



T.C
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
TİP FAKÜLTESİ
Biyokimya ve Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı

**NONALKOLİK STEATOHEPATİT'Lİ RATLARDA METFORMİN,
ROSİGLİTAZON, N-ASETİLSİSTEİN VE ETODOLAK'IN TEDAVİ
EDİCİ ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

(Biyokimya Uzmanlık Tezi)

Dr. Sedat YILMAZ

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Naime CANORUÇ

DİYARBAKIR
2010

ÖNSÖZ

Tezimin proje aşamasından baskı aşamasına kadar bütün aşamalarında, kıymetli bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım saygıdeğer tez danışmanı hocam sayın Prof. Dr.Naime CANORUÇ'a şükranlarımı sunarım.

Tezimdeki rat karaciğer dokusu histopatolojik değerlendirme sırasında bana yardımcı olan Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilimdalı öğretim görevlisi Prof.Dr. Murat AKKUŞ'a ve asistanı Selçuk TUNİK'e,

Tezimdeki COX-2, PPAR- γ , PPAR- α , reseptör ekspresyonlarının western blot analizi sırasında bana yol gösteren, İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü , Tüm Genom Dizileme Laboratuvarında görevli Doç.Dr.Duran USTEK'e ve Medsantek yetkilisi tıbbi biyolog Bülent TEKİN'e,

Tezimdeki biyokimyasal analizler çalışan Dicle Üniversitesi merkez Laboratuvarında görevli teknisyenler Mehmet GÜZESÖY, Rojda AKSU ve Gülten KAHRAMAN'a,

Tezimdeki malonildialdehit analizi sırasında bana yardımcı olan Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya ABD Laboratuvarında görevli Hayriye D.BAYRAM'a,

Ratlara ilaç verme aşamasında bana eşlik eden biyokimya yüksek lisans öğrencisi biyolog Nurdagül Ş.NURANİ 'ye ve biyokimya ABD personeli İhsan LAMA'ya, Uzmanlık eğitimim boyunca desteklerini esirgemeyen, bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, yetişmemde çok değerli katkıları olan Biyokimya ABD'nin bütün kıymetli hocalarına ve asistan arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Asistanlık eğitimim suresince desteğini yanımda hissettiğim sevgili eşim Melek YILMAZ'a ve oğlum Ahmet ve kızım Şulenur'a sevgilerimi sunuyorum.

Dr. Sedat YILMAZ

**BU TEZ DÜBAP TARAFINDAN 09-TF-34 PROTOKOL NUMARASI İLE
DESTEKLENMİŞTİR**

İÇİNDEKİLER	Sayfa
Kapak	1
Önsöz	2
İçindekiler Dizini	I-II
Şekiller Dizini	III-IV
Grafikler Dizini	IV
Tablolar Dizini	IV
Simgeler ve Kısaltmalar	V- VI
Türkçe Özet	VII
İngilizce Özet	VIII-IX
1.Giriş ve Amaç	1-3
2.Genel Bilgiler	3-38
2.1.Karaciğer Anatomisi ve Histolojisi	3-6
2.2.Karaciğer Yağlanması (Hepatosteatoz)	7
2.3. Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalıkları (NAFLD)	7-8
2.4.Nonalkolik Steatohepatit(NASH)	8-9
2.5.NASH Etiyolojisi	9-11
2.6.NASH Patogenezi	11
2.6.1. İnsülin direncinin NAFLD gelişimine etkisi	11-15
2.6.2. İki darbeli nonalkolik steatohepatit modeli	15-23
2.7.NASH'te Klinik	23-24
2.8. NASH'te Tanı	24-26
2.9. NASH Tedavisi	26-28
2.10.Peroksizom Proliferatör Aktive eden Reseptör(PPAR)	28-31
2.11.Siklooksigenaz 2 (COX-2)	31-32
2.12.Oksidatif Stres	33-35
2.13. Metformin	35-36
2.14. Rosiglitazon	36-37
2.15. N-Asetilsistein	37-38
2.16. Etodolak	38
3.Gereç ve Yöntem	39-44
3.1. Deney Hayvanları ve Çalışma Grupları	39

3.2.Standart ve Yüksek Yağlı Diyet	39-40
3.3.İlaçlar	40
3.4.Analizler	40
3.4.1.Ağırlık Ölçümleri	40
3.4.2.Biyokimyasal Analizler	40-41
3.4.3.Karaciğer dokusu Malonil Dialdehid (MDA) analizi	41-42
3.4.4. Karaciğer dokusu Histopatolojik Değerlendirme	43
3.4.5. Western blot analizi	44
3.5.İstatistik Analiz	44
4.Bulgular	45-63
4.1.Ağırlık Ölçüm Sonuçları	45-46
4.2. Biyokimyasal Sonuçlar	47-53
4.3.Serum TNF- α ve Karaciğer dokusu MDA sonuçları	54-56
4.4. Karaciğer dokusu Histopatolojik Değerlendirme sonuçları	57-61
4.5.Western blot analizi sonuçları	62-63
5. Tartışma	64-67
6. Sonuç	68
7. Kaynaklar	68-80

ŞEKİLLER	Sayfa
Şekil 1. Karaciğer makroskopik anatomisi ön yüz	3
Şekil-2. Karaciğer makroskopik anatomisi arka yüz	4
Şekil-3. Karaciğer lobülü ve karaciğer asinüsü	5
Şekil-4. Karaciğerin mikroskobik yapısı	6
Şekil-5. İnsülin direncinin NAFLD gelişimine etkisi:	13
Şekil-6. İnsülin direncinde oluşturan moleküler nedenler	14
Şekil-7. Hepatosit FFA metabolizması	16
Şekil-8. Hepatositler içinde lipit birikimine yol açan nedenler	20
Şekil-9. Mikrozomal ω -oksidasyon, peroksizomal β - oksidasyon ve mitokondriyal β - oksidasyon arasındaki ilişki	22
Şekil-10.NASH patogeneğinde ikinci vuruş	23
Şekil-11.Peroksizom Proliferatör Aktive eden Reseptörler (PPAR)	29
Şekil-12.MDA'nın oluşum reaksiyonu	34
Şekil-13. Metformin'nin kimyasal formülü	35
Şekil-14. Rosiglitazon'un kimyasal formülü	36
Şekil-15. N-Asetilsistein'nin kimyasal formülü	37
Şekil-16. Etodolak'ın kimyasal formülü	38
Şekil-17. MDA'nın TBA ile renkli kompleks oluşturmaları	41
Şekil-18.Kontrol grubunun HE x200 preparatı	58
Şekil-19. Kontrol grubunun MT x200 preparatı	58
Şekil-20. Yüksek yağlı diyet grubunun HE x200 preparatı	58
Şekil-21. Yüksek yağlı diyet grubunun MT x200 preparatı	59
Şekil-22. Metformin grubunun HE x200 preparatı.	59
Şekil-23. Metformin grubunun MT x200 preparatı	59
Şekil-24. Rosiglitazon grubunun HE x200 preparatı	60
Şekil-25. Rosiglitazon grubunun MT x200 preparatı.	60
Şekil-26. N-asetilsistein grubunun HE x200 preparatı.	60
Şekil-27. N-asetilsistein grubunun MT x200 preparatı.	61
Şekil-28. Etodolak grubunun HE x200 preparatı.	61
Şekil-29. Etodolak grubunun MT x200 preparatı.	61
Şekil-30. Tüm deney gruplarının PPAR- α reseptör ekspresyonu	62

Şekil-31.Tüm deney gruplarının PPAR- γ reseptör ekspresyonu	63
Şekil-32.Tüm deney gruplarının COX-2 reseptör ekspresyonu	63

GRAFİKLER DİZİNİ

Sayfa

Grafik-1. Absorbans –konsantrasyon grafiği	42
Grafik-2.Tüm deney gruplarının karaciğer ağırlıklarının karşılaştırılması	46
Grafik-3.Tüm deney gruplarının ALT değerlerinin karşılaştırılması	48
Grafik-4.Tüm deney gruplarının AST değerlerinin karşılaştırılması	49
Grafik-5.Tüm deney gruplarının TG değerlerinin karşılaştırılması	50
Grafik-6.Tüm deney gruplarının TK değerlerinin karşılaştırılması	51
Grafik-7.Tüm deney gruplarının HDL-C değerlerinin karşılaştırılması	52
Grafik-8.Tüm deney gruplarının LDL-C değerlerinin karşılaştırılması	53
Grafik-9.Tüm deney gruplarının Serum TNF- α değerlerinin karşılaştırılması	55
Grafik-10.Tüm deney gruplarının Karaciğer dokusu MDA değerlerinin karşılaştırılması	56

TABLolar

Sayfa

Tablo-1.Ağırlık Ölçüm Sonuçları	45
Tablo-2.Tüm deney gruplarının karaciğer ağırlıklarının karşılaştırılması	46
Tablo-3.Tüm deney gruplarının biyokimyasal sonuçları	47
Tablo-4. Tüm deney gruplarının ALT değerlerinin karşılaştırılması	48
Tablo-5. Tüm deney gruplarının AST değerlerinin karşılaştırılması	49
Tablo-6. Tüm deney gruplarının TG değerlerinin karşılaştırılması	50
Tablo-7. Tüm deney gruplarının TK değerlerinin karşılaştırılması	51
Tablo-8. Tüm deney gruplarının HDL-C değerlerinin karşılaştırılması	52
Tablo-9. Tüm deney gruplarının LDL-C değerlerinin karşılaştırılması	53
Tablo-10.Serum TNF- α ve Karaciğer dokusu MDA sonuçları	54
Tablo-11.Tüm deney gruplarının TNF- α değerlerinin karşılaştırılması	55
Tablo-12.Tüm deney gruplarının liver MDA değerlerinin karşılaştırılması	56

SİMGELER VE KISALTMALAR

AFLD: Alkolik Fatty Liver Disease

AS: Alkolik steatoz

ASH: Alkolik steatohepatit

NAFLD: Nonalkolik Fatty Liver Disease

NAS: Non-alkolik steatoz

NASH: Nonalkolik Steatohepatit

DM :Diabetes Mellitus

ALT: Alanin aminotransferaz

AST: Aspartat aminotransferaz

GGT :Gama-Glutamil- Transferase

ALP: Alkalen fosfatase

TG: Trigliserit

TK: Total kolesterol

HDL: Yüksek dansiteli lipoprotein

LDL: Düşük Dansiteli Lipoprotein

MDA: Malonil Dialdehid

HNE: 4- hidroksinonenal

TNF- α :Tümör nekrozis faktör alfa

TGF- β :Transforming growth factor beta

PPAR: Peroxisome proliferator-activated receptor

COX-2: Siklooksigenaz-2

NSAİ: Nonsteroid antiinflamatuar ilaç

HE: Hematoksilen-Eozin

MT: Masson Trikrom

MET: Metformin

ROZİ: Roziglitazon

NAS: N-Asetil Sistein

ETOL: Etodolak

MCD: Muscle Carnitine Deficiency

SCD: Systemic Carnitine Deficiency

LCAD: Long-Chain Acyl CoA Dehydrogenase Deficiency

VLCAD:Very Long-Chain Acyl CoA Dehydrogenase Deficiency
 LCHAD:Long-Chain 3-Hydroxy Acyl-CoA Dehydrogenase (LCHAD)
 MTP:Mitokondriyal trifonksiyonel protein
 CPT-1:Karnitin Palmitoil Transferaz I
 CACT:Karnitin Açıl Karnitin Translokaz
 ALD:Adrenolökodistrofi
 ER:Endoplazmik Retikulum
 CYP:Sitokrom P450
 H₂O₂:Hidrojen peroksiti
 SOR: Serbest Oksijen Radikalleri
 BT:Bilgisayarlı Tomografi
 MRI: Magnetic resonance imaging
 USG :Ultrasonografi
 RXR:Retinoid X reseptörü
 SREPB-1: Sterol regulatory element-binding protein 1
 UCP-3:Uncoupling proteinler-3
 ABCA-1:ATP Binding Cassette Transporter A1
 IL-6:İnterlök in-6
 PC-1:Plazma Cell antijen 1
 FFA:Free Fatty Acid
 HMG-CoA: 3-Hydroxy-3-Methyl-Glutaryl-CoA
 LPL:Lipoprotein lipaz
 ApoA1: Apolipoprotein A-I
 PGG2:ProstaglandinG2
 PGH 2 : Prostoglandin H2,
 TBARS :ThioBarbituric Acid Reactive Substances
 TBA: ThioBarbituric Acid
 SDS:Sodyum Dodesül Sülfat
 PBS:Phosphate buffered saline (PBS)
 BSA:Bovin Serum Albumin

ÖZET

Bu çalışmada Non-alkolik steatohepatitli (NASH) ratlarda metformin, rosiglitazon, N-asetilsistein ve etodolakın tedavi edici etkilerini ve oluşturduğu biyokimyasal değişiklikleri değerlendirmeyi amaçladık.

Araştırmamıza Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Uygulama ve Araştırma Merkezinden (DUSAM) temin edilen 48 adet Sprague-Dawley cinsi erkek rat çalışmaya dahil edildi. Bu ratlar rastgele 6 gruba ayrıldı.

1.Grup:(Kontrol grubu) Standart bazal diyetle beslendi. 2.Grup:(Yüksek yağlı diyet grubu) Yüksek yağlı diyetle beslendi.Sonraki dört grup ise ilk onaltı hafta yüksek yağlı diyetle beslendi. Takiben 3.Grup: (Metformin grubu) Metformin 250 mg/kg/gün dozda gastrik sondayla , 4.Grup:(Rosiglitazon grubu) 4 mg/kg/gün dozda gastrik sondayla,5.Grup: (N-asetilsistein grubu) 100 mg/kg/gün dozda intraperitoneal (ip) olarak, 6.Grup: (Etodolak grubu) Etodolak 10 mg/kg/gün dozda gastrik sondayla 28 gün boyunca tedavi edildiler.Çalışmamızda yüksek yağlı diyet ile karaciğer yağlanması oluşturuldu, NASH tedavisinde metformin ve rosiglitazonun en iyi farmakolojik ajanlar olduklarını gözlemledik. Yine N-asetilsisteinin de NASH tedavisinde etkili bir ilaç olduğunu gözlemledik. NASH tedavisinde ilk defa araştırdığımız etodolak karaciğer enzimlerinden ALT değerlerini istatistiksel olarak anlamlı derecede düzelme sağladığını ancak AST değerlerinde bir değişiklik yapmadığını gözlemledik.Etodolak yüksek dansiteli lipoprotein (HDL-C) değerlerini istatistiksel olarak anlamlı derecede düzelttiğini, ancak trigliserit, kolesterol ve düşük dansiteli lipoprotein (LDL-C) değerlerinde herhangi bir iyileştirme yapmadığını gözlemledik. Etodolak; TNF- α değerlerinde tüm gruplar içinde kontrol grubuna en yakın düzeltmeyi sağladı ancak MDA değerlerinde ise azaltmakla beraber kısmi düzelme sağladığını gözlemledik. Etodolak'ın PPAR- α reseptör ekspresyonunu artırarak kısmi düzelme ,PPAR- γ reseptör ekspresyonunu azaltarak çok az düzelme, COX-2 reseptör ekspresyonunu azaltarak tam bir düzelme sağladığını, ancak karaciğer histolojisinde steatozis ve fibrozisi önlemediği gözlemledik.

Anahtar kelimeler:NAFLD, Metformin,Rosiglitazon,N-Asetil sistein,Etodolak

ABSTRACT

We purposed ,estimation biochemical therapeutic effects of metformin,rosiglitazon, N-asetilsistein and etodolac in a model of non-alcolic steatohepatitis in the rat with this study.

Male Sprague-Dawley rats from the Experimental Laboratory Animal Center,Dicle University, Diyarbakır were used. Sprague-Dawley rats randomly divided into six groups.Group 1: The control group (n=12) were fed with standard basal rat chow. Group 2: High fat diet group (n=12)were fed with high fat diet .Group 3: Metformin group (n=6) were fed with high fat diet the first four weeks. After sixteen weeks the animals treated by gavage with metformin (250 mg/kg/daily) end of the study.Group 4: Rosiglitazone group (n=6) were fed with high fat diet the first four weeks. After sixteen weeks the animals treated by gavage with rosiglitazon(4 mg/kg/daily) end of the study.Group 5: N-acetylcysteine group (n=6) were fed with high fat diet the first four weeks. After sixteen weeks the animals treated by intraperitoneally with N-acetylcysteine (100 mg/kg/daily) end of the study. Group 6: Etodolac group (n=6) were fed with high fat diet the first four weeks. After sixteen weeks the animals treated by gavage with intraperitoneally etodolac (10 mg/kg/daily) end of the study. We obseved the study with high-fat diet may occur fatty liver and metformin and roziglitazonun are the best pharmacological agent for NASH treatment.We obseved N-acetylcysteine is a drug effective in the treatment of NASH. we investigated etodolac first the treatment of NASH. Etodolac were corrected values of statistically significant. Only ALT values did not improved. Etodolac were corrected high-density lipoprotein (HDL-C) values of statistically significant. Only triglycerides, cholesterol and low density lipoprotein (LDL-C) values did not improved.Etodolac; TNF- α levels in all groups with the control group was closest to fix only the MDA level was partial recovery.High fat diet induced a significant decrease of PPAR- α in liver lysates and only etodalac treatment partial prevented the high fat diet-induced PPAR- α degradation. On the contrary, PPAR- γ expression was upregulated in liver from high fat diet fed animals, and etodalac treatment very little prevented its increase. High fat diet induced a significant increase receptör ekspretion of COX-2 and only etodalac treatment total prevented the high fat diet-induced induced a

significant increase receptor expression of COX-2. But etodolac in liver histology did not prevent steatosis and fibrosis.

Key words: NAFLD, Metformin, Rosiglitazone, N-acetylcysteine, Etodolac

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Yağlı karaciğer hastalığı son yıllarda özellikle batı toplumlarında en sık görülen karaciğer hastalığıdır ve sıklığı genel olarak %15-20'lere ulaşır. Yağlı karaciğer hastalığı, alkole bağlı yağlı karaciğer (AFLD) ve non alkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAFLD) olmak üzere ikiye ayrılır. NAFLD, karaciğere zarar verecek miktarda alkol tüketimi olmayan bireylerde histolojik olarak makrovezikuler yağlanmanın baskın olduğu geniş bir tabloyu içerir (5).NAFLD, iki ayrı hastalığı bir arada ifade etmek için kullanılır: Birincisi inflamasyon ve fibrozisin eşlik etmediği sadece yağlanma ile seyreden non-alkolik steatoz (NAS), diğeri ise yağlanma ile birlikte nekroinflamatuvar aktivitenin olduğu non alkolik steatohepatittir (NASH) (6). Bugünkü bilgiler ışığı altında NAFLD'nın siroza ilerleme potansiyeli olan ve karaciğerle ilişkili zararlarından dolayı morbidite ve mortalitesi sık görülen bir kronik karaciğer hastalığı olduğu kabul edilmektedir. Özellikle son yıllarda bu konu ile ilgili araştırmalar hız kazanmış ve her geçen gün literatüre yeni görüşler eklenmektedir (6).NAFLD'nın doğal seyri histolojik tipine göre farklılık gösterir. Sadece non-alkolik steatoz(NAS) hastalığında genelde benign bir klinik gidiş vardır. Çalışmalarda bugünkü bilgiler eşliğinde sadece yağlı karaciğer hastalığında kronik hepatit veya fibrozis gözlenmemiştir. Non alkolik steatohepatit(NASH) hastalığında ise tanı konduğu anda bile birçok hastada yerleşmiş kronik karaciğer hasarı ve hatta siroz gözlenmektedir. NASH hastalığı popülasyonda ortalama %1,2 - 4,8 arasında görülmektedir (7).

Non alkolik yağlı karaciğer hastalığının patogenezi, hastalık 1980 yılında ilk tarif edildiğinden bugüne kadar iyi anlaşılabilmiş değildir. Güncel görüşlerin çoğu varsayım düzeyindedir, çünkü hastalığın mekanizması veya mekanizmaları hala araştırma altındadır. Niçin bazı hastalarda basit steatoz bazılarında steatohepatit ve progresif hastalık geliştiği henüz bilinmemektedir. Non alkolik yağlı karaciğer hastalığı sıklıkla hipertansiyon, diyabet, Obezite gibi insülin direnci olan hastalıklarla birlikte görülmektedir. İnsülin direnci non alkolik yağlı karaciğer hastalığının gelişiminde en çok dile getirilen faktördür (3). İnsülin direnci, normal konsantrasyondaki insülinin normalden daha az biyolojik yanıt oluşturmaması durumudur. İnsülin direnci iki temel mekanizma ile hepatositlerde yağ birikimine yol açmaktadır: Bu mekanizmalar artmış lipoliz ve hiperinsülinemidir. 1998'de Day

tarafından ortaya atılan iki darbeli non alkolik steatohepatit modeli halen patogeneizde en çok kabul edilen modeli oluşturur (8).

İlk vuruşta hepatositlerde yağlanma oluşur ve yağlı hepatositler hasar yapabilecek diğer etkenlere karşı duyarlı hale gelir. Sonrasında ikinci vuruş gerçekleşir ve hepatosit hasarı, inflamasyon sonunda da karaciğerde fibröz gelişir (9). Son zamanlarda non alkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAFLD) patogenezinde Peroksizom Proliferatör Aktive eden Reseptör (PPAR) 'lerin rolü sıklıkla araştırılmaktadır. PPAR'ler nükleer reseptor ailesinin bir üyesidirler(10). Liganda bağlanmaya yanıt olarak gen ekspresyonunu düzenlerler. Birçok yağ asidi PPAR için endojen ligand görevi yapar. PPAR'lerin tanımlanmış üç grubu vardır. Bunlar PPAR- α , PPAR- β/δ ve PPAR- γ dır. PPAR- α yağ asidi oksidasyonunu transkripsiyonel düzeyde düzenleyen hepatik yağ asidi duyarlı bir nükleer reseptördür. PPAR- α karaciğer, yağ dokusu, kalp, kas, damar duvarında bulunur. PPAR- α aktivasyonu karaciğere FFA alımını, FFA'nin hücre içinde taşınmasını, FFA'nin mitokondriye taşınmasını ve oksidasyonunu arttırır. (11). PPAR- γ iskelet ve kas hücreleri gibi bir çok dokuda mevcut olan, ancak ön planda yağ dokusunda bulunan bir nükleer reseptördür. PPAR- γ yaygın bir şekilde adipoz dokuda bulunur ve adipoz dokunun diferansiasyonu, dağılımı ve fonksiyonuna etkisi vardır. PPAR- γ aktivasyonu ile FFA ve TG seviyesini azaltırlar.(12)

Hücrede COX-2 kaynaklı bazı endojen prostanoitler PPAR- γ reseptörünü aktive ederler..PPAR- γ aktivasyonu da COX-2 indüksiyonunu inhibe eder. (12) Serbest radikaller biyolojik sistem üzerinde çeşitli zararlı etkiler vermektedir. Canlı sistemdeki biyomoleküllerin tüm büyük sınıfları serbest radikaller tarafından etkilenir fakat lipitler en hassas olanıdır(13).Lipit peroksidasyonu çok zararlı bir zincir reaksiyonudur. Direkt olarak membran yapısına ve indirekt olarak reaktif aldehytler üreterek diğer hücre bileşenlerine zarar verir; sonuçta birçok doku hasarı ve hastalıklara sebep olur. (14)Araştırmamızda yüksek yağlı diyet ile deney hayvanlarında öncelikle yağlı karaciğer hastalığı oluşturduk. Daha sonra NASH oluşturmayı hedefledik. Son olarak da oluşan Non-alkolik steatohepatit hastalığında(NASH) metformin, rosiglitazon, N-asetilsistein ve etodolak gibi farmakolojik ajanlarla denedik. Bu tedavilerin oluşturduğu biyokimyasal, histopatolojik değişiklikleri belirleyerek Non-alkolik steatohepatitin (NASH)

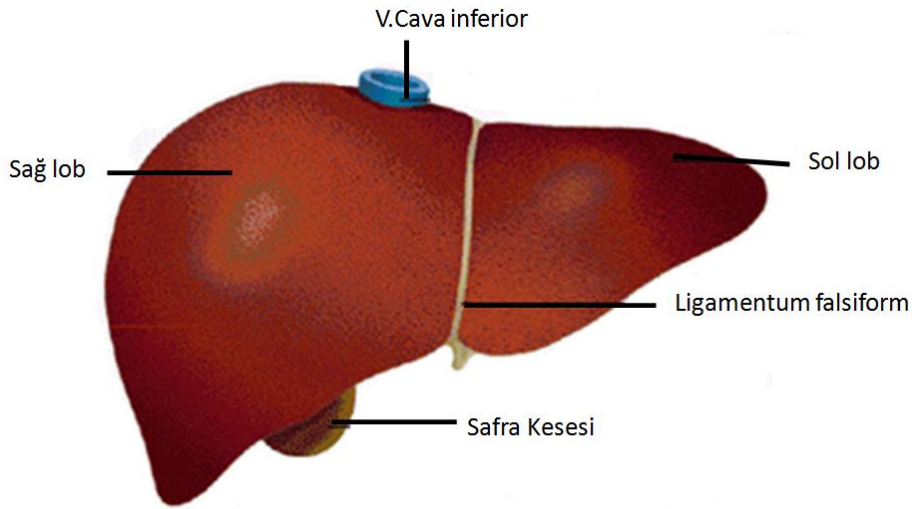
tedavisinde metformin, rosiglitazon, N-asetilsistein ve etodolak etkinliklerini karşılaştırdık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.Karaciğer Anatomisi ve Histolojisi

İnsan vücudunun en büyük bezi olarak kabul edilir. Karın boşluğunun sağ üst ve orta bölümünü doldurur. Diafragmanın hemen altındadır ve bu bölme ile sıkı bir komşuluğu vardır. Ağırlığı yaklaşık 1500 gr kadardır. Diafragma ile komşu olan yüzü konveks bir yapı gösterir ve facies diaphragmatica adını alır. Konkav durum gösteren alt yüz önemli karın organları ile komşuluktadır. Bu yüze facies visceralis denir. Önemli organların izlerini de burada görmek mümkündür.(15)

Karaciğeri örten periton yaprağı, bazı yerler dışında; organın büyük kısmını sardıktan sonra orak şeklinde, oldukça kuvvetli bir bağ meydana getirir. Buna ligamentum falciforme adı verilir. Bu yapı karaciğeri, lobus dexter ve lobus sinister olmak üzere iki büyük loba ayırır.(16)

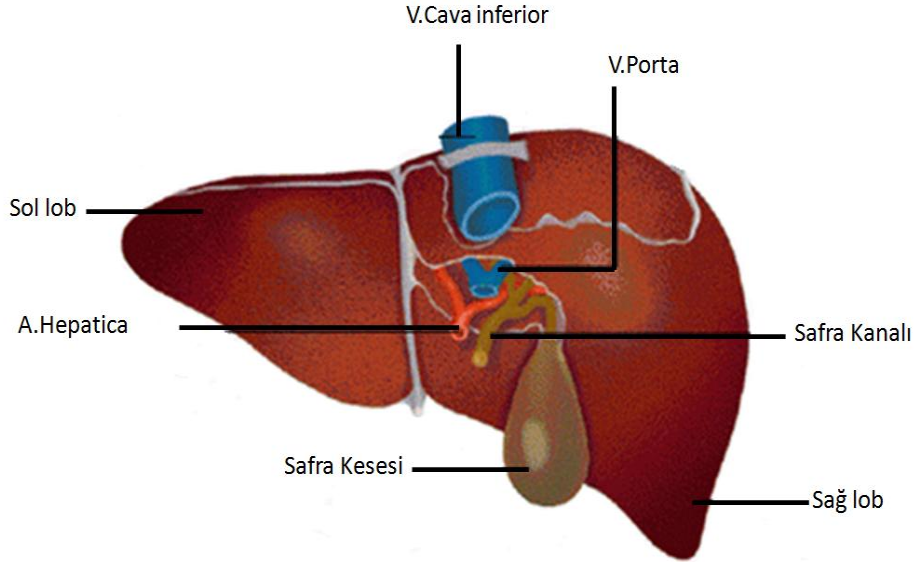


Şekil-1. Karaciğer makroskopik anatomisi ön yüz

Karaciğerin alt yüzünde enine derin bir yarık görülür. Bu açıklık karaciğer kapısı (porta hepatis) adı ile isimlendirilir. Buradan karaciğere önemli oluşumlar girer ve çıkarlar. Bu yapılar vena porta, arteria hepatica, ductus hepaticus, sinirler lenf

damarlarıdır. Yukarıda belirtilen oluşumların yanı sıra karaciğerin alt yüzünde safra kesesi ve vena cava inferior'de kendilerine ait çukurluklarda bulunurlar. (16)

Karaciğerin fonksiyonu ile safra yapılır. Buradan, kendine ait bir takım yolları takip ederek, safra karaciğerden dışarıya çıkar. Sağ ve sol karaciğer loblarından gelen oldukça büyük safra yolları (ductus hepaticus dexter ve sinister) karaciğer kapısında birleşirler. Böylece daha büyük safra kanalı (ductus hepaticus communis) meydana gelir. Karaciğere kan arteria hepatica ve vena. Porta olmak üzere iki önemli yoldan gelir. Arteria hepatica sistemik dolaşımdan oksijence zengin kanı karaciğere taşır. (17) Vena. Porta mide, ince ve kalın bağırsaklar, pankreas ve dalaktan gelen kanı karaciğere taşır. Özellikle barsak duvarından gelen bu kan gıda maddelerinden zengindir. Karaciğere gelen kanın % 25'i hepatik arter ile % 75' i ise portal ven ile gelir. Karaciğere gelen oksijenin ise %75'i hepatik arter % 25'i portal ven ile gelir. Karaciğere gelen kan santral hepatik venlerin birleşmesiyle oluşan hepatik venlerde toplanır. Hepatik venlerde (Vv. hepaticae), organı arka taraftan terkederek, doğrudan vena cava inferior'e açılırlar. (17)

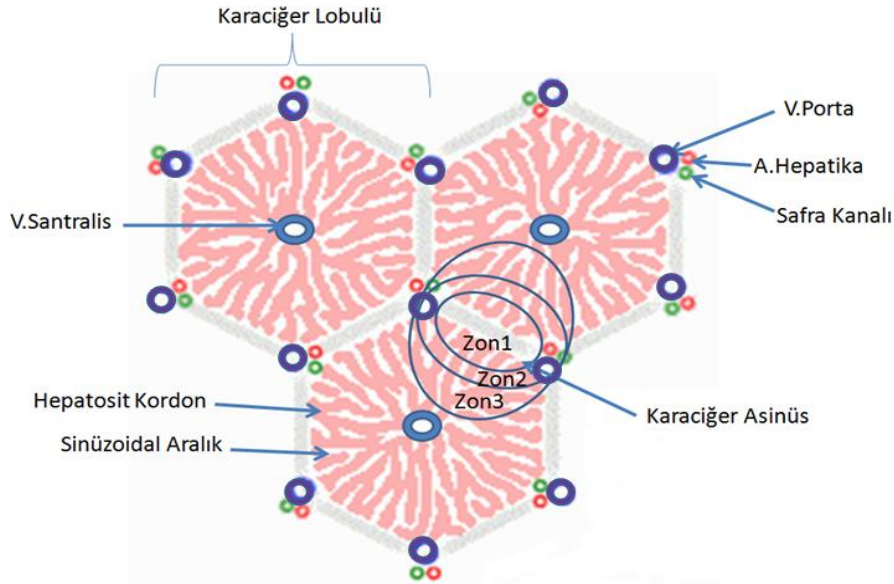


Şekil-2. Karaciğer makroskopik anatomisi arka yüz

Karaciğer, fibröz bağ dokusundan yapılmış sağlam bir zarla sarıdır. Bu zara Glisson kapsülü denir. Bu zarın uzantıları, bezin içindeki loplara ve lobüller arasına sokularak karaciğere giren-çıkan damar ve safra yollarını en ince dallarına kadar takip eder.

