahepatoselüler ve intramiyoselüler lipidleri arttırarak spesifik dokularda insülin direncine neden olduğu; de novo lipogenezi stimüle edip, plazma açlık – tokluk VLDL trigliseritleri arttırdığı ve yağ oksidasyonunu azalttığı bildirilmiştir (20, 71); ancak literatüre göre olumsuz etkiler, tüketilen fruktoz kaynağına göre değişmekte olup, yüksek miktarda tüketilen sentetik fruktozun olumsuz metabolik etkilere neden olduğu, kaynağı doğal besinler olan fruktozun antioksidan, potasyum, posa ve su gibi besin öğeleri içeren besinlerden vücuda alınmasının ise daha az olumsuz etkiye neden olacağı bildirilmiştir (71, 72).

Amerikan Karaciğer Hastalıkları Çalışma Derneği (AASLD) ve Kuzey Amerika Pediatric Gastroenteroloji, Hepatoloji ve Beslenme Derneği (NAPSGHAN)

tarafından yayınlanan güncel klinik uygulama rehberlerinde pediatrik NAFLD'nin birinci basamak tedavisinde yaşam tarzı değişiklikleri vurgulanmakta olup, ilgili derneklerin üzerinde durduğu yaşam tarzı değişiklikleri şu şekilde özetlenmektedir;

NASPGHAN'a göre; şekerle tatlandırılmış içeceklerden kaçınılması, orta – yüksek yoğunluklu fiziksel aktivitenin artırılması ve ekran süresinin günde 2 saatten aza indirilmesi başlıca yaşam tarzı değişiklikleri olarak belirtilmektedir. Ayrıca tedavide faydası kanıtlanmadığından herhangi bir ilaç önerilmemektedir. AASLD'ye göre ise, yine ilk basamak yoğun yaşam tarzı değişiklikleri olup, günde 2 kez 500 mg metforminin NASH'e özgü bir tedavi olarak reçete edilmemesi gerektiği, E vitamininin pediatrik NASH tedavisinde kullanılabileceği; ancak yüksek doz E vitamininin uzun süreli kullanımının olası etkileri bilinmediğinden hastaya özgü olarak fayda ve risk durumunun tartışılması gerektiğinden bahsedilmektedir (15, 31).



Şekil 7. Pediatrik NAFLD spektrumunda yaşam tarzı modifikasyonları ve yeni umut vaad eden tedaviler. (FAS: Yağ asitleri, NASH: Alkolik olmayan steatohepatit. Kaynak 15'ten alınmıştır.)

Sağlıklı beslenme ve fiziksel aktivite desteğini içeren yaşam tarzı modifikasyonunun etkili olduğu kanıtlanmış olsa da bu tedavi yönteminin doğal engelleri bulunmaktadır. Pediatrik NAFLD'da sıklıkla fiziksel semptom

görülmendiğinden hastaların gerekli motivasyondan yoksun olmaları nedeni ile öngörülen yaşam tarzı değişikliklerini uygulayamadıkları ifade edilmektedir. Çalışmalarda, yetersiz uyum nedeniyle, diyet ve yaşam tarzı yönetiminin uzun süreli etkinliğinin sınırlı başarıya sahip olduğu gösterilmektedir (28).

Literatürde pediatrik NAFLD ile ilgili son yıllarda yapılan çalışmalarda tıbbi beslenme tedavisi ile serbest yağ asit dağılımının düzenlendiği, periferik glikoz kullanımının artırılarak ekstra hepatik insülin duyarlılığının artırıldığı ve adipoz dokudaki inflamasyon ile oksidatif stresin azaltıldığı kanıtlanmıştır. Bu süreçte diyetisyen, psikolog ve egzersiz fizyoloğunun dahil olduğu multidisipliner bir yaklaşım, yaşam tarzı müdahalelerinin daha yüksek başarı oranlarıyla sonuçlanabileceğini ortaya koymakta olup, çocukların uyum sağlamaları amacı ile, diğer aile üyelerinin diyet ve yaşam tarzı değişikliklerine katılımını teşvik etmenin faydalı olacağı düşünülmektedir. Bu tedavi yöntemine ek olarak güncel literatürün bazı umut verici besin destekleri ve ajanlar üzerine yoğunlaştığı görülmekte olup, ilgili öneriler otoritelerin güncel rehberlerinde de yer almaktadır (8, 14, 15, 31).

4.2.1.2.1.Yağ asitleri ve karaciğer hastalıkları

Omega-3 / omega-6 çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA), esansiyel yağ asitleri olup, inflamasyonun düzenlenmesinde önemli rolleri olan “eikosanoidler” olarak tanımlanmaktadırlar. Bu yağ asitlerinin elongasyonu ile elde edilen uzun zincirli omega-3 yağ asitleri (LCPUFA w-3; eikosapentaenoik asit (EPA, w-3 C20: 5) ve dokosaheksaenoik asit (DHA, w-3 C22: 6)) ve türevleri antiinflamatuvar özellik gösterirken; uzun zincirli omega-6 yağ asitleri (LCPUFA w-6; araşidonik asit (ARA w-6 C20: 4)) ve metabolitleri proinflamatuvar özellik göstermektedir. Bu nedenle, sağlığın korunması için w-3/w-6 yağ asitlerinin dengeli bir şekilde alınması önerilmektedir (73, 74).

Son otuz yılda, w-6/w-3 PUFA oranı özellikle Modern Batı diyetinde önemli ölçüde değişmiş ve günlük w-6 PUFA alımında önemli bir artışa neden olarak, metabolik homeostaz ve inflamasyon yönetiminin değişmesine, alkolik olmayan karaciğer hastalığı ve alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığının patogenezi oluşturarak hipertrigliseridemi, obezite, insülin direnci, dislipidemi gibi çeşitli metabolik hastalıklara duyarlılığın artmasına neden olmuştur (8, 14, 31, 74).

Omega 3 yağ asitleri ile yapılan çalışmalar incelendiğinde, bu yağ asitlerinin obezite, insülin direnci, tip 2 diyabet, vücut ağırlığı kontrolü gibi süreçlerde terapötik etkiye sahip olduğu saptanmış olup, bazı çalışmalarda lipojenik genlerin, oksidatif stresin ve inflamasyonun azaltılmasında da etkili olduğu gösterilmiştir (Şekil 8) (75, 76).

Son zamanlarda, pediatrik ve yetişkin NAFLD tedavisi ile w-3 PUFA metabolizması arasındaki ilişki giderek artan bir ilgi görmektedir. NAFLD hastalarının diyetel w-3 alımlarının düşük ve bu hastaların yüksek hepatik w-6/w-3 oranına sahip olduğu bulunmuş olup, bu durumun lipid sentezini arttırabileceği, steatoza yol açabileceği ve insülin direncini indükleyerek NAFLD progresyonuna neden olabileceği belirtilmiştir. Bununla birlikte, w-3 yağ asitlerinin hepatik gen ekspresyonu üzerinde de güçlü modülatör etkiye sahip olduğu, bu sayede PPAR-a'yı arttırıp, SREBP1c'yi azaltarak lipogenezi inhibe ettiği bildirilmiştir (8, 78, 79, 80).

Suppleman olarak kullanılan w-3 yağ asitlerinin plazma trigliserit konsantrasyonlarını önemli ölçüde azalttığı ve intrahepatoselüler trigliserit içeriğini düşürdüğü bulunmuştur. Yapılan in vitro hücresel ve hayvan modelleri çalışmalarında, bu süreci yöneten mekanizmaların; hepatik transkripsiyon faktörleri üzerinden beta oksidasyon yollarının upregülasyonu ve hepatik lipogenezin downregülasyondan oluştuğu ileri sürülmüştür (81). Plazma trigliserit konsantrasyonlarındaki değişikliklerin hepatik de novo lipogenez ile ilintili olabileceği, artan de novo lipogenezin genellikle insülin direnci ve NAFLD gelişiminde altta yatan bir mekanizma olduğu belirtilmiş olup, gözlemsel çalışmalarda NAFLD'lı bireylerin açlık de novo lipogenez düzeylerinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir (81, 82).

Son yıllarda w-3 yağ asitleri ile yapılan çalışmaların bağırsak mikrobiyomu ve NAFLD arasındaki ilişki üzerine yoğunlaştığı görülmektedir. Bu yağ asitlerinin hepatik lipid metabolizması üzerine doğrudan etkilerinin yanı sıra, artan kanıtlar w-3/w-6 yağ asitlerinin bağırsak mikrobiyomunu doğrudan veya dolaylı olarak etkileyebileceğini ve NAFLD gelişimine katkıda bulunabileceğini göstermiştir (78).

4.2.1.2.2. Aminoasitler ve karaciğer hastalıkları

Dallı zincirli amino asitler (BCAA) doğrusal olmayan alifatik yan zincirlere sahip amino asitler olup, esansiyel amino asitlerden olan lösin, valin ve izolösin aminoasitleri, dallı zincirli aminoasitler olarak bilinmektedir (83).

Yapılan çalışmalar BCAA'ların enerji homeostazı ve lipit metabolizmasında da önemli metabolik görevleri olduğunu göstermiştir (84). Özellikle sirozlu hastalarda aminoasit metabolizmasının bozulması sonucu aromatik aminoasitlerin biriktiği ve BCAA konsantrasyonlarının azaldığı belirtilmiştir. Bu dengesiz aminoasit dağılımının, hepatik ensefalopatinin gelişiminde rol oynadığı bildirilmiş olup, kan beyin bariyerinden aminoasit transportunda BCAA'ların yarışı bu durumun azaltılabileceğini düşündürmektedir (68).

Suppleman olarak alınan BCAA'ların serum albümin düzeylerini arttırdığı, kas katabolizmasını engellediği ve yaşam kalitesini yükselttiği bildirilmiş olup, son yıllarda yapılan çalışmalarda metabolik BCAA disregülasyonunun NAFLD ile ilişkili olduğu ve NASH patogenezinde de rol oynadığı bildirilmiştir (22, 68, 74). Yapılan klinik çalışmalarda, BCAA metabolizmasındaki bozuklukların metabolik sendrom ve tip 2 diyabet dahil, insülin direncinin dahil olduğu tüm durumlarda gerçekleştiği gösterilmiştir (83). Yüksek BCAA konsantrasyonlarının yağ birikimini önlediğini bildiren çalışmalarda, yüksek doz lösin içeren diyet ile beslenen farelerin vücut yağ kütlelerinde azalma olduğu saptanmış ve yüksek doz lösinin in vitro fare adipozitlerinde yağ sentezini baskıladığı bulunmuştur (84, 85). Yapılan başka bir çalışmada ise BCAA'ların gen ve protein seviyelerinde yağ asit sentaz ekspresyonunu inhibe ederek hepatik steatoz ve karaciğer hasarına eşlik eden NASH'i hafiflettiği bildirilmiştir (74, 86).

BCAA takviyesinin hem NASH hayvan modellerinde hem de NASH ile ilişkili sirozlu hastalarda steatozu, plazma lipit seviyelerini ve glikoz toleransını iyileştirdiği gösterilmiştir. NASH fare modellerinde steatoz, inflamasyon ve fibrozdaki iyileşmelere, mTORC-1'in aktivasyonu, yağ asit sentaz gibi hepatik lipojenik enzimlerin inhibisyonu ve TGFb sinyal yollarının aracılık ettiği bildirilmiştir (Şekil 8) (77).

Obezite, insülin direnci ve NAFLD arasındaki etkileşim göz önüne alındığında, plazma BCAA konsantrasyonlarındaki değişikliklerin özellikle NAFLD ilerlemesi ile mi yoksa eşlik eden metabolik değişikliklerle mi ilgili olduğu belirsizliği korumakta olup, daha çok klinik çalışmaya ihtiyaç duyulduğu bildirilmiştir (85, 87).

4.2.1.2.3. Devedikeni ve karaciğer hastalıkları

Doğal bileşenlerin terapötik amaçlı kullanımı son yirmi yılda artış göstermiştir. *Silybum marianum* (devedikeni) yüzyıllardır karaciğer hastalıkları tedavisinde doğal bitkisel ilaç olarak güvenle kullanılmaktadır (88 – 92).

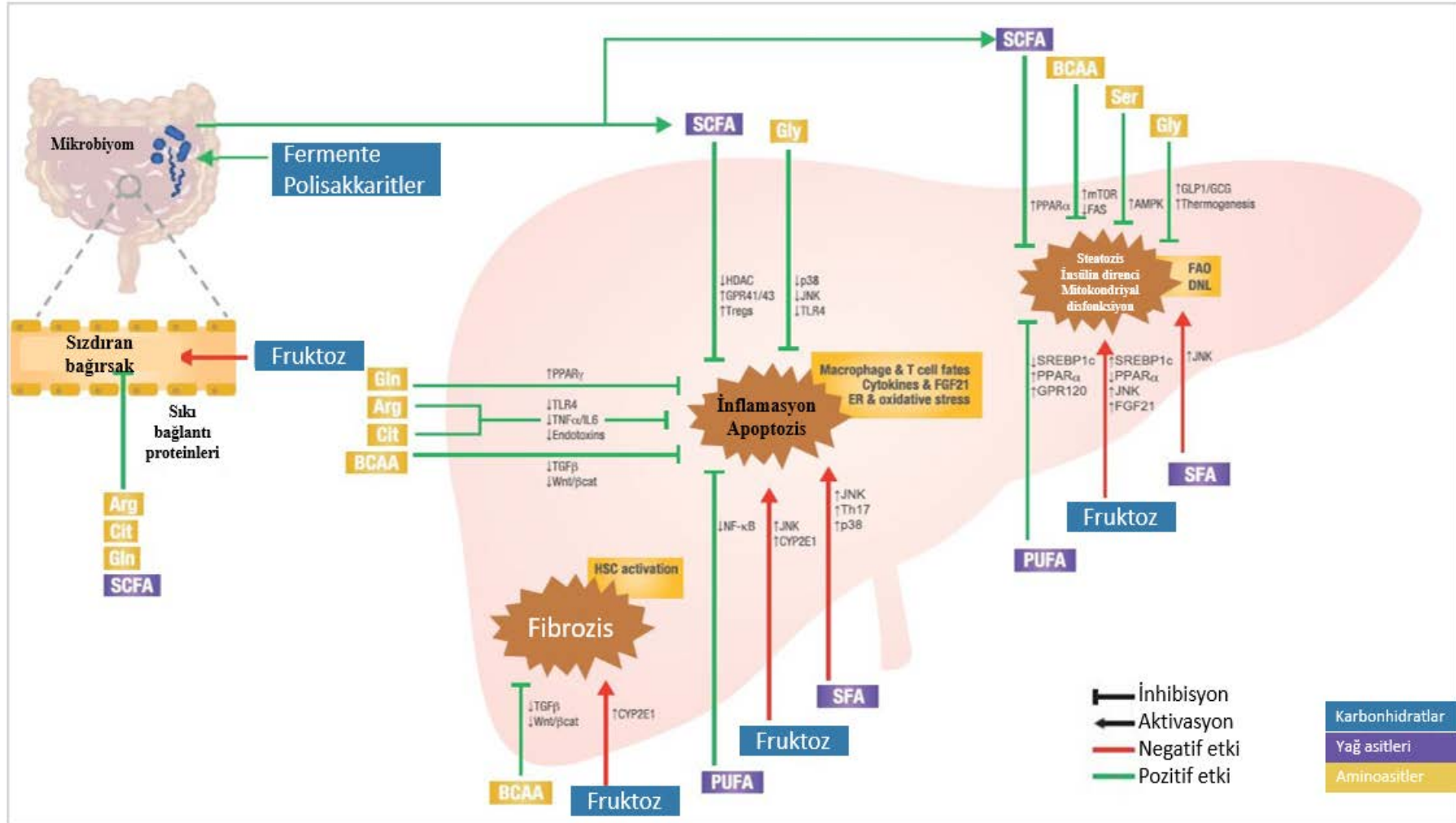
Silimarin, dededikeni bitkisinin (*Silybum marianum*) kurutulmuş tohumlarından ve meyvelerinden elde edilen bir ekstrakt olup, milattan sonra birinci yüzyıldan beri Avrupa'da tıbbi olarak kullanılmaktadır (92). İlk kez, Yunan Doktoru ve botanikçi Dioscorides'in yazılarında, deve dikeninin yılan ısırığı tedavisinde kullanılmak üzere önerildiği görülmektedir. On dokuzuncu yüzyıla gelindiğinde, Alman bilim adamı Johannes Gottfried Rademacher, dededikeni tohumlarından elde edilen ekstraktların karaciğer hastalıklarının tedavisinde faydalı olduğunu göstermiştir (88). Devedikeni özü silimarin, çoğunlukla flavonolignanlar, flavonoidler (taksifolin, quercetin) ve polifenolik maddeler olarak tanımlanan biyoaktif bileşiklerin kompleks bir karışımıdır (88, 92, 93). Bu bileşiklerin, başka biyolojik özelliklere sahip olmasının yanı sıra antioksidan bileşikler olduğu bilinmektedir. Silimarinin dört ana flavonolignan izomerinden oluşmakta olup, bunlar silibinin, izosilibinin, silichristin ve silidianindir, ancak bunların en yaygın ve biyolojik aktif formu silibin olarak da adlandırılan silibinidir. Silimarin kompleksinin yaklaşık %50 – 60'ı silibinden oluşmaktadır (94).

Farmakokinetik özelliklerine bakıldığında ham silimarin özütünün lipofilik olup suda az çözündüğü, bu nedenle oral alım sonrası gastrointestinal sistemden sadece yaklaşık %20 – 50 oranında emilebildiği bildirilmiştir. Farmakodinamik olarak ise antioksidan, antiinflamatuvar, antifibrotik özelliklere sahip olup, insülin direnci modülasyonu üzerinde çeşitli farmakolojik etkilere sahip olduğu gösterilmiştir (88, 95).

Silimarinin eski çağlardan beri karaciğer hastalıkları tedavisinde kullanılması, NAFLD için terapötik aday haline gelmesini sağlamıştır. Hayvan deneylerinden elde

edilen veriler silimarinin NAFLD'nin patolojik özelliklerinin çoğunu iyileştirmede olumlu etkiler gösterdiğini bildirirse de, bu çıktıların insanlara atfedilmesi pek mümkün görünmemektedir; çünkü olumlu ve yararlı etkilerle sonuçlanan çalışmalarda hayvanlara silimarinin intraperitoneal veya gastrik gavaj yöntemi ile verildiği saptanmıştır. Bu yoldan verilen silimarin maksimum fayda gösterebilirken; insanlarda oral olarak alımı, silimarinin lipofilik ve zayıf bağırsak emilimi olması nedeni ile biyoyararlanımının düşmesine bağlı olarak, aynı etkileri göstermeyeceği bildirilmiş olup, olumlu ve yararlı etkilerin sağlanabilmesi için ekstraktların uygun çözüldürücü maddeler ile kombine verilmesi önerilmektedir (96, 97).





Şekil 8. Temel besin öğelerinin NAFLD patobiyolojik yollarını düzenleyen moleküler mediatörler üzerine etkisi. (Karbonhidratlar, yağ asitleri ve aminoasitler eş zamanlı NAFLD patogenezinin kritik noktalarını aktive ya da inhibe edebilir) (Kaynak 77’den alınmıştır.)

4.3.Deneysel Yağlı Karaciğer Hastalığında Hayvan Modellemeleri

Hayvan modelleri NAFLD'nin patofizyolojik mekanizmalarının açıklanmasında hayati bir rol oynamakta olup, günümüzde de aynı önemini korumaktadır. Her biri avantajları ve dezavantajları olan sayısız farklı model mevcut olup, bir hayvan modelinde elde edilen sonuçların, bir insan popülasyonuna dönüştürülmesinin çoğu kez başarısız olduğu belirtilmiştir. Bu nedenle araştırılan konuya en uygun hayvan modelinin seçilmesi ve seçilen modelin fenotipik özelliklerinin bilinmesi gerektiği vurgulanmıştır (98, 99).

Deney hayvanı kullanılarak bir araştırma yapılacak ise, araştırmacının öncelikle hayvan gerektirmeyen araştırma metotlarını (doku kültürü gibi) tercih etmesi önerilmektedir. Hayvan kullanımı yerine uygun başka bir modelleme bulunamaması halinde, araştırmada kullanılacak olan hayvanların deney hayvanı etik kuralları çerçevesinde kullanılması vurgulanmaktadır (98).

Günümüzde NAFLD hastalığının deneysel modellemeleri çeşitlilik göstermekte olup, kimyasal ajanlar kullanılarak indüklenen modeller, diyetel müdahaleler yoluyla ve genetik modellemeler ile gerçekleştirilmektedir.

4.3.1.Kimyasal ajanlar kullanılarak indüklenen modeller

4.3.1.1.Streptozotosin Modeli

Bu model ile indüklenen diyabet, iyi bilinen bir deneysel modelidir ve doğumdan kısa bir süre sonra düşük bir streptozotosin dozunun (intraperitoneal veya subkutan) uygulanmasıyla elde edilir, bu da pankreasın langerhans adacıklarında kimyasal bir inflamasyon kaynaklı tahrip olmasına neden olur. Bu modelin yüksek yağlı diyet (HFD) ile birleştirilmesi ile NAFLD modelinin oluşturulduğu bildirilmiştir. Modelin çalışma prensibinin incelendiği araştırmalarda, yenidoğan farelere 4 haftalık olduklarında başlatılan yüksek yağlı beslenme ve yenidoğan streptozotosin uygulamasını takiben, 6 haftalık olduklarında basit steatoz, 8. haftada inflamatuvar odak noktaları gözlenen NASH ve 8-12 haftada ilerleyen periselüler fibrozis başladığı ve 20 haftalıkken, çoklu hepatoselüler karsinomların varlığı tespit edilmiştir (99, 100).

4.3.1.2.Karbon tetraklorür (CCl₄) Modeli

Bu kimyasal ajanın neden olduğu karaciğer hasarı, karaciğer fibrozu oluşturulmasında en çok tercih edilen ve çok iyi bilinen bir modeldir. Karbon tetraklorürün, karaciğerde oksidatif stres yanıtı oluşturarak, toksik lipid ve protein peroksidasyon ürünlerinin birikmesine ve güçlü bir nekrotik tepkiye yol açtığı bildirilmiştir. Farelerde, CCl₄'ün iki haftada bir peritoneal enjeksiyonu ile hayvana uygulanmasının, dejenere ve balonlaşmış, nekrotik hepatositlerin yanı sıra hafif bir mononükleer hücre infiltrasyonu ve etkilenen bölgelerdeki makro ve mikrosteatoz özellikleri ile kapsamlı karaciğer hasarı geliştirdiği sonucuna varılmış olup, bu kimyasala maruz kalan deney grubunda transaminaz ve trigliserit düzeyleri, kontrol grubunda yer alan hayvanlara kıyasla önemli ölçüde daha yüksek bulunmuştur. Tek başına iyi bir NAFLD oluşturma potansiyeline sahip olmayıp genellikle diyet modelleri ile birleştirilmesi önerilmekte olup, yüksek yağlı diyet ile birlikte uygulandığında NASH ve fibrozis gelişimine olan etkilerinin güçlü olduğu bildirilmiştir (101, 102, 103).

