



T.C.

GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**DİYETLE OBEZ HALE GETİRİLMİŞ SIÇANLARDA
NONALKOLİK YAĞLI KARACİĞER HASTALIĞI
ÜZERİNE SİTAGLİPTİNİN ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. SELVİHAN BEYSEL AKASLAN

TEZ DANIŞMANI

Doç . Dr. FÜSUN BALOŞ TÖRÜNER

ANKARA-2010

TEŞEKKÜR

İç Hastalıkları uzmanlık eğitimim boyunca yakın destek ve ilgilerini gördüğüm, İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanımız Prof.Dr.Şükrü Sindel başta olmak üzere tüm saygıdeğer hocalarıma;

Tez çalışmalarımda katkılarından ve desteğinden dolayı tez hocam Doç.Dr.Füsun Baloş Törüner'e, çalışmamın planlanma aşamasındaki desteği nedeni ile Prof.Dr.Metin Arslan ve Prof.Dr.Nuri Çakır'a, çalışmamın histopatolojik değerlendirmesinde emekleri geçen Yrd.Doç.Dr.Güldal Yılmaz'a ve çalışmamda katkıları nedeni ile Uzm.Dr.Ceyla Konca'ya ve değerli asistan arkadaşlarıma;

Bugüne kadar her zaman sevgi ve sonsuz destekleri ile yanımda olan aileme ve sevgili eşime en içten dileklerimle teşekkür ediyorum.

Dr. Selvihan Beysel Akaslan

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
KISALTMALAR DİZİNİ	iii
TABLolar DİZİNİ	v
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. NONALKOLİK YAĞLI KARACİĞER HASTALIĞI(NAYKH)	3
2.1.1.EPIDEMİYOLOJİ	3
2.1.2. ETİYOLOGENEZ	4
2.1.3. HİSTOPATOLOJİK DERECELENDİRME VE EVRELEME	7
2.1.4. İLİŞKİLİ FAKTÖRLER	8
2.1.5. KLİNİK ÖZELLİKLER.....	11
2.1.6. LABORATUVAR BULGULARI.....	11
2.1.7. TANI	12
2.1.8. PROGNOZ	15
2.1.9. TEDAVİ.....	16
2.2. İNKRETİNLER.....	20
2.2.1. GLUKAGON BENZERİ PEPTİD-1(GLP-1).....	20
2.2.2. DİPEPTİDİLPEPTİDAZ-IV İNHİBİTÖRLERİ (DPP-IV)	22
2.2.3. SİTAGLİPTİN	22
3.GEREÇ ve YÖNTEM.....	25
4.BULGULAR	29
5.TARTIŞMA ve SONUÇLAR.....	49
6.KAYNAKLAR	58
7.ÖZET.....	71
8.SUMMARY	72
9. EKLER	
EK-1	73
EK-2	74
EK-3	75

KISALTMALAR DİZİNİ

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
AKŞ	Açlık Kan Şekeri
ALT	Alaninaminotransferaz
ALP	Alkalen Fosfataz
AST	Aspartataminotransferaz
ATP-III	Erişkin Tedavisi Paneli III
BT	Bilgisayarlı Tomografi
CK-18	Sitokeratin-18
DHEA-S	Dehidroepiandrosteron Sülfat
DM	Diyabetes Mellitus
DPP-IV	Dipeptidil Peptidaz IV Enzimi
FDA	Amerikan Ulusal İlaç Örgütü
GIP	Glukoza Bağımlı İnsülinotropik Polipeptid
GLP-1	Glukagon Benzeri Polipeptid-1
GÜDAM	Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi
HbA1c	Hemoglobin A1c
HDL	Yüksek Dansiteli Lipoprotein
H&E	Hematoksilen-Eozin
HOMA	Homeostasis Model Assessment of İnsüline Rezistansı
HT	Hipertansiyon
IDF	Uluslararası Diyabet Federasyonu
NASH	Nonalkolik Steatohepatit
NAYKH	Nonalkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı
NCEP	Ulusal Kolesterol Eğitim Programı
PPAR-α	Peroxisome-Proliferator Activated Reseptor α
PPAR-γ	Peroxisome-Proliferator Aktivated Reseptor -gamma
TNF α	Tümör Nekroz Faktör α
TG	Trigliserid
TGF-β	Transforming Growth Faktörü- β

TKŞ	Tokluk Kan Şekeri
UDCA	Ursodeoksikolikasid
USG	Ultrasonografi
VLDL	Çok Düşük Dansiteli Lipoprotein
YYD	Yüksek Yağlı-Yüksek Kalorili Diyet

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa no:

Tablo 2.1 Nonalkolik Steatohepatitte Fibrozis Evrelemesi	8
Tablo 2.2 Nonalkolik Steatohepatitin Nekroinflamatuvar Aktivitesinin Derecelendirmesi.....	8
Tablo 3.1 YYD ve Standart Sıçan Diyeti Karşılaştırılması (g/100g Diyet	26
Tablo 4.1 Gruplar İçerisinde İzlem Zamanlarına Göre Ortalama Vücut Ağırlıkları.	29
Tablo 4.2 Tedaviye bağlı Vücut Ağırlığı Değişimi, Çalışma Sonunda Karaciğer Ağırlığı ve Vücut Ağırlığı, Vücut Ağırlığı Değişim Yüzdesinin Gruplara göre Karşılaştırılması	30
Şekil 4.1 Vücut Ağırlığındaki Değişim Yüzdesinin İncelemesi.....	31
Şekil 4.2 Sitagliptin Tedavisine Bağlı Vücut Ağırlığı Değişiminin İncelemesi.....	32
Şekil 4.3 Karaciğer Ağırlığının İncelemesi	33
Tablo 4.3 Laboratuvar Ölçümlerinin Gruplara göre Karşılaştırılması	34
Şekil 4.4 Ortalama Serum Açlık Kan Şekeri Değerlerinin Dağılımı.....	35
Şekil 4.5 Ortalama Plazma İnsülin Değerlerinin Dağılımı	36
Şekil 4.6 Ortalama HOMA-IR Değerlerinin Dağılımı	37
Şekil 4.7 Ortalama Serum Trigliserid Değerlerinin Dağılımı.....	38
Şekil 4.8 Ortalama Serum Total Kolesterol Değerlerinin Dağılımı	39
Resim 1. Histopatolojik incelemede normal görünümde hepatositler (Kontrol grubu- H&E x200	42
Resim 2. Hepatositlerde lobüler alanda fokal nekroz ve sitoplazmalarında yağ damlacıkları (NAYKH grubu- H&E x400).....	43

Resim 3. Santral ven çevresindeki hepatositlerde, büyük ve küçük damlacıklar şeklinde yağlanma (NAYKH grubu- Oil Red O x200).....	44
Resim 4. Santral ven duvarında normal bağ dokusu ve çevresindeki hepatositlerde, büyük ve küçük damlacıklar şeklinde yağlanma (NAYKH grubu- Trikromx400) ...	44
Resim 5. Santral ven çevresindeki hepatositlerde yağ damlacıkları (Sitagliptin grubu- H&E x400).....	45
Resim 6. Santral ven çevresindeki hepatositlerde, büyük ve küçük damlacıklar şeklinde yağlanma (Sitagliptin grubu- Oil Red O x400)	46
Resim 7. Santral ven duvarında normal bağ dokusu (Sitagliptin grubu -Trikrom x400)	46
Tablo 4.4 Gruplara Göre Steatoz, Balonlaşma, İnflamasyon, Fibrozis Skorlarının Karşılaştırılması	47
Tablo 4.5. Steatoz ile Laboratuvar ve Klinik Ölçümler Arasındaki Korelasyon Katsayıları ve Önemlilik Düzeyleri	48

1-GİRİŞ ve AMAÇ

Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAYKH) modern toplumlarda obezitenin giderek yaygınlaşması ile sıklığı artan, günümüzde tanı ve patofizyolojisinde önemli gelişmelerin kaydedildiği bir halk sağlığı sorunudur (1,2). Toplumlarda beslenme alışkanlıkları ve sedanter yaşam tarzı değişimi ile özellikle Batı toplumlarında ve ülkemizde, hastalık insidansında belirgin artış vardır (1,2,3,4).

NAYKH benign bir hastalık olarak düşünülse de; bugün için basit steatozdan, fibrozis, steatohepatit ve siroza kadar ilerleme gösterdiği bilinmektedir. Obezite, hiperlipidemi, insülin rezistansı, hipertansiyon NAYKH'na eşlik eden klinik durumlardır (2,3,4,5).

NAYKH'nın patogenezi tam aydınlatılamamış olmakla birlikte; insülin rezistansı gibi çeşitli metabolik faktörlerin etkisiyle karaciğerde basit yağlanmanın gerçekleştiği ve sonrasında lipid peroksidasyonu sonucu oluşan reaktif oksijen metabolitleri, sitokinler, endotoksinler gibi faktörlerin etkisiyle oluştuğu düşünülmektedir (2,4).

Glukoza bağımlı insülinotropik polipeptid (GIP) ve glukagon benzeri polipeptid-1 (GLP-1) insülin salgılanmasını uyaran, glukoz sensivitesini artıran, β -hücre fonksiyonlarını düzenleyen inkretin hormonlarıdır ve dipeptidil peptidaz IV enzimi (DPP-IV) tarafından hızla metabolize edilirler. DPP-IV inhibitörleri veya 'gliptinler' GLP-1 yıkımını engeller, inkretin hormonlarının biyolojik aktivitelerini artırır. Sitagliptin, oral DPP-IV inhibitörü olan, inkretin hormonlarının inaktivasyonunu engelleyen bir ilaçtır (6,7,8).

NAYKH tedavisinde diyet ve egzersiz çok önemlidir. Bunların yanında etkinliği kanıtlanmış ilaçlar sınırlıdır (4,9). DPP-IV inhibitörlerinin NAYKH tedavisinde yeni bir yaklaşım olduğu hipotezine dayanarak bu çalışmayı planladık.

Bu çalışmada, yüksek yağlı diyetle obez hale getirilmiş sıçanlarda ;

- NAYKH ve metabolik sendromu değerlendirmek için yapılacak çalışmalarda kolaylıkla erişilebilecek hayvan modeli oluşturmak,
- NAYKH tedavisinde; sitagliptinin biyokimyasal-metabolik parametrelere, etkisinin incelenmesi ve karaciğer histopatolojisi ile değerlendirilmesi,
- Hayvan modeli bu çalışmayla, sitagliptinin NAYKH üzerine etkisini değerlendirecek geniş kapsamlı insan çalışmalarına zemin oluşturmak,
- Serum dehidroepiandrosteron sülfat (DHEA-S) düzeyinin artan hepatik fibrozis ile ilişkisinin araştırılması ve biyopsi yapılmadan steatohepatit derecesinin, serum DHEA-S düzeyi ile teşhis edilip edilemeyeceğinin saptanması amaçlanmış ve uygulanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. NONALKOLİK YAĞLI KARACİĞER HASTALIĞI (NAYKH)

2.1.1. Epidemiyoloji

NAYKH, obezitenin modern toplumlarda giderek yaygınlaşması ile sıklığı artan; tanı ve patofizyolojisinde önemli gelişmelerin olduğu bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir (2,3,4,10). NAYKH en sık görülen kronik karaciğer hastalıklarından birisidir, prevelansı Batı toplumunda genel olarak % 20-30'dır (2). Steatoz, inflamasyon ve sirozun, diyabetes mellitus (DM) ve obezite ile olan ilişkisi ilk olarak 1958'de tespit edilmiştir (1). 1980 yılında Ludwing J ve ark (11) alkol hikayesi olmadığı halde alkolik hepatite benzer histolojisi olan orta yaşlı 20 hastada görülen karaciğer hastalığını tanımlamak için nonalkolik steatohepatit (NASH) tanımlamasını kullanmışlardır.

NAYKH her yaş grubunu etkilemesine karşın en sık 47-54 yaş arasında görülür. NAYKH'nın kadınlarda daha sık görüldüğü gösterilmiştir (3). Tüm dünyada yaygın olup siyah ve beyaz ırktaki etnik prevelansı net değildir (12). Normal kilolu olanlarda steatoz riski % 10-15 iken, obezlerde risk % 70-80'lere kadar çıkmaktadır (2,3,12).

Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde erişkin nüfusta anormal transaminaz değerlerinin en sık rastlanılan sebebi NAYKH'dır (3). ABD'de NAYKH erişkin nüfusun % 20'sinde görülür (3,13). Japonya ve Kuzey Amerika'da görüntüleme tekniği ile yapılan çalışmalarda ise NAYKH sıklığı % 29-30 arasında bulunmuştur (3).

2.1.2. Etiyopatogenez

NAYKH, basit yağlı karaciğer hastalığı ve nonalkolik steatohepatit (NASH) olarak sınıflandırılır. Basit yağlı karaciğer hastalığı; iyi seyirlidir ve inflamasyon, balon dejenerasyonu, nekroz, fibrozis veya siroz olmaksızın hepatik steatozla karakterize iken; NASH makroveziküler steatoz, lobular inflamasyon, balon dejenerasyonu, zon 3 periselüler fibrozis ve siroz ile ilişkili bulunmuştur (1,2,5,14). NASH histolojik olarak ilerleyicidir; siroza hatta karaciğer yetmezliğine neden olabilir (2,5,14).

Günümüzde halen patofizyolojik mekanizmalar tam olarak aydınlatılamamıştır. NAYKH'nın metabolik sendromun bileşenleri olan santral obezite, tip 2 DM, insülin direnci, hipertansiyon (HT) ve hiperlipidemi ile korele olduğu bilinmektedir (4,5,9,14). Ayrıca metabolik sendromun bileşenlerinin sayısı arttıkça NAYKH'nın görülme sıklığı ve hastalığın ciddiyeti artmaktadır (2,5,15).

İnsülin direnci NAYKH'na en sık eşlik eden faktördür (4,5,14,16). NAYKH olan, ancak glukoz intoleransı olmayan zayıf hastalarda dahi hiperinsülinemi görülmektedir. İnsülin direncinin, obezite derecesinden bağımsız olarak NASH patogenezinde yer alan temel faktör olduğu gösterilmiştir (14). Patogenezinde insülin direncinin çok önemli rolü olduğu bilinen tip 2 diyabetin NAYKH ile ilişkili olduğu, ayrıca fibrozis gelişimi için bağımsız bir risk faktörü olduğu belirtilmiştir (2,17,18). Kriptojenik siroz tanısı olan hastalarla yapılan çalışmalarda obezite ve diyabetin daha sıklıkla bulunması, hastaların önemli bir kısmında altta yatan etiyojinin NAYKH'na bağlı olabileceğini düşündürmektedir (2,18,19).

Çoğu çalışmalarda vücut kitle indeksi ile karaciğer yağlanması arasında ilişki olduğu saptanmıştır (18,20). Yağ miktarının dağılımı, özellikle bel-kalça oranı ile visceral obezitenin NAYKH gelişimi ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir (2,18).

2.1.2.a. Çift hasar hipotezi

NAYKH patogenezi son yıllarda aydınlatılmaya başlanmıştır. En sık kabul edilen teori Day CP ve ark (21)'in 1998 yılında öne sürdükleri çift hasar hipotezi (çift

vuruş)'dir. Bu hipoteze göre, ilk hasar özellikle hepatositlerde yağ asidi ve trigliserid birikimidir (2,10). Steatoz oluştuğunda hücre adaptasyon sağlamak için sinyal iletiliminde değişimler yapmaktadır. Oksidatif stres, genetik yatkınlık, besin eksikliği, sitokin artışı, kupfer hücre disfonksiyonu, mitokondriyal bozukluk ve fibrojenesis gibi faktörlerin etkisi ile ikinci hasar gelişmektedir. Bu hasar neticesinde hepatositlerde apoptozis, nekroz ve karaciğerde inflamasyon gerçekleşmektedir (2,5,17).

İlk hasar: NAYKH hastalarının çoğunda insülin direnci görülmekte ve genellikle DM, obezite ve hipertrigliseridemi tabloya eşlik etmektedir (4,5). İnsülin direnci ve hiperinsülinemi NAYKH patogeneğinde ilk basamaktır (2,10). İnsülin sinyalinde (yağ dokusunun serum glukozundaki değişimlere cevap verme kapasitesi) ve yağ metabolizmasında olan değişiklikler steatozu tetiklemektedir (14,17,18).

İnsülindeki artış adipoz dokuda lipolizi artırarak karaciğere serbest yağ asidi transferini artırmaktadır. Karaciğerde ise serbest yağ asidi sentezini artırarak beta oksidasyonu azaltmaktadır (2,4,10). Artmış serbest yağ asitleri de insülin reseptör substratını azaltarak insülin direncini artırır (1,4,17,18). Serbest yağ asitlerinin artışı ve karaciğere taşınması ile yağ metabolizmasındaki denge değişerek VLDL (çok düşük dansiteli lipoprotein) sekresyonu azalmaktadır (2,5,10,22). Serbest yağ asitlerindeki artış karaciğerde trigliserid oluşumunu artırmaktadır (5,17,23). Sonuçta, vücuttaki yağ dengesi bozulduğunda steatoz oluşmaktadır (2,10,17,24).

İkinci hasar: Karaciğerde inflamasyon, balon dejenerasyonu, nekroz ve fibrozis ikincil hasarı oluşturmaktadır (2,17,18). Bu olaylara neden olan faktörler hala tam olarak aydınlatılamamıştır (17).

Steatozun NAYKH'a ilerlemesine neden olan ilk faktör oksidatif streştir (2). Oksidatif stres zamanla karaciğerde harabiyete neden olmaktadır. Karaciğerde depolanan serbest yağ asitleri oksidasyona uğramakta ve reaktif oksijen ürünleri oluşmaktadır (2,5,17,23). İnsülin direncine paralel olarak artan serbest yağ asitleri de hepatositlere direk toksik etkide bulunmaktadır (2,17,25).

Artmış serbest yağ asitleri lizozomların zarlarının parçalanmasına ve tümör nekroz faktör- α (TNF- α)'nın uyarılmasına neden olmaktadır (2,23,25). Sitokrom P450 enzimleri uyarılarak serbest oksijen radikallerinin üretilmesini artırarak peroksisom proliferator-activated reseptör- α (PPAR- α)'nin uyarılmasına neden olur (2,17,23). PPAR- α serbest yağ asidi oksidasyonunu artırırken oksidatif stresi de artırır

(2,17,23,26). Serbest yağ asitlerindeki artış, lipid peroksidasyonunda rolü olan bir enzim olan CYP2E1 aktivitesini de artırmaktadır. Kronik oksidatif stres, doğal antioksidan havuzunu azaltarak hepatositte aşırı reaktif metabolit oluşturmaktadır (2,5,25,27).

Serbest yağ asitlerinin mitokondrial hasar nedeniyle peroksizomal β oksidasyon yoluna kayması hidrojen peroksit oluşumunu artırmaktadır (23,25,30). Aşırı reaktif oksijen radikalleri, hücre membranında lipid peroksidasyonu yaparak hepatosit, kupfer hücresi ve adipositlerden proinflamatuvar sitokin salınımına neden olmaktadır (2,25). $\text{TNF-}\alpha$ 'nın artması insülin direncini artırmakta ve steatozun NAYKH'a dönüşünü hızlandırmaktadır (2,5,28). Ayrıca yağ asitlerinin sentezinde artış olması sitokin salınımı, nötrofil kemotaksisi, apoptoz ve fibrozis gibi olaylara neden olmakta ve hasarı artırmaktadır (23,28).

NAYKH patogeneğinde kupfer hücreleri disfonksiyonu önemli bir yer tutmaktadır (2,5,28). Özellikle obezite, kupfer hücre fonksiyonlarını bozup, IL-10 seviyesini azaltarak karaciğerde yağlanma gelişimini hızlandırır (2,18,29).

Fibrozis, ilerlemiş yağlı karaciğerde sıklıkla görülen bir bulgudur (5,18). Karaciğer hasarının başlangıcında zon-3'de perisinüzoidal alanda kollajen depolanması, olası NASH için karakteristik sayılırken (5,10); bazı yayınlarda NASH için karakteristik sayılan bulgunun periselüler fibrozis olabileceği belirtilmiştir (9). Disse boşluğundaki subendotelial stellat hücrelerinin uyarılması sonucu fibrozis oluşur (5,10). Progresif hasar sonucunda portal alanda da fibrozis gelişir, portal-portal ve sentral-portal köprüleşmeler ve siroz görülebilir. Fibrotik süreci uyaran faktörler inflamatuvar sitokinler, anjiotensinojen ve oksidatif streştir (2,5).

NAYKH'da lipid peroksidasyon ürünleri karaciğerden transforming growth faktörü- β (TGF- β) üretilmesine neden olur ve TGF- β da stellat hücrelerinin uyarılmasını sağlar (2,5,30,31). $\text{TNF-}\alpha$ sekresyonunun artması fibrojenezi başlatan sitokinlerin artmasına neden olur (2,5,18). Hiperinsülinemi de hepatik stellat hücrelerinden bağ dokusu büyüme faktörü salınımını uyarak fibrozis gelişimini tetikler (30,32). Bunun yanı sıra leptinin kupfer hücreleri ve sinüzoidal hücrelerden TGF- β salınımını uyarak fibrozisi tetiklediği gösterilmiştir (2,5,31).

2.1.3. Histopatolojik derecelendirme ve evreleme

NAYKH'da temel histolojik özellik, hepatositlerde hücre nükleusunun köşeye itildiği makroveziküler yağlı değişikliktir (1,10,14,17). NAYKH'ı basit yağlı karaciğer hastalığı ve NASH olmak üzere iki histolojik sınıfa ayrılır. Basit yağlı karaciğer hastalığı hepatik steatozla karakterize iken; NASH'de buna ek olarak mallory cisimcikleri, lobüler nötrofilik inflamasyon, balon dejenerasyonu, zon 3 periselüler fibrozis parametrelerinden birisi veya siroz ile ilişkili bulunur (1,5,10,14,17). Özellikle şiddetli vakalarda mikroveziküler steatoz da tabloya eşlik eder. Mikroveziküler steatozun varlığı alkolik hepatit ve NASH'da progresif seyrin habercisidir (1,33).

Karaciğer hasarının erken döneminde asinar zon-3 bölgesinde steatoz yoğunlaşırken, karaciğer parankimi tamamen hasarlandığında tüm parenkimde steatotik hepatositler görülebilir (10,14,18,33). Mallory cisimciklerinin yağlı karaciğerde görülebilmeye karşı, alkolik karaciğer hastalığında daha sıklıkla bulunur (1,10,14,18,33). Fibrozis daha çok perivenüler, perisinüzoidal alandan başlayıp; köprüleşme nekrozu, fibrozis ve siroza ilerler (5,10,14,33). Beraberinde obezitenin varlığı hücre proliferasyonu ve apoptozise bağlı olarak hepatosellüler karsinom gelişimine neden olabilmektedir (10,14,18,34).

