

T.C.

**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ**

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI



**DENEYSEL YÜKSEK YAĞLI BESLENME MODELİNDE KURKUMİN
VE KAPSAİSİN UYGULAMASININ KARACİĞER YAĞLANMASI
ÜZERİNE ETKİLERİ**

(Uzmanlık Tezi)

Dr. Muhammed SEYİTHANOĞLU

Tez Danışmanı:

Prof. Dr. Yıldız ÖNER-İYİDOĞAN

**İSTANBUL
2015**

T.C.

**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ**

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI



**DENEYSEL YÜKSEK YAĞLI BESLENME MODELİNDE KURKUMİN
VE KAPSAİSİN UYGULAMASININ KARACİĞER YAĞLANMASI
ÜZERİNE ETKİLERİ**

(Uzmanlık Tezi)

Dr. Muhammed SEYİTHANOĞLU

Tez Danışmanı:

Prof. Dr. Yıldız ÖNER-İYİDOĞAN

**İSTANBUL
2015**

Ö N S Ö Z

*Kendileriyle birlikte çalışmaktan ve kendilerini tanımaktan mutluluk duyduğum, bana güvendiğini her daim hissettiğim, güvenini boşa çıkarmamak adına kendime daha çok şey katmama vesile olan sevgili hocam ve tez danışmanım **Prof. Dr. Yıldız Öner-İyidoğan' a***

*Çalışma aşkı ve şevkine gıpta ettiğim, sabır ve hoşgörüsüne hayran olduğum biyokimya camiasının değeri Anabilim Dalı başkanımız saygıdeğer hocam **Prof. Dr. Müjdat Uysal' a***

*Ufku ve bilgi derinliğiyle mesleki ve sosyal hayatımda yön bulmama yardımcı olacak paylaşımlarda bulunduğum, hakettiği mutluluğu yaşamasını çok istediğim, sevgi ve saygı duyduğum hocam **Prof. Dr. Figen Melek Gürdöl' e***

*Asistanlık hayatımın başlangıcında biyokimyacı nosyonu kazanmamda çok emekleri olan, üsluplarının naifliğine hayran olduğum ve kendime örnek almaya çalıştığım saygıdeğer hocam **Prof. Dr. Necla Koçak-Toker' e***

*Klinik biyokimya laboratuvarı alanında bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, klinik biyokimya laboratuvarı yönetim perspektifi kazanmama vesile olan başta Merkez Biyokimya Laboratuvarı sorumlusu **Prof. Dr. Beyhan Ömer olmak üzere, Prof. Dr. Nihal Salmayenli, Prof. Dr. Nilgün Sema Genç ve Doç. Dr. Ayşegül Sündüs Telci hocalarıma***

*Her zaman bilgisinden ve tecrübesinden yararlandığım, kalbinin temizliği yüzüne yansımış müstesna şahsiyetlerden biri olan hocam **Prof. Dr. Semra Doğru-Abbasoğlu'na***

*Beraber yaptığımız çalışmalar vesilesiyle ve sevgili hocam Prof. Dr. Yıldız Öner-İyidoğan vasıtasıyla tanıştığım, tanımaktan onur ve mutluluk duyduğum İstanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'ndan **Prof. Dr. Hikmet Koçak' a***

*Beraber yaptığımız çalışmalar vesilesiyle tanıdığım, laboratuvar tecrübesinden istifade ettiğim, bazen ablam bazen hocam İstanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'ndan **Yrd. Doç. Dr. Sevda Tanrıkulu-Küçük'e***

*Tezimin histolojik incelemelerini gerçekleştiren İstanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı'ndan **Yrd. Doç. Dr. Şule Beyhan-Özdaş' a***

II

*Asistanlık süresince yaptığım bilimsel çalışmalarda yardımını esirgemeyen, muhabbetiyle çalışırken keyif veren DETAE deney hayvanları laboratuvarından **Gökhan Oruç' a***

Huzurlu bir ortamda asistanlık yapmama vesile olan, desteklerini her zaman hissettiğim İstanbul Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı' nın tüm mensuplarına,

Doğumumdan bugüne hayatıma katkı yapan tüm tanıdığım ve tanımadığım insanlara

En içten teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Muhammed Seyithanoğlu

İstanbul, 2015

Bu tez İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 39642

İÇİNDEKİLER

ÖZET	1
ABSTRACT	2
1. GİRİŞ VE AMAÇ	3
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Yağlı karaciğer tanımı ve gelişim basamakları	
2.2. Yağlı karaciğer patogenezi	
2.3. Yağlı karaciğer fibrozis patogenezi	
2.4. Yağlı karaciğer histolojisi	
2.5. Diyet içeriğinin NAYKH üzerine etkisi	
2.6. AMP-ile aktiveleşen protein kinaz (AMPK)' ın sistemik enerji dengesi ve karaciğer yağlanması üzerine etkisi	
2.7. Leptin ve adiponektinin karaciğer yağlanmasına etkisi	
2.8. Fetuin-a ve yağlı karaciğer	
2.9. Kurkuminin karaciğer yağlanması üzerine etkisi	
2.10. Kapsaisin karaciğer yağlanması üzerine etkisi	
3. GEREÇ VE YÖNTEM	28
3.1. Gereçler	
3.2. Çalışma protokolü	
3.3. Serumda yapılan incelemeler	
3.4. Karaciğer dokusunda yapılan incelemeler	
3.5. Histolojik incelemeler	
3.6. İstatistik incelemeler	

4. BULGULAR	35
4.1. Yem Tüketimi ve Total Kalori Alımı ile İlgili Bulgular	
4.2. Sıçan Vücut Ağırlığındaki ve Karaciğer Ağırlığındaki Değişiklikler	
4.3. Serumda Yapılan İncelemeler	
4.4. Karaciğer Dokusunda Yapılan İncelemeler	
4.5. Korelasyonlar	
4.6. Karaciğer Dokusu Histolojik Bulguları	
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	49
6. KAYNAKLAR	54
7. ÖZGEÇMİŞ	67

KISALTMALAR LİSTESİ

4-HNE	4-hidroksinonenal
ACC	Asetil-KoA karboksilaz
ADP	Adenozin difosfat
AHSG	<i>Alpha-2-Heremans Schmid Glycoprotein; Fetuin-A</i>
ALT	Alanin aminotransferaz
AMP	Adenozin monofosfat
AMPK	AMP ile aktifleşen protein kinaz
ASH	Alkolik steatohepatit
AST	Aspartat aminotransferaz
ATP	Adenozin trifosfat
AYKH	Alkolik yağlı karaciğer hastalıkları
BCA	Bişinkoninik asit
ChREBP	Karbonhidrat düzenleyici eleman bağlayıcı protein
CPT-1	Karnitin palmitoil transferaz 1
CTGF	Bağ dokusu büyüme faktörü
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
GPAT	Gliserol 3 fosfat açıl transferaz
H+E	Hematoksilen-eozin
HMG-KoA redüktaz	3-Hidroksi 3-Metilglutaril KoA redüktaz
HSL	Hormon duyarlı lipaz
IL-8	İnterlökin-8
LDLr	Düşük yoğunluklu lipoprotein reseptörü
MCD	Malonil KoA dekarboksilaz
MetS	Metabolik sendrom
MUFAs	Tekli doymamış yağ asitleri
NASH	Alkole bağlı olmayan steatohepatit
NAYKH	Alkole bağlı olmayan karaciğer hastalığı
NF-κB	Nükleer faktör kappa-B
PBS	Fosfat tamponlu tuz çözeltisi
PNL	Polimorfnüveli lökositler
PPAR	Peroksizom proliferatör aktifleyici reseptör
PUFAs	Çoklu doymamış yağ asitleri

VI

PVDF	Poliviniliden florid
ROS	Reaktif oksijen türleri
SCD-1	Stearoil koA desaturaz-1
SDS	Sodyum dodesil sülfat
Sirt-1	Sirtuin-1
SNS	Sempatik sinir sistemi
SREBP-1c	Sterol düzenleyici bağlanma proteini-1c
SYA	Serbest yağ asidi
TG	Trigliserit
TGF-β	Dönüştürücü büyüme faktör-beta
Thr¹⁷²	Treonin
TK	Total kolesterol
TNF-α	Tümör nekroz faktör-alfa
TRPV1	Transiyen reseptör potansiyel vanilloid 1
UCP-2	Mitokondriyal uncoupling protein 2
VLDL	Çok düşük dansiteli lipoprotein

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1: Alkole bağlı olmayan karaciğer hastalıkları spektrumu

Şekil 2.2: Alkole bağlı olmayan karaciğer hastalıkları patogenezi

Şekil 2.3: İki Darbe Hipotezi

Şekil 2.4: Diyet ve alkole bağlı olmayan karaciğer hastalıkları

Şekil 2.5: Yağ yüketi mi ve alkole bağlı olmayan karaciğer hastalıkları

Şekil 2.6: Diyetle uyarılmış alkole bağlı olmayan karaciğer hastalıkları patofizyolojisi

Şekil 2.7: Karbonhidrat ve lipit metabolizmasında AMP-ile aktifleşen protein kinaz (AMPK) rolü

Şekil 2.8: AMP-ile aktifleşen protein kinaz (AMPK) kompleksi aktivasyonu

Şekil 2.9: Hepatik AMP-ile aktifleşen protein kinaz (AMPK) ile lipit metabolizmasının düzenlenmesi

Şekil 2.10: Karaciğer ve kasta AMP-ile aktifleşen protein kinaz (AMPK)'nın etki mekanizması

Şekil 2.11: AMP-ile aktifleşen protein kinaz (AMPK) etki mekanizması

Şekil 2.12: AMP-ile aktifleşen protein kinaz (AMPK), fetuin-A ve adiponektin düzeyleri ile alkole bağlı olmayan karaciğer hastalıkları ilişkisi.

Şekil 2.13: Kurkuminin kimyasal yapısı

Şekil 2.14: Kurkuminin metabolik etkileri.

Şekil 2.15: Yağlı diyetle uyarılmış karaciğerde kurkuminin koruyucu etki mekanizması

Şekil 2.16: Kapsaisin kimyasal yapısı

Şekil 2.17: NAYKH'nın önlenmesinde transiyen reseptör potansiyel vanilloid 1 (TRPV1) aktivasyonu modeli

Şekil 4.1: Kurkumin (KUR) ve kapsaisin (KAP) içeren yüksek yağlı diyetle (YYD) beslenen sıçanların serum leptin düzeyleri

VIII

Şekil 4.2: Kurkumin (KUR) ve kapsaisin (KAP) içeren yüksek yağlı diyetle (YYD) beslenen sıçanların serum fetuin-A düzeyleri

Şekil 4.3: Kurkumin (KUR) ve kapsaisin (KAP) içeren yüksek yağlı diyetle (YYD) beslenen sıçanların karaciğer dokusu lipit düzeyleri

Şekil 4.4: Kurkumin (KUR) ve kapsaisin (KAP) içeren yüksek yağlı diyetle (YYD) beslenen sıçanların karaciğer dokusunda fetuin-A, AMPK ve p-AMPK protein ekspresyonlarının Western blot yöntemi görüntüleri

Şekil 4.5: Kurkumin (KUR) ve kapsaisin (KAP) içeren yüksek yağlı diyetle (YYD) beslenen sıçanların karaciğer dokusu fetuin-A protein ekspresyonu (ortalama $\pm$ SD)

Şekil 4.6: Kurkumin (KUR) ve kapsaisin (KAP) içeren yüksek yağlı diyetle (YYD) beslenen sıçanların karaciğer dokusu AMPK protein ekspresyonu (ortalama $\pm$ SD)

Şekil 4.7: Kurkumin (KUR) ve kapsaisin (KAP) içeren yüksek yağlı diyetle (YYD) beslenen sıçanların karaciğer dokusu p-AMPK protein ekspresyonu (ortalama $\pm$ SD)

Şekil 4.8: Yüksek yağlı diyetle beslenen sıçanlarda serum fetuin-A düzeyleri ile karaciğer fetuin-A protein ekspresyonu regresyon grafiği

Şekil 4.9: Yüksek yağlı diyetle beslenen sıçanlarda serum leptin düzeyleri ile sıçan kesim ağırlıkları regresyon grafiği

Şekil 4.10: Yüksek yağlı diyetle beslenen sıçanlarda karaciğer trigliserit düzeyleri ile kolesterol düzeyleri regresyon grafiği

Şekil 4.11: Kurkumin (KUR) ve kapsaisin (KAP) içeren yüksek yağlı diyetle (YYD) beslenen sıçanların karaciğer dokusu yağlanma düzeyi skor değerlendirmesi

RESİMLER LİSTESİ

Resim 4.1: Kurkumin (KUR) ve kapsaisin (KAP) içeren yüksek yağlı diyetle (YYD) beslenen sıçanların karaciğer dokularındaki histolojik görünüm (H+E; 40x)

Resim 4.2: Kurkumin (KUR) ve kapsaisin (KAP) içeren yüksek yağlı diyetle (YYD) beslenen sıçanların karaciğer dokularındaki histolojik görünüm (H+E; 100x)

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 3.1: Çalışmada kullanılan sıçan yem içerikleri

Tablo 4.1: Kurkumin (KUR) ve kapsaisin (KAP) içeren yüksek yağlı diyetle (YYD) beslenen sıçanların başlangıç ve bitiş vucüt ağırlıkları, ağırlık değişiminin yüzdeleri, karaciğer ağırlıkları, karaciğer indeksi, günlük yem tüketimleri ve kalori alımları

Tablo 4.2: Kurkumin (KUR) ve kapsaisin (KAP) içeren yüksek yağlı diyetle (YYD) beslenen sıçanların serum insülin, trigliserit ve total kolesterol düzeyleri ve serum aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT) aktiviteleri

Tablo 4.3: Kurkumin (KUR) ve kapsaisin (KAP) içeren yüksek yağlı diyetle (YYD) beslenen sıçanların serum adiponektin, leptin ve fetuin-A düzeyleri (Ortalama $\pm$ SD).

Tablo 4.4: Yüksek yağlı diyetle (YYD) ile beslenen sıçanların bazı deney sonuçlarının regresyon analizi

ÖZET

Amaç: Yüksek yağ içerikli beslenmeye bağlı görülen karaciğer yağlanması ile birçok transkripsiyon faktörünün aktive veya inhibe olduğu gösterilmiştir. Zerdeçal baharatının aktif maddesi olan kurkumin ve acı kırmızı biberin aktif bileşeni olan kapsaisin uygulamalarının AMP ile aktifleşen protein kinaz (AMPK) aktivasyonu ile karaciğer lipit birikimini ve inflamasyonu azaltabileceği düşünülmüş; ancak etki mekanizmaları henüz tam belirlenememiştir. Bu çalışmada amacımız, yüksek yağlı diyetle deneysel yağlı karaciğer oluşturulmuş sıçanlarda, kurkumin ve kapsaisinin karaciğer lipit birikimi ile AMPK ve fetuin-A ekspresyonları üzerine etkisini incelemek ve bunların serum adipokin düzeyleri ile etkileşimini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntemler: Sprague-Dawley erkek sıçanlar 5 gruba ayrılarak (n=8/grup) 16 hafta boyunca beslendi. Birinci gruba normal diyet, ikinci gruba kalorisinin % 60' ının yağdan karşılandığı yağlı diyet (YYD), diğer gruplara YYD' e karıştırılmış kurkumin (KUR; 1.5 g/ kg) ve/veya kapsaisin (KAP; 0.15 g/kg) verildi. Süre bitiminde hayvanlar sakrifiye edilerek, karaciğer dokusunda AMPK, p-AMPK ve fetuin-A ekspresyonları western blot yöntemi ile, doku trigliserit (TG) ve total kolesterol (TK) düzeyleri kolorimetrik yöntem ile, serumda fetuin-A, insülin, leptin ve adiponektin düzeyleri ise ticari ELİSA kitler ile ölçüldü. Diğer serum parametreleri otoanalizörde çalışıldı.

Bulgular: YYD uygulaması, karaciğerde TG ve TK düzeyleri ile fetuin-A ekspresyonunu, serumda fetuin-A, leptin ve insülin düzeylerini artırdı. Karaciğerde AMPK ve p-AMPK ekspresyonu ile serum adiponektin düzeyini, lipit ve karbonhidrat profilini ise etkilemedi. Histolojik bulgularımız YYD ile karaciğerde lipit birikimi oluştuğunu açıkça gösterdi. KUR ve KAP uygulaması karaciğer lipit depolanımını, kilo alımını, iştahı ve leptin düzeyini azaltırken insülin düzeylerini etkilemedi. Histolojik bulgularımıza göre de karaciğer yağlanmasına bağlı vakuolizasyon ve dejenerasyon KUR ve KAP' in ayrı ayrı uygulanması ile azaldı ve bu etki birlikte uygulama ile daha belirgindi. Karaciğerde fetuin-A ekspresyonu ise sadece KUR uygulaması ile anlamlı düzeyde azaldı.

Sonuç: Sonuç olarak, KUR ve KAP ın, özellikle birlikte kullanımı YYD ile beslenen sıçanlarda karaciğer yağlanmasını azalttı. Bu etkide; AMPK ve p-AMPK dışında başka yolların etkili olabileceği düşünüldü. Karaciğerde fetuin-A ekspresyonundaki baskılanmanın ise özellikle KUR etkisine duyarlı olabileceği sonucuna varıldı.

ABSTRACT

Title: The effects of curcumin and capsaicin supplementations on liver fat accumulation in high fat feeding model

Aim: Many transcription factors have been observed to be activated or inhibited along with fatty liver generated by high fat diets (HFD). Curcumin, active component of turmeric and capsaicin, active component of red pepper are known to reduce hepatic fat accumulation and inflammation by activation of AMP-activated kinase (AMPK), although the molecular mechanisms underlying these actions are not clear. The aim of this study is to investigate the effects of curcumin and capsaicin on hepatic fat accumulation, AMPK and fetuin-A expressions in rats fed HFD and to evaluate their interactions with serum adipokine levels.

Materials and Methods: Male Sprague-Dawley rats were divided to five groups (n=8/group). Rats received control diet, HFD (60% of total calories from fat), HFD containing capsaicin (0.15 g/kg) and/or curcumin (1.5 g/kg) for 16 weeks. At the end of the experiment, hepatic AMPK, p-AMPK and fetuin-A expressions were determined with western blotting method, liver triglycerides (TG), total cholesterol (TC) levels were measured with colorimetric methods and serum fetuin-A, insulin, leptin and adiponectin levels were detected using commercial ELISA kits. Serum biochemical parameters were measured by an autoanalyser.

Results: Although no changes were observed in AMPK and p-AMPK expressions, serum adiponectin levels and lipid and carbohydrate profiles, hepatic TG and TC levels, fetuin-A expression and serum fetuin-A, leptin and insulin levels were found increased by HFD. Our histological findings clearly showed hepatic lipid accumulation due HFD. Curcumin and capsaicin treatments significantly reduced hepatic fat accumulation, body weight gain, appetite and leptin levels; but insulin levels were not influenced. Histologic examination showed suppressed development of hepatic fat vacuolization and fatty degeneration by curcumin and capsaicin treatments, which was more evident by the simultaneous treatment of curcumin and capsaicin. Liver fetuin-A expression decreased significantly by curcumin treatment only.

Conclusion: These findings suggested that simultaneous treatment of curcumin and capsaicin attenuated hepatic fat accumulation in HFD fed rats. It seems that underlying mechanisms are not through AMPK and p-AMPK actions. The suppression of hepatic fetuin-A expression is observed to be especially sensitive to curcumin.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Gelişen yaşam koşullarının ve teknolojinin getirdiği sosyal sorunlardan biri, özellikle hazır gıdaların tüketiminin artması ile ortaya çıkan yağlı beslenme ve buna bağlı olarak gelişen obezite kaynaklı karaciğer yağlanmasıdır. Bu konuda yapılan hayvan çalışmalarında, obezite ve karaciğer yağlanması için deneysel bir model oluşturma amaçlı, yağ içerikleri farklı beslenme modelleri geliştirilmiştir. Özellikle kalorisinin % 60' ının yağdan karşılandığı diyet, western tipi beslenme şekline uygun kabul edilmiş ve yaklaşık iki aylık bir süre sonunda deney hayvanlarında obezite, dislipidemi ve karaciğer yağlanmasına neden olduğu gösterilmiştir (1).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, yağlı beslenme ile artan trigliserit (TG) depolanımının genellikle yağ dokusunda olduğunu, ancak kas ve karaciğerde de yağ birikiminin artış gösterdiğini bildirmiştir (2,3). Alkole bağlı olmayan karaciğer hastalığı (*non alkolik yağlı karaciğer hastalığı*;NAYKH) dünyada en sık rastlanan ve karaciğer yağ oranının, ağırlığının > % 5 olması ile tanımlanan, beraberinde metabolik sendrom (MetS), insülin direnci, inflamasyon ve oksidatif stresi de getiren bir karaciğer hastalığıdır (4).

AMP-ile aktifleşen protein kinaz (AMPK) karbonhidrat ve lipit metabolizmasını düzenleyen bir enzimdir (5). AMPK aktifleştirildiği zaman, hedef proteinleri fosforilleyerek enerji ve gıda alımını düzenlediği, karaciğerde katabolik yolları aktive ederek, anabolik yolları inhibe ettiği bildirilmiştir (6,7). Obezite ve NAYKH ile yakından ilişkili olan ve yağ dokusundan salgılanan adipokinlerden leptin ve adiponektinin karaciğerde, AMPK fosforilasyonu ve aktivasyonu yoluyla etki gösterdiği, besin alımını ve enerji harcanmasını düzenledikleri öne sürülmüştür (7,8)

Fetuin-A, NAYKH ile ilişkili olduğu ileri sürülen, karaciğerde sentezlenen bir glikoproteindir. Fetuin-A'nın MetS'un gelişiminde rol oynadığı ve insülin reseptörünün otofosforilasyonunu inhibe ettiği bildirilmiştir (9). Fetuin-A' nın karaciğerde TG birikimini arttırdığı ve NAYKH' li kişilerde serum fetuin-A düzeylerinin yükseldiği gösterilmiştir (10,11). AMPK ile fetuin-A arasında ilişki olduğu ve NAYKH' lı kişilerde hepatik AMPK'nın uyarılması sonucu fetuin-A ekspresyonunun azaldığı bildirilmiştir (12).

Zerdeçal baharatının aktif bileşeni kurkuminin (*Curcuma Longa*) ve acı kırmızı biberin aktif bileşeni kapsaisinin (*Capsicum annuum*) pek çok fizyolojik etkilerinin yanında, ortak özellikler göstererek, obezite kaynaklı inflamasyonu, kilo alımını ve karaciğer TG birikimini azalttıkları gösterilmiştir (13,14,15). Manjunatha ve Srinivasan 2006 yılında

yaptıkları bir çalışmada, kurkumin ve kapsaisinin birlikte uygulanmasının, sıçanlarda inflamasyonu azaltmada daha etkili olduğunu göstermişlerdir (16). Kurkuminin karaciğerde lipit metabolizması üzerine olan etkilerini AMPK aktivitesini arttırarak yaptığı bildirilmiştir. (17). 2013 yılında yaptığımız çalışmada, yüksek yağlı diyetle beslenen sıçanlarda kurkumin uygulamasının serum fetuin-A düzeylerini ve karaciğer TG miktarını azalttığı, bu etkinin AMPK'nın düzenleme mekanizması üzerinden olabileceği tartışılmıştır (15). Buna karşılık, kapsaisinin lipit metabolizması üzerine etki yollarını inceleyen çalışmalar son derece sınırlıdır. Kapsaisin'in adiponektin ekspresyonunu uyararak, obezite kaynaklı metabolik disfonksiyonu azalttığını bildiren (13) bir çalışmanın yanında; kapsaisinin NAYKH oluşumunu engelleme mekanizmasının transiyen reseptör potansiyel vanilloid 1 (TRPV1) aracılığı ile olduğunu öne süren farklı bir çalışma bulunmaktadır (18). Sonuçta kapsaisinin karaciğer yağlanmasını engelleyici etkisinin mekanizması henüz tam belirlenememiştir.

Bu çalışmada ilk amacımız, yüksek yağlı diyetle deneysel NAYKH oluşturulmuş sıçanlarda, kurkumin ve kapsaisinin birlikte uygulanmasının karaciğer yağlanması ile hepatik fetuin-A ekspresyonu üzerine etkisini incelemek; ekspresyon değişimlerinin serum düzeyleri üzerine yansımaları gözlemlemektir. İkinci amacımız ise; AMPK ve p-AMPK ekspresyonları ile fetuin-A, adiponektin ve leptin düzeyleri arasındaki ilişkiyi incelemek; bunların yağlı karaciğer modelinde kurkumin ve kapsaisin uygulamasına verdiği cevabı araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Yağlı Karaciğer Tanımı ve Gelişim Basamakları

Teknolojik olarak gelişmiş toplumlarda yüksek yağlı diyetlerle beslenme önemli bir sosyal sorun olarak görülmektedir. İnsan vücudunun, artan yağ depolanımına verebileceği yağ oksidasyonu yanıtı sınırlıdır. Yüksek yağlı beslenmeye bağlı yağ depolanımı, genellikle yağ dokusunda olmakla beraber, kas ve karaciğer dokusunda da görülmektedir. NAYKH karaciğerde biriken yağ miktarının, organ ağırlığının %5-%10' undan daha fazla olması şeklinde tanımlanır (3). Karaciğer yağlanması, özellikle TG' lerin karaciğerde depolanmasına bağlı, insülin direnci gelişimi ve insülin sinyal yolu defektleri ile ilişkili olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (4).

Karaciğer yağlanmasına bağlı hastalıklar olarak adlandırılan “Yağlı Karaciğer Hastalıkları” terminolojik olarak 3 ana grupta toplanabilir.(Şekil 2.1)

1. Alkolik yağlı karaciğer hastalıkları (AYKH)

- Alkolik yağlı karaciğer (alkolik steatoz)
- Alkolik steatohepatit (ASH)

2. Alkole bağlı olmayan yağlı karaciğer hastalıkları

- Alkole bağlı olmayan yağlı karaciğer (non-alkolik steatoz)
- Alkole bağlı olmayan steatohepatit (NASH)

3. Yağlı Siroz



Şekil 2.1: Alkole bağlı olmayan karaciğer hastalıkları spektrumu

Karaciğer yağlanması, bir histopatolojik bulgu olarak uzun yıllardan beri biliniyor olmasına rağmen, yakın zamana kadar özel bir hastalık olarak dikkate alınmamıştır. Bunun başlıca nedenlerinden biri, karaciğer yağlanmasının, çoğu zaman başka karaciğer hastalıklarının veya sistemik hastalıkların bir bulgusu olarak görülmesi ve bu hastalıkların klinik tablosu içerisinde değerlendirilmesidir (19). NAYKH, Ludwig ve arkadaşları tarafından ilk olarak 1980 yılında patolojik olarak alkolün yol açtığı karaciğer yağlanmasına benzeyen, ancak alkol kullanmayan hastalarda gelişen bir karaciğer sorunu olarak belirtilmiştir (20). Sonraki yıllarda, alkole bağlı olmayan karaciğer yağlanmalarının büyük kısmının hepatit bulgularını içermemesinden dolayı isimlendirmede karışıklıkların önüne geçilmesi için yeni bir tanımlama olan non alkolik yağlı karaciğer hastalığı ("*Nonalcoholic fatty liver disease*") kavramı öne çıkarılmıştır (21). NAYKH sınıfı içerisinde yer alan 'steatoz' selim seyirlidir, karaciğerde yağlanma vardır, ancak iltihabi infiltrasyon gelişmemiştir. Buna karşılık, NASH ise hiç alkol kullanmayan veya az miktarda (günde 20-30 gr' ın altında) alkol kullanan, yağlanma ile birlikte nekroinflamasyon ve fibrozis geliştiği kronik seyirli klinik tabloyu ifade etmektedir. Mikst tipte iltihabi infiltrasyon, hepatositlerde balonlaşma, bazılarında balonlaşmış hepatositler içinde yer alan asidofilik Mallory cisimcikleri ve fibrozis gibi bulgular gelişmiştir. Klinik spektrumun ilk basamağını steatoz oluşturmaktadır. Daha sonra çeşitli faktörlerin etkisiyle gelişen inflamasyon, klinik olarak daha önemli olan, siroza kadar ilerleyebilen, hatta ölüme yol açabilen olaylar dizisini başlatmaktadır (21).