4.3.1.3.Dietilnitrozamin (DEN) Modeli

Dietilnitrozamin (DEN), önemli oksidatif stres ve DNA mutasyonlarına neden olan, lipotoksisiteyi güçlendiren, fibrozis ve sirozun ilerlemesini hızlandıran ve hepatoselüler karsinomu modellemek için uzun zamandır kullanılan bir kanserojen olup, uygun diyet modelleri ile kombinasyonu sağlandığında NAFLD'da HCC gelişimini incelemek için kullanıldığı bildirilmiştir. Uygun diyetel modellemeler yüksek yağlı diyet ya da metionin ve kolin kısıtlı diyet (MCD) olarak bildirilmiş olup, bu diyet müdahalelerinden biri ile birleştirildiğinde, kontrol grubuna kıyasla daha yüksek vücut ağırlık ortalaması, ALT düzeyleri, NASH ve ilerleyen aşamada HCC gelişimi sağladığı rapor edilmiştir (101, 104).

4.3.2.Diyetsel Modeller

4.3.2.1. MCD diyeti ile oluşturulan model

Metionin ve kolin kısıtlı diyet olarak bilinen bu beslenme şekli, en iyi NAFLD modeli oluşturan beslenme müdahalelerinden biri olarak bilinmekte olup, diyet içeriği incelendiğinde yüksek derecede şükroz (%40) ve orta derecede yağ (%10) içeriğine sahip olduğu bildirilmiştir. Günlük alım önerilerini karşılayacak düzeyde alınmayan

kolin ve metioninin eksikliği, B-oksidasyonunun ve VLDL partiküllerinin üretiminin bozulmasına neden olmaktadır. Kolin kısıtlı diyet ile beslenmenin, hepatik VLDL sekresyonunun bozulmasına neden olarak, hepatik yağ birikimi, karaciğer hücre kaybı, oksidatif stres, sitokin ve adipokinlerde değişiklik ve az bir miktar inflamasyon ve fibrozis ile sonuçlandığı bildirilmiştir. MCD diyeti, bu diyet müdahalesi ile beslenen hayvanlarda önemli ağırlık kaybına neden olduğundan bu model genellikle NASH'in farmakolojik tedavisi ile ilişkili intrahepatik olayları incelemek için yeterli kabul edilirken, multisistemik NALFD incelemesi yapılacak çalışmalar için yetersiz kabul edilmiştir (105, 106).

4.3.2.2. Atherojenik diyet ile oluşturulan model

Temel prensibi ateroskleroz oluşturmak olan bu beslenme modeli nispeten yüksek doz kolesterol (%1 – 1,25) ve kolik asit (%0,5) içermekte olup, bu model ile beslenilmeye başlandıktan 6 hafta sonra steatoz, 6 hafta sonra inflamasyon, 24 hafta sonra hepatoselüler balonlaşma ve 24 hafta sonra ise fibrozis oluşturduğu bildirilmiştir (107). Bu diyet müdahalesi tek başına vücut ağırlık artışı ve insülin direncine neden olmadığından içeriğine yüksek yağ bileşenlerinin eklenmesinin (%60 kakao yağı gibi) hepatik insülin direnci oluşturulması ve NASH progresyonunu sağlayabileceği bildirilmiştir (101, 107).

4.3.2.3. Yüksek fruktoz diyeti ile oluşturulan model

Fruktozun, karaciğerde metabolize olan bir monosakkarit olması nedeni ile ad libitum beslenen hayvanların içme sularına eklendiğinde aşırı alıma bağlı olarak, yağ birikimi, inflamasyon, oksidatif stres, insülin direnci ve muhtemelen fibrozu şiddetlendirerek NAFLD gelişimine neden olacağı belirtilmiştir. Ayrıca fruktoz takviyeli içme suyu ile 8 hafta boyunca beslenen hayvanlarda basit steatoz görülmekte olup, vücut ağırlığı, plazma glikoz ve trigliserit düzeylerinde artış olduğu saptanmıştır (49, 54, 101).

4.3.2.4. Yüksek yağlı diyet ile oluşturulan model

Bu diyet grubu, yağ içeriği %45 – 75 arasında değişen çoklu diyet müdahalelerini kapsamakta olup, artmış lipoliz yolu ile hepatik trigliserit birikimini beraberinde getirmektedir. Hayvanlar bu beslenme şekli ile beslenmeye başladıktan 1 – 2 hafta sonra steatoz gelişmeye başlasa da NASH genellikle 12 hafta sonra

görölmeye başlar. MCD diyeti ile karşılaştırıldığında gözlemlenen steatoz ve inflamasyonun daha az belirgin olduğu saptanmıştır. HFD insanlarda görölen hastalıklarla benzer fenotip ortaya çıkarmakta olup, bu beslenme müdahalesi ile beslenmeye başlandıktan 10 hafta sonra obezite, insölin direnci, 12 hafta sonra hiperinsölinemi ve 10 hafta sonra hiperlipidemi geliştiği bildirilmiştir. NAFLD'nin başlama zamanının ve derecesinin, bağırsak mikrobiyotasının türlerine, suşuna, kullanılan hayvanın cinsiyetine, maternal faktörlere ve ayrıca diyetin yağ içeriğine bağılı olduğu bildirilmiştir (28, 101, 108, 109).



5.MATERYAL VE METOT

5.1. Genel Çalışma Planı

Planlanan bu çalışmada, vücut ağırlıkları 30 – 50 gram arasında değişmekte olan, henüz doğal 2 – 3 hafta olmuş (sütten yeni kesilen/weanning), 36 adet Sprague Dawley cinsi dişi infant sıçan kullanılmıştır. 8 – 16 Ağustos 2017 tarihinde doğan dişi yavru sıçanlar 20 – 24 °C sıcaklık, 12 saat gündüz – 12 saat gece döngülü ışık ve %50 – 55 nisbi nem kontrollü bir ortamda iklimlendirilip, 2 – 3 hafta kadar anne sütü aldıktan sonra herhangi bir gastrointestinal sistem sorunu yaşamamak için 28/08/2017 – 11/09/2017 tarihleri arasında (15 gün) standart pellet sıçan yemi ile beslenmiş ve 11/09/2017 tarihinde çalışmada planlanan protokolün gerçekleştirilebilmesi üzere önce randomize edilerek gruplandırılmış, sonra küpe numaraları takılarak kafeslere alınmışlardır. Deneysel pediatrik NAFLD modeli oluşturulmadan önce sıçanlar tartılıp, vücut ağırlıkları kaydedilmiştir. 11/09/2017 – 26/10/ 2017 tarihleri arasında kontrol grubu dışındaki tüm sıçanlar yüksek yağlı diyet ile ad libitum beslenmiş ve 26/10/2017 tarihinde yüksek yağlı diyetle beslenmeye ek olarak, besin desteği alması planlanan 4 gruba, gavaj yöntemi ile belirlenen besin destekleri verilmeye başlanmıştır. Çalışma süresince yaşanan kayıplar; belirlenen protokole başlayamadan bilinmeyen bir nedenden ötürü 1 sıçan ex olmuş, 1 sıçan yanlış besleme sonucu aspire ederek ex olmuş, 1 sıçanda ise çalışma süresinin yarısında meme kanseri gelişmiş ve çalışma dışı bırakılmıştır. Bu nedenler ile çalışma 33 dişi sıçan üzerinden sonlandırılmıştır. Tasarlanan çalışma, sıçanların vücut ağırlıklarının ve biyokimyasal parametrelerin değerlendirilmesi ve kıyaslanması aşamalarının yer aldığı 2 bölümden oluşmuştur.

Çalışmanın yapılabilmesi amacı ile “İstanbul Medipol Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu’ndan 38828770-604.01.01-E.28923 sayı, 47 Karar No ve 23/08/2017 tarihli Etik Kurul Onayı” alınmış olup EK.1 de sunulmuştur.

5.2. Hayvanların Temini

Sıçanlar harem usulü çiftleşme yöntemi ile üreyen hayvanlardır. Bu nedenle öncelikle Sprague Dawley cinsi 5 – 7 dişi yetişkin sıçan, 4 – 6 gün kadar aynı kafes içinde çiftleşmeye hazırlanmaları amacı ile bir araya getirilmiştir. Altıncı günün

sonunda kafese bir adet yetişkin erkek sıçan koyulmuş ve kafes içinde yer alan tüm dişi sıçanların çiftleşmesi sağlanmıştır. Tüm dişilerin döllenmesinin kesinleştirilmesi amacı ile erkek sıçanın vajinaya bıraktığı pıhtının düşmesi gözlemlenmiş ve bu pıhtının gözlemlenmesi ile gebeliğin tanısı kesinleştirilmiştir. Ortalama 20 – 22 gün süren gebeliğin ardından her bir dişi sıçan 8 – 12 adet yavru yapmıştır. Her kafeste 2 anne sıçan ve yavruları olacak şekilde kafesler ayrılmış ve annelerin yaklaşık 15 gün kadar yavrularına anne sütü vermeleri beklenmiştir. Anne sütü ile beslenmeleri sonlanan yavrularda cinsiyet tayini yapılmış ve 36 adet dişi yavru, çalışmanın yapılması amacı ile diğer yavrulardan ayrılmıştır. Bu süreçte yavrular 2 hafta boyunca gastrointestinal sağlık problemi yaşamamaları için standart sıçan yemi (Altromin Spezialfutter GmbH & Co.; %11 yağ, %24 protein, %65 karbonhidrat) ile beslendikten sonra çalışma gruplarına ayrılmışlardır.



Resim.1 Anne sütü ile beslenen yenidoğanlar ve büyüme aşamaları

5.3. Deneysel Alkolik olmayan Yağlı Karaciğer Modelinin Oluşturulması, Besin Desteklerinin Doz Ayarlama ve Uygulanma Prosesleri

Her birine farklı küpe numarası takılan 36 sıçan, gruplarda 6 sıçan olacak şekilde 6 gruba ayrılmışlardır. Gruplardan biri sağlıklı kontrol grubu olarak belirlenmiş ve bu grupta yer alan sıçanlar hariç diğer tüm sıçanların 7 hafta boyunca

%60 yağ içeren yüksek yağlı sıçan yemi (Altromin Spezialfutter GmbH & Co.; %60 yağ, %16 protein, %24 karbonhidrat) ile ad libitum olarak beslenmeleri sağlanmıştır.

Kontrol grubunda yer alan sıçanlar ve yüksek yağlı diyet ile 7 hafta beslenen deney grubundaki sıçanların tümünün (1 sıçan ex olduğu için 35 sıçanın örnekleri alınabilmiştir) kuyruk veninden 26/10/2017 tarihinde veteriner teknisyenin yardımı ile 2 cc kan alınarak kırmızı EDTA'lı tüplere konulmuş ve tüp içerisinde yaklaşık 15 dakika bekletilip 3000 devirde 20 dakika santrifüj edilerek +4 °C'de 4 – 6 saat beklendikten sonra serum ALT, AST, açlık kan şekeri, total kolesterol, trigliserit değerleri gibi bazı biyokimyasal kan parametrelerinin incelenmesi üzere biyokimya laboratuvarına gönderilmiştir. Aynı tarihte (26/10/2017) yüksek yağlı diyet ile beslenen sıçanlara besin destekleri verilmeye başlanmış olup, 24/12/2017 tarihine kadar her gün gavaj uygulaması öncesi ağırlıkları hassas dijital teraziler ile ölçülerek kayıt altına alınmış ve kilogram başına doz hesaplaması yapılarak küpe numarasına özgü olacak şekilde ilgili besin desteklerinin dozu hazırlanıp eppendorf içerisinde muhafaza edilmiştir. Eppendorf içinde yer alan besin desteklerinin vorteks cihazı (karıştırıcı) yardımı ile homojenliğinin sağlanıp gavaj uygulamasının yapılabilmesi için serum fizyolojik ortak çözdürücü olarak seçilmiş olup, sıçanların mide hacimlerinin tek seferde 2 ml tolere edebilmesi nedeni ile ilgili besin destekleri 1 ml serum fizyolojik içerisinde çözdürülerek gavaj uygulaması yapılmış, ardından enjektöre 0,5 ml serum fizyolojik çekilerek gavajın içinde kalan muhteviyatı gönderebilmek için aynı sıçana yeniden gavaj uygulanmıştır.

Hem kontrol hem de deney grubunda yer alan sıçanlar, aşağıdaki şekilde gruplandırılmışlardır;

Grup 1: Standart sıçan yemi ile beslenen kontrol grubu olup, ad libitum standart sıçan yemi + ad libitum su + plasebo (serum fizyolojik) ile beslenmiştir.

Grup 2: Yüksek yağlı diyet ile beslenen kontrol grubu olup, ad libitum %60 yağlı sıçan yemi + ad libitum su + plasebo (serum fizyolojik) ile beslenmiştir.

Grup 3: Aminoasit ve yağ asidi grubu olup, ad libitum %60 yağlı sıçan yemi + ad libitum su + 500 mg/kg/gün omega-3 (*Nature's Supreme 1000 mg/kap*) + 500 mg/kg/gün dallı zincirli amino asit (*QNT 1 g/kap*) desteği uygulanmıştır.

Grup 4: Deve dikenini ve yağ asidi grubu olup, ad libitum %60 yağlı sıçan yemi + ad libitum su + 100 mg/kg/gün deve dikenini desteği (*Arkopharma 390 mg/kap*) + + 500 mg/kg/gün omega-3 (*Nature's Supreme 1000 mg/kap*) desteği uygulanmıştır.

Grup 5: Aminoasit ve deve dikenini grubu olup, ad libitum %60 yağlı sıçan yemi + ad libitum su + 500 mg/kg/gün dallı zincirli amino asit (*QNT 1 g/kap*) + 100 mg/kg/gün deve dikenini (*Arkopharma 390 mg/kap*) desteği uygulanmıştır.

Grup 6: Aminoasit, yağ asidi ve deve dikenini desteklerinin kombine verildiği grup olup, ad libitum %60 yağlı sıçan yemi + ad libitum su + 500 mg/kg/gün omega-3 (*Nature's Supreme 1000 mg/kap*) + 500 mg/kg/gün dallı zincirli amino asit (*QNT 1 g/kap*) + 100 mg/kg/gün deve dikenini (*Arkopharma 390 mg/kap*) destekleri uygulanmıştır.



Resim 2. Gruplarda yer alan bir sıçana gavaj uygulanması

Çalışma gruplarında yer alan sıçanlar, omega 3 yağ asidi (*Nature's Supreme 1000 mg/kap*) desteği ile çalışma sonlandırılıncaya kadar desteklenmiş olup, her bir yumuşak kapsül 360 mg EPA ve 260 mg DHA içermektedir. Deve dikenini (*Arkopharma 390 mg/kap*) ile desteklenmesi planlanan grup her bir kapsülde 390 mg Sliyum Marianum etken maddesi alacak şekilde desteklenmiştir. Son olarak dallı zincirli aminoasitler (*QNT 1 g/kap*) ile desteklenecek gruplar ise her bir yumuşak kapsülde 500 mg lösin, 250 mg izölösün ve 250 mg valin olmak üzere toplam 1000 mg dallı zincirli yağ asidi desteği almışlardır.

5.4. Numunelerin Toplanması ve Değerlendirilmesi

9 hafta boyunca belirlenen protokollere uygun şekilde beslenen sıçanlardan yüksek yağlı diyet ile beslenen kontrol grubunda (GRUP 2) yer alan bir sıçan rastgele seçilmiş ve kalp ponksiyonu yöntemi ile 7 cc kanı EDTA'lı tüpe alınarak çalışmanın sonlandırılma aşamasının kontrolü için biyokimya analizine gönderilmiştir.



Resim 3. Anestezi altındaki sıçanın batın bölgesinin açılması

9 hafta süren çalışma boyunca, sıçanlardan biri yüksek yağlı diyet ile beslenme protokolüne geçmeden ex olurken, deney grubunda bulunan sıçanlardan biri yanlış besleme sonucu aspirasyon pnömonisinden ex olmuş, bir sıçanda ise meme kanseri gelişmiş ve ilgili sıçan çalışma dışı bırakılmıştır. Bu nedenler ile toplam 33 sıçan ile çalışma sonlandırılmış ve sonlandırma prosesine göre sakrifiye etmeden önce her bir sıçana tek tek intraperitoneal yoldan, doku ve organ hasarına neden olmaması amacı ile süper insülin iğneleri kullanılarak anestezi uygulanmıştır. Anestezi dozu hesaplaması yine her bir sıçanın ağırlık ölçümüne göre yapılmış ve verilecek doz 200 gramlık bir sıçan için; ketasol (Eczacıbaşı) 0,2 ml ve Rompun (Bayer Healthcare) 0,1 ml olarak sorumlu veteriner hekim tarafından belirlenmiştir.

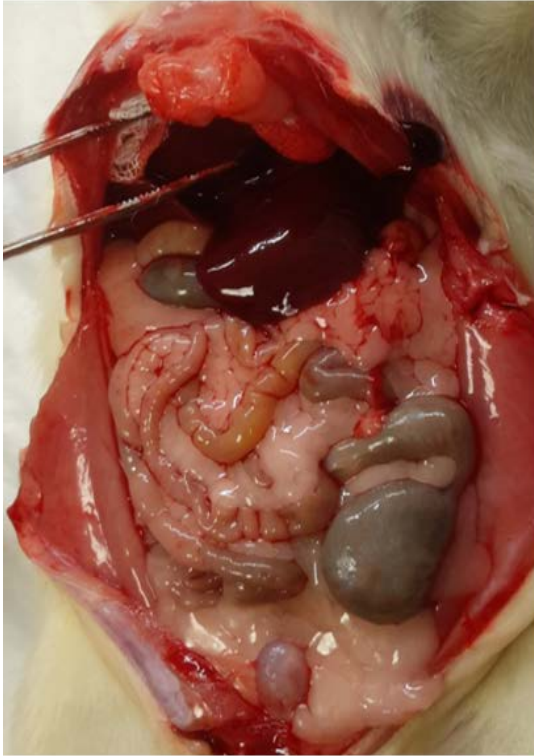


Resim 4. Anestezi altındaki sıçantan örneklerin toplanması

Anestezi altındaki her bir sıçanın önce kalp ponksiyonu ile kanları alınmış ardından karaciğerleri çıkarılmıştır. Sıçanların her birinden 7 – 10 cc kan alınarak kırmızı EDTA'lı tüplere konulmuş ve tüp içerisinde 30 dakika bekletilip 3000 devirde 20 dakika santrifüj edilerek +4 °C'de 12 saat beklendikten sonra serum ALT, AST, açlık kan şekeri, total kolesterol, trigliserit, VLDL, insülin değerleri gibi belirlenen bazı biyokimyasal parametrelerin incelenmesi amacıyla kurye ile Medipol Üniversitesi Mega Hastane laboratuvarına gönderilmiştir.

Sakrifiye edilen her bir sıçan etik kurallar göz önünde bulundurularak kapatılmış ve tıbbi atık olmak üzere teknisyene teslim edilmiştir.

STD YEM TÜKETEN
KONTROL GRUBU

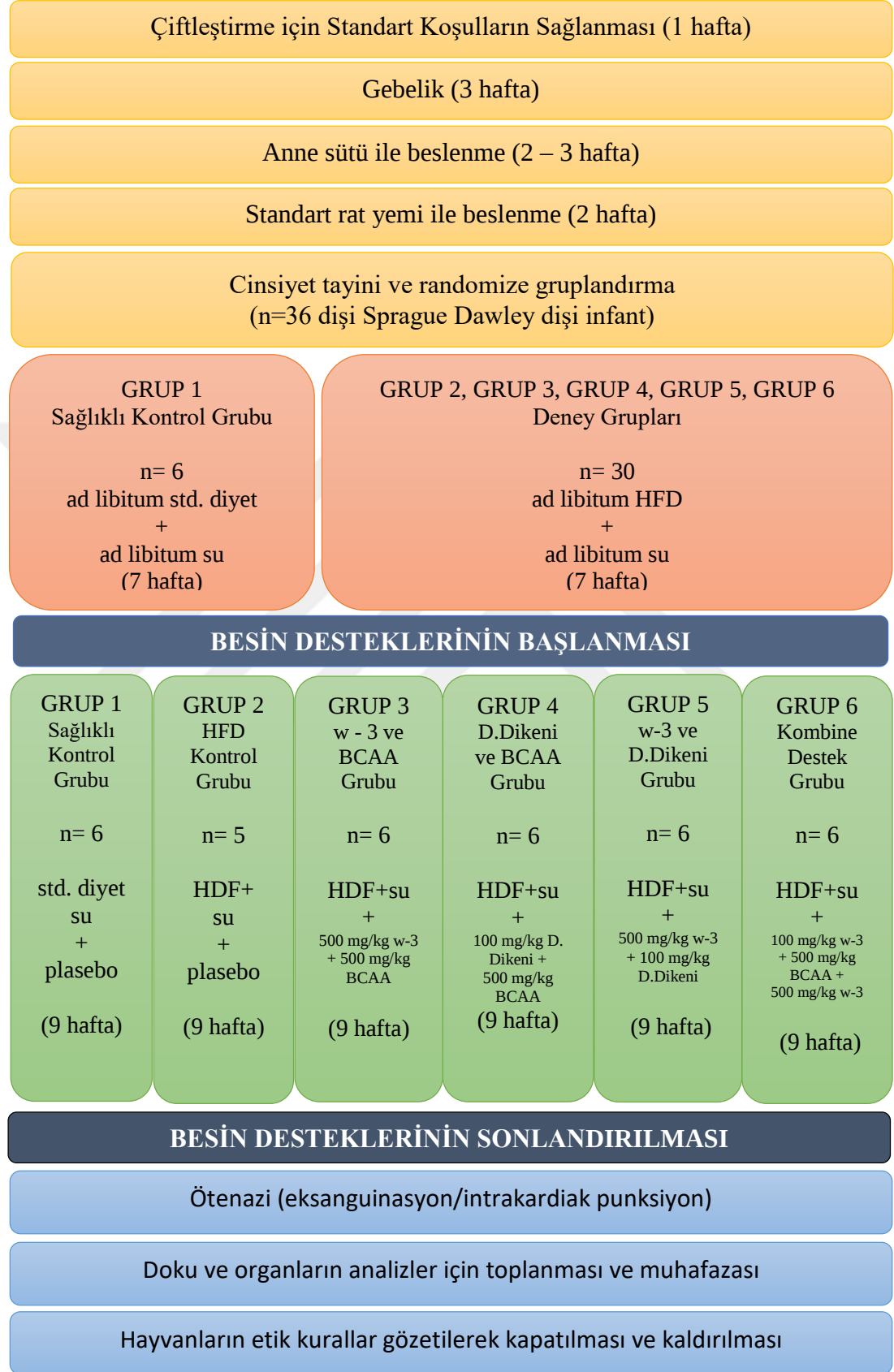


HFD YEM TÜKETEN
KONTROL GRUBU



Resim 5. Grup 1 ile Grup 2 otopsi sonuçları karşılaştırması

Çalışma Tasarımının Özetlenmesi



5.5. İstatistiksel Analizler ve Raporlama

Çalışmadan elde edilen veriler, ortalamaları ($\bar{x}$), standart sapmaları (ss), alt üst değerleri hesaplanarak tablolaştırılmıştır. Yüksek yağlı diyet ile beslenmenin başladığı gün ölçülen ağırlık değerlerinin gruplara göre ortalamaları, yüksek yağlı diyet ile birlikte besin desteklerinin verilmeye başlandığı 1., 31. ve 60. gün elde edilen ağırlık değerlerinin gruplara göre ortalamaları ve besin destekleri öncesi kan sonuçlarının gruplara göre ortalamaları ile bu ortalamalar arasındaki farkın anlamlılığı Kruskal Wallis analizi ile incelenmiştir. Analizler sonucunda gruplar arasında anlamlı farklılıklar çıkması durumunda farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını belirlemek için Mann Whitney U testi yapılmıştır. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov Smirnov ve Shapiro Wilk testi ile incelenmiş ve normal dağılıma uygunluk göstermediği saptanmıştır. Gruplarda besin desteği öncesi ve sonrası kan ölçümlerinin ortalamaları ve bu ortalamalar arasındaki farkın anlamlı olup olmadığı Wilcoxon işaret testi ile incelenmiştir. Farklı gruplardan 3 defa elde edilen ağırlık ölçümleri arasındaki farkın anlamlılığı Friedman Testi ile belirlenmiştir. Analizler, SPSS 20.0 yazılımı (Chicago, USA) ile yapılmış ve $p < 0.05$ anlamlı olarak kabul edilmiştir.

