



T.C.  
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

NONALKOLİK STEATOHEPATİTLİ HASTALARDA KARACİĞERDE  
ENDOKANNABİNOİD RESEPTÖR CB1 VE CB2 EKSPRESYONU VE  
METABOLİK SENDROMLA İLİŞKİSİ

Dr. Ayça EROĞLU

UZMANLIK TEZİ

BURSA – 2012



T.C.  
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

NONALKOLİK STEATOHEPATİTLİ HASTALARDA KARACİĞERDE  
ENDOKANNABİNOİD RESEPTÖR CB1 VE CB2 EKSPRESYONU VE  
METABOLİK SENDROMLA İLİŞKİSİ

Dr. Ayça EROĞLU

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof. Dr. Enver DOLAR

BURSA – 2012

## İÇİNDEKİLER

Özet .....	ii
Summary .....	iv
Giriş .....	1
Gereç ve Yöntem .....	43
Bulgular.....	49
Tartışma ve Sonuç.....	70
Kaynaklar.....	82
Kısaltmalar Listesi.....	93
Teşekkür .....	96
Özgeçmiş .....	97

## ÖZET

Endokannabinoid reseptörleri, CB1 ve CB2'dir. Günümüzdeki sınırlı sayıdaki insan çalışmaları kannabinoidler ile non-alkolik yağlı karaciğer hastalıkları (NAYKH) gelişimi arasındaki ilişkiyi göstermektedir. CB1 reseptörlerinin stimülasyonu yağ metabolizmasında anahtar rol oynayan genlerin ekspresyonu ve karaciğer yağ asidi sentezi artır. CB1 reseptör antagonisti olan Rimonabant'ın (SR141716) kullanılması ile hepatik steatozun ve hepatomegalinin gerilediği gösterilmiştir. CB2 reseptörlerinin yağlı karaciğerde ekspresyonu metabolik sendromla olan ilişkisini göstermektedir. CB1 reseptörleri profibrogenik, CB2 reseptörleri ise antifibrogeniktir. Endokannabinoid sistemin, periferik dokulardaki metabolik fonksiyonları aktive etmesi, çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılabileceği fikrini geliştirmektedir.

Çalışmamızda Non-alkolik Steatohepatitli hastalarda (NASH) ve normal insan karaciğer dokusunda CB2 ve CB1 reseptör ekspresyonu belirlenip, bu reseptörlerin karaciğer yağlanması ve metabolik sendromun parametreleriyle ilişkisi araştırılmıştır. On yedisi Steatozlu, 54'ü NASH'lı toplam 71 NAYKH'lı hasta ve kontrol grubunda 40 normal karaciğer örneğinin CB2 ve CB1 reseptör ekspresyonları değerlendirilmiştir. NASH grubundaki hastalar ve steatoz grubundaki hastaların CB2-R ekspresyon yüzdesi ile NAS skorunu oluşturan parametrelerle herhangi bir ilişki saptanmazken ( $p>0.05$ ), NAYKH'lı hastalar topluca değerlendirildiğinde CB2 R ekspresyonu ile lobüler inflamasyon arasında ilişki saptandı. NASH grubundaki hastaların sistolik ve diyastolik arteriyal tansiyon değerleri, HDL ve mikroalbuminürinin CB2-R ekspresyonuyla negatif yönde korelasyonu saptandı. Obez steatozlu hastaların CB2 R ekspresyonunun, obez NASH'lı hastalara göre daha fazla oranda olduğu saptandı. NAYKH grubundaki ve kontrol grubundaki hiç bir olguda CB1-R'leri nükleer boyanmadı veya çok hafif stoplazmik boyanma saptandı. Ancak CB2 R'lerinde tüm hasta ve kontrol karaciğer doku örneklerinde pozitif olarak immünohistokimyasal boyanma gözlemlendi.

Sonuç olarak endokannabinoid sistemin yağlı karaciğer hastalığının patogenezindeki ve tedavi seçeneklerindeki rollerinin belirlenmesi için daha ileri çalışmalara gerek vardır.

**Anahtar Kelimeler:** Kannabinoid reseptör-1, kannabinoid reseptör-2, steatoz, non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı.

## SUMMARY

### **Patients with Nonalcoholic Steatohepatitis Hepatic Endocannabinoid CB1 and CB2 Receptor Expression and Relationship with Metabolic Syndrome**

CB1 and CB2 are endocannabinoid receptors. A limited number of human studies shows the relationship between the cannabinoids and the development of the non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). By the stimulation of the CB1 receptors, the expression of the genes that play a key role in fat metabolism and the hepatic fatty acid synthesis increases. The use of rimonabant (SR141716), which is a CB1 receptor antagonist, has been shown to reduce the hepatic steatosis, and hepatomegaly. CB2 receptor expression in fatty livers shows its relationship with the metabolic syndrome. The CB1 receptors are profibrogenic, whereas the CB2 receptors are antifibrogenic. The endocannabinoid system activates metabolic functions in the peripheral tissues. This suggests that this system can play a role in the treatment of various diseases.

In our study, we have identified the CB1 and CB2 receptor expression in patients with non-alcoholic steatohepatitis (NASH) and in normal human liver tissue, and investigated the relationship of these receptors with steatohepatitis and the parameters of the metabolic syndrome. A total of 71 patients, 54 of whom have NASH and 17 with steatosis, and 40 patients with healthy livers in the control group, were evaluated in terms of CB2 and CB1 receptor expression. There was no relationship between the patients in the NASH group and the patients with steatosis in terms of the percentage of CB2 receptor expression ( $p>0.05$ ), whereas, when the patients with NASH were evaluated as a whole, there was a relationship between the CB2 receptor expression and lobular inflammation. In the NASH group, the systolic and the diastolic arterial blood pressure values, HDL cholesterol and microalbuminuria had a negative correlation with CB2 receptor expression.

The CB2 receptor expression was more likely in obese patients with steatosis than in obese patients with NASH. As far as the CB1 receptors were concerned, there were no cases with nuclear staining in the NASH and in the control group, or there was a weak cytoplasmic staining. However, in all patient and control liver tissue samples, there was a positive immunohistochemical staining of the CB2 receptors.

In conclusion, in order to determine the role of the endocannabinoid system in the pathogenesis and the treatment options of fatty liver disease, further studies are needed.

**Key words:** Cannabinoid receptor-1, cannabinoid receptor-2, Steatosis, non-alcoholic fatty liver disease.

## GİRİŞ

Non-alkolik steatohepatit (NASH) alkol alımı belirli miktarları aşmayan (<20-30 gr/gün) kişilerde ortaya çıkan ve alkolik karaciğer hastalığının histolojik özelliklerini gösteren bir bozukluktur (1). Non alkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAYKH), günümüzde asemptomatik karaciğer enzim yüksekliğinin en sık sebebi ve en çok tanı alan hastalığıdır. Genel populasyonun %30'unda NAYKH mevcutken, obez yetişkin hastaların %35-50'sine NASH tanısı konulmaktadır. Genel populasyonda steatohepatite ise %3 civarında rastlanmaktadır (2). Steatohepatit olgularının yaklaşık %10-20'si fibrozise ve siroza ilerler. NAYKH basit yağlanmadan, steatohepatit, fibrozis, karaciğer sirozu ve maligniteye ilerleyebileceğinin gösterilmesiyle birlikte son 20 yılda önem kazanmıştır (3). Obezitenin epidemisinde artışla birlikte, gelecek 10 yıl boyunca NAYKH insidansı, katlanarak artacaktır. 2020 yıllarında NASH, etkin bir tedavisinin olmaması nedeniyle, sirozun ve karaciğer transplantasyonun başta gelen sebeplerinden biri olmaya devam edecektir (4, 5).

NAYKH obezite, insülin rezistansı, hipertrigliseridemi, metabolik sendrom ve tip 2 DM ile ilişkilidir (6). Daha az olarak ilaçlar, by-pas cerrahisi, gebelik, yağ metabolizması hastalıkları ve total parenteral beslenme gibi faktörler sebep olabilir.

Ancak, insan ve hayvan modellerinde, NAYKH'in patogenezi ve fibrozisin progresyonundaki metabolik yollar henüz tam olarak açıklığa kavuşmamıştır ve ileri araştırmalar gerekmektedir (6).

Esrar (*kannabis*), eski çağlardan beri bilinen ve bağımlılık yapan bir maddedir. Günümüzde, dünyada en yaygın kötüye kullanılan yasadışı maddedir. Esrarın kötüye kullanım sıklığı sigara, kafein ve alkolden hemen sonra gelir. Esrar bitkisinin içinde bulunan en etkin psikoaktif madde olan  $\Delta 9$ -tetrahidrokannabinol ( $\Delta 9$ -THC) ve türevleri (*kannabinoidler*), yalnızca



madde bağımlılığında değil, aynı zamanda potansiyel tedavi amaçlı kullanımı açısından da son zamanlarda araştırmacılar için büyük önem taşımaktadır.

Endokannabinoidler canlılarda, CB1 ve CB2 reseptörlerini aktive ederek etkinliklerini gösteren endojen bileşenlerdir (7). Endokannabinoidler, CB1 reseptörlerini aktive ederek, yiyecek alımı ve lipolizi düzenlerler (8). CB2 reseptörleri, immün sistem hücrelerinde de saptanmıştır ancak buradaki kesin rolü bilinmemektedir (9). Normal fare karaciğer hepatositleri ve HepG2 (insan karaciğer hepatoselüler karsinom hücre dizisi) hücrelerinde kannabinoid reseptörlerinin ekspresyonu gösterilmiştir (10, 11). Siroz sırasında, hem CB1 hem de CB2 reseptörleri, karaciğer yıldız hücrelerinden (İto hücresi=stellat hücre) türeyen karaciğer portal myofibroblast hücrelerinde ekspresyon edilmektedirler (12, 13). NAYKH'da hepatoselüler kannabinoid reseptörlerinin ekspresyonu; yağ depolanması, inflamasyon ve fibrozisine bağlı olarak gelişen hastalık progresyonunda, potansiyel faktördür (14). NAYKH'da, karaciğerde anlamlı fibrozis olmasa dahi, hepatosit ve kolanjiositlerde CB2-R ekspresyonunun olduğu ancak normal karaciğer dokusunda saptanmadığı gösterilmiştir (15).

Nonparankimal hücrelerinden endotel hücresi, kupffer hücresi, yıldız hücrelerin regülasyonunda endokannabinoidlerin rolünün olduğuna dair deliller mevcuttur. Julien ve ark.'ları (13) farelerin karaciğerlerindeki CB2 reseptörleri delesyona uğratıldığında, bu farelerin *CCl<sub>4</sub>* (*carbon tetrachloride*)'e maruziyeti sonrasında, karaciğerlerindeki fibrozisde artış olduğunu gözlemişlerdir. Endokannabinoid sistem NASH'da ve sirotik insan karaciğerinde belirgin şekilde upregüledir. Endokannabinoid reseptörleri G proteinine bağlı CB1 ve CB2 reseptörleridir. CB1 reseptörlerinin stimülasyonu yağ metabolizmasında anahtar rol oynayan hepatik ve hipotalamik genlerin ekspresyonu ve karaciğer yağ asidi sentezi artar. CB1 reseptörü eksik farelerin, diyetle ilişkili karaciğer yağlanması ve obezite gelişimine dirençli oldukları gösterilmiştir (16). CB2 reseptörleri normal insan karaciğer dokusunda ekspresyon olmazken, nonalkolik yağlı karaciğer hastalıklarında hepatosit, kolanjiosit ve karaciğer yıldız hücrelerinde ekspresyon olur. Yağlı karaciğerde CB2 reseptörlerinin ekspresyonu metabolik

sendromla olan ilişkisini göstermektedir (16). CB1 reseptörleri profibrogenik, CB2 reseptörleri ise antifibrogenik yönde etkilidirler (17). Endokannabinoid sistemin, periferik dokulardaki metabolik fonksiyonları etkilemesi, çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılabileceği fikrini geliştirmiştir (18).

## **1. Non Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı (NAYKH)**

### **1.1. Tanım**

NAYKH steatozdan, nonalkolik steatohepatite, siroz ve son dönme karaciğer yetmezliği ve HCC'ye kadar ilerleyen geniş spektrumlu karaciğer hastalıklarını ihtiva eder (19). Ancak metabolik yolak ve fibrosin progresyonu henüz tam açıklığa kavuşmamıştır. Karaciğer miyofibroblast hücreleri, karaciğer yıldız hücrelerinden türerler ve heterojen şekilde karaciğerde bulunurlar. Kronik karaciğer hasarında birikim göstermektedirler. Karaciğer ilişkili antifibrotik ajanların geliştirilmesi için, antifibrotik hedeflerin belirlenerek, hepatik fibrogenik hücreler tarafından yönetilen moleküler mekanizma ve sinyal yolaklarının daha iyi anlaşılması şarttır.

Karaciğer yağlanması, histopatolojik incelemede hepatositlerin %5'ten fazlasında yağ vakuollerinin görünmesi veya lipid miktarının karaciğer ağırlığının %5'inden daha fazla olması şeklinde tanımlanmaktadır (20).

Non-alkolik steatoz selim seyirlidir, karaciğerde basit yağlanma vardır, ancak iltihabi infiltrasyon henüz gelişmemiştir. Buna karşılık NASH; hiç alkol kullanmayan veya az miktarda (günde 20-30 gr'ın altında) alkol kullanan, histolojik bulguları alkolik karaciğer hastalığından ayırt edilemeyen, yağlanma ile birlikte nekroinflamasyon ve fibrozun geliştiği kronik seyirli klinik tabloyu ifade eder. Mikst tipte iltihabi infiltrasyon'un dışında, hepatositlerde balonlaşma ve bazılarında Mallory cisimcikleri (zon-3'te balonlaşmış hepatositler içinde yer alan asidofilik yapılar) ve fibroz gibi bulgular gelişmiştir. Klinik spektrumun ilk basamağını her iki grup için steatoz oluşturmaktadır.

Günümüzde NAYKH, toplumda en sık kronik karaciğer hastalığı olarak kabul edilmektedir. Klinikte erişkinlerde, asemptomatik transaminaz

yüksekliğinin en sık nedenidir. Olguların asemptomatik olması nedeniyle gerçek prevalansı bilinmemektedir. Erişkinlerde populasyon bazlı tarama çalışmalarında NAYKH sıklığı %17-33 (obezite varlığında %75), NASH sıklığı ise yaklaşık olarak %3'dür (21). Tüm dünyada diyet alışkanlıklarının değişmesi ve sedanter yaşamla birlikte belirgin bir artış göstermektedir. NASH olgularının yaklaşık %20'si progressif fibrozis ve siroz ile sonuçlanmakta, sirotiklerin de % 30-40'ı karaciğer ilişkili nedenlerden hayatını kaybetmektedir.

NAYKH ile ilişkili en yaygın risk faktörü metabolik sendrom (MS) mevcudiyetidir. MS yaygın bir problemdir ve obezite, diyabet, hiperlipidemi ve hipertansiyon gibi metabolik problemlerde prevalansının yüksek olması nedeniyle büyük bir nüfus NAYKH gelişimi açısından risk altındadır (22). Son yıllarda yapılan sınıflamaya göre NAYKH etyolojik faktörler açısından 3 guba ayrılabilir. Bu sınıflamaya göre:

Primer NAYKH: MS ile ilgili hastalıklar (tip 2 DM, obezite, hiperlipidemi) nedeniyle ortaya çıkan karaciğer yağlanması.

Sekonder NAYKH: İlaçlar, cerrahi, metabolik/genetik, diğer faktörlere bağlı ortaya çıkan karaciğer yağlanması.

Gruplandırılmayan NAYKH: İntestinal bakteriyel aşırı gelişim, demir yüklenmesi, Kronik HCV hepatitinde görülen karaciğer yağlanması (23).

Steatoz, lipit metabolizmasındaki çeşitli değişiklikler sonucu meydana gelip, İnsülin rezistansı (İR) ile yakın ilişkilidir. Metabolik sendrom, kronik karaciğer hasarının sık ve önemli bir sebebidir. Karaciğere aşırı yağ birikimi:

- a) Hepatositte denova yağ asidi sentezinde (lipogenez) artış,
- b) Yağ asidi oksidasyonunda azalma veya bozulma,
- c) Yağ depolanan periferik adipoz dokuda lipolizin artışı ve periferik organlardan karaciğere yağ asidi transferinde artış,
- d) Karaciğerden genel sirkülasyona ve periferik organlara çok düşük dansiteli lipoprotein (VLDL) aracılığıyla yağ asitlerinin TG olarak transportunun küntleşmesi sonucu karaciğerden yağ transferinin azalması sonucu meydana gelebilir (24).

Nonalkolik karaciğer hastalığının klinik önemi, genel populasyonda sık görülmesinden ve siroza ve karaciğer yetmezliğine ilerleme ihtimalinden kaynaklanmaktadır.

### **1.2. Epidemiyoloji**

NAYKH olguların gerçek prevalansı genellikle asemptomatik olması nedeniyle bilinmemektedir. Erişkinlerde NAYKH sıklığı %17-33, NASH sıklığı ise yaklaşık olarak % 3'dür (21). Hastalığın sıklığı Batı toplumlarında fazla olmakla birlikte tüm dünyada diyet alışkanlıklarının değişmesi ve sedanter yaşama geçişle birlikte belirgin bir artış göstermektedir. NASH olgularının yaklaşık %20'si progressif fibrozis ve siroz ile sonuçlanmakta, sirotiklerin de %30-40 kadarı karaciğer ile ilişkili nedenlerle hayatını kaybetmektedir.

Çocukların genel olarak % 2.6'sında, obez çocukların ise % 22.5-52.8'inde bildirilmiş olmakla beraber, en sık olarak 50-60 yaşlarda ve % 65-83 oranında kadınlarda gözlenir. Fakat erkeklerde ve postmenapozal dönemdeki kadınlarda daha sık görüldüğüne dair yayınlarda mevcuttur (4). NAYKH'in prevalansı; tip 2 diyabet ve trigiserid yüksekliği olan hastalarda %50-55'e, obez bireylerde %75'e çıkmaktadır ve obez olan diyabetik bireylerin hemen hemen tamamında mevcuttur (22). NAYKH olan bireyler klasik olarak, hafif yüksek transaminaz düzeylerine sahiptir. Spesifik bir neden saptanmamış, hafif transaminaz yüksekliği olan hasta gruplarında karaciğer biyopsisi ile yapılan çalışmalarda, bu hastaların % 30-40'ında hepatosteatoz, % 15-30'unda da değişen derecelere fibrozis ile beraber steatohepatit saptanmıştır (25). Obez, diyabetik ve hiperlipidemisi olan hastalarda bu oranların daha yüksek olduğu bilinmektedir. Fakat hepatosteatozlu hastaların bir kısmının normal enzim düzeylerine sahip olduğu ve yine steatozun diğer bazı karaciğer hastalıklarına eşlik ettiği düşünüldürse NAYKH prevalansının daha yüksek olması beklenir.