Histolojik açıdan derece (grade) lezyonun nekroinflamatuvar aktivitesini, evre (stage) ise fibrozisi ifade etmektedir. NAYKH evrelemesi ve derecelendirilmesi için hepatik makroveziküler steatoz, hepatosellüler balonlaşma, intra-asiner inflamasyon, portal alan inflamasyonu, mallory cisimcikleri, asidofil cisimcikler, glikojen çekirdeği, lipogranülom ve hepatosellüler demir birikimi gibi değişik bulgular kullanılmıştır (18,33). NASH'nın histopatolojik evreleme ve derecelendirilmesi için bir çok sınıflama kullanılmasına rağmen, en çok kabul gören sınıflama Brunt EM ve arkadaşları (33) tarafından geliştirilmiştir. (Tablo 2.1, Tablo 2.2)

Tablo 2.1 Nonalkolik Steatohepatitte Fibrozis Evrelemesi (33)

Evre 0	Fibrozis yok
Evre 1	Fokal veya yaygın perivenüler, perisinüzoidal, perisellüler fibrozis
Evre 2	Fokal veya yaygın perivenüler, perisinüzoidal, perisellüler, portal fibrozis
Evre 3	Fokal veya yaygın köprüleşen fibrozis
Evre 4	Siroz ± perisinüzoidal fibrozis

Tablo 2.2 Nonalkolik Steatohepatitin Nekroinflamatuvar Aktivitesinin Derecelendirmesi (33)

	Derece 0	Derece 1 (hafif)	Derece 2 (orta)	Derece 3 (ağır)
Steatoz	Makroveziküler < % 5	Makroveziküler % 5-% 33	Mikst steatoz % 33-% 66	Mikst steatoz > % 66
Balonlaşma	Yok	Nadir	Perisinüzoidal	Yaygın
Lobüler inflamasyon	Yok	Daha çok kronik inflamasyon	Dağınık akut ve kronik inflamasyon	Akut inflamasyon ± perisellüler fibrozis ± kronik inflamasyon
Portal inflamasyon	Yok	Hafif/yok	Yok/hafif-orta	Hafif-orta

2.1.4. İlişkili faktörler

NAYKH'na metabolik sendromun bileşenleri olan santral obezite, tip 2 DM, insülin direnci, hipertansiyon ve hiperlipidemi eşlik etmektedir (2,5,18,35). NAYKH, metabolik sendromun hepatik komponenti olarak düşünülmektedir (3,18).

Dünya sağlık örgütü 1998 yılında (36) metabolik sendromu; DM, bozulmuş açlık glukozu, insülin direnci veya bozulmuş glukoz toleransı komponentleri ile birlikte HT (>160/90 mmHg), hiperlipidemi, santral obezite ve mikroalbüminüri parametrelerinden en az ikisinin bulunması olarak tanımlamıştır.

Ulusal Kolesterol Eğitim Programı (NCEP) 2001 yılında yetişkinlerde yüksek kan kolesterolü tespit, değerlendirme ve tedavisi raporunu hazırlamıştır (ATP-III; Erişkin Tedavisi Paneli III) (38). Bu raporda, metabolik sendrom tanısı için aşağıdaki beş kriterden üçünün varlığının olması gerektiği bildirilmiştir:

1. Bel çevresi erkeklerde ≥ 102 cm, kadınlarda ≥ 88 cm;
2. Serum Trigliserid (TG) düzeyi ≥ 150 mg/dl;
3. Serum yüksek dansiteli lipoprotein (HDL)-kolesterol erkeklerde ≤ 40 mg/dl, kadınlarda ≤ 50 mg/dl;
4. Sistolik kan basıncı ≥ 130 mmHg, diastolik kan basıncı ≥ 85 mmHg; veya antihipertansif kullanımı
5. Açlık kan şekeri (AKŞ) ≥ 110 mg/dl

ATP-III bu kriterler dışında proinflamatuvar ve protrombotik süreçlerin de son yıllarda metabolik sendromla sıklıkla bir arada bulunduğunu belirtmiştir (2,38).

2005 yılında Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF), ATP-III raporundaki kriterleri modifiye ederek abdominal obezitenin temel kriter olarak alınmasını önermiştir. Buna göre tanı için abdominal obezite yanında ATP-III'deki iki kriterin birlikteliği ile tanı konulmaktadır (2,36). IDF'in önerisinde bel çevresi ölçümünün sınır değerleri de daha aşağı çekilmiştir.

2.1.4.a. İnsülin direnci:

Metabolik sendrom ile NASH arasındaki ilişkinin moleküler temeli tam olarak açıklanamamıştır (18). İnsülin direnci, metabolik sendrom dışında polikistik over hastalığında, yaşlılıkta, kanserli hastalarda, hiperlipidemide, obezitede ve diyabette gösterilmiştir (2,23).

İnsülin salınımı serum C-peptid ve serum C-peptid/insülin molar oranı ile belirlenebilir. Hiperinsülinemide serum C-peptid/insülin molar oranı insülin hipersekresyonuna bağlı ise normal, bozulmuş insülin yıkımına bağlı ise düşük

orandadır (14). Steatohepatitli hastalarda yapılan bir çalışmada serum C-peptid/insülin molar oranının değişmemesi, hiperinsülinemiye hepatik insülin yıkımında bozukluğun olmadığı, pankreatik β -hücre hipersekresyonunun neden olduğunu göstermiştir (14,22). Ancak akut karaciğer yetmezliği olan hastalarda hepatik insülin yıkımının azalmasına bağlı olarak hiperinsulinemi gelişimi gösterilmiştir (14,39) .

2.1.4.b. Diyabetes mellitus:

Metabolik sendromun bir parçası olan DM, NAYKH hastalarının % 21-75'inde saptanmıştır. Diyabetli hastaların % 21-78'inde sonografik olarak steatoz saptanmış ve serum ALT (alaninaminotransferaz) seviyesi sıklıkla yüksek bulunmuştur (3,4). Diyabetli hastalarda yapılan çalışmada NAYKH'nın insidansı % 49 tespit edilmiş ve diyabetin NAYKH için güçlü, bağımsız bir risk faktörü olabileceği düşünülmüştür (2). Obeziteden bağımsız olarak, diyabet varlığı ile steatoz arasında pozitif ilişkili olduğu gösterilmiştir (3). Ayrıca steatohepatitli hastaların % 2-55'inde diyabetin eşlik etmesi insülin rezistansı ve NASH etiyopatogenezi arasında ilişki olabileceğini düşündürmüştür (14).

2.1.4.c. Dislipidemi:

NAYKH'da en sık görülen lipid metabolizması bozukluğu hipertrigliseridemidir (3,9). Dislipideminin NAYKH'nın bir sonucu mu yoksa sebebi mi olduğu henüz netlik kazanmamıştır (39). NAYKH hastalarının % 20-81'ünde hiperlipidemi saptanmaktadır. Yine TG düzeyi 200 mg/dl üzerinde ve HDL düzeyi 35 mg/dl altında olanlarda NAYKH riski 3 kat artmıştır (3).

2.1.4.d. Obezite:

Obezitenin karaciğer steatozu için bağımsız bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir (2,3,5,40). NAYKH hastalarının % 30-95'i obezdir (3,20) ve obez hastalarda normal kilolu hastalara göre steatoz riski 4.6 kat artmıştır (2,40). Obezitenin

NAYKH ile ilişkisi tam bilinmemekle birlikte, obez hastalarda NAYKH görülme sıklığının arttığı bilinmektedir (5,40).

Viseral yağ, steatoza neden olan trigliseridin önemli kaynağıdır ve intraabdominal yağ, NAYKH patogeneğinde temel belirteçtir. Bu durum, normal kilolu intraabdominal yağ birikimi olan hastalarda insülin direnci ve NAYKH gelişimi arasındaki ilişki ile gösterilmiştir (2). Morbid obezlerde karaciğerde yağlanma, diyabet ve siroz sıklığında artış bildirilmiştir (3,18,22). Kilo verilmesi ile beraber karaciğerdeki yağlanma düzelmektedir (4,9,18).

2.1.5. Klinik özellikler

NAYKH'nda hastaların yaklaşık % 30'u semptomatiktir ve semptomlar genelde nonspesifiktir (1,2). En sık görülen semptomlar halsizlik ve sağ üst kadranda ağrısıdır (2,18,26). Fizik muayenede en sık görülen bulgu obezite ve hepatomegalidir (1,2,10,20). Karaciğer hastalığının belirtilerinden olan kaşıntı, bulantı, iştahsızlık gibi semptomlar nadiren görülmektedir (1,10,18). Hastalarda sarılık varlığı hepatiti; asit, ödem, varis kanaması veya hepatik ensefalopati varlığı ise sirozu akla getirmelidir (2,18).

2.1.6. Laboratuvar bulguları

Hastalar çoğunlukla asemptomatiktir (1,2,10,40). NAYKH'nda ALT düzeyi 1-4 kat artar (2,10,18). Bazı yayınlarda bu artışın 10-15 kata kadar çıktığı bildirilmiştir (10). Çoğu kez ALT düzeyi, aspartataminotransferaz (AST) düzeyinden yüksek olmasına rağmen siroz varlığında tersi olabilir (2,10,18). Hastada ALT/AST oranı 1'den fazla ise ileri evre fibrozis gelişimi olabileceği düşünülmelidir (2,18). Bununla birlikte AST/ALT oranı hiçbir zaman 2'den fazla olmaz (18,40). NASH'nda AST/ALT oranı sıklıkla >1 iken; NAYKH'nda <1 olarak saptanmıştır (1,26,40).

Ancak yükselen ALT seviyesi yağlanma şiddeti ve fibrozisin derecesi ile ilişkili değildir (2,18). Özellikle obez olan hastalarda karaciğer enzimleri normalden de histolojik değişiklikler görülebilmektedir (10,20).

Gamma glutamil transferaz ve alkalen fosfataz (ALP) yüksekliği NAYKH'da görülmektedir (2,10,18). Hastaların % 50'den azında ALP yükselmiş olsa da bu yükseklik normalin 2 katını geçmemektedir (2,18). Antinükleer antikor pozitifliği % 10-25 hastada, glukoz intoleransı % 30-50 hastada, hipertrigliseridemi ise % 20-80 hastada görülmektedir (18).

Karaciğerin fonksiyonel kapasitesi siroz veya karaciğer yetmezliği gelişmedikçe bozulmaz (18). Hematolojik parametreler siroz ve portal hipertansiyona ikincil hipersplenizm gelişmediği sürece normaldir (18,40).

NAYKH ile insülin direnci arasında ilişki olduğundan; NAYKH hastalarının değerlendirilmesinde insülin duyarlılığının laboratuvar ölçümleri kullanılabilir (5). İnsülin direncini belirlemede altın standart test insülin klemp testidir. Ancak yapılmasındaki zorluklar nedeniyle araştırmalar dışında klinikte rutin olarak uygulanmamaktadır. Günümüzde en sık kullanılan test HOMA-IR (homeostasis model assessment of insülin rezistansı) modelidir. HOMA insülin direnci indeksi= açlık insülin ($\mu\text{U/ml}$) x açlık glukozu (mmol/l) / 22.5 veya açlık insülin ($\mu\text{U/ml}$) x açlık glukozu (mg/dl) / 405 ile hesaplanır (41). HOMA-IR için eşik değer 2.7 ve üstü olarak verilmiştir (42).

2.1.7. Tanı

Karaciğer biyopsisinde % 5'in üzerinde yağ içeren hepatositlerin olması steatoz olarak değerlendirilir ve 20 gr/günün altında alkol kullanımı varlığında NAYKH tanısı konulur (2,10). Herhangi bir nedenle yapılan tetkiklerde açıklanmamış transaminaz yüksekliği yada görüntüleme çalışmaları ile yağlı karaciğer varlığından şüphelenilir (18,40). NAYKH tanısı karaciğer hasarı ile seyreden diğer hastalıkların ekarte edilmesi ile konulur (10,40). Ayırıcı tanıda yer alan hastalıklar alkolik karaciğer hastalığı, viral hepatitler, hemokromatozis, Wilson hastalığı, otoimmün hepatit,

karaciğer tümörleridir (10,16,43). İlaç, alkol ve toksik madde kullanım hikayesi ekarte edildikten sonra hikaye, fizik muayene ve laboratuvar bulguları ile hastada NAYKH şüphesi varsa takibe alınır (10).

2.1.7.a. Non-invaziv testler:

Karaciğer fonksiyon testleri non spesifik olup, etyolojiyi aydınlatmakta yetersiz kalmaktadır (10,43). Hepatik steatozun tanısında görüntüleme testleri yardımcı olur (10,40,43). Abdominal ultrasonografi (USG) hepatik parenkimdeki ekojenite artışını tespit eder ve klinik uygulamalarda sıklıkla kullanılan yöntemdir. USG'nin % 60-94 duyarlılık, % 88-95 özgünlüğü vardır (43). Histolojik tanı alan gruplarda USG'nin duyarlılığı % 91, özgünlüğü % 93 olarak ölçülmüştür (40). Manyetik rezonans görüntüleme ve bilgisayarlı tomografi (BT) karaciğerdeki yağ miktarını semi kantitatif olarak saptamak için kullanılabilir (43).

Karaciğerdeki yağlı değişimi göstermede USG, BT'den daha üstün olmakla beraber yama tarzındaki yağlanmada BT daha iyi sonuçlar vermektedir. Bu yöntemler tanıda yararlı olsa da kesin tanı için karaciğer biyopsisi gereklidir (40,43).

2.1.7.b. İnvaziv testler:

NASH hastalarında tanı genellikle klinik, seroloji ve abdominal görüntüleme ile doğrulanır. Ancak, tanıdan şüphelenildiğinde veya NAYKH'nın ciddiyetini tanımlamak gerektiğinde karaciğer biyopsisine gereksinim vardır (40,43). Biyopsinin en önemli yararı ilerlemiş fibrozis veya erken dönemde siroz gelişme riskini tanımlaması ve tedaviye yanıtın değerlendirilebilmesidir (43). NAYKH'nın kesin tanısı karaciğer biyopsisi ile konulmasına karşın rutin uygulamalarda hangi aşamada uygulanacağı halen tartışma konusudur (9,39). Bir çok klinisyen NAYKH olgularının iyi prognoz göstermesi ve kesin bir tedavi seçeneğinin olmaması; diğer yandan karaciğer biyopsisinin riskleri ve maliyeti nedeniyle biyopsiye karşıt görüşler öne sürmektedir (2).

Özellikle yaşı 45'in üzerinde, AST/ALT oranı >1, obez veya diyabeti olan hastalarda fibrozis gelişim riski yüksek olduğundan karaciğer biyopsisi yapılması önerilmektedir (2,26).

2.1.7.c Araştırma aşamasındaki noninvaziv testler:

NASH tanısında karaciğer biyopsisi altın standart yöntem olmasına karşın uygulama zorluğu nedeniyle; günümüzde noninvaziv yöntemle karaciğerde ilerlemiş fibrozisi değerlendirmek için çalışmalar yapılmaktadır (2,9,43).

Literatürde doğruluğu kanıtlanmamış bir çok noninvaziv model yayınlanmıştır. Bunlar arasında güvenilir sonuçları olan modeller; histolojik değişimi gösteren 'NAYKH aktivite skoru', ilerlemiş fibrozisi tanımlayan 'NAYKH fibrozis skoru' ve BARD skorudur. Kronik hepatit C'li hastalarda ciddi fibrozis için kullanılan serum 'Fibrotest' NASH tanısında olumlu sonuçlar göstermiştir (9).

Günümüzde noninvaziv yöntemle hepatik fibrozis derecesini saptamak için, sitokeratin-18 (CK-18) ve dehidroepiandrosterone sülfat (DHEA-S)'ın biyomarker olarak önerildiği çalışmalar yayınlanmıştır (2,9,40). Ancak, noninvaziv testlerden hiç birisi ilerlemiş fibrozisi tanımlamak için yeterli duyarlılık ve özgüllükte olmadığından, günümüzde karaciğer biyopsisi yerine kullanımı uygun değildir (9).

DHEA-S'in yaşlanma, kanser, obezite, diyabet, ateroskleroz ve Alzheimer hastalığında yararlı etkileri olduğu bildirilmiştir. Premenopozal dönemde meme kanserinden koruyucu olduğu düşünülmektedir. DHEA-S'in hayvan çalışmalarında obezite ve aortik ateroskleroz üzerine olumlu etkisi olduğu gösterilmiştir (44). Genetik olarak diyabetli farelerin diyetine DHEA-S eklendiğinde hipergliseminin oluşmadığı ve pankreas adacıklarında β -hücre yapısının korunduğu tespit edilmiştir. DHEA-S'in obezite ve lipidler üzerindeki olumlu etkiyi, glukoz-6 fosfat dehidrogenazı inhibe ederek gösterdiği düşünülmektedir (44,45). DHEA-S oksidatif strese karşı dokuların duyarlılığını artırır. Ayrıca bu steroid hormonu PPAR α ekspresyonunu düzenler ve insülinin duyarlılığını artırır (44,45).

Charlton M ve ark (45). Addison hastalarında serum DHEA-S düzeyinin hepatik fibrozis derecesi ile ters ilişkili olduğunu saptamışlardır. Adrenal yetmezlik, son dönem karaciğer hastalarında daha sıklıkla görülmektedir. Addison hastalarında

karaciğer enzim yüksekliği ve DHEA-S üretiminde değişikliğin olması; NAYKH patogeneğinde rolünün olabileceğini düşündürmektedir. Ciddi fibrozisi olan NASH hastalarında ise düşük serum DHEA-S düzeyi saptanmıştır (45). İlerlemiş NASH gelişimine DHEA-S eksikliğinin neden olabileceği öne sürülmüştür (45). DHEA-S, NASH'ta fibrozis gelişimiyle ilgili olan prokollajen Tip 1'i düzenlediğinden hepatik fibrozis üzerine etkisinin olabileceği düşünülmektedir (44,45).

2.1.8 Prognoz

NAYKH hastaların çoğunda sadece basit yağlanma şeklindedir, nadiren steatohepatite veya fibroze ilerlediği gösterilmiştir (2,9). İleri yaş (> 40-50), fazla kilolu (Vücut kitle indeksi > 25 kg/m²) olma, DM, hipertrigliseridemi, kadın cinsiyet, yüksek ALT düzeyi, AST/ALT oranı >1 olması, sirkülasyonda artmış serbest yağ asidi varlığı, artmış demir gibi durumlar ilerlemiş fibrozisin bağımsız belirleyicisidir (2,17,43). İnsülin direnci, sistemik HT ve obezite, köprüleşen fibrozis ve siroz için bağımsız risk faktörleri olarak tanımlanmıştır (17,40).

NAYKH hastalarının % 8-10'unda, NASH'li hastaların % 30'unda beş yıl içinde fibrozis gelişimi gözlemlenmiştir. Ayrıca % 15-20 hastada siroz gelişimi olabilir ve siroz gelişen hastalarda mortalite % 30-40'dır (40). NAYKH hastalarında mortalite riski tam olarak bilinmemekte ve mortalitenin < %5 olabileceği tahmin edilmektedir (18). NAYKH mortalitesini etkileyen faktörler obezite, diyabet komplikasyonları, komorbid hastalıklardır (5,18,40). Karaciğer yetmezliği, siroz komplikasyonları, hepatoselüler karsinom mortaliteyi etkiler; ancak bu komplikasyonların insidansı bilinmemektedir (18,26).

2.1.9 Tedavi

NAKYH'da periferik ve hepatik insülin direncini düzenlemenin hepatik steatoz ve hepatoselüler hasarı geri döndürdüğü; böylece karaciğer yetmezliğine ilerlemeyi engellediği düşünülmektedir (4). Diyet ve egzersizden oluşan yaşam tarzı değişikliği tedavide temel yaklaşımdır (4,5,9,40). HT, DM, hiperlipidemi gibi NAYKH'na eşlik eden durumlar da tedavi edilmelidir (4,40). Tedavi sonrası karaciğer fonksiyon testlerinde, hatta steatozda düzelme gösterilmiştir (4,9,40,43). Tedaviye yanıtı değerlendirmek için karaciğer biyopsisi ile histolojik parametrelerde düzelmeyi göstermek altın standart yöntemdir. Ancak, bunun her hastada uygun olmaması nedeniyle en sık kullanılan yaklaşım aminotransferaz düzeyinin düzelmesi ve USG ile hepatik steatoz derecesinde iyileşmenin gösterilmesidir. Ayrıca; insülin direnci, vücut kitle indeksi ve yağ dağılımı, antropometrik ölçümler, lipid profili tedaviye yanıtı değerlendirmek için kullanılabilir (5).

2.1.9.a. Kilo kaybı

Kilo kaybının orta düzeyde karaciğer enzimlerini düzelttiği gösterilmesine karşın; steatohepatiti iyileştirdiğini gösteren sınırlı sayıda prospektif çalışma vardır (4,40,43). Hastaların 6-12 ay içinde kilolarının % 7-10'unu vermeleri önerilmektedir (4,9,18). Kilonun % 10'u veya daha fazlasının kaybedilmesiyle hastalarda serum transaminaz düzeylerinde, steatoz, hepatomegali, insülin sensivitesi ve kardiyovasküler hastalık profilinde iyileşme olduğu gösterilmiştir (4,5,9,40). Obez NASH hastaları kilolarının % 9-28'ini kaybettiklerinde, karaciğer enzim ve histolojisinde iyileşme olduğu; ayrıca gastroplasti ile ideal kilolarına hızla dönen morbid obezlerde insülin direncinde de geri dönüş olduğu görülmüştür (5,40).

Orlistat, sibutramin, phentermin gibi ilaçların kilo vermedeki faydaları bilinmekle birlikte steatohepatit üzerine etkileri tam bilinmemektedir (4,5,9,18). Rimonabant (Endocannabinoid reseptör-1 antagonist) kilo kaybına neden olduğu için steatozu azaltıcı etkisi olabilir; ancak güvenli olmadığı için çalışması sonlandırılmıştır (9,40).

