

**T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FARELERDE DİYET YAĞ ASİTLERİ VE FRUKTOZUN BAZI  
İNFLAMATUAR MEDYATÖRLER VE YAĞ ASİT  
BİYOSENTEZİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

**Uzm. Dyt. Funda TAMER**

**Beslenme ve Diyetetik Programı  
DOKTORA TEZİ**

**ANKARA  
2017**



**T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FARELERDE DİYET YAĞ ASİTLERİ VE FRUKTOZUN BAZI  
İNFLAMATUAR MEDYATÖRLER VE YAĞ ASİT  
BİYOSENTEZİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

**Uzm. Dyt. Funda TAMER**

**Beslenme ve Diyetetik Programı  
DOKTORA TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
Doç. Dr. Reyhan NERGİZ ÜNAL**

**ANKARA**

**2017**

**ONAY SAYFASI****FARELERDE DİYET YAĞ ASİTLERİ ve FRUKTOZUN BAZI İNFLAMATUAR  
MEDYATÖRLER ve YAĞ ASİT BİYOSENTEZİ ÜZERİNE ETKİLERİ****Uzm. Dyt. Funda TAMER**

Bu çalışma 5.5.2017 tarihinde jürimiz tarafından "Beslenme ve Diyetetik Programı"nda doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

**Jüri Başkanı:** Prof. Dr. Efsun KARABUDAK  
(Gazi Üniversitesi)



**Tez Danışmanı:** Doç. Dr. Reyhan NERGİZ ÜNAL  
(Hacettepe Üniversitesi)



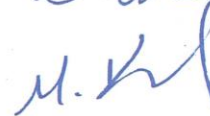
**Üye:** Doç. Dr. Zehra BÜYÜKTUNCER DEMİREL  
(Hacettepe Üniversitesi)



**Üye:** Doç. Dr. Alev KESER  
(Ankara Üniversitesi)



**Üye:** Yrd. Doç. Dr. Mevlüde KIZIL  
(Hacettepe Üniversitesi)



Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur.

09/06/2017



Prof. Dr. Diclehan Orhan

Enstitü Müdürü

## YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

- o **Tezimin/Raporumun tamamı dünya çapında erişime açılabilir ve bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir.**  
(Bu seçenkle teziniz arama motorlarında indekslenebilecek, daha sonra tezinizin erişim statüsünün değiştirilmesini talep etmeniz ve kütüphane bu talebinizi yerine getirirse bile, teziniz arama motorlarının önbelleklerinde kalmaya devam edebilecektir)
- x **Tezimin/Raporumun Ocak 2019 tarihine kadar erişime açılmasını ve fotokopi alınmasını (İç kapak, Özet, İçindekiler ve Kaynakça hariç) istemiyorum.**  
(Bu sürenin sonunda uzatma için başvuruda bulunmadığım takdirde, tezimin/raporumun tamamı her yerden erişime açılabilir, kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir)
- o **Tezimin/Raporumun tarihine kadar erişime açılmasını istemiyorum ancak kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisinin alınmasını onaylıyorum.**
- o **Serbest Seçenek/Yazarın Seçimi**

05/05/2017  
  
 Funda Tamer

## ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, Tez Danışmanının Doç. Dr. Reyhan Nergiz Ünal danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığını beyan ederim.

  
Dyt. Funda Tamer

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim ve tez çalışmam süresince kıymetli bilgi, birikim ve tecrübeleri ile bana yol gösteren ve destek olan, ihtiyaç duyduğum her anda emeğini, zamanını ve en önemlisi iyi niyetini esirgemeyen sayın hocam Doç. Dr. Reyhan Nergiz Ünal'a,

Çalışmaya sağladıkları değerli katkıları için tez izleme komitesinde görev alan Sayın Prof. Dr. Efsun Karabudak ve Doç. Dr. Zehra Büyüktuncer Demirel'e,

Tezimin laboratuvar çalışması sırasında ve her ihtiyaç duyduğumda yanımda olan değerli çalışma arkadaşlarım Uzm. Dyt. Armağan Aytuğ Yürük, Dyt. Elif Uğur, Dyt. Betül Kişioğlu'na,

Son olarak, tüm davranışlarımı sabır ve anlayışla karşılayarak manevi güç veren başta canım annem ve sevgili kardeşim olmak üzere tüm aileme ve özveri ile her zaman yanımda olduğunu hissettiğim, attığım her adımda bana destek ve yardımcı olan Serhat Altıok'a,

Çok teşekkür ederim.

## ÖZET

**Tamer, F., Farelerde Diyet Yağ Asitleri ve Fruktozun Bazı İnflamatuvar Medyatörler ve Yağ Asit Biyosentezi Üzerine Etkileri, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Beslenme ve Diyetetik Programı Doktora Tezi, Ankara, 2017.** Günümüzde, işlenmiş besinlerle yüksek miktarda fruktoz ve doymuş yağ asitleri alımı, kronik hastalıkların ortaya çıkmasında önemli bir sağlık tehdidi olarak düşünülmektedir. Bu çalışmanın amacı, farelerde yüksek doymuş yağ asitli veya fruktozlu diyetin lipogenez, insülin direnci ile inflamasyon üzerine olası etkilerinin incelenmesidir. Çalışmaya yetişkin C57Bl/6 erkek fareler (n=40, 8 haftalık) dahil edilmiştir. Fareler 15 hafta boyunca ad libitum olarak, standart diyet veya farklı yağ (rafine zeytinyağı, hindistan cevizi yağı) ve karbonhidrat türü (fruktoz) içeren 3 farklı diyet kombinasyonu ile beslenmiştir. Diyet dönemi sona erdiğinde fareler sakrifiye edilerek deney sonlandırılmış ve dokular izole edilmiştir. Sonuçta, en yüksek yem tüketiminin fruktoz grubunda olduğu görülmüştür ( $p<0,05$ ). Yüksek enerji alan doymuş yağ asidi ve fruktozla beslenen farelerin vücut ağırlıklarındaki değişim, kontrol grubu ve izokalorik yüksek tekli doymamış yağ asidi alan gruptan anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ( $p<0,001$ ). Yüksek doymuş yağ asidi ve fruktozlu beslenen gruplarda plazma ve karaciğer trigliserid düzeyleri ile HOMA-IR değerlerinin anlamlı olarak yüksek olduğu saptanmıştır ( $p<0,05$ ). Plazma serbest yağ asitleri ve CRP düzeyinin ise yüksek fruktozlu beslenen grupta anlamlı olarak yüksek olduğu gözlenmiştir ( $p<0,05$ ). Yüksek doymuş yağ asidi ve fruktozlu diyet alan gruplarda, ACC-1 ve fosforile formu, fosforile IRS-1, AMPK ve TLR-4 ekspresyon düzeylerinin artış gösterdiği saptanmıştır. Sonuçlar; karaciğerde insülin direnci ile birlikte, lipogenez ve inflamasyonun artışı ile kronik hastalıklar için risk oluşturması açısından doymuş yağ asidi ve fruktoz tüketimine dikkat edilmesi gerektiğini göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Doymuş yağ asitleri, fruktoz, lipogenez, inflamasyon

Bu tez, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu, Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Projelerini Destekleme Programı (TÜBİTAK 1001- Proje No: 114S726) kapsamında desteklenmiştir.



## ABSTRACT

**Tamer, F., The Effects of Dietary Fatty Acids and Fructose on Some Inflammatory Mediators and Fatty Acid Biosynthesis in Mice, Hacettepe University Institute of Health Sciences Nutrition and Dietetics Program, Doctor of Philosophy Thesis, Ankara, 2017.** Currently, consumption of high quantities of fructose and saturated fatty acids via processed food is recognized as a central factor in the development of chronic disease. The aim of this study was to investigate the effects of dietary high saturated fatty acid or fructose on lipogenesis, insulin resistance and inflammation. The study was performed on the C57Bl/6 type male mice (n=40, 8 weeks old) with ad libitum access to chow diet and three different type of diets enriched with two different fatty acids (refined olive oil, coconut oil) and carbohydrate (fructose) types for 15-weeks. At the end of the dietary period, the animals were sacrificed; then organ and tissues isolated immediately. As a result, it was found that mean feed intake of fructose fed group was higher ( $p<0,05$ ). Body weight change were found significantly higher in saturated fatty acid and fructose fed mice with higher energy intake than control and isocaloric high monounsaturated fatty acid fed groups ( $p<0,001$ ). Plasma and liver triglyceride levels and HOMA-IR ( $p<0,05$ ) values were significantly higher in high saturated fat and high fructose fed groups. Plasma free fatty acids and CRP levels were higher in fructose fed group ( $p<0,05$ ). Western-blotting results for ACC-1 and phosphorylated form of ACC-1, phosphorylated IRS-1, AMPK and TLR-4 expression in liver showed that the expression levels were higher in high saturated fatty acid and high fructose fed groups. In conclusion, this study showed that to reduce the risk of chronic diseases, it is necessary to pay attention to the saturated fatty acid and fructose intake which can increase lipogenesis and inflammation accompanying with insulin resistance in the liver.

**Key words:** Saturated fatty acids, fructose, lipogenesis, inflammation

This thesis was supported by the Scientific and Technological Research Council of Turkey, Scientific and Technological Research Projects Funding Program (TUBITAK 1001-Project No: 114S726).

## İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR	xii
ŞEKİLLER	xiv
TABLolar	xvi
<b>1. GİRİŞ</b>	1
1.1. Kuramsal Yaklaşımlar	1
1.2. Amaç ve Varsayımlar	3
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	4
2.1. Lipogenez ve Karaciğer Yağlanması	4
2.2. Enerji Homeostazı ve Karaciğerde Lipogenez	6
2.2.1. Hepatik Karbonhidrat Metabolizması	7
2.2.2. Hepatik Lipid Metabolizması	13
2.3. Glukoz ve Lipid Metabolizmasında Düzenleyici Enzim Olarak Adenozin Monofosfat ile Aktive Olan Protein Kinaz	24
2.4. İnsülin Direnci ve Lipogenez	26
2.5. İnflamasyon ve De Novo Lipogenez	28
2.6. Beslenme ve De Novo Lipogenez	30
2.6.1. Diyetle Karbonhidrat Alımı	31
2.6.2. Diyetle Lipid Alımı	35
<b>3. GEREÇ ve YÖNTEM</b>	41
3.1. Çalışma Yeri, Zamanı ve Örneklem Seçimi	41
3.2. Hayvanların Temini ve Diyet Müdahalesi	43
3.2.1. Hayvanların Temini ve Bakımı	43
3.2.2. Uygulanan Diyet Müdahalesi	43
3.3. Anestezi, Kan Alma, Doku Toplama ve Ötanazi	45

3.3.1. Anestezi	45
3.3.2. Kan Alma ve Ötanazi	45
3.3.3. Karaciğer Diseksiyonu	46
3.4. Kan ve Karaciğerde Kantitatif Analizler	46
3.4.1. Glukoz Analizi	46
3.4.2. Trigliserid Analizi	47
3.4.3. Toplam Serbest Yağ Asitleri Analizi	47
3.4.4. C-Reaktif Protein Analizi	48
3.4.5. İnsülin Analizi ve İnsülin Direnci Tayini	49
3.5. Karaciğerde Bazı Enzim ve Peptidlerin Western-Blot Yöntemiyle Analizi	50
3.5.1. Karaciğer Örneklerinin Hazırlanması	50
3.5.2. Örneklerde Protein Miktar Tayini	51
3.5.3. Poliakrilamid Jel Elektrofrezisi (SDS-PAGE)	51
3.5.4. Jeldeki Proteinlerin Membrana Transferi (Yarı-Kuru Sistem)	52
3.5.5. Antikorlarla Tepkime	53
3.5.6. Kemilüminesans ve Görüntü Alma	53
3.6. Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi	53
<b>4. BULGULAR</b>	<b>55</b>
4.1. Yem Tüketimleri, Enerji Alımları ve Vücut Ağırlıklarına İlişkin Bulgular	55
4.1.1. Yem Tüketimi Bulguları	55
4.1.2. Enerji ve Makro Besin Ögeleri Alımı Bulguları	58
4.1.3. Vücut Ağırlığı Artış Düzeyleri	65
4.2. Karaciğer ve Kanda Biyokimyasal Bulgular	70
4.2.1. Plazma ve Karaciğer Trigliserid Düzeyleri	70
4.2.2. Plazma Serbest Yağ Asitleri Düzeyi	71
4.2.3. Açlık Plazma Glukoz Düzeyi	72
4.2.4. Açlık Plazma İnsülin Düzeyi ve İnsülin Direnci Durumu	73
4.2.5. Açlık Plazma C-Reaktif Protein Düzeyi	77
4.3. Karaciğerde Western-Blot ile Peptid Analizi	81
4.3.1. Yağ Asit Biyosentezi ile İlişkili Peptidler	81

4.3.2. İnsülin Sinyalizasyonu ile İlişkili Peptidler	81
4.3.3. İnflamasyon ile İlişkili Peptidler	82
<b>5. TARTIŞMA</b>	<b>84</b>
5.1. Yem Tüketimi, Enerji ve Makro Besin Ögeleri Alımı ile Vücut Ağırlıkları	84
5.2. Karaciğer ve Kan Biyokimyasal Bulguları	87
5.3. Karaciğerde Western-Blot ile Peptid Analizi	92
<b>6. SONUÇ ve ÖNERİLER</b>	<b>96</b>
6.1. Sonuçlar	96
6.2. Öneriler	100
<b>7. KAYNAKLAR</b>	<b>102</b>
<b>8. EKLER</b>	
Ek 1. Etik Kurul Onayı	
<b>9. ÖZGEÇMİŞ</b>	

## SİMGELER ve KISALTMALAR

CC	Asetil KoA Karboksilaz
AHA	Amerikan Kalp Birliği
AMPK	Adenozin Monofosfat ile Aktive Olan Protein Kinaz
Apo	Apolipoprotein
ATP	Adenosin Tri Fosfat
cAMP	Siklik Adenosin Mono Fosfat
ChREBP	Karbonhidrata Yanıt Veren Element Bağlayan Protein
CPT	Karnitin Palmitoil Transferaz
CYP	Sitokrom
DAG	Diasilgliserol
DGAT	Diasilgliserol-Asil Transferaz
DM	Diabetes Mellitus
ER	Endoplazmik Retikulum
FABP	Yağ Asidi Bağlayan Protein
FAS	Yağ Asidi Sentaz
FAT/CD36	Yağ Asit Translokaz
FATP	Yağ Asidi Transport Proteini
FXR	Farnesoid X Reseptörü
GLP	Glukagon Benzeri Peptit
GLUT	Glukoz Taşıyıcısı
GPAT	Gliserol Fosfat Asil Transferaz
IKK	İnhibitör $\kappa$ B Kinaz
IL	İnterlökin
IRS	İnsülin Reseptör Substrat
JNK	Jun N-Terminal Kinaz
LPL	Lipoprotein Lipaz
LXR	Karaciğer X Reseptörü
MTP	Mikrozomal Trigliserit Transfer Proteini
NF- $\kappa$ B	Nükleer Faktör $\kappa$ B
PI3	Fosfotidilinositol-3
PKC	Protein Kinaz C

PPAR	Peroksizom Proliferatör Aktive Reseptör
PXR	Pregnane X Reseptörü
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
RXR	Retinoid X Reseptörü
SCD	Steroil KoA Desatürüz
SREBP	Sterol Regülatör Element Bağlayan Protein
TLR	Toll Benzeri Reseptör
TNF $\alpha$	Tümör Nekroz Faktör
VLDL	Çok Düşük Dansiteli Lipoprotein
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
YFMS	Yüksek Fruktöz İçeren Mısır Şurubu

## ŞEKİLLER

Şekil		Sayfa
2.1.	Basit karaciğer yağlanması karaciğerde trigliserid birikimi ile ilişkili mekanizmalar	5
2.2.	Fruktoz Metabolizması	10
2.3.	Fruktozun Karaciğerde Lipogenez ve Karaciğer Yağlanması Üzerine Etkileri.	12
2.4.	Hepatik AMPK ile lipid metabolizmasının düzenlenmesi.	42
4.1.	Farelerin yem tüketimlerinin haftalara göre değişimi.	56
4.2.	Farelerin müdahale öncesi, müdahale dönemi ve toplam diyet dönemindeki günlük aldıkları enerji	62
4.3.	Farelerin müdahale öncesi, müdahale ve toplam diyet dönemlerinde haftalara göre enerji alımı ortalamaları.	64
4.4.	Farelerin müdahale öncesi, müdahale dönemi ve toplam diyet döneminde vücut ağırlıkları.	66
4.5.	Dönemlere göre farelerin vücut ağırlığı değişimi.	69
4.6.	Gruplara göre farelerin ortalama plazma trigliserid konsantrasyonları.	70
4.7.	Gruplara göre farelerin ortalama karaciğer trigliserid konsantrasyonları.	71
4.8.	Farelerin ortalama plazma toplam serbest yağ asitleri konsantrasyonları.	72
4.9.	Gruplara göre farelerin ortalama plazma glukoz konsantrasyonları.	73
4.10.	Gruplara göre farelerin ortalama açlık plazma insülin konsantrasyonları.	74
4.11.	Gruplara göre farelerin ortalama HOMA-IR değerleri.	75
4.12.	Gruplara göre farelerin ortalama QUICKI değerleri.	76
4.13.	Gruplara göre farelerin glukoz:insülin oranı.	76
4.14.	Gruplara göre farelerin ortalama açlık plazma C reaktif protein (CRP) konsantrasyonları.	77

- 4.15.** Farelerin karaciğer homojenatlarında ACC1 ve p-ACC-1 ile kontrol olarak  $\beta$ -aktin peptidlerine ait western-blot bantları. 81
- 4.16.** Farelerin karaciğer homojenatlarında AMPK, p-AMPK, IRS1 ve p-IRS1 ile kontrol olarak  $\beta$ -aktin peptidlerine ait western-blot bantları 82
- 4.17.** Farelerin karaciğer homojenatlarında TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 ve TLR-4 ile kontrol olarak  $\beta$ -aktin peptidlerine ait western-blot bantları. 83



**TABLULAR**

<b>Tablo</b>		<b>Sayfa</b>
<b>2.1.</b>	Karaciğer yağlanması da aktive olan moleküller ve sinyal yolları	23
<b>3.1.</b>	Farelere diyet müdahalesi sırasında verilen yemlerin içeriği	44
<b>4.1.</b>	Farelerin müdahale öncesi, müdahale sırası ve toplam diyet döneminde ortalama yem tüketim durumları	57
<b>4.2.</b>	Farelerin müdahale öncesi, müdahale dönemi ve toplam diyet döneminde günlük ortalama enerji alımları ve makro besin öğelerinin enerji alımına katkı yüzdeleri	59
<b>4.3.</b>	Farelerin diyet müdahalesi öncesi, müdahale sırasında, toplam diyet döneminde ve terminal dönemde ortalama vücut ağırlıkları ve vücut ağırlıkları artışı.	68
<b>4.4.</b>	Farelerin karaciğer ve kanda biyokimyasal bulguları ile terminal organ ağırlıklarının genel özeti	79

## 1. GİRİŞ

### 1.1. Kuramsal Yaklaşımlar

Beslenme ile ilişkili kronik hastalıklar Dünya’da hızla artış gösteren sağlık sorunlarıdır. Bu hastalıklar içerisinde yer alan obezite, diabetes mellitus (DM) ve metabolik sendrom insidansındaki artış ile birlikte alkole bağlı olmayan yağlı karaciğer hastalıklarının görülme sıklığında da artış olduğu bildirilmektedir (1). Alkole bağlı olmayan yağlı karaciğer hastalıkları genellikle insülin direnci ile birlikte seyreden ve karaciğerde lipid birikimi ile ilişkili bozukluklar olarak tanımlanmaktadır. Bu hastalıklar basit karaciğer yağlanması (hepatik steatoz), inflamasyon ve oksidatif stres gibi faktörlerin etkisiyle ilerleyen karaciğer hastalıklarına geniş bir yayılım göstermektedir (2).

Dünya Gastroenteroloji Organizasyonu (World Gastroenterology Organization) (3) verileri ve farklı ülkelerde yapılan epidemiyolojik çalışmaların (4-6) sonuçlarına göre karaciğer yağlanması ile ilişkili hastalıklar Dünya’da en sık gözlenen karaciğer hastalıklarıdır. Beslenme alışkanlıklarındaki değişiklikler ve merkezi obezite gibi metabolik sendrom bileşenlerinin prevalansındaki artışın bu durum ile ilişkili olduğu bildirilmektedir (5, 6).

Günlük insan diyetindeki toplam karbonhidrat içeriğinin diyetin toplam enerjisine olan katkısı % 55-60; yağ içeriğinin katkısı ise % 25-35 arasında değişmektedir. Diyet enerjisinin doymuş yağ asitlerinden gelen yüzdesinin; ülkemiz % 10, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) % 10, Amerikan Kalp Birliği (AHA) ise % 7 değerinden daha az olması gerektiğini önermektedir (7-9). Diyet enerjisinin eklenmiş şekerden gelen oranının ise hem ülkemizde hem de dünya çapında önerilerle doğrultusunda %10’dan az olması gerekmektedir (7, 10). Önerilen miktarlardan fazla doymuş yağ asitleri ve basit şeker tüketiminin karaciğerde yağlanmayı indüklediği insanlarda (11-14) ve hayvan modellerinde (15, 16) gösterilmiştir. Diyetle makro besin öğeleri oranının insülin düzeyleri, insülin duyarlılığı ve basit karaciğer yağlanması ile ilişkili olabileceği hem epidemiyolojik (17-20) hem de deneysel çalışmalarda (21-23) bildirilmiştir.

Diyetle alınan yağ asidi türünün, karaciğerde yağlanma oluşumuna etki gösterdiği bilinmektedir (24). Karaciğere akışı olan ve karaciğerde trigliserid

formunda depo edilen yağ asitleri, karaciğerin patofizyolojik yapısı ve fonksiyonları için önem taşımaktadır (25). Yağ asitleri içerisinde özellikle doymuş yağ asitlerini yüksek miktarda içeren diyet tüketiminin çeşitli metabolik risk faktörleri ve inflamasyon ile ilişkili olduğu bildirilmektedir (26). Karaciğerde yağ asidi sentezinde görev alan enzimlerin ekspresyonunun doymuş yağ asitleri ile stimüle olduğunu vurgulayan bir çalışma bulunmaktadır (27). Ayrıca yüksek doymuş yağ asitleri içeren diyet tüketiminin karaciğerde inflamatuvar süreçleri başlattığı ve pro-inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu arttırabildiği çeşitli çalışmalarda bildirilmektedir (28-30).

Fruktoz birçok besin maddesinde bulunan basit yapılu bir karbonhidrattır ve diyetteki başlıca kaynakları; bal, meyve, çay şekeri, yüksek fruktozlu mısır şurubu ve bunlarla tatlandırılmış ürünlerdir (7). Ülkemizde fruktoz tüketimine dair veri sınırlı olmakla birlikte, yapılan bir epidemiyolojik çalışmada işlenmiş ürünlerin tüketiminde artış sonucunda fruktoz alımının arttığı bildirilmektedir (31). Fruktozun karaciğerdeki metabolizması sonucunda karaciğerde yağ asit sentezini arttırarak basit karaciğer yağlanmasını etkilediği çeşitli çalışmalarda gösterilmektedir (32, 33). Ayrıca metabolizması sırasında insüline bağımlılık göstermediği ancak sinyalizasyon yollarını etkileyerek insülin direnci oluşumuna neden olabildiği bilinmektedir (34). Çeşitli çalışmaların sonuçlarına göre aşırı fruktoz tüketimi plazma trigliserid seviyesi, hepatik insülin direnci gibi çeşitli metabolik risk faktörleri ve karaciğer yağlanması ile ilişki göstermektedir (32, 35).

Günümüzde tüketime hazır işlenmiş besinlerin tüketimindeki artış kronik hastalıkların ortaya çıkmasında önemli bir sağlık tehditi olarak değerlendirilmekte ve konu ile ilgili yapılan çalışmalar hızla artmaktadır. Diyetteki yağ ve karbonhidratların cinsi ve oranı karaciğerde lipogenez, inflamasyon ve insülin direncini etkileyerek karaciğer yağlanmasının nedeni olabilmektedir. Ancak tüketime hazır işlenmiş gıdalar ile alınan doymuş yağ asitleri ve fruktozun lipogenez ve inflamasyon üzerine etkileri henüz yeteri kadar bilinmemektedir. Dolayısıyla günlük beslenme içerisinde yüksek miktarda alınan bu besin öğelerinin basit karaciğer yağlanması mekanizması üzerine olan etkilerinin araştırılması önem taşımaktadır.

## 1.2. Amaç ve Varsayımlar

Bu çalışma yüksek doymuş yağ asitli veya fruktozlu diyet alımı ile oluşabilecek karaciğer yağlanması'nın hepatik insülin salınımı/direncini arttırabileceği, böylece artmış de novo lipogenez sonucu karaciğerde inflamatuvar durumda değişiklikler olabileceği varsayımı üzerine kurulmuştur.

Bu çalışmanın birinci hipotezi; yüksek doymuş yağ asidi veya fruktoz içeren diyet ile beslenme, karaciğerde yağlanma, kanda trigliserid ve serbest yağ asitleri düzeyinde artış ve insülin seviyesindeki değişimler aracılığı ile lipogenezi etkileyebilmektedir. İkinci hipotez ise; yüksek doymuş yağ asidi veya fruktoz içeren diyet ile beslenme, karaciğerde yağlanma, açlık kan glukozu ve insülin seviyesindeki değişimler ile bazı inflamatuvar medyatörler aracılığı ile inflamatuvar yanıtı etkileyebilmektedir.

Bu çalışmanın amaçları; yüksek yağlı veya karbonhidratlı diyet ile beslenen farelerde (i) karaciğerde yağlanma; kanda trigliserid ve serbest yağ asitleri, açlık kan glukozu ve insülin seviyeleri ile (ii) bazı inflamatuvar medyatörler aracılığı ile karaciğerde inflamasyon üzerine etkilerinin araştırılmasıdır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Lipogenez ve Karaciğer Yağlanması

Alkole bağlı olmayan yağlı karaciğer hastalıkları, Batı toplumlarında en sık karşılaşılan karaciğer hastalıklarıdır (36-38). Çok sayıda epidemiyolojik çalışma, diyet ve yaşam tarzı değişikliklerinin sonucu olarak beslenme ile ilişkili kronik hastalıklarla birlikte alkole bağlı olmayan yağlı karaciğer hastalıklarının prevalansında dramatik bir artış olduğunu bildirmektedir (25, 39-41). Bununla birlikte, karaciğer yağlanması ile ilişkili hastalıkların kardiyovasküler hastalıklar için güçlü risk göstergesi olduğu çeşitli çalışmalarda vurgulanmaktadır (42, 43).

Alkole bağlı olmayan yağlı karaciğer hastalıklarının ilk aşaması olarak kabul edilen basit karaciğer yağlanması; karaciğerde trigliserid konsantrasyonunun 55mg/g karaciğer dokusu (% 5,5) üzerine çıkması ile oluşmaktadır (44). Basit karaciğer yağlanmasının visceral obezite, dislipidemi ve insülin direnci ile ilişki gösteren bir durum olduğu bilinmektedir (6, 41, 45, 46). Ayrıca inflamasyon gibi ikincil faktörlerin etkisiyle terminal dönem kronik karaciğer hastalıklarına gidebilen patolojik süreçleri başlatabileceği dikkatleri çekmektedir (15, 21, 47, 48).

Basit karaciğer yağlanması, yüksek miktarda trigliserid içeren makroveziküler ve/veya mikroveziküler lipid damlacıklarının hepatositlerde birikmesi ile karakterize bir durumdur (37, 49). Tanılamada basit yağlanmanın karaciğer biyopsisinde patolojik bulgular göstermediği, alkole bağlı olmayan steatohepatite prognozu sırasında inflamasyon, oksidatif stres, hepatoselüler balonlaşma dejenerasyonu, hepatosit hasar ve/veya fibroz gibi bulgulara rastlandığı belirtilmektedir (38, 45, 50-54). Dünya Gastroenteroloji Organizasyonu (World Gastroenterology Organisation) (3) ve Amerikan Gastroenteroloji Birliği (55) karaciğer yağlanması hastalıkları ile ilgili raporlarında; basit karaciğer yağlanmasının tam tanısı için histolojik değerlendirme (steatoz ve steatohepatit aşama ve derecesinin belirlenmesi) ve hastalığın klinik etiyolojisinin (kronik alkol tüketimi, insülin direnci, ilaç kullanımı, dislipidemi, toksik etmenler gibi) değerlendirilmesi gerekliliği vurgulanmıştır.

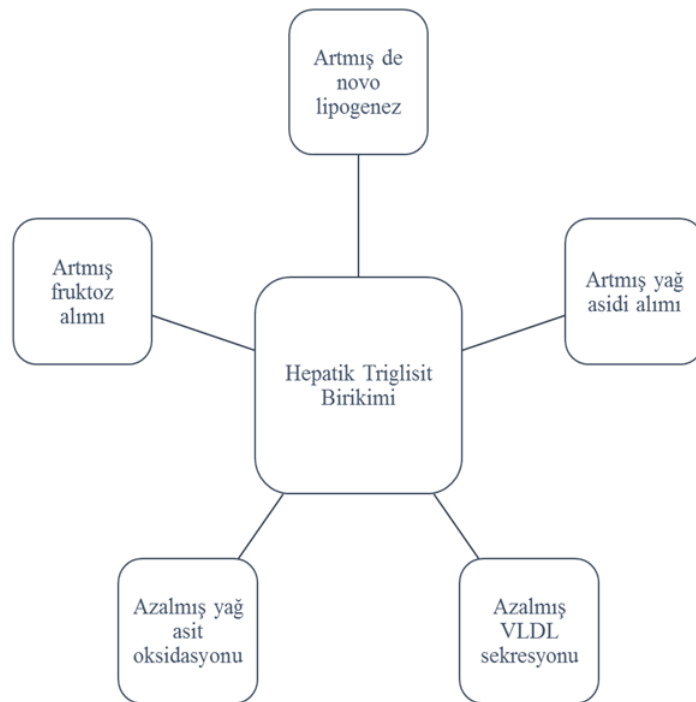
Basit karaciğer yağlanmasının genellikle insülin direnci ile birlikte seyrettiği ve trigliserid sentezi ile kullanımı arasındaki dengesizlikten ileri gelen bir durum olduğu bildirilmektedir. Hepatik trigliserid üretimi için kullanılan yağ asitleri; diyet,

de novo lipogenez ya da adipoz doku lipolizi kaynaklı olarak sağlanmaktadır. Bu kaynakların birisinde meydana gelen istenmeyen değişiklikler basit karaciğer yağlanması ile sonuçlanabilmektedir (37, 56).

Basit karaciğer yağlanması mekanizmasında;

- (i) Yüksek yağ asidi/karbonhidrat alımı sonucu hepatik lipogenezin stimüle olması ve hiperinsülinemi/hepatik insülin direnci gibi metabolik bozukluklarla birlikte hepatik lipid miktarında artış,
- (ii) Adipoz doku fonksiyon bozukluğu, inflamasyon ya da artmış dönüşüm (turnover) gibi nedenlerden dolayı karaciğere serbest yağ asidi akışında artış,
- (iii) Yağ asit oksidasyonu ve bu süreci kontrol eden proteinlerin regülasyonunda bozulma ve karaciğerde lipid klirensinde azalma olduğu bildirilmektedir (57, 58).

Karaciğerde trigliserid birikimi ile ilişkili mekanizmalar Şekil 2.1.'de görülmektedir.



**Şekil 2.1.** Basit karaciğer yağlanmasında karaciğerde trigliserid birikimi ile ilişkili mekanizmalar (57, 58).

Diyet ile alınan ya da adipoz doku lipolizi sonucu karaciğere ulaşan serbest yağ asitleri okside edilerek veya lipoproteinler ile karaciğerden uzaklaştırılmazsa, trigliserid şeklinde depolanmaktadır (59-61). Bununla birlikte, basit karaciğer yağlanması karaciğerde bulunan lipidlerin önemli bir kısmının adipoz dokudan salınan yağ asitleri olduğu bilinmektedir (60). Sağlıklı bireylerde % 5 oranında gerçekleşen hepatik de novo lipogenez alkole bağlı olmayan yağlı karaciğer hastalarında % 26'ya çıkmaktadır. Bu durum adipoz lipolizi ve hepatik de novo lipogenezin düzenlenmesinde gerçekleşen bozuklukların basit karaciğer yağlanması patogenezinde anahtar rol oynadığını göstermektedir (37). Serbest yağ asitlerinin lipid sentezini arttırıcı etkisi ayrıca karaciğerde bir transkripsiyon faktörü olan sterol regülatör element bağlayan protein (SREBP)-1c'nin aktivitesini arttırması ile ortaya çıkmaktadır. Plazma lipoproteinlerinin periferik ve hepatik yağ depoları arasındaki dengeyi regüle ederek, basit karaciğer yağlanmasını etkilediği vurgulanmaktadır (57).

Karaciğerde depolanan lipid miktarındaki artış sonucunda fibroz ve apoptoza neden olan mitokondriyal disfonksiyon, lipid peroksidasyonu ve inflamasyon gibi faktörlerle fonksiyon bozukluğu artmaktadır (25, 54, 62, 63). Adipoz doku lipolizi bozukluğu sonucu karaciğere serbest yağ asidi akışının artışı insülin direnci gibi metabolik bozukluklarda görülebilmektedir (64). Bu süreçlerde oluşan diasilgliserol (DAG) ve seramidler gibi lipid-kaynaklı ikincil mesajcılar, var olan insülin direnci üzerine arttırıcı etki gösterebilmektedir. Sonuçta kupffer hücrelerinde ve hepatik stellat hücrelerinde immün yanıt meydana gelmekte ve steatohepatit, hepatik siroz ve hepatoselüler karsinom gibi daha ağır durumların oluşumuna neden olabilmektedir (61, 65).

## **2.2. Enerji Homeostazi ve Karaciğerde Lipogenez**

Karaciğerin temel fonksiyonlarından birisi karbonhidrat, lipid ve proteinin metabolik yollarının yer aldığı enerji homeostazının sağlanmasıdır. Karaciğer; iskelet kası ve adipoz doku da dahil olmak üzere çok sayıda dokuyla etkileşim içinde periferik dokulara glukoz, yağ asidi ya da keton cisimciği sağlayarak enerji homeostazında rol oynamaktadır (66, 67). Sindirimi takiben gastrointestinal kanalda bulunan basit yapıli karbonhidratlar, yağ asitleri ve amino asitler portal ven ve lenfatik sistem aracılığı ile karaciğere gelerek metabolize olmaktadır (67, 68).

Karaciğer, karbonhidrat ve lipid biyosentezinin gerçekleştiği temel organdır. Bununla birlikte kendi enerji ihtiyaçlarının karşılanması için bu substratların oksidasyonunu da gerçekleştirmektedir. Normal şartlarda; besin alımını takiben karaciğere karbonhidrat ve lipid akışı ve açlıkta adipoz doku lipolizi kaynaklı serbest yağ asidi akışı bu aktivitelerin düzenlenmesinde önem taşımaktadır. Sistemik glukoz ve yağ asidi metabolizmasının düzenlenmesinde temel rolü olmasından dolayı karaciğerdeki bu metabolik yollar sıkı bir şekilde regüle edilmektedir. Çok sayıda besin ögesi, hormon ve sinir sistemi kaynaklı sinyalin karaciğerde gerçekleşen regülasyonda rol aldığı bilinmektedir (67, 69). Bu kontrol mekanizmalarından en önemlilerinden olan insülin; karaciğerde reseptörü aracılığı ile çeşitli sinyal yollarını aktive etmekte ve özellikle glikojen sentezi ile lipogenez üzerine etki göstermektedir. İnsülin başta olmak üzere regülasyonda rol alan faktörlerde gerçekleşen bozukluklarının basit karaciğer yağlanması ile ilişki gösterdiği çeşitli çalışmalarda bildirilmektedir (70-72).

### **2.2.1. Hepatik Karbonhidrat Metabolizması**

Karbonhidratlar diyetle disakkarit, oligosakkarit ve polisakkarit formunda alınmakta; sindirim ve emilimi takiben dolaşımında temel olarak glukoz formunda taşınmaktadır. Diyet ile yüksek oranda alınması, tüm dokularda metabolize olması ve düşük depolanma kapasitesinden dolayı glukozun, postprandiyal süreçlerde temel enerji kaynağı olarak kullanıldığı bilinmektedir. Karaciğer, kan glukoz düzeyinin regülasyonu ve glukoz homeostazının sağlanması için önemli görevlere sahiptir. Glukoz karaciğerde enerji üretimi için okside edilebilmekte, glikojen formunda depolanabilmekte ya da de novo lipogenez ile yağ asidi sentezine girebilmektedir (16). Sağlıklı bireylerde hepatik glikojenoliz ve glikoneogenezin açlıkta stimüle olduğu, postprandiyal dönemde ise insülinin etkisiyle hepatik glukoz üretiminin inhibe olduğu bilinmektedir (73, 74).

Kan glukozunun hücre içine alınması, dokulara spesifik membran-bağlı glukoz taşıyıcıları aracılığı ile gerçekleştirilmektedir. Glukozun karaciğer hücrelerine girişini sağlayan glukoz taşıyıcısının insüline bağımlılık göstermeyen glukoz taşıyıcısı (GLUT)-2 olduğu bilinmektedir. Bu taşıyıcı, yüksek miktardaki glukozun hücreye girişi ile kan glukoz düzeyinin azaltılmasını sağlamaktadır (75).



Karaciğer kısa süreli açlıkta glikojen yıkımı, uzun süreli açlıkta ise glikoneogenez ile vücuda glukoz sağlamaktadır (76). Karaciğerde glikojenden glukoz üretiminde görev alan glukoz 6-fosfataz enzimi çıkartılmış (knock-out) farelerde; hiperlipidemi, laktik asidoz, glikojen birikimi sonucu hepatomegali ile birlikte basit karaciğer yağlanması olduğu bildirilmiştir (67). Uzun süreli açlıkta ise glikojen depoları boşalmakta; laktat, pruvat, gliserol ve glikojenik amino asitler aracılığı ile glukoz üretimi gerçekleşmektedir. Bu glukoneojenik substratlar karaciğerde üretilmekte ya da ekstrahepatik dokularda üretilerek karaciğere gelebilmektedir. Farelerde glikoneogenezin inhibisyonu sonucunda açlıkta sitrik asit döngüsü ara ürünlerinin biriktiği ve karaciğer yağlanması oluşumu gözlemlendiği bildirilmiştir (77, 78).

Fare karaciğerinde insülin reseptörünün çıkarılması sonucunda hepatik glikoneogenez düzeyinin önemli derecede arttığı, hiperglisemi ve glukoz intoleransı geliştiği saptanmıştır (79). İnsülin reseptör substrat (IRS)-1 ve IRS-2 tirozin rezidülerinin fosforilasyonu ve fosfotidilinositol-3 (PI3)-kinaz /Akt gibi bazı sinyal yollarındaki bozulmanın; insülin direnci, tip II DM ve karaciğer yağlanması oluşumu ile ilişki gösterdiği bildirilmiştir (80, 81).

Yüksek plazma glukoz düzeyinin karaciğerde de novo lipogenezi aktive ettiği bilinmektedir. Glukoz, lipogenik genleri regüle eden karbonhidrata yanıt veren element bağlayan proteini (ChREBP) uyarmaktadır. Yüksek plazma glukoz düzeyi ayrıca insülin salınımını arttırarak lipogenik genlerin ekspresyonunu stimüle etmektedir. İnsülinin lipogenik gen ekspresyonu üzerine olan etkileri ayrıca SREBP-1c ile düzenlenmektedir (82). İnsülin direnci ile birlikte artmış plazma glukoz düzeylerinin, basit karaciğer yağlanmasına neden olacak şekilde hepatik yağ asit sentezini arttırdığı ve  $\beta$ -oksidasyonu bozduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (71, 83). Bütün bu süreçlerle alınan fazla basit yapıları karbonhidratlar, yağ asitleri sentezi ve sonrasında trigliseridler şeklinde depolanması ile karaciğer yağlanması sürecini arttırabilmektedir.

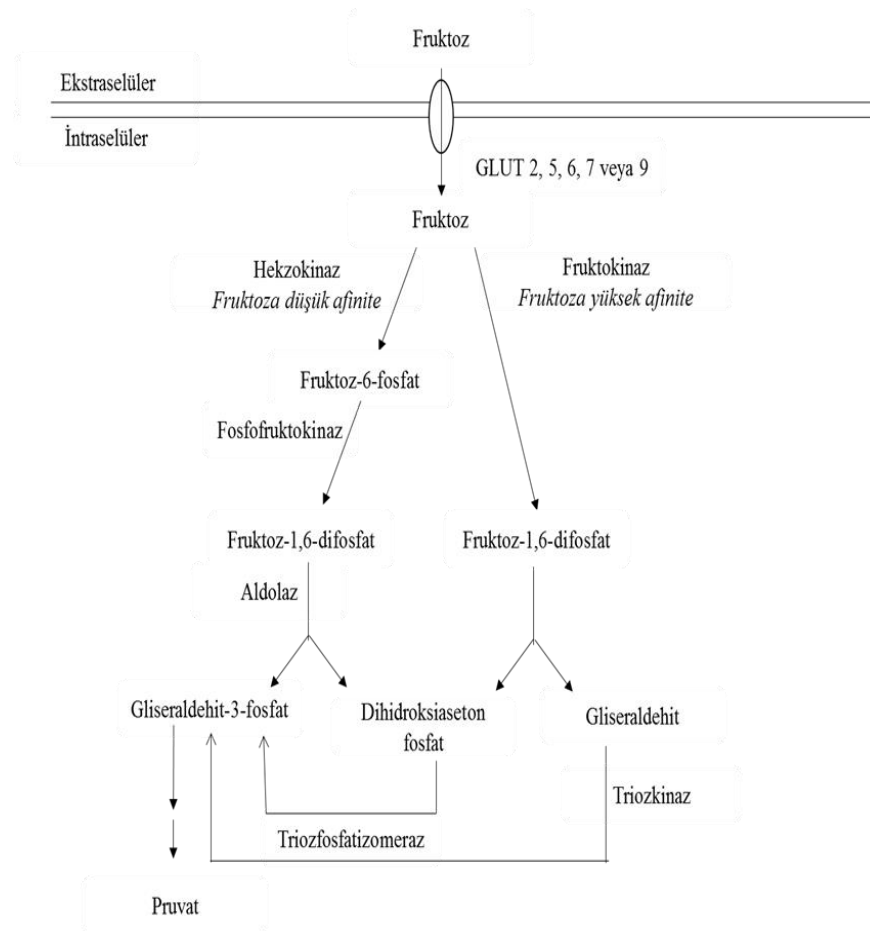
## Fruktoz Metabolizması

Fruktoz, taşıyıcı aracılı kolaylaştırılmış difüzyon ile enerjiye bağımlı süreçlerle emilmektedir. Fruktoz metabolizmasında yer alan dokuların GLUT-2 (karaciğer ve ince bağırsakta bulunmaktadır) ve GLUT-5 (böbrek ve ince bağırsakta bulunmaktadır) eksprese ettiği gösterilmekle birlikte (84), fruktoz için özelleşmiş taşıyıcının GLUT-5 olduğu düşünülmektedir. Bunlara ek olarak, son yıllarda fruktoz taşınmasında rolü olan ancak fruktoz için özelleşmemiş bazı solüt taşıyıcıların (solüt taşıyıcı 2A ailesi) bulunduğu da gösterilmiştir (85).

Fruktoz, intestinal hücrelerden emilerek portal vene giriş yapmakta ve karaciğere taşınmaktadır. Yüksek sükröz tüketimi sonucunda karaciğer dışı bazı dokuların enerji kaynağı olarak fruktozu kullanabildiği gösterilmiştir. Bununla birlikte, fruktoz metabolizmasında yer alan enzimlerin periferik dokularda düşük, karaciğerde ise yüksek düzeyde eksprese olduğu bilinmektedir (86, 87). Fruktoz, hücre içerisine alınması sırasında insüline bağımlılık göstermediğinden dolayı insülin aracılı besin alımını durdurucu etkiyi uyarmamaktadır (88).

Karaciğerde fruktoz metabolizmasının glukozu göre daha hızlı olduğu bilinmektedir. Glukozun glukokinaz enzimi ile fosforilasyonu hepatik metabolizmasındaki hız kısıtlayıcı basamaklardan birisidir. Buna karşın, fruktozun fruktokinaz enzimi ile fosforilasyonu ve trioz fosfat düzeyindeki metabolizması kontrolsüz bir şekilde gerçekleşmektedir (89). Emilimden sonra fruktoz ve glukoz metabolizmasını karşılaştıran bir insan çalışması, fruktozun daha hızlı metabolize olduğunu ve karaciğer glikojenine daha yüksek düzeyde dönüştüğünü göstermiştir (90). Fruktoz hücre içerisine girişini takiben, kinaz enzimlerine bağlı olarak fruktoz-1-fosfat veya fruktoz-6-fosfat yollarını izlemektedir. Fruktozun 1. karbonundaki hidroksil grubunun fosforlanarak fruktoz-1-fosfata dönüşümü sırasında fruktokinaz enzimi ve adenosin tri fosfata (ATP) gereksinim duyulmaktadır. Fruktoz-1-fosfat, aldolaz B enzim aktivitesi ile dihidroksiaseton fosfat ve gliseraldehite dönüşmektedir. Fruktokinaz ile fruktoz-1-fosfat oluşumu allosterik olarak inhibe olmamakta ve glikolizdeki 2 önemli düzenleyici basamak olan heksokinaz ve fosfofruktokinaz-1 basamaklarını atlamaktadır. Buna karşın glukoz metabolizması ise glikojen yapısında depolanma ile ATP ve sitratın fosfofruktokinaz enzimi üzerine inhibe edici etkisi ile sıkı bir şekilde düzenlenmektedir (91, 92).

Fruktozun bir diğerk metabolik yolağı olan hegzokinaz bağımlı fruktoz-6-fosfat yolağında ise fruktozun 6. karbonunda yer alan hidroksil grubunun fosforlanıp bir glikoliz ara ürünü oluşturulmaktadır. Bununla birlikte hegzokinaz enziminin glukozu olan afinitesi daha yüksek olduğu için fizyolojik konsantrasyonlarda bu enzim için primer substratın glukoz olduğu bilinmektedir. Bu nedenle karaciğerde fruktoza özel fruktokinaz enzimi ile fosforilasyon daha yüksek düzeyde gerçekteşmektedir. Fruktoz metabolizmasının devamında oluşan gliseraldehit ve dihidroksiaseton fosfat gibi ara ürünler glikoz, laktat ya da yağ asiti sentezi ve sonrasında trigliserid oluşturmak üzere metabolize olmaktadır (şekil 2.2.) (93, 94).



**şekil 2.2.** Fruktoz Metabolizması (93, 94).

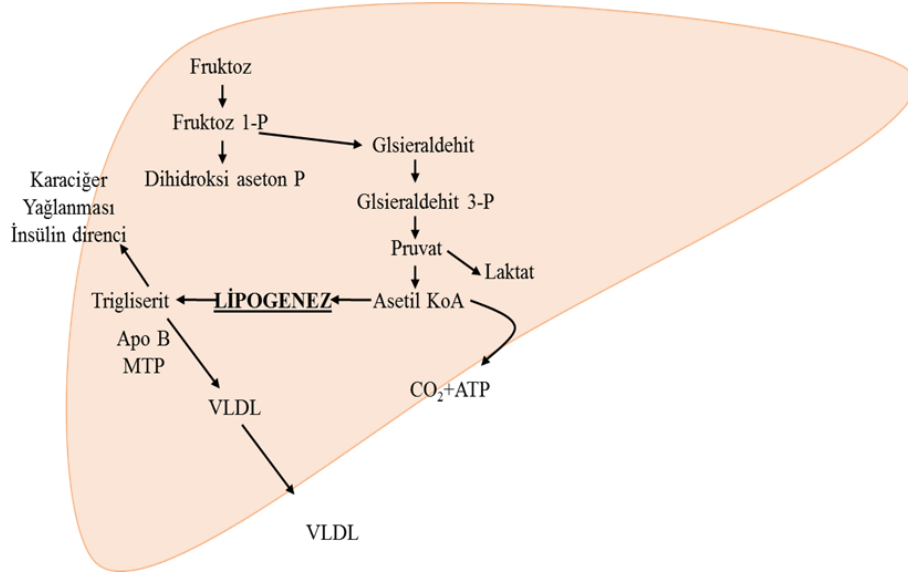
Karaciğerde fruktoz metabolizmasının sonucu, metabolik durum ve karaciğere gelen fruktoz miktarı ile ilişkilidir. Hepatositlere yüksek düzeyde fruktoz akışı sonucunda hepatik triasilgliserol depolanması ve enerji metabolizmasının bozulduğu bildirilmiştir. Yüksek düzeyde fruktoz, glikolitik yolağa girmeye devam ederek hem gliserol hem de asil-gliserol moleküllerinin asil kısımları için karbon atomu sağlamaktadır (95, 96).