Lobüller bağ dokusundan yapılmış ince bölmelerle birbirlerinden ayrılmıştır. Birkaç lobül köşesinin bir araya geldiği yerlerde bu bölmeler genişleyerek üç-dört köşeli yıldız benzeyen aralıkları (spatia interlobularia) meydana getirirler. Bu spatia interlobularia da v. porta ,a. hepatica, safra kanalcığı ve lenf damarı bulunur. (18)

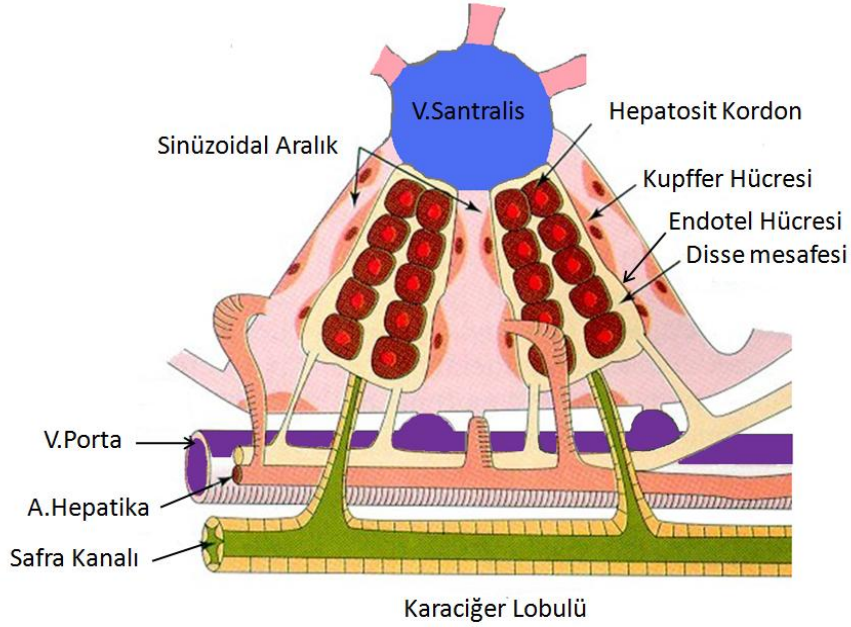
Köşelerinde portal alanların, merkezinde santral venin bulunduğu poligonal ünitelere **Karaciğer Lobülü** denmektedir. Karaciğer parankimini oluşturan hepatositler, biri diğerinin üzerinde olacak şekilde kordonlar yaparak bir portal mesafeden bir santral vene doğru uzanır. Bu kordonların arasındaki mesafe sinüzoid olarak adlandırılır. Portal alan ile komşu santral ven arasında kalan üçgen şeklindeki alanlara **karaciğer asinüsü** denir. Asinüslere arteryel ve venöz kan portal alandan birlikte girer (Zon 1) ve terminal hepatic venüle (Zon 3) ilerlerler. Arada kalan hepatositler de zon 2'yi oluştururlar. Fizyolojik ünite olarak asinüsleri incelemek lobülleri incelemekten daha faydalıdır, asiner yapıyla birçok vasküler ve biliyer hastalığın morfolojisi açıklanabilmektedir(1). Portal alana yakın olan hücreler(zon 1) iyi oksijenlenir santral vene yakın olan (zon 3) ise en az oksijen alan ve zararlı etkenlere en duyarlı olan bölgedir(18).



Şekil-3. Karaciğer lobülü ve karaciğer asinüsü

Safra kanalikülleri normal karaciğer hücre hacminin %5-10'unu oluşturur. Safra kanalikülleri en küçük safra sekresyon aygıtı olup periportal alanlarda bulunan safra duktuluslarına açılırlar. Safra akımı, kabaca, kan akımının tersi yolu izleyerek (zon

3'ten zon 1'e doğru) karaciğer parankimini portal alanlardaki interlobüler safra kanallarından terk eder. İnterlobüler safra kanalları ise septal safra kanallarına açılırlar. Bu kanallar da segmenter safra kanallarına açılırlar.(19)



Şekil-4. Karaciğerin mikroskopik yapısı

Sinüzoidal hücreler denilince endotel hücreleri, Kupffer hücreleri ve pit hücreleri anlaşılır. Endotel hücreleri sinüzoidleri Disse aralığından ayıran ve aralarında geniş porları olan, bazal membran ve intersellüler birleşmeler içermeyen hücrelerdir.

Kupffer hücreleri, mononükleer fagositer sistemin başlıca hücreleridir. Başlıca fonksiyonlarını partiküllerin, immün komplekslerin, lezyonlu eritrositlerin ve endotoksinlerin klirensi oluşturur. Birçok mediatör salgırlar. Başlıcaları interlökin 1, interlökin 6, tümör nekroz faktör α (TNF- α), interferonlar ve eikosanoidler'dir. Pit hücreleri doğal ve lenfokin ile aktive edilmiş katil hücre aktivitesi gösterirler. Perisinüzoidal hücreler (hepatik stellat hücreler, yağ depolayan hücreler, ito hücreleri) Disse aralığında yer alırlar. Normal ve hasarlı karaciğerde ekstrasellüler matriksin başlıca kaynağıdır.(20)

2.2.Karaciğer Yağlanması (Hepatosteatoz)

Karaciğer yağlanması histopatolojik incelemede hepatositlerin %5'den fazlasında yağ vakuollerinin görülmesi veya lipit miktarının karaciğer ağırlığının %5'inden daha fazla olması şeklinde tanımlanmaktadır.(3)Karaciğer yağlanması ilk kez 1850'li yıllarda Viyanalı patoloğ Karl F.Rokitansky tarafından tarif edilmiştir. (21).

Karaciğer yağlanması klinik tablonun gelişimine göre akut karaciğer yağlanması veya kronik karaciğer yağlanması şeklinde karşımıza çıkabilir. Karaciğer yağlanması histopatolojik bulgulara göre mikroveziküler yağlanma, makroveziküler yağlanma ve mikst tipte yağlanma şeklinde görülebilir. Karaciğer yağlanması oluşumuna göre alkolik karaciğer yağlanması ve non-alkolik karaciğer yağlanması şeklinde sınıflandırılabilir. Alkolik karaciğer yağlanması Alkolik steatoz(AS) ,Alkolik steatohepatit (ASH),Alkolik Siroz olmak üzere kendi içinde üç alt gruba ayrılır. Yine non-alkolik karaciğer yağlanması da Non-alkolik steatoz (NAS),Non-alkolik steatohepatit(NASH) ve Non-alkolik Siroz olmak üzere kendi içinde üç alt gruba ayrılır.(3,22)

2.4. Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalıkları (NAFLD)

Non alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı (NAFLD), son yıllarda, en sık görülen karaciğer hastalığı olması nedeniyle de büyük önem kazanmıştır. Non alkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAFLD) son dönem karaciğer hastalığına progresyon gösterebilen ve her geçen gün önemi daha da fazla fark edilen klinik ve patolojik bir durumdur. Patolojik özellikleri alkolik karaciğer hasarına benzer olsa da, bu bulgulara alkol kullanmadıklarını ifade eden bireylerde de rastlanmaktadır. Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı, alkol almayan veya günde 20-30 gr'ın altında alkol alan kişilerde alkole bağlı yağlı karaciğer hastalığının histolojik özelliklerini gösteren karaciğer hastalığının oluşmasıdır.(23) Bu hastalığı ifade etmek için çeşitli terimler kullanılmıştır. Bu terimler yağlı karaciğer hepatiti, non alkolik Laenneck hastalığı, diyabetik hepatit, psödoalkolik karaciğer hastalığı, steatonekroz, non alkolik steatohepatit ve non alkolik yağlı karaciğer hastalığıdır. Bunlardan non alkolik yağlı karaciğer hastalığı giderek daha çok tercih edilen isim haline gelmektedir. Bu terim basit steatozdan steatohepatite, ileri fibröze ve siroza kadar geniş bir karaciğer hastalığı spektrumuna karşılık gelmektedir.(24)

Non alkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAFLD), obezite, hiperlipidemi, diyabet ve insülin direnci gibi metabolik sendrom unsurlarıyla sıklıkta birlikte bulunur (25). Non alkolik yağlı karaciğer hastalığı olan hastaların % 90 'ında metabolik sendrom kriterlerinden en az birisi vardır.(26).NAFLD farklı ülkelerde genel popülasyonun yaklaşık % 10 - 24 'lük kesimini etkiler. NAFLD prevalansı obez bireylerde 4-6 kat artmakta ve % 57,5 - % 74 'e kadar yükselmektedir (27). NAFLD çocukların % 2,6' sını etkilemekte, bu oran obez çocuklarda % 22,5 - % 52,8 'e yükselmektedir. Diğer sebepler dışlandıktan sonra, NAFLD asemptomatik transaminaz yüksekliğinin % 42 – 90 oranında sebebidir. Obezite derecesiyle NAFLD prevalansı ve ciddiyeti arasında doğru orantılı bir ilişki mevcuttur (28).

Non alkolik yağlı karaciğer hastalığı olan hastalarda en sık rastlanılan laboratuvar bulgusu hafif ya da orta derecede aminotransferaz (ALT, AST) yüksekliğidir. AST / ALT oranı Non alkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAFLD) ile alkolik karaciğerin ayırıcı tanısında yardımcı olur (29). Birçok NAFLD hastasında AST /ALT oranı birden küçüktür, ancak bu oran karaciğer hastalığı siroza ilerledikçe yükselir ve NAFLD' in sirotik dönemde teşhisi açısından geçerliliğini kaybeder.

Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı (NAFLD) Non-alkolik steatozdan(NAS), Non-alkolik steatohepatit(NASH) ve siroza kadar geniş spektrumlu bir karaciğer hasarını tanımlar.(29)

Non-alkolik steatoz(NAS): Hastalarının çoğunda ilerleyici olmayan steatoz mevcuttur. Hastalık iyi seyirlidir uygun diyet ve tedavi ile tamamen normale dönebilir. Bu hastalarda karaciğerde yağlanma görülmekle birlikte iltihabi infiltrasyon yoktur. Toplumda sık olarak görülmektedir. Genel popülasyondaki oranı % 20 dir. (48).Çoğunlukla 5 ve 6. dekatta görülmektedir. Sıklıkla kadınlarda rastlanılmaktadır. Obezite hiperlipidemi ve diabetes mellitus önemli risk faktörleridir. Hastaların çoğu asemptomatiktir. Batın USG 'de hepatomegaliye sık rastlanmaktadır. Karaciğerde ekojenite artışı vardır. Karaciğer fonksiyon testleri normaldir yapılan karaciğer biyopsisinde yağlanma dışında önemli bir bulguya rastlanmaz.

2.5.Non alkolik Steatohepatit(NASH)

Non alkolik Steatohepatitis (NASH) ise Non alkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAFLD) spektrumu içinde yer alan ve karaciğerde yağlanma ile birlikte

nekroinflamatuvar hasarın geliştiği evrenin özel ismidir. Karaciğerde yağlanma ile birlikte alkolik karaciğer hastalığında olduğu gibi hepatositlerde balonlaşma, iltihabi infiltrasyon ve bazı olgularda Mallory cisimcikleri, megamitokondria ve fibrozis gibi bulguların da görüldüğü bir hastalıktır.(30)

Non alkolik steatohepatitis (NASH) terimi ilk defa 1980 yılında Ludwig ve arkadaşları tarafından Mayo clinic experiences with a hitherto unnamed disease" adlı yayınlarında hiç alkol kullanmadıklarını veya haftada 140 gr'ın altında alkol aldıklarını ifade eden, ancak karaciğer histolojisi alkolik hepatit ile uyumlu olan, çoğunluğu obez ve diyabetik bir grup kadın hastada tarif edilmiştir.(23)

Non alkolik yağlı karaciğer hastalığı ve bunun bir sonucu ortaya çıkan Non alkolik steatohepatitis (NASH) etiyopatogenezinde öncelikle çeşitli metabolik faktörlerin etkisi ile karaciğerde basit bir yağlanmanın oluştuğu, sonrasında lipit peroksidasyonu sonucu oluşan reaktif oksijen metabolitleri, sitokinler, endotoksinler, mitokondrial değişiklikler, insülin rezistansı gibi faktörlerin etkisi ile steatohepatit geliştiği teorileri üzerinde durulmaktadır.(31)

Non alkolik steatohepatitis (NASH) sıklıkla hipertansiyon, diyabet, insülin rezistansı, Obezite, karaciğer demir birikimi gibi hastalıklarla birlikte görülmektedir ve bu sebeple etiyolojide NASH kliniğinin sistemik bir hastalığın karaciğerle ilgili kısmını oluşturduğu görüşünden yola çıkarak, risk ve prognostik faktörler bulunmaya çalışılmıştır. Kaza sonucu ölenlerin postmortem karaciğer biyopsilerinde steatoza rastlama sıklığı %20, NASH sıklığı % 3'tür.(31)

2.6. NASH Etiyolojisi:

Obezite ile NASH arasında yakın ilişki vardır. Obezlerde NASH sıklığı, kilosu normal kişilere göre 6 kat daha fazla bulunmuştur.12 Morbit obezlerin %75'inden fazlasında karaciğer steatozu,%24'inde NASH, %3-11'inde siroz görüldüğü bildirilmiştir. Obezite, diyabet ve yaştan bağımsız olarak fibrozis şiddeti ile ilişkili bir risk faktörüdür.(32)

Diabetes mellitus ile NAFLD arasında güçlü bir ilişki vardır. NASH hastalarının tanı anında%30'undan fazlasında diabetes mellitus tespit edilmiştir. Diyabetiklerde steatohepatit riski 2,6 kat artmıştır. Diabetes mellitus NASH olan hastalarda karaciğer fibrozisi için güçlü bir bağımsız göstergedir. Şiddetli fibrozisi olan hastaların çoğu diyabetikdir.(33)

Hipertrigliserideminin özellikle NASH patogenezi ile ilgili olduğu gösterilmiştir. NASH'li hastaların %8-20'sinde lipit metabolizması bozuktur. Hipertrigliseridemi tedavisi ile karaciğer testlerinin düzeldiği bildirilmiştir.(34)

NASH Etiyolojisinde yer alan diğer nedenleri aşağıdaki şekilde özetleyebiliriz. Uzun süreli total parenteral nutrisyon (TPN)tedavisi verilen çocuklarda sıklıkla kolestaz gelişmesine karşılık erişkinlerde Hepatosteatoz ve NASH gelişir.(35) Obezite için uygulanan cerrahi girişimler, geniş bağırsak rezeksiyonları, uzun süreli açlık sonrası hızlı kilo kaybı ile NASH gelişebilir. Hızlı kilo kaybı sekonder bir karaciğer hastalığı varlığında NASH gelişimine yatkınlık oluşturabilir. Açlık lipolizi arttırarak ve karaciğerde mitokondriyal glutatyonu azaltarak steatoza neden olur.(36) Jejunoileal bypass (JMB) sonrası hepatosteatoz, steatohepatit, siroza ilerleyen fibrozis gelişebilir. Steatohepatit maksimum kilo kaybı döneminde oluşurken, karaciğer fibrozisi kilo kaybı döneminden sonra oluşur. JMB, kilo kaybı, beslenme eksikliği, fonksiyonsuz bağırsakta aşırı bakteri çoğalması sonucu oluşan endotoksinler ile NASH'e neden olur.(37) Gastropласти, biliyopankreatik diversiyon, gastrik bypass morbit obezite tedavisinde tercih edilen cerrahi girişimlerdir. Bu cerrahi girişimlerde kilo kaybı daha yavaş ve JMB'e göre metabolik komplikasyonlar daha azdır.(38)

Bir yıldan uzun süreli amiodaron kullanan hastaların yaklaşık %1'inde psödoalkolik karaciğer hastalığı gelişir. Bu olguların yaklaşık yarısında Mallory cisimcikleri bulunur. Amiodaro'nun sebep olduğu NASH ilaç kesilmesinden sonra devam edebilir. (39) Metastatik prostat kanseri tedavisi için kullanılan stilbestrol NASH oluşturabilir.(40) Meme kanseri tedavisinde kullanılan östrojen reseptör antagonisti tamoksifen'in hepatosteatoz, NASH ve siroza neden olduğu bildirilmiştir.(41)Yüksek doz kortikosteroit kullanan hastalarda NASH oluşabilmektedir.(42)

Elli yaş üzeri, obez, tip 2 diyabetik ya da eşlik eden karaciğer hastalığı olan hastalarda

methotreksat kullanımı NASH oluşumu için yatkınlık oluşturur. Methotreksat kullanımının neden olduğu NASH'in karaciğer fibrozisi gelişiminde risk faktörü olduğu ileri sürülmüştür.(43) Kalsiyum kanal blokerlerinden nifedipin ve diltiazemin NASH'e neden olduğu bildirilmiştir.(44) Avrupa'da angina pectoris tedavisinde yaygın olarak kullanılmış olan perheksilin adlı ilacın, hastaların 1/3'ünde

steatohepatitis ve mikronodüler siroza neden olduğu rapor edilmiştir.(45) Solvent olarak kullanılan dimethylformamide adlı endüstriyel hepatotoksinin hepatosteatoz ve fokal hepatosellüler nekroza neden olduğu bildirilmiştir.(46) Karbon tetraklorür, DDT, sarı fosfor içeren maddelerin alımı akut yağlı karaciğer yetmezliğine neden olabildiği rapor edilmiştir. Şiddetli insülin direnci olan lipodistrofi, insülin reseptör mutasyonları gibi herediter sendromlarda NASH gelişebilmektedir.(47) Lipoprotein B'nin sekresyon kusuru nedeni ile karaciğer ve ince bağırsakta trigliserit toplanmasına neden olan otozomal resesif geçişli abetalipoproteinemili hastalarda NASH gelişebilir. Bu hastalarda orta zincirli trigliserit ile zenginleştirilmiş diyet tedavisi sonrası mikronodüler siroz geliştiği bildirilmiştir.(47) Çölyak hastalığında glütensiz diyet ile tedavi sonrası hızlı kilo alınması NASH'e yol açtığı rapor edilmiştir.(48) Wilson hastalığında karaciğerde steatoz ve Mallory cisimcikleri görülmesi, hastalığın karakteristik özelliğidir.(49)

2.7. NASH Patogenezi

Non alkolik yağlı karaciğer hastalığının patogenezi, hastalık 1980 yılında ilk tarif edildiğinden bugüne kadar iyi anlaşılabilmiş değildir. Güncel görüşlerin çoğu varsayım düzeyindedir, çünkü hastalığın mekanizması veya mekanizmaları hala araştırma altındadır. Niçin bazı hastalarda basit steatoz bazılarında steatohepatit ve progresif hastalık geliştiği henüz bilinmemektedir. Non alkolik yağlı karaciğer hastalığı sıklıkla hipertansiyon, diyabet, Obezite gibi insülin direnci olan hastalıklarla birlikte görülmektedir. İnsülin direnci non alkolik yağlı karaciğer hastalığının gelişiminde en çok dile getirilen faktördür (50).

2.7. 1.İnsülin direncinin NAFLD gelişimine etkisi:

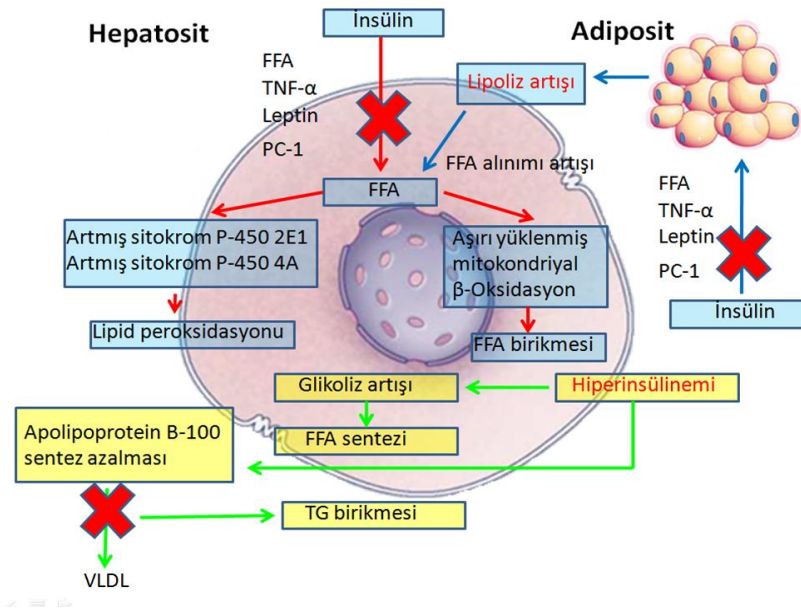
İnsülin direnci, normal konsantrasyondaki insülinin normalden daha az biyolojik yanıt oluşturmaması durumudur. Başka bir anlatım ile belirli bir konsantrasyondaki insülinin glikoz uptake'ini, glikolizi, glukogenezisi, lipogenezisi uyarma glikoneogenezisi, lipolizisi inhibe etme etkisinin azalmasıdır. İnsülin direncinde insülinin karaciğer, kas ve yağ dokudaki bu etkilerine karşı direnç oluşarak hepatik glikoz sekresyonu bozulur. Kas ve yağ dokusunda da insülin aracılığı ile olan glukoz uptake azalır. Bu durumda oluşan insülin direncini karşılayacak ve dolayısıyla normal biyolojik yanıtı sağlayacak kadar insülin salgısı artışı ile metabolik durum kompanse edilir. Böylelikle hipergliseminin önlenmesi için beta hücreleri sürekli

olarak insülin salgısını artırmaya yönelik bir çaba içerisine girer. Sonuçta normoglisemi sağlanırken insülin düzeylerinde de 1,5-2,0 kat yüksek bir seviye oluşur. İnsülin direnci iki temel mekanizma ile hepatositlerde yağ birikimine yol açmaktadır: Bu mekanizmalar artmış lipoliz ve hiperinsülinemidir. Artmış lipoliz insülin direnci nedeniyle adipozitlerdeki lipoprotein lipaz enziminin aktive olmasıyla oluşur. Lipoprotein lipaz trigliserolden lipolizle FFA oluşumunu artırır.

Yüksek FFA düzeyleri hepatositler tarafından yağ asidi alımının artmasına, mitokondrial β -oksidasyon yüklenmesine neden olur. Bu da hepatositler içinde yağ asitlerinin birikmesi ile sonuçlanır. Yüksek FFA düzeyleri mikrozomal lipooksijenazlar olan sitokrom P-450 2E1 ve P-450 4A'nın substratları ve indükleyicileridir (51,52). Steatohepatitli hastaların karaciğerinde sitokrom P-450 2E1 seviyesi mutlaka artar ve hepatosit membranlarında lipid peroksidasyonunu indükleme yeteneği olan oksijen radikallerinin üretimine yol açar (51).

Yüksek FFA düzeyleri insülin tarafından uyarılan periferik glukoz alımını engellerler. Hiperinsülinemi glukozun karaciğer hücrelerine transportunu artırır. Karaciğer glikojen konsantrasyonu % 5-6'ya ulaşınca, glikojen sentezi inhibe olur. Böylece, karaciğere gelen glukozun hepsi yağ oluşumu için hazırlanmış olur.

Hiperinsülinemi, glikolizi arttırarak hepatositlerde yağ asidi sentezini iki ayrı yoldan arttırmaktadır. Bunlardan birincisinde hiperinsülinemi Fosfofruktokinaz-1, Glukokinaz, Pirüvat kinaz enzimlerini stimüle ederek glikolizi arttırır. Glukoz önce, glikolitik yolla piruvata yıkılır, sonra da Piruvat dehidrogenaz enzimi ile asetil-CoA'ya çevrilir. Asetil-CoA yağ asitlerinin sentez edildiği substrattır. İkinci yolda hiperinsülinemi ile aşırı miktarda glukoz enerji için kullanıldığı da, fazla miktarda sitrat ve izositrat iyonları ortaya çıkar. Bu iyonlar yağ asidi sentezinin ilk aşamasında Asetil-CoA'yı malonil-CoA'ya dönüştürmek için gerekli olan Asetil-CoA karboksilaz enziminin aktivasyonunda doğrudan etkilidir. Hiperinsülinemi, karaciğerde apolipoprotein B-100 ve bununla ilişkili lipoprotein VLDL üretimini azaltır. Buna bağlı olarak da hepatositler içinden trigliseritler uzaklaştırılamadığından birikimler oluşur.(51)



Şekil-5. İnsülin direncinin NAFLD gelişimine etkisi:

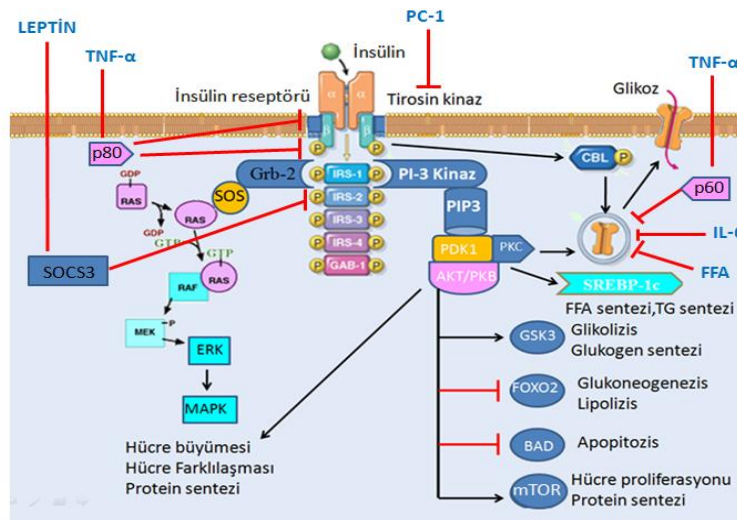
İnsülin direncinde oluşturan moleküler nedenler: Başlıca dört moleküler nedenle oluşur. Bu moleküler Tümör nekroz faktörü- α (TNF- α),interlökin-6(IL-6),Membran glikoprotein plazma hücre antijen 1(PC-1) ve leptin olarak sayılabilir.