2.1.9.b. Diyet

Metabolik sendrom ve steatohepatit tedavisinde Amerikan Kalp Derneği tarafından önerilen diyet % 30-40 yağ (poli ya da monoansature), % 15 protein, % 45-55 karbonhidrat, < 4 gr/gün tuz içermektedir (18,38). Doymuş yağlar insülin direncini artırmasına karşın poliunsature yağlar insülin sensivitesini artırmakta ve kardiyovasküler hastalık profilini azaltmaktadır (38,43). Alkol kullanımının engellenmesinin steatohepatit üzerine olumlu etkisiyle ilgili yeterli veri bulunmamaktadır (5). Diyet çalışmaları hem ilaç sanayinin desteklememesi hem de kontrollü çalışmaların zorluğu nedeni ile sınırlı sayıdadır (18).

2.1.9.c. Egzersiz

Diyet ve egzersiz ile histolojik düzelme arasındaki ilişkiyi gösteren kanıtlar yeterli olmamasına karşın; NAYKH'nın tedavisinde ilk basamaktır (4,9,40,43). Egzersiz iskelet kasında substrat alımını değiştirmekte, oksidatif kapasiteyi ve yağ asid oksidasyonunu artırmakta; böylece miyositte yağ asidi ve trigliserid birikimini azaltıp insülin duyarlılığını artırmaktadır (5,18). Diyet ve egzersizin biyokimyasal parametreler ve hepatik steatozu iyileştirdiği ancak inflamasyon ve fibrozis üzerine etkisinin olmadığı gösterilmiştir (5,40,43).

2.1.9.d İnsülin direncinin farmakolojik tedavisi

NAYKH ile insülin direnci ilişkili olduğundan insülin duyarlaştırıcı tedaviler NASH tedavisinde temel yaklaşım olmuştur (4,9,17,40). Biguanidler ve tiazolidinedionlardan oluşan insülin duyarlaştırıcı ajanlar insan çalışmalarında kullanılmaya başlanmıştır (4,9,40,43).

Biguanid olan metformin hepatik glukojenezi azaltır, adenosin monofosfat aktif protein kinaz ve hepatik TNF- α ekspresyonunu düzenler. Ayrıca kilo kaybına neden olarak insülin direncini azaltır ve dislipidemi üzerine olumlu etki gösterir (4,5,9). Obez *ob/ob* fare ile yapılan bir çalışmada metforminin hepatomegali, biyokimyasal parametreler ve hepatik histolojide iyileşme sağladığı gösterilmiştir (46).

Marchesini G. ve ark. (47) metformin ile (500 mg/gün) 4 aylık tedavi sonrası ALT düzeylerinde düzelme, insülin duyarlılığında artma ve karaciğer boyutunda küçülme saptamışlardır; fakat bu çalışmada histolojik değerlendirme yapılmamıştır. Nair S. ve ark. (48)'nın diyabeti olmayan steatohepatit hastalarında yaptıkları 1 yıl süren çalışmada, metformin ile ALT düzeyinde geçici düzelme olmuş; ayrıca steatoz ve inflamasyonun iyileştiği gösterilmiştir. Bugianesi E. ve ark. (49)'nın randomize çalışmasında; metforminle 1 yıllık tedavi sonrası karaciğer enzimlerinde ve hepatik steatoz, inflamasyon, fibroziste düzelmenin vitamin E veya diyetle göre daha etkin olduğu gösterilmiştir.

Diyabeti olmayan çoğu NASH hastasında glukoz intoleransı eşlik etmekte; bu nedenle metforminin diyabet gelişme riskini azaltıcı etkisinden de faydalanılabileceği önerilmektedir. Diyabeti olan NASH hastalarında metformin kullanımıyla ilgili çalışma olmadığından; diyabetik popülasyondaki net etkisi bilinmemektedir (9).

Tiazolidinedionlar bir nükleer transkripsiyon faktörü olan PPAR- γ 'yı aktive eder. Plazma insülin, glukoz ve trigliserid düzeylerini azaltarak insülin duyarlılığını artırır (4,5,9,40,43). Troglitazon insanda NASH tedavisinde ilk kullanılan ajandır; fakat hepatotoksite nedeni ile ilaç kullanımdan kaldırılmıştır (4,9,43). Neuschwander-Tetri BA. ve ark. (50)'nın rosiglitazonla yapılan 1 yıllık çalışmasında insülin duyarlılığı, ALT düzeyi ve hepatik steatoz ve inflamasyonda iyileşme olduğu ancak fibrozis üzerine etkisinin olmadığı gösterilmiştir. Belfort R. ve ark. (51)'nin pioglitazonla yaptıkları 6 aylık çalışmada insülin duyarlılığı, ALT düzeyi, hepatik steatoz, inflamasyonda iyileşme gösterilmiş; ancak fibrozis üzerine etki gösterilememiştir. Ratziu V. ve ark. (52)'lerinin FLIRT 2 çalışmasında; rosiglitazon ile 3.ayda aminotransferaz düzeyleri, insülin duyarlılığı ve steatozda düzelme saptanırken, inflamasyon ve fibroziste iyileşme gösterilememiştir. Üç yıllık takip sonunda hastaların yarısına biyopsi tekrarlanmış ve steatozda iyileşme gözlenmiş; ancak steatohepatit derecesinde ve fibroziste düzelme saptanmamıştır. Sanyal AJ. ve ark. (53)'nin çalışmasında vitamin E ve pioglitazon tedavisinin beraber verildiği grupta tek başına vitamin E tedavisi alan gruba göre hepatik steatoz ve inflamasyonda daha fazla iyileştirme gösterilmiştir.

2.1.9.e. Antilipidemikler

NASH’da hiperlipidemi sık görülmekte ancak antilipidemik tedavinin etkinliği bilinmemektedir (18,40). Günümüzde yapılan çalışmalarda statin tedavisiyle histolojik düzelme gösterilememiştir (40). Obez steatozlu hastalarla yapılan bir çalışmada atorvastatinle aminotransferaz düzeyi düzelirken, histolojik düzelme gösterilememiştir (54).

Fibratlar PPAR- α reseptörü üzerinden etki gösterir. Fernandez-Miranda C. ve ark. (55) fenofibratin metabolik sendrom ve karaciğer testlerini düzelttiği ancak hepatik histoloji üzerine belirgin etkisinin olmadığını göstermişlerdir. Gemfibrozil ile yapılan çalışmada karaciğer enzimlerinde düzelme olurken, hepatik histolojiyi iyileştirmedeği gösterilmiştir (56).

2.1.9.f. Antioksidan ve sitoprotektif ajanlar

NAYKH’nın tedavisinde antioksidan olan vitamin E ve S-adenozil-metionin öncüsü olan betainin etkisi kesin olarak gösterilememiştir (40). Düşük dozda vitamin E tedavisinin karaciğer enzimleri ve histolojisi üzerine olumlu etkisinin olabileceği az sayıda olguların olduğu çalışmalarda gösterilmiştir (29,40,43,53).

Sitoprotektif ajan olan ursodeoksikolik asitle (UDC) yapılan çalışmalarda karaciğer enzimlerinde düzelme olduğu; ancak hepatik histolojide iyileşme olmadığı gösterilmiştir (17,40,43). Bu nedenle steatohepatit tedavisinde tek başına UDC kullanımı önerilmemektedir (40).

2.2 İNKRETİNLER

Normal bireylerde oral glukoza karşı insulin yanıtı intravenöz glukoza alınan yanıttan daha fazladır. İnsülin salgılanmasındaki bu artış ‘inkretin etkisi’ olarak bilinir (7,8). Glukoza bağımlı insülinotropik polipeptid (GIP) ve glukagon benzeri polipeptid-1 (GLP-1) inkretin hormonlardır (7,8,57,58). Tip 2 DM’lu hastalarda inkretin etkisinin azaldığı gösterilmiştir (7,8,59,60). Ek olarak, tip 2 DM’da GLP-1 düzeylerinin azaldığı da saptanmıştır (59,61).

2.2.1 Glukagon benzeri peptid- 1 (GLP-1)

GLP, glukagon ailesinin bir üyesidir ve gastrointestinal sistemden salgılanan önemli bir inkretin hormondur (60,62,63). GLP-1, glukagonu kodlayan genin bir ürünüdür ve bu gen pankreas α -hücrelerinde bulunduğu gibi, kolon ve ileumdaki intestinal mukozanın L hücrelerinde de saptanmıştır (7,8,64). GLP-1’in insülinotropik etkisi glukoz bağımlıdır; bu nedenle hipoglisemiye neden olmamaktadır (60,62,63,65,66). Mide boşalmasını geciktirir, besin alımını ve vücut ağırlığını azaltır (7,58,60,64). GLP-1’in β -hücre büyümesi ve apoptozisin inhibisyonu üzerindeki direkt etkisi hayvan modellerinde gösterilmiştir (7,60,67).

GIP ve GLP-1, dipeptidil peptidaz IV (DPP-IV) enzimi tarafından hızla yıkılmaktadır. DPP-IV inhibitörleri veya ‘gliptinler’ GLP-1 yıkımını engeller, inkretin hormonlarının biyolojik aktivitelerini artırır (7,8,60). GLP-1’in insanda normal postprandiyal glukoz dengesinin sağlanmasında gerekli olduğu ve salgılanmasının insülin salınımı ile yakından ilişkili olduğu gösterilmiştir (6,58,59,65). Tip 2 DM’lu hastalarda azalmış GLP-1 sekresyonu nedeniyle GLP-1’in yeni bir tedavi ajanı olarak kullanımı fikri ortaya çıkmıştır (7,8,68). GLP-1’in DPP-IV tarafından hızla metabolize edilmesinden dolayı kısa ömürlü olması infüzyon şeklinde verilmesini zorunlu kılmıştır (59,68,69). Bu nedenle; DPP-IV’e rezistan GLP-1 analogları geliştirilmeye

başlanmıştır. Diğer bir yaklaşım da DPP-IV inhibitörlerinin kullanılmasıyla doğal GLP-1 konsantrasyonunun artırılmasıdır (7,8,58,60).

Liraglutid, GLP-1 ile % 97 benzerlik gösteren uzun etkili, DPP-IV'e rezistan analogdur (6,69). Glukoz bağımlı insülin salgılanmasını uyarır, hemoglobin A1c (HbA1c)'de belirgin düşme sağlar (7,60,69). İştahı baskımlarken, doz orantılı olarak kilo kaybına neden olur (7,60,62,69). Hayvan modellerinde β -hücre kitlesinde artış ve apoptozisin inhibisyonu üzerine etkisi olduğu gösterilmiştir (7,69,70).

Eksenatid, ondokuz aminoasit içeren GLP-1 reseptör agonisti ve eksendin-4'e yapısal olarak benzer sentetik üründür (8,60,62,63,66). Glukoz bağımlı insülin salgılanmasını uyarır, postprandiyal glukagon salgılanmasını suprese eder, gastrik boşalmayı geciktirir ve kalori alımını azaltarak kilo kaybına yol açar (62,63,64,65,66). Preklinik ve klinik çalışmalarda eksenatidin β -hücre kitlesini ve fonksiyonunu uyardığı gösterilmiştir (7,8,60,63). Tip 2 DM'de monoterapi olarak veya sülfonilüre, metformin ve glitazonlarla kombine şekilde kullanılabilir (60,62,63,66,70). Çalışmalarda özellikle postprandiyal hiperglisemide ve HbA1c düzeylerinde iyileşme yaptığı gösterilmiştir (60,62,63,64,65,66). Nielsen LL ve ark. (74) Tip 2 DM'lu hastalarda eksenatid tedavisinin kilo kaybı ve lipid profiline olumlu etki yaptığı, ve glisemik kontrolde iyileşme sağladığını göstermiştir. Bu çalışmada serum ALT düzeyinde azalma olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, eksenatidin kardiyovasküler risk faktörlerine olumlu etkisinin olabileceği belirtilmiştir. GLP-1'in hepatositte denovo lipogenezi bozması ve yağ asiti beta oksidasyonunu hızlandırarak direkt lipid düşürücü etki göstermesi nedeniyle, NAYKH tedavisinde temel unsurlardan olabileceği düşünülmektedir (5,71,72). İncretin ajanlardan NAYKH tedavisinde en çok çalışılan eksenatiddir. Ding X ve ark. (71) eksenatidin *ob/ob* farede kilo alımında azalma, insülin direncinde düzelme ve hepatik steatozda iyileşme yaptığını göstermiştir. Tushuizen ME ve ark. (73) kötü kontrollü diyabeti olan bir hastada metformin tedavisine eksenatid eklediklerinde hepatik yağ yüzdesinde azalma ve ALT düzeyinde düzelme olduğunu göstermişlerdir. Eksenatidin NAYKH tedavisindeki yararının hepatotoksik olmaması, iştahı baskılaması, hipoglisemi yapmaması ve inkretin fonksiyonlarına sahip olmasına bağlı olabileceği düşünülmektedir (71).

2.2.2 Dipeptidil peptidaz- IV (DPP-IV) inhibitörleri

DPP-IV inhibitörleri, GLP-1 ve GIP'in yıkımını engelleyerek; diyabette azalmış olan GLP-1 konsantrasyonunu artırıcı etki gösterir (57,63,70,75). GLP-1 reseptör agonistlerine benzer etkileri vardır (60,62,63,66). DPP-IV inhibe olunca aktif inkretin düzeyi artar ve böylece insülin sentez ve sekresyonu artarken, α -hücrelerinden glukagon salınımı azalır (57,58,64,68,70). İnsülin üzerine olan etkisi glukoz bağımlıdır (57,59,60,62,63). Tek başına veya kombinasyon tedavilerinde açlık ve tokluk kan şekeri, HbA1c düzeyi üzerine olumlu etkileri vardır (57,59,60,62,66,75). Gastrointestinal sistem yan etkileri fazla değildir, iştah üzerine etkisi yoktur ve kilo kaybı yapmadığı gösterilmiştir (58,59,60,62,63,75).

DPP-IV sadece peptit yıkımında değil, hücre adhezyonu ve immünomodulasyonda da etkilidir (57,59,62,63). DPP-IV lenfosit hücre yüzey CD-26 olarak bilinen ubikutin enzim kompleksidir (57,59). Karaciğer, akciğer, intestinal, lenfosit, kapiller endotel, T- hücre, B-hücre gibi bir çok dokuda yaygın olarak bulunur (7,59). DPP-IV, T-hücre kostimülatörü olduğundan immün sistemde önemli rolü vardır (59,62,75).

İnkretin stabilizasyonuna ek olarak, bir çok gastrointestinal hormon, nöropeptidler, sitokinler, kemokininler, GIP, GLP-1 gibi bir çok fizyolojik bileşik DPP-IV'ün substratlarıdır. (57,59,63). Olası yan etkiler; nörojenik inflamasyon, kan basıncında artış, inflamasyon ve alerjik reaksiyonlar olabilir (57,59,60,62,76). Birçok DPP-IV inhibitörü için çalışmalar devam etmesine rağmen sitagliptin ve vildagliptin Amerikan Ulusal İlaç Örgütü (FDA) onayı almıştır (57,59).

2.2.3 Sitagliptin

Sitagliptin DPP-IV inhibitörleri arasında ilk piyasaya sürülen bileşiktir (7,60,63). GLP-1 yıkımını engelleyen sitagliptin oral kullanılan bir ilaçtır (57,59,62,63,75). Farmokokinetik çalışmalarda, sitagliptin uygulandıktan sonra oral

glukoz tolerans testinde aktif GLP-1 ve GIP düzeyinde 2 yada 3 kat artış olduğu gösterilmiştir (65,66,70). Aktif GLP-1 ve GIP konsantrasyonunda artış glukoz bağımlı insülin salınımında artış ve glukagon salınımında azalma, glukoz sensitivitesi ve β -hücre fonksiyonunu artırıcı etki göstermektedir (60,69,62,66,63,77).

Sitagliptin, tip 2 DM tedavisinde uygun glisemi kontrolü sağlanamazsa metformin, sülfonilüre, tiazolidinedion, α -glukozidaz inhibitörü ve insülinle kombine edilebilir (7,60,62,63,78). Sitagliptin monoterapisi plaseboyla karşılaştırıldığında; yaklaşık olarak ortalama açlık kan şekeri (AKŞ) 18 mg/dl ve tokluk kan şekeri (TKŞ) 41.2 mg/dl azaltmaktadır (57,62,63,79). HbA1c düzeyini % 0.5-1, yaklaşık olarak ortalama %0.7 düşürdüğü gösterilmiştir (57,59,60,62,76).

Sitagliptin tedavisiyle HOMA- β düzeyinde % 4-20 oranında düzelme olduğu gösterilmiştir (66). DPP-IV inhibitörlerinin hem α hem de β -hücre fonksiyonları üzerine etkisi vardır (60,69). Hayvan çalışmalarında β -hücre kitlesini artırdığı gösterilmiştir (58,67,69). Ayrıca insan çalışmalarında β -hücre fonksiyonunu düzenlediği gösterilmiştir (77,79,80,81,82,83,84). Klinik çalışmalarda sitagliptin tedavisiyle hipoglisemi riskinin düşük olduğu gösterilmiş ve indirekt GLP-1 seviyesinde artışa bağlı olarak glukoz bağımlı etki gösterdiği vurgulanmıştır (57,59,60,62,63).

Sitagliptinin vücut kilosuna nötr etkisinin olduğu ve kilo alımına neden olmadığı gösterilmiştir (57,58,59,60,62,69,70,77). Sitagliptin GLP-1 analogu olan eksanatid gibi kilo kaybı yapmamaktadır (57,62,63). Sitagliptinin lipid profili üzerine belirgin etkisinin olmadığı gösterilmiştir (59,60,62,63,69,81,85). Plasebo ile karşılaştırıldıkları çalışmalarda lipidler üzerine sitagliptinin etkisinin olmadığı, ancak vildagliptinin total kolesterole olumlu etkisinin olduğu gösterilmiştir (57,58).

DPP-IV inhibitörlerinin kardiyak etkileri, kan basıncı, inflamasyon belirteçlerine etkisiyle ilgili yeterli çalışma yapılmamıştır (57,58,59,60,62,63). Nikalaid ve ark. (7) myokardiyal enfarktüstten sonra GLP-1 reseptör agonistlerinin insanlarda myokardiyal fonksiyonlarını desteklediğini ve kan basıncını düşürdüğünü gözlemlemişlerdir.

Sitagliptin güvenlidir ve genelde iyi tolere edilir, nadiren hipoglisemi yapar. Oral kullanımı, hipoglisemi yapmaması ve kilo alımına neden olmaması avantajdır (7,57,59,62,63,70). Sitagliptinle ilgili en sık yan etki gastrointestinal sistemle ilgilidir

(57,58,59,62,69). Soğuk algınlığı, diyare, anafilaksi, anjioödem gibi ciddi alerjik ve dermatolojik yan etkileri vardır; ayrıca Stevens-Johnson sendromu gibi hipersensitivite reaksiyonları rapor edilmiştir (59,62,63,69). Pankreatit yan etkisi bildirilmiştir (59,75).

Sitagliptin iyi absorbe edilir, % 70-80'i renal yolla değişmeden atılır (57,59,63,69). Karaciğerde çok az bir kısmı CYP3A4 ve CYP2C8 ile metabolize olmasına rağmen ilaç etkileşimi bildirilmemiştir (59,62,63). Doz artışının ek yararı olmadığından sitagliptinin maksimum dozu 100 mg/gün şeklinde sınırlandırılmıştır (7,59,62). Oral olarak uygulanır, aç veya tok kullanımı arasında fark yoktur (59,62,63). Renal yetmezliği olan hastalarda kreatinin klerensi 30-50 ml/dk ise 50 mg/gün, kreatinin klerensi 30'un altında ise 25 mg/gün şeklinde doz ayarı yapılmalıdır (59,62,69).

Balaban YH ve ark. (86), NAYKH'da DPP-IV aktivitesinin arttığını ve bunun karaciğerdeki steatoz derecesi ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Bizim hipotezimiz DPP-IV inhibitörlerinin, karaciğerde steatoza eşlik eden insülin direncini ve hepatik inflamasyonu başlatan immün yanıtı düzenleyerek, artmış DPP-IV aktivitesini azaltarak, NAYKH'da yeni bir tedavi seçeneği olabileceğidir. Bizim çalışmamız bildiğimiz kadarı ile literatürde sitagliptinin hepatik steatozun erken aşamasındaki etkinliğini gösteren ilk çalışmalardandır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun 30/06/2009 tarih ve kararı (EK-1) ile Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi (GÜDAM)'nde gerçekleştirilmiştir.

Çalışmamızda GÜDAM'nden toplam 24 adet, 24 haftalık, ağırlıkları 199-240 gram arasında değişen, erişkin-dişi, Sprague-Dawley (SD) cinsi sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar deneyden 1 gün önce laboratuvar koşullarına alındı ve ikiye bölünmüş gruplar halinde plastik kafeslerde 21 °C'de barındırıldı. 12 saatlik aydınlık/ karanlık siklusuna maruz bırakıldılar; su ve yiyecek açısından ad libitum tarzı beslenme uygulandı. Sıçanların her biri çalışma başlangıcında ve her 10 günde bir tartıldı. Gelişebilecek komplikasyonlar açısından takip edildi.

Çalışmanın başlangıcında sıçanlar rastgele 2 gruba ayrıldı. Grup 1, toplam 16 hafta standart sıçan pellet diyeti ile beslendi ve kontrol grubu (n:6) kabul edildi. Grup 2 yüksek yağlı-yüksek kalorili diyetle (YYD, n:18) toplam 12 hafta beslendi. 12. haftanın sonunda YYD'le beslenen gruptan, kilosu en düşük olan bir sıçan alındı ve kan şekeri 180 mg/dl ölçüldü. Sıçan anestezi altında sakrifiye edildi ve karaciğer histopatolojisine bakılarak hepatosteatoz açısından değerlendirildi. Karaciğer dokusunda derece 1 hepatik steatoz saptandıktan sonra YYD alan sıçanlar rastgele iki gruba ayrıldı. Toplam 16 hafta sadece YYD alan grup nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı grubu (NAYKH, n:8) kabul edildi. YYD'le 12 hafta beslendikten sonra, çalışmanın son 4 haftasında YYD'e ek olarak gastrik gavajla sitagliptin (3 mg/kg- Januvia®) tedavisi verilen grup sitagliptin grubu (n:10) kabul edildi. Çalışmada kullanılan sitagliptinin hipoglisemik dozu literatürle uyumlu olarak uygulandı (87,88).

Standart sıçan pellet yemi Korkutelim Yem Sanayi'nden temin edildi. Standart sıçan pellet diyeti % 20 protein, % 4 yağ, % 70 karbonhidrat, % 3 fiber, % 1 vitamin, %2 mineral tuz içermekteydi ve kalorisi 2.6 kcal/g idi. YYD, 2 gram kolesterol ve 88 gram normal pellet sıçan yemiyle 10 gram domuz yağı karışımından hazırlandı (89). YYD % 17 protein, % 34 yağ, % 48 karbonhidrat, % 0.5 kolin, % 0.5 mineral tuz içermekteydi ve kalorisi 3.3 kcal/g idi.