Glukozdan trigliserid sentezinin regülasyonu; büyük oranda glikojen sentezi, üç karbonlu ara ürünlerin glikoneogeneze girmesi ve fosfofruktokinaz enzim aktivitesi ile sağlanmaktadır. Sıkı bir şekilde regüle edildiği bilinen glukozdan trigliserid sentezinin aksine, fruktoz metabolizması sırasında düzenleyici faktörlerin rol almadığı bilinmektedir. Diyetle alınan fruktoz miktarı arttıkça asetil KoA üretimi için kontrol edilemeyen bir kaynak oluşmaktadır. Fruktoz metabolizması sonucu oluşan asetil KoA moleküllerinin ise  $\beta$ -oksidasyon kapasitesini aşarak sitrata dönüştürüldüğü bilinmektedir. Üretimi artan sitrat molekülleri ise hepatik de novo lipogenez üzerine arttırıcı etki göstermektedir. Tüm bu etkilerin sonucunda; normal şartlarda insülin ile düzenlenen glikojen ve trigliserid sentezinin regülasyonu yüksek fruktoz nedeniyle bozulmaktadır (97-99). Yapılan bir insan çalışması, fruktoz alımının de novo lipogenezi arttırdığını ancak aynı enerjiye sahip glukozun bu etkiyi gerçekleştirmediğini göstermiştir (100).

Fruktoz metabolizması sonucu üretimi artan trigliserid moleküllerinin bir kısmı dolaşıma verilerek periferel dokularda lipoprotein lipaz (LPL) enzim aktivitesi ile serbest yağ asitleri ve gliserole ayrılmaktadır. Bu nedenle, yüksek fruktoz tüketiminin plazma serbest yağ asitleri düzeyine arttırıcı etki yapabileceği belirtilmektedir (101). Uzaklaştırılmayan trigliserid moleküllerinin ise karaciğerde birikerek basit karaciğer yağlanması neden olabileceği çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir (102, 103) (Şekil 2.3).

Fruktoz, karaciğerde çok düşük dansiteli lipoprotein (VLDL) üretimini arttırarak ve kan trigliserid düzeyini yükselterek insülin direnci oluşturabilmektedir (104). İnsülin, karaciğerde glukoz üretimini baskılayarak etki göstermektedir ancak insülin direncinde bu etkinin bozulduğu bilinmektedir. Yapılan bazı deneysel çalışmalarda yüksek fruktozlu beslenme sonucunda karaciğerde glukoz üretiminin

baskılanmadığı gösterilmiştir. Bununla birlikte insülin duyarlılığında azalma olduğu ve plazma glukoz düzeylerinin yükseldiği de bildirilmiştir (105, 106) (Şekil 2.3.).



**Şekil 2.3. Fruktozun Karaciğerde Lipogenez ve Karaciğer Yağlanması Üzerine Etkileri.** Diyet ile alınan fruktoz emildikten sonra metabolizmasının büyük kısmının gerçekleştiği karaciğere ulaşmaktadır. Fruktoz, gliserol ve trigliserid sentezi için karbon atomu sağlamaktadır. Yüksek fruktoz alımı asetil KoA sentezi için kontrolsüz bir kaynak oluşturmaktadır. Trigliserid sentezinin uyarılması sonucunda karaciğerde birikim düzeyi artar ve insülin direnci oluşumuna neden olabilir. Ayrıca, VLDL üretimi ve kandaki düzeyleri artış gösterir. VLDL: çok düşük dansiteli lipoprotein; ApoB: Apolipoprotein B; MTP: Mikrozomal transfer proteini (102, 103).

Fruktozun de novo lipogenezini arttırıcı etkisinin yanı sıra, uzun zincirli yağ asitlerinin mitokondriyal  $\beta$ -oksidasyonu üzerine inhibe edici etki göstererek de intrahepatik lipid miktarını arttırabildiği bilinmektedir. De novo lipogenez sırasında oluşan bir ara ürün olan malonil KoA'nın, karnitin palmitoil transferaz (CPT)-1 enzimi üzerine inhibe edici etki göstererek  $\beta$ -oksidasyon hızını azalttığı bildirilmiştir (107). Yağ asitlerinin  $\beta$ -oksidasyon hızlarının azalması, karaciğer yağlanması için bir risk faktörü oluşturmaktadır. Fruktozun ayrıca proteinlerin fruktozillenmesi ve reaktif oksijen türlerinin oluşumunu arttırıcı özelliğinin basit karaciğer yağlanmasından steatohepatite olan prognozu sırasında etkili olduğu bildirilmiştir (108).

Fruktoz, uzun dönem enerji homeostazında rol alan 2 anahtar hormon olan insülin ve leptin salınımını uyardırmamaktadır. Pankreatik  $\beta$ -hücrelerde GLUT-5'in

düşük düzeyde eksprese olması fruktozun insülin salınımına neden olmamasının temel nedeni olarak kabul edilmektedir (109). İnsülin, doyurulabilir reseptör aracılı süreçlerle merkezi sinir sistemine etki ederek besin alımını azaltan ve enerji harcamasını arttıran bir hormondur. Merkezi sinir sisteminde yer alan insülin reseptörleri temel olarak besin alımı ve enerji homeostazı ile ilgili bölgelerde bulunmaktadır. Bu şekilde insülinin vücut adipozitesi üzerine etki gösterdiği bilinmektedir. Yapılan bir çalışmada, yüksek yağlı diyet ile oluşturulan obezitenin, insülinin merkezi sinir sistemine taşınmasında % 60 azalma ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (110).

Fruktoz ile salınımı stimüle olmayan ve enerji homeostazında önemli rolü olduğu bilinen leptin; besin alımını sınırlandıran ve enerji harcamasını arttıran etkilere sahiptir. Leptin ve insülinin besin alımı üzerine olan etkilerinin PI3 kinaz aktivasyonu üzerinden gerçekleştiği gösterilmiştir (111). İnsanlarda leptin reseptör defektlerinin hiperfaji ve obezite ile sonuçlandığı, leptin yetersizliği olan kişilere leptin verilmesinin adipoziteyi azalttığı bildirilmiştir. Bununla birlikte, uzun dönem yüksek fruktoz içeren diyetlerin tüketilmesi dolaşımda insülin ve leptin konsantrasyonu azalışı ile vücut ağırlığı artışı ve ilişkili metabolik sonuçları doğurabildiği düşünülmektedir (112).

### **2.2.2. Hepatik Lipid Metabolizması**

Lipidler, besin tüketimini takip eden 2 saat içerisinde olgunlaşmamış şilomikronların yapısına girerek lenfatik sisteme sekrete olmakta ve dolaşıma geçmektedir. Şilomikronlar bu süre içerisinde, LPL enzim aktivitesi için gereksinim duyulan apolipoprotein (Apo) C-2'yi yapılarına alarak dokulara serbest yağ asitleri geçişini sağlarlar. Açığa çıkan serbest yağ asitlerinin bir kısmının karaciğere taşındığı gösterilmiştir. Karaciğerde LPL ekspresyonu artışının, hayvanlarda lipid metabolizması bozuklukları ve insülin direnci ile ilişkili olduğu bildirilmektedir (37, 113, 114).

Karaciğere şilomikronlar aracılığı ile gelen yağ asitleri; hepatositlerde oksidatif yollar aracılığı ile metabolize olmakta, trigliseridlere esterifiye olarak lipid damlacıkları içerisinde depolanmakta ya da VLDL yapısına girerek karaciğerden uzaklaştırılmaktadır (115). Hepatositlerde yağ asit β-oksidasyonu gibi metabolik yollar için özelleşmiş bölgeler olduğu bilinmektedir. Bununla birlikte; farklı oksijen,

substrat ya da hormon yoğunlukları olan bölgelerde ise de novo lipid sentezi veya ketogenez gibi süreçlerin gerçekleştiği saptanmıştır (116).

Hepatik lipid metabolizması hormonlar, nükleer reseptörler, intraselüler sinyalizasyon yolları ve transkripsiyon faktörleri ile kontrol edilmektedir. Lipid metabolizmasının regülasyonunda rol alan en önemli hormonlardan birinin insülin olduğu bilinmektedir. İnsülin, karaciğerde gerçekleşen yağ asit sentezini birçok basamakta etkilemektedir (117). İnsülin ve diğer medyatörlerin lipid metabolizması üzerine olan etkilerinin temelde metabolik durumdan etkilendiği gösterilmiştir. Glukagon benzeri peptit (GLP)-1 gibi hepatik lipid metabolizması üzerine etki eden çeşitli peptit yapılar da bulunmaktadır (118).

Karaciğerde yağ asitlerinin doğru metabolize olamaması ya da lipid metabolik yollarında gözlenen bir bozukluk karaciğer yağlanması ile sonuçlanabilmektedir (119). Karaciğerde yağ asidi ve trigliserid sentez hızındaki artışlar karaciğer yağlanması oluşumunda etkilidir ancak insülin aktivitesinde bozulmanın da bu mekanizma için önem taşıdığı bilinmektedir.  $\beta$ -oksidasyon ve VLDL sekresyonu düzeyinin; trigliserid sentezinde gerçekleşen artışı dengeleyemediği durumlarda ve intrahepatik lipid deposunda gerçekleşen artışın alkole bağlı olmayan yağlı karaciğer için risk oluşturduğu bildirilmektedir (54, 114, 120, 121).

### **Serbest Yağ Asitleri Akışı**

Karaciğere yağ asidi girişi; hepatik lipid dengesinin sağlanması ve basit karaciğer yağlanması oluşumu için önemli etkenlerden birisi olarak kabul edilmekte ve plazmadaki yağ asidi konsantrasyonu ve hepatoselüler kapasiteye bağlılık göstermektedir (122). Depo trigliserid miktarının artışı, inflamasyon ve reaktif oksijen türleri (ROS) gibi ikinci darbelere hassasiyeti artırarak steatohepatit gibi ilerlemiş karaciğer hastalıklarına neden olabileceği bildirilmektedir (123).

Serbest yağ asitleri, hidrofobik özelliklerinden dolayı plazmada albümine bağlı olarak taşınmaktadır. Yağ asitlerinin plazma membranlarından geçişi için membrana bağlı olarak bulunan çeşitli taşıyıcı proteinleri gereksinim duyulmaktadır. Karaciğerin yağ asidi alma kapasitesi, hepatositlerin sinüsoidal plazma membranında bulunan taşıyıcı proteinlerin sayı ve aktivitesine bağlı olarak değişiklik göstermektedir (124). Dolayısıyla hepatositlere serbest yağ asidi girişi tamamı doyurulabilir özellikte olan

bu membran proteinleri ile regüle olmaktadır. Karaciğerde yağlanma gözlenen durumlarda, çeşitli serbest yağ asidi taşıyıcılarının fazla aktive olmaları insülin direnci ile ilişkilendirilmektedir (37, 54, 125).

Basit karaciğer yağlanması patogeneğinde hepatositlere yağ asit girişinin önemi, çeşitli deneysel çalışma sonuçları ile doğrulanmıştır. Karaciğerde sentezlenen trigliserid için en önemli kaynaklardan biri, adipoz doku lipolizi ile plazmaya verilen serbest yağ asitleridir ve yüksek yağ asidi düzeylerinin bozulan lipoliz ile ilişkili olduğu bildirilmektedir. Donnelly ve ark., alkole bağlı olmayan karaciğer yağlanmasında hepatic yağ birikimine neden olan yağ asitlerinin % 60'ının adipoz doku lipolizinden kaynaklı olduğunu göstermişlerdir (60). Böylece adipoz dokudan salınan ve karaciğere akışı olan serbest yağ asitleri konsantrasyonundaki artışın, basit karaciğer yağlanması ile sonuçlanan süreçleri başlatabileceği vurgulanmaktadır (126).

Serbest yağ asitlerinin membranlardan taşınarak hücre içerisine alınma süreçlerinde rol alan temel proteinlerin yağ asidi transport protein (FATP) ve yağ asit translokaz (FAT/CD36) olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte hücre içerisinde yağ asidi taşınmasından sorumlu olan yağ asidi bağlayan proteinlerin (FABP) varlığı da bilinmektedir. Memeli hücrelerinde yağ asidi taşınmasından sorumlu 6 farklı FATP izoformu tanımlanmıştır. Bu izoformlardan FATP-2'nin karaciğer ve böbreklerde eksprese olduğu, FATP-5'in ise karaciğere özel izoform olduğu bilinmektedir (127). FATP-2 ve FATP-5 geni çıkartılmış farelerde diyet ile indüklenen obezite ve karaciğer yağlanması gelişimine direnç olduğu gösterilmiştir (128). Benzer şekilde FATP-2 geni çıkartılmış hayvan modellerinde karaciğere serbest yağ asidi alımı düzeyinin düştüğü ve yüksek yağlı beslenme ile indüklenen karaciğer yağlanmasında azalma olduğu saptanmıştır (125).

Yağ asit translokaz; hepatosit, çizgili kas ve adipoz doku, makrofaj ve platelet gibi çok sayıda doku ve hücre tipinde ekspre olan ve hepatositlerdeki ekspresyon düzeyinin düşük olduğu bilinen bir transport proteindir (129). Obezite gibi yüksek enerji alımı ile indüklenen durumlarda ve basit karaciğer yağlanmasında karaciğerde FAT/CD36 ekspresyonunun, trigliserid düzeyi ile pozitif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (130).

Hücre içerisinde yağ asidi taşınmasından sorumlu olan yağ asidi bağlayan proteinler, hem uzun zincirli yağ asitlerine hem de yağ asil KoA'ya bağlanarak taşınma



gerçekleştirebilirler. Memeli karaciğerinde eksprese olan FABP'nin bağlamış olduğu uzun zincirli yağ asitlerini hücre çekirdeğine getirerek peroksizom proliferatör aktive reseptör (PPAR)- $\alpha$  aktivasyonu gerçekleştirdiği bilinmektedir. Bu taşıyıcı proteinin delesyonu sonucunda hepatik yağ asidi alımı ve diyet ile indüklenen karaciğer yağlanması azalma olduğu bildirilmiştir (131). Yağ asidi taşınması ile ilişkili bir diğer protein sınıfı olan kaveolinler ise lipid damlacıklarının oluşumu için önem taşımaktadırlar. Kaveolin-1 geni çıkartılmış farelerde karaciğerde trigliserid birikiminin azaldığı ve bu farelerin diyet ile indüklenen obeziteye direnç gösterdiği saptanmıştır (118, 130, 132).

Yağ asidi taşıyıcılarının regülasyonu insülin ve karaciğer X reseptörü (LXR), farnesoid X reseptör (FXR), pregnane X reseptör (PXR), PPAR- $\alpha$ , PPAR- $\gamma$  gibi nükleer reseptörler ile ilişkilidir ve bu süreçlerde ortaya çıkan bozuklukların basit karaciğer yağlanması için risk oluşturduğu düşünülmektedir. Bu nükleer reseptörlerin hepatositlerde FAT/CD36 aktivasyonu ile ilişkili olabileceği ve sonuçta hepatosit yağ asit alımı ve trigliserid sentez düzeylerinin artışına neden olabileceği bildirilmektedir (37, 54, 125).

### **De Novo Lipogenez, Yağ Asidi ve Trigliserid Sentezi**

Karaciğerde trigliserid sentezinde kullanılan yağ asitleri; plazmadan ya da de-novo lipogenez adı verilen süreçle farklı kaynaklardan sentezlenerek elde edilmektedir. De novo lipogenez, basit karaciğer yağlanması karaciğerde depo edilen yağ asitlerinin yaklaşık % 26'sını oluşturarak patogeneizde önemli rol oynamaktadır (60). Diyetle karbonhidrat ve yağ alımı fazla olduğunda, karaciğerde yağ asidi sentezi ve trigliserid formunda depolama oranları artış göstermektedir (67, 120).

Karaciğerde yağ asit sentezi ve trigliserid oluşturularak depolanması için glukozdan glikoliz ve pruvat dehidrogenaz enzim aktivitesi sonucunda asetil KoA oluşturulması ve sonrasında asetil KoA karboksilaz (ACC) enzim aktivitesi ile malonil KoA sentezlenmesi gerekmektedir. ACC enziminin 2 izoformundan biri olan ACC-1'in, başlıca karaciğerde eksprese olduğu bilinmektedir. ACC aktivitesinin düzenlenmesi hızlı oluşan veya daha uzun süre gerektiren bazı kontrol mekanizmaları ile gerçekleşmektedir (82). Sitrat, ACC enzimine bağlanarak enzimin aktivitesini

arttırıcı yönde etki göstermektedir. Aynı bölgeye palmitoil KoA bağlanması ise enzim aktivitesinde inhibisyona neden olmaktadır. Yüksek sitrat düzeyleri, ihtiyaçtan fazla enerji olduğunu ve enerjinin depolanması gerektiğini ifade ettiğinden bu koşullarda yağ asidi sentezi uyarılmakta, yağ asidi biyosentezinin son ürünü olan palmitoil KoA biriktiğinde ise sentez yavaşlamaktadır (82, 133). ACC enzimi kontrol mekanizmalarından diğeri ise enzim yapısında gerçekleşen kovalent modifikasyonlardır. Hücre içi siklik adenosin mono fosfat (cAMP) artışıyla aktiflenen cAMP bağımlı protein kinaz enzimin fosforilasyonu ve inaktif formuna dönüştürmektedir. İnsülin, cAMP düzeylerini azaltarak ACC'nin fosforilasyonunu önlemekte, aynı zamanda fosfatazları aktifleyerek defosforilasyonu gerçekleştirmekte ve aktif formu oluşturmaktadır (134). ACC enzim aktivitesi ayrıca uzun sürede gerçekleşen etkileşimlerle de düzenlenmektedir. Farelerde ACC-1 inhibisyonunun hepatik trigliserid düzeylerinde azalmaya ve  $\beta$ -oksidasyon hızında artışa neden olarak basit karaciğer yağlanması için koruyucu etki gösterdiği bildirilmiştir (135).

Yağ asidi sentaz (FAS) enzim kompleksi, malonil KoA ve asetil KoA'yı substrat olarak kullanarak ilk sentezlenen yağ asidi olan palmitik asit sentezini gerçekleştirmektedir. PPAR $\alpha$ , PPAR $\gamma$  ve FXR'nin bu enzim kompleksini regüle ettiği bilinmektedir. Palmitik asit sentezlendikten sonra bazı elongaz ve desaturaz enzim aktiviteleri ile trigliseridlerin majör yağ asidi bileşeni olan tekli doymamış yağ asitlerini oluşturmaktadır (136, 137). Gliserol-3-fosfat asiltransferaz enzimi aktivitesi ile yağ asitleri ve gliserol-3-fosfat esterleşerek trigliserid sentezi gerçekleştirilmektedir. Karaciğerde sentezlenen ya da karaciğere akışı olan serbest yağ asitleri düzeyi arttığında trigliserid ve lipoprotein sentezi de artış göstermektedir. Yapılan bazı deneysel çalışmalarda hepatik trigliserid biyosentezinde son basamağı katalizleyen diasilgliserol-asil transferaz (DGAT) enzim inhibisyonunun basit karaciğer yağlanmasını azalttığı ancak hepatik serbest yağ asidi, lipid peroksidasyon/oksidan stres, lobular nekroinflamasyon ve fibrozu arttırdığı gösterilmiştir (138, 139).

De novo lipogenez, temel olarak transkripsiyonel düzeyde, hormonlar ve beslenme durumu ile regüle edilmektedir. Açlıkta, artmış glukagon ve cAMP düzeylerine bağlı olarak de novo lipogenez hızı azalmaktadır. Postprandiyal süreçte artış gösteren plazma insülin düzeyi ve aktive olan çeşitli spesifik kinaz enzimleri

lipogenezin stimüle olması için önem taşımaktadır (82). Yağ asidi ve trigliserid sentezine katılan çok sayıda enzim aktivitesinin allosterik kontrol ve fosforilasyon/defosforilasyon gibi posttranslasyonel modifikasyonlar ile hızlı şekilde regüle edildiği bildirilmektedir (140).

Lipid homeostazının regülasyonunda rol alan nükleer reseptörler ve stoplazmik transkripsiyon faktörleri, de novo lipogenez ile ilişkili olarak ortaya çıkan bozukluklarda önem kazanmaktadır. İnsülin sinyalizasyonu ve de novo lipogenez için önemli uyarıcılar olan nükleer reseptörlerin glukoz ve lipid metabolizmasının etkileşim içerisinde olmasına katkı sağladıkları bilinmektedir. İnsülinin hem glukoz metabolizması üzerine etki göstermesi, hem de PI3K yolağı aracılığı ile FAS ekspresyonunu stimüle etmesi bu etkileşim içerisinde yer almaktadır. İnsülin ayrıca lipogenik genleri transkripsiyonel düzeyde stimüle eden SREBP-1c ve ChREBP'nin aktivasyonunu sağlamaktadır (141, 142).

Karaciğerde yağ asidi ve trigliserid sentezi ile ilişkili transkripsiyon faktörlerinden SREBP ailesi üyelerinin, lipid metabolizmasının temel düzenleyicileri olarak görev yaptığı bilinmektedir. Karaciğerde yüksek düzeyde eksprese olan SREBP-1c, yağ asit ve trigliserid sentezi ile ilişkili genlerin (FAS ve ACC gibi) aktivasyonunda rol almaktadır. ChREBP ise de novo lipogenezin düzenlenmesinde glukoz düzeyine yanıt vererek etki gösteren bir transkripsiyon faktörüdür. Glukoz varlığı, ChREBP amino asit rezidülerinin defosforilasyonu ile nükleusa taşınması ve gen promotor bölgelerine bağlanmasını sağlamaktadır. ChREBP çeşitli lipogenik genlerin ve karaciğerde bulunan pruvat kinazın ekspresyonunu stimüle etmektedir. Bu enzimin aktivitesi sonucunda yağ asit ve trigliserid sentezi için daha fazla substrat elde edilmektedir. ChREBP'in sistemik delesyonu bu genlerin ekspresyonunu azaltarak hepatik glikoliz ve lipogenezi inhibe etmekte ve karaciğerde glikojen sentezini arttırmaktadır (143). ChREBP aşırı-ekspresyonunun ise insülin direnci gözlenmeden karaciğer yağlanmasına neden olabileceği yapılan bir çalışmada gösterilmiştir (144). Fare modeli kullanılan bir çalışmada LXR ile birlikte SREBP-1c ve ChREBP'nin karaciğer yağlanması gelişim mekanizmasında rol aldığı gösterilmiştir (145).

Lipid metabolizmasının düzenlenmesinde rol alan nükleer reseptörlerden birisi olan LXR, kolesterol metabolizması ara ürünleri olan oksisteroller ile aktive olmaktadır. Aktive olduktan sonra retinoid X reseptörü (RXR) ile heterodimer

oluşturarak etki gösterdiği bilinmektedir. LXR'nin hedef genleri arasında SREBP-1c ve ChREBP de bulunmaktadır. LXR, SREBP-1c ekspresyonunu arttırarak de novo yağ asit sentezini stimüle etmektedir (146, 147). Glukoz, LXR'ye bağlanarak bu reseptörü aktive etmekte ve dolayısıyla ortamda fazla miktarda bulunan glukoz, yağ asit sentezini indükleyebilmektedir. Düşük yağlı, yüksek karbonhidratlı beslenme sonucunda gözlenen hipertrigliseridemi bu ilişki ile açıklanabilmektedir. İnsülin de LXR'yi aktive ederek SREBP-1c transkripsiyonunda artış sağlamaktadır (120). İnsülin direncinde yüksek seviyedeki insülin ve glukozun hem LXR hem de SREBP-1c ve ChREBP'yi indükleyerek hepatik lipogenez arttırdığı bildirilmiştir (54).

Farnesoid X reseptörü, safra asitleri ile aktive olan ve negatif geri-bildirim mekanizması ile safra asidi sentezini baskılayan bir nükleer reseptör ailesi üyesidir (148). Bu reseptör, serbest yağ asitleri ve trigliserid metabolizmasının kontrolünde rol alan çok sayıda geni regüle etmektedir. SREBP-1c ve ChREBP üzerinden glikoliz ve lipogenez üzerine baskılayıcı etki göstermektedir (149). FXR geni çıkarılmış farelerin hem dolaşım hem de karaciğerlerinde daha yüksek düzeyde trigliserid düzeyi olduğu saptanmıştır (148).

Lipid metabolizmasının regülasyonunda yer alan bir diğer nükleer reseptör ailesi PPAR üyesi olan PPAR- $\alpha$ 'nın çeşitli fare modellerinde basit karaciğer yağlanması karşı koruyucu etki gösterdiği (150), PPAR- $\gamma$ 'nın ise karaciğerde yağ asit alımı ve trigliserid biyosentezi ile ilişkili çok sayıda genin ekspresyonunu stimüle ettiği bildirilmiştir (37). Hem PPAR- $\alpha$  hem de PPAR- $\gamma$ 'nın basit karaciğer yağlanması patogeneğinde etkili olduğu bildirilmektedir. Hepatosit PPAR- $\gamma$  spesifik delesyonu, yüksek yağlı diyet alan farelerde birçok lipogenik genin ekspresyonunu baskılamış ve basit karaciğer yağlanması karşı koruyucu etki göstermiştir (132).

### **Yağ Asitlerinin Oksidasyonu**

Karaciğerde depolanan trigliserid miktarının dengeleyen etmenlerden biri mitokondride gerçekleşen yağ asit  $\beta$ -oksidasyonudur. Yağ asit oksidasyonu; mitokondri, peroksizom ya da mikrozomlarda gerçekleşen katabolik bir yoldur. Kısa, orta ve uzun zincirli yağ asitleri genellikle mitokondride okside olurken, çok uzun zincirli yağ asitlerinin peroksizomlarda okside olduğu bilinmektedir. DM gibi ortamda yüksek miktarda yağ asidi bulunmasına neden olan patolojik durumlarda uzun zincirli

yağ asitlerinin endoplazmik retikulumda (ER) sitokrom (CYP)-4A bağımlı  $\omega$ -oksidasyona uğradığı gösterilmiştir. Bu metabolizma sonucunda reaktif oksijen türleri ile lipid peroksidasyon ürünlerinin üretiminin artış gösterdiği bilinmektedir (151).

Yağ asitleri, mitokondriyal membranlardan geçiş yapabilmek için aktive olmaktadır. Aktive olmuş uzun zincirli yağ asitleri dış mitokondriyal membrandan karnitin ve karnitin palmitoil transferaz (CPT)-1 enzimine bağımlı olarak geçmektedir. Yağ asit sentezi sırasında asetil KoA'nın karboksilasyonu ile oluşturulan malonil KoA, CPT-1 enzimini allosterik olarak inhibe etmektedir. Adenozin monofosfat ile aktive olan protein kinazın (AMPK) mitokondriye yağ asit taşınması ve  $\beta$ -oksidasyonu artırıcı etkisinin de ACC inaktivasyonu ve malonil KoA üretiminin azaltılması üzerinden olduğu bildirilmiştir (66). Farelerde  $\beta$ -oksidasyonun enzim yetersizliği oluşturularak inhibe edilmesi sonucunda basit karaciğer yağlanması geliştiği gözlenmiştir. Bu durum yağ asit  $\beta$ -oksidasyonunun hepatik trigliserid birikimi içeriği için önemli olduğunu vurgulamaktadır (152).

Postprandiyal süreçte karaciğerde  $\beta$ -oksidasyonun baskılandığı bilinmektedir. Bu durumun insülinin adipoz doku üzerine olan antilipolitik etkisi sonucu karaciğere akışı olan serbest yağ asidi düzeyindeki düşüş ile ilişkili olduğu bildirilmektedir. Bununla birlikte, insülinin SREBP-1c ve ACC'yi aktive ederek de novo lipogenez hızını arttırdığı gösterilmiştir. Artan ACC aktivitesi sonucu oluşan malonil KoA'nın, CPT-1 aktivitesini inhibe ederek mitokondriye girişi olan yağ asit miktarını ve  $\beta$ -oksidasyon hızını azalttığı bilinmektedir. Açlıkta ise glukagonun etkisi ile yağ asit oksidasyonunun artış gösterdiği bilinmektedir. Glukagon sinyalizasyonu sonucu AMPK aktive olarak ACC fosforilasyonu ile malonil KoA sentezini azaltmaktadır. Glukagonun bu net etkileri sonucunda hepatik yağ asit sentezi azalmaktadır (153).

Karaciğer yağlanması ile ilişkili durumlarda yağ asit oksidasyon hızının değiştiği bildirilmektedir (154). Karaciğer yağlanması ve insülin direnci gibi patolojik durumlarda ATP üretiminin bozulduğu bilinmektedir (155). Bununla birlikte, karaciğer yağlanmasında yağ asit oksidasyon hızının arttığını gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (71, 156). Ayrıca artmış mitokondriyal aktivitenin karaciğerde oksidatif stresi arttırabileceği ve alkole bağlı olmayan steatohepatit için risk faktörü oluşturabileceği bildirilmektedir (157).

### **Trigliseridlerin Sekresyonu**

Karaciğerde bulunan trigliserid moleküllerinin, VLDL partikülleri içerisine paketlenerek iskelet kası ve adipoz doku gibi periferel dokulara gönderilmektedir. Karaciğerde trigliserid düzeyi metabolize olacağı ya da sekrete edilebileceği miktarı aştığında, karaciğerde depolanma süreçlerinin başladığı gösterilmiştir (27).

Her VLDL partikülü bir molekül Apo-B100 ile stabilize edilmektedir. Apo-B100, uzun bir polipeptit zincirdir ve ER lümeninde trigliserid molekülleri ile lipetlenmektedir. Apo-B100'ün lipetlenmesi mikrozomal trigliserid transfer proteini (MTP) ile gerçekleştirilmektedir (158). Olgunlaşmamış VLDL partiküllerinin ER'den golgi aparatına transfer olduğu ve bu süreçte yapısına daha fazla trigliserid molekülü aldığı gösterilmiştir (159).

Karaciğerde bulunan trigliserid miktarı ve hepatositlerin VLDL üretme kapasitesinin VLDL sekresyon hızını etkilediği bilinmektedir. VLDL yapısına katılacak yeterli trigliserid olmadığında Apo-B100'ün proteozomal ve proteozomal olmayan yollarla degrade edildiği bildirilmiştir (37, 130). İnsülin, VLDL partiküllerinin sentezinde önemli bir düzenleyicidir ve otofaji-bağımlı bir yolak aracılığı ile Apo-B100 degradasyonunda rol almaktadır. Bununla birlikte, PI3K/Akt yolağı aracılı bir regülasyon ile MTP ekspresyonunu inhibe ettiği de bildirilmiştir (160). Toklukta insülin ile indüklenen lipogenez sonrasında VLDL yapısına girmek üzere daha fazla trigliserid sentezlense de, insülinin net etkisi postprandiyal VLDL sekresyonunu azaltmak yönündedir (161).

Bozulmuş VLDL sentez ve sekresyonu sonucunda karaciğerde yüksek miktarda lipid birikimi gözlenmektedir. Hipobetalipoproteinemi (örn; Apo-B100 mutasyonları) veya abetalipoproteinemi (örn; MTP mutasyonları) hastalarında karaciğerde yağlanma olduğu bildirilmektedir (37, 162). Bununla birlikte, karaciğerde aşırı MTP eksprese eden farelerde VLDL üretimi ve plazma trigliserid düzeylerinin arttığı gösterilmiştir (163). Alkole bağlı olmayan karaciğer yağlanmasında artmış de novo lipogeneze bağlı olarak VLDL partiküllerinin aşırı miktarda üretildiği gösterilmiştir. Artmış VLDL üretiminin karaciğeri yağlanmadan korumak amaçlı gelişmiş bir mekanizma olabileceği düşünülmektedir ancak uzun dönem fazla beslenme gibi durumlarda bu mekanizmanın dengeyi sağlayamadığı ve karaciğerde trigliserid birikiminde kronik artışlar gözlemlendiği belirtilmektedir (164). İnsülin direnci

gibi karaciğere serbest yağ asidi akışında artış olan durumlarda ER stresi de artış göstermekte ve bu durum Apo-B100 degradasyonunu ve yağlanma durumunu arttırmaktadır (37, 161).

Sonuç olarak, karaciğerde lipid homeostazının sağlanmasında karaciğere serbest yağ asidi girişi, trigliserid sentezi ile sekresyonu arasındaki denge büyük önem taşımaktadır. Bu yolların herhangi birinde gerçekleşen bozukluk lipid metabolizması açısından istenmeyen sonuçlar doğurmaktadır. Karaciğer yağlanmasının başlangıcında; serbest yağ asidi alımında ve de novo lipogeneze artış ve yağ asit  $\beta$ -oksidasyonunda azalma olduğu bildirilmektedir. VLDL aracılığı ile azalmış trigliserid sekresyonu hepatik lipid birikimi üzerine arttırıcı etki oluşturmaktadır. Lipid metabolizması ile ilgili olarak karaciğer yağlanmasında aktive olan molekül/yolaklar Tablo 2.1.'de gösterilmektedir.

**Tablo 2.1.** Karaciğer yağlanması aktif olan moleküller ve sinyal yolları (37).

Molekül/yolaklar	Görevler	Yağlı karaciğerde durum
<b>Serbest yağ asitlerinin karaciğere girişi</b>		
FATP-2, 5	Hücreye uzun zincirli yağ asitlerinin alımı	↑
FAT/CD36	Hücreye yağ asitlerinin alımı	↑
FABP-1, 4, 5	Hücre içi yağ asit taşıyıcıları	↑
<b>Hepatik yağ asidi ve TAG sentezi</b>		
ACC-1, 2	Asetil KoA'dan malonil KoA oluşumu	↑
FAS	Yağ asit sentezi	↑
SCD-1	Tekli doymamış uzun zincirli yağ asidi sentezi	↑
GPAT	TAG sentezi	↑
<b>Hepatik yağ asit oksidasyonu</b>		
CPT-1	Yağ asitlerinin mitokondriye transferi	↓
β-oksidasyon enzimleri	Uzun zincirli yağ asitlerinden Asetil KoA oluşturulması	Yetersiz veri
<b>Hepatik TG sekresyonu</b>		
ApoB-100	VLDL sentezi	↑
MTP	ApoB100 - lipid birleşimi	↑
<b>Regülatörler</b>		
PPAR-α	CD36, FABP-1 ve CPT-1 stimülasyonu	↓
PPAR-γ	CD36, SREBP-1c, ChREBP, ACC, FAS ve SCD-1 stimülasyonu	↑
LXR-α	CD36, FABP-1 stimülasyonu	↑
SREBP-1c	ACC-1, ACC-2, FAS ve SCD-1 stimülasyonu	↑
ChREBP	ACC-1 ve FAS stimülasyonu	↑
FXR	De novo lipogenez inhibisyonu	↓

FATP: Yağ asidi transpot proteini, FAT/CD36: Yağ asit translokaz, FABP: Yağ asit bağlayan protein, ACC: Asetil KoA karboksilaz, FAS: Yağ asit sentaz, SCD: Steroil KoA desatüraz, GPAT: Gliserol fosfat asil transferaz, CPT: Karnitin palmitoil transferaz, ApoB: ApolipoproteinB, MTP: Mikrozomal transfer proteini, PPAR: Peroksizom proliferatör aktive protein; SREBP: Sterol regülatör element bağlayan protein, ChREBP: Karbonhidrata yanıt veren eleman bağlayan protein; LXR: Karaciğer X reseptörü, FXR: Farnesoid X reseptörü



### 2.3. Glukoz ve Lipid Metabolizmasında Düzenleyici Enzim Olarak Adenozin Monofosfat ile Aktive Olan Protein Kinaz

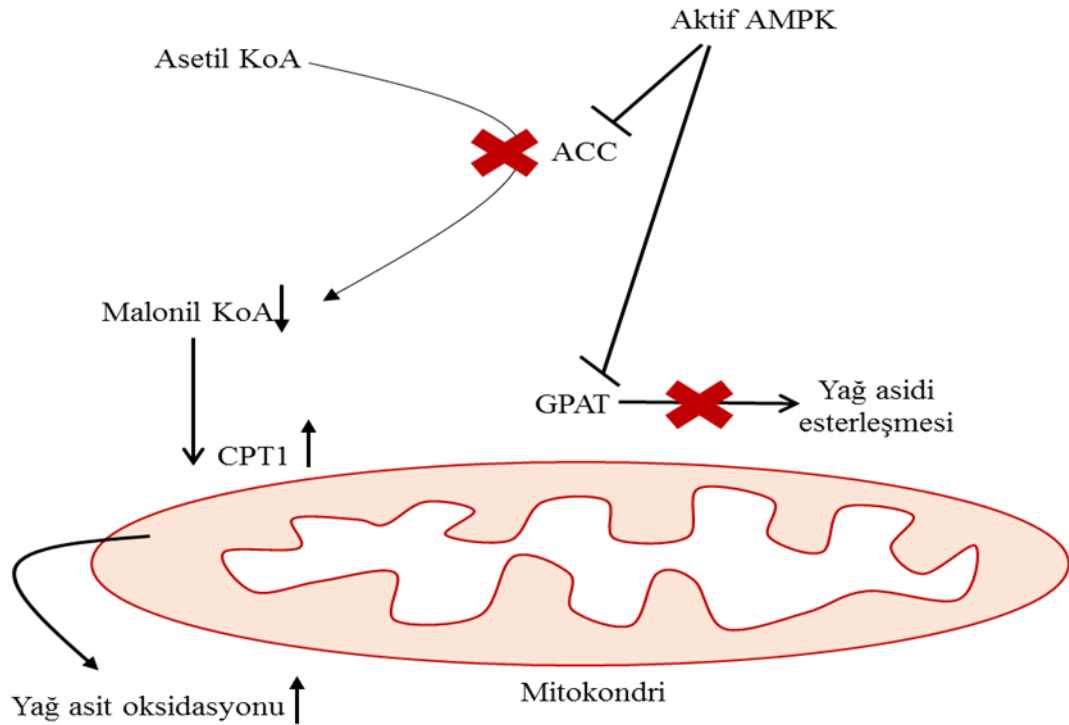
Tüm hücrelerin temel gereksinimlerinden biri, yeterli besin ögesi sağlandığında büyüme faktörlerinden kaynaklanan sinyaller ile proliferasyona uğrayarak doğru hücre bölünmesini gerçekleştirmektir. Hücrelerin biyoenerjetik ihtiyaçları için intraselüler ATP düzeyleri önem taşımaktadır. Alınan besin ögesi düzeyi azaldığında, ATP/AMP oranı azalmakta ve eğer biyosentetik süreçler yavaşlatılmaz ise kritik düzeyde azalan ATP hücrede çok önemli hasarlar oluşturmaktadır (165). Hücrenel enerji durumunun düzenlenmesinde AMP düzeyi ATP'ye göre daha hassas bir göstergedir. AMP ile düzenlemenin en önemli enzimi, çeşitli proteinleri fosforilleyerek AMP düzeyini arttırıcı yönde etki gösteren AMPK'dir (165).

Adenosin mono fosfat aktive protein kinaz, enerji homeostazı ve besin ögesi metabolizmasının düzenleyicisi olarak rol alan bir serin/teronin kinazdır. Enerji yetersizliğinde allosterik ve kovalent modifiyasyonlarla aktive olan AMPK; çeşitli dokularda metabolik yolları etkileyerek enerji düzeyinin regülasyonunda rol almaktadır (166). AMPK'nin karaciğerde çeşitli enzimlerin aktivitesini değiştirerek katabolik yolları aktive, anabolik yolları ise inhibe ettiği bilinmektedir (167). Enerji metabolizması üzerine olan etkilerini akut olarak ya da enerji metabolizmasında yer alan genlerin transkripsiyon ve translasyonlarını düzenleyerek gerçekleştirdiği bildirilmiştir (168-170). Ayrıca, karaciğerde SREBP-1c aktivitesini azaltarak lipid sentezi ile ilişkili genlerin transkripsiyonu üzerine azaltıcı etki yaptığı gösterilmiştir (171).

Karaciğerde, AMPK'nin lipid metabolizmasında yer alan çok sayıda proteinin aktivitesini düzenlediği bilinmektedir (172). Yağ asit sentezinde düzenleyici enzim olan ACC'nin Ser79 kalıntısını fosforilleyerek bu enzimi inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu inhibisyon, malonil KoA düzeyi ve yağ asit sentezinin azalması ile sonuçlanmaktadır. Malonil KoA düzeyinde azalma ile birlikte CPT-1 aracılı yağ asit oksidasyonu artmakta ve bunun sonucunda enerji üretiminde artış gerçekleşmektedir (173, 174). Bununla birlikte, gliserol fosfat asil transferaz (GPAT) enzimini akut olarak inhibe ettiği ve trigliserid sentezini azalttığı bildirilmiştir. Trigliserid sentezinde azalma sonucunda da yağ asitleri oksidasyonu artış göstermektedir (175). Sonuçta;

AMPK'nin GPAT inhibisyonu ve CPT-1 aktivitesindeki artışa olan akut etkisi, yağ asitlerinin oksidasyonunda artış sağlamaktadır (Şekil 2.4.).

Karaciğerde lipid birikimini önleyici etkilerinden dolayı AMPK'nin karaciğer yağlanması mekanizmasında etkili olduğu bildirilmiştir (172, 176). Bununla birlikte, glukoz metabolizması ile ilişkili olarak da düzenleyici etki göstermesi mekanizmada rol almasını sağlamaktadır (168). Yapılan bir hayvan çalışmasının sonuçlarına göre, yüksek sükroz ile beslenen sıçanlarda AMPK aktivitesindeki azalmaya bağlı olarak karaciğerde yağlanma geliştiği gösterilmiştir (177).



**Şekil 2.4. Hepatik AMPK ile lipid metabolizmasının düzenlenmesi.** Asetil KoA karboksilaz (ACC) inhibisyonu sonucunda malonil KoA düzeyi azalarak karnitin palmitoil transferaz (CPT-1) aktiflenmesi gerçekleştirilmektedir. Bu aktivasyon sonucunda yağ asit oksidasyon düzeyi artış göstermektedir. Adenozin Monofosfat ile Aktive Olan Protein Kinaz (AMPK) ayrıca gliserol 3-fosfat asiltransferaz (GPAT) enzim aktivitesini inhibe ederek yağ asidi esterleşmesini baskılamaktadır (175).

## 2.4. İnsülin Direnci ve Lipogenez

Karbonhidrat ve lipid metabolizmasında önemli görevlere sahip olan insülinin (178); reseptörüne bağlandıktan sonra GLUT-4 aracılı glukoz akışı ve ACC-1 aracılı yağ asit sentezi gibi birçok metabolik süreci başlattığı bilinmektedir (179, 180). İnsülin, glukoz taşıyıcılarının ekspresyonunu arttırarak, hücrelere glukoz girişini sağlamaktadır. Karaciğerde insülinin etkisi sonucunda glikoneogenez ve glikojen yıkımı inhibe edilmekte, glikojen sentezi ise artış göstermektedir. İnsülinin lipid metabolizması üzerine etkisi ise lipolizin inhibisyonu ve trigliserid sentezinin arttırılması yönünde gerçekleşmektedir. Sonuçta insülinin; hem glukoz hem de lipid metabolizmasında depolanmayı arttırıcı yönde etki gösterdiği bilinmektedir (181).

İnsülin; iskelet kası, adipozitler ve hepatositlerin yüzeyinde bulunan reseptörünün  $\alpha$ -alt ünitelerine bağlanarak reseptörün stoplazmik bölgesinde ( $\beta$ -alt üniteler) otofosforilasyona neden olmaktadır. İnsülin reseptörünün, insülin ile bağlanmayı takiben aktive olan intrinsik tirozin kinaz aktivitesi bulunmaktadır. Otofosforillenen reseptör, IRS-1 ve IRS-2, Src homoloji kollajen ve adaptör protein gibi substratlarının tirozin kalıntılarını fosforilleyerek aktive etmektedir. Fosforillenen bu proteinler ise, insülin sinyalizasyon yollarında yer alan çeşitli bileşenlere bağlanmakta ve aktivasyonlarını sağlamaktadır. Aktive IRS-1, PI3-kinaz ile birleşerek Akt aktivasyonunu gerçekleştirmektedir. Bu sinyalizasyon kaskadı ve hepatik glukoz çıkışının insülin bağımlı inhibisyonu glukoz homeostazının sağlanmasında önemli işlev göstermektedir. İnsülinin ayrıca lipid metabolizması üzerine olan regüle edici etkileri de glukoz homeostazını etkilemektedir (95).

Adipoz doku, insan vücudunda insüline duyarlı temel dokulardan birisidir ve bununla birlikte preadipozitlerin adipozitlere farklılaşması insülin ile indüklenmektedir. Adipoz dokuda insülin; lipoprotein lipaz aktivitesini arttırarak trigliserid sentezini stimüle ederken, lipolizi inhibe etmektedir. Bu yolak, insülin aktivitesine en hassas yollardan birisidir ve serbest yağ asidi alımı, glukoz transportu velipogenik enzimlerin gen ekspresyonunu arttırmakta, hormona duyarlı lipazı ise inhibe etmekte ve (95).

İnsülin reseptörü bir tirozin kinaz reseptörü olduğu için kinaz aktivitesi ile başlayan sinyal yollarındaki bozulma, insülin direnci oluşumu ile sonuçlanabilmektedir (182, 183). İnsülin direnci, eksojen ya da endojen insüline

verilen biyolojik yanıtın sağlanamaması ve bununla birlikte karbonhidrat, protein ve yağ metabolizması üzerine olan etkilerinin bozulması olarak tanımlanmaktadır. İnsülin direnci ile ilişkili bozukluklarda insülinin hepatik glukoz üretimi üzerine olan baskılayıcı etkisinin azaldığı ve dolaşımdaki glukoz düzeyinin artış gösterdiği bildirilmektedir. İnsülin sinyalizasyon yollarındaki bozukluklar sonucunda insülin direnci ile birlikte glukotoksisite ve hiperinsülinemi oluşabilmektedir. Kronik hiperinsülinemik durumlarda hayvanlarda IRS-1 ve IRS-2 düzeylerinin azaldığı gösterilmiştir. IRS-1, glukokinaz ekspresyonunu regüle ederek glukoz homeostazına etki göstermektedir. IRS-2 ise SREBP-1c ve yağ asit sentaz gibi çeşitli lipogenik enzimlerin regülasyonunu değiştirerek lipogenez üzerine etki göstermektedir (184).

İnsülin direnci ve basit karaciğer yağlanması arasında ilişki olduğu çok sayıda epidemiyolojik ve deneysel çalışmada gösterilmiştir (72, 185-187). İnsülin direncinin, alkole bağlı olmayan karaciğer hastalıklarının başlatıcısı olarak kabul edilen basit karaciğer yağlanmasının patofizyolojisindeki temel bozukluk olabileceği vurgulanmaktadır (188, 189). İnsülin direncinin karaciğerde lipid birikimine neden olduğu düşünülen mekanizmaların başında lipolizin bozulması ve hiperinsülinemi oluşumu gelmektedir (187).

İnsülin direnci, hepatik ve adipoz dokuda lipid metabolizması üzerine etki göstererek karaciğer yağlanmasına neden olabilmektedir. İnsülin direnci sonucunda adipoz dokuda hormona duyarlı lipaz aktivitesi uyarılarak lipoliz artış göstermektedir. Böylece, karaciğere serbest yağ asidi akışı artarak de novo yağ asit biyosentezinin ACC-1 aracılı başladığı bilinmektedir (130). Oluşan hiperinsülinemiye karşın, insülinin glikoneogenez üzerine baskılayıcı etkisinin gerçekleşmediği ve ortamda fazla miktarda bulunan substratın karaciğerde trigliserid depolanmasını arttırıcı yönde etki ettiği bildirilmektedir (126). Hiperinsülineminin ayrıca SREBP-1c ve ChREBP'yi stimüle ederek de novo lipogenezde artışa neden olduğu; bununla birlikte VLDL ve Apo B degradasyonunu arttırarak karaciğerden trigliserid çıkışını azaltabildiği gösterilmiştir (178, 179).

İnsülin direncini inflamatuvar süreçte salınan birçok inflamatuvar aracının etkilediği ya da var olan insülin direncini şiddetlendirebildiği bildirilmiştir (178, 182, 190, 191). İnsülin direnciyle birlikte, adipokin ve inflamatuvar sitokinlerin üretim ve sekresyonunda değişiklik oluşmakta ve adipoz doku disfonksiyonu gerçekleşmektedir.

Adipozitetlerde lipoliz hızının bozulması sonucunda bölgeye makrofaj akışı ve proinflatuar sitokin sekresyonu artış göstermektedir (192).

