

T.C.
ADYAMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FRUKTOZ İLE NONALKOLİK KARACİĞER YAĞLANMASI
OLUŞTURULAN SIÇANLARDA *Helichrysum plicatum* subsp. *plicatum*
EKSTRAKTININ BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELER ÜZERİNE
ETKİSİ

İBRAHİM DOĞAN

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

2016

T.C.
ADİYAMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

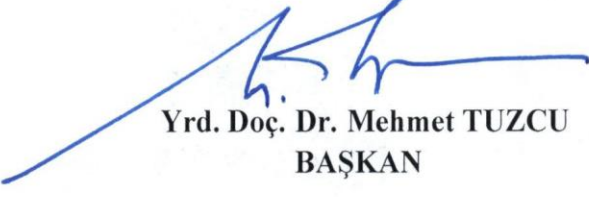
FRUKTOZ İLE NONALKOLİK KARACİĞER YAĞLANMASI OLUŞTURULAN
SIÇANLARDA *Helichrysum plicatum* subsp. *plicatum* EKSTRAKTININ BAZI
BİYOKİMYASAL PARAMETRELER ÜZERİNE ETKİSİ

İbrahim DOĞAN

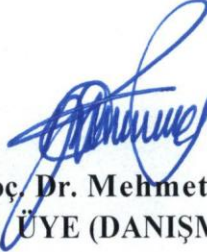
Yüksek Lisans Tezi

Biyoloji Anabilim Dalı

Bu tez 10/06/2016 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından
oybirliği/Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.


Yrd. Doç. Dr. Mehmet TUZCU
BAŞKAN


Yrd. Doç. Dr. Ahmet ÖZKAYA
ÜYE


Yrd. Doç. Dr. Mehmet GÜVENÇ
ÜYE (DANIŞMAN)

Doç. Dr. Ramazan GÜRBÜZ
Enstitü Müdürü

Bu çalışma Adıyaman Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (Proje
No: FBEYL/2014-0007) tarafından desteklenmiştir.

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge ve fotoğrafların
kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

**FRUKTOZ İLE NONALKOLİK KARACİĞER YAĞLANMASI
OLUŞTURULAN SIÇANLARDA *Helichrysum plicatum* subsp.
Plicatum EKSTRAKTININ BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELER ÜZERİNE
ETKİSİ**

İbrahim DOĞAN

Adıyaman Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman : Yrd.Doç. Dr. Mehmet GÜVENÇ
Yıl: 2016, Sayfa sayısı: 58

Jüri : Yrd.Doç. Dr. Mehmet TUZCU
: Yrd.Doç. Dr. Ahmet ÖZKAYA
: Yrd.Doç. Dr. Mehmet GÜVENÇ

Bu çalışmada *Helichrysum Plicatum* subs. *Plicatum* (HPsP) ekstraktının fruktoz ile nonalkolik karaciğer yağlanması meydana getirilen sıçanların karaciğer dokusundaki biyokimyasal etkileri araştırıldı. Malondialdehit (MDA), kolesterol, yağ asitleri kompozisyonu, glutatyon (GSH), A,D,E ve K vitamin düzeyleri belirlendi. Çalışmada 200-250 gr ağırlığında rastgele seçilen 28 adet yetişkin erkek Wistar albino sıçan 4 gruba ayrıldı. Her grupta 7 sıçan konuldu. Kontrol grubu standart diyetle beslendi. Fruktoz uygulaması (F) grubuna 7 hafta boyunca içme suyunda % 50'lük (v/w) uygulandı. F + HPsP grubuna % 50'lük (v/w) fruktoz içme suyunda + HPsP 4 ml/kg olarak gavajla verildi. Karaciğer dokusunda palmitik asit (16:0) düzeyinin kontrole göre F ve F+HPsP gruplarında, Palmitoleik asit (16:1) ise kontrole göre F+HPsP grubunda arttığı saptandı (p<0.0001). Alfa-linolenik (18:3,n-3) asit, (20:2, n-6) ve araşidonik asit (20:4 n-6) yağ asidi düzeyleri kontrole göre F ve F+HPsP gruplarında azaldığı saptandı (p<0.0001, p<0.01 ve p<0.05). Kontrole göre docosaheksaenoic asit (22:6 n-3) düzeyi F+HPsP grubunda azalmıştır (p<0.05). Karaciğer dokusundaki Retinol ve K-1 vitaminlerinin düzeyi kontrole göre HPsP grubunda belirgin düzeyde arttığı saptandı (p<0.05, p<0.0001). K-2 ve d-3 vitamini miktarı ise kontrole göre F ve F+HPsP gruplarında azaldığı saptandı (p<0.0001, p<0.01). GSH miktarı ise kontrole göre HPsP grubunda belirgin düzeyde azalma saptandı (p<0.01). Fruktozla nonalkolik karaciğer yağlanması oluşturulan sıçanlarda *helichrysum plicatum* subsp. *plicatum* bitki ekstraktının kolesterol, glutatyon (GSH) ve ADEK vitaminleri yağ asitleri üzerinde farklı düzeylerde etkili olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: NAFLD, Fruktoz, *Helichrysum plicatum* subsp. *plicatum* ve Nonalkolik yağlı karaciğer.

ABSTRACT

Master Thesis

THE EFFECT OF *Helichrysum plicatum* Subsp. *plicatum* EXTRACTS ON THE SOME BIOCHEMICAL PARAMETERS OF RATS FRUCTOSE INDUCED NONALCOHOLIC FATTY LIVER

İbrahim DOĞAN

Adiyaman University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor : Asst. Prof. Dr. Mehmet GÜVENÇ
Year: 2016, Number of pages: 58

Jury : Asst. Prof. Dr. Mehmet TUZCU
: Asst. Prof. Dr. Ahmet ÖZKAYA
: Asst. Prof. Dr. Mehmet GÜVENÇ

In this study, the biochemical effects of *Helichrysum plicatum* subs. *plicatum* (Altın otu) on fructose induced non-alcoholic fatty liver studied. Malondialdehyde (MDA), Cholesterol, fatty acid composition, glutathione (GSH) and vitamin A,D,E and K levels of liver determined. In the study, over weight of 200-250 gr. 28 male Wistar Albino rats selected randomly dividede in to four groups. Each group have seven animals. The control group (C) consisted of the rats receiving a basal diet; fructose group (F) received fructoce % 50 (v/w) in drinking water. Fructose plus *Helichrysum plicatum* subs. *plicatum* extract group (F+HPsP) received fructoce % 50 (v/w) in drinking water *Helichrysum plicatum* subs. *plicatum* (HPsP) extract by gavage. *Helichrysum plicatum* subs. *plicatum* extract group received. *Helichrysum plicatum* subs. *plicatum* extract by gavage. All treatment applied during seven week.

The ratio of palmitic acid (16:0) is increased liver F ve F+HPsP group when compared to the control group (p<0.0001). Palmitoleic acid (16:1) is increased F+HPsP group when compared to the control group (p<0.0001). Ratio of alfa-linolenic acid (18:3 n-3), (20:2, n-6) and Aracidonic acid (20:4 n-6) decreased in F ve F+HPsP groups when compared to the control group (p<0.0001 p<0.01 and p<0.05). The ratio of docosahexaenoic asit (22:6 n-3) in F+HPsP group decreased when compared to the control group (p<0.05).

Retinol and K1 level of HPsP group in liver tissue increased when compared to the control group (p<0.05, p<0.0001). K-2 ve d-3 vitamin levels of F ve F+HPsP groups of liver tissue decreased when compared to the control group (p<0.0001, p<0.01). GSH level of HPsP group when compared to the control group decreased (p<0.01). *Helichrysum plicatum* subs. *plicatum* extract has different effects on cholesterol, glutathione, ADEK vitamins and fatty acide composition levels of fructose induced fatty liver.

Key Words: Fructose, *Helichrysum plicatum* subsp. *plicatum* and Non alcholic fatty Liver

TEŐEKKÖR

Bu tez çalıŐmasının baŐından sonuna kadar her aŐamasında bana yardımcı olan, deneyim, tecrübe ve bilgilerini titizlikle aktaran danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Mehmet GÜVENÇ'e, çalışmanın tamamlanmasında birçok farklı noktadaki katkılarından dolayıdeğerli hocam Doç. Dr. Cemal ORHAN'a ve Yrd. Doç. Dr. AyŐe Nilay GÜVENÇ'e, Doç. Dr. Ahmet Zafer TEL'e ve bölümdeki tüm hocalarıma teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım. Ayrıca tüm öğrenim hayatım boyunca benden maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen aramızdan yeni ayrılan rahmetli babam Basri DOĞAN'a ve ailemin tüm bireyelerine sonsuz Őükranlarımı sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

| | |
|--|------|
| ÖZET..... | i |
| ABSTRACT | ii |
| TEŞEKKÜR | iii |
| İÇİNDEKİLER..... | iv |
| TABLolar DİZİNİ | vi |
| ŞEKİLLER DİZİNİ | vii |
| SİMGELER VE KISALTMALAR | viii |
| 1. GİRİŞ..... | 1 |
| 2. KAYNAK ÖZETLERİ | 6 |
| 2.1. Nonalkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı..... | 6 |
| 2.1.1. Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı gelişiminde ilk vuruş | 10 |
| 2.1.2. Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı gelişiminde ikinci vuruş..... | 11 |
| 2.2. Metabolik Sendrom..... | 14 |
| 2.3. Oksidatif Stres..... | 15 |
| 2.3.1. Malondialdehit..... | 16 |
| 2.4. Serbest Radikaller ile Nonalkolik Karaciğer Hastalığı Arasındaki İlişki | 17 |
| 2.5. Antioksidanlar | 19 |
| 2.5.1. Enzimatik antioksidasyonlar | 20 |
| 2.5.2. Enzimatik olmayan (nonenzimatik) antioksidasyonlar | 20 |
| 2.6. Fruktoz ile Nonalkolik Karaciğer Hastalığı Arasındaki İlişki | 21 |
| 2.7. <i>Helichrysum Plicatum</i> Subs. <i>Plicatum</i> | 22 |
| 3. MATERYAL VE YÖNTEM..... | 26 |
| 3.1 Materyal..... | 26 |
| 3.2. Yöntem | 28 |
| 3.2.1. Kolesterol ve ADEK vitaminlerinin analiz metodu | 28 |
| 3.2.2. Lipitlerin ekstraksiyonu | 28 |
| 3.2.3. Yağ asidi metil esterlerinin hazırlanması..... | 29 |
| 3.2.4. Yağ Asidi Metil Esterlerinin Gaz Kromatografik Analizi | 29 |
| 3.2.5. Malondialdehit Tayini..... | 30 |
| 3.2.6. Glutatyon tayini | 30 |
| 4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ..... | 32 |

| | |
|---|----|
| 5. BULGULAR | 33 |
| 5.1. Karaciğer dokusunda ADEK vitaminleri, kolesterol düzeyleri ve bazı biyokimyasal parametrelerin değişimi | 33 |
| 5.2. Karaciğer yağ asitleri düzeyleri..... | 34 |
| 6. TARTIŞMA..... | 37 |
| KAYNAKÇA | 43 |
| ÖZGEÇMİŞ..... | 58 |

TABLolar DİZİNİ

| | |
|---|----|
| Tablo 2.1. Steatohepatit'in patogenetik mekanizmaları..... | 10 |
| Tablo 2.2. Türkiye'de yetişen bazı <i>Helichrysum</i> türlerinin taşıdıkları flavonoid, uçucu yağ, rutubet ve tanen miktarları..... | 24 |
| Tablo 2.3. <i>Helichrysum plicatum</i> DC. subsp. <i>plicatum</i> ekstraktların antibakteriyel etkisi..... | 24 |
| Tablo 2.4. Ülkemizde <i>Helichrysum</i> türlerinin kullanılış amacı, kullanılış şekli ve kullanıldığı şehir..... | 25 |
| Tablo 3.1. Sıçanlara verilen yemin bileşimi..... | 27 |
| Tablo 5.1. Karaciğer dokusunda ADEK vitaminleri, Kolesterol düzeyleri ve bazı biyokimyasal parametrelerin değişimi..... | 34 |
| Tablo 5.2. Karaciğer yağ asitleri düzeyleri (%)..... | 35 |

ŞEKİLLER DİZİNİ

Őekil 2.1. Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı patogenezindeki iki darbe hipotezi.....9

SİMGELER VE KISALTMALAR

- AGE: İleri Glikasyon Ürünleri
- ALT: Alanin aminotransferaz
- AST: Aspartat aminotransferaz
- ATP: Adenozin Tri Fosfat
- CYP2E1: Sitokrom P450 2E1
- DAG: Diaçilgliserol
- DNA: Deoksiribonükleik asit
- DM: Diabetes mellitus
- EGIR: Avrupa İnsülin Direnci Çalışma Grubu
- eNOS: Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz
- GLUT: Glukoz transport edici protein
- GLUT2: Glukoz Taşıyıcı-2 proteini
- GLUT5: Glukoz Taşıyıcı-5 proteini
- HCC: Hepatoselüler karsinoma
- HFSC: Yüksek fruktozlu mısır şurubu
- HFSC 55: Fruktoz oranı %55
- HFCS 42: Fruktoz oranı %42
- H₂O₂: Hidrojen peroksit
- HDL: Yüksek dansiteli Lipoprotein
- IDF: Uluslararası Diyabet Federasyonu
- IL: İnterlökin
- IL-6: İnterlökin-6
- IRS-1: İnsülin Reseptör Substrate 1
- LDL: Düşük Dansiteli lipoprotein
- L[•]: Lipit Radikali
- LOO[•]: Lipit Peroksit Radikali
- METSAR: Türkiye Metabolik Sendrom Araştırması

NAFLD: Nonalcoholic Fatty Liver Disease (Nonalkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı)
NASH:Nonalkolik Steatoepatit
NCEP-ATP III: Ulusal Kolesterol Eğitim Programı-Erişkin Tedavi Paneli III
NHANES III: Ulusal Sağlık ve Beslenme Araştırma alışması III
NOS: Nitrik Oksit Sentaz
PAI-1:Plazminojen aktivatör inhibitörü-1
PNL: Polimorf Nüveli Lökositleri
ROT: Reaktif Oksijen Türleri
RNA: Ribonükleik asit
TEKHARF: Türk Erişkinleri Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri Sıklığının Taranması
TNF- α : Tümor Nekroz Faktörü- α
VKİ: Vücut Kitle İndeksi
WHO: Dünya Sağlık Örgütü
4-HNE: 4-hidroksi-2,3 transnonenal

1. GİRİŞ

Tüm canlılar için en önemli besin kaynağı olan karbonhidratlar bitkisel, hayvansal ve tek hücreli organizmalarda yaygın şekilde bulunup, karbon, hidrojen ve oksijen atomlarından oluşmuştur. Yetişkin bireylerde günlük diyetle alınan enerjinin yaklaşık %50-60'ını sağlayan karbohidratlar, bütün canlılarda enerji sağlamak amacıyla kullanılır [1].

Bitkisel karbohidratların temel yapısını oluşturan glukoz ve fruktoz iki basit şeker olup insanların besin diyetinde önemli yer tutan altı karbonlu monosakkaritlerdir. Bir heksoz monosakkarit olan glukoz orta derecede tatlıdır. Organizmada genellikle nişastanın yıkımı sonucunda ortaya çıkan, kanda dolaşan karbohidrat formu olan glukoz vücudun yakıtı olarak kabul edilip, serbest halde olgun meyvelerde (üzüm, incir) ve balda bulunur. Diğer bir heksoz monoakkarit olan fruktoz, tatlılık derecesi glukozdan daha yüksek olup glukoz gibi serbest olarak tatlı meyvelerde (üzüm, incir, dut) ve balda bulunur [2-4].

İnsanlar binlerce yıl fruktoz ihtiyaçlarını çoğunlukla taze meyvelerden ve ortalama 16-20 g/gün olacak şekilde sağlarken, diyetlerin batılılaşması ve endüstrileşme ile beraber enerji veren tatlandırıcı olarak fruktoz tüketiminde günümüzde yaklaşık olarak 85-100 g/gün miktarında önemli artış görülmüştür. Günümüzdeki bu artış batılıların diyetlerindeki enerjinin yaklaşık %15-20'sinin kaynağı fruktoz olduğunu göstermektedir. Diyetteki günlük fruktoz miktarındaki bu aşırı artış çeşitli metabolik bozuklukların ortaya çıkmasına neden olduğu ifade edilmiştir [5-6]. Yıkıldığında eşit oranda glukoz ve fruktoz ortaya çıkan sükroz (%50 glukoz, %50 fruktoz) ile enerji veren tatlandırıcılarının en başta geleni olan yüksek fruktozlu mısır şurubu (HFCS) fruktozun en önemli kaynaklarıdır. Yüksek fruktoz şurupları ticari olarak genellikle ya %42 (HFCS 42) ya da %55 (HFCS 55) fruktoz içermekte olup Amerika Birleşik Devletlerinde içeceklerde en çok kullanılan fruktoz şurubu HFCS 55'tir. HFCS 55'in içeriğinde % 55 fruktoz, % 42-44 glukoz, %1-3 polisakkarid (glukoz polimerleri) içermektedir [7-8].Fruktozun en önemli kaynaklarından yüksek fruktozlu mısır şurubunun ticari olarak temel kullanım alanları, alkolsüz gazlı içecekler başta olmak üzere tüm tatlandırılmış hazır içecekler (meyve suyu, soğuk çay, meyveli sodalar vb.), kek, çikolata, reçel-marmelat, şekerleme türleri ve diğer jöle türü yiyeceklerdir. Amerika Birleşik Devletlerinde 1970 ile 1997 yılları arasında yapılan bir

çalışmada fruktoz kaynağı olan sükroz ve HFCS'nin kişi başına günlük diyetinde %26'lık bir artış (64 g/gün'den 81 g/gün'e çıkmıştır) görülüp, aynı yıllar arasında Amerika'da diyet olmayan alkolsüz içeceklerin yıllık kişi başına tüketiminde %86 oranında artış olduğu belirtilmiştir. Aynı yıllar için, sükroz ve HFCS'nin ayrı ayrı değerlendirilmesi yapıldığında yıllık kişi başına tüketiminde sükrozun 46,4 kg'dan 30,5 kg'a azalış görülürken, HFCS yıllık kişi başı tüketiminde ise 0,23 kg'dan 28,4 kg'a yükselmiştir [9-10]. Fruktozun sükrozdan ticari olarak gıda üreticileri tarafından yaygın şekilde tercih edilmesinde fruktozun daha güçlü bir tatlandırıcı olması, lezzet geliştirici etkisi, çabuk kristalleşmemesi ve daha ucuz olması gibi nedenlerden kaynaklanmaktadır [11].

Son 30 yılda birçok epidemiyolojik, klinik ve deneysel çalışmalarda fruktozun gıda sanayisinin en çok kullandığı tatlandırıcı haline gelmesi ve artan tüketiminin obezite, bozulmuş glukoz toleransı, hiperürisemi, Tip 2 diyabet, gut ve kardiyovasküler hastalıklarla ilintili olduğu belirtilmiştir [12]. Reaven vd. (1993) tarafından yapılan klinik çalışmada yüksek fruktoz içeren diyetin 10 hafta süresiyle tüketimin sonucunda dislipidemi ve insülin duyarlılığında azalma görüldüğü ifade edilmiştir [13]. Jurgens vd. (2005) tarafından yapılan deneysel çalışmaya göre: diyetle yüksek fruktoz alımının ratlarda insülin direnci ve hiperlipidemi oluşumuna sebep olduğu; yine yüksek miktarda fruktoz lipogenezi artırarak dislipidemi ve obezite gelişmesinde sorumlu tutulduğu belirtilmiştir [14].