Çalışmada kullanılan YYD'in temel bileşenleri ve standart sıçan yemi ile karşılaştırılması Tablo 3.1'de gösterilmiştir. Bu besinlerin bileşimi Türkiye Diyetisyen Derneği önerilerine göre hesaplandı (90).

Tablo 3.1 YYD ve Standart Sıçan Diyeti Karşılaştırılması (g/100g Diyet)

	Yüksek yağlı diyet	Standart sıçan diyeti
Karbonhidrat	48	70
Protein	17	20
Yağ	34	4
Fiber	-	3
Vitamin	-	1
Mineral tuz	0.5	2
Kolin	0.5	-
Kalori (kcal/g)	3.3	2.6

16.haftanın sonunda tüm sıçanlar tartıldı. Literatürde tariflenen intrakardiak kan alma yöntemiyle anestezi (intraperitoneal 5 mg/kg xylazine hidroklorür, 45 mg/kg ketamin hidroklorür) altında kurban edilerek kan örnekleri ve karaciğer diseksiyonundan hemen sonra karaciğer doku örnekleri alındı. Serum açlık glukozu, trigliserid, kolesterol, serum AST, ALT, DHEA-S düzeyleri Erbil Biyokimya ve Hormon Laboratuvarı'nda değerlendirildi. Plazma insülin düzeyi için sıçan insülin ELISA kiti SPI-Bio (Société de Pharmacologie et d'Immunologie-Bio, Fransa) Firması'ndan temin edildi. Sıçan insülin ELISA kiti ve glukometre ile hem insülin hem kan şekeri için ölçümler 2 kez tekrarlandı. İnsülin direnci HOMA-IR (Homeostasis model assesment- insülin rezistansı) indeksi ile değerlendirildi. HOMA-IR indeksi (açlık plazma insülin-µIU/ml) x (açlık plazma glukozu-mmol/l)/ 22.5 denklemi ile hesaplandı (41). Hepatik steatoz derecesi ile serum DHEA-S düzeyi arasındaki ilişki incelendi.

Karaciğer histolojisi Gazi Üniversitesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda incelendi. Karaciğer dokuları önce makroskopik olarak değerlendirildi ve % 10'luk formaldehit solüsyonunda 48 saat bekletilerek tespit edildi. Karaciğerin farklı loblarından 2-3 doku örneği alınarak rutin doku takibi uygulandı. Hazırlanan parafin bloklardan 4 mikron kalınlıkta kesitler alındı. Kesitler hematoksilin-eosin (H&E) ile boyanarak ışık mikroskopisi altında incelendi. Karaciğer dokuları inflamasyon, steatoz, balonlaşma dejenerasyonu, fibrozis açısından incelendi. Hepatik fibrozis 'Masson's Trikrom' boyasıyla değerlendirildi. Yağ materyali donuk (frozen) kesit alınarak hazırlanan karaciğer dokularında 'Oil Red O' boyasıyla değerlendirildi.

Değerlendirilmede aşağıdaki kriterler kullanıldı : (89)

Steatozun derecelendirilmesi:

derece 0: yağlanma yok,

derece 1: hepatik parenkimin < %33,

derece 2: hepatik parenkimin % 33-66'ü,

derece 3: hepatik parenkimin > %66 steatoz varlığı

İnflamasyonun derecelendirilmesi:

derece 0: inflamasyon yok,

derece 1: 1-2 odak,

derece 2: 3-4 odak,

derece 3: 4'ten fazla odak

Balonlaşma dejenerasyonun derecelendirilmesi

derece 0: yok

derece 1: nadir

derece 2: perisinüzoidal

derece 3: yaygın

Hepatik fibrozisin evrelemesi:

evre 0: fibrozis yok;

evre 1: hafif, zon 3, perisinüzoidal;

evre 2: orta, zon 3, perisinüzoidal;

evre 3: portal/periportal;

evre 4: köprüleşen fibrozis

Verilerin analizi SPSS for Windows 11.5 paket programında yapıldı. Sürekli ölçümlü değişkenlerin dağılımının normale yakın olup olmadığı Shapiro Wilk testi ile araştırıldı. Tanımlayıcı istatistikler, sürekli değişkenler için ortalama $\pm$ standart sapma veya ortanca (çeyrekler arası genişlik) olarak, sıralanabilir değişkenler ortanca (minimum-maksimum) biçiminde gösterildi. Gruplar arasında ortalama değerler yönünden farkın önemliliği Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) ve Student's t testi ile, ortanca değerler yönünden farkın önemliliği ise Kruskal Wallis testiyle değerlendirildi. Tek Yönlü Varyans Analizi veya Kruskal Wallis test istatistiği sonucunun önemli bulunması halinde anlamlı farka neden durumları tespit etmek amacıyla post hoc Tukey veya parametrik olmayan çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. Hepatik steatoz ve DHEA düzeylerinin laboratuvar ve klinik ölçümlerle aralarında anlamlı korelasyon olup olmadığı Spearman'ın Korelasyon testiyle araştırıldı. $p < 0.05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi (91).

4. BULGULAR

Çalışmamızda başlangıç vücut ağırlığı açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0.236$). Çalışma süresince YYD'le beslenen gruptaki sıçanların kontrol grubundaki sıçanlara göre daha fazla kilo aldıkları gözlemlendi (Tablo 4.1).

Tablo 4.1 Gruplar İçerisinde İzlem Zamanlarına Göre Ortalama Vücut Ağırlıkları

Vücut ağırlığı(gr)	Kontrol (Ort±SD)	YYD (Ort±SD)	p ^a
Bazal	223.2±10.5	228.7±9.3	0.236
4.hafta	213.3±14.2	239.5±13.5	<0.001
8.hafta	207.3±17.2	257.4±20.8	<0.001
12.hafta	199.5±27.2	274.8±32.3	<0.001

a Student's t testi. $p<0.05$

4.haftanın sonunda vücut ağırlığı açısından gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.001$). 8.haftanın sonunda vücut ağırlığı açısından gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.001$). 12.haftanın sonunda vücut ağırlığı açısından gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.001$), (Tablo 4.1). Bu haftada YYD alan sıçanlarda polidipsi ve polifaji izlendi ve YYD'le beslenen gruptan, kilosu en düşük olan bir sıçan alındı. Sıçanın kan şekeri 180 mg/dl ölçüldü ve karaciğer dokusunda derece 1 hepatik steatoz saptandı. Hepatik steatoz tespit edildikten sonra YYD alan sıçanlar rastgele iki gruba ayrıldı. Sadece YYD alan grup NAYKH grubu kabul edildi. YYD'e ek olarak 3 mg/kg sitagliptin son 4 haftada uygulanan grup sitagliptin grubu kabul edildi.

Çalışma sonunda (16.hafta sonunda) vücut ağırlığı açısından gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.001$). NAYKH ve sitagliptin grubunda, kontrol grubuna göre vücut ağırlığı açısından fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (sırasıyla $p<0.001$; $p=0.005$). NAYKH grubunda sitagliptin grubuna göre vücut ağırlığı açısından fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0.012$), (Tablo 4.2).

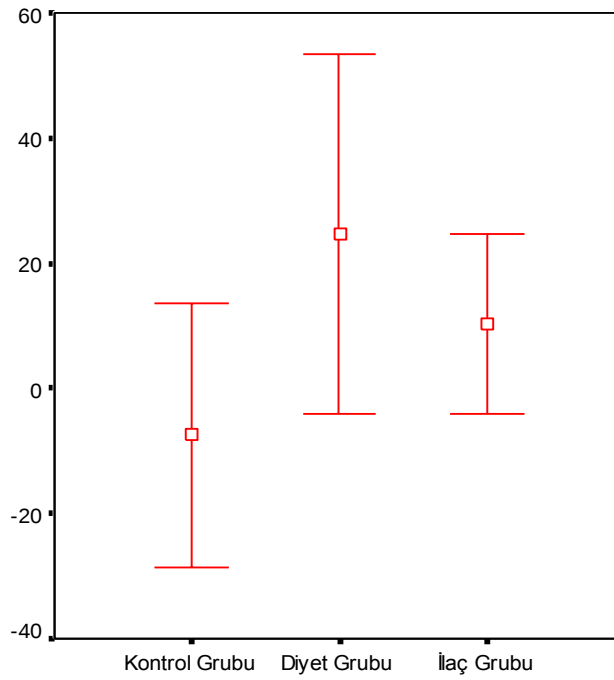
Tablo 4.2 Tedaviye bağlı Vücut Ağırlığı Değişimi, Çalışma Sonunda Karaciğer Ağırlığı ve Vücut Ağırlığı, Vücut Ağırlığı Değişim Yüzdesinin Gruplara göre Karşılaştırılması

Değişkenler	Kontrol Grubu (Ort±SD)	NAYKH Grubu (Ort±SD)	Sitagliptin Grubu (Ort±SD)	p ^a	Çoklu Karşılaştırmalar		
					Kontrol-NAYKH	Kontrol-Sitagliptin	NAYKH-Sitagliptin
16.hafta vücut ağırlığı(gr)	195.3±24.2	291.3±40.7	247.9±17.0	<0.001	p<0.001	p=0.005	p=0.012
Karaciğer Ağırlığı(gr)	6.7±1.11	9.4±1.3	8.2±0.9	<0.001	p<0.001	p=0.043	p=0.068
Tedaviye bağlı vücut ağırlığı Değişimi(gr)	-4.0±3.6	-0.6±7.2	-11.2±10.9	0.044	p=0.745	p=0.250	p=0.040
Çalışma sonunda Vücut Ağırlığı Değişimi(%)	-7.5±10.5	24.7±14.3	10.2±7.2	<0.001	p<0.001	p=0.012	p=0.026

a Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA). $p<0.05$

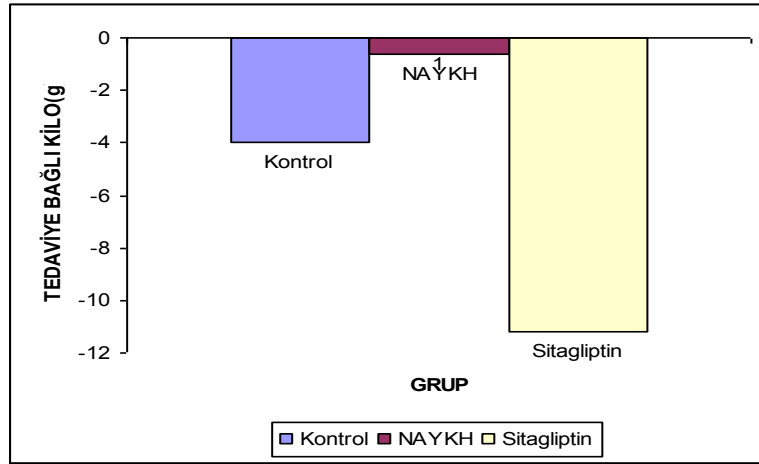
Çalışma sonunda deneklerin vücut ağırlığındaki değişim yüzdesi hesaplandığında NAYKH grubunda % 24.7 ± 14.3 ve sitagliptin grubunda % 10.2 ± 7.2 kilo alımı olmasına karşın; kontrol grubunda % 7.5 ± 10.5 kilo kaybı izlendi. Vücut ağırlığındaki değişim yüzdesi açısından gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.001$). NAYKH ve sitagliptin grubunda vücut ağırlığındaki değişim yüzdesi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu (sırasıyla $p < 0.001$; $p = 0.012$). Sitagliptin grubunda vücut ağırlığındaki değişim yüzdesi NAYKH grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olarak farklı bulundu ($p = 0.026$), (Tablo 4.2), (Şekil 4.1).

Şekil 4.1 Vücut Ağırlığındaki Değişim Yüzdesinin İncelemesi



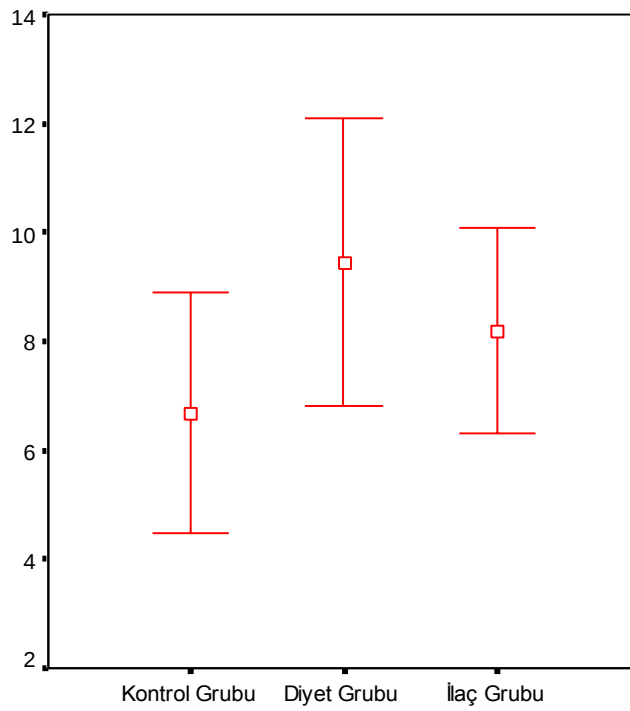
Sitagliptin grubundaki sıçanlara 12.hafta ile 16.hafta arasında sitagliptin tedavisi uygulandı. Sitagliptin tedavisine bağlı vücut ağırlığı değişimi 12.hafta ile 16.hafta arasındaki vücut ağırlığı farkı ile hesaplandı. Sitagliptin grubunda 11.2 ± 10.9 gram kilo kaybı ; tedavi almayan NAYKH ve kontrol grubunda sırasıyla 0.6 ± 7.2 gram ve 4.0 ± 3.6 gram kilo kaybı olduğu izlendi. Sitagliptin tedavisine bağlı vücut ağırlığı değişimi açısından, gruplar arasında fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0.044$). Kontrol grubu NAYKH ve sitagliptin grubuyla karşılaştırıldığında, vücut ağırlığı değişimi açısından fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (sırasıyla $p=0.745$; $p=0.250$). Tedaviye bağlı vücut ağırlığı değişimi açısından, sitagliptin grubunda NAYKH grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0.040$), (Tablo 4.2), (Şekil 4.2).

Şekil 4.2 Sitagliptin Tedavisine Bağlı Vücut Ağırlığı Değişiminin İncelemesi



Karaciğer ağırlığı kontrol grubunda 6.7 ± 1.1 , NAYKH grubunda 9.4 ± 1.3 ve sitagliptin grubunda 8.2 ± 0.9 gram bulundu. Karaciğer ağırlığı açısından gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.001$). Karaciğer ağırlığı NAYKH ve sitagliptin grubunda kontrol grubuna göre, istatistiksel olarak anlamlı olarak fazla bulundu (sırasıyla $p < 0.001$; $p = 0.043$). Karaciğer ağırlığı açısından sitagliptin grubu ile NAYKH grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p = 0.068$), (Tablo 4.2), (Şekil 4.3).

Şekil 4.3 Karaciğer Ağırlığının İncelemesi



Sitagliptin ve NAYKH grubunda histopatolojik değerlendirmede her iki grupta da 1'er tane sıçanda beyin apsesi geliştiği görüldü. Kontrol grubunda komplikasyon izlenmedi.

Biyokimyasal inceleme sonuçları

Deneklerin laboratuvar ölçümlerinin ortalama değerleri ve karşılaştırması Tablo 4.3’de gösterilmiştir.

Tablo 4.3 Laboratuvar Ölçümlerinin Gruplara göre Karşılaştırılması

Değişkenler	Kontrol Grubu (Ort±SD)	NAYKH Grubu (Ort±SD)	Sitagliptin Grubu (Ort±SD)	p ^a	Çoklu Karşılaştırmalar		
					Kontrol-NAYKH	Kontrol-Sitagliptin	NAYKH-Sitagliptin
AKŞ(mg/dl)	95.3±13.5	224.7±20.6	140.8±18.8	<0.001 ^b	p<0.001	p<0.001	p<0.001
İnsülin (µIU/ml)	9.8±2.9	28.0±5.9	15.8±4.4		p<0.001	p<0.001	p<0.001
HOMA-IR	2.2±1.1	15.9±2.3	4.9±1.8	<0.001 ^c	p<0.001	p<0.001	p<0.001
TKolesterol (mg/dl)	57.0±32.0	90.5±7.0	82.0±26.7	0.004 ^c	p<0.001	p<0.001	p<0.001
TG (mg/dl)	122.5±83.2	468.0±370.7	199.0±108.7	0.002 ^c	p<0.001	p<0.001	p<0.001
AST(IU/L)	136.5±83.5	155.0±167.2	116.5±26.7	0.083 ^c	-	-	-
ALT(IU/L)	25.5±12.7	37.0±24.5	31.5±17.5	0.232 ^c	-	-	-
DHEA-S (µg/dL)	3.2±1.1	3.1±0.2	2.5±2.1	0.058 ^c	-	-	-

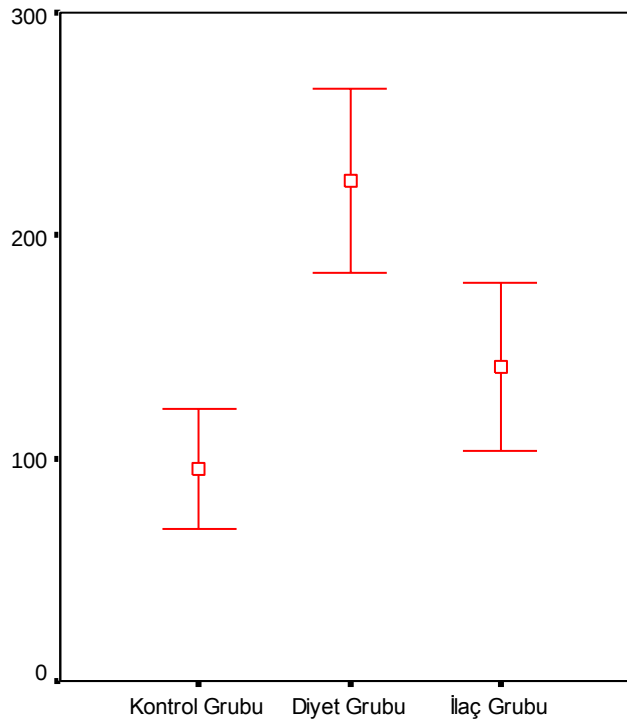
a Varyans analizleri, b Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA), c Kruskal Wallis testi. p<0.001

Glukoz metabolizması ve insülin direncine göre inceleme

Deneklerin ortalama AKŞ düzeyi kontrol grubunda 95.3 ± 13.5 mg/dl (5.2 ± 0.7 mmol/l), NAYKH grubunda 224.7 ± 20.6 mg/dl (12.4 ± 1.1 mmol/l), sitagliptin grubunda 140.8 ± 18.8 mg/dl (7.8 ± 1.2 mmol/l) olarak tespit edildi. Serum AKŞ açısından karşılaştırıldığında tüm gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.001$). Her üç grupta hiç bir sıçanda hipoglisemi görülmedi (Tablo 4.3).

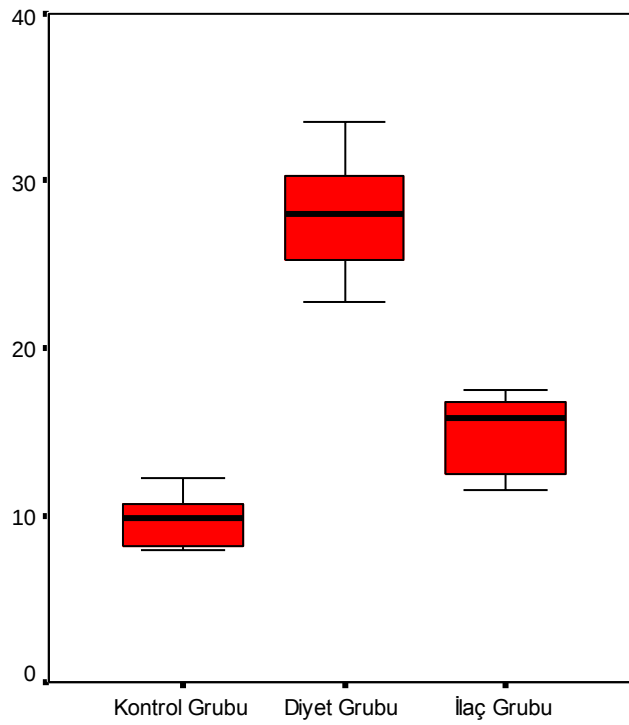
Farklardaki anlamlılığın hangi gruplar arasında olduğunu tespit etmek için yapılan analizde; kontrol ve sitagliptin gruplarında, NAYKH grubuna göre serum AKŞ düzeyi anlamlı olarak daha düşük saptandı (sırasıyla $p < 0.001$; $p < 0.001$). Sitagliptin grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında serum AKŞ düzeyi anlamlı olarak daha yüksek bulundu ($p < 0.001$). NAYKH grubunda sitagliptin grubuna göre AKŞ yüksekliğinin anlamlı ($p < 0.001$) olduğu belirlendi (Şekil 4.4).

Şekil 4.4 Ortalama Serum Açlık Kan Şekeri Değerlerinin Dağılımı



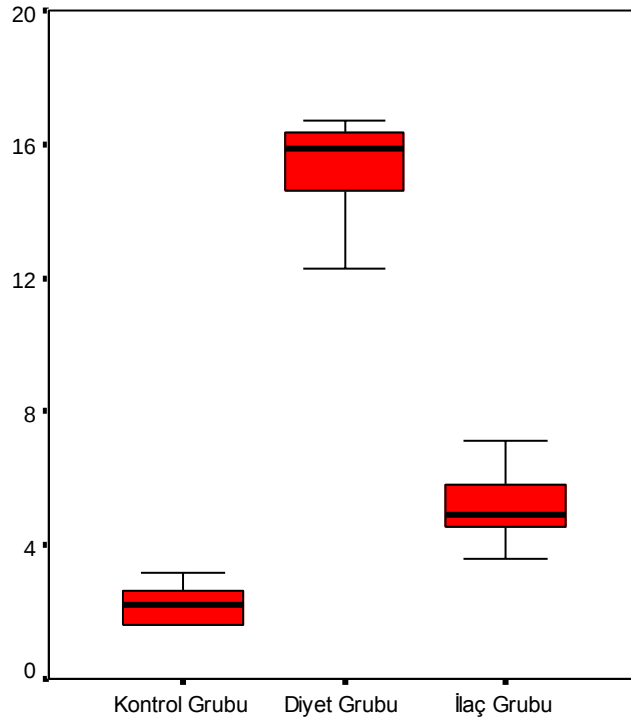
Deneklerin ortalama plazma insülin düzeyi kontrol grubunda 9.8 ± 2.9 $\mu\text{IU/ml}$ (0.41 ± 0.1 ng/ml), NAYKH grubunda 28.0 ± 5.9 $\mu\text{IU/ml}$ (1.2 ± 0.3 ng/ml), sitagliptin grubunda 15.8 ± 4.4 $\mu\text{IU/ml}$ (0.6 ± 0.1 ng/ml) olarak tespit edildi. Plazma insülin düzeyi açısından karşılaştırıldığında tüm gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.001$), (Tablo 4.3). NAYKH grubunda kontrol ve sitagliptin gruplarına göre plazma insülin düzeyi istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptandı ($p < 0.001$). Plazma insülin düzeyi, sitagliptin grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek iken ($p < 0.001$), NAYKH grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu gözlemlendi ($p < 0.001$), (Şekil 4.5).