5.6. Çalışmanın Kısıtlılıkları ve Üstünlükleri

Bu çalışma, hayvan deneyi olarak yürütülmüş olup, çalışmanın sonunda elde edilen sonuçların insanlarda yapılacak klinik çalışmalar ile desteklenmesi gerektiği düşünülmektedir. Bu çalışmada kullanılan yavruların annelerinin vücut ağırlıklarının ve mevcut kan biyokimyaları gibi maternal faktörlerin bilinmemesi, özellikle genetik etkileşimler göz önünde bulundurulduğunda, verileri etkileyebilecek bir sınırlılık olarak düşünülmektedir. Buna ek olarak, daha önce besin desteklerinin kombinasyon tedavilerinin etkililiğini araştıran benzer çalışmaların olmaması, bu çalışmanın üstün yanı olarak düşünülmektedir.

6.BULGULAR

Verilerin dağılım özelliklerini değerlendirmek amacı ile Kolmogorov Smirnov ve Shapiro Wilk testi yapılmıştır.

Tablo 6.1. Verilerin normallik testi sonuçları

	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	değer	sd	p	değer	sd	p
Vücut Ağırlıklarının Normallik Dağılımı						
Doğum Ağırlığı (gr)	0,116	33	0,025	0,943	33	0,030
Std. Yeme başlarken ölçülen vücut ağırlığı (gr)	0,069	33	0,022	0,977	33	0,033
gün1	0,114	33	0,000	0,965	33	0,000
gün31	0,083	33	0,000	0,948	33	0,000
gün60	0,071	33	0,000	0,969	33	0,000
Kan biyokimyalarının Değerlendirilmesi						
ALT1 (Besin desteği öncesi)	0,262	33	0,036	0,790	33	0,041
AST1 (Besin desteği öncesi)	0,206	33	0,048	0,777	33	0,021
Kolesterol1 (Besin desteği öncesi)	0,130	33	0,000	0,973	33	0,000
Glikoz1 (Besin desteği öncesi)	0,117	33	0,000	0,946	33	0,000
TG1 (Besin desteği öncesi)	0,127	33	0,000	0,964	33	0,000
ALT2 (Besin desteği sonrası)	0,250	33	0,000	0,724	33	0,000
AST2 (Besin desteği sonrası)	0,183	33	0,007	0,716	33	0,000
Kolesterol2 (Besin desteği sonrası)	0,152	33	0,049	0,916	33	0,042
Glikoz2 (Besin desteği sonrası)	0,111	33	0,000	0,963	33	0,000
TG2 (Besin desteği sonrası)	0,136	33	0,014	0,863	33	0,001

Kolmogorov-Smirnov, Shapiro-Wilk, $p < 0,05$

Çalışmadan elde edilen verilerin normal dağılıma uygunluğu incelenmiş ve normal dağılım göstermediği saptanmıştır.

Standart sıçan yemi başlangıç günü ve yüksek yağlı diyet (HFD) başlangıç günü ölçülen ağırlık değerlerinin gruplara göre ortalamaları ve bu ortalamalar arasındaki farkın anlamlılığı Kruskal Wallis analizi ile incelenmiştir.

Tablo6.2. Çalışma gruplarının standart sıçan yemi ve yüksek yağlı diyet başlangıcındaki ağırlık ortalamalarının karşılaştırılması

		n	ort.	ss	p
Standart sıçan yemi başlangıç günü ölçülen ağırlık (gr)	Kontrol (STD + SF)	6	38,50	5,17	0,548
	HFD Kontrol (HFD+SF)	6	42,17	6,11	
	HFD + BCAA + Omega 3 Grubu	6	40,67	4,89	
	HFD + Deve Dikeni + Omega 3 Grubu	6	38,00	6,48	
	HFD + BCAA + Deve Dikeni Grubu	5	43,60	5,22	
	HFD + Omega 3 + BCAA + Deve Dikeni	6	41,00	5,44	
	Total	35	40,57	5,52	
Yüksek yağlı diyet (HFD) başlangıç günü ölçülen ağırlık (gr)	Kontrol (STD + SF)	6	105,17	4,79	0,684
	HFD Kontrol (HFD+SF)	6	110,17	6,31	
	HFD + BCAA + Omega 3 Grubu	6	107,83	5,78	
	HFD + Deve Dikeni + Omega 3 Grubu	6	105,83	9,28	
	HFD + BCAA + Deve Dikeni Grubu	5	109,60	6,69	
	HFD + Omega 3 + BCAA + Deve Dikeni	6	109,83	6,18	
	Total	35	108,03	6,46	

Kruskal Wallis, $p < 0,05$

Çalışma grupları arasında standart sıçan yemi başlangıç günü ve yüksek yağlı diyetin başlangıç günü (standart sıçan yemi ile beslenmenin sonlandırıldığı gün) ölçülen ağırlık değerleri anlamlı farklılık göstermemektedir (Tablo 6.2).

Tablo 6.3. Yüksek yağlı diyetin başlangıcı ve yüksek yağlı diyet + besin destekleri başlangıcının birinci gününe göre çalışma grupları arasında vücut ağırlık ortalamalarının karşılaştırılması

	YYD Başlangıç 1.günü (gr)		YYD + Besin Destekleri Başlangıç 1. Günü (gr)		P
	ort.	ss	ort.	ss	
Kontrol (STD + SF)	105,17	4,79	220,17	7,83	0,000
HFD Kontrol (HFD+SF)	110,17	6,31	226,80	8,61	0,000
HFD+BCAA+Omega 3	107,83	5,78	257,67	21,34	0,000
HFD + Deve Dikeni + Omega 3	105,83	9,28	255,30	13,57	0,000
HFD + BCAA + Deve Dikeni	109,60	6,69	255,90	13,67	0,000
HFD + Omega 3 + BCAA + Deve Dikeni	109,83	6,18	254,67	23,70	0,000

Friedman testi, p<0,05

Tüm çalışma gruplarında besin desteklerinin başlandığı ilk gün ölçülen vücut ağırlık ölçüm düzeyi, yüksek yağlı diyet ile beslenmeye başlanan ilk gün ölçülen vücut ağırlık ölçümünden anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur (Tablo 6.3).

Tablo 6.4. Besin destekleri başlandıktan sonra 1., 31. ve 60. gün ölçümlerine göre çalışma gruplarının vücut ağırlık ortalamalarının karşılaştırılması

		n	ort. (gr)	ss	p
gün1	Kontrol (STD + SF)	6	220,17	7,83	0,001*
	HFD Kontrol (HFD+SF)	5	226,80	8,61	
	HFD + BCAA + Omega 3 Grubu	6	257,67	21,34	
	HFD + Deve Dikeni + Omega 3 Grubu	6	255,30	13,57	
	HFD + BCAA + Deve Dikeni Grubu	5	255,90	13,67	
	HFD + Omega 3 + BCAA + Deve Dikeni	6	254,67	23,70	
	Total	34	245,30	21,65	
gün31	Kontrol (STD + SF)	6	240,17	12,01	0,017*
	HFD Kontrol (HFD+SF)	5	264,80	13,48	
	HFD + BCAA + Omega 3 Grubu	6	291,50	34,18	
	HFD + Deve Dikeni + Omega 3 Grubu	5	281,40	16,83	
	HFD + BCAA + Deve Dikeni Grubu	5	262,00	18,10	
	HFD + Omega 3 + BCAA + Deve Dikeni	6	263,17	31,81	
	Total	33	266,97	27,38	
gün60	Kontrol (STD + SF)	6	239,33	9,81	0,001*
	HFD Kontrol (HFD+SF)	5	305,00	14,00	
	HFD + BCAA + Omega 3 Grubu	6	305,17	43,43	
	HFD + Deve Dikeni + Omega 3 Grubu	5	308,60	28,00	
	HFD + BCAA + Deve Dikeni Grubu	5	274,60	16,96	
	HFD + Omega 3 + BCAA + Deve Dikeni	6	273,67	26,40	
	Total	33	283,33	35,10	

Kruskal Wallis, * $p < 0,05$

Çalışma gruplarındaki sıçanların ağırlıkları arasında üç farklı günde de anlamlı fark saptanmıştır (Tablo 6.4). Farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını tespit etmek için yapılan ikili karşılaştırmalara göre;

Besin desteklerinin verilmeye başlandığı ilk gün sıçanların ölçülen vücut ağırlığı ortalamalarından aminoasit + yağ asidi desteği alan grup (GRUP 3), deve dikeni + yağ asidi desteği alan grup (GRUP 4), aminoasit + deve dikeni desteği alan grup (GRUP 5) ve tüm besin desteklerinin kombine verildiği grupların (GRUP 6)

vücut ağırlık ortalamalarının standart sıçan yemi ile beslenen kontrol grubu (GRUP 1) vücut ağırlık ortalamasından anlamlı derecede daha yüksek olduğu saptanmıştır. Ayrıca, aminoasit + yağ asidi desteği alan grubun (GRUP 3) vücut ağırlık ortalamasının, yüksek yağlı diyet ile beslenen kontrol grubu (GRUP 2) vücut ağırlık ortalamasından anlamlı derecede daha yüksek olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$).

Besin desteklerinin 31. günü ölçülen vücut ağırlık ortalamaları için; aminoasit + yağ asidi desteği alan grup (GRUP 3) ortalaması standart sıçan yemi ile beslenen kontrol grubunun (GRUP1) ortalamasından anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur. Besin desteklerinin 60. günü ölçülen vücut ağırlık ortalamalarında ise tüm grupların ortalamalarının, standart sıçan yemi ile beslenen kontrol grubu (GRUP 1) ortalamasından anlamlı derecede daha yüksek olduğu saptanmıştır ($p<0,05$).

Çalışma gruplarının 3 farklı tarihte elde edilen ağırlık düzeyleri ortalamalarının karşılaştırılması Tablo 6.5'te verilmiştir.

Tablo 6.5. Çalışma gruplarının çalışma başı, ortası ve sonundaki ağırlıklarının karşılaştırılması

	gün1		gün31		gün60		p
	Ort	ss	Ort	ss	Ort	ss	
Kontrol (STD + SF)	220,17	7,83	240,17	12,01	239,33	9,81	0,011*
HFD Kontrol (HFD+SF)	226,80	8,61	264,80	13,48	305,00	14,00	0,007*
HFD + BCAA + Omega 3 Grubu	257,67	21,34	291,50	34,18	305,17	43,43	0,042*
HFD + Deve Dikenı + Omega 3 Grubu	255,30	13,57	281,40	16,83	308,60	28,00	0,015*
HFD + BCAA + Deve Dikenı Grubu	255,90	13,67	262,00	18,10	274,60	16,96	0,015*
HFD + Omega 3 + BCAA + Deve Dikenı	254,67	23,70	263,17	31,81	273,67	26,40	0,016*

Friedman Testi * $p<0,05$

Buna göre tüm gruplardan elde edilen ağırlık ölçümlerinin 1., 31., ve 60. günler arasında anlamlı düzeyde farklılık gösterdiği sonucuna varılmıştır. Yalnızca sağlıklı kontrol grubunun 31. ve 60.günleri arasında anlamlı fark saptanmamıştır.

Besin desteği öncesi biyokimyasal kan parametreleri sonuçlarının gruplara göre ortalamalarının karşılaştırılmasına Tablo 6.6'da yer verilmiştir.

Tablo 6.6. Deney gruplarının besin destekleri öncesi biyokimyasal kan parametrelerinin karşılaştırılması

		n	Ortalama	Std. Sapma	p
ALT (U/L)	Kontrol (STD + SF)	6	23,88	4,46	0,000*
	HFD Kontrol (HFD+SF)	5	74,18	8,34	
	HFD + BCAA + Omega 3 Grubu	6	77,02	8,32	
	HFD + Deve Dikenı + Omega 3 Grubu	5	70,06	5,48	
	HFD + BCAA + Deve Dikenı Grubu	5	70,98	7,87	
	HFD + Omega 3 + BCAA + Deve Dikenı	6	74,10	9,04	
	Total	33	64,43	20,71	
AST (U/L)	Kontrol (STD + SF)	6	90,08	17,11	0,016*
	HFD Kontrol (HFD+SF)	5	58,20	3,78	
	HFD + BCAA + Omega 3 Grubu	6	69,22	8,39	
	HFD + Deve Dikenı + Omega 3 Grubu	5	62,90	4,21	
	HFD + BCAA + Deve Dikenı Grubu	5	66,16	5,93	
	HFD + Omega 3 + BCAA + Deve Dikenı	6	73,83	26,31	
	Total	33	70,76	16,83	
Kolesterol (mg/dl)	Kontrol (STD + SF)	6	62,05	8,02	0,000*
	HFD Kontrol (HFD+SF)	5	83,74	8,56	
	HFD + BCAA + Omega 3 Grubu	6	81,22	2,19	
	HFD + Deve Dikenı + Omega 3 Grubu	5	62,08	7,97	
	HFD + BCAA + Deve Dikenı Grubu	5	71,84	4,85	
	HFD + Omega 3 + BCAA + Deve Dikenı	6	76,67	5,99	
	Total	33	72,97	10,53	
Glikoz (mg/dl)	Kontrol (STD + SF)	6	115,08	18,74	0,000*
	HFD Kontrol (HFD+SF)	5	168,90	13,83	
	HFD + BCAA + Omega 3 Grubu	6	223,88	53,61	
	HFD + Deve Dikenı + Omega 3 Grubu	5	172,42	23,58	
	HFD + BCAA + Deve Dikenı Grubu	5	218,66	23,93	
	HFD + Omega 3 + BCAA + Deve Dikenı	6	158,43	6,11	

	Total	33	175,28	46,39	
Trigliserid (mg/dl)	Kontrol (STD + SF)	6	53,63	10,28	
	HFD Kontrol (HFD+SF)	5	64,10	7,17	
	HFD + BCAA + Omega 3 Grubu	6	81,53	18,76	
	HFD + Deve Dikeni + Omega 3 Grubu	5	38,76	16,05	0,000*
	HFD + BCAA + Deve Dikeni Grubu	5	69,54	9,63	
	HFD + Omega 3 + BCAA + Deve Dikeni	6	69,50	8,42	
	Total	33	63,33	17,89	

Kruskal Wallis, * $p < 0,05$

Buna göre besin desteği öncesi elde edilen bazı biyokimyasal kan parametreleri sonuçlarının tamamında gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmış olup, farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını tespit etmek için yapılan ikili karşılaştırmalara göre;

Standart sıçan yemi ile beslenen kontrol grubunun (GRUP 1) ALT değerleri ortalamasının, diğer tüm grupların ALT değerleri ortalamalarından anlamlı derecede daha düşük olduğu bulunmuştur.

Standart sıçan yemi ile beslenen kontrol grubunun (GRUP 1) AST değerleri ortalamasının, diğer tüm grupların AST değerleri ortalamalarından anlamlı derecede daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Biyokimyasal kan parametrelerinden kolesterol ölçümü için yapılan ikili karşılaştırma sonuçlarına göre; yüksek yağlı sıçan yemi ile beslenen kontrol grubu (GRUP 2) kolesterol değeri ortalamasının diğer tüm grupların kolesterol değerleri ortalamalarından anlamlı derecede daha yüksek olduğu saptanmıştır. Deney gruplarının birbirleri ile ikili karşılaştırma sonuçları incelendiğinde ise; aminoasit + yağ asidi desteği alması planlanan grubun (GRUP 3) kolesterol değeri ortalamasının, tüm besin desteklerinin kombine verildiği grup (GRUP 6), aminoasit + deve dikeni desteği alan grup (GRUP 5) ve deve dikeni + yağ asidi desteği alan grup (GRUP 4) kolesterol değerleri ortalamalarından anlamlı derecede daha yüksek olduğu sonucuna varılmıştır.

Standart sıçan yemi ile beslenen kontrol grubunun (GRUP 1) kan glikoz düzeyi ortalamasının, diğer tüm grupların kan glikoz düzeyi ortalamalarından anlamlı

derecede daha düşük olduğu saptanmıştır. Aminoasit + yağ asidi desteği alan grup (GRUP 3) ve aminoasit + deve dikenini desteği alan grubun (GRUP 5) kan glikoz düzeyi ortalamalarının; deve dikenini + yağ asidi desteği alan grup (GRUP 4), yüksek yağlı sıçan yemi ile beslenen kontrol grubu (GRUP 2) ve tüm besin desteklerinin kombine verildiği grubun (GRUP 6) kan glikoz düzeyi ortalamalarından anlamlı derecede daha yüksek olduğu bulunmuştur.

Deve dikenini + yağ asidi desteği alan grubun (GRUP 4) trigliserit değerleri ortalamasının, diğer tüm grupların trigliserit değerleri ortalamalarından anlamlı derecede daha düşük olduğu bulunmuştur. Aminoasit + yağ asidi desteği alan grubun (GRUP 3) trigliserit değeri ortalamasının, sırası ile aminoasit + deve dikenini desteği alan grup (GRUP 5), tüm besin desteklerinin kombine verildiği grup (GRUP 6), yüksek yağlı sıçan yemi ile beslenen kontrol grubu (GRUP 2) ve standart sıçan yemi ile beslenen kontrol grubu (GRUP 1) trigliserit değerleri ortalamalarından anlamlı derecede daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Besin desteği sonrası bazı biyokimyasal kan parametreleri sonuçlarının gruplara göre ortalamaları ve bu ortalamalar arasındaki farkın anlamlılığı Kruskal Wallis analizi ile incelenmiştir.

Tablo 6.7. Deney gruplarının besin destekleri sonrası bazı biyokimyasal kan parametrelerinin karşılaştırılması

		n	Ortalama	Std. Sapma	p
ALT (U/L)	Kontrol (STD + SF)	6	23,50	5,31	0,000*
	HFD Kontrol (HFD+SF)	5	113,66	11,14	
	HFD + BCAA + Omega 3 Grubu	6	46,23	8,52	
	HFD + Deve Dikeni + Omega 3 Grubu	5	25,00	2,97	
	HFD + BCAA + Deve Dikeni Grubu	5	35,78	5,65	
	HFD + Omega 3 + BCAA + Deve Dikeni	6	20,48	3,60	
	Total	33	42,83	32,34	
AST (U/L)	Kontrol (STD + SF)	6	90,25	18,16	0,128
	HFD Kontrol (HFD+SF)	5	62,74	7,73	
	HFD + BCAA + Omega 3 Grubu	6	88,58	27,08	

	HFD + Deve Dikenı + Omega 3 Grubu	5	67,22	9,54	
	HFD + BCAA + Deve Dikenı Grubu	5	100,78	20,75	
	HFD + Omega 3 + BCAA + Deve Dikenı	6	123,92	79,64	
	Total	33	90,01	40,76	
Kolesterol (mg/dl)	Kontrol (STD + SF)	6	62,40	8,43	
	HFD Kontrol (HFD+SF)	5	94,48	11,68	
	HFD + BCAA + Omega 3 Grubu	6	66,58	9,49	
	HFD + Deve Dikenı + Omega 3 Grubu	5	59,38	13,71	0,000*
	HFD + BCAA + Deve Dikenı Grubu	5	46,74	6,09	
	HFD + Omega 3 + BCAA + Deve Dikenı	6	54,67	5,80	
	Total	33	63,78	16,99	
Glikoz (mg/dl)	Kontrol (STD + SF)	6	122,42	19,79	
	HFD Kontrol (HFD+SF)	5	230,92	16,44	
	HFD + BCAA + Omega 3 Grubu	6	276,33	58,10	
	HFD + Deve Dikenı + Omega 3 Grubu	5	238,98	49,73	0,000*
	HFD + BCAA + Deve Dikenı Grubu	5	179,62	13,80	
	HFD + Omega 3 + BCAA + Deve Dikenı	6	173,12	7,73	
	Total	33	202,39	61,38	
Trigliserid (mg/dl)	Kontrol (STD + SF)	6	53,97	13,52	
	HFD Kontrol (HFD+SF)	5	107,28	40,22	
	HFD + BCAA + Omega 3 Grubu	6	69,62	23,31	
	HFD + Deve Dikenı + Omega 3 Grubu	5	63,90	27,05	0,009*
	HFD + BCAA + Deve Dikenı Grubu	5	54,76	14,53	
	HFD + Omega 3 + BCAA + Deve Dikenı	6	54,08	17,50	
	Total	33	66,54	28,70	

Kruskal Wallis, * $p < 0,05$

Buna göre besin desteği sonrası bazı biyokimyasal kan parametre sonuçlarından AST değeri gruplara göre anlamlı farklılık göstermezken, ALT, Kolesterol, Glikoz ve TG değerleri gruplara göre anlamlı farklılık göstermekte olup, anlamlı farklılık gösteren parametreler için farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını tespit etmek amacıyla yapılan ikili karşılaştırmalara göre;

Yüksek yağlı sıçan yemi ile beslenen kontrol grubunun (GRUP 2) biyokimyasal kan parametrelerinden ALT sonuç ortalamasının, diğer tüm grupların ALT sonuç ortalamalarından anlamlı derecede daha yüksek olduğu sonucuna varılmıştır. Diğer grupların ALT sonuç ortalamalarının ikili karşılaştırılmaları incelendiğinde sırası ile; aminoasit + yağ asidi desteği alan grubun (GRUP 3) ALT ortalamasının, aminoasit + deve dikenini desteği alan grup (GRUP 5), deve dikenini + yağ asidi desteği alan grup (GRUP 4), standart sıçan yemi ile beslenen kontrol grubu (GRUP 1) ve tüm besin desteklerinin kombine olarak verildiği grubun (GRUP 6) ALT ortalamalarından anlamlı derecede daha yüksek olduğu bulunmuştur. Besin destekleri sonrası en düşük ALT sonuç ortalamasının tüm besin desteklerinin kombine olarak verildiği (GRUP 6) grupta olduğu saptanmıştır.