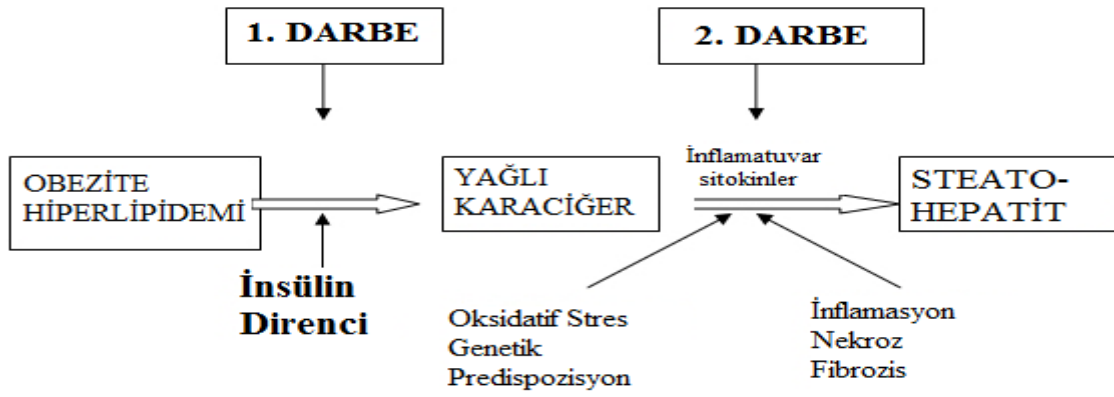
2.2. Yağlı Karaciğer Patogenezi

Karaciğerde yağlanmanın nedenini dört süreçten herhangi birine bağlamak mümkündür:

1. Periferik yağ dokusundan serbest yağ asidi salınımında artış ve karaciğer yağ asidi alımındaki artış,
2. Karaciğer de novo serbest yağ asidi sentezinde artış,
3. Karaciğer serbest yağ asidi β -oksidasyonunda azalma
4. Karaciğerden çok düşük dansiteli lipoproteinlerin (VLDL) salınımında veya sentezinde azalma (2).

Karaciğer yağlanmasında bir diğer mekanizma, prooksidatif ve hepatotoksik etkenlerin gelişimidir (22). Bunun yanında MetS, tip 2 diyabet, obezite ve santral yağlanma da bu hastalıkla ilişkilidir (23). NAYKH, insülin direncinin neden olduğu metabolik bozukluğun ve karaciğer yağ depolanımının klinik yansıması olarak düşünülmektedir (24). İnsülin direnci hem basit yağlanmada hem de NASH de ortak bulgu olmasına rağmen, insülin direnci olan

İlk darbe karaciğerin yağlı hasarı ya da yağın hepatositlerde birikmesidir. Bu yağlı hasar organın ikinci darbeye duyarlılığını arttırmaktadır (19, Şekil 2.3).



Şekil 2.3: İki Darbe Hipotezi

İnsülin direncinin NAYKH patogenezindeki “birinci darbe” gelişiminde en önemli faktör olduğu düşünülmektedir (22).

Hiperinsülinemi ve hiperglisemi nedeniyle upregüle olan ‘sterol düzenleyici bağlanma proteini-1c’ (SREBP-1c) ve ‘karbonhidrat yanıt elemanı bağlanma proteini’ (ChREBP) gibi lipojenik transkripsiyon faktörleri dolayısıyla de novo lipojenez artmaktadır. Ayrıca SREBP-1c aktivasyonu serbest yağ asidi (SYA) oksidasyonunu inhibe eden malonil-koA artışına ve hepatik TG birikimine neden olmaktadır (26).

Hepatik lipit birikimi her zaman hepatosellüler hasar ile sonuçlanmayabilir, sekonder değişikliklerin ilave olması gerekmektedir (22).

2.2.2. İkinci Darbe

Basit yağlanmadan NASH’ e ilerlemede oksidatif stresin ve lipit peroksidasyonunun önemli rol oynadığına inanılmaktadır (27). Reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimindeki artış, hepatosit membranlarının ve organellerin lipit peroksidasyonuna, karaciğer nekroinflamasyonuna, satellit hücre aktivasyonuna ve fibrozise neden olmaktadır (28).

Artmış ROS oluşumu 4-hidroksinonenal (4-HNE) gibi aktif lipit peroksidasyon ürünleri ile Fas ligand, tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α), dönüştürücü büyüme faktör-beta (*transforming growth factor-beta*; TGF- β), interlekin-8 (IL-8) gibi çeşitli sitokinlerin sentezlenmesine neden olmaktadır. NASH patogenezindeki hepatosit ölümünde, Fas ligand ve TNF- α ile tetiklenen hepatosit apoptozisinin etkili olduğu belirtilmektedir (29).

Apoptotik cisimlerin Kupffer hücreleri ve stellat hücreler tarafından yutulması TGF- β oluşumunu arttırmaktadır. TGF- β , 4-HNE ve adipositlerden salgılanan leptin, stellat hücrelerin kollajen üreten myofibroblastik hücrelere dönüşümüne neden olmaktadır. Ayrıca

TGF- β doku transglutaminaz enzimini aktive ederek Mallory cisimciklerinin oluşumunda rol oynamaktadır (30).

Hayvan modellerinde steatohepatit gelişiminden dolaşımda ve karaciğerde SYA' nın artması, mitokondriyal anormallikler, barsak kökenli endotoksinler, etanol ve adipokinlerin dengesiz üretimi sorumlu tutulmuştur (28).

Yağ asitlerinin artması, mitokondriyal β -oksidasyon yolağından ziyade alternatif yolağı kullanılmasına yol açarak mitokondriyal hasar oluşturabilmektedir. Aynı zamanda peroksizomal ve mikrozomal oksidasyon sisteminde de hasar meydana gelmektedir (31). Alternatif yağ asidi oksidasyon sistemi daha çok hidrojen peroksit üretmektedir, bu da oksidatif strese katkıda bulunmaktadır.

SYA'nın lizozomal permeabilizyonu kolaylaştırdığı ve böylece hepatositlerden lizozomal proteaz olan katepsin B' nin serbestleştiği, bunun da hepatosit apoptozisine ve ölümüne neden olduğunu bildirilmiştir (32).

2.3. Yağlı Karaciğer Fibrozis Patogenezi

Disse aralığında yerleşmiş olan hepatik stellat hücreler sitokin ve büyüme faktörü sentezi ve sekresyonu yapabilen özelleşmiş hücrelerdir. Karaciğerde fibrozis oluşumundaki hücre dışı matriks ve kollajen sentezinden sorumludurlar. Oksidatif stres ve TGF β -1 hepatik stellat hücreleri aktive etmektedir. NASH'da hepatik stellat hücre aktivasyonu bulunmaktadır ve fibrozis derecesi ile direkt ilişkili olduğu bildirilmiştir (33). TGF β -1, hepatik stellat hücreleri myofibroblast benzeri hücrelere dönüştürerek kollajen sentezini arttırmaktadır. NASH' da karaciğer TGF β -1 düzeylerinin arttığı gösterilmiştir. İnsülin uygulanmış stellat hücrelerde, stellat hücrelerden salınan bağ dokusu büyüme faktörü (*Connective tissue growth factor*; CTGF)' nün m-RNA düzeyleri artmış saptanmıştır. TNF- α ' da CTGF salınımını arttırmaktadır (34). Hepatik fibrogenezi düzenleyen mekanizmalarda leptinin de rolü olduğu gösterilmiştir (35).

2.4. Yağlı Karaciğer Histolojisi

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

cisimcikleri ve fibrozistir (36).

NAYKH'in alt sınıflarından basit yağlı karaciğer hastalığında sadece hepatik steatoz görülür iken; NASH'de buna ek olarak mallory cisimcikleri, lobüler nötrofilik inflamasyon, balon dejenerasyonu ve fibrozis göstergelerinden birisi bulunmaktadır (37).

Hepatik steatoz, morfolojik olarak yağ damlacıklarının hepatositlerin sitoplazması içine makroveziküler veya mikroveziküler birikimiyle ortaya çıkmaktadır (38). Makroveziküler steatozda büyük tek bir yağ vakuolü hepatosit sitoplazmasını doldurmakta, nükleusu periferde doğru itmekte ve karakteristik taşlı yüzük görünümüne neden olmaktadır. Mikroveziküler steatozda, çok sayıda küçük yağ damlacığı hepatosit sitoplazmasını doldurmakta, nükleusu periferde itmemektedir (38).

Şiddetli karaciğer yağlanması daha çok mikroveziküler steatoz tabloya eşlik etmektedir. Mikroveziküler steatozun varlığı progresyonun habercisidir (37,39). Karaciğer hasarının erken döneminde zon-3 bölgesinde steatoz daha fazlayken, karaciğer parankimi tamamen hasarlandığında, tüm parenkimde steatoz görülmektedir (39,40).

Nonalkoliksteatohepatitte, hücresel yanıt nötrofilik, lenfositik veya miks olabilmektedir. Polimorfnüveli lökositler(PNL)'ler intrasitoplazmik mallory hiyalin cisimcikli hepatositler etrafında yoğunlaşmakta veya lobülde dağınık halde bulunmaktadır. Lobüler inflamasyonda nötrofiller steatohepatit için özgündür (37).

İnflamasyon portal ve lobuler alanlarda steatotik hepatositlerin mononükleer hücreler ve kupffer hücreleriyle çevrenmesi ile meydana gelen lipogranülomlar içerebilmektedir. Eozinofil de sıklıkla beraberinde görülmektedir. Lipogranülom tanısal olmasa da anlamlıdır. Portal ve perivenüler lipogranülomlar daha büyük olmakta, daha az anlam arzetmekte ve yağlanmanın olmadığı karaciğer hastalıklarında da görülebilmektedir (41,42).

Mallory cisimciklerinin varlığı değişkenlik (%9-90) göstermekte ve genellikle zone 3'te bulunmaktadır.

Fibrozis daha çok perivenüler, perisinüzoidal alandan başlamaktadır (37). Bazı alanlarda tek bir hücrenin etrafında görülen ve perihücrel veya "chicken-wire" (tavuk teleği) olarak tanımlanan fibrozis, alkolik ve alkole bağlı olmayan steatohepatiti fibrozisin görüldüğü diğer kronik karaciğer hastalıklarından ayırmaktadır. İlerleyen inflamasyon ile santral-portal ve portal-portal köprüleşme ve sonuçta siroz görülmektedir (42).

NAYKH'in histopatolojik olarak değerlendirilmesinde Brunt ve ark.'nın önerdiği steatozu derecelendirme ve fibrozu evrelendirme sistemi yaygın olarak kullanılmaktadır (39).

2.4.1. Brunt Sınıflaması

A. Steatozun Derecelendirilmesi

- Grade 1 (Hafif): Biyopsi materyalinin %66' sına kadar makroveziküler yağlanmanın ön planda olduğu steatoz, zon 3 hepatositlerde balonlaşma nadir, polimorf nüveli lökositlerin bazen de lenfositlerin varlığı ile karakterize intraasiner inflamasyon. Portal inflamasyon yok veya hafiftir.

- Grade 2 (Orta): Herhangi bir derecede yağlanma, biyopsi materyalinin % 66' sını geçebilir. Zon 3 hepatositlerde balonlaşma belirgin, intraasiner infiltrasyon daha yoğun, zon 3 perisellüler fibrozis, hafif-orta derecede portal inflamasyon vardır.

- Grade 3 (Ciddi): >% 66 hepatositte, panasiner steatoz, zon 3 hepatositlerde balonlaşma ve düzensizlik, intraasiner ve portal inflamasyon daha yoğundur.

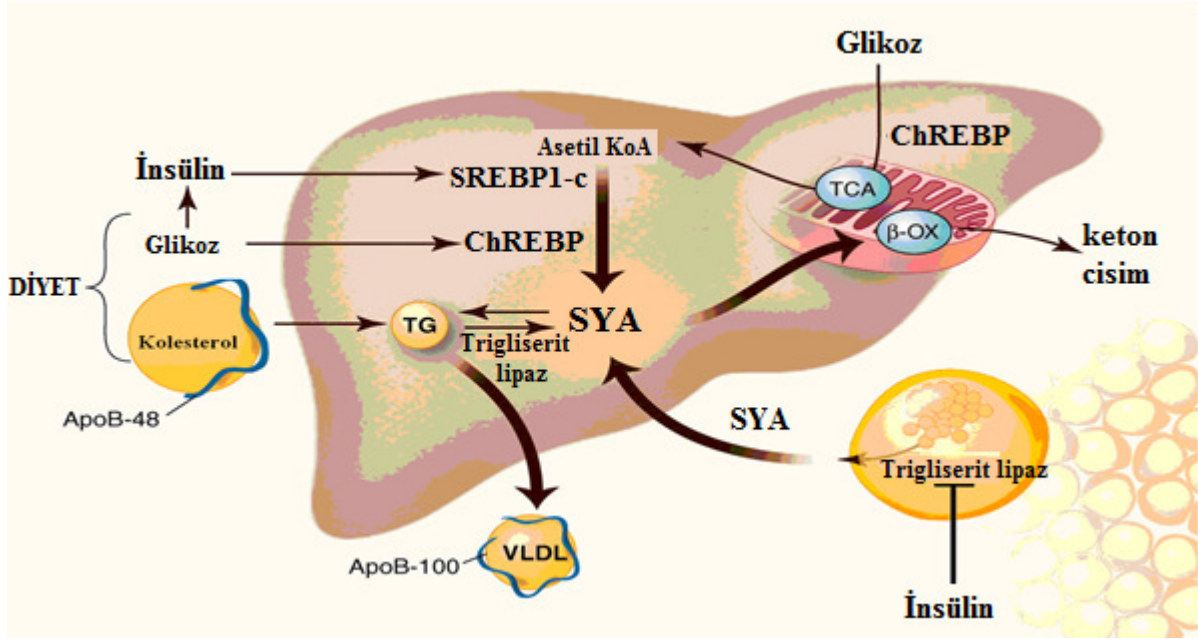
B. Fibrozun Evrelendirilmesi

- Evre 1: Zon-3 ile sınırlı (perivenüler, perisinüzoidal, perisellüler; fokal veya yaygın)
- Evre 2: Evre 1'e ek olarak, fokal veya yaygın periportal fibroz
- Evre 3: Fokal veya yaygın köprüleşen fibroz
- Evre 4: Siroz

2.5. DİYET İÇERİĞİNİN NAYKH ÜZERİNE ETKİSİ

2.5.1.Karbonhidrat tüketimi ve NAYKH

Geçmiş yıllarda yapılan çalışmalarda, düşük yağlı diyetlerin NAYKH üzerine koruyucu etkili olabileceği savunulurken, günümüzde düşük karbonhidratlı diyetlerin bu hastalarda daha etkili olduğu gösterilmiştir (43, Şekil 2.4). Yüksek karbonhidratlı diyetler, hepatik steatoz ve insülin direnci gelişiminde ChREBP ile ilişkili bulunmuştur. Postprandiyal hiperglisemi, ChREBP aktivasyonu yolağıyla, fosforillenmiş bileşiklerin hepatik konsantrasyonlarını arttırarak hedef genlere etki etmelerini sağlamaktadır. Yüksek karbonhidratlı diyetler, insülin direnci gelişimine yol açmaktadır (43). NAYKH' ı olan kişilerin düşük karbonhidratlı ve düşük doymuş yağ içeren diyetlerle beslenmeleri, fruktoz içeren içeceklerden kaçınmaları, daha çok meyve ve sebze ile beslenmeleri gerektiği bildirilmiştir (44).



Şekil 2.4: Diyet ve alkole bağı olmayan karaciğer hastalıkları

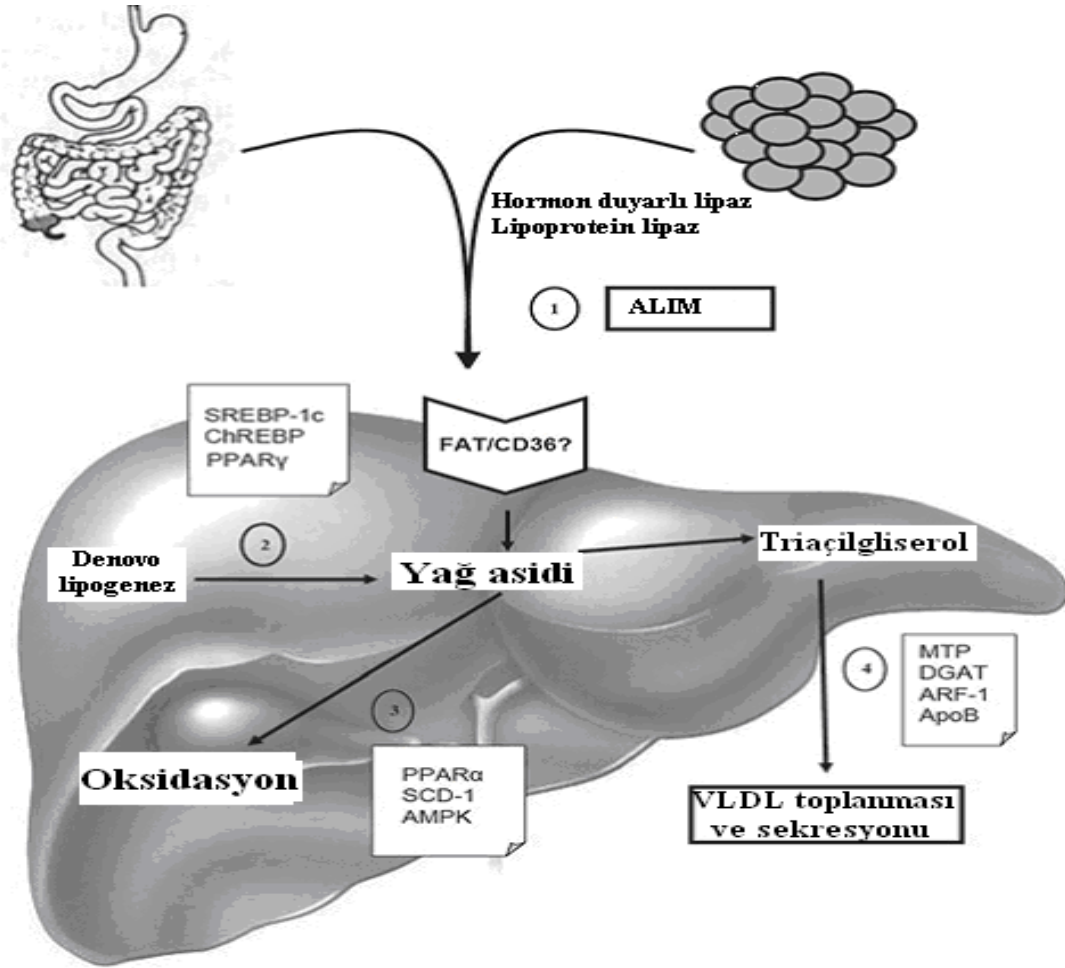
2.5.2. Yağ Tüketimi ve NAYKH

Daha önce yüksek yağlı diyet beslenme modeli ile yapılan birçok hayvan ve insan çalışması yağlı beslenmenin hepatik steatoza neden olduğunu göstermiştir (45,46, Şekil 2.5). Beş günlük deney süresi boyunca izoenerjetik yüksek yağlı, düşük karbonhidratlı diyetle beslenmenin, hiperinsülinemik obez kişilerin karaciğerinde, de novo lipojenezi normoinsülinemik zayıf ve obez kişilere göre 3.7-5.3 kez arttırdığı gösterilmiştir (47).

Yapılan çalışmalara göre, farklı yağ tipleri ile beslenme, NAYKH üzerine değişik etki göstermektedir. Doymuş yağ, tekli doymamış yağ (*monounsaturated fatty acids*; MUFAs), çoklu doymamış yağ (*polyunsaturated fatty acids*; PUFAs), omega-3 yağ asitleri ve tüm trans yağların NAYKH üzerine değişik etkileri bulunmaktadır. Doymuş yağlardan zengin beslenmenin insülin direnci ile birlikte NAYKH gelişimini uyardığı gösterilmiştir (48). Bunun yanı sıra omega-3 yağ asitlerinin NAYKH'lı kişilerde lipit profilini düzenlediği, inflamasyon, steatoz ve karaciğer hasarını azalttığı bildirilmiştir (49). Omega-3 yağ asitleri, lipit metabolizması üzerindeki etkilerini genomik yolları düzenleme yoluyla, dolayısıyla, lipit metabolizmasında görevli 'peroksizom proliferatör aktifleyici reseptör-γ (PPAR-γ), SREBP-1 ve ChREBP gibi transkripsiyon faktörlerini düzenleyerek göstermektedir (50). Bunun yanı sıra diyetel PUFAs' ın ve MUFAs' ın NAYKH üzerine iyileştirici etkilerinin olduğu gösterilmiştir. MUFAs okside LDL, LDL kolesterol, total kolesterol (TK) ve TG

konsantrasyonlarını azaltmakta ancak HDL' i azaltmamaktadır. MUFAs açısından zengin diyetin (enerjinin % 40' ı yağdan karşılanan diyet) diyabetli kişilerde yüksek karbonhidratlı diyetten (enerjinin % 28' i yağdan karşılanan diyet) daha uygun olduğu gösterilmiştir (51).

Yağlı karaciğer oluşumunda temel kaynaklar, de novo lipojenezin yanı sıra yağ dokusunda depolanmış TG' lerden lipolitik aktivite ile karaciğere ulaşan SYA' lar ve şilomikron artıkları şeklinde karaciğere alınan barsak kaynaklı diyetel yağ asitleridir (52). NAYKH' lı kişilerde doymuş yağ alımının azalması patofizyolojik açıdan da kanıtlanmış kilo kaybına yol açmaktadır. Daha önce NASH' lı kişilerde yapılan bir çalışmada, çoklu doymamış/doymuş yağ asidi oranının sağlıklı kişilerden düşük olduğu gözlenmiştir (53).

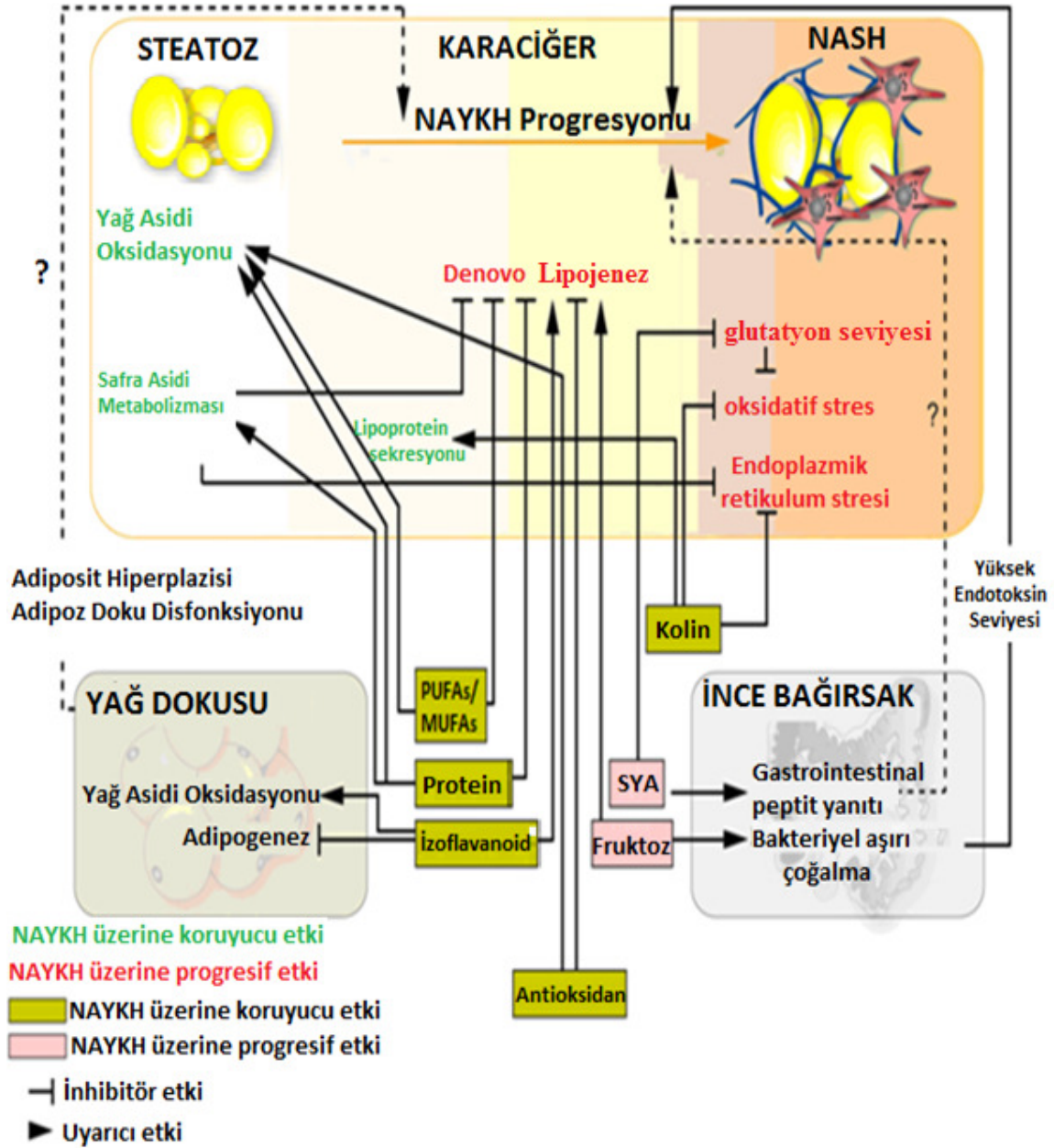


Şekil 2.5: Yağ yönetimi ve alkole bağlı olmayan karaciğer hastalıkları

2.5.3. Protein Tüketimi ve NAYKH

NAYKH' da protein miktarının ve çeşitliliğinin etkilerini araştıran çalışmalar, hayvan çalışmaları ile sınırlıdır. Diyetle alınan protein içeriğinin artırılmasının, yağlı diyetle beslenen insan ve kemirgenlerde hepatik yağ depolanımını azalttığı belirtilmiştir (54,55). Hayvan

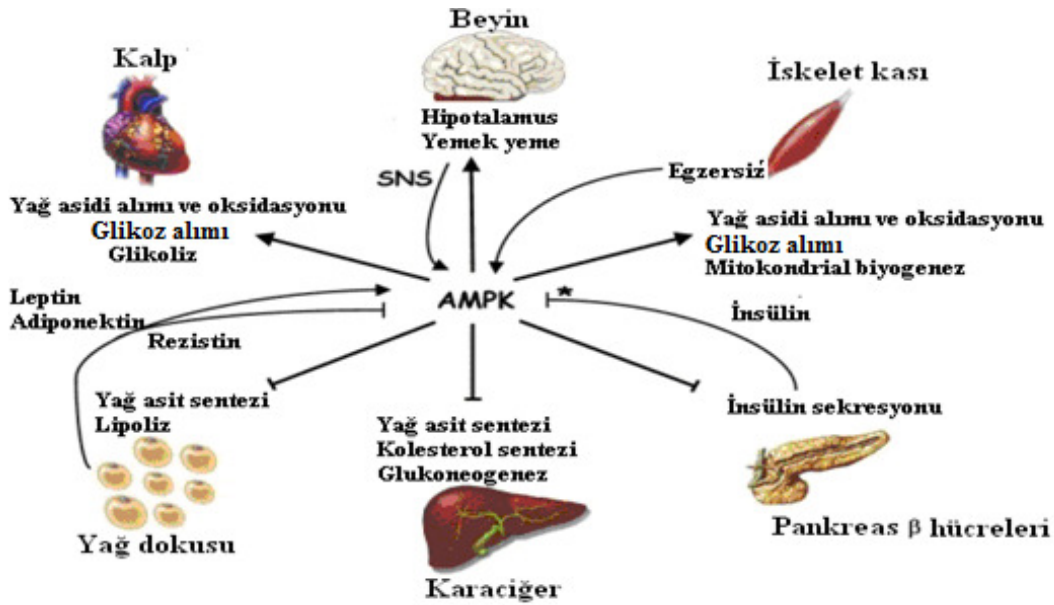
modellerinde yüksek protein içerikli diyetin plazma TG düzeyleri ile pozitif korele olan stearoil koA desaturaz-1 (SCD-1) gen ekspresyonunu azalttığı ve lipoliz düzenleyici gen ekspresyonlarını ise uyardığı gösterilmiştir (56). Kesilmiş süt proteininin ve soya proteininin yağlı karaciğeri koruyucu etki gösterdiği belirtilmiştir (57). Ancak bu çalışmalar hayvan çalışmaları ile sınırlıdır. Bu konuda yapılmış insan çalışması bulunmamaktadır.