Şekil 4.5 Ortalama Plazma İnsülin Değerlerinin Dağılımı



HOMA-IR indeksi ile hesaplanan insülin direnci kontrol grubunda 2.2 ± 1.1 , NAYKH grubunda 15.9 ± 2.3 , sitagliptin grubunda 4.9 ± 1.8 olarak tespit edildi. Tüm gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.001$), (Tablo 4.3). NAYKH grubunun insülin direnci kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptandı ($p < 0.001$). İnsülin direnci, sitagliptin grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksekken ($p < 0.001$), NAYKH grubuna göre anlamlı olarak düşük ($p < 0.001$) bulundu (Şekil 4.6).

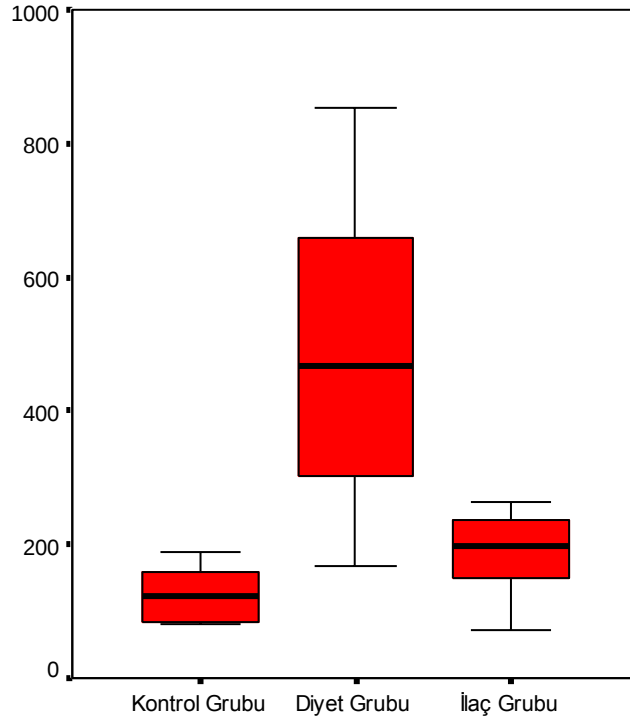
Şekil 4.6 Ortalama HOMA-IR Değerlerinin Dağılımı



Lipid Profiline Göre İnceleme

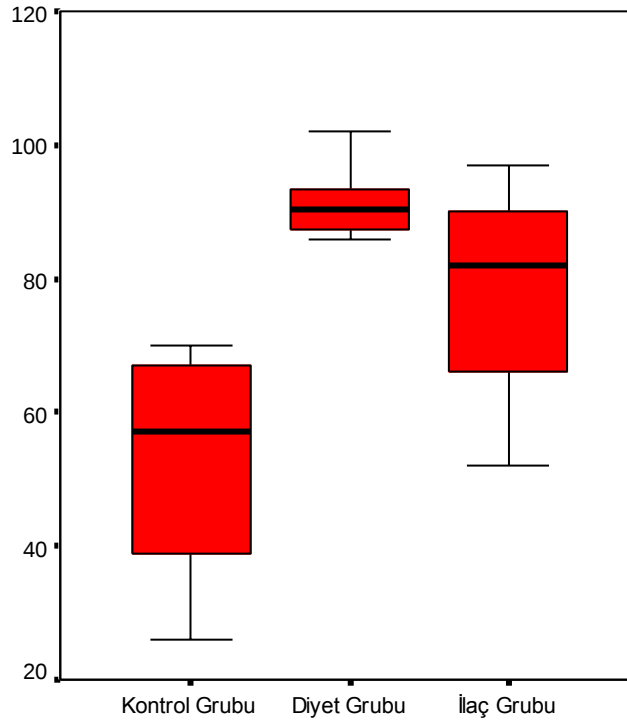
Deneklerin ortalama serum TG düzeyi kontrol grubunda 122.5 ± 83.2 mg/dl (1.3 ± 0.9 mmol/l), NAYKH grubunda 468.0 ± 370.7 mg/dl (5.2 ± 4.2 mmol/l), sitagliptin grubunda 199.0 ± 108.7 mg/dl (2.2 ± 1.2 mmol/l) olarak tespit edildi. Serum TG düzeyi açısından tüm gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p = 0.002$), (Tablo 4.3). Serum TG düzeyi NAYKH grubunda kontrol ve sitagliptin grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptandı ($p < 0.001$). Serum TG düzeyinin sitagliptin grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek ($p < 0.001$), NAYKH grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu ($p < 0.001$) görüldü (Şekil 4.7).

Şekil 4.7 Ortalama Serum Trigliserid Değerlerinin Dağılımı



Deneklerin ortalama serum total kolesterol düzeyleri kontrol grubunda 57.0 ± 32.0 mg/dl (1.5 ± 0.8 mmol/l), NAYKH grubunda 90.5 ± 7.0 mg/dl (2.3 ± 0.1 mmol/l), sitagliptin grubunda 82.0 ± 26.7 mg/dl (2.1 ± 0.6 mmol/l) olarak tespit edildi. Serum total kolesterol düzeyi açısından tüm gruplar karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0.004$), (Tablo 4.3). Serum total kolesterol düzeyi NAYKH grubunda kontrol grubuna göre yüksek saptandı ($p<0.001$). Total kolesterol düzeyi sitagliptin grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0.001$). Total kolesterol düzeyi sitagliptin grubunda NAYKH grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük saptandı ($p<0.001$), (Şekil 4.8).

Şekil 4.8 Ortalama Serum Total Kolesterol Değerlerinin Dağılımı



Karaciğer fonksiyon testlerine göre inceleme

Deneklerin ortalama serum AST düzeyi kontrol grubunda 136.5 ± 83.5 IU/L, NAYKH grubunda 155.0 ± 167.2 IU/L, sitagliptin grubunda 116.5 ± 26.7 IU/L olarak tespit edildi. Ortalama serum AST düzeyi açısından karşılaştırıldığında tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0.083$), (Tablo 4.3). Gruplar arasındaki fark anlamlı olmadığından çoklu karşılaştırma testi kullanılmadı. Ortalama serum AST düzeyi sitagliptin grubunda, kontrol ve NAYKH grubuna göre daha düşük saptanmasına rağmen; gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Deneklerin ortalama serum ALT düzeyi kontrol grubunda 25.5 ± 12.7 IU/L, NAYKH grubunda 37.0 ± 24.5 IU/L, sitagliptin grubunda 31.5 ± 17.5 IU/L olarak tespit edildi. Serum ALT düzeyi açısından karşılaştırıldığında tüm gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0.232$), (Tablo 4.3). Gruplar arasındaki fark anlamlı olmadığından çoklu karşılaştırma testi kullanılmadı. Ortalama serum ALT değeri kontrol grubunda, NAYKH ve sitagliptin grubuna göre daha düşük olmasına rağmen aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Aynı zamanda, sitagliptin grubunda NAYKH grubuna göre ortalama ALT değeri daha düşük bulunmasına karşın gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmadı.

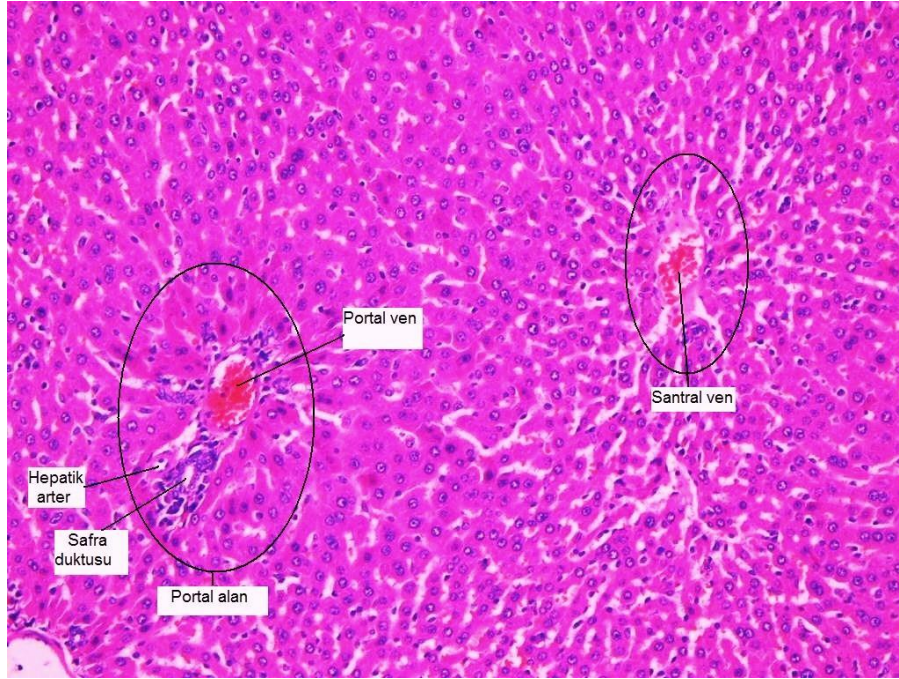
Deneklerin ortalama serum DHEAS düzeyi kontrol grubunda 3.2 ± 1.1 $\mu\text{g/dL}$, NAYKH grubunda 3.1 ± 0.2 $\mu\text{g/dL}$, sitagliptin grubunda 2.5 ± 2.1 $\mu\text{g/dL}$ olarak tespit edildi. Serum DHEAS değeri açısından tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0.058$), (Tablo 4.3). Gruplar arasındaki fark anlamlı olmadığından çoklu karşılaştırma testi kullanılmadı. Ortalama serum DHEAS düzeyi sitagliptin grubunda, kontrol ve NAYKH grubuna göre daha düşük düzeyde olmasına rağmen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gösterilemedi ($p>0.05$). Kontrol grubunda DHEAS değeri, sitagliptin ve NAYKH grubuna göre daha yüksek bulundu ancak gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmadı ($p>0.05$).

DHEAS ölçümleri ile hepatik steatoz derecesi arasında korelasyon analizleri yapıldı. DHEAS ile hepatik steatoz arasında ilişki saptanmadı ($r=0.009$, $p=0.967$). DHEAS düzeyini etkileyebilecek tüm parametreler korelasyon analiziyle incelendiğinde hiçbir parametreyle korele olmadığı görüldü. DHEAS ile serum TG düzeyi ($r=0.069$, $p=0.748$) ve AKŞ düzeyi ($r=-0.026$, $p=0.905$) arasında ilişki saptanmadı. DHEAS ile kilo alma yüzdesi arasında ilişki izlenmedi ($r=0.054$, $p=0.649$). DHEAS ile ALT düzeyi ($r=0.206$, $p=0.217$) ve ALP düzeyi ($r=0.092$, $p=0.668$) arasında ilişki saptanmadı.

Karaciğer histopatolojisine göre inceleme

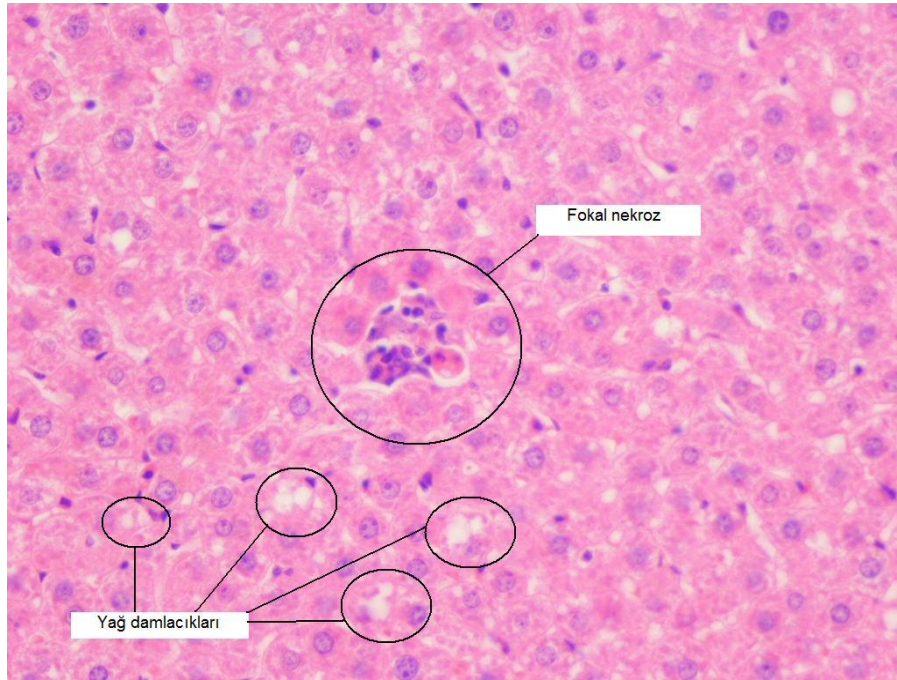
Kontrol, NAYKH ve sitagliptin gruplarındaki sıçanların karaciğer dokusu makroskopik olarak doğal görünümdeydi.

Kontrol grubundaki sıçanların hiçbirinde ‘H&E’ boyasıyla steatoz, balonlaşma dejenerasyonu, inflamasyon ve fibrozis izlenmedi. Kontrol grubundaki sıçanların hiçbirisinde ‘Oil Red O’ boyasıyla yağlanma ve ‘Masson’s Trikrom’ boyasıyla fibrozis izlenmedi. Kontrol grubundaki sıçanların hiçbirinde histopatolojik değişiklik izlenmedi (Resim 1).

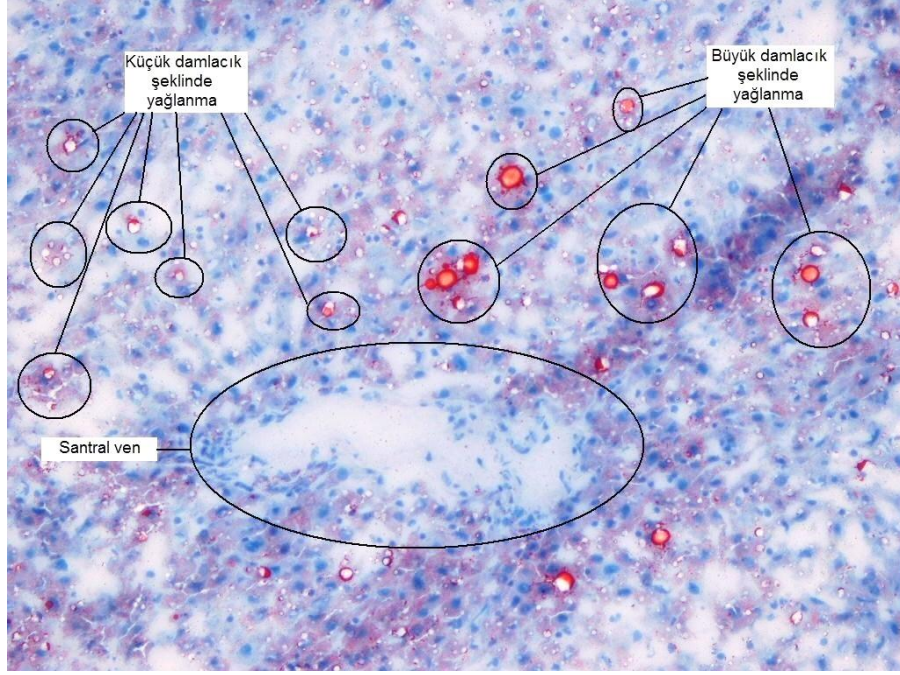


Resim 1. Histopatolojik incelemede normal görünümde hepatositler (Kontrol grubu- H&E x200)

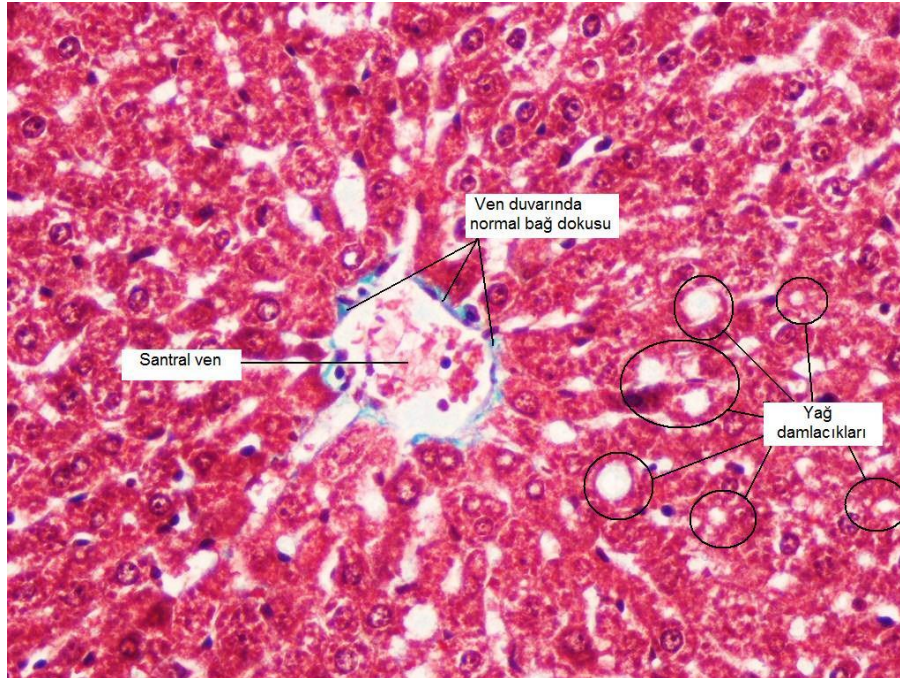
NAYKH grubundaki sıçanların tümünde hepatositlerde mikroveziküler ve makroveziküler yağlanma görüldü. Özellikle santral ven (zon 3) çevresindeki hepatositlerde mikroveziküler, büyük ve küçük damlacıklar şeklinde diffüz-miks tip steatoz izlendi (Resim 2, Resim 3). Sıçanların % 12.5'inde derece 1, % 62.5'inde derece 2, % 25'inde derece 3 hepatik steatoz gelişti. NAYKH grubunda ortalama hepatik steatoz derecesi 2 saptandı. Hepatositlerde perisinüzoidal lobüler alanda inflamasyon (fokal nekroz) izlendi (Resim 2). Sıçanların % 37.5'inde derece 0 ve % 62.5'inde derece 1 hepatik inflamasyon izlendi. NAYKH grubunda ortalama hepatik inflamasyon derecesi 1 saptandı. NAYKH grubundaki sıçanların hiç birisinde balonlaşma dejenerasyonu (Resim 2) ve fibrozis (Resim 2, Resim 4) izlenmedi .