Karaciğer hücrelerinde lipid birikiminin insülin direnci oluşum mekanizmaları üzerine etki gösterdiği düşünülmektedir (117, 193). Artmış serbest yağ asitlerinin, IRS-1'in tirozin fosforilasyonunu bozarak insülin direncini arttırabildiği bildirilmiştir (183). Karaciğerde lipid metabolizması sırasında oluşan spesifik ara ürünlerin insülin sinyalizasyonu üzerine etki gösterebildiği vurgulanmaktadır (154). Bu ara ürünlerden biri olan DAG'nin karaciğerde protein kinaz C (PKC)-ε'nin plazma membranına translokasyonu arttırdığı ve insülin reseptörünün hücre içinde yer alan kinaz bölgesini inhibe ederek direnç oluşturabildiği gösterilmiştir (154).

## 2.5. İnflamasyon ve De Novo Lipogenez

İnflatuar aracılarn salınıp inflamasyonun başlamasına mekanik ve kimyasal birçok ajan sebep olabilmektedir (190). İnflamasyon, vasküler doku ve çeşitli hücrelerin herhangi bir hasara karşı verdiği yanıtı içeren kompleks bir reaksiyon olarak tanımlanmaktadır. Doğal ve edinilmiş immün sistem disfonksiyonunun, inflamatuvar yolakların aktivasyonu ile birlikte karaciğer yağlanması mekanizmasında rol aldığı düşünülmektedir. Bununla birlikte; nötrofil, dendritik hücre, doğal öldürücü hücre ve kupffer hücrelerinin bu süreçlerde aktive olan immün hücreler olduğu çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir (194-196). Karaciğerin inflamatuvar uyarılara karşı gerçekleştirdiği yanıt, karaciğer yağlanması progresyonunu etkileyebilmektedir (197).

Doğal immün hücre aktivasyonunun basit karaciğer yağlanmasında gerçekleşen inflamatuvar yanıtın başlaması açısından önem taşıdığı bilinmektedir. Hücre yüzeyinde eksprese olan veya hücre içerisinde yer alan bazı kalıp tanıma reseptörlerinin bu inflamatuvar yanıtta rol aldığı bildirilmiştir (196). Karaciğerde bulunan kalıp tanıma reseptörlerinden biri olan toll benzeri reseptör (TLR) ailesi hepatosit, kupffer hücreleri, hepatik stellat hücreleri, biliar epitel hücreler ve sinüsoidal endotel hücreler gibi hücrelerin yüzeyinde yer almaktadır. Bu reseptör ailesinde yer alan TLR-4'ün karaciğer yağlanması ile ilişkili olduğunu ve uyarıldıktan sonra bir seri inflamatuvar reaksiyonu başlattığını bildiren çalışmalar bulunmaktadır (198-200). TLR'nin aktive olarak uyarılmasından sonra, stres aktive protein kinaz, mitojen aktive protein kinaz ve Jun N-terminal kinaz (JNK) gibi çeşitli inflamatuvar yolakları aktive

ettiği bilinmektedir. Bununla birlikte nükleer faktör- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B)'nin nükleusa translokasyonu ve çeşitli proinflamatuvar genlerin transkripsiyonunu arttırdığı gösterilmiştir. TLR uyarılmasını takiben tümör nekroz faktör (TNF)- $\alpha$  ve interlökin (IL)-6 gibi inflamatuvar sitokinlerin salınımı ile lokal bir inflamatuvar yanıtın başladığı bilinmektedir. Bu sitokinlerin inflamasyonu arttırıcı yönde etki gösterdiği, insülin direnci oluşumu ve lipid metabolizmasını etkilediği bildirilmiştir (201). Karaciğer yağlanmasında gerçekleşen lipid birikiminin de kupffer hücre TLR aktivasyonu gerçekleştirdiğini gösteren bir çalışma bulunmaktadır (202). Serbest yağ asitlerinin direkt olarak TLR-4'e bağlanarak kupffer hücre aktivasyonuna neden olduğu bildirilmiştir (203).

Karaciğerde bulunan immün hücrelerden olan Kupffer ve dendritik hücrelerin, hepatoselüler hasarın ilk aşamalarına proinflamatuvar sitokin salınımı yaparak yanıt verdikleri bilinmektedir (197). Kupffer hücrelerinin aktivasyonu sonucunda, hücre yüzeyinde bulunan reseptörler uyarılarak TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$  gibi pro-inflamatuar sitokinlerin salınımında artış olduğu gösterilmiştir (204, 205). Bununla birlikte nötrofil akitvasyonunun da proinflamatuvar sitokin salınımını arttırarak karaciğer hücrelerinde oksidatif hasar oluşturabildiği bildirilmiştir (53).

İnflamatuar süreçlerde çeşitli proinflamatuvar sitokin ve adipokin salınımının artış gösterdiği bilinmektedir. Karaciğer hücre hasarı ile birlikte, proinflamatuvar sitokinlerin salınımını uyaran NF- $\kappa$ B gibi bazı yollar aktive olmaktadır. Karaciğerde serbest yağ asitleri düzeyinin artışı ile birlikte inflamatuvar sitokin TNF- $\alpha$  üretiminin arttığını bildiren bir deneysel çalışma bulunmaktadır (206). Karaciğere gerçekleşen yüksek miktarda lipid akışının hepatik mitokondriyal oksidatif aktiviteyi arttırabildiği ve inflamatuvar sitokinlerin salınımını indükleyen reaktif oksijen türlerinin oluşumuna neden olabildiği gösterilmiştir (207, 208). Ayrıca adipozit farklılaşması ve adipoz doku kütlesindeki artış sonucunda salınımı artan çeşitli sitokin ve adipokinlerin lokal ve sistemik etkileri ile karaciğer yağlanması üzerine etki gösterdiği bildirilmektedir. Adipokinlerin akut faz yanıt, lipoprotein metabolizması, enerji homeostazı, immün sistem ve vaskularizasyonda değişiklik oluşturarak bu etkiyi gösterdiği düşünülmektedir (45, 46). Fonksiyonu bozulmuş adipoz dokuda gerçekleşen makrofaj infiltrasyonunun TNF- $\alpha$  ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınımını arttırdığı bildirilmektedir (209). Yapılan bir çalışmada, fare hepatositlerinde IL-6'nın FABP

geni ve protein ekspresyonu üzerine arttırıcı etki yaparak karaciğer lipid içeriğini arttırdığı gösterilmiştir (210). Yapılan başka bir çalışmada ise TNF- $\alpha$  geni çıkarılmış farelerde karaciğer trigliserid düzeyinin FAT/CD36 düzeylerindeki azalmaya bağlı olarak düştüğü gösterilmiştir (211).

Karaciğerde gerçekleşen inflamasyonun insülin direnci oluşumu ile ilişki göstererek de karaciğer yağlanması mekanizmasında rol alabildiği düşünülmektedir (212). Karaciğer yağlanmasında artış gösteren TNF- $\alpha$  ekspresyon düzeyinin, insülin reseptörü ile IRS-1'in tirozin fosforilasyonunu etkileyerek insülinin hedef dokularda etkisini azaltabildiği bildirilmiştir (182). Karaciğer yağlanmasında artış gösteren diğer proinflamatuvar sitokinlerden IL-1 ve IL-6 üretiminin (213, 214), karaciğerde artan inflamasyon ile birlikte hiperinsülinemi ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (28, 215). Dolayısıyla karaciğer yağlanması oluşumunda inflamasyonun, hem hepatik hem de sistemik insülin direnci ile ilişkili göstererek önem kazandığı belirtilmektedir (51).

## **2.6. Beslenme ve De Novo Lipogenez**

Kapsamlı epidemiyolojik çalışmalar, diyetle alınan makro besin öğeleri ve basit karaciğer yağlanması arasında ilişki olduğunu bildirmektedir (52, 216, 217). Diyetteki karbonhidrat ve yağların cinsi ve oranı karaciğerde lipogenez, inflamasyon ve insülin duyarlılığını etkileyerek karaciğer yağlanmasının nedeni olabilmektedir. Çeşitli deneysel çalışmaların sonuçlarına göre; sağlıksız beslenme alışkanlığı olan normal vücut ağırlıklı bireylerde insülin direnci gelişerek karaciğer yağlanması için risk faktörü oluşturmaktadır (218, 219). Diyetin karaciğer yağlanması patogenezindeki etkilerinin araştırıldığı epidemiyolojik çalışmaların sonuçlarına göre farklı oranlarda karbonhidrat ve yağlı beslenmenin insülin direnci (220), obezite ve karaciğer hasarı (30) etiolojisinde önemli olduğu belirtilmektedir.

Yüksek karbonhidrat veya yüksek yağlı diyet ile beslenmenin karaciğer hücrelerinde lipogenez ve inflamatuvar yanıtı etkileyebileceği çeşitli deneysel çalışmalarda gösterilmiştir (47, 190, 221). Bununla birlikte, karaciğer yağlanması olan bireylerde diyetle doymuş yağ asidi ve basit yapılı karbonhidrat alımlarının yüksek olduğu çeşitli çalışmalarda tespit edilmiştir (222, 223).

### 2.6.1. Diyetle Karbonhidrat Alımı

Çok sayıda epidemiyolojik ve deneysel çalışma; fruktoz başta olmak üzere ilave şeker tüketimini, enerji alımında artış ve çeşitli metabolik risk faktörlerinin oluşumu ile ilişkilendirmektedir (223-228). Özellikle işlenmiş gıda ve asitli içecek tüketimindeki artışla birlikte, diyetle eklenen şeker miktarının toplam enerjiye katkısının istenen değerlerin üzerine çıktığı bilinmektedir (107). Dünya Sağlık Örgütü, basit şeker tüketiminin toplam enerjinin % 10'undan daha az olması gerektiğini vurgulamıştır (229). Benzer şekilde, ülkemiz için yapılan öneriler de ilave şekerden sağlanan enerjinin günlük alınan toplam enerjinin % 5-10'unu aşmaması yönündedir (7). Bununla birlikte, ilave şeker tüketiminin Amerika Birleşik Devletleri'nde yaklaşık % 16, Avrupa ülkelerinde % 15-21 (230, 231) olduğunu bildiren çalışmalar bulunmaktadır. Ülkemizde ise tüketim, Türkiye Beslenme Sağlık Araştırması (TBSA) 2010 verilerine göre, yaş grubu ve yerleşim bölgelerine göre farklılık göstermekle birlikte erkeklerde ortalama 26,3 g, kadınlarda ise 19,4 g olarak saptanmıştır. Bu değerlerin basit şeker tüketimi için yapılan önerilere uygun olduğu gözlenmektedir (232).

Çeşitli kesitsel ve prospektif epidemiyolojik çalışmalar; diyetle alınan karbonhidrat miktar ve türünün kan glukozu (233), insülin (16, 97, 234) ve trigliserid (235) düzeyleri gibi kronik hastalık risk faktörleri ile ilişki olduğunu bildirmektedir. Beslenme alışkanlıkları ve karaciğer yağlanması arasındaki ilişki incelendiğinde; tüketilen karbonhidrat türünün basit karaciğer yağlanması oluşumunda önemli role sahip olabileceği görülmektedir (223). Fruktoz ve diğer basit karbonhidratların; glukoz ve lipid metabolizması üzerine etki ederek karaciğer yağlanması oluşumunu arttırabileceği çeşitli epidemiyolojik (87, 236), kesitsel (237) ve deneysel (238-240) çalışmalarda bildirilmiştir.

Çeşitli meta-analiz çalışmalarının sonuçlarına göre; şekerle tatlandırılmış içecek tüketimi, trigliserid sentezi ve viseral yağlanma düzeyindeki artışla ilişkilendirilmektedir (19, 241-243). Fruktoz başta olmak üzere yüksek miktarda basit yapıllı karbonhidrat tüketiminin, karaciğere glukoz akışı sonucu de novo lipogenez için kullanılan substrat miktarını arttırarak trigliserid sentezini stimüle ettiği gösterilmiştir (244, 245). Trigliserid sentezindeki artışın sonucu olarak karaciğerde VLDL sentezi ve sentezlenen partiküllerin büyüklüğünde artış olduğu bildirilmiştir. Yüksek miktarda



karbonhidrat alımı sonucu oluşan hipertrigliserideminin, trigliserid klirensinde azalma sonucunda oluşabildiği de bildirilmiştir. Bununla birlikte, trigliserid klirensindeki azalmanın, LPL aktivitesindeki azalma ile ilişkili olabileceği belirtilmektedir (246).

Önerilenlerden yüksek miktarda karbonhidrat alımı; ACC, FAS veya sterol KoA desaturaz (SCD) gibi çok sayıda lipogenik enzimin aktivasyonunu artırarak karaciğerde yağlanmayı arttırabilmektedir (247, 248). Bununla birlikte, SREBP-1c ve ChREBP gibi transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonunu stimüle ederek de novo lipogenezin indüklediğini bildiren çalışmalar da bulunmaktadır (245, 249).

Kronik hipergliseminin, insülin sekresyonu ve aksiyonunu etkileyerek insülin direnci oluşturduğu ve basit karaciğer yağlanması patogenezinde rol aldığı bilinmektedir (250, 251). Bununla birlikte, yüksek miktarda ilave şeker içeren ürünlerin tüketiminin glisemik yanıt ve insülin sekresyonundaki değişiklikler ile birlikte inflamatuvar ve oksidatif stres yollarının aktivasyonunu etkileyebileceğini bildiren çalışmalar da bulunmaktadır (252, 253).

### **Fruktoz**

Diyetteki basit şeker kaynaklarının başında gelen fruktozun Batı tarzı diyetlerdeki enerjiye katkısının son yıllarda hızla artış gösterdiği bilinmektedir (254). Doğal olarak, meyve ve sebzelerin yapısında bulunan bir monosakkarit olan fruktoz; glukoz ve sükrozdan daha tatlı olması nedeniyle gıda endüstrisinde sıklıkla tercih edilmektedir. Fruktozun işlenmiş yiyecek ve içeceklerde tatlandırıcı olarak kullanılması basit yapıda karbonhidrat tüketimindeki artışın temel nedenleri arasında gösterilmektedir. Batı tarzı diyetlerdeki en önemli fruktoz kaynağı olarak kabul edilen yüksek fruktoz içeren mısır şurubu (YFMS), dekstrozun fruktoza izomerizasyonu ile oluşturulmaktadır (255, 256). YFMS, % 42 veya % 55 fruktoz içermekte ve yapısal olarak sükroza benzerlik göstermektedir. Uzun süre yüksek miktarda fruktoz tüketimini alkole bağlı olmayan karaciğer yağlanması başta olmak üzere; kronik böbrek hastalıkları, tip II DM, ateroskleroz, hiperürisemi, obezite ve dislipidemi gibi durumlarla ilişkilendiren çok sayıda çalışma bulunmaktadır (84, 87, 257).

Fruktoz tüketimi ve alkole bağlı olmayan karaciğer yağlanması arasındaki ilişkiyi inceleyen bir gözlemsel çalışma, yüksek asitli içecek tüketiminin karaciğer yağlanmasını arttırıcı etkileri olduğunu bildirmiştir (258). Ultrasound ile tanı alan basit

karaciğer yağlanması hastalarında asitli içeceklerden alınan fruktoz miktarının anlamlı olarak yüksek olduğu saptanmıştır (216). Benzer şekilde, basit karaciğer yağlanması için çeşitli biyokimyasal ve diyet değişkenleri arasında en güçlü belirleyicinin fruktoz olduğu vurgulayan bir kohort çalışması da bulunmaktadır (259). Benzer şekilde, bir epidemiyolojik çalışmada alkole bağlı olmayan karaciğer yağlanması olan bireylerde YFMS tüketimi ve fibroz derecesi arasında ilişki olduğu gösterilmiştir (87).

Metabolizmada izlediği yollar glukozdan farklılık gösteren fruktozun, lipid ve karbonhidrat metabolizmasına özel etkileri olduğu bilinmektedir (260). Fruktozun; de novo lipogenez, insülin direnci, oksidatif stres ve inflamasyon ile ilişkili mekanizmaları etkileyerek basit karaciğer yağlanması oluşumunda rol alabildiğini gösteren çok sayıda çalışma bulunmaktadır (32, 33, 107, 245, 261-263).

Fruktozun karaciğerdeki trigliserid düzeyine olan etkisinin temel mekanizmaları arasında, de novo lipogenez ile sentez (264) ve VLDL sekresyonunda artış (265) bulunmaktadır. Bununla birlikte, adipozitede azalmış lipoprotein lipaz aktivitesinin de periferdeki trigliserid klirensinin azalışına neden olarak etkili olduğunu bildiren bir çalışma bulunmaktadır (265). Yüksek fruktoz tüketiminin kemirgenlerde de novo lipogenez aracılı hiperlipidemiye neden olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (266, 267). Yüksek fruktozlu diyet ile beslenen sıçanların serum trigliserid düzeylerinin yükseldiği gösterilmiştir. Benzer miktarda glukoz tüketiminin ise serum trigliserid düzeyine etkisinin daha düşük olduğu bildirilmiştir. Bu sonuç, karaciğerin fruktozu de novo lipogenez için substart olarak kullanma kapasitesinin daha yüksek olduğu şeklinde yorumlanmıştır (268). Hellerstein ve ark.'ın yaptığı çalışmada (269), fruktoz tüketimi sonucu de novo lipogenezin 3-15 kat arttığını gösterilmiştir ve fruktoz alımını takiben dolaşımdaki palmitatın yaklaşık % 30'unun de novo lipogenez kaynaklı olduğunu bildirilmiştir.

Fruktoz, yağ asit sentezinde yer alan çeşitli genlerin ekspresyon düzeylerini arttırarak etki gösterebilmektedir (270). Sıçanlarda yapılan bir çalışmada yüksek oranda fruktoz tüketiminin makro ve mikroveziküler karaciğer yağlanmasını indüklediği ve bu artışta bazı transkripsiyonel faktörlerin rol aldığı gösterilmiştir (271). Diyet enerjisinin % 65-75'inin fruktozdan karşılandığı bazı deneysel çalışmaların sonuçları; yağ asit sentaz gibi lipogenik enzimlerin aktivitesi ile serum ve hepatik trigliserid düzeylerinde artış olduğunu saptamıştır (272, 273). Bununla

birlikte, yapılan bir çalışmada fruktozun pruvat kinazı mRNA düzeyinde regüle ettiği bildirilmiştir. İnsülin ve glukozun hepatik lipogenik gen regülasyonu üzerine etkisinde aracı transkripsiyon faktörleri SREBP-1c ve ChREBP aktivitelerinin fruktoz ile düzenlendiği gösterilmiştir. Bu çalışmada aynı zamanda, fruktozun PPAR- $\alpha$  aktivitesini azaltarak lipid oksidasyonunu azaltabildiği de bildirilmiştir (274).

Fruktozun insülin direnci ve hepatik inflamasyon oluşumu ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (104, 275). Yüksek fruktoz içeren diyetlerin kemirgenlerde insülin direncine neden olduğu ile ilişkili bir deneysel çalışmada, yüksek fruktozla beslenen sıçanların plazma glukoz düzeylerinde artış ve insülin duyarlılığında azalma olduğu saptanmıştır (276). İnsülin direnci, açlık plazma insülin konsantrasyonundaki artış ve glukoz intoleransı arasındaki klasik ilişkinin serbest yağ asitleri konsantrasyonundaki değişiklikten kaynaklandığı düşünülmektedir. Kronik pozitif enerji dengesi ve artmış vücut adipozitesinin temel sonuçlarından birisi artmış serbest yağ asitleri düzeyidir. Yüksek fruktoz tüketiminin azalmış insülin ve leptin konsantrasyonu sonucu vücut ağırlığı ve dolaşımdaki serbest yağ asitlerinin düzeylerini arttırdığı düşünülmektedir. Artmış serbest yağ asit konsantrasyonunun intramiyoselüler lipid içeriğini artırarak insülin duyarlılığını azalttığı bilinmektedir. Özellikle viseral adipoz doku kaynaklı serbest yağ asitlerinin portal akışındaki artış hepatik glukoz üretimini arttırarak karbonhidrat metabolizmasını bozmaktadır (277, 278). Bununla birlikte yüksek serbest yağ asitleri düzeyinin  $\beta$  hücre fonksiyonlarını bozduğu da bildirilmiştir (279).

Fruktoz ile ilişkili olarak gelişen kronik inflamasyon durumunun, TNF- $\alpha$  ve plazma serbest yağ asitleri düzeyinde artış ile birlikte IRS-1'in Ser307 fosforilasyonunu uyarak insülin sinyal yollarını bozabildiği bilinmektedir. Hem TNF- $\alpha$  hem de serbest yağ asitleri, stres ile ilişkili kinazları aktive ederek insülin direnci oluşumunu arttırıcı etki gösterebilmektedir (87). İnsülin direncinin de hücre içerisinde trigliserid depolanmasını arttırarak lipotoksisite oluşturabileceği ve hücre sinyalizasyon yollarında bozulmaya neden olabileceği bildirilmiştir. Yapılan bir hayvan çalışmasında, fruktozun bakteriyel endotoksinlerin intestinal translokasyonunu değiştirdiği ve TLR bağımlı mekanizmalar ile kupffer hücre aktivasyonuna neden olduğu gösterilmiştir (280, 281). Aynı zamanda yüksek

karbonhidrat içeren diyetin farelerde karaciğerde TNF- $\alpha$  düzeylerini yüksek yağlı diyete göre daha fazla arttırdığını gösteren bir çalışma da dikkat çekicidir (282).

### 2.6.2. Diyetle Lipid Alımı

Çok sayıda epidemiyolojik çalışma, diyet ile alınan yağ asidi miktar ve türünü metabolik ve kardiyovasküler risk faktörleri ile ilişkilendirmektedir ancak basit karaciğer yağlanması ile olan ilişkisinin mekanizmaları net olarak açıklanamamıştır (217). Basit karaciğer yağlanması oluşumu mekanizmasında endojen yağ asidi akışı ve de novo lipogenezde artışla birlikte, diyetle alınan yağ asitleri miktarı ve kompozisyonunun da önemli yer tuttuğu bilinmektedir. Karaciğerin lipid metabolizması için temel organ oluşu, diyet yağları ve okside metabolitlerinin karaciğer hastalıkları patogenezinde önemli rol alması ile sonuçlanmaktadır (122).

Yağ asitleri; enerji kaynağı olmalarının yanı sıra; biyolojik membranların yapısal bileşenleri olmaları açısından hayati önem taşımaktadır. Lipidler; yağ asit kompozisyonlarına bağlı olarak, hücre membranlarının yapısına girerek membran ilişkili iyon kanalları ve reseptörlerinin işlevlerini etkilemektedirler. Bununla birlikte, yağ asitlerinin hücre içi sinyal molekülleri olarak işlev gösterdiği ve gen ekspresyonunu değiştirebildiği bildirilmiştir. Yağ asitlerinin tüm bu etkileri sonucunda; metabolik homeostaz, hücre proliferasyonu ve inflamatuvar süreçlerin regülasyonunda rol alarak önemli işlevleri yerine getirdikleri bilinmektedir (283).

Diyet ile alınan yağ asitlerinin hepatik lipogenezi etkilediği ve basit karaciğer yağlanması oluşumunda rol aldığı çok sayıda çalışmada bildirilmiştir (11-13, 15, 16). Basit karaciğer yağlanmasında; karaciğerde depolanan yağ asitlerinin % 15'inin diyetle alındığı gösterilmiştir (60).

Diyet ile alınan yağ miktarı ve basit karaciğer yağlanması arasındaki ilişkiyi inceleyen az sayıda insan çalışması bulunmaktadır. Yapılan bir kohort çalışmasında, 354 bireyin beslenme alışkanlıkları ve manyetik rezonans yöntemi ile belirlenen karaciğerdeki yağ miktarı arasındaki ilişki incelenmiş ancak anlamlı bir sonuca ulaşılamamıştır (284). Buna karşın, yapılan başka bir çalışmada toplam enerjinin yağlardan gelen oranının % 35'in üzerinde oluşu karaciğerde depolanan yağ miktarı için önemli bir belirleyici olarak kabul edilmiştir (285).

Hayvanlarla yapılan çalışmalar fazla miktarda yüksek yağlı diyet tüketiminin, karaciğerde oluşan değişiklikleri artırarak basit karaciğer yağlanması oluşumuna neden olduğunu bildirmektedir. Yüksek yağlı diyet tüketiminin, farelerde vücut ağırlığı ve vücut yağ yüzdesi ile insülin direncini arttırdığı ve hepatik hasara neden olabileceği gösterilmiştir (286, 287). Sıçanlarla yapılan bir çalışma, yüksek yağlı beslenmenin (diyet enerjisinin % 42'si) basit karaciğer yağlanması ile sonuçlandığını bildirmektedir (288). Yapılan başka bir sıçan çalışmasında da, yüksek yağlı beslenme sonucunda yağ asit oksidasyonunda azalmaya bağlı olarak karaciğerde yağlanmanın arttığı gösterilmiştir (289). Farelerin 9 hafta boyunca yüksek yağlı diyet (diyet enerjisinin % 60'ı) ile beslendiği bir çalışmanın sonuçları ise de novo lipogenez ve periferden yağ asidi alımı ile ilişkili bazı genlerin aktive olduğunu bildirmiştir (290). Bu çalışmada ayrıca, yüksek yağlı beslenmeyi takip eden süreçlerde karaciğerde lipid sentezinin ve depolanmasının arttığı vurgulanmıştır.

Basit karaciğer yağlanması oluşumunu takiben plazma trigliserid konsantrasyonundaki artış başta olmak üzere lipoprotein metabolizmasında değişikliklerin meydana geldiği bilinmektedir. Genel popülasyonla karşılaştırıldığında, basit karaciğer yağlanması olan kişilerin, dislipidemi ve tip II DM gibi kardiyovasküler hastalık risk faktörleri açısından risk altında olduğu saptanmıştır (291). Geniş kapsamlı ateroskleroz (MESA) çalışmasının sonuçlarına göre, karaciğer yağlanması olan bireylerde kan trigliserid ve lipoprotein profilinde değişiklikler olduğu gözlenmiştir (292). Yapılan bir meta-analiz çalışmasında, endojen kolesterol sentezinin karaciğer lipid miktarı ile pozitif ilişkili iken insülin duyarlılığı ile negatif ilişkili olduğu vurgulanmıştır (293).

Yüksek yağlı diyet ile beslenme, insülin direnci oluşumunu etkileyerek de karaciğer yağlanmasına neden olabilmektedir (294). İnsülin direncinin bir sonucu olarak adipoz dokudaki lipolizin artış gösterdiği bilinmektedir. Lipolizdeki artışla birlikte karaciğere akışı artan serbest yağ asitlerinin, karaciğer yağlanması oluşumunda etken olabildiği bildirilmiştir. Hepatik yağ asitleri düzeyindeki artış, insülin reseptörü ile ilişki mekanizmaları etkileyerek insülin direnci oluşumuna neden olabilmektedir. Yağ asitlerinin, PKC-delta izoformunun sitozolden membrana ilerlemesine neden olarak IRS-PI3 kinaz aktivasyonunda bozulmaya neden olabileceği düşünülmektedir (12). Bununla birlikte, karaciğerde lipid birikimini takiben

gerçekleşen hepatik insülin direncini özellikle spesifik lipid ara ürünlerinin artışı ile ilişkilendiren görüşler de bulunmaktadır. Bunlardan DAG ve seramidin insülin sinyalizasyonu üzerine olan inhibe edici rolü gösterilmiştir (295).

Diyetle yüksek miktarda yağ asidi alımının adipoz doku miktarı ve vücut ağırlığında artış ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Adipoz dokuda artış sonucunda proinflamatuvar sitokinlerin salınımı gerçekleşmekte ve sistemik inflamasyon artmaktadır (296). Bu durum oksidatif stres ve endotoksinlere karşı aşırı inflamatuvar yanıt ile ilişkilendirilmektedir. Sitokinler bir kez oluştuktan sonra direkt olarak karaciğer hasarına neden olmakta ya da oksidatif stres ve inflamatuvar yanıtı etkileyerek karaciğerde fonksiyon bozukluğunu arttırabilmektedir (25). Yağ asitleri ayrıca ER'deki metabolik ya da inflamatuvar yanıtı direkt ya da indirekt olarak etkileyebilmektedir (27, 297). Yüksek yağlı diyet verilen farelerde, proinflamatuvar ve oksidatif stres moleküllerinin ekspresyon düzeyindeki artışa bağlı olarak, karaciğerlerindeki hasarın artış gösterdiği bildirilmiştir (298). Bununla birlikte; yüksek yağlı beslenme sonucunda artan viseral yağlanmanın (214); insülin direnci ile ilişkili ya da bağımsız olarak karaciğer yağlanması mekanizmasında rol alabildiği gösterilmiştir. Viseral yağ endokrin bir organ gibi davranarak; insülin direnci, sitokin/adipokin ağı üzerine etki gösterebilmektedir. Viseral adipoz dokunun; serbest yağ asidi, TNF- $\alpha$  ve IL-6 gibi çeşitli moleküler medyatörü sekrete ederek karaciğer yağlanması mekanizmasında rol alabildiği bildirilmiştir (54).

### **Doymuş Yağ Asitleri ve Karaciğer Yağlanması**

Günümüzde, Batı tarzı diyetlerin tüketimiyle birlikte doymuş yağ asitlerinin alımı da önerilen düzeylerin üzerine çıkmaktadır. Özellikle kardiyovasküler hastalıklar üzerine olan etkilerinden dolayı, doymuş yağ alımının azaltılması yönünde sağlık otoritelerinin önerileri bulunmaktadır. Diyet enerjisinin doymuş yağdan gelen oranının; ülkemiz % 10, WHO % 10, AHA ise % 7 değerinden daha az olması gerektiğini önermektedir (7-9). TBSA 2010 (232) verilerine göre ülkemizde günlük doymuş yağ tüketimi 19-30 yaş grubunda erkeklerde 28,3 g, kadınlarda 21,7 g; 31-50 yaş grubunda erkeklerde 27,4 g ve kadınlarda 21,1 g olarak saptanmıştır. Bu değerler doymuş yağ asidi alım önerilerinin üzerindedir (7). Yüksek doymuş yağ asidi içeren

diyetlerin metabolik sendrom bileşenleri ile yüksek oranda korelasyon gösterdiği ve inflamasyon ile ilişki gösterdiği bildirilmiştir (26).

Karaciğere gelen ya da karaciğerde depolanan doymuş yağ asidi/doymamış yağ asidi oranında artışın karaciğer yağlanması oluşumunda etkili olabileceği bildirilmektedir. Doymuş yağ asitleri oranındaki artışla birlikte karaciğerde hasarın indüklendiği, proliferatif kapasitenin azaldığı ve karaciğerin endotksinlere olan hassasiyetini arttırdığı bildirilmektedir. Karaciğere akışı olan ve depolanan yağ asitleri kompozisyonunun karaciğer bütünlüğü için önem taşıdığı ve basit karaciğer yağlanması progresyonu için potansiyel bir risk faktörü oluşturduğu bilinmektedir (25). Doymuş yağ asidi alımı ile birlikte lipid ile indüklenen hücre toksisitesi oluşabilemkt ve benzer sonuçlar doymamış yağ asitleri ile gözlenmemektedir (299). Dolaşımda veya karaciğerde doymuş yağ asitleri artışı ile birlikte karaciğer hasarının oluştuğu bir deneysel çalışmada gösterilmiştir (300). Karaciğer yağlanması hastalarının kontrollerine göre daha yüksek doymuş yağ asidi ve daha az çoklu doymamış yağ asidi tükettiklerini bildiren bazı insan çalışmaları da bulunmaktadır (25, 222).

Yapılan çeşitli çalışmaların sonuçlarına göre; diyet ile yüksek miktarda doymuş yağ asitleri alımı insülin direnci ve basit karaciğer yağlanması ile ilişkili göstermektedir (301, 302). Doymuş yağ asitleri miktarındaki artışın; beyaz adipoz dokuda disregülasyona neden olarak ve bununla birlikte oksidatif stres, ER stresi, seramit ve ROS üretimini arttırarak inflamasyon ve apoptozu indüklediği bilinmektedir. ER stresin doymuş yağ asitleri ile indüklenen hücresel disfonksiyonda rolü olduğu ve alkole bağlı olmayan basit karaciğer yağlanmasında ER stres belirteçlerinin artış gösterdiği saptanmıştır. Doymuş yağ asitlerinin ER stresi indüklemesi ile ilişkili mekanizmalar net olmamakla birlikte, bozulmuş fosfolipid metabolizmasının etkili olduğu düşünülmektedir (29). Bununla birlikte yüksek doymuş yağ asitleri ile beslenme sonucunda SCD gibi lipogenik genlerin aktive olarak trigliserid üretimini arttırdığı bildirilmiştir (303). Benzer bir çalışmada, basit karaciğer yağlanması olan hastaların karaciğer ve plazmalarında doymuş ve tekli doymamış yağ asitleri miktarının daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Yağ asit konsantrasyonlarında gözlenen bu farklılıkların, çalışmaya katılan bireylerin diyet alımları ve endojen yağ asit metabolizmaları ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (304).

Sıçanlarda yapılan bir çalışmanın sonuçlarına göre diyetle yüksek doymuş yağ asitleri alımı, ER disfonksiyonu ve hepatosit hasarını arttırmaktadır (300). Bununla birlikte yapılan bir hücre kültürü çalışmasında karaciğer hücrelerinin doymuş yağ asitleri ile muamelesi (palmitat veya stearat), kaspaz-3 aktivitesini artırarak apoptozu indüklemektedir (305). Yapılan başka bir çalışmada ise, tekli doymamış yağ asitlerinin de hepatik steatozu indükleyebildiği ancak apoptoz ile ilişkili mekanizmaları başlatmadığı bildirilmiştir (306).

Yüksek doymuş yağlı diyet tüketiminin karaciğerde inflamatuvar süreçleri başlattığı ve pro-inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu arttırdığı çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir (28-30, 215). Doymuş yağın pro-inflamatuvar etkilerinin bir kısmının TLR-4 aktivasyonu ile oluşabildiği (16, 179); doymuş yağ asitlerinin adipozit ve makrofajlarda TLR ile etkileşime girerek NFκB ve JNK aktivasyonu sonucunda sitokin üretimini arttırdığı bildirilmiştir (307). Benzer bir çalışmada, TLR geni çıkartılmış farelerde yüksek yağlı beslenme sonucunda oluşan sitokin üretimindeki artışın indüklenmediği saptanmıştır (308).

Yağ asit türü ile insülin sinyal defektlerini AMPK ile ilişkilendiren bir çalışma bulunmaktadır (309). AMPK aktivasyonunun yağ asitlerinin yanı sıra hücrelerde insülin aracılı glukoz alımını arttırdığı da gösterilmiştir (310). Doymuş yağ asitlerinin mononükleer fagositler ile inflamatuvar sinyal yollarını aktive edebildiği bildirilmektedir (200). TLR-4 ile ilgili yapılan bir çalışmada, yüksek yağlı diyet ile beslenen farelerde hiperinsülinemi, glukoz intoleransı ve insülin direnci geliştiği ancak TLR-4 geni çıkartılmış grupta hepatik insülin duyarlılığının arttığı belirtilmiştir (311). Serbest yağ asitlerinin; insülin sinyalizasyonu üzerine etki göstererek, TLR ile etkileşime girerek, hücrel apoptozu aktive ederek, oksidatif stres, sitokin ve ROS üretimini indükleyerek karaciğer yağlanması progresyonunda önemli rol oynayabildiği bildirilmektedir (54).

### **Tekli Doymamış Yağ Asitleri ve Karaciğer Yağlanması**

Hayvansal ve bitkisel kaynaklı yağlarda bulunan başlıca tekli doymamış yağ asidi olan oleik asidin basit karaciğer yağlanması üzerine olan etkilerini araştıran az sayıda deneysel çalışma bulunmaktadır. İnsan karaciğer hücre modelleri ile yapılan bir hücre çalışmasının sonuçları, palmitik asit ile aktive edilen stres ilişkili kinaz ve



apoptozun, oleik asit verilmesi ile artış gösterdiğini bildirmiştir (312). Oleik asidin, insan nötrofillerinde LXR mRNA sentezini indüklediği ancak hücre içi lipid düzeylerini ve inflamatuvar belirteçlerini azalttığı gösterilmiştir (313). Bu sonuçlardan farklı olarak, in vitro bir modelde oleik asidin bazı sinyalizasyon yollarının regülasyonu ile basit karaciğer yağlanmasını indüklediği bildirilmiştir (314). Yapılan bir klinik çalışmada da benzer şekilde karaciğer yağlanması hastalarının plazma oleik asit düzeylerinin yüksek olduğu gözlenmiştir (315).

### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

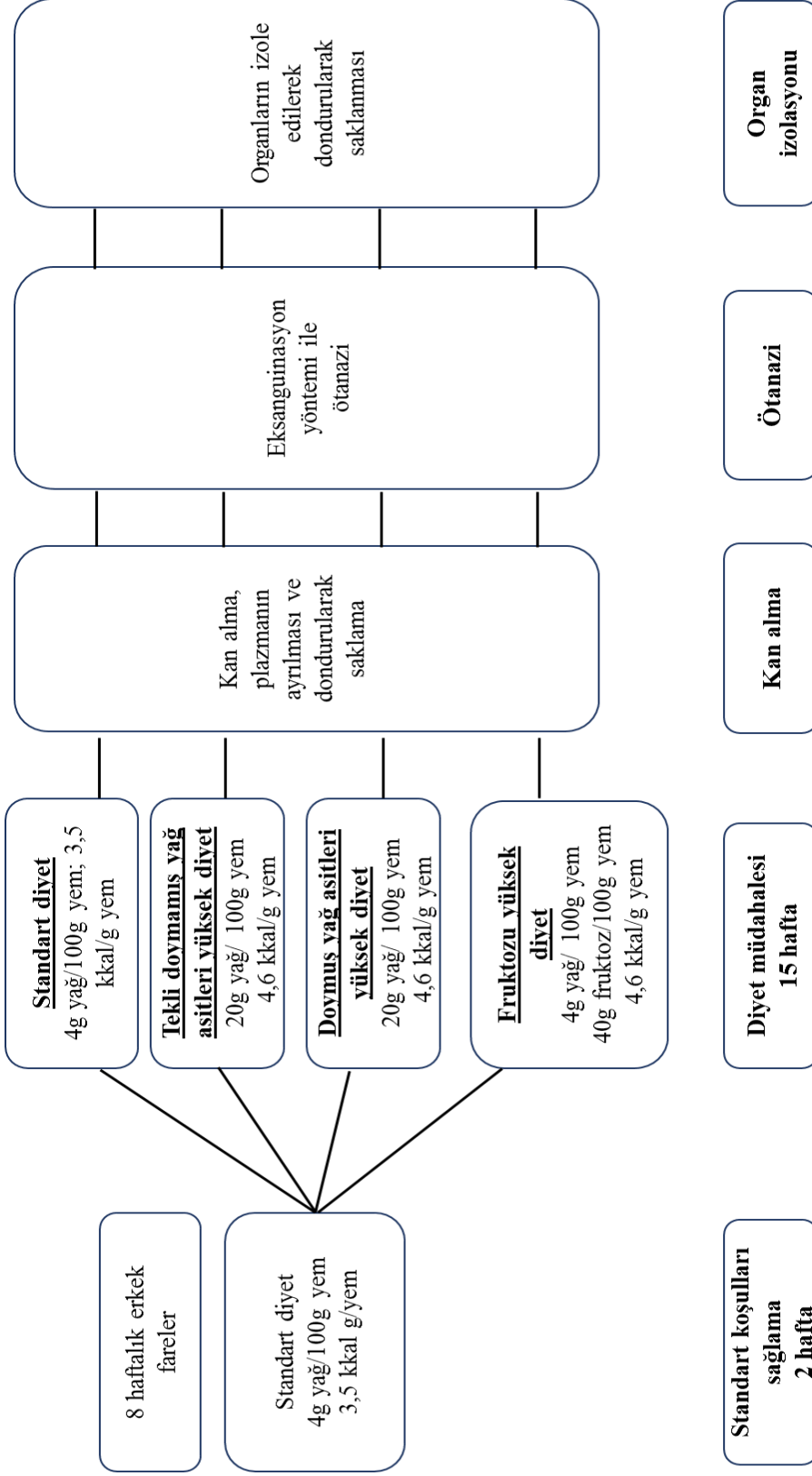
Yapılan bu çalışma, Hacettepe Üniversitesi Deneysel Hayvanlar Yerel Etik Kurulu'nun 18.02.2014 tarihli toplantısında 2014/01-12 karar numarası ile onaylanmıştır (Ek 1). Çalışmanın bütün aşamalarında Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu esaslarına uygun olarak uygulamaların yürütülmesi sağlanmıştır.

Çalışma için gerekli bütçe, Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Projelerini Destekleme Programı'ndan alınan ve tez danışmanının yürütücü olduğu TÜBİTAK 1001 projesi ile karşılanmıştır (Proje No: 114S726).

#### 3.1. Çalışma Yeri, Zamanı ve Örneklem Seçimi

Bu çalışma için kullanılacak deney hayvanı sayısını belirlemek için güç analizi yapılmıştır. Hesaplama bilimsel yayınlar ve proje ekibinin daha önceki hayvan çalışmalarından edindiği tecrübeleri ile elde edilmiş iki ortalama arasındaki fark kullanılmıştır (316). Hesaplama  $N = 2(z_{\alpha/2} + z_{\beta})^2 \times (S/\Delta)^2$  formülü kullanılmıştır. Formülde yer alan simgeler :  $\alpha$  = yanılma düzeyi; S = standart sapma;  $\Delta$  = kontrol ve test grubu arasında geçerli ölçülmüş fark;  $\beta$  = anlama kapasitesini göstermektedir. Hesaplama:  $F = 2(z_{\alpha/2} + z_{\beta})^2$  için: yanılma düzeyi=  $\alpha= 0,05$  ve anlama kapasitesi=  $\beta= \% 80$  için değerler formüle konulduğunda her bir grup için  $n=8$  olarak hesaplanmıştır. Çevresel nedenlerle oluşabilecek hayvan kayıpları göz önüne alındığında her gruptaki fare sayısı  $n=10$  ve dört grup için toplam  $n=40$  erkek fare çalışmaya dahil edilmiştir. Ancak çalışma süresince gerçekleşen hayvan kayıpları nedeniyle kontrol grubu 8, yüksek tekli doymamış yağ asidi ile beslenen grup 7 hayvan ile çalışmayı tamamlamıştır. Şekil 3.1.'de çalışma müdahale şeması görülmektedir.

Farelerin (C57Bl/6) çalışma süresince bakımları ve diyet müdahaleleri Hacettepe Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Araştırma ve Yetiştirme Ünitesi'nde yürütülmüştür. Çalışmanın ikinci kısmında anestezi altında kan alma; doku ve organ izolasyonları gibi cerrahi işlemler yer almaktadır ve bu aşama Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Ünitesi'nde yapılmıştır. İzole edilen organ ve dokuların saklanması ve ileri laboratuvar analizleri ise Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü Araştırma Laboratuvarları'nda yürütülmüştür.



Şekil 3.1. Çalışma Müdahale Şeması.

## 3.2. Hayvanların Temini ve Diyet Müdahalesi

### 3.2.1. Hayvanların Temini ve Bakımı

Çalışmada kullanılan aynı soydan gelen (inbred), 10 adet 8 haftalık erkek C57Bl/6 fareler özel bir firmadan temin edilmiştir (Kobay Deney Hayvanları A.Ş., Türkiye). Teslim alınan fareler 0,1 grama duyarlı hassas terazi (A&D EK-6000H Scale, A&D, Japonya) ile tartılarak, transparan polikarbon kafeslere yerleştirilmiştir. Yem tüketimleri her bir fareye özel olarak kaydedileceğinden dolayı fareler ayrı kafeslere yerleştirilmiştir. Farelerin hepsinin bakımı için aynı koşullar ( $22 \pm 2$  °C, 12 saat dönüşümlü aydınlık/karanlık ortam, %45 nem) sağlanmıştır. Çalışma boyunca farelerin ağırlıkları araştırmacı tarafından iki günde bir 0,1 grama duyarlı hassas terazi (A&D EK-6000H Scale, A&D, Japonya) ile ölçülerek kayıt edilmiştir.

### 3.2.2. Uygulanan Diyet Müdahalesi

Farelere (n=40) 2 hafta süresince verilen kontrol yemi ve sonrasında 15 hafta süresince verilen deney yemleri araştırmacı tarafından Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü araştırma laboratuvarlarında belirli bir protokol oluşturularak hazırlanmıştır. Bu protokolün oluşturulması sırasında Amerikan Beslenme Enstitüsü'nün kemirgenler için önerdiği AIN-93M formülasyonu temel alınmıştır (317, 318).

Bu yem kompozisyonunda (AIN-93M) yer alan; nişasta (Kimbiotek, Türkiye), maltodekstrin (Kimbiotek, Türkiye), selüloz (Kimbiotek, Türkiye), kazein (Ünsan Kimya, Türkiye), L-sistein (Sigma Aldrich, Almanya), mısır yağı (Kimbiotek, Türkiye), AIN-93M mineral ve vitamin karışımları (MP Biomedicals, ABD), kolin bitartarat (MP Biomedicals, ABD) ve tetrahidrokinon (MP Biomedicals, ABD) kemirgenlerin gereksinimine göre eklenmiştir. Deney gruplarının yemlerine ise hindistancevizi yağı (MP Biomedicals, ABD), rafine zeytinyağı (Tariş, Türkiye) veya fruktoz (Egepak, Türkiye) eklenmesi yapılmıştır. Homojen bir karışma elde edebilmek için yeme eklenen maddelerin suda çözünürlükleri veya su çekme gibi özellikleri dikkate alınarak, her bir komponent için farklı hız ve sürelerde protokolde belirlenen sıra ile karıştırılmaları sağlanmıştır. Elde edilen karışım, kullanılabildiği kadar +4°C'de

saklanmıştır. Çalışma süresince farelerin yem tüketimleri günlük olarak araştırmacı tarafından ölçülerek kaydedilmiştir.

Çalışma süresince kontrol ve deney grupları için farklı makrobesin ögesi içerikleri bulunan 4 çeşit yem hazırlanmıştır. Bu yemlerin içerikleri Tablo 3.1.'de gösterilmiştir. Kontrol grubu için hazırlanan standart diyet (chow) 3,5 kkal/g yem enerji içerirken tekli doymamış yağ asitleri yüksek (YTD), doymuş yağ asitleri yüksek (YD) ve fruktozu yüksek (YF) içeren diyetler 4,6 kkal/g yem enerji içermektedir.

**Tablo 3.1.** Farelere diyet müdahalesi sırasında verilen yemlerin içeriği

Diyet Örüntüsü	Yemler			
	Kontrol diyeti	Yüksek tekli doymamış yağ asitli diyet	Yüksek doymuş yağ asitli diyet	Yüksek fruktozlu diyet
Enerji (kkal/g)	3,5	4,6	4,6	4,6
Karbonhidrat (%enerji)	75,0	50,0	50,0	80,0
Protein (%enerji)	15,0	11,0	11,0	12,0
Yağ (%enerji)	10,0	39,0	39,0	8,0
**Doymuş yağ asitleri (%enerji)	-	-	30,0	-
**Tekli doymamış yağ asitleri (%enerji)	-	30,0	-	-
**Fruktoz (%enerji)	-	-	-	35,0
<b>Karbonhidrat kaynağı(g/kg)</b>				
Mısır nişastası	465,7	360,7	360,7	230,7
Maltodekstrin	255,0	200,0	200,0	100,0
Selüloz	50,0	50,0	50,0	40,0
Fruktoz	-	-	-	400,0
<b>Protein kaynağı (g/kg)</b>				
Kazein	140,0	140,0	140,0	140,0
L-sistein	1,8	1,8	1,8	1,8
<b>Yağ kaynağı (g/kg)</b>				
Mısır yağı	40,0	40,0	40,0	40,0
Hindistancevizi yağı	-	-	160,0	-
Zeytinyağı*	-	160,0	-	-
<b>Diğer (g/kg)</b>				
Mineral karışımı	35,0	35,0	35,0	35,0
Vitamin karışımı	10,0	10,0	10,0	10,0
Kolin bitartarat	2,5	2,5	2,5	2,5
tert-bütillhidrokinon	0,01	0,01	0,01	0,01

\*Rafine zeytinyağı kullanılmıştır.

### 3.3. Anestezi, Kan Alma, Doku Toplama ve Ötanazi

Standardizasyon (wash out, 2 hafta) ve diyet müdahalesi (15 hafta) sonrası toplam on yedi haftalık deney süresi sonunda farelerin anestezi altında kan alma, doku/organ izolasyonu ve ötanazi işlemleri Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Ünitesi'nde gerçekleştirilmiştir. Cerrahi müdahalenin beş saat öncesinde farelerin kafeslerindeki yem ve suları alınarak açlık durumundaki kan örnekleri araştırmacı tarafından toplanmıştır (318).