Şekil 2.6: Diyetle uyarılmış alkole bağlı olmayan karaciğer hastalıkları patofizyolojisi (58)

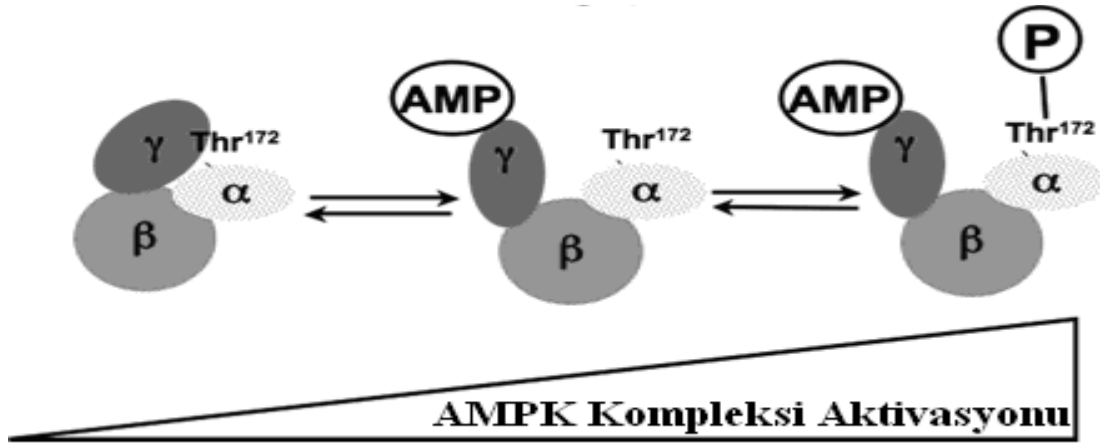
2.6. AMP-İLE AKTİFLEŞEN PROTEİN KİNAZ (AMPK)'IN SİSTEMİK ENERJİ DENGESİ VE KARACİĞER YAĞLANMASI ÜZERİNE ETKİSİ

Hücrede adenosin trifosfat(ATP) derişimi belirli düzeyde tutulmaktadır. Normal bir hücredeki ATP derişimi yaklaşık 5 mM' dır. ATP derişimi ([ATP]) önemli oranda azalırsa, bu enzimler substratlarıyla (ATP) tamamen doydukları duruma oranla daha az olacağı için ATP içeren yüzlerce tepkimenin hızı azalmaktadır. Düşük [ATP]' nin önemli termodinamik etkisi bulunmaktadır. ATP hücresel işlevini yapabilmek için adenosin difosfat (ADP) ya da adenosin monofosfat (AMP)' ye dönüştüğünden, [ATP]/[ADP] oranı bu kofaktörleri kullanan bütün tepkimeleri önemli derecede etkilemektedir. AMP derişimi hücrenin enerji durumunun [ATP]' den daha hassas bir göstergesidir. AMP ile düzenlemenin en önemli aracısı, anahtar proteinleri fosforilleyerek [AMP]'yi arttıran ve böylece aktiflikleri düzenleyen AMPK' dır (7, Şekil 2.7).



Şekil 2.7: Karbonhidrat ve lipid metabolizmasında AMP-ile aktifleşen protein kinaz (AMPK) rolü. AMPK, [AMP]'deki artış ve [ATP]'deki azalma ile aktifleştirilmektedir. Örneğin sempatik sinir sistemi (SNS) veya yağ dokusunda üretilen leptin ve adiponektin gibi peptid hormonlarıyla aktifleştirilmektedir. AMPK aktifleştirildiği zaman, hedef proteinleri fosforillemekte ve değişik dokulardaki glikojen, yağ asiti ve kolesterol sentezi gibi enerji harcayan işlemlerden uzaklaştırmak için metabolizmayı değiştirmekte; ekstrahepatik dokulardaki metabolizmayı yakıt olarak yağ asitlerinin kullanımı için yönlendirmekte ve beyne glikoz sağlamak için karaciğerde glukoneogenezi başlatmaktadır. Hipotalamusta diyetle daha fazla yakıt sağlamak için beslenme davranışını uyarmaktadır (7).

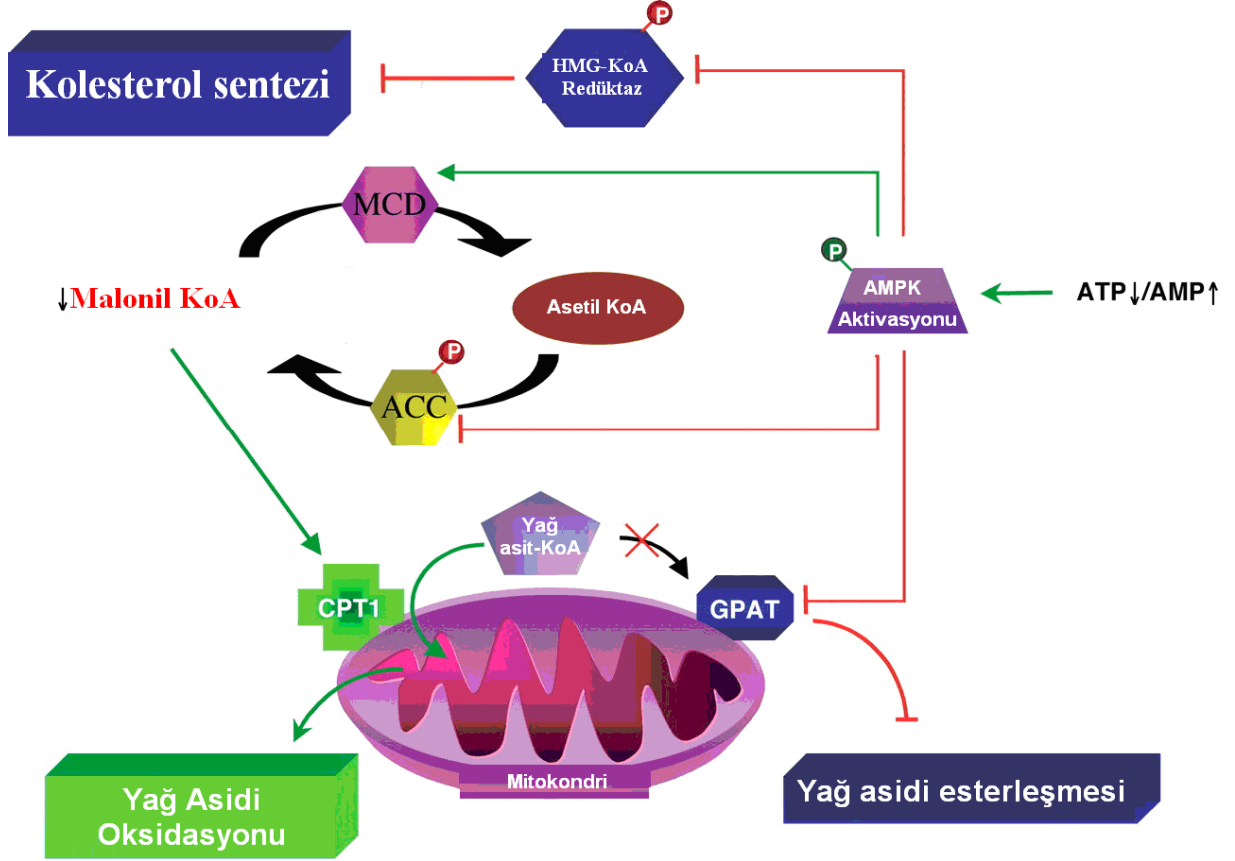
AMPK katalitik α subuniti ve düzenleyici β ve γ subunitleri olarak belirlenen üç farklı proteinden oluşmaktadır (Şekil 2.8). Her subunitin farklı bir formu ve fonksiyonu bulunmaktadır. Üçü birlikte AMPK'nın hücre içi aktivitesini düzenlemektedir. α subuniti, ATP'den bir fosfat grubunu hedef proteinlerdeki serin (tercihen treonin) bölgelerine transfer etmektedir. β subuniti diğer subunitlerle köprü görevi yapmakta ve glikojen bağlanması için özel bir bölge taşımaktadır. γ subuniti AMPK kompleksini, AMP'nin aktive etmesi ve ATP'nin ise inhibe etmesi için özel bağlayıcı bölgeler içermektedir. Bu üç subunitin hücre tipine göre amino asit dizilimlerinde küçük farklılıklar taşıyan birçok izoformu bulunmaktadır (59). Sığan karaciğerinde $\alpha 1$ ve $\alpha 2$ subunitlerin bulunduğu ancak $\alpha 1$ subunitin katalitik etkinliğinin yüksek olduğu gösterilmiştir (60). AMPK kompleksi çoğunlukla sitoplazmada bulunmakta, ancak $\alpha 2$ izoformunun nükleusta bulunduğu ve gen ekspresyonunu düzenlediği gösterilmiştir (61).



Şekil 2.8: AMP-ile aktive protein kinaz (AMPK) kompleksi aktivasyonu. AMPK kompleksi üç farklı proteinden oluşmaktadır. α subuniti enzimatik aktivite göstermekte ve ATP'den hedef proteinlere fosfat grubunu transfer etmektedir. β subuniti α ve γ subunitlerini birleştirmekte ve γ subuniti AMP bağlamaktadır. γ subunitine AMP bağlanması AMPK kompleksini aktive etmektedir. AMP bağlanması aynı zamanda α subunitindeki 172. Pozisyondaki treonin (Thr^{172}) amino asitini fosforillendirmektedir. AMPK'nın fosforillenmesi kompleksin aktivitesini arttırmaktadır (5).

AMPK, enerji kullanımını ve gıda alımını düzenleyerek metabolizmayı etkilemektedir. İskelet kası, kalp, yağ dokusu, karaciğer, pankreatik β hücreleri ve beyinde glikoz ve lipid alımını kontrol eden birçok molekülü ve yolağı düzenlemektedir. AMPK'nın karaciğerde katabolik yolları aktive ettiği, buna karşılık anabolik yolları engellediği gösterilmiştir. Asetil-KoA karboksilaz (ACC) ve 3-Hidroksi 3-Metilglutaril KoA redüktaz (HMG-KoA

redüktaz) AMPK' nın inaktive ettiği gösterilen ilk enzimlerdir (62). Karaciğerde AMPK' nın lipit metabolizmasında görevli enzimler üzerinden yağ asitlerinin oksidatif ve biyosentetik yollara katılımını düzenlediği gösterilmiştir (6, şekil 2.9)



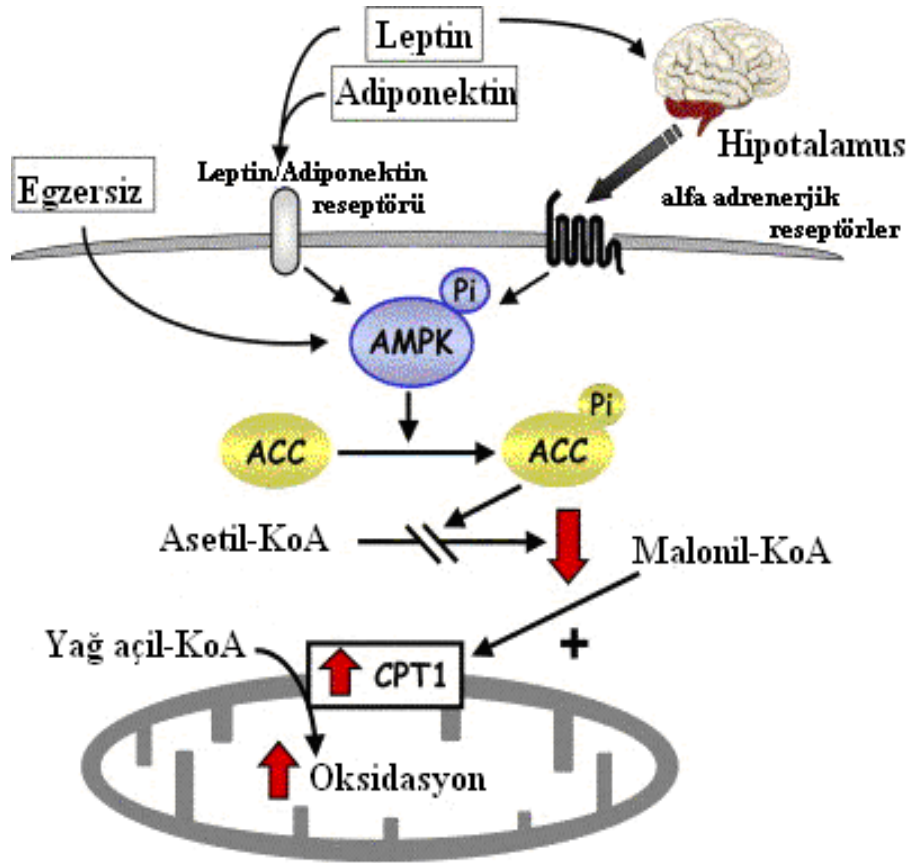
Şekil 2.9: Hepatik AMP-ile aktifleşen protein kinaz (AMPK) ile lipit metabolizmasının düzenlenmesi. AMPK' nın aktivasyonu ile HMG-KoA redüktaz fosforillenmekte ve kolesterol sentezi inhibe olmaktadır. ACC' nin inhibisyonu, malonil KoA dekarboksilaz (MCD)' nin aktiflenmesi ile malonil KoA düzeyleri azalmakta, karnitin palmitoil transferaz 1 (CPT1) aktiflenmekte ve AMPK yağ asiti oksidasyonunu arttırmaktadır. AMPK aynı zamanda gliserol 3 fosfat açıl transferaz (GPAT)' ı inhibe ederek gliserolipit sentezini baskılamaktadır. AMPK aktivasyonunun güçlü etkisi yağ asiti oksidasyonu lehine enerji harcayan lipojenik yolları (yağ asiti, trigliserit ve sterol sentezini) inhibe etmesidir (6).

2.7. LEPTİN VE ADİPONEKTİN'İN KARACİĞER YAĞLANMASINA ETKİSİ

Yaklaşık 20 yıl önce yağ dokusunun endokrin bir organ olduğu ve pek çok hormon, sitokin gibi, glikoz ve lipit homeostazisinde, vücut ağırlığının düzenlenmesinde, kan basıncında ve immun fonksiyonda sistemik etkileri olan metabolitleri salgıladığı gösterilmiştir

(63). Bu moleküllere adipokinler adı verilmiş ve pek çok metabolik işlevlerinin AMPK yoluyla olduğu düşünülmüştür (63).

Leptin ve adiponektin yağ dokusundan salgılan iki önemli adipokindir. Leptin (Yunanca *leptos*, “ince”) 167 aminoasitlik, 16 kDa ağırlığında, kanda serbest ve proteine bağlı olarak taşınan polipeptid bir hormondur. Leptin JAK ve STAT-3 proteinleri aracılığı ile hücre içi etki yapmaktadır. Hipotalamusta reseptörlerine bağlanarak iştahı kesmektedir (64, Şekil 2.10). Leptinin gıda alımının düzenlenmesi, enerji harcanması, vücut ağırlığı ve nöroendokrin fonksiyonlarında rol oynadığı gösterilmiştir (65). Obezite gibi kalori artışının olduğu durumlarda yapılan çalışmalardan birinde, obez sıçanların karaciğer ve hipotalamusunda hiperleptinemiye bağlı leptin reseptör inaktivasyon/baskılanması belirlenmiştir (66).

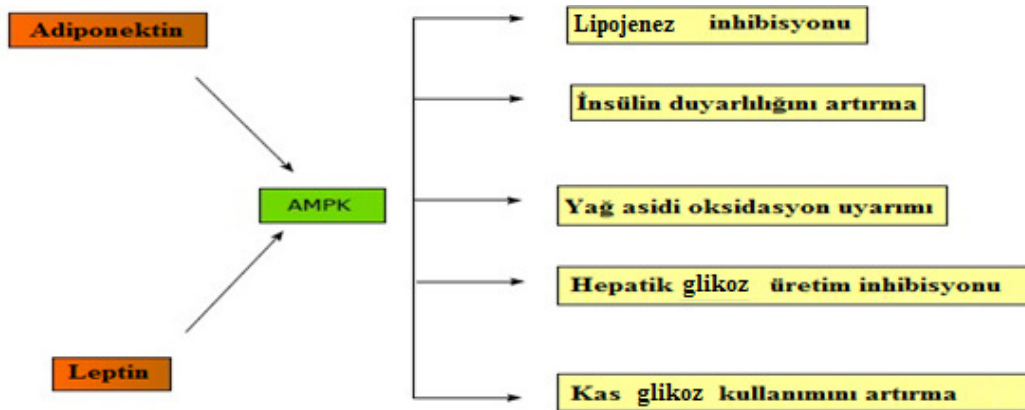


Şekil 2.10: Karaciğer ve kasta AMP-ile aktifleşen protein kinaz (AMPK) 'nın etki mekanizması. AMPK asetil KoA karboksilazı fosforillemektedir (ACC). Bu fosforillenme ACC aktivitesini inhibe etmekte ve malonil KoA düzeyleri azaltmaktadır. Malonil KoA, karnitin palmitoil-KoA transferaz-1 (CPT1)' i inhibe etmektedir. Yağ asidi oksidasyonu artmaktadır. Bu yolak AMPK' nın karaciğer ve kasta lipid birikimini azaltıcı ve insülin duyarlılığı üzerine etkilerini açıklamaktadır (67).

Adiponektin 224 aminoasitten oluşan, 30 kDa ağırlığında, diğer organları insülin etkisine duyarlı hale getiren, aterosklerozdan koruyan ve inflamatuvar yanıtları baskılayan bir hormondur. Karaciğer ve kasta yağ asidi ve karbonhidrat metabolizmasını etkilemektedir. Yağ asitlerinin miyositler tarafından kandan alınmasını, yağ asiti sentezini ve glukoneogenezi durdurmaktadır. Kas ve karaciğerde glikoz alımı ve katabolizmasını uyarmaktadır (7). Adiponektinin düşük düzeyleri hafif inflamasyon, oksidatif stres ve endotelial disfonksiyon ile ilişkilendirilmiştir (68). Adiponektin reseptörlerinin obez hayvan ve insanlarda oldukça azaldığı bulunmuştur (68).

Hiperleptinemi ve hipoadiponektineminin NAYKH ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (69). Tanımlanmış iki adiponektin reseptöründen, AdipoR2 karaciğerde ekspresse edilmektedir (70). Bajaj ve ark.' ları Tip 2 diyabetli kişilerde plazma adiponektin düzeylerinin hepatik yağ içeriği ile negatif ilişkili olduğunu göstermişlerdir (71).

Karaciğerde, iskelet kasında ve yağ dokusunda, leptin ve adiponektinin AMPK fosforilasyonu ve aktivasyonu yoluyla etki gösterdiği belirtilmiştir (8). Beyinde reseptörleri bulunan adiponektin, hipotalamusta AMPK' yı aktiveleştirerek besin alımını arttırmakta ve enerji harcanmasını azaltmaktadır. Karaciğerde AMPK, ACC' ı fosforilleyip etkisizleştirerek hem β oksidasyonun (malonil KoA tarafından) inhibisyonunu engellemekte, hem de yağ asidi sentezini baskılamaktadır (Şekil 2.11) AMPK benzer şekilde yağ asidi sentaz ve açıl transferazı da baskılayarak triaçilgliserol sentezini etkili bir şekilde engellemektedir (7). Hepatik lipid döngüsü ChREBP, SREBP-1c ve PPARs gibi transkripsiyon faktörleri ile düzenlenmektedir. Karaciğerde AMPK lipid ve kolesterol sentezini inhibe ederken, AMPK aktivasyonu SREBP1c'yi baskılamaktadır (72). Lipid homeostazisindeki dengesizlik TG' lerin karaciğerde birikimine yol açmaktadır.



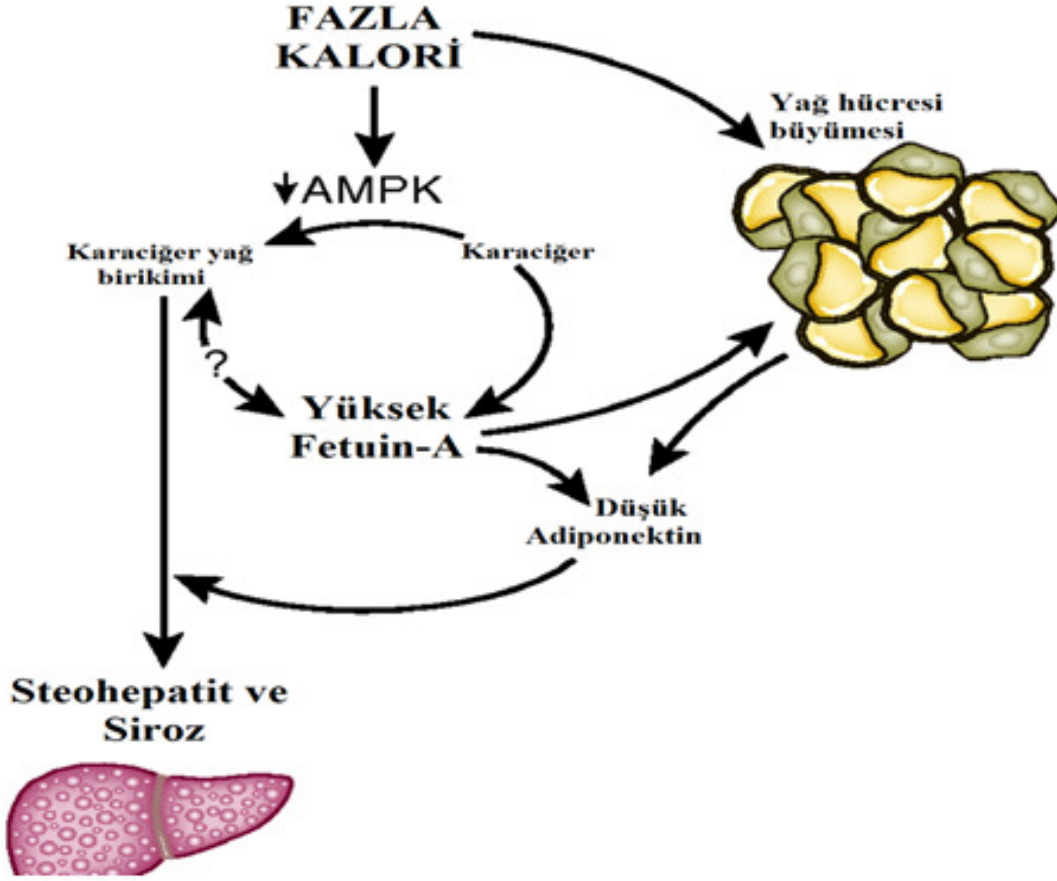
Şekil 2.11: AMP-ile aktiveleşen protein kinaz (AMPK) etki mekanizması

2.8. FETUİN-A VE YAĞLI KARACİĞER

Fetuin-A (*Alpha-2-Heremans Schmid Glycoprotein*, AHSG), fetal gelişim boyunca birçok dokuda sentezlenmesine rağmen, erişkin dönemde karaciğerden sentezlenen 59 kDa ağırlığında bir glikoproteindir (73). Fetuin-A' nın MetS gelişiminde önemli rol oynadığı ve insülin reseptörünün otofosforilasyonunu inhibe ettiği belirtilmiştir (9). Fetuin-A geni kromozom 3q27 de belirlenmiştir. Bu bölge aynı zamanda diabet ve MetS' la ilişkili tutulmuştur (74). Adiponektin geninin de aynı lokusta bulunduğu bildirilmiştir (74). Fetuin-A ve adiponektinin MetS'da zıt etkileşim gösterdikleri saptanmıştır (75). Fetuin-A uygulamasının farelerde adiponektin mRNA ekspresyonunu azalttığı (76), adiponektinin ise palmitat uygulanan hepatositlerde fetuin-A mRNA ekspresyonunu azalttığı belirlenmiştir (77). Bu çalışmada ayrıca adiponektin uygulamasının AMPK yolağı yoluyla fetuin-A ekspresyonunu baskıladığı bildirilmiştir (77).

Fetuin-A, genel hasta grubunun yaklaşık %20'sinde MetS' un hepatik belirleyicisi ve NAYKH' ın biyogöstergesi olarak kabul edilmektedir (78). NAYKH olan kişilerde, fetuin-A düzeylerinin arttığı, fetuin-A ile karaciğer yağlanması ve karaciğer fibrozisi arasında pozitif korelasyon olduğu gösterilmiştir (10,11). Fetuin-A uygulanmasının NAYKH' da görülen TG birikimini ve hepatosit steatozisi ile bağlantılı SREBP1c ekspresyonunu arttırdığı belirtilmiştir (79). Fetuin-A geni olmayan farelerde, yüksek yağlı diyetle beslenmelerine rağmen yağlı karaciğer hastalığı görülmediği, insüline duyarlı ve kilo alımına dirençli oldukları saptanmıştır (11).