Tümör nekroz faktörü- α önceleri makrofajlardan salgılan, immün fonksiyonları modüle eden bir sitokin olarak biliniyordu. Ancak yakın zamanda yapılan çeşitli çalışmalar TNF- α 'nın adipoz dokudan da salgılanan ve adipoz dokuyu düzenleyen bir adipokin olduğunu göstermiştir. TNF- α insülin reseptör sayısını azaltarak insülin direnci oluşumuna sebep olur.(52) TNF- α 'nın iki reseptörü vardır: TNF- α p60 glukoz reseptörü GLUT4 tranlokasyonunu azaltarak insülin direnci oluşturur. TNF- α p80 insülin reseptör substrat-1 (IRS)- 1 ve insülin reseptöründeki tirozin kinazı baskılayarak insülin direncine neden olur. TNF- α , adiponektinin etkisini antagonize ederek de insülin direnci oluşturur. Adiponektinin insülin direncini azaltıcı etkisi de vardır. (53)

İnterlökin-6 lökositler gibi birçok immün hücre tarafından üretildiği gibi yağ hücresinden de diğer hücelere göre daha fazla miktarda üretilir. Visseral yağ hücrelerinde deri altı yağ hücrelerine göre üretimi 3 kat daha fazladır. IL-6 glukoz reseptörü GLUT4 tranlokasyonunu azaltarak insülin direnci oluşturur. (54,55)

Membran glikoprotein plazma hücre antijen 1 (PC-1) 230-260 kDa ağırlığında, 873 aminoasit'den oluşan, hücre membranı ve endoplazmik retikulumda bulunan bir proteindir. PC-1'in fizyolojik fonksiyonları henüz tam olarak bilinmemektedir. Bulgular kemik ve kırıldak metabolizmasında piro fosfat aktivitesine sahip olduğu ve kemik yapımında rol oynadığını göstermektedir. PC-1,IR ile etkileşerek hücre içi insülin mekanizmasında rol oynayan IR otofosforilasyonu, insülin reseptör substrat 1 fosforilasyonu ve glukoz transportunda bozukluğa yol açmaktadır. Maddux ve arkadaşları insülin direnci olan tip 2 diyabetes mellituslu bir kadın hastadan elde ettikleri fibroblastlarda PC-1 ekspresyonunun artmış olduğunu ve insülin reseptör (IR) miktarında azalma olduğunu göstermişlerdir.(51,52,57)

Leptin 1994 yılında ilk olarak Freidman ve arkadaşları tarafından tanımlanan 16 kDa ağırlığında ve adipositlerden sentezlenen bir hormondur. Leptinin en önemli fonksiyonu vücuttaki yağ miktarını sabit tutmaktır (56).Leptin adipoz kütleye orantılı olarak salınmaktadır ve beyne yağ dokusunun düzeyini göstermektedir. Hipotalamusa etki ederek iştah ve enerji harcanmasını düzenler ve böylece sücut yağ oranını düzenler. Leptin salınımı açlıkta yağ depoları azaldığı zaman azalır. Yağ depoları yeterli düzeye geldiğinde ise artar. Leptin insülin reseptörü substrat-1'in defosforilasyonunu indükleyerek insülin reseptör direnci oluşturduğu belirlenmiştir.(51)



Şekil-6. İnsülin direncinde oluşturan moleküler nedenler

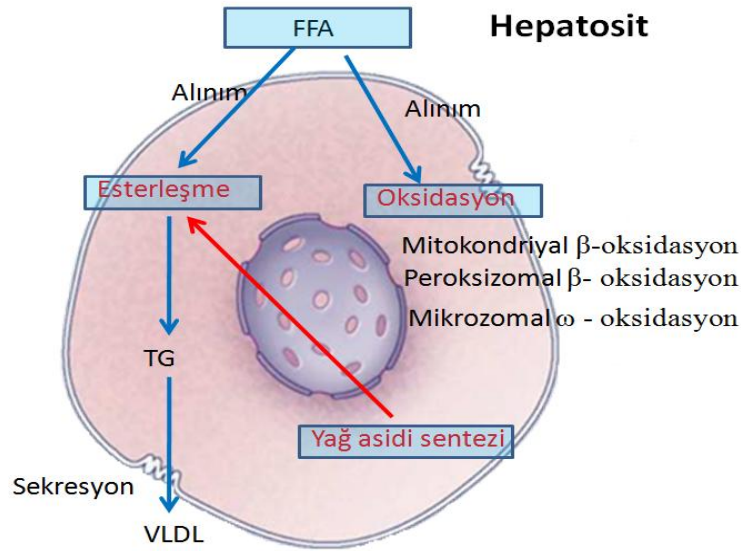
İnsülin direncini oluşturan çevresel nedenler: Aşırı yağlı diyet ve hareketsiz bir yaşam tarzı en önemli çevresel nedenlerdir.

İnsülin direncini oluşturan genetik nedenler: İnsülin reseptörü geninin her iki allelinde de mutasyon pek az vakada saptanmış olup bunlarda çok ciddi insülin rezistansı ile seyreden nadir ve genelliklede yaşamın ilk yılında ölüme neden olan sendromlar geliştiği gösterilmiştir (örn: Rabson-Mendenhall sendromu) (58) Bu sendromda belirgin bir yüz ifadesi, intrauterin gelişme geriliği , açlık hipoglisemisi, hiperandrogenizm, akantozis nigrikans gözlenebilir.İnsülin reseptörünün sadece bir allelini etkileyen mutasyonlar 50 civarında olup ciddi insülin direncine yol açabilmekle birlikte yaşamla daha bağdaşır ve hastalarda genç erişkin yaşlara kadar genelliklede hiperglisemi izlenmez. (örn: Tip A insülin rezistansı) Bu mutasyonlar insülin reseptörlerinde, insülin reseptör substrat -1 ve glikojen sentaz genlerinde gerçekleşmektedir (58).

2.7. 2.İki darbeli non alkolik steatohepatit modeli: 1998’de Day tarafından ortaya atılan iki darbeli nonalkolik steatohepatit modeli halen patogeneizde en çok kabul edilen modeli oluşturur (8).

İlk vuruşta hepatositlerde yağlanma oluşur ve yağlı hepatositler hasar yapabilecek diğer etkenlere karşı duyarlı hale gelir. Sonrasında **ikinci vuruş** gerçekleşir ve hepatosit hasarı, inflamasyon sonunda da karaciğerde fibröz gelişir (59).NASH Patogenezi ilk vuruş(Karaciğer yağlanması):Karaciğer yağlanması histopatolojik incelemede hepatositlerin %5’den fazlasında yağ vakuollerinin görülmesi veya lipid miktarının karaciğer ağırlığının %5’inden daha fazla olması şeklinde tanımlanmaktadır. Normalde karaciğerdeki lipidlerin %15’ini oluşturan trigliseritler yağlanma ile beraber %50’ye çıkar. Kolesterol, kolesterol esterleri ve fosfolipitlerdeki artış daha geri plandadır(60). Yapılan çalışmalarda yağlanmanın derecesi steatohepatit, fibröz ve siroza ilerleme riski ile kuvvetli ilişkili bulunması, yağlanmanın masum bir olay olmadığını, nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı sürecinde ilk basamak olduğunu düşündürmektedir(59).

Normalde hepatik yağ asitleri hem hücre içinde sentezlenir hem de plazmadan alınır. Gerektiğinde oksidasyonla hücre için enerji oluşturur. Hepatositlerde FFA’leri gliserol ile esterleşerek trigliseritleri meydana getirir. Trigliseritlerden bazıları çok düşük dansiteli lipoprotein (VLDL) ile hepatositlerden perifere taşınır.



Şekil-7. Hepatosit FFA metabolizması

Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı olanlarda hepatositler içinde lipit düzeyinin artmasını dört esas süreçten herhangi birindeki bozukluğa bağlamak mümkündür.

1.Karaciğere gelen yağ asit miktarındaki artma: Başlıca dört nedenle oluşur. Bu nedenler santral obezite, insülin direnci, açlık ve aşırı yağlı diyet ile beslenme durumlarıdır.

Santral tip Obezite de yağ dokusu karın ve göğüste birikmiştir. Her iki cinsten de batin bölgesinde yağ toplanmasıdır. Bu obezite tipine erkek tip obezite, android tip obezite, abdominal tip obezite, sentripedal tip obezite, elma tip obezite ,visseral tip obezite, trunkal obezite isimleri de verilmektedir. Santral tip obezite de genişlemiş ve lipolize duyarlı yağ depoları vardır. Bunlarda serbest yağ asidi salınımı ve plazma serbest yağ asitleri konsantrasyonu artmıştır.(61) İnsülin normalde yağlı dokuda lipoliz yapar, insüline duyarlı kişilerde açlıkta serbest yağ asitleri salınırken yemek sonrası depolanır. **İnsülin direncinde** bu durum bozulmuştur ve yemek sonrasında da serbest yağ asit salınımı devam ederek karaciğere gelen yağ asit miktarını arttırır.(62)

Açlık yaşamın devamı için gerekli kişisel enerjinin ve yapı taşlarının yaşa, kiloya ve günlük aktiviteye bağlı olarak yeter derecede tedarik edilmemesi durumudur. Ekzojen gıda alımının durduğu hallerde diyet ile alınan glikoz miktarı sıfırdır. Bu durumda kanda glikoz miktarının azalmasına paralel olarak pankreasın Langerhans

adacıkları β - hücrelerinden salınan insülin hormonu seviyesi de azalır. Buna karşılık α hücrelerinden salınan glukagon hormonu seviyesi artar. (63).Glukagonun etkisi ile glikojen depolarından glikojenolizis yolu ile glikoz sağlanır. Glukagonun etkin olduğu organ karaciğer olup etkisini cAMP'yi aktive ederek gösterir. Glikojen depolarından glikoz tedariki en çok 12-24 saat sürer (64) Total açlığın devamı halinde vücudun glikojen depoları tükenir. Vücudun enerji ihtiyacını karşılayan ikinci grup gıda maddeleri lipitlerdir. Lipitlerden de özellikle ile trigliseritler glukagonun lipolitik etkisi ile yağ asitlerine ve gliserole dönüştürülür. Bu oluşan serbest yağ asitleri artmış olarak karaciğere ulaşır.

Aşırı yağlı diyetle beslenenlerde şilomikron şeklinde diyetteki trigliserit karaciğere gelen yağ asit miktarını artırır.

2.Karaciğerde yağ asit sentezinin artışı; Başlıca iki nedenle oluşur. Bu nedenler aşırı karbonhidrat içerikli beslenme ve diyabetes mellitus hastalığı durumlarıdır.

Normal koşullar altında memeliler ATP üretmek için karbonhidratları kullanırlar. İhtiyaç fazlası olan karbonhidratlar yağ asitlerine dönüştürüldükten sonra triaçilgliserol (TG) şeklinde yağ dokusunda depolanırlar.

Aşırı karbonhidratlı diyetle beslenmede durumunda glukoz önce glikolitik yolla piruvata yıklılır, sonra piruvat Asetil-CoA'ya çevrilir. Bu oluşan Asetil-CoA yağ asitlerinin sentez edildiği substrattır. Aşırı miktarda glukoz enerji için kullanıldığında, krebs siklusunda fazla miktarda sitrat ve izositrat iyonları ortaya çıkar ki bu iyonlar yağ asidi sentezinin ilk aşamasını başlatmak için gerekli olan asetil-CoA karboksilaz enziminin aktivasyonuna doğrudan etkilidir. Karaciğer glikojen konsantrasyonu % 5-6'ya ulaşınca, glikojen sentezi inhibe olur. Böylece, karaciğere gelen glukozun hepsi yağ oluşumu için hazırlanmış olur.

Karaciğer, kendisine gelen karbonhidrat miktarı arttığında oluşan karbonhidrat fazlasını yağ asitlerine çevirir. Karaciğerden salınan ancak metabolize edilmeyen yağ asitleri karaciğerde reesterifiye edilerek tekrar trigliserit şeklinde depo edilir.

Diyabet artmış glikolizis ve trikarboksilik asit siklus aktivitesi sonucu, karbonhidrat öncü maddelerden hepatik yağ asidi sentezini artırır. (65)

3.Yağ asitlerinin oksidasyonunun azalması: Başlıca dört nedenle oluşur. Bu nedenler karnitin transport bozuklukları, mitokondriyal β oksidasyonu bozuklukları,

peroksizomal β oksidasyon bozuklukları ve yağ asitlerinin α oksidasyon bozukluklarıdır.

Karnitin transport bozuklukları üç değişik formda görülür.

Kas karnitin eksikliği (MCD): Bozukluk üretilen karnitin'in kanda defektif transportudur. Karnitin'in plazma düzeyleri normaldir. Kas doku özellikle etkilenir. Kas'da uzun zincirli yağ asitlerinin oksidasyonu azalmıştır. Plazma yağ asidi düzeyleri artar. Sistemik karnitin eksikliği (SCD): Hastalarda karnitin sentezi bozulmuştur veya böbrek karnitin kaçakları artmıştır. Bu tablo yeni doğanlarda özelliklede prematürelerde izlenir. Karaciğer ve kalp etkilenir. Karaciğer ve kalpte uzun zincirli yağ asitlerinin oksidasyonu azalmıştır. Karnitin-açilkarnitin translokaz eksikliği: Plazma serbest karnitin düzeyi çok düşüktür ama uzun zincirli açıl karnitin düzeyi yüksektir. Karaciğer ve kalp etkilenir. Karaciğer ve kalpte uzun zincirli yağ asitlerinin oksidasyonu azalmıştır. Karnitin palmitil transferaz-1,2 eksikliği: Hafif yetişkin formu yetişkin çağda hayatın ikinci üçüncü dekatında başlangıç gösterir. Kas'da uzun zincirli yağ asitlerinin oksidasyonu azalmıştır. Plazma yağ asidi düzeyleri artar. Ağır infanıl formu ise karaciğer, kas ve kalp tutulumu vardır. Karaciğer, kas ve kalpte uzun zincirli yağ asitlerinin oksidasyonu azalmıştır.(66)

Mitokondriyal β oksidasyonu bozuklukları iki değişik formda görülür.

Uzun zincirli (LCAD) Açıl KoA dehidrogenaz eksikliği ve Çok uzun zincirli (VLCAD) Açıl KoA dehidrogenaz eksikliği: Bu iki bozukluk birbirinden kolay ayrılamadığı için çoğu kez bir arada değerlendirilir. Klinik bulgular genellikle erken çocukluk çağında başlar, tüm vakalarda hipoglisemi ve dikarboksilikasidüri vardır. Klinik tablo ağır, sıklıkla öldürücü seyreden hipertrofik kardiyomiyopati'den tekrarlayan metabolik ataklarla karakterize hafif hastalık tablosuna kadar değişik şekilde olabilir. Uzun zincirli hidroksi Açıl KoA dehidrogenaz (LCHAD) eksikliği ve Mitokondriyal trifonksiyonel protein (MTP) eksikliği: Bu eksikliğin gösterildiği vakalar hipoglisemi ve hepatik disfonksiyon ile karakterizedir. Miyopati, kalp yetmezliğine yol açan kardiyomiyopati, miyoglobüniüri diğer bulgulardır. LCHAD 'in da içinde yer aldığı mitokondriyal trifonksiyonel protein (MTP) olarak adlandırılan 3 enzimden (Uzun zincirli hidroksi açıl- KoA dehidrogenaz + 2-enoil-KoA hidrataz + uzun zincirli -3-keto açıl KoA tiolaz) oluşan enzim kompleksinin defektif olması ile gelişen klinik tablo da izole LCHAD eksikliğinde olduğu gibidir.(67)

Peroksizomal β oksidasyon bozuklukları iki değişik formda görülür.

Zellweger sendromunda hiç peroksizoma rastlanılmamaktadır. Uzun zincirli yağ asitlerinin birikimi ile de hastalarda KC ve Santral sinir sistemi bozuklukları ortaya çıkmaktadır. Zellweger'li bebeklerde neonatal konvülziyonlar, psikomotor retardasyon, mikronodüler siroz, hepatomegali, kolestaz bulunur. Bu bebekler nadiren birkaç aydan fazla yaşar. Adrenolökodistrofi X-bağılı adrenolökodistrofi (ALD), peroksizomal β -oksidasyon bozukluğuna bağlı olarak oluşur. Hastalarda başta C24:0 (lignoserik asit) ve C26:0 (serotik asit) olmak üzere uzun zincirli yağ asitlerinin birikimi ile karakterizedir. Bu hastalarda çok uzun zincirli yağ asitlerinin peroksizoma alınmasında etkili olan peroksizomal membran proteininde bozukluk vardır. Adrenolökodistrofili çocukların ilk 3- 4 yaşlarda fenotipik özellikleri normaldir, Daha sonra hastalığa özgü bulgular çıkar. ALD'de ilk semptomlar 4- 8 yaşları arasında ortaya çıkar. İlk ortaya çıkan semptom hiperaktivitedir. Daha sonra başarılı bir öğrenci iken okul performansının bozulduğu görülür. İşitme fonksiyonu bozulur. Ataksi, el becerilerinde bozulma, konvülziyon ortaya çıkar. ALD'de serebral bulgular hızla ilerler, spastisite, paralizi, görme ve işitme bozukluğu, konuşma ve yutkunmanın bozulması belirginleşir. Bulguların ağırlaşması ortalama iki yıl alır.(66).

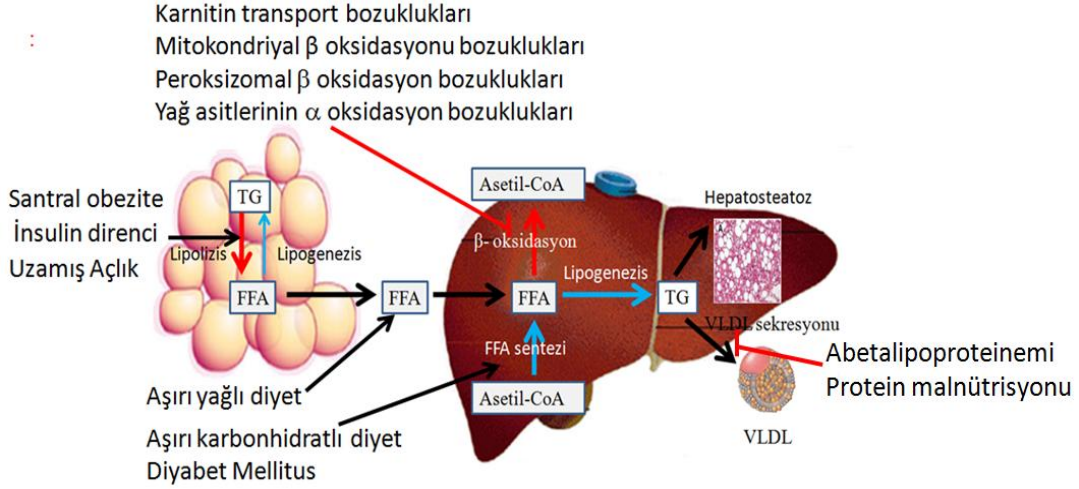
Yağ asitlerinin α oksidasyon bozukluğu:Refsum hastalığında peroksizomal α -oksidasyon reaksiyonları bozulmuştur ve hastalarda yüksek miktarda fitanik asit birikir. Hastalarda retinitis pigmentosa, periferik nöropati, cerebellar ataxi gibi ciddi nörolojik problemler ortaya çıkar. Diyetten fitanik asit çıkarılması ile semptomlar geri döner. (67)

4. VLDL sentezinin veya salınımının bozulması: Başlıca iki nedenle oluşur. Bu nedenler abetalipoproteinemi ve protein malnütrisyonu durumlarıdır.

Abetalipoproteinemi nadir görülen otozomal resesif bir hastalıktır. Hastalardaki biyokimyasal defekt apolipoprotein B içeren şilomikron ve VLDL sentez ve salınım bozukluğudur. Kan TG düzeyi düşüktür. Karaciğer ve bağırsakta trigliserol (TG) birikir. Homozigot hastalarda hiç şilomikron , VLDL ve LDL yoktur

Protein malnütrisyonu (Kwashiorkor) protein alımının yetersiz olduğu beslenme bozukluklarında gelişen malnütrisyon tipidir. 1-3 yaş arasında sık görülür. Vücut ağırlığı azalmış, fakat ödem nedeniyle bebek yanıltıcı olarak normal zannedilebilir.

İştahsızlık, kusma, uzun süren ishaller gözlenir, karaciğer büyüktür ve serum albumin düzeyi normalin altındadır. VLDL sentez ve salınım bozulmuştur. (68)

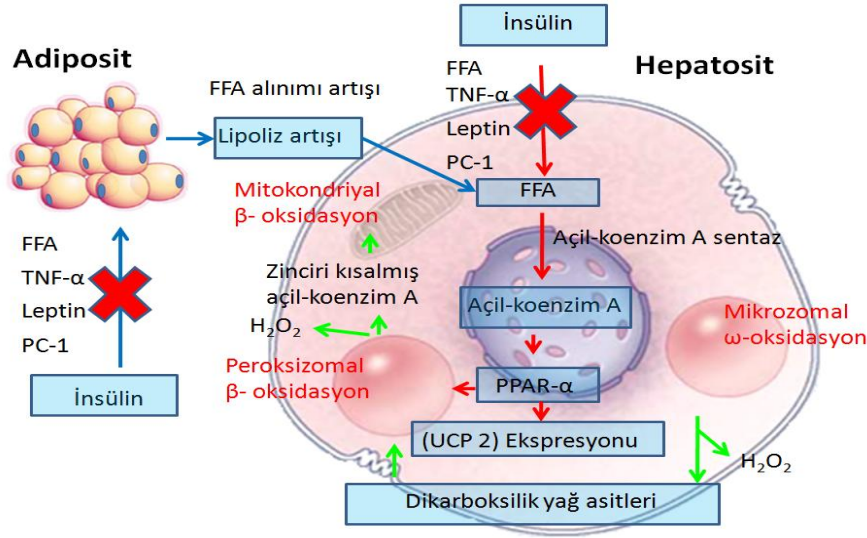


Şekil-8. Hepatositler içinde lipit birikimine yol açan nedenler

Dokular homojenize edildikten sonra kademeli olarak değişik hızlarda santrifüj edilirse ER parçalanır ve membran parçaları mikrozom adı verilen mikrovezikülleri oluştururlar. Sitokrom P450 enzimleri hem grubu taşıyan ve çeşitli dokularda düz endoplazmik retikulumda lokalize olmuş membran proteinleridir. Enzimin indirgenmiş formu “karma fonksiyonlu oksidaz” aktivitesini inhibe eden karbonmonoksit (CO) ile birleşerek yaklaşık 450 nm dalga boyunda maksimum “Peak” absorpsiyon gösteren bir bileşik oluşturduğu için P450 olarak adlandırılmıştır.(69) Bu enzim için monooksijenaz, karma fonksiyonlu oksidaz gibi isimler de kullanılmaktadır. İlaç biyotransformasyonlarında rol oynayan enzimlerin çoğunu sitokrom P450 1, 2 ve 3 gen familyaları (CYP1, CYP2 ve CYP3) kodlar. Diğer CYP450 familyalarının gen ürünleri steroid ve yağ asitleri gibi endojen bileşiklerin metabolizmasında önemlidir. ER’de bulunan FFA oksidasyonunda etkili enzimlere mikrozomal enzimler burda oluşan FFA oksidasyonuna da Mikrozomal ω - oksidasyon adı verilir. Peroksizomlar 0.3-0.5 mikron çapında ve tek kat zar ile çevrili, metabolik aktivitesi fazla olan, karaciğer, böbrek, ve kalp kası gibi hücrelerde bulunan bir organeldir. Hücrede zehir etkisi yapan hidrojen peroksiti (H_2O_2); H_2O ve $\frac{1}{2} O_2$ ’ye dönüştüren katalaz enzimini taşıyan organeldir. Peroksizom içerisinde DNA ya da ribozom barındırmadığı için tüm proteinlerini membranından nakille alır.

Temel proteinlerin oluşum esansında endoplazmik retikulumdan nakledildiği sanılmaktadır.(70)

Yağ asitlerinin mikrozomal ω –oksidasyonu sonucunda dikarboksilik yağ asitleri oluşur, bunlar da peroksizomal β -oksidasyon yoluyla yıkılır. Peroksizomal β -oksidasyon sonucunda zinciri kısalmış ail-koenzim A ortaya çıkar. Çok uzun zincirli yağ asitleri, ail-koenzim A sentaz etkisiyle, ail-koenzim A'ya dönüştürülür. Ail-koenzim A peroksizomal oksidasyon için substrat olarak işlev görür, fakat metabolize olmadan kalırsa PPAR- α ligandı olarak fonksiyonunu icra eder. Peroksizomal β - oksidasyon enzimlerinin eksikliğinin, makrovesikler steatozun ve steatohepatitin önemli bir sebebi olduğu anlaşılmıştır (71). Acil-koenzim A oksidaz eksikliği çok uzun zincirli yağ asitlerinin ve dikarboksilik asitlerin oksidasyonunu bozarak yaygın mikroveziküler steatoza ve steatohepatite yol açar. Bu enzimin kaybı aynı zamanda, peroksizom-proliferatör-aktive reseptör- α 'nın (PPAR- α) uzun süreli aktivasyonuna sebep olarak PPAR- α ile regüle olan genlerin transkripsiyonal up-regülasyonunu uyarabilir (71). PPAR- α karaciğerde mikrozomal, peroksizomal, mitokondriyal yağ asidi oksidasyonu sistemlerinde rol alan genlerin indüksiyonunu kontrol eder; ayrıca “uncoupling“ protein 2'nin hepatik sentezini uyarır (72).Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığının patogenezinde bu proteinin rolü hala net değildir. Hepatosit apoptozunun inhibisyonuna yardımcı olabilir. Ayrıca yağlı hepatositlerin, daha sonra sekonder saldırılara (endotoksin veya TNF- α gibi) maruz kaldıklarında hasarlanmaya yatkınlıkları artabilir.



Şekil-9. Mikrozomal ω -oksidasyon, peroksizomal β -oksidasyon ve mitokondriyal β -oksidasyon arasındaki ilişki

NASH Patogenezinde ikinci vuruş: İkinci vuruşla hepatosit hasarı, inflamasyon sonunda da karaciğerde fibröz gelişir (59,60).

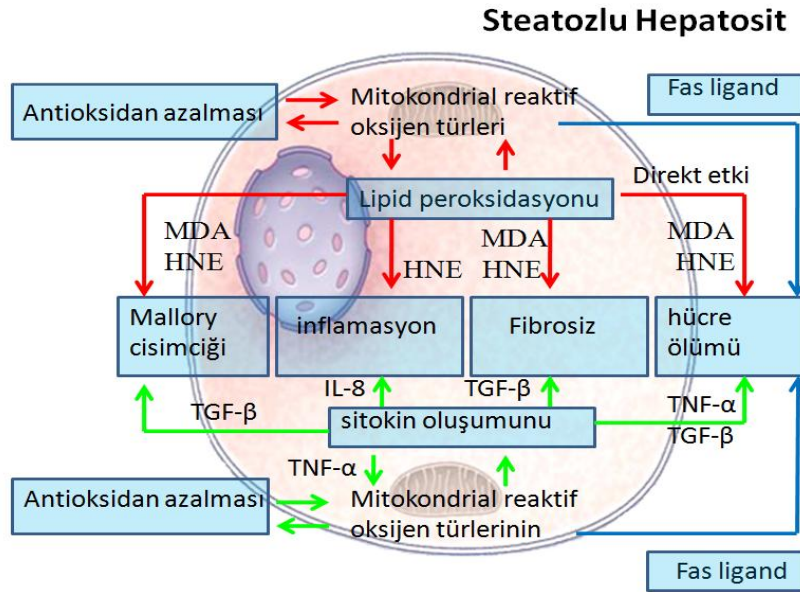
Yağ asitlerinin intrahepatik seviyelerinde artış, bir oksidatif stres kaynağı meydana getirir. Bu da büyük ölçüde steatozdan steatohepatite ve siroza ilerlemeden sorumlu olabilir. Mitokondriler, reaktif oksijen türlerinin başlıca hücresel kaynağıdır. Reaktif oksijen türleri üç temel mekanizma ile steatohepatiti ve fibrözü başlatabilir: Bu mekanizmalar lipit peroksidasyonu, sitokin indüksiyonu, Fas ligand indüksiyonudur.

Reaktif oksijen türleri lipit peroksidasyonunu başlatabilir. Bu da hücre ölümü ve malondialdehit (MDA) ile 4- hidroksinonenal (HNE) salınmasıyla sonuçlanır. MDA ve HNE hücre ölümüne sebep olur, proteinler arasında çarpaz bağlar teşkil ederek Mallory cisimciği oluşumuna yol açar, Stellate hücreleri aktive ederek kollajen sentezini hızlandırır (73). HNE, nötrofillere kemotaktik etkisi olduğundan doku enflamasyonunu uyarır.

Reaktif oksijen türleri sitokinlerin oluşumunu (TNF- α , TGF- β ve İnterlökin-8) indükler. TNF- α ve TGF- β kaspaz aktivasyonuna ve hücre ölümüne sebep olur. TGF- β stellat hücreler tarafından kollajen sentezini etkinleştirir, sitoskeletal proteinleri çarpaz bağlayan doku transaminazını aktive eder, böylece Mallory cisimciği oluşumunu sağlar. İnterlökin-8, insan nötrofilleri için güçlü bir

kemoatraktandır. (74). Reaktif oksijen türleriyle indüklenen $TNF-\alpha$, mitokondrilerde solunum zincirindeki elektronların akımını daha da bozar. Mitokondriyal reaktif oksijen türleri hepatik antioksidanları tüketebilir, böylece daha reaktif oksijen türleri birikir (75).

Reaktif oksijen türleri hepatositlerde Fas ligandın ekspresyonuna yol açar (hepatositler normalde membran reseptörü Fas'ı eksprese eder). Sonra da bir hepatosit üzerindeki Fas ligand, diğer bir hepatosit üzerindeki Fas ligand ile etkileşerek “fraksiyonel öldürmeye” sebep olabilir.



Şekil-10. NASH patogenezinde ikinci vuruş

Steatohepatitli hastalarda ultrastrüktürel mitokondriyal lezyonlar bulunabilir (megamitokondrilerdeki çizgisel kristal inklüzyonlar). Basit steatozlu çoğu hastada ve sağlıklı bireylerde bu mitokondri hasarına rastlanmaz (76).

Demek ki obez, diyabetik veya hiperlipidemisi olan yağlı karaciğerli hastalarda karaciğer hastalığı semptomları nadiren gelişir; ancak steatotik karaciğer yeni saldırılarla karşılaştığında daha fazla hasar görmeye yatkın olabilir. Bu bulgu, şu varsayıma yol açmıştır: Basit steatozdan steatohepatite ve ilerlemiş fibröze progresyon, iki farklı olaydan kaynaklanabilir (8). Birincisi, insülin direnci hepatositlerin içinde yağ birikimine sebep olur; ikincisi, mitokondriyal reaktif

oksijen türleri lipit peroksidasyonuna, sitokin indüksiyonuna ve Fas ligand indüksiyonuna sebep olur.