Son yıllarda yapılan çalışmalarda yüksek miktarda fruktoz tüketiminin insülin direnci eşliğinde karaciğerde yağlamaya ve trigliserit düzeyinde artışa sebep olduğu görülmüştür [9,14-15]. Fruktoz karaciğerdeki fruktokinaz enzimi tarafından alınarak fruktoz-1 fosfata dönüştürülmekte, fruktoz-1 fosfat da aldolaz enzimi tarafından trioz fosfatlara dönüştürülüp böylece gluktoza göre fruktoz, glikoliz olayına üç basamak önde başlamaktadır. Bu sebepten dolayı karaciğerde fruktozun gluktoza oranla %60 daha fazla oranda yağ asitlerine dönüşmesi fruktozun gluktoza göre daha çok lipit düzeyini artırmasına neden olmaktadır. Normalde karaciğerdeki yağ düzeyi total karaciğerin %5'ini oluştururken, aşırı karbonhidrat tüketimiyle beraber bu oran artar ve steatozdan steatohepatit, ilerlemiş fibrozis ve siroza kadar geniş yayımlı bir karaciğer hasarının ortaya çıkmasına sebep olmaktadır. Karaciğerde oluşan bu hasarlar için genel bir tedavi metodu olmayıp genellikle hasara neden olan etmenleri azaltmaya yönelik tedaviler

uygulanmaktadır [9, 15-16].Kronik hastalıklar; tam olarak iyileşme görülmeyen, süreklilik gösteren, yavaş seyirli, kalıcı sakatlık veya iş görmezlik oluşturabilen ve insanın yaşam kalitesini düşüren hastalıklardır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), önlenebilir kronik hastalıklar olarak genellikle kardiyovasküler hastalıklar (kalp hastalığı, inme), kanser, kronik solunum yolları hastalıkları, diyabet ve kronik karaciğer hastalıkları olarak belirtmiştir. WHO yaptığı bir araştırmada 2005 yılında yaklaşık 58 milyon insan ölümünün tahmin edildiğini ve bunun %60'nın yani 35 milyon insanın kronik hastalıklara bağlı olarak öleceğini tahmin etmiştir. Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAFLD), kronik karaciğer hastalığının yaygın ve ciddi bir şekli olup, bu hastalık basit anlamda karaciğerde lipit birikimi ile ifade edilip metabolik sendromun tüm özellikleriyle ilişkili ve metabolik sendromun başlatıcı faktörü olduğu düşünülmektedir [17-18].

Vücudun en büyük organı ve metabolik açıdan da kompleks organı olan karaciğerin görevlerinden bir tanesi lipitlerin metabolizması ve depolanmasıdır. Karaciğer yağlanması, total karaciğer ağırlığının % 5'inden fazlasında lipit birikimi olması veya ışık mikroskopisinde yağ damlacıkları içeren hepatositlerin, tüm hepatositlerin %5'inden fazla olması olarak tanımlanırken Coşkun (2012) tarafından yapılan araştırmada alkol alımı olmayanlarda hepatositlerin trigliserit içeriğinin %10'dan fazla olması durumunda karaciğerde yağlanmadan bahsedileceğini belirtmiştir. Karaciğerde biriken yağlar çoğunlukla trigliseritlerdir [19-21].

Alkole bağlı olmayan yağlı karaciğer hastalığı (Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı, NAFLD), gelişmiş ve batı diyeti yaygın olan ülkelerde en yaygın görülen kronik karaciğer hastalığıdır. NAFLD, hafif yağlı karaciğerden, steatohepatit (NASH), hepatik fibroz, siroz ve Hepatoselüler karsinoma'ya (HCC) kadar uzanan geniş bir yelpazeyi kapsar [21]. NAFLD, birincisi inflamasyon ve fibrozisin eşlik etmediği sadece basit yağlı karaciğer, diğeri ise steatoz ile birlikte nekroinflamatuvar aktivitenin olduğu NASH olmak üzere iki ayrı hastalığı bir arada ifade etmek için kullanılır. [22-23].

NAFLD 'dan, NASH ve siroza kadar geçen süreç aynı olmamakla birlikte NAFLD tanısı konulduğu anda bile birçok hastada yerleşmiş kronik karaciğer hasarı ve siroz görülebilmektedir. Bu da hastalığın bazı bireylerde asemptomatik ve hızlı ilerleme gösterdiğini düşündürmekte olup, NAFLD olan bireylerde NASH gelişiminin erken

tanısı ve tedavisi siroz ve karaciğer hastalıkları komplikasyonlarının oluşmasını engelleyebilir veya geciktirebilir olduğu belirtilmiştir. NAFLD 'de bir ile iki dekadın üzerinde bir sürede siroz gelişme riski %4'ün altında iken, NASH 'da ise bu durum beş yıl içinde %5-8 hastada siroz gelişebilir ve tüm hastalarda siroza ilerleme oranı %20'ye ulaşabilir [21].

İsveç' de 28 yıl takip süreli yapılmış bir çalışmada NAFLD'lıların benzer yaş ve cinsiyetli toplumla karşılaştırıldığında mortalite oranının hafif derecede yüksek, NASH'lilerde ise ölüm oranının anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirtilmiştir [24]. Alkol tüketmeyen bireylerde görülen Nonalkolik karaciğer yağlanması steotizden non steohepatite, ileriki aşamalarda siroza dönüşebilen ve hatta ölümlü sonuçlanabilen bir hastalık olup, patogenezinde lipit peroksidasyonu, inflamasyon ve kronik oksidatif stres ile ilişkili, yüksek oranda serbest radikal aktivitesi gözlenir. Artan serbest radikal aktivitesinin antioksidan aktivitenin üstesinden gelmesi, lipit peroksidasyonun artması, antioksidan miktarının azalması ile karaciğer oksidatif strese maruz kalır [25-26]. İnsülin direnci eşliğinde omega-3 yağ asitlerinde azalmaya, serbest yağ asidi ve trigliserit düzeyinde artmaya ve karaciğerde yağlanmaya sebep olduğu ortaya konmuştur [9,15].

Nonalkolik karaciğer yağlanması patogenezinde lipit peroksidasyonu, inflamasyon ve oksidatif stres ile ilişkilidir. Serbest radikal düzeyinin ve lipit peroksidasyonun artması ile beraber azalan antioksidan düzeyi sonucunda karaciğer oksidatif strese daha çok maruz kalır [26]. Oksidatif stres sonucu karaciğerde oluşan serbest radikaller hücre membranlarındaki fosfolipitlerde bulunan yağ asitlerinin peroksidasyonuna yol açarak hücrelerde oksidatif hasara neden olur. Bu hasara bağlı olarak karaciğer fibrozu ve siroz oluşabilir [27]. Yapılan çalışmalarda karaciğer hastalıklarında oksidatif stres ile fibrozis arasında ilişki olduğu belirtilmiştir [28].

Günümüzde sedenter yaşamın artmasına bağlı olarak fiziksel aktivitenin azalması ve hazır yiyecek tüketiminin artması sonucunda nonalkolik karaciğer yağlanması gibi çeşitli metabolik hastalıklarda hızla artış gözlenmektedir [29]. Fruktoz insan vücudunda serbest radikallerin artışına neden olur. Diyete eklenen fruktozun kemirgenlerde hiperlipidemi oluşturduğunu gösteren çok sayıda araştırma mevcuttur [30-31]. Yapılan çalışmalarda fruktozun trigliserit ve kolesterol düzeylerini artırıcı

etkileri ortaya konmuştur [32]. Fruktöz deneysel hayvan modellerinde karaciğer yağlanması oluşturulmada kullanılmaktadır [33].

Dünyada yaklaşık 500 türü bulunan *Helichrysum* cinsi Asteraceae familyasında yer almaktadır. Ülkemizde 27 taksonu mevcut olup bunlardan 15'i endemiktir. Ülkemizde 'altın otu', 'ölmez çiçek', 'sarı çiçek' gibi çok sayıda yerel değişik isimlerle adlandırılmaktadır [34-35]. *Helichrysum* türleri çeşitli yangı ve soğuk algınlığı tedavisinde ve diüretik olarak geleneksel tıpta yaygın olarak kullanılmaktadır [36-38]. *Helichrysum Plicatum* subsp. *plicatum* 4-42 cm boyunda orman açıklıklarında, çalıklarda, kaya yamaçlarında yetişen sarı renkli bir bitki olup ülkemizde birçok ilimizde yetişmektedir. En zengin flavonoid içeren *Helichrysum* türlerinden biridir [39]. Ülkemizde halk arasında yara ve yanıkların tedavisinde, böbrek taşlarının düşürülmesinde, idrar artırıcı ve kulak ağrısı tedavisinde kullanılmaktadır [40]. Daha önce yapılan çalışmalarda bu bitkinin antimikrobiyal, antioksidant, antiinflamatuvar, antidiabetik, anti mitotik özellikleri ortaya konmuştur [41-44]. Bu etkilerinin yapısında bulunan zengin flavonoid içeriğinden kaynaklandığı düşünülmektedir [45].

Helichrysum plicatum subsp. *Plicatum* bitki ekstraktının nonalkolik karaciğer yağlanması üzerine etkileri hakkında etkilerine dair *in vivo* olarak herhangi bir çalışmanın mevcut olmadığı tespit edilmiştir. Bu çalışma neticesinde elde edilecek bulgular bu konuyla ilgili orijinal veriler olacaktır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Nonalkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı

NAFLD, alkol dışı nedenlere bağlı olarak meydana gelen karaciğer yağlanması olarak tanımlanabilir. NAFLD, karaciğere zarar verecek miktarda alkol tüketimi olmayan kişilerde (kadınlarda 10 gr/gün ve erkeklerde 20 gr/gün 'ün altında alkol tüketen), fibrozis ve sirozla ilişkili olabilen veya olamayabilen, eşlik eden inflamasyon ve hepatositlerde yağ birikiminden nekroinflamatuvar bir bileşeni olan karaciğer yağlanmasına kadar değişen histolojik olarak makroveziküler yağlanmanın baskın olduğu kompleks patolojik bir durumdur [46-47].

Karaciğer yağlanması, yağların karaciğer ağırlığının %5' ten fazlasını oluşturması veya histolojik incelemede hepatositlerin %5' inden daha fazlasında yağ vakuollerinin görülmesi olarak ifade edilmiştir. Hafif steatoz, hepatositlerin %30' undan azını içerir, ciddi steatozda ise hepatositlerin %60' undan fazlasını içerir. Basit karaciğer yağlanması hastalığın şiddetli bir formu olan, NASH' e ilerleyebilir. NAFLD'lı hastaların %10-%20' sinin NASH olduğu bilinmektedir [21, 48].

NASH, karaciğerde yağlanma ile birlikte alkolik karaciğer hastalığında olduğu gibi hepatositlerde balonlaşma, Mallory cisimcikleri, infiltrasyon, megamitokondria ve fibrozis gibi bulguların görüldüğü hastalıktır [21]. NASH gelişiminde en önemli safha, hepatositlerde trigliserit şeklinde lipit birikmesidir. Lipit birikmesine (steatoz) yol açan primer metabolik bozukluk tam olarak anlaşılmamış olsa da, insülin direncinin hepatik lipit metabolizmasında lipitlerin hücre içine alınması, sentez, yıkım veya sekresyon fazlarındaki değişikliklerde işlevi olduğu düşünülmektedir [49].

Nonalkolik steatohepatit'in iki tipi mevcuttur: Primer NASH, obezite, diyabet, hiperlipidemi ve metabolik sendromla ilişkili olup, NASH' in dominant formudur. Sekonder NASH ise obezite ile ilişkili cerrahi sonrası, obezlerde hızlı kilo kaybı, amiodoran, total parenteral beslenme, lipodistrofi ve Wilson hastalığı gibi durumlardır [50-51]. Ludwig vd. (1980) tarafından yapılan çalışmada alkol alımı olmayan çoğu obez ve diyabetik kadınlardaki karaciğer biyopsi bulgularında karaciğerde yağlanmaya bağlı inflamasyon saptanmış ve alkolik steatohepatite benzediğini belirtmiş olup, bu hastalığa Nonalkolik Steatohepatit (NASH) ifadesini kullanmışlardır. Ludwig vd. (1980) bu

çalışmalarında NASH' i; "karaciğer biyopsisinde belirgin yağlanma, lobuler hepatit, fokal nekroz, mikst tipte iltihabi infiltrasyon bulguları, çoğu hastada mallory cisimcikleri ve fibrozis bulunan, sıklıkla orta yaşlı ve obez, tip 2 diyabetlilerde ve kadınlarda görülen durum" şeklinde belirtmiştir. Daha sonraları da steatoz, steatohepatit, fibrozis ve siroz yelpazesindeki bu histopatolojik tabloya NAFLD olarak ifade etmiştir [52].

İnsülin direnci, sitokin üretimi, karaciğer yağlanması ve belki de steatohepatite yol açan anahtar mekanizma olduğu düşünülmektedir [50,53-54]. NAFLD, genetik bozukluklar ve insülin direnci ile ilişkili olup, son yapılan çalışmalarda erkek ve kadınların eşit olarak etkilendiği belirtilmekle birlikte dislipidemi, diyabet ve özellikle obezite olan bireylerde görülmesi belirgin olarak gözlenmektedir [55-56].

Metabolik sendrom, visseral obezite (bel çevresi erkeklerde >94 cm, kadınlarda >80 cm), hipertansiyon (>130/85 mmHg), hipertrigliseridemi (>150 md/dl), hiperglisemi (>100 mg/dl) ve düşük HDL (<40 mg/dl erkeklerde, <50 mg/dl kadınlarda) birlikteliği olarak tanımlanmakta ve NAFLD hastaların çoğunda metabolik sendrom var olduğu bilinmektedir. Metabolik sendrom tanı kriterlerinden biri NAFLD'lı hastaların çoğunda mevcut iken, metabolik sendrom tanısı alanlarda (en az 3 veya daha fazla kriter pozitifliğinde) NASH daha sık gözlendiği belirtilmiştir. Karaciğer hasarını belirlemede kullanılan Aspartat aminotransferaz (AST) ve alanin aminotransferaz (ALT)(AST/ALT)oranı 1'den fazla olan, 45 yaş üzeri diyabetik ve obez bireylerin karaciğerinde fibrozis daha sık görülür [21].

NAFLD olan bireylerde en sık rastlanan laboratuvar bulgusu hafif ya da orta derecede aminotransferaz (AST, ALT) yüksekliği olup, AST/ALT oranı NAFLD ile alkolik karaciğerin ayırıcı tanısında yardımcı olmakta ve birçok NAFLD hastasında AST/ALT oranı birden küçüktür. Ancak bu oran karaciğer hastalığı siroza ilerledikçe yükselmekte ve NAFLD'nin sirotik dönemde teşhisi açısından geçerliliğini kaybettiği ifade edilmiştir. Artmış serum bilirubini, hipoalbuminemi ve uzamış protrombin zamanı ilerlemiş NAFLD hastalığını göstermektedir [57].

NAFLD hastalarında en sık rastlanan durumlardan biri insülin direncidir. Steatotik karaciğer, çeşitli etkenlerin hasar verici etkilerine karşı daha hassas olmakta ve bu durum araştırmacıların basit komplikasyonsuz steatozdan steatohepatit ve ilerlemiş fibroza ilerleyişin nedeni olarak "iki-vuruş" hipotezini ileri sürmüşlerdir [58]. İlk vuruş,

temelde insülin direnci olup, hepatositlerde lipit birikmesine neden olur ve çoğunlukla serbest radikallerden oluşan ikinci vuruşla lipit peroksidasyonu, fas ligand indüksiyonu ve sitokin üretimi gerçekleşir. Adipositokinler (Tümör Nekroz Faktörü- α (TNF- α), adiponektin, leptin), bakteriyel endotoksin, mitokondriyel disfonksiyon ve vasküler bozukluklar NAFLD olgularında hepatik inflamasyon ve fibrozdan sorumlu tutulmuşlardır. Lipit peroksidasyonu ve oksidatif stres, steatoz gelişimi ve karaciğer hasarının ileri evrelerine progresyonunda anahtar faktörlerdir [59-61].

NAFLD hastalığı patogenezi tam olarak aydınlatılmamış, kompleks ve multifaktöriyel bir konudur. NAFLD hastalarının bazılarında sadece steatoz gelişirken, bazılarında ise NASH ve fibrozis gelişmesi net açıklığa kavuşmamıştır. Normal şartlarda ihtiyaç fazlası alınan karbohidratlar, yağ asitlerine dönüştürülür. Yağ asitleri yağ dokusunda trigliseritlere dönüştürülerek depolanır. Daha sonra karaciğere taşınır ya da kas dokusunda enerji kaynağı olarak kullanılır. Yağ dokusunda depolanan trigliseritler açlık dönemlerinde yağ asitlerine dönüştürülür ve daha sonra karaciğere taşınarak fosfolipit ve kolesterol esterlerinin yapımında kullanılır ya da ekstrahepatik dokularda enerji kaynağı olarak kullanılan keton cisimlerine dönüştürülür. Periferik yağ dokusundan serbest yağ asidi salınımında artış, karaciğerde serbest yağ asidi üretiminde artış, yağ asitlerinin karaciğerden düşük dansiteli lipoprotein (LDL) ve çok düşük dansiteli lipoprotein (VLDL) salınımında azalma neticesinde karaciğerde yağ birikimi olur [62]. Karaciğerde lipit metabolizmasında hepatosit merkezi rol oynar. Yağ asitleri; mitokondriler, mikrozoimler ve peroksizomlar tarafından okside edilir. Mitokondri kısa, orta ve uzun zincirli yağ asitlerinin oksidasyonunu gerçekleştirir ve lipit metabolizmasında oluşan bozuklukların çoğundan sorumlu olduğu ifade edilmiştir. Mitokondride çok uzun zincirli yağ asitleri peroksizomlarda okside edilirken, kısa ve çok uzun zincirli yağ asitleri mikrozoimlarda okside edilir. Kısa ve çok uzun zincirli yağ asitlerinin ekstramitokondriyal (mikrozomal ve peroksizomlar) oksidasyonu ile kısaltmalarından sonra mitokondriyal oksidasyon süreci tamamlanır [63].

NAFLD hastalığının mekanizması antioksidan sistemdeki farklılıklar, vücut yağ dağılımı ve genetik yatkınlıktan dolayı tam olarak anlaşılamamış olmakla beraber; insülin direnci ve hiperinsülineminin oluşumunda önemli rolü olduğu düşünülmekte ayrıca insülin direncinin tüm patolojinin çıkış noktası olan en önemli mekanizma olduğu ifade edilmektedir [64]. NAFLD patogenezi mekanizmasını açıklamada 1998'de

faktör yağlı karaciğer gelişmesine, ikinci zararlı faktör ise oksidatif stres, endotoksinler ve sitokinler aracılığıyla NASH gelişmesine neden olmaktadır [71].

Tablo 2.1. Steatohepatit'in patogenetik mekanizmaları [71].

| İlk Darbe |
|-----------------------------------|
| → Steatoz |
| → Dolaşımdaki insülin artışı |
| → Beta-oksidasyonda azalma |
| → Lipoliz ve FFA sentezinde artış |

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

2.1.1. NAFLD/NASH gelişiminde ilk vuruş (Hepatik Steatoz, İnsülin Direnci ve Obezite)

Hepatik steatoz; karaciğerde trigliseritlerin aşırı birikmesi ile ortaya çıkar ve NASH gelişimi için ilk vuruşu oluşturur. Yağ birikimi insülin direnci sonunda lipoliz ve hiperinsülinemi ile hepatositlerde olur. İnsülin direnci, hepatic lipid metabolizmasının alım, sentez, yıkım ve salınım basamaklarındaki bozuklukta önemli rol alır. Hepatositlerde yüksek oranda yağ asitlerinin girişiyle, mitokondriyal β -oksidasyonu doyumluğa ulaşır ve yağ asitleri hepatositlerde birikir. İnsülin direnci durumlarında hepatic yağ asidi serbestleşmesinin temel yolu olan çok küçük dansiteli lipoproteinlerin (VLDL) ve apoprotein B 100 (apo B) yıkımının arttığı ve karaciğerde fazla yağ asidi serbestleşmesinin azaldığı belirtilmiştir. Ayrıca CYP2E1 ekspresyonu artarak

prooksidanlar meydana gelir ve sonuçta yağ asitlerinin sentezi hepatik metabolizmasının hızını aşar ve trigliseritler birikmeye başlar [72].