AMPK aktivasyonu karaciğerde, yağ asidi ile uyarılan nükleer faktör kappa-B (NF-κB) ekspresyonunu inhibe ederek, SREBP1c ve ChREBP ekspresyonunu azaltmaktadır (80,81). NAYKH olan 12 kişide yapılan bir çalışmada, hepatik AMPK' nın uyarılması ile, fetuin-A ekspresyonu azalmış ve fetuin-A mRNA ile SREBP1c, fosfoenolpiruvat karboksikinas 1 ve CPT-1 arasında anlamlı korelasyon saptanmıştır (12). Bu verilere dayanarak, özellikle yağlı karaciğer oluşumunda anahtar rol üstlenen AMPK' nın fetuin-A ve adiponektin düzeyleri ile ilişkili olduğu ve bu üç göstergenin NAYKH' nın gelişimi ve tanımlanmasında önemli olabileceği öne sürülmüştür (12, Şekil 2.12)



Şekil 2.12: AMP-ile aktifleşen protein kinaz (AMPK), fetuin-A ve adiponektin düzeyleri ile alkole bağlı olmayan karaciğer hastalıkları (NAYKH) ilişkisi. Kalori artışı ve/veya yağlı karaciğer oluşumu serum fetuin-A düzeylerini arttırabilmektedir. Yükselen fetuin-A düzeyleri adipositlerden adiponektin salgılanımını baskılamaktadır. Fazla kalori alımı ve düşük adiponektin AMPK aktivasyonunu baskılamakta; hepatik stellat hücre proliferasyonunu uyarmakta ve karaciğerde reaktif oksijen türevlerinin oluşmasına yol açarak hepatik steatozis ve siroza neden olmaktadır. (75).

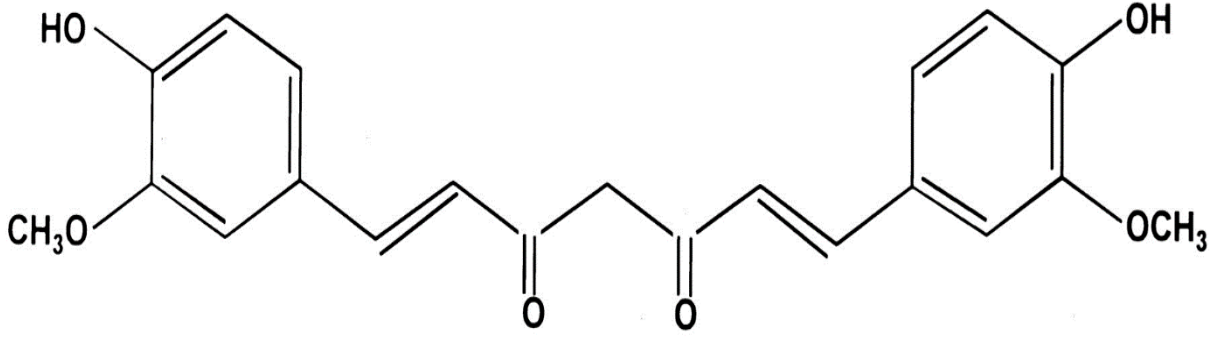
2.9. KURKUMİN'İN KARACİĞER YAĞLANMASI ÜZERİNE ETKİSİ

2.9.1. Kurkumin

Kurkumin, zencefilgiller (Zingiberaceae) ailesine ait zerdeçal (*Curcuma Longa*) bitkisinden elde edilen polifenolik bir bileşiktir. Zerdeçalın en aktif bileşeni olan kurkumin zerdeçalın % 2-5 kadarını oluşturmaktadır. Zerdeçal, gıda maddelerinin korunması, tatlandırılması ve renklendirilmesi için kullanılmasının yanı sıra, tekstil sektöründe de sarı renkli bir boya olarak kullanılmaktadır(82).

Zerdaçale rengini veren bileşik olan kurkumin ($C_{21}H_{20}O_6$, M.A= 368,38 g/mol) 1842 yılında Vogel tarafından izole edilmiştir (83).

Yapısı ise ilk kez 1910 yılında J. Milobedzka, Stanislaw Kostanecki ve Wiktor Lampe tarafından tanımlanmıştır (84). Kimyasal yapısı 1,7-bis (4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1-6-heptadine-3,5-dione' dir.



Şekil 2.13: Kurkuminin kimyasal yapısı

Kurkumin lipofilik polifenol yapısından dolayı suda çözünmemekte, etanol, dimetil sülfoksit (DMSO), yağ ve asetonda çözünebilmektedir (82).

Kurkumin metabolize olarak vücuttan uzaklaştırılmaktadır. İdrarda kurkumin bulunmamakta ancak feçeste kurkumin ve kurkumin sülfat şeklinde bulunmaktadır (82).

Kurkumin biyoyararlanım potansiyelini arttırmak için yapılan bir çalışmada piperin ile birlikte verildiğinde etkisinin 20 kat arttığı gözlenmiştir (82).

İnsanlarda, kurkumin 8 g/gün olacak şekilde 3 ay boyunca diyetle alındığında herhangi bir yan etki görülmemiştir (85).

2.9.2. Kurkuminin Metabolik Etkileri

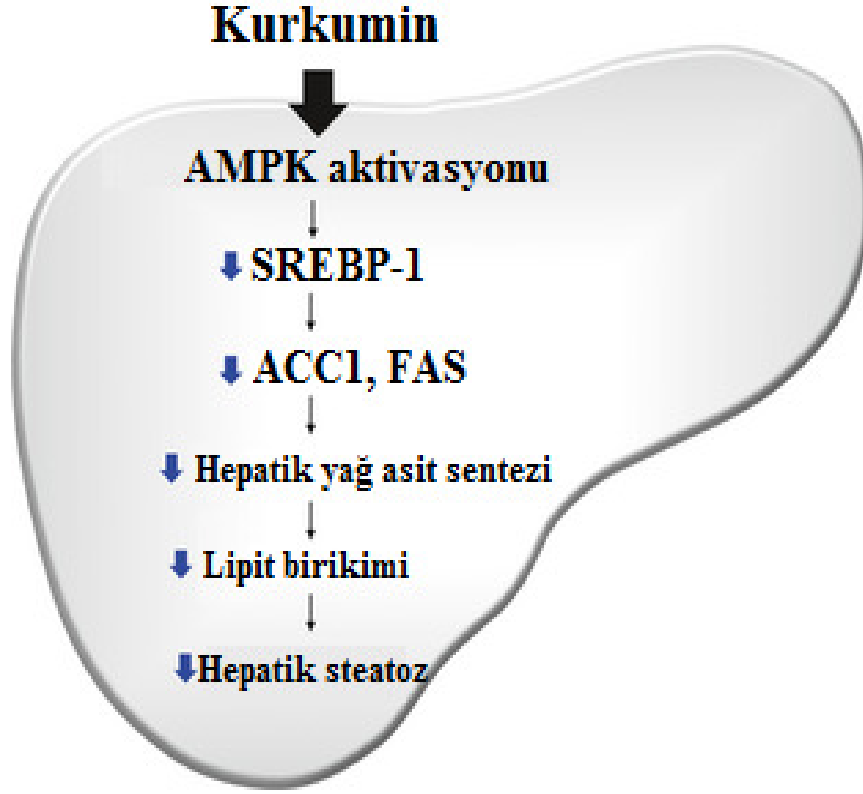
Kurkumin çok çeşitli biyolojik ve farmakolojik etkisi bulunmaktadır. Antioksidan, antikanserojen, antidiyabetik, antibakteriyel, antiviral, antiinflamatuvar, hipoglisemik ve hipolipidemik etkileri olduğu daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (14,82, Şekil 2.14).



Şekil 2.14: Kurkuminin metabolik etkileri.

Karaciğerin lipojeniz, glukoneojenez ve kolesterol sentezi ve metabolizması için santral bir organ olmasından dolayı (86), kurkuminin karaciğer disfonksiyonunu (alkolik ve nonalkolik karaciğer steatohepatit, siroz ve fibrozis gibi) önlemedeki etkileri plazma lipid homeostasisini koruyarak kardiyovasküler riski engellemede anahtar rol oynamaktadır (87). Yapılan birçok çalışma kurkuminin direkt veya indirekt olarak HMG-KoA redüktaz'ı inhibe ederek karaciğer kolesterol biyosentezini azalttığını göstermiştir (88,89). Kurkumin karaciğer ve HepG2 hücrelerinde düşük yoğunluklu lipoprotein reseptörü (LDLR) sentezini uyararak dolaşımdaki lipid düzeylerini azaltmakta ve bu şekilde kolesterolü düşürmekte, anti aterosklerotik etkilerini göstermektedir (90). Um ve ark.' ları yağlı diyetle beslenen farelerde yaptıkları çalışmada, karaciğerde SREBP-1c protein ekspresyonu aracılığı ile artan ACC1 ve FAS gen ekspresyonlarının ve yağ asitlerini karaciğere taşıyıcı olarak görev yapan CD36 ekspresyonunun kurkumin tarafından baskılandığını göstermişlerdir (91). Yağ asiti oksidasyonunu aktiveleyen PPAR α ekspresyonu kurkuminle artmış; PPAR α ile SREBP-1c' i regüle eden AMPK fosforilasyonu da artarak karaciğerde lipojenik gen düzenlenimini baskılamıştır (91). Kurkuminin hepatik TG depolanımını azalttığı ve bu etkisini AMPK aktivasyonu yoluyla yaptığı gösterilmiştir (17). 2013 yılında yaptığımız çalışmada, yağlı diyet ve kurkumin uygulanan sıçanların karaciğer yağlanması ve serum fetuin-A düzeyleri azalmış bulunmuş; bu sonuçların AMPK aktivasyonunun artması sonucu olabileceği düşünülmüştür

(15). Şekil 2.15’da yağlı beslenme ile uyarılmış karaciğerde kurkuminin koruyucu etkisi gösterilmiştir.



Şekil 2.15: Yağlı diyetle uyarılmış karaciğerde kurkuminin koruyucu etki mekanizması (91)

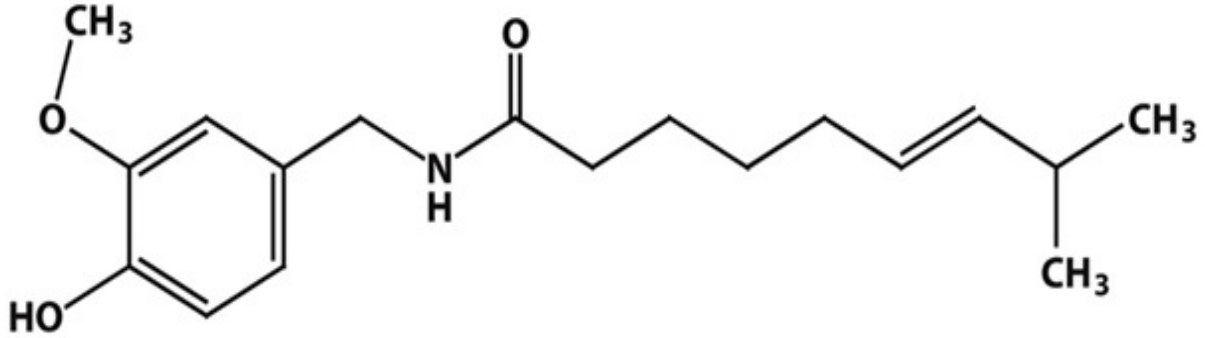
2.10. KAPSAİSİN’İN KARACİĞER YAĞLANMASI ÜZERİNE ETKİSİ

2.10.1. Kapsaisin

Kapsaisin (trans-8-metil-N-vanilil-6-nonenamid) acı kırmızı biber olarak bilinen, “*Capsicum*” bitkisinden elde edilen alkoid türevi bir baharattır. Molekül formülü $C_{18}H_{27}NO_3$ ’dür. Ülkemizde en fazla Güneydoğu Anadolu Bölgesi’nde yetiştirilmekte ve tüketilmektedir.

Kırmızı bibere acılığını veren etken madde kapsaisinin biberdeki oranı % 0,1 ile % 17 arasında değişmektedir (92). Farmokinetik analizler sonucunda 5 g biberde 26.6 mg kapsaisin

bulunduğu, yaklaşık 10 dk içinde hızla absorbe edildiği ve maksimum plazma konsantrasyonunun 2.5 ng/mL olduğu bildirilmiştir (93).



Şekil 2.16: Kapsaisin kimyasal yapısı

Kapsaisin beyaz toz şeklinde, oldukça uçucu, yakıcı ve hidrofobik bir maddedir. Sıcak su, etanol ve asetonda kolayca çözünmektedir (94). Kapsaisin, TRPV1 kanallarının agonistidir. Bu kanallar kapsaisin reseptörü olarak da adlandırılır (95).

Kapsaisinin mide ve ince barsaklardan hızlı bir şekilde absorplandığı sıçanlarda yapılan in vivo ve in situ çalışmalarda gözlenmiştir (96). Genel dolaşıma ve ekstra hepatik organlara ulaşmadan önce karaciğerde metabolize edilmektedir (96). Kapsaisinin makrosiklik, dien ve imid metabolitleri oluşturarak dehidrojenizasyon yoluyla metabolize olduğu bildirilmiştir. Kapsaisin sitokrom p450 enzimlerinden CYP1A1, CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1 ve CYP3A4 ile katabolize edilmektedir (97).

Kapsaisin yakıcı bir madde olması nedeniyle deri ve göze temas etmesi ve solunumla alınması son derece tehlikelidir. Yüksek miktarda kapsaisine maruz kalmak öldürücü olabilir (94).

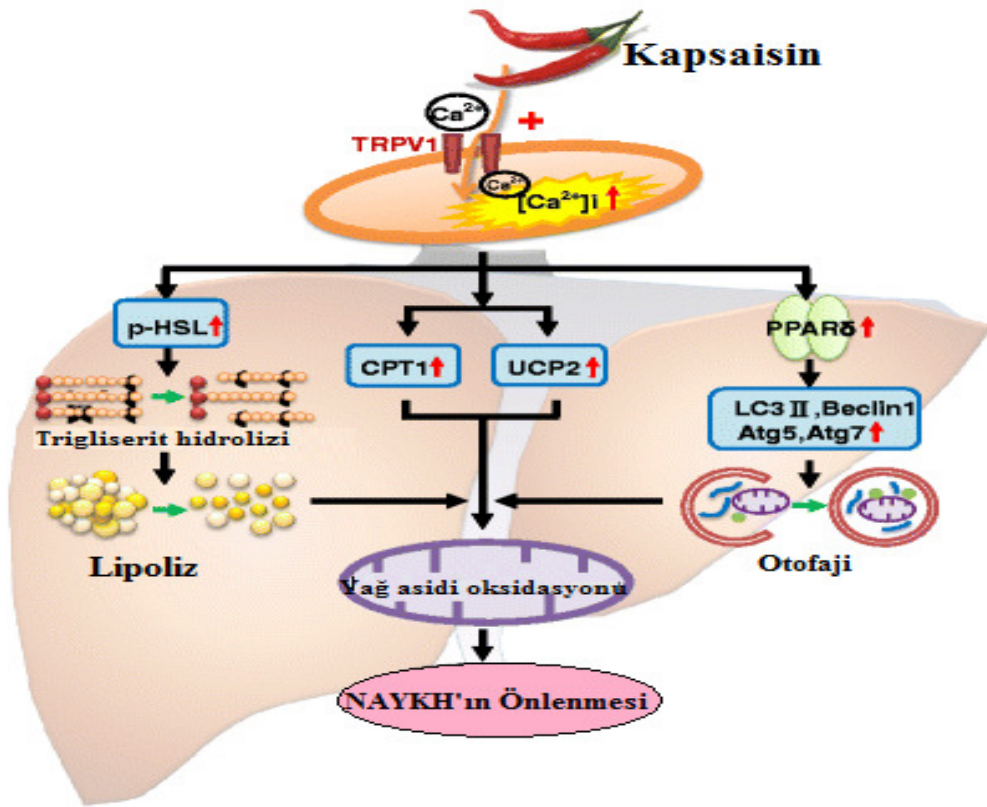
2.10.2. Kapsaisinin metabolik etkileri

Kapsaisinin, organizmada başta gastrointestinal, kardiyovasküler ve solunum sistemleri olmak üzere pek çok sistem üzerine etkileri bulunmaktadır. Son yıllarda fizyolojik ve farmakolojik etkilerinden dolayı kapsaisinin tıpta ve ilaç sanayisinde kullanımı yaygınlaşmıştır. Kapsaisinin etkisi, dozuna, uygulama şekline ve hedef organa göre değişiklikler göstermektedir (98).

Kapsaisinin antikanser etkisi olduğu (98), trombosit agregasyonunu azalttığı (99), gastrointestinal hareketi arttırdığı (98) ve ağrı azaltıcı (98) olarak etki gösterdiği belirtilmiştir.

Kapsaisin tüketiminin enerji harcanmasında artışa neden olduğu, lipid oksidasyonunu arttırdığı ve iştah azalmasına yol açtığı da çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (100,101). % 0.015 kapsaisin uygulamasının yağlı diyetle beslenen farelerde açlık glikoz ve TG düzeylerini azalttığı gösterilmiştir (13). Ancak NAYKH' da diyetel kapsaisinin etki mekanizması henüz tam olarak anlaşılamamıştır.

Li ve ark.' ları yağlı diyetle beslenen farelerde yaptıkları çalışmada, kapsaisinin hepatositte lipid birikimini, karaciğerde ve nöronlarda bulunan TRPV1 reseptörleri aracılığı ile azalttığını belirtmişlerdir. Hepatik lipid birikiminde TRPV1 aktivasyonunun etkisi PPAR δ bağlantılı otofajinin artışı yoluyla olmaktadır (102, Şekil 2.17). PPAR δ aktivasyonunun yağ dokusunda ve karaciğerde hormon duyarlı lipaz (HSL), mitokondriyal uncoupling protein 2 (UCP2) ve CPT1'in aktivitesini arttırdığı saptanmıştır (103,104).



Şekil 2.17: NAYKH'nın önlenmesinde transiyen reseptör potansiyel vanilloid 1 (TRPV1) aktivasyonu modeli. Diyette alınan kapsaisin TRPV1 aktivasyonu yoluyla PPAR δ 'ı uyarmakta ve otofaji artışına yol açmaktadır; aynı zamanda serbest yağ asidi oksidasyonunun lipolizle birlikte artışı da sonuçta nonalkolik yağlı karaciğer hastalığına karşı koruyucu etki gösterebilmektedir. (102).

Kronik kapsaisin uygulamasının yağlı karaciğer oluşumunu engellediği gösterilmiş ancak mekanizması belirlenememiştir (105). Kapsaisin uygulamasının hepatik lipolizi

özellikle total HSL ve fosfo HSL' yi aktive ettiği ancak TRPV1 bağımlı durumda, kapsaisin uygulaması ile FAS ve SREBP-1' in uyarılmadığı bildirilmiştir (102). Hepatik lipid metabolizmasında PPAR δ 'nın yağlı diyetle beslenen diyabetik farelerde hepatik steatozisi iyileştirdiği gösterilmiştir (106). Wu ve ark.' ları tarafından yapılan çalışmada da, kronik olarak diyetle verilen kapsaisinin farelerde hepatik PPAR δ 'ı uyardığı belirtilmiştir (107).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereçler:

1. Hassas terazi (Scaltec, Germany)
2. Manyetik karıştırıcı (IKA Labortechnik RH Basic, USA)
3. Mikrosantrifüj (Hettich, Germany)
4. Otomatik pipet (Eppendorf, USA)
5. pH metre (Hanna Instruments, Portugal)
6. Santrifüj (Heraeus, Germany)
7. Spektrofotometre (Pharmaco Biotech, UK)
8. Vorteks (IKA Work Inc. Minishaker, USA)
9. ELISA mikrolaka yıkayıcı (ESW 300 Medispec, US)
10. ELISA mikrolaka çalkalayıcı (IKA-Werke, USA)
11. ELISA mikrolaka okuyucusu (μ Quant, Bio Tek, USA)
12. Sıcak su banyosu (Elektro-mag, USA)
13. Saf su cihazı (Millipore, USA)
14. El homojenizatörü (Tissue Ruptor-Qiagen, Germany)
15. Güç kaynağı (E-C Apparatus Corporation, USA)
16. Mini jel elektroforez ve transfer sistemi (Bio-RAD, USA)
17. UV transilluminatör ve görüntüleme sistemi (Vilber Lourmatt, France)

3.2. Çalışma Protokolü:

Bu çalışmada İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp ve Araştırma Enstitüsü'nden sağlanan 40 adet 3.5-4 aylık 200-250 g ağırlığında Sprague-Dawley erkek sıçanlar (İstanbul Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu, karar no: 2013/133) kullanıldı ve deney hayvanları 5 ana gruba ayrıldı.

1) Kontrol grubu (n=8): Sıçanlar, Mehmet Barbaros Denizeri Yem Ticaret Firması'nda (MBD, İstanbul, Türkiye) hazırlanan, standart pellet sıçan yemi ile beslendi.

2)Yüksek Yağlı Diyet (YYD) grubu (n=8): Mehmet Barbaros Denizeri Yem Ticaret Firması'nda (MBD, İstanbul, Türkiye), yağ oranı yüksek yem (toplam kaloringin % 60'ının yağdan karşılandığı yem) hazırlandı ve sıçanlar deney süresi boyunca bu yemle beslendi.

3)YYD+Kurkumin (YYD+Kur) grubu (n=8): Yağ oranı yüksek yeme, kg başına 1.5 g olacak şekilde kurkumin (#820354; Merck, Germany) eklendi; karıştırılarak tekrar pellet haline getirildi ve hazırlanan bu yemle hayvanlar beslendi.

4) YYD+Kapsaisin (YYD+Kap) grubu (n=8): Yağ oranı yüksek yeme, kg başına 0.15 g olacak şekilde kapsaisin (#J62865; Alfa Aesar, Germany,) eklendi; karıştırılarak tekrar pellet haline getirildi ve hazırlanan bu yemle hayvanlar beslendi.

5) YYD+Kurkumin+Kapsaisin (YYD+Kur+Kap) grubu (n=8): Yağ oranı yüksek yeme, kg başına 1.5 g kurkumin ve 0.15 g kapsaisinolacak şekilde karıştırılarak harmanlandı. Ardından tekrar pellet haline getirildi ve hazırlanan bu yemle hayvanlar beslendi.

Çalışmada kullanılan sıçan yemlerinin içerikleri Tablo 3.1’ de görülmektedir.

Tablo 3.1: Çalışmada kullanılan sıçan yem içerikleri

İçerik	Yüksek Yağlı Yem	Kontrol Yem
Ham Protein (%)	23,5	20
Ham Selüloz (%)	5,06	6
Ham Kül (%)	5,21	5,2
Ham Yağ (%)	34	2,7
Enerji (Kcal/ kg)	3969	2600

Yemlere eklediğimiz kurkumin miktarı, Ejaz ve ark.’ ları (108) ile daha önce bizim yaptığımız (15) çalışmalar, kapsaisin miktarı ise Kang JH ve ark.’ larının (13) çalışması referans alınarak hesaplandı.

Sıçanlar 16 hafta süresince beslendi. Hayvanların başlangıç ağırlıkları kaydedildi ve haftalık tartım yapılarak kilo değişimleri ve yedikleri yem miktarı belirlendi. Süre bitiminde, sıçanlar, bir gece aç bırakıldıktan sonra intraperitoneal enjeksiyonla verilen Na-pentotal (50 mg/kg i.p) anestezisi altında kalplerinden kan alınarak kurban edildi. Kuru tüplere alınan kanlar 1500 x g’ de santrifuj edildi. Ayrılan serumlarda; leptin, adiponektin, fetuin-A, insülin, glikoz, TK ve TG düzeyleri ile alanin transaminaz (ALT), aspartat transaminaz (AST) aktivite ölçümleri yapıldı. Karaciğer dokusu hızla çıkarıldı, % 0.9 NaCl çözeltisi ile yıkandı ve parçalara ayrılarak deneyler yapılmaya kadar -80 °C’ de saklandı. Ayrıca histolojik incelemeler için doku örnekleri alındı.

3.3. Serumda Yapılan İncelemeler

Serum glikoz, TK ve TG düzeyleri ile ALT, AST aktiviteleri, İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Merkez Biyokimya Laboratuvarında, Roche firmasına ait (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) otoanalizörde ölçüldü. Serum fetuin-A, insülin, adiponektin ve leptin düzeyleri, İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda, sıçan için üretilmiş olan ELISA kitleri ile belirlendi. HOMA indeksi $[açlık\ insülini\ (\mu U/mL) \times açlık\ glikozu\ (mg/dL)]/405$ formülüne göre hesaplandı.

3.3.1. Serum Adiponektin Düzeylerinin Ölçümü

Serum adiponektin düzeyleri, sandviç ELISA prensibine dayanan ticari kit (#ERA2500-1; Assaypro, Missouri, USA,) ile ölçüldü. Sonuçlar $\mu g/mL$ olarak verildi. Firma tarafından; kitin saptayabildiği minimum adiponektin konsantrasyonu 1.5 ng/mL, çalışma içi kesinliği % 4.5 ve çalışmalar arası kesinliği % 7.1 olarak verilmiştir.

İşlem Prensibi: Adiponektine özgü poliklonal antikorlarla kaplanmış kuyucuk yüzeylerinde çalışıldı. Standartlar ve örnekteki adiponektin, hareketsiz olan kaplanmış antikorlar ve streptavidin peroksidaz konjugatı tarafından tanınan adiponektin için spesifik biotinile poliklonal antikorları arasında sandviç halini aldı. Bağlanmamış olan tüm materyaller yıkama işlemi ile uzaklaştırıldı. Ardından peroksidaz enzim substratı eklendi. Renk gelişimi durdurulduktan sonra absorbans 450 nm' de ölçüldü. Örneklerdeki adiponektin miktarları standart eğri aracılığıyla hesaplandı.

3.3.2. Serum Leptin Düzeylerinin Ölçümü

Serum leptin düzeyleri, sandviç ELISA prensibine dayanan ticari kit (#SK00050-08; Aviscera Bioscience, Santa Clara, USA) ile ölçüldü. Sonuçlar pg/mL olarak verildi. Firma tarafından; kitin saptayabildiği minimum leptin konsantrasyonu 30 pg/mL, çalışma içi kesinliği % 4-8 ve çalışmalar arası kesinliği % 8-12 olarak verilmiştir.

İşlem Prensibi: Leptine özgü antikorlarla kaplanmış kuyucuk yüzeylerinde çalışıldı. Standartlar ve örnekteki leptin, hareketsiz olan kaplanmış antikorlar ile bağlandı ve bağlanmamış materyal yıkama işlemi ile uzaklaştırıldı. Leptin için spesifik biotinile antikorları kuyucuklara eklendi. Bağlanmamış olan tüm materyaller yıkama işlemi ile uzaklaştırıldı. Ardından streptavidin-peroksidaz konjugatı eklendi. Son yıkama işlemi ile

bağlanmamış olan tüm materyaller uzaklaştırıldı. Her kuyucuğa substrat solüsyonu eklendi, örnek ve standarttaki leptin miktarlarıyla orantılı olarak renk oluştu. Renk gelişimi durdurulduktan sonra absorbans 450 nm’ de ölçüldü. Örneklerdeki leptin miktarları standart eğri aracılığıyla hesaplandı.