2.8.NASH'te Klinik

NASH her yaş grubunda görülse de, en sık 5 ve 6. dekadlarda ve %60-80 olasılıkla kadınlarda görülür. Hastalar çoğunlukla asemptomatik olduğundan başka sebepler araştırılırken, karaciğer fonksiyonlarındaki bozukluk fark edilerek tanı konur. Nadiren hastalarda sağ üst kadranda ağrısı veya halsizlik, yorgunluk gibi yakınmalar olabilir. Fizik incelemede hepatomegali tespit edilebilir. Nadiren splenomegali de bulunabilir. Laboratuvar tetkiklerinde AST ve ALT'de genellikle normalin üst sınırının 2 veya 3 katını geçmeyecek şekilde yükselme görülür. Fibrozis ilerledikçe AST, ALT'den daha büyük bulunur. Bazı olgularda GGT, ALP, bilirubin düzeylerinde hafif yükselme olabilir. Olguların dörtte üçüne yakın kısmında açlık kan şekeri yüksekliği ya da anormal lipit profile görülebilir.(77)

2.9. NASH'te Tanı

Öncelikle, varsa, alkol kullanım öyküsü dikkatli bir şekilde gözden geçirilmelidir. Konjenital ya da edinsel karaciğer fonksiyon bozukluğu yapan nedenlerin mevcut olup olmadığı araştırılmalıdır. Klinikte karşılaştığımız yağlı karaciğer olgularının büyük kısmında tanı sürecini başlatan bulgu ultrasonografide karaciğer yağlanması saptanması olmaktadır. BT ve MR'ın karaciğer yağlanması tanısı için duyarlılığı ve spesifikliğı daha yüksek olsa da US kadar yaygın olmayışları nedeniyle bu alandaki katkıları daha geri planda kalmaktadır. (78).

Bilgisayarlı tomografide doğrudan karaciğer dansitesinin ölçümü veya kontrastlı çalışmalarda karaciğer dalak dansite farkı ölçüt olarak alınarak karaciğer yağlanmasının tanısı yapılabilir. Karaciğerde biriken yağ miktarı az olduğunda bilgisayarlı tomografi ve MR'ın tanı değeri daha fazla olabilir (79). Hangi radyolojik yöntem kullanılırsa kullanılsın karaciğer yağlanmasının histopatolojik tipi ve ağırlığı hakkında güvenilir bir veri elde edilmesi mümkün değildir. Bunun anlamı mevcut radyolojik incelemeler ile steatoz/ steatohepatit ayrımının yapılamayacağıdır.

NASH'de şu an için en güvenilir tanı yöntemi karaciğer biyopsisidir. Karaciğer doku kesitleri Hematoksilen-Eozin ile boyanarak ışık mikroskopunda incelenir. Hematoksilen genellikle; nükleus'u mavi-siyah renkte boyayarak intranükleer detayı iyi gösterir. Eosin ise; hücre sitoplazmasını ve bağ dokusu elemanlarını çeşitli

varyasyonlarda pembe, turuncu ve kırmızı renkte boyar. Aynı kesitler Masson Trikromla da boyanarak ışık mikroskobunda incelenir. Masson Trikom kollagen lifleri boyayarak fibröz doku artımının değerlendirilmesini sağlar. NAFLD'da görülen histopatolojik bulgular hepatositler içerisinde mikrovessiküler veya makrovessiküler formda veya her iki özelliği de bir arada barındıracak şekilde yağ vakuollerinin görülmesidir. NASH'de görülen histopatolojik bulgular steatoz, polimorf nüveli lökositlerden oluşan lobüler inflamasyon ve santral ven etrafında görülen perisinüzoidal fibrözdir. NASH'de görülen diğer bulgular hepatosellüler balonlaşma, Mallory cisimciği ve nükleus'da glikojen birikimidir.(80)

Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığında histopatolojik bulgular ve sınıflandırmayla ilgili kavramlar üzerinde tartışmalar devam etmektedir. Bunun yanı sıra kronik viral hepatitlerde olduğu gibi Grade (derecelendirme) ve Stage(evrelendirme) temellerine dayanan yarı kantitatif tanı kriterleri de oluşturulmuştur. Brunt ve arkadaşlarının önerdikleri Grade ve Stage kriterleri çok kabul görmektedir.(81). Buna göre: Grade (derecelendirme): Steatoz, lobüler inflamasyon ve balonlaşmanın sayısal değerleri toplanarak elde edilen total skorla oluşturulur.

Steatoz: 0-3 arasında değerlendirilir.

Hepatositlerin < %5'den az etkilenmişse (0)puan

Hepatositlerin %5 ile %33 arası etkilenmişse (1)puan

Hepatositlerin %33-66 arası etkilenmişse (2) puan

Hepatositlerin > %66' dan fazla etkilenmişse (3) puan

Lobüler inflamasyon: 0-3 arasında değerlendirilir.

Lobüler inflamasyon: odak yok (0) puan

Lobüler inflamasyon: < 2'den az odak varsa (1) puan

Lobüler inflamasyon: 2-4 odak varsa (2) puan

Lobüler inflamasyon: > 4'ten fazla odak varsa (3) puan

Balonlaşma: 0-3 arasında değerlendirilir.

Balonlaşma: yok (0)puan

Balonlaşma: minimal (1)puan

Balonlaşma: orta (2)puan

Balonlaşma: belirgin (3) puan

3-5 puan Grade I (hafif) NASH

6-7 puan Grade II (Orta) NASH

8-9 puan Grade III (Ağır) NASH

Stage:Fibrozis yaygınlığına göre oluşturulur. Bu aynı zamanda NAFLD'nın fibröz skorudur.

Stage0:Fibrozis yok.

Stage1:Perisinusoidal fibrozis var

Stage 2:Portal fibrozis var

Stage 3:Köprüleşme fibrozisi var

Stage 4:Siroz

2.10. NASH Tedavisi

Günümüzde NAFLD için etkili bir tedavi protokolü mevcut değildir. Uygulanmakta olan bütün tedaviler hastalığın sıklıkla birlikte olduğu obezite, hiperlipidemi ve diyabeti hedef almıştır. NAFLD'de uygulanan ve gelecekte uygulanması hedeflenen tedavi metodlarını altı başlık altında inceleyebiliriz.(82)

2.10.1. Kilo kaybı ve ekzersiz tedavisi

Yavaş ve devamlı kilo kaybının NAFLD hastalarında karaciğer histolojisini ve serum aminotransferaz seviyelerini düzelttiği gösterilmiştir. Altı ayda vücut ağırlığının %10'u kadar kilo verilmesi ve bunun sürdürülmesi gereklidir. Hızlı kilo kaybı periferik yağ dokusundan karaciğere gelen yağ asitlerini arttırarak steatohepatitin progresyonuna neden olmaktadır. Bu yüzden zayıflamanın ılımlı yapılması ve iyi takibi gerekmektedir (83). Hatta zayıflamanın haftada 1600 gramı geçmemesi önerilmektedir. Visseral yağ dokusunu azaltmak ve kilo vermenin sürekliliğini sağlamak için egzersiz tedavinin bir parçası olmalıdır. Hareketsiz bir yaşam tarzı insülin direncini arttırırken egzersizin, kilo kaybı olmadan bile insülin duyarlılığını attırabildiğini gösteren çalışmalar vardır. Ayrıca egzersizin glukoz uptake'ini arttırdığını pek çok çalışma yayımlanmıştır. (84).

2.10.2. Lipit Düşürücü ilaç tedavisi: NAFLD karaciğer lipid homeostazis bozukluğu ile seyreden bir hastalıktır. Bu yüzden tedavide lipit düşürücü ilaçların kullanımı mantıklıdır. Fibratlar PPAR-a reseptörleriyle lipoprotein metabolizmasını değiştirirler (85). Dört hafta boyunca Gemfibrozil ile yapılan kontrollü bir çalışmada;

Gemfibrozil verilenlerde %74 oranında kontrol grubunda ise %30 oranında transaminazlarda iyileşme tespit edilmiştir (86). NAFLD 'li hastalarda kolesterol düşürücü ilaçların etkinliği bilinmemektedir. Ayrıca bu ilaçların karaciğer toksisite potansiyellerinin de unutulmaması gerekir. Bununla birlikte 3-hidroksi-3-metilglutaril-koenzim-A redüktaz inhibitörü olan atorvastatin ile yapılan küçük

bir çalışmada; atorvastatinin NAFLD tedavisinde etkili olabileceği öne sürülmüştür

2.10.3.İnsülin Duyarlılığını Artıran ilaç Tedavisi: Hiperinsülinemik insülin rezistansı ile NASH birlikteliği tedavi çalışmalarının hedeflerinden biri olmuştur. Metformin, diyabetik hastalarda oldukça sık kullanılan bir oral hipoglisemiktir (87). Metforminin nasıl yaptığı tam olarak bilinmese de en önemli etkisi, insülin etkisini artırmaktır (88). Hepatik glukoz outputu'nu baskılaması, özellikle yemek sonrasında kas ve karaciğer gibi periferik dokularda insülinin neden olduğu glukoz kullanımını artırması ve serum FFA konsantrasyonunu azaltan bir antilipolitik etki ile insülin etkisini artırdığı tahmin edilmektedir (90). Ayrıca serum TG, FFA ve bir miktarda LDL kolesterol miktarını azaltırken; HDL-kolesterol miktarını arttıran belirgin bir lipit düşürücü özelliği vardır (89).

Troglitazonun lipodistrofi üzerindeki etkinliği, lipit metabolizması üzerindeki primer etkisine işaret etmektedir (91).Karaciğer biyopsisi ile NASH tespit edilen 6 olguya 400 mg/gün dozunda troglitazon verilmiş; hastaların dördünde ALT seviyeleri normalleşmiş ve tedavi sonlandıktan sonraki 3 aylık takip süresinde ALT değerleri normal olarak kalmıştır. Tedavi süresince hastaların hiçbirinde kilo kaybı olmamıştır (92). Bu sonuç umut vericidir ama Mart 2000'de şiddetli hepatotoksisite nedeniyle FDA tarafından bu ilaç piyasadan çekilmiştir (87). Thiozolidinedionların yeni üyesi olan rosiglitazon, karaciğer, kas ve adipoz dokunun insülin duyarlılığını artırarak etkisini gösterir. PPAR- γ 'ya hem bağlanarak hem de reseptörü aktive ederek etkisini gösterir. Böylece, transkripsiyonel regülasyon faktörlerini modifiye ederken, insülin etkileri de düzenlenir ve periferik insülin duyarlılığı artar ve β hücre fonksiyonlarını da iyileştirir. Ayrıca bu ilaçların kullanımıyla ortaya çıkan kilo artışı, cilt altı yağ dokusunun artışı şeklinde olup visseral yağda artış olmaz (93). Piaglitazonla da benzer sonuçlar bildirilmektedir (94). Bununla birlikte bu ilaçların NAFLD 'da kullanımı ile ilgili kesin kanıtlar mevcut değildir ve bu ajanlar ile ilgili deneysel çalışmalar gereklidir. Bu olumlu etkiler nedeniyle, hiperinsülinemik NASH'lılarda,

metformin ve yeni thiazolidinedionları içeren diğer insülin duyarlılığını arttıran ilaçların etkinliğini değerlendirecek çalışmalar yapılmalıdır.

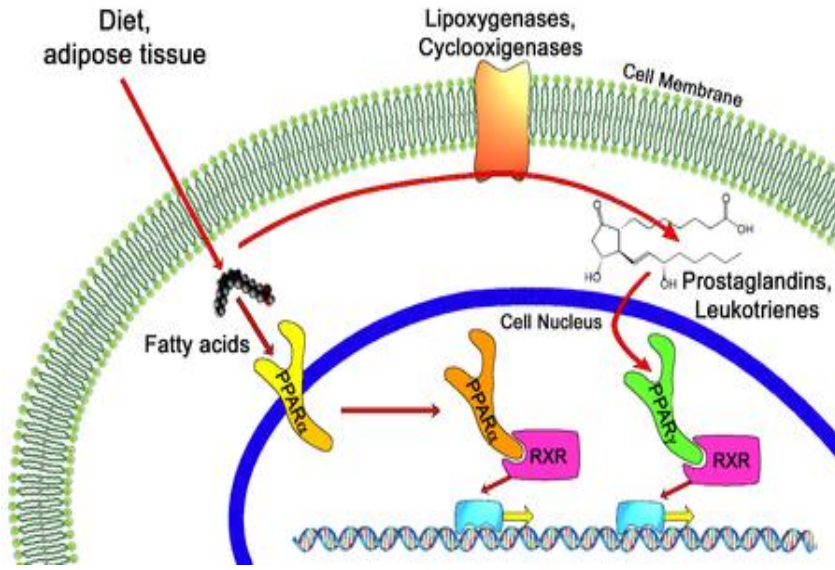
2.10.4.Antioksidanlar ilaç tedavisi: Oksidatif stresi azaltan tedaviler NASH'de faydalı olabilir. Bu konuda önerilen ajanlar E vitamini, N-asetil sistein, Betain ve S-adenozilmetionindir(91).

2.10.5.Yeni düşünülen ilaç tedavileri: Bu başlık altında iki ilaç grubundan söz edebiliriz. Bunlardan birincisi Non Steroidal Antiinflamatuvar İlaçlar (NSAİİ) ve özellikle spesifik COX-2 inhibitörleridir.30 COX-2 inhibitörü tedavisi ile patogeneiz bölümünde anlatılan endotoksin ve sitokinlerle tetiklenen hasar mekanizmasının durdurulması hedeflenmektedir.(98) Yeni düşünülen ilaç tedavilerinden ikinci grub ise TNF- α inhibitörleridir. Gerek TNF- α 'yı direkt olarak sentez aşamasında inhibe eden pentoksifilin gerekse anti- TNF- α antikoru bu konuda etkileri merak edilen ilaç gruplarıdır.(99)

2.10.6..Karaciğer Transplantasyonu: Son dönem karaciğer hastalığı gelişenlerde karaciğer nakli en ideal tedavi yaklaşımıdır. Ama ileri hastalıklı çoğu hasta, obezite ve komplike diyabet gibi eşlik eden durumlar nedeniyle, transplantasyon için iyi aday değillerdir . Bu hastalarda nakil sonrası tekrar NASH gelişebilmesine rağmen sonuçları iyidir. Transplantasyon sonrasında daha önceden NASH veya kriptojenik siroz olan hastalarda NASH ortaya çıkabilir. Posttransplant NASH gelişmesinin nedenleri tam olarak bilinmese de muhtemel nedenler persistan hipertrigliseridemi, diyabet, obezite ve steroit tedavisidir. Mitokondri üzerine siklosporinin etkisi gibi daha direkt bir etki de söz konusu olabilir (91).

2.11.Peroksizom Proliferatör Aktive eden Reseptör(PPAR)

PPAR' lar nükleer reseptor ailesinin bir üyesidirler. Liganda bağlanmaya yanıt olarak gen ekspresyonunu düzenler. Birçok yağ asidi PPAR için endojen ligand görevi yapar. PPAR'ların tanımlanmış üç grubu vardır. Bunlar PPAR- α , PPAR- β/δ ve PPAR- γ dır.(100) Liganda bağlanma sonrasında PPAR spesifik yapısal değişikliğe uğrayarak Retinoit X reseptörüne bağlanır. Retinoit X reseptörü (RXR) ile oluşturduğu kompleks yapının aktive edilmesiyle nukleus içi basınçla yer değiştirir, böylelikle spesifik genleri eksprese eden düzenleyici DNA zincirinin aktivasyonu sağlanmış olur.(101)



Şekil-11.Peroksizom Proliferatör Aktive eden Reseptörler (PPAR)

Peroksizom Proliferatör Aktive eden Reseptör - α

PPAR- α yağ asidi oksidasyonunu transkripsiyonel düzeyde düzenleyen hepatik yağ asidi duyarlı bir nükleer reseptördür. PPAR- α karaciğer, yağ dokusu, kalp, kas, damar duvarında bulunur. Endojen agonistler palmitik, palmitoleik, linoleik ve araşidonic asit gibi başlıca yağ asitleridir. Ekzojen agonistler ise antilipidemik ajanlar olan fibratlar ve Gemfibrozildir.

PPAR- α aktivasyonu karaciğere FFA alımını, FFA'nin hücre içinde taşınmasını, FFA'nin mitokondriye taşınmasını ve oksidasyonunu artırır. (102). Bunları yaparken PPAR- α aktivasyonu Karnitin Palmitoil Transferaz I(CPT-I), Karnitin Açıl Karnitin Translokaz(CACT), Karnitin Palmitoil Transferaz II(CPT-II) gibi FFA transportunda görevli enzimlerini kodlayan çeşitli genlerin aktivasyonuna neden olmaktadır. PPAR- α aktivasyonu mitokondriyal, peroksizomal ve mikrozomoal yağ asidi oksidasyon enzimlerini kodlayan çeşitli genlerin aktivasyonuna neden olmaktadır. (103) PPAR- α 'nın aktivasyonu peroksisom proliferasyonu yapar. PPAR- α aktivasyonu SREPB-1'in aktive olmasını engelleyerek FFA sentezini, SREPB-2'nin aktive olmasını engelleyerek de kolesterol ve LDL reseptör sentezini azaltır.

Bunları yaparken PPAR- α aktivasyonu ile SREPB-2'nin aktive olması HMG-CoA Redüktaz enzim ekspresyonunu azaltarak kolesterol yapımını azaltır. PPAR- α agonistlerinin aterosklerozdan koruyucu etkileri vardır.

Bunları yaparken PPAR- α 'lar hepatositlerde apoA1 ve apoAII gen ekspresyonunu artırarak HDL-C düzeyini artırır. PPAR- α 'lar bir taraftan LPL aktivitesinin artışı, diğer taraftan apoCIII yapımının azalmasına bağlı olarak Trigliseridden zengin lipoproteinlerin (şilomikron artıkları, VLDL,IDL) lipolizisi ve klirensi artar. PPAR- α 'nın aktivasyonu antiinflamatuvar etkilere yol açar. PPAR- α bu etkisini proinflamatuvar eikosanoid olan LTB4 'ün katabolizmasını arttırarak yapar. PPAR- α aktivasyonu musküler Uncoupling (eşleştirmeme) proteinler-3 (UCP-3) proteinleri kodlayan çeşitli genlerin kapsayan aktivasyonuna neden olmaktadır. UCP-3'ün aşırı sentezi hiperfaji ve zayıflama ile sonuçlanır ve beraberinde glukoz toleransı oluşur. Böylece UCP-3 etkinliğinin farmakolojik olarak uyarılması şişmanlık ve tip II diyabet tedavisinde yararlı olabilir. PPAR- α 'daki kalıtsal bir defekt vasıtasıyla karaciğerde TG sentezinde artışla birlikte steatohepatite yol açabilmektedir. PPAR- α ortadan kaldırılmış farelerde tip 2 DM gibi, hipertrigliseride mi, steatoz ve hiperglisemi gelişmektedir. PPAR- α deneysel NAFLD modelinde düşük yapıma sahiptir. Ekzojen PPAR- α agonisti uygulaması NAFLD'yi engeller ve deneysel NAFLD modelinde gerilemeyi uyarır. (104).

Peroksisom Proliferatör Aktive eden Reseptör $-\gamma$: PPAR- γ iskelet ve kas hücreleri gibi birçok dokuda mevcut olan, ancak ön planda yağ dokusunda bulunan bir nükleer reseptördür. PPAR- γ reseptörü hücrede yağ asitleri, prostanoitler ve thiazolidinedionlar gibi ilaçlar tarafından aktive edilirler(105). PPAR- γ yaygın bir şekilde adipoz dokuda bulunur ve adipoz dokunun diferansiasyonu, dağılımı ve fonksiyonuna etkisi vardır. PPAR- γ aktivasyonu FFA ve TG seviyesini azaltır. Bunları yaparken PPAR- γ agonistleri lipoprotein lipaz, yağ asidi taşıyıcı protein , açıl koenzim A sentaz gibi enzimleri kodlayan çeşitli spesifik genlerin ekspresyonunu arttırır.

PPAR- γ aktivasyonu HDL düzeyini arttırarak ateroskleroz riskini azaltır.(106). Bunları yaparken PPAR- γ aktivasyonu caveolin-1 ve ATP Binding Cassette Transporter A1(ABCA-1) proteinlerin ekspresyonlarını arttırır. Caveolin-1 proteininin hücre içindeki fazla kolesterolü hücre membranındaki 'caveola' yapısına

taşıdığını, hücre membranındaki ABCA1 proteininin ise 'caveola'ya gelen kolesterolün HDL'e taşınmasını sağladığını göstermiştir (107).

PPAR- γ aktivasyonu periferide glukoz utilizasyonunu artırır, karaciğerden glukoz çıkısını azaltır. Bunları yaparken PPAR- γ agonistleri glukoz taşıyıcı protein (GLUT-4) gibi enzimleri kodlayan çeşitli spesifik genlerin ekspresyonunu ve insülin duyarlılığını artırır. PPAR- γ agonistleri glikojen sentetaz aktivitesini arttırırken, hepatik glukoneogenezisi azaltır. PPAR- γ aktivasyonunun enflamatuvar genlerin ekspresyonu üzerinde inhibitor etkisi vardır. Bunları yaparken PPAR- γ agonistleri migrasyonu azaltarak makrofaj fonksiyonlarını yönetirler. PPAR- γ aktivasyonu periferik vazodilatasyon yapıcı etkileriyle orta derecede antihipertansif etki gösterirler. PPAR- γ aktivasyonu ile Oksidatif stres azalır. PPAR- γ 'nın obezite ve tip 2 diabetes mellitus patofizyolojisinde önemli rol oynadığı bilinmektedir. PPAR- γ obezlerde visceral yağ dokusunda deri altı yağ dokusuna göre artmıştır. PPAR- γ 'daki tek bir genetik defekt insülin rezistansı, hipertansiyon ve dislipidemi gibi patolojileri ortaya çıkarabilmektedir (108).

Peroksisom Proliferatör Aktive eden Reseptör - β

PPAR- β birçok dokuda sentezlenir. Deri, beyin ve yağ dokusunda yüksek oranda bulunur. PPAR- β 'nın aktivasyonu yağ asit metabolizmasını, deri proliferasyonunu yönetir. PPAR- β silinmiş farelerde yara iyileşmesinde geçikme ve myelinizasyonda azalma görülmüştür.(109)

2.12.Siklooksigenaz 2 (COX-2)

Prostaglandin sentezinde ilk basamak fosfolipaz A2 ile fosfolipidlerinin hidrolizi ve araşidonik asidin salınımıdır. Araşidonik asit hücre membranı fosfolipidlerinin içinde ester olarak bulunan 20 karbonlu bir poliansatüre yağ asisidir. Prostaglandinlerin prekürsörüdür. İkinci reaksiyon ise COX (siklooksigenaz) tarafından katalizlenir. COX prostaglandin sentezinin hız sınırlayıcı enzimidir. Bu anahtar reaksiyonda, moleküler oksijen araşidonik asidin içine katılır ve prostaglandin G2 (PGG2) adlı kararsız ara ürün oluşur. ProstaglandinG2 (PGG2) COX'ın peroksidaz aktivitesi sayesinde hızlıca prostaglandin H2 (PGH2) ye dönüşür. Bundan sonra spesifik izomerazlar PGH2'yi farklı prostaglandinlere ve tromboksanlara dönüştürür. PGH2'den derive olan her maddenin kendine özgü önemli biyolojik aktiviteleri vardır.(110) 1971 yılında John Vane aspirinin kobay akciğerinde siklooksigenaz

enzimini invitro ortamda irreversibl olarak inhibe ettiğini rapor etti. Daha sonra Smith ve Willis insan trombositlerinde benzer sonuçlara ulaştı. (111) Bu bulgular NSAİİ'ların antiinflamatuvar ve istenmeyen bazı yan etkilerinin prostaglandin sentezinin baskılanması yoluyla oluştuğu hipotezini kuvvetlendirdi. Ancak bu klasik teori NSAİİ'ların tüm dozlarındaki etkilerini açıklamıyordu.(112) Örneğin izole hücrelerde inflamasyonun tedavisi için gereken terapötik ilaç konsantrasyonu, prostaglandin sentezini inhibe edecek ilaç konsantrasyonundan daha fazladır. Buna ek olarak çoğu NSAİİ'nin antiinflamatuvar dozu, analjezik dozundan daha fazladır. Bu nedenlerle NSAİİ'ların etkilerinde başka mekanizmaların da rol oynuyor olabileceği düşünüldü. Bazı çalışmalar inflamatuvar stimuluslarla de novo sentezlenen ikinci bir siklooksigenaz izoenziminin var olduğunu düşündürdü. (113).1992 yılında ikinci COX isoformu moleküler olarak klonlandı. COX-2 adı verilen bu isoformun moleküler özellikleri tanımlandı.

COX-1 ve COX-2'nin temel farkları:

COX-1 vücudun hemen her dokusunda sürekli olarak eksprese edilir. Gastrik mukozanın bütünlüğünün sürdürülmesi, böbrek kan akışının düzenlenmesi, trombosit fonksiyonları gibi normal fizyolojik fonksiyonları kontrol eden prostaglandinlerin üretiminde aracılık eder. COX-1 ekspresyonu stimuluslarla 2-4 kat artabilir, glikokortikoidlerle COX-1 düzeyleri çok az etkilenir. COX-2 ise bazal durumlarda çoğu dokuda saptanamayacak kadar az miktardadır. İnflamatuvar sitokinlerle, growth faktörlerle ve endotoksinlerle ekspresyonunu pek çok hücrede (makrofaj, fibroblast, kondrosit, epitelial ve endotel hücreleri) 10 – 80 misli artabilir. (114)

Sonuç olarak COX-2 patolojik ve inflamatuvar doku süreçlerinde rol alan, üretimi hızlı indüklenebilen, regülasyonu sıkı olarak düzenlenen bir maddedir. COX-2 ekspresyonunu vücutta onkogenlerin, büyüme faktörlerinin ve tümör promotörlerinin indüklediğini gösterilmiştir.(115) COX-2 nin bunun dışında bazı noninflamatuvar dokularda da eksprese edilebilir. (116)

Hücrede COX-2 kaynaklı bazı endojen prostanoitler PPAR- γ reseptörünü aktive ederler .(12).PPAR- γ aktivasyonu da COX-2 indüksiyonunu inhibe eder.

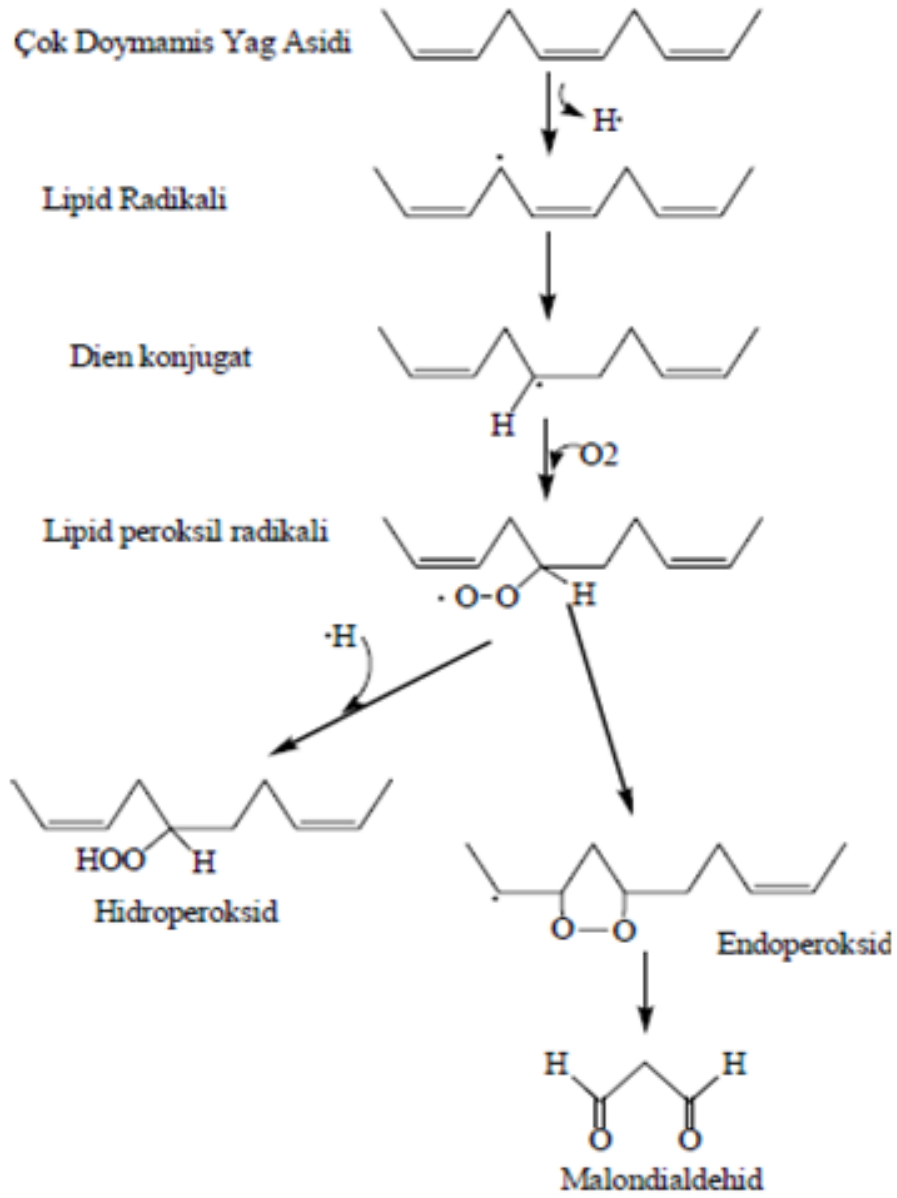
2.13.Oksidatif Stres

Vücuttaki moleküler oksijenin %95'i enzimatik yolla suya dönüşürken, %5'ine elektron eklenmesiyle, stabil olmayan ve reaktif oksijen metabolitleri denen oksijen türevleri meydana gelmektedir (117). Oksijenden oluşan serbest radikaller (süperoksid anyonu O_2^- , hidroksil radikali HO^-) veya metabolitleri (hidrojen peroksit (H_2O_2), hipokloro asit $HOCl$) genel olarak serbest oksijen radikalleri olarak adlandırılır (118). Oksijen radikalleri hem endojen kaynaklardan (nötrofil fagositoz sistemi gibi) hem de ekzojen kaynaklardan (X ışınları, sigara vb.) köken alabilmektedir.