Resim 2. Hepatositlerde lobüler alanda fokal nekroz ve sitoplazmalarında yağ damlacıkları (NAYKH grubu- H&E x400)

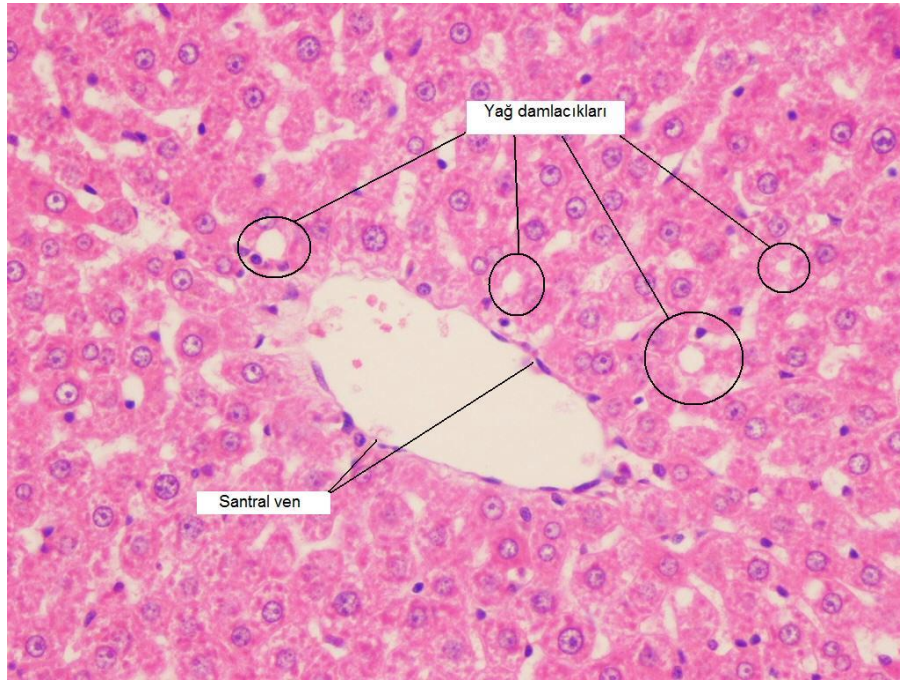


Resim 3. Santral ven çevresindeki hepatositlerde, büyük ve küçük damlacıklar şeklinde yağlanma (NAYKH grubu- Oil Red O x200)

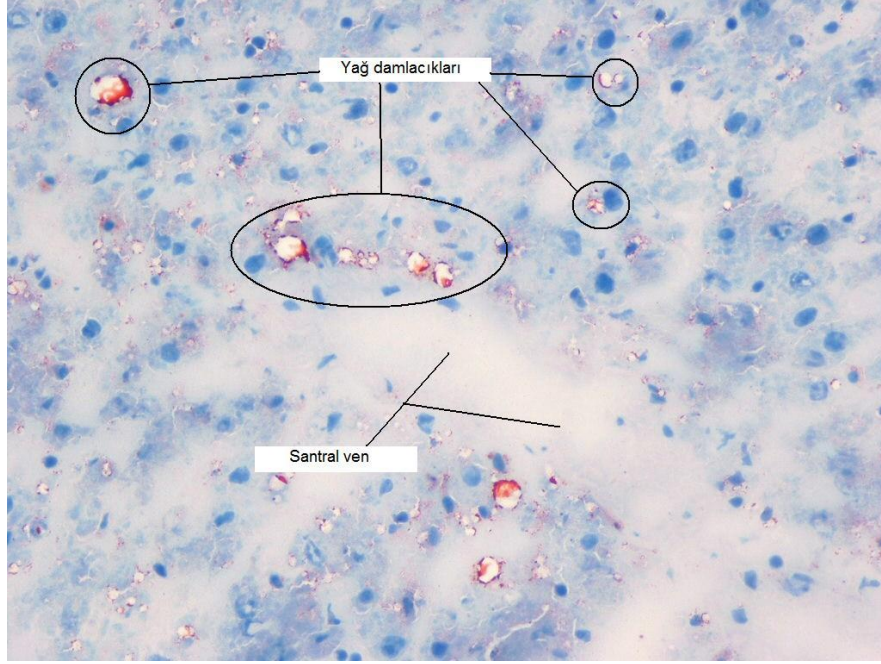


Resim 4. Santral ven duvarında normal bağ dokusu ve çevresindeki hepatositlerde, büyük ve küçük damlacıklar şeklinde yağlanma (NAYKH grubu- Trikrom x400)

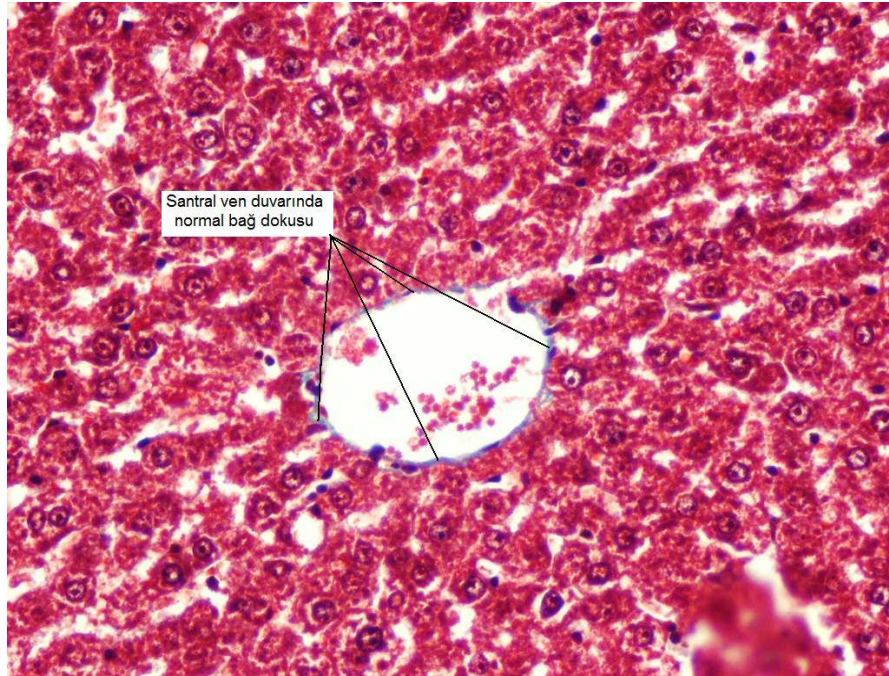
Sitagliptin grubundaki sıçanlarda santral ven çevresindeki (Zon 3) hepatositlerde yağ damlacıkları, mikroveziküler ve makroveziküler yağlanma izlendi (Resim 5, Resim 6). Sıçanların % 80'inde derece 1 ve % 20'sinde derece 2 hepatik steatoz izlendi. Sitagliptin grubunda ortalama hepatik steatoz derecesi 1 saptandı. Perisinüzoidal lobüler alanda derece 1 inflamasyon (fokal nekroz) izlendi (Resim 5). Sıçanların % 60'ında derece 0 ve % 40'ında derece 1 hepatik inflamasyon izlendi. Sitagliptin grubunda ortalama hepatik inflamasyon derecesi 0 saptandı. Sitagliptin grubundaki sıçanların hiç birisinde balonlaşma dejenerasyonu (Resim 5) ve fibrozis (Resim 5, Resim 7) izlenmedi. Histopatolojik olarak sitagliptin grubunda ortalama steatoz skoru NAYKH grubuna göre daha azdı; inflamasyon, balonlaşma dejenerasyonu ve fibroziste değişiklik olmadığı görüldü.



Resim 5. Santral ven çevresindeki hepatositlerde yağ damlacıkları (Sitagliptin grubu- H&E x400)



Resim 6. Santral ven çevresindeki hepatositlerde, büyük ve küçük damlacıklar şeklinde yağlanma (Sitagliptin grubu- Oil Red O x400)



Resim 7. Santral ven duvarında normal bağ dokusu (Sitagliptin grubu -Trikrom x400)

Hepatik steatoz açısından karşılaştırıldığında, tüm gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.001$). Hepatik steatozun NAYKH grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak daha fazla olduğu görüldü ($p<0.001$). Steatoz, sitagliptin grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak fazla ($p<0.001$); NAYKH grubuna göre anlamlı olarak daha az ($p<0.001$) olduğu saptandı (Tablo 4.4).

Hepatik inflamasyon açısından karşılaştırıldığında; tüm gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü ($p=0.057$). Gruplar arasındaki fark anlamlı olmadığından çoklu karşılaştırma testi kullanılmadı. Kontrol, NAYKH ve sitagliptin grubundaki sıçanların hiçbirinde balonlaşma dejenerasyonu ve fibrozis görülmedi (Tablo 4.4).

Tablo 4.4 Gruplara Göre Steatoz, Balonlaşma, İnflamasyon, Fibrozis Skorlarının Karşılaştırılması

Değişkenler	Kontrol Grubu Ortalama	NAYKH Grubu Ortalama	Sitagliptin Grubu Ortalama	p ^a	Çoklu Karşılaştırmalar		
					Kontrol NAYKH	Kontrol-Sitagliptin	NAYKH-Sitagliptin
Steatoz	0	2	1	<0.001	p<0.001	p<0.001	p<0.001
Balonlaşma	0	0	0	1.000	-	-	-
İnflamasyon	0	1	0	0.057	-	-	-
Fibrozis	0	0	0	1.000	-	-	-

a Kruskal Wallis testi $p<0.001$

Korelasyon Analizleri

İlk analizlerde anlamlı farklılıklar gösteren bazı parametreler korelasyon analiziyle yeniden incelendi. Hepatik steatoz üzerine etkili olabilecek tüm faktörler bir arada incelendi (Tablo 4.5).

Tablo 4.5. Steatoz ile Laboratuvar ve Klinik Ölçümler Arasındaki Korelasyon Katsayıları ve Önemlilik Düzeyleri

Değişkenler	Steatoz	
	r	p
AKŞ (mg/dl)	0.833	<0.001
İnsülin(μIU/ml)	0.833	<0.001
HOMA-IR	0.843	<0.001
Total kolesterol(mg/dl)	0.623	<0.001
TG(mg/dl)	0.599	0.002
AST(IU/L)	0.310	0.140
ALT(IU/L)	0.403	0.051
DHEAS(μg/dL)	0.009	0.967
Karaciğer ağırlığı (gr)	0.662	<0.001
Vücut Ağırlığı Değişimi(%)	0.744	<0.001
Çalışma sonunda ağırlık(gr)	0.727	<0.001

Hepatik steatoz ile metabolik parametreler arasındaki ilişki incelendiğinde AKŞ ($r=0.833$, $p<0.001$), insülin düzeyi ($r=0.833$, $p<0.001$), HOMA-IR ($r=0.843$, $p<0.001$), total kolesterol düzeyi ($r=0.623$, $p<0.001$), TG düzeyi ($r=0.599$, $p=0.002$) arasında anlamlı pozitif ilişki saptandı. AKŞ, insülin, HOMA-IR, total kolesterol, TG düzeyleri artıkça steatoz derecesinde anlamlı bir şekilde artma olduğu görüldü. Steatoz ile diğer metabolik parametreler (serum AST, ALT, DHEAS) arasında anlamlı ilişki saptanmadı ($p>0.05$), (Tablo 4.5). Hepatik steatoz ile karaciğer ağırlığı ($r=0.662$, $p<0.001$), vücut ağırlığındaki değişim ($r=0.744$, $p<0.001$) ve çalışma sonunda ağırlık ($r=0.727$, $p<0.001$) arasında anlamlı pozitif ilişki saptandı. Vücut ağırlığında değişim ve tedavi sonu ağırlık artıkça steatoz derecesinde anlamlı bir şekilde artma olduğu görüldü (Tablo 4.5).

5. TARTIŞMA ve SONUÇLAR

Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı ülkemizde ve dünyada karaciğer enzim yüksekliği yapan hastalıklar arasında en sık sebebi oluşturmaktadır (1,3,4). Metabolik sendromun bileşenleri olan santral obezite, tip 2 DM, insülin direnci ve hiperlipidemi NAYKH'na eşlik ettiği bilinen hastalıklardır (4,5,17). Erişkinde obezite ve DM sıklığında artış olması nedeniyle NAYKH insidansı da giderek artmaktadır (2,3,43). Son yıllarda NAYKH, metabolik sendromun hepatik komponenti olarak kabul edilmektedir (3,18).

Metabolik sendromda önemi bilinen insülin direncinin NAYKH patogenezinde de çok önemli bir role sahip olduğu düşünülmektedir (2,5). Metabolik sendrom ile NAYKH arasındaki ilişkinin moleküler temeli tam olarak açıklanamamıştır (18). Bugün için kabul edilen görüş, NAYKH'da periferik insülin rezistansı sonucu karaciğere gelen serbest yağ asidi miktarının artmasıdır (5,18,35). İnsülin sinyalinde (yağ dokusunun serum glukozundaki değişimlere cevap verme kapasitesi) ve yağ metabolizmasında olan değişiklikler steatozu tetiklemektedir. Hiperinsülinemi, adipoz dokuda lipolizi artırarak karaciğere serbest yağ asidi transferini artırmakta ve beta oksidasyonu azaltmaktadır (2,4,17). Artan serbest yağ asitleri ve insülin karaciğerde yağlanmaya sebep olmakta ve 'çift vuruş' teorisindeki 'ilk vuruş' olarak adlandırılmaktadır (4,17,40). 'İkinci vuruş' faktörleri olan lipid peroksidasyon ürünleri ve oksidatif stres, nekroinflamatuvar aktiviteye ve steatohepatite neden olmaktadır (4,17,23,40).

NAYKH tanısında karaciğer biyopsisi altın standart yöntem olmasına karşın uygulama zorluğu nedeniyle; ilerlemiş fibrozisi değerlendirmek için noninvaziv yöntemler çalışılmaktadır (2,9,43). Günümüzde noninvaziv yöntemle hepatik fibrozis derecesini saptamak için çalışmaları devam eden biyomarkerlar serum CK-18 ve DHEA-S'dır (9). Wieckowska A ve ark. (103) plazma CK-18 düzeyi ile NASH arasında pozitif ilişki olduğunu göstermiştir. Charlton M ve ark. (45)'nin gözlemsel çalışmasında; Addison hastalarında serum DHEA-S düzeyinin hepatik fibrozis derecesi ile ters ilişkili olduğu gösterilmiştir. DHEA-S, NASH'ta fibrozis gelişimiyle

ilgili olan prokollajen Tip 1'i düzenlediğinden, ilerlemiş NASH gelişimine DHEA-S eksikliğinin neden olabileceği düşünülmüştür. Ancak oluşan karaciğer hasarının temel mekanizması halen bilinmemektedir (44,45). Yapılan çalışmalarda DHEA-S'ın obezite ve lipidler üzerinde olumlu etkisinin olduğu ve bu etkiyi, glukoz-6 fosfat dehidrogenazı inhibe ederek gösterdiği düşünülmektedir (44). Bizim çalışmamızda serum DHEA-S düzeyi ile steatoz, metabolik parametreler (serum TG ve AKŞ düzeyi) ve kilo alımı arasında ilişki saptamadık. DHEA-S ile steatohepatit ve insülin direnci arasındaki ilişkiyi gösterecek daha fazla klinik çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünüyoruz. Günümüzde noninvaziv testlerden hiç birisi ilerlemiş fibrozisi tanımlamak için yeterli duyarlılık ve özgüllükte olmadığından karaciğer biyopsi yerine kullanımı uygun değildir (9). Bugün için tek biyokimyasal tetkikle, güvenilir şekilde hepatik fibrozis derecesini tahmin etmeyi düşünmek çok iyimser bir yaklaşım olur. Bu nedenle noninvaziv biyomarker ve modeller eşliğinde, hepatik steatoz derecesini ve fibrozisin evresini belirlemek için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Xu ZJ ve ark. (89) yaptıkları hayvan çalışmasında yüksek yağlı-yüksek kalorili katı diyet ile insülin direnci, obezite ve NAYKH geliştirmiş ve böylece genetik olmayan NAYKH modeli oluşturmuşlardır. Bizim çalışmamızda da yüksek yağlı-yüksek kalorili katı diyet; metabolik sendromun komponentleri olan dislipidemi, obezite, insülin direnci gelişimi ve NAYKH oluşumuna neden oldu. Çalışmamızda yağlı diyet alan sıçanlar kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak daha fazla kilo aldılar. Yağlı diyet alan sıçanların kan şekeri düzeylerini, kolesterol ve trigliserid düzeylerini kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulduk. Bunlara ek olarak, serum insülin düzeyleri ve insülin direncinin göstergesi olduğu bilinen HOMA-IR indeksi istatistiksel olarak anlamlı şekilde kontrol grubuna göre yüksek bulduk. Ayrıca karaciğerin histopatolojik incelenmesinde de yağlı diyet alan sıçanlarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak belirgin şekilde hepatosteatoz geliştiğini gözlemledik. Çalışmamızdaki patolojik değişikliklerin özellikle zon 3'te daha sık olması; insandaki NAYKH gelişimine benzediğinden (18,33), çalışmamızdaki NAYKH modelinin ileride yapılacak çalışmalarda uygun hayvan modeli olarak kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

NAKYH'da tedavinin amacı; periferik ve hepatik insülin direncini düzenleyerek hepatik steatoz ve hepatoselüler hasarı geri döndürmek ve böylece

karaciğer yetmezliğine ilerlemeyi engellemektir (4). Diyet ve egzersiz ile histolojik düzelme arasındaki ilişkiyi gösteren kanıtlar yeterli olmamasına rağmen, günümüzde NAYKH'nın tedavisinde ilk basamak olarak diyet ve egzersiz ile kilo kaybı kabul edilmektedir (4,9,40,43). Diyet ve egzersizden oluşan yaşam tarzı değişikliği sonrası karaciğer fonksiyon testlerinde, hatta steatozda düzelme gösterilmiştir (4,9,40,43). NAYKH'da insülin direncinin rolü anlaşıldığından itibaren, insülin duyarlaştırıcı tedaviler NAYKH'nın tedavisinde yoğun olarak araştırılmaya başlanmıştır (4,9,17,40). Bu durum NAYKH'nın tedavisinde metformin, tiazolidinedion gibi insülin duyarlaştırıcı ilaçlarla çalışmaların yapılmasına neden olmuştur (4,9,40,43). Nair S ve ark. (48) diyabeti olmayan steatohepatitli hastalarda metforminin ALT düzeyinde geçici düzelme yaptığı; steatoz ve inflamasyonu iyileştirdiğini göstermişlerdir. Bugianesi E ve ark. (49) vitamin E veya diyetle göre; metformin tedavisiyle karaciğer enzimlerinde ve hepatik steatoz, inflamasyon, fibrozisde düzelmenin daha belirgin olduğunu göstermişlerdir. Neuschwander-Tetri BA ve ark. (50) rosiglitazonun insülin duyarlılığı, ALT düzeyi ve hepatik steatoz ve inflamasyonu iyileştirdiği; ancak fibrozis üzerine etkisinin olmadığını göstermişlerdir. Belfort R ve ark. (51) pioglitazonun insülin duyarlılığı, ALT düzeyi, hepatik steatoz, inflamasyonu iyileştirdiği; ancak fibrozis üzerine etkisinin olmadığını göstermişlerdir.

DPP-IV inhibitörleri veya 'gliptinler' GLP-1 ve GİP gibi inkretin hormonlarının inaktivasyonunu engelleyerek; diyabette azalmış olan GLP-1 hormon konsantrasyonunu artırıcı etki gösterir (57,63,70). DPP-IV inhibe olunca aktif inkretin düzeyi artar ve böylece insülin sentez ve sekresyonu artarken, α -hücrelerinden glukagon salınımı azalır (57,63,64). DPP-IV inhibitörleri tip 2 DM olan hastalarda glukagon ve insülin salınımını düzenleyen yeni antidiyabetik ilaçlardır (60,63,65). Deneysel hayvan çalışmalarında DPP-IV inhibitörlerinin glukoz toleransını ve β -hücre fonksiyonunu düzenlediği gösterilmiştir (86,88). NAYKH'da DPP-IV aktivitesinin arttığı ve bunun histopatolojik steatoz derecesi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (86). NASH hastalarında serum DPP-IV düzeyini araştıran ilk çalışma Balaban YH ve ark. (86) tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada NASH ve hepatik steatozun histopatolojik derecesi ile serum DPP-IV aktivitesi ve karaciğerde CD-26'nın immunhistokimyasal boyasının ilişkili olduğu gösterilmiştir. NASH patogeneğinde DPP-IV'ün bir çok fonksiyonu olabileceği düşünülmüştür (86). DPP-IV/CD-26, T-hücre kostimulatörü

olduğundan immün sistemde önemli rolü vardır. Antijenik uyaranlar T-hücresi, B-hücresi, NK-hücresinde CD-26 ekspresyonunu uyarır (59,62,75). CD-26, Th1 ve proinflamatuvar sitokin üretimi için T hücre aktivasyonunu artırır (86). Karaciğerde steatozu belirleyen insülin direnci üzerine DPP-IV'ün etkili olabilebileceği düşünülmüştür. Ayrıca, DPP-IV'ün hepatik inflamasyonu başlatan proinflamatuvar Th1'e karşı immün yanıt gösterebileceği vurgulanmıştır. Buna ek olarak, DPP-IV'ün immün sistem hücreleri ve hepatositlerin ekstraselüler matriks proteinleri aracılığıyla karaciğerde fibrogenezi kontrol edebileceği düşünülmüştür (86). Biz de bu bilgiler ışığında, DPP-IV inhibitörlerinin NAYKH'da ilerlemeyi yavaşlatıcı yeni tedavi yaklaşımı olabileceğini düşündük. DPP-IV inhibitörlerinin karaciğer steatozunda çok önemli rol oynayan insülin direncini azaltarak hepatik yağ infiltrasyonunu azaltabileceği, hepatik inflamasyonu başlatan immün yanıtı düzenleyerek tedavide etkili olabileceği hipotezi ile çalışmamızı planladık. Sitagliptin, oral DPP-IV inhibitörü olan, inkretin hormonlarının inaktivasyonunu engelleyen ilaçtır (7,62,86,70). Çalışmamızda yağlı diyet alan sıçanlarla karşılaştırıldığında sitagliptin alan sıçanlarda hepatik steatozun anlamlı olarak daha az olduğunu saptadık. Bizim çalışmamızın, bildiğimiz kadarı ile, literatürde sitagliptinin hepatik steatozun erken aşamasındaki etkinliğini gösteren ilk çalışmalardan olduğunu düşünüyoruz.

DPP-IV, sadece peptit yıkımında değil, hücre adhezyonu ve immünomodulasyonda da etkilidir (57,59,62,63). DPP-IV, lenfosit hücre yüzey CD-26 olarak bilinen ubikutin enzim kompleksidir (57,59). CD-26; DPP-IV ile aynıdır ve immün sistemde hücrel aktivasyonun genel belirteci olarak kabul edilmektedir (86). Serum DPP-IV düzeyindeki değişikliğin otoimmün hastalıklar, enfeksiyon, kanser, depresyon ve karaciğer hastalıklarıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir (86,92). Sirozda, hepatik kolestazda, primer biliyer sirozda, toksik veya alkolik hepatitte ve kronik hepatit C'de serum DPP-IV aktivitesinde artış olduğu çalışmalarda gösterilmiştir (104,105,106). Kürktschiev D ve ark. primer biliyer sirozlu hastalarda CD-26 pozitif lenfosit yüzdesini, kontrol grubuna göre daha düşük saptamış ve ursodeoksikolik asid tedavisiyle immunomodülasyondan sonra CD-26 lenfosit sayısının normale geldiğini göstermiştir (93). Matsumoto Y ve ark. (94) sirozda CD-26 ekspresyonun bozulduğu ve tüm hepatositlerin CD-26 pozitif olduğunu göstermişlerdir (94). DPP-IV ekspresyonundaki değişimin ekstraselüler matriks protein ile hepatik parenkim

ilişkinin değiştiğini ve hepatosit yapısını bozarak siroz gelişimine neden olabileceğini düşündürmektedir (86).

NAYKH ile insülin direnci ilişkili olduğundan, insülin duyarlılığının düzenlenmesi NAYKH tedavisinde gerekmektedir (4,9,17,40). Lamont BJ ve ark. (95)'nın yüksek yağlı diyetle beslenen farelerle yapılan çalışmasında, sitagliptin ve eksenatidin insülin direncini iyileştirdiği ve β -hücre fonksiyonunu belirgin düzelttiği gösterilmiştir. Mu J ve ark. (67) yüksek yağlı diyet ve düşük doz streptozotosinle oluşturduğu diyabetik hayvan modelinde; sitagliptinin β -hücre kitlesini artırdığı ve böylece açlık-tokluk kan şekeri, serum trigliserid ve serbest yağ asidi düzeyini iyileştirdiği gösterilmiştir. Matveyenko AV ve ark. (96) diyabetik transgenetik sıçan modelinde, sitagliptin/metforminin sinerjik etkisinin β -hücre kitlesini koruduğu ve insülin duyarlılığını artırdığını göstermiştir. Bizim çalışmamızda AKŞ düzeyi ve HOMA-IR indeksi, sitagliptin grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksekken, NAYKH grubuna göre anlamlı olarak düşük saptadık. Çalışmamızda; literatürdeki deneysel çalışmalar ile uyumlu olarak; sitagliptinin serum açlık kan şekeri, plazma insülin düzeyini ve HOMA-IR indeksini düşürdüğü ve böylece insülin direncini azalttığını gösterdik. Ayrıca hiçbir sıçanda hipoglisemi görülmedi.