3.3.3. Serum Fetuin-A Düzeylerinin Ölçümü

Serum fetuin-A düzeyleri, yarışmalı inhibisyon ELISA prensibine dayanan ticari kit (#CSB-E12728r; Cusabio, Hubei Province, China) ile ölçüldü. Sonuçlar $\mu\text{g/mL}$ olarak verildi. Firma tarafından; kitin saptayabildiği minimum fetuin-A konsantrasyonu 62.5 ng/mL, çalışma içi kesinliği $< \% 8$ ve çalışmalar arası kesinliği $< \% 10$ olarak verilmiştir.

İşlem Prensibi: Fetuin-A kaplanmış kuyucuk yüzeylerinde çalışıldı. Streptavidin peroksidaz konjugatı tarafından tanınan fetuin-A için spesifik biotinile antikorları; örnekteki fetuin-A ile kuyucuk yüzeylerine kaplanmış fetuin-A’ya bağlanmak için yarıştı. Her kuyucuğa kromojen substratı eklendi. Renk gelişimi durdurulduktan sonra absorbans 450 nm’ de ölçüldü. Örneklerdeki fetuin-A miktarları standart eğri aracılığıyla hesaplandı.

3.3.4. Serum İnsülin Düzeylerinin Ölçümü

Serum insülin düzeyleri, sandviç ELISA prensibine dayanan ticari kit (#EZRMI-13K; EMD Millipore, Missouri, USA) ile ölçüldü. Sonuçlar ng/mL olarak verildi. Firma tarafından; kitin saptayabildiği minimum insülin konsantrasyonu 0.1 ng/mL, çalışma içi kesinliği $\% 1.17-3.22$ ve çalışmalar arası kesinliği $\% 6.71-9.23$ olarak verilmiştir (Kesinlik verileri ortalama insülin konsantrasyonuna göre farklılık gösterir).

İşlem Prensibi: İnsüline özgü monoklonal antikorlarla kaplanmış kuyucuk yüzeylerinde çalışıldı. Standartlar ve örnekteki insülin, hareketsiz olan kaplanmış antikorlar ve streptavidin peroksidaz konjugatı tarafından tanınan insülin için spesifik biotinile poliklonal antikorları arasında sandviç halini aldı. Bağlanmamış olan tüm materyaller yıkama işlemi ile uzaklaştırıldı. Ardından streptavidin-peroksidaz enzim konjugatı eklendi. Son yıkama işlemi ile bağlanmamış olan tüm materyaller uzaklaştırıldı. Her kuyucuğa substrat solüsyonu eklendi. Renk gelişimi durdurulduktan sonra absorbans 450 nm’ de ölçüldü. Örneklerdeki insülin miktarları standart eğri aracılığıyla hesaplandı.

3.4. Karaciğer Dokusunda Yapılan İncelemeler

3.4.1. Karaciğer Dokusu TG ve TK Düzeylerinin Ölçümü:

Doku homojenizasyonu ve lipid ekstraktlarının hazırlanması: Karaciğer dokusu tartılarak, Potter-Elvehjem doku homojenizatöründe, soğuk 0.15 M KCl çözeltisi ile % 10'luk homojenat (a/h) hazırlandı.

Hazırlanan homojenatlardan Folch ve ark.'larının (109) yöntemine göre 0.25 mL alınarak, üzerine 3.75 mL kloroform:metanol (2:1) karışımı eklendi. İyice karıştırıldı, 1 saat ara sıra karıştırılarak beklendi. Daha sonra süzülerek son hacimler kloroform:metanol (2:1) karışımı ile 4 mL'ye tamamlanarak lipid ekstraktları hazırlandı.

İşlem: Hazırlanan lipid ekstraktından 1 mL alındı ve kaynar su banyosunda uçuruldu. Daha sonra lipid kalıntısı üzerine 0.4 mL etanol: dietileter (3:1) karışımı eklendi, vorteks ile iyice karıştırıldı. Bu ekstraktan, 0.1 mL alındı; üzerine TK ve TG tayinleri için kullanılan kitlerdeki (BIOLABO SA, Maizy-France) ayıraçlardan 1 mL eklendi. Tüpler 37 °C'de 5 dk tutuldu ve oluşan renk 505 nm'de spektrofotometrede okundu. Sonuçlar µmol kolesterol/g doku ve µmol TG/g doku olarak verildi.

3.4.2. Western Blot yöntemi ile fetuin-A, AMPK ve p-AMPK ekspresyonlarının incelenmesi:

Doku homojenizasyonu: Karaciğer dokusu, 50 µM Tris HCl, % 0.5 sodyum deoksikolat, 150 µM NaCl, %1 triton-X100, 2 µM etilendiamin tetraasetik asit (EDTA), % 8.7 gliserol, % 0.1 sodyum dodesil sülfat (SDS) ve proteaz inhibitör kokteyli (#P8340; Sigma-Aldrich, USA) içeren homojenizasyon tamponunda, el homojenizatörü ile homojenize edilerek % 10'luk doku homojenatları hazırlandı (110). p-AMPK ekspresyonu için homojenat hazırlanırken, homojenizasyon tamponuna fosfataz inhibitör kokteyli (#sc-45044; Santa Cruz Biotechnology, USA) de eklendi.

İşlem: Homojenatlar, 13,000 x g' de 20 dk. +4 °C'de santrifüj edildikten sonra süpernatantlar ayrıldı ve bişinkoninik asit (BCA) yöntemi ile protein tayini yapıldı (111). Mini elektroforez sisteminde (Mini Protean 3 cell) % 8-10'luk SDS-poliakrilamid jeller hazırlandı ve süpernatantlar sulandırıldıktan sonra Laemli tamponu ile karıştırılarak 80 µg protein/kuyucuk olacak şekilde yüklendi. 100 voltta (30 mA) yaklaşık 1.5 saat elektroforez yapıldıktan sonra jeller çıkarılarak poliviniliden florid (*polyvinylidene flüoride*; PVDF) membrana (Millipore Corporation, USA) proteinler transfer edildi (Mini trans-blot

electrophoretic transfer cell). PVDF membran, % 5 yağsız süt tozu içeren, % 0.1 Tween 20 içeren fosfat tamponlu tuz çözeltisi (PBS-T) ile bir saat bloke edildikten sonra membranlar, anti fetuin-A (#sc-20872; Santa Cruz Biotechnology, USA), anti AMPK (#sc-25792; Santa Cruz Biotechnology, USA) ve anti p-AMPK (#sc-101630; Santa Cruz Biotechnology, USA) primer antikörleri ile tüm gece + 4 °C’de ve sonrasında 1 saat oda ısısında inkübe edildi. Membranlar PBS-T ile yıkandıktan sonra sekonder antikör ile (*horseradish peroxidase*; HRP ile konjuge edilmiş IgG) ile (#sc-2020 ve sc-2004; *anti-goat* ve *anti-rabbit* sekonder antikörleri, Santa Cruz Biotechnology, USA) 1 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda membranlar 3x10 dk PBS-T ile yıkandı. Daha sonra kemilüminesan substrat (#170-5060, Bio-RAD, USA) ile ışımaya yaptırıldı ve röntgen filmini işaretlemesi için sırasıyla 1, 3, 5 ve 10 dk bekletildi. Oluşan bantlar transilluminatörde görüntülenerek bilgisayar sistemine aktarıldı ve miktar tayini yapıldı. Çalışmamızda internal standart olarak aktin (#sc-1616-R; Santa Cruz Biotechnology, USA) kullanıldı ve tüm örnekler aktin ile standardize edildi.

3.4.3. Karaciğer dokusunda protein tayini

Doku protein miktarı, BCA metodu (111) ile belirlendi.

Ayırıcılar:

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

eklenerek hazırlandı.

İşlem: 200 µL protein renklendirici ayırıcı üzerine sulandırılmış karaciğer süpernatantlarından 10 µL ilave edildi. Karıştırıldıktan sonra 37⁰ C’de 30 dk beklendi. Oda ısısında soğutuldu ve oluşan rengin absorbansı 562 nm’ de mikropilaya okuyucusunda okundu.

3.5. Histolojik İncelemeler

Karaciğer örnekleri % 10’luk formalin çözeltisinde saklandı. Standart doku takip işlemlerinden geçirildikten sonra parafin bloklara gömülerek kesitler alındı ve hematoxilen-eozin (H+E) ile boyanarak ışık mikroskopisi ile değerlendirildi. Karaciğer hücrelerinin yağ içeriği yüzdelerine göre 0’dan 4’e kadar skorlama yapılarak karaciğer dokusundaki yağlanmanın düzeyi tespit edildi ve elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildi (0, yağlanma yok; 1+, < % 0-20; 2+, %20-39; 3+, %40-50; 4+, > %50).

3.6. İstatistik İncelemeler

İstatistik analizler için SPSS versiyon 21.0 (SPSS, Chicago, IL, USA) bilgisayar programı kullanıldı. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu görsel ve analitik yöntemlerle incelendi. Tüm değişkenler ortalama $\pm$ SD olarak ifade edildi. Deney grupları tek yönlü ANOVA testi kullanılarak karşılaştırıldı. Varyansların homojenliği Levene testi ile değerlendirildi. p değerinin 0.05 'in altında olduğu durumlarda, gruplar arası anlamlılığı test etmek için ikişerli post-hoc karşılaştırmalar (Tukey veya Tamhane's T2 testleri) kullanıldı. Korelasyon analizi Pearson testi ile yapıldı.

4. BULGULAR

4.1. Yem Tüketimi ve Total Kalori Alımı ile İlgili Bulgular

Çalışmamızda deney gruplarına yem kısıtlaması yapılmadı ve haftalık olarak tüketilen yem miktarı tartıldı. Günlük ortalama yem miktarı hesaplandı. Bulgularımıza göre sıçanların yem tüketiminde YYD grubunda kontrol gruba göre % 18.32 oranında, YYD ile birlikte kurkumin ve/veya kapsaisin alan gruplarda ise YYD grubuna göre yaklaşık % 22 ve % 16 oranında azalma gözlemlendi. Deney gruplarında yem tüketiminde değişim olmasına rağmen, total kalori miktarı hesaplandığında YYD grubunda kontrole göre sıçan başına günlük alınan kalori miktarının arttığı, diğer gruplarda ise kontrol değerlerine yakın değerlerde kaldığı belirlendi (Tablo 4.1).

4.2. Sıçan Vücut Ağırlığındaki ve Karaciğer Ağırlığındaki Değişiklikler

Toplam beş deney grubunda, hayvanların deney başlangıç vücut ağırlıkları, aralarında anlamlı fark olmayacak şekilde seçildi. 16 haftalık deney süresi sonunda ise, başlangıç ağırlığına göre en fazla ağırlık artışı YYD grubunda gözlemlendi (% 75.5). Buna karşılık YYD ile birlikte kurkumin ve kapsaisin alan gruplarda vücut ağırlığı artışı yaklaşık % 41.9-% 48.7 aralığında kaldı. Kesim günü alınan vücut ve karaciğer ağırlıkları, gruplar arasında kıyaslandığında; YYD grubunda kontrol grubuna göre vücut ve karaciğer ağırlığında istatistiksel olarak anlamlı olmayan hafif düzeyde artış, kurkumin ve kapsaisin alan gruplarda YYD grubuna göre vücut ağırlığında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi. Karaciğer ağırlıkları ise sadece YYD+Kap grubunda kontrol ve YYD+Kur grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldı (Tablo 4.1).

Tablo 4.1: Kurkumin (KUR) ve kapsaisin (KAP) içeren yüksek yağlı diyetle (YYD) beslenen sıçanların başlangıç ve bitiş vücut ağırlıkları, ağırlık değişiminin yüzdeleri, karaciğer ağırlıkları, karaciğer indeksi, günlük yem tüketimleri ve kalori alımları (Ortalama±SD).

	KONTROL (n:8)	YYD (n:8)	YYD+KUR (n:8)	YYD+KAP (n:8)	YYD+KUR +KAP (n:8)
Başlangıç Ağırlığı (g)	211.7±15.8	213.5±6.59	219.5±13.1	219.6±12.0	218.5±11.9
Kesim Ağırlığı(g)	361.2±38.2	375.0±22.4	320.5±31.3 ^{b2}	312.1±33.1 ^{a1,b3}	323.1±19.8 ^{b1}
Ağırlık Değişiminin Yüzdesi* (%)	70.9±17.4	75.6±7.09	45.8±8.70 ^{a2,b3}	41.9±9.65 ^{a3,b3}	48.7±17.9 ^{a1,b2}
Karaciğer Ağırlığı(g)	8.82±0.80	8.15±0.79	8.51±0.84	7.10±0.92 ^{a2,c2}	7.76±0.69
Karaciğer İndeksi **	2.45±0.16	2.17±0.11 ^{a3}	2.66±0.07 ^{a1,b3}	2.27±0.12 ^{c3}	2.40±0.16 ^{b2,c2}
Günlük Yem Tüketimi (g/gün/sıçan)	21.1±1.25	17.2±2.10 ^{a3}	13.4±1.30 ^{a3,b3}	14.5±2.32 ^{a3,b1}	14.4±1.82 ^{a3,b2}
Günlük Kalori Alımı (Kcal/gün/sıçan)	54.8±3.26	68.3±8.34	53.2±5.17 ^{b3}	57.6±9.23 ^{b1}	57.3±7.22 ^{b2}

*: Ağırlık değişiminin yüzdesi= ((Kesim ağırlığı-Başlangıç ağırlığı)/Başlangıç ağırlığı)x100

**: Karaciğer indeksi= (karaciğer ağırlığı/ bitiş vücut ağırlığı)x100

(Kontrol grubuna göre^{a1}:p≤0.05- ^{a2}:p≤0.01- ^{a3}:p≤0.001

YYD grubuna göre ^{b1}:p≤0.05- ^{b2}:p≤0.01- ^{b3}:p≤0.001

YYD+Kur grubuna göre^{c1}:p≤0.05- ^{c2}:p≤0.01- ^{c3}:p≤0.001)

4.3. Serumda Yapılan İncelemeler

Serum TG ve TK düzeylerinde gruplar arasında anlamlı değişim gözlenmedi (Tablo 4.2). Serum AST aktivitesi değerlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı değişim saptanmazken; serum ALT aktivitesi, YYD+Kap grubunda kontrol ve diğer gruplarla karşılaştırıldığında anlamlı olarak azalmış bulundu. İnsülin düzeylerinde kontrole göre tüm gruplarda anlamlı yükselme saptandı (Tablo 4.2).

Serum adipokin düzeyleri incelendiğinde; deney grupları arasında adiponektin düzeylerinin değişmediği görüldü (Tablo 4.3). Ancak serum leptin düzeylerinin YYD grubunda kontrole göre anlamlı yükseldiği, kurkumin ve kapsaisin uygulamasının bu artışı baskıladığı, özellikle kapsaisin uygulamasının leptin düzeylerini kontrol değerlerine getirdiği gözlemlendi (Tablo 4.3, Şekil 4.1).

Serum fetuin-A düzeyleri, YYD uygulaması ile anlamlı olarak arttı. Kurkumin uygulamasının bu artışı istatistiksel olarak anlamlı olmayan derecede hafif azalttığı görüldü. Ancak buna karşılık kapsaisinin, YYD'e bağlı olarak artan serum fetuin-A düzeyleri üzerinde hiçbir düzenleyici etkisi saptanmadı (Tablo 4.3, Şekil 4.2).

Tablo 4.2: Kurkumin (KUR) ve kapsaisin (KAP) içeren yüksek yağlı diyetle (YYD) beslenen sıçanların serum insülin, glikoz, HOMA indeksi, trigliserit ve total kolesterol düzeyleri ve serum aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT) aktiviteleri (Ortalama±SD).

	KONTROL (n:8)	YYD (n:8)	YYD+KUR (n:8)	YYD+KAP (n:8)	YYD+KUR +KAP (n:8)
İnsülin (ng/mL)	0.86±0.30	1.38±0.27 ^{a2}	1.31±0.20 ^{a2}	1.24±0.18 ^{a1}	1.29±0.29 ^{a1}
Glikoz (mg/dL)	119.2±12.0	126.0±5.68	123.2±15.0	119.1±7.31	122.0±12.7
HOMA İndeksi*	6.37±2.45	10.7±2.36 ^{a2}	9.95±1.90 ^{a1}	9.09±1.26	9.71±2.43 ^{a1}
AST (IU/L)	91.2±5.40	99.2±10.6	101.9±5.49	93.7±9.27	93.7±10.7
ALT (IU/L)	58.7±4.20	57.4±4.24	59.9±3.48	47.4±8.30 ^{a3,b2,c3,d3}	58.7±3.05
Trigliserit (mg/dL)	25.9±5.79	25.4±4.56	26.2±4.27	21.2±2.37	22.2±3.01
Kolesterol (mg/dL)	48.2±6.13	51.0±6.76	46.7±4.71	47.2±12.1	45.2±6.47

*: $HOMA\ indeks = [açlık\ insülini(\mu U/mL) \times açlık\ glikozu(mg/dL)] / 405$

Açlık insülin değerleri (ng/mL) 25 ile çarpılarak $\mu U/mL$ birimine çevirilmiştir.

(Kontrol grubuna göre ^{a1}:p≤0.05- ^{a2}:p≤0.01- ^{a3}:p≤0.001

YYD grubuna göre ^{b1}:p≤0.05- ^{b2}:p≤0.01- ^{b3}:p≤0.001

YYD+Kur grubuna göre ^{c1}:p≤0.05- ^{c2}:p≤0.01- ^{c3}:p≤0.001

YYD+Kur+Kap grubuna göre ^{d1}:p≤0.05- ^{d2}:p≤0.01- ^{d3}:p≤0.001)

Tablo 4.3: Kurkumin (KUR) ve kapsaisin (KAP) içeren yüksek yağlı diyetle (YYD) beslenen sıçanların serum adiponektin, leptin ve fetuin-A düzeyleri (Ortalama±SD).

	KONTROL (n:8)	YYD (n:8)	YYD+KUR (n:8)	YYD+KAP (n:8)	YYD+KUR +KAP (n:8)
Adiponektin ($\mu g/mL$)	5.91±1.20	5.18±1.26	5.52±1.63	5.49±0.62	5.30±0.85
Leptin (pg/mL)	257,1±103,2	606,4±0.27 ^{a3}	427,8±107,8	345,4±99,3 ^{b1}	223,5±39,6 ^{b3,c2}
Fetuin-A ($\mu g/mL$)	988,3±121,1	1127,6±96,4 ^{a1}	1040,3±63,8	1128,4±50,6 ^{a1}	1183,7±84,0 ^{a2,c1}

(Kontrol grubuna göre ^{a1}:p≤0.05- ^{a2}:p≤0.01- ^{a3}:p≤0.001

YYD grubuna göre ^{b1}:p≤0.05- ^{b2}:p≤0.01- ^{b3}:p≤0.001

YYD+Kur grubuna göre ^{c1}:p≤0.05- ^{c2}:p≤0.01- ^{c3}:p≤0.001)

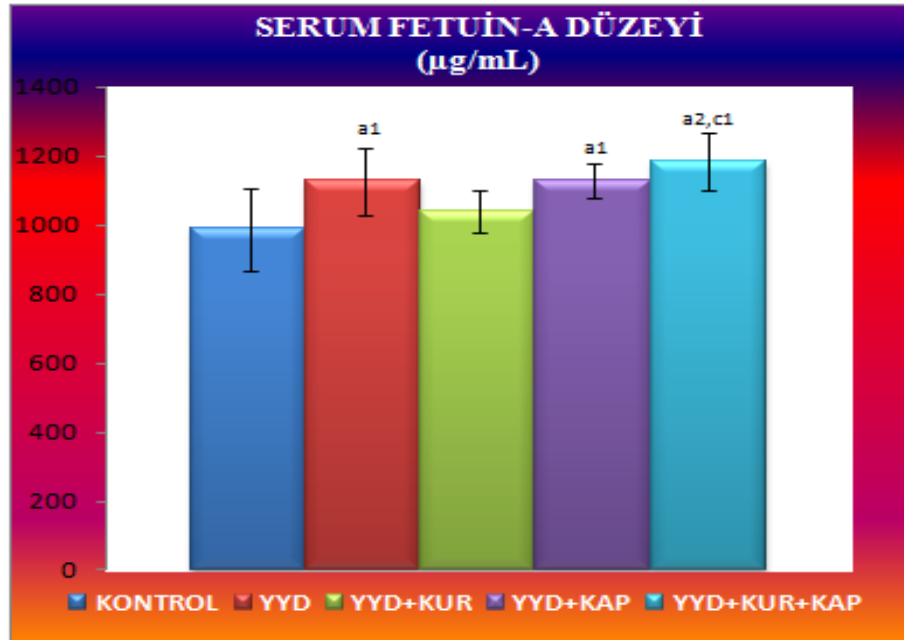


Şekil 4.1: Kurkumin (KUR) ve kapsaisin (KAP) içeren yüksek yağlı diyetle (YYD) beslenen sıçanların serum leptin düzeyleri (ortalama $\pm$ SD)

(Kontrol grubuna göre ^{a1}: $p \leq 0.05$ - ^{a2}: $p \leq 0.01$ - ^{a3}: $p \leq 0.001$)

YYD grubuna göre ^{b1}: $p \leq 0.05$ - ^{b2}: $p \leq 0.01$ - ^{b3}: $p \leq 0.001$)

YYD+Kur grubuna göre ^{c1}: $p \leq 0.05$ - ^{c2}: $p \leq 0.01$ - ^{c3}: $p \leq 0.001$)



Şekil 4.2: Kurkumin (KUR) ve kapsaisin (KAP) içeren yüksek yağlı diyetle (YYD) beslenen sıçanların serum fetuin-A düzeyleri (ortalama $\pm$ SD)

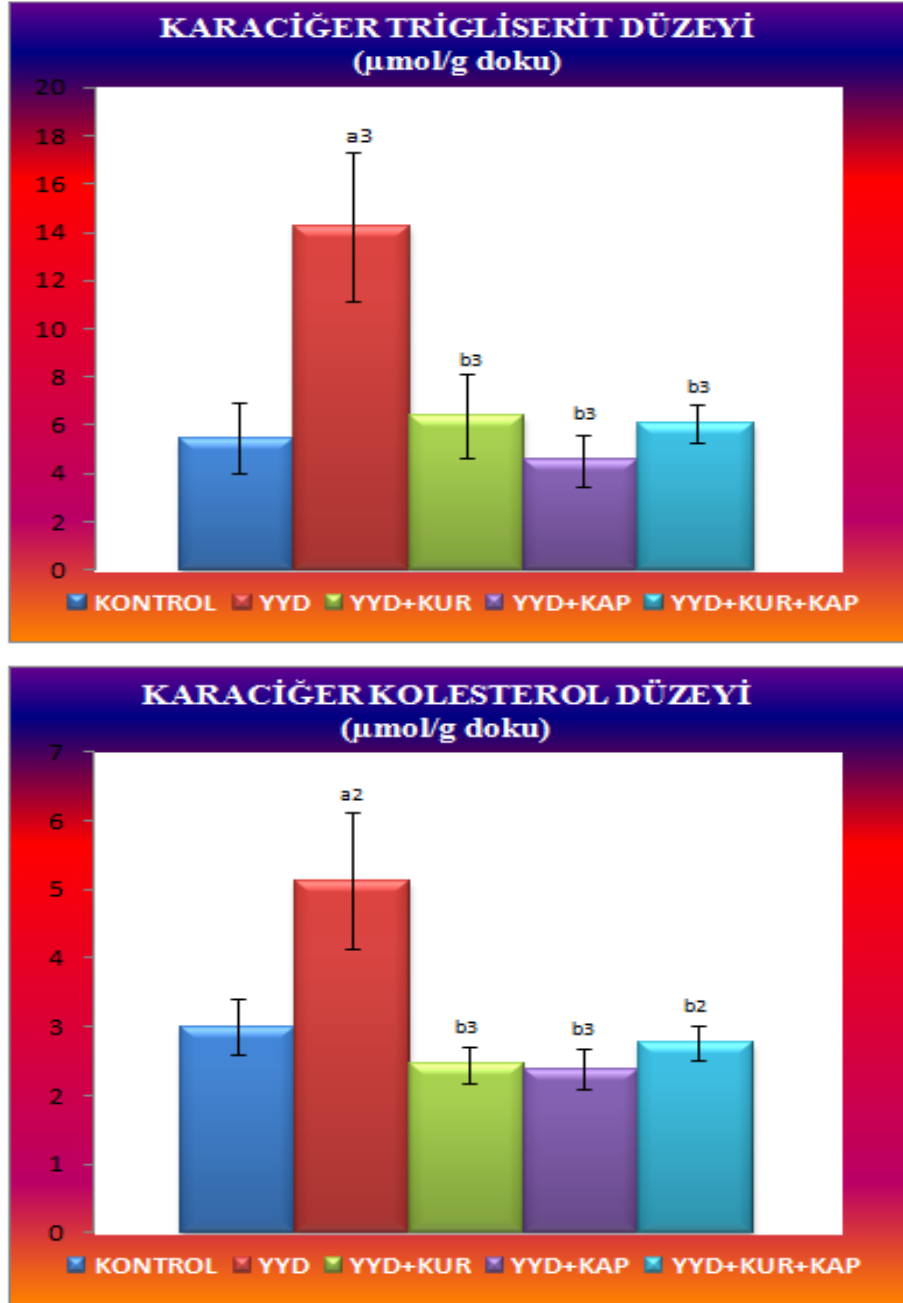
(Kontrol grubuna göre ^{a1}: $p \leq 0.05$ - ^{a2}: $p \leq 0.01$ - ^{a3}: $p \leq 0.001$)

YYD+Kur grubuna göre ^{c1}: $p \leq 0.05$ - ^{c2}: $p \leq 0.01$ - ^{c3}: $p \leq 0.001$)

4.4. Karaciğer Dokusunda Yapılan İncelemeler

4.4.1. Doku Lipit Düzeyleri

Karaciğer TG ve TK düzeyleri, YYD grubunda kontrole göre anlamlı olarak artmış bulundu. Lipit düzeylerindeki bu yükselme, kurkumin ve kapsaisinın ayrı ayrı veya birlikte uygulanması ile anlamlı olarak baskılanmış ve azalmış bulundu (Şekil 4.3)



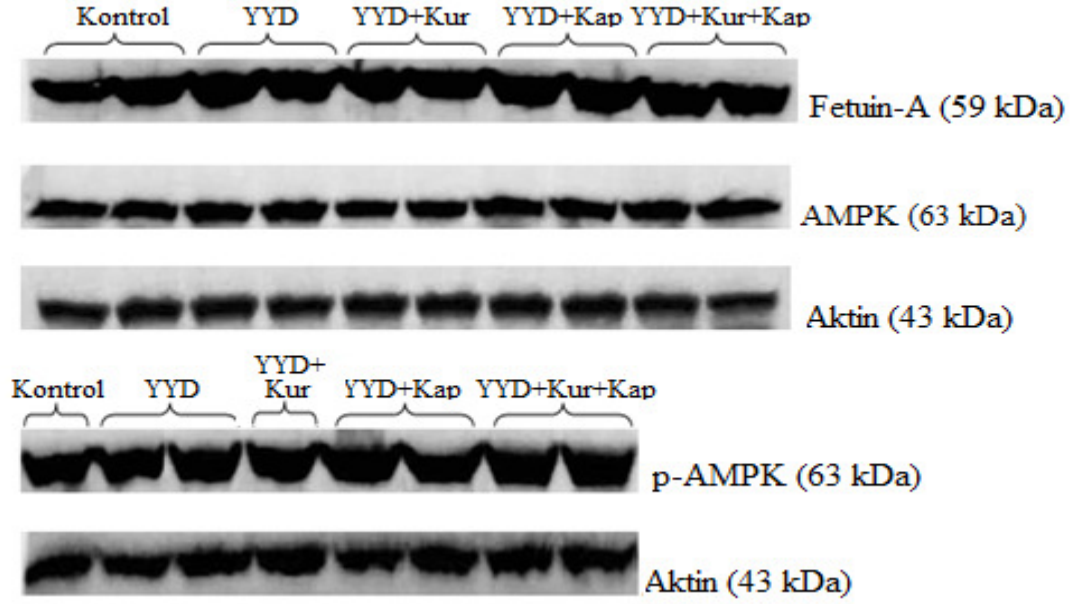
Şekil 4.3: Kurkumin (KUR) ve kapsaisin (KAP) içeren yüksek yağlı diyetle (YYD) beslenen sıçanların karaciğer dokusu lipit düzeyleri (ortalama±SD)

(Kontrol grubuna göre ^{a1}:p≤0.05- ^{a2}:p≤0.01- ^{a3}:p≤0.001

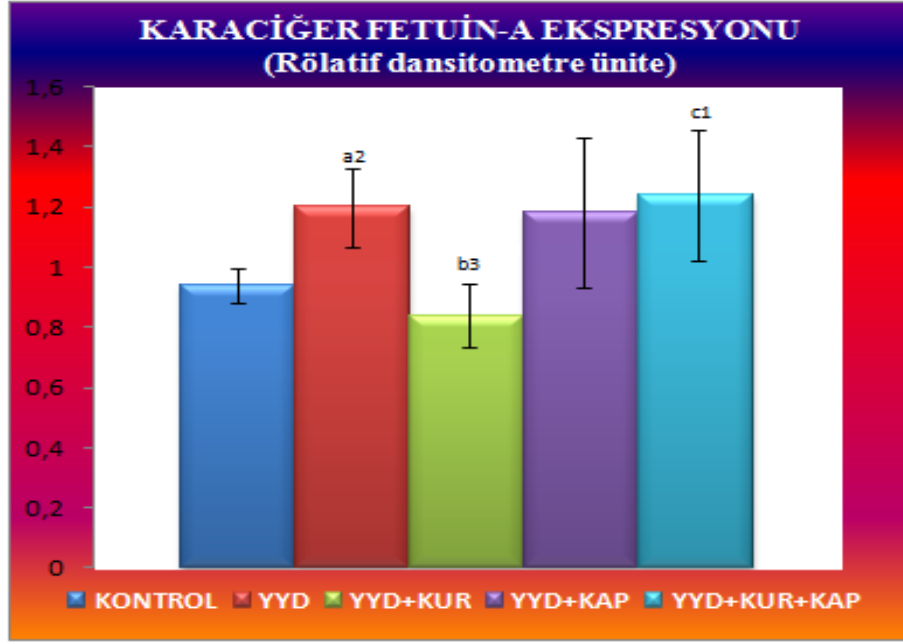
YYD grubuna göre ^{b1}:p≤0.05- ^{b2}:p≤0.01- ^{b3}:p≤0.001)

4.4.2. Doku Fetuin-A, AMPK ve p-AMPK protein ekspresyonları

Fetuin-A ekspresyonunun YYD uygulaması ile anlamlı olarak arttığı, YYD ile birlikte kapsaisin uygulaması fetuin-A ekspresyon düzeyleri üzerine etkili olmazken, kurkumin uygulamasının fetuin-A ekspresyonlarını anlamlı düzeyde azalttığı gözlemlendi. (Şekil 4.4, Şekil 4.5). Karaciğer AMPK ve p-AMPK protein ekspresyonları ise gruplar arasında değişim göstermedi (Şekil 4.4, Şekil 4.6, Şekil 4.7).