Serbest radikaller biyolojik sistem üzerinde çeşitli zararlı etkiler vermektedir. Canlı sistemdeki biyomoleküllerin tüm büyük sınıfları serbest radikaller tarafından etkilenir fakat lipitler en hassas olanıdır(119).Lipit peroksidasyonu çok zararlı bir zincir reaksiyonudur. Direkt olarak membran yapısına ve indirekt olarak reaktif aldehitler üreterek diğer hücre bileşenlerine zarar verir; sonuçta birçok doku hasarı ve hastalıklara sebep olur. Lipit peroksidasyonu organizmada oluşan bir serbest radikal etkisi sonucu membran yapısında bulunan poliansatüre yağ asidi zincirinden bir hidrojen atomu uzaklaştırılması ile başlar. Lipit peroksidasyonu sonucu oluşan lipit hidroperoksitlerinin yıkımı geçiş metalleri iyon katalizini gerektirir.

Lipit hidroperoksitleri yıkıldığında çoğu biyolojik olarak aktif olan aldehitler oluşurlar. Bu bileşikler, ya hücre düzeyinde metabolize edilirler veya başlangıçtaki etki alanlarından diffüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarlar.

MDA, non-enzimatik oksidatif lipit peroksitlerinin parçalanması sonucu oluşan toksik etkili son ürünlerden birisidir. İki den fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin otooksidasyonunda veya eikozanoit sentezinde serbestleşen siklik endoperoksitler MDA'nın asıl kaynağını oluşturmaktadır.



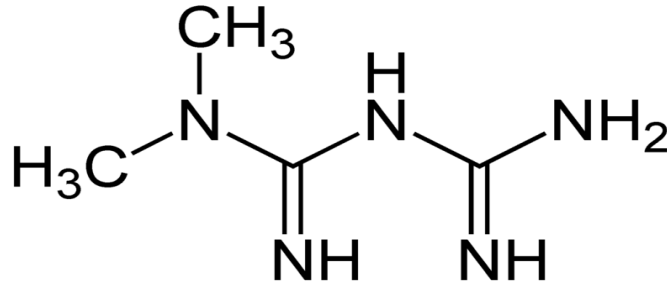
Şekil-12.MDA'nın oluşum reaksiyonu

MDA miktarının ölçümü, lipid peroksit düzeylerinin saptanmasında sıklıkla kullanılmaktadır. Lipid peroksidasyonu birçok yolla kantitatif olarak saptanabilmektedir. Bunlardan birisi lipid peroksidasyon ürünlerinden Malonil Dialdehid (MDA) , tiobarbütirik asit reaktivitesi yöntemi kullanılarak ölçülür. Ölçülen MDA lipid peroksidasyonunun derecesi ile korelasyon gösterir (120).Bunun yanı sıra, peroksidasyon sırasında oluşan dien konjugatlarının ölçümü de in vivo lipid peroksitlerinin düzeyini yansıtmaktadır. Lipid peroksidasyonun bir son ürünü olan

malondialdehit stellat hücreleri aktive ederek kollajen üretimi ve fibrojenizisi uyarır. Hayvan modellerinde oluşturulan tüm steatoz tiplerinde lipit peroksidasyonunda belirgin rol oynadığı tiyobarbitürik asit reaktanları ile ölçülerek daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (121).

Lipit peroksidasyon ürünleri mtDNA'yı etkiler ve solunum zincirindeki elektron transferinde rol oynayan proteinlerin yapısını bozar. Artmış mitokondriyal kökenli serbest oksijen radikalleri yağ depolarını oksitleyecek ve lipit peroksidasyonunu arttıracaktır. Lipit peroksidasyonu hücre ölümüne ve hepatosit nekrozuna sebep olur. Lipit peroksidasyonu sonucu oluşan malonilaldehit ve 4-hidroksinoneal gibi maddeler immün hepatite ve Mallory cisimciği oluşumuna neden olabilirler (122). Yağlanma ve lipit peroksidasyonu da glutatyon sulfat(GS) ve vitamin-E gibi antioksidan maddelerin tüketimine de sebep olurlar.

2.14. Metformin

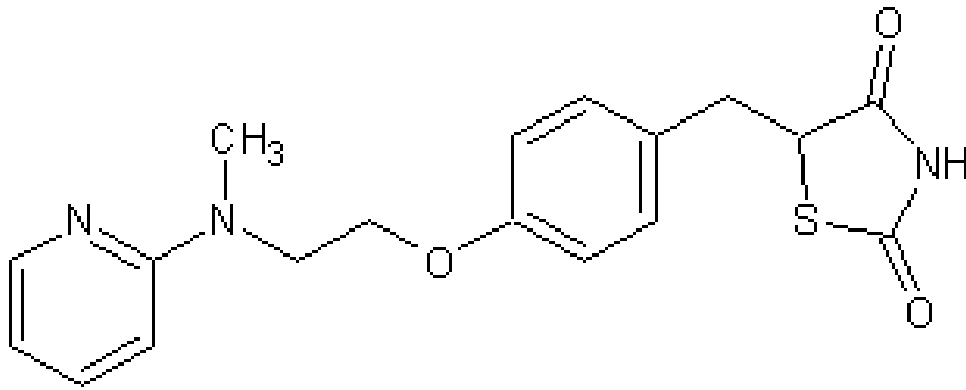


Şekil-14. Metformin'in kimyasal formülü

Metformin biguanid sınıfı oral yolla kullanılan bir anti diyabetiktir. Tip II diyabette (insüline bağımlı olmayan) hem bazal hem de postprandial plazma glukoz seviyelerini düşürür. Karaciğerde glukoz yapımını azaltır, glukozun bağırsaklardan emilimini azaltır ve insülin duyarlılığını artırır. Metformin tedavisi ile açlık insülin seviyeleri ve gün boyu plazma insülin yanıtı azalırken, insülin sekresyonu uyarılmaz. Sülfonilüre tedavisine yanıt vermeyen, kısıtlı yanıt veren veya artık yanıt vermeyen hastalarda metformin tek başına etkili olabilir. İstenilen glisemik kontrol sağlanamaz ise metforminin sülfonilüre grubu bir ilaç ile kombinasyonu sinerjistik bir etki sağlayabilir. Metformin tedavisi ile elde edilen açlık kan şekeri seviyelerindeki

düşüş, açlık hiperglisemi seviyeleri ile orantılıdır. Açlık glukoz seviyeleri yüksek olan insüline bağımlı olmayan diyabetlilerde plazma glukoz ve glikolize hemoglobin seviyeleri daha fazla azalır. Çoğu tip II diyabetli hastada normal olmayan serum lipit seviyeleri üzerine metforminin olumlu etkileri vardır. Tek başına metformin veya sülfonilüre ile kombinasyonu, diğer lipit seviyelerinde advers etki oluşturmaksızın, ortalama açlık serum trigliserit, total kolesterol ve LDL kolesterol seviyelerini düşürmektedir. Metformin ile tedavi edilen hastalarda, glisemik kontrolün tüm parametrelerinde, vücut ağırlığının korunması veya azaltılmasında ve lipit profilinin düzeltilmesinde anlamlı ilerlemeler izlenir. Diyabeti olmayan hastalarda kan şekerini düşürmez.(123)

2.15. Rosiglitazone

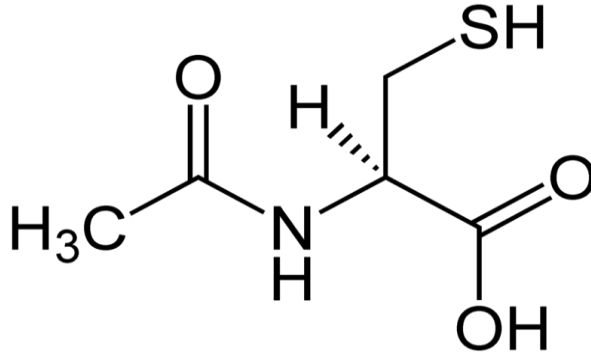


Şekil-13. Rosiglitazonun kimyasal formülü

Rosiglitazon insüline karşı duyarlılığı arttırarak anti-hiperglisemik etki gösteren tiyazolidindion sınıfından bir anti diyabetik ilaçtır. Rosiglitazon reseptörlerinde (peroksizom proliferatör tarafından aktive edilen reseptör-gamma) yüksek derecede selektivite ve agonistik aktivite gösterir. İnsanlarda PPAR- γ reseptörleri insülinin etkisini göstermesi için hedef dokuları olan yağ dokusu, iskelet kasları ve karaciğerde bulunur. PPAR- γ reseptörleri aktive olduğunda glukoz yapımını, taşınmasını ve kullanımını kontrol eden ve insülinle çalışan genlerin transkripsiyonunu düzenlerler. PPAR- γ reseptörlerine cevap veren genler aynı zamanda yağ asitleri metabolizmasının düzenlenmesine de katkıda bulunurlar.

Rosiglitazon tip-2 diyabetik deneysel modellerde hipoglisemiye neden olmamıştır. Rosiglitazon açlık kan sekerini ve hemoglobin A1c (HbA1c)'yi düşürür. Bunun yanı sıra insülinemi ve C-peptid düzeyi de azalır. Postprandial glukoz ve insülin düzeylerinde de azalma görülür. Bu etkiler rosiglitazonun insülin duyarlılığını arttırıcı etkisiyle uyumludur. Rosiglitazon tedavisi sırasında vücut ağırlığında artış görülür. Rosiglitazon tedavisinde düşük dansiteli lipoprotein (LDL), yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) ve total kolesterol artar, serbest yağ asitleri (FFA) azalır, trigliseritler (TG) değişmez. LDL/HDL oranı önce artar sonra azalır.(124)

2.16. N-Asetilsistein

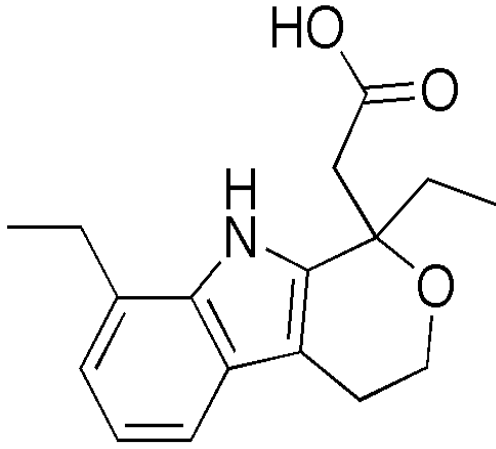


Şekil-15. N-Asetilsistein'nin kimyasal formülü

N-Asetilsistein doğal bir aminoasit olan L-sisteinin N-asetillenmiş türevine verilen isimdir. N-Asetilsistein mukolitik bir ajandır. Asetilsistein sahip olduğu sülfidril grubu ile mukus glikoproteini içerisindeki disülfid bağlarını koparma yeteneği sayesinde mukoit ve mukopürülan sekresyonlar üzerine mukolitik etki gösterir. Solunum yollarında toplanan balgam yoğunluğunu ve yapışkanlığını azaltır, su gibi akıcı hale getirir. Bronşial sekresyonların atılımını ve solunumu kolaylaştırarak akciğer fonksiyonlarının düzenlenmesine yardımcı olur. N-Asetilsistein ayrıca, sahip olduğu nükleofilik serbest tiyol (-SH) grubu aracılığıyla, oksidan radikallerin elektrofilik grubuyla etkileşime girerek, direkt antioksidan özellik gösterir. Moleküler yapısı nedeniyle hücre içine kolayca giren N-asetilsistein, burada deasetillenerek, L-sistein'e dönüşür. L-sistein bir glutatyon prekürsörüdür ve glutatyon sentezini artırır. Glutatyon ise, ekzojen veya endojen sitotoksik maddelerin

ve oksidan radikallerin hücreye zarar vermesini önleyen, hücre bütünlüğünün ve işlevlerinin devamı için çok önemli bir endosellüler mekanizmada temel rolü olan, yüksek reaktiflikte bir tripeptittir. Bu yönüyle N-asetilsistein hücreleri hasardan koruyacak düzeyde glutatyon yapımı için birincil derecede önem taşımaktadır. Asetilsistein özellikle kistik fibrozisti hastalarda, yeni doğanlarda mekonyum ileusunda ve erişkinlerdeki mekonyum ileusuna benzer durumlarda bağırsaklara lokal olarak uygulanarak tıkaçın atılmasını sağlar.(125)

2.17. Etodolak



Şekil-16. Etodolak'ın kimyasal formülü

Etodolak piranokarboksilik asitten derive analjezik aktivitesi olan bir non-steroid antiinflamatuvar ilaçtır. Siklooksijenazı inhibe eden, lipooksijenazı ise etkilemeyen veya çok düşük etkileyen bir ajan olarak bilinmektedir. Etodolak antienflamatuvar, analjezik ve antipiretik özellikler gösterir. Etodolak enflamasyonlu dokuda prostaglandin sentezini inhibe eder. Ağrı reseptörlerinin enflamasyonun mediatörleri olan histamin, serotonin ve kininlere karşı duyarlılığını azaltır, önler. Osteoartrit, Romatoid artrit, Ankilozan spondilit gibi romatizmal hastalıklarda, Orta ve hafif şiddetteki ağrıların giderilmesinde kullanılır.(126)

3.GEREÇLER VE YÖNTEMLER

Çalışmaya; T.C. Dicle Üniversitesi Prof.Dr.Sabahattin Payzın Sağlık Bilimleri Araştırma ve Uygulama Merkezi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan(DÜHADEK) alınan 10.12.2009-1 tarih ve sayılı izin ile Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Uygulama ve Araştırma Merkezinde (DUSAM) başlandı

3.1. Deney hayvanları ve çalışma grupları:

Araştırmamıza Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Uygulama ve Araştırma Merkezinden (DUSAM) temin edilen, vücut ağırlıkları 300 ± 50 gram olan 48 adet Sprague-Dawley cinsi erkek rat çalışmaya dahil edildi. Sıçanlar, standart kafeslerde barındırılıp, yem ve su alımı serbest bırakıldı. Hayvanların bulunduğu oda 22 ± 2 C°'de, 12 saat karanlık-12 saat ışık ortamında tutuldu. Sprague-Dawley cinsi erkek ratlar rastgele 6 gruba ayrıldı.1.Grup:(Kontrol grubu) Deneyin başından sonuna kadar standart bazal diyetle beslendi. (n=12)2.Grup:(Yüksek yağlı diyet grubu) Deneyin başından sonuna kadar yüksek yağlı diyetle beslendi. (n=12) 3.Grup:(Metformin grubu) Deneyin ilk onaltı haftası yüksek yağlı diyetle beslendiler. Takip eden 4 haftada metformin ile tedavi edildiler. (n=6) Metformin 250 mg/kg/gün dozda gastrik sondayla verildi.4.Grup:(Rosiglitazon grubu) Deneyin ilk onaltı haftası yüksek yağlı diyetle beslendiler. Takip eden 4 haftada rosiglitazon ile tedavi edildiler. (n=6) Rosiglitazon 4 mg/kg/gün dozda gastrik sondayla verildi.

5.Grup: (N-asetilsistein grubu). Deneyin ilk onaltı haftası yüksek yağlı diyetle beslendiler. Takip eden 4 haftada N-asetilsistein ile tedavi edildiler. (n=6) N-asetilsistein 100 mg/kg/gün dozda intraperitoneal (ip) olarak verildi. 6.Grup:(Etodolak grubu) Deneyin ilk onaltı haftası yüksek yağlı diyetle beslendiler. Takip eden 4 haftada etodolak ile tedavi edildiler. (n=6) Etodolak 10 mg/kg/gün dozda gastrik sondayla verildi.

3.2.Standart ve Yüksek Yağlı Diyet: Standart diyet Elazığ Yem Sanayii A.Ş'den (Elazığ, Türkiye) temin edildi. Diyet içeriğinde,% 15 protein, % 2,5 yağ, % 15 selüloz, % 14 kil, % 13 su bulunuyordu. Yüksek yağlı diyet hazırlanması:100 gram standart diyete 25 gram hayvansal bir yağ türü olan tereyağı eklenerek oluşturuldu. Böylece toplam enerjinin % 65'i yağdan kaynaklanan bir diyet sağlandı (4). Uygun oranda tereyağı eritilerek standart pelletlere eklendi. Karıştırıcı yardımıyla iyice karıştırılarak pelletlerin yağı çekmesi sağlandı. Pelletler oldukça kuru olduğundan

yağı kolayca çektiği gözlemlendi. Sonrasında bu haliyle soğumaya bırakıldı. Yüksek yağlı diyet her gün taze olarak hazırlandı. Deney başlangıcından sonuna kadar sıçanların yağlı diyetle uyum sağladığı gözlemlendi.

3.3.İlaçlar: Glifor film tablet 850 mg Bilim İlaç Sanayi ve Ticaret .A.Ş. firmasının ürettiği ilaç, Rosvel 4 mg film tablet Sanovel İlaç Sanayi ve Ticaret .A.Ş. firmasının ürettiği ilaç, Asist Ampul 300 mg/3 ml Hüsnü Arsan İlaçları A.Ş. firmasının ürettiği ilaç, Etol FORT Film tablet 400 mg Nobel İlaç Sanayi ve Ticaret .A.Ş. firmasının ürettiği ilaç üniversite eczanesinden temin edildi.

3.4.Analizler: Onaltı hafta sonunda standart diyetle beslenen kontrol grubundan altı rat ve yüksek yağlı diyetle beslenen gruptan altı rat 75 mg/ kg ketamin HCl ve 15 mg/kg ksilazin intramuskuler verilerek anestezi edilip kardiyak ponksiyonla kan örnekleri ve insizyonla karaciğer dokuları toplanan ratlar kurban edildiler. Kan örneklerinde ALT, AST değerleri ölçülerek ve karaciğer dokuları ışık mikroskopunda histopatolojik olarak değerlendirilerek yüksek yağlı diyet grubunda karaciğer yağlanması tespit edildiğinde ilaç tedavisine başlandı. Dört haftalık ilaç tedavisi sonunda bütün deney grupları 75 mg/ kg ketamin HCl ve 15 mg/kg ksilazin intramuskuler verilerek anestezi edilip kardiyak ponksiyonla kan örnekleri ve insizyonla karaciğer dokuları toplanan ratlar kurban edildiler. Kan örnekleri 4 °C ‘3500 devirde 5 dakika santrifuj ettikten sonra serumları analiz yapılmaya kadar -80°C ‘de saklandı. Aynı zamanda ratların karaciğerleri çıkarılıp üç parçaya ayrıldı. **Birinci parça** işaretli saklama poşeti içinde spektrometrik metotla MDA tayini için -80°C ‘de saklandı. **İkinci parça** %5’lik formol içinde histolojik inceleme için saklandı. **Üçüncü parça** işaretli saklama poşeti içinde western blotting metoduyla COX-2, PPAR- γ , PPAR- α , reseptör ekspresyonu tayini için -80°C ‘de saklandı.

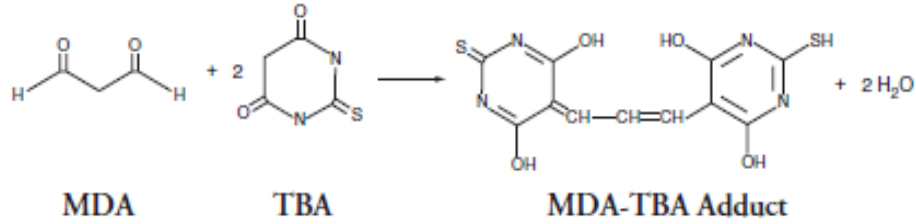
3.4.1.Ağırlık Ölçümleri: Bütün deney gruplarındaki ratlar kurban edilmeden önce Precisa BJ610C hassas terazi (610 $\pm$ 0.01) ile tartılarak vücut ağırlıkları ölçüldü. Kurban edildikten sonrada karaciğer ağırlıkları aynı terazi ile ölçüldü.

3.4.2.Biyokimyasal Analizler: Dicle Üniversitesi merkez Laboratuvarında Abbott firmasının Architect c16000 cihazında spektrofotometrik metotla Abbott clinical chemistry Architect alanin aminotransferaz kiti ile alanin aminotransferaz (ALT), Abbott clinical chemistry Architect aspartat aminotransferaz kiti ile aspartat aminotransferaz(AST), Abbott clinical chemistry Architect Trigliserit kiti ile

trigliserit(TG),Abbott clinical chemistry Architect kolesterol kiti ile total kolesterol(TK), Abbott clinical chemistry Architect ultra HDL kiti ile yüksek dansiteli lipoprotein(HDL), Abbott clinical chemistry Architect multigent kiti ile LDL Kolesterol (LDL-C) analizleri yapıldı. Siemens firmasının Immulite1000 cihazında enzyme-amplified chemiluminescence metotla Immulite TNF- α kiti ile Tümör nekrozis faktör- α (TNF- α) analizi yapıldı.

3.4.3.Karaciğer dokusu Malonil Dialdehit (MDA) analizi: MDA analizi Ohkawa ve arkadaşlarının metoduyla çalışan **Cayman Chemical Company** TBARS Assay kiti ile Shimadzu UV-160 A spektrofotometre cihazında ölçüldü.

Malondialdehit ölçüm prensibi: Malondialdehit (MDA) aerobik şartlarda, pH 3,4'te tiyobarbitürik asit (TBA) ile 95°C'de inkübasyonu sonucu pembe renkli bir kompleks oluşturur. Oluşan bu renkli kompleks spektrofotometrede 532nm'de okutularak absorbansı ölçülür. Ölçülen absorbans değeri ile Standart MDA grafiğini kullanarak örnekteki MDA konsantrasyonunu hesaplanır.



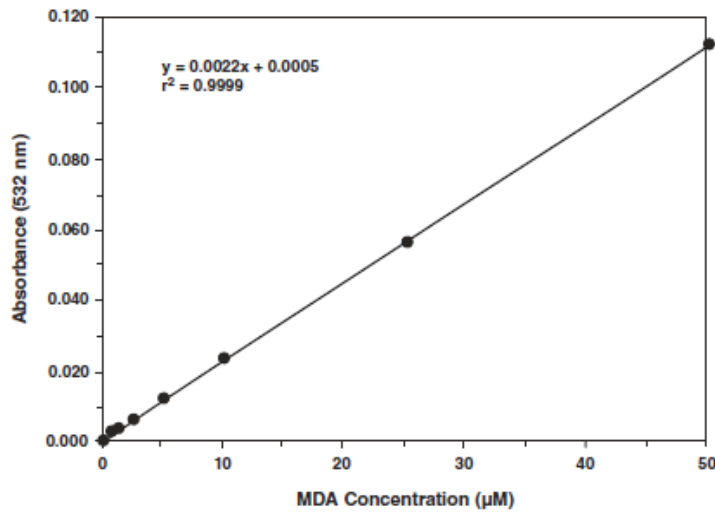
Şekil-17. MDA'nın TBA ile renkli kompleks oluşturması

Ölçüm işlemini MDA kitinde tarif edilen şekilde şekilde dört aşamada gerçekleştirilir.

- 1.Doku homojenatı hazırlanması.
- 2.Reaktifler hazırlanması.
- 3.Standart MDA'lar hazırlanması.
- 4.Ölçümün yapılması

Standart MDA grafiğinin Çizilmesi: Konsantrasyonlarını bildiğimiz standartların ölçtüğümüz absorbans değerlerine göre absorbans –konsantrasyon grafiğini oluşturduk.

Grafik-1. Absorbans –konsantrasyon grafiği



Hesaplama: Öldtüğümüz örnek absorbanslarını Standart MDA grafiğinden karşılaştırılarak MDA düzeyini nmol/mL olarak hesapladık.

3.4.4.Karaciğer dokusu Histopatolojik Değerlendirme: Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Anabilim dalında karaciğer doku kesitleri Hematoksilen-Eozin ve Masson Trikromla ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi. Öncelikle kesitlerde histolojik NAFLD ve NASH bulguları arandı.

Brunt ve arkadaşlarının önerdikleri Grade ve Stage kriterlerine göre deney grublarının Steatoz Grade'si ve fibrozis Stage'leri belirlendi.

Steatoz: 0-3 arasında değerlendirilir.

Hepatositlerin < %5'den az etkilenmişse Grade 0

Hepatositlerin %5 ile %33 arası etkilenmişse Grade I

Hepatositlerin %33-66 arası etkilenmişse Grade II

Hepatositlerin > %66'dan fazla etkilenmişse Grade III

Stage: Fibrozis yaygınlığına göre oluşturulur.

Stage0: Fibrozis yok

Stage1: Perisinusoidal fibrozis var

Stage 2:Portal fibrozis var

Stage 3:Köprüleşme fibrozisi var

Stage 4:Siroz

3.4.5. Western blot analizi: İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsünde (DETAE) COX-2, PPAR- γ , PPAR- α , reseptör ekspresyonları ölçüldü. Ölçüm işlemi Santa Cruz Biotechnology firmasının web sitesinde belirttiği şekilde sekiz aşamada gerçekleştirildi.

1. Doku Homojenati Hazırlandı.

2. Yükleyeceğimiz Örnek miktarı belirlendi.

3. Elektroforetik Yürütme (SURELOCK XCELL Dikey jel sistemi) yapıldı.

4. Proteinler polivinilidendiflorid (PVDF) membrana aktarıldı.

5. Membranda protein bağlanmamış bölgeler ilgisiz proteinlerle (Bovine serum albümin) örtüldü.

6. Primer ve sekonder immunolojik reaksiyonlar gerçekleştirildi.

7. Kemiluminescence görüntüleme:

1. Membran PBS çözeltisinde beklerken kemiluminesans Luminol Reaktifini hazırlanarak membran üzerine dökülür ve beklemeden luminol reaktifi membran üzerinden uzaklaştırılır.

2. Luminol uygulanmış membranı şeffaf bir streç film ile hava kabarcığı olmayacak şekilde sarılır.

3. Streç film ile sarılmış ve hava kabarcıkları içermeyen membran karanlık oda ve kırmızı ışık altında otoradyografi işlemine tabi tutuldu.

8. Otoradyografi Analizi:

Otoradyografi filmi üzerindeki band yoğunlukları GS-700 Model imaging dansitometerde analiz edildi.

3.5. İstatistik

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 15 programı kullanıldı. Grupların denek sayısının azlığından dolayı non-parametrik testler kullanıldı. İki den fazla bağımsız gruplar arası değişkenlerin karşılaştırılması Kruskal-Wallis tek yönlü varyans analizi ile yapıldı. Gruplardan en az birinin diğerlerinden farklı olması halinde ($p < 0.05$), farklılığı oluşturan grubun tespitinde Mann Whitney U test ile 9 adet ikili karşılaştırma yapıldı. Grup içi bağımlı değişkenlerin karşılaştırılmasında ise Wilcoxon işaret testi kullanıldı. Sonuçlar % 95'lik güven aralığında, anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirildi. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verildi.

4. BULGULAR

4.1.Ağırlık Ölçüm Sonuçları:

Bütün deney gruplarının onaltı hafta sonundaki ve yirmi hafta sonundaki vücut ağırlıkları tablo-1 de verilmiştir.

Tablo-1. Tüm deney gruplarının vücut ağırlıkları

Vücut Ağırlığı(g)	1.Grup (Kontrol)	2.Grup (HFD)	3.Grup (MET)	4.Grup (ROZİ)	5.Grup (NAS)	6.Grup (ETOL)
16 hafta sonunda	326,8±4,4	340,6±3,2	340,3±3,3	335,0±4,0	338,3±2,8	340,0±1,4
20 hafta sonunda	333,8±13	376,5±23	348,2±23	348,3±21	348,3±15	362,8±26

Onaltı hafta sonunda **vücut ağırlıklarına göre** 2.grup(Yüksek yağlı diyet grubu), 3.grup(Metformin grubu),4.grup(Rosiglitazon grubu),5.grup(N-asetilsistein grubu) ve 6.grup(Etodolak grubu) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).Yüksek yağlı diyet grubu ve tedavi gruplarının hepsinin kontrol grubuna göre ise anlamlı derecede yükseldiği ($p<0.05$) görülmüştür. Yirmi hafta sonunda **vücut ağırlıklarına göre** tüm gruplar arasında anlamlı farklılık görülmüştür.($p<0.05$) Yüksek yağlı diyet grubu ve tedavi gruplarının hepsinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak farklılıkları devam etmektedir. ($p=0.002$)

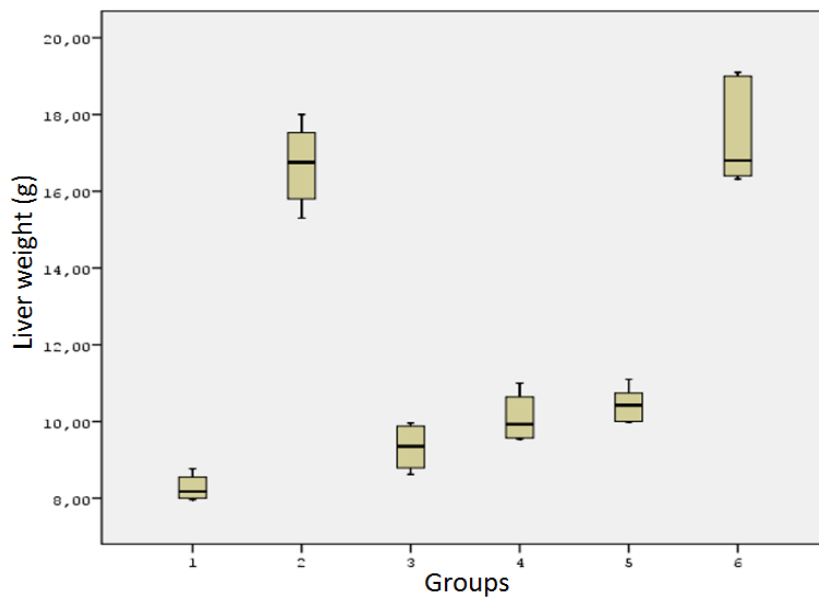
Bütün deney grupları arasında **karaciğer ağırlıklarına göre** istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır($p<0.05$).