Her ne kadar AST değeri gruplara göre anlamlı farklılık göstermese de; en düşük ve en yüksek AST sonuç ortalamaları incelendiğinde tüm besin desteklerinin kombine verildiği grubun (GRUP 6) AST sonuç ortalamasının, diğer tüm grupların AST sonuç ortalamalarından anlamlı derecede yüksek olduğu sonucuna varılmıştır. Gruplardan en düşük AST sonuç ortalamasının ise yüksek yağlı sıçan yemi ile beslenen kontrol grubunda (GRUP 2) olduğu saptanmıştır.

Kolesterol ölçümü ortalamalarının ikili karşılaştırma sonuçlarına bakıldığında, yüksek yağlı sıçan yemi ile beslenen kontrol grubunun (GRUP 2) kolesterol ölçüm ortalamasının diğer tüm grupların kolesterol ölçüm ortalamalarından anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur. Standart sıçan yemi ile beslenen kontrol grubu (GRUP 1) kolesterol ölçüm ortalamasının ise aminoasit + deve dikenini desteği alan grubun (GRUP 5) ortalamasından anlamlı derecede daha yüksek olduğu saptanmıştır. Trigliserit ölçüm ortalamalarında ise yüksek yağlı sıçan yemi ile beslenen grubunun (GRUP 2), diğer tüm grupların trigliserit ölçüm ortalamalarından anlamlı derecede daha yüksek olduğu sonucuna varılmıştır.

Son olarak kan glikoz düzeyi sonuçları ortalamaları incelendiğinde, aminoasit + yağ asidi desteği alan grubun (GRUP 3) sonuç ortalamasının, standart sıçan yemi ile beslenen kontrol grubu (GRUP 1), yüksek yağlı sıçan yemi ile beslenen kontrol grubu (GRUP 2), aminoasit + deve dikenini desteği alan grup (GRUP 5) ve tüm besin desteklerinin kombine verildiği grupların (GRUP 6) kan glikoz düzeyi

ortalamlarından anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur. Standart sıçan yemi ile beslenen kontrol grubu (GRUP 1) kan glikoz düzeyi ortalamasının, aminoasit + deve dikenini desteği alan grup (GRUP 5), tüm besin desteklerinin kombine verildiği grup (GRUP 6) ve yüksek yağlı sıçan yemi ile beslenen kontrol grubunun (GRUP 2) kan glikoz düzey ortalamalarından anlamlı derecede daha düşük olduğu sonucuna varılmıştır. Yüksek yağlı diyet ile beslenen kontrol grubunun (GRUP 2) kan glikoz düzeyi ortalamasının aminoasit + deve dikenini desteği alan grup (GRUP 5) ve tüm besin desteklerinin kombine verildiği grubun (GRUP 6) kan glikoz düzey ortalamalarından anlamlı derecede daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Gruplarda besin desteği öncesi ve sonrası biyokimyasal kan parametrelerinin ortalamaları ve bu ortalamalar arasındaki farkın anlamlı olup olmadığı incelenmiştir (Tablo 6.8 – Tablo 6.13).

Tablo 6.8. Standart sıçan yemi ile beslenen kontrol grubunda çalışma başı ve sonundaki biyokimyasal kan parametrelerinin karşılaştırılması

	GRUP 1 (n=6)	Çalışma Başlangıcı		Çalışma Sonu		p
		Ort	ss	Ort	ss	
ALT	6	23,9	4,5	23,5	5,3	0,472
AST	6	90,1	17,1	90,3	18,2	0,821
Kolesterol	6	62,1	8,0	62,4	8,4	0,651
Glikoz	6	115,1	18,7	122,4	19,8	0,352
Trigliserid	6	53,6	10,3	54,0	13,5	0,875

a. grup = Kontrol (STD + SF)

Buna göre standart sıçan yemi ile beslenen kontrol grubunda (GRUP 1) çalışmanın başı ve sonundaki kan parametreleri ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır.

Tablo 6.9. Yüksek yağlı diyet ile beslenen kontrol grubunda çalışma başı ve sonundaki biyokimyasal kan parametrelerinin karşılaştırılması

	GRUP 2 (n=5)	Çalışma Başlangıcı		Çalışma Sonu		p
		Ort	ss	Ort	ss	
ALT	5	74,18	8,34	113,66	11,14	0,000*
AST	5	58,20	3,78	62,74	7,73	0,200
Kolesterol	5	83,74	8,56	94,48	11,68	0,014*
Glikoz	5	168,90	13,83	230,92	16,44	0,001*
Trigliserid	5	64,10	7,17	107,28	40,22	0,045*

a. grup = HFD Kontrol (HFD+SF) ; *p<0,05

Yüksek yağlı sıçan yemi ile beslenen kontrol grubunda (GRUP 2) ALT, kolesterol, glikoz ve TG değerleri, besin desteği sonrasında besin desteği öncesine göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. AST düzeyi besin desteği öncesi ve sonrasında anlamlı bir değişiklik göstermemiştir.

Tablo 6.10. Dalı zincirli aminoasit ve omega-3 yağ asidi desteği alan grupta besin desteği öncesi ve sonrasındaki biyokimyasal kan parametrelerinin karşılaştırılması

	GRUP 3 (n=6)	Besin Desteği Öncesi		Besin Desteği Sonrası		p
		Ort	ss	Ort	ss	
ALT	6	77,02	8,32	46,23	8,52	0,000*
AST	6	69,22	8,39	88,58	27,08	0,090
Kolesterol	6	81,22	2,19	66,58	9,49	0,012*
Glikoz	6	223,88	53,61	276,33	58,10	0,006*
Trigliserid	6	81,53	18,76	69,62	23,31	0,051

a. grup = HFD+BCAA+Omega 3 Grubu; *p<0,05

Aminoasit + yağ asidi desteği alan grupta ALT ve kolesterol değerleri, besin desteği sonrasında besin desteği öncesine göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Glikoz değerinin ise besin desteği sonrasında besin desteği öncesine göre anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır. AST ve TG düzeyleri besin desteği öncesi ve sonrasında anlamlı bir değişiklik göstermemiştir.

Tablo 6.11. Deve dikenini ve omega-3 yağ asidi desteği alan grupta besin desteği öncesi ve sonrasındaki biyokimyasal kan parametrelerinin karşılaştırılması

	GRUP 4 (n=5)	Besin Desteği Öncesi		Besin Desteği Sonrası		p
		Ort	ss	Ort	ss	
ALT	5	70,06	5,48	25,00	2,97	0,000*
AST	5	62,90	4,21	67,22	9,54	0,196
Kolesterol	5	62,08	7,97	59,38	13,71	0,484
Glikoz	5	172,42	23,58	238,98	49,73	0,031*
Trigliserid	5	38,76	16,05	63,90	27,05	0,009*

a. grup = HFD + Deve Dikeni + Omega 3 Grubu;

*p<0,05

Deve dikenini + yağ asidi desteği alan grupta glikoz ve TG değerleri, besin desteği sonrasında besin desteği öncesine göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. ALT değerinin ise besin desteği sonrasında besin desteği öncesine göre anlamlı derecede düşük olduğu saptanmıştır. AST ve kolesterol düzeyleri besin desteği öncesi ve sonrasında anlamlı bir değişiklik göstermemiştir.

Tablo 6.12. Dalı zincirli aminoasit ve deve dikenini desteği alan grupta besin desteği öncesi ve sonrasındaki biyokimyasal kan parametrelerinin karşılaştırılması

	GRUP 5 (n=5)	Besin Desteği Öncesi		Besin Desteği Sonrası		p
		Ort	ss	Ort	ss	
ALT	5	70,98	7,87	35,78	5,65	0,001*
AST	5	66,16	5,93	100,78	20,75	0,009*
Kolesterol	5	71,84	4,85	46,74	6,09	0,002*
Glikoz	5	218,66	23,93	179,62	13,80	0,002*
Trigliserid	5	69,54	9,63	54,76	14,53	0,010*

a. grup = HFD + BCAA+ Deve Dikeni ; *p<0,05

Aminoasit ve deve dikenini desteği alan grupta ALT, kolesterol, glikoz ve TG değerleri, besin desteği sonrasında besin desteği öncesine göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur. AST değerinin ise besin desteği sonrasında besin desteği öncesine göre anlamlı derecede daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Tablo 6.13. Besin desteklerinin kombine verildiği grupta besin desteği öncesi ve sonrasındaki biyokimyasal kan parametrelerinin karşılaştırılması

	GRUP 6 (n=6)	Besin Desteği Öncesi		Besin Desteği Sonrası		p
		Ort	ss	Ort	ss	
ALT	6	74,10	9,04	20,48	3,60	0,000*
AST	6	73,83	26,31	123,92	79,64	0,193
Kolesterol	6	76,67	5,99	54,67	5,80	0,001*
Glikoz	6	158,43	6,11	173,12	7,73	0,017*
Trigliserid	6	69,50	8,42	54,08	17,50	0,028*

a. grup = HFD + Omega 3 + BCAA + Deve Dikeni ;

*p<0,05

Tüm besin desteklerinin (dallı zincirli aminoasit, omega 3 yağ asidi ve deve dikeni) kombine verildiği grupta ALT, kolesterol ve TG değerleri, besin desteği sonrasında besin desteği öncesine göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Glikoz değerinin ise besin desteği sonrasında besin desteği öncesine göre anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır. AST düzeyi besin desteği öncesi ve sonrasında anlamlı bir değişiklik göstermemiştir.

7.TARTIŞMA

1980'lerden günümüze, obezite salgınının hem yetişkin hem de pediatrik popülasyonda hızla artış gösterdiği ve son 40 yılda bu salgının, dünya genelinde sunulan sağlık sistemlerine meydan okuduğu bildirilmiştir. Obezite insidansı ile sıkı ilişkisi olduğu bildirilen NAFLD, basit steatoz, steatohepatit, karaciğer fibrozu, siroz ve hepatoselüler karsinom gibi karaciğer hastalıklarını kapsamakta olup, beslenme alışkanlıkları ve ilaçlar gibi çeşitli kimyasalların insanlarda ve rodentlerde (kemirgenler) hepatik steatoza neden olduğu pek çok çalışmada gösterilmiştir (16, 21, 22, 96, 110).

İnsülin direnci, tip 2 diyabet, metabolik sendrom ve obezite ile ilişkili olan NAFLD, pediatrik popülasyonda en sık görülen karaciğer hastalıklarının nedenini oluşturmakta olup, 2015 yılında Anderson ve arkadaşları tarafından yapılan sistemik meta analiz çalışmasına göre pediatrik NAFLD prevalansının genel pediatrik popülasyonda %7,6 ve obez pediatrik popülasyonda %34 olduğu belirtilmiştir (111). Pediatrik NAFLD prevalans değişikliklerinin, incelenen popülasyonlardaki etnik yapı ve ırk farklılıklarından kaynaklanabileceği bildirilmiş olup, obeziteden bağımsız olarak incelenen pediatrik popülasyonlarda İspanyol çocukların Meksika kökenli çocuklara göre daha yüksek NAFLD riskine ve ilerlemiş karaciğer fibrozisine yatkın oldukları, buna karşın en az riskin siyahi çocuklarda olduğu bildirilmiştir (14, 112). Hastalık pediatrik Zencilerde %1,5, beyazda %8,6, Asyalılarda %10,2, İspanyollarda %11,8, prevalansa sahip iken, ülkemizde prevalansının %30'dan fazla olduğu tahmin edilmektedir (26, 113, 114).

Yetişkinlerde NAFLD iyi huylu, potansiyel olarak geri dönüşümlü ve yavaş ilerleyen karaciğer hastalığı olarak kabul edilirken, özellikle Batı dünyasında çocukluk ve adolesan dönemde bu hastalığın hızla hepatik yetmezliğe ilerleyebileceği ve önümüzdeki 10 yıl içinde karaciğer transplantasyonu endikasyonu haline gelebileceği bildirilmiştir (27, 115). Bu endişe verici kanıtlara rağmen, bugüne kadar ne çocuklarda ne de yetişkinlerde NAFLD için onaylanmış bir farmakolojik tedavi bulunmadığı, en iyi ve en etkili tedavi yaklaşımının hala beslenme ve egzersiz temel olmak üzere yaşam tarzı değişikliklerine dayandığı vurgulanmaktadır. Bununla birlikte, pediatrik hastaların bu yaklaşımlara uyumunun çok düşük olması ve genellikle uzun vadede

zayıf bir başarı oranı bulunması nedenleri ile diyet takviyelerinin kullanılması verimli bir çalışma alanını temsil etmektedir; ancak yayınlanan bilimsel verilerin henüz beklentileri karşılayamadığı bildirilmiştir (15, 60, 61, 88, 116, 117).

Mevcut güncel literatürde, pediatrik NAFLD'da omega-3, dallı zincirli aminoasit ve deve dikeninin etkililiğinin ayrı ayrı incelendiği az sayıda çalışma bulunmasına rağmen, ilgili besin desteklerinin kombinasyonlarının incelendiği bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

7.1.Vücut Ağırlığının Değerlendirilmesi

İnsanlarda görülen NAFL/NASH'in patofizyolojik bulgularını, biyokimyasal değişikliklerini, morfolojik ve klinik özelliklerini temsil edebilmesi amacı ile çeşitli hayvan modelleri geliştirilmiştir (118). Her ne kadar geliştirilen bu modeller insanlarda görülen metabolik sendrom benzeri bir durumu oluşturmayı hedeflese de, oluşturulan hayvan modellerinin çoğu klinik, metabolik veya morfolojik açıdan farklılık göstermekte olup, özellikle rodentlerde (sıçanlar ve fareler) lobüle edilmemiş karaciğer anatomisi en belirgin fark olarak belirtilmiştir (118, 119, 120).

Hayvan modelleri ile yapılan çalışmalarda olası diyet manipülasyonlarının belirli bir genetik alt yapı ile birleşmesinin genellikle karaciğer hasarını arttırabileceği ifade edilmektedir (119, 120). Yapılan çalışmalarda, beslenme ile oluşturulan modellerin kötü beslenme alışkanlıklarını ve obeziteyi taklit etmeyi amaçladığı ve sonucunda insanlarda görülen histopatolojik bulgular ile tutarlı, karaciğer hasarı, steatozis, lobüler inflamasyon, balonlaşma ve perivenüler fibrozis oluşumunu hedeflediği görülmektedir (118). Özellikle yüksek yağlı diyet içeriği ile oluşturulan modellerde, vücut yağ kütlesi ve mezenterik adipoz doku boyutunun artışına bağlı olarak vücut ağırlığında artış gözlemlendiği bildirilmiştir (121, 122, 123, 124).

Sprague-Dawley gibi outbred suşlardan (Bir sıçanın ırkını ifade eden bu kavram uzak akraba yetiştirilen türleri açıklamada kullanılmaktadır. Öyle ki; gelişmiş ülkelerde laboratuvar sıçanlarının genetik standardizasyonunun sağlanması amacı ile iki şekilde üretildikleri bilinmektedir; bunlardan biri outbred olarak belirtilen uzak akraba yetiştirme/ soy dışı üretim iken, diğeri inbred olarak adlandırılan yakın akraba yetiştirme/ kendi içinde melezleşme yöntemidir.) türeyen sıçanlarda, yüksek yağlı

diyet ile oluşturulan obezitede farklılıklar olabileceği belirtilmiş olup, bazı sıçan türlerinin yüksek yağlı beslenme sonucu hiperfaji ve vücut ağırlık artışı gibi obezogenik yatkınlığa sahip olabileceği, buna karşın diğer türlerin direnç gösterebileceği bildirilmiştir (125).

2016 yılında Marques ve ark.'nın, yüksek yağlı diyet ile oluşturulan obezite modelini araştırdıkları çalışmalarında, Wistar ve Sprague-Dawley cinsi iki farklı suş kullanılmıştır. 12 adet erkek Wistar ve 12 adet erkek Sprague-Dawley cinsi sıçan standart ve yüksek yağlı diyet ile beslenecek şekilde gruplara ayrılmıştır. 17 hafta boyunca belirlenen beslenme şekline uygun olarak barındırılan sıçanlardan elde edilen verilere göre, yüksek yağlı diyet ile beslenmenin her iki suşta da hem vücut yağ kütlesinde hem de vücut ağırlıklarında istatistiksel olarak anlamlı ve önemli artışa neden olduğu saptanmıştır. Suşa özgü farklılığın da ortaya konduğu bu çalışmada vücut ağırlık artışı Wistar erkeklerde 4. haftada başlarken, Sprague-Dawley erkeklerde vücut ağırlık artışının 7. haftada gerçekleştiği bildirilmiştir (122).

Lv ve ark.'nın, 4- 6 haftalık, 24 adet erkek C57BL/6 fareleri ile yapmış oldukları çalışmada, 12 hafta boyunca, 6 fare standart fare yemi ile beslenirken, 18 fare yüksek yağlı diyet ile beslenmiştir. Çalışmanın sonunda karaciğer ve vücut ağırlığı değişimi farkının, yüksek yağlı diyet ile beslenen grupta standart diyet grubuna göre artmış olduğu bulunmuştur (126).

Bu çalışmada literatüre benzer bir sonuç bulunmuş olup, yüksek yağlı diyet ile beslenmesi planlanan ve deney grubu olarak belirlenen 5 grupta (HFD Kontrol, HFD+BCAA+Omega3, HFD+Deve Diken+Omega3, HFD+BCAA+Deve Diken, HFD+Omega3+BCAA+Deve Diken) yüksek yağlı diyetin başlandığı ilk gün ölçülen vücut ağırlıklarının 7 haftanın sonunda (herhangi bir besin desteği müdahalesi yapılmadan önce) arttığı ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır (Tablo 6.3).

Rodentler üzerinde yapılan deneysel NAFLD da hayvanlara uygulanan beslenme modellerinden yüksek yağlı diyet modeli özellikle Batı tarzı beslenme kültürüne benzemesi ve insan beslenmesini taklit etmesi nedeni ile en çok tercih edilen yöntem olarak bildirilmiştir; ancak rodentler üzerinde oluşturulan bu modellerde

doymuş, tekli doymamış ve çoklu doymamış yağ asitlerinin etkisi bilinmemektedir (118, 127).

Popescu ve ark.'nın 18 – 20 gr ağırlığında, NMRI cinsi, 50 erkek fare ile, alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığında diyet ve omega 3 yağ asitlerinin etkisini 1 ay süre ile inceledikleri çalışmalarında, yüksek yağlı diyetle beslenen ve omega3 takviyesi almayan farelerin 1 ay sonunda vücut ağırlıklarının 45 grama ulaştığı ve hem vücut hem de karaciğer ağırlıklarının önemli artış gösterdiği bildirilmiş olup, omega 3 desteği alan gruptaki hayvanların vücut ağırlık artışlarının istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bildirilmiştir (128).

Godea (Lupei) ve ark. 2020 yılında, 5 haftalık, başlangıç ağırlıkları 150 ± 10 g olan Wistar cinsi sıçanlarda, 42 gün süreyle yüksek yağ ve standart içerikli diyetlere omega 3 takviyesi eklenmesinin vücut ağırlığına ve ağırlık kazanımına olan etkisini inceledikleri çalışmalarında, ağırlık kazanımının gruplara göre değişken olduğu; en yüksek vücut ağırlık artışının PUFA desteği almayan yüksek yağlı diyet ile beslenen grupta olduğu; yüksek yağlı diyet grubuna PUFA takviyesi yapılmasının ağırlık kazanımına karşı nispeten koruma sağladığı bulunmuştur. Ayrıca standart diyet ile beslenen gruba PUFA desteği uygulanmasına bağlı olarak vücut ağırlık artışının daha az olduğu bildirilmiştir (129).

Yukarıdaki çalışmaların aksine bizim çalışmamızda, deney grubu olarak belirlenen 5 grupta (HFD Kontrol, HFD+BCAA+Omega3, HFD+Deve Dikeni+Omega3, HFD+BCAA+Deve Dikeni, HFD+Omega3+BCAA+Deve Dikeni) yüksek yağlı diyet ile beslenmeye ek olarak besin desteklerinin verilmeye başlandığı ilk gün ölçülen vücut ağırlıklarının, 9 haftanın sonunda arttığı ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır ($p < 0,005$; Tablo 6.5). Bu çalışmaya benzer sonuçlar Li ve ark.'nın 1 haftalık yeni doğmuş 40 domuz yavrusu ile 4 hafta süresince yapmış oldukları çalışmada gösterilmiş olup, sütten kesilerek belirlenen diyet protokolüne uygun beslenen domuzların diyetlerine omega-3 PUFA eklenmesinin, günlük ağırlık kazanımı, günlük tüketilen ortalama yem miktarı ve büyüme / yem oranı değerlerinde önemli iyileşme sağlamadığı, domuzların ağırlık kazanımlarının devam ettiği saptanmıştır (130). Ağırlık kazanımının besin desteği uygulanmasına rağmen devam ettiğini gösteren ve hem literatür çalışmaları hem de bizim çalışmamız ile

örtüşen bu sonuçların, ya besin desteklerinin vücut ağırlık kazanımı üzerinde koruyucu olmamasına ya da hayvanların hızlı büyüyen organizmasına bağlı olduğu düşünülmektedir. Öyle ki Sengupta, sıçanlar üzerinde yapılan çalışmalarda, hayvanlar ile insanların yaşam ömürleri arasındaki korelasyonun net olmamasından yola çıkarak, bir sıçanın tüm yaşam evrelerinin insan ömrüne oranını araştırmıştır. Sengupta'nın yapmış olduğu bu çalışmada, laboratuvarında barındırılan sıçanların ortalama yaşam ömrü 2 – 3,5 yıl (ortalama 3 yıl), insanların ortalama yaşam ömrü ise 80 yıl olarak kabul edilmiştir. $(80 \times 365) \div (3 \times 365) = 26.7$ insan günü = 1 sıçan günü ve $365 \div 26.7 = 13.8$ sıçan günü = 1 insan yılı sonucuna varılan çalışma, sıçanların bebeklik döneminde hızla geliştiğini ve yaklaşık 6 haftalıkken cinsel olarak olgunlaştığını, buna karşın insanların daha yavaş gelişim gösterdiği ve 11 – 12 yaşlarında adölesan dönemin başladığı belirtilmiştir (131). Dolayısıyla, bizim çalışmamızda sıçanlar bebeklik – çocukluk ve ergenlik dönemlerinde oldukları için büyümek zorundalardı ve bu nedenle vücut ağırlık kazanımlarının artış göstermesi normal kabul edilmiştir.