İnsülin direncini oluşturan mekanizmalar başlıca 4 grupta toplanmıştır:

1. Reseptöre ait nedenler: Azalmış reseptör sayısı ve afinitesi,
2. GLUT 4 (Glukoz transport edici protein)'in azalması,
3. Prereseptör nedenler: Anormal insülin ve insülin antikoru, kan akım bozukluğu,
4. Postreseptör nedenler: Anormal sinyal iletimi ve fosforilasyon, insülin reseptör substrate 1 (IRS-1) postreseptör insülin rezistanından sorumlu temel mekanizmadır [72-73].

Artmış intrahepatik yağ asidi seviyeleri, steatozdan steatohepatit ve siroza ilerlemesinde büyük oranda sorumlu olan oksidatif stres için kaynak noktasıdır [65].

İnsülin direnci, iki temel mekanizma olan hiperinsülinemi ve lipoliz ile hepatositlerde yağ birikimine neden olduğu, hiperinsülinemiye neden olarak hormona duyarlı lipoprotein lipazı uyarır ve lipoliz artar. Bunun sonucunda karaciğer yağ asidi alımı artmakta, kanda artmış olan insülin β oksidasyonu engelleyerek ve glikolizi uyararak yağ sentezini artırır. Ayrıca serum İnsülin yüksekliği karaciğerde yağ asitlerinin trigliseritlerle esterleşmesini ve karaciğerde salınımını azaltır. Böylece insülin direnci NAFLD gelişiminde esas mekanizmayı oluşturmaktadır [74].

Obezite; düşük HDL kolesterolü, yüksek serum kolesterolü, hipertansiyon ve hiperglisemi gelişmesini kolaylaştırdığı bilinmektedir. Obezite NAFLD patogenezinde önemli role sahip iken, beden yağının düzensiz dağılımı da NAFLD patogenezinde önemli role sahiptir. Ayrıca abdominal yağlanmanın hem kadın hem de erkek bireylerde karaciğer yağlanması ve insülin direnci ile pozitif korelasyon gösterdiği belirtilmiştir [75-76].

2.1.2. NAFLD/NASH gelişiminde ikinci vuruş

(Oksidatif stres, İnflamasyon, Serbest yağ asitleri, Adiponektinler, Sitokinler)

NAFLD hastalığında steatozun steatohepatite ilerlemesinin en önemli nedeni ve NASH'de hepatositdeki zedelenmenin de temeli oksidatif stres olduğu bilinmektedir

[96]. Oksidatif stres; steatozlu bireylerde hepatosit inflamasyonu, nekroz, balonlaşma dejenerasyonu ve fibrozise gidişte önemli rol alır [65].

NAFLD hastalığında oksidatif stres kaynakları içinde CYP2E1 ve Sitokrom P450 önemli bir yere sahiptir. NAFLD patogenezinde CYP2E1; oksidatif stres moleküllerin oluşumu, inflamatuvar hücre aktivasyonu ve inflamatuvar sitokin oluşumuna neden olmaktadır. Özellikle alkolik karaciğer hasarlanmasında süperoksit oluşumu, hidroksil ve hidroksietil radikallerinin oluşumunda rol almaktadır [63, 65].

Serbest radikal üretimi için önemli olan CYP2E1 sistemi endoplazmik retikulumda mevcuttur. Serbest oksijen radikalleri mitokondride sentezlenir. İnsülin direnci, karaciğere gelen serbest yağ asitlerinin artışı, lipoliz ve β oksidasyonu serbest oksijen radikallerinin üretimini artırdığı belirtilmiştir. CYP3A4 ve CYP2E1 sistemlerinin aktivasyonu ve hepatik demir birikimi serbest oksijen radikallerinin oluşumuna neden olduğu saptanmıştır [77-79]. Buda serbest radikallerin, lipit peroksidasyon ürünlerinin ve sitokinlerin elektron transport zincirinin ve tüm hücre metabolizmasının aktivitesini azaltmaları anlamını taşır. Buna bağlı olarak steatohepatit hastalarında elektron mikroskopik mitokondri değişiklikleri, hücre solunumunda ve enerji elde edilmesinde azalma görülmüştür [77].

Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığında inflamasyon ve fibrozis artışı TNF- α düzeyi artışı ile paralellik gösterdiği bilinmekte, oksidatif stresi artıran etkenlerden biri de hepatositlerde demir birikimidir. Hepatositlerde fazla demir varlığında serbest yağ asitleri peroksizomla β oksidasyonu şant yaparak hidrojen peroksit oluşturmakta ve bu da reaktif hidroksil radikallerine dönüşmektedir [80]. Aşırı reaktif oksijen bileşiklerinin açığa çıkması, hücre zarında lipit peroksidasyonunu tetikleyerek TNF- α ve proinflamatuvar sitokinlerin salınımına sebep olduğu ifade edilmiştir [69].

Serbest yağ asitleri insülin direnci oluşturması yanında direk hepatositlere de toksik etki gösterir. Özellikle çoklu doymamış yağ asitleri lipit peroksidasyonunu artırarak hepatositlerde hasara neden olurken, doymuş yağ asitlerinde bu durum görülmez tam tersine koruyucudur. Serbest yağ asitleri, periferik dokularda ve özellikle hepatositlerde insülin reseptör etkileşmesi, postreseptör sinyalizasyon, glukoz taşıyıcısı proteinlerin sentez ve hücre zarına yerleşmesi basamaklarında aksamalara neden olduğu belirtilmiştir [81].

Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığında adiponektin hormonun görevi tam olarak anlaşılamamıştır. Ancak hormonun öncelik olarak glikoz ve lipit metabolizmasını artırdığı düşünülmekte ve proinflamatuvar sitokinlerin, TNF- α gibi ekspresyonunu inhibe ettiği söylenmektedir [82].

NAFLD hastalığında leptin hormonu trigliserit toplanmasında ve bunun sonucu olarak yağ düzenlenmesinin bozulması ve karaciğer oksidasyonunun artışına sebep olduğu belirtilmiştir. Ayrıca leptinin inflamasyonda proinflamatuvar stimülasyonu harekete geçirerek birçok role sahip olduğu söylenmiştir [83-85]. NAFLD hastalarında leptin seviyesinin yüksekliği gibi düşebileceği de belirtilmiştir [86].

Resistin, beyaz yağ dokusundan ve mononükleer hücrelerden salınan 108 amino asitten meydana gelen peptittir. Resistin ise farelerde yapılan çalışmalarda insülin direnci ile ilişkilendirilmiş fakat rolü tam olarak anlaşılamamıştır resistinin inflamatuvar süreçte rol oynayabileceği düşünülmektedir. [87-88].

İnflamatuvar sitokin olan interlökin-6 (IL-6), insülin direncinde rol alır. Yapılan klinik çalışmalar, obezitede insülin direncinin artışı ile plazma ve yağ dokusu IL-6 seviyesinin artışı ile ilişkili olduğu belirtilmiştir [89]. Ayrıca kilo azalması ile birlikte plazma ve yağ dokusu IL-6 seviyesinin de azaldığı gösterilmiştir [90]. Abdominal yağlanmada IL-6 üretiminin, deri altı yağlanmadaki IL-6 üretiminden 3 kat fazla olduğu ve böylece abdominal yağlanmanın hepatik insülin direncinin artışında güçlü bir aktivatör olduğu belirtilmiştir [91]. IL-6 plazma serbest yağ asitlerinin artışına neden olabileceği ve böylelikle insülin direncinin artışına ve adiponektin sekresyonunun azalmasına etki edebileceği düşünülmektedir [49].

TNF- α enfeksiyon varlığında başlıca yağ dokusunda sentezlenir ve yine yağ dokusunda hücre yüzey transmembran proteini olarak salınmakta, otokrin ve parakrin hormon gibi etki edebilen pro-inflamatuvar bir sitokindir. İnflamasyonun dışında hücre proliferasyonu, hücre farklılaşması ve apoptozis gibi görevlerinin var olduğu belirtildiği gibi lipolizi indükte ederek lipogenezisi inhibe ettiği de belirtilmiştir [49]. TNF- α artışı insülin direnci ile birlikte hem obez hayvan modellerinde hem de obez insanlarda gösterilmiş ve TNF- α plazma seviyesinin kilo kaybıyla azaldığı belirtilmiştir. Aynı zamanda TNF- α 'nın artışı yağ asitlerin salınımının artışı ile birlikte Periferik lipolizisi hızlandırarak adiponektin sentezini azaltarak ve glukoz taşıyıcısı olan GLUT-4'ün membran ekspresyonunu azaltarak insülin direncini indükleyebilmektedir [49,92-93].

Ayrıca NAFLD ve NASH hastalığında plazma TNF- α plazma seviyesinin yükseldiği ve farelerde TNF- α antikor infüzyonlarının hepatik steatozun oluşmasına neden olduğu ifade edilmiştir [94-95].

2.2 Metabolik Sendrom

İnsülin direnç sendromu veya sendrom X olarak da isimlendirilen metabolik sendrom; dislipidemi, hiperinsülinemi, hipertansiyon, glukoz intolerans, artmış insülin direnci ile karakterize olan ve kardiyovasküler hastalıklar, alkole bağlı olmayan yağlı karaciğer hastalığı, obezite ve tip II diyabet açısından önemli risk faktörü oluşturan patolojik bir durumdur. Metabolik sendrom sıklığı, başta endüstrileşmiş ve gelişmiş ülkeler olmak üzere ülkemiz ve tüm dünyada giderek artmaktadır. Genetik faktörlerin yanı sıra batı diyeti ile birlikte hazır gıda tüketiminin artması, özellikle karbohidrat ağırlıklı beslenme ve hareketsiz yaşam tarzı bu artışın ana nedenleri arasında gösterilmektedir. Artan metabolik sendrom prevalansının ana nedenlerinden birisi de diyet içinde alınan yüksek fruktoz olduğu belirtilmiştir [96].

Lipit ve karbohidrat metabolizmasındaki fonksiyonu ve fruktoz metabolizmasından sorumlu temel organ olmasından dolayı karaciğer, metabolik sendromda en erken hasar gören organdır. Klinik çalışmalardan ve metabolik sendrom modellerinden elde edilen veriler doğrultusunda bozulmuş glukoz homeostazı ve insülin direncinin hepatositlerde aşırı lipit birikimine ve inflamasyona yol açarak alkole bağlı olmayan yağlı karaciğer hastalığına neden olduğu gösterilmiştir [97]. Metabolik sendromun, plazma trigliserit, kolesterol seviyesinin yükselmesine ve lipoprotein profilinin değişmesine, vazodilatasyon için gerekli nitrik oksit biyo yararlarının azalmasına neden olmasından dolayı kardiyovasküler hastalıklar için de önemli bir risk faktörü olduğu, aterosklerotik ve koroner kalp hastalıklarının gelişimine önemli zemin hazırladığı belirtilmiştir [98].

Hamaguchi vd. (2005) ve Marchesini vd. (2003)' nin ayrı zamanda yaptıkları çalışmada NAFLD ile Metabolik sendrom arasındaki ilişkiyi ortaya çıkarmışlardır [99-100].

2.3. Oksidatif Stres

Organizmada meydana gelen serbest radikaller, hücrenin savunma sistemi olan antioksidanlar tarafından ortadan kaldırılır. Serbest radikallerin oluşum hızı ile ortadan kaldırılma hızları birbirine eşittir. Yani serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma sistemi bir denge halindedir. Bu dengeye oksidatif denge denir. Oksidatif denge var olduğu sürece metabolizma serbest radikaller ve reaksiyonlarından etkilenmemektedir. Bazı durumlarda antioksidanların savunma kapasitesini aşan serbest radikal oluşumu söz konusu olabilir. Çeşitli endojen ve eksojen faktörlerin etkisiyle artan serbest radikal oluşumu veya azalan antioksidan savunması, var olan oksidatif dengeyi bozarak, antioksidan savunma sisteminin yetersiz kalmasına ve serbest radikal üretiminin yüksek miktarlara ulaşması sonucu oluşan bu duruma oksidatif stres denir [101]. Hücre membranındaki doymamış yağ asitlerinden, hidrojen atomunun uzaklaşmasıyla başlayan lipid peroksidasyonu oksidatif stresin en tipik göstergesidir [102]. Serbest radikallerin, antioksidan savunma sistemine rağmen hücrelere değişik düzeyde zarar vermesi kaçınılmazdır. Şiddetli oksidatif stres, hücrede hasara ve hücre ölümüne neden olmakla birlikte oksidatif stresin vereceği zarar, stresin şiddetine, etkilenen molekülün türüne ve antioksidan savunmanın kapasitesine göre değişir [103]. Oksidatif stres; membran lipitleri, proteinler ve DNA gibi önemli birimlerde hasara neden olduğu ve özellikle DNA üzerinde nükleik asitleri hasara uğratmakta ve kansere neden olduğu belirtilmiştir. Düşük seviyedeki oksidatif stresin etkileri uzun bir süreç sonunda ortaya çıkarken, yüksek şiddetteki oksidatif stresin etkileri ise kısa sürede ve ciddi hastalıklar olarak ortaya çıktığı görülmektedir. Serbest oksijen radikallerinin oluşturduğu oksidatif stresin sebep olduğu hücre hasarı nedeniyle birçok kronik hastalığın ortaya çıktığı bilinmektedir. Bu hastalıkların bazıları; kronik obstrüktif akciğer hastalığı, karsinogenezis, ateroskler, Parkinson ve down sendromu olarak sayılabilir [104-105].

Artmış glukoz düzeyleri; oksidatif fosforilasyon, otooksidasyon ve glukozamin yolları ile mitokondriyal reaktif oksijen türleri üretimi sonucu oksidatif strese neden olduğu ifade edilip, yükselmiş serbest yağ asitleri oksidatif fosforilasyonun mitokondriyal ayrışması ve β -oksidasyon sebebiyle serbest radikal üretiminde artışa sebep olarak oksidatif strese neden olabilir. Yüksek glukoz ve serbest yağ asitleri; hücresel strese hassas yolların (ileri glikasyon ürünleri (AGE), poliol yolu ve

heksozamin yolları gibi) aktivasyonu için bir sinyal işlevi görmekte birlikte, bu yolların aktivasyonu insülin direnci, β -hücre ve endotelial fonksiyon bozukluklarına sebep olduğu belirtilmiştir [106].

Metabolik sendromda oksidatif stres, hiperglisemiye bağlı olarak oluşabilmekte ve yine hiperglisemi stres düzeyini artırdığı belirtilmiştir. Hipergliseminin oksidatif stresi artırma mekanizmaları poliol yolu aktivasyonu, glukoz otooksidasyonu, fonksiyonel proteinlerin glikolizasyonu ve eNOS ayrışmalarıdır. Glukoz oksidasyonu; hidrojen peroksit, süperoksit ve hidroksil radikalleri gibi bir dizi serbest radikal oluşturur. Artmış hücrel glukoz alımı diaçilgliserolün (DAG) de novo sentezini artırarak ve protein kinaz C aktive ederek pro-inflamatuar sitokinler ve serbest radikal üretimi indüklenir. Uzun süreli hiperglisemi endotel reseptörlerine bağlanabilen AGE oluşumunu artırır ve bu da reseptör aracılı serbest radikal üretimini artırarak oksidatif stres düzeyini artırır [107].

Metabolik sendromda glukotoksisite ile birlikte lipotoksisite de oksidatif hasara neden olduğu bilinmektedir. Obezitenin hiperglisemiden bağımsız olarak oksidatif stres ve lipit peroksidasyonunu predioze ettiği konusunda çalışmalar vardır. Obezlerde NADPH oksidaz ekspresyonunun daha yüksek olduğu ve yükselmiş serbest yağ asidi düzeylerinin NADPH oksidazı aktive ederek serbest radikal üretimini artırarak metabolik sendromda hasara neden olduğu ifade edilmiştir [108].

Metabolik sendromda enzim aktivitelerinin azalması ile E ve C vitamini düzeylerinde azalma sonucu total antioksidan kapasitesinde düşme görülebilirken, metabolik sendrom komponentleriyle orantılı olarak total antioksidan düzeyleri azalır, peroksitler ve oksidatif stresin diğer belirteçleri artar [108-109].

2.3.1. Malondialdehit

Biyomoleküller içinde serbest radikallerden en çok etkilenen yapılar lipitlerdir. Doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı lipit peroksidasyonudur. Lipit peroksidasyonu, organizmada oluşan bir serbest radikal etkisi sonucu zarrın yapısında bulunan poliansature yağ asidi zincirindeki α -metilen gruplarından hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başladığı bilinmektedir. Biyolojik sistemlerde bu serbest radikalın

süperoksit anyonu ve hidroksil (OH[·]) radikali olduğu kabul edilmekte ve lipit peroksidasyonunda asıl etkili radikalın hidroksil (OH[·]) olduğu ifade edilmiştir [49,110].

Yağ asidi zincirinden hidrojen atomunun uzaklaşması, bu yağ asidi zincirinin radikal niteliği kazanmasına sebep olmakla birlikte, oluşan lipit radikali (L[·]) dayanıksız bir bileşik olup bir dizi değişikliğe uğramaktadır. Öncelikle molekül içi çift bağ aktarılması ile dien konjugatları oluşmakta, daha sonra lipit radikalın oksijen ile reaksiyonu lipit peroksit radikali (LOO[·]) oluşmaktadır. Bu radikal, zardaki poliansature yağ asitlerini etkileyerek yeni lipit radikallerinin oluşumunu sağlamakta ve kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipit hidroperksitlere dönüşerek, bu olay kendi kendini katalizleyerek devam eder [49].

Malondialdehit, hidroksil radikallerinin doymamış yağ asitlerinden üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucunda meydana gelen lipit peroksidasyonun en önemli ürünüdür. MDA kanda ve idrarda ortaya çıkar. Yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir göstergesi olmamakla, lipid peroksidasyonun derecesiyle iyi korelasyon gösterir. MDA, bu nedenle lipit peroksit seviyelerinin indikatörü olarak kullanılır [110].

Birçok çalışma serbest radikal türlerinin hepatik lipotoksisiteyi artırdığı belirtilmiştir. Bu güne kadar yapılan çalışmaların çoğunda genel olarak NASH ile lipit peroksidasyonu arasındaki ilişki üzerinde yoğunlaşmışken, NAFLD ile lipit peroksidasyonu arasındaki ilişkinin belirlenmesi için yapılan çok az çalışma mevcut olup ve yapılan çalışmalarda genellikle ratlar üzerinde yapılmıştır [111].

NASH' da oksidatif stresin artışı ile birlikte okside LDL oranının ve serum lipit peroksidasyon ürünleri MDA ve 4-hidroksi-2,3 transnonenal (4-HNE) 'de artış görülmektedir [112]. Palmitatla indüklenen oksidatif stres, rat hepositlerde insülin direncine katkı yaptığı belirtilmiştir [113]. Karaciğerde yağ asidinin birikimiyle β oksidasyonu ve elektron transport sisteminin elektron sızıntısı serbest radikal üretimini tetiklediği bilinmektedir [114].

2.4. Serbest Radikaller ile Nonalkolik Karaciğer Hastalığı Arasındaki İlişki

Serbest radikaller, molekül ağırlığı küçük atom ya da moleküllerin dış orbitallerinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kararsız ve çok reaktif

kimyasal ürünlerdir. Serbest radikaller, kovalent bağlı normal bir molekülün homolitik yıkımı ve normal bir molekülün elektron kaybetmesi veya elektron transferi sonucu oluşabilen, pozitif veya negatif yüklü ya da yüksüz (nötral) olabilirler. Serbest radikal reaksiyonları, hücrelerin savunma mekanizmasında önemli olan nötrofil, makrofaj gibi bağışıklık sistemi hücreleri için gerekli olmakla birlikte, fazla üretilen serbest radikaller hücre ölümüne ve doku hasarına sebep olurlar. Ayrıca hücrelerin lipit, karbonhidrat, DNA ve protein gibi önemli bileşiklerine etki ederek bu bileşiklerin yapılarının bozulmasına neden olurlar [102,115].

Biyolojik sistemlerde serbest radikaller, organizmanın yaşamını sürdürdüğü her safhada normal biyolojik işlevler sonucunda ve en fazla elektron transferi ile üretilirler. Ayrıca DNA, RNA, nükleik asit, ATP, karbohidrat, protein ve lipid gibi tüm büyük biyomoleküllere etki ederler ancak en hassası lipitlerdir [115].