Karaciğer ağırlıklarının kontrol grubu ile diğer beş grubun ikili karşılaştırma sonuçları tablo-2 ve grafik-2 de verilmiştir.

Tablo-2. Tüm deney gruplarının karaciğer ağırlıklarının karşılaştırılması

Karaciğer Ağırlığı (gram)		2.Grup (HFD)	3.Grup (MET)	4.Grup (ROZİ)	5.Grup (NAS)	6.Grup (ETOL)
1.Grup (Kontrol)	8,3±0,3	16,7±1	9,3±0,6	10,1±0,6	10,4±0,4	17,4±1
		(p=0.002)	(p=0.004)	(p=0.002)	(p=0.002)	(p=0.002)

Grafik-2. Tüm deney gruplarının karaciğer ağırlıklarının karşılaştırılması



4.2. Biyokimyasal Sonuçlar: Yirmi hafta sonunda deneydeki bütün rat gruplarının serumlarından alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz(AST), trigliserit(TG), total kolesterol(TK), yüksek dansiteli lipoprotein(HDL-C) ve düşük dansiteli lipoprotein (LDL-C) değerleri ölçüldü. Bu değerler tablo halinde aşağıda verilmiştir

Tablo-3. Tüm deney gruplarının alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz(AST), trigliserit(TG), total kolesterol(TK), yüksek dansiteli lipoprotein(HDL-C) ve düşük dansiteli lipoprotein (LDL-C) değerleri

4 hafta sonunda	1.Grup (Kontrol)	2.Grup (HFD)	3.Grup (MET)	4.Grup (ROZİ)	5.Grup (NAS)	6.Grup (ETOL)
ALT (U/L)	54,2±2	109,2±9	76,6±1	59,1±5	99,0±7	74,2±5
AST (U/L)	76,4±3	223,0±6	110,2±9	148,0±17	154,2±7	170,0±14
TG (mg/dl)	43,4±3	86,0±1	65,0±1	68,3±5	78,0±1	85,0±1
KOL (mg/dl)	64,3±2	78,3±5	66,0±1	67,8±5	75,3±5	78,3±4
HDL-C (mg/dl)	26,7±1	21,5±1	25,5±1	24,2±1	24,2±1	30,2±2
LDL-C (mg/dl)	29,6±2	40,1±1	30,6±2	35,4±3	35,0±1	31,5±1

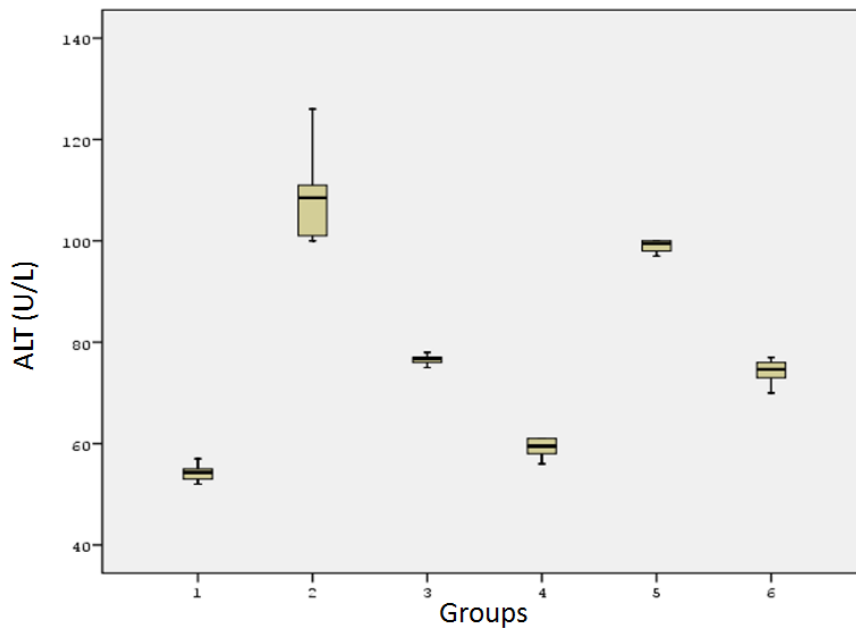
Yirmi hafta sonunda **alanin aminotransferaz (ALT)** testinde bütün gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p < 0.05$).

ALT testinin kontrol grubu ile diğer beş grubun ikili karşılaştırma sonuçları tablo-4 ve grafik-3 de verilmiştir.

Tablo-4. Tüm deney gruplarının ALT değerlerinin karşılaştırılması

Test: ALT(U/L)		2.Grup (HFD)	3.Grup (MET)	4.Grup (ROZİ)	5.Grup (NAS)	6.Grup (ETOL)
1.Grup (Kontrol)	54,2±2	109,2±9	76,6±1	59,1±5	99,0±7	74,2±5
		(p=0.002)	(p=0.002)	(p=0.065)	(p=0.002)	(p=0.002)

Grafik-3. Tüm deney gruplarının ALT değerlerinin karşılaştırılması



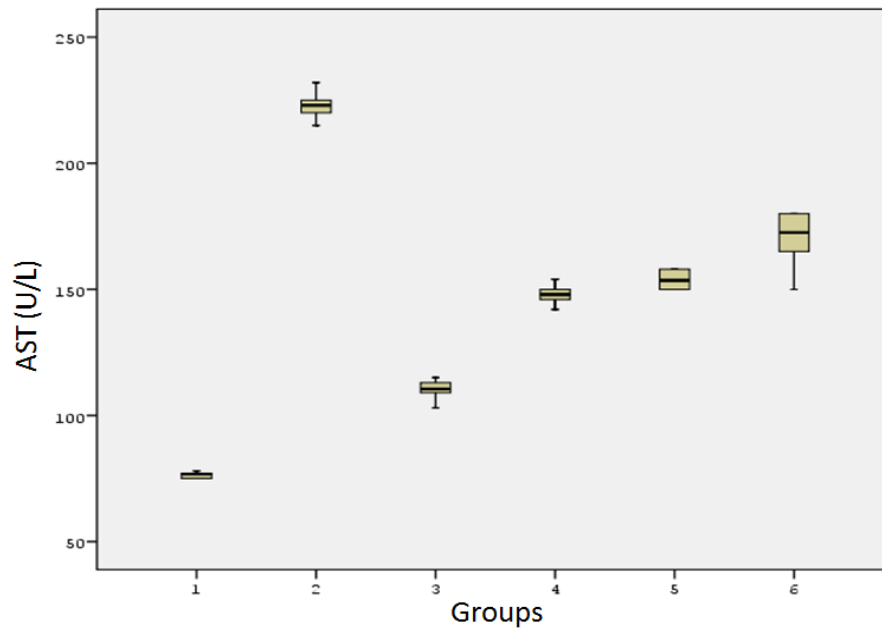
Yirmi hafta sonunda **aspartat aminotransferaz (AST)** testinde bütün gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0.05$).

AST testinin kontrol grubu ile diğer beş grubun ikili karşılaştırma sonuçları tablo-5 ve grafik-4 de verilmiştir.

Tablo-5. Tüm deney gruplarının AST değerlerinin karşılaştırılması

Test: AST(U/L)		2.Grup (HFD)	3.Grup (MET)	4.Grup (ROZİ)	5.Grup (NAS)	6.Grup (ETOL)
1.Grup (Kontrol)	76,4±3	223,0±6	110,2±9	148,0±17	154,2±7	170,0±14
		(p=0.002)	(p=0.002)	(p=0.002)	(p=0.002)	(p=0.002)

Grafik-4. Tüm deney gruplarının AST değerlerinin karşılaştırılması



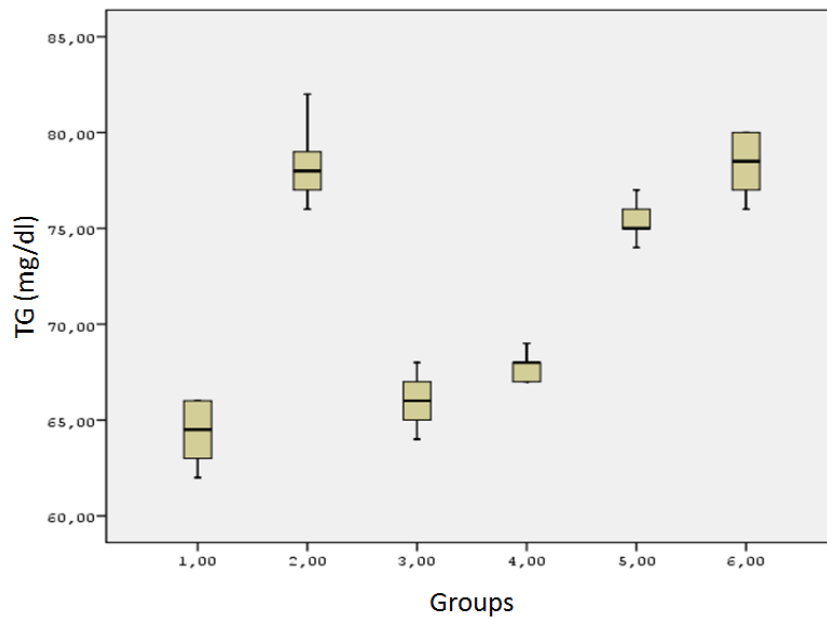
Yirmi hafta sonunda **trigliserit(TG)** testinde bütün gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0.05$).

TG testinin kontrol grubu ile diğer beş grubun ikili karşılaştırma sonuçları tablo-6 ve grafik-5 de verilmiştir.

Tablo-6. Tüm deney gruplarının TG değerlerinin karşılaştırılması

Test: TG (mg/dl)		2.Grup (HFD)	3.Grup (MET)	4.Grup (ROZİ)	5.Grup (NAS)	6.Grup (ETOL)
1.Grup (Kontrol)	43,4±3	86,0±1	65,0±1	68,3±5	78,0±1	85,0±1
		(p=0.002)	(p=0.002)	(p=0.002)	(p=0.002)	(p=0.002)

Grafik-5.Tüm deney gruplarının TG değerlerinin karşılaştırılması



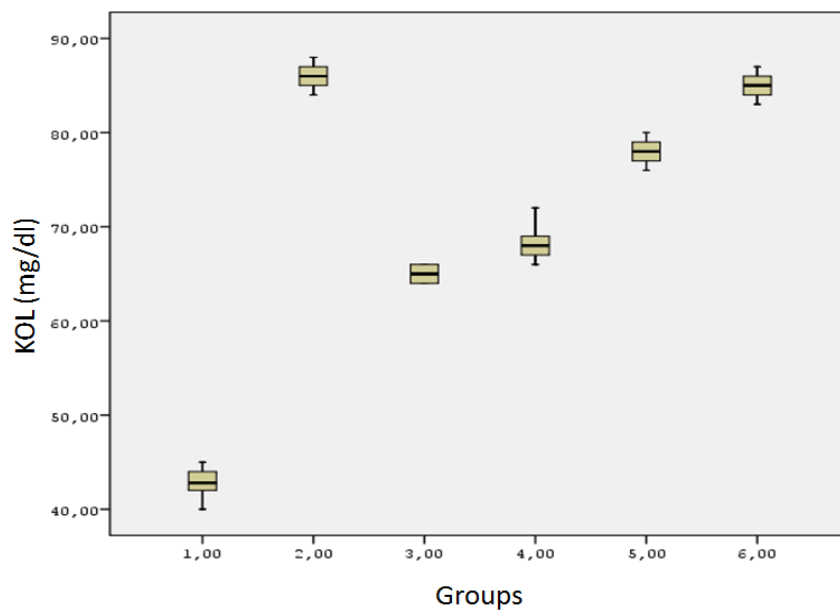
Yirmi hafta sonunda **total kolesterol (TK)** testinde bütün gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0.05$).

TK testinin kontrol grubu ile diğer beş grubun ikili karşılaştırma sonuçları tablo-7 ve grafik-6 da verilmiştir.

Tablo-7. Tüm deney gruplarının TK değerlerinin karşılaştırılması

Test: KOL (mg/dl)		2.Grup (HFD)	3.Grup (MET)	4.Grup (ROZİ)	5.Grup (NAS)	6.Grup (ETOL)
1.Grup (Kontrol)	64,3±2	78,3±5	66,0±1	67,8±5	75,3±5	78,3±4
		(p=0.002)	(p=0.132)	(p=0.065)	(p=0.002)	(p=0.002)

Grafik-6.Tüm deney gruplarının TK değerlerinin karşılaştırılması



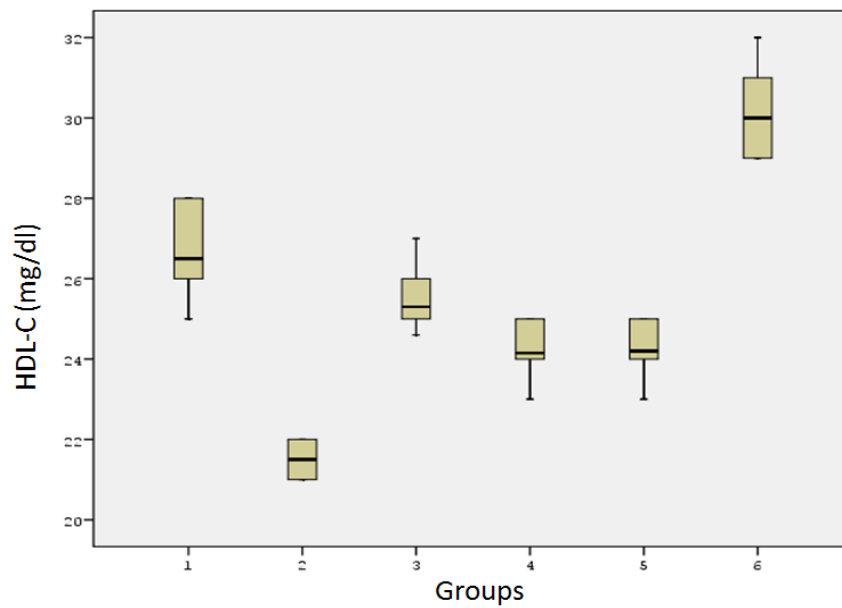
Yirmi hafta sonunda **yüksek dansiteli lipoprotein(HDL-C)** testinde bütün gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0.05$).

HDL-C K testinin kontrol grubu ile diğer beş grubun ikili karşılaştırma sonuçları tablo-8 ve grafik-7 de verilmiştir.

Tablo-8. Tüm deney gruplarının HDL-C değerlerinin karşılaştırılması

Test: HDL-C (mg/dl)		2.Grup (HFD)	3.Grup (MET)	4.Grup (ROZİ)	5.Grup (NAS)	6.Grup (ETOL)
1.Grup (Kontrol)	26,7±1	21,5±1	25,5±1	24,2±1	24,2±1	30,2±2
		(p=0.002)	(p=0.093)	(p=0.004)	(p=0.004)	(p=0.002)

Grafik-7. Tüm deney gruplarının HDL-C değerlerinin karşılaştırılması



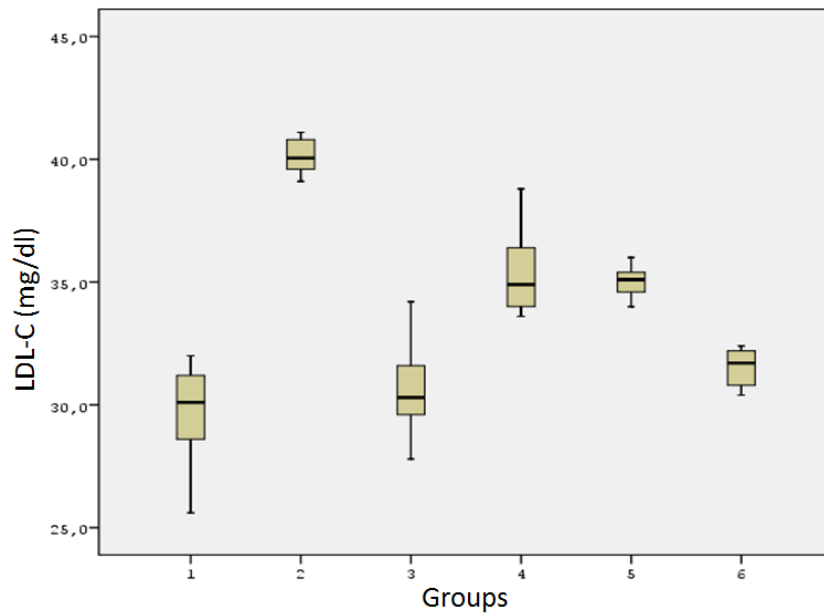
Yirmi hafta sonunda **düşük dansiteli lipoprotein (LDL-C)** testinde bütün gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0.05$).

LDL-C testinin kontrol grubu ile diğer beş grubun ikili karşılaştırma sonuçları tablo-9 ve grafik-8 de verilmiştir.

Tablo-9. Tüm deney gruplarının LDL-C değerlerinin karşılaştırılması

Test: LDL-C (mg/dl)		2.Grup (HFD)	3.Grup (MET)	4.Grup (ROZİ)	5.Grup (NAS)	6.Grup (ETOL)
1.Grup (Kontrol)	29,6±2	40,1±1	30,6±2	35,4±3	35,0±1	31,5±1
		(p=0.002)	(p=0.699)	(p=0.004)	(p=0.002)	(p=0.065)

Grafik-8. Tüm deney gruplarının LDL-C değerlerinin karşılaştırılması



4.3.Serum TNF- α ve Karaciğer dokusu MDA sonuçları: Yirmi hafta sonunda deneydeki bütün rat gruplarının serumlarından TNF- α ve karaciğer dokusundan MDA değerleri ölçüldü. Bu değerler tablo halinde aşağıda verilmiştir

Tablo-10.Serum TNF- α ve Karaciğer dokusu MDA sonuçları

4 hafta sonunda	1.Grup (Kontrol)	2.Grup (HFD)	3.Grup (MET)	4.Grup (ROZİ)	5.Grup (NAS)	6.Grup (ETOL)
Liver MDA (nmol/ml)	11,2 $\pm$ 0,9	19,0 $\pm$ 0,6	13,1 $\pm$ 0,9	20,0 $\pm$ 0,8	12,3 $\pm$ 0,7	14,0 $\pm$ 0,8
TNF- α (pg/ml)	5,0 $\pm$ 0,3	40,0 $\pm$ 3	41,0 $\pm$ 3	32,6 $\pm$ 2	44,6 $\pm$ 3	25,3 $\pm$ 3

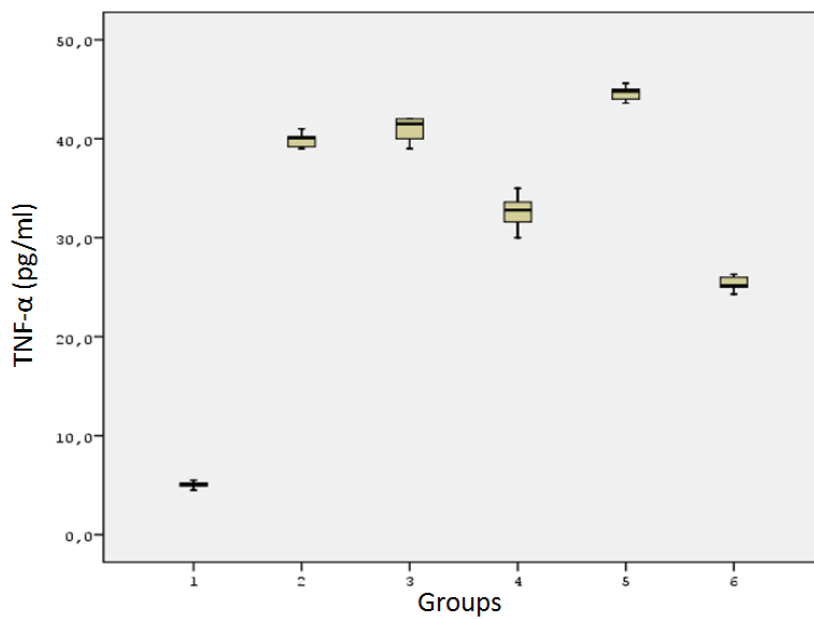
Yirmi hafta sonunda **serum TNF- α** testinde bütün gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0.05$).

TNF- α testinin kontrol grubu ile diğer beş grubun ikili karşılaştırma sonuçları tablo-11 ve grafik-9 da verilmiştir.

Tablo-11. Tüm deney gruplarının Serum TNF- α değerlerinin karşılaştırılması

Test: TNF-α (pg/ml)		2.Grup (HFD)	3.Grup (MET)	4.Grup (ROZİ)	5.Grup (NAS)	6.Grup (ETOL)
1.Grup (Kontrol)	5,0 $\pm$ 0,3	40,0 $\pm$ 3	41,0 $\pm$ 3	32,6 $\pm$ 2	44,6 $\pm$ 3	25,3 $\pm$ 3
		(p=0.002)	(p=0.002)	(p=0.002)	(p=0.002)	(p=0.002)

Grafik-9. Tüm deney gruplarının Serum TNF- α değerlerinin karşılaştırılması



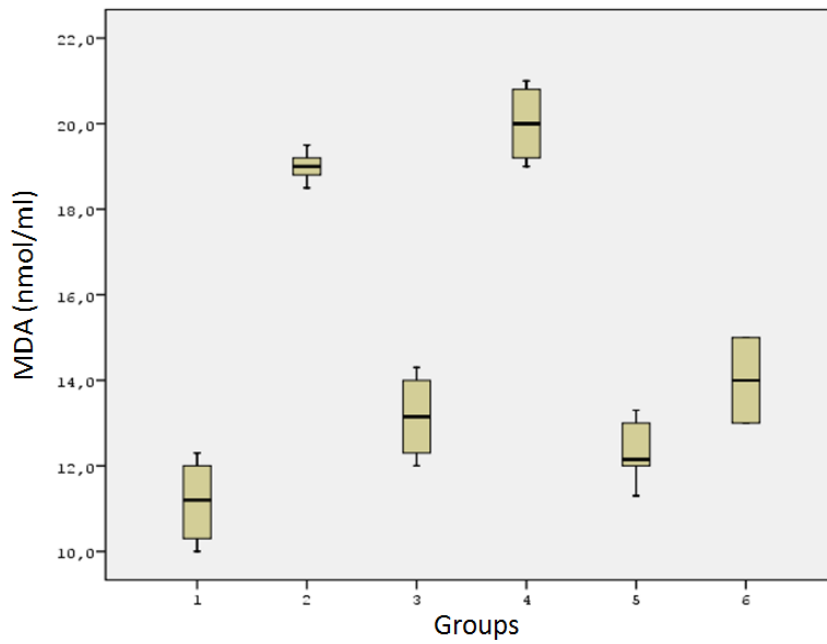
Yirmi hafta sonunda **karaciğer dokusu MDA** testinde bütün gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0.05$).

Karaciğer dokusu MDA testinin kontrol grubu ile diğer beş grubun ikili karşılaştırma sonuçları tablo-12 ve grafik-10 da verilmiştir.

Tablo-12. Tüm deney gruplarının Karaciğer dokusu MDA değerlerinin karşılaştırılması

Test: MDA (nmol/ml)		2.Grup (HFD)	3.Grup (MET)	4.Grup (ROZİ)	5.Grup (NAS)	6.Grup (ETOL)
1.Grup (Kontrol)	11,2±0,9	19,0±0,6	13,1±0,9	20,0±0,8	12,3±0,7	14,0±0,8
		(p=0.002)	(p=0.009)	(p=0.002)	(p=0.065)	(p=0.002)

Grafik-10. Tüm deney gruplarının Karaciğer dokusu MDA değerlerinin karşılaştırılması



4.4. Karaciğer dokusu Histopatolojik Değerlendirme sonuçları: Karaciğer doku kesitleri Hematoksilen-Eozin ve Masson Trikromla ile boyanarak ışık mikroskobunda incelendi.Öncelikle kesitlerde histolojik NAFLD ve NASH bulguları arandı. Brunt ve arkadaşlarının önerdikleri Grade ve Stage kriterlerine göre deney gruplarının Grade ve Stageleri belirlendi.

Kontrol grubunun Hemotoksilen&Eosin(HE) x200 ile boyasıyla boyanmış preparatı. **Steatosis Grad 0** olarak, Masson Trikrom (MT) x200 boyasıyla boyanmış preparatı. **Fibrozis Stage 0** olarak değerlendirildi.

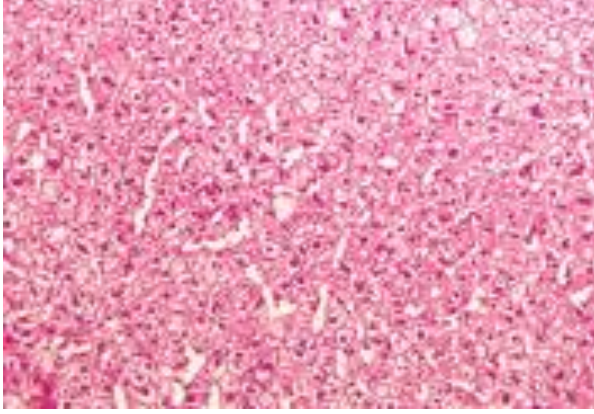
Yüksek yağlı diyet grubunun Hemotoksilen&Eosin(HE) x200 ile boyasıyla boyanmış preparatı. **Steatosis Grad 2** olarak, Masson Trikrom (MT) x200 boyasıyla boyanmış preparatı. **Fibrozis Stage 3** olarak değerlendirildi.

Metformin grubunun Hemotoksilen&Eosin(HE) x200 ile boyasıyla boyanmış preparatı. **Steatosis Grad 0** olarak, Masson Trikrom (MT) x200 boyasıyla boyanmış preparatı. **Fibrozis Stage 1** olarak değerlendirildi.

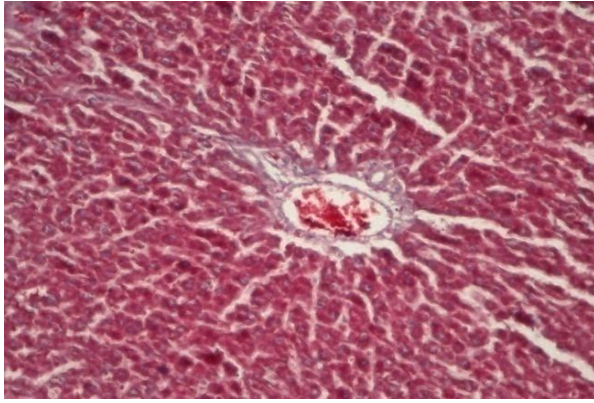
Rosiglitazon grubunun Hemotoksilen&Eosin(HE) x200 ile boyasıyla boyanmış preparatı. **Steatosis Grad 0** olarak, Masson Trikrom (MT) x200 boyasıyla boyanmış preparatı. **Fibrozis Stage 1** olarak değerlendirildi.

N-asetilsistein grubunun Hemotoksilen&Eosin(HE) x200 ile boyasıyla boyanmış preparatı. **Steatosis Grad 1** olarak, Masson Trikrom (MT) x200 boyasıyla boyanmış preparatı. **Fibrozis Stage 2** olarak değerlendirildi.

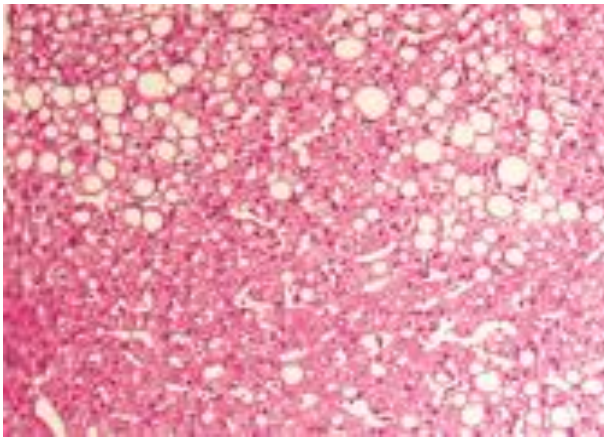
Etodolak grubunun Hemotoksilen&Eosin(HE) x200 ile boyasıyla boyanmış preparatı. **Steatosis Grad 2** olarak, Masson Trikrom (MT) x200 boyasıyla boyanmış preparatı. **Fibrozis Stage 3** olarak değerlendirildi.