Vücut ağırlığı üzerinde sadece yüksek yağlı diyet veya standart diyet ile beslenme modeli etkili olmayıp, literatürde deve dikenini ve dallı zincirli aminoasitler gibi bazı besin desteklerinin de etkili olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur.

Sayin ve ark.'nın, ağırlıkları 80 – 100 gr arasında değişen, 40 erkek Sprague-Dawley cinsi sıçan üzerinde 11 hafta süresince yapmış oldukları çalışmalarında, sıçanlar 4 gruba ayrılmış ve birinci grubun 11 hafta standart diyet, ikinci grubun 11 hafta yüksek yağlı diyet, üçüncü grubun 7 hafta yüksek yağlı diyet + 4 hafta deve dikenini desteği ve dördüncü grubun 11 hafta yüksek yağlı diyet + deve dikenini desteği olacak şekilde beslenmeleri sağlanmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre, deve dikenini desteğinin 11 hafta boyunca verilmesinin (dördüncü grupta) vücut ağırlığında anlamlı azalma sağladığı, ancak son 4 hafta deve dikenini desteği verilmesinin (üçüncü grup), sadece yüksek yağlı diyet ile beslenen gruba (ikinci grup) kıyasla anlamlı azalma sağlamadığı bulunmuştur (132).

Guo ve ark. tarafından yapılan başka bir çalışmada, 6 – 8 haftalık, erkek C57BL / 6 farelerinde obezite ve insülin direncini indüklemek için 14 hafta boyunca yüksek yağlı diyet ile beslenme modeli uygulanmış ve farelere 18 gün boyunca farklı miktarlarda deve dikenini desteği verilmiştir. Çalışmanın sonunda yüksek yağlı diyet ile

beslenen farelerin vücut ağırlığı diğer tüm gruplardan anlamlı derecede yüksek bulunmuş ve deve dikenini desteklerinin, diyet kaynaklı obez farelerde vücut ağırlık kaybına neden olduğu, epididimal yağ kütlesi ve yağ indeksini önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir (133).

Henüz yeni yayınlanan, Ma ve ark.'larının, 4 haftalık, erkek, C57BL/6J fareleri ile 10 hafta süresince yürütmüş oldukları çalışmalarında, hayvanlar her grupta 10 fare olacak şekilde dört gruba ayrılmış ve gruplar YYD + su, YYD + %1,5 lörin, YYD + %1,5 izolörin ve YYD + %0,75 lörin + %0,75 izolörin ile beslenecek şekilde düzenlenmiştir. Yüksek yağlı diyet + su grubuna kıyasla diğer tüm gruplarda yer alan yüksek yağlı beslenme kaynaklı obez olan farelerde, dallı zincirli aminoasitlerin diyetle eklenmesinin, enerji alımını değiştirmeden vücut ağırlığı ve beyaz adipoz doku (WAT) ağırlığını azalttığı saptanmıştır (134).

Bizim çalışmamızda, verilen besin destekleri kombinasyonlarını (omega 3 + dallı zincirli aminoasit, deve dikenini + omega 3, dallı zincirli aminoasit + deve dikenini ve omega 3 + deve dikenini + dallı zincirli amino asit) alan gruplarda vücut ağırlık kazanımlarının daha az olması beklenmesine rağmen; çalışmamızın sonunda tüm deney gruplarının besin desteklerinin 60. günü ölçülen vücut ağırlık ortalamalarının, standart sıçan yemi ile beslenen kontrol grubu (GRUP 1) vücut ağırlık ortalamasından anlamlı derecede daha yüksek olduğu saptanmıştır (Tablo 6.4). Hem hızlı büyüyen bir organizma olması, hem sıçanların yaş faktörü hem de yüksek yağlı beslenme şeklinin, besin desteklerinin kilo kontrolü üzerindeki etkisinin azalmasına ve deney gruplarının vücut ağırlıklarının beklenen şekilde sonuçlanmamasına neden olduğu düşünülmektedir.

7.2.Biyokimyasal Bulguların Değerlendirilmesi

Yapılan hayvan modelleri ve klinik çalışmalarda yüksek alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) düzeylerinin nonspesifik hepatoselüler hasarı yansıttığı belirtilmiş olup, NAFLD veya NASH de özellikle ALT seviyelerinin normalin 2 ila 4 katı artış gösterdiği bildirilmiştir (135). Yapılan pek çok çalışmada yüksek yağlı beslenme ile oluşturulan hayvan modellerinde, vücut ağırlık artışının bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkisi değerlendirilmiştir.

Fakhoury-Sayegh ve ark., 6 haftalık, Wistar sıçanlarda 16 hafta süreyle dört farklı diyet tüketimi sonrası indüklenen NAFLD'nin özelliklerini inceledikleri çalışmalarında, yüksek yağlı diyet ile beslenen grupta birinci haftaya kıyasla 16 haftanın sonunda hem vücut ağırlığı hem de karaciğer ağırlığının arttığı ve daha yüksek serum ALT, trigliserit ve adiponektin seviyeleri gözlemlendiği bildirilmiştir (136).

Wong ve ark.'ları yüksek karbonhidratlı yüksek yağlı diyet modeli geliştirmiş ve bu beslenme modelini 12 hafta süre ile uygulamışlardır. Başlangıç değerlerine kıyasla 8 haftanın sonunda lipid profillerinden total kolesterol, trigliserit ve LDL kolesterol düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde daha yüksek olduğunu bulmuşlardır (137).

Moon ve ark. da yüksek yağlı diyet ile oluşturulan NAFLD modelinde bazı metabolik belirteçlerin değişimini incelemiş ve yüksek yağlı beslenen sıçanlarda ALT ve LDL kolesterol düzeylerinin standart diyet ile beslenen sıçanlara göre 4. ve 6. haftalarda önemli ölçüde arttığını, ancak 6 haftalık diyet süresince AST, HDL, total kolesterol ve glikoz seviyelerinde anlamlı bir fark olmadığını saptamışlardır (138). Bizim çalışmamızda, genel literatür bilgileri ile uyumlu olarak standart sıçan yemi ile beslenen sağlıklı kontrol grubunun çalışmanın başında ölçülen biyokimyasal parametrelerinden ALT, Total Kolesterol ve Glikoz seviyelerinin, deney grubu olarak belirlenen ve 7 hafta boyunca sadece ad libitum yüksek yağlı sıçan yemi ve su ile beslenen diğer tüm gruplarınkinden anlamlı derecede daha düşük olduğu saptanmış olup, AST değeri ortalamasının ise, diğer tüm grupların AST değerleri ortalamalarından anlamlı derecede daha yüksek olduğu bulunmuştur.

Bazı çalışmalarda daha yüksek AST düzeyi histopatolojik olarak NAFLD'nin bir yansıması olarak değerlendirilmiştir. Öyle ki, Esposito ve ark.'nın Sprague Dawley sıçanlarda, 3 hafta süreyle standart ve yüksek yağlı likit diyet uygulayarak modelledikleri ve hepatik inflamasyonun değerlendirildiği çalışmada, yüksek yağlı diyet alan grubun AST ortalamasının diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı bulunmuştur (139). Bu çalışmanın aksine bizim çalışmamızda, sağlıklı kontrol grubu olarak belirlenen grubun AST değer ortalamasının, deney grupları AST değer ortalamalarından anlamlı derecede daha yüksek olduğu bulunmuş olup, hem AST değerinin sadece karaciğer fonksiyon testi olarak değerlendirilmemesi hem de

genetik yatkınlık nedenli maternal faktörlerin bu sonuç üzerinde etkili olabileceği düşünülmektedir.

Omega-3 / omega-6 çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA), inflamasyonun düzenlenmesinden sorumlu olduğu, ancak son otuz yılda, w-6/w-3 PUFA oranının özellikle Modern Batı diyetinde önemli ölçüde değiştiği ve günlük w-6 PUFA alımında önemli bir artış görüldüğü bilinmektedir. Bu artış, metabolik homeostaz ve inflamasyon yönetiminin değişmesine, NASH ve NAFLD'nin patogenezi oluşturan hipertrigliseridemi, obezite, insülin direnci, dislipidemi gibi çeşitli metabolik hastalıklara duyarlılığın artmasına neden olmuştur. Ayrıca PUFA'ların oksidasyona maruziyetinin NAFLD ile ilişkilendirilebileceği bildirilmiştir (8, 14, 31, 74, 140)

NAFLD, artmış hepatik trigliserit birikimi sonucu, serbest kolesterol miktarının ve sentezinin artması ile paralel olup, suppleman olarak kullanılan w-3 yağ asitlerinin plazma trigliserit konsantrasyonlarını önemli ölçüde azalttığı ve intrahepatoselüler trigliserit içeriğini düşürdüğü bulunmuştur (81).

Chiu ve ark.'ı, altı haftalık, Sprague-Dawley cinsi yüksek yağlı beslenen erkek sıçanlara, 8 hafta boyunca verilecek %5'lik balık yağı takviyesinin, kan, karaciğer ve adipoz dokudaki lipid homeostazisine etkisini araştırmışlardır. Çalışmanın sonunda kan lipid profilleri ve karaciğer hasarının özellikleri açısından gruplar arasındaki farklılıklar incelendiğinde, yüksek yağlı beslenen ve balık yağı desteği almayan grubun, plazma total kolesterol, VLDL, LDL, AST, ALT seviyelerinin normal kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olduğu; buna karşın, yüksek yağlı beslenen sıçanların yemlerinin içine %5 balık yağı eklenmesinin, sadece yüksek yağlı beslenen sıçan grubuna kıyasla plazma trigliserit seviyelerinde önemli bir azalma gösterdiği ve sıçanlarda kan, karaciğer ve yağ dokularında HFD'nin neden olduğu lipid homeostaz dengesizliğini iyileştirdiği bildirilmiştir (141).

Vijaimohan ve ark.'nın yüksek yağlı beslenen sıçanlara alfa linolenik asit kaynağı olarak keten tohumu yağı verilmesinin büyüme ve hepatik kolesterol metabolizması üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında, keten tohumu yağı takviyesinin (omega 3 takviyesi) yüksek yağlı diyet ile beslenen sıçanlarda vücut ağırlık artışı, karaciğer ağırlığı, plazma kolesterol, trigliserit, fosfolipit, serbest yağ asidi, HDL, LDL, VLDL düzeylerindeki artışı önemli ölçüde azalttığı saptanmıştır.

Ayrıca keten tohumu yağının standart diyet ile beslenen grubun büyüme eğrilerinde olumsuz bir etkiye neden olmadığı bildirilmiştir (142).

EPA ve DHA'nın etkileri aynı olmamakla birlikte; steatoz, inflamasyon ve fibrozis düzeylerinin iyileştirilmesinde DHA antiinflamatuvar etkiye sahip olması nedeni ile daha güçlü bulunmuştur. Hong ve ark.'ları, 2019 yılında, EPA ve DHA'nın farklı etkilerinin saptanması amacı ile fareler üzerinde çalışma yapmışlardır. Çalışmanın sonucunda DHA ve EPA yağ asitleri karaciğer hasarı belirteci olan ALT, AST düzeylerini ve hepatik lipit birikimini azaltarak hepatik steatozun önlenmesinde etkili olurken; yağ asidi metabolizmasında aynı etkiyi gösteremedikleri saptanmıştır (143).

Benzer şekilde, son yıllarda klinik pratikte yapılan bir randomize çalışmanın sonucu olarak obez veya fazla kilolu olan 64 pediatrik NAFLD hastasında DHA ve EPA'nın plaseboya kıyasla serum ALT düzeyi, hepatik steatoz veya insülin direnci üzerinde etkisinin olmadığı bulunmuştur (144).

Omega 3 takviyelerinin NAFLD hastaları üzerindeki etkinliğini araştıran klinik çalışmalarda tutarsız sonuçlar bildirilmiştir. Randomize kontrollü ve randomize olmayan kontrollü çalışmalardan elde edilen üç meta analiz sonucunda, NAFLD hastalarında w-3 tedavisinin kontrol hastalarına kıyasla hepatik yağ üzerinde olumlu etki sağladığı bildirilmiş olup; karaciğer enzimleri üzerinde tartışmalı etkiler göstererek serum ALT düzeyi ile karaciğer steatozunu etkilemediği bildirilmiştir (78).

Bulgulardaki tutarsızlıklar, omega-3 takviyesinin dozu, süresi, çalışılan örneklem yaşı ve klinik durumu ile ilişkilendirilse de omega 3 yağ asitlerinin NAFLD nedenli bozulmuş kan biyokimyası üzerinde düşük etkisi olduğu düşünülmektedir.

Bu çalışmada yüksek yağlı diyet ile beslenen sıçanlara tek başına omega-3 takviyesi yapılmamış olup, omega 3 desteği, başka bir besin desteği ile birlikte verilmiştir. Grupların kolesterol, ALT ve trigliserit ölçümü ortalamalarının ikili karşılaştırma sonuçlarına bakıldığında, yüksek yağlı sıçan yemi ile beslenen kontrol grubunun (grup 2) kolesterol, ALT ve trigliserit ölçüm ortalamasının diğer tüm grupların ölçüm ortalamalarından anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur (Tablo 6.7). Omega 3 desteği alan grupların (grup 3, grup 4, grup 6) kan parametreleri

karşılaştırıldığında, en düşük ALT, total kolesterol, trigliserit, plazma glikoz düzeylerinin tüm besin desteklerinin kombine verildiği grupta (grup 6) olduğu saptanmıştır (Tablo 6.7). Dallı zincirli aminoasit ve deve dikenini desteği alan; ancak omega 3 desteği almayan grubun (grup 5), kan kolesterol düzeyinin tüm besin desteklerini kombine olarak alan grubunkinden daha düşük; trigliserit ortalamasının neredeyse eşit ve kan glikoz düzeyi ortalamasının ise benzer olduğu saptanmıştır. Besin desteği olarak kullanılan omega 3 yağ asitlerinin, kombinasyon tedavisi olarak kullanılmasının kan biyokimyasını iyileştirici özelliği yönünden büyük fark yaratmadığı sonucuna varılmıştır. Özellikle omega 3 yağ asitlerinin iştah metabolizması üzerindeki etkilerinin sonuçları etkilemiş olabileceği düşünülse de, çalışmamızda sıçanların günlük tükettikleri yem miktarları ölçülmediği için bu konuda net bir yorum yapılamamaktadır.

Perivenöz (bölge 3) hepatositlerde (ağırlıklı olarak lipogenezin gerçekleştiği bölgelerdir) steatoz, NAFLD / NASH'ın patolojik bir özelliğidir; ancak, bu patolojik özelliğin mekanizmaları belirsizliğini korumaktadır. Kakazu ve ark. NAFLD / NASH hastalarında BCAA'ların hepatik steatozun heterojenliği ile ilişkili olduğunu, BCAA metabolizmasındaki bir değişikliğin NAFLD / NASH'ın patolojik bir durumu olabileceğini belirtmişlerdir (145, 146).

Sirozlu hastalarda uzun süreli BCAA supplemantasyonun, hepatik semptomları azaltarak, klinik sonuçları iyileştirdiği ve etkili bir koruyucu tedavi olduğu kabul edilmiştir. Bu bulguları destekleyen çeşitli fare modelleri tasarlanmış ve bu modellerde BCAA'nın insülin direnci, oksidatif stres ve anjiyogenezi iyileştirerek, dietilnitrozamin ile indüklenen hepatoselüler karsinom insidansını azalttığı gösterilmiştir (147). Takagoshi ve ark.'ları, 8. haftada süttten kesilen erkek C57BL / 6J farelerine bazal diyet (bazal diyet grubu), atherojenik ve yüksek yağlı diyet (Ath + HF grubu) veya %3 BCAA (Ath + HF + BCAA grubu) içeren atherojenik ve yüksek yağlı diyeti 68 hafta boyunca vererek NASH modeli oluşturmuşlardır. Çalışmanın sonunda BCAA supplemantasyonunun, Ath + HF farelerinde hepatik steatozu, inflamasyonu, fibrozisi ve hepatik tümörleri önemli ölçüde iyileştirdiği bulunmuştur. Ayrıca Takagoshi ve ark.'ları çalışmanın 12. ve 68. haftalarında hayvanlardan aldıkları kan örneklerini karşılaştırdıklarında, Ath + HF grubunun serum ALT, plazma total kolesterol ve serbest kolesterol düzeylerinin bazal diyet ve BCAA takviyesi alan

gruplara kıyasla önemli ölçüde artış gösterdiğini, buna karşın BCAA takviyesi alan grupta serum ALT, plazma total kolesterol ve serbest kolesterol düzeylerinin önemli ölçüde azaldığını saptamışlardır (147).

Başka bir çalışmada Takashi ve ark.'ları, yüksek yağlı diyet ile indüklenen NASH modelinde BCAA'ların etkisini incelemek üzere 57BL/6 J (B6) fareleri 4 gruba ayırmışlardır. Gruplar; 1) kolin yeterli yüksek yağlı diyet ile (HF kontrol), 2) içme suyunda %2 BCAA içeren yüksek yağlı diyet ile (HF-BCAA), 3) kolin kısıtlı yüksek yağlı diyet ile (CDHF kontrol) ve 4) içme suyunda %2 BCAA içeren kolin kısıtlı yüksek yağlı diyet ile (CDHF-BCAA) beslenecek şekilde oluşturulmuştur. 8 haftanın sonunda serum ALT seviyelerinin, hepatik total kolesterol, serbest kolesterol ve hepatik trigliserit (TG) düzeylerinin, CDHF-BCAA grubunda, diğer gruplara kıyasla anlamlı olarak daha düşük bulunduğu bildirilmiş olup, BCAA supplementasyonunun CDHF'nin neden olduğu NASH modelindeki plazma VLDL-TG / toplam TG oranını etkilemediği belirtilmiştir (148).

Bizim çalışmamızda yüksek yağlı diyet ile beslenen sıçanlara tek başına BCAA takviyesi verilmemiş olup, BCAA desteği, başka besin destekleri ile birlikte verilmiştir. BCAA desteği alan grupların (grup 3, grup 5, grup 6) serum ALT, kolesterol ve trigliserit düzey ortalamalarının, yüksek yağlı diyet ile beslenen kontrol grubunun (grup 2) sonuç ortalamalarından, anlamlı derecede daha düşük olduğu saptanmıştır (Tablo. 6.7). Buna ek olarak, BCAA desteği alan grupların AST ortalamaları, yüksek yağlı diyet ile beslenen kontrol grubu AST ortalamalarından anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur. BCAA desteği alan gruplardan iki tanesinin (grup 5, grup 6) kan glikoz düzey ortalamasının, yüksek yağlı beslenen grubun kan glikoz düzey ortalamasından anlamlı derecede daha düşük olduğu saptanmıştır. Biyokimyasal parametreler üzerine olumlu etki göstermesi açısından BCAA takviyesi, bizim çalışmamızda da literatüre benzer sonuçlar ortaya koymuş ve sıçanların bazı biyokimyasal bulguları üzerinde iyileştirici etki göstermiştir.

Bu çalışmada saptanan sonuçlardan farklı bir sonuç olarak, Zhang ve ark.'larının C57BL6J fareler ve GFP-LC3 transgenik C57BL6J fareleri 4 gruba ayırdıkları ve bu fareleri 12 hafta süresince normal diyet (ND), normal diyet + BCAA (ND+BCAA), %60 yüksek yağlı diyet (HFD) ve %60 yüksek yağlı diyet + BCAA

(HFD+BCAA) ile besledikleri çalışmalarında; HFD+BCAA grubunda plazma AST ve ALT düzeylerinin ND grubuna kıyasla önemli ölçüde yükseldiği, dolaşımda serbest yağ asit seviyelerinin ve trigliserit düzeylerinin önemli ölçüde arttığı saptanmıştır. Ayrıca bu çalışmada BCAA'ların, insülinin adipozitlerdeki lipolizi inhibitör etkisini bloke ederek hiperlipidemiye şiddetlendirdiği, serbest yağ asit salınımı arttırdığı, adipoziteyi azalttığı bildirilmiştir (149). Diğer NAFLD çalışmalarında, BCAA supplemantasyonun, insülin direnci, serum glikoz düzeyini ve tip 2 diyabet gelişimini ne ölçüde etkilediği araştırılmış ve yüksek BCAA konsantrasyonlarının artmış tip 2 diyabet gelişme riski ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (74, 83, 150).

Bulgular arasındaki bu tutarsızlıkların, modelleme yaklaşımlarındaki farklılıklardan, kullanılan örneklemin tür, yaş, cinsiyet, ırk gibi özelliklerinden, diyet bileşimlerinden, verilen BCAA miktarı ve BCAA oranlarından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Hepatik stellat hücrelerinin çeşitli etkiler sonucu çoğalıp myofibroblastlara dönüştüğü ve hepatik fibrojenizde rol oynadığı bildirilmiştir. Deve dikeninin, sıçanlarda myofibroblast dönüşüm mekanizmasını bozarak hücre dışı matriks içeriğinin gen ekspresyonunu azalttığı ve antifibrotik etki gösterdiği belirtilmiştir (151). Deve dikeninin hepatoprotektif pek çok özelliği olup, bunlardan bazıları, antifibrotik, anti-inflamatuvar, antioksidatif, anti-proliferatif, immünomodülatör ve antikolesterolemik etkiler göstermesidir (96, 151).

Yaşam tarzı değişikliği önerileri NAFLD tedavisinde primer öncelik olarak görülmekte olup, yapılan pek çok çalışmada hem yetişkin hem de pediatrik hastaların başarı oranlarının düşük olduğu, hızlı sonuç alamamaya bağlı olarak eski alışkanlıklarına geri döndükleri bildirilmiştir, bu nedenle deve dikeninin diyet takviyesi olarak kullanılmasının başarı oranını arttıracığı düşünülerek Marin ve ark.'ları tarafından bir çalışma tasarlanmıştır. C57B1/6 türü fare yavruları beslenme modelleri ve cinsiyetlerine göre 2 gruba ayırmışlardır. Çalışmada birinci grup 20 hafta standart yem ile beslenirken, ikinci grup ilk 8 hafta yüksek yağlı yüksek karbonhidratlı yem ile beslenmiş ve 8.haftanın sonunda sıçanlar yeniden gruplandırılarak beslenmeleri değiştirilmiştir. HFD ile beslenen grup kendi içinde 4 gruba ayrılmış olup; birinci grup kalan 12 hafta boyunca HFD ile devam etmiş, ikinci grup HFD +

deve dikenini ile beslenmiş, üçüncü grup HFD ile beslenmeden standart beslenmeye döndürülmüş, dördüncü grup ise yaşam tarzı değişikliğine ek olarak deve dikeninin sinerjik etkisini değerlendirmek amacı ile HFD ile beslenme modelinden standart diyet ile beslenme modeline döndürülüp + deve dikenini desteği almaya başlamıştır. Çalışmanın sonunda yüksek yağlı diyetle deve dikenini desteği eklenmesinin kan glikoz düzeylerini önemli ölçüde azalttığı, beslenmenin yüksek yağlı diyetten standart diyetle döndürülmesinin deve dikenini takviyesinden bağımsız olarak glikoz homeostazındaki tüm parametreleri iyileştirdiği, yüksek yağlı diyetle deve dikenini takviyesinin hem dişi hem de erkeklerde total kolesterol konsantrasyonlarına etki sağlamadığı, ancak LDL düzeyini önemli ölçüde azalttığı ve diyetin standart diyetle döndürülüp deve dikenini ile desteklenmesinin ek fayda göstermediği; yüksek yağlı beslenmenin her iki cinsiyette de serum ALT değerinin pik yapmasına AST değerinin değişmemesine neden olduğu, yüksek yağlı diyetle deve dikenini desteğinin serum ALT düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı azalma sağladığı, standart diyetle dönülmesinin deve dikenini desteğinden bağımsız bazal seviyeleri geri kazandırdığı sonucuna varılmıştır (96).