### **1.3. Etiyoloji**

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı için risk faktörleri arasında tip 2 diyabetes mellitus (DM), ailede tip 2 DM öyküsü, insülin direnci, obezite (beden-kitle indeksi  $\geq 30$ ), santral obezite (bel/kalça oranı; kadınlarda  $\geq 0,85$ , erkeklerde  $\geq 0,90$ , bel çevresi kadınlarda  $\geq 85$ , erkeklerde  $\geq 97$ ),

hipertrigliseridemi, düşük HDL, yaşın 45'ten büyük olması, obezite cerrahisi, açlık, kaşeksi, eşlik eden medikal hastalıklar nedeniyle hızlı kilo kaybı, kolelitiasis, artmış tümör nekrosis faktör- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) düzeyi ve ince barsakta bakterilerin aşırı çoğalması ile beraber olan jejunal divertikülozis sayılabilir (26). NASH bu hastaların % 20'sinde bulunur ve prevalansı Beden-kitle indeksi dikkate alınmaksızın, tip 2 DM varlığı, NAYKH risk ve ağırlığını anlamlı oranda artırır (4). Obezite ve diyabetin birlikte olduğu hastalarda, steatohepatit ve siroz oranları daha da yükselir (4). Normal beden kitle indeksi olan hastalarda bile trunkal obezite, NAYKH için risk faktörü olarak görölmektedir. Hiperlipidemi de sık rastlanılan bir anormallik olup, ultrasonografi (USG) ile yapılan bir çalışmada hiperlipidemi, özellikle hipertrigliseridemisi olan hastaların yaklaşık yarısında NAYKH saptanmıştır (4).

**Tablo-1:** NAYKH nedenleri (26).

<b>Metabolik ve genetik</b>	<b>İlaç ve toksinler</b>	<b>Cerrahi işlemler</b>	<b>Diğerleri</b>
Diabetes Mellitus	Glikokortikoidler	Biliyopankreatik diversiyon	Total parantral nütrisyon
İnsülin rezistansı	Aspirin	Geniş ince bağırsak rezeksiyonu	Ciddi anemi
Obezite	Tetrasiklin	Gastrik by-pass	İnflamatuvar bağırsak hastalıkları
Hiperlipidemi	Valporoik asit	Jejunioileal by-pass	İnce bağırsak divertikülleri
Açlık ve malnütrisyon	Östrojenler		Bakteriyel aşırı gelişim
Abetalipoproteinemi	Amiodaron		Lipodistrofi
Ailevi hepatosteatoz	Metotreksat		AİDS
Galaktozemi	Tamoksifen		Kronik hepatit C
Tirozinemi	Retroviral ilaçlar		Hızlı kilo kaybı
Homosistinüri	Kokain		Gebeliğin akut karaciğer yağlanması
Wilson hastalığı	Fosfor bileşikleri		
Glikojen depo hastalıkları	Petrokimyasallar		
Weber-Christian sendromu	Mantar toksinleri		
Hipopitütarizm			

Çolak Y, Tuncer İ. Nonalkolik karaciğer yağlanması ve steatohepatit. İst Tıp Fak 2010; 73: 3

#### **1.4. Nonalkolik Steatohepatitin Patogenezi**

Yağlı karaciğer (steatoz), karaciğerde aşırı miktarda trigliserid (TG) birikimi sonucu meydana gelir. Kronik karaciğer hastalıklarında kannabinoidlerin etkisi için kısıtlı sayıda klinik veri mevcuttur.

NAYKH'ın patogenezi tam olarak anlaşılammışsa da olguların çoğunda insülin seviyesinin artmasına neden olan insülin direnci, hepatik steatoz ve steatohepatite yol açabilen önemli bir mekanizmadır. Vücut yağ dağılımı, antioksidan sistemlerdeki farklılıklar ve genetik yatkınlık

suçlanmaktadır. Karaciğerde aşırı yağ birikimi insülin rezistansı ile yakından ilişkilidir. İR yağ salınımını, yağ asidi sentezini artırır, yağ oksidasyonunu ve VLDL formunda yağ transferini azaltır (24). Klinik çalışmalar ve deneysel veriler insülin rezistansının adipoz dokudaki periferik yağ depolarından, lipolizi arttırıp, plazma non esterifiye yağ asidinin karaciğere yönlendirilmesine neden olduğunu göstermiştir. İnsülin rezistansı ile karaciğerde denova lipogenoz alevlenir ve yağ asidi beta oksidasyonu bozulur.

Son zamanlarda adipoz doku içerisindeki fazla yağın normal dağılımında yetersizliğin MS neden olduğu ileri sürülmektedir. Bu yetersizlik, karaciğer kas ve pankreatik beta hücrelerinde ektopik yağ depolanmasına yol açabilir ve karaciğer yağlanması, dislipidemi, insülin direnci ve insülin üretiminde yetersizlik gibi patolojik olaylara neden olabilir. MS ve NAYKH'da hipoadiponektinemi görülür (27). Adipositokinler (TNF- $\alpha$ , leptin ve adiponektin), serbest yağ asitleri, mitokondrial disfonksiyon, bakteriyel endotoksin ve vasküler patolojilerin NAYKH'da hepatik inflamasyon ve fibrozis gelişiminde yer aldıkları gösterilmiştir (27). Yağlı karaciğer hastalığının ilk bulgusu hepatositlerdeki yağ birikimidir. Normal karaciğerlerde lipidlerin miktarı, karaciğer ağırlığının %5'ini geçmez ve bunun içerisinde trigliseritler, fosfolipitler, kolesterol ve kolesterol esterleri bulunur. Normalde trigliseridler karaciğerdeki lipidlerin %15 kadarının oluştururken, yağlanmış karaciğerde bu oran %60'lara kadar yükselir. Trigliseridlerin ana kaynağı yağ dokuda depo edilen ve karaciğerde, de nova sentezi ile yapılan yağ asitleridir. Aşırı karbonhidrat tüketimi de, karaciğerde yağ asitlerine çevrilerek, trigliserid olarak depolanabilir. Sonuçta, yağ asidinin üretimi hepatik metabolizmanın hızını aşar ve özellikle trigliseridler birikir. Hepatositlerde sentezlenen trigliserid, VLDL molekülü içerisinde dolaşıma geçer.

Oksidatif stres NAYKH'da, steatozun steatohepatite ilerlemesinin nedenidir. Serbest yağ asitlerinin oksidasyonu süresince, mitokondride çoğu hidrojen peroksid formunda olan reaktif oksijen türleri (ROT) birikir. Dengesizlik oluştuğunda ROT; fas-ligand oluşumu, sitokin oluşumu ve lipid

peroksidasyonu yoluyla steatohepatit oluşumunu tetikler. Eksojen antioksidanların kullanımının, NAYKH ile birlikte olan oksidatif stresi azaltabileceği düşünülmektedir (28).

Aynı metabolik bozuklukları taşıyor olmasına rağmen bazı hastalarda sadece yağlanma görülürken diğerlerinde steatohepatit gelişmesi, NAYKH'ın tüm formlarının sadece bu metabolik bozukluklar zemininde açıklanmasını imkansız kılmaktadır.

#### **1.4.1. NASH Gelişiminde İlk Darbe**

Hepatik steatoz, trigliseridlerin karaciğerde aşırı oranda birikmesi ile ortaya çıkar ve NASH gelişimi için ilk darbeyi oluşturur. İnsulin direnci hepatic lipid metabolizmasında alım, sentez, yıkım ve salınım basamaklarındaki bozuklukta önemli rol oynar. İnsulin direncinin moleküler patogenezi multifaktöryeldir. İnsulin direnci hiperinsülinemiye neden olarak hormona duyarlı lipoprotein lipazı uyarır ve periferik lipolizi artırır. İnsulin direnci, hiperinsülinemi ve lipoliz sonucu olarak, yağ asitleri hepatositlerde birikir (29). Hiperinsülinemi, karaciğerde yağ asitlerinin mitokondriyal beta-oksidasyonunu engelleyerek ve glikolizi uyararak yağ sentezini artırır. Hiperinsülinemi aynı zamanda karaciğerde yağ asitlerinin trigliseridlere esterleşmesini ve karaciğerden salınımını da azaltır. Olaya katılan TNF $\alpha$ , rezistin, leptin, adiponektindeki azalma, anjiotensinojen, plazminojen aktivasyon inhibitörü-1 insülin rezistansı gelişiminde rol oynayan moleküllerdir (30).

İnsulin direnci durumlarında hepatic yağ asidi serbestleşmesinin temel yolu olan VLDL'lerin ve apoprotein B 100 (apo B) yıkımının arttığı, karaciğerde fazla yağ asidi serbestleşmesinin azaldığı saptanmıştır. Sonuçta yağ asitlerinin üretimi hepatic metabolizmanın hızını aşar ve özellikle trigliseridler birikmeye başlar.

Artmış intrahepatik yağ asidi düzeyleri, steatozdan steatohepatit ve siroza ilerlemede büyük oranda sorumlu olan oksidatif stres için kaynak teşkil eder. CB1 ve CB2-R'leri tamamlayıcı yollarda bir noktada birleşmektedir (31, 32, 33). İnflamatuvar bozuklukların ve karaciğer bozukluklarının patogeneğinde CB2-R'lerinin rolünün altı çizilmiştir (13, 34, 35, 36).



Çalışmalarda CB2-R antagonizmasının, İR ve yağlı karaciğer yönetiminde, yeni bir tedavi yaklaşımı sağlayabileceği belirtilmiştir.

#### **1.4.2. NASH Gelişimindeki İkinci Darbe**

Yağlı dejenerasyon organın ikinci darbeye (second hit) duyarlılığını artırır (20). Patogenezin bu ayağını nekroinflamatuvar aktivitenin gelişimi oluşturur. Bu basamaktaki olayları lipid peroksidasyonu, oksidatif stres ve endotoksin sitokin aracılı hücre hasarı oluşturmaktadır.

Reaktif oksijen ürünleri (ROS); fas-ligand oluşumu, sitokin oluşumu ve lipid peroksidasyonu yoluyla steatohepatit oluşumunu tetikler. Lipid peroksidasyonu karaciğer hücre nekrozuna ve kollejen sentezinde artışa neden olur. ROT aynı zamanda tümör nekroz faktör alfa (TNF- $\alpha$ ), transforming growth faktör beta (TGF- $\beta$ ) ve interlökin-8 (IL-8) gibi sitokinlerin sekresyonunu artırır. TNF- $\alpha$  ve TGF- $\beta$  hepatosit ölümüne neden olur. TGF- $\beta$  mallory cisimciklerinin yapısında yer alır ve fibrozise neden olan karaciğer yıldız hücreleri aracılığıyla kollajen sentezini uyarır. IL-8 nötrofil infiltrasyonuna neden olur. Hepatosit normalde bir membran reseptörü olan fas oluşturur. Fas-ligand oluşumu olan bir hepatosit, fas membran reseptörü olan başka bir hepatosite etkileşime girerek onu öldürme özelliği kazanır. ROS, steatohepatit ve fibrozis gelişiminde ana sebeptir. ROS ile lipid peroksidasyonunun artması; antioksidan enzimlerin, glutatyonun ve vitamin E'nin tükenmesine sebep olur.

Steatozis oluştuktan sonra karaciğer, ikinci vuruş olarak adlandırılan oksidatif strese duyarlı hale gelir. ROS ile karaciğerdeki antioksidanlar arasında sürekli bir denge vardır. Oksidatif stres, ROS'lar ve bunlara karşı olan savunma ve detoksifiye etme mekanizmalarının arasındaki dengenin bozulması ile meydana gelir. Yağ asidi  $\beta$  oksidasyonun artması NASH yolunda en önemli adım olan serbest radikal üretimi ile sonuçlanmaktadır (29). Hidrojen peroksit ve hidroksil radikallerine maruziyet lipidler, DNA ve proteinler gibi hücre sel makromoleküllerde hasara neden olabilir. Mitokondri bu ROS'lar için en önemli kaynağı oluşturmaktadır. Serbest radikal üretimi için önemli bir enzim sistemi olan endoplazmik retikulumdaki sitokrom P450 2E1 (CYP2E1) sistemi, açlık, tip 2 diyabet, santral obezite ve insulin direnci

gibi faktörlere bağılı olarak artar. CYP2E1 enziminin uyarılması, yan ürünlerin salınımı ile ROS oluşumuna neden olur. NASH'da mitokondrial disfonksiyon ve mitokondrial DNA mutasyonlarıyla yağ asitlerinin taşınması ve uzaklaştırılması aksar. Hepatik antioksidan savunmaların azalması da ROS'un yapımını arttırabilir. Hepatositlerdeki oksidatif stres, nükleer faktör k beta (NFk $\beta$ )'yi aktive ederek, sitokinler ve proinflamatuvar genlerin ekspresyonuna neden olur. NASH hastalarının karaciğer biyopsisi incelendiğinde, birçok antioksidan enzimi kodlayan mRNA'ların ekspresyonu, normal karaciğere göre veya diğer karaciğer hastalığı olanlara göre daha düşük olarak rapor edilmiştir (37).

Serbest radikallerin oluşumu, hücrenin gereksinimi olan oksijenin %90'ının harcanmasına, çeşitli metabolik bozukluklara ve lipid peroksidasyonu olarak bilinen doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna yol açar. Lipid peroksidasyonu, hücresel membranların yapısında bulunan çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımına neden olur. Lipid peroksidasyonun sitotoksik ürünleri, nükleotidler ve protein sentezi gibi hücresel fonksiyonları bozabilir ve karaciğer yıldız hücrelerindeki kollojen gen ekspresyonunu düzenleyerek karaciğer fibrogenezinde rol oynayabilir (38). Oksidatif stresin NAYKH'lı ve NASH'lı hastalarda bulunduğu dair kanıtlar vardır (39).

TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 gibi sitokinler akut faz reaksiyonun başlamasını sağlayan tetikleyicilerdir. Bu sitokinler, karaciğere portal venden kan yoluyla gelirler. Kandaki bu sitokinler sinuzoid endotel hücreleri aracılığıyla disse boşluğuna, oradan da hepatositlere ulaşırlar. Disse boşluğuna uzanımları olan karaciğer yıldız hücreleri ve Kupffer hücrelerinin hem proinflamatuvar sitokinler için reseptörleri, hem de sitokinleri üretme yetenekleri vardır.

Sitokinlerin en bilinen üretim kaynağı lökositler olup ayrıca endotel hücreleri fibroblastlar ve çeşitli epitel hücreleri tarafından da sitokin üretimi gerçekleştirilmektedir. Karaciğer içersinde ise, sitokinler, enfeksiyöz, toksik, iskemik, otoimmün hepatitler, fibrogenez ve transplant reddi, virus çoğalmanın önlenmesi, kısmi hepatektomi sonrasında geride kalan karaciğer dokusunun yenilenmesi gibi pek çok hastalıkta önemli rol oynamaktadırlar

(40). NASH hastalarının serumlarında, hücre hasarında rol oynayan, TNF- $\alpha$  düzeyinin kontrollere kıyasla artmış olduğu bilinmektedir (41). TNF- $\alpha$  ekspresyonu enteral endotoksinler gibi diğer faktörlerle uyarılır. Obez hastalardan NASH'i olanlarda, olmayanlara kıyasla, hem hepatik, hem de adipoz dokuda TNF $\alpha$ -mRNA ekspresyonunun anlamlı derecede arttığını ve TNF $\alpha$ 'nın leptin eksikliğinde de anlamlı derecede arttığını göstermiştir (40). İnsulin rezistansı, NASH hastalarının hemen hemen tümünde görüldüğünden, hastalığın patogenezinde rol oynadığı düşünülmektedir (27). TNF $\alpha$ , insulin reseptörlerinin tirozin kinaz aktivitesi ile etkileştiğinden, insulin rezistansının gelişiminden sorumlu önemli bir sitokindir (42).

Karaciğer yıldız hücreleri, disse aralığında yerleşmiş sitokin ve büyüme faktörü sentezi ve sekresyonu yaparak hücre dışı matriks ve kollajen sentezinden sorumludur. Oksidatif stres ve Kupffer hücreleri, TGF- $\beta$ , TNF- $\alpha$  ve IL-1 sekresyonu ile karaciğer yıldız hücreleri ve fibroblastları aktive eder. NASH'da yıldız hücrelerin aktivasyonu fibrozis derecesi ile direkt ilişkilidir (43).

Karaciğer yıldız hücrelerinin daha yoğun olduğu perivenuler bölgede, CYP2E1, CYP2A1, CYP3A4 aktivitesi fazladır. TGF- $\beta$  yıldız hücreleri, myofibroblast benzeri hücrelere dönüştürerek kollajen sentezini artırır (28). NASH'lı hastalarda karaciğerde TGF- $\beta$  konsantrasyonlarının artmış olduğu saptanmıştır. Adipoz doku kaynaklı leptin de, fibroziste etkili diğer bir moleküldür. Leptin sistemik olarak adipoz dokuda, lokal olarak ise karaciğerde yıldız hücrelerinde üretilir ve karaciğer parankiminde spesifik reseptörler ile etkileşir. TGF- $\beta$ 'ı uyararak fibrozisi artırır (44). Obez farelerde, leptin reseptörleri yoktur veya eksiktir. NASH'te leptin seviyesi yüksekliği ve periferde leptin direnci gösterilmiştir (45). Leptinin glikoz metabolizmasında, fibrozis oluşumunda, ayrıca hepatosit rejenerasyonun steatozlu hayvan modellerinde düzenleyici etkisi gösterilmiştir (9, 45).

Adiponektin adiposit kaynaklı bir plazma proteindir ve insanda dolaşımdaki en fazla olan hormondur. Adiponektin konsantrasyonu ile obezite, hipertrigliseridemi, tip 2 diyabet, serum aterosjenik markırlar, apo B ve

apo E arasında ters oran vardır. Adiponektin obezite ve insulin direnci ile negatif ilişkidedir.

Adiponektin karaciğerde glukoneogenez inhibisyonunda insulin sensitivitesini artırır, lipogenezi ve TNF- $\alpha$  üretimini baskılar. Adiponektin NASH'e karşı koruyucu bir faktör olarak bilinir (46).

Adiponektin karaciğerde fibrozisi önleme etkisinin yanında, antiinflamatuvar etkiye sahiptir (47). NASH'li hastalarda hipoadiponektinemi gösterilmiştir (4). PPAR gamma (Peroxisome proliferator-activated receptor gamma), adipoz doku fonksiyonunda ve adipogenezisin regulasyonunda etkili nükleer bir reseptördür. Hipoadiponektinemi, PPAR gamma mutasyonu veya polimorfizmi ile ilişkilidir.

### **1.5. Klinik ve Laboratuvar Özellikleri**

NAYKH'lı hastaların çoğu asemptomatiktir. Hastaların çoğu tanı konulduğunda karaciğer hastalığı ile ilgili semptom ve bulgu göstermez. Karaciğer transaminazları yükseldiğinde ve başka nedenlerle uygulanan radyolojik testlerde veya biyopside karaciğer yağlanması gösterildiğinde tanı konulur. Bununla beraber hastaların büyük bir kısmında yorgunluk, kırgınlık ve sağ üst kadranda hassasiyet veya dolgunluk mevcuttur. Fizik muayene bulgularından ise en sık görülenler, obezite ve hepatomegalidir. Metabolik sendromla NAYKH yakın ilişkisi nedeniyle diyabet ve hiperlipidemiye sıklıkla rastlanır. Ancak normal kiloda ve eşlik eden bir hastalığı olmayanlarda da NAYKH rastanabilir. Diğer Karaciğer hastalıklarında olduğu gibi NAYKH; hikâyede alkol kullanımının olmaması veya az olması (20-30 gr/gün), fizik muayene, kan testleri, görüntüleme yöntemleri, steatozis yapacak ilaç kullanımı ve sistemik bir hastalığa bağlı anormal karaciğer fonksiyon testlerine sebep olacak bir nedenin olmaması ile şüphelenmek gerekir (23).