Organizmada serbest radikallerin etkisi sonucu hücre zarın yapısında yer alan çoklu doymamış yağ asidi zincirindeki α -metilen gruplarından hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile lipit peroksidasyonu başlamaktadır. Oldukça zararlı olan lipit peroksidasyonu doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı olarak olarak adlandırılmaktadır [49]. Membran lipitleri, serbest radikallerin zararlı etkilerinden en çok etkilenen biyomoleküllerdir. Hücre zarındaki kolesterol ve yağ asitlerinin poliunsature bağları serbest radikallerle reaksiyona girerek peroksidasyona neden olarak hücre ve dokulara birçok zarar vermektedir [116].

Serbest radikaller DNA hasarı, membran yapılarının ve fonksiyonlarının etkilenmesi, lipid peroksidasyonu, lipit ve proteinlerde kovalent bağlanma, enzim inaktivasyonu, nükleotid yapılı enzimlerin yıkımı ve doymamış yağ asitlerine etki ederek kolesterol ve yağ asitlerinde oksidasyonu gibi hücre ve dokulara birçok hasarlar vermektedir [117].

Lipit peroksidasyonu hücre zarlarında zarın akıcılığının yitirilmesine, zar potansiyelinde azalmaya, hidrojen ve diğer iyonların geçirgenliğinin artmasına ve neticede hücre içeriğinin dışarı boşalmasına neden olarak geri dönüşümsüz şekilde membran ve yapısına kalıcı hasarlar vermektedir. Ayrıca serbest radikaller için devamlı kaynak sağlayan lipit peroksidasyonu kendi kendini devam ettiren bir zincir reaksiyonu şeklinde çalışır [39,109].

Günümüze kadar NASH ile lipid peroksidasyonu arasındaki ilişki üzerine birçok çalışma mevcutken NAFLD ile lipidperoksidasyonu arasındaki ilişki üzerine çalışmalar çok az ve genellikle ratlar üzerinde çalışmalar yapılmıştır [49].

Lipit hidroperoksitlerinin aldehit ve diğer karbonil bileşiklere dönüşmesi ile lipid peroksidasyonu sona erer ve lipid peroksidasyonun yıkım ürünü olan MDA, hücre zarlarında hidrojen ve iyon alışverişine etki ederek zardaki bileşiklerin çapraz bağlanmalarına neden olur, enzim aktivitesinde değişim ve iyon geçirgenliği gibi hücrede hasarlara sebep olur. MDA bu özelliği sebebiyle DNA'nın nitrojen bazıları ile tepkimeye girebilir ve hücre kültürleri için genotoksik ve karsinojeniktir. MDA miktarı tiyobarbitürik asit testi ile ölçülmekte ve bu metod ile lipid peroksit derecelerinin belirlenmesinde genellikle kullanılmaktadır [118].

MDA, 4-hidroksi-2,3 transnonenal (4-HNE), isoprostanlar, F2-isoprostanlar ve enzimatik olmayan araşidonik asit lipid peroksidasyonun ürünleridir ve steatotik karaciğer tespiti için önemli olduğu ve MDA ve 4-HNE steozis durumuna kıyasla NASH hastalarında %90 oranında arttığı belirtilmiştir. F2- isoprostanlar NAFLD ratlarında oksidatif hasarın belirlenmesinde kullanılabileceği önerilmiştir [49].

2.5. Antioksidanlar

Antioksidanlar, oksijenin diğer maddelerle birleşmesini önleyerek oksijenin tahrip edici reaksiyonuna (oksidasyon) karşı koruyucu özellik gösteren maddelerdir. Antioksidanlar, serbest radikallerin oluşumunu ve serbest radikallerin zararlı etkilerini engellemek üzere hem hücre içi sıvıda hemde hücre dışı sıvıda bulunurlar. Serbest radikallerle antioksidasyonlar arasındaki hassas denge bozulduğu zaman hücre hasarı ve patolojik değişiklikler ortaya çıkar [110,119].

Antioksidanların ilk belirtilen etkileri sadece membran yapısındaki doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu engellemesi iken günümüzde proteinleri, lipidleri, nükleik asitleri ve diğer makro molekülleri de koruduğu bilinmektedir. Antioksidanların etkileri başlıca iki şekilde gösterilir:

A- Serbest radikal oluşumunun önlenmesi: oksijeni uzaklaştırıcı veya azaltıcı etki, katalitik metal iyonlarını uzaklaştırıcı etki ve başlatıcı reaktif türevlerini uzaklaştırıcı etki olmak üzere üç şekilde gerçekleşir.

B- Oluşan serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesi: dört şekilde gerçekleşir

1. Toplayıcı etki: Enzimler ve mikromoleküller gibi antioksidanlar serbest oksijen radikallerini tutarlar veya daha az reaktif olan başka bir moleküle çevirirler.

2. Bastırıcı etki: flavinoid ve vitaminler gibi antioksidanlar serbest oksijen radikali ile etkileşip onlara bir hidrojen (proton) ekleyerek aktivite kaybına sebep olurlar.

3. Onarıcı etki: Oksidatif hasar görmüş molekülü onarırlar.

4. Zincir kırıcı etki: hemoglobin, serulopazmin ve mineraller gibi antioksidanlar serbest oksijen radikallerini ve zincirleme reaksiyonları başlatarak, diğer maddeleri kendilerine bağlayarak ve zincirlerini kırarak fonksiyonlarını önlerler [110].

Antioksidanlar enzimatik ve nonenzimatik olmak üzere ikiye ayrılırlar [120].

2.5.1. Enzimatik antioksidasyonlar

Asıl antioksidan savunmada yer alan glutatyon-S-transferaz, süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz, katalaz, glutatyon redüktaz ve sitokrom oksidaz gibi enzimler hücre içi serbest radikal toplayıcı enzimatik antioksidasyonlardır. Ayrıca bakır (Cu), selenyum (Se) ve çinko (Zn) gibi elementler bu enzimlerin işlevleri için gereklidir [120].

2.5.2. Enzimatik olmayan (nonenzimatik) antioksidasyonlar

Nonenzimatik antioksidasyonlarda suda çözünen ve lipofilik enzimatik olmayan antioksidasyonlar olarak ikiye ayrılır. Vitamin C (Askorbik asit), ürik asit, glutatyon seroplasmin, transferin gibi antioksidasyonlar suda çözünen nonenzimatik antioksidasyonlar iken vitamin E, karotenoidler, melatnin lipofilik enzimatik olmayan antioksidasyonlara örnek verilmektedir [120].

2.6. Fruktoz ile Nonalkolik Karaciğer Hastalığı Arasındaki İlişki

Meyve ve sebzelerde bulunan fruktoz hücre ve organizmaya enerji sağlamada ATP oluşumunda katkısının yanı sıra vücutta trigliserite ve az da olsa glikoza dönüştüğü bilinmektedir. Fruktoz glukozdan farklı olarak doğrudan yağ asitlerine dönüştürülmektedir [121].

Fruktoz karaciğerdeki fruktokinaz enzimi tarafından alınarak fruktoz-1 fosfata dönüştürülmekte, fruktoz-1 fosfat da aldolaz enzimi tarafından trioz fosfatlara dönüştürülüp böylece glikoza göre fruktoz, glikoliz olayına üç basamak önde başlamaktadır. Bu sebepten dolayı karaciğerde fruktozun glikoza oranla %60 daha fazla oranda yağ asitlerine dönüşmesi fruktozun glikoza göre daha çok lipit düzeyini artırmasına neden olmaktadır [9].

NAFLD vakalarının %70'i metabolik sendrom ile ilişkili olduğu ve batı diyeti ile beraber endüstrileşen gıda sanayisinde meşrubatlarda tatlandırıcı olarak kullanılan yüksek fruktozlu mısır şurubu tüketiminin artması karaciğerde yağlanmaya yol açtığı ve NAFLD hastalığını tetiklediği bilinmektedir [121].

X sendromu ve NAFLD birbirlerini tetikleyen patolojik unsurlar olup, nonalkolik yağlı karaciğer hastalarının bir bölümünde NAFLD'nin ileri versiyonu NASH geliştiği ve bu NASH gelişmesinde belirgin olan oksijen radikallerinin NAFLD ile hasara uğramış karaciğerde hücrel bozulmalara yol açtığı düşünülmektedir. Ayrıca NASH' da en belirgin unsur apoptotik hücre ölümüdür [121-122].

NAFLD'nin yağlı karaciğer iltihabı olan NASH'a zamanla dönüşebildiği ve NASH'ın %5 oranında karaciğer kanserine ve % 30 oranında siroza dönüştüğü bilinmektedir [121, 123]. Etiyolojik yönden incelenen NAFLD'nin dikkat çeken teorisi iki darbe teorisidir. İki darbe teorisine göre NAFLD, karaciğerin ilk darbeyi batı diyeti ve modern beslenme sebebiyle alınan aşırı miktardaki fruktozun yağa dönüşmesi ve karaciğerde depolanmasıdır. İkinci darbeye ise inflamatuvar etkiyle NASH'ın gelişmesidir [59].

Ackerman vd. (2005) yaptıkları çalışmada 5 hafta süresince % 60 fruktoz içeren zengin diyetle beslenmenin sıçanlarda NAFLD oluşturabileceği belirtmiştir. Bu 5 haftalık sürecin sonunda sıçanları karaciğer histolojisi incelendiğinde fruktozla beslenen grupta mikroveziküler ve makro veziküler yağlanma, firozis ve lobüler inflamasyon

geliştiği belirtilmiştir. Fruktozla beslenen sıçanların plazma ölçümlerinde ALT, AST, glikoz ve kolesterol düzeylerinde bir değişiklik olmadığı ancak insülin ve trigliserit düzeyleri yükseldiği ve aynı fruktozlu grubun karaciğer trigliserit ve kolesterol miktarının artmıştır [124].

NAFLD yetişkin bireylerin yaklaşık %20-30'unu etkileyen ve obezite ile birlikte seyreden en yaygın karaciğer hastalığı olduğu belirtilmiştir [68]. Fruktoz tüketiminin karaciğer dokusunda neden olduğu histolojik değişiklikleri belirtmek için rodentler üzerinde yapılan bir çalışmada bu değişikliklerin periportal bölgede lokal inflamasyon ve yine bu bölgede makroveziküler steatozis ve mikroveziküler steatozis görüldüğu ifade edilmiştir [121,125].

Botozelli vd. (2010) tarafından yapılan çalışmada % 60 fruktoz içeren diyet ile beslenen wistar sıçanlarında egzersizin metabolik bozukluklar üzerine etkisini incelemek için 28. ile 120. günler arasında günde 1saat haftada 5 gün yüzme egzersizi yapılmıştır. Çalışmanın sonunda sıçanlarda serum ALT düzeyi gruplar arasında farklılık görülmeyen ancak serum AST ve karaciğer yağlarının anlamlı bir şekilde düştüğu bildirilmiştir [126].

Yapılan bir çalışmada içme suyu içerisine %15 oranında fruktoz ve mısır şurubu ile tatlandırılmış meşrubatların haftada 3 gün ve 10 hafta boyunca sıçanlara verilmiştir. On hafta sonunda karaciğer histolojisinde belirgin şekilde bir değişikliğinin olmadığı, serum ALT, serum kolesterol ve trigliserit düzeylerinin ise yükseldiği belirtilmiştir [127].

2.7. *Helichrysum Plicatum* Subs. *Plicatum*

Dünyanın farklı bölgelerine dağılmış bir şekilde yüzlerce türü bulunan *Helichrysum* cinsi Asteraceae familyasında yer almaktadır. *Helichrysum* türleri parfümeride geniş kullanım alanına sahip olduğu ve önemli derecede farmakolojik özellikler gösterdiği bildirilmiştir [128].

Dünyada 500'den fazla türü bulunan *Helichrysum*, yeryüzünde (Akdeniz Bölgesi, Güney Afrika, Tropik Afrika, Ön Asya, Avrupa, Yeni Zelanda, Avustralya ve Madagaskar) geniş bir dağılımı olmakla birlikte kimyasal içeriğinin de zengin olması nedeni ile halk arasında kullanımı yaygın olan bir bitkidir [38].

Helichrysum cinsine ait türlerin dış görünüşleri pek çok modifikasyondan etkilendiği için taksonomik sınıflaması çoğu zaman kesin olmadığından dolayı Avrupa florasında taksonomik yönden kompleks bir bitki topluluğu olarak tanımlanmaktadır [45,128].

Helichrysum türleri halk arasında başlıca sindirim kolaylaştırıcı, safra artırıcı, antimikrobiyal, anti-enflamatuvar, idrar artırıcı, böbrek taşlarının düşürülmesinde, kulak ağrısı tedavisinde yara ve yanıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Pek çok *Helichrysum* türleri çay şeklinde demletilip kullanıldığı ayrıca prinçe, sebze ve meze türü gıdalarda yemeklik baharatlar olarakda kullanıldığı belirtilmiştir. *Helichrysum* türleri içinde flavonoid içeriği bakımında en zengin tür *Helichrysum plicatum* subs. *plicatum* türüdür. Bu türün içeriğinde %4,83 Helichrysin A ve B, naringenin, apigenin ve isoastragalin flavonoidleri mevcuttur [37,129].

Kuş (2012) tarafından yapılan çalışmada *helicsryum plicatum* sups. *plicatum* ve Ökseotu bitki ekstraktlarının alabalık filetosu üzerindeki antimikrobiyal ve antioksidan etkileri araştırılmıştır. Çalışma sonucunda ökseotu ekstraktının alabalık filetosunun raf ömrünü uzatmada önemli bir etki göstermediği ancak altınotu ekstraktının balığın duyuşal ve mikrobiyolojik başta olmak üzere bazı kimyasal kalitesini pozitif geliştirerek alabalık filetosunu raf ömrünü uzattığını belirtmiştir. Ayrıca *helicsryum plicatum* sups. *Plicatum* unalabalık filetosu üzerinde antioksidan ve güçlü antibakteriyel etkisinin olduğu ve altınotu ekstraktının başta histamin ve tiramin olmak üzere balık etinde biyojenik aminlerin birikimi üzerine inhibisyon etkisinin gözlemlendiği belirtilmiştir [140].

Aslan (1994) tarafından yapılan çalışmada Türkiye’de yetişen bazı *Helichrysum* türlerinin taşıdıkları flavonoit, uçucu yağ, rutubet ve tanen miktarları tespit edilmiş olup, *Helichrysum plicatum* Subs. *plicatum* un % 3.42 flavonoit, % 3,1 tanen ve % 0,382 uçucu yağ olarak ölçmüştür (Tablo2.2.) [38].

Tablo 2.2. Türkiye’de yetişen bazı *Helichrysum* türlerinin taşıdıkları flavonoit, uçucu yağ, rutubet ve tanen miktarları [38].

| Tür \ Madde | Flavonoit % | Uçucu Yağ % | | Tanen % | Rutubet % |
|--|-------------|------------------|-------------------|---------|-----------|
| | | Valümetrik (h/a) | Gravimetric (a/a) | | |
| <i>H.Sanguinem</i> | 6,43 | 0,1 | 0,058 | 2,64 | 7,25 |
| <i>H.Pamhylicum</i> | 1,86 | 0,3 | 0,186 | 3,26 | 6,35 |
| <i>H.stochas</i> ssp. <i>Barrelieri</i> | 2,83 | 0,2 | 0,176 | 5,84 | 6,63 |
| <i>H.plicatum</i> ssp. <i>pliatum</i> | 3,42 | 0,2 | 0,182 | 3,21 | 7,63 |

Erdoğrul vd. (2001) tarafından yapılan bir çalışmada *Helichrysum plicatum* DC. subsp. *Plicatum* ekstraktlarının 15 farklı bakteri tür ve suşu üz erinde antibakteriyel etkisini incelemiş olup, bu bitkinin yaprak, gövde ve çiçek kısımlarının antibakteriyel sonuçları Tablo 2.3’de verilmiştir [37].

Tablo 2.3. *Helichrysum plicatum* DC. subsp. *pliatum* ekstraktların antibakteriyel etkisi [37].

| Mikroorganizmalar | İnhibisyon zonu (mm) <i>Helichrysum plicatum</i> DC.subsp. <i>pliatum</i> ekstraktları | | | | | | | |
|--|---|----|----|----|----|----|----|----|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| <i>Bacillus brevis</i> FMC 3 | - | 20 | 18 | - | 20 | 21 | 22 | 25 |
| <i>B. megaterium</i> DSM 32 | - | 16 | 18 | - | 21 | 21 | 22 | 21 |
| <i>B. subtilis</i> IMG22 | - | - | - | - | 21 | 20 | 19 | - |
| <i>B. subtilis</i> var. <i>niger</i> ATCC 10 | 17 | 20 | 20 | 17 | 18 | 18 | 17 | 18 |
| <i>Corynebacterium xerosis</i> UC9165 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| <i>E. coli</i> DM | - | 17 | 19 | - | 25 | 26 | 29 | 31 |
| <i>Listeria monocytogenes</i> SCOTT A | 19 | 20 | - | 18 | 18 | 19 | 18 | - |
| <i>Micrococcus luteus</i> LA 2971 | - | 15 | 14 | - | 20 | 22 | 20 | 24 |
| <i>Mycobacterium smegmatus</i> RUT | 13 | - | - | - | 20 | 23 | 23 | 27 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 | - | - | - | - | 23 | 24 | 23 | 30 |
| <i>Streptococcus thermophilus</i> | - | 16 | 17 | - | 23 | 27 | 24 | 30 |
| <i>Yersinia enterocolitica</i> O:3 P 41797 | - | 20 | 20 | - | 13 | 19 | 24 | 25 |

1. *Helichrysum plicatum* DC.subsp. *pliatum* çiçeklerinin aseton ekstraktları,
2. Gövde ve yaprakların aseton ekstraktı,
3. Çiçeklerin metanol ekstraktı,
4. Gövde ve yaprakların metanol ekstraktı,

5. Çiçeklerin kloroform ekstraktı,
6. Gövde ve yaprakların kloroform ekstraktı,
7. Çiçeklerin etil asetat ekstraktı,
8. Gövde ve yaprakların etil asetat ekstraktı.

Ülkemizde Aslan (1994) tarafından yapılan çalışmada *Helichrysum* türlerinin halk ilacı olarak kullanımını ayrıntılı şekilde vermiştir (tablo 2.3). Ayrıca Kahramanmaraş ilimizin Andırın ilçesi civarında *Helichrysum* türlerinin kapitulumlarından hazırlanan dekoksiyonun mide ağrısı ve böbrek taşlarını düşürmek amacıyla kullanıldığı belirtilmiştir [38].

Tablo 2.4. Ülkemizde *Helichrysum* türlerinin kullanılış amacı, kullanılış şekli ve kullanıldığı şehir [38].

| Bölge | Kullanılış şekli | Kullanılış amacı |
|------------------|------------------|---|
| Beyşehir (Konya) | Dekoksiyon | Kalp atışlarındaki düzensizliğe karşı |
| Isparta | İnfüzyon | Böbrek taşlarına karşı |
| Şuhut (Afyan) | İnfüzyon | Mide ağrısına karşı |
| Kütahya | Dekoksiyon | Taş düşürücü ve böbrek hastalıklarına karşı |
| Bilecik | Dekoksiyon | Sarılığa karşı |
| Yozgat | Dekoksiyon | Mide ve böbrek ağrılarına karşı |
| Tokat | Toz | Yara tozu olarak |
| Ardahan | Dekoksiyon | İshale karşı |
| Ağrı | Dekoksiyon | Kalp atışlarındaki ishale karşı |
| Andırın | Dekoksiyon | mide ağrısı ve böbrek taşlarını düşürmeye karşı |

Yapılan literatür araştırmalarında *Helichrysum plicatum* subsp. *plicatum* ile ilgili genel olarak sınırlı sayıda çalışma yapıldığı tespit edilmiş olup *in vitro* olarak bazı biyokimyasal parametrelerin ölçümü yapıldığı görülmüştür [41]. *Helichrysum plicatum* subsp. *plicatum* bitki ekstraktının nonalkolik karaciğer yağlanması üzerine etkileri hakkında etkilerine dair *in vivo* olarak çok az çalışmanın mevcut olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışma neticesinde elde edilecek bulgular bu konuyla ilgili orijinal veriler olacaktır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

Bu çalışma Adıyaman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü 20.08.2014 tarih 2014/22-04,05 no'lu yönetim kurulu kararı ile kabul edilmiştir. Bu FBEYL/2014-0007 no'lu proje Adıyaman Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) koordinasyon birimi tarafından desteklenmektedir.