2020 yılında, Şahin ve ark.'larının deve dikenini desteğinin endoplazmik retikulum stres proteinlerini düzenleyerek NAFLD'ın iyileştirilmesi üzerine yapmış oldukları hayvan çalışmasında, Swiss Albino erkek fareleri standart diyet, standart diyet+100 mg/kg deve dikenini, standart diyet+200 mg/kg deve dikenini, fruktoza bağlı indüklenen NAFLD, NAFLD+100 mg/kg deve dikenini, NAFLD+200 mg/kg deve dikenini olmak üzere 6 gruba ayırmışlardır. 70 günün sonunda, karaciğer ve vücut ağırlıkları, lipid profilleri, ALT, AST, glikoz düzeyleri ve endoplazmik retikulum stres markerlerinin sadece NAFLD grubunda arttığı, deve dikenini desteğinin bu artışları engellediği ve özellikle 200 mg/kg deve dikenini desteğinin daha etkili olduğu saptanmıştır (152).

NAFLD'da deve dikenini desteğinin etkisini inceleyen çalışmalardan bazılarında deve dikeninin mono doz, bazılarında ise kombinasyon tedavisi şeklinde verildiği görülmekte olup, genellikle tercih edilen kombinasyonların metformin, pioglitazon, E vitamini, S_adenozil_L_metionin (SAME), fosfotidilkolin ve fosfolipidler olduğu görülmüştür. NAFLD tedavisinde deve dikeninin terapötik etkisini değerlendiren 8 randomize kontrollü klinik çalışmanın dahil edildiği bir meta analiz çalışmasında, deve dikeninin serum ALT ve AST değerlerini kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde

azalttığı ve mono terapi olarak kullanılan deve dikeninin ALT ve AST değerlerinin azaltılmasında diğer müdahale bileşenlerine göre daha önemli farka sahip olduğu bildirilmiştir (152, 153).

Bizim çalışmamızda da deve dikenini desteği, omega 3 yağ asitleri ve/veya BCAA destekleri ile birlikte kombinasyon tedavisi olarak kullanılmıştır. Deve dikenini desteği alan grupların (grup 4, grup 5, grup 6) serum ALT, kolesterol ve trigliserit düzey ortalamalarının, yüksek yağlı diyet ile beslenen kontrol grubunun (grup 2) sonuç ortalamalarından, anlamlı derecede daha düşük olduğu saptanmıştır (Tablo. 6.8). Buna ek olarak, deve dikenini desteği alan grupların AST ortalamaları, yüksek yağlı diyet ile beslenen kontrol grubu AST ortalamalarından anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur. Deve dikenini desteği alan gruplardan iki tanesinin (grup 5, grup 6) kan glikoz düzey ortalamasının, yüksek yağlı beslenen grubun (grup 2) kan glikoz düzey ortalamasından anlamlı derecede daha düşük olduğu saptanmıştır. Özellikle deve dikenini desteğinin, kombinasyon tedavilerde yüksek koruyucu/iyileştirici etki gösterdiği görülmekte olup, bizim çalışmamızda da literatür ile örtüşen sonuçlar elde edilmiş ve en yüksek koruyucu/iyileştirici özelliğın deve dikenini desteği alan gruplarda olduğu sonucuna varılmıştır. Çalışmamızda deve dikenini desteğinin özellikle üçlü kombinasyon tedavisindeki olumlu etkisinin, besin öğeleri arasındaki etkileşimden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Bu çalışmada deve dikeninin kan glikoz düzeyi üzerine etkisine benzer sonuçlar klinik pratikte de gösterilmiştir. 2020 yılında, Coletta ve arkadaşlarının prediyabetik, NAFLD'lı hastalarda yaşam tarzı modifikasyonu ve deve dikenini takviyesinin etkisini inceledikleri vaka kontrol çalışmalarında, 6 ay süresince, 212 hasta prospektif randomize olarak 104'ü sadece Akdeniz diyeti, 108'i Akdeniz diyeti + deve dikenini alacak şekilde gruplandırılmışlardır. 6 ay boyunca tek başına veya deve dikenini desteği ile birlikte uygulanan Akdeniz diyetinin, prediyabetik hastalarda görülen karaciğer hasarında önemli bir gerileme ve glisemik profilde iyileşme sağladığı belirtilmiştir. 6 ay boyunca tek başına veya deve dikenini desteği ile birlikte uygulanacak olan Akdeniz diyetinin, prediyabetik hastalarda görülen karaciğer hasarında önemli bir gerileme sağladığı bildirilmiştir. Ayrıca, çalışmada uygulanan iki beslenme müdahalesi birbiri ile karşılaştırıldığında; deve dikenini desteği ile oluşturulan beslenme müdahalesinin HbA1c değerinde önemli ölçüde azalma sağlaması nedeni

ile, deve dikeninin bağımsız bir anti-glisemik etki göstererek glisemik profilin iyileşmesine yardımcı olduğu sonucuna varılmıştır (154).



8.SONUÇ

Alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı, günümüzde hem yetişkin hem de pediatrik popülasyonda hızla artış göstermekte olup, hastalığın tanı yöntemleri, patogenezi ve tedavisi için her geçen gün yeni bir çalışma tasarlanmaktadır. Obezite artışına paralellik gösteren ve pediatrik popülasyon için komplikasyonları nedeni ile risk teşkil eden NAFLD'nın her aşamasının hem histopatolojisini hem de patofizyolojisini yansıtan çeşitli hayvan modelleri geliştirildiği görülmektedir. İnsan hastalıklarından elde edilen veriler ile hayvan çalışmalarından elde edilen veriler, mevcut hayvan modellerinde NAFLD patogenezinin ve ilerlemesinin belirli aşamalarını anlamada kritik rehberlik sağlamasına rağmen, pediatrik grupta, hastalık spektrumunu daha iyi taklit eden daha doğru modeller geliştirmek için daha fazla araştırmanın gerekli olduğu düşünülmektedir. Henüz farmakolojik bir tedavisi olmayan pediatrik NAFLD için klinikte deve diken, dallı zincirli aminoasit ve omega 3 yağ asitlerinin kullanımlarının arttığı ancak sonuçların homojen olmaması, tedavi konusunda net bir karar verilmesini zorlaştırmakta olup, bu heterojenliğin; tasarlanan modellerde hızlı büyüyen bir organizmanın varlığı, kullanılan hayvanın suşu, kullanılacak olan besin desteklerinin dozu, veriliş şekli, çalışmanın süresi gibi faktörlerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

İnfant sıçanlarda yüksek yağlı beslenme ile oluşturulan alkolik olmayan yağlı karaciğer modelinde, omega 3 yağ asitleri, dallı zincirli aminoasitler ve deve diken desteklerinin ikişerli veya üçlü kombinasyonunun biyokimyasal parametreler üzerine etkisini inceleyen bu çalışmada aşağıdaki sonuçlar bulunmuştur:

1. Çalışmada yüksek yağlı diyetin ilk günü ile yüksek yağlı diyet + besin desteklerinin ilk günü arasındaki süreçte kontrol grubu hariç diğer 5 grup sadece yüksek yağlı sıçan yemi ile beslenmiş olup, besin desteklerinin verilmeye başlanacağı ilk gün ölçülen vücut ağırlık ortalamaları yüksek yağlı diyetin başlandığı ilk güne göre anlamlı bulunmuştur ($p<0,000$). En fazla ağırlık kazancının BCAA + omega 3 desteği alacak olan grupta olduğu saptanmıştır.

2. Çalışma grupları arasında ALT düzey farklılığı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,000$). En yüksek ALT sonuç ortalamasının, yüksek yağlı sıçan yemi ile beslenen kontrol grubunda (Grup 2 $\rightarrow 113,66 \pm 11,14$ U/L) olduğu bulunmuştur. Diğer grupların ALT sonuç ortalamalarının ikili karşılaştırmaları incelendiğinde

sırası ile; grup 3> grup 4> grup 5 olduğu belirlenmiştir. Besin destekleri sonrası en düşük ALT sonuç ortalamasının tüm besin desteklerinin kombine olarak verildiği grupta (Grup 6 → $20,48 \pm 3,6$ U/L) olduğu saptanmıştır

3. Çalışma grupları arasında besin desteği verildikten sonra AST düzey farklılığı gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,128$). Besin desteği başladıktan 9 hafta sonra elde edilen kan bulgularından AST sonuç ortalamalarının ikili karşılaştırmalarında tüm besin desteklerinin kombine verildiği grubun (Grup 6 → $123,92 \pm 79,64$ U/L) AST sonuç ortalamasının, diğer tüm grupların AST sonuç ortalamalarından anlamlı derecede yüksek olduğu sonucuna varılmıştır. Gruplardan en düşük AST sonuç ortalamasının ise yüksek yağlı sıçan yemi ile beslenen kontrol grubunda (Grup 2 → $62,74 \pm 7,73$ U/L) olduğu saptanmıştır.

4. Çalışma grupları arasında besin desteği verildikten sonra kolesterol düzey farklılığı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,000$). Besin desteği başladıktan 9 hafta sonra elde edilen kan bulgularından kolesterol sonuç ortalamalarının ikili karşılaştırmalarında bakıldığında, yüksek yağlı sıçan yemi ile beslenen kontrol grubunun (Grup 2 → $94,48 \pm 11,68$ mg/dL) kolesterol ölçüm ortalamasının diğer tüm grupların kolesterol ölçüm ortalamalarından anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur. Standart sıçan yemi ile beslenen kontrol grubu (Grup 1 → $62,40 \pm 8,43$ mg/dL) kolesterol ölçüm ortalamasının ise aminoasit + deve diken i desteği alan grubun (grup 5) ortalamasından anlamlı derecede daha yüksek olduğu saptanmış olup en düşük kolesterol ölçüm ortalaması bu grupta saptanmıştır.

5. Çalışma grupları arasında besin desteği verildikten sonra trigliserit düzey farklılığı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,009$). Besin desteği başladıktan 9 hafta sonra elde edilen verilere göre yüksek yağlı sıçan yemi ile beslenen grubun (Grup 2 → $107,28 \pm 40,22$ mg/dL) trigliserit ölçüm ortalaması, diğer tüm grupların trigliserit ölçüm ortalamalarından anlamlı derecede daha yüksek olduğu bulunmuş olup, en düşük trigliserit ölçüm ortalamasının standart sıçan yemi ile beslenen grupta (Grup 1 → $53,97 \pm 13,52$ mg/dL) olduğu saptanmıştır.

6. Çalışma grupları arasında besin desteği verildikten sonra glikoz düzey farklılığı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,000$). Besin desteği başladıktan 9 hafta sonra elde edilen verilere göre BCAA + mega 3 desteği alan grubun (Grup 3 → $276,33 \pm 58,10$ mg/dL) glikoz ölçüm ortalamasının, diğer tüm

grupların ölçüm ortalamalarından anlamlı derecede daha yüksek olduğu bulunmuş olup, en düşük glikoz ölçüm ortalamasının standart sıçan yemi ile beslenen grupta (Grup 1 → 122,42 ± 19,79 mg/dL) olduğu saptanmıştır.

Pediyatrik popülasyonda patogenezi netleştirilemeyen, karmaşık ve multifaktöriyel bir hastalık olan alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığında, literatüre katkı sağlayan pek çok hayvan modeli geliştirilmiş ve bu modeller insanlarda görülen hastalığın patogenezinine atfedilmeye çalışılmıştır. Ancak, tasarlanan modellerde, hayvanın türü, ırkı, yaşı, cinsiyeti, verilen diyetin örüntüsü ve çalışma sürelerinin heterojenliği, sonuçların da heterojen çıkmasına neden olmuştur.

Literatürde omega 3 yağ asitleri, dallı zincirli aminoasitler ve deve dikenini gibi besin desteklerinin NAFLD tedavisinde umut verici ajanlar olarak kabul edildiği görülmekte olup, bu besin takviyelerinin verilış şekli, doz ve süre konusundaki değışkenlikleri de sonuçların farklı olmasının nedeni olarak düşünölmektedir.

Mevcut pek çok çalışmada besin desteklerinin az sayıda da olsa belirli kombinasyonları çalışılmıştır ancak; bu çalışmada tasarlanan yöntem benzer bir kombinasyona literatürde rastlanmamıştır. Kombinasyon tedavi seçeneğı üzerine tasarlanan bu çalışmada, karaciğer histopatolojisini çalışmamış olmak çalışmanın en büyük kısıtlılığını yansıtmakta olup, maternal faktörlerin etkisinin çalışmanın sonuçları üzerinde etkili olabileceğı düşünölmektedir. Ayrıca sıçan yaşı ile insan yaşı arasındaki korelasyon gereğı, 13,8 günlük sıçan ömrünün 1 insan yaşına denk gelmesi, tasarlanan modelde hızlı büyüyen organizmadan kaynaklı değışik bulgular elde edilmesinin nedeni olarak düşünölmektedir. Tüm bu bilgiler ışığında, çocuk ve adölesanlarda alkolik olmayan yağlı karaciğer modelinin tedavisi için besin desteğı kullanımını destekleyecek çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

9. KAYNAKLAR

1. Souveek M, Arka D, Abhijit C. Epidemiology of non-alcoholic and alcoholic fatty liver diseases. *Transl Gastroenterol Hepatol* ;5:16, 2020.
2. Asrani SK, Devarbhavi H, Eaton J, Kamath PS. Burden of liver diseases in the world. *J Hepatol* ;70:151-71, 2019.
3. Organization WH., Obesity and overweight Fact Sheet. 2016. (Erişim Tarihi: 05.07.2020). Erişim adresi: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>
4. Organization WH., Taking Action on Childhood Obesity 2016. (Erişim Tarihi: 05.07.2020). Erişim adresi: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/274792/WHO-NMH-PND-ECHO-18.1-eng.pdf?ua=1>
5. Michail S, Lin M, Frey MR, Fanter R, Paliy O, Hilbush B, et al. Altered gut microbial energy and metabolism in children with non-alcoholic fatty liver disease. *FEMS Microbiology Ecology*, 91, 2015.
6. Tylavsky FA, Ferrara A, Catellier DJ, Oken E, Li X, Law A, et al. Understanding childhood obesity in the US: the NIH environmental influences on child health outcomes (ECHO) program. *Int J Obes* ; 44, 617 – 627, 2020.
7. Goyal P. The Effect of Probiotic VSL#3 and Lifestyle Intervention in Obese Children With Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD). LPU, Faculty of Technology & Sciences, In Nutrition & Dietetics, Doctoral Thesis, p. 1 – 3, Punjab, 2019.
8. Chen L, Wang Y, Xu Q, Chen S. Omega-3 fatty acids as a treatment for non-alcoholic fatty liver disease in children: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Clin Nutr*; 1 – 6 , 2016.
9. Crespo M, Lappe S, Feldstein AE, Alkhouri N. Similarities and differences between pediatric and adult nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism*; 1161 – 1171, 2016
10. Temple JL, Cordero P, Li J, Nguyen V, Oben JA. A Guide to Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Childhood and Adolescence. *Int. J. Mol. Sci.*; 17, 947; 2016.

11. Feldstein AE, Patton-Ku D, Boutelle KN. Obesity, Nutrition and Liver Disease in Children. *Clin Liver Dis*; 18(1): 219–231, 2015.
12. European Association for the Study of the Liver (EASL), European Association for the Study of Diabetes (EASD) and European Association for the Study of Obesity (EASO). Clinical Practice Guidelines for the management of nonalcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 64(6):1388-1402, 2016.
13. Loomba R, Morgan E, Watts L, Xia S, Hannan LA, Geary RS, et al. Novel antisense inhibition of diacylglycerol O-acyltransferase 2 for treatment of non-alcoholic fatty liver disease: a multicentre, double-blind, randomised, placebo controlled phase 2 trial. *Lancet Gastroenterol Hepatol*; 1-10, 2020. [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(20\)30186-2](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(20)30186-2)
14. Goldner D, Lavine JE. NAFLD in Children: Unique Considerations and Challenges, *Gastroenterology*; 158:1967–1983, 2020.
15. Nobili V, Alisi A, Valenti L, Miele L, Feldstein AE, Alkhouri N. NAFLD in children: new genes, new diagnostic modalities and new drugs. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*; 16:517–530, 2019.
16. Bülbül S. Exercise in the treatment of childhood obesity. *Turk Pediatri Ars*; 55(1): 2–10, 2020.
17. Greydanus DE, Agana M, Kamboj MK, Shebrain S, Soares N, Eke R, et al. Pediatric obesity: Current concepts. *Dis Mon. Apr*; 64(4):98-156, 2018
18. United Nations Children’s Fund. World Health Organization, International Bank for Reconstruction and Development/The World Bank. Levels and trends in child malnutrition: key findings of the 2018 Edition of the Joint Child Malnutrition Estimates. Geneva: *World Health Organization*; 2018.
19. Faienza MF, Chiarito M, Molina – Molina E, Shanmugam H, Lammert F, Krawczyk M, D’Amato G, Portincasa P. Childhood obesity, cardiovascular and liver health: a growing epidemic with age. *World J Pediatr*, 2020.

20. Saka M, Köseler E, Metin S. Gastrointestinal Sistem Hastalıkları ve Beslenme Tedavisi. s. 541-638 İçinde: Editör Alphan Tüfekçi E. Hastalıklarda Beslenme Tedavisi, 4. Baskı, Ankara, Hatipoğlu Yayınları, 2018.
21. Seth A, Orkin S, Yodoshi T, Liu C, Fei L, Hardy J, et al. Severe obesity is associated with liver disease severity in pediatric non-alcoholic fatty liver disease. *Pediatric Obesity*;15:e12581, 2020.
22. Rubio-Murillo M, Rodríguez-Martínez A. Biomarkers in Pediatric NAFLD p. 69-88 In: Romero-Gomez M, editor. NAFLD and NASH Biomarkers in Detection, Diagnosis and Monitoring. Sevilla, Spain, 2020. (Erişim adresi: https://doi.org/10.1007/978-3-030-37173-9_5)
23. Draijer L, Benninga M, Koot B. Pediatric NAFLD: an overview and recent developments in diagnostics and treatment, *Expert Review of Gastroenterology & Hepatology*, 2019. (Erişim adresi: <https://doi.org/10.1080/17474124.2019.1595589>),i
24. Cotter TG, Rinella M. Nonalcoholic Fatty Liver Disease 2020: The State of the Disease. *Gastroenterology*;158:1851–1864, 2020.
25. Nobili V, Alisi A, Newton KP, Schwimmer JB. Comparison of the Phenotype and Approach to Pediatric Versus Adult Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease, *Gastroenterology*; 150: 1798-810, 2016. doi: 10.1053/j.gastro.2016.03.009
26. Kaya E, Yılmaz Y. Türkiye’de ve dünyada nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı epidemiyolojisi. Sonsuz A, editör. İçinde: Nonalkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı. 1. Baskı. Ankara: *Türkiye Klinikleri*; s.1-7, 2019.
27. Chalasani N, Younossi Z, Lavine EJ, Charlton M, Cusi K, Rinella M, et al. The Diagnosis and Management of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Practise Guidance from the American association for the study of liver diseases. *Hepatology* 67(1):328-358, 2018.
28. Vittorio J, Lavine JE. Recent advances in understanding and managing pediatric nonalcoholic fatty liver disease [version 1; peer review: 2 approved]. *F1000Research*, 9(F1000 Faculty Rev):377, 2020.