Hafif ya da orta düzeye yükselmiş AST veya ALT ya da her ikisinde yükselme en yaygın laboratuvar bulgusudur (22). Aminotransferaz düzeylerindeki artış karaciğerdeki fibrozis ile paralelik göstermemektedir. AST/ALT oranı genellikle 1'in altında olup, fibrozisin ilerlemesi ve siroz gelişimi ile oran 1'in üzerine çıkar (3). Olguların bir kısmında ALP ve GGT değerleri de yüksek düzeyde olabilir ve normalin üst sınırınının 2-3 katı civarına

yükselebilir (26). NAYKH bulunanlarda serum antinükleer antikor (ANA), anti mitokondriyal antikor (AMA) ve anti düz kas antikorlarından (ASMA) en az birinin bulunma oranı %23-36'dır (21). NAYKH hastaların %25-75'inde hiperlipidemi ve/veya hiperglisemi söz konusudur (26). Tanı anında hastaların %25'inde splenomegali bulunabileceği bildirilmiştir (48). Jinekomasti, telenjektazi, palmar eritem, spider anjiom gibi bulgular kronik karaciğer hastalığı gelişmeden görülmez. Kriptojenik sirozlu hastaların büyük kısmı, nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı olanlarla benzer klinik ve demografik özelliklere sahiptir ve bu da etiyolojide nonalkolik yağlı karaciğer hastalığının olduğunu düşündürür (8). Asit, varis kanaması ve hepatik ensefalopati dekompanse sirozu düşündürür. Sarılık geç evrede görülür ve ilerlemiş karaciğer yetmezliğini gösterir (42).

### **1.6 Görüntüleme Yöntemleri**

Noninvazif görüntüleme yöntemlerinden ultrasonografi (USG), bilgisayarlı tomografi (BT) ve magnetik rezonans (MR) hepatik steatozu saptayabilir. Tanıda en sık başvurulan radyografik yöntem USG'dir. Fakat bu metodların hiçbiri hastalığın evresi hakkında güvenilir bilgi veremez. USG, BT ile karşılaştırıldığında yağlı değişikliği saptamada daha duyarlı bulunmuştur. Tanıda sensitivitesi %94, spesifitesi %84'dür. Yağlı karaciğeri dışlamadaki negatif prediktif değeri %14-42 arasındadır (49). Yağdan korunmuş alan varlığı, tümoral oluşumları akla getirir ve BT veya MR gibi görüntüleme yöntemlerine ihtiyaç duyulabilir. BT %30 un altında steatoz varlığında duyarlılığı oldukça düşüktür. Steatoz oranı %30'un üzerinde olduğunda kontrastsız BT'nin sensitivitesi %82-93, spesifitesi %100'dür (50). MR'ın NAYKH'da sensitivitesi % 100, spesifitesi %92,3'dür (50). Kantitatif bir değerlendirme gerekliyse BT ve Proton manyetik rezonans spektroskopi (PMRS), USG'ye göre daha üstün olduğundan tercih edilmelidir (51). Noninvaziv olarak NASH tanısında ümit veren yeni bir yöntem kontrastlı USG'dir (52). Bu radyolojik testlerde sadece steatozisin yoğunluğunu göstermektedir. Karaciğer biopsisinde %33'den fazla yağ bulunması durumunda, radyolojik görüntü ile steatoz optimal düzeyde belirlenebilir (49). Klinik şüpheyi desteklemek ve histolojik evreleme yapabilmek için altın

standart olan yöntem karaciğer biyopsisidir (53). Histolojik evreleme, NAYKH hakkında önemli prognostik bilgiler sağlar, takip ve tedavi stratejilerinin belirlenmesi konusunda klinisyeni yönlendirir.

Ultrasonografik olarak steatozda, normalde portal venlerin kenarlarında görülen, Glisson kapsülüne ait ekojen görünüm kaybolur. Karaciğerin ekojenitesine komşu böbreğin korteksi ile karşılaştırma yapılarak karar verilir. Yağlı infiltrasyon, USG görünüm derecesine göre 3'e ayrılır. Bunlar:

1. Hafif yağlanma (Grade 1): Hepatik ekojenitede minimal diffüz artış; intrahepatik damarların kenarları ve diyafragma normalde olduğu gibi görülebiliyor.
2. Orta derecede yağlanma (Grade 2): Hepatik ekojenitede orta derecede artış; intrahepatik damarların kenarları ve diyafragma çok iyi görülemiyor.
3. Şiddetli yağlanma (Grade 3): Ekojenitede belirgin artış; karaciğer sağ lobunun posterior segmentinde sesin penetre olamaması veya hepatik damarların ve diyafragmanın görülememesi (54).
4. Manyetik rezonans görüntüleme yağlanma T1 ağırlıklı kesitlerde yüksek sinyal yoğunluğu olarak gözlenir. MRG esnasında fazla radyasyon yayılmadığından hastalarda seri çekim yapılabilir ve rutin kontrollerde kullanılabilir. Radyologlar tarafından MRG bulgularının yorumlanmasında USG ve BT'ye oranla patolojik tanı ile daha yüksek uyum olduğu da saptanmıştır (55). Ancak bu teknik pahalıdır ve sadece kısıtlı sayıdaki merkezde uygulanabilir. Tüm bu görüntüleme yöntemlerinden hiçbiri basit yağlanmayı enflamasyondan ayırt edebilecek özellikte değildir (56). Henüz karaciğer biyopsinin yerini tutabilecek invaziv olmayan bir teknik belirlenememiştir. Bu nedenle basit yağlanma ve NASH ayırımında serum

belirteçleri saptamaya yönelik çalışmalar devam etmektedir.

## **2. Metabolik Sendrom**

### **2.1. Tanım**

Metabolik sendrom, sendrom X ve insülin rezistans sendromu olarak da bilinen, kardiovasküler hastalık riskinin artışıyla ilişkili bir grup metabolik bozukluğun topluluğudur.

MS, son yıllarda NAYKH ile ilişkilendirilmektedir. İnsülin direncinin obezite, hipertansiyon ve hiperlipidemi ile ilişkisi mevcuttur. MS ile ilişkili insülin direnci, yağ asidi metabolizmasında hem artışla hemde anormalliklerle ilişkilidir. İnsülin direnci ve sonrasında serbest yağ asidi artışı bozulmuş glikoz toleransına ilaveten proinflamatuvar ve protrombotik durumların oluşmasına da katkıda bulunur (57). Bazı araştıracılar non-alkolik yağlı karaciğer hastalığının, metabolik sendromun karaciğerdeki bir belirtisi olduğunu düşünmektedir (58). MS tanısı için, son on yılda birçok farklı tanı kriteri oluşturulmuştur (59).

MS'li hastalarda kardiyovasküler hastalık ve diyabet riskinin artması dışında; polikistik over sendromu, NAYKH, safra taşları, astım, uyku bozukluğu ve bazı kanser formlarının da arttığı ileri sürülmektedir (60). 1998'de WHO, diyabet, glikoz intoleransı, bozulmuş açlık glisemisi veya insülin direnci ile beraber, hipertansiyon, dislipidemi (hipertrigliseridemi ve/veya düşük HDL), obezite veya mikroalbuminüriden en az 2'sinin bulunmasını metabolik sendrom olarak tanımlamıştır (61). Obezite için, BKİ veya bel/kalça oranı önerilmiştir. İnsülin direncini değerlendirmede, öglisemik klemp tekniği kullanılmışsa da, günümüzde açlık hiperinsülinemisi (15 mIU/L) veya HOMA indeksi alternatif olarak kullanılmaktadır. WHO kriterlerinin klinik uygulama için pratik olmaması nedeniyle, zamanla bazı değişiklikler önerilmiştir. Avrupa İnsülin Direnci Çalışma Grubu'nun (European Group for the Study of Insulin Resistance; EGIR) 1999'daki tanımlaması, insülin direncini temel unsur olarak alması açısından WHO tanımı ile benzerdir.

Farklı olarak, insülin direnci için açlık insülin düzeyi ölçümünü yeterli kabul eder (41, 62). 2001'deki Ulusal Kolesterol Eğitim Programı Erişkin Tedavi Paneli (National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III; NCEP-ATP III) raporunda ise, insülin direncine metabolik sendrom tanımında yer verilmemiştir. NCEP-ATP III'te açlık kan şekeri, kan basıncı, HDL, trigliserid ve bel çevresini içeren ve sık klinik ölçümlere dayanan kriterler tanımlamıştır (62). Uluslararası Diyabet Cemiyeti (IDF), 2005'te santral obeziteyi, metabolik sendrom patogenezindeki önemine dikkat çekerek, tanımlamanın merkezine almıştır (63).

İnsülin, sağlam endotelde, nitrik oksit (NO) yoluyla vazodilatasyon sağlar. İnsülin direncinde, azalmış NO, endotelin-1'in vazokonstriktif etkisini karşılayamadığı için arteriyel vazokonstriksiyon olur (63).

## **2.2. Metabolik Sendrom ve İnsülin Direnci**

İnsülin direnci, belirli bir konsantrasyondaki insülinin glukoz uptake'ini uyarma etkisinin azalmasıdır. İnsülin direncinde; insülinin karaciğer, kas ve yağ dokudaki bu etkilerine karşı direnç oluşarak hepatik glukoz sekresyonu bozulur. İnsülin direnci, tip 2 diyabet ve NAYKH'ın gelişiminde en çok rol oynayan faktördür. İnsülin direnci obezitede sık görülmekle birlikte; obez olmayan ve normal OGTT'si olan bireylerin %25'inde, esansiyel hipertansiyonlu hastaların da yine yaklaşık %25'inde saptanmıştır. İnsülin direnci polikistik over sendromlu kadınlarında yaklaşık üçte birinde görülen bir durumdur. Bu yüzden insülin direnci toplumda sık rastlanan ve yaygın bir fenomendir (64). Normal glukoz toleranslı bireylerde açlık insülin düzeyi >13 mU/mL olanların %74'ünde, >18 mU/mL olanların da tümünde insülin direnci saptanmıştır (64). İnsülin (pM) / glisemi (pM) oranı >22, Glisemi (mg/dL) / insülin (mU/mL) oranı <6, İnsülin (pM) / C-peptid (pM) oranı >0,1 bulunması hastada insülin direnci olduğunu göstermektedir (64). İnsülin direncinin kantitatif ölçümü için en duyarlı yöntem, öglisemik hiperinsülinemik klemp tekniğidir ancak kullanımının pratik olmaması nedeniyle bugün sıklıkla başka yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden biri olan "insülin direncinin değerlendirilmesinde homeostazis modeli" (HOMA-IR) indeksinin ölçümü en çok kullanılan yöntemler arasındadır. HOMA-IR indeksinin hesaplamasında



ölçüm hatalarını en aza indirmek için, açlık glukoz ve açlık insülin ölçümlerinin 5 dakika arayla 3 kez tekrarlanıp ortalamasının alınması önerilir. HOMA-IR= Açlık Plazma Glukozu (mmol/L)×Açlık Serum İnsülini (µU/L)/22.5 formülü ile hesaplanır. HOMA-IR değerleri 2,5'in üzerinde ise insülin direnci olarak kabul edilmektedir (65).

Obezitenin epidemik oranı ve DM, İR, kardiovasküler hastalık, NAYKH gibi komplikasyonlarında endişe verici artış önemli bir sağlık sorunudur. Çeşitli çalışmalarda adipoz doku ve karaciğerden kaynaklanan, kronik düşük dereceli sistemik inflamatuvar durumun obezite ilişkili komorbiditede kritik bir rol oynadığı kesin olarak gösterilmiştir (66). Artmış adipoz doku inflamasyonu, insülin bağımlı yolları bozarak insülin rezistansına ve yağ asitlerinin karaciğere yönelmesini artırarak karaciğer yağlanmasına yol açar. Bununla birlikte yağlı karaciğerin kendisi de inflamatuvar sitokinlerden TNF-α veya IL-6'nın üretimini artırarak lokal subakut inflamasyonu indükler. Bu da karaciğerde ve sistemik olarak insülin rezistansı ile sonuçlanır (67).

### 3. Endokannabinoidler

Endokannabinoidler ve reseptörlerinin, akut ve kronik karaciğer hasarının patogeneziinde, çeşitli basamaklarda anahtar rolleri vardır.

NAYKH'da tedavi yaklaşımı, günümüzde önemli bir sorun oluşturmaktadır. Çünkü henüz bu endikasyonla kullanılan, onaylanmış bir tedavi seçeneği yoktur. Güncel tedavi stratejileri, nekroinflamasyon ve karaciğer fibrozisinin progresyonunu engellemeyi hedeflediği kadar insülin rezistansını azaltmayı da amaçlamaktadır. Bu bağlamda endokannabinoid sistem modülasyonu potansiyel yeni tedavi yaklaşımı olarak görülmektedir.

Ayrıntılı bilimsel çalışmalar öncesi dönemde, Hint keneviri (marijuana ve haşhaş) bitkisi (*Cannabis sativa*) psikoaktif ve eğlence amaçlı olarak, geleneksel bir ilaç olarak kullanılmaktaydı (68). Ayrıca *cannibis sativa*'nın iştah açıcı etkisi mevcuttur (68). Esrarla ilgili araştırmalar, bitkisel kaynaklı kimyasal etken maddeleri olan fitokannabinoidlerin izolasyonları ve kimyasal

yapılarının aydınlatılmasıyla başlamıştır. Kannabinol, 1899 yılında esrar reçinesinden izole edilmiştir. *Cannabis sativa*, 60'dan fazla aktif madde içerir ve en aktif maddesi  $\Delta^9$ -tetrahidrokannabinol (THC)'dür (69). Sentetik  $\Delta^9$ -tetrahidrokannabinol (*dronabinol*) Amerika'da kemoterapiye ikincil gelişen emezisin tedavisinde ve AIDS'li hastalarda iştahı artırıcı ilaç olarak onay almıştır. *Sativex*, eşdeğer miktarda  $\Delta^9$ -tetrahidrokannabinol ve *cannabinodiol* içeren standardize edilmiş kannabis ekstrasıdır. Kanada'da multiple skleroz tedavisi için onay almıştır.

Endojen ligandlar ve endokannabinoid mediyatörler, hücrelerde depo edilmemekte ve hücre membranındaki lipid öncüllerden, spesifik stimülusa cevap olarak salınmaktadırlar (70).

Endokannabinoidler beyindeki çeşitli hücre tipi ve çeşitli periferik dokular tarafından üretilen lipid mediyatörlerdir. *Cannabis sativa*'ya (esrar, kenevir, marijuana, kannabis ) benzeyen çeşitli biyolojik etkileri mevcuttur.

### **3.1. Kannabinoid Reseptörleri**

Kannabinoid reseptörlerinin spesifik fonksiyonları, bu reseptörlerin selektif agonist ve antagonist subtiplerinin geliştirilmesi ile belirlenmiştir (62). Endokannabinoid sistem primer olarak 3 komponenti içermektedir. Bunlar endokannabinoidler, endokannabinoid reseptörler ve endokannabinoidleri metabolize eden enzimlerdir. İki ana kannabinoid reseptör belirlenmiştir. Bunlar Kannabinoid reseptör 1 (CB1-R) ve Kannabinoid reseptör 2'dir (CB2-R). 1990 yılında ilk kannabinoid reseptörü olan CB- R klonlanmıştır. 1992 yılında domuz beyinde endojen bir lipid olan araşidoniletanolamin (AEA=anandamid) keşfedilmiş ve CB1-R'lerine bağlandığı gösterilmiştir (31, 32, 71, 72). Bu reseptörlerin primer olarak kannabinoidlerin psikoaktif ve nöronal etkilerinden sorumlu olduğu gösterilmiştir.

THC ve sentetik analoglarının kendilerine özgü bir reseptörlerinin olduğu düşüncesi ilk kez sentetik kannabinoid agonisti [3H]CP-55940'ın sıçan beyin membranına yüksek afiniteli bağlanmasıyla gösterilmiştir. Bu bağlanma bölgesi G-proteiniyle kenetlenmiş (GPCR) bir reseptör olan CB1'dir (71). Daha sonrasında CB1 reseptörleri insan ve fare dokularından da klonlanmıştır (73, 74). Değişik türler arasında oldukça yüksek aminoasit

diziliş homolojisi olduğu gösterilmiştir. CB1 reseptörler beyinde yüksek oranda, periferel doku ve hücrelerde ise daha düşük oranlarda bulunmaktadır. Periferel dokularda ve immün sistemde yüksek oranda bulunan ve sonradan keşfedildikleri için CB2 reseptörleri olarak adlandırılan reseptörler ise makrofajlardan klonlanmıştır (75). İlk başta sadece periferel ait olduğu düşünülen CB2 reseptörler beyinde de tespit edilmiştir (76). Kannabinoidlerin iyi tanımlanmış psikoaktif etkilerinin yanında analjezik, antiemetik, vazodilatör, antiinflamatuvar ve iştah artırıcı etkileri de vardır (77).

CB2 reseptörleri ise özellikle immün sistem hücrelerinde olmak üzere, her iki reseptör de pek çok dokuda düşük düzeyde eksprese edilir (75). CB1-R'leri daha sonrasında bağırsak ve vasküler endotel hücrelerinde de izole edilmiştirler (71, 78, 79).

### **3.2. Endokannabinoidler ve Sinyal Yolakları**

Anandamid'in ilk endokannabinoid olarak tanımlanmasından sonra 1995 yılında yine bir araşidonik asit türevi olan ester yapısındaki 2-araşidonil gliserol (2-AG) gösterilmiştir (31, 32). Endokannabinoidlerden AEA, CB1 reseptörlerine selektif olarak yüksek afiniteyle bağlanan bir parsiyel agonisttir, ayrıca çok düşük afiniteyle CB2 reseptörlerine de bağlanıp antagonist gibi davranabilir (72, 80, 81). Diğer endokannabinoid 2-AG ise CB1 reseptörlere daha düşük afiniteyle bağlanmasına rağmen beyin ve diğer organlardaki oranının anandamide göre çok daha fazla olması ve reseptör üzerindeki etkinliğinin yüksek olmasından dolayı hem CB1, hem de CB2 tam agonistidir (82). CB1 ve CB2 reseptörleri 7-transmembranal segmentli G-proteiniyle kenetli reseptör ailesinin bir üyesidirler ve aralarında düşük bir sekans homolojisi bulunmaktadır. Kenetlendikleri başlıca G-protein alt tipi Gi/Gs'dır. Bu kenetlenme sonucunda adenilat siklazın inhibisyonuna sebep olurlar. Ayrıca yine aynı kenetlenme sonucunda kalsiyum kanallarının (N-, L-, Q- ve P/Q-tipi) inhibisyonu ve potasyum kanallarının aktivasyonuna yol açarlar (82). CB1 ve CB2-R'leri çeşitli intraselüler yolaklar üzerinden etki gösterirler. Kannabinoid reseptörler üzerinden mitojenle aktive edilen kinaz yolakları (MAP kinaz) ve fosfotidilinositol-3-kinaz (PI3K) yolağı da aktive edilir (83, 84). Bunların dışında bazı fosfatazların (protein fosfotaz-2b ve mitojenle aktive

edilen protein kinaz fosfotaz-1) aktivitelerinin düzenlenmesinde de kannabinoid reseptörleri görev alır (85). Nadiren de olsa bazı durumlarda kannabinoid reseptörleri, G-proteinlerinin Gs alt tipi ile kenetlenerek adenilat siklazın aktivasyonuna sebep olduğu da bulunmuştur (85). Sfingomyelinaz aktivasyonu ve nitrik oksit sentaz veya siklooksijenaz (COX-2) indüksiyonunu içeren ek G protein bağımsız yollar da belirlenmiştir. Kannabinoidler lipofilik özellikleri sayesinde G-protein bağımsız yollardan olan vanilloid reseptör gibi diğer reseptörleri de bağlayabilirler ve reseptör bağımsız etkilerini başlatabilirler. Ancak bu G protein bağımsız yolların biyolojik önemleri henüz belirlenmemiştir.