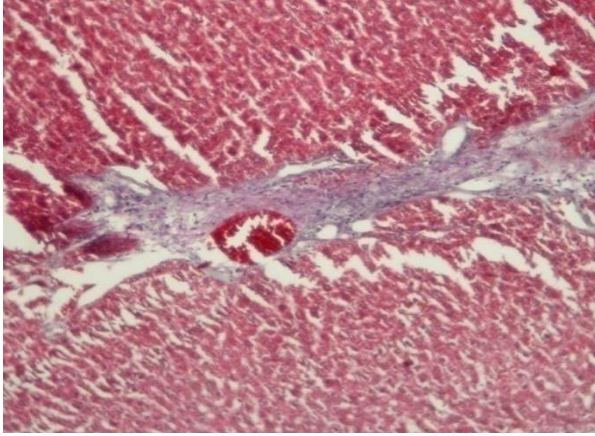
Şekil-18.Kontrol grubunun Hemotoksilen&Eosin x200 preparatı.
Steatosis Grad 0



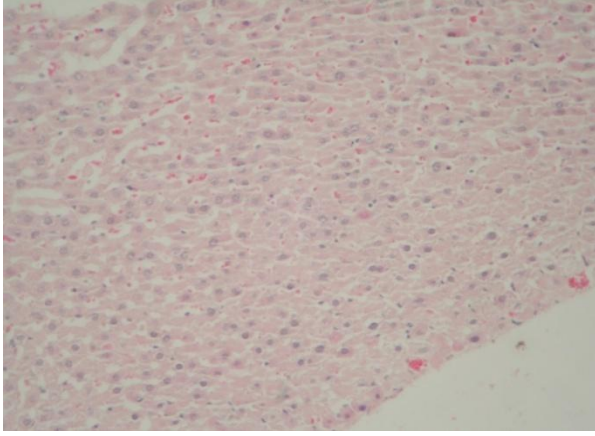
Şekil-19.Kontrol grubunun Masson Trikróm x200 preparatı.
Fibrosis Stage 0



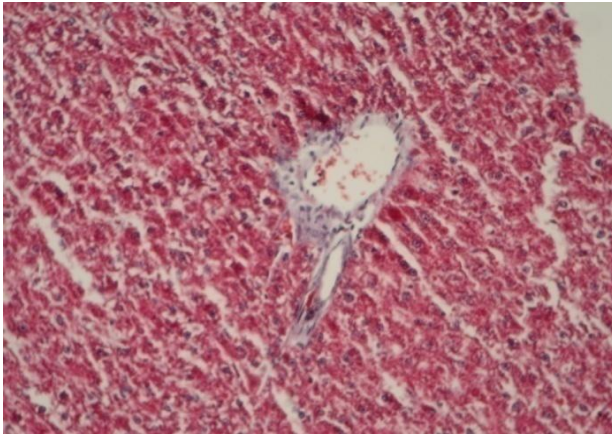
Şekil-20. Yüksek yağlı diyet grubunun Hemotoksilen&Eosin x200 preparatı.
Steatosis Grad 2



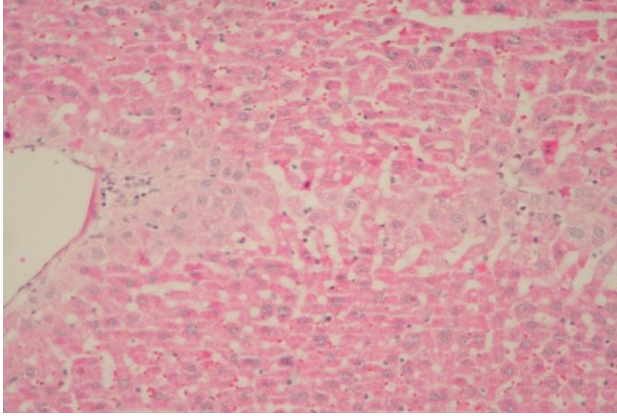
Şekil-21. Yüksek yağlı diyet grubunun Masson Trikrom x200 preparatı.
Fibrosis Stage 3



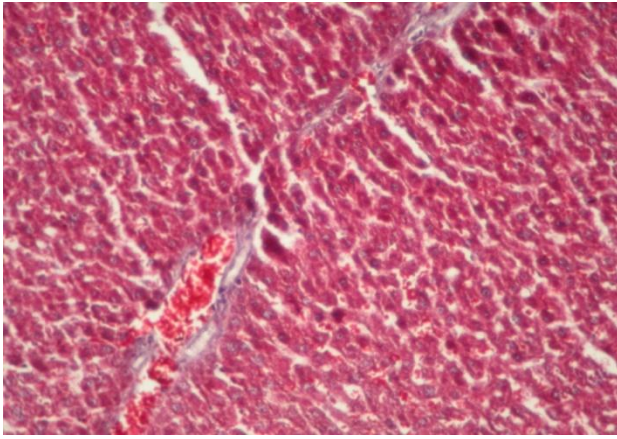
Şekil-22. Metformin grubunun Hemotoksilen&Eosin x200 preparatı.
Steatosis Grad 0



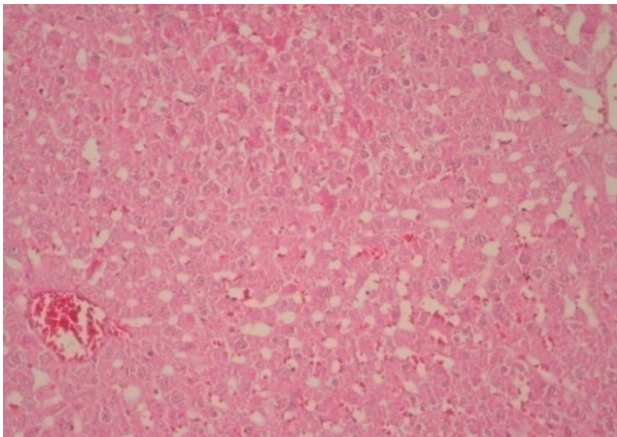
Şekil-23. Metformin grubunun Masson Trikrom x200 preparatı.
Fibrosis Stage 1



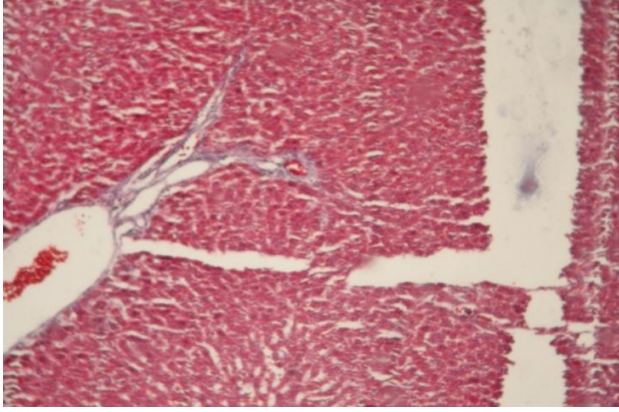
Şekil-24. Rosiglitazon grubunun Hemotoksilen&Eosin x200 preparatı.
Steatosis Grad 0



Şekil-25. Rosiglitazon grubunun Masson Trikrom x200 preparatı.
Fibrosis Stage 1

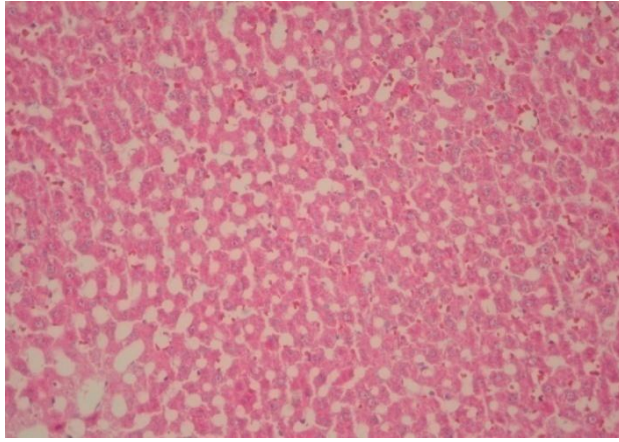


Şekil-26. N-asetilsistein grubunun Hemotoksilen&Eosin x200 preparatı.
Steatosis Grad 1



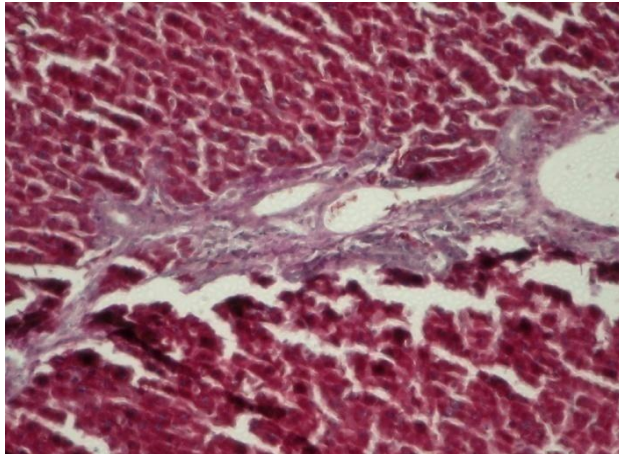
Şekil-27. N-asetilsistein grubunun Masson Trikrom x200 preparatı.

Fibrosis Stage 2



Şekil-28. Etodolak grubunun Hemotoksilen&Eosin x200 preparatı.

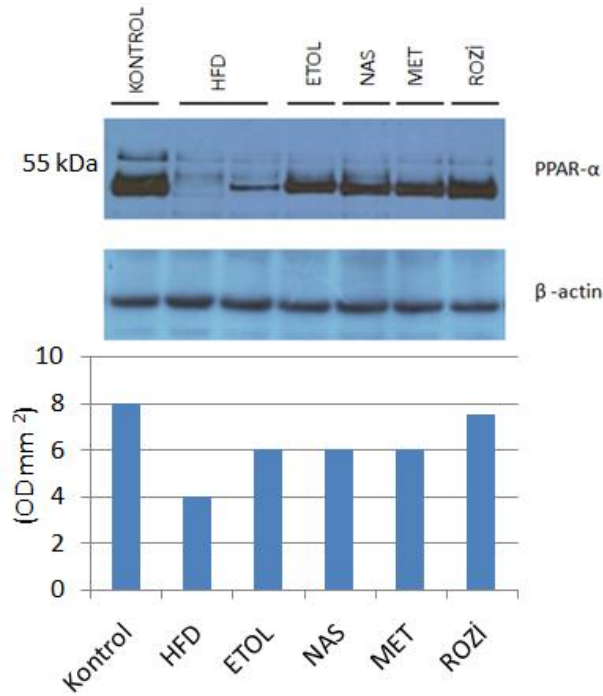
Steatosis Grad 2



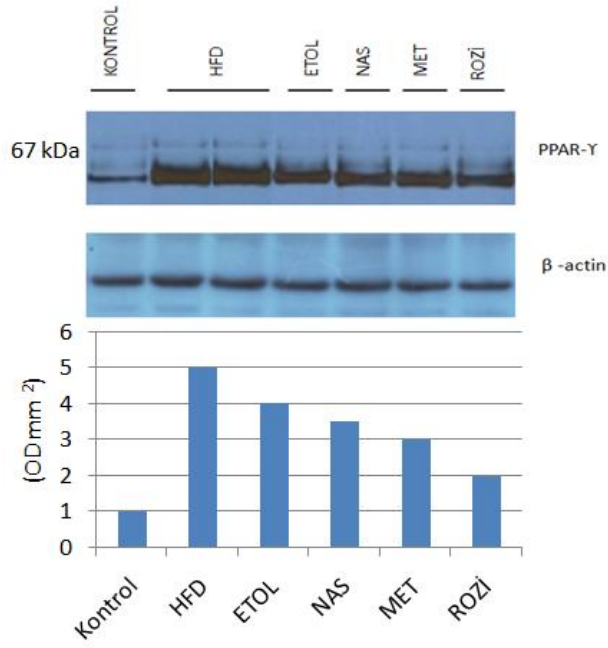
Şekil-29. Etodolak grubunun Masson Trikrom x200 preparatı.

Fibrosis Stage 3

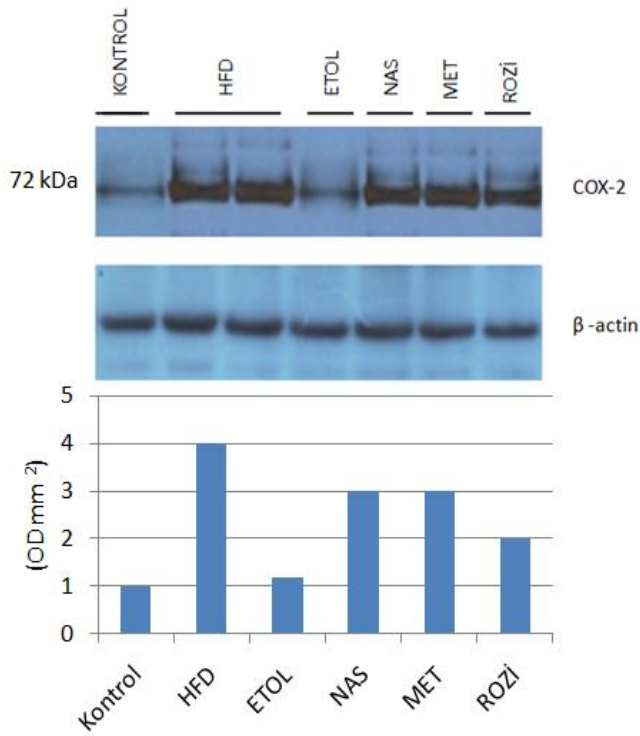
4.5. Western blot analizi sonuçları: Tüm deney gruplarının PPAR- α reseptör ekspresyon analizinde PPAR- α reseptörünün kontrol grubunda en fazla (8 OD mm²) ekprese olduğunu yüksek yağlı diyet grubunda ise en az (4 OD mm²) ekprese olduğunu, roziglitazon grubunda ise kontrol grubuna yakın (7,5 OD mm²) olduğunu, etodalak, n-asetil sistein, metformin grubunda ise (6 OD mm²) olduğunu tespit ettik. Tüm deney gruplarının PPAR- γ reseptör ekspresyon analizinde PPAR- γ reseptörünün kontrol grubunda en az (1 OD mm²) ekprese olduğunu yüksek yağlı diyet grubunda ise en fazla (5 OD mm²) ekprese olduğunu, roziglitazon grubunda ise kontrol grubuna yakın (2 OD mm²) olduğunu, etodalak, n-asetil sistein ve metformin grubunda ise sırasıyla (3,3,5 ve 4 OD mm²) olduğunu tespit ettik. Tüm deney gruplarının COX-2 reseptör ekspresyon analizinde COX-2 reseptörünün kontrol grubunda en az (1 OD mm²) ekprese olduğunu yüksek yağlı diyet grubunda ise en fazla (4 OD mm²) ekprese olduğunu, etodalak grubunda ise kontrol grubuna yakın (1,2 OD mm²) olduğunu, roziglitazon grubunda (2 OD mm²) olduğunu, n-asetil sistein ve metformin gruplarında ise (3 OD mm²) olduğunu tespit ettik.



Şekil-30. Tüm deney gruplarının PPAR- α reseptör ekspresyonu



Şekil-31. Tüm deney gruplarının PPAR- γ reseptör ekspresyonu



Şekil-32. Tüm deney gruplarının COX-2 reseptör ekspresyonu

5. TARTIŞMA

Ratlar için çeşitli karaciğer yağlanma modelleri mevcuttur. Çin’de 2002 yılında **Xu ZJ** ve arkadaşları 4-8 hafta zengin yağlı diyet (100 mg/kg yağ, 20 mg/kg kolesterol) verilen ratlarda karaciğer enzim seviyelerinde artma ve histopatolojilerinde nonalkolik yağlanma oluştuğunu görmüşlerdir(127).ABD’de 2004 yılında **Lieber** ve arkadaşları 3 hafta % 70 yağlı diyet verilen ratlarda karaciğer enzimlerinde yükselme ve nonalkolik yağlanma geliştiğini ortaya koymuşlardır. (128). İtalya’da 2008 yılında **Mattace Raso** ve arkadaşları 4 hafta % 71 yağlı diyet verilen ratlarda karaciğer enzimlerinde yükselme ve nonalkolik yağlanma geliştiğini ortaya koymuşlardır.(129) **Çalışmamızda** deney hayvanlarına 16 hafta 100 gram standart rat diyetine 25 gram hayvansal bir yağ türü olan tereyağı ekleyerek oluşturduğumuz %65 yağ içeren yüksek yağlı diyet verilen ratlarda;karaciğer enzimlerinde yükselme ve nonalkolik yağlanma oluştuğunu gözledik.Sonuçlarımız literatürdeki yağlanma modelleri ile uyumludur (128,129).

NASH patogenezinde insülin direnci önemli bir yer tuttuğundan **metformin** ve **rozigitazon** gibi insülin etkisini artırıcı ilaçlar tedavide bizden önce de denenmiştir. Bunların dışında tedavide antioksidan bir ilaç olan **N-asetil sisteinin** etkisini araştıran çalışmalarda vardır.Bir COX-2 inhibitör ajan olan **etodolak**’ın doğrudan NASH tedavisinde çalışıldığma dair bir makaleye rastlamadık. Bu çalışma da biz NASH oluşmuş ratlara 4 haftalık sürede gastrik sondayla 10 mg/kg/gün dozda etodolak verdik. Diğer üç tedavi grubumuza da metformin ve rozigitazon ve n-asetilsistein verdik. Analiz sonuçlarımızı etodolak grubu ile karşılaştırdık.

Metformin biguanid grubu bir oral antidiabetiktir. Hastalarda hiperglisemiye azaltır, fakat hipoglisemi yapmaz. Diğer bir özelliği de hiperlipidemiye önlemesidir.

LDL ve VLDL kolesterol düzeyi düşerken HDL düzeyi yükselir. Metformin ile yapılan hayvan çalışmalarında metforminin yağlı karaciğer hastalığını düzelttiği, hepatomegali, steatozis ve aminotransferaz anormalliklerini geriletmediği gösterilmiştir. (130).

Mattace Raso ve arkadaşları NASH’lı ratlarda 4 hafta boyunca metformin tedavisi sonucunda karaciğer enzimlerinde düşme, PPAR- α reseptör ekspresyonu ekspresyonlarında artarak düzelme ve PPAR- γ reseptör ekspresyonu azalarak kısmi düzelme olduğunu göstermişlerdir. Manton ve arkadaşları 20 hastada 14 aylık

metforminin tedavisinin transaminaz seviyelerini azalttığını, insülin sensitivitesini önemli derecede düzelttiğini, karaciğer büyüklüğünü %20 azalttığını ve histopatolojide düzelme sağladığı gösterilmiştir.(129) **Uygun** ve arkadaşları NASH'li 36 hastada 6 ay boyunca metformin tedavisinin kontrol grubuna göre karaciğer enzimlerinde düşme, fibroziste azalma olduğunu göstermişlerdir.(131)

Çalışmamızda da 4 hafta boyunca metformin tedavisi karaciğer enzimlerinde düşme, PPAR- α reseptör ekspresyonunu artırarak kısmi düzelme ve PPAR- γ reseptör ekspresyonunu azaltarak kısmi düzelme, COX-2 reseptör ekspresyonunda değişiklik yapmadığı, MDA düzeyini azaltarak anlamlı bir düzelme olduğu görüldü. TNF- α düzeyinde ise düzelme görülmemekle beraber karaciğer histolojisinde steatozis ve fibrozisi önlediği görüldü. Diğer insülin sensitizer ilaç grubu da tiazolidindionlardır. NASH'i olan hastalarda bu grup ilaçlarla yapılmış çok az sayıda çalışma vardır.

Rosiglitazon insüline karşı duyarlılığı arttırarak anti-hiperglisemik etki gösteren tiazolidindion sınıfından bir antidiyabetik ilaçtır. Rosiglitazon açlık kan sekerini ve hemoglobin A1c (HbA1c)'yi düşürür. Bunun yanı sıra insülinemi ve C-peptid düzeyi de azalır. Rosiglitazon tedavisinde düşük dansiteli lipoprotein (LDL), yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) ve total kolesterol artar, serbest yağ asitleri (FFA) azalır, trigliseridler (TG) değişmez. LDL/HDL oranı önce artar sonra azalır. Rosiglitazon ile yapılan hayvan çalışmalarında rosiglitazon yağlı karaciğer hastalığını düzelttiği, hepatomegali, steatozis ve aminotransferaz anormalliklerini geriletlediği gösterilmiştir. (132). **Hai-Ning Wang** ve arkadaşları NASH'li ratlarda 4 hafta boyunca rosiglitazon tedavisi sonucunda karaciğer enzimlerinde düşme ve karaciğer histopatolojisinde düzelme olduğunu gösterilmişlerdir.(133). **Li-Fen Liu** ve arkadaşları NASH'li ratlarda 6 hafta boyunca rosiglitazon tedavisi sonucunda karaciğer histopatolojisinde düzelme olduğunu göstermişlerdir.(134). **Manton** ve arkadaşları 20 hastada 14 ay boyunca metforminin tedavisinin transaminaz seviyelerini azalttığını, insülin sensitivitesini önemli derecede düzelttiğini, hepatomegaliyi %20 azalttığını ve histopatolojide düzelme sağladığı göstermişlerdir.(135). **Pomrat** ve arkadaşları NASH'li hastalarda 24 hafta boyunca 4mg 2x1 dozunda rosiglitazon tedavisinin insülin sensitivitesini iyileştirdiğini ve hepatoselüler hasarın biokimyasal bulgularını düzelttiğini göstermişlerdir.(136)

Neuschwander ve arkadaşları NASH'li hastalarda 48 hafta boyunca 4 mg 2x1 dozda rosiglitazonun tedavisinin insülin sensitivitesinde ve ALT seviyelerinde önemli düzenlemeler yaptığını göstermişlerdir.(91). **Güler ve** ve arkadaşları NASH'li hastalarda 6 ay boyunca 4 mg. 1x1 dozda rosiglitazon tedavisinin karaciğer fonksiyon testlerinde belirgin bir düzelme yaptığını, insülin direnci parametrelerinde düzelme olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı olmadığını göstermişlerdir.

Çalışmamızda da 4 hafta boyunca rosiglitazon tedavisinin karaciğer enzimlerinde düşme, PPAR- α reseptör ekspresyonunu artırarak düzelme ve PPAR- γ reseptör ekspresyonunu azaltarak düzelme, COX-2 reseptör ekspresyonunu azaltarak kısmi düzelme, MDA ve TNF- α düzeylerinde anlamlı değişiklik yapmadığı, Karaciğer histolojisinde steatozis ve fibrozisi önlediği görüldü.

N-Asetilsistein doğal bir aminoasit olan L-sisteinin N-asetillenmiş türevine verilen isimdir. N-Asetilsistein sahip olduğu nükleofilik serbest tiyol (-SH) grubu aracılığıyla, oksidan radikallerin elektrofilik grubuyla etkileşime girerek, direkt antioksidan özellik gösterir. N-asetilsistein deasetillenerek L-sistein'e dönüşür. L-sistein bir glutatyon prekürsörüdür ve glutatyon sentezini artırır. Glutatyon ise, ekzojen veya endojen sitotoksik maddelerin ve oksidan radikallerin hücreye zarar vermesini önleyen, hücre bütünlüğünün ve işlevlerinin devamı için çok önemli bir endosellüler mekanizmada temel rolü olan, yüksek reaktivlikte bir tripeptittir.

N-Asetilsistein ile yapılan çalışmalarında N-Asetilsistein yağlı karaciğer hastalığını geriletliği ve aminotransferaz anormalliklerini geriletliği gösterilmiştir.(125)

Thong-Ngam ve arkadaşları NASH'li ratlarda 6 hafta boyunca 20 mg/kg/gün dozda n-asetilsistein tedavisinin karaciğer fonksiyon testlerinde belirgin bir düzelme yaptığını ve histopatolojide düzelme sağladığını göstermişlerdir.(137)**Bayır ve** ve arkadaşları kolesterolden zengin diyetle beslenen ratlarda 8 hafta boyunca 100 mg/kg/gün dozda n-asetilsistein tedavisinin MDA düzeyinde azalma yaptığını göstermişlerdir.(138) **PMS de Oliviera** ve arkadaşları NASH'li hastalarda N-asetilsistein tedavisinin lipid peroksidasyonunun artmasını durdurarak NASH gelişimini engellediğini göstermişlerdir. (139).

Çalışmamızda da 4 hafta boyunca n-asetilsistein tedavisinin karaciğer enzimlerinde anlamlı düzelme sağlamadığı, PPAR- α reseptör ekspresyonunu artırarak kısmi düzelme ve PPAR- γ reseptör ekspresyonunu azaltarak çok az düzelme, COX-2

reseptör ekspresyonunu azaltarak kısmi düzelme, TNF- α düzeylerinde anlamlı değişiklik yapmadığı, MDA değerleri ise azaltarak düzelme sağladığı, karaciğer histolojisinde steatozis ve fibrozisi önlemediği görüldü.

Etodolak COX-2 Selektif, piranokarboksilik asitten derive analjezik aktivitesi olan bir non-steroid antiinflamatuvar ilaçtır. COX-2'ye selektivitesi COX-1'den daha fazladır. Etodolak antienflamatuvar, analjezik ve antipiretik özellikler gösterir. Etodolak enflamasyonlu dokuda prostaglandin sentezini inhibe eder. Ağrı reseptörlerinin enflamasyonun mediatörleri olan histamin, serotonin ve kininlere karşı duyarlılığını azaltır. COX-2 patolojik ve inflamatuvar doku süreçlerde rol alan, üretimi hızlı indüklenebilen, regülasyonu sıkı olarak düzenlenen bir enzimdir.(126) Hücrede COX-2 kaynaklı bazı endojen prostanoitler PPAR- γ reseptörünü aktive ederler .(12).PPAR- γ aktivasyonu da COX-2 indüksiyonunu inhibe eder.

Liu ve arkadaşları yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde 16 hafta boyunca, haftada üç gün 2 mg/kg ve 10 mg/kg dozlarda etodolak tedavisinin fibrosis ve kanserden koruduğunu göstermişlerdir.(140) **Jun Yu ve arkadaşları** methionin ve choline-deficient (MCD) diyetle 3 hafta beslenen farelerde COX-2 reseptör ekspresyonunun arttığını ve 2 hafta celecoxib tedavisi ile tekrar normal düzeyine döndüğünü göstermişlerdir.(141)

Mukawa ve arkadaşları p53 homozigot defektli (p53-/-) farelere 126 gün boyunca dextran sulfate sodium ve 10 mg/kg dozda etodolak+ dextran sulfate sodium vererek yaptıkları çalışmada etodolak+ dextran sulfate sodium verilen grubun sadece dextran sulfate sodium verilen gruba göre colon kanserinden korunduğunu göstermişlerdir.(142)

Çalışmamızda da 4 hafta boyunca etodolak tedavisinin karaciğer enzimlerinden ALT değerlerini istatistiksel olarak anlamlı derecede düzelttiği ancak AST değerlerinde düzelme sağlamadığı, PPAR- α reseptör ekspresyonunu artırarak kısmi düzelme ve PPAR- γ reseptör ekspresyonunu azaltarak çok az düzelme, COX-2 reseptör ekspresyonunu azaltarak düzelme, TNF- α düzeylerinde anlamlı değişiklik yapmadığı ancak tüm gruplar içinde kontrol grubuna en yakın düzelme sağladığı, MDA değerleri ise azaltarak kısmi düzelme sağladığı, karaciğer histolojisinde steatozis ve fibrozisi önlemediği görüldü.

SONUÇ

Çalışmamız yüksek yağlı diyet ile karaciğer yağlanması oluşabileceğini, NASH tedavisinde metformin ve rosiglitazonun en iyi farmakolojik ajanlar olduklarını gözlemledik. Yine N-asetilsisteinin de NASH tedavisinde etkili bir ilaç olduğunu gözlemledik. NASH tedavisinde ilk defa araştırdığımız etodolak karaciğer enzimlerinden ALT değerlerini istatistiksel olarak anlamlı derecede düzeltme sağladığını ancak AST değerlerinde bir değişiklik yapmadığını gözlemledik. Etodolak yüksek dansiteli lipoprotein (HDL-C) değerlerini istatistiksel olarak anlamlı derecede düzelttiğini, ancak trigliserit, kolesterol ve düşük dansiteli lipoprotein (LDL-C) değerlerinde herhangi bir iyileştirme yapmadığını gözlemledik. Etodolak; TNF- α değerlerinde tüm gruplar içinde kontrol grubuna en yakın düzeltmeyi sağladı ancak MDA değerlerinde ise azaltmakla beraber kısmi düzeltme sağladığını gözlemledik. Etodolak'ın PPAR- α reseptör ekspresyonunu artırarak kısmi düzeltme, PPAR- γ reseptör ekspresyonunu azaltarak çok az düzeltme, COX-2 reseptör ekspresyonunu azaltarak tam bir düzeltme sağladığını, ancak karaciğer histolojisinde steatozis ve fibrozisi önlemediği gözlemledik.

7. KAYNAKLAR

- 1.Duman D.G,Tözün N. Non alcoholic fatty liver disease: The most commonly occurring liver disease .*Türk Aile Hek Derg* 2004; 8(1): 9-13
- 2.Gören B,Fen T. Nonalcoholic fatty liver disease .*Turkiye Klinikleri J Med Sci* 2005, 25:841-850
- 3.Satman İ,Kocabay G. Diabetes Mellitus and fatty liver. *Turkiye Klinikleri J Med Sci* 2006, 26:176-188
- 4.X Zhou, J De Schepper, D De Craemer, M Delhase, G Gys, J Smits and E L Hooghe-Peters. Pituitary growth hormone release and gene expression in cafeteria-diet-induced obese rats. *Journal of Endocrinology*.1998, 159: 165–72.
- 5.Alba ML, Lindor K. Review article:non-alcoholic fatty liver diseases. *Alimentary Pharmacology And Therapeutics* 2003;17: 977-986.
6. Brunt EM, Elizabeth M. Nonalcoholic steatohepatitis: Definition and pathology. *Seminars In Liver Disease* 2001; 21: 3-16.