Çalışmanın etik kurulu Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu (FÜHADEK) başkanlığından 03.12.2014 tarihli ve 2014/24-230 karar no ile onay alındıktan sonra, standart deneysel hayvan çalışmaları etik kurallarına uygun olarak Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkez (FÜDAM)'nde yapıldı. Araştırmada 35 adet yetişkin, 200-250 gr ağırlığında erkek Wistar albino sıçan kullanılmıştır.

Sıçanlar standart koşullarda $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta, % 60-65 düzeyinde nem ve havalandırılmalı odalarda; 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık olacak şekilde döngünün sağlandığı şartlarda, her gün altları temizlenen kafeslerde her grup 4+3 olacak şekilde kafeslere yerleştirilmiştir.

8 hafta süren bu çalışma, uygulamalara 10 günlük adaptasyon süresinden sonra başlandı ve ekstrakt uygulamaları her gün aynı saatte yapıldı. Sıçanlara verilen yem rasyonunun bileşimi tablo 3.1'de verilmiştir. Yemler paslanmaz özel çelik kaplarda, su ise paslanmaz çelik bilyeli cam biberonlarda çeşme suyu olarak verilmiştir. Ayrıca mikroorganizma ve patojen etkenlerin üremesine engel olmak için içinde fruktoz çözeltisi olan cam biberonlar ve çeşme suyu olan cam biberonlar 2 günde bir yıkanarak fruktoz çözeltisi ile su yenilenmiştir.

Çalışmada her grupta 7 sıçan olacak şekilde şöyle guruplandırılmıştır.

1. Kontrol grubu (K) : Kontrol grubu standart diyetle beslenecek % 0.9 luk serum fizyolojik uygulandı.
2. Fruktoz grubu (F) :Fruktoz uygulaması Wagnerberger ve arkadaşlarının [33] yaptığı metoda göre yapılmıştır. Buna göre, uygulama grubuna % 50'luk (v/w) fruktoz suda hazırlanarak içme suyu olarak 8 hafta boyunca verildi.
3. *Helichrysum plicatum* subsp. *Plicatum* ekstraktı gurubu (HPsP): *Helichrysum plicatum* subsp. *plicatum* bitkisinin ekstraktı Pandanaboina ve arkadaşlarının

belirttiği metoda benzer şekilde hazırlanacaktır [130]. Sıcak suda (100 ml), kurutulmuş 20 gr HPsP bitkisi demlemeye bırakılacaktır. Karışım soğuduktan sonra süzülerek elde edilen HPsP ekstraktı 4 C⁰'de kapalı kaplarda saklanarak 4ml/kg olarak oragastrik olarak verilecektir

4. F + HPsP grubu: % 50'luk (v/w) fruktoz içme suyu + HPsP ekstraktı 4ml/kg olarak oragastrik olarak verildi.
5. Çift doz grubu: % 50'luk (v/w) früktoz içme suyu + HPsP ekstraktı sabah ve akşam aynı saatlerde günde 2 doz şeklinde 4ml/kg olarak oragastrik olarak verildi

Tablo 3.1. Sıçanlara verilen yemin bileşimi

| Yem maddeleri | % |
|--------------------|------|
| Buğday | 10 |
| Arpa | 15 |
| Kepek | 8 |
| Soyaküspesi | 26 |
| Balık unu | 8 |
| Et- kemik unu | 5 |
| Melas | 5 |
| Tuz | 5 |
| *Vitamin karması | 1,25 |
| * *Minarel karması | 1,25 |

* Vitamin karması: A, C, D3, E, K, B1,B2, B6, B12 vitaminleri ile nikotinamid, folik asit, biotin ve kolin klorit' den oluşmaktadır.

* * Minarel karması: Mangan, demir, çinko bakır, iyot, kobalt, selenyum kalsiyumdan oluşmaktadır.

Deney protokolünün 8. haftası tamamlandığında sıçanlar bir gecelik açlığı takiben anestezi altında dekapite edilerek karaciğer doku örnekleri alındı. Dokular izotonik fizyolojik su ile yıkanarak aliminyum folyo içerisine alınarak etiketlendi ve analize kadar -80 C°de bekletildi.

3.2. Yöntem

3.2.1. Kolesterol ve ADEK vitaminlerinin analiz metodu

1. Kolesterol ve ADEK vitaminlerin analizleri için 1 g karaciğer dokusu tartılıp üzerine 3/2 (60/40,v/v) oranında hazırlanan hekzan/izopropanol çözeltisinden 5 ml eklenerek homojenizatör cihazı ile homojenize edildi.
2. Homojenize edilen doku 15 ml'lik santrifüj tüplerine alınarak 6000 rpm, 4 °C'de 10 dakika santrifüj edilerek doku pelletinden ayrıldı. Süpernatant kısmın çözücüsü 45 °C'de uçuruldu ve 1 ml asetronitril/metanol karışımı (50/50) ile çözülerek otosampler viallerine alınarak HPLC cihazında analiz edildi.
3. Kolesterol ve ADEK vitaminlerin analizleri için 3/2 (60/40) oranında asetronitril/metanol çözeltisi mobil faz olarak hazırlanmıştır. Mobil fazın 1 dakikada akış miktarı 1 ml/dakika olarak belirlendi. Kolon sıcaklığı 40 °C de tutuldu[131].
4. Analiz için supelcosil LC 18_ (150 x 4.6 mm, 5 µm) kolon kullanıldı. Analiz UV dedektörde yapıldı ve dalga boyu; kolesterol ve vitamin E için 202 nm, retinol (vitamin A) için 326 nm olarak belirlendi [132]. Analiz sonucunda bulunan kolesterol ve ADEK vitaminlerin miktarı µg/g olarak hesaplandı.
5. Cihazda pompa olarak LC-10ADVP, UV dedektör olarak SPD-10AVP, kolon fırını olarak CTO-10ASVP, otosampler olarak SIL-10ADVP, degasser olarak DGU-14AVP üniteleri (Shimadzu, Kyoto Japan) kullanıldı. Analiz sonucundabulunan moleküllerin miktarı µg/g olarak hesaplandı.

3.2.2. Lipitlerin ekstraksiyonu

Karaciğer dokusu içindeki lipitlerin ekstraksiyonu Hara ve Radin metoduna göre yapıldı [133]. Bunun için 1 g karaciğer dokusu 3/2 (v/v) oranında 5 ml hekzan izopropanol çözeltisi içinde 30 sn süre ile homojenizatörde homojenize edildi. Her örnek homojenize edileceği zaman homojenizasyon kabı ve homojenizatör 2 ml hekzan izopropanol çözeltisi ile yıkanarak temizlendi. Daha sonra 10 dakika 5000 rpm'de santrifüj edilerek doku örneklerinin süpernatant kısmı alınarak ağzı kapalı deney tüplerine konuldu.

3.2.3. Yağ asidi metil esterlerinin hazırlanması

Lipitlerin yapısında bulunan yağ asitlerinin gaz kromatografik analizlerinin yapılabilmesi için kararlı yapıya sahip olan metil esterleri türevlerine dönüştürülmesi için christine metodu uygulandı.[134]. Metil esteri türevlerini hazırlamak için:

1. Hekzan/izopropanol fazı içindeki lipit ekstraktı 20 ml'lik deney tüplerine alınıp, üzerine 5 ml % 2'lik metanolik sülfirik asit ilave edilip vorteksle karıştırıldı.
2. Karışım 55 C°'lik etüvde 15 saat uçmaya bırakıldı. Daha sonra tüpler etüvden alınarak oda sıcaklığına kadar soğutuldu ve 5 ml % 5'lik NaCl (sodyum klorür) ilave edilerek vorteksle karıştırıldı.
3. Oluşan yağ asidi metil esterleri 5 ml hekzan ile ekstrakte edildi ve hekzan fazı pipetle alınarak 5 ml % 2 lik KHCO₃ ile muamele edildi ve fazların ayrılması için 10 saat bekletildi.
4. Daha sonra metil esterlerini içeren karışımın, 45 C°'de azot akımı altında çözücüsü uçuruldu, sonra 1 ml hekzan ile çözülerek 2 ml'lik ağzı kapalı autosamplar içine alınarak gaz kromatografisinde analiz edildi.

3.2.4. Yağ Asidi Metil Esterlerinin Gaz Kromatografik Analizi

Lipit ekstraktı içindeki yağ asitleri metil esterlerine dönüştürüldükten sonra SHIMADZU GC-2010 Plus Serisi (Serial number: C118050068535A) gaz kromatografisi ile analiz edildi. Bu analiz için 25 m uzunluğunda, 0,25 µm iç çapında ve PERMABOND 25 mikron film kalınlığına sahip Machery-Nagel (Germany) kapiller kolon kullanıldı. Analiz sırasında kolon sıcaklığı 120- 220 °C arasında programlandı. Enjeksiyon sıcaklığı 240 °C ve dedektör sıcaklığı 280 °C olarak tutuldu. Kolon sıcaklık programı 120 °C'den 220 °C'ye kadar ayarlandı. Sıcaklık artışı 200 °C'ye kadar 5 °C /dk ve 200 °C'den 220 °C'ye kadar 4 °C /dk olarak belirlendi. 220 °C'de 8 dakika tutuldu ve toplam süre 35 dakika olarak belirlendi. Taşıyıcı gaz olarak azot gazı kullanıldı. Analiz sırasında örneklere ait yağ asidi metil esterlerinin analizinden önce, standart yağ asidi metil esterlerine ait karışımlar enjekte edilerek, her bir yağ asidinin alıkonma süreleri belirlendi. Bu işlemden sonra gerekli programlama yapılarak örneklere ait yağ asidi metil esterleri karışımlarının analizi yapıldı. Sonuçlar toplam yağ

asitleri içinde her bir yağ asidi için % miktar olarak belirlendi. Hesaplamalar GC Solution 2.3 programı kullanılarak yapıldı.

3.2.5. Malondialdehit tayini

Lipit peroksidasyon ürünlerinden olan Malondialdehit (MDA), Yağ asitlerin serbest radikallerle reaksiyonu sonucu oluşur [135]. Malondialdehit analizi Karatepe'den modifiye edilerek yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC, Shimadzu, Tokyo, Japonya) yöntemiyle Shimadzu UV-Vis SPD-10 AVP detektör ve C18- ODS - 3,5 µm, 4.6 × 250 mm kolon kullanılarak ölçüldü [136].

- Hareketli faz olarak 30 mM KH₂PO₄ - metanol (% 82.5–17.5; pH: 3.6) kullanıldı.
- Kromatogramları 250 nm'de takip edildi ve enjeksiyon hacmi 20 µl idi.
- Akış hızı 1.2 ml/dakika olarak belirlendi.

HPLC analizi için:

1. 0,5 g karaciğer dokusu üzerine 1 ml saf su ve 1ml %10'luk perklorik asit saf su çözeltisi ilave edilerek homojenizatörde homojen edilir.
2. Daha sonra homojen edilmiş örnek santrifüj tüplerine (Isolab Germany) alınarak 10000 rpm'de 5 dakika 4 C° santrifüj edilip, supernatantı alınarak analiz için viallere koyuldu ve HPLC de analiz edildi.
3. MDA mobil Faz Çözeltisi hazırlamak için 0,05 g dihidrojen fosfat, 110 ml metanol ve 500 ml safsu karıştırılarak çözelti hazırlanır. MDA mobil faz çözeltisinin PH'ını 3,50 olarak düzenlemek için fosforik asit eklenerek PH metrede PH ayarlandı. Analiz sonucunda bulunan moleküllerin miktarı nmol/g olarak hesaplandı.

3.2.6. Glutatyon tayini

Glutatyon tayini Sedlak ve Lindsay metodundan modifiye edilerek UV spektrofotometrede 412 nm dalga boyunda saf suya karşı okunarak analiz edildi [137]. Analiz için örnekler % 50 TCA ile çöktürülüp, +4C°, 1000 rpm ve 5 dakika santrifüj edilerek 0,5 ml supernatantı alınarak üzerine 2 ml Tris-EDTA tamponu (0,2 M, pH=8,9) ve 0,1 ml 0,01 M 5,5'-ditiyo-bis-2-nitrobenzoik asit eklendi. Daha sonra bu karışım oda

sıcaklığında 5 dakika bekletildi ve spektrofotometrede 412 nm dalga boyunda saf suya karşı ölçüldü. Sonuçlar $\mu\text{mol/g}$ olarak hesaplandı.

4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İstatistiksel değerlendirme SPSS 16.0 FOR WINDOWS programı kullanılarak yapıldı. Gruplar arasındaki karşılaştırmalar için ONE WAY ANOVA testi uygulandı. Gruplar arasındaki farklılıklar LSD testinin uygulanması ile belirlendi ve standart sapma olarak standart error alındı. $p < 0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi.

5. BULGULAR

Yapılan bu deneysel çalışmada %50'luk (v/w) früktoz ile non alkolik yağlı karaciğer hastalığı oluşturulan Wistar albino cinsi erkek sıçanlara *Helichrysum plicatum* subsp. *plicatum* bitkielekstraktının karaciğer dokusunda kolesterol, GSH, A, D, E, K vitaminleri, MDA ve yağ asidi düzeyleri üzerine etkisi araştırıldı.

5.1. Karaciğer Dokusunda ADEK Vitaminleri, Kolesterol Düzeyleri ve Bazı Biyokimyasal Parametrelerin Değişimi

Karaciğer dokusu kolesteroldüzeyi kontrole göre F, HPsP,F+HPsP ve çift doz gruplarında belirgin düzeyde arttığı belirlendi ($p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.001$ ve $p<0.0001$). Retinol düzeyi kontrole göre HPsP grubunda belirgin düzeyde arttığı saptandı ($p<0.05$). K-1 vitamini kontrole göre F, HPsP,F+HPsP ve çift doz gruplarında arttığı ($p<0.05$, $p<0.0001$, $p<0.001$ ve $p<0.0001$),K-2 vitamini düzeyi ise kontrole göre HPsP,F, F+HPsP ve çift doz gruplarında azaldığı saptandı ($p<0.05$, $p<0.0001$, $p<0.0001$ ve $p<0.0001$).D-3 vitamini düzeyi kontrole göre F, F+HPsP ve çift doz gruplarında azaldığı saptandı ($p<0.01$ $p<0.0001$ ve $p<0.0001$). α -tokoferol düzeyi kontrole göre çift doz grubunda belirgin azalış saptandı ($p<0.05$).

MDA düzeyinin kontrole göre F ve HPsP,gruplarında belirgin düzeyde arttığı saptandı ($p<0.0001$ ve $p<0.0001$).GSH düzeyi ise kontrole göre F, HPsP ve F+HPsP gruplarında belirgin düzeylerde azaldığı ($p<0.0001$, $p<0.0001$ ve $p<0.01$) ve çift doz grubunda ise belirgin düzeyde arttığı saptandı ($p<0.0001$) (Tablo 5.1).

Tablo 5.1. Karaciğer dokusunda ADEK vitaminleri, Kolesterol düzeyleri ve bazı biyokimyasal parametrelerin değişimi

| Parametreler | KONTROL (K) | ALTINOTU (HPsP) | FRUKTOZ (F) | FRUK ALTIOTU (F+HPsP) | FRUK ALTIOTU ÇİFT DOZ |
|--------------|-------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| RETİNOL(μ/g) | 1,16±0,26 | 2,50±0,36 ^b | 1,40±0,33 | 1,4±0,23 | 0,96±0,26 |
| K-1 (μ/g) | 0,93±0,19 | 6,38±0,65 ^d | 2,41±0,55 ^a | 3,74±0,82 ^b | 4,87±0,92 ^d |
| K-2 (μ/g) | 3,86±0,26 | 3,13±0,21 ^a | 2,24±0,17 ^d | 2,17±0,16 ^d | 1,81±0,14 ^d |
| D-3 (μ/g) | 10,79±0,35 | 10,14±0,35 | 8,66±0,57 ^b | 8,24±0,42 ^d | 7,42±0,28 ^d |
| α-Tok (μ/g) | 48,53±3,38 | 46,12±2,46 | 39,88±2,88 | 40,97±2,42 | 31,33±5,35 ^a |
| Kol (μmol/g) | 4,24±0,8 | 8,04±0,87 ^a | 11,22±2,82 ^b | 16,27±5,36 ^c | 24,18±6,02 ^d |
| MDA(nmol/g) | 0,22±0,01 | 0,37±0,03 ^d | 0,39±0,02 ^d | 0,22±0,01 | 0,22±0,007 |
| GSH (μmol/g) | 0,28±0,01 | 0,14±0,01 ^d | 0,21±0,01 ^d | 0,25±0,01 ^b | 0,36±0,01 ^d |

a-p<0.05 b-p<0.01 c-p<0.001 d-p<0.0001

5.2. Karaciğer yağ asitleri düzeyleri

Karaciğer dokusundaki palmitik asit (16:0) düzeyinin kontrole göre F, F+HPsP ve çift doz gruplarında arttığı saptandı (p<0.0001, p<0.05 ve p<0.0001). Palmitoleik asit (16:1 n-9) düzeyinin kontrole göre F+HPsP ve çift doz grubunda arttığı saptandı (p<0.0001, p<0.01).

Pentadecenoic (15:00) asit düzeyi kontrole göre HPsP, F, F+HPsP ve çift doz gruplarında azaldığı saptandı (p<0.01, p<0.0001, p<0.0001ve p<0.0001). Heptadekonoik asit (17:0) düzeyinin kontrole göre HPsP, F ve F+HPsP gruplarında azalma saptandı (p<0.01, p<0.0001, p<0.0001). Stearik asit (18:0) düzeyinin kontrole göre F grubunda azalma saptandı (p<0.01).