### **3.3. Endokannabinoidlerin Sentez ve Metabolizmaları**

Endokannabinoidleri klasik nörotransmitterlerden ayıran en önemli özelliklerinden birisi sentezlenip veziküllerde saklanmayıp, ihtiyaca göre membran lipitlerinden sentezleniyor olmalarıdır. Bir diğer önemli fark ise endokannabinoidlerin post-sinaptik terminallerde sentezlenip pre-sinaptik terminallerdeki reseptörleri üzerinden nöromodülatör etki göstererek ters yönde (retrograd) sinyal iletimini sağlamalarıdır. Anandamidin *in vivo* sentezi bir membran fosfolipid prekürsörü olan N-araşidonik fosfotidiletanolamidden fosfolipaz D tarafından enzimatik olarak katalizlenmesi sonucunda oluşur (86). 2-AG ise diacilgliserol lipaz tarafından diaçilgliserolden sentezlenir. İhtiyaca göre sentezlenip yıkılma özelliğine sahip olan endokannabinoidlerden anandamid yağ asidi amid hidrolaz enzimi (FAAH) tarafından yağ asidi ve etanolamine hidrolize edilir. FAAH enzimi *in vivo* olarak sadece anandamidin yıkılımına spesifik olup 2-AG'yi sadece *in vitro* ortamlarda yıkabilir. 2-AG'nin araşidonik asit ve gliserole hidrolizinden ise monoacilgliserol lipaz (MAGL) enzimi sorumludur (87).

### **3.4. Kannabinoid Reseptörlerinin Vücuttaki Dağılımları**

CB1-R ve endokannabinoidlerin beyindeki varlıkları santral sinir sisteminde, özellikle de beyinde CB1 reseptörlerinin dağılımları üzerine kapsamlı araştırmaların yapılmasına sebep olmuştur. CB1 reseptörlerinin santral sinir sisteminde ekspresyonunun algılama, kognitif, motor ve davranışsal fonksiyonları kontrol ettiği gösterilmiştir Yapılan otoradyografi, in-

situ hibridizasyon ve immünohistokimyasal çalışmalar CB1 reseptörlerinin beyinde özellikle serebral korteks, hipokampus, bazal ganglia ve serebellumda yoğun dağılımını göstermiştir. Hipotalamus ve omurilikteki dağılım düzeyleri ise daha düşüktür. İnsan da dahil olmak üzere sıçan ve maymun gibi diğer hayvan türlerinde yapılan otoradyografi çalışmaları genelde CB1 reseptörlerinin farklı türlerde benzer dağılımlar göstermesinin yanında özellikle insanlarda amigdala ve singulat kortekste daha yoğun bulunduğunu göstermiştir (87).

THC'nin oroksijenik özelliğine benzer şekilde endokannabinoidler de iştahı artırır. Endokannabinoidlerin, açlık süresince, santral mezolimbik ve hipotalamik düzeyleri artış gösterirler (88). Mezolimbik dopaminerjik yolak esas yolu oluşturur ve EKS ile yakın ilişki içersindedir (89). Hipotalamus enerji kullanımı ile ilişkili metabolik değişikliklere duyarlıdır. Periferik enerji alımı ve depolanmasını düzenler. Standart bir yemekte, Rodent hipotalamusundaki endokannabinoid üretimi, mezolimbik sistemdekine benzerdir.

Kannabinoid reseptör tip 1 mRNA'larının lokalizasyonları öncelikli ve yoğun şekilde santral sinir sisteminde ve periferik sinir sisteminde olmasına rağmen kalp, akciğer, prostat, testis, böbrek, böbreküstü bezleri, timus bezi, tonsiller, kemik iliği, dalak gibi periferdeki organlarda beyne göre daha az düzeylerde bulunmaktadır (90). Ayrıca CB1-R'lerinin periferik endotel hücrelerinde, yağ dokusunda, bağırsak ve karaciğer hücrelerinde varlığı saptanmıştır (8, 10, 78). CB2-R'leri, çeşitli periferik hücrelerinde, tonsillerde, dalakta ve testiste ekspresyon edilirler (91). Ayrıca hepatik miyofibroblast gibi diğer dokularda düşük seviyede varlıkları gösterilmiştir (13). Sinir sistemi bozuklukları, metabolik bozukluklar, alerji ve hipersensitivite gibi bozulmuş immünolojik cevap, kardiovasküler, gastrointestinal hastalıklar gibi çeşitli patolojik durumda endokannabinoid sistem sinyal bozukluğu olduğu gözlenmiştir. EKS'in enerji dengesinde, reproduktif fonksiyonlarda, visseral ağrı, inflamatuvar bağırsak hastalıklarıyla ilişkili immün, infamatuvar cevap ve vazoregülasyon gibi birçok periferik etkisi mevcuttur (32). Ayrıca CB1 reseptörleri; iskelet kasları, pankreas ve yağ dokularında da bulunur (92,

93). Endokannabinoid sistemin periferde özellikle obezite, diabet gibi patofizyolojik durumlardaki artan aktivasyonu, endokannabinoid sistemin terapötik yaklaşımlarda hedef olabileceğini göstermiştir (93, 94). Hayvan çalışmaları kannabinoid sistemin, obezite, yüksek yağlı diyet ve etanol gibi çeşitli ajanlarla yağlı karaciğer gelişimi arasındaki ilişkiyi göstermiştir. Son dönemdeki benzer insan çalışmaları da kannabinoidler ile hepatit C virüslü ve NAYKH'lı hastalardaki yağlı karaciğer arasındaki ilişkiyi ortaya çıkarmıştır (8, 12, 93, 95, 96, 97).

CB2-R'leri baskın olarak immün ve hematopoetik sistem hücrelerinde eksprese edilirler (32). Preklinik çalışmalarda CB2-R antagonistlerinin miyokard infarktında, ateroskleroz, kemik kütlelerinin regülasyonunda, kronik karaciğer hastalıklarında ve analjezik, antialerjik, olarak faydalı etkileri gösterilmiştir (31, 32, 34, 35, 98, 99, 100). Çeşitli çalışmalarda, Endokannabinoid sistemin, glioma, cilt tümörleri gibi çeşitli tümörlerin regresyonunu indüklediği, hepatit, nonalkolik karaciğer hastalığı, hepatik iskemi reperfüzyon hasarı ve karaciğer fibrozisi ve sirozu ile arasındaki ilişkisi gösterilmiştir (101, 102). Bütün bu çalışmalar birleştirildiğinde, CB1-R antagonistleri veya CB2-R agonistlerinin tedavide faydalı etkilerinin olabileceği düşünülmektedir (31).

### **3.5. Kannabinoid Reseptörlerin Farmakomodülasyonu**

Başlangıçta CB1-R antagonisti rimonabant, endokannabinoidlerin santral iştahı düzenleyen yollardaki pozitif etkileri ışığında, obezite tedavisinde geliştirilmiştir. Sonrasında CB1-R antagonizmasının sadece kilo kaybında rol almadığı aynı zamanda dislipidemi, insülin rezistansı ve diyabetin düzeltilmesi gibi birçok metabolik etkilerinin de olduğu saptanmıştır (103). Bu klinik veriler göz önüne alınarak, deneysel çalışmalar CB1-R antagonizmasının multiple periferik mekanizmada faydalı etkisini göstermiştir. Bu reseptörler enerji tüketiminin artırıp ve adipoz doku, karaciğer, iskelet kası, pankreasta kombine periferik etkilere katkıda bulunurlar (33, 95, 98, 104, 105). Rimonabant Avrupada yüksek kilo ve ilişkili olduğu kardiyometabolik bozuklukların tedavisi için onaylanmıştır. Malesef CB1-R antagonistlerinin santral sinir sistemindeki endişe verici yan etkileri nedeniyle piyasadan 2 yıl

sonra çekilmiştir. Santral yan etkisi olmayan periferik etkili CB1-R antagonistlerinin geliştirilmesi ilgi görmeye başlamıştır (106).

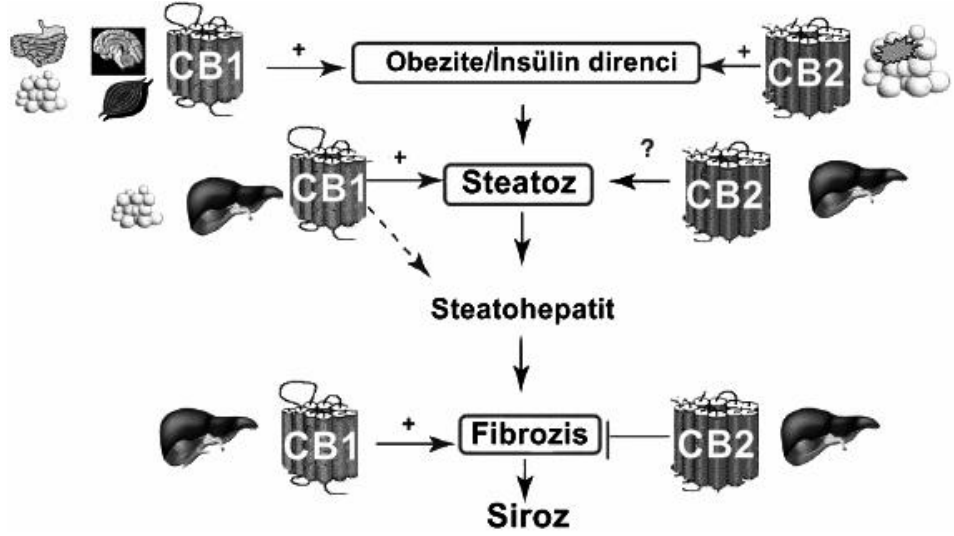
CB2-R agonistlerinin psikotropik yan etkileri olmaması önemli ilgi alanı olabilir.

### **3.6. Karaciğer Hastalıklarında Tedavi Hedefi Olarak Kannabinoid Reseptörler**

Alkol kullanımı, viral hepatitler ve non alkolik yağlı karaciğer hastalıkları, karaciğer parankiminde progressif fibrozis sonucu meydana gelen kronik karaciğer hasarının en yaygın sebepleridir. Son dönemdeki çalışmalar endokannabinoid sistemin kronik karaciğer hastalığı sürecinde yüksek derecede up regüle olduğunu ve karaciğer hasarı, karaciğer inflamasyonu, karaciğer rejenerasyonu ve fibrojenesi, portal hipertansiyon, sirotik kardiyomyopati ve hepatik ensefalopati gibi pek çok durum ve basamakta etkili olduğunu göstermiştir (24, 100, 107).

EKS'in çeşitli karaciğer hastalıklarının patogeneziyle yakın ilişkisi gösterilmiştir. Endokannabinoidlerle ilişkili olabilecek karaciğer hastalıkları veya komplikasyonları: Non alkolik steatohepatit, alkolik karaciğer hastalığı, hepatik ensefalopati, hepatik apopitozis, hepatik inflamasyon, fulminan karaciğer yetersizliği, kolestaza bağlı kaşıntıdır.

Fibrojenik hücreleri hedefleyen stratejiler, büyüme inhibitörleri ve proapoptotik bileşenler aracılığıyla fibrozis azaltılmasını; ayrıca extraselüler matriks sentezinin inhibe edilip yıkımının artırılmasını hedeflemişlerdir. Ek olarak, parankimal hasarın inhibisyonu veya karaciğer inflamasyonunun azaltılmasının bazı faydalı antifibrogenik etkileri olduğu gösterilip, endokannabinoid sistemin antifibrotik tedavide yeni hedef olarak umut vaat edebileceği belirtilmiştir.



**Şekil-1:** NAYKH'ın tedavisinde yeni tedavi hedefi olarak CB1 ve CB2 reseptörleri (5).

### 3.7. NAYKH Patogenezinde Kannabinoid Sistemin Rolü

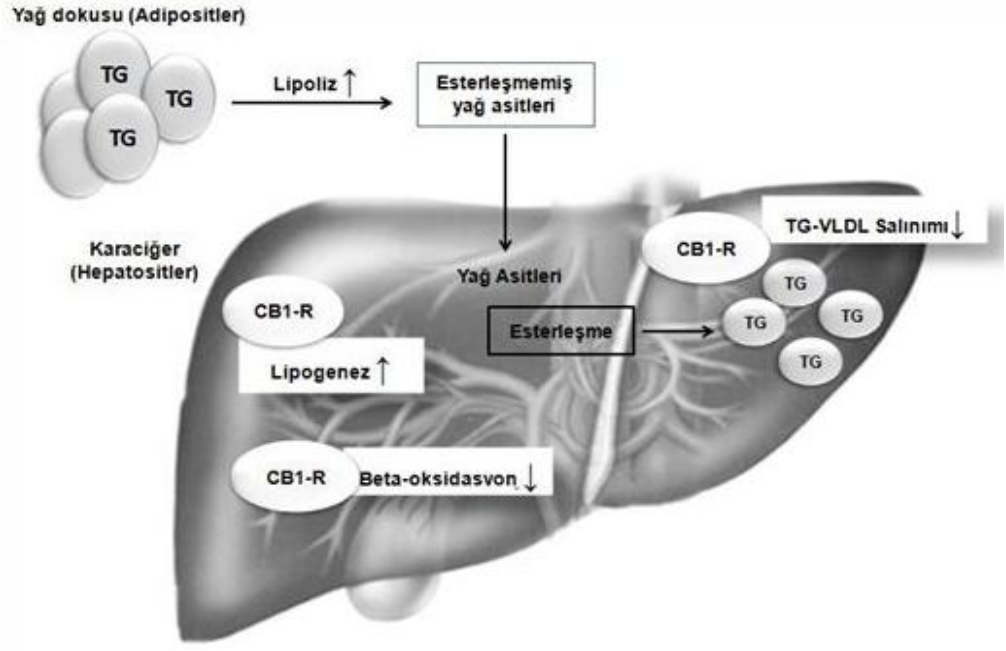
Hezode ve ark. (36) günlük kannabinoid kullanımının kronik HCV'li hastalarda fibrozis progresyonunda bağımsız bir risk faktörü olduğunu göstermiştir. Steatozdan NASH'a progresyon mekanizması tam olarak anlaşılammıştır ve multifaktöryel olarak görülmektedir. Çalışmalar yağ dokusundan kaynaklanan lipotoksik yağ asidi metabolitlerinin veya de nova yağ asidi sentezinin NAYKH sürecinde rol oynadığına dikkat çekmiştir (108). Adipoz doku ve karaciğerde makrofajların birikerek sitokin üretiminde artış meydana gelmesi hasarın ilerlemesine neden olmaktadır.

Kronik karaciğer hastalıklarının tedavisinde, kannabinoidler hedef olarak görünmektedir. NAYKH obezite ve metabolik sendromla yakından ilişkilidir ve sirozun sebepleri arasında giderek artış göstermektedir. NAYKH'da CB1-R'leri önemli mediyatörlerdir. Son dönemde deneysel prelinik çalışmalarda yüksek yağlı diyet verilerek oluşturulan obez modellerde, CB1-R'lerinin aktivasyonunun, steatozu artırdığı gösterilmiştir. CB1-R aktivasyonu santral yollarla iştahı artırırken, hepatosit ve adipositlerde var olan CB1-R'leri periferik lipogenik etkileri düzenlerler (42). CB1-R'lerinin steatojenik ve profibrogenik özelliklerinin olması CB1-R antagonistlerinin, NASH'lı hastalarda faydalı etkisi olabileceği fikrini öne



sürdürmüştür. CB1-R'leri portal hipertansiyon gelişiminde de rol oynamaktadırlar. Deneysel olarak oluşturulan siroz modellerinde endokanabinoidlerin CB1-R'lerini etkileyerek splanknik vazodilatasyona neden olduğu ve sirozlu hayvanlarda portal basıncı artırdığı gösterilmiştir. Bu sonuçlar CB1-R antagonistlerinin, kronik karaciğer hastalıklarının progresyonuna neden olan birçok basamakta, faydalı olabileceğini göstermektedir.

CB1-R'leri metabolik steatoza, insulin ve leptin rezistansına neden olur. Yüksek yağlı diyete cevap olarak, hepatositlerde CB1-R'leri güçlü bir şekilde up-regule olduğu ve yağ asidi amid hidrolazın inhibisyonu sonucu endojen ligand olan anandamidin karaciğerde üretimi arttığı gösterilmiştir (10). Karaciğere spesifik CB1-R'leri delesyona uğratılan farelerin, sadece diyetin indüklediği steatoz ve dislipidemiden değil, aynı zamanda insülin ve leptin rezistansından da korunduğu belirlenmiştir (93). Farelerin hepatositlerinde CB1-R'leri değerlendirildiğinde, bu reseptörlerin yağ asiti  $\beta$ -oksidasyonu inhibe ederek lipogenezin arttığı hepatositte TG üretimi ve VLDL formunda kana salımının inhibisyonu (VLDL-TG) aracılığıyla steatoza neden olduğu saptanmıştır (10, 11, 93). CB1-R antagonisti olan Rimonabant (SR141716A) gibi tüm bu yolları bloke eden AM6545, periferik CB1-R antagonistedir (109). Yüksek yağlı ve yüksek şekerli diyetle beslenen farelerde adipoz dokudaki CB1-R'leri, serbest yağ asitlerinin karaciğere yönlendirilmesine sebep olup aynı zamanda TNF- $\alpha$  ekspresyonunu artırır ve metabolik steatozise katkıda bulunur (110). Adipoz dokuda CB1-R bağımlı TNF ekspresyonu karaciğerde potent antiinflamatuvar sitokin olan adiponektinin sekresyonunun azalmasını sağlar (111). Bu veriler ışığında genetik olarak obezleştirilmiş ratlarda Rimonabant uygulanmasının, karaciğer infalamasyonunda anlamlı azalma sağladığı gösterilmiştir (95). Hepatosit CB1 reseptörleri NASH sürecinde hepatoselüler hasara katkıda bulunur. Çünkü obez farelerde başlangıçta yüksek olan transaminazlar Rimonabant tedavisi sonrasında normale gelmiştir (95). Bu etki karaciğere özgü CB1-R'leri delesyona uğratılmış farelerde de izlenmiştir (93).