Şekil 4.4: Kurkumin (KUR) ve kapsaisin (KAP) içeren yüksek yağlı diyetle (YYD) beslenen sıçanların karaciğer dokusunda fetuin-A, AMPK ve p-AMPK protein ekspresyonlarının Western blot yöntemi görüntüleri

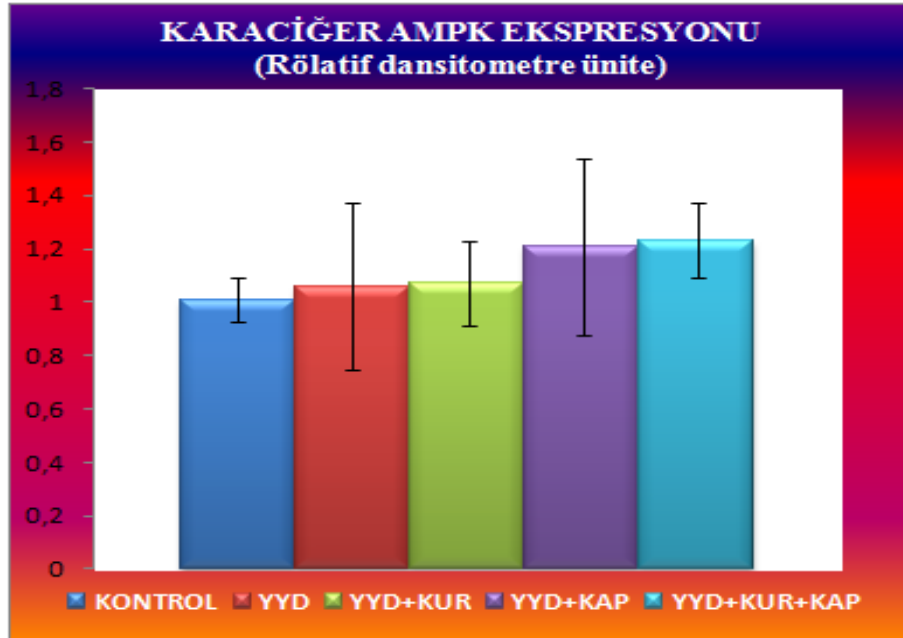


Şekil 4.5: Kurkumin (KUR) ve kapsaisin (KAP) içeren yüksek yağlı diyetle (YYD) beslenen sıçanların karaciğer dokusu fetuin-A protein ekspresyonu (ortalama±SD)

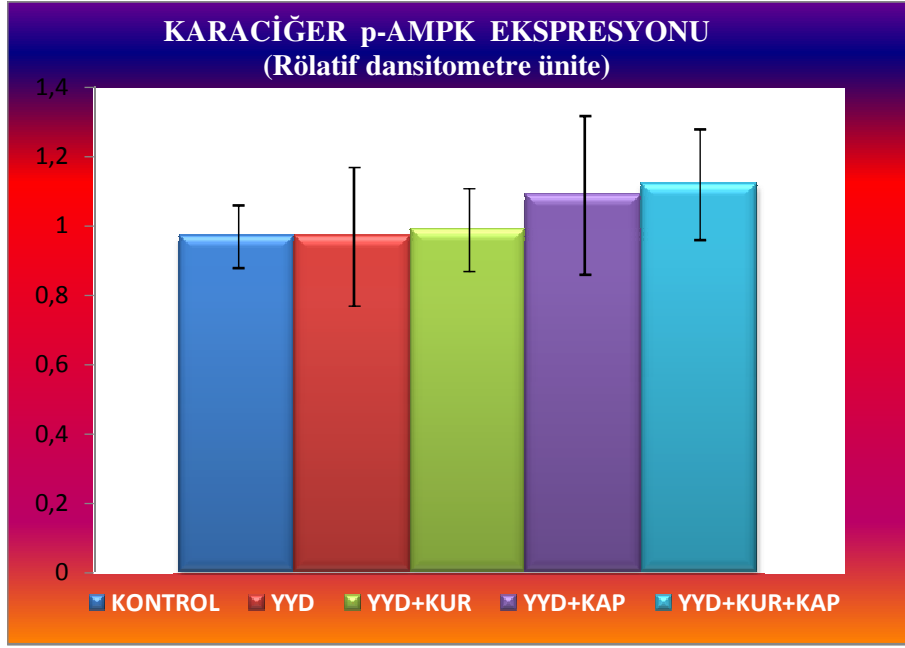
(Kontrol grubuna göre ^{a1}: $p \leq 0.05$ - ^{a2}: $p \leq 0.01$ - ^{a3}: $p \leq 0.001$)

YYD grubuna göre ^{b1}: $p \leq 0.05$ - ^{b2}: $p \leq 0.01$ - ^{b3}: $p \leq 0.001$)

YYD+Kur grubuna göre ^{c1}: $p \leq 0.05$ - ^{c2}: $p \leq 0.01$ - ^{c3}: $p \leq 0.001$)



Şekil 4.6: Kurkumin (KUR) ve kapsaisin (KAP) içeren yüksek yağlı diyetle (YYD) beslenen sıçanların karaciğer dokusu AMPK protein ekspresyonu (ortalama±SD)



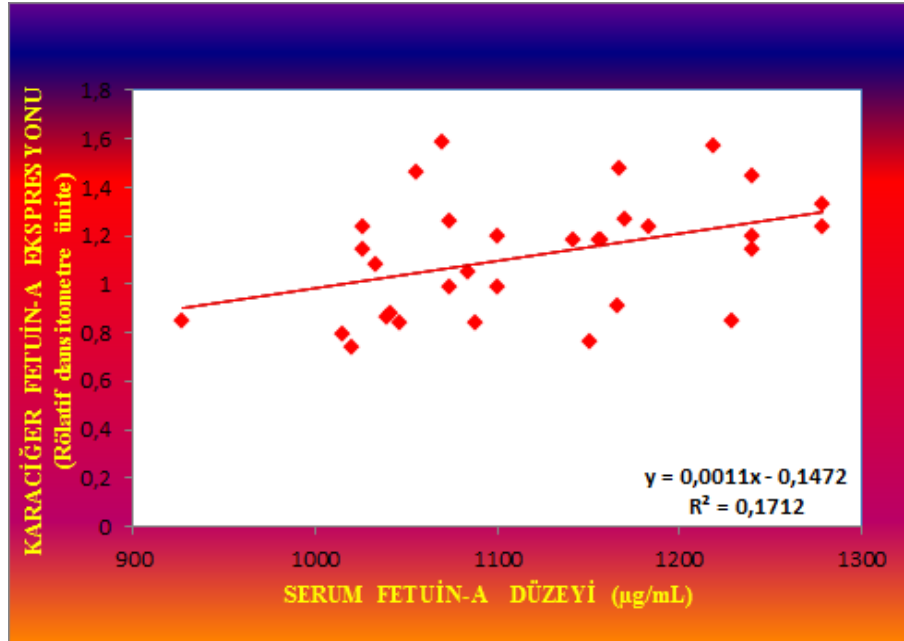
Şekil 4.7: Kurkumin (KUR) ve kapsaisin (KAP) içeren yüksek yağlı diyetle (YYD) beslenen sıçanların karaciğer dokusu p-AMPK protein ekspresyonu (ortalama±SD)

4.5. Korelasyonlar

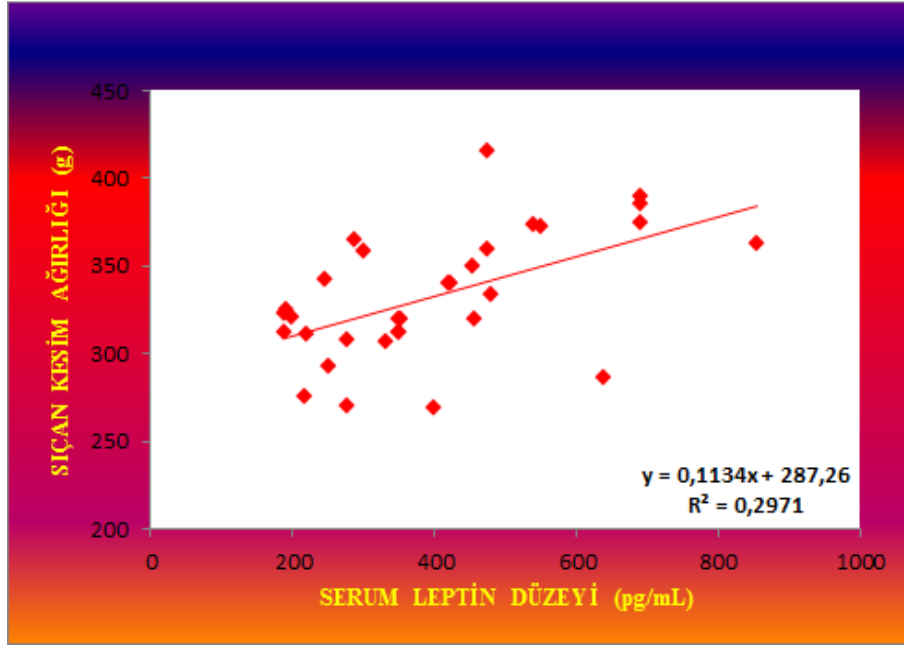
YYD'le beslenen 32 hayvanın deney sonuçları ile yapılan korelasyon analizleri Tablo 4.4'de görülmektedir. Bulgularımıza göre serum fetuin-A düzeyleri ile karaciğer fetuin-A protein ekspresyonu arasında anlamlı pozitif bir ilişki bulundu ($r=0.414$, $p=0.019$, şekil 4.8). Serum leptin düzeyleri ile hayvan karaciğer ağırlıkları arasında ($r=0.381$, $p=0.031$) ve kesim ağırlıkları arasında ($r=0.545$, $p=0.001$, şekil 4.9) da anlamlı pozitif ilişki görüldü. Karaciğer TG ve TK düzeyleri arasında ileri derecede anlamlı pozitif ilişki ($r=0.919$, $p\leq 0.001$, şekil 4.10) saptandı. Karaciğer lipit düzeylerinin serum leptin düzeyleri ve hayvan vücut kesim ağırlığı ile de arasında anlamlı pozitif ilişkilerin olduğu görüldü (Tablo 4.4).

Tablo 4.4: Yüksek yağlı diyetle (YYD) ile beslenen sıçanların bazı deney sonuçlarının regresyon analizi (n=32; r=korelasyon katsayısı)

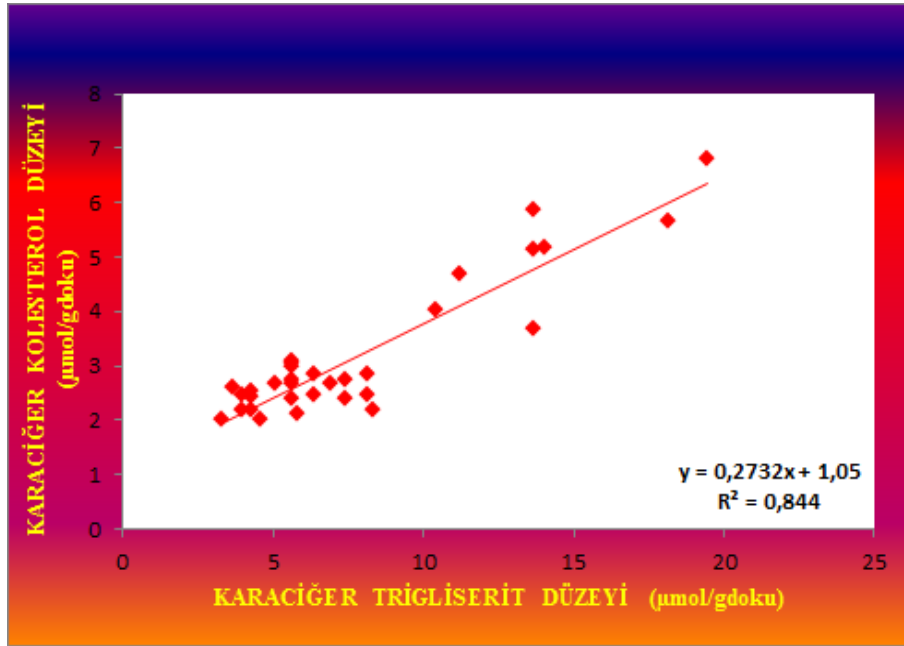
	Serum Fetuin-A	Karaciğer Fetuin-A ekspresyonu	Karaciğer Trigliserit	Karaciğer Kolesterol	Serum ALT	Serum Leptin	Karaciğer Ağırlığı	Kesim Ağırlığı	İSTATİSTİK
Serum Fetuin-A	1	0.414 0.019	0.156 0.395	0.225 0.217	0.093 0.614	-0.178 0.330	-0.085 0.642	0.084 0.647	r p
Karaciğer Fetuin-A ekspresyonu	0.414 0.019	1	0.088 0.633	0.230 0.205	-0.200 0.273	0.083 0.650	0.013 0.942	0.302 0.093	r p
Karaciğer Trigliserit	0.156 0.395	0.088 0.633	1	0.919 ≤0.001	0.195 0.284	0.597 ≤0.001	0.327 0.068	0.705 ≤0.001	r p
Karaciğer Kolesterol	0.225 0.217	0.230 0.205	0.919 ≤0.001	1	0.148 0.419	0.614 ≤0.001	0.268 0.138	0.688 ≤0.001	r p
Serum ALT	0.093 0.614	-0.200 0.273	0.195 0.284	0.148 0.419	1	0.123 0.503	0.416 0.018	0.163 0.372	r p
Serum Leptin	-0.178 0.330	0.083 0.650	0.597 ≤0.001	0.614 ≤0.001	0.123 0.503	1	0.381 0.031	0.545 0.001	r p
Karaciğer Ağırlığı	-0.085 0.642	0.013 0.942	0.327 0.068	0.268 0.138	0.416 0.018	0.381 0.031	1	0.681 ≤0.001	r p
Kesim Ağırlığı	0.084 0.647	0.302 0.093	0.705 ≤0.001	0.688 ≤0.001	0.163 0.372	0.545 0.001	0.681 ≤0.001	1	r p



Şekil 4.8: Yüksek yağlı diyetle beslenen sıçanlarda serum fetuin-A düzeyleri ile karaciğer fetuin-A protein ekspresyonu regresyon grafiği (n=32, r=0.414, p=0.019)



Şekil 4.9: Yüksek yağlı diyetle beslenen sıçanlarda serum leptin düzeyleri ile sıçan kesim ağırlıkları regresyon grafiği (n=32, r=0.545, p=0.001)



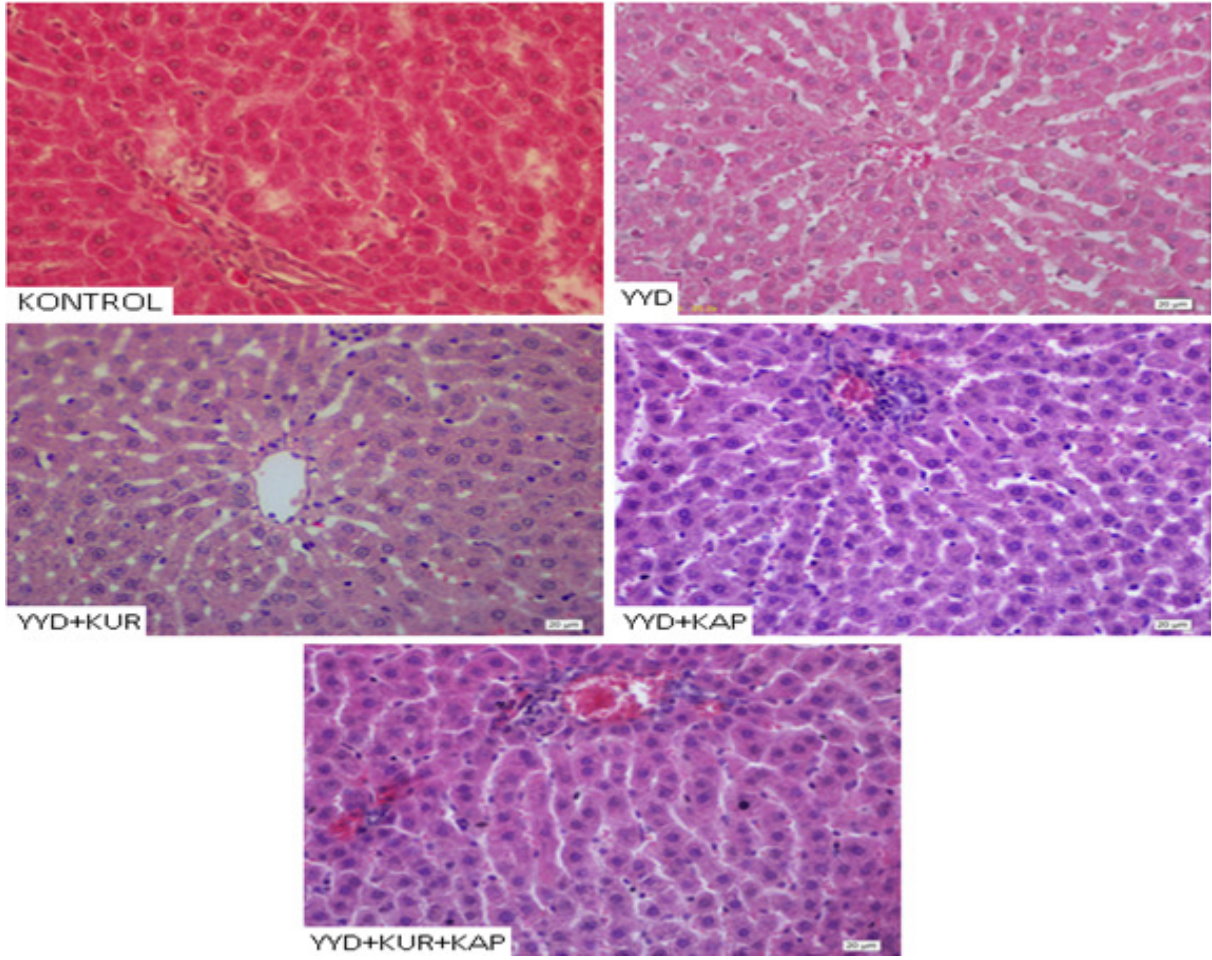
Şekil 4.10: Yüksek yağlı diyetle beslenen sıçanlarda karaciğer trigliserit düzeyleri ile kolesterol düzeyleri regresyon grafiği (n=32, r=0.919, p≤0.001)

4.6. Karaciğer Dokusu Histolojik Bulguları

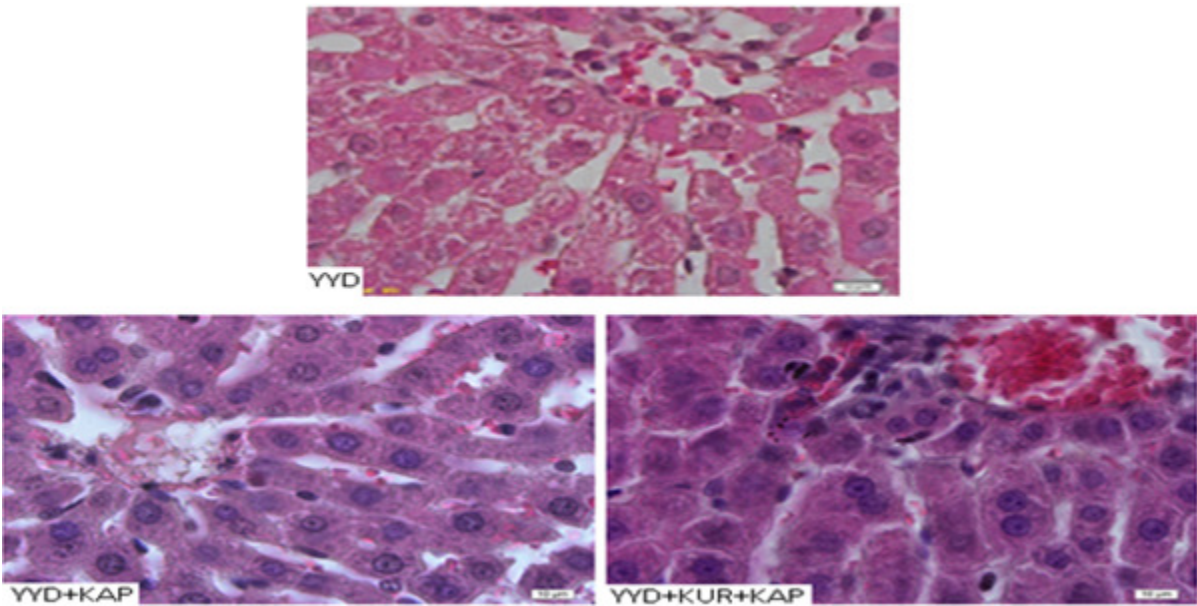
H+E ile yapılan karaciğer dokusu histolojik değerlendirmesinde kontrol grubuna ait doku kesitlerinde normal karaciğer parankim doku histolojisi gözlemlendi. Sentrolobüler ven etrafında yerleşmiş ışınal düzendeki hepatositler normal boyanma özellikleri sergiledi (Resim 4.1, Resim 4.2). Buna karşılık YYD grubunda histolojik bulgular orta-ileri düzey yağlı karaciğer histolojisine uygun olarak bulundu. Hepatositlerde ileri düzeyde vakuolizasyon ve sentrolobüler bölge ve çevresinde yağ birikimine bağlı dejenerasyonlar gözlemlendi (Resim 4.1, Resim 4.2).

YYD+Kur, YYD+Kap ve YYD+Kur+Kap gruplarından alınan kesitlerde ise yağ birikimine bağlı dejenerasyon, inflamasyon ve hücre vakuolizasyonlarında azalma olduğu gözlemlendi (Resim 4.1, Resim 4.2). YYD+Kur, YYD+Kap ve YYD+Kur+Kap gruplarında, YYD grubu ile kıyaslandığında karaciğer dejenerasyonu ve yağ birikimine bağlı vakuolizasyonda anlamlı bir düşüş ve özellikle YYD+Kur+Kap grubuna ait kesitlerin kontrol grubu ile benzer sonuçlara sahip olduğu tespit edildi. (Resim 4.2)

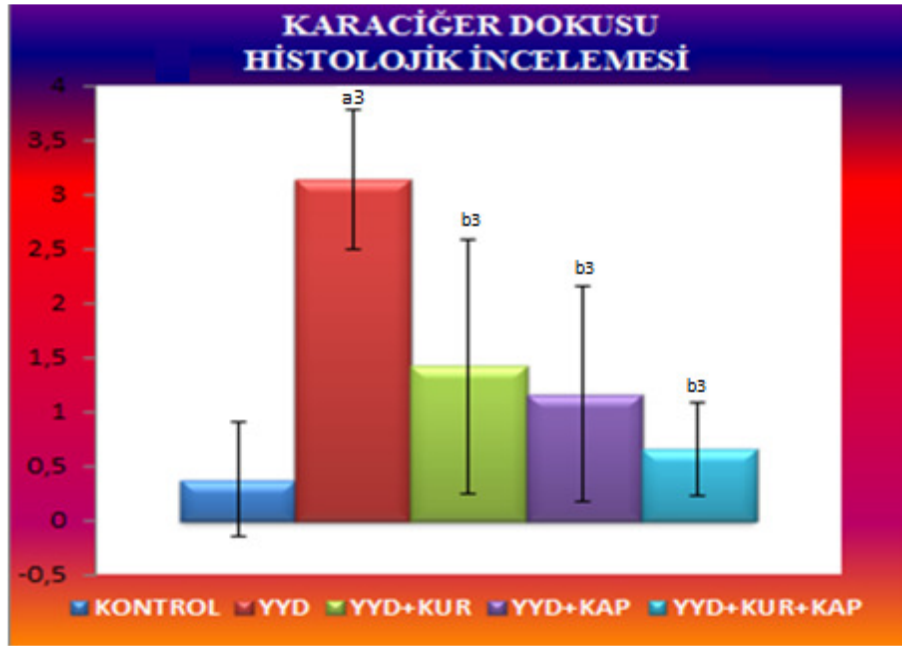
Karaciğer yağlanması değerlendirmesinde kullandığımız skorlama neticesinde kontrol grubu skoru ortalaması 0.375 ± 0.52 , YYD grubu skoru ortalaması: 3.14 ± 0.69 , YYD+Kur grubu skoru ortalaması: 1.43 ± 1.27 , YYD+Kap grubu skoru ortalaması: 1.17 ± 1.15 ve YYD+Kur+Kap grubu skoru ortalaması: 0.67 ± 0.52 olarak bulundu (Şekil 4.11).