Tablo 5.2. Karaciğer yağ asitleri düzeyleri (%)

| Yağ Asitleri | KONTROL (K) | FRUKTOZ (F) | FRUKTOZ + ALTIN OTU (F+ HPsP) | FRUKTOZ ALTIN OTU ÇİFT DOZ | ALTIN OTU (HPsP) |
|--------------|-------------|-------------------------|-------------------------------|----------------------------|------------------------|
| 15:0 | 0,59±0,08 | 0,39±0,01 ^d | 0,32±0,02 ^d | 0,28±0,02 ^d | 0,45±0,03 ^b |
| 16:0 | 21,48±0,39 | 36,81±2,35 ^d | 30,18±2,78 ^a | 28,51±1,10 ^d | 22,57±0,64 |
| 16:1 n-9 | 1,60±0,13 | 0,79±0,22 | 7,04±1,14 ^d | 4,24±0,10 ^b | 1,57±0,12 |
| 17:0 | 1,24±0,15 | 0,38±0,02 ^d | 0,40±0,02 ^d | 0,42±0,03 ^d | 0,85±0,11 ^b |
| 17:1 | 0,68±0,03 | 0,69±0,01 | 0,62±0,06 | 0,39±0,01 ^d | 0,64±0,04 |
| 18:0 | 15,94±0,42 | 11,27±0,73 ^d | 13,87±0,96 | 16,53±0,55 | 17,48±1,05 |
| 18:1, n-9 | 8,72±0,27 | 18,34±1,31 ^d | 14,74±0,89 ^d | 13,51±0,78 ^b | 8,28±0,48 |
| 18:2, n-6 | 18,78±0,33 | 8,68±0,69 ^d | 9,85±1,15 ^d | 9,71±0,36 ^d | 19,13±0,72 |
| 18:3, n-6 | 0,21±0,01 | 0,25±0,05 | 0,12±0,07 ^a | 0,13±0,01 | 0,19±0,01 |
| 20:0 | 0,10±0,06 | 0,14±0,09 | 0,04±0,003 | 0,05±0,002 | 0,33±0,16 |
| 18:3,n-3 | 0,39±0,01 | 0,10±0,01 ^d | 0,12±0,02 ^d | 0,10±0,005 ^d | 0,41±0,04 |
| 20:2 | 0,46±0,01 | 0,05±0,02 ^d | 0,12±0,01 ^b | 0,09±0,006 ^d | 0,44±0,04 |
| 20:3,n-3 | 0,53±0,04 | 1,01±0,06 ^d | 1,12±0,05 ^d | 0,85±0,08 ^a | 0,70±0,05 |
| 22:0 | 0,11±0,009 | 0,04±0,005 ^d | 0,06±0,008 ^b | 0,09±0,01 | 0,09±0,002 |
| 20:3,n-6 | 0,73±0,02 | 0,74±0,11 | 0,90±0,08 | 0,92±0,08 | 0,56±0,13 |
| 20:4,n-6 | 19,25±0,58 | 12,86±0,78 ^d | 14,49±1,68 ^b | 17,02±1,01 | 19,36±0,75 |
| 23:0 | 0,17±0,005 | 0,07±0,006 ^d | 0,07±0,007 ^d | 0,9±0,006 ^d | 0,17±0,007 |
| 22:2 | 0,16±0,01 | 0,15±0,02 | 0,18±0,02 | 0,09±0,007 ^a | 0,17±0,01 |
| 20:5,n-3 | 0,02±0,006 | 0,009±0,0005 | 0,01±0,002 | 0,01±0,003 | 0,05±0,03 |
| 24:0 | 0,54±0,02 | 0,41±0,03 ^b | 0,43±0,03 ^a | 0,48±0,02 | 0,56±0,02 |

a-p<0.05 b-p<0.01 c-p<0.001 d-p<0.0001

Tablo 5.2. Karaciğer yağ asitleri düzeyleri devamı (%)

| Yağ Asitleri | KONTROL (K) | FRUKTOZ (F) | FRUKTOZ + ALTIN OTU (F+ HPsP) | FRUKTOZ ALTIN OTU ÇİFT DOZ | ALTIN OTU (HPsP) |
|-------------------|-------------|-------------------------|-------------------------------|----------------------------|-------------------------|
| 24:1,n-9 | 0,21±0,008 | 0,28±0,03 ^a | 0,34±0,02 ^d | 0,31±0,005 ^b | 0,23±0,01 |
| 22:6,n-3 | 4,60±0,17 | 4,00±0,27 | 3,31±0,39 ^b | 3,88±0,15 | 4,43±0,31 |
| monosat | 11,68±0,73 | 16,62±2,85 | 20,98±3,29 ^b | 18,63±0,75 ^a | 11,34±0,50 |
| polysat | 45,20±0,68 | 24,73±3,16 ^d | 30,31±3,12 ^d | 32,85±1,34 ^b | 44,24±1,76 |
| N3 | 0,39±0,10 | 0,10±0,01 ^d | 0,12±0,02 ^d | 0,10±0,005 ^d | 0,41±0,04 |
| N6 | 18,78±0,33 | 8,68±0,69 ^d | 9,85±1,15 ^d | 9,71±0,36 ^d | 19,13±0,72 |
| N3/N6 | 0,02±0,001 | 0,01±0,001 ^a | 0,01±0,003 ^a | 0,01±0,001 ^a | 0,02±0,002 |
| ΣN3 | 5,56±0,18 | 5,13±0,28 | 4,57±0,41 ^a | 4,86±0,22 | 5,54±0,30 |
| ΣN6 | 39,11±0,52 | 22,65±1,22 ^d | 25,45±2,74 ^d | 27,88±1,28 ^d | 39,61±0,84 |
| ΣN3/ΣN6 | 0,14±0,003 | 0,21±0,02 ^b | 0,18±0,008 ^a | 0,17±0,009 | 0,14±0,01 |
| 16:1,n-7/16:0 | 0,07±0,005 | 0,02±0,004 | 0,22±0,02 ^d | 0,14±0,005 ^b | 0,06±0,004 |
| 18:1,n-9/18:0 | 0,57±0,05 | 1,64±0,14 ^d | 1,10±0,13 ^b | 0,82±0,07 | 0,48±0,04 |
| 18:3,n-6/18:2,n-6 | 0,01±0,0006 | 0,03±0,009 ^a | 0,01±0,002 | 0,01±0,002 | 0,009±0,0008 |
| 20:4,n-6/20:3,n-6 | 26,24±1,44 | 18,64±2,12 | 15,97±1,16 | 18,72±1,05 | 43,80±8,05 ^a |

a-p<0.05 b-p<0.01 c-p<0.001 d-p<0.0001

Oleik asit (18:1 n-9c) düzeyinin kontrol grubuna göre F, F+HPsP ve çift doz gruplarında arttığı saptandı (p<0.0001, p<0.0001 ve p<0.01). Eikosatrienoik asit (20:3, n3) düzeyinin kontrol grubuna göre F, F+HPsP ve çift doz gruplarında arttığı saptandı(p<0.0001, p<0.0001 ve p<0.05). .Gama linoleik (18:3 n-6) asit düzeyi F+HPsP grubunda azaldığı saptandı (p<0.05). Dokosadienoik asit (22:2) düzeyinin kontrole göre çift doz grubunda belirgin azalma saptandı(p<0.05).

Alfa-linolenik asit (18:3,n-3), tricosanoic asit (23:0), 20:2 yağ asit, N3 ve N6 yağ asit düzeyi kontrole göre F, F+HPsP ve çift doz gruplarında aynı düzeyde azaldığı saptandı ($p<0.0001$). Araşidonik asit (20:4 n-6) düzeyi kontrole göre F ve F+HPsP gruplarında belirgin düzeyde azaldığı saptandı ($p<0.0001$ ve $p<0.01$). Nervonic asit (24:1 n-9) düzeyi kontrole göre F, F+HPsP ve çift doz gruplarında belirgin derecede artmıştır ($p<0.05$, $p<0.0001$ ve $p<0.01$). Kontrole göre dokosaheksanoik asit (22:6 n-3) düzeyi F+HPsP grubunda belirgin derecede azalmıştır ($p<0.01$). Kontrole göre monosat yağ asitleri düzeyi F+HPsP ve çift doz gruplarında belirgin derecede artmıştır ($p<0.01$ ve $p<0.05$). Polysat yağ asitleri düzeyi kontrole göre F, F+HPsP ve çift doz gruplarında azalmıştır ($p<0.0001$, $p<0.0001$ ve $p<0.01$).

N3/N6 grubunda kontrole göre yağ asit düzeyi F, F+HPsP ve çift doz gruplarında belirgin derecede azaldığı saptandı ($p<0.05$). $\Sigma N3$ düzeyi kontrole göre F+HPsP grubunda azaldığı saptandı ($p<0.05$). $\Sigma N6$ miktarında F, F+HPsP ve çift doz gruplarında azaldığı saptandı ($p<0.0001$). $\Sigma N3/\Sigma N6$ grubunda ise kontrole göre F, ve F+HPsP ve grubunda belirgin derecede arttığı saptandı ($p<0.01$ ve $p<0.05$) (Tablo 5.2).

6. TARTIŞMA

Non alkolik yağlı karaciğer hastalığı NAFLD, artık dünyanın özellikle de gelişmiş ve batı diyeti uygulanan ülkelerden yaygın görülen kronik karaciğer hastalığı olmakla, basit steatozdan steatohepatite, hepatik fibroz, siroz ve HCC'ye kadar uzanan geniş bir yelpazeyi kapsayan ve farklı derecedeki durumlar için kullanılan bir patolojik durumdur [21]. Günümüzde diyetlerin batılılaşması, sedenter yaşam, fiziksel aktivitenin azalması ve endüstrileşme ile beraber hazır yiyecek ve içeceklerde enerji veren tatlandırıcı olarak fruktoz tüketiminin artması sonucunda NAFLD gibi çeşitli metabolik hastalıklarda hızla artış gözlenmektedir [29,138].

Çalışmamızda karaciğer dokusu kolesteroldüzeyi kontrole götürüm gruplarda belirgin düzeyde arttığı saptandı. Figlewicz vd. (2009) tarafından yapılan 10 haftalık bir çalışmada içme suyu içerisine %15 oranında fruktoz ve mısır şurubu tatlandırılmış meşrubatların haftada 3 gün olacak şekilde sıçanlara vermesi ile sıçanların karaciğer histolojisinde belirgin bir değişikliğin olmadığı ancak serum ALT, serum kolesterol ve trigliserit düzeylerinin ise yükseldiği belirtilmiştir [127]. Ackerman vd. (2005) yaptıkları çalışmada 5 hafta süresince %60 fruktoz içeren zengin diyetle beslenen sıçanlarda NAFLD oluşturabileceği belirtmiştir. Bu 5 haftalık sürecin sonunda sıçanları karaciğer histolojisi incelendiğinde früktozla beslenen grupta mikroveziküler ve makroveziküler yağlanma, fibrozis ve lobüler inflamasyon geliştiği belirtilmiştir. Fruktozla beslenen sıçanların plazma ölçümlerinde ALT, AST ve glikoz düzeylerinde bir değişiklik olmadığı ancak insülin ve trigliserit düzeyleri yükseldiği ve aynı fruktozlu grubun karaciğer trigliserit ve kolesterol miktarı artmıştır [124]. Tekataş (2011) tarafından yapılan çalışmada NAFLD tanısı konulan 31 hasta ile 40 kontrol grubu olmak üzere 71 birey üzerinde yapılan incelemede NAFLD grubunda kontrole göre AST, ALT, GGT, total kolesterol, LDL, VLDL ve trigliserit değerlerinin anlamlı yükseklik saptandığını belirtmiştir ($p<0.001$) [63]. Işık (2011) tarafından karaciğer dokusu üzerinde ampisilin'in yağ asitleri, kolesterol ve bazı vitamin değerlerinin etkisini araştırmış olup, kolesterol düzeyinin arttığını belirtmiştir [135]. Balan (2014) tarafından yapılan çalışmada deneysel olarak nonalkolik steatohepatit oluşturulmuş ratlarda *tribulus terrestris* ekstraktının karaciğer ve endotel fonksiyonları üzerine koruyucu etkisini araştırılmıştır. Balan'ın 8 haftalık çalışmasında NASH

oluşumu için % 70 oranında fruktoz kullanıldığını belirtmiştir. Çalışma sonucunda kolesterol düzeyi kontrole göre fruktoz ile NASH oluşturulan grupta yüksek bulunduğunu belirtmiştir [141].Çabuk Çelik (2014) tarafından yapılan çalışmada %50 fruktozla oluşturulan nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı modelinde rifaksim'in önleyici etkisini incelemişlerdir. Bu çalışmada NAFLD modeli oluşturulan ratların biyokimyasal parametre analizinde kolesterol, MDA, AST ve ALT parametrelerine bakmışlardır ve kontrole göre fruktoz alan grupta kolesterolün anlamlı düzeyde arttığını belirtmiştir[65].Özaltın (2014) tarafından tavşanlar üzerinde yapılan çalışmada hiperkolesterolemi ile oluşturulan non-alkolik karaciğer yağlanması Evitaminin karaciğer moleküler mekanizması üzerine etkisini araştırmıştır. Çalışmada MDA, kolesterol, LDL, HDLve E vitamini düzeylerine bakmış olup kolesterol düzeyinin kontrole göre kolesterol ve vitamin E gruplarında yüksek bulunduğunu belirtmiştir. [142].Kuzu (2008) tarafından yapılan 8 haftalık çalışmada 40 adet erkek Sprague-Dawley ratlara yağdan zengin diyetle oluşturulan deneysel nonalkolik steatohepatit tedavisinde melatoninin rolü incelenmiştir. Bu çalışmada kontrole göre yağdan zengin diyetle beslenen grup 2'de AST, ALT, karaciğer doku MDA ve kolesterol düzeylerini analiz etmiş olup kolesterol düzeyininarttığını belirtmiştir [143]. Özgöçmen (2010) tarafından yapılan çalışmada 29 adet Swiss cinsi erkek albino fare iki gruba ayrılarak kontrol grubuna sınırsız yem ve su verildiği, diğer 2. gruba ise %30 fruktoz verilerek alkolik olmayan farelerde karaciğer yağlanması visfatin ve interlökin-6 'nın etkisini incelediği çalışmasında kolesterol, AST, ALP ve glukoz değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunduğunu belirtmiştir [147].Figlewicz vd. (2009), Ackerman vd. (2005), Tekataş (2011), Işık (2011), Balan (2014), Çabuk Çelik (2014), Özaltın (2014),Özgöçmen (2010) ve Kuzu (2008)'in yaptıkları çalışmalarda kolesterol düzeyleri çalışmamızla uyumaktadır.

Retinollün metabolizmada önemli etkileri mevcuttur. Hücre büyümesini ve farklılaşmasını kontrol eder [150-151]. Hepatik hücre farklılaşmasını inhibe eder ve makrofajlardaki proinflamatuvar sitokinlerin üretimine yardım eder[152-153].Aynı zamanda koruyucu bir antioksidan olup hepatoma hücrelerinin bölünmesini baskılayıp serbest oksijen radikallerini nötralize eder [154]. Çalışmamızda Sadece altın otu ekstraktının retinol düzeyini anlamlı derecede artırırken kombinasyon guruplarda ve fruktoz uygulamasında istatistiksel olarak bir anlamlılık göstermediği görülmüştür.

Çalışmamızda karaciğer dokusu K-1 ve K-2 vitamin düzeyleri kontrole göre K-1 vitaminin tüm gruplarda belirgin düzeyde artarken, K-2 vitamin düzeyinde ise tüm gruplarda belirgin düzeyde azaldığı ve α -Tok vitaminin çift doz grubunda belirgin düzeyde azaldığı diğer gruplarda ise azalmanın olduğu ancak istatistiksel olarak bu azalma anlamlı düzeyde değildir. Işık (2011) tarafından yapılan çalışmada karaciğer dokusu üzerinde ampisilin'in yağ asitleri, kolesterol ve bazı vitamin değerlerinin etkisini incelemiştir. Bu çalışmada,, K-1 vitaminin ve kolesterolün arttığını, K-2 vitaminin ve α -Tok vitaminin azaldığını belirtmiştir [135]. Bu sonuçlarımızla paralellik arz etmektedir.

Alfa-tokoferol radikal temizleyici ve bağ kırıcı antioksidan özellikler sergilemekte olup direkt olarak oksitlenen radikallerle etkileşerek hücreyi hücreyi reaktif oksijen türlerinden korur [155-157]. Kronik karaciğer hastalıklarında Antioksidan düzeyi ile vitamin E düzeyinin azaldığı bildirilmiştir [154, 158]. Ayrıca Özalın (2014) tarafından tavşanlar üzerinde yapılan çalışmada hiperkolesterolemi ile oluşturulan non-alkolik karaciğer yağlanması tavşanlara 50 mg/kg/gün E vitamini verilerek, E vitaminin karaciğer moleküler mekanizması üzerine etkisini MDA, kolesterol ve E vitamini parametrelerin düzeylerine bakmıştır. Bu çalışmada E vitamini verildiği grup 2 ve grup 4'de E vitamin değerleri kontrole göre anlamlı derece arttığını belirtmiştir [142]. Bu çalışmanın E vitamin düzeyleri çalışmamızın E vitamin düzeyleri ile uyuşmamaktadır.

Barchetta vd. (2011) diyabet, obezite ve insülin direncinden farklı olarak azalmış vitamin D düzeylerinin nonalkolik karaciğer yağlanması ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir [159]. Çalışmamızda da karaciğer dokusu D-3 vitamin düzeyi kontrole F, F+HPsP ve çift doz gruplarında belirgin düzeylerde azaldığı saptandı. Aynı zamanda ileri dercede karaciğer hasarı olan bireylerde vitamin D bağlayıcı protein düzeylerinde azalma olduğu bildirilmiştir [160]. Ayrıca Targer vd. (2007) tarafından yapılan çalışmada serum 25(OH)D vitamini konsantrasyonlarının NAFLD ile ilişkili olduğunu belirtmiş olup, non alkolik yağlı karaciğer hastalığı olanlarda 25(OH)D3 vitaminin azalmış olduğunu ortaya koymuşlardır [139].

Aşırı fruktoz tüketiminin karaciğer metabolizmasını kötü yönde etkilediği, lipid peroksidasyonunu da arttırdığı ve lipid peroksidasyonun en önemli ürünü MDA olduğu bilinmektedir [148-149]. Çalışmamızda karaciğer dokusu MDA düzeyleri kontrole göre

F ve HPsP gruplarında belirgin şekilde ve aynı düzeyde arttığı GSH düzeyinin ise F, HPsP, F+HPsP gruplarında azaldığı ve çift doz grubunda ise belirgin şekilde arttığı saptandı. Özaltın (2014) tarafından tavşanlar üzerinde yapılan çalışmada hiperkolesterolemi ile oluşturulan non-alkolik karaciğer yağlanması tavşanlarda MDA, kolesterol ve E vitamini parametrelerin düzeylerini incelemiştir. Bu çalışmada MDA düzeyi kontrole göre vitamin E grubunda MDA değeri düşük bulunurken, kolesterol alan grup (grup 3) ve kolesterol ile E vitamini birlikte alan grupta (grup 4) MDA değerinin arttığını belirtmiştir [142]. Grup 3 ve grup 4'de MDA'nın artması çalışmamızla uyumludur. Çabuk Çelik (2014) tarafından ratlar üzerinde yapılan çalışmada %50 fruktozla oluşturulan nonalkolik yağlı karaciğer hastalığına rifaksim'in önleyici etkisini incelemişlerdir [65]. Bu çalışmada NAFLD modeli oluşturulan ratların biyokimyasal parametre analizinde kolesterol, MDA, AST ve ALT değerleri incelenmiş ve kontrole göre fruktoz alan grupta bu değerlerin arttığını ve rifaksim'in verilen verilen grupta ise MDA düzeyinde azalmanın olduğu belirtmiştir. Fruktoz verilen grupta MDA değerinin artması çalışmamızla uyumaktadır. Kuzu (2008) tarafından erkek Sprague-Dawley ratlar üzerinde yapılan çalışmada yağdan zengin diyetle oluşturulan deneysel nonalkolik steatohepatit tedavisinde melatonin'in etkisini incelemiştir. Bu çalışmada kontrole göre yağdan zengin diyetle beslenen grupta AST, ALT, karaciğer doku MDA ve kolesterol düzeylerinin arttığını, GSH düzeyinin ise kontrole göre yağdan zengin diyetle beslenen grup 2'de azalma görüldüğü ancak bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlılık oluşturmadığını belirtmiştir. Melatonin verilen grup 3 (10mg/kg gün) ve grup 4'te (50 mg/kg gün) ise GSH düzeyinin arttığını belirtmiştir [143]. Bu çalışmamızın MDA ve GSH düzeyi çift doz grubumuzla uyumaktadır. Muratoğlu (2004) tarafından yapılan nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı tanılı bireylerde konvansiyonel inflamasyon ve oksidatif stres belirteçlerinin düzeyleri adlı çalışmasında MDA değerinin arttığını belirtmiştir [49]. Albano vd. (2005) tarafından yapılan çalışmada oksidatif stres belirtreci olan MDA düzeyinin NAFLD'de fibrozise ya da siroza ilerleyişinde belirgin şekilde arttığını belirtmiştir [151]. Araya vd. (2004) ve Malaguarnera vd. (2005) tarafından yapılan çalışmada MDA düzeyinin steatoz ve NASH hastalarının kontrol grubuna göre arttığını belirtmişlerdir [145-146]. Bu MDA çalışmaları çalışmamızla uyumaktadır.

Stearoyl-CoA desaturazlar(SCD) karaciğerde sentezlenir. Δ^9 -desaturaz [stearil-CoA-desaturaz (SCD)], Δ^6 -desaturaz (Δ^6D) ve Δ^5 -desaturaz (Δ^5D) enzimleri uzun zincirli doymuş yağ asitlerinin karbon atomları arasına çift bağ girişini sağlayarak doymuş yağ asitlerindeki doymamış yağ asitlerinin sentezini sağlarlar. Palmitik asitten palmitoleik, stearik asitten oleik asit sentezlerler [161-163].