**Şekil-2:** CB1 reseptörleri metabolik steatoza katkısı (5).

### 3.8. Steatoz Gelişiminde Kannabinoidlerin Rolü

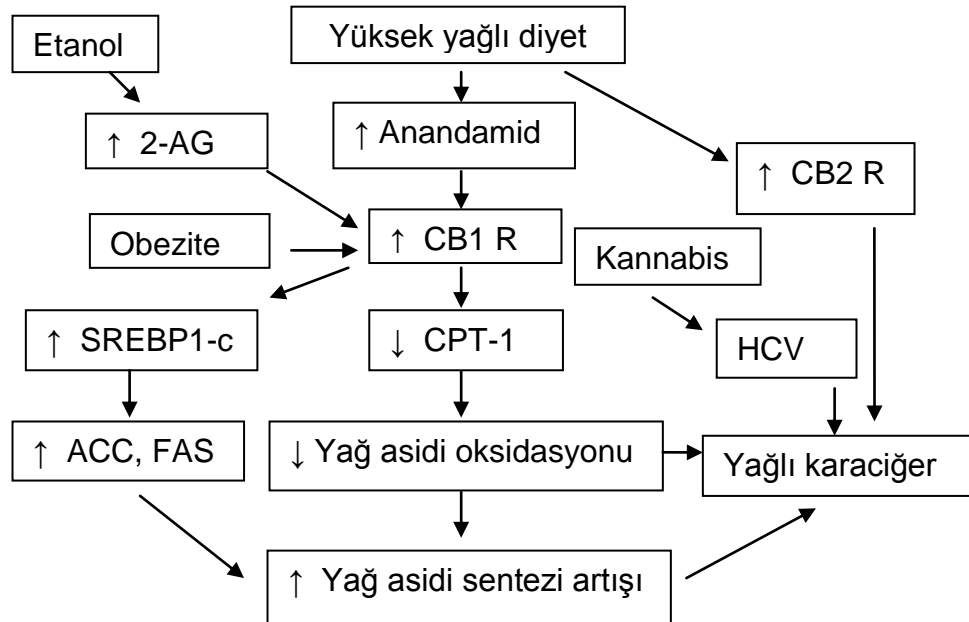
Yağlı karaciğer hastalıklarının patogenezi endokannabinoid sisteminin rolü son dönemde gösterilmiştir. Endokannabinoidler enerji dengesi, yemek alımı ve lipogenezde esansiyeldirler ve bu homeostazis de bozulma çeşitli metabolik bozuklukla sonuçlanır. Enerji homeostazisinde CB1-R'lerin beyinde bulunan santral kontrol bölgesi, CB1 reseptörlere bağımlı olan, adiposit, karaciğer dokusu ve iskelet kasında lipid metabolizmasını düzenler (7). Sonuçta lipogenik transkripsiyon faktörleri ve enzimlerin aktivasyonu sonucu yağ sentezi artışı oluşur. Yağdan zengin diyet karaciğer dokusunda CB1-R ekspresyonunu ve anandamid miktarını artırır sonuçta metabolik bozukluk meydana gelir. Yağlı karaciğerde öne sürülen mekanizmalardan bazıları şunlardır: lipogenik transkripsiyon faktör sterol regüle edilebilir element-bağlayıcı protein 1c (SREBP1c) ve lipolitik transkripsiyon faktör peroksizom proliferatör aktive reseptör alfanın fonksiyonunun bozulması adiponektin düzeylerinde azalma, AMP ile aktive olan protein kinaz aktivitesinin inhibisyonu, insülin rezistansı, interlökin 6 eksikliği, kompleman 3 düzeylerinde artış ve diğer faktörlerdir (112, 113, 114).

CB1-R aktivasyonu, hepatik lipogeneze ek olarak, yağ asidi  $\beta$  oksidasyonunda hız kısıtlayıcı enzim olan hepatik karnitin palmitoil transferaz (CPT1), aktivitesini modüle ederek hepatik yağ asidi oksidasyonunu regüle eder. Yüksek yağlı diyetle CB1-R aktivasyonu, CPT-1 aktivitesini azaltarak yağ asidi oksidasyonunu azalmasına bu da yüksek yağlı diyet ilişkili steatozise neden olur.

Selektif CB2-R agonistlerinin inflamatuvar hücrelerin endotele migrasyonunu, adezyonunu ve aktivasyonu azaltarak inflamatuvar cevaba karşı koruyucu olabileceği belirtilmiştir. Osei-Hyiaman ve ark. (10) CB1-R'lerin yağlı karaciğer oluşumunda etkilerini araştırmışlardır. CB1-R'lerinin aktivasyonunun NASH'la ilişkili inflamasyona ve karaciğer hasarına neden olduğu görüşünü öne sürmüşlerdir (33, 106, 115, 116). CB1-R delesyona uğratılan farelerin yüksek yağlı diyetle beslenmesi sonrasında, fareler obez hale gelmesine rağmen insülin rezistansı, steatozis ve dislipidemiden korunduğu belirlenmiştir (93). CB1-R'leri global olarak delesyona uğratıldığında, fareler yüksek yağlı diyetle beslenmelerine rağmen tamamen obeziteye ve yağlı karaciğer gelişimine karşı dirençliyken; karaciğere özgül CB1-R'leri delesyona uğratıldığında ise obezite gelişmiş ve karaciğerde çok hafif TG birikmiştir. Burada trigliserid birikimi yağın periferel adipoz doku veya organlardan transferi yüzünden olabileceği belirtilmiştir (93, 96, 110). Bu veriler birlikte ele alındığında, CB2-R'leri için her ne kadar deliller çok az olsa da, CB1 ve CB2-R'lerinin her ikisinin de yağlı karaciğer gelişimine katkıda bulunabileceği görülmektedir. Genetik olarak obezleştirilen fa/fa fareler, CB1-R antagonisti olan Rimonabant'a maruz kaldıklarında hepatik steatozun gerileyip, hepatomegalinin kaybolduğu ve insülin sensitivitesinin düzeldiği saptanmıştır (95).

AM6545 kısıtlı beyin penetrasyonu olan CB1-R antagonistidir (109, 117). AM6545 uygulanan farelerde steatozisin reversible olduğu ve dislipidemi ve glisemik kontrolü düzelttiği gözlenmiştir. İn vivo ve in vitro çalışmalar AM6545'in karaciğer ve yağ dokusundaki TG birikimini azalttığını göstermiştir (109).

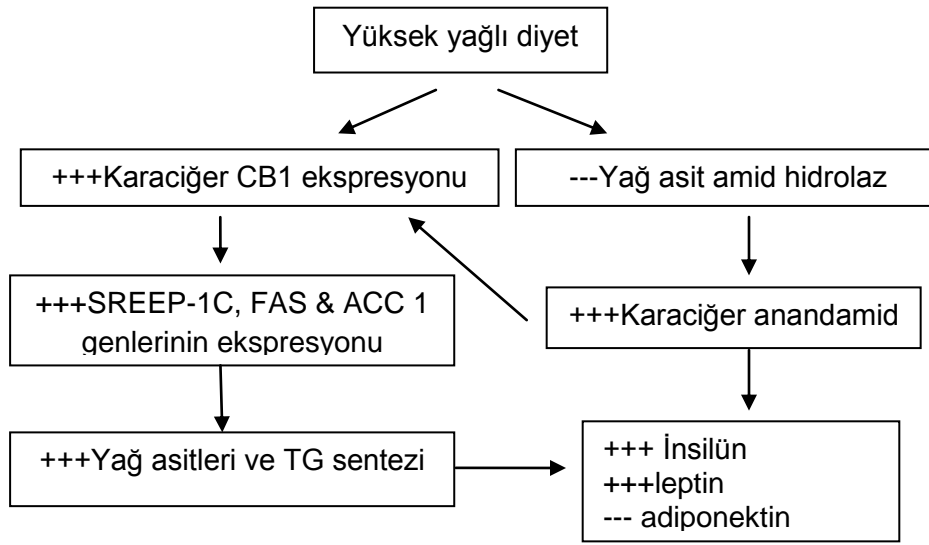
CB1-R'lerinin aktivasyonu lipogenik transkripsiyon faktörü olan SREBP1-c'nin ve hedef enzimleri olan asetil koenzim-A karboksilaz (ACC) ve yağ asidi sentaz (FAS)'ın upregülasyonu ile sonuçlanır. Bu denova yağ asidi sentezini artırıp, yağ asidi  $\beta$  oksidasyonunu azaltır ve yağlı karaciğer gelişiminde önemli rol oynar (93, 96). Yüksek yağlı diyet, CB1-R aktivasyonuna ek olarak CB2-R aktivasyonuna da neden olur. Bu da yağlı karaciğer gelişimine katkıda bulunur. NAYKH'da CB2-R aktivasyonu yağlı karaciğer gelişimi ile ilişkilidir (10, 15, 118). Hepatit C'li hastalarda kannabinoid kullanımı yağlı karaciğerin ciddiyetini artırır. CB2-R aktivasyonu da yağlı karaciğer gelişiminde rol oynuyor gibi görünmektedir (15, 97)



**Şekil-3:** Kannabinoidler ve yağlı karaciğer arasındaki ilişki (literatür 118'den modifiye edilerek).

Osei-Hyaiman ve ark.'nın (10) çalışması baz alınarak endokannabinoid sistemin NASH'da tedavi hedefi olabileceği fikri öne sürülmüştür. Obez kişilere 2-AG düzeyinin zayıf olanlara göre artmış olduğu saptanmıştır (119, 120, 121). NAYKH'lı olan 9 aşırı kilolu kadında yapılan bir çalışmada, splanknik endokannabinoidlerin düzeyi ile steatozisin derecesi arasındaki ilişki analiz edilmiştir (122). Açlıkta arteryal ve hepatik venöz 2-AG düzeyi ile karaciğer yağlanması arasında pozitif bir ilişki olduğu saptanmıştır

(122). ADAGIO-lipit çalışmasında abdominal obezitesi ve hiperlipidemisi olan 800 hasta değerlendirilmiştir (123). Bu çalışmada BT'de yağ dağılımını gösterilmiş ve Ribomanat ile visseral yağ dokusunda subkutan yağ dokusuna göre daha fazla kayıp sağlandığı ve karaciğer yağlanmasını azalttığı ilk kez gösterilmiştir (123). Steatozun patogenezi ile endokannabinoid sistem arasında nedensel rolün olduğu belirtilmiştir (124). Kronik hepatit C'li hastalarda günlük kannabinoid kullanımının ciddi steatozis için bağımsız prediktör olduğu belirlenmiştir (97).



**Şekil-4:** Karaciğer lipogenezinde endokannabinoidlerin rolü.

(+++): stimülasyon/artış.(---): inhibisyon/azalış. (Litaretür 124'ten modifiye edilerek).

Yağ asidi amid hidrolaz, anandamidi parçalayan enzimdir. SREBP-1c, asetil koenzim-A karboksilaz (ACC1) ve yağ asidi sentaz (FAS), hepatositte lipogenezi indükleyen, lipogenik transkripsiyon faktörleridir.

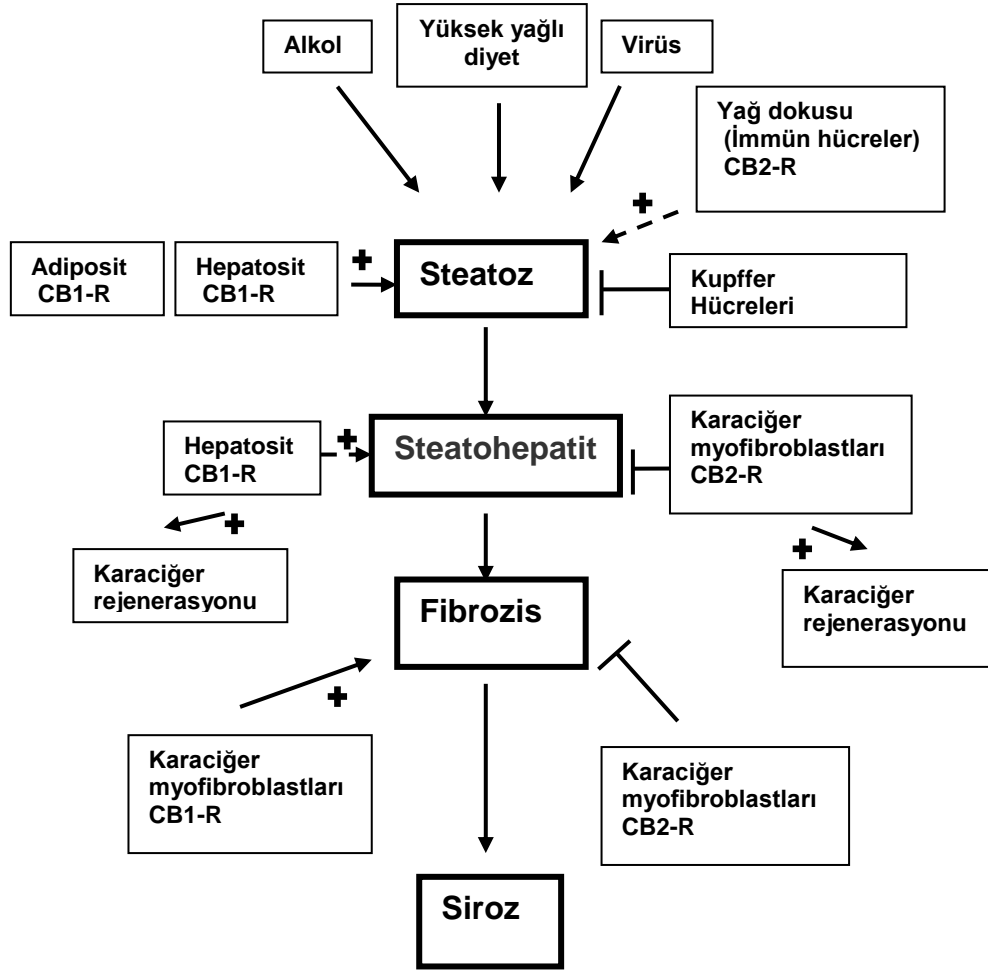
Etanole maruziyet, fare hepatik stellat hücre kültüründe 2-AG ve kannabinoid reseptörlerinin üretimini artırırken, yüksek yağlı diyet fare karaciğerinde anandamid üretimini artırır (8, 96). Diğer organlarda da benzer endokannabinoid artışı saptandığı rapor edilmiştir. Yüksek yağlı diyetin, fare iskelet kası, kalp ve böbreğinde anandamid ve/veya 2-AG'nin seviyesini artırdığı gösterilmiştir. Etonolle ve yüksek yağlı diyetle artan hepatik endokannabinoid düzeyleri muhtemelen kannabinoid reseptörlerini aktive

edip karaciğer yağlanmasına neden olurlar (52). CB1-R'leri çıkarılmış fareler etanol veya yüksek yağlı diyetin indüklediği yağlı karaciğere rezistanstırlar (8, 93, 96). Rimonabant Farelerde yüksek yağlı diyetle indüklenen karaciğer SREBP1c, ACC ve FAS ekspresyonunu (93) bloke ederek yağlı karaciğer gelişimini durdurur (8, 95, 96). Hepatosit CB1-R'leri spesifik olarak delesyona uğratılan fareler alkolün indüklediği yağlı karaciğere karşı rezistandırlar (52). CB1-R ile yürütülen steatogenezisin mekanizmasında karaciğer yıldız hücrelerinde 2-AG üretiminin arttığı ve bunun da komşu hepatositlerde CB1-R'lerinin parakrin aktivasyonuna neden olduğu saptanmıştır. CB1-R aktivasyonu da lipogenezin aktivasyonuna ve yağ asidi oksidasyonunun inhibisyonuyla sonuçlanır (52). Bu sonuçlar CB1-R antagonizmasının alkolik yağlı karaciğer gelişimini azaltabileceğini desteklemektedir.

CB2 reseptör aktivasyonu alkolün indülediği inflamasyon ve yağlı karaciğeri azaltır.

Alkole maruz kalan farelerde CB2-R'lerinin endojen veya ekzojen aktivasyonu kupfer hücrelerinin proinflamatuvar M1 fenotipine dönüşümünü ve TG'lerin hepatositlerde birikmesini önler (125). İn vitro deneyler, CB2-R aktivasyonun, makrofajların proinflamatuvar M1'e dönüşümünü önlerken antiinflamatuvar olan M2 fenotipine dönüşümünü regüle ettiği göstermiştir (125). Kupfer hücrelerinin CB2-R selektif ajanisti JWH-133'e maruziyeti, NF-kB inhibisyonu aracılığıyla lipopolisakkaritlerle oluşan proinflamatuvar cevabı önler. Makrofaj CB2-R aktivasyonu ile hepatosit steatogenezisi arasında sebepsel bir ilişki mevcuttur. Alkolik karaciğer hastalığında CB2-R'leri etkilerini hepatik inflamasyonu ve steatozu, otokrin ve parakrin etkilerle kısıtlayarak gösterirler (126). Bu çalışmalar, CB2-R agonistlerinin alkolün indüklediği karaciğer hasarına yaklaşımda potansiyel olarak ümit verici olabileceğini göstermiştir (127).

Endokannabinoidler aynı zamanda CB1 ve CB2-R bağımsız yollarla da fibrojenik yolları regüle ederler. Fibrojenik hücre kültüründe AEA ve 2-AG'ün apoptotik etkisi CB1 ve CB2-R antagonizması ile bloke edilememesi bağımsız yolları desteklemektedir (13).



**Şekil-5:** Karaciğer hastalıkları ve endokannabinoid sistem (Literatür 126'ten modifiye edilerek).

### 3.9. Yağ Dokusundaki CB2-R'lerin NAYKH'a Katkısı

Yağ dokusundaki CB2-R'lerinin proinflamatuvar etkileri NAYKH patogenezinde katkıda bulunur. Obezitenin tetiklemesi sonucu oluşan düşük derecede adipöz doku inflamasyonunun İR'nin oluşmasına ve NAYKH'a katkıda bulunduğu gösterilmiştir (128). CB 2-R'lerinin doğuştan bağışıklıkta kuvvetli düzenleyici etkilerinin olması nedeniyle, adipöz doku inflamasyonu, metabolik sendrom, İR ve obeziteye sekonder oluşan NAYKH ile olan ilişkileri araştırılmıştır (34). Leptin eksikliği olan ob/ob farelerin yüksek yağlı diyetle beslenerek bu farelerde yağlı karaciğer ve insülin rezistansı oluşturulmuştur. Bu obez fareler incelendiğinde, adipöz dokularının stromal vasküler alanında CB2-R'lerinin belirgin şekilde up-regüle olduğu ve inflamasyona neden oldukları gösterilmiştir (129). Obez farelere CB2-R agonisti olan JWH-133

verildiğinde, İR ve steatozin arttığı, tersine CB2-R eksik farelerde ise insülin duyarlılığında artış ve karaciğer yağlanmasına direnç saptanmıştır (45).

### **3.10. Yağlı Karaciğer Gelişiminde CB2- R'lerin Rolü**

Karaciğerdeki CB2-R ekspresyonu, yağlı karaciğer ve steatohepatitle karakterize NAYKH'da araştırılmıştır (15). Bu çalışmada, CB2-R'ler steatoz ve steatohepatitli tüm karaciğer örneklerinde upregüle olmuştur. Reseptörlerin spesifik olarak hepatositler, kolanjiositler ve hepatik stellat hücrelerde lokalize olduğu saptanmıştır. Normal kişilerden elde edilen karaciğer örneklerinde ise bu reseptörler saptanmamıştır. Yağlı karaciğerde CB2-R ekspresyonunun olup, normal karaciğerde olmaması; obezite, insülin rezistansı, tip 2 DM ve hipertriglisemi ile ilişkili NAYKH'da CB2-R'lerinin aktive olduğunu göstermiştir (15). Diğer bir çalışmada, yüksek yağlı diyetle beslenerek yağlı karaciğer oluşturulan farelerde, CB2-R'lerinin rolleri araştırılmıştır Bu çalışmada 15 hafta süreyle yüksek yağlı diyetle beslenme wild tip farelerde histolojik olarak ciddi karaciğer yağlanması gelişmiştir. Tersine karaciğer CB2-R çıkarılmış farelerde minimal hepatik steatozis saptanmıştır. Bu sonuçlara uyumlu olarak CB2-R agonistinin (JWK-133) uygulanması, 6 hafta süreyle yüksek yağlı diyetle beslenen wild tip farelerde karaciğerde trigliserid birikimini artırmıştır. Bu da CB2-R aktivasyonunun yüksek yağlı diyetin indüklediği yağlı karaciğerde aracı rolünü göstermiştir (129).