Resim 4.1:Kurkumin (KUR) ve kapsaisin (KAP) içeren yüksek yağlı diyetle (YYD) beslenen sıçanların karaciğer dokularındaki histolojik görünüm (H+E; 40x)



Resim 4.2:Kurkumin (KUR) ve kapsaisin (KAP) içeren yüksek yağlı diyetle (YYD) beslenen sıçanların karaciğer dokularındaki histolojik görünüm (H+E; 100x)



Şekil 4.11: Kurkumin (KUR) ve kapsaisin (KAP) içeren yüksek yağlı diyetle (YYD) beslenen sıçanların karaciğer dokusu yağlanma düzeyi skor değerlendirilmesi

(Kontrol grubuna göre ^{a1}: $p \leq 0.05$ - ^{a2}: $p \leq 0.01$ - ^{a3}: $p \leq 0.001$)

YYD grubuna göre ^{b1}: $p \leq 0.05$ - ^{b2}: $p \leq 0.01$ - ^{b3}: $p \leq 0.001$)

5. TARTIŞMA

Yağ içeriği yüksek diyetlerle beslenme alışkanlığı, çeşitli metabolik hastalıklara neden olabilen sosyal bir sorundur. Uzun süreli yağlı beslenme sonucu görülebilen, kilo alımı ve obezite ile ilişkili sağlık problemlerinden biri de karaciğer yağlanmasıdır. NAYKH, karaciğerin toplam ağırlığının % 5-10 oranında trigliseritlerden oluşması ile tanımlanan bir hastalıktır (112). Son yıllarda, yağlı diyet uygulanarak oluşturulmuş deneysel yağlı karaciğer modeli çalışmalarında, karaciğer yağlanmasını bazı baharatların baskıladıkları gösterilmiş; bu baharatların etkiledikleri metabolik yollar ve uygun kullanım dozajları araştırılmıştır. (98,113)

Bu baharatlardan biri olan zerdeçalın aktif maddesi kurkumin; kilo alımını engelleyici ve karaciğer TG depolanımını azaltıcı etkiler göstermektedir. Jang ve ark.' ları 2008 yılında yaptıkları çalışmada 10 hafta YYD+kurkumin uygulanan hamsterlarda hepatik TG miktarının azaldığını (114); Ejaz ve ark.' ları ise, 12 hafta yağlı diyetle birlikte kurkumin uygulamasının farelerde hepatik steatozisi azalttığını göstermişlerdir (108). Yağlanma üzerine etkili bir diğer baharat olan acı kırmızı biberin aktif maddesi kapsaisin ile yapılan çalışmalarda da kapsaisinin obez sıçanlarda vücut yağ miktarını ve vücut ağırlığını azalttığı bildirilmiştir (115,116,117).

Literatür veri tabanları incelendiğinde, kurkumin ile yapılan çalışma sayısının kapsaisin ile yapılan çalışmalara göre çok daha fazla sayıda olduğu görülmektedir. 2013 yılında yaptığımız çalışmada, 8 hafta YYD+kurkumin uygulamasının sıçanlarda yağlı diyetle artan karaciğer TG, TK ve serum fetuin-A düzeylerini azalttığı gözlemlenmiştir (15). Bu çalışmada ise kurkumin ve kapsaisinin yağlı karaciğer modelinde fetuin-A ve AMPK ekspresyonu ile hepatik lipit profili üzerine etkilerinin incelenmesi hedeflenmiştir. Kurkumin ve kapsaisinin birlikte uygulanmasının hipolipidemik ve antiinflamatuvar etkilerini araştıran çalışmalar daha önceki yıllarda yapılmış (14,118); ancak yağlı karaciğer modelinde kurkumin ve kapsaisinin karaciğer yağlanması ve fetuin-A düzeyleri üzerine etkisini araştıran bir çalışmaya yapılan literatür taramasında rastlanmamıştır.

Deneysel yağlı karaciğer araştırmalarında, hayvan modelleri oluşturmak amacıyla kalorininin % 60' ının yağdan karşılandığı yemler oldukça sık kullanılmaktadır (1,119). Bu çalışmada, daha önceki çalışmalarımız da referans alınarak (15,120) kalorininin % 60' ının yağdan karşılandığı yem kullanılmıştır. Yağlı sıçan yemine, kurkumin ve kapsaisin ayrı ayrı ve birlikte olacak şekilde karıştırılarak, 16 hafta süre ile hayvanlar beslenmiştir.

Deney süresi sonunda, YYD grubunda kontrol grubuna göre vücut ağırlığı istatistiksel olarak anlamlı olmayan hafif bir artış gösterirken, karaciğer TG ve TK düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı derecede yükselmiştir. Kurkumin ve kapsaisin ise ayrı ayrı ve birlikte uygulandığında vücut ağırlığını ve hepatik TG ve TK düzeylerini YYD grubuna göre anlamlı olarak düşürmüştür. Bulgularımıza dayanarak, kurkumin ve kapsaisinin birlikte veya ayrı ayrı uygulanmasının karaciğer lipit düzeylerini azaltmada aynı derecede etkili olduğu söylenebilir. Hepatik TG ve TK arasında bulduğumuz anlamlı pozitif ilişki de bu bulgumuzu desteklemektedir. 2007 yılında yapılan bir çalışmada, 8 haftalık YYD+Kürkumin+Kapsaisin uygulaması sonucunda, karaciğer TG düzeyleri anlamlı azalmış, TK düzeyleri ise değişmemiştir (14). Bizim deneysel bulgumuzdan farklı olarak bu çalışmada, karaciğer TG düzeyleri üzerinde kurkumin+kapsaisin kombinasyonunun daha etkili olduğu bildirilmiştir (14). Bulgularımızdaki hepatik lipit düzeylerindeki bu değişim, serum lipit ve karbonhidrat profiline yansımamıştır. 16 haftalık YYD uygulaması sonunda kontrol grubuna göre karaciğer TG düzeylerinin artması, YYD+kürkumin grubunda ise YYD grubuna göre anlamlı olarak karaciğer TG düzeylerinin azalması daha önceki çalışmamızla benzerlik göstermektedir (120). 2014 yılında yaptığımız çalışmada da; şu anki bulgularımız gibi, serum TG ve TK değerleri gruplar arasında değişim göstermemiştir (120). Karaciğer hasarını gösteren enzimlerden olan ALT aktivitesi, sadece YYD+Kap grubunda azalmış olarak saptanmıştır. AST aktivitesi ise değişmemiştir. Bu bulgu YYD+Kap grubunda karaciğer TG miktarının gruplar arasında en düşük düzeyde olması ile ilişkili olabilir.

Histolojik bulgularımız deneysel olarak bulduğumuz sonuçları desteklemektedir. YYD grubunda orta-ileri derecede yağlanma, ileri düzeyde vakuolizasyon ve yağ birikimine bağlı dejenerasyon bulunmuş; YYD+Kur, YYD+Kap ve YYD+Kur+Kap gruplarında ise YYD grubu ile karşılaştırıldığında karaciğer dejenerasyonu ve vakuolizasyonunda anlamlı düşüş saptanmış, özellikle YYD+Kur+Kap grubuna ait kesitlerin kontrol grubu ile benzer sonuçlara ulaştığı gözlenmiştir.

Bir diğer bulgumuz da Tablo 2.2' de görüldüğü gibi yağlı yeme karıştırdığımız, 1.5 g kurkumin /kg yem ve 0.015 g kapsaisin /kg yem'in günlük yem tüketimini azaltmasıdır. Kurkumin ve kapsaisinin iştah baskılayıcı etkileri olduğu daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir. Kurkumin uygulaması ile görülen iştah baskılayıcı etkinin, kullanılan kurkumin dozu ile ilişkili olabileceği düşünülebilir. Önceki çalışmalarımızda, 100 mg ve 400 mg kurkumin/kg sıçan/gün dozlarında gavajla uygulanan kurkumin iştah baskılayıcı etki gösterirken (15), 1 g kurkumin/kg yem uygulanan modelde iştah baskılayıcı etki

görülmemiştir (120). Kapsaisinin iştah baskılayıcı etkisi ise Yoshioka ve ark.'larının 1999 yılında yaptıkları çalışmada gösterilmiştir (121). Bulgularımız bu çalışmalarla uyumludur.

Kurkumin ve kapsaisinin karaciğer lipit metabolizmasını düzenleyici yollarının farklılık gösterdiği ve bu yolların etki mekanizmasının tam olarak anlaşılamadığı bildirilmiştir. Bazı yayınlarda, kurkuminin karaciğer TG düzeylerini azaltmasının, SREBP-1c' in AMPK tarafından aktivasyonu yoluyla, ACC1 ve FAS gen ekspresyonlarını baskılaması sonucu olduğu gösterilmiştir (91). Kurkuminin kolesterol düzeylerini azaltmasının HMG-KoA redüktaz enzimini baskılayarak kolesterol sentezini inhibe etmesi sonucu olduğu bildirilmiştir (114). Kurkuminin AMPK üzerinden etki gösterdiğini belirten yayınların yanında, sirtuin 1 (Sirt1) aktivasyonu yoluyla PPAR γ genini uyardığını gösteren yayınlar da bulunmaktadır (122,123). Flores ve ark.'ları 2014 yılında yaptıkları çalışmada, diyabetik fare karaciğerinde, kurkuminin NF- κ B'i azalttığını, AMPK ve PPAR γ ekspresyonlarını arttırdığını göstermişlerdir (124). Yapılan çalışmalarda, kurkuminin farklı yollar üzerinden lipit metabolizmasını düzenleyebildiği bildirilmiştir.

Kapsaisinin NAYKH üzerine etkisi ile ilgili yapılan çalışmalarda PPAR' lar üzerinden farklı yollar tanımlanmıştır. Bunlardan biri olan PPAR δ 'ın karaciğerde in vivo ve in vitro olarak lipojenezi düzenlediği gösterilmiştir (125). Li ve ark.'ları kapsaisinin TRPV1 reseptörleri aracılığı ile CPT1 aktivitesini ve hücre içi PPAR δ ekspresyonunu arttırdığını ve otofajiye indüklediğini; bu mekanizma ile NAYKH oluşumunu engellediğini göstermişlerdir (18). Yapılan farklı bir çalışmada, kapsaisin 4 hafta YYD ile beslenen sıçanlarda, karaciğer TG ve TK düzeyleri ile birlikte karaciğer mRNA PPAR γ ekspresyonunu azaltmış ve CPT1 düzeylerini arttırmıştır (117).

Çalışmamızda, karaciğer AMPK ve p-AMPK ekspresyonları gruplar arasında değişmiş gözükmemektedir. 16 haftalık deney süresi sonunda AMPK ve p-AMPK ekspresyonları etkilenmemiş olmasına rağmen, doku lipit düzeylerinin azalmış olması, kurkumin ve kapsaisinin AMPK dışında farklı bir yolla, muhtemelen PPAR δ ve PPAR γ ekspresyonlarını arttırarak veya azaltarak lipit metabolizması üzerinde etkili olabileceğini düşündürmektedir. AMPK ekspresyonları ile ilgili bulgumuz, serum adiponektin düzeyleri ile de uyumludur. AMPK'ı aktiflediği bilinen adiponektinin serum düzeyleri de çalışmamızda değişmemiştir. 2013 yılında yaptığımız çalışmada da, YYD ve kurkumin uygulaması serum adiponektin düzeyleri üzerine etki göstermemiştir (15). Bazı araştırmacıların sonuçlarına göre adiponektin ile hepatik fibrozis arasındaki ilişki henüz netleşmemiştir (126,127). Bizim bulgumuz da bu hipotezi desteklemektedir. Yağlı karaciğerle ilişkili olduğu bildirilen diğer bir adipokin olan leptin düzeylerini araştıran bazı çalışmalarda, steatozis ve NASH'lı kişilerde

serum leptin düzeylerinin yükseldiği gösterilmiştir (128,129). Hepatik stellat hücrelerin leptin salgıladığı ve fibrojenezi indüklediği öne sürülmüştür (130). Bizim çalışmamızda serum leptin düzeyleri karaciğer yağlanması ile artmış; kurkumin ve kapsaisin uygulaması ile azalmıştır. Bu azalma sonucunda, leptinin fibrotik etkisinin azaldığı ve dolayısıyla, karaciğer yağlanması ve gıda alımını baskılamada kurkumin ve kapsaisin ile sinerjik etki gösterdiği düşünülebilir. Karaciğer lipit düzeyleri, karaciğer ağırlığı ve sıçan kesim ağırlığı ile leptin arasında bulduğumuz anlamlı korelasyonlar da bu bulgumuzu güçlendirmektedir. Bulgularımıza dayanarak, karaciğerde metabolik homeostazın düzenlenmesinde adiponektin hormonundan daha çok leptin hormonunun etkili olabileceği öne sürülebilir.

Serum glikoz düzeyleri gruplar arasında değişiklik göstermemiş; ancak serum insülin düzeyleri ve HOMA indeksi YYD uygulaması ile anlamlı olarak artmıştır. Kurkumin ve kapsaisin uygulamasının serum insülin düzeyi ve HOMA indeksi üzerine etkisi olmamıştır. İnsülin ve HOMA indeksi düzeylerinde görülen artışın yağlı beslenmeye bağlı inflamatuvar etki sonucu olabileceği düşünülebilir.

Yağlı karaciğerde ekspresyon düzeylerinin arttığı bildirilen, yağlanma ve inflamasyon biyogöstergesi olarak kabul edilen fetuin-A' nın düzenlenme mekanizması henüz bilinmemektedir. Adiponektin ve fetuin-A'nın, MetS ve obezitede negatif ilişki gösterdikleri bildirilmiştir (75). Çalışmamızda, adiponektin ve AMPK düzeylerinin değişmemiş; ancak fetuin-A ekspresyonunun kurkumin ile azalmış olması, fetuin-A' nın adiponektin ve AMPK'dan bağımsız olarak farklı bir mekanizma üzerinden etki gösterdiğini düşündürülebilir. Yağlı beslenme modelimizde karaciğer fetuin-A ekspresyonu ve serum düzeyi YYD grubunda kontrole göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Daha önce yapılan çalışmalarda, karaciğer fetuin-A ekspresyonunun ve serum düzeylerinin obeziteye bağlı olarak arttığı ve karaciğer yağlanması ile arasında güçlü bir ilişki olduğu gösterilmiştir (10,15,131,132). Bulgularımız incelendiğinde, kurkumin ve kapsaisin uygulamalarından sadece kurkumin uygulamasının karaciğer fetuin-A ekspresyonu üzerinde baskılayıcı etki gösterdiği; ancak serum fetuin-A düzeylerine istatistiksel olarak anlamlı olmayan hafif azalma olarak yansıdığı görülmektedir. Fetuin-A ekspresyonu ve serum düzeyleri arasında bulduğumuz anlamlı pozitif ilişki ekspresyon ve serum düzeylerinin birlikte etkileştiğini göstermektedir. 2013 yılında yaptığımız çalışmada, literatürde ilk defa olarak deneysel obezite modelinde kurkuminin serum fetuin-A düzeyleri üzerine olan etkisi incelenmiştir ve kurkuminin karaciğer lipit düzeylerinin azalmasına bağlı olarak, serum fetuin-A düzeylerini düşürdüğü ve bu mekanizmanın AMPK üzerinden olabileceği tartışılmıştır (15). Ancak bu çalışmamızda, fetuin-A ve hepatik lipit düzeyleri arasında korelasyon olmaması, karaciğer yağlanmasının

azalması dışında farklı bir etkenin fetuin-A ekspresyonu üzerinde etkili olabileceğini düşündürmektedir. Bu etkenin, daha önce Li ve ark.' ları tarafından 2013 yılında yapılan çalışmada gösterildiği gibi, yağlanmanın azalmasıyla orantılı olarak azalan karaciğer kaynaklı inflamasyon olabileceği düşünülebilir (102). Li ve ark.' ları obez sıçanlarda fenofibrat uygulaması ile serum fetuin-A ve NF- κ B ekspresyonunun azaldığını göstermişler ve bu azalmayı karaciğer TG düzeyleri ve inflamasyonun birlikte azalması ile ilişkilendirmişlerdir (102). Kurkuminin NF- κ B ve PPAR γ ekspresyonlarını düzenleyerek, hepatik TG düzeylerini ve inflamasyonu azaltması fetuin-A düzeylerinin azalmasında da etkili olabilir. 2014 yılında yapılan farklı bir çalışmada, pioglitazonun hepatosit hücre kültüründe PPAR γ aktivasyonu ile fetuin-A ekspresyonunu azalttığı gösterilmiştir (133). PPAR γ çoğunlukla adipositlerden ekspresse edilmesine rağmen hepatik PPAR γ 'ın hepatik steatozis ve tüm vücut lipit ve glikoz homeostazisi üzerinde kritik rol oynadığı gösterilmiştir (134). Çalışmamızda kapsaisin uygulaması fetuin-A ekspresyonu üzerinde etkili olmamıştır. Bu konuda daha önce yapılmış çalışma olmadığından kapsaisinin fetuin-A üzerine etki mekanizması bilinmemektedir.

Histolojik ve deneysel bulgularımıza göre, yağlı karaciğer modelinde kurkumin ve kapsaisin uygulaması karaciğer yağlanmasını baskılamıştır. Karaciğer dejenerasyonunu azaltmada ise bu iki baharatın birlikte uygulanmalarının daha etkili olduğu açıkça görülmüştür. Fetuin-A ekspresyonu yağlı karaciğerde artmış; kurkumin uygulaması ile azalmıştır; ancak kapsaisinin fetuin-A üzerine etkisi olmamıştır. Hepatik AMPK ve p-AMPK ekspresyonlarının da çalışmamızda değişmemiş olması, kurkuminin karaciğer yağlanmasını ve fetuin-A ekspresyonunu antiinflamatuvar etkili olabilen farklı mekanizmalar üzerinden baskıladığını, PPAR γ ve NF- κ B' nın bu metabolik yolda etkin olabileceğini düşündürmektedir. Sonuçta, PPAR' ların kurkumin ve kapsaisinin karaciğer yağlanması ve fetuin-A gibi yağlanmaya bağlı inflamasyon göstergeleri üzerindeki etkilerini araştırmak için daha ileri metodolojik çalışmalar yapılması gerektiği yargısına varılmıştır.

6. KAYNAKLAR

1. Ghibaudi L, Cook J, Farley C, van Heek M, Hwa JJ. Fat intake affects adiposity, comorbidity factors, and energy metabolism of Sprague–Dawley rats. *Obes Res.* 2002; 10:956–963.
2. Lavoie JM, Gauthier MS Regulation of fat metabolism in the liver: link to non-alcoholic hepatic steatosis and impact of physical exercise. *Cell Mol Life Sci.* 2006; 63:1393-1409.
3. Satia-Abouta J, Patterson RE, Schiller RN, Kristal AR. Energy from fat is associated with obesity in US men: result from the prostate cancer prevention trial. *Prev Med.* 2002; 34: 493-501.
4. Petta S, Muratore C, Craxì A. Non-alcoholic fatty liver disease pathogenesis: the present and the future. *Dig Liver Dis.* 2009;41:615–625.
5. Young LH. AMP-activated protein kinase conducts the ischemic stress response orchestra. *Circulation.* 2008;117:832-40.
6. Viollet B, Foretz M, Guigas B, Horman S, Dentin R, Bertrand L, Hue L, Andreelli F. Activation of AMP-activated protein kinase in the liver: a new strategy for the management of metabolic hepatic disorders. *J Physiol.* 2006; 574:41-53.
7. Nelson DL, Cox MM. *Lehninger Biyokimyanın İlkeleri*, Beşinci Baskıdan Çeviri Elçin YM. (Ed), Palme Yayıncılık, Ankara, 2013.
8. Daval M, Foufelle F, Ferré P. Functions of AMP-activated protein kinase in adipose tissue. *J Physiol.* 2006;574:55–62.
9. Mathews ST, Chellam N, Srinivas PR, Cintron VJ, Leon MA, Goustin AS, Grunberger G. Alpha2-HSG, a specific inhibitor of insulin receptor autophosphorylation, interacts with the insulin receptor. *Molecular and Cellular Endocrinology.* 2000; 164: 87–98.
10. Stefan N, Hennige AM, Staiger H, Machann J, Schick F, Kröber SM, Machicao F, Fritsche A, Häring HU. Alpha2-Heremans-Schmid glycoprotein/fetuin-A is associated with insulin resistance and fat accumulation in the liver in humans. *Diabetes Care.* 2006; 29: 853-857.
11. Rametta R, Ruscica M, Dongiovanni P, Macchi C, Fracanzani AL, Steffani L, Fargion S, Magni P, Valenti L. Hepatic steatosis and PNPLA3 I148M variant are associated

- with serum fetuin-A independently of insulin resistance. *Eur J Clin Invest.* 2014; 44:627-633.
12. Haukeland JW, Dahl TB, Yndestad A, Gladhaug IP, Løberg EM, Haaland T, Konopski Z, Wium C, Aasheim ET, Johansen OE, Aukrust P, Halvorsen B, Birkeland KI. Fetuin A in nonalcoholic fatty liver disease in vivo and in vitro studies. *Eur J Endocrinol.* 2012; 166:503-510.
 13. Kang JH, Tsuyoshi G, Le Ngoc H, Kim HM, Tu TH, Noh HJ, Kim CS, Choe SY, Kawada T, Yoo H, Yu R. Dietary capsaicin attenuates metabolic dysregulation in genetically obese diabetic mice. *J Med Food.* 2011; 14: 310–315.
 14. Manjunatha H, Srinivasan K. Hypolipidemic and antioxidant effects of curcumin and capsaicin in high-fat-fed rats. *Can J Physiol Pharmacol.* 2007; 85:588-596.
 15. Öner-İyidoğan Y, Koçak H, Seyidhanoğlu M, Gürdöl F, Gülçubuk A, Yildirim F, Çevik A, Uysal M. Curcumin prevents liver fat accumulation and serum fetuin-A increase in rats fed a high-fat diet. *J Physiol Biochem.* 2013; 69:677-686.
 16. Manjunatha H, Srinivasan K. Protective effect of curcumin, capsaicin and their combination on induced oxidation of low-density lipoprotein, iron-induced hepatotoxicity and carrageenan-induced inflammation in experimental rats. *FEBS J.* 2006;273: 4528-4537.
 17. Tang Y, Chen A. Curcumin protects hepatic stellate cells against leptin-induced activation in vitro by accumulating intracellular lipids. *Endocrinology.* 2010;151:4168–4177.
 18. Qiang Li, Li Li, Fei Wang, Jian Chen, Yu Zhao, Peijian Wang, Bernd Nilius, Daoyan Liu, Zhiming Zhu. Dietary capsaicin prevents nonalcoholic fatty liver disease through transient receptor potential vanilloid 1-mediated peroxisome proliferator-activated receptor δ activation. *Pflugers Arch - Eur J Physiol.* (2013) 465:1303–1316.
 19. Yurdakul İ, Şentürk H, Tuncer MM, Göksoy E (Ed). *Gastroenterolojide Klinik Yaklaşım* 1.baskı, Deomed Medikal Yayıncılık, İstanbul, 2004:171-80.
 20. Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB, Oh BJ. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. *Mayo Clin Proc.* 1980; 55(7): 434-438.
 21. Sonsuz A. Alkole bağlı olmayan karaciğer yağlanması. *Türkiyede sık karşılaşılan hastalıklar II Sempozyum dizi kitapçığı*, 2007, 91-98.

22. Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two "hits"?. *Gastroenterology*. 1998; 114(4): 842–845.
23. Jamali R, Khonsari M, Merat S, Khoshnia M, Jafari E, Bahram Kalhori A, Abolghasemi H, Amini S, Maghsoudlu M, Deyhim MR, Rezvan H, Pourshams A. Persistent alanine aminotransferase elevation among the general Iranian population: prevalence and causes. *World J Gastroenterol*. 2008;14(18):2867–2871.
24. Marchesini G, Brizi M, Bianchi G, Tomassetti S, Bugianesi E, Lenzi M, McCullough AJ, Natale S, Forlani G, Melchionda N. Nonalcoholic fatty liver disease: a feature of the metabolic syndrome. *Diabetes*. 2001;50:1844-1850.
25. Ratziu V, Bonyhay L, Di Martino V, Charlotte F, Cavallaro L, Sayegh-Tainturier MH, Giral P, Grimaldi A, Opolon P, Poynard T. Survival, liver failure and hepatocellular carcinoma in obesity -related cryptogenic cirrhosis. *Hepatology*. 2002 ; 35; 1485-1493.
26. Bjorntorp P. Body fat distribution, insulin resistance and metabolic diseases. *Nutrition*. 1997;13:795-803.
27. Ariz U, Mato JM, Lu SC, Martínez Chantar ML. Nonalcoholic steatohepatitis, animal models, and biomarkers: what is new?. *Methods Mol Biol*. 2010;593:109-136.
28. Takitani K, Miyazaki H, Yoden A, Tamai H. Children's toxicology from bench to bed-
-Liver Injury (2): Mechanism of antioxidant therapy for nonalcoholic fatty liver disease. *J Toxicol Sci*. 2009;34:223-228.
29. Feldstein AE, Canbay A, Angulo P, Tanai M, Burgart LJ, Lindor KD, Gores GJ. Hepatocyte apoptosis and Fas expression are prominent features of human nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology*. 2003;125:437-443.
30. Pessayre D, Mansouri A, Fromenty B. Nonalcoholic steatosis and steatohepatitis V
Mitochondrial dysfunction in steatohepatitis. *Am J Physiol*. 2002;282:193-199.
31. Bradbury MW, Berk PD. Lipid metabolism in hepatic steatosis. *Clin Liver Dis*. 2004;8:639-671.
32. Feldstein AE, Werneburg NW, Canbay A, Guicciardi ME, Bronk SF, Rydzewski R, Burgart LJ, Gores GJ. Free fatty acids promote hepatic lipotoxicity by stimulating TNF- α expression via a lysosomal pathway. *Hepatology*. 2004;40:185-194.
33. Washington K, Wright K, Shyr Y, Hunter EB, Olson S, Raiford DS. Hepatic stellate cell activation in nonalcoholic steatohepatitis and fatty liver. *Hum Pathol*. 2000;31:822–828.