29. Plauth M, Bernal W, Dasarathy S, Hojsak I, Jahnel J, Pai N, et al. ESPEN Guideline on Clinical Nutrition in Liver Disease. *Clin Nutr.*; 38(2): 485–521, 2019. doi:10.1016/j.clnu.2018.12.022.
30. Mouzaki M, Bronsky J, Gupte G, Hojsak I, Jahnel J, Pai N et al. Nutrition Support of Children With Chronic Liver Diseases: A Joint Position Paper of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition and the European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition. *JPGN*;69: 498–511, 2019.
31. Vos MB, Abrams SH, Barlow SE, Caprio S, Daniels SR, Kohli S, et al. NASPGHAN Clinical Practice Guideline for the Diagnosis and Treatment of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Children: Recommendations from the Expert Committee on NAFLD (ECON) and the North American Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (NASPGHAN). *JPGN*;64: 319–334, 2017.
32. Alfani R, Vassallo E, De Anseris AG, Nazzaro L, D’Acunzo I, Porfito C, et al. Pediatric Fatty Liver and Obesity: Not Always Just a Matter of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Children*, 5, 169; 2018. doi:10.3390/children5120169
33. Bisaccia¹ G, Ricci F, Mantini C, Tana C, Romani GL, Schiavone C, et al. Nonalcoholic fatty liver disease and cardiovascular disease phenotypes. *SAGE Open Medicine*, 8: 1–15, 2020. <https://doi.org/10.1177/2050312120933804>.
34. Flisiak-Jackiewicz M, Lebensztejn DM. Update on pathogenesis, diagnostics and Therapy of nonalcoholic fatty liver disease in Children. *Clin Exp HEPATOL*; 5, 1: 11–21, 2019. <https://doi.org/10.5114/ceh.2019.83152>.
35. Younossi ZM, Golabi P, De Avila L, Paik JM, Srishord M, Fukui N, et al. The global epidemiology of NAFLD and NASH in patients with type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Hepatology*, 71; 793–801, 2019.
36. Sieber J, Jehle AW. Free fatty acids and their metabolism affect function and survival of podocytes. *Front. Endocrinol.* 5:186,2014. doi: 10.3389/fendo.2014.00186

37. Zhyvotovska A, Yusupov D, McFarlane SI. Introductory Chapter: Overview of Lipoprotein Metabolism, 2019. doi: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.85094>
38. Mergen H, Mergen BE, Tavlı T, Öngel K, Tavlı V. Lipoprotein metabolizması hastalıkları ve tedavisine yaklaşım. *Türk Aile Hek Der*;14(1): 38-45, 2010.
39. Yalçın A, Çetin M. Plazma Lipoproteinleri ve Klinik Önemi. *J Fac Vet Med*, 20: 123-129, 2001.
40. Fang YL, Chen H, Wang CL, Liang L. Pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease in Children and adolescence: From “two hit theory” to “multiple hit model”. *World J Gastroenterol*, 21; 24(27): 2974-2983, 2018.
41. Takakura K, Oikawa T, Nakano M, Saeki C, Torisu Y, Kajihara M, et al. Recent Insights Into the Multiple Pathways Driving Non-alcoholic Steatohepatitis-Derived Hepatocellular Carcinoma. *Front. Oncol.* 9:762, 2019. doi: 10.3389/fonc.2019.00762
42. Buzzetti E, Pinzani M, Tsochatzis EA. The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Metabolism*, 65(8):1038-1048, 2016.
43. Vahabov C, Şimşek C, Pümac T. Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı Patogenezi. Sonsuz A, editör. İçinde: Nonalkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri; s.8-13, 2019.
44. Dongiovanni P, Crudele A, Panera N, Romito I, Meroni M, De Stefanis C, et al. β -Klotho gene variation is associated with liver damage in children with NAFLD. *Journal of Hepatology*, 72:411–419, 2020.
45. Verstraete SG, Wojcicki JM, Perito ER, Rosenthal P. Bisphenol a increases risk for presumed non-alcoholic fatty liver disease in Hispanic adolescents in NHANES 2003–2010. *Environmental Health*, 17:12, 2018. DOI 10.1186/s12940-018-0356-3
46. Brownin JD, Cohen JC, Hobbs HH. PNPLA3 and the Pathogenesis and Progression of Pediatric NAFLD. *Hepatology*; 52(4): 1189–1192, 2011. doi:10.1002/hep.23946

47. Kawaguchi T, Shima T, Mizuno M, Mitsumoto Y, Umemura A, Kanbara Y, et al. Risk estimation model for nonalcoholic fatty liver disease in the Japanese using multiple genetic markers. *PLoS ONE*, 13(1): e0185490, 2018. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185490>
48. Umano GR, Caprio S, Di Sessa A, Chalasani N, Dykas DJ, Pierpont B, et al. The rs626283 Variant in the MBOAT7 Gene is Associated with Insulin Resistance and Fatty Liver in Caucasian Obese Youth. *Am J Gastroenterol*; 113: 376-383, 2018.
49. Ullah R, Rauf N, Nabi G, Ullah H, Shen Y, Zhou YD, et al. Role of Nutrition in the Pathogenesis and Prevention of Non-alcoholic Fatty Liver Disease: Recent Updates. *Int. J. Biol. Sci.*, 15(2): 265-276, 2019.
50. Semiane N, Fougelle F, Ferre P, Hainault I, Ameddah S, Mallek A, et al. High carbohydrate diet induces nonalcoholic steato-hepatitis (NASH) in a desert gerbil. *Comptes Rendus Biologies.*; 340: 25-36, 2017.
51. Watanabe H, Inaba Y, Kimura K, Asahara S-i, 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.
52. Felix DR, Costenaro F, Andreatta Gottschall CB, Cora GP. Non-alcoholic fatty liver disease (Nafld) in obese children- effect of refined carbohydrates in diet. *BMC Pediatrics*; 16:187, 2016. doi: 10.1186/s12887-016-0726-3
53. Sekkarie, Welsh, JA, Vos MB. Carbohydrates and diet patterns in nonalcoholic fatty liver disease in children and adolescents, *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*: 21 (4); 283-288, 2018. doi: 10.1097/MCO.0000000000000476
54. Adiponectin and leptin in the diagnosis and therapy of NAFLD. *Metabolism Clinical and Experimental*, 103 (154028):1-5, 2020. doi: <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2019.154028>

55. Vanela-Lopez A, Bullon P, Ramirez-Tortosa CL, Navarro-Hortal MD, Robles-Almaza M, Bullon B, et al. A Diet Rich in Saturated Fat and Cholesterol Aggravates the Effect of Bacterial Lipopolysaccharide on Alveolar Bone Loss in a Rabbit Model of Periodontal Disease. *Nutrients*, 12, 1405; 2020. doi:10.3390/nu12051405
56. Alarcon G, Roco J, Medina M, Medina A, Peral M, Jerez S. High fat diet-induced metabolically obese and normal weight rabbit model shows early vascular dysfunction: mechanisms involved. *Int J Obes*, 42, 1535–1543, 2018. <https://doi.org/10.1038/s41366-018-0020-6>.
57. Lang S, Martin A, Farowski F, Wisplinghoff H, Vehreschild MJGT, Liu J, et al. High Protein Intake Is Associated With Histological Disease Activity in Patients With NAFLD. *Hepatology Communications*, 4 (5); 2020. doi: 10.1002/hep4.1509
58. Tang GY, Mann JP. Animal protein intake and hepatic steatosis in the elderly. *Gut*; 0:1, 2018. doi:10.1136/gutjnl-2018-317709.
59. Yano T, Shizuoka JP, inventor; Diagnosis And Treatment Of Hepatic Disorder. *United States Patent Application Publication US 2011/0092592 A1*. Dec. 10, 2010.
60. Alkhoury N, Scott A. An update on the pharmacological treatment of nonalcoholic fatty liver disease: beyond lifestyle modifications. *Clin Liver Dis.*;11(4):82–6, 2018. <https://doi.org/10.1002/cld.708>.
61. Pydyn N, Miekus K, Jura J, Kotlinowski J. New therapeutic strategies in nonalcoholic fatty liver disease: a focus on promising drugs for nonalcoholic steatohepatitis. *Pharmacol Rep* 72, 1–12, 2020. <https://doi.org/10.1007/s43440-019-00020-1>.
62. Sanyal AJ, Friedman SL, McCullough AJ, Dimick-Santos L, American Association for the Study of Liver Diseases, United States Food and Drug Administration. Challenges and opportunities in drug and biomarker development for nonalcoholic steatohepatitis: findings and recommendations from an American Association for the Study of Liver Diseases-US. Food and Drug Administration Joint Workshop. *Hepatology*, 61(4):1392–405, 2015. <https://doi.org/10.1002/hep.27678>.

63. Doulberis M, Polyzos SA, Papaefthymiou A, Katsinelos P, Kiosses C, Kountouras J. Treatment of nonalcoholic fatty liver disease: from adult trials to perspectives in the management of children and adolescents. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*. 21:3, 247-251, 2020. DOI: 10.1080/14656566.2019.1702967
64. Sumida Y, Yoneda M. Current and future pharmacological therapies for NAFLD/NASH. *J Gastroenterol.*;53:362–376, 2018.
65. Loomba R, Adams LA. The 20% rule of NASH progression: the natural history of advanced fibrosis and cirrhosis caused by NASH. *Hepatology.*;70:1885–1888, 2019.
66. Hartmann P, Schnabl B. Risk Factors for Progression of and Treatment Options for NAFLD in Children. *Clinical Liver Disease*, 11(1); 11-15, 2018. <https://doi.org/10.1002/cld.685>
67. Beşışık F. Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı – Tedavi. Sonsuz A, editör. İçinde: Nonalkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri; s.63-5, 2019.
68. Katz DL, Friedman RSC, Lucan SC. Nutrition in Clinical Practise. Klinik Uygulamalarda Beslenme, p. 289-95. Üçüncü baskı, Çeviren: Kalkan İ, Akman M, İstanbul Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2018.
69. Usta Y. Alkole Bağlı Olmayan Yağlı Karaciğer s. 271-80. Özen H, Yüce A, Gürakan F, Saltık Temizel İN, Demir H, editörler. İçinde: Çocuk Gastroenteroloji, Hepatoloji ve Beslenme. 3. Baskı. Ankara Nobel Tıp Kitabevleri, Ankara, 2016.
70. Shaw V. Clinical Pediatric Nutrition. Karaciğer ve Pankreas, p.161-94. Dördüncü Basım, Çeviren: Şahin G, Akbulut G, Ankara Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti., Ankara, 2019.
71. Tajima R, Kimura T, Enomoto A, Saito A, Kobayashi S, Masuda K, Lida K. No association between fruits or vegetables and non-alcoholic fatty liver disease in middle-aged men and women. *Nutrition* 61:119-124, 2019.

72. Tohtak GK, Çalık G. Karaciğer, Safra Kesesi, Pankreas Hastalıkları ve Tıbbi Beslenme Tedavisi. s.184-236. Şanlıer N, editör. İçinde: Vakalarla Öğreniyorum: Yetişkin Hastalıklarında Tıbbi Beslenme Tedavisi – 1. 2. Baskı. Hedef CS Yayıncılık ve Mühendislik, Ankara, 2020.
73. Patterson E, Wall R, Fitzgerald GF, Ross RP, Stanton C. Health Implications of High Dietary Omega-6 Polyunsaturated Fatty Acids. *Journal of Nutrition and Metabolism*;Article ID 539426,1-16, 2012. doi:10.1155/2012/539426
74. Shama S, Liu W. Omega-3 Fatty Acids and Gut Microbiota: A Reciprocal Interaction in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Dig Dis Sci*, 65, 906–910, 2020. <https://doi.org/10.1007/s10620-020-06117-5>
75. Kandeil MA, Hashem RM, Mahmoud MO, Hetta MH, Tohamy MA. Zingiber officinale extract and omega-3 fatty acids ameliorate endoplasmic reticulum stress in a nonalcoholic fatty liver rat model. *J Food Biochem.*;00:e13076, 2019. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13076>
76. Molinar-Toribio E, Perez-Jimenez J, Ramos-Romero S, Romeu M, Giralt M, Taltavull N, et al. Effect of n-3 PUFA supplementation at different EPA:DHA ratios on the spontaneously hypertensive obese rat model of the metabolic syndrome. *British Journal of Nutrition*, 113(6), 878-887, 2015. doi:10.1017/S0007114514004437
77. Chakravarthy MV, Waddell T, Banerjee R, Guess N. Nutrition and Nonalcoholic Fatty Liver Disease Current Perspectives. *Gastroenterol Clin N Am* 49: 63–94, 2020 <https://doi.org/10.1016/j.gtc.2019.09.003>
78. Shi X, Fan S, Shi G, Yao J, Gao Y, Xia Y, et al. Efficacy and safety of omega-3 fatty acids on liver-related outcomes in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Medicine*;99:24(e20624), 2020.
79. Federico A, Dallio M, Caprio GG, Gravina AG, Picascia D, Masarone M, et al. Qualitative and Quantitative Evaluation of Dietary Intake in Patients with Non-Alcoholic Steatohepatitis. *Nutrients*, 9, 1074; 2017. doi:10.3390/nu9101074

80. Pettinelli P, Pozo T, Araya J, Rodrigo R, Araya AV, Smok G, et al. Enhancement in liver SREBP-1c/PPAR- α ratio and steatosis in obese patients: Correlations with insulin resistance and n-3 long-chain polyunsaturated fatty acid depletion. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1792(11);1080-1086, 2009. doi:10.1016/j.bbadis.2009.08.015
81. Green CJ, Pramfalk C, Charlton CA, Gunn PJ, Cornfield T, Pavlides M, et al. Hepatic de novo lipogenesis suppressed and fat oxidation is increased by omega-3 fatty acids at the expense of glucose metabolism. *BMJ Open Diab Res Care*;8:e000871, 2020. doi:10.1136/bmjdr-2019-000871
82. Castro GS, Calder PC, Non-alcoholic fatty liver disease and its treatment with n-3 polyunsaturated fatty acids, *Clinical Nutrition*, 37(1); 37-55, 2018 doi: 10.1016/j.clnu.2017.01.006
83. Van den Berg EH, Flores Guerrero JL, Gruppen EG, de Borst MH, Wolak-Dinsmore J, Connely MA, et al. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and Risk of Incident Type 2 Diabetes: Role of Circulating Branched-Chain Amino Acids. *Nutrients*, 11, 705; 2019. doi:10.3390/nu11030705
84. Heng J, Wu Z, Tian M, Chen J, Song H, Chen F, et al. Excessive BCAA regulates fat Metabolism partially through the modification of m6A RNA methylation in weanling piglets. *Nutrition & Metabolism*, 17:10, 2020. <https://doi.org/10.1186/s12986-019-0424-x>
85. Sun X, Zemel MB. Leucine and Calcium Regulate Fat Metabolism and Energy Partitioning in Murine Adipocytes and Muscle Cells. *Lipids*, 42:297–305, 2007. Doi: 10.1007/s11745-007-3029-5
86. Takashi H, Masatoshi I, Fangqiong L, Ma L, Yoji I, Teiji K, et al. Branched-chain amino acids alleviate hepatic steatosis and liver injury in choline-deficient high-fat diet induced NASH mice. *Metabolism*, 69; 177-187, 2017, doi: 10.1016/j.metabol.2016.12.013
87. Grzych G, Vonghia L, Bout MA, Weyler J, Verrijken A, Dirinck E, et al. Plasma BCAA changes in Patients with NAFLD are Sex Dependent. *J Clin Endocrinol Metab*. 1;105(7), 2020. doi: 10.1210/clinem/dgaa175., 2020.

88. Gillessen A, Schmidt HHJ. Silymarin as Supportive Treatment in Liver Diseases: A Narrative Review. *Adv Ther* 37:1279–1301, 2020. <https://doi.org/10.1007/s12325-020-01251-y>
89. Salamone F, Galvano F, Marino A, Paternostro C, Tibullo D, Bucchieri F, et al. Silibinin improves hepatic and myocardial injury in mice with nonalcoholic steatohepatitis. *Digestive and Liver Disease* 44: 334– 342, 2012. doi:10.1016/j.dld.2011.11.010
90. Aghazadeh S, Amini R, Yazdanparast R, Ghaffari SH. Anti-apoptotic and anti-inflammatory effects of Silybum marianum in treatment of experimental steatohepatitis. *Experimental and Toxicologic Pathology* 63:569– 574, 2011. doi:10.1016/j.etp.2010.04.009
91. Shaker E, Mahmoud H, Mnaa S. Silymarin, the antioxidant component and Silybum marianum extracts prevent liver damage. *Food and Chemical Toxicology* 48: 803–806, 2010. doi:10.1016/j.fct.2009.12.011
92. Siegel, A. B., & Stebbing, J. Milk thistle: early seeds of potential. *The Lancet. Oncology*, 14(10); 929–930, 2013. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(13\)70414-5](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(13)70414-5)
93. Javed S, Kohli K, Ali M. Reassessing Bioavailability of Silymarin. *Alternative Medicine Review*, 16(3);239-249, 2011.
94. Abenavoli L, Capasso R, Milic N, Capasso F. Milk Thistle in Liver Diseases: Past, Present, Future. *Phytother. Res.* 24: 1423–1432, 2010. Doi: 10.1002/ptr.3207
95. Loew D, Kaszkin M. Approaching the Problem of Bioequivalence of Herbal Medicinal Products. *Phytother. Res.* 16, 705–711, 2002. Doi: 10.1002/ptr.1248
96. Marin V, Gazzin S, Gambaro SE, Ben MD, Calligaris S, Anese M, et al. Effects of Oral Administration of Silymarin in a Juvenile Murine Model of Non-alcoholic Steatohepatitis. *Nutrients*, 9, 1006; 2017. doi:10.3390/nu9091006
97. Saller R, Melzer J, Reichling J, Brignoli R, Meier. An Updated Systematic Review of the Pharmacology of Silymarin. *Forsch Komplementmed*;14:70-80, 2007. doi: 10.1159/000100581

98. Yeğen BÇ, Gören MZ. Biyomedikal Araştırmalarda Deney Hayvanı “Temel Bilgiler ve Etik İlkeler”. İstanbul, Tavaslı Matbaası, Yüce A.Ş., 2005.
99. Lo L, McLennan SV, Williams PF, Bonner J, Chowdhury S, McCaughan GW, et al. Diabetes is a progression factor for hepatic fibrosis in a high fat fed mouse obesity model of nonalcoholic steatohepatitis. *J. Hepatol.*, 55, 435–444, 2011. doi: 10.1016/j.jhep.2010.10.039.
100. Fujii M, Shibasaki Y, Wakamatsu K, Honda Y, Kawauchi Y, Suzuki K, et al. A murine model for nonalcoholic steatohepatitis showing evidence of association between diabetes and hepatocellular carcinoma. *Med. Mol. Morphol.*, 46, 141–152, 2013. doi: 10.1007/s00795-013-0016-1.
101. Van Herck MA, Vonghia L, Francque SM. Animal Models of Nonalcoholic Fatty Liver Disease—A Starter’s Guide. *Nutrients*, 9, 1072, 2017. doi:10.3390/nu9101072.
102. Zhan YY, Wang JH, Tian X, Feng SX, Xue L, Tian LP. Protective effects of seed melon extract on ccl4-induced hepatic fibrosis in mice. *J. Ethnopharmacol.*, 193, 531–537, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.10.006>
103. Kim YO, Popov Y, Schuppan D. Optimized mouse models for liver fibrosis. *Methods. Mol. Biol.* 1559, 279–296, 2017. DOI: 10.1007/978-1-4939-6786-5_19
104. Wu J. Utilization of animal models to investigate nonalcoholic steatohepatitis-associated hepatocellular carcinoma. *Oncotarget*, 7, 42762–42776, 2016. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.8641>
105. Stankovic MN, Mladenovic D, Ninkovic M, Duricic I, Sobajic S, Jorgacevic B, et al. The Effects of α -Lipoic Acid on Liver Oxidative Stress and Free Fatty Acid Composition in Methionine–Choline Deficient Diet-Induced NAFLD. *J Med Food* 00 (0),254-261, 2014 .<http://doi.org/10.1089/jmf.2013.0111>
106. Lau JK, Zhang X, Yu J. Animal models of non-alcoholic fatty liver disease: Current perspectives and recent advances. *J. Pathol.*, 241, 36–44, 2017. doi: 10.1002/path.4829.

107. Cote I, Ngo Sock ET, Levy E, Lavoie JM. An atherogenic diet decreases liver fxr gene expression and causes severe hepatic steatosis and hepatic cholesterol accumulation: Effect of endurance training. *Eur. J. Nutr.*, 52, 1523–1532, 2013. DOI: 10.1007/s00394-012-0459-5
108. Jacobs A, Warda AS, Verbeek J, Cassiman D, Spincemaille P. An overview of mouse models of nonalcoholic steatohepatitis: From past to present. *Curr. Protoc. Mouse Biol.*, 6, 185–200, 2016. <https://doi.org/10.1002/cpmo.3>
109. Sanches SCL, Ramalho LNZ, Augusto MJ, da Silva DM, Ramalho FS. Nonalcoholic steatohepatitis: A search for factual animal models. *BioMed Res. Int.*, 2015, 1–1, 2015.
110. Eurostat Press Office. European Health Interview Survey Almost 1 adult in 6 in the EU is considered obese Share of obesity increases with age and decreases with education level. *Eurostat*, 203/2016. (Erişim tarihi: 16.07.2020 Erişim adresi: <https://ec.europa.eu/eurostat/documents/2995521/7700898/3-20102016-BP-EN.pdf/c26b037b-d5f3-4c05-89c1-00bf0b98d646>)
111. Anderson EL, Howe LD, Jones HE, Higgins JPT, Lawlor DA, Fraser A. The Prevalence of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Children and Adolescents: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS ONE* 10(10): e0140908, 2015. doi: 10.1371/journal.pone.0140908.
112. Villanueva-Ortega E, Garces-Hernandez MJ, Herrera-Rosas A, Lopez-Alvarenga JC, Laresgoiti-Servitje E, Escobedo G, et al. Gender-specific differences in clinical and metabolic variables associated with NAFLD in a Mexican pediatric population. *Annals of Hepatology* 18, 693–700, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.aohep.2019.04.012>
113. Ko JS. New Perspectives in Pediatric Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Epidemiology, Genetics, Diagnosis, and Natural History. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr.*;22(6):501-510, 2019. <https://doi.org/10.5223/pghn.2019.22.6.501>
114. Schwimmer JB, Deutsch R, Kahen T, Lavine JE, Stanley C, Behling Prevalence of Fatty Liver in Children and Adolescents. *Pediatrics*;118;1388, 2006. DOI: 10.1542/peds.2006-1212

115. Mansoor S, Yerian L, Kohli R, Xanthakos S, Angulo P, Ling S, et al. The Evaluation of Hepatic Fibrosis Scores in Children with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Dig Dis Sci*, 60:1440–1447, 2015. DOI 10.1007/s10620-014-3494-7
116. Africa JA, Newton KP, Schwimmer JB. Lifestyle Interventions Including Nutrition, Exercise, and Supplements for Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Children. *Dig Dis Sci*, 61:1375–1386, 2016. DOI 10.1007/s10620-016-4126-1
117. Hernandez-Rodas MC, Valenzuela R, Videla LA. Relevant Aspects of Nutritional and Dietary Interventions in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Int. J. Mol. Sci.*, 16, 25168-25198, 2015 doi:10.3390/ijms161025168.
118. L. Sanches SC, Z. Ramalho LN, Augusto MJ, Mara da Silva D, Ramalho FS. Nonalcoholic Steatohepatitis: A Search for Factual Animal Models. *BioMed Research International*. Article ID 574832, 1-13, 2015 <http://dx.doi.org/10.1155/2015/574832>
119. Larter CZ, Yeh MM. Animal models of NASH: Getting both pathology and metabolic context right. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 23,1635–1648, 2008. doi:10.1111/j.1440-1746.2008.05543.x
120. Denk H, Abuja PM, Zatloukal K. Animal models of NAFLD from the pathologist's point of view. *BBA - Molecular Basis of Disease* 1865;929–942, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2018.04.024>
121. Kucera O, Cervinkova Z. Experimental models of non-alcoholic fatty liver disease in rats. *World J Gastroenterol*. 14; 20(26): 8364-8376, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.3748/wjg.v20.i26.8364>
122. Marques C, Meireles M, Norberto S, Leite J, Freitas J, Pestana D, et al. High-fat diet-induced obesity Rat model: a comparison between Wistar and Sprague-Dawley Rat. *Adipocyte*, 5:1, 11-21,2016. DOI: 10.1080/21623945.2015.1061723
123. Hariri N, Thibault L. High-fat diet-induced obesity in animal models. *Nutrition Research Reviews.*, 23, 270–299, 2010. doi:10.1017/S0954422410000168
124. Nakamura A, Terauchi Y. Lessons from Mouse Models of High-Fat Diet-Induced NAFLD. *Int. J. Mol. Sci.*, 14, 21240-21257, 2013; doi:10.3390/ijms141121240.