### **3.11. Son Dönem Karaciğer Hastalıklarında Kannabinoid Sistemin Rolü**

EKS'nin, son dönem karaciğer hastalıklarında, hepatik ensefalopati ve portal hipertansiyon, splanknik vazodilatasyon, relatif periferik hipotansiyon, sirotik kardiyomyopati gibi vasküler etkilere katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Endokannabinoidlerin hepatik ensefolopatide nöroprotektif rolü olduğuna dair kısıtlı ancak güvenilir veriler mevcuttur. Fulminan karaciğer yetersizliği sürecinde 2-AG düzeyleri karaciğer hasarına cevap olarak beyinde artış gösterir. CB1-R antagonisti olan SR141716A (Rimonabant) ve CB2-R agonisti olan HU308'in uygulanması nörolojik skorda başarılı bir iyileşme sağlamıştır. Bu yüzden CB1 ve CB2-R'lerine spesifik ekzojen



kannabinoidlerin kullanılması karaciğer hastalıklarına sekonder oluşan nörolojik bozuklukların tedavisinde faydalı etki sağlayabilir (130). Wild tip farelerin THC ile maruziyeti sonucunda oluşan CB2-R'lerinin stimülasyonu, nörolojik sistemde yağ asidi oksidasyonu ve karaciğer ile iskelet kasına glukoz alımını sağlayan adenosin monofosfat kinaz (AMPK)'ın aktivitesinde artış saptanmıştır. Bu etki CB2-R eksik farelerde saptanmamıştır (130).

Son dönem karaciğer hasarında oluşan birçok vasküler hemodinamik etki karaciğer yetersizliğinde kötü prognoza neden olur. Karaciğer sirozu sonucunda portal akımda direnç oluşması portal basınçta artışa neden olur. Splanknik arteriyel vazodilatasyon, hem arteriyel hipotansiyona hem de mezenterik arterden kan akımının artışına neden olarak portal hipertansiyonun istenmeyen etkilerine neden olur. Bu vasküler etkilerin, endokannabinoid sistem ve vasküler endotel CB1-R'lerinin endokannabinoidlerle uyarılması sonucu meydana geldiği ve sirotik karaciğerin hepatik arteriyel endotel hücrelerinde de CB1-R'lerinin upregüle olduğu gösterilmiştir (131).

Endokannabinoidlerin karaciğerdeki ve vasküler etkileri çelişkili ve aynı zamanda komplekstir.

### **3.12. Karaciğer Fibrojeninde CB1 ve CB2 Reseptörlerinin Zıt Etkileri**

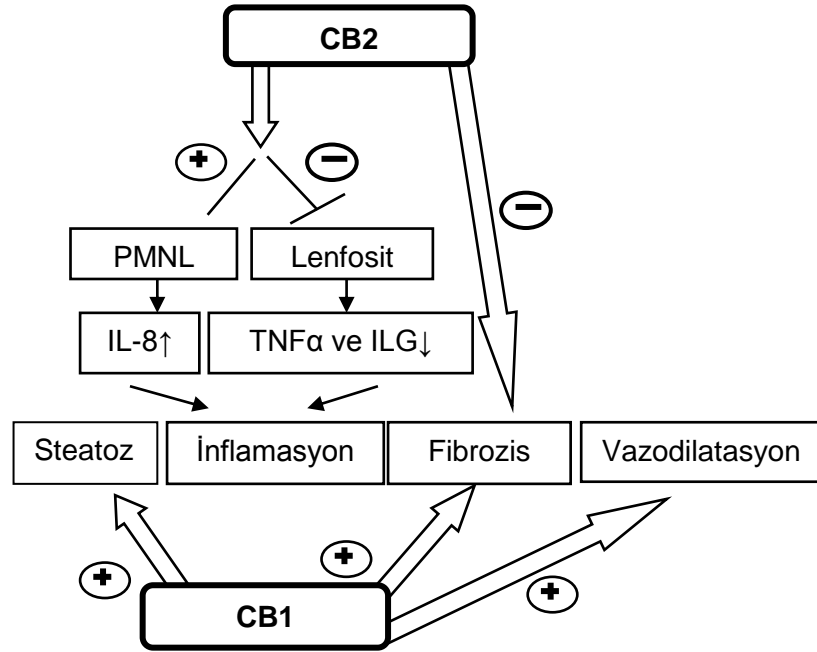
Daha önceleri karaciğer fibrozisinin irreversible olduğu düşünülürdü. Son dönemde, çeşitli sebeplerle oluşan karaciğer hasarında fibrozisin, yara iyileşmesinde, aktif ve potansiyel olarak reversible bir süreç olduğu düşünülmektedir. Kronik karaciğer hasarı sürecinde karaciğer yıldız hücreleri, myofibroblast benzeri hücrelere transforme olarak aktive olurlar (132). Bu transformasyon boyunca, profibrotik ve proinflamatuvar süreçte rol almak üzere, fonksiyonel ve morfolojik olarak, kontraktil  $\alpha$  aktin pozitif hücrelere dönüşürler (133). TGF- $\beta$  ve PDGF, karaciğer yıldız hücrelerini aktive eden spesifik mediyatörlerdir. PDGF karaciğer yıldız hücrelerinin proliferasyon ve migrasyonunu regüle eder. TGF-  $\beta$  en potent profibrotik sitokindir ve reseptörleri aracılığı ile etki eder. Ekstraselüler matriks

komponentleri ve sentez-degradasyon sürecinde dengenin bozulmuş olması progressif karaciğer fibrozisine neden olur. Böylece bu komponentlerinin sentezinin inhibisyonu ve parçalanmasının artması, karaciğer miyofibroblast aktivitesinin azaltılması ile fibrozisin azaltılması sağlanabilir. Klinik veriler, ileri evre karaciğer fibrozisinin bile inhibe edilebileceğini ve geri çevrilebileceğini göstermiştir (134). Ancak klinik pratikte kullanılabilecek, antifibrotik aktiviteli bileşiklerin hala araştırılması gerekmektedir.

CB1-R sinyal aktivitesi profibrogeniktir ve CB1-R antogonistlerinin terapötik uygulamada faydasını gösterir. Rimonabant ile tedavi edilen veya CB1-R çıkarılmış fareler de hepatik fibrogenik özelliği olan TGF- $\beta$  gibi sitokinlerin ekspresyonunda ve fibrogenik hücre miktarında azalma saptanır. CB1-R selektif antagonistlerinin antifibrogenik özellikleri hepatik miyofibroblastlar üzerindeki antiproliferatif ve apoptotik özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Ayrıca diğer CB1-R antagonisti olan AM251'in de antifibrotik özelliği, yüksek yağlı diyetle oluşturulan NASH ve safra kanalı bağlanarak siroz oluşturulan ratlarda gösterilmiştir (135, 136). Bütün bu veriler CB2-R agonistleri ve periferik CB1-R antagonistlerinin, karaciğer fibrozisine karşı tedavi yaklaşımında fayda sağlayabileceğini göstermektedir.

Karaciğer fibrozisinin regülasyonunda endokannabinoid sisteminin major etkisi desteklenmiştir. Sirotik karaciğerdeki miyofibroblast hücrelerinde, CB1 ve CB2-R'lerinin, ekspresyonu belirgin şekilde yüksektir. CB1 ve CB2-R'leri sırasıyla potent pro- ve anti-fibrogenik rol oynarlar (95, 13, 102, 119, 137, 138). CB2 reseptörlerinin antifibrogenik özellikleri, karbontetraklorüre maruz kalan CB2-R'leri delesyona uğratılmış farelerde gösterilmiştir. Bu farelerde, wild tip farelere göre, karaciğer fibrogenik hücrelerinin karaciğerde birikiminde ve fibrozisde artış saptanmıştır (119). Bu bilgiler ışığında bir sonraki çalışmada, sirozlu ratlarda CB2-R agonistlerinin iyileştirici özelliklerini göstermiştir (36). Üç deneysel modelde gösterildiği üzere, rimonabant uygulanması veya genetik olarak CB1-R inaktivasyonu fibrozis progresyonunu anlamlı derecede azaltır (138). CB1-R antagonizmasının potansiyel antifibrotik özelliği 9,5 ay gibi uzun süreli yüksek yağlı diyetle beslenmiş murin modelinde dökümente edilmiştir. Bunlarda NASH histolojik

özelliklerinden steatozis, inflamatuvar hücre odağı, fibrozisin iyileştiği görülmüştür (102). Bu hayvanlarda, Rimonabant steatohepatit başladıktan sonra uygulandığında kontrol gruplarına göre fibrozisin progresyonunu azaltmıştır. Bu deneysel bulgular klinikte, HCV ile enfekte kişilerde esrar kullanımının fibrozisin ciddiyeti üzerindeki etkisini değerlendiren epidemiyolojik çalışmalarla konfirme edilmiştir. Bu çalışmalarda günlük esrar kullanımının fibrozisin ciddiyeti için bağımsız bir prediktör olduğu ve CB1-R sinyalinin kronik hepatit C sürecinde CB2-R'den daha baskın olduğu desteklenmiştir (6, 97). Preklinik modellerde, CB2-R aganist ve CB1-R antagonistlerinin farklı mekanizmalarla, karaciğer fibrozisinde çeşitli faydalı etkilerinin olduğu, sekonder inflamatuvar cevapta da kısmen de olsa düzenleyici oldukları gösterilmiştir (6, 139). Malesef, CB1-R antogonistlerinin beyine geçişleriyle oluşan psikiyatrik güvenilirlik sorunu nedeniyle, antagonist ve invers agonistlerle ilgili klinik çalışmalara son verilmiştir (5)



**Şekil-6:** Kronik karaciğer hastalıklarının patogeneğinde endokannabinoidlerin etkisi. (+): stimülasyon. (-): inhibisyon (Literatür 14'ten modifiye edilerek).

Ayrıca araştırmacılar CB2-R'lerin fibrogenik hücreler üzerindeki moleküler etki mekanizmasını araştırmış ve büyüme inhibisyonunun COX-2 ve oksidatif stres aracılıklı apoptozise bağlı olduğunu göstermiştir. COX-2'nin

hepatik myofibroblast hücrelerinin büyümesinin inhibe edilmesindeki santral rolü daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (9, 38). Kolorektal karsinom metastazı nedeniyle karaciğer rezeksiyonu yapılan 3 hastanın normal olarak değerlendirilen karaciğer alanlarında ve çeşitli sebeple oluşan 10 sirozlu (Kr HCV veya HBV, PBS, Alkolik karaciğer hastalığı veya Wilson hastalığı) cerrahi frozen örneklerinde, insan CB2-R'lerine karşı poliklonal antikorlar kullanılarak, immunhistokimyasal olarak CB2-R ekspresyonu çalışılmış ve normal karaciğerde CB2 reseptörleri tespit edilmemiştir (13). RT-PCR analizi ve immunhistokimyasal olarak, CB2-R'lerinin insan hepatik myofibroblast hücre kültüründe eksprese olduğu gösterilmiştir (13). CB2-R antagonisti olan SR 144528 ile THC'in antiproliferatif etkisi kuvvetlice azaltılır ancak selektif CB1 reseptör antagonisti SR 141716A'nın etkisi yoktur. Bu sonuçlar, THC'in büyümeyi inhibe edici etkisinin CB2-R aktivasyonuna dayandığını gösterir (13). CB2-R aktivasyonu, Hepatik myofibroblastların büyümesinin inhibisyonuna neden olur (13). Bu da *İn vivo* ve *invitro* olarak CB2-R'lerinin antifibrotik özellikleri gösterir (13). Düz kas  $\alpha$  aktin pozitif hücreler, kronik karaciğer hastalığı sırasında CB2-R eksprese eden major hücre tipidir. İlginç olarak CB2-R'leri kronik glomerülonefritte rol oynayan mezangial hücrelerde de eksprese edilmektedir (140). Karaciğer fibrotik hücrelerinde CB2-R'lerinin homo- veya heterodimer formasyonunda olup olmadığını belirlemek için daha ileri çalışmalar gerekmektedir (13). Kannabinoidlerin antiproliferatif etkilerinin COX-2 indüksiyonu üzerinden olduğu gösterilmiştir. THC, COX-2 protein ekspresyonunu ve COX aktivitesini artırır (13). CB2 reseptörleri etkisizleştirilen farelerin karbontetraklorüre marüziyet sonrası, wild tip farelerle karşılaştırıldığında, karaciğer fibrozisinde anlamlı artış saptanmıştır. (13). Bu veriler *invivo* CB2-R'lerinin, hepatik miyofibroblast hücre kültüründe olduğu gibi, karaciğer fibrozisini önlediğini göstermiştir (13).

Deneysel çalışmalardaki bulguların insanların kronik karaciğer hastalıkları ile olan ilişkisini belirlemek için, kannabinoid kullanımının kronik hepatit C'li hastalarda karaciğer fibrozisinin progresyonuna etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada Hepatit B virüsü, HIV koenfeksiyonu ve immünsüpresif tedavi alan otoimmün hepatitli hastalar dışlanarak, tedavisiz

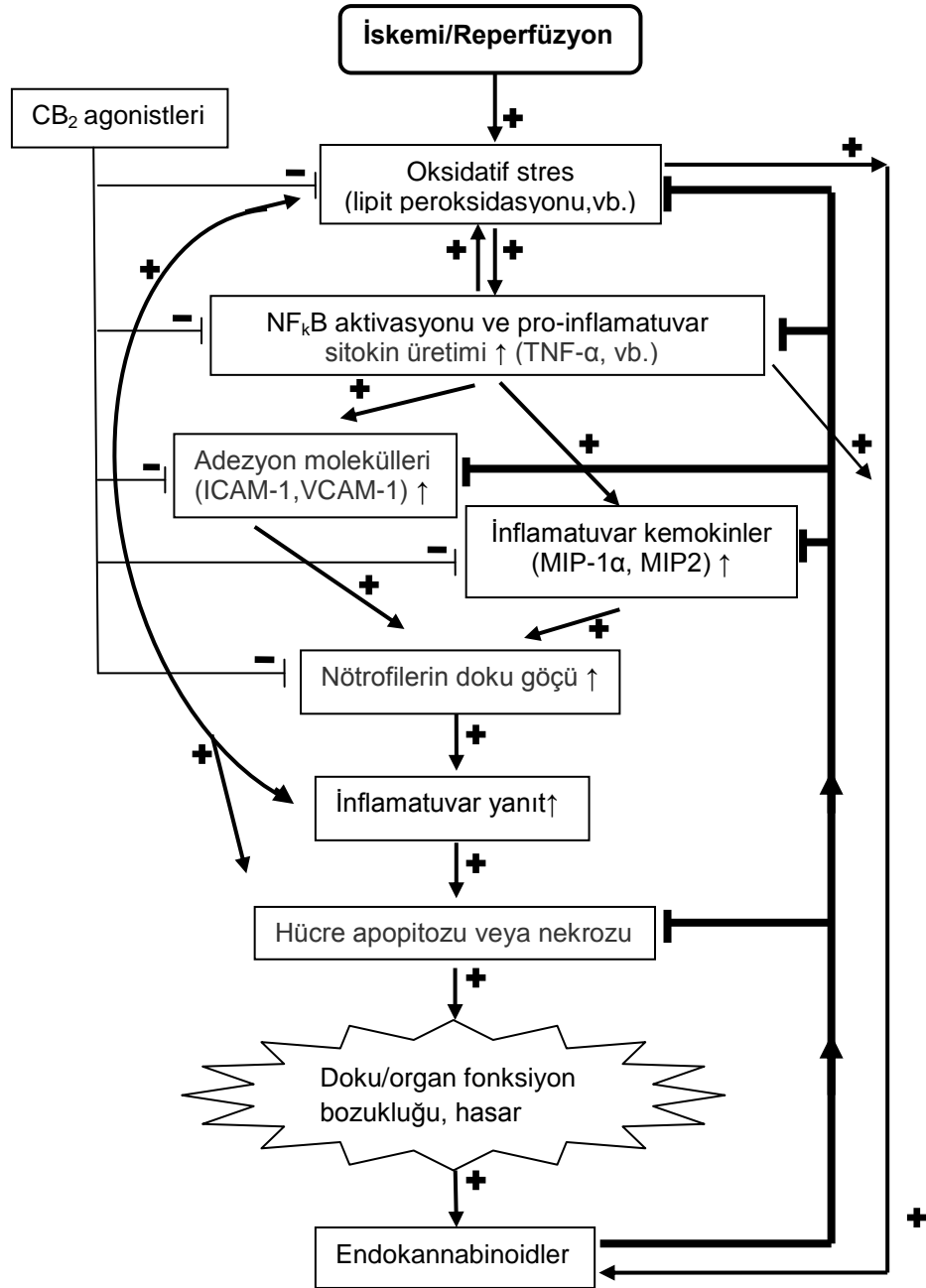
izlemde olan 270 hepatit C hastası incelenmiştir. Hastalar cannabinoid içen ve içmeyen, haftada 1'den az içen ve günlük kullanıcı olarak sınıflandırılmış. Günlük kannabinoid kullanımının karaciğer fibrozisinin ciddiyeti için bağımsız prediktör olduğu desteklenmiş ve CB1-R antagonisti olan Rimonabant ile tedavi edilmiş ve genetik olarak CB1-R'ü eksik farelerde CB1-R'lerinin profibrogenik rolü olduğu hipotezi desteklenmiştir. Rimonabantla tedavi edilen farelerde profibrotik sitokin olan TGF- $\beta$ 'nın hepatik ekspresyonunun fibrogenik hücrelerde azalmış olduğu saptamıştır. CB1-R'leri eksik olan farelerde fibrozisin azaldığı ve daha az fibrogenik hücre birikimi olduğu görülmüştür. Karaciğerde CB2-R'lerinin bazal ekspresyonu kupfer hücrelerinde düşük düzeyde iken; CB1-R'lerinin ekspresyonu endotel hücresi ve hepatositlerde çok belli belirsizdir. AEA hepatosit, kupfer hücreleri ve endotel hücrelerinde üretilir. Karaciğer yıldız hücreleri ve hepatositlerde akut ve kronik karaciğer hasarlanmasına cevap olarak 2-AG düzeyleri artar (35, 96, 101). Tüm bu sonuçlar, deneysel karaciğer fibrojenesi sırasında, endojen CB2-R aktivasyonu karaciğer fibrogenik hücrelerin birikimini azaltarak, fibrozis progresyonunu azalttığını göstermektedir (33).