7. **Arthur J, McCullough.** Update on nonalcoholic fatty liver diseases. *Journal Of Clinical Gastroenterology* 2002; 34(3): 255-262.
8. **Güler Ş.Ş, Yayla A.** Nonalkolik Steatohepatit Tanısı konan yeni tespit tip2 diyabetlilerde Rosiglitazon tedavisinin insülin direnci parametrelerine ve karaciğer fonksiyon testlerine etkisinin araştırılması. *Uzmanlık tezi 2004-istanbul*
9. **Banu İlk B, Ekizoğlu İ.** Normal Glikoz Toleranslı Obezlerde Hepatosteatoz ve İnsülin Direnci Arasındaki İlişki. *Uzmanlık tezi 2006-istanbul*
10. **Yki-Järvinen H, M.D. F.R.C.P.** Thiazolidinediones. *N Engl J Med:* 2004,351:1106-18
11. **Blaschke F, Spanheimer R, Khan M ve ark.** Vascular effects of TZDs: New implications. *Vascular Pharmacology* 45 (2006) 3–18
12. **Llaverias G, Vázquez-Carrera M, Sánchez RM et al:** Rosiglitazone upregulates caveolin-1 expression in THP-1 cells through a PPAR-dependent mechanism: *Journal of Lipid Research* 2004, Volume 45.
13. **Halliwell B.** Free radicals and antioxidants. A personal view. *Nutr Rev* 1994, 52(8): 253-263
14. **Erden M.** Serbest radikaller. *T Klin Tıp Bilimleri Dergisi* 1992,12: 201-207
15. www.expertconsultbook.com/expertconsult/ob/book. Federative Committee of Anatomical Terminology (FCAT). Terminologia anatomica. Stuttgart: **Georg Thieme Verlag; 1998. p. 55.**
16. **Odar İbrahim Veli.** Anatomi Ders Kitabı 2. cilt 1. baskı. İstanbul: **Nobel Tıp Kitabevi; 1986. s. 253.**
17. **de Brito-Gitirana L, Storch V.** Effect of starvation on the ultrastructure of hepatocytes of *Hemidactylus frenatus* (Lacertilia: Gekkonidae) with special emphasis on peroxisomes. *Article in German] Anat Anz* 1998;180:193-202.
18. **Akbulut G, Çiftçi H, Yıldız E.** Sindirim Sistemi Hastalıkları ve Beslenme Tedavisi . *Klasmat Matbaacılık .Şubat – 2008 ANKARA*
19. **Shelia Sherlock James Dooley;** Disease of the Liver and Biliary System; eleventh edition, 2002 Oxford: **Blackwell Science Ltd.; (2-14)**
20. **Mark Feldman, Lawrence S. Freidman, Lawrence J. Brandt;** Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver disease Pathophysiology/ Diagnosis/

Menagement, 8th edition, 2006 *Philederphia; Saunders Elsevier, 2nd volume; (1543-1549)*

21.Schaffner F., Thaler H. Nonalcoholic Fatty Liver. *BocusGastroenterology. 5th ed.: Philadelphia: WB Saunders; 2246 - 2275.1995*

22.Bayan K,Değertekin H. Güneydoğu Anadolu Bölgesinde Nonalkolik Karaciğer Yağlanması Vakalarının Özellikleri.118520- *Uzmanlık tezi Diyarbakır.2002*

23. Norberto C.Ch'avez T,Felix İ, Tellez A,Misael U. Nonalcoholic Steatohepatitis in Chronic Hepatitis C: A New Classification? 2008 by the *American Association for the Study of Liver Diseases.*

24.Becker U, Deis A, Sorenson TL, et al. Prediction of risk of liver disease by alcohol intake, sex and age: a prospectivepopulation study. *Hepatology 1996; 23: 1025-29.*

25. Kasper D, Braunwald E, Fauci A, Hauser S, Lango D, Jameson JL. Nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis. *Harrison 's Principles of Internal Medicine. 2005; 1869-1870.*

26.Adams LA, Angulo P. Recent concepts in nonalcoholic fatty liver disease. *Diabet. Med. 22, 1129–1133 (2005)*

27. Angulo P,Adams L.A, Lindor K.D. Nonalcoholic fatty liver disease. *CMAJ 2005;172(7):899-905*

28.Sheth SG, Gordon F, Chopra S. Nonalcoholic steatohepatitis. *Annals of Internal Medicine , 15 January 1997, Volume 126, Issue 2, Pages 137-145.*

29. Altındal M,Döküm Karabulut L.Nonalkolik Yağlı Karaciğer Hastalığında Yağlanma Derecesinin Metabolik Sendrom ve İnsülin Direnci ile İlişkisi .*Uzmanlık tezi 2008-istanbul*

30.Sonsuz A: Karaciğer yağlanması, Yazıcı H, Hamuryudan V, Sonsuz A (ed) Cerrahpaşa İç Hastalıkları, *İstanbul Medikal yayıncılık, 2005. s: 920-927.*

31. Younossi ZM, Matteoni CA, Gramlich T,et. Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology.1999 Jun; 116(6):1413-9.*

32. Luyckx FH, Lefebvre PJ, Scheen A.J. Non-alcoholic steatohepatitis. Association with obesity and insulin resistance, and influence of weight loss. *Diabetes Metab 2000;26:98-106.*

33. Angulo P, Keach JC, Batts KP, Lindor KD. Independent predictors of liver fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 1999;30:1356-62.
34. Tuncer İ, Özbek H, Topal C, Uygan İ. The Serum Levels of IL-1, IL-6, IL-8 and TNF- α in Nonalcoholic Fatty Liver *Turk J Med Sci*.33 (2003) 381-386
35. Alaeddin Dilsiz A. Total Parenteral Nutrition-Associated Cholestasis in Surgical Neonates. *Tr. J. of Medical Sciences*.29 (1999) 689-692
36. Fong DG, Nehra V, Lindor KD, Buchman AL. Metabolic and nutritional considerations in nonalcoholic fatty liver. *Hepatology* 2000;32:3-10.
37. Hocking MP, Davis GL, Franzini DA, Woodward ER. Long-term consequences after jejunioileal bypass for morbid obesity. *Dig Dis Sci* 1998;43:2493-9
38. Luyckx FH, Lefebvre PJ, Scheen AJ. Non-alcoholic steatohepatitis. Association with obesity and insulin resistance, and influence of weight loss. *Diabetes Metab.* 2000;26:98-106
39. Wissam Mattar, Beth Juliar, Irmina Gradus-Pizlo, Paul Y. Kwo Ferrel GC. Amiodarone Hepatotoxicity in the Context of the Metabolic Syndrome and Right-sided Heart Failure. *J Gastrointestin Liver Dis December 2009 Vol.18,419-423*
40. Erkal T, Kumbasar B. Non Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığının Siroz Panelindeki Yeri. *Uzmanlık tezi 2008-istanbul*
41. Yoshihisa Nemoto, Toshiji Saibara, Yasuhiro Ogawa, Ting Zhang, Nan Xu, Masafumi Ono, Naoaki Akisawa, Iwasaki, Takashi Maeda and Saburo Onishi Tamoxifen-induced Nonalcoholic Steatohepatitis in Breast Cancer Patients Treated with Adjuvant Tamoxifen. *Internal Medicine Vol. 41, No. 5 (May 2002)*
42. Salamone F, Bugianesi E. Nonalcoholic steatohepatitis. The hepatic trigger of the metabolic syndrome. *Journal of Hepatology* 2010
43. Langman G, De La Hall P, Todd A. Role of non-alcoholic steatohepatitis in methotrexate-induced liver injury. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* (2001) 16, 1395–1401
44. Andy S. Yu, Emmet B. Keeffe, Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterol Disord.* 2002;2(1):11–19
45. Sørensen L.B, Sørensen R.N, Miners J.O, Somogyi A.A, Grgurinovich N, Birkett D.J. Polymorphic hydroxylation of perhexiline in vitro. 2003 *Blackwell Publishing Ltd.Br J Clin Pharmacol*,55, 635–638

46. Haugaard S.B, Anderse O, Dela F, Holst J.J, Storgaard H, Mogens Fenger M, Iversen J, Madsbad S Defective glucose and lipid metabolism in human immuno deficiency virus-infected patients with lipodystrophy involve liver, muscle tissue and pancreatic b-cells. ***European Journal of Endocrinology (2005) 152 103–112***
47. Marques Souza Oliveira C.P, Stefano J.T, Cavaleiro A.M, Henriques Zanella Fortes M.A, Vieira S.M, Rodrigues Lima V.M, Santos T.E, Santos V.N, de Azevedo Salgado A.L.F, Parise E.R, Ferreira Alves V.A, Carrilho F.J, Corrêa-Giannella M.L. Association of polymorphisms of glutamate-cystein ligase and microsomal triglyceride transfer protein genes in non-alcoholic fatty liver disease. ***Gastroenterology and Hepatology doi:10.1111/j.1440-1746.2009.06001.***
48. Freeman H.J. Hepatobiliary and pancreatic disorders in celiac disease. ***World J Gastroenterol 2006 March 14; 12(10): 1503-1508***
49. Özyazıcı A. Ultrastructure of the liver in Wilson's disease. ***Journal of Islamic Academy of Sciences 2:3, 193-196, 1989.***
50. Angelico F, Del Ben M, Conti R, Francioso S, Feole K, Fiorello S, M. Cavallo G, Zalunardo B, Lirussi F, Alessandri C, Violi F. Insulin Resistance, the Metabolic Syndrome, and Nonalcoholic Fatty Liver Disease. ***The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 2005.90(3):1578–1582***
51. Weltman MD, Farrell GC, Hall P, Ingelman-Sundberg M, Liddle C. Hepatic cytochrome P450 2E1 is increased in patients with nonalcoholic steatohepatitis. ***Hepatology 1998;27:128-133.***
52. Leclercq IA, Farrell GC, Field J, Bell DR, Gonzalez FJ, Robertson GR. CYP2E1 and CYP4A as microsomal catalysts of lipid peroxides in murine nonalcoholic steatohepatitis. ***J.Clin Invest 2000;105:1067-1075.***
53. Sheu WHH, Lee WJ, Chang RL, Chen YT: Plasma tumor necrosis factor alpha levels and insulin sensitivity in hypertensive subjects. ***Clin Exp Hypertens, 2000; 22: 595-606***
54. Lyngso D, Simonsen L, Bülow J. Interleukin-6 production in human subcutaneous abdominal adipose tissue: the effect of exercise. ***Journal of Physiology (2002), 543.1, pp. 373–378***

- 55.Chan WB, Ma RC, Chan NN, Ng MC, Lee ZS, Lai CW, Tong PC, So WY, Chan JC; Increased leptin concentrations and lack of gender difference in Type 2 diabetic patients with nephropathy. ***Diabetes Res Clin Pract.* 2004; 64(2): 93-8**
- 56.Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. ***Nature* 1994; 372: 425–32.**
- 57.Tanyolaç S. The Role of Membrane Glycoprotein Plasma Cell Antigen 1 (PC-1) in Insulin Resistance. ***Endokrinolojide Diyalog* 2009;6:226-229**
- 58.Bikhazi AB, Azar ST, Birbari AE, et al. Characterization of insulin- resistance: role of receptor alteration in insulindependent diabetes mellitus, essential hypertension and cardiac hypertrophy. ***Eur J Pharm Sci* 2000;11:299-306.**
59. C. P. Day. Pathogenesis of steatohepatitis. ***Clinical Gastroenterology Vol. 16, No. 5, pp. 663-678, 2002***
- 60.Gören B, Fen T. Nonalkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı. ***Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2005, 25:841-850**
- 61.Wnag ZM, Heshka S, Pierson RN Jr, Heymsfield SB: Systematic organization of body composition methodology overview with emphasis on component based methods. ***Am J Clin Nutr* 61:457-465, 1995**
- 62.Bulucu Altunkaynak B.Z, Özbek E. Obesity: Causes and Treatment Alternatives. ***Dicle Tıp Dergisi, 2007 Cilt: 34, Sayı: 2, (144-149)***
- 63.Andreoli, T.E.(1988) in Cecil Textbook of Medicine, 18th edn., (Wynngaarden, J.B.ed), pp.555. ***W.B.Saunders Company, Philadelphia.***
- 64.Ganong, W.F.(1989) in Review of Medical physiology, 14th edn., pp.233-265, ***Appleton and Lange, New Jersey.***
- 65.Guyton ve Hall Medical Physiology 9th edition chap. 78 pp: 972-978.
- 66.Tokatlı A. Metabolik Kardiyomiyopatiler ***Hacettepe Tıp Dergisi* 2001; 32(2):169 - 183**
- 67.Taşcılar E, Hacıhamdioğlu B, Soyarslan M, Abacı A, Coşkun T. The prevalence of metabolic syndrome and frequency of cardiovascular risk factors in obese children. Bazı kalıtsal metabolizma hastalıklarında kardiyovasküler tutulum. ***Gülhane Tıp Dergisi* 2010; 52: 32-35**

- 68.Kılıç M, Taşkın E, Üstündağ B, Gürgöze M.K, Kurt N, Aygün A.D. Evaluation of serum leptin, lipid and protein levels and anthropometric measurements in children with Malnutrition. *Türk Pediatri Arşivi* 2004; 39: 14- 20
- 69.Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 9.edt. 1996.
- 70.Hatiboğlu T: Türkiye'de Histoloji ve Embriyoloji, *Hatiboğlu Basım ve Yayın Tic. Ltd. Şti, 2004.*
- 71.Fan C-Y, Pan J, Usuda N, Yeldandi AV, Rao MS, Reddy JK. Steatohepatitis, spontaneous peroxisome proliferation and liver tumors in mice lacking peroxisomal fatty acyl-CoA oxidase: implications for peroxisome proliferator-activated receptor alpha natural ligand metabolism. *J Biol Chem* 1998; 273: 15639-15645.
- 72.Chavin KD, Yang SQ, Lin HZ, et al. Obesity induces expression of uncoupling protein-2 in hepatocytes and promotes liver ATP depletion. *J Biol Chem* 1999; 274: 5692-5700.
73. Leonarduzzi G, Scavazza A, Biasi F, et al. The lipid peroxidation end product 4-hydroxy-2,3-nonenal up-regulates transforming growth factor 1 expression in the macrophage lineage: a link between oxidative injury and fibrosclerosis. *FASEB J* 1997; 11: 851-857.
- 74.Yoshimura T, Matsushima K, Tanaka S, et al. Purification of a human monocyte-derived neutrophil chemotactic factor that has peptide sequence similarity to other host defense cytokines. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987; 84: 9233-9237.
- 75.Watson AM, Poloyac SM, Howard G, Blouin RA. Effect of leptin on cytochrome P-450, conjugation, and antioxidant enzymes in the ob/ob mouse. *Drug Metab Dispos* 1999; 27: 695-700.
76. Sanyal AJ, Campbell-Sargent C, Mirshahi F, et al. Nonalcoholic steatohepatitis: association of insulin resistance and mitochondrial abnormalities. *Gastroenterology*. 2001; 120: 1183-1192.
- 77.Powell EE, Cooksley WG, Hanson R, Searle J, Halliday JW, Powell LW. The natural history of nonalcoholic steatohepatitis a follow up study of forty-two patients for up to 21 years. *Hepatology* 1990; 11: 74-80.
- 78.Saadeh S, Younossi ZM, Remer EM, Gramlich T, Ong JP, Hurley M, Mullen KD, Cooper JN, Sheridan MJ: The utility of radiological imaging in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2002; 123(3): 745-50.

- 79.Oliva MR, Morteale KJ, Segatto E, Glickman JN, Erturk SM, Ros PR, Silverman SG. Computed tomography features of nonalcoholic steatohepatitis with histopathologic correlation. *J Comput Assist Tomogr.* 2006;**30(1):37-43.**
- 80.Erdoğan F. Clinicopathologic correlation. *MJAU* 2001; **33: 87-90**
81. Mendler MH, Kanel G, Govindarajan S. Proposal for a histological scoring and grading system for non-alcoholic fatty liver disease. *Liver International* 2005; **25: 294–304**
- 82.Gudbrandsen O.A, Rost T.H,Berge R.K. Causes and prevention of tamoxifen-induced accumulation of triacylglycerol in rat liver.*J. Lipid Res.* 2006. **47: 2223–2232.**
- 83.Sabuncu T, Nazligül Y, Karaoğlu M, Uçar E, Kilit FE. The effects of sibutramine and orlistat on the ultrasonographic findings, insulin resistance and liver enzyme levels in obese patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Rom Gastroenterol* 2003;**12: 189-92.**
- 84.Carl M Oneta, Jean-François Dujour. Non-alcoholic fatty liver disease: treatment options based on pathogenetic considerations. *Swiss med WKLY* 2002;**132: 493-505.**
85. Jian-Gao Fan, Lan Zhong, Li-Yan Tia, Zheng-Jie Xu, Min-Sheng Li, Guo-Liang Wang. Effects of ursodeoxycholic acid and/or low-calorie diet on steatohepatitis in rats with obesity and hyperlipidemia.*World J Gastroenterol* 2005;**11(15):2346-2350**
- 86.Başaranoğlu M, Akbay O, Sonsuz A: A Controlled Trial Of Gemfibrozil In The Treatment Of Patients With Nonalcoholic Steatohepatitis (letter). *J Hepatol*, **31: 384, 1999**
- 87.Reid AE: Nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology*,**121: 710-23, 2001.**
- 88.Bailey CJ: Biguanides And NIDDM. *Diabetes Care*, **15:755-72, 1992.**
89. Aksay E, Yanturalı S, Bayram B, Hocaoglu N, Kıyan S. A Rare Side Effect of Metformin: *Turk J Med Sci* .2007; **37 (3): 173-175**
- 90.Stumvoll M, Nurjhan N, Perriello G, et al. Metabolic Effects Of Metformin In Non-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. *N Engl J Med*, **333: 550-4, 1995.**
- 91.Neuschwander-tetri BA, Caldwell SH.Nonalcoholic steatohepatitis:Summary of an AASLD single topic conference. *Hepatology*, **37: 1202-19, 2003.**

92. Battle EH, Caldwell SH, Hespenheide EE et al.: A Pilot Study Of A Thiazolidinedione, Troglitazone, In Nonalcoholic Steatohepatitis, **Am J Gastroenterol** 96: 519-25, 2001.
93. Jones TA, Sautter M, Van Gal LF, et al. Addition Of Rosiglitazone To Metformin Is Most Effective In Obese, Insulin-Resistant Patients With Type 2 Diabetes. **Diabetes, Obesity and Metabolism**. 5: 163-70, 2003.
94. Arun J. Sanyal, Naga Chalasani N, Kowdley K.V, McCullough A, Diehl A.M, Bass N.M, Brent A. Neuschwander T, Lavine J.E, Tonascia J, Unalp A, Natta M.V, Clark J, Brunt, Kleiner D.E, Hoofnagle J.H, Robuck P.R, Pioglitazone, Vitamin E, or Placebo for Nonalcoholic Steatohepatitis. **N Engl J Med** 2010;362:1675-85.
95. Lavine J: Vitamin E Treatment Of Nonalcoholic Steatohepatitis In Children: A Pilot Study. **J Pediatr**, 136: 734-8, 2000.
96. Işık A.T, Mas M.R, Cömert B, Ünal T. Nonalkolik Yağlı Karaciğer Hastalığında Klinik Tanı ve Tedavi. **Güncel Gastroenteroloji Mart 2005.9/1**
97. Manal AF, Angulo P, Jorgensen RA, et al. Betaine, A Promising New Agent For Patients With Nonalcoholic Steatohepatitis: Results Of A Pilot Study. **Am J Gastroenterol** 96:2711-7, 2001.
98. Kirovski G, Gäbele E, Dorn C, Moleda L, Niessen C, Weiss T.S, Wobser H, Schacherer D, Buechler C, Wasmuth H.E, Hellerbrand C. Hepatic steatosis causes induction of the chemokine RANTES in the absence of significant hepatic inflammation. **Int J Clin Exp Pathol** 2010;3(7):675-680
99. Tilg H, Diehl AM. Cytokines in alcoholic and nonalcoholic steatohepatitis. **N Engl J Med** 2000; 343: 1467-76.
100. Erdmann E, Charbonnel B, Wilcox R. Thiazolidinediones and Cardiovascular Risk -A Question of Balance. **Current Cardiology Reviews**, 2009, 5, 155-165
101. Dinç a ğ N. Tip 2 Diyabet Tedavisi: Oral Antidiyabetikler. **T Klin J Endocrin** 2003, 1
102. Reddy JA: Nonalcoholic Steatosis And Steatohepatitis III. Peroksizomal β - Oxidation, PPAR α , And Steatohepatitis. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol** 281:G1333-9, 2001.

- 103.Desvergne B, Wahli W: Peroxisome Proliferator Activated Receptors: Nuclear Control Of Metabolism. *Endocr Rev*, **20:649-88**, 1999.
- 104.Savage DB, Tan GD, Acerini L et al.: Human Metabolic Syndrome Resulting From Dominant Negative Mutations In The Nuclear Receptor Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ . *Diabetes* **52:910-7**.2003.
- 105.Ray D.M,Akbiyik F,Phipps R.P. The Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ (PPAR- γ) Ligands 15-Deoxy- Δ 12,14-Prostaglandin J2 and Ciglitazone Induce Human B Lymphocyte and B Cell Lymphoma Apoptosis by PPAR_ - Independent Mechanisms. *J. Immunol.* **2006;177;5068-5076**
- 106.Miyazaki Y, Glass L, Triplitt C, et al. Effect of rosiglitazone on glucose and nonesterified fatty acid metabolism in Type 2 diabetic patients. *Diabetologia* **4:2210-2219**,2001
- 107.Blaschke F, Spanheimer R, Khan M ve ark. Vascular effects of TZDs: New implications. *Vascular Pharmacology* **45 (2006) 3–18**
- 108.Law RE, Meehan WP, Xi XP, et al: Troglitazone inhibits vascular smooth muscle cell growth and intimal hyperplasia. *J Clin Invest.* **1996;98:1897–1905**.
- 109.Peters JM, Lee SS, Li W et al. Growth, adipose, barain, and skin alterations resulting from targeted distrupction of the Mouse peroxisome proliferator-activated receptor beta(delta). *Mol Cell Biol* **2000; 20: 5119-28**.
- 110.Garavito RM, Mulichak AM. The structure of mammalian cyclooxygenase. *Annu Rev Biophys Biomol Struct* **2003; 32: 183-206**.
111. İnce A.T,Övünç O.Cyclooxygenase–2 ve Karsinogenez.*Güncel Gastroenteroloji Mart* **2005.9/1**
112. Ahmet Doğru A,Gülmez S.E,Deveci M.S,Gül H,Ossipov M.H, Porreca F,Tulunay F.C. The Local Antinociceptive Actions of Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs in the Mouse Radiant Heat Tail-Flick Test. *Anesth Analg* **2007;104:927–35**
113. J. S. Sandhu J.S. Renal Effects of Selective Cyclo-oxygenase–2 (COX-2) Inhibitors. *JIACM* **2003; 4(1): 18-20**
- 114.Habib A, Creminon C, Frobert Y, Grassi J, Pradelles. P, Macclouf J. Demonstration of an inducible cyclooxygenase in human endothelial cells using

antibodies raised against the carboxyl-terminal region of the cyclooxygenase-2. *J Biol Chem.* 1993 Nov 5; 268(31):23448-54.

115. Sheng H, Shao J, Dixon DA, Williams CS, Prescott SM, DuBois RN, Beauchamp RD. Transforming growth factor-beta1 enhances Ha-ras-induced expression of cyclooxygenase-2 in intestinal epithelial cells via stabilization of mRNA. *J Biol Chem.* 2000 Mar 3; 275(9): 6628-35.

116. Dannenberg AJ, Altorki NK, Boyle JO, Dang C, Howe LR, Weksler BB, Subbaramaiah K. Cyclo-oxygenase 2: a pharmacological target for the prevention of cancer. *Lancet Oncol.* 2001 Sep; 2(9): 544-51.

117. Öztop A, Demir A, Saydam N, Öztop İ, Çelikten E. Astım Bronşiyale Olgularında Serum Glutasyon Peroksidaz, Süperoksit Dismutaz ve Malonil Dialdehid Düzeyleri ve Astım Şiddeti ile İlişkisi. *Solunum Hastalıkları* 2002; 13: 239-245

118. Fitzpatrick A.M, W. Teague W.G, Holguin F, Yeh M, Brown L.A.S, Barnes PJ. Airway glutathione homeostasis is altered in children with severe asthma: Evidence for oxidant stress. *J Allergy Clin Immunol.* 2009 January ; 123(1): 146–152

119. Mantena S.K, Vaughn D.P, Andriga K.K, Eccleston H.B, King A.L, Abrams G.A, Doeller J.E, Kraus D.W, Darley-Usmar V.M, Bailey S.M. High fat diet induces dysregulation of hepatic oxygen gradients and mitochondrial function in vivo *Biochem. J.* (2009) 417, 183–193

120. Erden M. Serbest radikaller. *T Klin Tıp Bilimleri Dergisi* 12: 201-207, 1992.

121. Letteron, P., Fromenty, B, Terris, B., ve ark. Acute and chronic steatosis lead to in vivo lipid peroxidation in mice. *J Hepatol* 1996; 24: 200-208

122. Yongzhong Wei, R Scott Rector, John P Thyfault, Jamal A Ibda. Nonalcoholic fatty liver disease and mitochondrial dysfunction. *World J Gastroenterol* 2008 January 14; 14(2): 193-199

123. RxMediaPharma® Metformin 2010 İnteraktif İlaç Bilgi Kaynağı, www.rxmediapharma.com

124. RxMediaPharma® Rosigliton 2010 İnteraktif İlaç Bilgi Kaynağı, www.rxmediapharma.com

125. RxMediaPharma® N-Asetilsistein 2010 İnteraktif İlaç Bilgi Kaynağı, www.rxmediapharma.com

- 126.RxMediaPharma® Etodolak 2010 İnteraktif İlaç Bilgi Kaynağı, www.rxmediapharma.com
- 127.Fan J.G,Zhong L, Xu Z-J, Tia L-Y,Ding X-D, Li M-S, Wang G.L Effects of low-calorie diet on steatohepatitis in rats with obesity and hyperlipidemia. ***World J Gastroenterol* 2003;9(9):2045-2049**
- 128.Lieber CS, Leo MA, Mak KM, et al. Model of nonalcoholic steatohepatitis. ***Am J Clin Nutr* 2004;79:502-9.**
- 129.Raso G.M,Esposito E ,Iacono A ,Pacilio M,Cuzzocrea S ,Canani R.B ,Calignano A , Meli R. Comparative therapeutic effects of metformin and vitamin E in a model of non-alcoholic steatohepatitis in the young rat. ***European Journal of Pharmacology EJP-65635; No of Pages 7. 2 December 2008***
- 130.Kaya Alp O. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. **1993;Cilt:3; 2491-2565**
- 131.Uygun A, Kadayıfçı A, Işık A.T, Özgürtaş T, Deveci S, Tüzün A, Yeşilova Z,Gülşen M, Dağalp K. Metformin in the treatment of patients with non-alcoholic steatohepatitis .***Aliment Pharmacol Ther* 2004; 19: 537–544.**
- 132.Burke A, Lucey MR. Non-alcoholic fatty liver disease, non-alcoholic steatohepatitis and orthotopic liver transplantation. ***Am J Transplant.* 2004 May;4(5):686-93.**
- 133.Hai-Ning Wang, Yan-Rong Wang, Guo-Qiang Liu, Zhe Liu, Pei-Xian Wu, Xiao-Ling Wei, Tian-Pei Hong. Inhibition of hepatic interleukin-18 production by rosiglitazone in a rat model of nonalcoholic fatty liver disease. ***World J Gastroenterol* 2008 December 21; 14(47): 7240-7246**
- 134.Li-Fen Liu, Aparna Purushotham, Angela A. Wendel, and Martha A. Belury. Combined effects of rosiglitazone and conjugated linoleic acid on adiposity,insulin sensitivity, and hepatic steatosis in high- fat-fed mice .***Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 292: G1671–G1682, 2007.**
135. Rocha R, Cotrim H.P, Vieira Bitencourt A.G, Valente Barbosa D.B,Santos A.S, Almeida A.M,Cunha B, Guimarães I. Nonalcoholic fatty liver disease in asymptomatic Brazilian adolescents. ***World J Gastroenterol* 2009 January 28; 15(4): 473-477**

136. Pomrat K, Lutchman G, Uwaifo GI, Freedman RJ. A pilot study of pioglitazone treatment for nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 2004 Jan;39(1):188-96.
137. Thong-Ngam D, Samuhasaneeto S, Kulaputana O, Klaikeaw N. N-acetylcysteine attenuates oxidative stress and liver pathology in rats with non-alcoholic steatohepatitis. *World J Gastroenterol* 2007 October 14; 13(38): 5127-5132
138. Bayır S, Eskiocak S, Altaner Ş, Çakır E. The Anti-oxidant/Pro-oxidant Effects of N-Acetylcysteine in Rats Fed with Cholesterol-rich Diet. *Türk Klinik Biyokimya Derg* 2006; 4(1): 15-23
139. PMS de Oliveira C., F. Simplicio, V. MR de Lima et al. Oral administration of S-nitroso-N-acetylcysteine prevents the onset of non alcoholic fatty liver disease in rats. *World J Gastroenterol*, 2006 March 28; 12(12):1905-1911
140. Liu W, Nakamura H, Tsujimura T, Cheng J, Yamamoto T, Iwamoto Y, Imanishi H, Shimomura S, Yamamoto T, Hirasawa T, Inagaki S, Nishiguchi S and Hada T. Chemoprevention of spontaneous development of hepatocellular carcinomas in fatty liver Shionogi mice by a cyclooxygenase-2 inhibitor. *Cancer Sci* 2006; 97: 768-773
141. Jun Yu, Emilia Ip, Aileen dela Pena, Jing Yun Hou, Jayshree Sesha, Natasha Pera, Pauline Hall, Richard Kirsch, Isabelle Leclercq, and Geoffrey C. Farrell. COX-2 Induction in Mice With Experimental Nutritional Steatohepatitis: Role as Pro-inflammatory Mediator. *Hepatology* 2006; 43: 826-836.
142. Mukowa K, Fujii S, Tominaga K, Yoshitake N, Abe A, Kono T, Sekikawa A, Fukui H, Ichikawa K, Tomita S, Imura J, Ono Y, Shinoda M, Hiraishi H, Fujimori T. Inhibitory effects of the cyclooxygenase-2 inhibitor, etodolac, on colitis-associated tumorigenesis in p53-deficient mice treated with dextran sulfate sodium. *Oncology Report* 19: 393-399, 2008