125. Barbier de La Serre C, Ellis CL, Lee J, Hartman AL, Rutledge JC, Raybould HE. Propensity to high-fat diet-induced obesity in rats is associated with changes in the gut microbiota and gut inflammation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 299: G440–G448, 2010. doi:10.1152/ajpgi.00098.2010.
126. Lv Y, Gao X, Luo Y, Fan W, Shen T, Ding C, et al. Apigenin ameliorates HFD-induced NAFLD through regulation of the XO/NLRP3 pathways. *Journal of Nutritional Biochemistry* 71, 110–121, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2019.05.015>
127. Willebrords TJ, Pereira IVA, Maes M, Yanguas SC, Colle I, Bossche BVD, et al. Strategies, models and biomarkers in experimental non-alcoholic fatty liver disease Research. *Prog Lipid Res* 2015, <http://dx.doi.org/10.1016/j.plipres.2015.05.002>
128. Popescu LA, Virgolici B, Lixandru D, Miricescu D, Condut E, Timnea O, et al. Effect of diet and omega-3 fatty acids in NAFLD. *Rom J Morphol Embryol*, 54(3 Suppl):785–790, 2013.
129. Godea Lupei S, Ciubotariu D, Danciu M, Lupușoru RV, Ghiciuc CM, Cernescu I, et al. Improvement in serum lipids and liver morphology after supplementation of the diet with fish oil is more evident under regular feeding conditions than under high-fat or mixed diets in rats. *Lipids in Health and Disease*, 19:162, 2020. <https://doi.org/10.1186/s12944-020-01339-y>
130. Li Q, Brendemuhl JH, Jeong KC, Badinga L. Effects of dietary omega-3 polyunsaturated fatty acids on growth and immune response of weanling pigs. *Journal of Animal Science and Technology*, 56:7, 2014. <http://www.janimscitechnol.com/content/56/1/7>
131. Sengupta P. The Laboratory Rat: Relating Its Age With Human's. *Int J Prev Med.*; 4(6): 624–630, 2013.
132. Sayin FK, Buyukbas S, Basarali MK, Alp H, Toy H, Ugurcu V. Effects of Silybum marianum Extract on High-Fat Diet Induced Metabolic Disorders in Rats. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 66,1, 0–0, 2016. DOI: 10.1515/pjfn-2015-0014

133. Guo Y, Wang S, Wang Y, Zhu T. Silymarin improved diet-induced liver damage and insulin resistance by decreasing inflammation in mice. *Pharmaceutical Biology*, 54:12, 2995-3000, 2016. DOI: 10.1080/13880209.2016.1199042
134. Ma Q, Zhou X, Hu L, Chen J, Zhu J, Shan A. Leucine and Isoleucine have similar effects on reducing lipid accumulation, improving insulin sensitivity and increasing the browning of WAT in high-fat diet-induced obese mice. *Food Funct.*, 2020, DOI: 10.1039/C9FO03084K
135. Neuman GM, Cohen LB, Nanau RM. Biomarkers in nonalcoholic fatty liver disease. *Can J Gastroenterol Hepatol*, ;28(11):607-618, 2014.
136. Fakhoury-Sayegh N, Trak-Smayra V, Khazzaka A, Esseily F, Obeid O, Lahoud-Zouein M, et al. *Nutrition Research and Practice*; 9(4): 350-357; 2015. doi:10.4162/nrp.2015.9.4.350
137. Wong SK, Chin KY, Suhaimi FH, Ahmad F, Ima-Nirwana S. The Effects of a Modified High-carbohydrate High-fat Diet on Metabolic Syndrome Parameters in Male Rats. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*; 126: 205–212, 2018. doi: 10.1055/s-0043-119352.
138. Moon CM, Oh CH, Ahn KY, Yang JS, Kim JY, Shin SS, et al. Metabolic biomarkers for non-alcoholic fatty liver disease induced by high-fat diet: In vivo magnetic resonance spectroscopy of hyperpolarized [1-13C] pyruvate. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 482; 112e119, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.08.118>
139. 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: 905–911, 2009 doi: 10.3945/jn.108.101808.
140. Hernandez JE, Tapia-Chavez CCN, Uribe M, Barbero-Becerra VJ. Role of bioactive fatty acids in nonalcoholic fatty liver disease. *Nutrition Journal* 15: 72, 2016. Doi: 10.1186/s12937-016-0191-8

141. Chiu CY, Wang PL, Liu SH, Chiang MT. Fish oil supplementation alleviates the altered lipid homeostasis in blood, liver and adipose tissues in high-fat diet-fed rats. *J. Agric. Food Chem.*, 66,(16), 4118–4128, 2018. DOI: 10.1021/acs.jafc.8b00529.
142. Vijaimohan K, Jainu M, Sabitha KE, Subramaniyam S, Anandhan C, Devi CSS. Beneficial effects of alpha linolenic acid rich flaxseed oil on growth performance and hepatic cholesterol metabolism in high fat diet fed rats. *Life Sciences* 79 ; 448–454, 2006. doi:10.1016/j.lfs.2006.01.025
143. Hong L, Zahradka P, Cordero-Monroy L, Wright B, Taylor CG. Dietary Docosahexaenoic Acid (DHA) and Eicosapentaenoic Acid (EPA) Operate by Different Mechanisms to Modulate Hepatic Steatosis and Hyperinsulemia in *fa/fa* Zucker Rats. *Nutrients*, 11, 917;2019. doi:10.3390/nu11040917
144. Janczyk W, Lebensztejn D, Wierzbicka-Rucinska 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. *J Pediatr* ;166:1358-63, 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpeds.2015.01.056>
145. Kakazu E, Sano A, Morosawa T, Inoue, J, Ninomiya M, Iwata T, et al. Branched-chain amino acids are associated with the heterogeneity of the area of lipid droplets in hepatocytes of patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology Research*; 49:860–871, 2019. doi:10.1111/hepr.13346
146. Kakazu E, Sano A, Morosawa T, Inoue, J, Ninomiya M, Iwata T, et al. Branched chain amino acids: A factor for zone 3 steatosis in non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatology Research*; 49: 841–843, 2019. doi: 10.1111/hepr.13402
147. Takegoshi K, Honda M, Okada H, Takabatake R, Matsuzawa-Nagata N, Campbell JS, et al. Branched-chain amino acids prevent hepatic fibrosis and development of hepatocellular carcinoma in a non-alcoholic steatohepatitis mouse model. *Oncotarget*, 8,(11), 18191-18205, 2017.
148. Honda T, Ishigami M, Luo F, Lingyun M, Ishizu Y, Kuzuya T, et al. Branched-chain amino acids alleviate hepatic steatosis and liver injury in choline-deficient high-fat diet induced NASH mice. *Metabolism*,69,177-187, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2016.12.013>

149. Zhang F, Zhao S, Yan W, Xia Y, Chen X, Wang W, et al. Branched Chain Amino Acids Cause Liver Injury in Obese/Diabetic Mice by Promoting Adipocyte Lipolysis and Inhibiting Hepatic Autophagy. *EBioMedicine* 13,157–167, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ebiom.2016.10.013>
150. Kilany OE, Khalil WF, Mohammed El saied S, Helmi RA, Fares IM. Comparative Hematological and Biochemical Studies on the Effect of Some Hepatoprotective Agents in Rats. *Egypt. Acad. J. Biolog. Sci. (B. Zoology)* 12(1): 25-40, 2020.
151. Radko L, Cybulski W. Application of silymarin in human and animal medicine. *Journal of Pre-Clinical and Clinical Research*, 1(1), 022-026, 2007.
152. Sahin E, Bagci R, Aykanat NEB, Kacar S, Sahinturk V. Silymarin attenuated nonalcoholic fatty liver disease through the regulation of endoplasmic reticulum stress proteins GRP78 and XBP-1 in mice. *J Food Biochem.*;44:e13194, 2020. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13194>
153. Roy K, Iyer U. Role of Silymarin in the Management of Non-alcoholic Fatty Liver Disease: Time to Clear the Mist. *Functional Foods in Health and Disease*; 9(5):126-133, 2019. DOI: <https://doi.org/10.31989/bchd.v2i5.622>
154. Colletta C, Colletta A, Placentino G. Lifestyle and silymarin: a fight against liver damage in NAFLD associated - prediabetic disease. *J Diabetes Metab Disord*, 2020. <https://doi.org/10.1007/s40200-020-00576-3>.

10.EKLER

Ek.1. Deney Grubunda kullanılan %60 yağlı sıçan yemi içeriği

altromin

C 1090 - 60 - product data sheet

C 1090 - 60

obesity-inducing diet with w/60% energy from fat (free of animal origin)

Metabolized energy

Content	Value	unit
Fat	3,125 (60%)	kcal/kg
Protein	827 (16%)	kcal/kg
Carbonhydrates	1,238 (24%)	kcal/kg

crude nutrients and moisture

Content	Value	unit
Moisture	26,932 (2.7%)	mg/kg
Crude Ash	50,151 (5.0%)	mg/kg
Crude Fibre	38,149 (3.8%)	mg/kg
Crude Fat	347,238 (34.7%)	mg/kg
Crude Protein	206,690 (20.7%)	mg/kg
Nitrogenfree extractives	330,840 (33.1%)	mg/kg

Carbonhydrates

Content	Value	unit
Monosaccharides	101,920	mg/kg
Disaccharides	29,505	mg/kg
Polysaccharides	158,597	mg/kg

Minerals

Content	Value	unit
Calcium	5,689	mg/kg
Potassium	4,252	mg/kg
Magnesium	491	mg/kg
Sodium	3,683	mg/kg
Phosphorus	4,984	mg/kg

Altromin Spezialfutter GmbH & Co. KG
Im Seelenkamp 20, 32791 Lage, Germany
info@altromin.de - www.altromin.com



Page 1/3

Trace elements

Content	Value	unit
Aluminium	7.48	mg/kg
Chlorine	2,117.50	mg/kg
Iron	135.35	mg/kg
Flourine	2.43	mg/kg
Iodine	0.26	mg/kg
Cobalt	0.08	mg/kg
Copper	6.56	mg/kg
Manganese	60.81	mg/kg
Molybdenum	0.12	mg/kg
Sulfur	2,365.15	mg/kg
Selenium	0.14	mg/kg
Zinc	22.31	mg/kg

Added vitamins

Content	Value	unit
Vitamin A	15,000	IU/kg
Vitamin D3	500	IU/kg
Vitamin E	150	mg/kg
Vitamin K3	10	mg/kg
Vitamin B1	20	mg/kg
Vitamin B2	20	mg/kg
Vitamin B6	15	mg/kg
Vitamin B12	30	µg/kg
Nicotinic acid	50	mg/kg
Pantothenic acid	50	mg/kg
Folic acid	10	mg/kg
Biotin	200	µg/kg
Choline chloride	1,000	mg/kg
Vitamin C	20	mg/kg

Amino acids

Content	Value	unit
Alanine	9,894	mg/kg
Arginine	14,227	mg/kg
Aspartic acid	24,886	mg/kg
Cystine	3,448	mg/kg
Glutamic acid	51,637	mg/kg
Glycine	8,268	mg/kg
Histidine	5,742	mg/kg
Isoleucine	10,557	mg/kg
Leucine	12,209	mg/kg
Lysine	6,659	mg/kg
Methionine	3,447	mg/kg
Phenylalanine	7,815	mg/kg
Proline	9,673	mg/kg
Serine	10,565	mg/kg
Threonine	8,266	mg/kg
Tryptophan	3,439	mg/kg
Tyrosine	7,583	mg/kg
Valine	5,524	mg/kg

Fatty acid

Content	Value	unit
Arachidic acid C-20:0	1,008	mg/kg
Eicosanoic acid C-20:1	560	mg/kg
Alpha-Linolenic acid C-18:3	5,880	mg/kg
Linolenic acid C-18:2	44,520	mg/kg
Palmitic acid C-16:0	38,360	mg/kg
Stearic acid C-18:0	22,400	mg/kg
Oleic acid C-18:1	28,560	mg/kg

11.ETİK KURUL ONAYI



T.C.
İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

E-İmzalıdır

Sayı : 38828770-604.01.01-E.37804
Konu : Etik Kurulu Hk.

16/10/2017

Sayın Prof. Dr. Muazzez GARİPAÇAOĞLU

Üniversitemiz Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 23.08.2017 tarihli 47 karar no ile onay verilen "Alkolik Olmayan Yağlı Karaciğer Modelinde Omega-3, Dalı Zincirli Aminoasit ve Deve Dikenli Desteklerinin Bazı Biyokimyasal Parametrelere Etkisinin İncelenmesi" isimli çalışmanın sorumlu araştırmacısı "Prof. Dr. Muazzez GARİPAÇAOĞLU" yerine "Berkin ÖZYILMAZ KIRCALI" olarak değiştirme isteğiniz uygun bulunmuş olup kayıt altına alınmıştır.

Bilgilerinize rica ederim.

Prof. Dr. Hanefi ÖZBEK
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
(İMÜ-HADYEK) Başkanı

Bu belge 5070 sayılı e-İmza Kanununa göre Prof. Dr. Hanefi ÖZBEK tarafından 16.10.2017 tarihinde e-imzalanmıştır. Evrağınızı <https://ebys.medipol.edu.tr/e-imza> linkinden 7325D912XF kodu ile doğrulayabilirsiniz.

İstanbul Medipol Üniversitesi

Kavacak Mah. Ekinçiler Cad.No:19 Kavacak Kavşağı 34810
Beykoz/İSTANBUL

Tel: 444 85 44
İnternet: www.medipol.edu.tr
Ayrıntılı Bilgi İçin : bilgi@medipol.edu.tr



T.C.
İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (İmü-Hadyek) Kararı

Toplantı Tarihi	Karar No	İlgi	Proje Yürütücüsü
23/08/2017	47		Prof. Dr. Muazzez GARİPAĞAOĞLU

“Alkolik Olmayan Yağlı Karaciğer Modelinde Omega-3, Dallı Zincirli Aminoasit ve Deve Dikeni Desteklerinin Bazı Biyokimyasal Parametrelere Etkisinin İncelenmesi” başlıklı bilimsel araştırma etik kurulumuzda görüşülmüş olup, çalışmanın etik kurallara uygun olduğuna “Oybirliği” ile karar verilmiştir.

Etik Onay Geçerlilik Süresi: 18 Eylül 2017-3,5 ay

GÖREVİ	ADI SOYADI	İMZA
Başkan	Prof. Dr. Haneî ÖZBEK	
Üye	Prof. Dr. Mustafa ÖZTÜRK	
Üye	Yrd. Doç. Dr. Turan DEMİRCAN	
Üye	Yrd. Doç. Dr. Sultan Sibel ERDEM	
Üye	Yrd. Doç. Dr. Mehmet OZANSOY	
Üye	Öğr. Gör. Taha KELEŞTEMUR	
Üye	Uzm. Vet. Hek. Ekrem Musa ÖZDEMİR	
Üye	Özge Şeyda DURGUT	
Üye	Fahriye ŞENBAHÇE	



T.C.
İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü

E-İmzalıdır

Sayı : 31034136-302.14.01-E.14162
Konu : Tez İzleme Komitesi ve
Danışman Değişikliği

16/04/2020

İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
(Öğrenci İşleri Daire Başkanlığına)

Enstitümüzün Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı Doktora Programı'nda yeterlik sınavına girerek başarılı olan öğrencilerden Berkin ÖZYILMAZ'ın, tez izleme komitesi ve danışman değişikliği talebi ile ilgili olarak Enstitü Yönetim Kurulumuzca alınan 16.04.2020 tarih ve 2020/14-02 sayılı kararın bir örneği iliaikte gönderilmiştir.

Gereği için bilgilerinize rica ederim.

Prof.Dr. Neslin EMEKLİ
Müdür V.

EK:
Enstitü Yönetim Kurulu Kararı Örneği (1 Sayfa)

Bu belge 5070 sayılı e-İmza Kanununa göre Prof. Dr. Neslin EMEKLİ tarafından 16.04.2020 tarihinde e-imzalanmıştır.
Evrağınıza <https://ebys.medipol.edu.tr/e-imza> linkinden E3CE1142XE kodu ile doğrulayabilirsiniz.

İstanbul Medipol Üniversitesi

Kavacak Mah. Ekinciler Cad. No.19 Kavacak Kavşağı - Beykoz
34810 İstanbul

Tel: 444 85 44
İnternet: www.medipol.edu.tr
Ayrıntılı Bilgi İçin : bilgi@medipol.edu.tr

T.C.
İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ENSTİTÜ YÖNETİM KURULU KARARI

TOPLANTI TARİHİ	TOPLANTI SAYISI	KARAR SAYISI
16.04.2020	2020/14	02

Enstitümüzün Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı Başkanlığı'ndan alınan yazı örneği incelenerek, görüşüldü.

Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı Doktora Programı'nda yeterlik sınavına girerek başarılı olan öğrencilerden Berkin ÖZYILMAZ'ın, tez izleme komitesi ve danışmanının Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin 20/3. ve 34/6 Maddelerine istinaden değiştirilmesine, yerine aşağıda hıızalarında belirtilen Öğretim üyelerinin atanmasının uygun olduğuna, durumun anabilim dalı başkanlığına, adı geçen öğrencilere ve Rektörlüğe bildirilmesine oybirliği ile karar verildi.

ÖĞRENCİNİN ADI-SOYADI	ESKİ TEZ İZLEME KOMİTESİ	YENİ TEZ İZLEME KOMİTESİ
Berkin ÖZYILMAZ	Prof.Dr. Muazzez GARİPAĞAOĞLU (Danışman) Dr.Öğr.Üyesi Havvanur YOLDAŞ İLKTAÇ Prof.Dr. Gökhan BAYSOY	Prof.Dr. Gökhan BAYSOY (Danışman) Dr.Öğr.Üyesi Nihal Zekiye ERDEM Dr.Öğr.Üyesi Rabia İclal ÖZTÜRK

Prof. Dr. Neslin EMEKLİ
Müdür V.
(imza)

(Doç.Dr. Nihal BÜYÜKUSLU)
Müdür Yardımcısı
(imza)

ÜYE
Prof.Dr. Gürkan ÖZTÜRK
(imza)

ÜYE
Prof.Dr. Bayram Ufuk ŞAKUL
(imza)

ÜYE
Dr.Öğr.Üye. Nihal SUNAL
(imza)

ASLI GİBİDİR.

Göknil ERBATU ÇELİK
Enstitü Sekreteri V.

Bu belge 5070 sayılı e-İmza Kanununa göre Prof. Dr. Neslin EMEKLİ tarafından 16.04.2020 tarihinde e-imzalanmıştır. Evrağını <https://ebys.medipol.edu.tr/e-imza> linkinden E3CE1142XE kodu ile doğrulayabilirsiniz.

12.ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	BERKİN	Soyadı	ÖZYILMAZ KIRCALI
Doğum Yeri	SAMSUN	Doğum Tarihi	08/01/1988
Uyruğu	TC	TC Kimlik No	
E-mail	dytberkinozyilmaz@gmail.com	Tel	0545 523 36 61

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora/Uzmanlık		
Yüksek Lisans	Haliç Üniversitesi	2014
Lisans	Başkent Üniversitesi	2011
Lise	Samsun Tülay Başaran Anadolu Lisesi	2007

İş Deneyimi(Sondan Geçmişe Doğru)

Görevi	Kurum	Süre (Yıl – Yıl)
1. Öğretim Görevlisi	İstinye Üniversitesi	2017 - ...
2. Öğretim Görevlisi	Bahçeşehir Üniversitesi	2015 – 2017
3. Diyetisyen	Hillside Spor Kompleksi	2013 – 2015
4. Araştırma Görevlisi	Haliç Üniversitesi	2012 – 2013

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

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin.

Yabancı Dil Sınav Notu								
KPDS	YDS	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE
	62,5							

Başarılmış birden fazla sınav varsa, tüm sonuçlar yazılmalıdır

KPDS: Kamu Personeli Yabancı Dil Sınavı; YDS: Yabancı Dil Bilgisi Seviye Tespit Sınavı; IELTS: International English Language Testing System; TOEFL IBT: Test of English as a Foreign Language-Internet-Based Test TOEFL PBT: Test of English as a Foreign Language-Paper-Based Test; TOEFL CBT: Test of English as a Foreign Language-Computer-Based Test; FCE: First Certificate in English; CAE: Certificate in Advanced English; CPE: Certificate of Proficiency in English

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES PUANI	74,69	78,33	71,94
DİĞER PUANI			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma Becerisi
Microsoft Office	Çok iyi
BeBiS	Çok iyi

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin.

Kitap bölümleri:

Konu Çocuk Olunca, Bölüm adı : (Çocuk Beslenmesinin 0 – 18 yaşları kapsayan çerçevede temeli, güncel yaklaşımlar ve risk durumları) (2020). Özyılmaz Kırçali B, Elmacıoğlu F. Nobel Akademik Yayıncılık, Editör: Dudu Melek Sabuncuoğlu, Basım Sayısı:1, ISBN: 978-625-402-050-6, Türkçe (Bilimsel Kitap) YÖK Yayın ID: 6405964

Konferans Bildirileri:

18 – 45 yaş arası yetişkin bireylerde kısıtlı yeme, duygusal yeme, kontrolsüz yeme davranışlarının besin seçimi ve beslenme durumlarına etkisi, 7. Ulusal Obezite Kongresi, 8 – 11 Aralık 2016, İstanbul

Polikliniğe başvuran obez kadınların çalışıp-çalışmama durumlarının beslenme durumlarına etkisi, 7. Ulusal Obezite Kongresi 8 – 11 Aralık 2016

Sağlıklı ve obez bireylerin antropometrik ölçümlerinin serum lipidlerine etkisi, 7. Ulusal Obezite Kongresi, 8 – 11 Aralık 2017, İstanbul

Vardiyalı çalışan işçilerde beslenme durumu, uyku kalitesi ve bazı biyokimyasal bulgular arasındaki ilişki, 7. Ulusal Obezite Kongresi, 8 – 11 Aralık 2017, İstanbul

Gebelik ve Laktasyonda Beslenme Kursu- Gebelik Döneminde Omega Yağ Asitleri ve Probiyotiklerin Etkisi, 6 Ocak 2018

Çocuk sağlığının geliştirilmesinde omega yağ asitlerinin önemi, 5. Marmara Pediatri Kongresi, 15 – 17 Şubat 2018, İstanbul

Çocuk Sağlığının Geliştirilmesinde Omega Yağ Asitleri, Sözlü Sunum, 6. Uluslararası ilk 1000 Gün Kongresi, 14 – 18 Mart 2018, Antalya Sunum No:0103 Sozel Bildiri Oturumu - 5

Anne sütü tüketim süresi ile yetişkinlik döneminde kronik hastalık görülme sıklığı arasındaki ilişki, 6. Uluslararası ilk 1000 Gün Kongresi, 14 – 18 Mart 2018, Antalya, Poster No: 0142

Hiperemesis gravidarum şiddetine göre gebelerin beslenme durumlarının değerlendirilmesi, 6. Uluslararası ilk 1000 Gün Kongresi, 14 – 18 Mart 2018, Antalya, Poster No: 0187

M. Tuçe Ülker, Berkin Özyılmaz Kırçali, Gebelikte Hiperemesis gravidarum ve tedavi yaklaşımları, 6. Uluslararası ilk 1000 Gün Kongresi, 14 – 18 Mart 2018, Antalya, Poster No: 0148