#### 3.3.1. Anestezi

Fareler genel anestezi altına araştırmacı tarafından alınmıştır. Terminal vücut ağırlıkları ölçüldükten sonra uygun konsantrasyonda subkutan ketamin (Richter Pharma, Avusturya) ve ksilazin (Alfasan International B.V., Hollanda) enjeksiyonu yapılarak (0,1 mg/g ve 0,02 mg/g vücut ağırlığı) anestezi işlemi gerçekleştirilmiştir (319).

İşleme alınacak fare diğerlerinden ayrılarak müdahale odasına alınmış ve ortam kaynaklı stres düzeyi en aza indirilerek enjeksiyon gerçekleştirilmiştir. Anestezi derinliği parmak kısırtma yöntemi ile sıklıkla kontrol edilerek farenin tepki vermesinin sonlandığı noktada araştırmacı tarafından cerrahi müdahaleye başlanmıştır (319)

#### 3.3.2. Kan Alma ve Ötanazi

Farelerin derin anesteziye girmesi için gerekli olan süre beklendikten sonra fareler sabitlenerek cerrahi müdahaleye başlanmıştır. Antikoagülan olarak laboratuvar koşullarında sodyum sitrat (Merck Chemicals, Almanya) ile araştırmacı tarafından hazırlanan sitrat çözeltisi (12,9 mM) kullanılmıştır.

Cerrahi operasyona gergin şekilde duran farenin alt orta kadrından başlanmış, her iki yandan yukarı doğru kaburgalara gelinceye kadar deri ve kas doku yavaşça kesilerek iç organların ortaya çıkması sağlanmıştır. Daha sonra uygun enjektörle kan (vena kava yolu) alındıktan sonra eksanguinasyon yöntemiyle ötanazi gerçekleştirilmiştir. Alınan sitratlı kan polipropilen kapaklı tüplere konulup mikrosantrifüj cihazıyla 10,000 rpm (8736 g)'de 10 dk santrifüj edilmiştir (Selecta Microtronic-BL, İspanya). Santrifüj işleminden sonra plazma ayrılarak temiz

polipropilen kapaklı tüplere alınmış ve sıvı nitrojende hızlıca dondurularak -80 °C'de analiz gününe kadar saklanmıştır.

### **3.3.3. Karaciğer Diseksiyonu**

Eksanguinasyon yöntemiyle ötenaziden sonra, farelerin karaciğerleri çevre dokulardan dikkatli bir şekilde disekte edilerek serum fizyolojik (%0,9 NaCl izotonik SF) ile tamamıyla perfüze edilmiştir. Karaciğer 4 loba ayrılarak her bir lobun ağırlıkları 0,0001 grama duyarlı laboratuvar terazisi (Precisa 220A, İsviçre) ile ölçülerek kaydedilmiştir. Dokular sıvı nitrojende hızlıca dondurularak polipropilen kapaklı tüplerde analiz gününe kadar -80°C'deki dondurucuda saklanmıştır (318).

## **3.4. Kan ve Karaciğerde Kantitatif Analizler**

### **3.4.1. Glukoz Analizi**

Glukoz analizi hazır kitler yardımıyla, kolorimetrik/ELISA yöntemiyle dublike olarak plazmada araştırmacı tarafından yapılmıştır (Cayman Chemical Company, ABD). Glukoz analiz kiti, kanda glukoz konsantrasyonunu belirlemek için glukoz oksidaz-peroksit reaksiyonu aracılığı ile tayin etmektedir. Kitin çalışma prensibi, glukozun  $\delta$ -glunolakton oluşturmak üzere oksidasyonu ve flavin adenin dinükleotid (FAD)-bağımlı enzim glukoz oksidaz düzeyinde azalmaya dayanmaktadır. Glukoz oksidazın indirgenmiş formu moleküler oksijeni kullanarak tekrar okside formuna dönüşmektedir ve bu sırada hidrojen peroksit oluşmaktadır. Katalizör olarak horseradish peroksidaz (HRP) kullanılarak hidrojen peroksit 3,5-dikloro-2-hidroksibenzensülfanik asit ve 4-aminoantipirin (4-aminophenazone) ile reaksiyona girmektedir ve 514 nm dalga boyunda optimal absorpsiyon sağlayan pembe bir renk oluşturmaktadır.

Konsantrasyona paralel olarak oluşan renk yoğunlukları, kolorimetrik mikropilaka okuyucu ile Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü Araştırma Laboratuvarları'nda tayin edilmiştir (Chrommate 4300, Awareness Technology Inc, ABD). Kit içeriğinde bulunan ve glukoz konsantrasyonları bilinen standart solüsyonların absorbans değerleri kullanılarak

oluşturulan “glukoz standart eğrisi” yardımıyla her bir örneğin içerdiği glukoz miktarı hesaplanmıştır.

### **3.4.2. Trigliserid Analizi**

Trigliserid analizi hazır kitler (Cayman Chemical Company, ABD) yardımıyla, kolorimetrik/ELISA yöntemiyle dublike olarak karaciğer dokusu ve plazmada araştırmacı tarafından gerçekleştirilmiştir. Analiz öncesinde karaciğer dokusu serum fizyolojik ile uygun konsantrasyonda (1/5) karıştırılarak mikrohomojenizatör (T25 İka Labortechnik, Almanya) ile homojenize edilmiştir.

Trigliserid analiz kiti, örnekteki trigliseridleri lipaz enzimi ile gliserol ve serbest yağ asitlerine hidroliz etmektedir. Açığa çıkan gliserol ile gerçekleştirilen bir dizi enzimatik reaksiyon sonrasında renk değişimi oluşmaktadır. Trigliserid, lipoprotein lipaz enzimi ile hidrolize edilerek gliserol ve serbest yağ asidi oluşturulmaktadır. Gliserol, reaksiyonun ikinci basamağında gliserol kinaz enzimi ile fosforlanarak gliserol-3-fosfat oluşturmaktadır. Fosforlanmış olan gliserol, gliserol fosfat oksidaz enzimi ile dihidroksiaseton fosfat oluşturmakta ve son basamakta peroksidaz enzimi ile hidrojen peroksit indirgenerek kinon pigmenti açığa çıkmaktadır ve 540 nm dalga boyunda optimal absorpsiyon sağlayan mor bir renk oluşturmaktadır

Konsantrasyona paralel olarak oluşan renk yoğunlukları, kolorimetrik mikropilaka okuyucu ile Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü Araştırma Laboratuvarları'nda tayin edilmiştir (Chrommate 4300, Awareness Technology Inc, ABD). Kit içeriğinde bulunan ve trigliserid konsantrasyonları bilinen standart solüsyonların absorbans değerleri kullanılarak oluşturulan “trigliserid standart eğrisi” yardımıyla her bir örneğin içerdiği trigliserid miktarı hesaplanmıştır.

### **3.4.3. Toplam Serbest Yağ Asitleri Analizi**

Toplam serbest yağ asitleri (SYA) analizi hazır kitler yardımıyla, kolorimetrik/ELISA yöntemiyle duplike olarak plazmada araştırmacı tarafından yapılmıştır (My BioSource, ABD). Serbest yağ asitleri tayin kiti, monoklonal anti-SYA antikoru ve SYA-HRP konjugatı kullanarak kompetitif enzim-immün analizi prensi ile çalışmaktadır. Standart, örnek ve uygun şekilde eklenen çözeltiler, SYA-



HRP konjugatı ile inkübe edilerek reaksiyonun gerçekleşmesi sağlanmaktadır. Plaka hücrelerine daha sonra HRP-enzimi için bir substrat eklenerek tekrar inkübe edilmektedir. Enzim-substrat reaksiyonunun ürünü önce mavi renk vermekte, reaksiyonu durdurucu çözelti eklendikten sonra ise renk sarıya dönmektedir. Örneklerdeki SYA ve SYA-HRP konjugatı anti-SYA antikor bağlanma bölgelerine bağlanmak için yarıştığından dolayı oluşan renk yoğunluğu SYA konsantrasyonuna bağlı değişmektedir. Renk yoğunluğu 450 nm dalga boyunda optimal absorpsiyon sağlayan renk oluşturmaktadır.

Konsantrasyona paralel olarak oluşan renk yoğunlukları, kolorimetrik mikropilaka okuyucu ile Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü Araştırma Laboratuvarları'nda tayin edilmiştir (ChromMate 4300, Awareness Technology Inc, ABD). Örneklerdeki SYA konsantrasyonu standart solüsyonların absorbans değerleri kullanılarak oluşturulan "SYA standart eğrisi" yardımıyla hesaplanmıştır.

#### **3.4.4. C-Reaktif Protein Analizi**

C-Reaktif protein (CRP) analizi hazır kitler yardımıyla, kolorimetrik/ELISA yöntemiyle duplike olarak plazmada araştırmacı tarafından yapılmıştır (Cloud-Clone Corp., ABD). C-Reaktif protein analiz kiti, standart ve örneklerin CRP-spesifik biyotin-konjuge antikor içeren plaka hücresine eklenmesi prensibi ile çalışmaktadır. Her hücreye HRP-konjuge avidin eklenerek bağlanmanın gerçekleşmesi için inkübe edilmektedir. TMB substratı eklendikten sonra sadece CRP, biyotin-konjuge antikor ve enzim-konjuge avidin içeren hücrelerde renk değişikliği gözlenmektedir. Enzim-substrat reaksiyonu, sülfirik asit solüsyonu eklenerek sonlandırılmaktadır. Renk yoğunluğu 450 nm dalga boyunda optimal absorpsiyon sağlayan renk oluşturmaktadır.

Konsantrasyona paralel olarak oluşan renk yoğunlukları, kolorimetrik mikropilaka okuyucu ile Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü Araştırma Laboratuvarları'nda tayin edilmiştir (ChromMate 4300, Awareness Technology Inc, ABD). Örneklerdeki CRP konsantrasyonu standart solüsyonların absorbans değerleri kullanılarak oluşturulan "CRP standart eğrisi" yardımıyla hesaplanmıştır.

### 3.4.5. İnsülin Analizi ve İnsülin Direnci Tayini

İnsülin analizi hazır kitler yardımıyla (Eastbiopharm, China), kolorimetrik/ELISA yöntemiyle dublike olarak plazmada araştırmacı tarafından yapılmıştır. İnsülin analiz kitinin çalışma prensibi; insülin konsantrasyonlarını sınırlı spesifik kobay anti-fare antiserum bölgelerine bağlanmak için yarışan işaretlenmemiş fare insülini ve fare insülinine bağlı asetilkolin esteraz izleyicisi (tracer) arasındaki ilişki üzerinden hesaplamaya dayanmaktadır. Kompleks kobay antiserum-fare insülini (serbest insülin ya da izleyici) plaka hücrelerine bağlı olarak bulunan keçi anti-kobay antikoruyla bağlanmaktadır. Hücreler yıkandıktan sonra Ellman's reaktifi (asetilkolin esteraz ve kromojen için enzimatik substrat) eklenmiştir. Asetilkolin esteraz izleyicisi, Ellman's reaktifi ile sarı bileşik oluşturmaktadır.

Konsantrasyona paralel olarak oluşan renk yoğunlukları, kolorimetrik mikropilaka okuyucu ile Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü Araştırma Laboratuvarları'nda tayin edilmiştir (ChromMate 4300, Awareness Technology Inc, ABD). Kit içeriğinde bulunan ve insülin konsantrasyonları bilinen standart solüsyonların absorbans değerleri kullanılarak oluşturulan "insülin standart eğrisi" yardımıyla her bir örneğin içerdiği insülin miktarı hesaplanmıştır.

Farelerde insülin direnci (Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance-HOMA-IR ve Quantitative Insulin Sensitivity Check Index-QUICKI) varlığı aşağıda belirtilen HOMA-IR ve QUICKI formülleri kullanılarak hesaplanmıştır (320, 321). Ek olarak, açlık kan glukoz ve insülin değerleri kullanılarak glukoz:insülin oranı hesaplanmıştır. HOMA-IR değeri için incelenen bilimsel verilere göre kesişim noktalarının insan ve kemirgenlerde 2,0-3,9 aralığında olduğu görülmektedir (321, 322). Glukoz:insülin oranının ise insanlarda 7,0'dan düşük olması insülin direnci olarak kabul edilmektedir (323) ancak kemirgenler için net bir kesişim noktası belirlenmediği için kontrol grubuna göre karşılaştırma yapılması tercih edilmiştir.

$$\text{HOMA-IR} = \text{Açlık insülin } (\mu\text{U/mL}) \times \text{açlık glukoz } (\text{mmol/L}) / 22,5$$

$$\text{QUICKI} = 1 / [\log \text{açlık insülin } (\mu\text{U/mL}) + \log \text{glukoz } (\text{mg/dL})].$$

### **3.5. Karaciğerde Bazı Enzim ve Peptidlerin Western-Blot Yöntemiyle Analizi**

Western-Blot analizi, protein içeren örneklerin jel elektroforezi ile ayrıştırıldıktan sonra uygun bir membrana transferi ve görüntülenmesini içeren birbirini izleyen aşamalardan oluşan bir yöntemdir. Bu yöntem ile proteinlerin büyüklüğü, konsantrasyonu ve gruplar arasındaki farklı miktarlar karşılaştırılabilmektedir. Test edilen örnekte bulunan ilgili proteinin spesifik antikora bağlanarak oluşan kompleks yapının, eklenen işaretli ikinci antikorla birleşmesi prensibine dayanmaktadır. Son olarak eklenen substrat çözeltisi ile kompleks renk oluşturarak görünür hale getirilmektedir (324). Karaciğerde ACC-1, fosfo ACC-1 (Ser 79), IRS-1, fosfo IRS-1 (Ser 612), AMPK, fosfo AMPK- $\alpha$  (Thr 172), TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, TLR-4 ve  $\beta$ -aktin analizleri peptide uygun spesifik antikorlar (Cell Signaling Technology, ABD) kullanılarak western-blot yöntemiyle Beslenme ve Diyetetik Araştırma Laboratuvar'nda araştırmacı tarafından gerçekleştirilmiştir. Analiz aşamaları, örneklerin hazırlanması, örneklerde protein tayini, poliakrilamid jel elektroforezi, jeldeki proteinlerin membrana transferi, antikorlarla tepkime ile kemilüminesans ve fotoğraf çekimi kısımlarını içermektedir. Bu aşamalar aşağıda ayrıntılı bir şekilde anlatılmıştır.

#### **3.5.1. Karaciğer Örneklerinin Hazırlanması**

Dondurucuda (-80 °C) saklanan dokular parçalanarak hücrede protein içeren kısımların ayrıştırılması işlemi gerçekleştirilmiştir. Laboratuvarda hazırlanan RIPA (radioimmunoprecipitation assay buffer) tampon çözeltisi (25 ml 1M Tris-HCl, 5 ml NP-40, 2,5 g Na-deoksikolat, 0,5 g SDS, 15 ml 5 M NaCl, 2 ml 0,5 M EDTA, 1,05 g NaF) ile hücre zarları parçalanmış ve stoplazmik proteinler elde edilmiştir. Hücre parçalanması sırasında ortaya çıkan proteaz enzimlerinin inhibisyonu için proteaz ve fosfataz inhibitör kokteyli (Thermo-Scientific, ABD) eklenerek mikro tüp havaneli yardımıyla (İnterlab, Türkiye) homojenizasyon gerçekleştirilmiştir. Homojenize edilen dokular 3 dakika 13,000 rpm'de (8765 g) 4 °C'de santrifüj edilerek (Eppendorf Centrifuge 5430R, Almanya), tüplerin içindeki sıvı kısım (süpernatant) başka bir tüpe aktarılmıştır.

### 3.5.2. Örneklerde Protein Miktar Tayini

Jele yüklenecek örneklerdeki protein konsantrasyonu Smith ve ark. (325) tarafından önerilen bişinkoninik asit (BCA) yöntemine göre, ticari bir BCA kiti yardımıyla (DC Protein Assay Kit II, Bio-Rad, ABD) belirlenmiştir. BCA analizi, örneklerde bulunan proteinin alkali bakır tartarat çözeltisi ve folin reaktanı ile reaksiyona girmesi prensibine dayanmaktadır. Alkali ortamda, protein ve bakır reaksiyona girerek folin reaktantını indirgemektedir. Renk değişimi, temel olarak tirozin ve triptofan ve daha az oranda sistin, sistein ve histidin amino asitlerine bağlı olarak gerçekleşmektedir. Folin reaktantında gerçekleşen indirgenme reaksiyonu sonucu oluşan ürünler karakteristik mavi rengi oluşturmaktadır. Oluşan renk değişimi minimum 405 nm dalga boyunda ölçülmektedir. BCA analizi sonucu, protein konsantrasyonu ile ilişkili olarak oluşan farklı renk yoğunlukları Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü Araştırma Laboratuvarları'nda, kolorimetrik mikropilaka okuyucu ile okunmuştur (ChromMate 4300, Awareness Technology Inc, ABD).

Yapılan BCA analizi sonuçlarına göre örneklerin protein konsantrasyonları dilüsyon ile eşitlenerek jele yüklenmiştir. Hazırlanan örnekler uygun miktarda laemmlı örnek çözeltisi (Bio-Rad, ABD) ve  $\beta$ -merkaptoetanol (Bio-Rad, ABD) eklenerek, 100 °C'de 5 dakika kuru blok ısıtıcıda (Bio-Rad, ABD) yakılmış ve analize kadar -20°C'de saklanmıştır.

### 3.5.3. Poliakrilamid Jel Elektrofrez (SDS-PAGE)

Protein karışımlarının poliakrilamid jel içinde göç ederek molekül ağırlıklarına göre ayrılmasını sağlayan bir yöntemdir (324). Elektrofrezde kullanılmak üzere yürütme jeli (%10) (MilliQ, 1,5 M Tris. HCl (pH=8,8) (Sigma-Aldrich, Almanya), %10'luk (w/v) SDS çözeltisi (Bio-Rad, ABD), %40'luk akrilamid-bisakrilamid çözeltisi (Bio-Rad, ABD), %10'luk (w/v) amonyum persülfat (Bio-Rad, ABD) çözeltisi ve tetrametiletildiamin (TEMED) (Bio-Rad, ABD)) ve yükleme (stacking) jeli (%6) (MilliQ, 1,5 M Tris. HCl (pH=6,8) (Sigma-Aldrich, Almanya), %10'luk (w/v) SDS çözeltisi (Bio-Rad, ABD), %40'luk akrilamid-bisakrilamid çözeltisi (Bio-Rad, ABD), %10'luk (w/v) amonyum persülfat (Bio-Rad, ABD) çözeltisi ve TEMED (Bio-Rad, ABD)) uygun konsantrasyonlarda hazırlanmıştır.

Vertikal elektroforez sistemi jel hazırlama standı kullanılarak (Mini-PROTEAN Tetra Cell, Bio-Rad, ABD) hazırlanmış olan jeller elektroforeze uygun şekilde yüklenmiştir. Bunun için; uzun ve kısa cam plakalar sisteme yerleştirilerek jellerin katılacağı ortam hazırlanmıştır. Vertikal elektroforez sistemi tarakları, protein belirteci ve örnekleri yüklemek için gerekli olan kuyuları oluşturacak şekilde camların arasına yerleştirilmiş ve polimerizasyonun tamamlanması için beklenmiştir.

Polimerizasyon tamamlandıktan sonra taraklar çıkarılarak jel içeren camlar vertikal elektroforez sistemi (Mini-PROTEAN Tetra Cell, Bio-Rad, ABD) tankına yerleştirilmiştir. Tanka yürütme tampon çözeltisi (Tris/Trisin/SDS, Bio-Rad, ABD) konularak protein belirteci (Spectra Multicolor Broad Range Protein Ladder, Thermo-Scientific, ABD) ve örnekler kuyulara yüklenerek elektrotlar uygun şekilde bağlanmış ve elektroforez (50V 60 dk ve 100V 45 dk) yapılmıştır.

#### **3.5.4. Jeldeki Proteinlerin Membrana Transferi (Yarı-Kuru Sistem)**

Jellerin transfer edileceği PVDF transfer membranı (Thermo-Fisher Scientific, ABD) sırasıyla farklı konsantrasyonlarda metanol (Sigma-Aldrich, Almanya), deiyonize saf su ve % 100 (v/v) transfer tampon çözeltisi (10x Tris/Glisin (BioRad, ABD) ile yıkanmış ve bu çözelti içerisinde bekletilmiştir. SDS yürütme işlemi tamamlandıktan sonra jel, PVDF transfer membranı üzerine yerleştirilerek jel-membran transfer cihazı (Pierce G2 Fast Blotter, Thermo-Fisher Scientific, ABD) ile transfer 20V'da 50 dk süresince gerçekleştirilmiştir.

Transfer gerçekleştirildikten sonra, PVDF membranlar tris-buffered saline (TBS) çözeltisi (pH=7,6) (Trizma bazı, sodyum klorür (NaCl) (Sigma Aldrich, Almanya)) ile yıkanmıştır. TBS çözeltisine, Tween-20 (Thermo-Fisher Scientific, ABD) eklenerek TBS-T (TBS-Tween 20) çözeltisi hazırlanmıştır. Spesifik olmayan bağlanmaların önlenmesi amacıyla membranlar TBS-T ve sığır serum albümini (bovine serum albümine-BSA) içeren bloklama tampon çözeltisi (% 7,5 BSA, % 0,1 TBS-T w/v) içerisinde bekletilmiştir. Membranlar TBS-T solüsyonu ile yıkanmış ve bir sonraki aşamaya geçilmiştir.

### 3.5.5. Antikorlarla Tepkime

Yıkanan membranların birincil antikorlar ACC 1, fosfo-ACC (Ser 79), IRS-1, fosforile IRS-1 (Ser 612), AMPK, fosforile AMPK- $\alpha$  (Thr 172), TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, TLR-4 ve  $\beta$ -aktin (Cell Signaling Technology, ABD) ile muamelesi 1:5000 oranında, oda sıcaklığında 1 gece roller karıştırıcı cihazı üzerinde gerçekleştirilmiştir. Birincil antikor ile muamele edilen PVDF membranlar TBS-T solüsyonu ile yıkanmıştır.

Membran birincil antikorlara uygun ikincil antikor (IgG (H+L) ikincil antikor, Thermo-Fisher Scientific, ABD) 1:20000 oranında TBS-T çözeltisine eklenmiştir. Membranlar sekonder antikor ile oda sıcaklığında 1 saat roller karıştırıcı cihazı üzerinde inkübe edilmiştir. İkincil antikor (1:20000) ile muamele edilen PVDF membran TBS-T solüsyonu ile yıkanmıştır. Membranlar TBS solüsyonunda bekletilerek görüntüleme için hazır hale getirilmiştir.

### 3.5.6. Kemilüminesans ve Görüntü Alma

Bağlanan ikincil antikor, peroksidaz reaksiyonu gerçekleştiren kemilüminesans substratı (SuperSignal West Pico Chemiluminescent Substrat, Thermo-Fisher Scientific, ABD) ile tespit edilmiştir. Peroksidaz enzimi çeşitli ara ürünler oluşturarak luminolün 3-aminofitalata oksidasyonunu katalizlemektedir. Reaksiyon 428 nm'de düşük yoğunlukta ışımaya sağlamaktadır. Bu yöntemde kemilüminesans substratı kullanılarak reaksiyonun duyarlılığı ve ışımının saptanması arttırılmaktadır (326).

Kemilüminesans ile görünür hale getirilen protein-antikor kompleksinin fotoğraflama işlemi görüntüleme cihazında (ChemiDoc Touch Imaging System, BioRad, ABD) fotoğrafları çekilerek yapılmıştır.

### 3.6. Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Çalışmadan elde edilen veriler SPSS (Statistical Package for Social Science) 23.0 istatistik programı ile değerlendirilmiş ve ortalama ( $\bar{x}$ ), standart hata (Sx) olarak ifade edilmiştir. Grupların karşılaştırılmasında verilere uygun olarak parametrik olmayan Kruskal-Wallis hipotez testi uygulanmıştır. Gruplar arasındaki farklılıklar

Mann-Whitney hipotez testi ile değerlendirilmiştir. İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  değeri ile belirlenmiştir.

## 4. BULGULAR

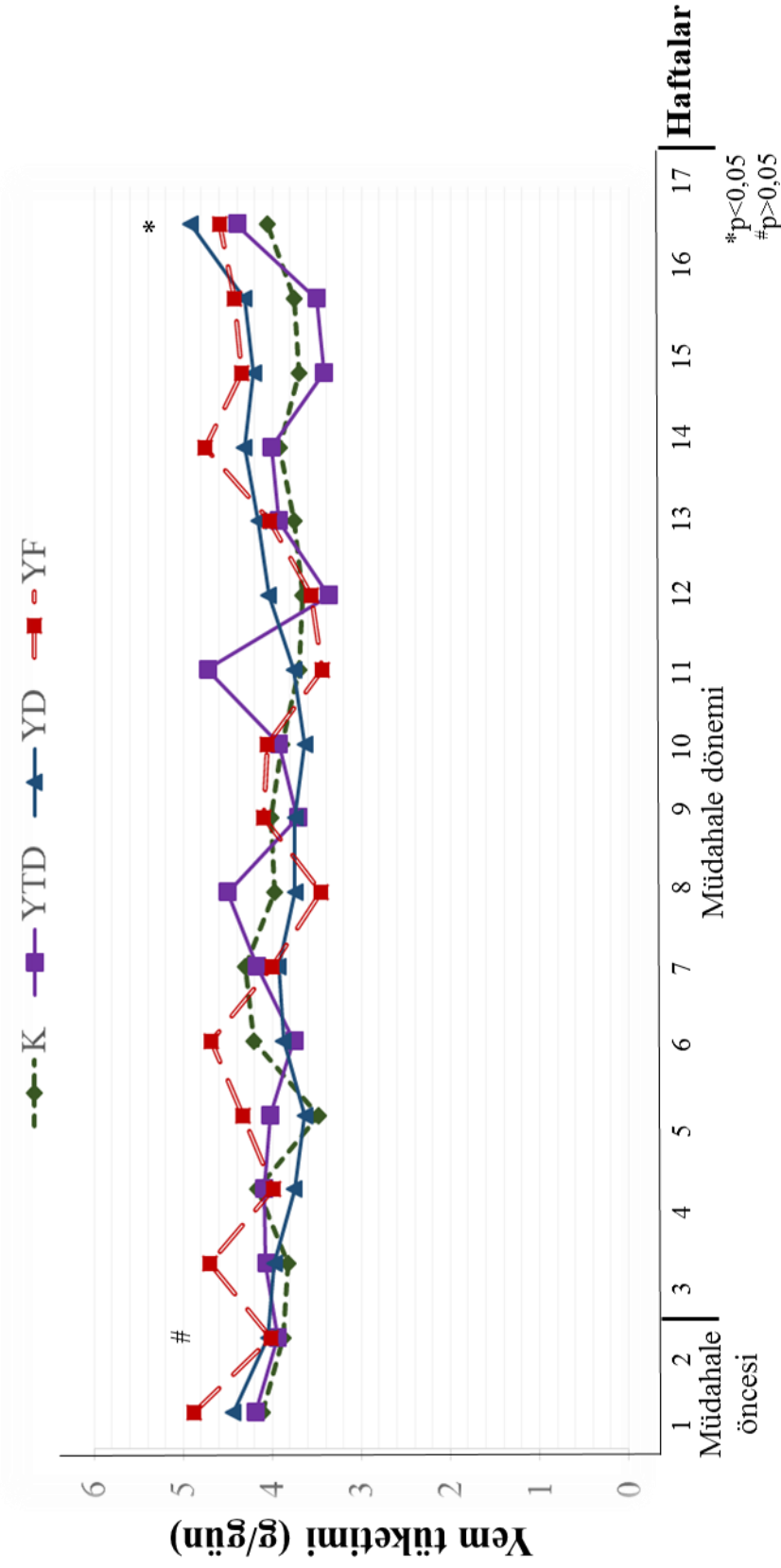
Çalışmada yer alan C57Bl/6 cins farelere ait bulgular standart diyet ile beslenen kontrol grubu (K), yüksek tekli doymamış yağ asitleri alan grup (YTD), yüksek doymuş yağ asitleri alan grup (YD) ve yüksek fruktoz alan grup (YF) olacak şekilde aşağıda verilmiştir.

### 4.1. Yem Tüketimleri, Enerji Alımları ve Vücut Ağırlıklarına İlişkin Bulgular

#### 4.1.1. Yem Tüketimi Bulguları

Farelerin çalışma süresince yem tüketimlerinin haftalara göre değişimi Şekil 4.1.'de verilmiştir. Farelerin müdahale öncesi dönemde yem tüketimleri açısından gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). Ancak müdahale döneminde ve çalışmanın sonunda toplam yem tüketimleri gruplar arasında istatistiksel olarak farklıdır ( $p<0,05$ ) (Şekil 4.1.).





**Şekil 4.1. Farelerin yem tüketimlerinin haftalara göre değişimi.** K: Kontrol diyeti alan grup, YTD: Yüksek tekli doymamış yağ asitli diyet alan grup, YD: Yüksek doymuş yağ asitli diyet alan grup, YF: Yüksek fruktozlu diyet alan grup. \*Kruskal Wallis testi uygulanmıştır; istatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak değerlendirilmiştir. <sup>ab</sup>Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden farklıdır (Mann Whitney U Hipotez Testi Uygulanmıştır).

Farelerin diyet müdahalesi öncesi, müdahale sırasında ve toplam diyet döneminde günlük ortalama yem tüketimi bulguları Tablo 4.1.'de verilmiştir. Farelerin müdahale öncesi dönemdeki yem tüketimi ortalamalarına bakıldığında; kontrol grubunun yem tüketiminin  $4,07 \pm 0,15$  g/gün, YTD grubunun  $4,06 \pm 0,05$  g/gün, YD grubunun  $4,16 \pm 0,19$  g/gün ve YF grubunun  $4,15 \pm 0,15$  g/gün olduğu saptanmıştır. Müdahale dönemindeki yem tüketimleri ise kontrol grubu için  $3,92 \pm 0,07$  g/gün, YTD grubu için  $4,04 \pm 0,04$  g/gün, YD grubu için  $4,01 \pm 0,08$  g/gün ve YF grubu için  $4,18 \pm 0,04$  g/gün olarak saptanmıştır. Buna göre çalışmanın ilk iki haftasında yem tüketimi açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p > 0,05$ ). Müdahale döneminde ise grupların yem tüketimleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Çalışmanın tamamındaki ortalama yem alımlarına bakıldığında ise kontrol grubunun  $3,92 \pm 0,06$  g/gün, YTD grubunun  $4,04 \pm 0,03$  g/gün, YD grubunun  $4,04 \pm 0,08$  g/gün ve YF grubunun  $4,19 \pm 0,04$  g/gün yem tükettiği saptanmıştır. Toplam diyet dönemindeki yem tüketiminin gruplar arasında farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır ( $p < 0,05$ ) (Tablo 4.1).

**Tablo 4.1.** Farelerin müdahale öncesi, müdahale sırası ve toplam diyet döneminde ortalama yem tüketim durumları

Çalışma dönemleri (g/gün)	Kontrol diyeti	Yüksek tekli doymamış yağ asitli diyet (YTD)	Yüksek doymuş yağ asitli diyet (YD)	Yüksek fruktozlu diyet (YF)	$X^2$ faktörü	<i>P</i> değeri
<b>Müdahale öncesi</b>	$4,07 \pm 0,15$	$4,06 \pm 0,05$	$4,16 \pm 0,19$	$4,15 \pm 0,15$	0,44	0,932
<b>Müdahale sırası</b>	$3,92 \pm 0,07^a$	$4,04 \pm 0,04^a$	$4,01 \pm 0,08^a$	$4,18 \pm 0,04^b$	10,26	0,016*
<b>Toplam diyet dönemi</b>	$3,92 \pm 0,06^a$	$4,04 \pm 0,03^a$	$4,04 \pm 0,08^a$	$4,19 \pm 0,04^b$	9,13	0,028*

Veriler ortalama  $\pm$  standart hata ( $\bar{X} \pm S_x$ ) olarak gösterilmiştir. \*Non-parametrik, Kruskal Wallis testi uygulanmıştır. İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak verilmiştir.

<sup>ab</sup>Farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden anlamlı olarak farklıdır (Mann Whitney U Hipotez Testi Uygulanmıştır).

#### 4.1.2. Enerji ve Makro Besin Öğeleri Alımı Bulguları

Farelerin müdahale öncesi, müdahale dönemi ve toplam diyet dönemleri süresince günlük ortalama enerji alımları ve alınan makro besin öğelerinin günlük alınan enerjiye katkı yüzdesi Tablo 4.2.'de gösterilmiştir. Farelerin çalışma dönemlerindeki enerji alımı ortalamalarına bakıldığında müdahale öncesi dönemde kontrol grubunun enerji alımının  $14,24 \pm 0,52$  kkal/gün iken YTD grubunun  $14,21 \pm 0,18$  kkal/gün, YD grubunun  $14,55 \pm 0,65$  kkal/gün ve YF grubunun  $14,53 \pm 0,52$  kkal/gün olduğu gözlenmiştir ( $p > 0,05$ ). Müdahale döneminde ise günlük ortalama enerji alımları; kontrol grubu için  $13,71 \pm 0,24$  kkal/gün, YTD grubu için  $19,80 \pm 0,18$  kkal/gün, YD grubu için  $19,51 \pm 0,42$  kkal/gün ve YF grubu için  $19,65 \pm 0,20$  kkal/gün olarak saptanmıştır. Buna göre dört grubun enerji alımları arasındaki farkın müdahale döneminde istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlenmiştir ( $p < 0,001$ ). Gruplar arasında ikili karşılaştırmalar yapıldığında, enerji alımlarındaki farklılığın kontrol grubundan kaynaklandığı saptanmıştır. Kontrol grubunun günlük ortalama enerji alım değeri tüm gruplardan anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Tüm çalışma dönemlerindeki günlük ortalama enerji alım düzeyleri incelendiğinde ise kontrol, YTD, YD ve YF grupları için sırasıyla  $13,72 \pm 0,23$  kkal/gün,  $19,28 \pm 0,17$  kkal/gün,  $19,16 \pm 0,38$  kkal/gün ve  $19,34 \pm 0,19$  kkal/gün olduğu gözlenmiştir. Buna göre çalışma boyunca grupların enerji alım değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p < 0,001$ ). Tüm çalışma dönemlerinde de kontrol grubunun günlük ortalama enerji alım değerinin diğer gruplardan anlamlı olarak düşük olduğu gözlenmiştir (Tablo 4.2).

**Tablo 4.2.** Farelerin müdahale öncesi, müdahale dönemi ve toplam diyet döneminde günlük ortalama enerji alımları ve makro besin öğelerinin enerji alımına katkı yüzdeleri

Diyet Örüntüsü	Kontrol diyeti	Yüksek tekli doymamış yağ asitli diyet (YTD)	Yüksek doymuş yağ asitli diyet (YD)	Yüksek fruktozlu diyet (YF)	X <sup>2</sup> faktörü	P değeri
<b><u>Müdahale öncesi</u></b>						
Enerji (kkal)	14,24±0,52	14,21±0,18	14,55±0,65	14,53±0,52	0,40	0,940
Karbonhidrat (%)	75,0	75,0	75,0	75,0		
Protein (%)	15,0	15,0	15,0	15,0		
Yağ (%)	10,0	10,0	10,0	10,0		
<b><u>Müdahale dönemi</u></b>						
Enerji (kkal)	13,71±0,24 <sup>a</sup>	19,80±0,18 <sup>b</sup>	19,51±0,42 <sup>b</sup>	19,65±0,20 <sup>b</sup>	18,89	0,000*
Karbonhidrat (%)	75,0	50,0	50,0	80,0		
Fruktoz (%)	-	-	-	35,0		
Protein (%)	15,0	11,0	11,0	12,0		
Yağ (%)	10,0	39,0	39,0	8,0		
Tekli doymamış yağ asileri (%)	-	30,0	-	-		
Doymuş yağ asitleri (%)	-	-	30,0	-		
<b><u>Toplam diyet dönemi</u></b>						
Enerji (kkal)	13,72±0,23 <sup>a</sup>	19,28±0,17 <sup>b</sup>	19,16±0,38 <sup>b</sup>	19,34±0,19 <sup>b</sup>	18,34	0,000*
Karbonhidrat (%)	75,0	50,0	50,0	80,0		
Fruktoz (%)	-	-	-	35,0		
Protein (%)	15,0	11,0	11,0	12,0		
Yağ (%)	10,0	39,0	39,0	8,0		
Tekli doymamış yağ asitleri (%)	-	30,0	-	-		
Doymuş yağ asitleri (%)	-	-	30,0	-		

Veriler ortalama ± standart hata ( $\bar{X} \pm Sx$ ) olarak gösterilmiştir. Makro besin öğelerinin günlük alınan enerjiye katkısı yüzde (%) olarak verilmiştir.

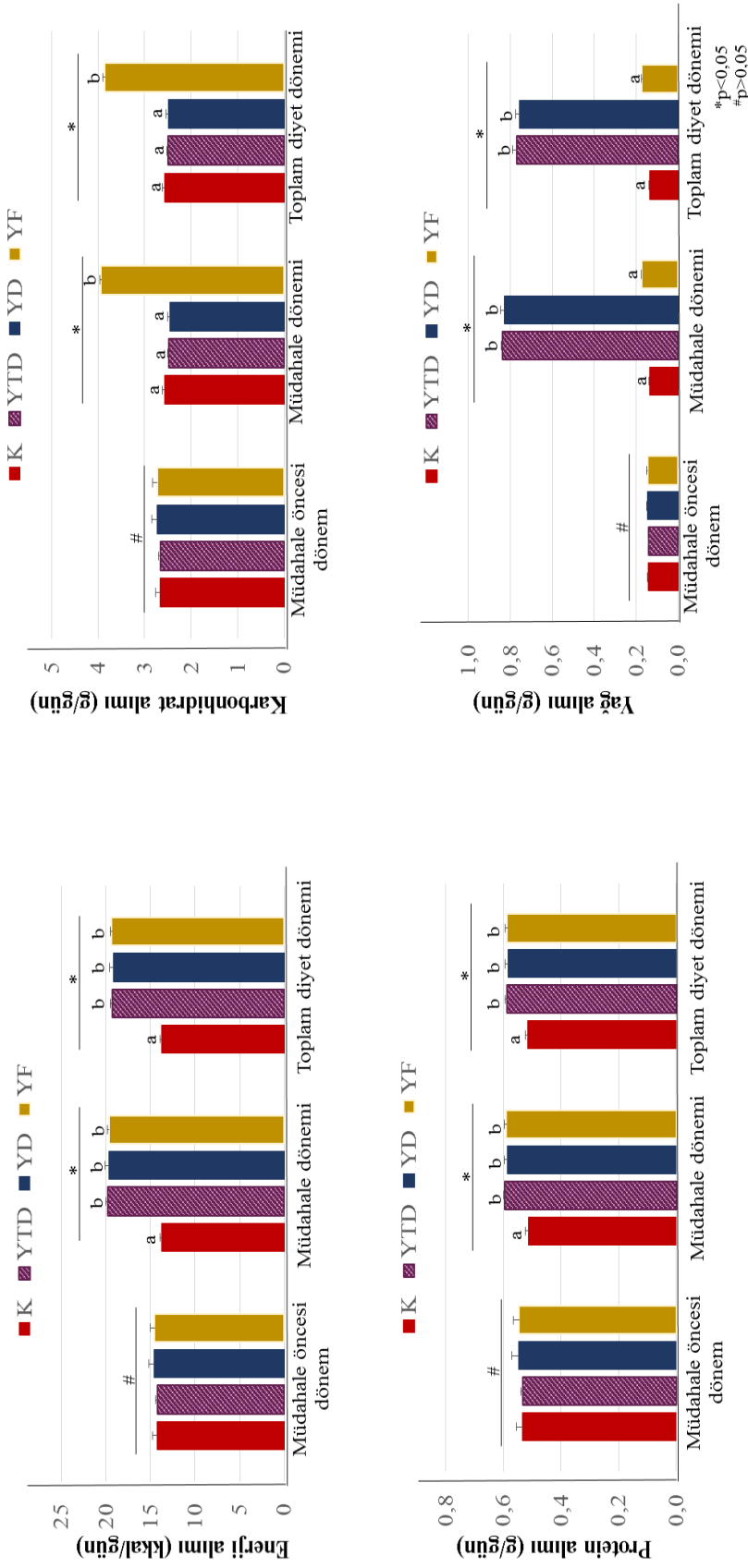
\*Non-parametrik, Kruskal Wallis testi uygulanmıştır. İstatistiksel anlamlılık p<0,05 olarak verilmiştir.

<sup>ab</sup>Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden anlamlı olarak farklıdır (Mann Whitney U hipotez testi uygulanmıştır).

Çalışma süresince dönemlere göre günlük ortalama enerji (kkal), karbonhidrat (g), protein (g) ve yağ (g) alım miktarları ve ortalamalarının gruplararası karşılaştırılması Şekil 4.2.'de gösterilmektedir. Farelerin müdahale öncesi dönemdeki günlük karbonhidrat alımı ortalamalarına bakıldığında; kontrol grubunun günlük ortalama karbonhidrat alımının  $2,67 \pm 0,10$  g/gün, YTD grubunun  $2,66 \pm 0,03$  g/gün, YD grubunun  $2,73 \pm 0,12$  g/gün ve YF grubunun  $2,72 \pm 0,10$  g/gün olduğu saptanmıştır. Buna göre çalışmanın ilk iki haftasında günlük karbonhidrat alımı açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p > 0,05$ ). Müdahale dönemindeki günlük ortalama karbonhidrat alımları incelendiğinde ise; kontrol grubunun  $2,57 \pm 0,04$  g/gün, YTD grubunun  $2,48 \pm 0,02$  g/gün, YD grubunun  $2,46 \pm 0,05$  g/gün ve YF grubunun  $3,93 \pm 0,04$  g/gün karbonhidrat alımı olduğu görülmektedir. Müdahale döneminde grupların günlük ortalama karbonhidrat alımı arasında farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,001$ ). Çalışmanın tamamındaki ortalama karbonhidrat alımlarına bakıldığında ise; kontrol grubunun  $2,57 \pm 0,04$  g/gün, YTD grubunun  $2,49 \pm 0,02$  g/gün, YD grubunun  $2,49 \pm 0,05$  g/gün ve YF grubunun  $3,86 \pm 0,04$  g/gün karbonhidrat aldığı görülmektedir. Toplam diyet dönemindeki günlük ortalama karbonhidrat alımı farkının gruplar arasında anlamlı olduğu saptanmıştır ( $p < 0,001$ ) (Şekil 4.2.).

Farelerin diyet müdahalesi öncesi dönemde günlük protein alım miktarları incelendiğinde; kontrol grubunun  $0,53 \pm 0,02$  g/gün, YTD grubunun  $0,53 \pm 0,01$  g/gün, YD grubunun  $0,55 \pm 0,02$  g/gün ve YF grubunun  $0,54 \pm 0,02$  g/gün protein aldığı saptanmıştır. Müdahale döneminde günlük ortalama protein alım değerleri ise; kontrol grubunun  $0,51 \pm 0,01$  g/gün, YTD grubunun  $0,59 \pm 0,01$  g/gün, YD grubunun  $0,59 \pm 0,01$  g/gün ve YF grubunun  $0,59 \pm 0,01$  g/gün olduğu görülmektedir. Buna göre çalışmanın ilk iki haftasında protein alımı açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ). Müdahale döneminde ise grupların protein alımları arasındaki farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmektedir ( $p < 0,05$ ). Çalışmanın tamamındaki ortalama protein alımları karşılaştırıldığında ise; kontrol grubunun  $0,51 \pm 0,01$  g/gün, YTD grubunun  $0,59 \pm 0,01$  g/gün, YD grubunun  $0,58 \pm 0,01$  g/gün ve YF grubunun  $0,59 \pm 0,01$  g/gün protein aldığı saptanmıştır. Toplam diyet dönemindeki günlük ortalama protein alımı farkının gruplar arasında anlamlı olduğu saptanmıştır ( $p < 0,05$ ) (Şekil 4.2.).

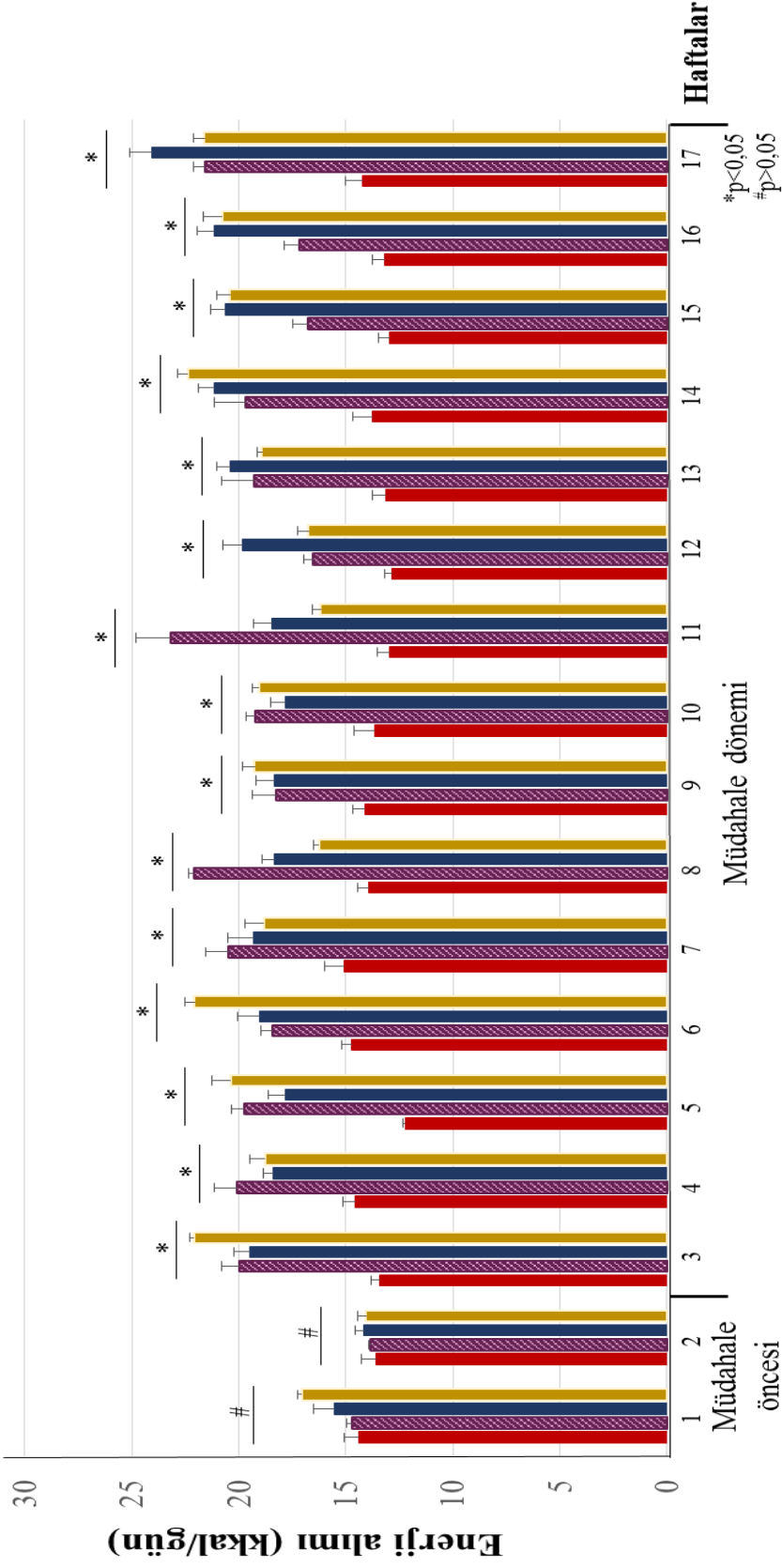
Farelerin diyet müdahalesi öncesi dönemde günlük ortalama aldıkları yağ alım miktarlarına bakıldığında; kontrol grubunun  $0,14\pm 0,01$  g/gün, YTD grubunun  $0,14\pm 0,01$  g/gün, YD grubunun  $0,15\pm 0,01$  g/gün ve YF grubunun  $0,15\pm 0,01$  g/gün yağ aldığı belirlenmiştir. Müdahale dönemindeki günlük ortalama yağ alımları ise kontrol grubu için  $0,14\pm 0,01$  g/gün, YTD grubu için  $0,84\pm 0,01$  g/gün, YD grubu için  $0,83\pm 0,02$  g/gün ve YF grubu için  $0,17\pm 0,01$  g/gün olarak saptanmıştır. Buna göre, çalışmanın ilk iki haftasında grupların günlük ortalama yağ alımı arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildir ( $p>0,05$ ). Müdahale döneminde ise grupların günlük ortalama yağ alım değerleri arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir ( $p<0,001$ ). Çalışmanın tamamındaki ortalama yağ alım değerlerine bakıldığında ise; kontrol grubunun  $0,14\pm 0,01$  g/gün, YTD grubunun  $0,77\pm 0,02$  g/gün, YD grubunun  $0,76\pm 0,02$  g/gün ve YF grubunun  $0,17\pm 0,01$  g/gün yağ aldığı saptanmıştır. Toplam diyet döneminde yağ alım değerlerinin gruplar arasında istatistiksel olarak farklı olduğu görülmektedir ( $p<0,001$ ) (Şekil 4.2.)