34. Nieto N, Friedman SL, Cederbaum AI. Stimulation and proliferation of primary rat hepatic stellate cells by cytochrome P450 2E1-derived reactive oxygen species. *Hepatology*. 2002;35:62–73.
35. Ikejima K, Takei Y, Honda H, Hirose M, Yoshikawa M, Zhang YJ, Lang T, Fukuda T, Yamashina S, Kitamura T, Sato N. Leptin receptor-mediated signaling regulates hepatic fibrogenesis and remodeling of extracellular matrix in the rat. *Gastroenterology*. 2002;122:1399-1410.
36. Angulo P, Lindor KD. Non-alcoholic fatty liver disease: Quadrennial review The *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2002;17:186- 190.
37. Yalçın S. Karaciğer Hastalıkları ve Hepatosteatoz ‘İç Hastalıkları’ 1. cilt Büyüköztürk K (Ed), Nobel Yayıncılık, İstanbul, 1993, 811- 848.
38. Cortez-Pinto H, Camilo ME. Non-alcoholic fatty liver disease/non-alcoholic steatohepatitis (NASH): diagnosis and clinical course. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2004;18:1089-1104.
39. Brunt EM, Janney CG, Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR. Nonalcoholic Steatohepatitis: A Proposal for Grading and Staging the Histologic Lesions. *AJG*. 1999; 94: 2467-2474.
40. AGA. Technical Review on Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology*. 2002; 123: 1705-1725.
41. Sonsuz A, Uraz S. Karaciğer yağlanması ve Alkole bağlı olmayan steatohepatit. ‘Aktuel gastroenteroloji ve hepatoloji’-1 2 baskı, Göksoy E (ed), Bilimsel Medikal Yayıncılık, İstanbul, 2003:131-46.
42. Mehta K, Van Thiel DH, Shah N, Mobarhan S. Nonalcoholic fatty liver disease: pathogenesis and the role of antioxidants. *Nutr Rev*. 2002; 60:289-293.
43. Agius L. High-carbohydrate diets induce hepatic insulin resistance to protect the liver from substrate overload. *Biochem Pharmacol*. 2013;85:306–312.
44. Nazarenko LI, Petrova Iu N, Raikhel'son KL, Baranovskii A. Nutrition mistakes in patients with nonalcoholic fatty liver disease and the ways of correction. *Eksp Klin Gastroenterol*. 2012;2:19–24.
45. Liu T, Yang LL, Zhang L, Song HY, Li DF, Ji G. Comparative study on the effects of different therapeutic methods in preventing and treating nonalcoholic fatty liver in rats. *Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao*. 2012;10:1120–1126.

46. Morita M, Ishida N, Uchiyama K, Yamaguchi K, Itoh Y, Shichiri M, Yoshida Y, Hagihara Y, Naito Y, Yoshikawa T, Niki E. Fatty liver induced by free radicals and lipid peroxidation. *Free Radic Res.* 2012;46:758–765.
47. Schwarz JM, Linfoot P, Dare D, Aghajanian K. Hepatic de novo lipogenesis in normoinsulinemic and hyperinsulinemic subjects consuming high-fat, low-carbohydrate and low-fat, high-carbohydrate isoenergetic diets. *Am J Clin Nutr.* 2003;77:43–50.
48. Tarantino G, Conca P, Pasanisi F, Ariello M, Mastrolia M, Arena A, Tarantino M, Scopacasa F, Vecchione R. Could inflammatory markers help diagnose nonalcoholic steatohepatitis?. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2009;21:504–511.
49. Parker HM, Johnson NA, Burdon CA, Cohn JS, O'Connor HT, George J. Omega-3 supplementation and non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. *J Hepatol.* 2012;56:944–951.
50. Jump DB. N-3 polyunsaturated fatty acid regulation of hepatic gene transcription. *Curr Opin Lipidol.* 2008;19:242–7.
51. Hâncu N, Roman G, Nită C, Negrean M. Metabolic syndrome-practical approach *Rom. J Intern Med.* 2004;42:237–245.
52. Havel R J, Hamilton R L. Hepatic catabolism of remnant lipoproteins: where the action is. *Arterioscler Thromb Basc Biol.* 2004; 24: 213-215.
53. Toshimitsu K, Matsuura B, Ohkubo I, Niiya T, Furukawa S, Hiasa Y, Kawamura M, Ebihara K, Onji M. Dietary habits and nutrient intake in non-alcoholic steatohepatitis. *Nutrition.* 2007; 23: 46–52.
54. Bortolotti M, Kreis R, Debarb C, Cariou B, Faeh D, Chetiveaux M, Ith M, Vermathen P, Stefanoni N, Lê KA, Schneiter P, Krempf M, Vidal H, Boesch C, Tappy L. High protein intake reduces intrahepatocellular lipid deposition in humans. *Am J Clin Nutr.* 2009;90:1002-1010.
55. Schwarz J, Tomé D, Baars A, Hooiveld GJ, Müller M. Dietary protein affects gene expression and prevents lipid accumulation in the liver in mice. *PLoS One.* 2012;7:10939
56. Brady LJ, Brady PS, Romsos DR, Hoppel CL. Elevated hepatic mitochondrial and peroxisomal oxidative capacities in fed and starved adult obese (ob/ob) mice. *Biochem J.* 1985; 231: 343-350.

57. Yang HY, Tzeng YH, Chai CY, Hsieh AT, Chen JR, Chang LS, Yang SS. Soy protein retards the progression of non-alcoholic steatohepatitis via improvement of insulin resistance and steatosis. *Nutrition*. 2011;27:943–948.
58. de Wit NJ, Afman LA, Mensink M, Müller M. Phenotyping the effect of diet on non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of Hepatology*. 2012; 57:1370-1373.
59. Hardie DG. Minireview: the AMP-activated protein kinase cascade: the key sensor of cellular energy status. *Endocrinology*. 2003; 144: 5179–5183.
60. Belinda J Michell, David Stapleton, Ken I Mitchelhill, Colin M House, Frosa Katsis, Lee A Witters, Bruce E. Kemp Isoform-specific Purification and Substrate Specificity of the 5-AMP-activated Protein Kinase. *The Journal of Biological Chemistry*. 1996; 271: 28445–28450.
61. Salt I, Celler JW, Hawley SA, Prescott A, Woods A, Carling D, Hardie DG. AMP-activated protein kinase: greater AMP dependence, and preferential nuclear localization, of complexes containing the alpha2 isoform. *Biochem J*. 1998; 334: 177–187.
62. Hardie DG. The AMP-activated protein kinase pathway – new players upstream and downstream. *J Cell Sci*. 2004;117:5479–5487.
63. Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89: 2548–2556.
64. Yang R, Barouch LA. Leptin signaling and obesity: cardiovascular consequences. *Circ Res*. 2007; 101:545–559.
65. Friedman JM, Halaas JL. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature*. 1998; 395: 763–770.
66. Fuentes T, Ara I, Guadalupe-Grau A, Larsen S, Stallknecht B, Olmedillas H, Santana A, Helge JW, Calbet JA, Guerra B. Leptin receptor 170 kDa (OB-R170) protein expression is reduced in obese human skeletal muscle: a potential mechanism of leptin resistance. *Exp Physiol*. 2010;95:160–171.
67. Minokoshi Y, Kim YB, Peroni OD, Fryer LG, Müller C, Carling D, Kahn BB. Leptin stimulates fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Am Nature*. 2002; 415:339-443.
68. Balistreri CR, Caruso C, Candore G. The role of adipose tissue and adipokines in obesity-related inflammatory diseases. *Mediators Inflamm*. 2010;2010:802078.

69. Yoon D, Lee SH, Park HS, Lee JH, Park JS, Cho KH, Kim SM. Hypoadiponectinemia and insulin resistance are associated with nonalcoholic fatty liver disease. *J Korean Med.* 2005; 20: 321-426.
70. Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, Tsuchida A, Yokomizo T, Kita S, Sugiyama T, Miyagishi M, Hara K, Tsunoda M, Murakami K, Ohteki T, Uchida S, Takekawa S, Waki H, Tsuno NH, Shibata Y, Terauchi Y, Froguel P, Tobe K, Koyasu S, Taira K, Kitamura T, Shimizu T, Nagai R, Kadowaki T. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature.* 2003; 423: 762-769.
71. Bajaj M, Suraamornkul S, Piper P, Hardies LJ, Glass L, Cersosimo E, Pratipanawatr T, Miyazaki Y, DeFronzo RA. Decreased plasma adiponectin concentrations are closely related to hepatic fat content and hepatic insulin resistance in pioglitazone-treated type 2 diabetic patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004; 89: 200-206 .
72. Vázquez-Vela ME, Torres N, Tovar AR. White adipose tissue as endocrine organ and its role in obesity. *Arch Med Res.* 2008;39:715–728.
73. Denecke B, Gräber S, Schäfer C, Heiss A, Wöltje M, Jahnen-Dechent W. Tissue distribution and activity testing suggest a similar but not identical function of fetuin-B and fetuin-A. *Biochem J.* 2003;376:135-145.
74. Vionnet N, Hani EH, Dupont S, Gallina S, Francke S, Dotte S, De Matos F, Durand E, Leprêtre F, Lecoœur C, Gallina P, Zekiri L, Dina C, Froguel P. Genomewide search for type 2 diabetes-susceptibility genes in French whites: evidence for a novel susceptibility locus for early-onset diabetes on chromosome 3q27-qter and independent replication of a type 2-diabetes locus on chromosome 1q21-q24. *Am J Hum Genet.* 2006;67:1470-1480.
75. Ix J H, Sharma K. Mechanisms linking obesity, chronic kidney disease and fatty liver disease: the roles of fetuin-a, adiponectin and AMPK. *J Am Soc Nephrol.* 2010; 21:406-412.
76. Hennige AM, Staiger H, Wicke C, Machicao F, Fritsche A, Häring HU, Stefan N. Fetuin-A induces cytokine expression and suppresses adiponectin production. *PLoS One.* 2008;3:e1765
77. Jung TW, Youn BS, Choi HY, Lee SY, Hong HC, Yang SJ, Yoo HJ, Kim BH, Baik SH, Choi KM. Salsalate and adiponectin ameliorate hepatic steatosis by inhibition of the hepatokine fetuin-A. *Biochem Pharmacol.* 2013; 86:960-969.

78. Björnsson E, Angulo P. Non-alcoholic fatty liver disease. *Scand J Gastroenterol.* 2007; 42:1023-1030.
79. Mathews ST, Singh GP, Ranalletta M, Cintron VJ, Qiang X, Goustin AS, Jen KL, Charron MJ, Jahnen-Dechent W, Grunberger G. Improved insulin sensitivity and resistance to weight gain in mice null for the Ahsg gene. *Diabetes.* 2002; 51:2450-2458.
80. Cacicedo JM, Yagihashi N, Keaney JF Jr, Ruderman NB, Ido Y. AMPK inhibits fatty acid-induced increases in NF-kappaB transactivation in cultured human umbilical vein endothelial cells. *Biochem Biophys Res Comm.* 2004; 324:1204-1209.
81. Yang J, Maika S, Craddock L, King JA, Liu ZM. Chronic activation of AMP activated protein kinase- α 1 in liver leads to decreased adiposity in mice. *Biochem Biophys Res Comm.* 2008; 370: 248-253.
82. Sharma, R A, Gescher, A J, Steward, WP. Curcumin: The story so far *European Journal of Cancer.* 2005; 41: 1955-1968.
83. Hatcher H, Planalp R, Cho J, Torti FM, Torti SV. Review Curcumin: From ancient medicine to current clinical trials. *H Cell Mol Life Sci.* 2008; 65: 1631 – 1652.
84. Milobedzka, J, Kostanecki, S V, Lampe, V. "Zur Kenntnis des Curcumins", *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft.* 1910; 43: 2163–2170.
85. Chueh SC, Lai MK, Liu IS, Teng FC, Chen J. Curcumin enhances the immunosuppressive activity of cyclosporine in rat cardiac allografts and in mixed lymphocyte reactions. *Transplantation Proceedings.* 2003; 35: 1603-1605
86. Postic C, Dentin R, Girard J. Role of the liver in the control of carbohydrate and lipid homeostasis. *Diabetes Metab.* 2004; 30: 398–408.
87. Nseir W, Shalata A, Marmor A, Assy N. Mechanisms linking nonalcoholic fatty liver disease with coronary artery disease. *Dig Dis Sci.* 2011; 56: 3439–3449.
88. Shin S K, Ha T Y, Mc Gregor R A, Choi M S. Long-term curcumin administration protects against atherosclerosis via hepatic regulation of lipoprotein cholesterol metabolism. *Mol Nutr Food Res.* 2011; 55: 1829–1840.
89. Babu P S, Srinivasan K. Hypolipidemic action of curcumin, the active principle of turmeric (*Curcuma longa*) in streptozotocin induced diabetic rats. *Mol Cell Biochem.* 1997; 166: 169–175.

90. Dou X, Fan C, Wo L, Yan J, Qian Y, Wo X. Curcumin up-regulates LDL receptor expression via the sterol regulatory element pathway in HepG2 cells. *Planta Med.* 2008; 74: 1374–1379.
91. Um MY, Hwang KH, Ahn J, Ha TY. Curcumin Attenuates Diet-Induced Hepatic Steatosis by Activating AMP-Activated Protein Kinase. *Basic Clinical Pharmacol Tox.* 2013; 113:152-157.
92. Zık, B, Erdost, H. Horozlarda acı kırmızı biberli rasyonla beslenmenin üropigi bezi üzerine etkisinin histolojik yönden incelenmesi. *Türk J Vet Anim Sci.* 2002;26:1223-1232.
93. Chaiyasit K, Khovidhunkit W, Wittayalerpanya S. Pharmacokinetic and the effect of capsaicin in *Capsicum frutescens* on decreasing plasma glucose level. *J Med Assoc Thai.* 2009;92: 108–113.
94. Surh, Y-J. Anti-tumor promoting potential of selected spice ingredients with antioxidative and anti-inflammatory activities: A Short Review. *Food and Chem Tox.* 2002; 40:1091-1097.
95. Nilius B, Vennekens R, Owsianik G. Vanilloid transient receptor potential cation channels: an overview. *Curr Pharm Des.* 2008; 14:18–31.
96. Donnerer J, Amann R, Schuligoi R, Lembeck F. Absorption and metabolism of capsaicinoids following intragastric administration in rats. *Archives of Pharmacology.* 1990; 342: 357-361.
97. Reilly CA, Ehlhardt WJ, Jackson DA, Kulanthaivel P, Mutlib AE, Espina RJ, Moody DE, Crouch DJ, Yost GS. Metabolism of capsaicin by cytochrome P450 produces novel dehydrogenated metabolites and decreases cytotoxicity to lung and liver cells. *Chem Res Toxicol.* 2003;16: 336–349.
98. Sharma SK, Vij A S, Sharma S. Mechanisms and clinical uses of capsaicin. *Eur Journal of Phar.* 2013;720: 55-62.
99. Mittelstadt SW, Nelson RA, Daanen JF, King AJ, Kort ME, Kym PR, Lubbers NL, Cox BF, Lynch JJ. Capsaicin-induced inhibition of platelet aggregation is not mediated by transient receptor potential vanilloid type 1. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2012; 23: 94–97.
100. Josse AR, Sherriffs SS, Holwerda AM, Andrews R, Staples AW, Phillips SM. Effects of capsinoid ingestion on energy expenditure and lipid oxidation at rest and during exercise. *Nutr Metab.* 2010; 7: 65.

101. Ludy MJ, Mattes RD. The effects of hedonically acceptable red pepper doses on thermogenesis and appetite. *Physiol Behav.* 2011; 102: 251–258.
102. Li Q, Li L, Wang F, Chen J, Zhao Y, Wang P, Nilus B, Liu D, Zhu Z. Dietary capsaicin prevents nonalcoholic fatty liver disease through transient receptor potential vanilloid 1-mediated peroxisome proliferator-activated receptor δ activation. *Pflugers Arch.* 2013; 465:1303-1316.
103. He H, Yang D, Ma L, Luo Z, Ma S, Feng X, Cao T, Yan Z, Liu D, Tepel M, Zhu Z. Telmisartan prevents weight gain and obesity through activation of peroxisome proliferator-activated receptor-delta-dependent pathways. *Hypertension.* 2010;55:869–879.
104. Nagasawa T, Inada Y, Nakano S, Tamura T, Takahashi T, Maruyama K, Yamazaki Y, Kuroda J, Shibata N. Effects of bezafibrate, PPAR pan-agonist, and GW501516, PPARdelta agonist, on development of steatohepatitis in mice fed a methionine- and choline-deficient diet. *Eur J Pharmacol.* 2006; 536:182–191.
105. Zhang LL, Yan Liu D, Ma LQ, Luo ZD, Cao TB, Zhong J, Yan ZC, Wang LJ, Zhao ZG, Zhu SJ, Schrader M, Thilo F, Zhu ZM, Tepel M. Activation of transient receptor potential vanilloid type-1 channel prevents adipogenesis and obesity. *Circ Res.* 2007; 100:1063–1070.
106. Holzer P. Transient receptor potential (TRP) channels as drug targets for diseases of the digestive system. *Pharmacol Ther.* 2011;131:142–170.
107. Wu X, Zhang L, Gurley E, Studer E, Shang J, Wang T, Wang C, Yan M, Jiang Z, Hylemon PB, Sanyal AJ, Pandak WM, Zhou H. Prevention of free fatty acid-induced hepatic lipotoxicity by 18beta-glycyrrhetic acid through lysosomal and mitochondrial pathways. *Hepatology.* 2008; 47:1905–1915.
108. Ejaz A, Wu D, Kwan P, Meydani M. Curcumin inhibits adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes and angiogenesis and obesity in C57/BL mice. *J Nutr.* 2009;139: 919–925.
109. Folch J, Lees M, Stanley GHS. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem.* 1956; 226: 497-509.
110. Peng Y, Rideout DA, Rakita SS, Gower WR Jr, You M, Murr MM. Does LKB1 mediate activation of hepatic AMP-protein kinase (AMPK) and sirtuin1 (SIRT1) after Roux-en-Y gastric bypass in obese rats?. *J Gastrointest Surg.* 2010;14:221-228.
111. Smith PK, Krohn RI, Hermanson GT, Mallia AK, Gartner FH, Provenzano MD, Fujimoto EK, Goeke NM, Olson BJ, Klenk DC. Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Anal Biochem.* 1985; 150: 76-85.

112. Szczepaniak LS, Nurenberg P, Leonard D, Browning JD, Reingold JS, Grundy S, Hobbs HH, Dobbins RL. Magnetic resonance spectroscopy to measure hepatic triglyceride content: prevalence of hepatic steatosis in the general population. *American Journal of Physiology*. 2005;288:462–468.
113. Wang S, Moustaid-Moussa N, Chen L, Mo H, Shastri A, Su R, Bapat P, Kwun I, Shen CL. Novel insights of dietary polyphenols and obesity. *J Nutr Biochem*. 2014;25:1-18.
114. Jang EM, Choi MS, Jung UJ, Kim MJ, Kim HJ, Jeon SM, Shin SK, Seong CN, Lee MK. Beneficial effects of curcumin on hyperlipidemia and insulin resistance in high-fat-fed hamsters. *Metabolism*. 2008;57:1576–1583.
115. Gram DX, Hansen AJ, Deacon CF, Brand CL, Ribel U, Wilken M, Carr RD, Svendsen O, Ahren B. Sensory nerve desensitization by resiniferatoxin improves glucose tolerance and increases insulin secretion in Zucker Diabetic Fatty rats and is associated with reduced plasma activity of dipeptidyl peptidase IV. *European Journal of Pharmacology*. 2005; 509:211–217.
116. Moesgaard SG, Brand CL, Sturis J, Ahren B, Wilken M, Fleckner J, Carr RD, Svendsen O, Hansen AJ, Gram DX. Sensory nerve inactivation by resiniferatoxin improves insulin sensitivity in male obese Zucker rats. *American Journal of Physiology Endocrinology Metabolism*. 2005;288: 1137–1145.
117. Mun JM, Ok HM, Kwon O. Corn gluten hydrolysate and capsaicin have complimentary actions on body weight reduction and lipid-related genes in diet-induced obese rats. *Nutr Res*. 2014; 34:458-465.
118. Allen R G, Venkataraj V S. Oxidants and antioxidants in development and differentiation. *J Nutr*. 1992;122:631-635.
119. Chang S, Graham B, Yakubu F, Lin D, Peters JC, Hill JO. Metabolic differences between obesity-prone and obesity-resistant rats. *Am J Physiol*. 1990; 259: 1103–1110.
120. Öner-İyidoğan Y, Tanrıkulu-Küçük S, Seyithanoğlu M, Koçak H, Doğru-Abbasoğlu S, Aydın AF, Beyhan-Özdaş Ş, Yapişlar H, Koçak-Toker N. Effect of curcumin on hepatic heme oxygenase 1 expression in high fat diet fed rats: is there a triangular relationship?. *Can J Physiol Pharmacol*. 2014;92:805-812.
121. Yoshioka M, St-Pierre S, Drapeau V, Dionne I, Doucet E, Suzuki M, Tremblay A. Effects of red pepper on appetite and energy intake. *Br J Nutr*. 1999; 82: 115–123.
122. Yang Y, Duan W, Lin Y, Yi W, Liang Z, Yan J, Wang N, Deng C, Zhang S, Li Y, Chen W, Yu S, Yi D, Jin Z. Sirt1 activation by curcumin pretreatment attenuates

- mitochondrial oxidative damage induced by myocardial ischemia reperfusion injury. *Free Radic Biol Med*. 2013; 65: 667–679.
123. Rodgers JT, Lerin C, Haas W, Gygi SP, Spiegelman BM, Puigserver P. Nutrient control of glucose homeostasis through a complex of pgc-1alpha and sirt1. *Nature*. 2005; 434: 113–118.
 124. Jiménez-Flores LM, López-Briones S, Macías-Cervantes MH, Ramírez-Emiliano J, Pérez-Vázquez V. PPAR γ , NF- κ B and AMPK-Dependent Mechanism May Be Involved in the Beneficial Effects of Curcumin in the Diabetic db/db Mice Liver. *Molecules*. 2014;19: 8289-8302.
 125. Qin X, Xie X, Fan Y, Tian J, Guan Y, Wang X, Zhu Y, Wang N. Peroxisome proliferator-activated receptor-delta induces insulin-induced gene-1 and suppresses hepatic lipogenesis in obese diabetic mice. *Hepatology*. 2008; 48:432–441.
 126. Argentou M, Tiniakos DG, Karanikolas M, Melachrinou M, Makri MG, Kittas C, Kalfarentzos F. Adipokine serum levels are related to liver histology in severely obese patients undergoing bariatric surgery. *Obesity Surgery*. 2009;19:1313–1323.
 127. Arvaniti VA, Thomopoulos KC, Tsamandas A, Makri M, Psyrogiannis A, Vafiadis G, Assimakopoulos SF, Labropoulou-Karatza C. Serum adiponectin levels in different types of non alcoholic liver disease Correlation with steatosis, necroinflammation and fibrosis. *Acta Gastro-Enterologica Belgica*. 2008;71:355–360.
 128. Chalasani N, Crabb DW, Cummings OW, Kwo PY, Asghar A, Pandya PK, Considine RV. Does leptin play a role in the pathogenesis of human nonalcoholic steatohepatitis?. *American Journal of Gastroenterology*. 2003;98:2771–2776.
 129. Chitturi S, Farrell G, Frost L, Kriketos A, Lin R, Fung C, Liddle C, Samarasinghe D, George J. Serum leptin in NASH correlates with hepatic steatosis but not fibrosis: a manifestation of lipotoxicity?. *Hepatology*. 2002;36:403–409.
 130. Giby VG, Ajith TA. Role of adipokines and peroxisome proliferator-activated receptors in nonalcoholic fatty liver disease. *World J Hepatol*. 2014 ; 6: 570-579.
 131. Dasgupta S, Bhattacharya S, Biswas A, Majumdar SS, Mukhopadhyay S, Ray S, Bhattacharya S. NF κ B mediates lipid-induced fetuin-A expression in hepatocytes that impairs adipocyte function effecting insulin resistance. *Biochem J*. 2010; 429:451–462.
 132. Lin X, Braymer HD, Bray GA, York DA. Differential expression of insulin receptor tyrosine kinase inhibitor (fetuin) gene in a model of diet-induced obesity. *Life Sci*. 1998; 63:145–153.

- 133.Ochi A, Mori K, Emoto M, Nakatani S, Morioka T, Motoyama K, Fukumoto S, Imanishi Y, Koyama H, Ishimura E, Inaba M. Direct Inhibitory Effects of Pioglitazone on Hepatic Fetuin-A Expression.PLoS One. 2014;9:e88704.
- 134.Gavrilova O, Haluzik M, Matsusue K, Cutson JJ, Johnson L, Dietz KR, Nicol CJ, Vinson C, Gonzalez FJ, Reitman ML. Liver peroxisome proliferator-activated receptor gamma contributes to hepatic steatosis, triglyceride clearance, and regulation of body fat mass. J Biol Chem.2003; 278: 34268–34276.

7. ÖZGEÇMİŞ

A.KİŞİSEL BİLGİLER

Doğum Tarihi ve Yeri: 01.02.1987, Kahramanmaraş

Uyruğu: TC

Medeni Hali: Evli

Tel: 0(212) 4142000-33224-32353

E-mail: eczseyit@mynet.com

B. EĞİTİM, MESLEKİ VE AKADEMİK DENEYİMLER

Tıpta Uzmanlık Eğitimi: İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya ABD, 2011-2015

Mesleki Deneyim: Kahramanmaraş İl Sağlık Müdürlüğü Önsen Sağlık Ocağı/5 Nolu 112 İstasyonu, 2010-2011

Lisans: Çanakkale 18 Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çanakkale, 2004-2010

Orta Öğrenim: Kahramanmaraş Anadolu Öğretmen Lisesi, Kahramanmaraş, 2001-2004

İlk Öğrenim: Özel Öz Derya İlköğretim Okulu, Kahramanmaraş, 1993-2001

Uluslararası Yayınlar:

1. Oktar T, Kocak T, Oner-Iyidogan Y, Erdem S, Seyithanoglu M, Ziylan O, Kocak H. Urinary nerve growth factor in children with overactive bladder: a promising, noninvasive and objective biomarker. J Pediatr Urol. 2013; 9:617-621.

2. Öner-İyidoğan Y, Koçak H, Seyidhanoglu M, Gurdöl F, Gülçubuk A, Yildirim F, Çevik A, Uysal M. Curcumin prevents liver fat accumulation and serum fetuin-A increase in rats fed a high-fat diet. J Physiol Biochem. 2013;69:677-686.

3. Öner-İyidoğan Y, Tanrikulu-Küçük S, Seyithanoğlu M, Koçak H, Doğru-Abbasoğlu S, Aydın AF, Beyhan-Özdaş Ş, Yapişlar H, Koçak-Toker N. Effect of curcumin on hepatic heme oxygenase 1 expression in high fat diet fed rats: is there a triangular relationship? Can J Physiol Pharmacol. 2014;92:805-812.

4. Tanrikulu-Küçük S, Koçak H, Öner-İyidoğan Y, Seyithanoğlu M, Topparmak E, Kayan-Tapan T. Serum fetuin-a and arginase-1 in human obesity model: is there any interaction between inflammatory status and arginine metabolism? Scand J Clin Lab Invest. (baskıda)