### **3.13. Hepatik İskemi-Reperfüzyon Hasarında Endokannabinoid Sistem**

Hepatik iskemi-reperfüzyon (HIR) hasarı, dolaşım şok, karaciğer cerrahisi ve karaciğer transplantasyonu sonucu görülebilecek karaciğer yetersizliğini içeren klinik bir problemdir. HIR hasarı, inflamatuvar sitokin cevabı, kupffer hücre aktivasyonu, polimorfonükleer (PMNL) hücre aktivasyonu ve infiltrasyonu ile karakterizedir. İlk basamakta reperfüzyonla birlikte nötrofiller karaciğere göç eder. İkinci basamakta endotel hücre aktivasyonu meydana gelir. Hasarlı endotelden inflamatuvar hücreler karaciğere göç ederler. Oksidan ve prolitik enzimleri aktive edip, hepatositlerde intraselüler oksidatif strese ve mitokondrial disfonksiyonuna neden olur. Bu da hücre ölümüyle sonuçlanır (141). Reperfüzyon sırasında karaciğerde vazodilatasyon ve vazokonstriksiyon arasındaki dengenin bozulması, sinüzoidal vazokonstriksiyon ile sonuçlanır. CB2-R'leri, iskemi-reperfüzyon, *thioacetamide* veya *konkanavalin* ile oluşturulan akut karaciğer

hasarında karaciğer hasarının ilerlemesini azaltırlar (101, 142). Tek doz *karbontetraklorür* ile akut hepatit modeli oluşturularak, CB2-R'lerin hepatosit yaşamı ve karaciğer rejenerasyonundaki etkileri araştırılmıştır (143). Karbontetraklorüre maruz kalan CB2-R eksik fareler, wild tip farelerle karşılaştırıldığında, CB2-R'leri eksik farelerde apopitozisin artmasını sağlayan nitrik oksit sentazın hepatositlerde defektif indüksiyonunun olduğu saptanmıştır. Tersine wild tip farelere, CB2-R selektif ajanist JWH-133 uygulanması *karbontetraklorürün* apopitotik etkisinden korur (143). CB1-R'lerinin karaciğer rejenerasyonunda faydalı etkileri gösterilmiştir (144). Parsiyel hepatoktemi yapılan farelerde, CB1-R'lerin belirgin indüksiyonu ve FAAH aracılığıyla ters yolakla karaciğerde AEA üretiminin arttığı gözlenmiştir. Rimonabant uygulanması veya CB1-R'lerinin selektif olarak yok edilmesi hepatositlerde zayıf mitojeneze bağlı olarak karaciğer rejenerasyonunun azalmasına neden olmuştur (144). CB1-R'leri ile etkileşen AEA karaciğer rejenerasyonunu sağlar. Selektif CB2-R ajanistleri olan, JWH-133 ve HU-308 ile İnsan karaciğer sinüzoidal endotel hücrelerinde, TNF- $\alpha$  ile indüklenen adezyon moleküllerinin ekspresyonunu, makrofaj inflamatuvar protein-1 ve monosit adezyonunu azaltır (145). Ayrıca CB2-R'leri insan koroner arter endotel hücrelerinde de saptanmıştır. Deneysel olarak oluşturulan karaciğer iskemi modelinde, karaciğere selektif CB2-R ajanistleri kullanıldığında, inflamatuvar hücre infiltrasyonunun azalması sonucunda serum transaminazlarının azaldığı saptanmıştır. CB2-R aktivasyonu, iskemi oluşumunu izleyen bir gün sonra, PMNL hücre infiltrasyonunu ve histolojik hasarı anlamlı derecede azaltır. CB2-R aktivasyonunun protektif olduğu, CB2-R *-/-* eksik farelerde HIR ilişkili doku hasarının ve proinflamatuvar cevabın daha agresif olmasıyla gösterilmiştir (101,131,146). Kunos ve ark.'nın (33) endokannabinoidlerin karaciğer ilişkili hastalıkların patogenezinde rol oynayabileceğinin ilk delillerini göstermiştir. Bakteriyel endotoksinlerin makrofajlarda ve trombositlerde endokannabinoid üretiminin artışına neden olabileceği hipotezi öne sürülmüştür. Sirozlu hastalarda sıklıkla endotoksemi mevcuttur. Sirozlu farelerin karaciğerinde ve kalbinde endokannabinoid, AEA ve 2-AG'nin 6 kat artmış olduğu saptanmıştır. HIR'da

beyin ve myokarda da endokannabinoid düzeylerinin arttığı gösterilmiştir. Ancak bu modellerde tetikleyici olan faktörler ve kaynakları belirlenememiştir. Bu yüzden bir fare modelinde, HIR sırasında endokannabinoidlerin hücresel kaynağı ve tetikleyicileri belirlenmeye çalışılmıştır (101). İzole hücre fraksiyonunda yapılan detaylı incelemede, HIR'a maruz kalan neredeyse tüm karaciğer hücrelerinde (hepatosit, kupffer ve endotel hücreleri) endokannabinoidlerin belli kısmının arttığı gösterilmiştir. İzole primer hepatositlerin çeşitli inflamatuvar stimulusa (TNF- $\alpha$  ve endotoksin) ve oksidantlara (hidrojen peroksit ve peroksinitrite) hızla maruz kaldığında, intraselüler endokannabinoid düzeylerinin belirgin şekilde arttığı gösterilmiştir (101). Bu sonuç aynı zamanda yaygın olarak kullanılan kemoterapotik ajan olan doxorubicinin endokannabinoid düzeyini hem in vivo myokard hem de in vitro kardiyomiyositte artırdığının gösterilmesiyle de desteklenmiştir (147). Hasar ve inflamasyon oluştuğunda karaciğerde daha fazla oranda endokannabinoid üretilmektedir. HIR'da karaciğerde endokannabinoid üretiminde artış olması, inflamasyonun tetiklediği endotel hücrelerinde adezyon moleküllerinin ekspresyonunun azalmasına, CB2-R bağımlı olarak inflamatuvar hücrelerin (mononükleer ve polimorfonükleer lökositler ve büyük olasılıkla kupffer hücreleri) inflamasyonu ve infiltrasyonunu inhibe eder. Böylece karaciğerde protektif rolleri oluşur (145, 146).



**Şekil-7:** Endokannabinoidler ve CB2-R'lerinin iskemi reperfüzyon hasarındaki rolü. (+): aktivasyon, (-): inhibisyon (145, 146).

### 3.14. Lökositlerdeki Endokannabinoid Sistem

Kannabinoid reseptörler hemen hemen tüm periferik insan kan hücrelerinde eksprese edilirler. CB1-R için mRNA düzeyleri sırasıyla B lenfositler> natural killer hücreleri (NK) > PMNL≥ CD8 lenfositlerdir. CB2-R



için mRNA düzeyleri B lenfositler> NK hücreler> monositler> PMNL> T hücre şeklindedir. İmmün hücrelerde CB-R ekspresyonu çeşitli inflamatuvar olaylarla (bakteriyel lipopolisakkarit ve diğer stimuluslar) düzenlenir. İnflamatuvar stimuluslar, immün hücrelerde (makrofaj, periferel kan mononükleer hücreleri ve dentirik hücreler) endokannabinoidlerin üretimini artmasını indükler ve çeşitli biyosentetik yolları aktive ederek, AEA parçalanmasını sağlayan yağ asidi amid hidrolaz ekspresyonu azalır. Endokannabinoidler T ve B lenfosit proliferasyonu, apoptozis, sensitize hücrelerin makrofaj aracılıklı öldürülmesi, inflamatuvar sitokin üretimi, immün hücrelerin aktivasyonu, kemotaksizi düzenleyerek immün fonksiyonlar üzerinde önemli rollere sahiptirler. Kannabinoidler, immün hücrelerde indüklenebilir nitrik oksit sentaz ekspresyonunu ve NO veya reaktif oksijen radikallerinin üretimini düzenlerler. CB2-R aktivasyonunun birçok farklı hastalık ve patolojik durumda (ateroskleroz, inflamatuvar ağrı, gastrointestinal inflamasyon ve nörodejeneratif bozukluklar, myokard infarktüsü, strok, hepatik iskemi-reperfüzyon hasarı, diğer karaciğer inflamatuvar hastalıkları) anti-inflamatuvar etkisi gösterilmiştir (32, 34)

CB2-R'lerinin inflamasyondaki ve steatozdaki rolleri sağlam olmayan temellerle tartışılmıştır (8, 10, 19). Aktive olmuş karaciğer yıldız hücreleri, kannabinoidler için hem hedef hem de kaynak olarak rol oynamaktadırlar. Obezite varlığında CB2-R'lerinin upregülasyonu, inflamasyonu ve steatozisi artırarak aynı zamanda karaciğer yıldız hücrelerinin apoptozisini de indükler, bu da koruyucu etkilerini gösterebilir (9, 10, 19). NAYKH'da Kannabinoid reseptörlerinin hepatoselüler ekspresyonu; yağ depolanması, inflamasyon ve fibrozisin rol oynadığı hastalık progresyonunda, potansiyel bir faktör olarak görünmektedir (4).

Bizim çalışmamızda Nonalkolik yağlı karaciğer hastalarında ve normal insan karaciğerinde CB2 ve CB1 reseptör ekspresyonu belirlenip, bu reseptörlerin, insülin rezistansı, obezite, hiperlipidemi, metabolik sendrom ve tip 2 diyabet, karaciğer yağlanması, steatohepatit ve diğer biyokimyasal parametreler ile ilişkisi araştırılacaktır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

### 1. Çalışmanın Şekli ve Olgu seçimi

Çalışma Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul Başkanlığı'ndan 01 Haziran 2010 tarih ve 2010-2/14 numaralı karar ile usul ve esas yönünden uygun görüldü.

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı-Gastroenteroloji Bilim dalında Ocak 2009-Ocak 2011 tarihleri arasında yapılan karaciğer biyopsilerinin patolojisi raporu NASH olarak raporlanarak takip edilmekte olan 54 (erkek:26, kadın:28); Steatoz olarak raporlanarak takip edilmekte olan 17 kişi (erkek:7, kadın:10) hasta grubuna dahil edildi. Kontrol grubu olarak ise 2005-2011 yılları arasında, herhangi bir nedenle yapılan karaciğer görüntülemesinde soliter lezyon saptanarak, bu nedenle karaciğer kısmi rezeksiyonu veya wedge biyopsisi yapılan hastaların patoloji raporları elektronik ve arşiv dosyalarından retrospektif olarak tarandı. Patolojik tanı olarak hemanjiom, fokal nodüler hiperplazi, basit kist saptananların, patoloji preparatlarındaki normal karaciğer alanları ve normal olarak raporlanan karaciğer biyopsili hastalar seçildi. Uygun patolojik tanıya sahip hastalardan rutin biyokimyasal parametreleri ve serolojik tetkikleri normal olmayan, alkol kullanımı olanlar, ek komorbid hastalığı ve VKİ>30 kg/m<sup>2</sup> olan kişiler elenerek 40 kontrol (erkek:15, kadın:25) grubu çalışmaya dahil edildi. Ayrıntılı anamnez, fizik muayene, serolojik tetkikler ve karaciğer biyopsisi sonrası NAYKH tanısı konulan hastaların karaciğer biyopsi parafin blokları UÜTF Patoloji bölümünde retrospektif olarak uzman patologlar tarafından Network sınıflamasına göre yeniden değerlendirildi.

NAYKH, karaciğer enzim yüksekliğine neden olan diğer sebepler yokluğunda, kronik olarak karaciğer enzim yüksekliği bulunması ve USG'de değişen derecede steatozisin gösterilmesi olarak tanımlandı. Nonalkolik karaciğer yağlanması olmasına rağmen, histopatolojik olarak nekroinflamasyon bulgularının olmaması nonalkolik karaciğer yağlanması ya

da basit steatoz olarak adlandırıldı. Nonalkolik karaciğer yağlanması ile nekroinflamasyonun birlikteliği nonalkolik steatohepatit (NASH) olarak isimlendirildi.

Çalışmayla ilgili olarak kriterleri sağlayan patolojik tanısı olan hastalara poliklinik şartlarında, ön bilgilendirme yapıldı ve çalışmayı kabul edenlere çalışmayla ilgili ayrıntılı bilgi verilip onam formu imzalatılarak andropometrik ölçümleri yapıldı. Katılma kriterlerini karşılayan kişilerin boy, kilo, bel ve kalça çevreleri ve en az 10 dakikalık istirahat sonrasında sistolik ve diyastolik kan basınçları ölçüldü. Bel çevresi alt kaburga hizası ile iliak kanadın orta noktasından ölçüldü. VKİ, hastanın kilogram cinsinden kilosunun, metrekaresi cinsinden boyunun karesine bölünerek hesaplandı. VKİ 18,5-25 kg/m<sup>2</sup> arasında olanlar normal, VKİ 25-29,5 kg/m<sup>2</sup> arasında olanlar fazla kilolu ve VKİ ≥ 30 kg/m<sup>2</sup> obez olarak değerlendirildi. Kontrol grubunun andropometrik ölçüm ve rutin biyokimyasal tetkikleri retrospektif olarak elektronik ve arşiv hasta dosyaları taranarak elde edildi.

USG'de böbrek ekojenitesi ile karşılaştırıldığında, karaciğer parankiminde homojen ekojenite artışı ve/veya damarsal yapılarda silinme görülen kişilerde yağlı karaciğer hastalığı tanısı konuldu. Karaciğer yağlanması 1-3 arasında derecelendirildi. Grade 1: hafif derecede steatoz, grade 2: orta derecede steatoz, Grade 3: ileri derecede steatoz olarak değerlendirildi. Metabolik sendrom (MS) tanısı için NCEP-ATP III kriterleri esas alındı (tablo-2). Bu faktörlerden 3 veya daha fazlasının olması durumunda MS tanısı konuldu.

**Tablo-2:** Metabolik sendrom tanı kriterleri.

Abdominal obezite (Bel çevresi ) (cm):	Kadın > 88 cm  Erkek >102 cm
Kan basıncı (mmHg):	>130/85 mmHg
Trigliserid düzeyi (mg/dL):	≥ 150 mg/ dL ( ≥1,69 mmol/l)
HDL düzeyi (mg/dL):	Kadın < 50mg/dL (<1,29 mmol/l)  Erkek <40 mg/dL(<1,04 mmol/l)
Açlık kan şekeri (mg/dL):	> 110 mg/dL ( 6,1 mmol/l)

Çalışmada dışlama kriterleri;

- 18 yaşından küçük olmak
- Günlük alkol tüketimi; kadınlarda >20gr/gün, erkeklerde >30gr/gün olan vakalar
- Serolojik ve histopatolojik incelemede akut veya kronik viral hepatiti olan vakalar
- Otoimmün hepatit veya primer biliyer siroz serolojisi pozitif olan vakalar
- İnflamatuvar bağırsak hastalığı olan hastalar
- Herediter metabolik hastalığı olanlar (Wilson, Hemokromatozis,  $\alpha$ -1 antitripsin eksikliği)
- Akut veya kronik hastalığı bulunanlar
- Geçirilmiş jejunioilial by-pass veya ince bağırsak rezeksiyonu, malign hastalığı olanlar
- Son 6 ayda istemli yada istemsiz hızla kilo kaybeden (ayda 5 kg'dan daha fazla ) vakalar.
- Sürekli ilaç kullanımı olanlar (amiodaron, kortikosteroid, metotreksat, tamoksifen, oral kontraseptif)
- Gebeliği olanlar

Tüm hastaların karaciğer enzimleri (AST, ALT, ALP, GGT) Modüler DPP (Roche Diagnostic, Germany) enzimatik kalorimetrik yöntemle, bilirübin ve albümin düzeyleri Modüler DPP (Roche Diagnostic, Germany) kalorimetrik yöntemi ile çalışıldı.

Tam kan sayımı Coulter Comter LH-750 (Beckman) otomatik tam kan sayım sistemi, protrombin zamanı Max 200 amouma yöntemi ile çalışıldı. Hepatit markerları chemiluminescence DXI-800, Beckman ile çalışıldı. Anti-mitokondrial antikor (AMA), anti-nükleer antikor (ANA) ve düz kas antikoru (SMA) mikro ELISA yöntemi ile çalışıldı. Eritrosit sedimentasyon hızı (ESR) Alifax cihazıyla ve C-reaktif protein ise Dade Behring BN II otoanalizöründe particle enhanced nephelometric immunoassay (PENIA) yöntemiyle çalışıldı. Serum demiri, total demir bağlama kapasitesi Modüler DPP (Roche Diagnostic, Germany) kalorimetrik yöntemle çalışıldı. Seruloplazmin ve  $\alpha$ -1

aminotripsin, E170 innuneassay (Roche Diagnostic, Germany) yöntemiyle çalışıldı. Tiroid fonksiyonları elecsis (E-170) ile çalışıldı.

Çalışmanın laboratuvar işlemleri Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde, Biyokimya, Mikrobiyoloji, Patoloji laboratuvarlarında ve ultrasonografik değerlendirme Radyoloji Ana Bilim dalında gerçekleştirildi.

On iki saatlik açlık sonrası alınan kan örneklerind kan şekeri, insülin, C-peptit, HDL, LDL, TG, ALT, AST, GGT, ALP, T Bil, D Bil, düzeyleri ölçüldü. ADA 2003 tanı kriterleri kullanılarak, açık kan şekeri < 100 mg/dl olanlar normal, 100-125 mg/dl olanlar bozulmuş açlık glisemisi, ve  $\geq 126$  mg/dl olanlar tip 2 DM olarak kabul edildi. Daha önceden diyabet tanısı bulunmayan tüm hastalara 75 gr glukozlu OGGT yapıldı. OGGTnin 2. saatinde kan şekeri <140 olanlar normal, 140-199 olanlar bozulmuş glikoz toleransı (BGT) ve  $\geq 200$  olanlar tip 2 diyabet olarak kabul edildi. İnsülin direncini değerlendirmek için Homeostasis Model Assesment (HOMA) yöntemi kullanıldı. Hastalardan 5 dakika aralarla alınan 3 kan örneğinde açlık serum glikozu ve açlık serum insülinin ortalamaları alınarak Açlık glikoz değeri 18'e bölünerek, mg/dl'den mmol/L' ye çevrildikten sonra, açlık insülini ile çarpılıp, 22,5'e bölündü. İnsülin direnci, HOMA indeksinin  $\geq 2,5$  olması olarak kabul edildi (65).

## **2. CB2-R'lerinin İmmunohistokimyasal Analizi**

Kriterlere uygun olarak seçilen Steatoz (n=17) ve NASH (n=54) grubundan oluşan NAYKH'lı (n=71) hastalar ve kontrol grubunun (n=40) patoloji preparatları patoloji arşivinden seçilerek, CB1 ve CB2-R antikoları ile uygun teknik ile immünohistokimyasal olarak boyandı. Antikorla boyanan patoloji preparatları, uzman pataloglar tarafından mikroskopik olarak incelendi. Hepatosit nükleusunun yoğun, homojen kahverengi boyanması antikorla pozitif boyanma olarak kabul edildi. Her bir büyük büyütmeye yer alan hepatosit hücrelerinin bu antikorlarla nükleer boyanmasının yüzdesi belirlendi. Nükleer boyanma yanı sıra sitoplazmik boyanma olup olmadığı da tespit edildi. NASH skorlaması "The Pathology Committee of the NASH

Clinical Research Network” (Network skorlama sistemi) kriterlerine göre yapıldı (148). Histolojik olarak steatoz, lobüler inflamasyon, balonlaşma dejenerasyonu skorlanarak, 0-3 arasında Grade ve 0-4 arasında Stage (fibrozis=evre) belirlendi. NASH aktivite skoru (NAS)≥ 5 NASH, NAS =3-4 Borderline, NAS< 3 NASH yok olarak kabul edildi. Hastalar NAS≥ 5 olanlar NASH (n=54), NAS≤ 4 olanlar (n=17) Steatoz grubu olarak ikiye ayrıldı. Steatoz ve NASH’lı grubun toplamı NAYKH (n=71) oluşturdu.

### **3. İstatistiksel Analiz**

Verinin istatistiksel analizi SPSS13.0 istatistik paket programında yapılmıştır. Verinin normal dağılım gösterip göstermediği Shapiro-Wilk testi ile incelenmiştir. Normal dağılmayan veri için iki grup karşılaştırmasında Mann-Whitney U testi ve ikiden fazla grup karşılaştırmasında Kruskal Wallis testi kullanılmıştır. Verilerin tanımlayıcı istatistikleri sürekli değişkenler için medyan (minimum-maksimum) şeklinde gösterilmiştir. Kategorik değişkenler frekans ve yüzde olarak belirtilmiştir. Kategorik verinin incelenmesinde Pearson Ki-kare testi ve Fisher’in Kesin Ki-kare testi kullanılmıştır. Değişkenler arasındaki ilişkiler Pearson korelasyon ve Spearman korelasyon katsayıları ile incelenmiştir. Anlamlılık düzeyi  $p<0.05$  olarak belirlenmiştir.