**Şekil 4.2. Farelerin müdahale öncesi, müdahale dönemi ve toplam diyet dönemindeki günlük aldıkları enerji (kcal), karbonhidrat (g), protein (g) ve yağ (g) ortalamalarının gruplararası karşılaştırılması.** K: Kontrol diyeti alan grup, YTD: Yüksek tekli doymamış yağ asitli diyeti alan grup, YD: Yüksek doymuş yağ asitli diyeti alan grup, YF: Yüksek fruktozlu diyeti alan grup. \*Non-parametrik, Kruskal Wallis testi uygulanmıştır. <sup>a</sup><sup>b</sup>Farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden anlamlı olarak farklıdır (Mann Whitney U Hipotez Testi Uygulanmıştır). İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak verilmiştir.

Farelerin çalışma süresince ortalama enerji alımlarının (kkal/gün) haftalara göre değişimi Şekil 4.3'de verilmektedir. Farelerin diyet müdahalesi öncesi dönemdeki enerji alım değerleri açısından gruplar arasında bir fark bulunmamaktadır ( $p=0,940$ ). Ancak, diyet müdahalesi döneminde ve çalışmanın sonunda grupların enerji alım değerlerinin farklı olduğu bulunmuştur ( $p<0,001$ ) (Şekil 4.3.).

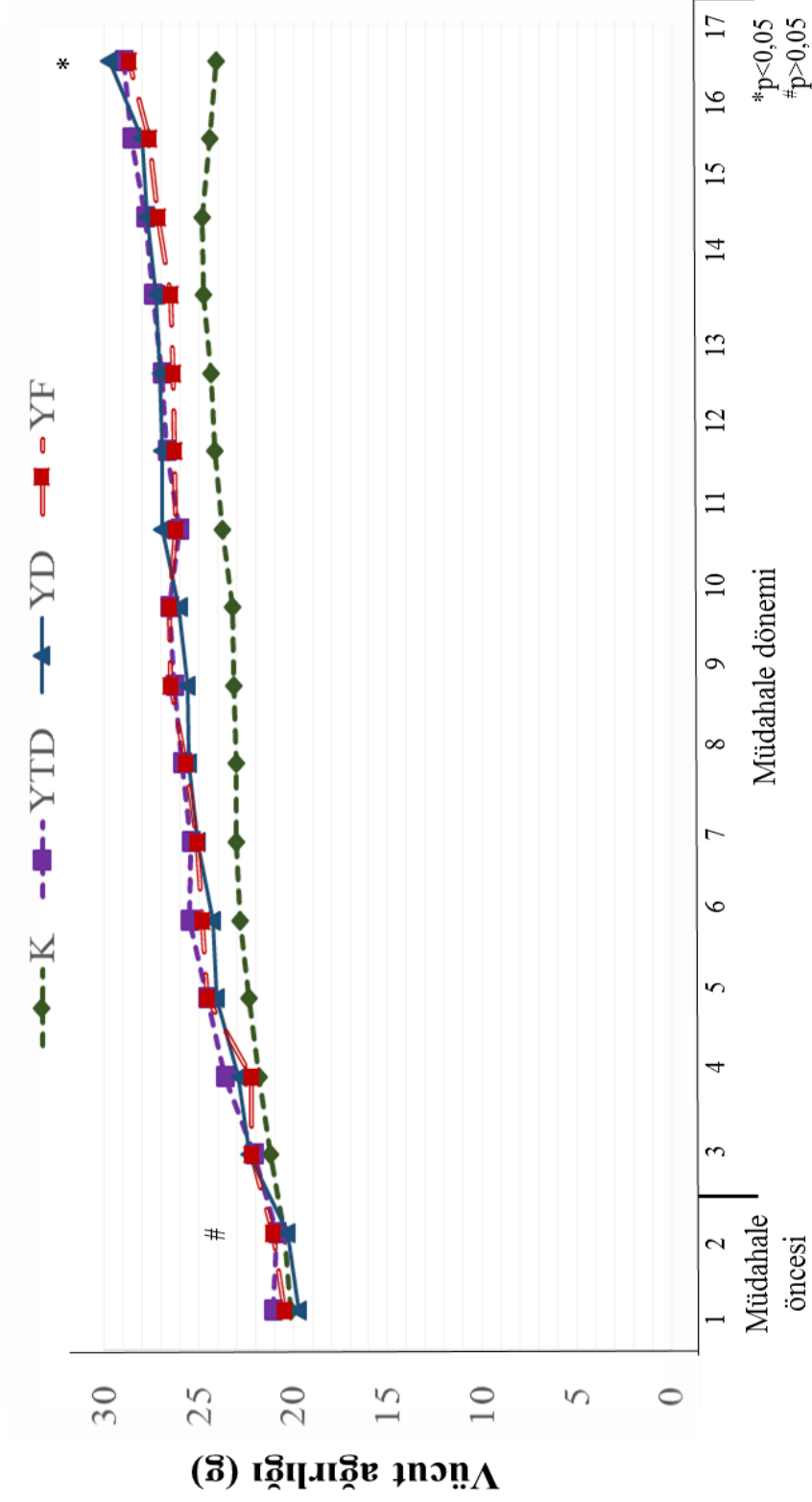




**Şekil 4.3. Farelerin müdahale öncesi, müdahale ve toplam diyet dönemlerinde haftalara göre enerji alımı ortalamaları.** K: Kontrol diyeti alan grup, YTD: Yüksek tekli doymamış yağ asitli diyet alan grup, YD: Yüksek doymuş yağ asitli diyet alan grup, YF: Yüksek fruktozlu diyet alan grup. \*Non-parametrik, Kruskal Wallis testi uygulanmıştır. İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak verilmiştir.

### 4.1.3. Vücut Ağırlığı Artış Düzeyleri

Farelerin haftalara göre vücut ağırlıklarındaki değişim Şekil 4.4'te verilmiştir. Farelerin müdahale öncesi dönemdeki ortalama vücut ağırlıkları açısından gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır ( $p>0,05$ ). Ancak; müdahale döneminde ve toplam diyet döneminin sonunda ortalama vücut ağırlıkları gruplar arasında istatistiksel olarak farklıdır (sırasıyla;  $p<0,05$  ve  $p<0,001$ ) (Şekil 4.4.).



**Şekil 4.4. Farelerin müdahale öncesi, müdahale dönemi ve toplam diyet döneminde vücut ağırlıkları.** K: Kontrol diyeti alan grup, YTD: Yüksek tekli doymamış yağ asitli diyet alan grup, YD: Yüksek doymuş yağ asitli diyet alan grup, YF: Yüksek fruktozlu diyet alan grup. \*Non-parametrik, Kruskal Wallis testi uygulanmıştır. İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak verilmiştir.

Farelerin diyet müdahalesi öncesi, müdahale sırasında ve çalışma sonunda toplam vücut ağırlıkları ortalamaları ve çalışma sonunda ortalama vücut ağırlıkları artışı Tablo 4.3.ve Şekil 4.5.'te gösterilmektedir. Farelerin müdahale öncesi dönemdeki vücut ağırlıkları ortalamalarına bakıldığında; kontrol grubunun ortalama vücut ağırlığının  $20,17 \pm 0,30$  g, YTD grubunun  $21,15 \pm 0,33$  g, YD grubunun  $20,07 \pm 0,40$  g ve YF grubunun  $20,80 \pm 0,42$  g olduğu saptanmıştır. Buna göre çalışmanın ilk iki haftasında vücut ağırlığı açısından anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p < 0,05$ ) (Tablo 4.3.).

Müdahale dönemindeki ortalama vücut ağırlıkları ise kontrol grubu için  $23,40 \pm 0,40$  g, YTD grubu için  $26,17 \pm 0,56$  g, YD grubu için  $25,99 \pm 0,40$  g ve YF grubu için  $25,78 \pm 0,60$  g olarak saptanmıştır. Grupların müdahale dönemindeki vücut ağırlıkları arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Gruplar arasında ikili karşılaştırmalar yapıldığında ise, kontrol grubunun vücut ağırlığı ortalamasının diğer gruplardan anlamlı olarak düşük olduğu görülmektedir (Tablo 4.3.).

Çalışmanın ilk iki haftası ve müdahale dönemini kapsayan toplam diyet dönemindeki ortalama vücut ağırlıklarına bakıldığında ise kontrol grubunun  $23,09 \pm 0,35$  g, YTD grubunun  $26,34 \pm 0,33$  g, YD grubunun  $25,16 \pm 0,43$  g ve YF grubunun  $25,19 \pm 0,60$  g olduğu saptanmıştır. Buna göre toplam diyet dönemindeki vücut ağırlıkları arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Toplam diyet dönemindeki vücut ağırlığı farklılığının da kontrol grubundan kaynaklandığı, bu grubun vücut ağırlığı ortalamasının diğer gruplardan anlamlı olarak düşük olduğu görülmektedir (Tablo 4.3.).

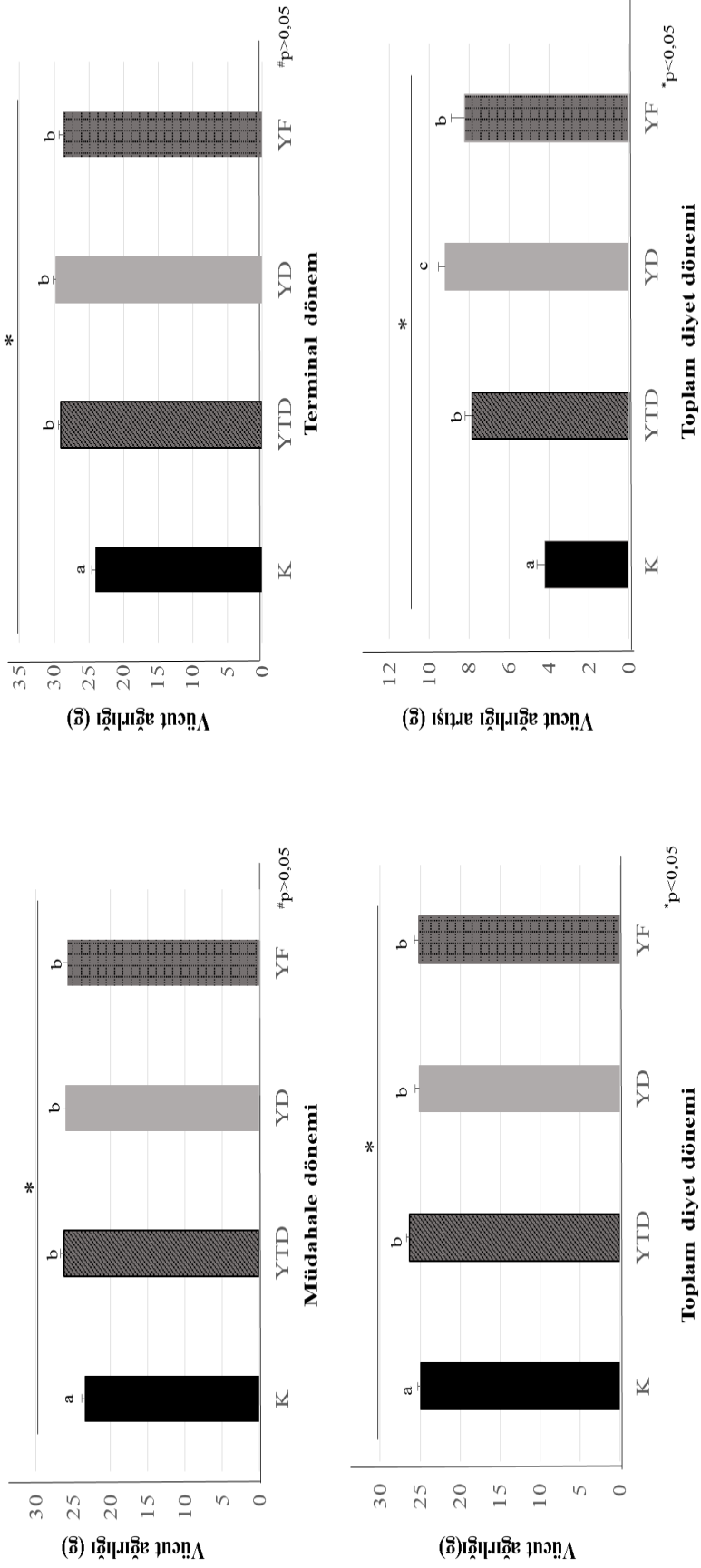
Çalışmanın sonunda vücut ağırlıklarında gerçekleşen artış incelendiğinde ise; kontrol grubundaki artışın  $4,22 \pm 0,38$  g, YTD grubundaki artışın  $7,86 \pm 0,35$  g, YD grubundaki artışın  $9,19 \pm 0,35$  g ve YF grubundaki artışın  $8,23 \pm 0,68$  g olduğu görülmektedir. Vücut ağırlığı artışındaki farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır ( $p < 0,05$ ). Buna göre vücut ağırlığındaki en büyük artış YD grubunda, en düşük artış ise kontrol grubunda gözlenmektedir. YTD ve YF grubundaki vücut ağırlığı artışı ise kontrol grubundan yüksek olmakla birlikte farklı bulunmamıştır (Tablo 4.3.).

**Tablo 4.3.** Farelerin diyet müdahalesi öncesi, müdahale sırasında, toplam diyet döneminde ve terminal dönemde ortalama vücut ağırlıkları ve vücut ağırlıkları artışı.

Çalışma dönemleri (g)	Kontrol diyeti	Yüksek tekli doymamış yağ asitli diyet (YTD)	Yüksek doymuş yağ asitli diyet (YD)	Yüksek fruktozlu diyet (YF)	$X^2$ faktörü	$P$ değeri
<b>Müdahale öncesi</b>	20,17±0,30	21,15±0,33	20,07±0,40	20,80±0,42	3,70	0,295
<b>Müdahale dönemi</b>	23,40±0,40 <sup>a</sup>	26,17±0,56 <sup>b</sup>	25,99±0,40 <sup>b</sup>	25,78±0,60 <sup>b</sup>	15,37	0,002*
<b>Toplam diyet dönemi</b>	23,09±0,35 <sup>a</sup>	26,34±0,33 <sup>b</sup>	25,16±0,43 <sup>b</sup>	25,19±0,60 <sup>b</sup>	19,58	0,000*
<b>Terminal Dönem</b>	24,06±0,47 <sup>a</sup>	29,01±0,38 <sup>b</sup>	29,78±0,40 <sup>b</sup>	28,75±0,55 <sup>b</sup>	17,22	0,000*
<b>Vücut ağırlığı artışı</b>	4,22±0,38 <sup>a</sup>	7,86±0,35 <sup>b</sup>	9,19±0,35 <sup>c</sup>	8,23±0,68 <sup>b</sup>	15,08	0,002*

Veriler ortalama  $\pm$  standart hata ( $\bar{X} \pm S_x$ ) olarak gösterilmiştir. \*Non-parametrik, Kruskal Wallis testi uygulanmıştır.<sup>abc</sup>Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden farklıdır (Mann Whitney U testi uygulanmıştır). İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak verilmiştir.

Bahsedilen dönemlere göre farelerin vücut ağırlığı değişimi Şekil 4.5.'te ayrıca gösterilmiştir. Farelerin 15 haftalık müdahale dönemi ve toplam diyet dönemindeki vücut ağırlık ortalamaları incelendiğinde; kontrol grubunun vücut ağırlığının en düşük olduğu, bununla birlikte YTD, YD ve YF gruplarının vücut ağırlıkları arasındaki farkın anlamlı olmadığı saptanmıştır. Farelerin terminal dönemdeki vücut ağırlıkları ortalamaları da benzer şekilde bulunmuştur. YTD, YD ve YF gruplarının terminal dönem vücut ağırlıkları birbirinden farklı olmamakla birlikte kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. Farelerin toplam diyet dönemi sonunda vücut ağırlıklarındaki artış incelendiğinde ise en yüksek artışın YD grubunda olduğu görülmektedir. YTD ve YF gruplarındaki vücut ağırlığı artışı ise kontrol grubundan yüksek olmakla birlikte farklı bulunmamıştır (Şekil 4.5.).

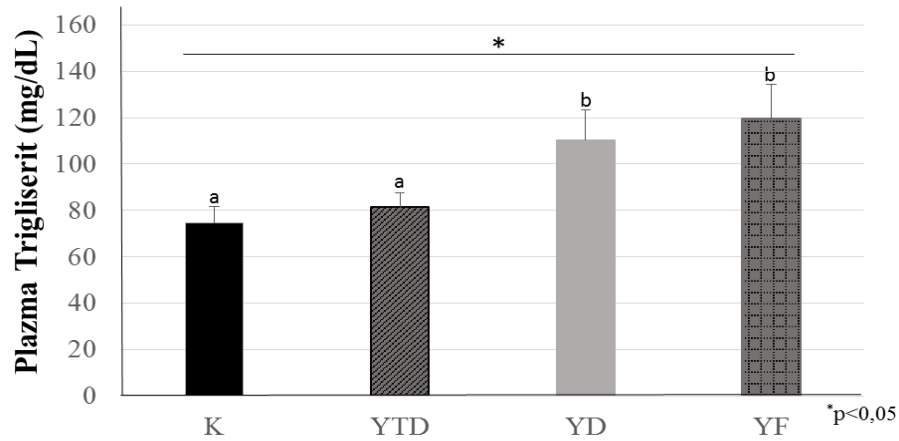


**Şekil 4.5. Dönemlere göre farelerin vücut ağırlığı değişimi.** K: Kontrol diyeti alan grup, YTD: Yüksek tekli doymamış yağ asitli diyet alan grup, YD: Yüksek doymuş yağ asitli diyet alan grup, YF: Yüksek fruktozlu diyet alan grup. \*Non-parametrik, Kruskal Wallis testi uygulanmıştır. <sup>abc</sup>Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden farklıdır (Mann Whitney U testi uygulanmıştır). İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak verilmiştir.

## 4.2. Karaciğer ve Kanda Biyokimyasal Bulgular

### 4.2.1. Plazma ve Karaciğer Trigliserid Düzeyleri

Farelerin plazma trigliserid düzeyleri incelendiğinde; kontrol grubunun  $74,50 \pm 7,22$  mg/dL, YTD grubunun  $81,29 \pm 6,43$  mg/dL, YD grubunun  $110,50 \pm 12,98$  mg/dL ve YF grubunun  $119,50 \pm 14,96$  mg/dL olduğu saptanmıştır. Grupların plazma trigliserid düzeyleri arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlenmektedir ( $p < 0,05$ ). İkili karşılaştırmalar yapıldığında, YD ve YF grubunun en yüksek plazma trigliserid konsantrasyonuna sahip olduğu ancak bu iki grup arasında anlamlı farklılık olmadığı saptanmıştır (Şekil 4.6).

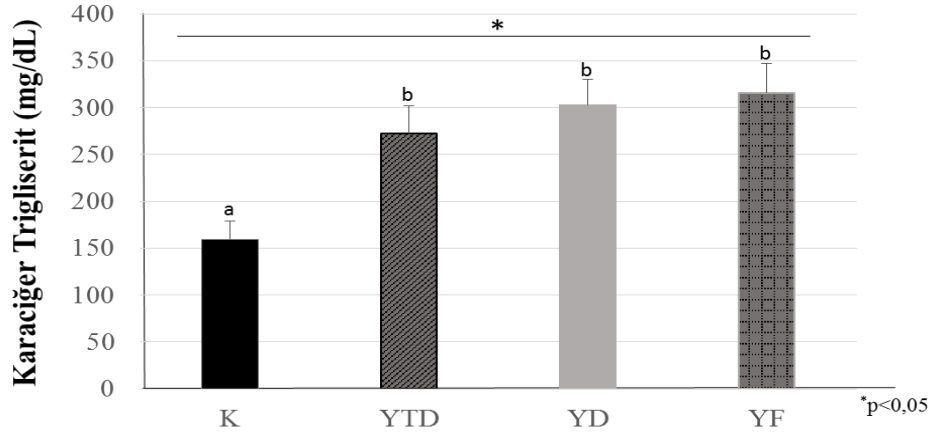


#### Şekil 4.6. Gruplara göre farelerin ortalama plazma trigliserid konsantrasyonları.

K: Kontrol diyeti alan grup, YTD: Yüksek tekli doymamış yağ asitli diyet alan grup, YD: Yüksek doymuş yağ asitli diyet alan grup, YF: Yüksek fruktozlu diyet alan grup. \*Non-parametrik, Kruskal Wallis testi uygulanmıştır. <sup>ab</sup>Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden farklıdır (Mann Whitney U testi uygulanmıştır). İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak verilmiştir.

Farelerin ortalama karaciğer trigliserid düzeylerine bakıldığında ise, kontrol grubunun  $159,56 \pm 19,08$  mg/dL, YTD grubunun  $272,38 \pm 29,66$  mg/dL, YD grubunun  $303,09 \pm 27,47$  mg/dL ve YF grubunun  $303,81 \pm 31,43$  mg/dL olduğu saptanmıştır. Gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır ( $p < 0,05$ ). Grupların ikili olarak karşılaştırmaları yapıldığında ise, kontrol grubunun diğer

gruplardan anlamlı olarak düşük plazma trigliserid ortalaması olduğu görülmektedir (Şekil 4.7).

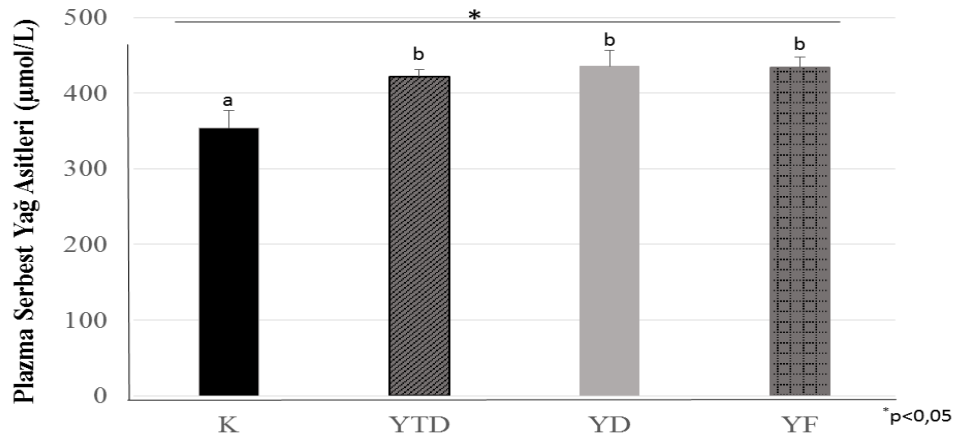


**Şekil 4.7. Gruplara göre farelerin ortalama karaciğer trigliserid konsantrasyonları.** K: Kontrol diyeti alan grup, YTD: Yüksek tekli doymamış yağ asitli diyet alan grup, YD: Yüksek doymuş yağ asitli diyet alan grup, YF: Yüksek fruktozlu diyet alan grup. \*Non-parametrik, Kruskal Wallis testi uygulanmıştır. <sup>ab</sup>Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden farklıdır (Mann Whitney U testi uygulanmıştır). İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak verilmiştir.

#### 4.2.2. Plazma Serbest Yağ Asitleri Düzeyi

Farelerin plazma serbest yağ asitleri ortalamalarına bakıldığında kontrol grubunun  $354,21 \pm 23,11$   $\mu\text{mol/L}$ , YTD grubunun  $421,89 \pm 9,46$   $\mu\text{mol/L}$ , YD grubunun  $435,75 \pm 20,61$   $\mu\text{mol/L}$  ve YF grubunun  $434,00 \pm 14,05$   $\mu\text{mol/L}$  olduğu gözlenmiştir. Plazma toplam serbest yağ asitleri için gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır ( $p < 0,05$ ). İkili karşılaştırmalar yapıldığında kontrol grubunun plazma serbest yağ asitleri düzeyinin, diğer gruplardan anlamlı olarak düşük olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.8.).

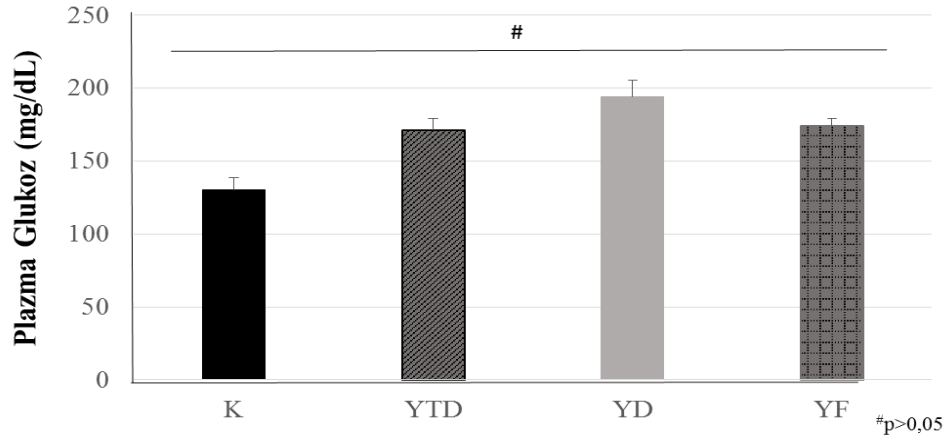




**Şekil 4.8. Farelerin ortalama plazma toplam serbest yağ asitleri konsantrasyonları.** K: Kontrol diyeti alan grup, YTD: Yüksek tekli doymamış yağ asitli diyet alan grup, YD: Yüksek doymuş yağ asitli diyet alan grup, YF: Yüksek fruktozlu diyet alan grup. \*Non-parametrik, Kruskal Wallis testi uygulanmıştır. <sup>ab</sup>Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden farklıdır (Mann Whitney U testi uygulanmıştır). İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak verilmiştir.

#### 4.2.3. Açlık Plazma Glukoz Düzeyi

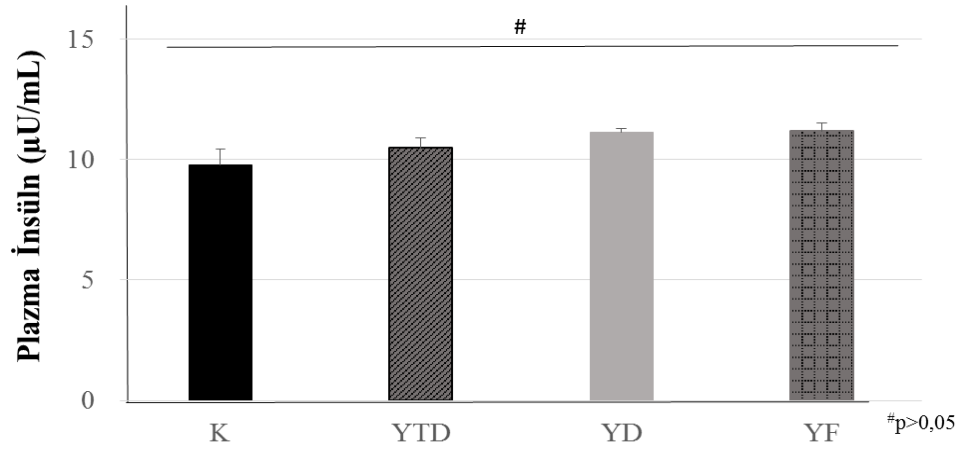
Farelerin plazma glukoz ortalamalarına bakıldığında kontrol grubunun  $130,38 \pm 8,13$  mg/dL, YTD grubunun  $171,21 \pm 7,70$  mg/dL,  $194,20 \pm 11,21$  mg/dL ve YF grubunun  $173,76 \pm 5,19$  mg/dL olduğu saptanmıştır. Yüksek doymuş yağ asidi ile beslenen farelerin plazma glukoz değerleri diğer gruplardan daha yüksek bulunmuştur ancak gruplar arasındaki farkın anlamlı olmadığı gözlenmiştir ( $p > 0,05$ ) (Şekil 4.9.).



**Şekil 4.9. Gruplara göre farelerin ortalama plazma glukoz konsantrasyonları.** K: Kontrol diyeti alan grup, YTD: Yüksek tekli doymamış yağ asitli diyet alan grup, YD: Yüksek doymuş yağ asitli diyet alan grup, YF: Yüksek fruktozlu diyet alan grup. \*Non-parametrik, Kruskal Wallis testi uygulanmıştır. İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak verilmiştir.

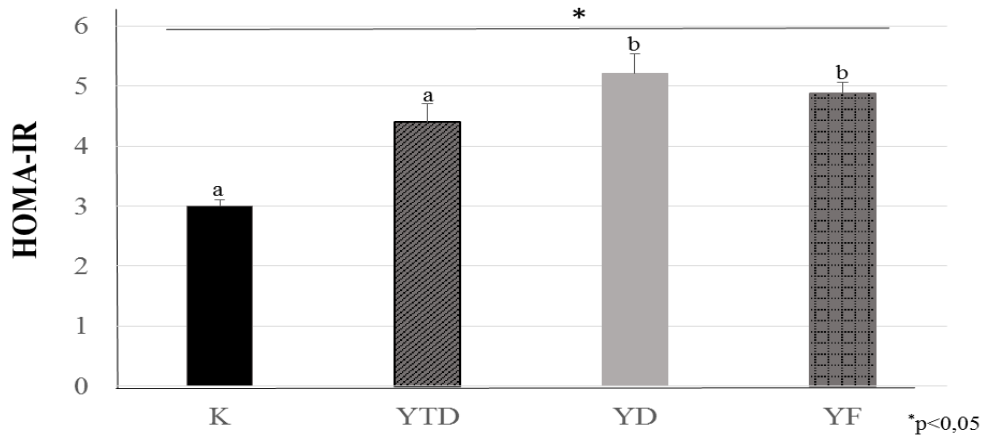
#### 4.2.4. Açlık Plazma İnsülin Düzeyi ve İnsülin Direnci Durumu

Farelerin plazma insülin değerlerinin ortalamalarına bakıldığında kontrol grubunun  $9,76 \pm 0,6 \mu\text{U/mL}$ , YTD grubunun  $10,49 \pm 0,41 \mu\text{U/mL}$ , YD grubunun  $11,12 \pm 0,17 \mu\text{U/mL}$  ve YF grubunun  $11,17 \pm 0,35 \mu\text{U/mL}$  olduğu gözlenmiştir. Yüksek fruktozlu diyet alan farelerin açlık kan insülin konsantrasyonunun diğer gruplardan daha yüksek olduğu gözlenmektedir ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ) (Şekil 4.10.).



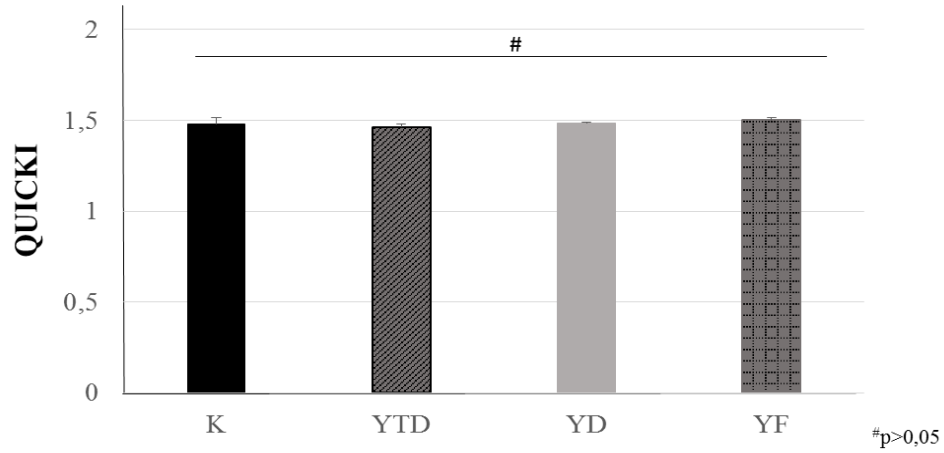
**Şekil 4.10. Gruplara göre farelerin ortalama açlık plazma insülin konsantrasyonları.** K: Kontrol diyeti alan grup, YTD: Yüksek tekli doymamış yağ asitli diyet alan grup, YD: Yüksek doymuş yağ asitli diyet alan grup, YF: Yüksek fruktozlu diyet alan grup. \*Non-parametrik, Kruskal Wallis testi uygulanmıştır. İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak verilmiştir.

Farelerin insülin direnci hesabı için HOMA-IR, QUICKI değerleri ve glukoz:insülin oranı kullanılmıştır. HOMA-IR değerlerinin; kontrol grubu için  $3,01 \pm 0,10$ , YTD grubu için  $4,67 \pm 0,39$ , YD grubu için  $4,40 \pm 0,31$  ve YF grubu için  $4,87 \pm 0,19$  olduğu görülmektedir. En yüksek HOMA-IR değerine sahip grubun, YF grubundan farklı olmamakla birlikte YD grubu olduğu görülmektedir. Kontrol ve YTD grubunun HOMA-IR değerleri ise anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur ( $p < 0,05$ ) (Şekil 4.11.).



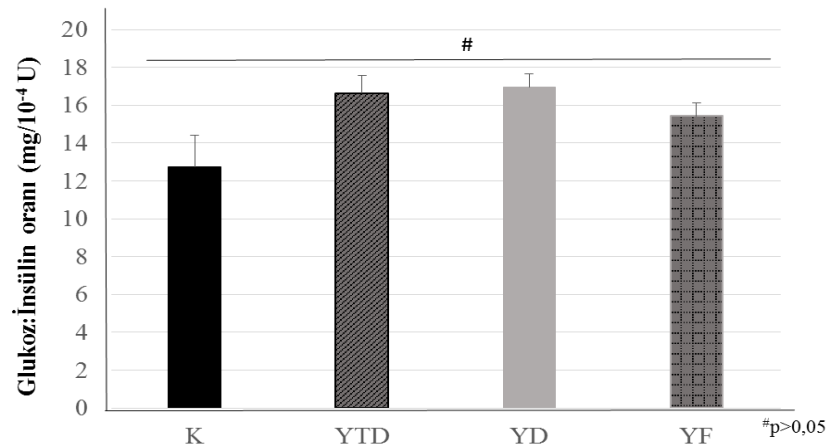
**Şekil 4.11. Gruplara göre farelerin ortalama HOMA-IR değerleri.** K: Kontrol diyeti alan grup, YTD: Yüksek tekli doymamış yağ asitli diyet alan grup, YD: Yüksek doymuş yağ asitli diyet alan grup, YF: Yüksek fruktozlu diyet alan grup. \*Non-parametrik, Kruskal Wallis testi uygulanmıştır. İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak verilmiştir. <sup>ab</sup>Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden farklıdır (Mann Whitney U testi uygulanmıştır).

Farelerin QUICKI değerleri incelendiğinde; kontrol grubu için  $1,48 \pm 0,04$ , YTD grubu için  $1,46 \pm 0,02$ , YD grubu için  $1,49 \pm 0,01$  ve YF grubu için  $1,50 \pm 0,01$  olarak hesaplanmıştır. Gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ( $p > 0,05$ ). Buna göre kontrol ve müdahale gruplarında insülin direnci bulunmamaktadır (Şekil 4.12.).



**Şekil 4.12. Gruplara göre farelerin ortalama QUICKI değerleri.** K: Kontrol diyeti alan grup, YTD: Yüksek tekli doymamış yağ asitli diyet alan grup, YD: Yüksek doymuş yağ asitli diyet alan grup, YF: Yüksek fruktozlu diyet alan grup. \*Non-parametrik, Kruskal Wallis testi uygulanmıştır. İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak verilmiştir.

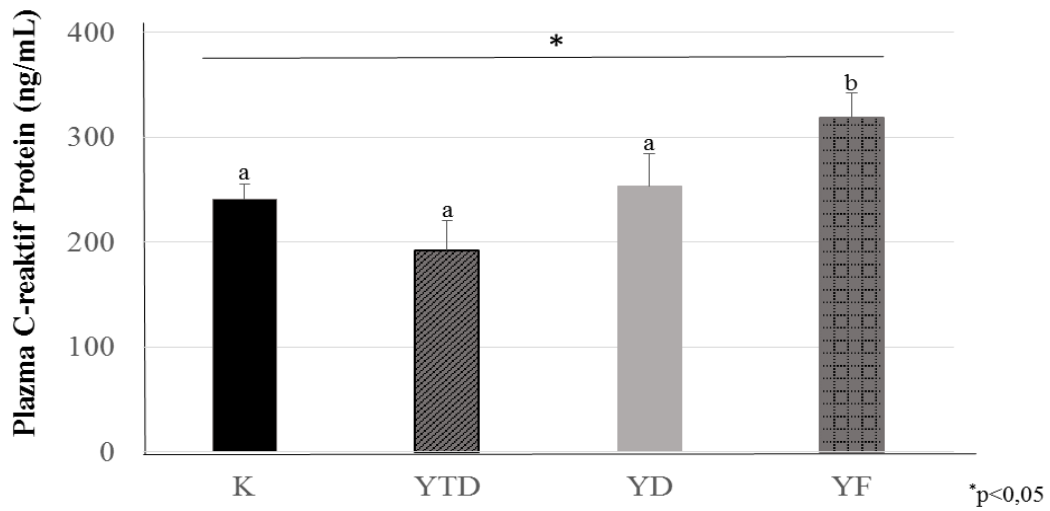
Farelerin hesaplanan glukoz:insülin oranları incelendiğinde; kontrol grubu için  $12,75 \pm 1,67 \text{ mg}/10^{-4}\text{U}$ , YTD grubu için  $16,64 \pm 0,94 \text{ mg}/10^{-4}\text{U}$ , YD grubu için  $16,97 \pm 0,70 \text{ mg}/10^{-4}\text{U}$  ve YF grubu için  $15,43 \pm 0,70 \text{ mg}/10^{-4}\text{U}$  olarak hesaplanmıştır. Gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ( $p > 0,05$ ). Buna göre kontrol ve müdahale gruplarında insülin direnci bulunmamaktadır (Şekil 4.13.).



**Şekil 4.13. Gruplara göre farelerin glukoz:insülin oranı.** K: Kontrol diyeti alan grup, YTD: Yüksek tekli doymamış yağ asitli diyet alan grup, YD: Yüksek doymuş yağ asitli diyet alan grup, YF: Yüksek fruktozlu diyet alan grup. \*Non-parametrik, Kruskal Wallis testi uygulanmıştır. İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak verilmiştir.

#### 4.2.5. Açlık Plazma C-Reaktif Protein Düzeyi

Farelerin plazma CRP değerlerinin ortalamalarına bakıldığında kontrol grubunun  $240,65 \pm 14,94$  ng/mL, YTD grubunun  $192,20 \pm 27,95$  ng/mL, YD grubunun  $253,41 \pm 30,59$  ng/mL ve YF grubunun  $319,04 \pm 22,89$  ng/mL olduğu saptanmıştır. Farelerin plazma CRP değerleri arasındaki fark gruplara göre değerlendirildiğinde, gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmektedir ( $p < 0,05$ ). Gruplar arasında ikili karşılaştırmalar yapıldığında en yüksek plazma CRP düzeyinin fruktozlu diyet alan grupta olduğu saptanmıştır. (Şekil 4.14.).



**Şekil 4.14. Gruplara göre farelerin ortalama açlık plazma C reaktif protein (CRP) konsantrasyonları.** K: Kontrol diyeti alan grup, YTD: Yüksek tekli doymamış yağ asitli diyet alan grup, YD: Yüksek doymuş yağ asitli diyet alan grup, YF: Yüksek fruktozlu diyet alan grup. \*Non-parametrik, Kruskal Wallis testi uygulanmıştır. <sup>ab</sup>Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden farklıdır (Mann Whitney U testi uygulanmıştır). İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak verilmiştir.

Farelerin yağ asit biyosentezi, insülin direnci, terminal organ ağırlıkları ve inflamasyon ile ilişkili biyokimyasal parametreleri Tablo 4.4.'te görülmektedir.

Farelerin terminal karaciğer ağırlıklarına bakıldığında; kontrol grubunun  $1,35 \pm 0,07$  g, YTD grubunun  $1,71 \pm 0,06$  g, YD grubunun  $2,08 \pm 0,08$  g ve YF grubunun  $1,95 \pm 0,13$  g olduğu görülmektedir. Buna göre; farelerin terminal karaciğer ağırlıkları açısından gruplar arasındaki farkın anlamlı olduğu saptanmıştır ( $p < 0,001$ ). Gruplar arasında ikili karşılaştırmalar yapıldığında; en yüksek karaciğer ağırlıklarının yüksek

doymuş yağ asidi ve yüksek fruktoz alan gruplarda olduğu görülmektedir. YTD grubunun karaciğer ağırlığı kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek olmakla birlikte, YD ve YF gruplarından düşüktür. Farelerin terminal böbrek ağırlıkları incelendiğinde; kontrol grubunun  $0,32\pm 0,04$  g, YTD grubunun  $0,48\pm 0,04$  g, YD grubunun  $0,48\pm 0,02$  g ve YF grubunun  $0,41\pm 0,01$  g olduğu görülmektedir. Buna göre, farelerin terminal böbrek ağırlıkları açısından gruplar arasındaki farkın anlamlı olduğu saptanmıştır ( $p<0,001$ ). Gruplar arasında karşılaştırmalar yapıldığında ise YTD, YD ve YF gruplarının böbrek ağırlıklarının kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek olduğu saptanmıştır. Farelerin terminal kalp ağırlıkları incelendiğinde; kontrol grubunun  $0,16\pm 0,01$  g, YTD grubunun  $0,19\pm 0,01$  g, YD grubunun  $0,21\pm 0,01$  g ve YF grubunun  $0,17\pm 0,00$  g olduğu görülmektedir. Buna göre, farelerin terminal kalp ağırlıkları açısından gruplar arasındaki farkın anlamlı olduğu saptanmıştır ( $p<0,05$ ). Gruplar arasında ikili karşılaştırmalar yapıldığında; YTD ve YD gruplarının kalp ağırlıklarının, kontrol ve YF grubundan anlamlı olarak daha yüksek olduğu görülmektedir. Kontrol ve YF grubunun kalp ağırlıkları ise farklı bulunmamıştır (Tablo 4.4.).

**Tablo 4.4.** Farelerin karaciğer ve kanda biyokimyasal bulguları ile terminal organ ağırlıklarının genel özeti

	Kontrol diyeti	Yüksek tekli doymamış yağ asitli diyet (YTD)	Yüksek doymuş yağ asitli diyet (YD)	Yüksek fruktozlu diyet (YF)	X <sup>2</sup> faktörü	P değeri
<b><u>Yağ Asit Biyosentezi</u></b>						
Plazma Trigliseridleri (mg/dL)	74,50±7,22 <sup>a</sup>	81,29±6,43 <sup>a</sup>	110,50±12,98 <sup>b</sup>	119,50±14,96 <sup>b</sup>	13,53	0,004*
Plazma Toplam Serbest Yağ Asitleri (umol/L)	354,21±23,11 <sup>a</sup>	421,89±9,46 <sup>b</sup>	435,75±20,61 <sup>b</sup>	434,00±14,05 <sup>b</sup>	8,12	0,044*
Karaciğer Trigliseridleri (mg/dL)	159,56±19,08	272,38±29,66	303,09±27,47	303,81±31,43	11,19	0,011*
<b><u>İnsülin Direnci</u></b>						
Plazma Glukoz (mg/dL)	130,38±8,13	171,21±7,70	194,20±11,21	173,76±5,19	9,66	0,155
Plazma İnsülin (µU/mL)	9,76±0,69	10,49±0,41	11,12±0,17	11,17±0,35	3,92	0,270
HOMA-IR	3,01±0,10 <sup>a</sup>	4,40±0,31 <sup>a</sup>	5,22±0,32 <sup>b</sup>	4,87±0,19 <sup>b</sup>	9,63	0,033*
QUICKI	1,48±0,04	1,46±0,02	1,49±0,01	1,50±0,01	3,31	0,259
Glukoz/İnsülin Oranı (mg/10 <sup>-4</sup> U)	12,75±1,67	16,64±0,94	16,97±0,70	15,43±0,70	4,42	0,220

Veriler ortalama ± standart hata ( $\bar{X} \pm Sx$ ) olarak gösterilmiştir.

\*Kruskal Wallis testi uygulanmıştır; istatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak değerlendirilmiştir.

<sup>abc</sup> Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden farklıdır (Mann Whitney U Hipotez Testi Uygulanmıştır)



**Tablo 4.4. (devam)** Farelerin karaciğer ve kanda biyokimyasal bulguları ile terminal organ ağırlıklarının genel özeti

	Kontrol diyeti	Yüksek tekli doymamış yağ asitli diyet (YTD)	Yüksek doymuş yağ asitli diyet (YD)	Yüksek fruktozlu diyet (YF)	Z/X <sup>2</sup>	p
<b><u>İnflamasyon ve Organ Ağırlıkları</u></b>						
Plazma CRP (ng/mL)	240,65±14,94 <sup>a</sup>	192,20±27,95 <sup>a</sup>	253,41±30,59 <sup>a</sup>	319,04±22,89 <sup>b</sup>	9,82	0,020*
Karaciğer ağırlığı (g)	1,35±0,07 <sup>a</sup>	1,71±0,06 <sup>b</sup>	2,13±0,08 <sup>c</sup>	2,08±0,11 <sup>c</sup>	21,97	0,000*
Böbrek ağırlığı (g)	0,32±0,04 <sup>a</sup>	0,48±0,03 <sup>b</sup>	0,48±0,02 <sup>b</sup>	0,41±0,01 <sup>b</sup>	9,12	0,000*
Kalp ağırlığı (g)	0,16±0,01 <sup>a</sup>	0,19±0,01 <sup>b</sup>	0,21±0,01 <sup>b</sup>	0,17±0,00 <sup>a</sup>	13,74	0,003*

Veriler ortalama ± standart hata ( $\bar{X} \pm Sx$ ) olarak gösterilmiştir.

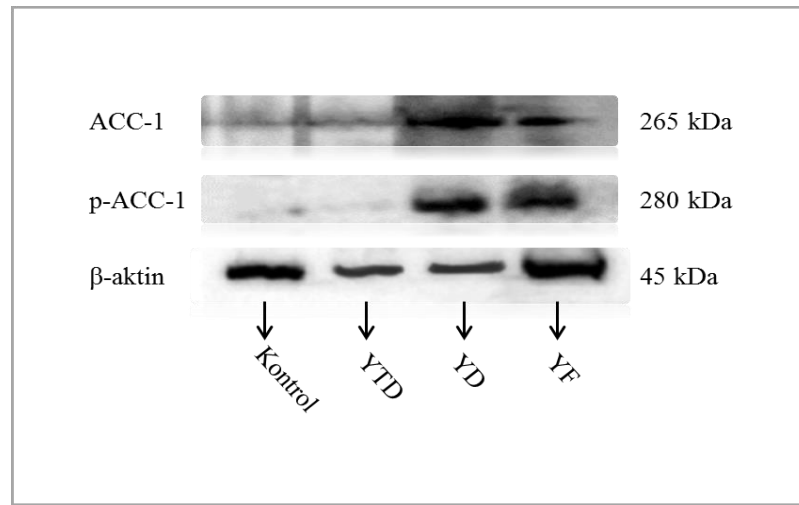
\*Kruskal Wallis testi uygulanmıştır; istatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak değerlendirilmiştir.

<sup>abc</sup> Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden farklıdır (Mann Whitney U Hipotez Testi Uygulanmıştır)

### 4.3. Karaciğerde Western-Blot ile Peptid Analizi

#### 4.3.1. Yağ Asit Biyosentezi ile İlişkili Peptidler

Farelerin karaciğer dokusunda yapılan ACC-1 ve fosforile formdaki ACC-1 enzimi analizi sonucu elde edilen bantlar Şekil 4.15.'de görülmektedir. Western-blot analizi sonucunda elde edilen bantlarda ACC-1 enziminin tüm gruplarda eksprese olduğu, fosforile formdaki ACC-1 enziminin ise ekspresyon düzeyinin ise YD ve YF gruplarında artış gösterdiği görülmektedir.