Obezite NAYKH gelişiminde bağımsız bir risk faktörü (2,3,5,40) olduğundan tedavi edilmesi gerekmektedir (4). Bu nedenle; sitagliptinin monoterapi veya metformin gibi ilaçlarla kombinasyon tedavilerinde vücut ağırlığına nötral etki (57,62,70,79,82,84) göstermesi, NAYKH tedavisinde olumlu etkiye neden olabilir. Özellikle kilo alımına neden olmasına karşın, NAYKH tedavisinde olumlu etkisi olan tiazolidinedionlara göre; sitagliptin avantaj sağlayabilir (72). Lamont BJ ve ark. (95)'nin hayvan çalışmasında sitagliptinle kilo alımında anlamlı azalma olduğu gösterilmiştir. Ayrıca sitagliptin kan-beyin bariyerini geçmediğinden GLP-1 agonistlerinden farklı olarak iştah üzerine etkisi olmamaktadır (75,63,98). Bizim çalışmamızda vücut ağırlığı değişimi açısından gruplar karşılaştırıldığında, literatürdeki hayvan çalışmaları ile uyumlu olarak, sitagliptin grubunda NAYKH grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde kilo kaybı saptadık. Ancak çalışmamızda sitagliptinin kilo kaybına neden olması insan çalışmaları ile çelişkilidir. Bu durum hayvan ve insan türleri arasındaki farklılıktan kaynaklanıyor olabileceği gibi bu özelliğini sadece NAYKH olan hayvanlarda gösteriyor olabilir.

NAYKH'nın tedavisinde hiperlipidemi, DM gibi metabolik sendromun diğer bileşenlerinin de tedavi edilmesi gerekmektedir (4). Mu J ve ark. (67)'nin deneysel çalışmasında sitagliptinle dolaşımdaki TG ve serbest yağ asidi miktarında azalma olduğu gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda serum TG ve kolesterol düzeyi, sitagliptin grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek iken, NAYKH grubuna göre anlamlı olarak düşük saptadık. Sitagliptinin serum TG ve total kolesterol düzeyini düşürmesinin hepatik steatozun geriletilmesinde etkili olabileceğini düşünmekteyiz. İnsan çalışmalarında ise, deneysel çalışmaların aksine, lipid profiline sitagliptinin etkisi gösterilememiştir (59,62,63,81,85). Ayrıca vildagliptinle yapılan çalışmalarda serum trigliserid düzeyini düşürdüğü gösterilmiştir (58,100). Zerilli T ve ark. (85) yaptıkları çalışmada metformin ve pioglitazonla sitagliptin kombine edildiğinde lipid düzeylerinde belirgin farklılık bulmamışlar ve sitagliptinin lipid profili üzerine belirgin etkisinin olmadığını önermişlerdir.

Sitagliptinle yapılan deneysel çalışmalarla insan çalışmaları arasında çelişkiler vardır. İnsandaki metabolik parametrelere etkisinin hayvan çalışmalarından farklı olması, türler arası farklılıktan kaynaklanıyor olabilir. Plasebo-kontrollü kapsamlı çalışmalarla sitagliptinin metabolik parametrelere olan etkisi daha iyi irdelenmelidir. DPP-IV inhibitörlerinin lipid profili, kan basıncı, inflamasyon belirteçlerine etkisiyle ilgili yeni çalışmalar yapılmalıdır. Böylece gelecekte vücut ağırlığı, iştaha olan etkileriyle ilgili yeterli verilere ulaşılmış olacaktır.

Mu J ve ark. (67)'nin deneysel çalışmasında sitagliptin tedavisiyle karaciğer ağırlığında ve hepatik trigliserid içeriğinde azalma olduğu gösterilmiştir. Obez *ob/ob* fare ile yapılan çalışmada metforminin hepatomegali, biyokimyasal parametreler ve hepatik histolojide iyileşme sağladığı gösterilmiştir (46). Bizim çalışmamızda karaciğer ağırlığı açısından sitagliptin grubu ile NAYKH grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptamadık. Ortalama serum AST ve ALT düzeyi açısından karşılaştırıldığında tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulamasak da AST ve ALT düzeyleri NAYKH grubunda kontrol grubuna göre yüksekti. Ayrıca sitagliptin grubunda NAYKH grubuna göre düzeylerde azalma vardı. Bu değerlerin daha fazla denek sayısı içeren çalışmalarda anlamlı sonuçlar verebileceğini düşünmekteyiz. Bizim çalışmamızda hepatik steatozda sitagliptinin hepatomegali üzerine etkili olmadığını gördük. Ancak, biz sitagliptini sadece 4 hafta verdik, bu süre

karaciğer ağırlığını ve transaminaz düzeyini değerlendirmek için yeterli olmayabilir. Steatohepatitli veya obez hastalarda, NAYKH tedavisinde sitagliptin kullanımıyla ilgili fazla veri olmadığından; steatoz, hepatomegali, obezite ve hepatik fonksiyonlar üzerine net etkisi bilinmemektedir. Steatohepatitli veya obez hastalarda yapılacak plasebo-kontrollü klinik çalışmalarla sitagliptinin etkisi daha iyi anlaşılabilceğini düşünmekteyiz.

NASH tedavisinde, diğer insülin duyarlaştırıcı ajanların etkinliğiyle ilgili klinik çalışmalar devam etmektedir. Günümüzde en çok çalışılan ajan eksenatiddir. Eksenatid GLP-1 reseptör agonistidir ve pankreatik β hücresinden insülin salımını uyarır. Gedulin BR ve ark. (98) kemirgenlerle yapılan çalışmada; eksenatidin in-vivo kilo kaybı, yiyecek alımının engellemesi, gastrik boşalmayı inhibe etmek gibi etkilerinin sitagliptine göre daha belirgin olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca eksenatidin glukoz metabolizmasına etkinliğinin sitagliptinden daha fazla olduğu gösterilmiştir (57,62,99). Eksenatidin kilo kaybına neden olarak indirekt insülin duyarlaştırıcı etki gösterdiği belirtilmiştir (4). Ding X ve ark. (71) eksenatidin *ob/ob* farede kilo alımında azalma, insülin direncinde düzelme ve hepatik steatozda iyileşme yaptığını göstermişlerdir. Deneysel çalışmalarda GLP-1'in hepatosit yağ metabolizması üzerine direk etkili olabileceği düşünülmektedir (4,71,72). Tushuizen ME ve ark. (73) kötü kontrollü diyabeti olan hastada metformin tedavisine eksenatid eklediklerinde hepatik yağ yüzdesinde azalma ve ALT düzeyinde düzelme olduğunu bildirmişlerdir. Bu olumlu etkinin metabolik parametrelerde düzelmenin yanı sıra eksenatidin karaciğerde GLP-1 reseptörü gibi davranmasıyla direk ilgili olabileceği düşünülmüştür (73). Klonoff DC ve ark. (102) çalışmasında Tip 2 DM'li hastalarda eksenatid tedavisinin, kilo kaybı ve lipid profiline olumlu etkisinin olduğu, glisemik kontrolü sağladığını göstermiştir. Ayrıca kardiyovasküler risk faktörlerine olumlu etkisinin olabileceği belirtilmiştir (102). GLP-1'in hepatositte denovo lipogenezi bozması ve yağ asiti beta oksidasyonunu hızlandırarak direk lipid düşürücü etki göstermesi nedeniyle NAYKH tedavisinde temel unsur olabileceği düşünülmektedir (4,72). Bu parametrelere olumlu etkiler de hepatik steatoz tedavisinde katkı sağlayabilir. Ancak bu etkilerin randomize kontrollü klinik çalışmalarla daha iyi değerlendirilmesi gerekmektedir. Ayrıca; DPP-IV inhibitörleri GLP-1'in yarı ömrünü uzatır ve GLP-1 reseptör agonistlerine benzer etki gösterir (62,63,66). DPP-IV inhibitörleri GLP-1'in etkisini artırdığından, hepatik

steatoz ve inflamasyonu GLP-1'in yararlı etkisi sayesinde iyileştirebileceği düşünülmektedir (72). Ancak bu varsayım DPP-IV inhibitörlerinin eşliğinde, GLP-1'in hepatositte denovo lipogenez üzerine etkisini gösteren çalışmalarla doğrulanabilir.

Bizim çalışmamızda sitagliptinin hepatik steatoz derecesini anlamlı olarak gerilettiğini gösterdik. Ayrıca çalışmamızda sitagliptinin hepatik inflamasyonu azalttığı ancak bu durumun istatistiksel olarak anlamlı olmadığını gördük. Bizim çalışmamızda sıçanların hiçbirinde balonlaşma dejenerasyonu ve fibrozis oluşmadığından sitagliptinin bu parametrelere etkisini değerlendiremedik. İleride inflamasyon, balonlaşma dejenerasyonu ve fibrozisin mevcut olduğu daha ileri düzeydeki steatohepatit durumlarında sitagliptinin etkisi araştırılmalıdır. Literatürde sitagliptinin hepatik fonksiyonlar ve histoloji üzerine etkisiyle ilgili çalışma olmadığından, hepatik steatoz üzerindeki olumlu sonuçlarını diğer çalışmalarla karşılaştıramadık. Çalışmamızda hepatik steatoz üzerine sitagliptinin olumlu etkisinin metabolik parametreleri iyileştirmesi veya indirek GLP-1 aktivitesini artırmasına bağlı olup olmadığı bilinmemektedir. Geniş kitlelerle yapılacak kapsamlı klinik çalışmalarla sitagliptinin hepatik fonksiyonlar üzerine etkisi daha iyi anlaşılacaktır. Sitagliptin/metformin kombinasyon tedavisinde hipoglisemi riskinin az olması ve dislipidemi üzerine olumlu etki göstermesi (82), ayrıca her ikisinin de GLP-1 düzeyini artırması (83) nedeniyle NAYKH tedavisinde ileride sitagliptin/metformin kombinasyon tedavisi kullanılabilir. NAYKH tedavisinde sitagliptin/metformin kombinasyon tedavisi ile ilgili çalışmalar yapılmalıdır.

Sitagliptin GLP substratına spesifiktir; ancak immünite veya hormonlarla ilgili başka DPP-IV substratları üzerinde de herhangi bir etkisi var mı halen bilinmemektedir (7,59). Sitagliptin kullanımına bağlı olarak nazofarenjit, idrar yolu ve solunum yolu enfeksiyonu riskinin artabileceği bilinmektedir (7,59,62,63). Çalışmamızda sitagliptin ve NAYKH grubunda histopatolojik değerlendirmeye her iki grupta da 1'er tane sıçanda beyin apsesi geliştiğini gördük. Gruplar arasında komplikasyon gelişen denek sayısı az olduğundan, tedaviye bağlı yan etki gelişimini değerlendiremedik. Buna ek olarak, literatürde diyabetli hastalarda klebsiella enfeksiyonuna bağlı ciddi beyin apsesi geliştiği bilinmektedir (37). Çalışmamızda beyin apsесinin diyabetin kendi komplikasyonuna mı yoksa sitagliptinin yan etkisine mi bağlı olduğu bilinmemektedir. Sitagliptin yan etkiler ve immünfonksiyonlar

üzerine etkisi ile ilgili günümüzde kapsamlı klinik çalışmalara ihtiyaç vardır. Sitagliptinle ilgili mortalite, diyabet komplikasyonu, maliyet, yaşam kalitesi üzerine yeterli çalışma yapılarak; uzun dönem etkinliği ve güvenilirliği bilinmelidir.

Sonuç olarak; çalışmamızda yüksek yağlı diyetle metabolik sendrom ve genetik olmayan NAYKH modeli oluşturduğumuz sıçanlarda, sitagliptinin insülin direncini azalttığını, lipid profiline olumlu etki gösterdiğini ve hepatik steatozda düzelmeye neden olduğunu gösterdik. Sitagliptinin hepatik steatozdaki bu olumlu etkisi nedeniyle, NAYKH tedavisinde yeni bir yaklaşım olarak daha fazla araştırmalar yapılması ve iyi sonuçlar alınırse tedavide uygulanmaya konulması gerektiğini düşünmekteyiz. DPP-IV inhibitörleri hipoglisemi riski olmayan ilaçlar olduğundan, çalışmamızın verilerine göre, diyabetik olmayan hastalarda bile NAYKH'nın tedavisinde kullanılabileceğini düşünmekteyiz. DPP-IV inhibitörlerinin geniş hasta sayısı içeren, biyopsi ile NAYKH doğrulanmış, randomize-kontrollü insan çalışmalarıyla hepatosteatoz üzerine etkisi araştırılmalıdır.

6. KAYNAKLAR

- 1- Yalçın S. Karaciğer Hastalıkları ve Hepatosteatoz. 'İç Hastalıkları' Büyüköztürk K (Editör)- 1993; 1.cilt, 811- 848, Nobel Yayıncılık, İstanbul.
- 2- Pachos P, Paletas K. Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Metabolic Syndrome. Hippokratia 2009; 13:9-19.
- 3- Ruhl CE, Everhart JE. Epidemiology of Nonalcoholic Fatty Liver. Clin Liver Dis 2004; 8: 501-519.
- 4- Stein LL, Dong MH, Loomba R. Insulin Sensitizers in Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Steatohepatitis: Current Status. Adv Ther 2009; 26: 893-907.
- 5- Neuschwander- Tetri BA, Caldwell SH. Nonalcoholic Steatohepatitis: Summary of an AASLD Single Topic Conference. Hepatology 2003; 37: 1202-1219.
- 6- A. Çorakçı. Yeni Geliştirilen İlaçlar. 'Diabetes Mellitus Multidisipliner Yaklaşımla Tanı, Tedavi ve İzlem' İmamoğlu Ş (Editör)- 2009; 3. baskı: 160-167, Deomed Yayınevi, İstanbul.
- 7- Versopohl EJ. Novel Therapeutics for Type 2 Diabetes: Incretin Hormone Mimetics (Glucagon-like Peptide-1 Receptor Agonists) and Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitors. Pharmacology & Therapeutics 2009; 124: 113-138.
- 8- Drucker DJ, Nauck MA. The Incretin System: Glucagon-like Peptide-1 Receptor Agonist and Dipeptidyl Peptidase- 4 Inhibitors in Type 2 Diabetes. Lancet 2006; 368: 1699-1705.

- 9- Vuppalanchi R, Chalasani N. Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis: Selected Practical Issues in Their Evaluation and Management. *Hepatology* 2009; 49: 306-317.
- 10- Mezey E, Shiff ER, Sorrell MF. *Diseases of the Liver*. Lipincott- Raven 1999; 8.th ed, 185: 1204- 1326, Philelphia.
- 11- Ludwing J, Viggiano TR, McGill DB, Ott BJ. Nonalcoholic Steatohepatitis. *Mayo Clinic Proc* 1980 ; 55: 434-438.
- 12- Browning JD, Szczepaniak LS, Dobbins R, Nuremberg P, Horton JD, Cohen JC, et al. Prevalence of Hepatic Steatosis in Urban Population in the United States: Impact of Ethnicity. *Hepatology* 2004; 40: 1387-1395.
- 13- Falck-Ytter Y, Younossi ZM, Marchesini G, McCullough AJ. Clinical Features and Natural History of Nonalcoholic Steatosis Syndromes. *Semin Liver Dis* 2001; 21: 17-26.
- 14- Chitturi S, Abeygunasekera S, Farrell GC, Holmes-Walker J, Hui JM, Fung C, et al. NASH and Insulin Resistance: Insulin Hypersection and Specific Association with the Insulin Resistance Syndrome. *Hepatology* 2002; 35: 373- 379.
- 15- Clark JM, Brancati FL, Diehl AM. Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology* 2002; 122: 1649-1657.
- 16- Batur Y. Yağlı Karaciğer. ‘Hasta Örnekleriyle Dahili Bilimler’ Yılmaz C (Editör)- 2002; 661-691, İzmir Güven Kitabevi.
- 17- Harrison SA, Maj MC, Kadakia S, Lang KA, Schenker S. Nonalcoholic Steatohepatitis: What We Know in the New Millennium. *AJG* 2002; 97: 2714-2724.

- 18- AGA Technical Review on Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology* 2002; 123: 1705-1725.
- 19- Bugianesi E, Leone N, Vanni E, Marchesini G, Brunella F, Carucci P, et al. Expanding the Natural History of Nonalcoholic Steatohepatitis: From Cryptogenic Cirrhosis to Hepatocellular Carcinoma. *Gastroenterology* 2002; 123: 134-140.
- 20- Garcia- Monzon C, Marti-Perez E, Iacono OL, Fernandez-Bermejo M, Majano PL, Apolinario A, et al. Characterization of Pathogenic and Prognostic Factors of Nonalcoholic Steatohepatitis Associated with Obesity. *J Hepatology* 2000; 33: 716-724.
- 21- Day CP, James OF. Steatohepatitis: A Tale of Two 'Hits' ?. *Gastroenterology* 1998; 114: 842-845.
- 22- Pagano G, Pacini G, Musso G, Gambino R, Mecca F, Depetris N, et al. Nonalcoholic Steatohepatitis, Insulin Resistance, and Metabolic Syndrome: Further Evidence for an Etiologic Association. *Hepatology* 2002; 35: 367-372.
- 23- Pessayre D, Mansouri A, Fromenty B. Nonalcoholic Steatosis and Steatohepatitis V. Mitochondrial Dysfunction in Steatohepatitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002; 282: 193-199.
- 24- Kim JK, Fillmore JJ, Chen Y, Yu C, Moore IK, Pypaert M, et al. Tissue-specific Overexpression of Lipoprotein Lipase Causes Tissue-specific Insulin Resistance. *PNAS* 2001; 98: 7522-7527.
- 25- Schmitz- Peiffer C. Signalling Aspects of Insulin Resistance in Skeletal Muscle: Mechanisms Induced by Lipid Oversupply. *Cellular Signalling* 2000; 12: 583-594.
- 26- Angulo P. Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *N Engl J Med* 2002; 346: 1221-1231.

- 27- Leclercq IA, Farrell GC, Field J, Bell DR, Gonzalez FJ, Robertson GR. Cyp2E1 and Cyp4A as Microsomal Catalysts of Lipid Peroxides in Murine Nonalcoholic Steatohepatitis. *J Clin Invest* 2000; 105: 1067-1075.
- 28- Seki S, Habu Y, Kawamura T, Takedo K, Dobashi H, Ohkawa T, et al. The Liver as Crucial Organ in the First Line of Host Defense: The Role of Kupffer Cells, Natural Killer (NK) Cells and NK1.1 Ag⁺ T Cells in T Helper 1 Immune Responses. *Immunol Reviews* 2000; 174: 35-46.
- 29- Kugelmas M, Hill DB, Vivian B, Marsano L, McClain CJ. Cytokines and NASH: A Pilot Study of the Effects of Lifestyle Modification and Vitamin E. *Hepatology* 2003; 38:413-419.
- 30- Sanyal AJ, Canpbell-Sargent C, Mirshah F, Rizzow B, Contos MJ, Sterling RK, et al. Nonalcoholic Steatohepatitis: Association of Insulin Resistance and Mitochondrial Abnormalities: *Gastroenterology* 2001; 120: 1183-1192.
- 31- Saxena NK, Ikeda K, Rockey DC, Friedman SL, Anania FA. Leptin in Hepatic Fibrosis: Evidence for Increased Collagen Production in Stellate Cells and Lean Littermates of *ob/ob* Mice. *Hepatology* 2002; 35: 762-772
- 32- Paradis V, Perlemuter G, Bonvoust F, Dargere D, Parfait B, Vidaud M. High Glucose and Hyperinsulinemia Stimulate Connective Tissue Growth Factor Expression: A Potential Mechanism Involved in Progression to Fibrosis in Nonalcoholic Steatohepatitis. *Hepatology* 2001; 34: 738-744.
- 33- 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.

- 34- Ratziu V, Bonyhay L, Martino VD, Charlotte F, Cavallaro L, Sayegh-Tainturier MH, et al. Survival, Liver Failure and Hepatocellular Carcinoma in Obesity-Related Cryptogenic Cirrhosis. *Hepatology* 2002; 35: 1485-1493.
- 35- Neuschwander- Tetri BA. Nonalcoholic Steatohepatitis and the Metabolic Syndrome. *Am J Med Sci* 2005; 330: 326-335.
- 36- Hawkins M, Rossetti L. Insulin Resistance and Its Role in the Pathogenesis of the Type 2 Diabetes. 'Joslin's Diabetes Mellitus', Kahn CR, Weir GC (Editor) 2005, 14th Edition; 425-447, Lippincott Williams&Wilkins, Boston.
- 37- Powers AC. Diabetes Mellitus. 'Harrison's Principles of Internal Medicine' Fauci AS, Kasper DL (Editor) 2008, 17th Edition, Volume : 2; 2275-2304, McGraw Hill.
- 38- Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001;285:2486–2497.
- 39- Konrad T, Golling M, Vicini P, Toffolo G, Wittman M, Mahon A, et al. Insulin Sensitivity and β -cell Secretion after Liver Transplantation in Patients with Acute Liver Failure. *Transplant Proc* 2001; 33:2576-2579.
- 40- Lewis JR, Mohanty SR. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Review and Update. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 60-78.
- 41- Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner R. Homeostasis Model Assessment : Insulin Resistance and β -cell Function from Fasting Plasma Glucose and Insulin Concentrations in Man. *Diabetologia* 1985; 28: 412-419.

- 42- Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, Metabolik Sendrom Çalışma Grubu. Metabolik Sendrom Kılavuzu 2009.
- 43- Ali R, Cusi K. New Diagnostic and Treatment Approaches in Non-alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD). *Ann Med* 2009; 41: 265-278.
- 44- Loria P, Carulli L, Bertolotti M, Lonardo A. Endocrine and Liver Interaction: The Role of Endocrine Pathways in NASH. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2009; 6: 236-247.
- 45- Charlton M, Angulo P, Chalasani N, Merriman R, Viker K, Sanderson S, et al. Low Circulating Levels of Dehydroepiandrosterone in Histologically Advanced Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Hepatology* 2008; 47: 484-492.
- 46- Lin HZ, Yang SQ, Chuckaree C, Kuhajda F, Ronnet G, Diehl AM. Metformin Reverses Fatty Liver Disease in Obese, Leptin- deficient Mice. *Nat Med* 2000; 6: 998-1003.
- 47- Marchesini G, Marzocchi R, Agostini F, Bugianesi E. Nonalcoholic Fatty Liver Disease and the Metabolic Syndrome. *Curr Opin Lipidol* 2005; 16: 421-427.
- 48- Nair S, Diehl AM, Wiseman M, Farr GH JR, Perrillo RP. Metformin in the Treatment of Non-alcoholic Steatohepatitis: A Pilot Open Label Trial. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 20: 23-28.
- 49- Bugianesi E, Gentilcore E, Manini R, Natale S, Vanni E, Villanova N, et al. A Randomized Controlled Trial of Metformin versus Vitamin E or Prescriptive Diet in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Am J Gastroenterol* 2005; 100, 1082-1090.
- 50- Neuschwander-Tetri BA, Brunt EM, Wehmeier KR, Oliever D, Bacon BR, et al. Improved Nonalcoholic Steatohepatitis after 48 Weeks of Treatment with the PPAR-gamma ligand Rosiglitazone. *Hepatology* 2003; 4: 1008-1017.