C16:1 'in C16:0 oranı, C18:1 to C18:0'e oranı Δ^9 desaturasyon indeksi olarak kullanılır [164]. Çalışmamızda C16:1/C16:0 ve C18:1/C18:0 oranının artmış olması SCD aktivitesinin arttığını ve yağlanmanın meydana geldiğini gösterir. 20:4, n6 ve 22:6, n3 yağ asitleri desaturasyonla 18:2 n6 ve 18:3, n3 yağ asitlerinden Δ^6 and Δ^5 desaturaz enzimleri tarafından sentezlenir [165]. Bütün 18: 3 n-3 ve 18:2 n-6 yağ asitleri karaciğerde daha uzun zincirli yağ asitlerine dönüştürülürler. 18: 3 n-3 eikosapentaenoik(20:5, n 3) asid'e, oda dokosaheksaenoik (22:6, n 3) aside dönüşür. 18:2 n-6 araşhidonik asitin öncü molekülüdür. Fruktoz verilen grupta Δ^6 -desaturaz enzimi ürünü olan aynı zamanda yağlanmanın bir işareti olan araşhidonik asid (20:4, n6) düzeyinin azaldığı, bitki ekstraktı verilen gruplarda fruktoz grubuna göre arttığı saptandı. ve 22:6, n3 yağ asidi sonuçlarında istatistiksel olarak bir değişikliğin olmaması sürpriz bir sonuç olarak karşıöza çıkmaktadır.

Çalışmamızda karaciğer dokusu yağ asit düzeyleri kontrole göre heptadekonoik asit (17:0) düzeyinin kontrole göre HPsP, F ve F+HPsP gruplarında azaldığı, tetrakosanoik (24:0) yağ asidi düzeyinin kontrole göre F ve HPsP gruplarında azalma saptandı. Işık (2011) tarafından yapılan çalışmada karaciğer dokusu üzerinde ampisilin'in yağ asitleri bulgularında heptadekonoik (17:0) ve tetrakosanoik (24:0) yağ asidi düzeyinin azaldığını belirtmiştir [135]. Bu veriler çalışmamızla uyumaktadır.

Sonuç olarak sıçanlara %50 fruktoz verilerek karaciğerde alkol dışı yağlanma gelişmektedir. Sıçanlara oral *helichrysum plicatum* subsp. *plicatum* ekstraktının verilmesiyle incelenen karaciğer dokusunda antioksidan sistemde etkili olan GSH, lipid peroksidasyon ürünü olan MDA, ADEK vitaminleri, kolesterol düzeyleri ve karaciğer yağ asitlerini değişik düzeylerde etkilediği gözlemlenmiştir. Bu biyokimyasal parametrelerin bazılarında belirgin düzeyde anlamlılık saptanırken, bazılarında ise istatistiksel olarak bir anlamlılık oluşturmadığı gözlenmiştir. *helichrysum plicatum* subsp. *plicatum* bitkisinin Nonalkolik karaciğer yağlanması üzerine etkisi ile ilgili daha ileri düzey çalışmalarla ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKÇA

1. Baysal, A., (2008). Beslenme Biyokimyası, 1. Bölüm, 12. Baskı, Hatiboğlu Yayınları, Ankara.
2. Köseler, E., (2011). Farklı miktarlarda tüketilen früktozun, vücut ağırlığı ve bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkisi, Yüksek lisans tezi, Başkent üniversitesi, Ankara.
3. Foster-Powel, K., Holt, S.H., Brand-Miller, J.C., (2002). International table of glycemic index and glycemic load values. American Journal of Clinical Nutrition, 76: 5-56.
4. Aksoy, M., (2011). Beslenme Biyokimyası, 4. Bölüm, 3. Baskı, Hatiboğlu Yayınları, Ankara.
5. Abdullah, M.M., Riediger, N.N., Chen, Q., Zhao, Z., Azordegan, N., Xu, Z., Fischer, G., Othman, R.A., Pierce, G.N., Tappia P.S., Zou, J., Moghadasian, M.H. (2009). Effects of long-term consumption of a high-fructose diet on conventional cardiovascular risk factors, in Sprague-Dawley rats, Mol. Cell. Biochem, 327:247–256.
6. Drewnoeski, A., Bellisle, F., (2007). Liquid calories, sugar and body weight. American Journal of Clinical Nutrition, 85: 651-661.
7. Forshee, R.A., Storey, M.A., Allison, D.B., Glinsmann, W.H., Hein, G.L., Lineback, D.R., Miller, S.A., Nicklas, T.A., Weaver, G.A., White, J.S., (2007). A critical examination of the evidence relating high fructose corn syrup and weight gain, Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 47: 561-582.
8. Long, J. E., (1991). Food Science and Technology, 48: 247-258.
9. Bergheim, I., Weber, S., Vos, M., Kraemer, S., Volynets, V., Kaserouni, S., McClain, C.J. Bischoff, S.J., (2008). Antibiotics protect against fructose-induced hepatic lipid accumulation in mice: Role of endotoxin, Journal of Hepatology, 48 983–992.
10. USDA. U.S per capita food consumption, Beltsville, MD: US Department of Agriculture, Economic Research Services, 2006.
11. White, J.S., (2008). Straight talk about high-fructose corn-syrup what it is and what it ain't, American Journal of Clinical Nutrition, 88: 1716-1721.

12. Tappy, L., Lê, K. A., Tran, C., Paquot, N., (2010). Fructose and metabolic diseases: new findings, new questions. *Nutrition*, 26: 1044-1049.
13. Reaven, G.M., Chen, Y.D., Jeppesen, J., Maheux, P., Krauss, R.M., (1993). Insulin resistance and hyperinsulinemia in individuals with small, dense low density lipoprotein particles, *Journal of Clinical Investigation*. 2: 141-146.
14. Jurgens, H., Haass, W., Castañeda, T.R., Schurmann, A., Koebnick, C., Dombrowski, F., Otto, B., Nawrocki, A.R., Scherer, P.E., Spranger, J., Ristow, M., Joost, H.G., Havel, P.J., Tschop, M.H., (2005). Consuming Fructose-sweetened beverages increases body adiposity in mice, *Obesity Research*, 13: 1146–1156.
15. Ouyang, X., Cirillo, P., Sautin, Y., McCall, S., Bruchette, J.L., Diehl, A.M., Johnson, R.J., Abdelmalek, M.F. (2008). Fructose consumption as a risk factor for non-alcoholic fatty liver disease, *Journal of Hepatology*, 48: 993–999.
16. Adams, L. A., and Lindor, K.D., (2007). Nonalcoholic Fatty Liver Disease, *AEP* Vol, 17(11): 863–869.
17. WHO. (2003). Diet, Nutrition and the prevention of chronic diseases. Technical Report Series 916, Geneva.
18. Mensink, R.P., Plat, J. and Schrauwens, P., (2008). Diyet ve nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı, *Current opinion in lipidology, Türkçe Baskı*, 19, 25-29.
19. Aydın, A., (2004). Alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı saptanan olgularda endotel fonksiyonlarının değerlendirilmesi. *Kardiyoloji uzmanlık tezi, Sağlık Bakanlığı Dr. Siyami Ersek Göğüs Kalp ve Damar Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi*, 50 s., İstanbul.
20. Polat, Z., (2006). Nonalkolik yağlı karaciğerli hastalarda SREB-1a gen polimorfizmi. *Yan dal uzmanlık tezi, Gülhane Askeri Tıp Akademisi*, s.46, Ankara.
21. Coşkun, U., (2012). Non Alkolik Steatohepatit İle Mthfr A1298c Ve C677t Gen Polimorfizimleri Arasındaki İlişki. *İç Hastalıkları Uzmanlık Tezi, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi*, s.51. Mersin.
22. Dowman, J.K., Tomlinson, J.W., and Newsome, P.N., (2011). Systematic review: the diagnosis and staging of non-alcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis. *Aliment Pharmacol Ther.*, 33(5): p. 525-40.
23. Musso, G., Gambino, R., and Cassader, M., (2010). Non-alcoholic fatty liver disease from pathogenesis to management: an update. *Obes Rev*, 11(6): p. 430-45.

24. Soderberg, C., et al.,(2010). Decreased survival of subjects with elevated liver function tests during a 28-year follow-up, *Hepatology*, 51(2): p. 595-602.
25. Rhee, E.J., Kim, M.K., Park, S.E., Park, C.Y., Baek, K.H., Lee, W.Y., Kang, M Park, S.W., Kim, S.W., and Oh, K.W., (2013). High serum vitamin D levels reduce the risk for nonalcoholic fatty liver disease in healthy men independent of metabolic syndrome *endocrine Journal*, 60 (6):743-752.
26. Serviddio, G., Bellanti, F., Vendemiale G., (2013). Free radical biology for medicine: learning from nonalcoholic fatty liver disease *Free Radical Biology and Medicine* Volume 65: 952–968.
27. Lee, R.G., (1994). Fibrosis and cirrhosis. *Diagnostic Liver Pathology*. First Ed. Mosby-ear Book Inc, 280- 304.
28. Shimiziu, I., (2001) Antifibrogenic therapies in Chronic HCV infection. *Current Drug Targets Infectious Disorders*, 1 (2): 227-240.
29. Hallfrisch, I., Angelico, F., Del Ben, M., Baroni, M.G., Pozzilli, P., Morini, S., Cavallo, M.G., (2011). BMC Med. Strong association between non alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and low 25(OH) vitamin D levels in an adult population with normal serum liver enzymes, 9:85.
30. Okazaki, M., Zhang, H., Yoshida, Y., Ichino, K., Nakayama, S., Oguchi K., (1994). Correlation between plasma fibrinogen and serum lipids in rats with hyperlipidemia induced by cholesterol free-high fructose or high cholesterol diet. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*, 40:479–489.
31. Inoue, I., Takahashi, K., Katayama, S., (1995). Effect of troglitazone (CS-045) and bezafibrate on glucose tolerance, liver glycogen synthase activity, and beta-oxidation in fructose-fed rats. *Metabolism*, 44:1626–1630.
32. Hallfrisch, J., Ellwood, K.C., Michaelis, O.E., Reiser, S., O’Dorisio, T.M., Prather, E.S., (1983). Effects of dietary fructose on plasma glucose and hormone responses in normal and hyperinsulinemic men. *J. Nutr.*, 113:1819–1826.
33. Wagnerberger, S1., Spruss, A., Kanuri, G., Volynets, V., Stahl, C., Bischoff, S.C., Bergheim, I., (2012). Toll-like receptors 1-9 are elevated in livers with fructose-induced hepatic steatosis *Br. J. Nutr.*, 107(12):1727-38.
34. Davis, P.H., Mill, R.R., Tan, K., (1988). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, 10, University Press, Edinburg, pp. 159-160.

35. Watt, J.M., Breyer-Brandwijk, M.G., (1962). *The Medicinal and Poisonous Plants of Southern and Eastern Africa*, second ed., Livingstone, London.
36. Meyer, J.J.M., Dilika, F., (1996). Antibacterial activity of *Helichrysum pedunculatum* used in circumcision rites, *Journal of Ethnopharmacology*, 53: 51-54.
37. Erdoğan, O.T., Cakıroğlu, E. and Karaman, S., (2001). Antibacterial activities of *Helichrysum plicatum* subsp. *plicatum* extracts, *The Sciences*, 1, (3), 176-178.
38. Aslan, M., (1994). *Helichrysum plicatum* D.C. ssp. *plicatum* Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakognozik Anabilim Dalı, Ankara.
39. Güner, A., et al., (Ed.), (2000). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, 11, University Press, Edinburg, pp. 153-154.
40. Süzgeç, S., et al., (2005). Flavonoids of *Helichrysum compactum* and their antioxidant and antibacterial activity, *Fitoterapia*, 76:269-272.
41. Albayrak, S., Aksoy, A., Sagdic, O., Budak, U., (2010). Phenolic compounds and antioxidant and antimicrobial properties of *Helichrysum* species collected from eastern Anatolia, *turkish journal of biology*, 34 (4) 463-473.
42. Karaca, M., Ozbek, H., Akkan, H.A., Tutuncu, M., Ozgokce, F., Him, A., Bakir, B., (2009). Anti-Inflammatory Activities of Diethyl-Ether Extracts of *Helichrysum plicatum* DC. and *Tanacetum balsamita* L. in Rats, *asian journal of animal and veterinary advances*, 4 (6): 320-325.
43. Sezik, M., Aslan, M., Orhan, D.D., Erdemoglu, E., Pekcan, M., Mungan, T., Sezik, E., (2010). Improved metabolic control and hepatic oxidative biomarkers with the preconception use of *Helichrysum plicatum* ssp *plicatum*, *journal of obstetrics and gynaecology*, 30 (2): 127-131.
44. Aslan, M., Orhan, D.D., Orhan, N., Sezik, E., Yesilada, E., (2007). In vivo antidiabetic and antioxidant potential of *Helichrysum plicatum* ssp *plicatum* capitulurns in streptozotocin-induced-diabetic rats, *journal of ethnopharmacology* 109 (1): 54-59.
45. Czinner, E., Hagymasi, K., Blazovics, A., Kery, A., Szöke, E., and Lemberkovic, E., (2000). *In vitro* antioxidant properties of *Helichrysum arenarium* (L.) Moench, *Journal of Ethnopharmacology*, 73:437-443.

46. Falck-Ytter, Y., et al.,(2001). Clinical features and natural history of nonalcoholic steatosis syndromes. *Semin Liver Dis.*, 21(1): p. 17-26.
47. Younossi, Z.M., Diehl, A.M., and Ong, J.P., (2002). Nonalcoholic fatty liver disease: an agenda for clinical research, *Hepatology*, 35(4): p. 746-52.
48. Ploeg R. J., Knechtle, S.J., Stegall, M.D., Pirsch, J.D., Hoffmann ,R.M., et al, (1993). Risk factors for primary dysfunction after liver transplantation—a multivariate analysis, *Transplantation.*, 55: p. 807–13.
49. Muratoğlu, S., (2014). Nonalkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı Tanılı Bireylerde Konvansiyonel İnflamasyon ve Oksidatif Stres Belirteçlerinin Düzeyleri, Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
50. Tilg, H., Diehl, A.M., (2000). Cytokines in alcoholic and nonalcoholic steatohepatitis, *N Engl J Med*, 343: 1467-1476.
51. Cave, M., Deaciuc, I., Mendez, C., Song, Z., Joshi-Barve, S., Barve, S., et al., (2007). Nonalcoholic fatty liver disease: predisposing factors and the role of nutrition, *J. Nutr., Biochem*, 18: 184.
52. Ludwig, J., Viggiano, T.R., McGill, D.B., Oh, B.J., (1980). Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. *Mayo Clin Proc*, 55: 434-438.
53. Sanyal, A.J., et al., (2001). Nonalcoholic steatohepatitis: association of insülin resistance and mitochondrial abnormalities, *Gastroenterology*, 120(5): p. 1183-92.
54. Shoelson, S.E., Herrero, L., Naaz, A., (2007). Obesity, inflammation, and insulin resistance, *Gastroenterology*, 132(6): p. 2169-80.
55. Kopec, K.L., Burns, D., (2011). Nonalcoholic fatty liver disease: a review of the spectrum of disease, diagnosis, and therapy, *Nutr Clin Pract*, 26(5): p. 565-76.
56. Sazci, A., et al., (2008). Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms in patients with nonalcoholic steatohepatitis (NASH), *Cell Biochem Funct*, 26(3): p. 291-6.
57. Ananina, F.A., (2004). Nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*, 4(1).
58. Collantes, R., Ong, J., Younossi, Z., (2004). Nonalcoholic fatty liver disease and the epidemic of obesity, *Cleveland Clinic Journal of Medicine*, August, 71(8).

59. Adams, L.A., Angulo, P., Lindor, K.D, (2005). Nonalcoholic fatty liver disease. *CMAJ*,172(7): 899-905.
60. Browning, J.D., (2004). Molecular mediators of hepatic steatosis and liver injury, *J. Clin Invest*, 114: 147-152.
61. Russo, M.W., Jacobson, I.M., (2002). Nonalcoholic fatty liver disease. *Hospital Physician*, 67: 36-41.
62. Rao, M.S., Reddy, J.K., (2001). Peroxisomal beta-oxidation and steatohepatitis, *Semin Liver Dis.*, 2001; 21: 43-55.
63. Tekataş, D.D., (2011). Nonalkolik Yağlı Karaciğer Hastalığında Anjiotensin Converting Enzim (ACE) Düzeyi ve ACE Gen Polimorfizmi Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Elazığ.
64. Vural, Ö., (2008). Hepatosteatoz tanısı konan olgularda biyokimyasal değişiklikler ve tiroid fonksiyon testlerinin ilişkisi, Aile hekimliği uzmanlık tezi, İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul.
65. Çabuk Çelik, N., (2014). Fruktozla Oluşturulan Nonalkolik Yağlı Karaciğer Modelinde Rifaksimim'in Önleyici Rolü, Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Elazığ
66. Abdelmalek, M.F., Diehl, A.M., (2007). Nonalcoholic Fatty liver disease as a complication of insulin resistance. *Med Clin North Am.*, 91(6):1125-49.
67. Day, C., Saksena, S., (2002). Non-alcoholic steatohepatitis: Definitions and pathogenesis. *Journal of Gastroenterology and Hepatology. Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 17: S377–S384.
68. Xiong, M.A., Zhiping, L.I., (2006). Sisheaanseghai Branch Pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis (NASH). *Chinese Journal of Digestive Diseases*, 7; 7–11.
69. Demir, K., (2004). Alkole bağlı olmayan Yağlı Karaciğer Hastalığı: Etyoloji ve patogenez. *Çapa Gastroenteroloji Günleri*, Edt.: Beşışık, F., İstanbul Medikal Yayıncılık, 90-94.
70. Letteron, P., Fromenty, B., Terris, B., Degott, C., Pessayre, D., (1996). Acute and chronic hepatic steatosis lead to in vivo lipid peroxidation in mice. *J Hepatol*, 24: 200-208.

71. Gümüşdiş, G., Kokuludağ, A., (2002). Yağlı Karaciğer. Ege Dahili Tıp Günleri Özet Kitabı, 47: 72-74.
72. James, O., Day, C., (1999). Non-alcoholic steatohepatitis: another disease of affluence. Lancet, 353: 1634-1636.
73. Neuschwander-Tetri, B.A., (2001). A resistance movement in NASH. Am J Gastroenterol, 96: 2813-2814.
74. Pessayre, D.A., Berson, B., Fromenty, B., (2001). Mitochondria in steatohepatitis. Semin Liver Dis., 21: 57-69.
75. Utzschneider, K.M., Kahn, S.E., (2006). The Role of Insulin Resistance in Nonalcoholic Fatty Liver Disease, J Clin Endocrinol Metab, 91(12): 4753-4761.
76. Hayashi, T., Boyko, E.J., Leonetti, D.L., McNeely, M.J., Newell-Morris, L., Kahn, S.E.,(2003). Visceral adiposity and the risk of impaired glucose tolerance: a prospective study among Japanese Americans. Diabetes Care, 26: 650-655.
77. Malaguarnera, L., Rosa, M.D., Zambito, A.M., dell'Ombra, N., Marco, R.D., Malaguarnera, M., (2006). Potential role of chitotriosidase gene in nonalcoholic fatty liver disease evolution, Am J Gastroenterol, 101: 2060-2069.
78. Yamazaki, Y., Kakizaki, S., Horiguchi, N., Sohara, N., Sato, K., Takagi, H.(2007). The role of the nuclear receptor constitutive androstane receptor in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis, Gut, 56: 565-574.
79. Kocaman, O., Şentürk, Ö., (2008). Alkol dışı karaciğer yağlanması hastalığı, Clinic Med., 5: 54-55.
80. Clark, J.M., Brancati, F.L., Diehl, A.M., (2003). The prevalence and etiology of elevated aminotransferase levels in the United States. Am J Gastroenterol, 98: 960-967.
81. Torres, D., Harrison, M., Stephen, A., (2008). Non Alkolik Steatohepatit Tanı ve Tedavisi Türkiye Klinikleri Gastroenterology Türkçe Baskı, 3: 152-170.
82. Ouchi, N., Kihara, S., Arita, Y., Maeda, K., Kuriyama, H., Okamoto, Y., (1999). Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocytederived plasma protein adiponectin. Circulation, 100: 2473-2476.
83. Fishman, S., Muzumdar, R.H., Atzmon, G., Ma, X., Yang, X., Einstein, F.H., (2007). Resistance to leptin action is the major determinant of hepatic triglyceride accumulation *in vivo*, FASEB J., 21: 53-60.