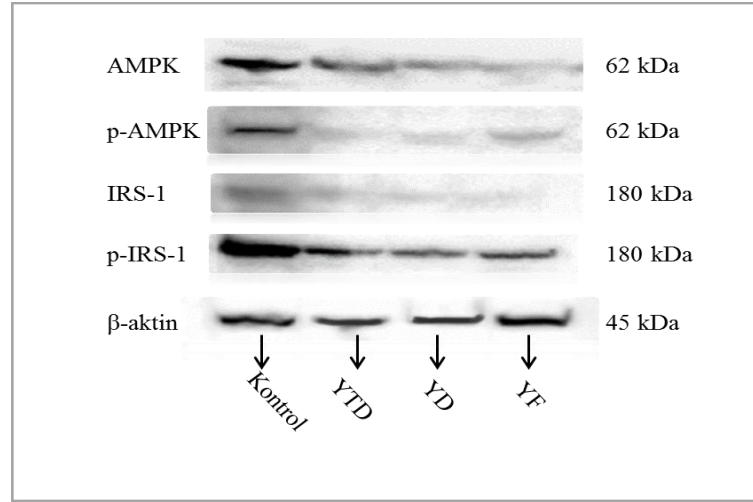


**Şekil 4.15. Farelerin karaciğer homojenatlarında ACC1 ve p-ACC-1 ile kontrol olarak β-aktin peptidlerine ait western-blot bantları.** ACC-1: asetil KoA karboksilaz-1, p-ACC-1: fosforile asetil KoA karboksilaz-1

#### 4.3.2. İnsülin Sinyalizasyonu ile İlişkili Peptidler

Farelerin karaciğer dokusunda insülin sinyalizasyonu ile ilişkili peptidlerin western-blot analizi sonucunda elde edilen bantlar Şekil 4.16.'da görülmektedir. Sonuçlar incelendiğinde; AMPK enzimi bantlarının tüm gruplarda eksprese olduğu ancak fosforile formdaki AMPK'nin YTD ve YF gruplarında kontrol ve YTD gruplarına göre daha düşük düzeyde eksprese olduğu görülmektedir. Benzer şekilde IRS-1'in ekspresyon düzeyinde gruplar arasında farklılık gözlenmezken, fosforile

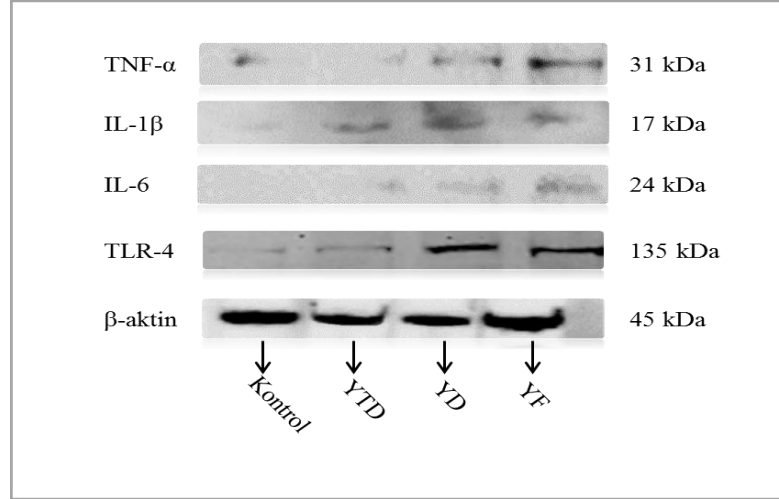
formdaki IRS-1'in ekspresyon düzeyinin YTD ve YF gruplarında kontrol ve YTD gruplarına göre daha düşük olduğu gözlenmektedir.



**Şekil 4.16. Farelerin karaciğer homojenatlarında AMPK, p-AMPK, IRS1 ve p-IRS1 ile kontrol olarak  $\beta$ -aktin peptidlerine ait western-blot bantları.** AMPK: Adenozin monofosfat ile aktive olan protein kinaz, p-AMPK: fosforile adenozin monofosfat ile aktive olan protein kinaz, IRS-1: insülin reseptör substrat-1, p-IRS-1: fosforile insülin reseptör substrat-1

### 4.3.3. İnflamasyon ile İlişkili Peptidler

Farelerin inflamasyonla ilişkili olarak karaciğer dokusunda bakılan inflamatuvar sitokinlerden TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 ile TLR-4 bantları Şekil 4.17.'de görülmektedir. Analiz sonuçları incelendiğinde; TNF- $\alpha$ 'nın YD ve YF gruplarında daha yüksek düzeyde eksprese olduğu gözlenmektedir. IL-1 $\beta$  ve IL-6 bantlarının YTD, YD ve YF gruplarında benzer olarak bulunmakla birlikte, bu sitokinlerin kontrol grubunda eksprese olmadığı görülmektedir. Ayrıca YD ve YF gruplarındaki TLR-4 ekspresyon düzeyinin kontrol ve YTD gruplarına göre daha yüksek olduğu görülmektedir.



**Şekil 4.17. Farelerin karaciğer homojenatlarında TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 ve TLR-4 ile kontrol olarak  $\beta$ -aktin peptidlerine ait western-blot bantları.** TNF- $\alpha$ : Tümör nekroz- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ : interlökin-1 $\beta$ , IL-6: interlökin-6, TLR-4: toll benzeri reseptör-4

## 5. TARTIŞMA

Alkole bağılı olmayan basit karaciğer yağlanması, kronik hastalıkların oluşumu ve prognozunda sıklıkla karşılaşılan metabolik bir etkidir ve karaciğerde depolanan trigliserid miktarının artışıyla karakterize bir bozukluk olarak tanımlanmaktadır (16, 327). Basit karaciğer yağlanmasının obezite, insülin direnci ve dislipidemi ile ilişki gösterdiği bildirilmiştir (328). İnsülin direnci ve sitokin salınımı ile gelişen inflamatuvar durumun karaciğer yağlanması oluşumu ve progresyonunda önemli risk faktörü olduğu gösterilmesine karşın, yağ asit biyosentezi, lipogenez ve inflamasyonun altında yatan mekanizma henüz aydınlatılamamıştır.

Bu nedenlerden dolayı, bu çalışmada fazla miktarda doymuş yağ asitleri ve fruktoz tüketiminin farelerde lipogenez, insülin direnci ve inflamasyon üzerine etkileri incelenmiştir. Farelerden elde edilen bulgular; kontrol diyeti, yüksek tekli doymamış yağ asitli diyet (YTD), yüksek doymuş yağ asitli diyet (YD) ve yüksek fruktozlu diyet (YD) alan gruplar için değerlendirilmiştir. Yem tüketimi, günlük enerji alımları, makro besin ögeleri alımları ve vücut ağırlıkları ile organ-dokularda biyokimyasal analizler ve mekanizmalarda görevli olabilecek peptidlerin western-blot analizleri olmak üzere üç başlık altında sırasıyla değerlendirilmiştir.

### 5.1. Yem Tüketimi, Enerji ve Makro Besin Ögeleri Alımı ile Vücut Ağırlıkları

Farelerin yem tüketimleri incelendiğinde; müdahale öncesi dönemde gruplar arasında farklılık bulunmadığı ve farelerin yem tüketimi açısından homojen bir dağılım gösterdiği saptanmıştır. Buna karşın; müdahale dönemi ve toplam diyet dönemi süresince grupların yem tüketimleri arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlenmiştir (Tablo 4.1.). İzokalorik yüksek tekli doymamış yağ asidi, doymuş yağ asidi veya fruktoz içeren yem tüketimleri kontrol grubuna göre yüksektir, ancak fruktoz grubu anlamlı olarak diğer gruplara göre daha fazla yem tüketmiştir. Bu farklılık yem, lezzet ve iştah gibi birçok etkenden dolayı oluşabilmektedir.

Bahsedildiği gibi kontrol grubuna göre daha yüksek enerji içermesine karşın, yüksek fruktozlu diyet ile beslenen grubun daha fazla yem tükettiği görülmektedir (Tablo 4.1.). Bu bulgulara benzer şekilde; yüksek fruktozla beslenen deney hayvanlarının daha yüksek miktarda yem tükettiğini bildiren çalışmalara rastlanmakla

birlikte (329, 330); yem tüketiminin etkilenmediğini bildiren çalışmalar da bulunmaktadır (249, 331-334). Bu durumun fruktozun iştah mekanizması üzerine olan etkileri ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Besin öğelerinin, merkezi ve periferik sinyal peptidlerini etkileyerek iştahın düzenlenmesinde rol alabilmektedir. Bu besin öğelerinin başında gelen fruktozun; mideden salınan ghrelin, beyaz adipoz dokudan salınan leptin ve ince bağırsaklardan salınan peptid YY gibi periferik iştah sinyallerini etkileyerek besin alımını arttırabileceği düşünülmektedir (335). Bununla birlikte, besin alımı ve enerji homeostazının uzun dönem düzenlenmesinde rol alan temel hormon olan insülin salınımının fruktoz ile stimüle olmaması da iştahı arttırıcı etkisinin nedenleri arasında gösterilmektedir (336).

Yüksek yağ içeren diyetlerin yem tüketimi üzerine olan etkilerin incelendiğinde ise, kemirgenlerde yüksek yağlı beslenmenin hiperfaji oluşturduğu bildiren bir çalışmaya rastlanmaktadır (337). Pellet formuna getirilmiş düşük ya da yüksek yağlı yemlerin farklı yoğunluklarda olmaları nedeniyle farklı miktarlarda tüketildikleri vurgulanmıştır. Düşük yağlı yemlerin daha yoğun ve sert oluşları, yüksek yağlı beslenme sonucunda hiperfaji oluşmasının temel nedeni olarak gösterilmiştir. Bu çalışmada ise yüksek yağlı diyet alan YTD ve YD gruplarının, istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte standart diyet alan kontrol grubundan daha yüksek miktarda yem tükettiği saptanmıştır. Bu sonuç, yüksek yağlı diyetlerin standart diyete göre daha yumuşak ve tüketilebilir olmaları nedeniyle, daha fazla tüketildikleri şeklinde yorumlanmıştır. Yüksek yağlı diyet alan grupların, yüksek fruktozlu beslenen gruptan anlamlı olarak daha düşük miktarda yem tükettiği görülmektedir. Bu bulguya benzer şekilde, yüksek fruktozlu (% 30) diyet ile beslenen sıçanların yüksek yağlı (% 45) beslenenlere göre daha yüksek miktarda yem tükettiğini bildiren güncel bir çalışma da bulunmaktadır (338).

Yem tüketimlerinin yanı sıra günlük enerji alımı ve buna katkıda bulunan makro besin öğelerinden karbonhidrat ve yağ türleri incelendiğinde yem alımı ve vücut ağırlığı üzerine farklı etkilerinin olduğu görülmüştür. Yüksek tekli doymamış yağ asitli diyet, YD ve YF alan gruplar; kontrol grubuna göre daha fazla enerji içeren yem tükettikleri için müdahale döneminde ve toplam diyet döneminde daha fazla enerji almışlardır (Tablo 4.2.). Birbirine yakın düzeyde enerji içeren diyetler içerisinde; yüksek yağlı diyetlerde yağların toplam enerjiye katkısı % 39 iken, yüksek fruktoz

içeren diyetteki karbonhidratların toplam enerjiye katkısı % 80'dir. Tekli doymamış yağ asidi içermesi ve eklenen yağ asidi kaynağının rafine olması açısından YTD alan grup; YD alan grup için enerji kontrolü olarak değerlendirilmiştir (izokalorik kontrol).

Yüksek yağlı diyetler, kemirgenlerde vücut ağırlığı artışının sağlanması ve obezite ile ilgili deneysel çalışmalarda sıklıkla kullanılmaktadır. Yapılan çeşitli çalışmaların sonuçları; yüksek yağlı diyet (diyet enerjisinin % 40-60'ı) ile beslenen kemirgenlerdeki vücut ağırlığı değişiminin normal beslenenlere göre daha yüksek olduğunu bildirmektedir (339-344). Bu çalışmada; deney gruplarının tükettikleri yemler kontrol grubuna göre daha fazla enerji içerdiği için, tüm gruplardaki ağırlık kazanımının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu görülmüştür (Tablo 4.3.). Benzer şekilde yüksek yağlı diyet ile 24 hafta boyunca beslenmenin (diyet enerjisinin % 60'ı) etkilerinin incelendiği bir çalışmada vücut ağırlığındaki artışın, vücut yağ kütlesi ve leptin düzeylerindeki artış ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (345). YTD, YD ve YF gruplarının benzer enerji alımları olmasına karşın; çalışma başlangıcı ve bitişi arasındaki farkın gösterildiği vücut ağırlığı artışının, YD grubunda en yüksek ve sonra da YF grubunda olduğu gözlenmektedir. Sonuçta vücut ağırlığındaki artış düzeyine bakıldığında, yüksek doymuş yağ asitli veya fruktozlu diyetin de novo yağ asit biyosentezi ve sonrasında trigliserid şeklinde depolanması ile lipogenezi artırıcı obezojenik etkisi olduğu düşünülmüştür.

Yüksek fruktozlu diyet ile beslenen farelerde de vücut ağırlığındaki artış kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (Tablo 4.3.). Yapılan çalışmalar benzer şekilde; yüksek miktarda (enerjinin % 2,8 ile 65 arasında) fruktoz tüketimi sonucunda vücut ağırlığındaki artış olduğunu bildirmiştir (255, 345-347). Buna karşın yüksek fruktoz tüketiminin vücut ağırlığını etkilemediğini bildiren bir çalışmaya da rastlanmıştır (348).

Bazı kısa dönem insan çalışmaları, aynı enerjiye sahip yağ veya karbonhidratlı beslenmenin vücut ağırlığı üzerine benzer etkileri olduğunu bildirmiştir (349, 350). 8 hafta boyunca yüksek fruktoz (toplam enerjinin % 30'u) veya yüksek yağlı (toplam enerjinin % 45'i) diyet alan sıçanların vücut ağırlıklarındaki değişim karşılaştırıldığında, yüksek yağlı beslenen gruptaki artışın daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte, yüksek fruktozlu diyet ile beslenen sıçanların standart diyet alan gruba göre vücut yağ kütlesindeki artışın anlamlı olduğu bildirilmiştir (338).

Vücut ağırlığında tek başına meydana gelen bir artışın obeziteye neden olmayacağı, vücut kompozisyonunda meydana gelen değişimlerin göz önüne alınması gerektiği bilinmektedir. Bu çalışmada, çalışma süresince vücut ağırlığı artışının yüksek doymuş yağ asidi alan grupta anlamlı olarak daha yüksek olduğu görülmektedir. Ancak fruktozlu diyet grubunun vücut kompozisyonunda beyaz adipoz dokuda daha fazla artış şeklinde değişim oluşturabileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

Sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde, bu çalışmada yüksek fruktozlu diyet alan grubun, yem tüketimi daha yüksek bulunmuştur. Bu durum, fruktozun lezzet algısı ve iştah üzerinde rolü olan peptidleri etkileyerek yem tüketimini değiştirdiği şeklinde yorumlanmıştır. Vücut ağırlığı artışı müdahale gruplarında enerji alımındaki artışa bağlı olarak kontrol grubundan daha yüksek olmuştur. Enerji alımı aynı olmasına rağmen fruktoz ve doymuş yağ asitleri içeren diyet tüketen grubun çalışma sonunda vücut ağırlığındaki artış anlamlı olarak daha yüksektir. Bu durumun fruktoz ve özellikle doymuş yağ asitlerinin adipoz doku ve karaciğerde lipogenezi uyarması ve vücut adipozitesini arttırması ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Farelerin yem tüketimleri ölçülürken farelerin kafes içerisinde oluşturduğu yem artıklarının net olarak ölçülememesinden dolayı az da olsa farklılıkların oluşabildiği de değerlendirilmelidir.

## **5.2. Karaciğer ve Kan Biyokimyasal Bulguları**

Diyet ile alınan yağ asitleri ve de novo lipogenez için substrat olarak kullanılan karbonhidratlar, karaciğer yağlanması oluşumunda önemli rol almaktadır (351, 352). Özellikle doymuş yağ asitleri ve fruktozun, insülin direnci ve karaciğerde yağ asidi sentezi ile ilişkili mekanizmaları değiştirerek basit karaciğer yağlanması oluşumu üzerine etki gösterebildiği bildirilmiştir (270).

Yüksek yağlı diyet ile beslenme basit karaciğer yağlanması etiyolojisinde önemi yere sahiptir (353). Yapılan hayvan çalışmaları yüksek miktarda yağ asidi alımının karaciğerde yağlanmaya neden olduğunu göstermektedir (354, 355). Benzer şekilde, sağlıklı bireylerde yapılan bir çalışmanın sonuçlarına göre yüksek doymuş yağ asitleri ile beslenme (toplam enerjinin % 30'u) hepatik trigliserid depolanmasını arttırmaktadır (356). C57Bl/6 ve diğer fare cinsleri ile yapılan çalışmalarda, yüksek yağlı diyetlerin vücut ağırlığında artışla birlikte, insülin direncinin indüklenerek



karaciğerde depolanan lipid miktarının da artışına neden olduğunu bildirmektedir (357, 358).

Yüksek fruktozlu (toplam enerjinin % 34'ü) veya yüksek yağlı (toplam enerjinin % 42'si) diyetle beslenen farelerde hem plazma hem de karaciğer trigliserid düzeylerinin kontrol grubuna göre yüksek olduğu ve fruktoz içeriği yüksek olan diyetin, yüksek yağlı diyetle benzer şekilde vücut ağırlığını değiştirmeden lipid parametrelerini etkilediği bildirilmiştir (249). Bununla birlikte insanlarda yüksek karbonhidrat ve düşük yağlı diyet tüketilmesinin enerjinin hem hiperkalorik (359) hem de izokalorik olduğu durumlarda (100), plazma trigliserid düzeylerini arttırdığı bildirilmiştir.

Bu çalışmada farelerin kan biyokimyasal bulguları incelendiğinde; farelerin plazma trigliserid düzeyleri arasındaki farkın anlamlı olduğu gözlenmektedir. Yüksek tekli doymamış yağ asidi alan grupta, plazma trigliserid düzeyinin standart diyet alan kontrol grubundan farklı olmadığı görülmekle birlikte; yüksek doymuş yağ asidi ve yüksek fruktozlu diyet alan grupların plazma trigliserid düzeylerinin anlamlı olarak yüksek olduğu saptanmıştır (Tablo 4.4.). Literatürdeki çalışmalara benzer şekilde (97, 360-362), yüksek fruktoz tüketiminin plazma trigliserid düzeyinde artış ile ilişkili olduğu görülmüştür (Şekil 4.6.) (Tablo 4.4.). Bu sonuçlar yüksek doymuş yağ asidi ve yüksek fruktozun de novo yağ asit biyosentezini stimüle eden mekanizmaları uyurabildiği şeklinde yorumlanmıştır.

Yüksek miktarda fruktoz içeren diyet tüketimi sonucu metabolize olan fruktoz miktarının artışı, de novo lipogenezde artış ile beraber plazma ve karaciğer trigliserid düzeylerini yükseltebilmektedir (97, 361). Fruktozun hepatik metabolizması sırasında oluşan ara ürünlerin yağ asit depolanma düzeyinde artışa neden olduğu gösterilmiştir (363). Fruktozun plazma ve karaciğer trigliserid düzeyleri üzerine olan etkilerini inceleyen çalışmalarda farklı sonuçlara rastlanmaktadır. İnsanlarda uzun dönem (>2 hafta) enerjinin, % 20-25'ini karşılayan fruktoz tüketiminin açlık trigliserid düzeylerini arttırdığı bildirilmiştir (364). Bununla birlikte, fruktozla beslenen sıçanların plazma trigliserid düzeylerinin gruplar arasında farklı olmadığını bildiren bir çalışma da bulunmaktadır (365). Sonuçların çelişkili olma nedeninin, bireyler ve gruplar arasındaki çeşitlilik ile verilen fruktozun kaynağı ve miktarındaki farklılıklar olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada, karaciğerdeki trigliserid düzeylerine

bakıldığında ise, benzer şekilde yüksek doymuş yağ asidi ve yüksek fruktoz alan grupların karaciğer trigliserid düzeylerinin diğer gruplardan daha yüksek olduğu görülmektedir (Şekil 4.7.) (Tablo 4.4.). Ancak gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır.

Yüksek karbonhidrat ve/veya yağlı diyetlerin; karaciğerde nötral lipitlerin birikimine neden olarak hem kan glukoz hem de serbest yağ asit düzeylerini arttırdığı, hiperglisemi ve insülin direnci ile ilişkili gösterilmiştir (366). Yüksek doymuş yağ asitleri veya yüksek karbonhidratlı diyetlerin etkilerinin karşılaştırıldığı bir fare çalışmasında ise; yüksek doymuş yağ asitlerinin yüksek fruktozla birlikte verildiğinde, basit karaciğer yağlanması oluşumu üzerine bu besin öğelerinin tek başına verilmesinden daha fazla etki ettikleri bildirilmiştir (367). Diyetle artmış doymuş yağ asidi alımının etkilerinin incelendiği bir çalışmada (300) ise, erkek Wistar sıçanlara nişasta, sükroz, çoklu doymamış yağ asidi veya doymuş yağ asidi yüksek diyetler 1, 4 veya 24 hafta boyunca verilmiştir. 4 ve 24. haftalarda karaciğer trigliserid düzeylerinin yüksek sükroz veya doymuş yağ asidi alan gruplarda, diğer gruplarla benzer oranda arttığı saptanmıştır. Benzer şekilde, bu çalışmanın sonuçlarında da yüksek doymuş yağ asidi alan grubun, yüksek fruktoz alan gruba birlikte en yüksek karaciğer trigliserid düzeylerine sahip olduğu görülmektedir (Şekil 4.7.).

Yüksek tekli doymamış yağ asidi veya tekli doymamış yağ asidi-doymuş yağ asitlerini eşit miktarlarda içeren diyetlerin serum trigliserid konsantrasyonlarını azalttığı ve lipit profilini iyileştirdiğini bildiren bir çalışma bulunmaktadır. Bu durum doymuş yağ asidi içeren bir diyetle tekli doymamış yağ asidi eklendiğinde olumlu etki oluşturabileceği şeklinde yorumlanmıştır (368). Benzer şekilde doymuş yağ asitleri yerine tekli doymamış yağ asidi içeren diyetlerin plazma trigliserid düzeyinde azalmaya neden olduğunu bildiren çalışmalar bulunmaktadır (369-371). Bu etkilerin VLDL-kolesterol kompozisyonunda veya katabolizmasında oluşan değişiklikler ile ilişkili olabileceği şeklinde yorum yapılmıştır. Yüksek tekli doymamış yağ asidi ve yüksek karbonhidrat içeren diyetlerin biyokimyasal parametreler üzerine olan etkilerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada da, tekli doymamış yağ asitlerinin plazma trigliserid düzeylerini düşürebileceği vurgulanmıştır (372). Bu çalışmada da benzer şekilde tekli doymamış yağ asidi alan grubun plazma trigliserid düzeylerinin, doymuş

yağ asidi ve fruktoz alan gruplardan anlamlı olarak daha düşük olduğu görülmektedir (Şekil 4.7.) (Tablo 4.4.).

Yüksek plazma serbest yağ asitleri kompozisyonunun, insülin direnci ve adipogenezde artış ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Serbest yağ asitlerinin insülin sinyalizasyon yollarında bozulmaya neden olarak insüline direnci gelişiminde rol alabildiği bildirilmiştir (373). Bu çalışmada, yüksek yağlı ve yüksek fruktozlu beslenen farelerin plazma serbest yağ asit düzeylerinin kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek olduğu, ancak birbirlerinden farklı olmadığı gözlenmiştir. Plazma serbest yağ asitleri, kontrol grubu ve tekli doymamış yağ asidi alan gruba göre yüksek bulunmuştur. Doymuş yağ asidi yüksek olan gruba ise fruktoz grubu arasında fark bulunmamıştır (Şekil 4.8.) (Tablo 4.4.). Serbest yağ asitleri düzeylerinde gözlenen farklılıkların; yüksek doymuş yağ asidi ve yüksek fruktozlu beslenme sonucunda yağ asit biyosentezinde artış ve insülin sinyalizasyon yollarında bozulma ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Diyet kompozisyonunun insülin duyarlılığı regülasyonu üzerine olan etkilerini inceleyen bazı çalışmaların sonuçları, yüksek yağlı diyet tüketiminin hiperinsülinemi (340, 374) ve hiperglisemi (374) ile ilişkili olduğunu bildirmektedir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre; doymuş yağ asitlerinin hiperinsülinemik ve hiperglisemik etkileri gözlenmemiştir ancak HOMA-IR değerleri hesaplandığında, YD ve YF gruplarının değerleri kontrol ve YTD gruplarına göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (Tablo 4.4.). Bu durum, yüksek doymuş yağ asitli ve yüksek fruktozlu beslenmenin karaciğerdeki trigliserid birikimi ve hepatosit disfonksiyonu ile vücutta genel adipogenez ve viseral yağlanmayı arttırıcı etkisine bağlı olarak insülin sinyalizasyonunu bozarak direnç oluşturabileceği şeklinde yorumlanmıştır. Bununla birlikte, kronik dönemde glukoz regülasyonun da bozulabileceği ancak akut dönemde açlık kan glukozu açısından net etkilerin henüz görülmemiş olduğu düşünülmektedir.

Yüksek fruktozlu beslenmenin hiperglisemi oluşumuna neden olacağını bildiren çalışmalar bulunmakla birlikte (340, 375), glisemik kontrol üzerine etkisi olmadığını bildiren bir çalışma da bulunmaktadır (266). Yüksek fruktozlu diyet ile beslenme sonucunda gözlenen normal kan glukoz düzeylerini, fruktozlu beslenme sonucunda karaciğerde glikojen depolarının artışına bağlayan bir çalışma da bulunmaktadır (376). Bununla birlikte, yüksek fruktozlu beslenmenin insülin

duyarlılığı ve insülinin hücre içi sinyal yollarının etkileyerek diyabet riskini arttığı düşünülmektedir (377). Yüksek fruktozlu diyetle yanıt olarak gelişen plazma trigliserid düzeylerindeki artışın da, insülin sinyalizasyon yolları ile ilişkili olarak insülin direnci oluşumuna neden olabileceği kabul edilmektedir (35, 260, 377-379). Buna paralel olarak, diyetle yüksek miktarda fruktoz bulunması sonucunda oluşan insülin direncini yüksek plazma trigliserid ve serbest yağ asitleri düzeyi ile ilişkilendiren çalışmalar bulunmaktadır (266, 375).

Bu çalışmanın verileri de benzer şekilde, yüksek fruktozlu diyet alan grupta hiperglisemi ya da hiperinsülinemi oluşmadan HOMA-IR değerlerinde anlamlı yükselme olduğunu göstermektedir (Şekil 4.11.) (Tablo 4.4.). Bu durum, yüksek fruktozlu diyetle yanıt olarak gelişen kan lipid parametrelerindeki değişimin insülin sinyalizasyon yolları üzerine etki göstererek insülin direnci parametrelerini arttırdığı şeklinde yorumlanmıştır. Yapılan bir deneysel çalışmada, bu bulgulara paralel olarak yüksek fruktozun akut olarak insülin sekresyonunda artışa neden olmamakla birlikte, kronik dönemde GLUT5 ile ilişkili ve inflamatuvar bazı yolların aktivasyonu ile insülin direncine neden olabileceği bildirilmiştir (270). Benzer bir çalışmada da, 8 hafta boyunca % 40 fruktozlu diyetin serum insülin düzeylerinde bir farklılığa neden olmadığı gösterilmiştir (380). 2 hafta boyunca % 66 fruktozlu diyetin plazma trigliserid düzeylerini değiştirmekle birlikte, plazma glukoz ve insülin düzeyleri üzerine etki göstermediğini bildiren bir çalışma da bulunmaktadır (251). Öte yandan, yüksek fruktozlu veya yüksek yağlı beslenme sonucunda, kemirgenlerde plazma insülin konsantrasyonunun anlamlı olarak arttığını bildiren bir çalışmaya da rastlanmıştır (365).

Diyette karbonhidrat ve/veya yağ oranlarını değiştirmeden yalnızca alınan toplam enerjiyi arttırmak, başta karaciğer olmak üzere böbrek, kalp, gibi iç organlarda biriken trigliserid miktarını yani viseral yağlanmayı ve böylece organ ağırlıklarını arttırabilmektedir. Bu çalışmada yüksek doymuş yağ asitleri ve fruktoz alan gruplarda karaciğer, böbrek ve kalp ağırlıklarının daha yüksek oluşu, abdominal ve viseral yağlanmanın stimüle olarak organ ağırlıklarını etkilediği şeklinde yorumlanmaktadır. Karaciğer ve böbreklerde yağ asitleri substrat olarak kullanıldığı için lipogenezi tetiklediği ve organ ağırlıklarının artışına neden olduğu, bununla birlikte fruktozun

kalpte substrat olarak kullanılmadığından (381) dolayı kalp ağırlığı üzerine etki etmediği düşünülmektedir.

Karaciğerde lipogenez düzeyinde artışın, hepatositlerde insülin direnci ve hücre hasarına neden olan proinflamatuvar medyatörlerin salınımı ile ilişkili olduğu bilinmektedir (382, 383). Yüksek enerjili beslenme ile birlikte adipoz doku miktarındaki artışın, CRP gibi akut faz reaktanlarının sentezinde artışa neden olarak inflamatuvar sinyal yollarını uyardığı gösterilmiştir (384). Plazma CRP düzeyinin insan ve kemirgenlerde inflamasyon için önemi bir belirteç olduğu, insülin direnci ve hiperlipidemi ile korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (385). Sıçanlarda yapılan bir çalışmanın sonuçlarına göre, 19 hafta boyunca yüksek yağlı diyet (toplam enerjinin % 31,8'i) ile beslenme, plazma CRP düzeylerinde anlamlı artışa neden olmuştur (386). Bu çalışmada, en yüksek plazma CRP düzeyinin YF grubunda olduğu saptanmıştır (Şekil 4.14.). Bu sonuç, yüksek fruktozlu beslenmenin karaciğerdeki yağ asit biyosentezi ve yağ birikimini arttırarak inflamasyona neden olabildiği şeklinde değerlendirilmiştir.

### **5.3. Karaciğerde Western-Blot ile Peptid Analizi**

Karaciğer ve kandan elde edilen biyokimyasal sonuçların altında yatan mekanizmaların incelenmesi amacıyla yağ asit biyosentezi, insülin reseptör sinyalizasyonu ve inflamasyon ile ilişkili peptid yapılı enzimler ve sitokinler karaciğer dokusunda western-blot analizi ile incelenmiştir. Farklı oranlarda doymuş yağ asidi veya fruktoz alımın; yağ asit sentezi üzerine olan etkilerinin değerlendirilmesi amacıyla ACC-1 ve fosforile formu, insülin reseptör sinyalizasyonu üzerine olan etkilerinin değerlendirilmesi amacıyla AMPK ve IRS-1 ile fosforile formları ve son olarak inflamasyonla ilişkili olarak TLR-4 ile TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 gibi bazı sitokinlerin sentez (ekspresyon) düzeyi incelenmiştir.

Yağ asit biyosentezinin düzenlenmesinde rol alan ACC-1 enziminin aktivitesi çeşitli besin öğelerinin etkisi ile karaciğer gibi lipogenezin yer aldığı dokularda düzenlenebilmektedir. Yüksek miktarda doymuş yağ asidi veya fruktozlu diyet ile beslenmenin, karaciğerde ACC-1 ekspresyon düzeyini etkileyerek yağ asit biyosentezini arttırabildiği çeşitli deneysel çalışmalarda bildirilmiştir (387-390). Yapılan bir çalışmada, 15 hafta boyunca yüksek yağlı diyet ile beslenen farelerde

fosforile formdaki ACC-1 ekspresyon düzeyinin arttığı bildirilmiştir (391). Benzer şekilde, 8 hafta boyunca toplam enerjinin % 25'inin yağlardan sağlandığı bir fare çalışmasının sonuçların göre de, karaciğerde fosforile formdaki ACC-1 ekspresyon düzeyi artış göstermiştir (392). Fruktozun da yüksek miktarda diyet eklenmesi ile birlikte (toplam diyet enerjisinin % 50'si) karaciğerde ACC-1 ekspresyonunda artış olduğu gösterilmiştir (393). İnsanlarda yapılan bir çalışmanın sonuçlarına göre; 6 günlük yüksek fruktozlu beslenmenin hepatik de novo lipogenezi stimüle ettiği bildirilmiştir (97). Diğerlerinden farklı ve özgün olarak yüksek yağlı, tekli doymamış yağ asitleri içeren diyet ile karşılaştırma yapan bu çalışmada yüksek doymuş yağ asidi veya yüksek fruktozlu beslenmenin fosforile formdaki ACC-1 enziminin ekspresyon düzeyinde artışa neden olduğu görülmektedir. Bu veri, YD ve YF gruplarında gözlenen yüksek plazma ve karaciğer trigliserid düzeyleri ve karaciğer ağırlıkları ile tutarlı bir sonuç olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.15.).

Yağ asitleri ve fruktozun insülin reseptör sinyalizasyonuna olan etkilerinin mekanizmalarının aydınlatılmasında IRS-1 ve AMPK enzimi ile bunların fosforile yani aktif formları western-blot yöntemiyle analiz edilmiştir. IRS-1'in çeşitli bölgelerinde yer alan tirozin kalıntıları fosforillenerek sinyalizasyon devam edebilmekte ve glukoz regülasyonu gerçekleşmektedir (119). Yüksek yağlı diyetlerin IRS-1 fosforilasyonunu bozarak GLUT translokasyonunu azalttığı ve hücreye glukoz girişini etkileyebildiği bildirilmiştir (394). Standart diyet ya da Batı tarzı diyet alan farelerin diyetlerine 12 hafta boyunca fruktoz eklenerek IRS-1 ekspresyon düzeyinin incelendiği bir çalışmanın sonuçlarına göre; IRS-1 fosforilasyonu en düşük Batı tarzı diyet ve fruktoz alan grupta gözlenmiştir (395). Buna karşın, sıçanlara 16 hafta boyunca yüksek fruktoz verilerek IRS-1 ekspresyon düzeylerinin incelendiği bir çalışmada ise, gruplar arasında fark gözlenmemiştir (396). Benzer şekilde, 9 hafta boyunca yüksek fruktozlu diyet verilen sıçanlarda (toplam enerjinin %60'ı) fosforile formdaki IRS-1 düzeyinin değişmediği bildirilmiştir (397). Paralel olarak bu çalışmanın sonuçlarına göre, yüksek doymuş yağ asidi ve yüksek fruktozlu diyet alan gruplarda literatüre benzer şekilde; fosforile formdaki IRS-1'in ekspresyonunda azalma olduğu saptanmıştır (Şekil 4.16.)

Hücrel enerji düzeyine göre aktivitesi düzenlenen AMPK, tirozin kalıntısı fosforillenerek aktifleşen bir kinaz enzimidir (398). AMPK aktive olduktan sonra;

glukoz metabolizmasındaki düzenleyici etkilerinin yanı sıra, ACC'yi inhibe ederek hepatik lipogenezde azalmaya neden olmaktadır (165, 173). Yapılan bir çalışmanın sonuçlarına göre; 15 hafta boyunca yüksek yağlı diyet ile beslenen farelerin karaciğer dokularında fosforile formdaki AMPK ekspresyon düzeyinin azaldığı saptanmıştır (391). Yine, toplam enerjinin % 25'inin yağdan sağlandığı diyet ile beslenen sıçanların karaciğer dokularında fosforile formdaki AMPK'nin ekspresyon düzeyinde azalma görülmüştür (399). Yapılan başka bir kemirgen çalışmasında, 6 hafta boyunca yüksek doymuş yağ asidi içeren diyet alımı fosforile formdaki AMPK düzeylerini azaltmıştır (400). Benzer şekilde, 8 hafta boyunca yüksek fruktozlu diyet verilen sıçanların karaciğerlerinde eksprese olan fosforile formdaki AMPK'nin azaldığı bildirilmiştir (389). Bu çalışmanın sonuçlarına göre; yüksek doymuş yağ asitli ve yüksek fruktozlu beslenen gruplarda fosforile formdaki AMPK'nin daha düşük düzeyde eksprese olduğu görülmüştür. AMPK'de gözlemlenen bu sonuç ile tutarlı şekilde fosforile formdaki ACC-1'in de daha yüksek düzeyde eksprese olduğu görülmektedir (Şekil 4.16.)

Yüksek doymuş yağ asitleri veya yüksek fruktozlu beslenme sonucunda gerçekleşen serbest yağ asitleri düzeyinde artış, insülin direnci (401) ve hepatik de novo lipogenezin artışı ile ilişkilendirilmektedir (402). Serbest yağ asitlerinin insülin direnci oluşumu mekanizmasındaki etkileri arasında; IRS-1'in tirozin fosforilasyonunda bozulmayan neden oluşu da bulunmaktadır (192). Bu çalışmada da literatürle tutarlı şekilde, yüksek plazma serbest yağ asitleri konsantrasyonu bulunan yüksek doymuş yağ asidi ve fruktozlu beslenen grupta, fosforile formdaki IRS-1 ekspresyon düzeyinin düşük olduğu görülmektedir (Şekil 4.16.). Sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde; doymuş yağ asidi ve fruktozlu diyetlerin insülin reseptör sinyalizasyonunda yer alan IRS-1 ve AMPK düzeylerinde oluşturduğu değişim, bu besin öğelerinin glukoz regülasyonundaki etkilerinin mekanizmasında yer alabildiklerini düşündürmektedir.

İnflamatuar yanıtta özellikle pro-inflamatuar sitokin ve reseptörlerin hücrel düzeyde etki gösterdikleri bilinmektedir. Bu nedenden dolayı, diyet faktörlerinin organ disfonksiyonu ve dejeneratif kronik hastalıklar üzerine olan etki mekanizmalarının aydınlatılmasında TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$  ve TLR-4 western-blot yöntemiyle analiz edilmiştir. Doymuş yağ asitleri başta olmak üzere yağ asitlerinin; plazma membranı

ve sitozolik sinyalizasyon süreçlerine etki ettiği ve bununla birlikte inflamasyonla ilişkili transkripsiyon faktörlerinin aktivitelerini değiştirdiği gösterilmiştir (403). Yapılan bazı çalışmalarda, yüksek doymuş yağ asidi içeren diyetlerin toll benzeri reseptör-4'ü aktive ederek, proinflamatuvar sitokinler IL-6 ve TNF- $\alpha$ 'nın ekspresyon düzeyini arttırdığı bildirilmiştir (404, 405). 10 hafta boyunca yüksek fruktozlu diyet alan sıçanlarda da, TLR-4 ekspresyon düzeyinin arttığı bildirilmiştir (406). Bu çalışmada da literatüre benzer şekilde, YTD ve YF gruplarında TLR-4 ekspresyon düzeyinin arttığı görülmektedir. Bu sonuç, doymuş yağ asidi ve fruktozun karaciğerde TLR-4 ekspresyonunu uyarak inflamatuvar durumun başlamasına neden olabileceği şeklinde yorumlanmaktadır. Farelerin sitokin ekspresyon düzeyleri incelendiğinde ise TNF- $\alpha$ 'nın YD ve YF gruplarında daha yüksek, IL-1 $\beta$  ve IL-6'nın tüm gruplarda benzer düzeyde eksprese olduğu görülmektedir (Şekil 4.17.). İnsan ve hayvanlarda yüksek TNF- $\alpha$  sitokin düzeyi, insülin direnci ile ilişkilendirilmiştir (407, 408). Bu bulgular ile tutarlı olarak, bu çalışmada karaciğer dokusunda daha yüksek düzeyde TNF- $\alpha$  eksprese eden YD ve YF gruplarının insülin sinyalizasyonunda yer alan IRS-1'in fosforile formunu daha düşük düzeyde eksprese ettiği görülmektedir.

Bununla birlikte, western blot analiz sonuçları birlikte değerlendirildiğinde daha uzun süre çalışılarak elde edilen fotoğraflardan bant yoğunluklarının hesaplanması gerektiği düşünülmektedir.



## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

### 6.1. Sonuçlar

Yüksek doymuş yağ asidi veya fruktoza maruziyetin, C57Bl/6 cinsi farelerde insülin reseptör sinyalizasyonu, lipogenez ve inflamasyon üzerine olası etkilerinin araştırıldığı bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Yetiştirme Ünitesi ile Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü Araştırma Laboratuvarları'nda gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar aşağıda maddeler halinde sunulmuştur.

Çalışmada yer alan C57Bl/6 cins farelere ait bulgular standart diyet ile beslenen kontrol grubu (K), yüksek tekli doymamış yağ asitleri alan grup (YTD), yüksek doymuş yağ asitleri alan grup (YD) ve yüksek fruktoz alan grup (YF) olacak şekilde incelenmiştir. Çalışma bulguları müdahale öncesi, müdahale sırası ve toplam diyet dönemi olarak değerlendirilmiştir.

1. Farelerin müdahale öncesi dönemdeki yem tüketimi ortalamaları; kontrol grubunun yem tüketiminin  $4,07 \pm 0,15$  g/gün, YTD grubunun  $4,06 \pm 0,05$  g/gün, YD grubunun  $4,16 \pm 0,19$  g/gün ve YF grubunun  $4,15 \pm 0,15$  g/gün olduğu saptanmıştır ( $p > 0,05$ ).
2. Müdahale dönemindeki yem tüketimleri ise kontrol grubu için  $3,92 \pm 0,07$  g/gün, YTD grubu için  $4,04 \pm 0,04$  g/gün, YD grubu için  $4,01 \pm 0,08$  g/gün ve YF grubu için  $4,18 \pm 0,04$  g/gün olarak saptanmıştır ( $p < 0,05$ ).
3. Çalışmanın tamamındaki ortalama yem alımlarına bakıldığında ise kontrol grubunun  $3,92 \pm 0,06$  g/gün, YTD grubunun  $4,04 \pm 0,03$  g/gün, YD grubunun  $4,04 \pm 0,08$  g/gün ve YF grubunun  $4,19 \pm 0,04$  g/gün yem tükettiği saptanmıştır ( $p < 0,05$ ).
4. Müdahale öncesi dönemde kontrol grubunun enerji alımının  $14,24 \pm 0,52$  kkal/gün iken YTD grubunun  $14,21 \pm 0,18$  kkal/gün, YD grubunun  $14,55 \pm 0,65$  kkal/gün ve YF grubunun  $14,53 \pm 0,52$  kkal/gün olduğu gözlenmiştir ( $p > 0,05$ ).
5. Müdahale döneminde ise günlük ortalama enerji alımları; kontrol grubu için  $13,71 \pm 0,24$  kkal/gün, YTD grubu için  $19,80 \pm 0,18$  kkal/gün, YD grubu

için  $19,51 \pm 0,42$  kkal/gün ve YF grubu için  $19,65 \pm 0,20$  kkal/gün olarak saptanmıştır ( $p < 0,001$ ).

6. Tüm çalışma dönemlerindeki günlük ortalama enerji alım düzeyleri incelendiğinde ise kontrol, YTD, YD ve YF grupları için sırasıyla  $13,72 \pm 0,23$  kkal/gün,  $19,28 \pm 0,17$  kkal/gün,  $19,16 \pm 0,38$  kkal/gün ve  $19,34 \pm 0,19$  kkal/gün olduğu gözlenmiştir ( $p < 0,001$ ).
7. Kontrol grubundaki farelerin müdahale öncesi dönemdeki günlük ortalama karbonhidrat alımı  $2,67 \pm 0,10$  g/gün, YTD grubunun  $2,66 \pm 0,03$  g/gün, YD grubunun  $2,73 \pm 0,12$  g/gün ve YF grubunun  $2,72 \pm 0,10$  g/gün olduğu saptanmıştır ( $p > 0,05$ ).
8. Müdahale dönemindeki günlük ortalama karbonhidrat alımları incelendiğinde ise; kontrol grubunun  $2,57 \pm 0,04$  g/gün, YTD grubunun  $2,48 \pm 0,02$  g/gün, YD grubunun  $2,46 \pm 0,05$  g/gün ve YF grubunun  $3,93 \pm 0,04$  g/gün karbonhidrat alımı olduğu saptanmıştır ( $p < 0,001$ ).
9. Çalışmanın tamamındaki ortalama karbonhidrat alımlarına bakıldığında ise; kontrol grubunun  $2,57 \pm 0,04$  g/gün, YTD grubunun  $2,49 \pm 0,02$  g/gün, YD grubunun  $2,49 \pm 0,05$  g/gün ve YF grubunun  $3,86 \pm 0,04$  g/gün karbonhidrat aldığı görülmektedir ( $p < 0,001$ ).
10. Farelerin diyet müdahalesi öncesi dönemde günlük protein alım miktarları incelendiğinde; kontrol grubunun  $0,53 \pm 0,02$  g/gün, YTD grubunun  $0,53 \pm 0,01$  g/gün, YD grubunun  $0,55 \pm 0,02$  g/gün ve YF grubunun  $0,54 \pm 0,02$  g/gün protein aldığı saptanmıştır ( $p > 0,05$ ).
11. Müdahale döneminde günlük ortalama protein alım değerleri ise; kontrol grubunun  $0,51 \pm 0,01$  g/gün, YTD grubunun  $0,59 \pm 0,01$  g/gün, YD grubunun  $0,59 \pm 0,01$  g/gün ve YF grubunun  $0,59 \pm 0,01$  g/gün olduğu görülmektedir ( $p < 0,05$ ).
12. Çalışmanın tamamındaki ortalama protein alımları karşılaştırıldığında ise; kontrol grubunun  $0,51 \pm 0,01$  g/gün, YTD grubunun  $0,59 \pm 0,01$  g/gün, YD grubunun  $0,58 \pm 0,01$  g/gün ve YF grubunun  $0,59 \pm 0,01$  g/gün protein aldığı saptanmıştır ( $p < 0,05$ ).
13. Farelerin diyet müdahalesi öncesi dönemde günlük ortalama yağ alım miktarlarına bakıldığında; kontrol grubunun  $0,14 \pm 0,01$  g/gün, YTD

grubunun  $0,14\pm0,01$  g/gün, YD grubunun  $0,15\pm0,01$  g/gün ve YF grubunun  $0,15\pm0,01$  g/gün yağ aldığı belirlenmiştir ( $p>0,05$ ).

14. Müdahale dönemindeki günlük ortalama yağ alımları ise kontrol grubu için  $0,14\pm0,01$  g/gün, YTD grubu için  $0,84\pm0,01$  g/gün, YD grubu için  $0,83\pm0,02$  g/gün ve YF grubu için  $0,17\pm0,01$  g/gün olarak saptanmıştır ( $p<0,001$ ).
15. Çalışmanın tamamındaki ortalama yağ alım değerlerine bakıldığında; kontrol grubunun  $0,14\pm0,01$  g/gün, YTD grubunun  $0,77\pm0,02$  g/gün, YD grubunun  $0,76\pm0,02$  g/gün ve YF grubunun  $0,17\pm0,01$  g/gün yağ aldığı saptanmıştır ( $p<0,001$ ).
16. Farelerin müdahale öncesi dönemdeki vücut ağırlıkları ortalamalarına bakıldığında; kontrol grubunun ortalama vücut ağırlığının  $20,17\pm0,30$  g, YTD grubunun  $21,15\pm0,33$  g, YD grubunun  $20,07\pm0,40$  g ve YF grubunun  $20,80\pm0,42$  g olduğu saptanmıştır ( $p>0,05$ ).
17. Müdahale dönemindeki ortalama vücut ağırlıkları ise kontrol grubu için  $23,40\pm0,40$  g, YTD grubu için  $26,17\pm0,56$  g, YD grubu için  $25,99\pm0,40$  g ve YF grubu için  $25,78\pm0,60$  g olarak saptanmıştır ( $p<0,05$ ).
18. Toplam diyet dönemindeki ortalama vücut ağırlıklarına bakıldığında ise kontrol grubunun  $23,09\pm0,35$  g, YTD grubunun  $26,34\pm0,33$  g, YD grubunun  $25,16\pm0,43$  g ve YF grubunun  $25,19\pm0,60$  g olduğu saptanmıştır ( $p<0,05$ ).
19. Çalışmanın sonunda vücut ağırlıklarında gerçekleşen artış incelendiğinde ise; kontrol grubundaki artışın  $4,22\pm0,38$  g, YTD grubundaki artışın  $7,86\pm0,35$  g, YD grubundaki artışın  $9,19\pm0,35$  g ve YF grubundaki artışın  $8,23\pm0,68$  g olduğu görülmektedir ( $p<0,05$ ).
20. Farelerin plazma trigliserid düzeyleri incelendiğinde; kontrol grubunun  $74,50\pm7,22$  mg/dL, YTD grubunun  $81,29\pm6,43$  mg/dL, YD grubunun  $110,50\pm12,98$  mg/dL ve YF grubunun  $119,50\pm14,96$  mg/dL olduğu saptanmıştır ( $p<0,05$ ).
21. Farelerin ortalama karaciğer trigliserid düzeylerine bakıldığında ise, kontrol grubunun  $159,56\pm19,08$  mg/dL, YTD grubunun  $272,38\pm29,66$

mg/dL, YD grubunun 303,09±27,47 mg/dL ve YF grubunun 303,81±31,43 mg/dL olduğu saptanmıştır (p<0,05).