- 51- Belfort R, Harrison SA, Brown K, Darland C, Finch J, Hardies J, et al. A Placebo Controlled Trial of Pioglitazone in Subjects with Nonalcoholic Steatohepatitis. *N Engl J Med* 2006; 355:2297-2307.
- 52- Ratziu V, Charlotte F, Bernhardt C, Giral P, Halbron M, LeNaour G, et al. Long-Term Efficacy of Rosiglitazone in Nonalcoholic Steatohepatitis: Results of the Fatty Liver Improvement by Rosiglitazone Therapy (FLIRT 2) Extension Trial. *Hepatology* 2010; 51: 445-453.
- 53- Sanyal AJ, Mofrad PS, Contos MJ, Sargeant C, Luketic VA, Sterling RK, et al. A Pilot Study of Vitamin E versus Pioglitazone for the Treatment of Nonalcoholic Steatohepatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004;12:1107-1115.
- 54- Gomez-Dominguez E, Gisbert JP, Moreno-Monteagudo JA, Garcia- Buey L, Moreno-Otero R. A Pilot Study of Atorvastatin Treatment in Dyslipidemia, Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 23:1643-1947.
- 55- Fernandez-Miranda C, Perez-Carreras M, Colina F, Lopez-Alonso G, Vargas C, Solis-Herruzo JA. A Pilot Trial of Fenofibrate for the Treatment of Non-alcoholic Fatty Liver Disease. *Dig Liver Dis* 2008; 40: 200-205.
- 56- Başaranoğlu M, Acbay O, Sonsuz A. A Controlled Trial of Gemfibrozil in the Treatment of Patients with Nonalcoholic Steatohepatitis. *J Hepatol* 1999;31:384.
- 57- Bosi E, Lucotti P, Setola E, Monti L, Piatti PM. Incretin-Based Therapies in Type 2 Diabetes: A Review of Clinical Results. *Diabetes Res Clin Pract* 2008; 82:102-107.
- 58- Ahren B. Clinical Results of Treating Type 2 Diabetic Patients with Sitagliptin, Vildagliptin or Saxagliptin-Diabetes Control and Potential Adverse Events. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2009; 23:487-498.

- 59- Richter B, Banderira- Echter E, Bergerhoff K, Christian L. Emerging Role of Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitors in the Management of Type 2 Diabetes. *Cochrane Database Syst Rev* 2008; 4:753-768.
- 60- Kendall DM, Cuddihy RM, Bergenstal RM. Clinical Application of Incretin-Based Therapy: Therapeutic Potential, Patient Selection and Clinical Use. *Am J Med* 2009; 122: 37-50.
- 61- Tolf-Nielsen MB, Madsbad S, Holst JJ. Determinants of the Effectiveness of Glucagon-Like Peptide-1 in Type 2 Diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 3853-3860.
- 62- Amori RE, Lau J, Pittas AG. Efficacy and Safety of Incretin Therapy in Type 2 Diabetes: Systemic Review and Meta-analysis. *JAMA* 2007; 298: 194-206.
- 63- Peters A. Incretin-Based Therapies: Review of Current Clinical Trial Data. *Am J Med* 2010; 123: 28-37.
- 64- Vilsboll T, Holst JJ. Incretins, Insulin Secretion and Type 2 Diabetes Mellitus. *Diabetologia* 2004; 47: 357-366.
- 65- Ahren B, Landin-Olsson M, Jansson PA, Svensson M, Holmes D, Schweizer A. Inhibition of Dipeptidyl Peptidase-4 Reduces Glycemia levels in Type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 5: 1078-2084.
- 66- Davidson JA, Parente EB, Gross JL. Incretin Mimetics and Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitors: Innovative Treatment Therapies for Type 2 Diabetes. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2008; 6: 1039-1049.
- 67- Mu J, Woods J, Zhou YP, Roy RS, Li Z, Zycband E, et al. Chronic Inhibition of Dipeptidyl Peptidase-4 with a Sitagliptin Analog Preserves Pancreatic β -Cell Mass and Function in a Rodent Model of Type 2 Diabetes. *Diabetes* 2006; 55: 1695-1704.

- 68- Chia CW, Egan JM. Incretin-based Therapies in Type 2 Diabetes Mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 10: 3703-3716.
- 69- Neumiller JJ. Differential Chemistry (structure), Mechanism of Action and Pharmacology of GLP-1 Receptor Agonists and DPP-4 inhibitors. *J Am Pharm Assoc* 2009; 49: 16-29.
- 70- Cefalu WT. Pharmacotherapy for The Treatment of Patients with Type 2 Diabetes Mellitus: Rationale and Specific Agents. *Clinical Pharmacol Ther* 2007; 81: 636-649.
- 71- Ding X, Saxena NK, Lin S, Gupta N, Anania F. Exendin-4, a Glukagon-like Protein-1 (GLP-1) Receptor Agonist, Reverses Hepatic Steatosis in ob/ob mice. *Hepatology* 2006; 43:173-181.
- 72- Yilmaz Y, Atug O, Yonal O, Duman D, Ozdogan O, Imeryuz N, et al. Dipeptidyl Peptidase- 4 Inhibitors: Therapeutic potential in Non Alcoholic Fatty Liver Disease. *Med Sci Monit* 2009; 15:1-5.
- 73- Tushuizen ME, Bunck MC, Pouwels PJ, van Waesberghe JHT, Diamant M, Heine RJ, et al. Incretin Mimitics as a Novel Therapeutic Option for Hepatic Steatosis. *Liver Int* 2006; 26:1015-1017.
- 74- Nielsen LL, Okerson T, Holcombe J, Hoogwerf B. Effects of Exenatide on Diabetes, Obesity, Cardiovascular Risk Factors, and Hepatic Biomarkers in Patients with Type 2 Diabetes. *J Diabetes Sci Technol* 2008; 2: 255-260.
- 75- VanDeKoppel S, Choe HM, Sweet BV. Managed Care Prespective on Three New Agents for Type 2 Diabetes. *JMCP* 2008; 14: 363-380.
- 76- Green BD, Flatt PR, Bailey CJ. Dipeptidyl Peptidase- 4 Inhibitors: A Newly Emerging Drug Class for the Treatment of Type 2 Diabetes. *Diabetes Vasc Dis Res* 2006; 3:159-165.

77- Aschner P, Kipnes M, Luneford J, Mickel C, Sanchez M, Williams-Herman DE. Effects of the Dipeptidyl Peptidase- 4 Inhibitors Sitagliptin as Monotherapy on Glycemic Control in Patients with Type 2 Diabetes. *Diabetes Care* 2006; 29: 2632-2637.

78- Rodbard HW, Blonde L, Braithwaite SS, Brett EM, Cobin RH, Handelsman Y, et al. AACE Medical Guidelines for Clinical Practice for the Management of Diabetes Mellitus. *Endocr Prac* 2007; 13:1-68.

79- Rosenstock J, Brazg R, Andryuk PJ, Lu K, Stein P. Efficacy and safety of the Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitor sitagliptin added to ongoing pioglitazone therapy in patients with type 2 diabetes: a 24 week, multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group study. *Clin Ther* 2006; 28: 1556-1568.

80- Thornberry NA, Webb AE. Discovery of JANUVIA, a Selective Dipeptidyl Peptidase- 4 Inhibitor for Treatment of Type 2 Diabetes. *Current Top Med Chem* 2007; 7: 557-568.

81- Raz I, Hanefeld M, Xu L, Caria C, Williams-Herman D, Khatami H. Efficacy and Safety of the Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitor Sitagliptin as Monotherapy in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Diabetologia* 2006; 49: 2564-2571.

82- Charbonnel B, Karaski A, Liu J, Wu M, Meininger G. Efficacy and Safety of the Dipeptidyl Peptidase- 4 Inhibitors Sitagliptin Added to Ongoing Metformin Therapy in Patients with Type 2 Diabetes Inadequately Controlled with Metformin Alone. *Diabetes Care* 2006; 29: 2638-2643.

83- Goldstein BJ, Feinglos MN, Lunceford JK, Johnson J, Williams-Herman. Effects of Initial Combination Therapy with Sitagliptin, a Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitor, and Metformin on Glycemic Control in Patients with Type 2 Diabetes. *Diabetes Care* 2007; 30: 1556-1568.

- 84- Nauck MA, Meininger G, Sheng D, Terranella L, Stein PP. Efficacy and Safety of the Dipeptidyl Peptidase- 4 Inhibitor, Sitagliptin, Compared with Sulfonilurea, Glipizide, in Patients with Type 2 Diabetes Inadequately Controlled on Metformin Alone: A Randomized, Double-Blind, Non-Inferiority Trial. *Diabetes Obes Meta* 2007; 9:194-205
- 85- Zerilli T, Pyon EY. Sitagliptin Phosphate: A DPP-4 Inhibitor for Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus. *Clin Ther* 2007; 29: 2614-2634.
- 86- Balaban YH, Korkusuz P, Şimşek H, Gökcan H, Gedikoğlu G, Pınar A, et al. Dipeptidyl Peptidase IV (DDPIV) in NASH Patients. *Ann Hepatol* 2007; 6:242-250.
- 87- Tahara A, Matsuyama A, Yokono A, Nakano R, Someya Y, Shibasaki M. Hypoglycaemic Effects of Antidiabetic Drugs in Streptozotocin-nicotinamide-induced Mildly Diabetic and Streptozotocin-induced Severely Diabetic Rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2008; 103:560-568.
- 88- Tahara A, Matsuyama A, Yokono A, Nakano R, Someya Y, Shibasaki M, et al. Antihyperglycemic effects of ASP8497 in Streptozotocin-nicotinamide induced Diabetic rats: Comparison with other Dipeptidyl Peptidase-IV Inhibitors. *Pharmacol Rep* 2009; 61: 899-908.
- 89- Xu ZJ, Fan JG, Ding XD, Qiao L, Wang GL. Characterization of High-Fat, Diet-Induced, Non-alcoholic Steatohepatitis with Fibrosis in Rats. *Dig Dis Sci* 2009; 3: 815-828.
- 90- Besinlerin Bileşimi. Türkiye Diyetisyen Derneği Yayını 1991, Ankara.
- 91- Özdamar K. SPSS ile Biyoistatistik 2003, 5. Baskı, Kaan Kitabevi, Eskişehir.
- 92- Pro B, Dang NH. CD26/Dipeptidyl peptidase IV and Its Role in Cancer. *Histol Histopathol.* 2004;19:1345-1351.

- 93- Kürktschiev D, Subat S, Adler D, Schentke KU. Immunomodulating Effects of Ursodeoxycholic Acid Therapy in Patients with Primary Biliary Cirrhosis. *J Hepatol* 1993; 18: 373-377.
- 94- Matsumoto Y, Bishop GA, McCaughan GW. Altered Zonal Expression of the CD26 Antigen (Dipeptidyl Peptidase IV) in Human Cirrhotic Liver. *Hepatology* 1992;15:1048-1053.
- 95- Lamont BJ, Drucker DJ. Differential Antidiabetic Efficacy of Incretin Agonists versus DPP-4 Inhibition in High-Fat-Fed Mice. *Diabetes* 2008; 57: 190-198.
- 96- Matveyenko AV, Dry S, Cox HI, Moshtaghian A, Gurlo T, Galasso R, et al. Beneficial Endocrine but Adverse Exocrine Effects of Sitagliptin in the Human Islet Amyloid Polypeptide Transgenic Rat Model of Type 2 Diabetes: Interactions with Metformin. *Diabetes* 2009; 58: 1604-1615.
- 97- Vella A, Bock G, Giester PD, Burton DB, Sera DB, Saylan ML, et al. Effects of Dipeptidyl Peptidase- 4 inhibition on Gastrointestinal function, Meal appearance, Glucose Metabolism Type 2 Diabetes. *Diabetes* 2007; 56:1475-1480.
- 98- Gedulin BR, Simth P, Pricett KS, Tryon M, Barnhill S, Reynolds J, et al. Dose-Response for Glycemic and Metabolic Changes 28 Days after Single Injection of Long-Acting Release Exenatide in Diabetic Fatty Zucker Rats. *Diabetologia* 2005; 48:1380-1385.
- 99- DeFronzo RA, Okerson T, Viswanathan P, Guan X, Holcombe JH, MacConell L. Effects of Exenatide versus Sitagliptin on Postprandial Glucose, Insulin and Glukogan Secretion, Gastric Emptying, and Caloric Intake: a Randomized, Cross-over study: *Curr Med Res Opin* 2008; 24: 2943-2952.

- 100- Matikainen N, Manttari S, Schweizer A, Ulvestad A, Mills D, Dunning BE, et al. Vildagliptin Therapy Reduces Postprandial Intestinal Triglyceride-Rich Lipoprotein Particles in Patients with Type 2 Diabetes. *Diabetologia* 2006; 49:2049-2057.
- 101- Gross BN, Cross LB, Foard J, Wood Y. Elevated Hepatic Enzymes Potentially Associated with Sitagliptin. *Ann Pharmacother* 2010; 44, 394-395.
- 102- Klonoff DC, Buse JB, Nielsen LL, Guan X, Bowlus CL, Holcombe JH, et al. Exenatide Effects on Diabetes, Obesity, Cardiovascular Risk Factors and Hepatic Biomarker in Patients with Type 2 Diabetes Treated for at Least 3 Years. *Curr Med Res Opin* 2008; 24: 275-286.
- 103- Wieckowska A, Zein NN, Yerian LM, Lopez AR, McCullough AJ, Feldstein AE. In Vivo Assessment of Liver Cell Apoptosis as a Novel Biomarker of Disease Severity in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Hepatology* 2006; 44: 27-33.
- 104- Perner F, Gyuris T, Rakoczy G, Salvary E, Gorog D, Szalay F et al. Dipeptidyl Peptidase Activity of CD26 in Serum and Urine as a Marker of Cholestasis: Experimental and Clinical Evidence. *J Lab Clin Med* 1999; 134: 56-57.
- 105- Maes M, Lin A, Bonaccorso S, Vandoolaeghe E, Song C, Goossens F, et al. Lower Activity of Serum Peptidases in Abstinent Alcohol-Dependent Patients. *Alcohol* 1999; 17: 1-6.
- 106- Andrieu T, Thibault V, Malet I, Laporte J, Bauvois B, Agut H, et al. Similar Increased Serum Dipeptidyl Peptidase IV Activity in Chronic Hepatitis C and Other Viral Infections. *J Clin Virol* 2003; 27: 59-68.

7- ÖZET

S.B.Akaslan. Diyetle Obez Hale Getirilmiş Sıçanlarda Nonalkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı (NAYKH) Üzerine Sitagliptinin Etkisi. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İç hastalıkları Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, 2010.

Amaç: Diyetle obez hale getirilmiş sıçanlarda sitagliptinin NAYKH'na etkisini araştırmak.

Gereç ve Yöntem: 24 haftalık, 199-240 gram ağırlığında, erişkin-dişi, toplam 24 adet Sprague-Dawley cinsi sıçan kullanıldı. Sıçanlar rastgele 2 gruba ayrıldı. Kontrol grubu (n:6) standart sıçan diyetiyle beslenirken, diğer grup (n:18) yüksek yağlı diyetle (YYD) 12 hafta beslendi. NAYKH oluşumu sağlandıktan sonra YYD'le beslenen sıçanlar rastgele 2 gruba ayrıldı. Toplam 16 hafta sadece YYD alan grup NAYKH grubu (n:8) kabul edildi. Sitagliptin grubu (n:10) ise YYD'le 12 hafta beslendikten sonra, son 4 haftada YYD'e ek olarak sitagliptin (3 mg/kg) tedavisi aldı. Çalışma boyunca sıçanların kilo alımı takip edildi. Çalışma sonunda tüm sıçanların serum glukozu, trigliserid, kolesterol, AST, ALT, DHEA-S düzeyi ve plazma insülin düzeyini değerlendirmek için kan örnekleri alındı. İnsülin direnci HOMA-IR indeksi ile hesaplandı. Histopatolojik değerlendirme için karaciğer doku örnekleri incelendi.

Bulgular: Sitagliptin grubunda NAYKH grubuna göre, serum glukoz ($p<0.001$) ve insülin ($p<0.001$) düzeyi anlamlı olarak daha düşük saptandı. Sitagliptin grubunda NAYKH grubuna göre HOMA-IR indeksi anlamlı olarak daha düşük bulundu ($p<0.001$). Sitagliptin grubunda NAYKH grubuna göre, serum TG ($p<0.001$) ve kolesterol ($p<0.001$) düzeyi anlamlı olarak daha düşük saptandı. Sitagliptin grubunda NAYKH grubuna göre, ortalama steatoz derecesi daha az bulundu ($p<0.001$); ancak hepatik inflamasyon açısından fark bulunmadı ($p=0.057$). Sitagliptin grubunda NAYKH grubuna göre hepatomegali ve transaminazlar açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$). DHEA-S düzeyi ile hepatik steatoz arasında ilişki saptanmadı ($r=0.009$, $p=0.967$).

Sonuç: Sitagliptinin insülin duyarlılığını, lipid profilini düzenlediği ve hepatik steatozu iyileştirdiği gösterildi.

Anahtar kelimeler: Sitagliptin, hepatik steatoz, metabolik sendrom

8- SUMMARY

S.B.Akaslan. The Effects of Sitagliptin on Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) in Diet-Induced Obese Rats. Gazi University Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine, Specialization Thesis, 2010.

Aim: To determine the effects of sitagliptin on NAFLD in rats with diet-induced obesity.

Materials and Methods: 24 weeks aged, 199-240 grams, twenty four adult-female Sprague-Dawley rats were used. The rats were randomly separated into 2 groups. The control group (n:6) was fed with standard rat diet. The other group (n:18) was fed with a high fat diet (HFD) to induce NAFLD. After 12 weeks, rats which were fed with a HFD were randomly separated into 2 groups. NAFLD group was fed with a HFD for an additional 4 weeks. Sitagliptin group received sitagliptin (3 mg/kg) for 4 weeks in addition to HFD. Changes in weight were recorded throughout the study. At the end of the study blood samples were drawn from all rats to determine the levels of serum glucose, triglyceride, cholesterol, AST, ALT, DHEA-S and plasma insulin. Insulin resistance was determined using the HOMA-IR index. Histopathologic evaluation of liver samples were undertaken.

Results: Serum glucose ($p<0.001$) and insulin ($p<0.001$) values were significantly lower in the sitagliptin group compared to NAFLD group. HOMA-IR index was significantly lower ($p<0.001$) in the sitagliptin group compared to NAFLD group. The sitagliptin group had lower serum levels of triglycerides ($p<0.001$) and cholesterol ($p<0.001$) than NAFLD group. Hepatic steatosis was significantly less ($p<0.001$) in the sitagliptin group compared to NAFLD group while no difference was seen in hepatic inflammation ($p=0.057$). The sitagliptin group had no difference in hepatomegaly and liver transaminase levels compared to NAFLD group. No significant association was determined between DHEA-S and hepatic steatosis ($r=0.009$, $p=0.967$).

Conclusion: Sitagliptin appears to improve hepatic steatosis by increasing insulin sensitivity and regulating lipid profiles in rats.

Keywords: Sitagliptin, hepatic steatosis, metabolic syndrome

10- EKLER

EK-1 Etik Kurul Onayı



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı

30.10.2009

SAYI : B.30.2.GÜN.0.05.06.00/ 98-10671
KONU:

Sayın

Doç.Dr.Füsün BALOŞ TÖRÜNER
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
İç Hastalıkları Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

G.Ü.ET-09.060 kod numaralı ve *"Diyette obez hale getirilmiş ratlarda steatohepatit üzerine inkretinlerin etkisi"* başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-09.060 and entitled *"Effects of incretins on steatohepatitis in diet-induced obese rats"* is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.


Prof.Dr.Gökhan ALPASLAN
Gazi Üniversitesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanı

EK-2

Diyetle Obez Hale Getirilmiş Sıçanlarda NAYKH Üzerine Sitagliptinin Etkisi

GRUP:

Kaç haftalık:

Başlama ve bitiş tarihleri:

Başlangıç kilosu

Verilen ilaç dozu:

Kaçıncı haftada başladı:

1. ay kilosu:

2. ay kilosu:

İlaç başlangıç kilosu:

Tedavi sonu kilosu:

Kilo alma oranı:

Karaciğer ağırlık:

LAB: AKŞ:

AST/ALT:

GGT/ALP:

Kol:

TG:

DHEAS:

Kan insülin:

HOMA-IR:

Karaciğer patoloji:

Steatoz:

Fokal nekroz-inflamasyon:

Balonlaşma deg.

Fibrozis:

Evre:

Komplikasyon:

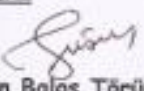
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tez Sınav Tutanağı

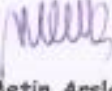
Adı ve Soyadı	Araş.Gör.Dr.Selvihan Beysel Akaslan
Baba Adı	Yılmaz
Doğum Yeri/Tarihi	Eskişehir/1980
Diploma Tarihi / Diploma No	29.06.2004/ 04.392.073
Mezun Olduğu Fakülte	Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi (İngilizce)
İhtisas Yaptığı Anabilim Dalı/Bilim Dalı	İç Hastalıkları Anabilim Dalı
İhtisas Süresi	Yıl:5 Ay:
Sınav Yapılmasını İsteyen Makam	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı

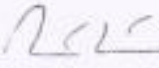
UZMANLIK TEZİNİN ADI : Diyetle Obez Hale Getirilmiş Sıçanlarda Nonalkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı Üzerine Sitagliptinin Etkisi

JÜRİ KARARI : Anabilim dalımızda 26551 sicil numaralı Araş.Gör.Dr. Selvihan Beysel Akaslan'ın Uzmanlık Tezi kurulumuzca değerlendirildi. *Başarıldı*

JÜRİ ÜYELERİ


Doç.Dr.Füsün Balas Törüner
Tez Sorumlusu


Prof.Dr.Metin Arslan
Endokrinoloji Bölümü Bilim Dalı Başkanı


Prof.Dr.Nuri Çakır