84. Huang, W., Dedousis, N., O'Doherty, R.M., (2007). Hepatic steatosis and plasma dyslipidemia induced by a high-sucrose diet are corrected by an acute leptin infusion, *J. Appl. Physiol*, 102: 2260-2265.
85. Marra, F., (2007). Leptin and liver tissue repair: do rodent models provide the answers? *J. Hepatol*, 46: 12-18.
86. Tilg, H., Hotamisligil, G.S., (2006). Nonalcoholic fatty liver disease: cytokine/adipokine interplay and regulation of insulin resistance, *Gastroenterology*, 131: 934-945.
87. Pittas, A.G., Joseph, N.A., Greenberg, A.S., (2004). Adipocytokines and insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab*, 89(2): 447-452.
88. Bokarewa, M., Nagaev, I., Dahlberg, L., Smith, U., Tarkowski, A., (2005). Resistin, an adipokine with potent proinflammatory properties, *J Immunol*, 174: 5789-5795.
89. Kern, P.A., Ranganathan, S., Li, C., Wood, L., Ranganathan, G., (2001). Adipose tissue tumor necrosis factor and interleukin-6 expression in human obesity and insulin resistance, *Am. J. Physiol*, 280: 745-751.
90. Bastard, J.P., Jardel, C., Bruckert, E., Blondy, P., Capeau, J., Laville, M., (2000). Elevated levels of interleukin 6 are reduced in serum and subcutaneous adipose tissue of obese women after weight loss. *J. Clin. Endo. Metab*, 85: 3338-3342.
91. Fontana, L., Eagon, J.C., Trujillo, M.E., Scherer, P.E., Klein, S., (2007). Visceral fat adipokine secretion is associated with systemic inflammation in obese humans, *Diabetes*, 56: 1010–1013.
92. Uysal, K.T., Wiesbrock, S.M., Marino, M.W., (1997). Hotamisligil GS. Protection from obesity-induced insulin resistance in mice lacking TNF- α function. *Nature*, 389: 610-614.
93. Hotamisligil, G.S., Arner, P., Caro, J.F., Atkinson, R.L., Spiegelman, B.M., (1995). Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor- in human obesity and insulin resistance, *J. Clin. Invest*, 95: 2409.
94. Wigg, A.J., Roberts-Thomson, I.C., Dymock, R.B., McCarthy, P.J., Grose, R.H., Cummins, A.G., (2001). The role of small intestinal bacterial overgrowth, intestinal permeability, endotoxaemia, and tumour necrosis factor in the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis, *Gut*, 48: 206- 211.

95. Li, Z., Yang, S., Lin, H., Huang, J., Watkins, P.A., Moser, A.B., et al. (2003). Probiotics and antibodies to TNF inhibit inflammatory activity and improve nonalcoholic fatty liver disease, *Hepatology*, 37: 343-350.
96. Hanson, R.L., Imperatore, G., Bennett, P.H., Knowler, W.C., (2002). "Components of the metabolic syndrome and incidence of type 2 diabetes", *Diabetes*, 51(10): 3120-3127.
97. Grattagliano, I., Palmieri, V.O., Portincasa, P., Moschetta, A., Palasciano, G., (2008). "Oxidative stress-induced risk factors associated with the metabolic syndrome: A unifying hypothesis", *J. Nutr. Biochem.*, 19(8): 491-504.
98. Gaby, A.R., (2005). Adverse effects of dietary fructose, *Altern. Med. Rev.*, 10(4): 294-306.
99. Hamaguchi, M., Kojima, T., Takeda, N., Nakagawa, T., Taniguchi, H., Fujii, K., et al. (2005). The metabolic syndrome as a predictor of nonalcoholic fatty liver disease, *Ann Intern Med.*, 143:722-8.
100. Marchesini, G., Bugianesi, E., Forlani, G., Corelli, F., Lenzi, M., Manini, R., et al. (2003). Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. *Hepatology*, 37:917-23.
101. Halliwell, B., Gutteridge, J.M., (1984). Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage, and antioxidant therapy, *The Lancet*, 23: 1396-1397.
102. Mercan, U., (2004). Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi, *YYU Vet. Fak. Dergisi*, 15 (1-2) 91-96.
103. Akkuş, İ., (1995). Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yayınları, Konya.
104. Bowler, R.P., Crapo, J.D., (2002). Oxidative Stres in Allergic Respiratory Diseases, *J. Allergy Clin Immunol*, 110(3):349-356.
105. Keser, G., (2005). Nasturtium officinale R. Br.'de Kursunun Strese Bağlı Enzimlerin Aktivitelerine, Gelişmeye, Mineral ve Klorofil İçerigine Etkileri. Çukurova Üniv., Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans tezi, Adana.
106. Modi, K.P., Vishwakarma, S.L., Goyal, R.K., Bhatt, P.A., (2007). Effects Of Coenzyme Q10 On Lipid Levels And Antioxidant Defenses In Rats With Fructose Induced Hyperlipidemia And Hyperinsulinaemia, *The Internet Journal of Pharmacology*, 5.

107. Neuschwander-Tetri B.A., Brunt, E.M., Wehmeier, K.R., Sponseller, C.A., Hampton, K., Bacon, B.R., (2003). Interim results of a pilot study demonstrating the early effects of the PPAR-gamma ligand rosiglitazone on insulin sensitivity, aminotransferases, hepatic steatosis and body weight in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol*, 38: 434-440.
108. Mittal, S., (2007). Components of Metabolic Syndrome. *The Metabolic Syndrome in Clinical Practice*, 1st Edition. New York, Springer-Verlag, 21-83.
109. Özdoğan, M.S., (2011). Metabolik Sendrom Oluşturulmuş Ratlarda Alfa Lipolik Asit ve Koenzim Q10 Uygulamanın Oksidatif Stres ve Endotelial Disfonksiyon Belirteçlerine Etkileri, Uzmanlık Tezi, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Elazığ.
110. Bozkurt, N., (2014). DMBA İle Oluşturulan Rat Karaciğer Hasarında Resveratrol ve Pekmezin Karaciğer Enzimleri ve Oksidatif Stres Parametreleri Üzerine Etkilerinin Araştırılması, Yüksek Lisans tezi, İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Malatya.
111. Zámbo, V., Simon-Szabó, L., Szélnyi, P., Kereszturi, E., Bánhegyi, G., Csala, M., (2013). Lipotoxicity in the liver, *World J Hepatol*; 27(5): 550-557.
112. Seifert, E.L., Estey, C., Xuan, J.Y., Harper, M.E., (2010). Electron transport chain independent and -independent mechanisms of mitochondrial H₂O₂ emission during long-chain fatty acid oxidation, *J Biol Chem*. 285: 5748-5758.
113. Janero, D.R., (1990). Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury, *Free Radic Biol Med*. 9: 515-540.
114. Eryürek, B., (2012). Metabolik Sendrom'da İnflamasyon ve Oksidatif Stres, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir.
115. Morrow, J.D., Hill, K.E., Burk, R.F., Nammour, T.M., Badr, K.F., Roberts, L.J., (1990). A series of prostaglandin F₂-like compounds are produced in vivo in humans by a non-cyclooxygenase, free radical-catalyzed mechanism, *Proc Natl Acad Sci USA*. 87: 9383-9387.

- 116.Gökbulut, İ., (2009). Oksidatif Strese Maruz Kalmış Farelerin Keten Tohumu ile Beslenmesinin Çeşitli Biyobelirteçler Üzerine Etkisi, İnönü Üniv., Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi.
- 117.Turan, Abdullah., (2014). Etil Alkol İle Deneysel Oksidatif Stres Oluşturulan Sıçanlarda Kuru İncirin (Ficus Carica L.Subsp. Carica.) Karaciğer Koruyucu ve Antioksidan Rolünün Belirlenmesi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek lisans Tezi, Van.
- 118.Ercan, H., (2009). Metabolik Sendromlu Hastalarda ve Sağlıklı Bireylerde Oksidatif Stresin Araştırılması, Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya anabilim dalı, Yüksek Lisans Tezi, Konya.
- 119.Turan, A., (2014). Etil Alkol İle Deneysel Oksidatif Stres Oluşturulan Sıçanlarda Kuru İncirin (Ficus Carica L.Subsp. Carica.) Karaciğer Koruyucu ve Antioksidan Rolünün Belirlenmesi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek lisans Tezi, Van.
- 120.Güvenç, M., (2008). Resveratrol, Lipoik Asit ve Vitamin C'nin Tip-I Diyabetli Sıçanların Karaciğer Böbrek ve Eritrositlerinde Lipofilik Vitaminler Kolesterol Ve Yağ Asidi Bileşimi Üzerine Etkileri, Fırat üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Elazığ.
- 121.Yıldırım, O.G., (2012). Yüksek Fruktoz ile Beslenen Sıçanlarda Kan Lipit Profili ve Karaciğer Lipit Akümüasyonu Üzerine Resveratrolün Etkisinin İncelenmesi, Gazi Üniversitesi, sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Yüksek lisans tezi, Ankara.
- 122.Atış, F.T., (2012). Yüksek Fruktozlu Mısır Şurubu ve Sukroz Tüketiminin Wistar Albino Cinsi Sıçanlarda Obezite Üzerine Etkisi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, yüksek lisans tezi, Isparta.
- 123.Perseghin, G., (2010). The role of non-alcoholic fatty liver disease in cardiovascular disease. Dig. Dis., 28(1): 210-3.
- 124.Ackerman, Z., Herman, M.O., Rosenthal, M.G.T., Pappo, O., Link, G., Sela, B.A., (20052). Fructose-induced fatty liver disease hepatic effects of blood pressure and plasma triglyceride reduction, Hypertension, 45(5): 1012-8.

125. Neuschwander-Tetri, B.A., (2005). Nonalcoholic steatohepatitis and the metabolic syndrome, *Am J Med Sci.*, 330:326–35.
126. Botezelli, J.D., Mora, R.F., Dalia, R.A., Moura, L.P., Cambr,i L.T., Ghezzi, A.C., Voltarelli, F.A., Mello, M.A.R., (2010). Exercise counteracts fatty liver disease in rats fed on fructose-rich diet, *Lipids Health Dis.*, 14; 9: 116.
127. Figlewicz, D.P., Loannou, G., Jay, J.B., Kittleson, S., Savard, C., Roth C.L., (2009). Effect of moderate intake of sweeteners on metabolic health in the rat, *Physiology & Behavior.*, 98(5): 618-24.
128. Bianchini, A., Tomi, P., Costa, J., and Bernardini, A.F., (2001). Composition of *Helichrysum italicum* (Roth.) G. Don fil. subsp. *italicum* essential oils from Corsica (France), *Flavour and Fragrance Journal*, 16, 30-34.
129. Oliveira, C.P., Costa, L.C., Gayotto, C., Tatai, B.I., Della, Bina., M., Janiszewski, E.S., Lima, D.S., Abdalla, F.P., Lopasso, F.R., Laurindo, A.A., Laudanna., (2002). Oxidative stress in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease, in rats fed with a choline-deficient diet *J. Cell Mol. Med.*, 6:399–406.
130. Pandanaboina, S.C., Kondeti, S.R., Rajbanshi, S. L., K., P. N., ext. (2012). Alterations in antioxidant enzyme activities and oxidative damage in alcoholic rat tissues: Protective role of *Thespesia populnea* *Food Chemistry* 132:150–159.
131. Bragagnolo, N., Rodriguez-Amaya, D.B., (2003). Comparison of the cholesterol content of Brazilian chicken and quail eggs, *J Food Comp Anal* 16, 2, 147-53.
132. Katsanidis, E., Addis, P.B., (1999). Novel HPLC analysis of tocopherols and cholesterol in tissue, *Free Radic Biol Med* 27, 11-12, 1137-40.
133. Hara, A., Radin, N.S., (1978). Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent, *Analytical Biochemistry* 90, 420-26.
134. Christie, W.W., 1992, *Gas chromatography and lipids*, The Oil Pres Glaskow, 302.
135. Işık, B., (2011). Ampisilin'in Erkek Sıçan Kalp ve Karaciğer Dokularındaki Yağ Asitleri, Kolesterol ve Bazı Vitamin Değerlerine Etkisinin İncelenmesi, Ahi Evran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Kırşehir.
136. Karatepe M., (2004). Simultaneous Determination of Absorbic Acid and Free Malondialdehyde in Human Serum by HPLC/UV. *LC-GC North Am.*, 22(4), pp.362-365.

- 137.Sedlak, J., Lindsay, R.H., (1968). Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent, *Analytical Biochemistry*, 25(1):192-205.
- 138.Gören, B., Fen, T., (2005). Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı. *Turkiye Klinikleri J. Med. Sci.*, 25: 841-85.
- 139.Targher, G., Bertolini, L., Scala, L., (2007). Associations between serum 25-hydroxyvitamin D3 concentrations and liver histology in patients with non-alcoholic fatty liver disease, *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 17: 517-524.
- 140.Kuş, B., (2012). Altınotu ve Ökseotu Bitki Ekstrelerinin Alabalık Filetosu Üzerindeki Antimikrobiyal ve Antioksidan Etkilerinin İncelenmesi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Adana.
- 141.Balan, P., (2014). Deneysel Olarak Nonalkolik Steatohepatit Oluşturulmuş Ratlarda Tribulus Terrestrisin Karaciğer ve Endotel Fonksiyonları Üzerine Koruyucu Etkisinin Araştırılması, Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Elazığ.
- 142.Özaltın, E., (2014). Hiperkolesterolemi ile Oluşturulan Non-Alkolik Karaciğer Yağlanması Karaciğerdeki Moleküler Mekanizmanın incelenmesi, Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.
- 143.Kuzu, N., (2008). Yağdan Zengin Diyetle Oluşturulan Deneysel Nonalkolik Steatohepatit Tedavisinde Melatoninin Rolü, Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Uzmanlık tezi, Elazığ.
- 144.Albano, E., Mottaran, E., Vidali, M., Reale, E., Saksena, S., Occhino, G., et al., (2005). Immune response towards lipid peroxidation products as a predictor of progression of non-alcoholic fatty liver disease to advanced fibrosis. *Gut*, 54: 987-993.
- 145.Araya, J., Rodrigo, R., Videla, L.A., Thielemann, L., Orellana, M., Pettinelli, P., et al. (2004). Increase in long-chain polyunsaturated fatty acid n-6/n-3 ratio in relation to hepatic steatosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Sci (Lond)*, 106: 635-643.

146. Malaguarnera, L., Madeddu, R., Palio, E., Arena, N., Malaguarnera, M., (2005). Heme oxygenase-1 levels and oxidative stress-related parameters in non-alcoholic fatty liver disease patients. *J Hepatol*, 42: 585-591.
147. Özgöçmen, M., (2010). Alkolik Olmayan Farelerde Karaciğer Yağlanmasında Visfatin ve İnterlökin-6'nın Etkisinin İncelenmesi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji Ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Isparta.
148. Armutçu, F., Kanter, M., Güral, A., Unalacak, M. (2007). Aşırı besinsel fruktoz sıçan karaciğer dokularında yağlanma ve lipid peroksidasyonundan sorumludur, *Türkiye Klinikleri J. Med. Sci.*, 27 (2): 164-9.
149. Kalender, S., Kalender, Y., Ögütçü, A., et al. (2002). Endosülfan induced cardiotoxicity and free radical metabolism in rats. The Protective effect of vitamin E, *Toxicology*, 202: 227–235.
150. Dong, H., Lu, F.E., Zhao, L., (2012). Chinese herbal medicine in the treatment of nonalcoholic fatty liver disease. *Chin J Integr Med.* 18(2):152-60.
151. Xiao, J., Liang, E.C., Ching, Y.P., Chang, R.C., So, K.F., et al. (2012). Lycium barbarum polysaccharides protect mice liver from carbon tetrachloride-induced oxidative stress and necroinflammation. *J Ethnopharmacol* 139: 462-470.
152. Yang, L.L., Wang, M., Liu, T., Song, H.Y., Li, D.F., Zheng, P.Y., Liu, P., Ji G. 2011. Effects of Chinese herbal medicine Jiangzhi Granule on expressions of liver X receptor α and sterol regulatory element-binding protein-1c in a rat model of non-alcoholic fatty liver disease]. *Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao.* 9(9):998-1004.
153. Botella-Carretero, J.I., Balsa, J.A., Vázquez, C., Peromingo, R., Díaz-Enriquez, M., Escobar-Morreale, H.F., (2010).. Retinol and alpha-tocopherol in morbid obesity and nonalcoholic fatty liver disease. *Obes Surg*, Jan;20(1):69-76.
154. Di Sario, A., Candelaresi, C., Omenetti, A., Benedetti, A., (2007). Vitamin E in chronic liver diseases and liver fibrosis. *Vitam Horm*, 76:551-73.
155. Burton, G.W., Ingold, K.U., (1986). Vitamin E: application of principles of physical organic chemistry to the exploration of its structure and function., *Acc. Chem. Res.*, 19 pp. 194–201.

156. Jones, D.P., Kagan, V.E., Aust, S.D., Reed, D.J., Omaye, S.T., (1995). Impact of nutrients on cellular lipid peroxidation and antioxidant defense system., *Fundam. Appl. Toxicol.*, 26, pp. 1–7.
157. Cortez-Pinto, H., Jesus, L., Barros, H., Lopes, C., Moura, M.C., Camilo, M.E., (2006). How different is the dietary pattern in non-alcoholic steatohepatitis patients? *Clin Nutr*, 25:816–823.
158. Patra, R.C., Swarup, D., Dwivedi, S.K., (2001). Antioxidant effects of α tocopherol, ascorbic acid and L-methionine on lead induced oxidative stress to the liver, kidney and brain in rats. *Toxicology Volume 162, Issue 2, 11, Pages 81–88.*
159. Barchetta, I., Angelico, F., Del-Ben, M., Baroni, M.G., Pozzilli, P., Morini, S., Cavallo, M.G., *BMC Med.* (2011). Strong association between non alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and low 25(OH) vitamin D levels in an adult population with normal serum liver enzymes, 10,1186 / 1741-7015-9-85.
160. Carthy, E.M., ERinella, M.E., (2012). The Role of Diet and Nutrient Composition in Nonalcoholic Fatty Liver Disease *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics Volume 112, Issue 3, Pages 401–409.*
161. Toshimitsu, K., Matsuura, B., Ohkubo, I., Niiya, T., Furukawa, S., Hiasa, Y., et al. (2007). Dietary habits and nutrient intake in non-alcoholic steatohepatitis, *Nutrition*, 23:46–52.
162. Ntambi, J.M., Miyazaki, M., Stoehr, J.P., Lan, H., Kendziorski, C.M., et al. (2002) Loss of stearoyl-CoA desaturase-1 function protects mice against adiposity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99: 11482-11486.
163. Nakamura, M.T., Nara, T.Y., (2004). *Ann. Rev. Nutr.*, 24, 345.
164. Kisun, N.L., Michael, W.P., Ntambi, J.M., (1998). Conjugated Linoleic Acid Decreases Hepatic Stearoyl-CoA Desaturase mRNA Expression. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 248 (3) 817–821.
165. Youdim, K.A., Martin, A., Joseph, J.A.. (2000). Essential fatty acids and the brain: possible health implications. *Int J Dev Neurosci*, 18(4-5):383-99.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : İbrahim DOĞAN
Doğum Yeri : Tut/Adıyaman
Doğum Tarihi : 24.08.1987
Medeni Hali : Bekar
Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Adıyaman Atatürk Lisesi (2003-2006)
Lisans : Fırat Üniversitesi Eğitim Fakültesi Fen Bilgisi
Öğretmenliği Bölümü (2008-2012)
Yüksek Lisans : Adıyaman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji
Anabilim Dalı (2013-2016)