22. Farelerin plazma serbest yağ asitleri ortalamalarına bakıldığında kontrol grubunun 354,21±23,11 µmol/L, YTD grubunun 421,89±9,46 µmol/L, YD grubunun 435,75±20,61 µmol/L ve YF grubunun 434,00±14,05 µmol/L olduğu gözlenmiştir (p<0,05).
23. Farelerin plazma glukoz ortalamalarına bakıldığında kontrol grubunun 130,38±8,13 mg/dL, YTD grubunun 171,21±7,70 mg/dL, 194,20±11,21 mg/dL ve YF grubunun 173,76±5,19 mg/dL olduğu saptanmıştır (p>0,05).
24. Farelerin plazma insülin değerlerinin ortalamalarına bakıldığında kontrol grubunun 9,76±0,6 µU/mL, YTD grubunun 10,49±0,41 µU/mL, YD grubunun 11,12±0,17 µU/mL ve YF grubunun 11,17±0,35 µU/mL olduğu gözlenmiştir (p>0,05).
25. Farelerin insülin direnci hesabı için HOMA-IR değerlerinin; kontrol grubu için 3,01±0,10, YTD grubu için 4,67±0,39, YD grubu için 4,40±0,31 ve YF grubu için 4,87±0,19 olduğu görülmektedir (p<0,05).
26. Farelerin insülin direnci hesabı için QUICKI değerleri incelendiğinde; kontrol grubu için 1,48±0,04, YTD grubu için 1,46±0,02, YD grubu için 1,49±0,01 ve YF grubu için 1,50±0,01 olarak hesaplanmıştır (p>0,05).
27. Farelerin hesaplanan glukoz:insülin oranları incelendiğinde; kontrol grubu için 12,75±1,67 mg/10<sup>-4</sup>U, YTD grubu için 16,64±0,94 mg/10<sup>-4</sup>U, YD grubu için 16,97±0,70 mg/10<sup>-4</sup>U ve YF grubu için 15,43±0,70 mg/10<sup>-4</sup>U olarak hesaplanmıştır (p>0,05).
28. Farelerin plazma CRP değerlerinin ortalamalarına bakıldığında kontrol grubunun 240,65±14,94 ng/mL, YTD grubunun 192,20±27,95 ng/mL, YD grubunun 253,41±30,59 ng/mL ve YF grubunun 319,04±22,89 ng/mL olduğu saptanmıştır (p<0,05).
29. Farelerde karaciğer dokusunda yapılan western-blot analizi sonuçlarına göre; ACC-1 enziminin tüm gruplarda eksprese olduğu, fosforile formdaki ACC-1 enziminin ise ekspresyon düzeyinin ise YD ve YF gruplarında artış gösterdiği saptanmıştır.

30. Farelerde karaciğer dokusunda yapılan western-blot analizi sonuçlarına göre AMPK enziminin tüm gruplarda eksprese olduğu ancak fosforile formdaki AMPK'nin YTD ve YF gruplarında kontrol ve YTD gruplarına göre daha düşük düzeyde eksprese olduğu saptanmıştır.
31. Farelerde karaciğer dokusunda yapılan western-blot analizi sonuçlarına göre; IRS-1'in ekspresyon düzeyinde gruplar arasında farklılık bulunmadığı, fosforile formdaki IRS-1'in ekspresyon düzeyinin YTD ve YF gruplarında daha düşük olduğu saptanmıştır.
32. Farelerde karaciğer dokusunda yapılan western-blot analizi sonuçlarına göre; TNF- $\alpha$ 'nın YD ve YF gruplarında daha yüksek düzeyde eksprese olduğu saptanmıştır.
33. Farelerde karaciğer dokusunda yapılan western-blot analizi sonuçlarına göre; IL-1 $\beta$  ve IL-6 bantlarının YTD, YD ve YF gruplarında benzer düzeyde eksprese olduğu saptanmıştır.
34. Farelerde karaciğer dokusunda yapılan western-blot analizi sonuçlarına göre; TLR-4 ekspresyon düzeyinin YD ve YF gruplarında, kontrol ve YTD gruplarına göre daha yüksek olduğu saptanmıştır.

## 6.2. Öneriler

Diyette yer alan ve işlenmiş, tüketime hazır yiyecek ve içeceklerde yüksek miktarda yer alan doymuş yağ asitleri ve fruktoz gibi farklı yağ ve karbonhidrat türleri gerek enerji içeriği gerek de metabolizmalarındaki farklılıklardan dolayı kronik hastalıklar ile ilintili metabolik disfonksiyonlara neden olabilmektedir. Bu besin ögeleri; başta karaciğer olmak üzere birçok doku ve organda lipogenez ve yağ asit biyosentezi artışı, insülin sinyalizasyonunda bozukluklar ile inflamatuvar yanıtın uyarılmasına bağlı olarak bu etkileri gerçekleştirdikleri düşünülmektedir.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar ile laboratuvar hayvanlarında (kemirgenler) diyetle yüksek miktarda doymuş yağ asitleri veya fruktozun uzun süreli tüketiminin kardiyovasküler hastalıklar, obezite ve diyabet gibi kronik hastalıkların ortaya çıkmasında olası etkileri ve altında yatan mekanizmalara dair bilgi sağlanmıştır. Artmış doymuş yağ asitleri ve fruktoz tüketimi; vücut ağırlığındaki artışla birlikte, yağ

asitleri biyosentezi, insülin direnci ve inflamasyonla ilgili bazı parametreleri etkilediği saptanmıştır.

Bu çalışmada farelerin bir kısmı günlük aldıkları toplam enerjinin % 30'u kadar doymuş yağ asitleri, bir kısmı ise günlük aldıkları toplam enerjinin yaklaşık % 35'i kadar fruktoz almıştır. Yapılan analizler sonucunda; doymuş yağ asitleri ve fruktozun; insülin direnci, lipogenez ve inflamasyon üzerine bazı olumsuz etkileri olduğu saptanmıştır. Ancak insanlar ve fareler arasında bulunan fizyolojik farklılıklardan dolayı bu çalışmanın sonuçlarına göre insanlar için doymuş yağ asitleri veya fruktoza özel bir öneri geliştirilmesi uygun değildir. Ancak, yapılacak yeni hayvan veya insan çalışmaları için altyapı niteliği taşıyan bu çalışma, yeni çalışmaların planlanması için veri sunmaktadır.

Bu veriler ışığında; örneklem sayısının daha fazla, çalışma süresinin daha uzun olduğu, yem tüketimi ve ağırlık takibinin metabolik kafeslerde etkin bir şekilde gerçekleştirildiği, çalışma süresince farelerin kan parametrelerinin incelendiği, yağ birikim bölgesinin ve adipoz dokunun saptandığı, etki mekanizmalarının daha net açıklanmasına yönelik transkripsiyon faktörlerinin analiz edildiği kapsamlı çalışmalar yapılması önerisi getirilebilir. Ayrıca bu süreç değerlendirilirken diyetin yalnızca makro besin öğeleri değil; posa, fitokimyasallar gibi diğer diyet bileşenleri ile mikro besin öğeleri içeriği de değerlendirilerek insanlar için öneri geliştirilmesi gerekmektedir.

## 7. KAYNAKLAR

1. Adams LA, Lymp JF, St Sauver J, Sanderson SO, Lindor KD, Feldstein A, et al. The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: a population-based cohort study. *Gastroenterology*. 2005;129(1):113-21.
2. Anstee QM, McPherson S, Day CP. How big a problem is non-alcoholic fatty liver disease? *BMJ*. 2011;343:d3897.
3. LaBrecque DR, Abbas Z, Anania C, Ferenci P, Ghafoor-Khan A, Goh K, et al. Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis World Gastroenterology Organisation Global Guidelines 2012.
4. Vernon G, Baranova A, Younossi ZM. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Aliment Pharmacol Ther*. 2011;34(3):274-85.
5. Wong VW, Chu WC, Wong GL, Chan RS, Chim AM, Ong A, et al. Prevalence of non-alcoholic fatty liver disease and advanced fibrosis in Hong Kong Chinese: a population study using proton-magnetic resonance spectroscopy and transient elastography. *Gut*. 2012;61(3):409-15.
6. Ashtari S, Pourhoseingholi MA, Zali MR. Non-alcohol fatty liver disease in Asia: Prevention and planning. *World J Hepatol*. 2015;7(13):1788-96.
7. Besler HT, Rakıcıoğlu N, Ayaz A, Gökmen Özel H, Eroğlu Samur G, Akal Yıldız E, et al. *Türkiye'ye Özgü Beslenme Rehberi*, Ankara: Hacettepe Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü; 2015.
8. Elmadfa I, Kornsteiner M. Fats and fatty acid requirements for adults. *Ann Nutr Metab*. 2009;55(1-3):56-75.
9. American Heart Association Nutrition C, Lichtenstein AH, Appel LJ, Brands M, Carnethon M, Daniels S, et al. Diet and lifestyle recommendations revision 2006: a scientific statement from the American Heart Association Nutrition Committee. *Circulation*. 2006;114(1):82-96.
10. Fitch C, Keim KS, Academy of N, Dietetics. Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: use of nutritive and nonnutritive sweeteners. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*. 2012;112(5):739-58.
11. Masi LN, Rodrigues AC, Curi R. Fatty acids regulation of inflammatory and metabolic genes. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care*. 2013;16(4):418-24.
12. Byrne CD. Fatty liver: role of inflammation and fatty acid nutrition. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2010;82(4-6):265-71.
13. Byrne CD, Olufadi R, Bruce KD, Cagampang FR, Ahmed MH. Metabolic disturbances in non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Sci (Lond)*. 2009;116(7):539-64.
14. Moore JB, Gunn PJ, Fielding BA. The role of dietary sugars and de novo lipogenesis in non-alcoholic fatty liver disease. *Nutrients*. 2014;6(12):5679-703.

15. Smith BW, Adams LA. Non-alcoholic fatty liver disease. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 2011;48(3):97-113.
16. Le KA, Bortolotti M. Role of dietary carbohydrates and macronutrients in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care.* 2008;11(4):477-82.
17. Rivellese AA, De Natale C, Lilli S. Type of dietary fat and insulin resistance. *Annals of the New York Academy of Sciences.* 2002;967:329-35.
18. Liu J, Fox CS, Hickson D, Bidulescu A, Carr JJ, Taylor HA. Fatty liver, abdominal visceral fat, and cardiometabolic risk factors: the Jackson Heart Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011;31(11):2715-22.
19. Yki-Jarvinen H. Liver fat in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. *Dig Dis.* 2010;28(1):203-9.
20. Clark JM, Brancati FL, Diehl AM. The prevalence and etiology of elevated aminotransferase levels in the United States. *Am J Gastroenterol.* 2003;98(5):960-7.
21. Angulo P, Lindor KD. Non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of gastroenterology and hepatology.* 2002;17 Suppl:S186-90.
22. Byrne CD. Dorothy Hodgkin Lecture 2012: non-alcoholic fatty liver disease, insulin resistance and ectopic fat: a new problem in diabetes management. *Diabet Med.* 2012;29(9):1098-107.
23. Haag M, Dippenaar NG. Dietary fats, fatty acids and insulin resistance: short review of a multifaceted connection. *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research.* 2005;11(12):359-67.
24. Asrih M, Jornayvaz FR. Diets and nonalcoholic fatty liver disease: the good and the bad. *Clin Nutr.* 2014;33(2):186-90.
25. Gentile CL, Pagliassotti MJ. The role of fatty acids in the development and progression of nonalcoholic fatty liver disease. *The Journal of nutritional biochemistry.* 2008;19(9):567-76.
26. Kennedy A, Martinez K, Chuang CC, LaPoint K, McIntosh M. Saturated fatty acid-mediated inflammation and insulin resistance in adipose tissue: mechanisms of action and implications. *J Nutr.* 2009;139(1):1-4.
27. Vallim T, Salter AM. Regulation of hepatic gene expression by saturated fatty acids. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2010;82(4-6):211-8.
28. van Diepen JA, Berbee JF, Havekes LM, Rensen PC. Interactions between inflammation and lipid metabolism: relevance for efficacy of anti-inflammatory drugs in the treatment of atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2013;228(2):306-15.
29. Leamy AK, Egnatchik RA, Young JD. Molecular mechanisms and the role of saturated fatty acids in the progression of non-alcoholic fatty liver disease. *Prog Lipid Res.* 2013;52(1):165-74.



30. Asrih M, Jornayvaz FR. Inflammation as a potential link between nonalcoholic fatty liver disease and insulin resistance. *The Journal of endocrinology*. 2013;218(3):R25-36.
31. Marriott BP, Olsho L, Hadden L, Connor P. Intake of added sugars and selected nutrients in the United States, National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2003-2006. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2010;50(3):228-58.
32. Suzuki A, Lindor K, St Saver J, Lymp J, Mendes F, Muto A, et al. Effect of changes on body weight and lifestyle in nonalcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. 2005;43(6):1060-6.
33. Mamikutty N, Thent ZC, Haji Suhaimi F. Fructose-Drinking Water Induced Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Ultrastructural Alteration of Hepatocyte Mitochondria in Male Wistar Rat. *Biomed Res Int*. 2015;2015:895961.
34. Bizeau ME, Pagliassotti MJ. Hepatic adaptations to sucrose and fructose. *Metabolism*. 2005;54(9):1189-201.
35. Tappy L, Le KA. Does fructose consumption contribute to non-alcoholic fatty liver disease? *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2012;36(6):554-60.
36. Tabibian JH, Lazo M, Durazo FA, Yeh HC, Tong MJ, Clark JM. Nonalcoholic fatty liver disease across ethno-racial groups: do Asian-American adults represent a new at-risk population? *Journal of gastroenterology and hepatology*. 2011;26(3):501-9.
37. Gan L, Xiang W, Xie B, Yu L. Molecular mechanisms of fatty liver in obesity. *Front Med*. 2015;9(3):275-87.
38. Younossi ZM, Henry L. Economic and Quality-of-Life Implications of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Pharmacoeconomics*. 2015;33(12):1245-53.
39. Yilmaz Y. Is nonalcoholic fatty liver disease the hepatic expression of the metabolic syndrome? *World J Hepatol*. 2012;4(12):332-4.
40. Karim MF, Al-Mahtab M, Rahman S, Debnath CR. Non-alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) - A Review. *Mymensingh Med J*. 2015;24(4):873-80.
41. Hashimoto E, Tokushige K, Ludwig J. Diagnosis and classification of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis: Current concepts and remaining challenges. *Hepatol Res*. 2015;45(1):20-8.
42. Brea A, Puzo J. Non-alcoholic fatty liver disease and cardiovascular risk. *Int J Cardiol*. 2013;167(4):1109-17.
43. Bonci E, Chiesa C, Versacci P, Anania C, Silvestri L, Pacifico L. Association of Nonalcoholic Fatty Liver Disease with Subclinical Cardiovascular Changes: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Biomed Res Int*. 2015;2015:213737.
44. Szczepaniak LS, Nurenberg P, Leonard D, Browning JD, Reingold JS, Grundy S, et al. Magnetic resonance spectroscopy to measure hepatic triglyceride content: prevalence of hepatic steatosis in the general population. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2005;288(2):462-8.
45. Shifflet A, Wu GY. Non-alcoholic steatohepatitis: an overview. *J Formos Med Assoc*. 2009;108(1):4-12.

46. Levene AP, Goldin RD. The epidemiology, pathogenesis and histopathology of fatty liver disease. *Histopathology*. 2012;61(2):141-52.
47. Day CP, Saksena S. Non-alcoholic steatohepatitis: definitions and pathogenesis. *Journal of gastroenterology and hepatology*. 2002;17 Suppl 3:377-84.
48. Browning JD, Horton JD. Molecular mediators of hepatic steatosis and liver injury. *J Clin Invest*. 2004;114(2):147-52.
49. Pickhardt PJ, Hahn L, Munoz del Rio A, Park SH, Reeder SB, Said A. Natural history of hepatic steatosis: observed outcomes for subsequent liver and cardiovascular complications. *AJR Am J Roentgenol*. 2014;202(4):752-8.
50. Peng TC, Kao TW, Wu LW, Chen YJ, Chang YW, Wang CC, et al. Association Between Pulmonary Function and Nonalcoholic Fatty Liver Disease in the NHANES III Study. *Medicine (Baltimore)*. 2015;94(21):907.
51. Satapathy SK, Sanyal AJ. Epidemiology and Natural History of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Semin Liver Dis*. 2015;35(3):221-35.
52. Pereira K, Salsamendi J, Casillas J. The Global Nonalcoholic Fatty Liver Disease Epidemic: What a Radiologist Needs to Know. *J Clin Imaging Sci*. 2015;5:32.
53. Abd El-Kader SM, El-Den Ashmawy EM. Non-alcoholic fatty liver disease: The diagnosis and management. *World J Hepatol*. 2015;7(6):846-58.
54. Petta S, Muratore C, Craxi A. Non-alcoholic fatty liver disease pathogenesis: the present and the future. *Dig Liver Dis*. 2009;41(9):615-25.
55. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, et al. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice guideline by the American Gastroenterological Association, American Association for the Study of Liver Diseases, and American College of Gastroenterology. *Gastroenterology*. 2012;142(7):1592-609.
56. Lazo M, Hernaez R, Eberhardt MS, Bonekamp S, Kamel I, Guallar E, et al. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease in the United States: the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Am J Epidemiol*. 2013;178(1):38-45.
57. Wierzbicki AS, Oben J. Nonalcoholic fatty liver disease and lipids. *Curr Opin Lipidol*. 2012;23(4):345-52.
58. Postic C, Girard J. Contribution of de novo fatty acid synthesis to hepatic steatosis and insulin resistance: lessons from genetically engineered mice. *J Clin Invest*. 2008;118(3):829-38.
59. El-Zayadi AR. Hepatic steatosis: a benign disease or a silent killer. *World J Gastroenterol*. 2008;14(26):4120-6.
60. Donnelly KL, Smith CI, Schwarzenberg SJ, Jessurun J, Boldt MD, Parks EJ. Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Invest*. 2005;115(5):1343-51.

61. Nassir F, Rector RS, Hammoud GM, Ibdah JA. Pathogenesis and Prevention of Hepatic Steatosis. *Gastroenterol Hepatol (N Y)*. 2015;11(3):167-75.
62. Than NN, Newsome PN. A concise review of non-alcoholic fatty liver disease. *Atherosclerosis*. 2015;239(1):192-202.
63. Del Ben M, Baratta F, Polimeni L, Angelico F. Non-alcoholic fatty liver disease and cardiovascular disease: epidemiological, clinical and pathophysiological evidences. *Intern Emerg Med*. 2012;7 Suppl 3:S291-6.
64. Ginsberg HN, Zhang YL, Hernandez-Ono A. Regulation of plasma triglycerides in insulin resistance and diabetes. *Arch Med Res*. 2005;36(3):232-40.
65. Fusillo S, Rudolph B. Nonalcoholic fatty liver disease. *Pediatr Rev*. 2015;36(5):198-205.
66. Jones JG. Hepatic glucose and lipid metabolism. *Diabetologia*. 2016;59(6):1098-103.
67. Rui L. Energy metabolism in the liver. *Compr Physiol*. 2014;4(1):177-97.
68. Koliaki C, Roden M. Hepatic energy metabolism in human diabetes mellitus, obesity and non-alcoholic fatty liver disease. *Mol Cell Endocrinol*. 2013;379(1-2):35-42.
69. Leavens KF, Birnbaum MJ. Insulin signaling to hepatic lipid metabolism in health and disease. *Crit Rev Biochem Mol Biol*. 2011;46(3):200-15.
70. Choudhury J, Sanyal AJ. Insulin resistance in NASH. *Front Biosci*. 2005;10:1520-33.
71. Sanyal AJ, Campbell-Sargent C, Mirshahi F, Rizzo WB, Contos MJ, Sterling RK, et al. Nonalcoholic steatohepatitis: association of insulin resistance and mitochondrial abnormalities. *Gastroenterology*. 2001;120(5):1183-92.
72. Kumashiro N, Erion DM, Zhang D, Kahn M, Beddow SA, Chu X, et al. Cellular mechanism of insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108(39):16381-5.
73. Tang Q, Li X, Song P, Xu L. Optimal cut-off values for the homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) and pre-diabetes screening: Developments in research and prospects for the future. *Drug Discov Ther*. 2015;9(6):380-5.
74. Vacca M, Allison M, Griffin JL, Vidal-Puig A. Fatty Acid and Glucose Sensors in Hepatic Lipid Metabolism: Implications in NAFLD. *Semin Liver Dis*. 2015;35(3):250-61.
75. Seyer P, Vallois D, Poitry-Yamate C, Schutz F, Metref S, Tarussio D, et al. Hepatic glucose sensing is required to preserve beta cell glucose competence. *J Clin Invest*. 2013;123(4):1662-76.
76. Raddatz D, Ramadori G. Carbohydrate metabolism and the liver: actual aspects from physiology and disease. *Z Gastroenterol*. 2007;45(1):51-62.

77. Burgess SC, Hausler N, Merritt M, Jeffrey FM, Storey C, Milde A, et al. Impaired tricarboxylic acid cycle activity in mouse livers lacking cytosolic phosphoenolpyruvate carboxykinase. *J Biol Chem*. 2004;279(47):48941-9.
78. Hakimi P, Johnson MT, Yang J, Lepage DF, Conlon RA, Kalhan SC, et al. Phosphoenolpyruvate carboxykinase and the critical role of cataplerosis in the control of hepatic metabolism. *Nutr Metab (Lond)*. 2005;2:33.
79. Michael MD, Kulkarni RN, Postic C, Previs SF, Shulman GI, Magnuson MA, et al. Loss of insulin signaling in hepatocytes leads to severe insulin resistance and progressive hepatic dysfunction. *Mol Cell*. 2000;6(1):87-97.
80. Rector RS, Thyfault JP, Uptergrove GM, Morris EM, Naples SP, Borengasser SJ, et al. Mitochondrial dysfunction precedes insulin resistance and hepatic steatosis and contributes to the natural history of non-alcoholic fatty liver disease in an obese rodent model. *J Hepatol*. 2010;52(5):727-36.
81. White MF. IRS proteins and the common path to diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2002;283(3):E413-22.
82. Ameer F, Scandiuzzi L, Hasnain S, Kalbacher H, Zaidi N. De novo lipogenesis in health and disease. *Metabolism*. 2014;63(7):895-902.
83. Marchesini G, Brizi M, Morselli-Labate AM, Bianchi G, Bugianesi E, McCullough AJ, et al. Association of nonalcoholic fatty liver disease with insulin resistance. *Am J Med*. 1999;107(5):450-5.
84. Douard V, Ferraris RP. Regulation of the fructose transporter GLUT5 in health and disease. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2008;295(2):E227-37.
85. Thorens B, Mueckler M. Glucose transporters in the 21st Century. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2010;298(2):E141-5.
86. Elliott SS, Keim NL, Stern JS, Teff K, Havel PJ. Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome. *Am J Clin Nutr*. 2002;76(5):911-22.
87. Basaranoglu M, Basaranoglu G, Bugianesi E. Carbohydrate intake and nonalcoholic fatty liver disease: fructose as a weapon of mass destruction. *Hepatobiliary Surg Nutr*. 2015;4(2):109-16.
88. Schwartz MW, Woods SC, Porte D, Jr., Seeley RJ, Baskin DG. Central nervous system control of food intake. *Nature*. 2000;404(6778):661-71.
89. Vos MB, Lavine JE. Dietary fructose in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2013;57(6):2525-31.
90. Sievenpiper JL, de Souza RJ, Cozma AI, Chiavaroli L, Ha V, Mirrahimi A. Fructose vs. glucose and metabolism: do the metabolic differences matter? *Curr Opin Lipidol*. 2014;25(1):8-19.
91. Mayes PA. Intermediary metabolism of fructose. *Am J Clin Nutr*. 1993;58(5 Suppl):754-65.
92. Kolderup A, Svihus B. Fructose Metabolism and Relation to Atherosclerosis, Type 2 Diabetes, and Obesity. *J Nutr Metab*. 2015;2015:823081.
93. Bray GA. How bad is fructose? *Am J Clin Nutr*. 2007;86(4):895-6.

94. McGuinness OP, Cherrington AD. Effects of fructose on hepatic glucose metabolism. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care*. 2003;6(4):441-8.
95. Basaranoglu M, Basaranoglu G, Sabuncu T, Senturk H. Fructose as a key player in the development of fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2013;19(8):1166-72.
96. Dekker MJ, Su Q, Baker C, Rutledge AC, Adeli K. Fructose: a highly lipogenic nutrient implicated in insulin resistance, hepatic steatosis, and the metabolic syndrome. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2010;299(5):E685-94.
97. Faeh D, Minehira K, Schwarz JM, Periasamy R, Park S, Tappy L. Effect of fructose overfeeding and fish oil administration on hepatic de novo lipogenesis and insulin sensitivity in healthy men. *Diabetes*. 2005;54(7):1907-13.
98. Laughlin MR. Normal roles for dietary fructose in carbohydrate metabolism. *Nutrients*. 2014;6(8):3117-29.
99. Rutledge AC, Adeli K. Fructose and the metabolic syndrome: pathophysiology and molecular mechanisms. *Nutr Rev*. 2007;65(6 Pt 2):S13-23.
100. Hudgins LC, Hellerstein M, Seidman C, Neese R, Diakun J, Hirsch J. Human fatty acid synthesis is stimulated by a eucaloric low fat, high carbohydrate diet. *J Clin Invest*. 1996;97(9):2081-91.
101. Stanhope KL, Havel PJ. Fructose consumption: potential mechanisms for its effects to increase visceral adiposity and induce dyslipidemia and insulin resistance. *Curr Opin Lipidol*. 2008;19(1):16-24.
102. Ackerman Z, Oron-Herman M, Grozovski M, Rosenthal T, Pappo O, Link G, et al. Fructose-induced fatty liver disease: hepatic effects of blood pressure and plasma triglyceride reduction. *Hypertension*. 2005;45(5):1012-8.
103. Yi C, Li Y. [Fructose as a risk factor nonalcoholic fatty liver disease]. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi*. 2014;22(5):383-5.
104. Cordain L, Eades MR, Eades MD. Hyperinsulinemic diseases of civilization: more than just Syndrome X. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. 2003;136(1):95-112.
105. Balakumar M, Raji L, Prabhu D, Sathishkumar C, Prabu P, Mohan V, et al. High-fructose diet is as detrimental as high-fat diet in the induction of insulin resistance and diabetes mediated by hepatic/pancreatic endoplasmic reticulum (ER) stress. *Mol Cell Biochem*. 2016;423(1-2):93-104.
106. Gugliucci A. Fructose surges damage hepatic adenosyl-monophosphate-dependent kinase and lead to increased lipogenesis and hepatic insulin resistance. *Med Hypotheses*. 2016;93:87-92.
107. Lim JS, Mietus-Snyder M, Valente A, Schwarz JM, Lustig RH. The role of fructose in the pathogenesis of NAFLD and the metabolic syndrome. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2010;7(5):251-64.
108. Basaranoglu M, Basaranoglu G, Senturk H. From fatty liver to fibrosis: a tale of "second hit". *World J Gastroenterol*. 2013;19(8):1158-65.

109. Sato Y, Ito T, Udaka N, Kanisawa M, Noguchi Y, Cushman SW, et al. Immunohistochemical localization of facilitated-diffusion glucose transporters in rat pancreatic islets. *Tissue Cell*. 1996;28(6):637-43.
110. Kaiyala KJ, Prigeon RL, Kahn SE, Woods SC, Schwartz MW. Obesity induced by a high-fat diet is associated with reduced brain insulin transport in dogs. *Diabetes*. 2000;49(9):1525-33.
111. Niswender KD, Morton GJ, Stearns WH, Rhodes CJ, Myers MG, Jr., Schwartz MW. Intracellular signalling. Key enzyme in leptin-induced anorexia. *Nature*. 2001;413(6858):794-5.
112. Clement K, Vaisse C, Lahlou N, Cabrol S, Pelloux V, Cassuto D, et al. A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction. *Nature*. 1998;392(6674):398-401.
113. Kim JK, Fillmore JJ, Chen Y, Yu C, Moore IK, Pypaert M, et al. Tissue-specific overexpression of lipoprotein lipase causes tissue-specific insulin resistance. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98(13):7522-7.
114. Saponaro C, Gaggini M, Gastaldelli A. Nonalcoholic fatty liver disease and type 2 diabetes: common pathophysiologic mechanisms. *Curr Diab Rep*. 2015;15(6):607.
115. Guturu P, Duchini A. Etiopathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis: role of obesity, insulin resistance and mechanisms of hepatotoxicity. *Int J Hepatol*. 2012;2012:212865.
116. Romero JR, Fresnedo O, Isusi E, Barrionuevo J, Ochoa B. Hepatic zonation of the formation and hydrolysis of cholesteryl esters in periportal and perivenous parenchymal cells. *Lipids*. 1999;34(9):907-13.
117. Savage DB, Semple RK. Recent insights into fatty liver, metabolic dyslipidaemia and their links to insulin resistance. *Curr Opin Lipidol*. 2010;21(4):329-36.
118. Gupta NA, Mells J, Dunham RM, Grakoui A, Handy J, Saxena NK, et al. Glucagon-like peptide-1 receptor is present on human hepatocytes and has a direct role in decreasing hepatic steatosis in vitro by modulating elements of the insulin signaling pathway. *Hepatology*. 2010;51(5):1584-92.
119. Berk PD, Verna EC. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Lipids and Insulin Resistance. *Clin Liver Dis*. 2016;20(2):245-62.
120. Bechmann LP, Hannivoort RA, Gerken G, Hotamisligil GS, Trauner M, Canbay A. The interaction of hepatic lipid and glucose metabolism in liver diseases. *J Hepatol*. 2012;56(4):952-64.
121. Silver D. Hepatic Fatty Acid Metabolism and Dysfunction. 2009. In: *The Liver: Biology and Pathobiology* [Internet]. [257-70].
122. Bradbury MW. Lipid metabolism and liver inflammation. I. Hepatic fatty acid uptake: possible role in steatosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2006;290(2):G194-8.

123. Gaggini M, Morelli M, Buzzigoli E, DeFronzo RA, Bugianesi E, Gastaldelli A. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and its connection with insulin resistance, dyslipidemia, atherosclerosis and coronary heart disease. *Nutrients*. 2013;5(5):1544-60.
124. Doege H, Stahl A. Protein-mediated fatty acid uptake: novel insights from in vivo models. *Physiology (Bethesda)*. 2006;21:259-68.
125. Falcon A, Doege H, Fluit A, Tsang B, Watson N, Kay MA, et al. FATP2 is a hepatic fatty acid transporter and peroxisomal very long-chain acyl-CoA synthetase. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2010;299(3):E384-93.
126. Buzzetti E, Pinzani M, Tsochatzis EA. The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Metabolism*. 2016.
127. Doege H, Grimm D, Falcon A, Tsang B, Storm TA, Xu H, et al. Silencing of hepatic fatty acid transporter protein 5 in vivo reverses diet-induced non-alcoholic fatty liver disease and improves hyperglycemia. *J Biol Chem*. 2008;283(32):22186-92.
128. Doege H, Baillie RA, Ortegon AM, Tsang B, Wu Q, Punreddy S, et al. Targeted deletion of FATP5 reveals multiple functions in liver metabolism: alterations in hepatic lipid homeostasis. *Gastroenterology*. 2006;130(4):1245-58.
129. Su X, Abumrad NA. Cellular fatty acid uptake: a pathway under construction. *Trends Endocrinol Metab*. 2009;20(2):72-7.
130. Koo SH. Nonalcoholic fatty liver disease: molecular mechanisms for the hepatic steatosis. *Clin Mol Hepatol*. 2013;19(3):210-5.
131. Newberry EP, Xie Y, Kennedy S, Han X, Buhman KK, Luo J, et al. Decreased hepatic triglyceride accumulation and altered fatty acid uptake in mice with deletion of the liver fatty acid-binding protein gene. *J Biol Chem*. 2003;278(51):51664-72.
132. Pyper SR, Viswakarma N, Yu S, Reddy JK. PPARalpha: energy combustion, hypolipidemia, inflammation and cancer. *Nucl Recept Signal*. 2010;8:e002.
133. Sanders FW, Griffin JL. De novo lipogenesis in the liver in health and disease: more than just a shunting yard for glucose. *Biol Rev Camb Philos Soc*. 2016;91(2):452-68.
134. Strable MS, Ntambi JM. Genetic control of de novo lipogenesis: role in diet-induced obesity. *Crit Rev Biochem Mol Biol*. 2010;45(3):199-214.
135. Abu-Elheiga L, Brinkley WR, Zhong L, Chirala SS, Woldegiorgis G, Wakil SJ. The subcellular localization of acetyl-CoA carboxylase 2. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97(4):1444-9.
136. Knight BL, Hebbachi A, Hauton D, Brown AM, Wiggins D, Patel DD, et al. A role for PPARalpha in the control of SREBP activity and lipid synthesis in the liver. *Biochem J*. 2005;389(Pt 2):413-21.

137. Shen WJ, Yu Z, Patel S, Jue D, Liu LF, Kraemer FB. Hormone-sensitive lipase modulates adipose metabolism through PPARgamma. *Biochim Biophys Acta*. 2011;1811(1):9-16.
138. Yamaguchi K, Yang L, McCall S, Huang J, Yu XX, Pandey SK, et al. Inhibiting triglyceride synthesis improves hepatic steatosis but exacerbates liver damage and fibrosis in obese mice with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 2007;45(6):1366-74.
139. Nomura K, Yamanouchi T. The role of fructose-enriched diets in mechanisms of nonalcoholic fatty liver disease. *The Journal of nutritional biochemistry*. 2012;23(3):203-8.
140. Solinas G, Boren J, Dulloo AG. De novo lipogenesis in metabolic homeostasis: More friend than foe? *Mol Metab*. 2015;4(5):367-77.
141. Dentin R, Girard J, Postic C. Carbohydrate responsive element binding protein (ChREBP) and sterol regulatory element binding protein-1c (SREBP-1c): two key regulators of glucose metabolism and lipid synthesis in liver. *Biochimie*. 2005;87(1):81-6.
142. Sul HS, Latasa MJ, Moon Y, Kim KH. Regulation of the fatty acid synthase promoter by insulin. *J Nutr*. 2000;130(2S Suppl):315S-20S.
143. Iizuka K, Bruick RK, Liang G, Horton JD, Uyeda K. Deficiency of carbohydrate response element-binding protein (ChREBP) reduces lipogenesis as well as glycolysis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101(19):7281-6.
144. Benhamed F, Denechaud PD, Lemoine M, Robichon C, Moldes M, Bertrand-Michel J, et al. The lipogenic transcription factor ChREBP dissociates hepatic steatosis from insulin resistance in mice and humans. *J Clin Invest*. 2012;122(6):2176-94.
145. Dentin R, Denechaud PD, Benhamed F, Girard J, Postic C. Hepatic gene regulation by glucose and polyunsaturated fatty acids: a role for ChREBP. *J Nutr*. 2006;136(5):1145-9.
146. Calkin AC, Tontonoz P. Transcriptional integration of metabolism by the nuclear sterol-activated receptors LXR and FXR. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2012;13(4):213-24.
147. Schultz JR, Tu H, Luk A, Repa JJ, Medina JC, Li L, et al. Role of LXRs in control of lipogenesis. *Genes Dev*. 2000;14(22):2831-8.
148. Sinal CJ, Tohkin M, Miyata M, Ward JM, Lambert G, Gonzalez FJ. Targeted disruption of the nuclear receptor FXR/BAR impairs bile acid and lipid homeostasis. *Cell*. 2000;102(6):731-44.
149. Bhatnagar S, Damron HA, Hillgartner FB. Fibroblast growth factor-19, a novel factor that inhibits hepatic fatty acid synthesis. *J Biol Chem*. 2009;284(15):10023-33.
150. Barbosa-da-Silva S, Souza-Mello V, Magliano DC, Marinho Tde S, Aguila MB, Mandarim-de-Lacerda CA. Singular effects of PPAR agonists on nonalcoholic fatty liver disease of diet-induced obese mice. *Life sciences*. 2015;127:73-81.



151. Cherkaoui-Malki M, Surapureddi S, El-Hajj HI, Vamecq J, Andreoletti P. Hepatic steatosis and peroxisomal fatty acid beta-oxidation. *Curr Drug Metab.* 2012;13(10):1412-21.
152. Grefhorst A, Hoekstra J, Derks TG, Ouwens DM, Baller JF, Havinga R, et al. Acute hepatic steatosis in mice by blocking beta-oxidation does not reduce insulin sensitivity of very-low-density lipoprotein production. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2005;289(3):G592-8.
153. Sidossis LS, Stuart CA, Shulman GI, Lopaschuk GD, Wolfe RR. Glucose plus insulin regulate fat oxidation by controlling the rate of fatty acid entry into the mitochondria. *J Clin Invest.* 1996;98(10):2244-50.
154. Samuel VT, Shulman GI. Mechanisms for insulin resistance: common threads and missing links. *Cell.* 2012;148(5):852-71.
155. Cortez-Pinto H, Chatham J, Chacko VP, Arnold C, Rashid A, Diehl AM. Alterations in liver ATP homeostasis in human nonalcoholic steatohepatitis: a pilot study. *JAMA.* 1999;282(17):1659-64.
156. Satapati S, Sunny NE, Kucejova B, Fu X, He TT, Mendez-Lucas A, et al. Elevated TCA cycle function in the pathology of diet-induced hepatic insulin resistance and fatty liver. *J Lipid Res.* 2012;53(6):1080-92.
157. Pessayre D, Fromenty B. NASH: a mitochondrial disease. *J Hepatol.* 2005;42(6):928-40.
158. Takahashi S, Sakai J, Fujino T, Hattori H, Zenimaru Y, Suzuki J, et al. The very low-density lipoprotein (VLDL) receptor: characterization and functions as a peripheral lipoprotein receptor. *J Atheroscler Thromb.* 2004;11(4):200-8.
159. Tiwari S, Siddiqi SA. Intracellular trafficking and secretion of VLDL. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2012;32(5):1079-86.
160. Higuchi N, Kato M, Tanaka M, Miyazaki M, Takao S, Kohjima M, et al. Effects of insulin resistance and hepatic lipid accumulation on hepatic mRNA expression levels of apoB, MTP and L-FABP in non-alcoholic fatty liver disease. *Exp Ther Med.* 2011;2(6):1077-81.
161. Choi SH, Ginsberg HN. Increased very low density lipoprotein (VLDL) secretion, hepatic steatosis, and insulin resistance. *Trends Endocrinol Metab.* 2011;22(9):353-63.
162. Berriot-Varoqueaux N, Aggerbeck LP, Samson-Bouma M. Microsomal triglyceride transfer protein and abetalipoproteinemia. *Ann Endocrinol (Paris).* 2000;61(2):125-9.
163. Tietge UJ, Bakillah A, Maugeais C, Tsukamoto K, Hussain M, Rader DJ. Hepatic overexpression of microsomal triglyceride transfer protein (MTP) results in increased in vivo secretion of VLDL triglycerides and apolipoprotein B. *J Lipid Res.* 1999;40(11):2134-9.
164. Fabbrini E, Sullivan S, Klein S. Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: biochemical, metabolic, and clinical implications. *Hepatology.* 2010;51(2):679-89.

165. Foretz M, Viollet B. Regulation of hepatic metabolism by AMPK. *J Hepatol*. 2011;54(4):827-9.
166. Canto C, Auwerx J. AMP-activated protein kinase and its downstream transcriptional pathways. *Cell Mol Life Sci*. 2010;67(20):3407-23.
167. Hardie DG. Role of AMP-activated protein kinase in the metabolic syndrome and in heart disease. *FEBS Lett*. 2008;582(1):81-9.
168. Miranda N, Tovar AR, Palacios B, Torres N. [AMPK as a cellular energy sensor and its function in the organism]. *Rev Invest Clin*. 2007;59(6):458-69.
169. Ferre P, Azzout-Marniche D, Fougelle F. AMP-activated protein kinase and hepatic genes involved in glucose metabolism. *Biochem Soc Trans*. 2003;31(Pt 1):220-3.
170. Yang J, Craddock L, Hong S, Liu ZM. AMP-activated protein kinase suppresses LXR-dependent sterol regulatory element-binding protein-1c transcription in rat hepatoma McA-RH7777 cells. *J Cell Biochem*. 2009;106(3):414-26.
171. Saggerson D. Malonyl-CoA, a key signaling molecule in mammalian cells. *Annu Rev Nutr*. 2008;28:253-72.
172. Viollet B, Foretz M, Guigas B, Horman S, Dentin R, Bertrand L, et al. Activation of AMP-activated protein kinase in the liver: a new strategy for the management of metabolic hepatic disorders. *J Physiol*. 2006;574(Pt 1):41-53.
173. Hardie DG. AMP-activated protein kinase: a master switch in glucose and lipid metabolism. *Rev Endocr Metab Disord*. 2004;5(2):119-25.
174. Winder WW, Hardie DG. Inactivation of acetyl-CoA carboxylase and activation of AMP-activated protein kinase in muscle during exercise. *Am J Physiol*. 1996;270(2 Pt 1):E299-304.
175. Towler MC, Hardie DG. AMP-activated protein kinase in metabolic control and insulin signaling. *Circ Res*. 2007;100(3):328-41.
176. Viollet B, Guigas B, Leclerc J, Hebrard S, Lantier L, Mounier R, et al. AMP-activated protein kinase in the regulation of hepatic energy metabolism: from physiology to therapeutic perspectives. *Acta Physiol (Oxf)*. 2009;196(1):81-98.
177. Song Z, Deaciuc I, Zhou Z, Song M, Chen T, Hill D, et al. Involvement of AMP-activated protein kinase in beneficial effects of betaine on high-sucrose diet-induced hepatic steatosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2007;293(4):G894-902.
178. DeFronzo RA. Insulin resistance, lipotoxicity, type 2 diabetes and atherosclerosis: the missing links. The Claude Bernard Lecture 2009. *Diabetologia*. 2010;53(7):1270-87.
179. Glass CK, Olefsky JM. Inflammation and lipid signaling in the etiology of insulin resistance. *Cell Metab*. 2012;15(5):635-45.
180. Perry RJ, Samuel VT, Petersen KF, Shulman GI. The role of hepatic lipids in hepatic insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature*. 2014;510(7503):84-91.

181. Asrih M, Jornayvaz FR. Metabolic syndrome and nonalcoholic fatty liver disease: Is insulin resistance the link? *Mol Cell Endocrinol*. 2015;418 Pt 1:55-65.
182. Monnier L, Hanefeld M, Schnell O, Colette C, Owens D. Insulin and atherosclerosis: how are they related? *Diabetes & metabolism*. 2013;39(2):111-7.
183. Semenkovich CF. Insulin resistance and atherosclerosis. *J Clin Invest*. 2006;116(7):1813-22.
184. Rizza RA. Pathogenesis of fasting and postprandial hyperglycemia in type 2 diabetes: implications for therapy. *Diabetes*. 2010;59(11):2697-707.
185. Li M, Zhang S, Wu Y, Ye J, Cao X, Liu J, et al. Prevalence of Insulin Resistance in Subjects with Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Its Predictors in a Chinese Population. *Dig Dis Sci*. 2015;60(7):2170-6.
186. Erkan G, Sayin I, Polat FB, Corakci A, Atac GK, Degertekin H. The relationship between insulin resistance, metabolic syndrome and nonalcoholic fatty liver disease in non-obese non-diabetic Turkish individuals: A pilot study. *Turk J Gastroenterol*. 2014;25 Suppl 1:63-8.
187. Andrade GC, Fujise LH, Santana JEF, Oliveira F, Silva Rde C. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) in different populations: A clinical and epidemiological study - sample of Sao Jose do Rio Preto. *Rev Assoc Med Bras (1992)*. 2016;62(3):218-26.
188. Vilar CP, Cotrim HP, Florentino GS, Bragagnoli G, Schwingel PA, Barreto CP. Nonalcoholic fatty liver disease in patients with coronary disease from a Brazil northeast area. *Arq Gastroenterol*. 2015;52(2):111-6.
189. Vendhan R, Amutha A, Anjana RM, Unnikrishnan R, Deepa M, Mohan V. Comparison of characteristics between nonobese and overweight/obese subjects with nonalcoholic fatty liver disease in a South Indian population. *Diabetes Technol Ther*. 2014;16(1):48-55.
190. Ruiz-Nunez B, Pruijboom L, Dijck-Brouwer DA, Muskiet FA. Lifestyle and nutritional imbalances associated with Western diseases: causes and consequences of chronic systemic low-grade inflammation in an evolutionary context. *The Journal of nutritional biochemistry*. 2013;24(7):1183-201.
191. Wu Y, Wu T, Wu J, Zhao L, Li Q, Varghese Z, et al. Chronic inflammation exacerbates glucose metabolism disorders in C57BL/6J mice fed with high-fat diet. *The Journal of endocrinology*. 2013;219(3):195-204.
192. Boden G. Fatty acid-induced inflammation and insulin resistance in skeletal muscle and liver. *Curr Diab Rep*. 2006;6(3):177-81.
193. Dowman JK, Tomlinson JW, Newsome PN. Pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. *QJM*. 2010;103(2):71-83.
194. Almeda-Valdes P, Aguilar Olivos NE, Barranco-Fragoso B, Uribe M, Mendez-Sanchez N. The Role of Dendritic Cells in Fibrosis Progression in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Biomed Res Int*. 2015;2015:768071.

195. Ress C, Kaser S. Mechanisms of intrahepatic triglyceride accumulation. *World J Gastroenterol.* 2016;22(4):1664-73.
196. Sutti S, Bruzzi S, Albano E. The role of immune mechanisms in alcoholic and nonalcoholic steatohepatitis: a 2015 update. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2016;10(2):243-53.
197. Nati M, Haddad D, Birkenfeld AL, Koch CA, Chavakis T, Chatzigeorgiou A. The role of immune cells in metabolism-related liver inflammation and development of non-alcoholic steatohepatitis (NASH). *Rev Endocr Metab Disord.* 2016;17(1):29-39.
198. Kesar V, Odin JA. Toll-like receptors and liver disease. *Liver Int.* 2014;34(2):184-96.
199. Petrasek J, Csak T, Szabo G. Toll-like receptors in liver disease. *Adv Clin Chem.* 2013;59:155-201.
200. Saberi M, Woods NB, de Luca C, Schenk S, Lu JC, Bandyopadhyay G, et al. Hematopoietic cell-specific deletion of toll-like receptor 4 ameliorates hepatic and adipose tissue insulin resistance in high-fat-fed mice. *Cell Metab.* 2009;10(5):419-29.
201. Feldstein AE. Novel insights into the pathophysiology of nonalcoholic fatty liver disease. *Semin Liver Dis.* 2010;30(4):391-401.
202. Leroux A, Ferrere G, Godie V, Cailleux F, Renoud ML, Gaudin F, et al. Toxic lipids stored by Kupffer cells correlates with their pro-inflammatory phenotype at an early stage of steatohepatitis. *J Hepatol.* 2012;57(1):141-9.
203. Lee JY, Hwang DH. The modulation of inflammatory gene expression by lipids: mediation through Toll-like receptors. *Mol Cells.* 2006;21(2):174-85.
204. Liu W, Baker RD, Bhatia T, Zhu L, Baker SS. Pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Cell Mol Life Sci.* 2016;73(10):1969-87.
205. Wenfeng Z, Yakun W, Di M, Jianping G, Chuanxin W, Chun H. Kupffer cells: increasingly significant role in nonalcoholic fatty liver disease. *Ann Hepatol.* 2014;13(5):489-95.
206. Gavrilova O, Haluzik M, Matsusue K, Cutson JJ, Johnson L, Dietz KR, et al. Liver peroxisome proliferator-activated receptor gamma contributes to hepatic steatosis, triglyceride clearance, and regulation of body fat mass. *J Biol Chem.* 2003;278(36):34268-76.
207. Tilg H, Moschen AR. Insulin resistance, inflammation, and non-alcoholic fatty liver disease. *Trends Endocrinol Metab.* 2008;19(10):371-9.
208. Dandona P, Aljada A, Bandyopadhyay A. Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes. *Trends Immunol.* 2004;25(1):4-7.
209. Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW, Jr. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest.* 2003;112(12):1796-808.
210. Vida M, Serrano A, Romero-Cuevas M, Pavon FJ, Gonzalez-Rodriguez A, Gavito AL, et al. IL-6 cooperates with peroxisome proliferator-activated

- receptor-alpha-ligands to induce liver fatty acid binding protein (LFABP) up-regulation. *Liver Int.* 2013;33(7):1019-28.
211. Salles J, Tardif N, Landrier JF, Mothe-Satney I, Guillet C, Boue-Vaysse C, et al. TNFalpha gene knockout differentially affects lipid deposition in liver and skeletal muscle of high-fat-diet mice. *The Journal of nutritional biochemistry.* 2012;23(12):1685-93.
  212. Foroughi M, Maghsoudi Z, Khayyatzadeh S, Ghiasvand R, Askari G, Iraj B. Relationship between non-alcoholic fatty liver disease and inflammation in patients with non-alcoholic fatty liver. *Adv Biomed Res.* 2016;5:28.
  213. Kugelmas M, Hill DB, Vivian B, Marsano L, McClain CJ. Cytokines and NASH: a pilot study of the effects of lifestyle modification and vitamin E. *Hepatology.* 2003;38(2):413-9.
  214. van der Poorten D, Milner KL, Hui J, Hodge A, Trenell MI, Kench JG, et al. Visceral fat: a key mediator of steatohepatitis in metabolic liver disease. *Hepatology.* 2008;48(2):449-57.
  215. Zambo V, Simon-Szabo L, Szelenyi P, Kereszturi E, Banhegyi G, Csala M. Lipotoxicity in the liver. *World J Hepatol.* 2013;5(10):550-7.
  216. Zelber-Sagi S, Nitzan-Kaluski D, Goldsmith R, Webb M, Blendis L, Halpern Z, et al. Long term nutritional intake and the risk for non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): a population based study. *J Hepatol.* 2007;47(5):711-7.
  217. Bedogni G, Bellentani S. Fatty liver: how frequent is it and why? *Ann Hepatol.* 2004;3(2):63-5.
  218. Assy N. Nutritional recommendations for patients with non-alcoholic fatty liver diseases. *World J Gastroenterol.* 2011;17(29):3375-6.
  219. Yasutake K, Nakamuta M, Shima Y, Ohyama A, Masuda K, Haruta N, et al. Nutritional investigation of non-obese patients with non-alcoholic fatty liver disease: the significance of dietary cholesterol. *Scand J Gastroenterol.* 2009;44(4):471-7.
  220. Liu S, Willett WC, Stampfer MJ, Hu FB, Franz M, Sampson L, et al. A prospective study of dietary glycemic load, carbohydrate intake, and risk of coronary heart disease in US women. *Am J Clin Nutr.* 2000;71(6):1455-61.
  221. Kesh SB, Sikder K, Manna K, Das DK, Khan A, Das N, et al. Promising role of ferulic acid, atorvastatin and their combination in ameliorating high fat diet-induced stress in mice. *Life sciences.* 2013;92(17-19):938-49.
  222. Musso G, Gambino R, De Michieli F, Cassader M, Rizzetto M, Durazzo M, et al. Dietary habits and their relations to insulin resistance and postprandial lipemia in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology.* 2003;37(4):909-16.
  223. Toshimitsu K, Matsuura B, Ohkubo I, Niiya T, Furukawa S, Hiasa Y, et al. Dietary habits and nutrient intake in non-alcoholic steatohepatitis. *Nutrition.* 2007;23(1):46-52.

224. Barclay AW, Petocz P, McMillan-Price J, Flood VM, Prvan T, Mitchell P, et al. Glycemic index, glycemic load, and chronic disease risk--a meta-analysis of observational studies. *Am J Clin Nutr.* 2008;87(3):627-37.
225. McKeown NM, Meigs JB, Liu S, Saltzman E, Wilson PW, Jacques PF. Carbohydrate nutrition, insulin resistance, and the prevalence of the metabolic syndrome in the Framingham Offspring Cohort. *Diabetes Care.* 2004;27(2):538-46.
226. Johnson RJ, Segal MS, Sautin Y, Nakagawa T, Feig DI, Kang DH, et al. Potential role of sugar (fructose) in the epidemic of hypertension, obesity and the metabolic syndrome, diabetes, kidney disease, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr.* 2007;86(4):899-906.
227. Munsters MJ, Saris WH. The effect of sugar-sweetened beverage intake on energy intake in an ad libitum 6-month low-fat high-carbohydrate diet. *Ann Nutr Metab.* 2010;57(2):116-23.
228. Briefel RR, Johnson CL. Secular trends in dietary intake in the United States. *Annu Rev Nutr.* 2004;24:401-31.
229. Mohan A. WHO recommends reducing intake of 'free sugars' by adults and children. *Natl Med J India.* 2015;28(3):165.
230. Newens KJ, Walton J. A review of sugar consumption from nationally representative dietary surveys across the world. *J Hum Nutr Diet.* 2016;29(2):225-40.
231. Azais-Braesco V, Sluik D, Maillot M, Kok F, Moreno LA. A review of total & added sugar intakes and dietary sources in Europe. *Nutr J.* 2017;16(1):6.
232. Türkiye Beslenme Sağlık Araştırması [SAGEM]. 2010 [27.4.2017]. [http://www.sagem.gov.tr/TBSA\\_Beslenme\\_Yayini.pdf](http://www.sagem.gov.tr/TBSA_Beslenme_Yayini.pdf)
233. Thirunavukkarasu V, Anitha Nandhini AT, Anuradha CV. Effect of alpha-lipoic acid on lipid profile in rats fed a high-fructose diet. *Exp Diabetes Res.* 2004;5(3):195-200.
234. Axelsen LN, Pedersen HD, Petersen JS, Holstein-Rathlou NH, Kjolbye AL. Metabolic and cardiac changes in high cholesterol-fructose-fed rats. *J Pharmacol Toxicol Methods.* 2010;61(3):292-6.
235. Fernandez ML. Soluble fiber and nondigestible carbohydrate effects on plasma lipids and cardiovascular risk. *Curr Opin Lipidol.* 2001;12(1):35-40.
236. Gross LS, Li L, Ford ES, Liu S. Increased consumption of refined carbohydrates and the epidemic of type 2 diabetes in the United States: an ecologic assessment. *Am J Clin Nutr.* 2004;79(5):774-9.
237. Valtuena S, Pellegrini N, Ardigo D, Del Rio D, Numeroso F, Scazzina F, et al. Dietary glycemic index and liver steatosis. *Am J Clin Nutr.* 2006;84(1):136-42; quiz 268-9.
238. Choi H, Song S, Kim J, Chung J, Yoon J, Paik HY, et al. High carbohydrate intake was inversely associated with high-density lipoprotein cholesterol among Korean adults. *Nutr Res.* 2012;32(2):100-6.

239. Aeberli I, Gerber PA, Hochuli M, Kohler S, Haile SR, Gouni-Berthold I, et al. Low to moderate sugar-sweetened beverage consumption impairs glucose and lipid metabolism and promotes inflammation in healthy young men: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr.* 2011;94(2):479-85.
240. Roglans N, Vila L, Farre M, Alegret M, Sanchez RM, Vazquez-Carrera M, et al. Impairment of hepatic Stat-3 activation and reduction of PPARalpha activity in fructose-fed rats. *Hepatology.* 2007;45(3):778-88.
241. Ferder L, Ferder MD, Inserra F. The role of high-fructose corn syrup in metabolic syndrome and hypertension. *Curr Hypertens Rep.* 2010;12(2):105-12.
242. Malik VS, Schulze MB, Hu FB. Intake of sugar-sweetened beverages and weight gain: a systematic review. *Am J Clin Nutr.* 2006;84(2):274-88.
243. Hu FB. Are refined carbohydrates worse than saturated fat? *Am J Clin Nutr.* 2010;91(6):1541-2.
244. Tappy L, Le KA. Metabolic effects of fructose and the worldwide increase in obesity. *Physiological reviews.* 2010;90(1):23-46.
245. Samuel VT. Fructose induced lipogenesis: from sugar to fat to insulin resistance. *Trends Endocrinol Metab.* 2011;22(2):60-5.
246. Teff KL, Grudziak J, Townsend RR, Dunn TN, Grant RW, Adams SH, et al. Endocrine and metabolic effects of consuming fructose- and glucose-sweetened beverages with meals in obese men and women: influence of insulin resistance on plasma triglyceride responses. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94(5):1562-9.
247. Huang D, Dhawan T, Young S, Yong WH, Boros LG, Heaney AP. Fructose impairs glucose-induced hepatic triglyceride synthesis. *Lipids Health Dis.* 2011;10:20.
248. Wooten JS, Nick TN, Seija A, Poole KE, Stout KB. High-Fructose Intake Impairs the Hepatic Hypolipidemic Effects of a High-Fat Fish-Oil Diet in C57BL/6 Mice. *J Clin Exp Hepatol.* 2016;6(4):265-74.
249. Schultz A, Neil D, Aguila MB, Mandarim-de-Lacerda CA. Hepatic adverse effects of fructose consumption independent of overweight/obesity. *Int J Mol Sci.* 2013;14(11):21873-86.
250. Mota M, Banini BA, Cazanave SC, Sanyal AJ. Molecular mechanisms of lipotoxicity and glucotoxicity in nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism.* 2016;65(8):1049-61.
251. Catena C, Giacchetti G, Novello M, Colussi G, Cavarape A, Sechi LA. Cellular mechanisms of insulin resistance in rats with fructose-induced hypertension. *Am J Hypertens.* 2003;16(11 Pt 1):973-8.
252. Wolever TM, Mehling C. Long-term effect of varying the source or amount of dietary carbohydrate on postprandial plasma glucose, insulin, triacylglycerol, and free fatty acid concentrations in subjects with impaired glucose tolerance. *Am J Clin Nutr.* 2003;77(3):612-21.

253. Scribner KB, Pawlak DB, Ludwig DS. Hepatic steatosis and increased adiposity in mice consuming rapidly vs. slowly absorbed carbohydrate. *Obesity (Silver Spring)*. 2007;15(9):2190-9.
254. Gaby AR. Adverse effects of dietary fructose. *Altern Med Rev*. 2005;10(4):294-306.
255. Tetri LH, Basaranoglu M, Brunt EM, Yerian LM, Neuschwander-Tetri BA. Severe NAFLD with hepatic necroinflammatory changes in mice fed trans fats and a high-fructose corn syrup equivalent. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2008;295(5):G987-95.
256. Bhosale SH, Rao MB, Deshpande VV. Molecular and industrial aspects of glucose isomerase. *Microbiol Rev*. 1996;60(2):280-300.
257. Gersch MS, Mu W, Cirillo P, Reungjui S, Zhang L, Roncal C, et al. Fructose, but not dextrose, accelerates the progression of chronic kidney disease. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2007;293(4):F1256-61.
258. Abid A, Taha O, Nseir W, Farah R, Grosovski M, Assy N. Soft drink consumption is associated with fatty liver disease independent of metabolic syndrome. *J Hepatol*. 2009;51(5):918-24.
259. O'Sullivan TA, Oddy WH, Bremner AP, Sherriff JL, Ayonrinde OT, Olynyk JK, et al. Lower fructose intake may help protect against development of nonalcoholic fatty liver in adolescents with obesity. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2014;58(5):624-31.
260. Stanhope KL, Schwarz JM, Keim NL, Griffen SC, Bremer AA, Graham JL, et al. Consuming fructose-sweetened, not glucose-sweetened, beverages increases visceral adiposity and lipids and decreases insulin sensitivity in overweight/obese humans. *J Clin Invest*. 2009;119(5):1322-34.
261. Yilmaz Y. Review article: is non-alcoholic fatty liver disease a spectrum, or are steatosis and non-alcoholic steatohepatitis distinct conditions? *Aliment Pharmacol Ther*. 2012;36(9):815-23.
262. Chiu S, Sievenpiper JL, de Souza RJ, Cozma AI, Mirrahimi A, Carleton AJ, et al. Effect of fructose on markers of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): a systematic review and meta-analysis of controlled feeding trials. *Eur J Clin Nutr*. 2014;68(4):416-23.
263. Gonzalez C, de Ledinghen V, Vergniol J, Foucher J, Le Bail B, Carlier S, et al. Hepatic Steatosis, Carbohydrate Intake, and Food Quotient in Patients with NAFLD. *Int J Endocrinol*. 2013;2013:428542.
264. Parks EJ, Skokan LE, Timlin MT, Dingfelder CS. Dietary sugars stimulate fatty acid synthesis in adults. *J Nutr*. 2008;138(6):1039-46.
265. Chong MF, Fielding BA, Frayn KN. Mechanisms for the acute effect of fructose on postprandial lipemia. *Am J Clin Nutr*. 2007;85(6):1511-20.
266. Nakagawa T, Hu H, Zharikov S, Tuttle KR, Short RA, Glushakova O, et al. A causal role for uric acid in fructose-induced metabolic syndrome. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2006;290(3):F625-31.



267. Shih CC, Lin CH, Lin WL, Wu JB. Momordica charantia extract on insulin resistance and the skeletal muscle GLUT4 protein in fructose-fed rats. *J Ethnopharmacol.* 2009;123(1):82-90.
268. Silbernagel G, Machann J, Unmuth S, Schick F, Stefan N, Haring HU, et al. Effects of 4-week very-high-fructose/glucose diets on insulin sensitivity, visceral fat and intrahepatic lipids: an exploratory trial. *Br J Nutr.* 2011;106(1):79-86.
269. Hellerstein MK. Mitigating factors and metabolic mechanisms in fructose-induced nonalcoholic fatty liver disease: the next challenge. *Am J Clin Nutr.* 2012;96(5):951-2.
270. Basciano H, Federico L, Adeli K. Fructose, insulin resistance, and metabolic dyslipidemia. *Nutr Metab (Lond).* 2005;2(1):5.
271. Nagai Y, Yonemitsu S, Erion DM, Iwasaki T, Stark R, Weismann D, et al. The role of peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 beta in the pathogenesis of fructose-induced insulin resistance. *Cell Metab.* 2009;9(3):252-64.
272. Topping DL, Mayes PA. The immediate effects of insulin and fructose on the metabolism of the perfused liver. Changes in lipoprotein secretion, fatty acid oxidation and esterification, lipogenesis and carbohydrate metabolism. *Biochem J.* 1972;126(2):295-311.
273. Topping DL, Mayes PA. Comparative effects of fructose and glucose on the lipid and carbohydrate metabolism of perfused rat liver. *Br J Nutr.* 1976;36(1):113-26.
274. Miyazaki M, Dobrzyn A, Man WC, Chu K, Sampath H, Kim HJ, et al. Stearoyl-CoA desaturase 1 gene expression is necessary for fructose-mediated induction of lipogenic gene expression by sterol regulatory element-binding protein-1c-dependent and -independent mechanisms. *J Biol Chem.* 2004;279(24):25164-71.
275. Neuschwander-Tetri BA, Ford DA, Acharya S, Gilkey G, Basaranoglu M, Tetri LH, et al. Dietary trans-fatty acid induced NASH is normalized following loss of trans-fatty acids from hepatic lipid pools. *Lipids.* 2012;47(10):941-50.
276. Baena M, Sanguesa G, Davalos A, Latasa MJ, Sala-Vila A, Sanchez RM, et al. Fructose, but not glucose, impairs insulin signaling in the three major insulin-sensitive tissues. *Sci Rep.* 2016;6:26149.
277. Rebrin K, Steil GM, Getty L, Bergman RN. Free fatty acid as a link in the regulation of hepatic glucose output by peripheral insulin. *Diabetes.* 1995;44(9):1038-45.
278. Steil GM, Rebrin K, Mittelman SD, Bergman RN. Role of portal insulin delivery in the disappearance of intravenous glucose and assessment of insulin sensitivity. *Diabetes.* 1998;47(5):714-20.
279. Bergman RN, Ader M. Free fatty acids and pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Trends Endocrinol Metab.* 2000;11(9):351-6.

280. Spruss A, Bergheim I. Dietary fructose and intestinal barrier: potential risk factor in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *The Journal of nutritional biochemistry*. 2009;20(9):657-62.
281. Kanuri G, Spruss A, Wagnerberger S, Bischoff SC, Bergheim I. Role of tumor necrosis factor alpha (TNFalpha) in the onset of fructose-induced nonalcoholic fatty liver disease in mice. *The Journal of nutritional biochemistry*. 2011;22(6):527-34.
282. Ferreira AV, Mario EG, Porto LC, Andrade SP, Botion LM. High-carbohydrate diet selectively induces tumor necrosis factor-alpha production in mice liver. *Inflammation*. 2011;34(2):139-45.
283. Feinman RD. Saturated fat and health: recent advances in research. *Lipids*. 2010;45(10):891-2.
284. Koch M, Borggrefe J, Barbaresko J, Groth G, Jacobs G, Siegert S, et al. Dietary patterns associated with magnetic resonance imaging-determined liver fat content in a general population study. *Am J Clin Nutr*. 2014;99(2):369-77.
285. Mollard RC, Senechal M, MacIntosh AC, Hay J, Wicklow BA, Wittmeier KD, et al. Dietary determinants of hepatic steatosis and visceral adiposity in overweight and obese youth at risk of type 2 diabetes. *Am J Clin Nutr*. 2014;99(4):804-12.
286. Asai A, Chou PM, Bu HF, Wang X, Rao MS, Jiang A, et al. Dissociation of hepatic insulin resistance from susceptibility of nonalcoholic fatty liver disease induced by a high-fat and high-carbohydrate diet in mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2014;306(6):G496-504.
287. Spruss A, Henkel J, Kanuri G, Blank D, Puschel GP, Bischoff SC, et al. Female mice are more susceptible to nonalcoholic fatty liver disease: sex-specific regulation of the hepatic AMP-activated protein kinase-plasminogen activator inhibitor 1 cascade, but not the hepatic endotoxin response. *Mol Med*. 2012;18:1346-55.
288. Gauthier MS, Favier R, Lavoie JM. Time course of the development of non-alcoholic hepatic steatosis in response to high-fat diet-induced obesity in rats. *Br J Nutr*. 2006;95(2):273-81.
289. Flamment M, Rieusset J, Vidal H, Simard G, Malthiery Y, Fromenty B, et al. Regulation of hepatic mitochondrial metabolism in response to a high fat diet: a longitudinal study in rats. *J Physiol Biochem*. 2012;68(3):335-44.
290. de Meijer VE, Le HD, Meisel JA, Akhavan Sharif MR, Pan A, Nose V, et al. Dietary fat intake promotes the development of hepatic steatosis independently from excess caloric consumption in a murine model. *Metabolism*. 2010;59(8):1092-105.
291. Cohen DE, Fisher EA. Lipoprotein metabolism, dyslipidemia, and nonalcoholic fatty liver disease. *Semin Liver Dis*. 2013;33(4):380-8.
292. DeFilippis AP, Blaha MJ, Martin SS, Reed RM, Jones SR, Nasir K, et al. Nonalcoholic fatty liver disease and serum lipoproteins: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2013;227(2):429-36.

293. Silbernagel G, Lutjohann D, Machann J, Meichsner S, Kantartzis K, Schick F, et al. Cholesterol synthesis is associated with hepatic lipid content and dependent on fructose/glucose intake in healthy humans. *Exp Diabetes Res*. 2012;2012:361863.
294. Jump DB. Fatty acid regulation of hepatic lipid metabolism. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care*. 2011;14(2):115-20.
295. Benard O, Lim J, Apontes P, Jing X, Angeletti RH, Chi Y. Impact of high-fat diet on the proteome of mouse liver. *The Journal of nutritional biochemistry*. 2016;3:10-9.
296. Guilherme A, Virbasius JV, Puri V, Czech MP. Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2008;9(5):367-77.
297. Mozaffarian D, Katan MB, Ascherio A, Stampfer MJ, Willett WC. Trans fatty acids and cardiovascular disease. *N Engl J Med*. 2006;354(15):1601-13.
298. Nishiokada A, Miyoshi M, Fujiwara M, Aoyama-Ishikawa M, Maeshige N, Takahashi M, et al. Changes of hepatic lipid mediators associated with intake of high-fat diet for 12 weeks in endotoxemic rats using LC-ESI-MS/MS. *Clin Nutr*. 2015;34(4):685-93.
299. Malhi H, Bronk SF, Werneburg NW, Gores GJ. Free fatty acids induce JNK-dependent hepatocyte lipoapoptosis. *J Biol Chem*. 2006;281(17):12093-101.
300. Wang D, Wei Y, Pagliassotti MJ. Saturated fatty acids promote endoplasmic reticulum stress and liver injury in rats with hepatic steatosis. *Endocrinology*. 2006;147(2):943-51.
301. Galbo T, Perry RJ, Jurczak MJ, Camporez JP, Alves TC, Kahn M, et al. Saturated and unsaturated fat induce hepatic insulin resistance independently of TLR-4 signaling and ceramide synthesis in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110(31):12780-5.
302. Parks E, Yki-Jarvinen H, Hawkins M. Out of the frying pan: dietary saturated fat influences nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Invest*. 2017;127(2):454-6.
303. Hodson L, Fielding BA. Stearoyl-CoA desaturase: rogue or innocent bystander? *Prog Lipid Res*. 2013;52(1):15-42.
304. Puri P, Baillie RA, Wiest MM, Mirshahi F, Choudhury J, Cheung O, et al. A lipidomic analysis of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2007;46(4):1081-90.
305. Wei Y, Wang D, Topczewski F, Pagliassotti MJ. Saturated fatty acids induce endoplasmic reticulum stress and apoptosis independently of ceramide in liver cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2006;291(2):E275-81.
306. de Vries JE, Vork MM, Roemen TH, de Jong YF, Cleutjens JP, van der Vusse GJ, et al. Saturated but not mono-unsaturated fatty acids induce apoptotic cell death in neonatal rat ventricular myocytes. *J Lipid Res*. 1997;38(7):1384-94.

307. Suganami T, Tanimoto-Koyama K, Nishida J, Itoh M, Yuan X, Mizuarai S, et al. Role of the Toll-like receptor 4/NF-kappaB pathway in saturated fatty acid-induced inflammatory changes in the interaction between adipocytes and macrophages. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007;27(1):84-91.
308. Davis JE, Gabler NK, Walker-Daniels J, Spurlock ME. Tlr-4 deficiency selectively protects against obesity induced by diets high in saturated fat. *Obesity (Silver Spring).* 2008;16(6):1248-55.
309. Jacob PS, de Meneses Fujii TM, Yamada M, Borges MC, Pantaleao LC, Borelli P, et al. Isocaloric intake of a high-fat diet promotes insulin resistance and inflammation in Wistar rats. *Cell biochemistry and function.* 2013;31(3):244-53.
310. Suwa M, Nakano H, Radak Z, Kumagai S. Short-term adenosine monophosphate-activated protein kinase activator 5-aminoimidazole-4-carboxamide-1-beta-D-ribofuranoside treatment increases the sirtuin 1 protein expression in skeletal muscle. *Metabolism.* 2011;60(3):394-403.
311. Hijona E, Hijona L, Arenas JI, Bujanda L. Inflammatory mediators of hepatic steatosis. *Mediators Inflamm.* 2010;2010:837419.
312. Pardo V, Gonzalez-Rodriguez A, Muntane J, Kozma SC, Valverde AM. Role of hepatocyte S6K1 in palmitic acid-induced endoplasmic reticulum stress, lipotoxicity, insulin resistance and in oleic acid-induced protection. *Food Chem Toxicol.* 2015;80:298-309.
313. Reyes-Quiroz ME, Alba G, Saenz J, Santa-Maria C, Geniz I, Jimenez J, et al. Oleic acid modulates mRNA expression of liver X receptor (LXR) and its target genes ABCA1 and SREBP1c in human neutrophils. *Eur J Nutr.* 2014;53(8):1707-17.
314. Gu LY, Qiu LW, Chen XF, Lu L, Mei ZC. Oleic acid-induced hepatic steatosis is coupled with downregulation of aquaporin 3 and upregulation of aquaporin 9 via activation of p38 signaling. *Horm Metab Res.* 2015;47(4):259-64.
315. Araya J, Rodrigo R, Videla LA, Thielemann L, Orellana M, Pettinelli P, et al. 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).* 2004;106(6):635-43.
316. Yang XR, Wat E, Wang YP, Ko CH, Koon CM, Siu WS, et al. Effect of Dietary Cocoa Tea (*Camellia ptilophylla*) Supplementation on High-Fat Diet-Induced Obesity, Hepatic Steatosis, and Hyperlipidemia in Mice. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2013;2013:783860.
317. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC, Jr. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr.* 1993;123(11):1939-51.
318. Nergiz-Unal R, Kuijpers MJ, de Witt SM, Heeneman S, Feijge MA, Garcia Caraballo SC, et al. Atheroprotective effect of dietary walnut intake in ApoE-

- deficient mice: involvement of lipids and coagulation factors. *Thromb Res.* 2013;131(5):411-7.
319. Kuijpers MJ, Gilio K, Reitsma S, Nergiz-Unal R, Prinzen L, Heeneman S, et al. Complementary roles of platelets and coagulation in thrombus formation on plaques acutely ruptured by targeted ultrasound treatment: a novel intravital model. *J Thromb Haemost.* 2009;7(1):152-61.
  320. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia.* 1985;28(7):412-9.
  321. Motamed N, Miresmail SJ, Rabiee B, Keyvani H, Farahani B, Maadi M, et al. Optimal cutoff points for HOMA-IR and QUICKI in the diagnosis of metabolic syndrome and non-alcoholic fatty liver disease: A population based study. *J Diabetes Complications.* 2016;30(2):269-74.
  322. Antunes LC, Elkfury JL, Jornada MN, Foletto KC, Bertoluci MC. Validation of HOMA-IR in a model of insulin-resistance induced by a high-fat diet in Wistar rats. *Arch Endocrinol Metab.* 2016;60(2):138-42.
  323. Vuguin P, Saenger P, Dimartino-Nardi J. Fasting glucose insulin ratio: a useful measure of insulin resistance in girls with premature adrenarche. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86(10):4618-21.
  324. Burnette WN. "Western blotting": electrophoretic transfer of proteins from sodium dodecyl sulfate--polyacrylamide gels to unmodified nitrocellulose and radiographic detection with antibody and radioiodinated protein A. *Anal Biochem.* 1981;112(2):195-203.
  325. Smith PK, Krohn RI, Hermanson GT, Mallia AK, Gartner FH, Provenzano MD, et al. Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Anal Biochem.* 1985;150(1):76-85.
  326. Thorpe GH, Kricka LJ, Moseley SB, Whitehead TP. Phenols as enhancers of the chemiluminescent horseradish peroxidase-luminol-hydrogen peroxide reaction: application in luminescence-monitored enzyme immunoassays. *Clin Chem.* 1985;31(8):1335-41.
  327. Liu Q, Bengmark S, Qu S. The role of hepatic fat accumulation in pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Lipids Health Dis.* 2010;9:42.
  328. Krawczyk M, Bonfrate L, Portincasa P. Nonalcoholic fatty liver disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2010;24(5):695-708.
  329. Bocarsly ME, Powell ES, Avena NM, Hoebel BG. High-fructose corn syrup causes characteristics of obesity in rats: increased body weight, body fat and triglyceride levels. *Pharmacol Biochem Behav.* 2010;97(1):101-6.
  330. Crescenzo R, Bianco F, Coppola P, Mazzoli A, Valiante S, Liverini G, et al. Adipose tissue remodeling in rats exhibiting fructose-induced obesity. *Eur J Nutr.* 2014;53(2):413-9.
  331. Rodriguez Lanzi C, Perdicaro DJ, Antonioli A, Fontana AR, Miatello RM, Bottini R, et al. Grape pomace and grape pomace extract improve insulin

- signaling in high-fat-fructose fed rat-induced metabolic syndrome. *Food Funct.* 2016;7(3):1544-53.
332. Peredo HA, Lee H, Donoso AS, Andrade V, Sanchez Eluchans N, Puyo AM. A high-fat plus fructose diet produces a vascular prostanoid alterations in the rat. *Auton Autacoid Pharmacol.* 2015;34(3-4):35-40.
333. Castro MC, Massa ML, Arbelaez LG, Schinella G, Gagliardino JJ, Francini F. Fructose-induced inflammation, insulin resistance and oxidative stress: A liver pathological triad effectively disrupted by lipoic acid. *Life sciences.* 2015;137:1-6.
334. Haring SJ, Harris RB. The relation between dietary fructose, dietary fat and leptin responsiveness in rats. *Physiol Behav.* 2011;104(5):914-22.
335. Lindqvist A, Baelemans A, Erlanson-Albertsson C. Effects of sucrose, glucose and fructose on peripheral and central appetite signals. *Regul Pept.* 2008;150(1-3):26-32.
336. Teff KL, Elliott SS, Tschop M, Kieffer TJ, Rader D, Heiman M, et al. Dietary fructose reduces circulating insulin and leptin, attenuates postprandial suppression of ghrelin, and increases triglycerides in women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(6):2963-72.
337. de Wit N, Derrien M, Bosch-Vermeulen H, Oosterink E, Keshtkar S, Duval C, et al. Saturated fat stimulates obesity and hepatic steatosis and affects gut microbiota composition by an enhanced overflow of dietary fat to the distal intestine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2012;303(5):G589-99.
338. Yoo S, Ahn H, Park YK. High Dietary Fructose Intake on Cardiovascular Disease Related Parameters in Growing Rats. *Nutrients.* 2016;9(1).
339. Sinitskaya N, Gourmelen S, Schuster-Klein C, Guardiola-Lemaitre B, Pevet P, Challet E. Increasing the fat-to-carbohydrate ratio in a high-fat diet prevents the development of obesity but not a prediabetic state in rats. *Clin Sci (Lond).* 2007;113(10):417-25.
340. Posey KA, Clegg DJ, Printz RL, Byun J, Morton GJ, Vivekanandan-Giri A, et al. Hypothalamic proinflammatory lipid accumulation, inflammation, and insulin resistance in rats fed a high-fat diet. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2009;296(5):E1003-12.
341. Bruder-Nascimento T, Ekeledo OJ, Anderson R, Le HB, Belin de Chantemele EJ. Long Term High Fat Diet Treatment: An Appropriate Approach to Study the Sex-Specificity of the Autonomic and Cardiovascular Responses to Obesity in Mice. *Front Physiol.* 2017;8:32.
342. de Wilde J, Smit E, Mohren R, Boekschoten MV, de Groot P, van den Berg SA, et al. An 8-week high-fat diet induces obesity and insulin resistance with small changes in the muscle transcriptome of C57BL/6J mice. *J Nutrigenet Nutrigenomics.* 2009;2(6):280-91.
343. Matveyenko AV, Gurlo T, Daval M, Butler AE, Butler PC. Successful versus failed adaptation to high-fat diet-induced insulin resistance: the role of IAPP-induced beta-cell endoplasmic reticulum stress. *Diabetes.* 2009;58(4):906-16.

344. Cho J, Lee I, Kim D, Koh Y, Kong J, Lee S, et al. Effect of aerobic exercise training on non-alcoholic fatty liver disease induced by a high fat diet in C57BL/6 mice. *J Exerc Nutrition Biochem*. 2014;18(4):339-46.
345. Chakraborty TR, Donthireddy L, Adhikary D, Chakraborty S. Long-Term High Fat Diet Has a Profound Effect on Body Weight, Hormone Levels, and Estrous Cycle in Mice. *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research*. 2016;22:1601-8.
346. Jurgens H, Haass W, Castaneda TR, Schurmann A, Koebnick C, Dombrowski F, et al. Consuming fructose-sweetened beverages increases body adiposity in mice. *Obes Res*. 2005;13(7):1146-56.
347. de Moura RF, Ribeiro C, de Oliveira JA, Stevanato E, de Mello MA. Metabolic syndrome signs in Wistar rats submitted to different high-fructose ingestion protocols. *Br J Nutr*. 2009;101(8):1178-84.
348. Tranchida F, Tchiakpe L, Rakotoniaina Z, Deyris V, Ravion O, Hiol A. Long-term high fructose and saturated fat diet affects plasma fatty acid profile in rats. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2012;13(4):307-17.
349. Leibel RL, Hirsch J, Appel BE, Checani GC. Energy intake required to maintain body weight is not affected by wide variation in diet composition. *Am J Clin Nutr*. 1992;55(2):350-5.
350. Hill JO, Peters JC, Reed GW, Schlundt DG, Sharp T, Greene HL. Nutrient balance in humans: effects of diet composition. *Am J Clin Nutr*. 1991;54(1):10-7.
351. Havel PJ. Dietary fructose: implications for dysregulation of energy homeostasis and lipid/carbohydrate metabolism. *Nutr Rev*. 2005;63(5):133-57.
352. Koo HY, Wallig MA, Chung BH, Nara TY, Cho BH, Nakamura MT. Dietary fructose induces a wide range of genes with distinct shift in carbohydrate and lipid metabolism in fed and fasted rat liver. *Biochim Biophys Acta*. 2008;1782(5):341-8.
353. Strauss BJ, Gibson PR, Stroud DB, Borovnicar DJ, Xiong DW, Keogh J. Total body dual X-ray absorptiometry is a good measure of both fat mass and fat-free mass in liver cirrhosis compared to "gold-standard" techniques. Melbourne Liver Group. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2000;904:55-62.
354. Koteish A, Diehl AM. Animal models of steatosis. *Semin Liver Dis*. 2001;21(1):89-104.
355. Hageman RS, Wagener A, Hantschel C, Svenson KL, Churchill GA, Brockmann GA. High-fat diet leads to tissue-specific changes reflecting risk factors for diseases in DBA/2J mice. *Physiol Genomics*. 2010;42(1):55-66.
356. Bortolotti F, Guido M. Reversal of liver cirrhosis: a desirable clinical outcome and its pathogenic background. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2007;44(4):401-6.
357. Funkat A, Massa CM, Jovanovska V, Proietto J, Andrikopoulos S. Metabolic adaptations of three inbred strains of mice (C57BL/6, DBA/2, and 129T2) in response to a high-fat diet. *J Nutr*. 2004;134(12):3264-9.

358. Tortoriello DV, McMinn J, Chua SC. Dietary-induced obesity and hypothalamic infertility in female DBA/2J mice. *Endocrinology*. 2004;145(3):1238-47.
359. Schwarz JM, Neese RA, Turner S, Dare D, Hellerstein MK. Short-term alterations in carbohydrate energy intake in humans. Striking effects on hepatic glucose production, de novo lipogenesis, lipolysis, and whole-body fuel selection. *J Clin Invest*. 1995;96(6):2735-43.
360. Ngo Sock ET, Le KA, Ith M, Kreis R, Boesch C, Tappy L. Effects of a short-term overfeeding with fructose or glucose in healthy young males. *Br J Nutr*. 2010;103(7):939-43.
361. Le KA, Ith M, Kreis R, Faeh D, Bortolotti M, Tran C, et al. Fructose overconsumption causes dyslipidemia and ectopic lipid deposition in healthy subjects with and without a family history of type 2 diabetes. *Am J Clin Nutr*. 2009;89(6):1760-5.
362. Le KA, Faeh D, Stettler R, Ith M, Kreis R, Vermathen P, et al. A 4-wk high-fructose diet alters lipid metabolism without affecting insulin sensitivity or ectopic lipids in healthy humans. *Am J Clin Nutr*. 2006;84(6):1374-9.
363. Loguercio C, Nardone G, Siculo P, Cuomo R, Del Vecchio C, Budillon G. Intravenous load of fructose and fructose 1,6-diphosphate: effects on uricemia in patients with nonalcoholic liver disease. *Am J Gastroenterol*. 1996;91(3):559-64.
364. Swarbrick MM, Stanhope KL, Elliott SS, Graham JL, Krauss RM, Christiansen MP, et al. Consumption of fructose-sweetened beverages for 10 weeks increases postprandial triacylglycerol and apolipoprotein-B concentrations in overweight and obese women. *Br J Nutr*. 2008;100(5):947-52.
365. Huynh M, Luiken JJ, Coumans W, Bell RC. Dietary fructose during the suckling period increases body weight and fatty acid uptake into skeletal muscle in adult rats. *Obesity (Silver Spring)*. 2008;16(8):1755-62.
366. Zivkovic AM, German JB, Sanyal AJ. Comparative review of diets for the metabolic syndrome: implications for nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Clin Nutr*. 2007;86(2):285-300.
367. Kohli R, Kirby M, Xanthakos SA, Softic S, Feldstein AE, Saxena V, et al. High-fructose, medium chain trans fat diet induces liver fibrosis and elevates plasma coenzyme Q9 in a novel murine model of obesity and nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 2010;52(3):934-44.
368. Arapostathi C, Tzanetakou IP, Kokkinos AD, Tentolouris NK, Vlachos IS, Donta IA, et al. A diet rich in monounsaturated fatty acids improves the lipid profile of mice previously on a diet rich in saturated fatty acids. *Angiology*. 2011;62(8):636-40.
369. Kris-Etherton PM, Pearson TA, Wan Y, Hargrove RL, Moriarty K, Fishell V, et al. High-monounsaturated fatty acid diets lower both plasma cholesterol and triacylglycerol concentrations. *Am J Clin Nutr*. 1999;70(6):1009-15.



370. Curb JD, Wergowske G, Dobbs JC, Abbott RD, Huang B. Serum lipid effects of a high-monounsaturated fat diet based on macadamia nuts. *Arch Intern Med.* 2000;160(8):1154-8.
371. Rajaram S, Burke K, Connell B, Myint T, Sabate J. A monounsaturated fatty acid-rich pecan-enriched diet favorably alters the serum lipid profile of healthy men and women. *J Nutr.* 2001;131(9):2275-9.
372. Appel LJ, Sacks FM, Carey VJ, Obarzanek E, Swain JF, Miller ER, 3rd, et al. Effects of protein, monounsaturated fat, and carbohydrate intake on blood pressure and serum lipids: results of the OmniHeart randomized trial. *JAMA.* 2005;294(19):2455-64.
373. Boden G, Chen X. Effects of fat on glucose uptake and utilization in patients with non-insulin-dependent diabetes. *J Clin Invest.* 1995;96(3):1261-8.
374. Vikram A, Jena GB, Ramarao P. Increased cell proliferation and contractility of prostate in insulin resistant rats: linking hyperinsulinemia with benign prostate hyperplasia. *Prostate.* 2010;70(1):79-89.
375. Liu IM, Tzeng TF, Liou SS. A Chinese Herbal Decoction, Dang Gui Bu Xue Tang, Prepared from Radix Astragali and Radix Angelicae sinensis, Ameliorates Insulin Resistance Induced by A High-Fructose Diet in Rats. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2011;2011:248231.
376. Yadav H, Jain S, Yadav M, Sinha PR, Prasad GB, Marotta F. Epigenomic derangement of hepatic glucose metabolism by feeding of high fructose diet and its prevention by Rosiglitazone in rats. *Dig Liver Dis.* 2009;41(7):500-8.
377. Francini F, Castro MC, Schinella G, Garcia ME, Maiztegui B, Raschia MA, et al. Changes induced by a fructose-rich diet on hepatic metabolism and the antioxidant system. *Life sciences.* 2010;86(25-26):965-71.
378. Incir S, Bolayirli IM, Inan O, Aydin MS, Bilgin IA, Sayan I, et al. The effects of genistein supplementation on fructose induced insulin resistance, oxidative stress and inflammation. *Life sciences.* 2016;158:57-62.
379. Ouyang X, Cirillo P, Sautin Y, McCall S, Bruchette JL, Diehl AM, et al. Fructose consumption as a risk factor for non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol.* 2008;48(6):993-9.
380. Iida T, Yamada T, Hayashi N, Okuma K, Izumori K, Ishii R, et al. Reduction of abdominal fat accumulation in rats by 8-week ingestion of a newly developed sweetener made from high fructose corn syrup. *Food Chem.* 2013;138(2-3):781-5.
381. Bunger R, Sommer O, Walter G, Scholz R. Fructose, a substrate for energy-yielding metabolism in the heart? *Hoppe Seylers Z Physiol Chem.* 1978;359(7):819-24.
382. Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(6):2548-56.
383. Kadowaki T, Yamauchi T, Kubota N, Hara K, Ueki K, Tobe K. Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. *J Clin Invest.* 2006;116(7):1784-92.

384. Tilg H, Moschen AR. Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. *Nat Rev Immunol.* 2006;6(10):772-83.
385. Cho WC, Yip TT, Chung WS, Leung AW, Cheng CH, Yue KK. Differential expression of proteins in kidney, eye, aorta, and serum of diabetic and non-diabetic rats. *J Cell Biochem.* 2006;99(1):256-68.
386. Terra X, Montagut G, Bustos M, Llopiz N, Ardevol A, Blade C, et al. Grape-seed procyanidins prevent low-grade inflammation by modulating cytokine expression in rats fed a high-fat diet. *The Journal of nutritional biochemistry.* 2009;20(3):210-8.
387. Abdelmalek MF, Suzuki A, Guy C, Unalp-Arida A, Colvin R, Johnson RJ, et al. Increased fructose consumption is associated with fibrosis severity in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2010;51(6):1961-71.
388. Zheng J, Peng C, Ai Y, Wang H, Xiao X, Li J. Docosahexaenoic Acid Ameliorates Fructose-Induced Hepatic Steatosis Involving ER Stress Response in Primary Mouse Hepatocytes. *Nutrients.* 2016;8(1).
389. Zhang H, Li Y, Hu J, Shen WJ, Singh M, Hou X, et al. Effect of Creosote Bush-Derived NDGA on Expression of Genes Involved in Lipid Metabolism in Liver of High-Fructose Fed Rats: Relevance to NDGA Amelioration of Hypertriglyceridemia and Hepatic Steatosis. *PLoS One.* 2015;10(9):e0138203.
390. Softic S, Cohen DE, Kahn CR. Role of Dietary Fructose and Hepatic De Novo Lipogenesis in Fatty Liver Disease. *Dig Dis Sci.* 2016;61(5):1282-93.
391. Lee HW, Ryu HW, Kang MG, Park D, Lee H, Shin HM, et al. Potent inhibition of monoamine oxidase A by decursin from *Angelica gigas* Nakai and by wogonin from *Scutellaria baicalensis* Georgi. *Int J Biol Macromol.* 2017;97:598-605.
392. Jang YJ, Jung CH, Ahn J, Gwon SY, Ha TY. Shikonin inhibits adipogenic differentiation via regulation of mir-34a-FKBP1B. *Biochem Biophys Res Commun.* 2015;467(4):941-7.
393. Rodriguez-Calvo R, Barroso E, Serrano L, Coll T, Sanchez RM, Merlos M, et al. Atorvastatin prevents carbohydrate response element binding protein activation in the fructose-fed rat by activating protein kinase A. *Hepatology.* 2009;49(1):106-15.
394. Hyakukoku M, Higashiura K, Ura N, Murakami H, Yamaguchi K, Wang L, et al. Tissue-specific impairment of insulin signaling in vasculature and skeletal muscle of fructose-fed rats. *Hypertens Res.* 2003;26(2):169-76.
395. Baena M, Sanguesa G, Hutter N, Beltran JM, Sanchez RM, Roglans N, et al. Liquid fructose in Western-diet-fed mice impairs liver insulin signaling and causes cholesterol and triglyceride loading without changing calorie intake and body weight. *The Journal of nutritional biochemistry.* 2017;40:105-15.
396. Huang DW, Chang WC, Wu JS, Shih RW, Shen SC. Vescalagin from Pink Wax Apple [*Syzygium samarangense* (Blume) Merrill and Perry] Alleviates Hepatic Insulin Resistance and Ameliorates Glycemic Metabolism

- Abnormality in Rats Fed a High-Fructose Diet. *J Agric Food Chem*. 2016;64(5):1122-9.
397. Vasiljevic A, Bursac B, Djordjevic A, Milutinovic DV, Nikolic M, Matic G, et al. Hepatic inflammation induced by high-fructose diet is associated with altered 11betaHSD1 expression in the liver of Wistar rats. *Eur J Nutr*. 2014;53(6):1393-402.
398. Hardie DG. AMPK: a key regulator of energy balance in the single cell and the whole organism. *Int J Obes (Lond)*. 2008;32 Suppl 4:S7-12.
399. Hashem RM, Rashed LA, Hassanin KM, Hetta MH, Ahmed AO. Effect of 6-gingerol on AMPK- NF-kappaB axis in high fat diet fed rats. *Biomed Pharmacother*. 2017;88:293-301.
400. Yang T-H, Yao H-T, Chiang M-T. Red algae (*Gelidium amansii*) hot-water extract ameliorates lipid metabolism in hamsters fed a high-fat diet. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2017.
401. Deer J, Koska J, Ozias M, Reaven P. Dietary models of insulin resistance. *Metabolism*. 2015;64(2):163-71
402. Scorletti E, Byrne CD. Omega-3 fatty acids, hepatic lipid metabolism, and nonalcoholic fatty liver disease. *Annu Rev Nutr*. 2013;33:231-48.
403. Calder PC. Polyunsaturated fatty acids and inflammation. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2006;75(3):197-202.
404. Ajuwon KM, Spurlock ME. Palmitate activates the NF-kappaB transcription factor and induces IL-6 and TNFalpha expression in 3T3-L1 adipocytes. *J Nutr*. 2005;135(8):1841-6.
405. Yamada K, Mizukoshi E, Sunagozaka H, Arai K, Yamashita T, Takeshita Y, et al. Response to Importance of confounding factors in assessing fatty acid compositions in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Liver Int*. 2015;35(6):1773.
406. Zhou GY, Yi YX, Jin LX, Lin W, Fang PP, Lin XZ, et al. The protective effect of juglanin on fructose-induced hepatitis by inhibiting inflammation and apoptosis through TLR4 and JAK2/STAT3 signaling pathways in fructose-fed rats. *Biomed Pharmacother*. 2016;81:318-28.
407. Donato AJ, Henson GD, Morgan RG, Enz RA, Walker AE, Lesniewski LA. TNF-alpha impairs endothelial function in adipose tissue resistance arteries of mice with diet-induced obesity. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2012;303(6):H672-9.
408. Swaroop JJ, Rajarajeswari D, Naidu JN. Association of TNF-alpha with insulin resistance in type 2 diabetes mellitus. *Indian J Med Res*. 2012;135:127-30.

## 8. EKLER

### Ek 1. Etik Kurul Onayı



**HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ**  
**HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU**

06100 Sıhhiye-Ankara  
Telefon: 0 (312) 305 1090-1082 • Faks: 0 (312) 310 0580  
www.etikkurul.hacettepe.edu.tr/index\_hdk.php

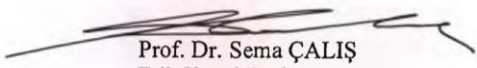
Sa. [REDACTED]  
Sayı: 52338575 - 21

#### HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL KARARI

**TOPLANTI TARİHİ** : 18.02.2014 (SALI)  
**TOPLANTI SAYISI** : 2014/01  
**DOSYA KAYIT NUMARASI** : 2014/01  
**KARAR NUMARASI** : 2014/01-12  
**ARAŞTIRMA YÜRÜTÜCÜSÜ** : Yrd. Doç. Dr. Reyhan Nergiz ÜNAL  
**HAYVAN DENEYLERİNDEN**  
**SORUMLU ARAŞTIRMACI** : Yrd. Doç. Dr. Reyhan Nergiz ÜNAL, Araş. Gör.  
Funda TAMER ve Araş. Gör. Armağan YÜRÜK  
**YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR** : -  
**ONAYLANAN HAYVAN TÜRÜ ve** : 40 adet C57BI/6 fare  
**SAYISI**

Üniversitemiz Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü öğretim üyelerinden Yrd. Doç. Dr. Reyhan Nergiz ÜNAL'ın araştırma yürütücüsü olduğu 2014/01 kayıt numaralı "*Farelerde Diyet Karbonhidrat ve Yağın Karaciğerde İnflamasyon ve Lipogenez Üzerine Olası Etkileri*" isimli çalışma Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi'ne göre uygun bulunarak oy birliği ile onaylanmasına karar verilmiştir.

Sorumlu araştırmacı deneylere başlangıç tarihini Etik Kurula bildirmekle yükümlüdür.

  
Prof. Dr. Sema ÇALIŞ  
Etik Kurul Başkanı

## 9. ÖZGEÇMİŞ

Lisans eğitimini 2007 yılına Hacettepe Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü'nde tamamlamıştır. Mezuniyetini takiben Gülhane Askeri Tıp Akademisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi mutfağında diyetisyen olarak çalışmış ve aynı dönemde beslenme bilimleri alanında yüksek lisans eğitimine bağlamıştır. 2008 yılında Hacettepe Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü'nde araştırma görevlisi olarak çalışmaya başlamıştır ve halen bu göreve devam etmektedir. Doktora eğitimi içerisinde laboratuvar hayvanları kullanımı sertifikası almış, beslenme ve metabolizma konuları ile ilişkili çeşitli biyokimyasal analiz yöntemlerini kullanmıştır. Tayland'da Uluslararası Beslenme Kongresi ve Amerika'da Deneysel Biyoloji kongrelerine bildiriler ile katılmıştır. Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'nun çeşitli ulusal ve uluslararası kapsamlı bilimsel projelerinde (TUBITAK 1001, TUBITAK 3501) yardımcı araştırmacı olarak görev yapmaktadır.