**Tablo-3: Network skorumlama sistemi (148).**

	TANIMLAMA	Skor	
<b>Steatoz (Grade)</b>	<%5	0	
	%5-33	1	
	>%33-66	2	
	> %66	3	
	<b>Steatoz Lokalizasyon</b>	Zon 3	0
	Zon 1	1	
	Azonal	2	
	Panasiner	3	
<b>Mikroveziküler yağlanma</b>	Yok	0	
	Var	1	
<b>Fibroz (Stage)</b>	Yok	0	
	Perisinozoidal veya periportal hafif, zone 3, perisinüzoidal	1A	
	orta, zone 3, perisinüzoidal	1B	
	portal/periportal	1C	
	perisinozoidal ve portal/periportal	2	
	köprüleşme fibrozisi	3	
	siroz	4	
<b>İnflamasyon</b>	Yok ( her200'lük büyütmede)	0	
	<b>Lobüler inflamasyon</b>	<2 odak	1
		2-4 odak	2
		>4 odak	3
	<b>Mikrogranülom</b>	Makrofajda küçük agregatlar yok	0
	Makrofajda küçük agregatlar var	1	
<b>Geniş lipogranulom</b>	Özellikle portal alan veya santral venlerde		
	Yok	0	
	Var	1	
<b>Portal inflamasyon</b>	Yok veya minimal var	0	
	Belirgin var	1	
<b>Balonlaşma</b>	Yok	0	
	Birkaç hücre balonlaşmış	1	
	Birçok hücre balonlaşmış	2	
<b>Asidofil body</b>	Yok veya nadir	0	
	Birçok	1	
<b>Pigmente makrofaj</b>	Yok veya nadir	0	
	Birçok	1	
<b>Megamitokondri</b>	Yok veya nadir	0	
	Birçok	1	
<b>Diğer bulgular</b>	<b>Mallori hyalen</b>	Yok veya nadir	0
		Birçok	1
	<b>Glikojen nükleus</b>	Yok veya nadir	0
		Birçok	1
<b>Steatohepatit değil</b>		<3	
	<b>Olası</b>	NASH aktivite skoru	3-4
	<b>Kesin steatohepatit</b>		≥ 5

## BULGULAR

Çalışmaya, kriterleri karşılayan 17'si Steatozlu, 54'ü NASH'lı olmak üzere toplam 71 NAYKH'lı hasta ve kontrol grubuna 40 normal karaciğer örneği (normal karaciğer, Hemanjiom, Fokal nodüler hiperplazi, Basit kist) dahil edildi.

Steatoz grubundaki bireylerin yaş ortalaması  $50.0 \pm 9.85$  olup yaş aralığı 29-62, NASH grubunda  $46 \pm 9.68$  olup yaş aralığı 20-59, kontrol grubunda ise  $43 \pm 14.91$  olup yaş aralığı 18-80'di. Gruplar arasında yaş bakımından istatistiksel farklılık yoktu ( $p=0.467$ ).

Steatoz grubunun %58.8'i ( $n=10$ ), NASH grubunun %51.9'u ( $n=28$ ), kontrol grubunun %62.5'i ( $n=25$ ) kadın; Steatoz grubunun %41.2'si ( $n=7$ ), NASH grubunun %48.1'i ( $n=26$ ) ve kontrol grubunun %37.5'i ( $n=15$ ) erkekti. NAYKH grubunun %46.5'u ( $n=33$ ) erkek, %53.5'u ( $n=38$ ) kadındı.

Erkek ve kadın cinsiyet dağılımında kontrol, Steatoz, NASH grubunda anlamlı farklılık saptanmadı ( $p=0.578$ ).

Gruplar arasında kilo ve VKİ değeri anlamlı olarak farklı saptandı ( $p<0.001$ ). Steatoz ve NASH grubunda kilo ve VKİ değerleri arasında anlamlı farklılık yokken ( $p=0.590$ ), kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek kiloya ve VKİ'ne sahiptiler ( $p<0.001$ ).

Hipertansiyonu olan ve olmayanlar açısından bakıldığında, Steatoz grubunun %29,4'ünde ( $n=5$ ), NASH grubunun %33,3'ünde ( $n=18$ ) ve kontrol grubunun %25'inde ( $n=10$ ) hipertansiyon mevcuttu. Hipertansiyona sahip olma özeliği açısından her üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ( $p= 0.682$ ). Kontrol grubundaki hastaların %2.5'inde ( $n=1$ ), Steatozlu hastaların %35.3'ünde ( $n=6$ ), NASH'lı hastaların %42.6'sında ( $n=23$ ) hiperlipidemi saptandı. Steatozlu ve NASH'lı grupta hiperlipidemi oranı kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksekti (sırasıyla  $p=0.002$  ve  $p=<0.001$ ). Steatozlu ve NASH'lı grup hiperlipidemi açısından karşılaştırıldığında iki grup arasında anlamlı farklılık saptanmadı ( $p= 0.593$ ).



NASH grubunun %38,9'ü (n=21) normal kan şekereğine sahip, %7,4'ünde (n=4) bozulmuş açlık glikozu, %16.7'sinde (n=9) bozulmuş glukoz toleransı, %37'sinde (n=20) diyabet mevcuttu. Kontrol grubu olarak patolojik kriterleri karşılayan diyabeti olmayan hastalar seçildi. Steatoz grubunun % 58,8'inde (n=10) diyabet saptanmazken, %41.2'sinde (n=7) diyabet mevcuttu.

Diyabet hikayesi olan ve olmayanlar açısından bakıldığında, Steatoz ve NASH grubunda, kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha fazla oranda diyabet saptandı ( $p<0.001$ ). Ancak diyabet varlığı açısından steatoz ve NASH grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ( $p=0.759$ ).

NCEP ATP III kriterlerine göre kontrol grubunun %10'unda (n=4), Steatoz grubunun %52.9 (n=9), NASH grubunun %74.1'inde (n=40) metabolik sendromu vardı. Steatozlu ve NASH'li grupta metabolik sendrom görülme oranı arasında anlamlı farklılık saptanmadı ( $p=0.100$ ). NASH veya Steatoz grubunda metabolik sendrom oranı kontrol grubuna göre daha fazla saptandı ( $p<0.001$ ).

AST, ALT, ALP, GGT, LDH, Total Protein, albumin, TG, Total Kolesterol, HDL, LDL, Ferritin değerleri açısından karşılaştırıldığında her üç grup arasında anlamlı farklılık saptandı (sırasıyla  $p=<0.001$ ,  $p=<0.001$ ,  $p=0.007$ ,  $p=0.002$ ,  $p=<0.001$ ,  $p=0.001$ ,  $p=0.041$ ,  $p=<0.001$ ,  $p=<0.001$ ,  $p=0.006$ ,  $p=<0.001$ ,  $p=0.03$ ). AST, ALT, ALP, GGT, LDL, Ferritin, mikroalbumin düzeyleri NASH grubunda diğer gruplara göre daha yüksekti ( $p<0.001$ ). HDL değeri kontrol grubunda diğer gruplara göre daha yüksekti ( $p<0.001$ ).

BUN, kreatinin, TSH, lökosit, trombosit, MPV, MCV, Sedimentasyon, Total ve Direk Bilirubin düzeyleri karşılaştırıldığında her üç grup arasında farklılık yoktu (sırasıyla  $p=0.312$ ,  $p=0.644$ ,  $p=0.877$ ,  $p=0.458$ ,  $p=0.582$ ,  $p=0.610$ ,  $p=0.986$ ,  $p=0.800$ ,  $p=0.181$ ).

Steatoz grubundaki hastaların USG'sinde karaciğer yağlanma gradeleri incelendiğinde %5.9 (n=1)'inde yağlanma saptanmazken, %23.5'inde (n=4) Grade 1 yağlanma, %41.2'sinde (n=7) Grade 2 yağlanma, %29.4'ünde Grade 3 yağlanma mevcuttu. NASH grubundaki hastaların ise

%16.7'sinde (n=9) Grade 1 yağlanma, %59.3'ünde (n=32) Grade 2 yağlanma, %24.1'inde (n=13) Grade 3 yağlanma mevcuttu.

Hastaların karaciğer biyopsilerinin patolojik bulguları incelendiğinde; Steatoz grubunda histolojik steatozu %64.7 oranında en çok Grade 1 steatoz, NASH grubunda ise %53.7 oranında Grade 2 steatoz oluşturmaktaydı. Steatoz grubunun %11.8'inde (n=2) histopatolojik steatoz saptanmazken, %64.7'sinde (n=11) Grade 1 steatoz, %17.6'sında (n=3) Grade 2 steatoz, %5.9'unda (n=1) Grade 3 steatoz mevcutken, NASH grubunda %5.6'sında (n=3) Grade 1, %53.7'sinde (n=29) Grade 2, %40.7'sinde (n=22) Grade 3 steatoz mevcuttu. Steatoz ve NASH'lı hastalar birlikte değerlendirildiğinde (NAYKH) hastaların %2.81'inde (n=2) hiç histolojik steatoz yokken, %19.71'inde (n=14) Grade 1 steatoz, % 45'inde (n=32) Grade 2 steatoz, %32.39'unda (n=23) Grade 3 steatoz mevcuttu.

Histolojik olarak lobüler inflamasyonun derecesi incelendiğinde Steatoz grubunda %5.9'unda (n=1) hiç lobüler inflamasyon saptanmadı. Lobüler inflamasyon %76.5'inde (n=13) Grade 1, % 17.6'sının (n=3) Grade 2 idi. Steatozlu hastalarımızda hiç grade 3 lobüler inflamasyon saptanmadı. NASH grubunda ise tüm hastalarda lobüler inflamasyon mevcuttu. NASH'lı hastaların %16.7'si (n=9) Grade 1, %68.5'i (n=37) Grade 2, %14.8'i (n=8) Grade 3 lobüler inflamasyona sahipti. NAYKH hastalarının hepsi değerlendirildiğinde hiç lobüler inflamasyonu olmayan %1.4 (n=1), Grade 1 lobüler inflamasyon %30.98 (n=22), Grade 2 lobüler inflamasyon %56.33 (n=40), Grade 3 lobüler inflamasyon % 11.26 (n=8) idi.

Histolojik bulgulardan balonlaşma derecesine bakıldığında Steatoz grubunda %23.5 (n=4) hastada hiç balonlaşma saptanmadı. Hastaların %47.1'inde (n=8) Grade 1, %23.5'inde (n=4) Grade 2, %5.9'unda (n=1) Grade 3 balonlaşma mevcuttu. NASH grubunda tüm hastalarda histolojik olarak balonlaşma saptandı. Histolojik balonlaşma %31,5'inde (n=17) Grade 1, %66.7'sinde (n=36) Grade 2, %1.9'unda (n=1) Grade 3'tü. NAYKH'da hastaların %5.63'ünde (n=4) hiç histolojik balonlaşma saptanmazken, %35.21'inde (n=25) Grade 1, %56.33'ünde (n=40) Grade 2 ve %2.81'inde (n=2) Grade 3 balonlaşma mevcuttu.

Steatoz grubunda hastaların %58.8'inde (n=10) hiç portal inflamasyon saptanmazken %29.4'ünde (n=5) Grade 1, %5.9'unda (n=1) Grade 3, %5.9'unda (n=1) Grade 4 portal inflamasyon mevcuttu. Steatoz grubunda hiç Grade 3 portal inflamasyona saptanmadı.

NASH grubunda %72.2 (n=39) hastada hiç portal inflamasyon saptanmazken, %5.6'sında (n=3) Grade 1, %16.7'sında (n=9) Grade 2, %5.6'sında Grade 3, %1.4'ünde (n=1) Grade 4 portal inflamasyon vardı. NAYKH'lı tüm hastalar ele alındığında ise %69'unda (n=49) portal inflamasyon saptanmadı, % 11.6'sında (n=8) Grade 1, %12.67'sinde (n=9) Grade 2, %5.63'ünde (n=4) Grade 3, %1.4'ünde (n=1) Grade 4 portal inflamasyon saptandı.

Steatoz grubunda fibrozisin evresi incelendiğinde % 23.5'inde (n=4) Evre 0, %29.4'ünde (n=5) Evre 1, %5.9'nun (n=1) Evre1A, %5.9'unun (n=1) Evre1B, %17.6'sinin (n=3) Evre 1C, %11.8'inin (n=2) Evre 3, %5.9'unun (n=1) Evre 4; NASH grubunun fibrozis evresi incelendiğinde ise %31.5'inin (n=17) Evre 0, %5.6'sinin (n=3) Evre 1, %16.7'sinin (n=9) Evre 1A, %3.7'sinin (n=2) Evre 1B, %5.6'sinin (n=3) Evre 1C, %18.5'inin (n=10) Evre 2, %16.7'sinin (n=9) Evre 3, %1.9'unun (n=1) Evre 4 olduğu saptandı.

Steatoz grubunda NAS skoru puanına göre hastaların dağılımına bakıldığında, hastaların %58.8'ini en sık NAS skoru 4 oluştururken, NASH'lıların %33.3'ü (n=18'i ) NAS skoru 5, %33.3'ünün (n=18) NAS skoru 6, %31.5'inin (n=17) NAS skoru 7, %1.9'unun (n=1) NAS skoru 8 idi. Steatoz, NASH ve Kontrol grubunun demografik klinik ve laboratuvar bulguları tablo-4'te ayrıntılı olarak belirtilmiştir.

**Tablo-4a:** Steatoz, NASH ve Kontrol grubunun demografik klinik ve laboratuvar bulgularının karşılaştırılması.

Değişkenler	Steatoz(n=17) Medyan (min-max)	NASH(n=54) Medyan (min-max)	Kontrol(n=40) Medyan (min-max)	p değeri	Gruplar arası anlamlılık		
Lökosit (K/ $\mu$ L)	6780 (4239-12700)	7385 (4640-12800)	7270 (3220-13.000)	0.458			
Trombosit (k/ $\mu$ L)	245 (102-365)	267 (243-434)	252 (124-481)	0.73			
MPV (fL)	8.37 (6.33-18.0)	8.525 (6.28-13.1)	8.9 (6.0-12.4)	0.582			
MCV (fL)	87.2 (69.5-93.9)	86.15 (65.4-96.6)	86.1 (8.9-93.5)	0.610			
PT ( sn)	11.5 (9.9-15.9)	12.0 (9.97-14.3)	12.0 (10.0-16.8)	0.502			
ESR(mm/saat)	17.0 (2.0-57.0)	15.5 (1.0-92.0)	17.0 (2.0-70.0)	0.986			
BUN (mg/dL)	15 (10.0-31.0)	14 (8.0-26.0)	14 (6.0-32.0)	0.312			
Kreatinin (mg/dL)	0.8 (0.6-9.0)	0.8 (0.5-7.0)	0.8 (0.5-1.4)	0.644			
TSH ( $\mu$ IU/mL)	1.16 (0.22-6.8)	1.5 (0.02-8.9)	1.3 (0.38-3.9)	0.877			
C-peptide (mmol/L)	3.0 (1.77-6.62)	4.165 (0.9-16.63)		0.092			
AST (IU/L)	53.0 (25.0-159.0)	56.0 (20.0-181.0)	20.5 (7.0-58.0)	<b>&lt;0.001</b>	<b>k-s &lt;0.001</b>	<b>k-n 0.001</b>	s-n 0.731
ALT(IU/L)	78.0 (14.0-296.0)	98.0 (30.0-271.0)	17.0 (7.0-82.0)	<b>&lt;0.001</b>	<b>k-s &lt;0.001</b>	<b>k-n 0.001</b>	s-n 0.345
ALP(IU/L)	74.0 (47.0-175.0)	85.5 (47.0-625.0)	66.5 (30.0-323.0)	<b>0.007</b>	k-s 0.365	<b>k-n 0.002</b>	s-n 0.159
GGT(IU/L)	58.0 (16.0-100.0)	68.5 (21.0-559.0)	46.0 (12.0-168.0)	<b>0.002</b>	k-s 0.188	<b>k-n 0.001</b>	s-n 0.138
LDH(IU/L)	201.0 (147.0-372.0)	198.0 (80.0-327.0)	156.0 (45.0-496.0)	<b>&lt;0.001</b>	<b>k-s &lt;0.001</b>	<b>k-n 0.001</b>	s-n 0.377
Total Bilirubin(mg/dL)	0.59 (0.22-1.34)	0.64 (0.27-2.9)	0.735 (0.16-2.38)	0.800			
Direk Bilirubin(mg/dL)	0.25 (0.1-0.9)	0.260 (0.01-0.94)	0.355 (0.07-1.0)	0.181			
Total Protein(g/dL)	7.7 (6.6-8.2)	7.6 (5.1-8.6)	7.2 (5.0-7.8)	<b>0.001</b>	<b>k-s 0.028</b>	<b>k-n 0.001</b>	s-n 0.588
Albumin (g/dL)	4.8 (3.6-5.58)	4.5 (2.3-5.6)	4.2 (2.8-5.1)	<b>0.041</b>	<b>k-s 0.032</b>	<b>k-n 0.036</b>	s-n 0.521
Trigliserid (mg/dL)	144.0 (50.0-503.0)	191.0 (49.0-553.0)	105.0 (37.0-641.0)	<b>&lt;0.001</b>	<b>k-s 0.003</b>	<b>k-n 0.001</b>	s-n 0.544
Total Kolesterol (mg/dL)	194.0 (140.0-345.0)	233.0 (103.0-323.0)	163.0 (70.0-233.0)	<b>&lt;0.001</b>	<b>k-s 0.004</b>	<b>k-n 0.001</b>	<b>s-n 0.015</b>

**Tablo-4b:** Steatoz, NASH ve Kontrol grubunun demografik klinik ve laboratuvar bulgularının karşılaştırılması.

Değişkenler	Steatoz(n=17) Mediyan (min-max)	NASH(n=54) Mediyan (min-max)	Kontrol(n=40) Mediyan (min-max)	p değeri	Gruplar arası anlamlılık		
					k-s	k-n	s-n
HDL Kolesterol (mg/dL)	42.0 (27.0-65.0)	42.0 (26.0-62.0)	49.5 (14.8-86.0)	<b>0.006</b>	k-s 0.114	<b>k-n 0.001</b>	s-n 0.450
LDL Kolesterol (mg/dL)	110.0 (84.0-220.0)	150.5 (72.0-242.0)	99.5 (65.0-186.0)	<b>&lt;0.001</b>	k-s 0.05	<b>k-n 0.001</b>	<b>s-n 0.006</b>
Ferritin (ng/mL)	78.0 (11.3-236.0)	114.955 (6.65-432.0)	58.72 (7.0-100.0)	<b>0.03</b>	k-s 0.362	k-n 0.072	<b>s-n 0.034</b>
Fe (µg/dL)	69.0 (34.0-145.0)	72.0 (15.0-199.0)	-	0.345			
TDBK (µg/dL)	298.0 (35.0-500.0)	292.5 (50.0-485.0)	-	0.845			
Seruloplazmin (mg/dL)	24.0 (17.0-34.0)	26.0 (10.0-42.0)	-	0.716			
Cu	13.0 (10.0-21.0)	15.0 (8.0-35.0)	-	0.163			
Açlık Glukozu (mg/dL)	103.0 (85.0-316.0)	100.0 (66.0-287.0)	99.0 (96.0-100.0)	<b>&lt;0.001</b>	<b>k-s 0.001</b>	<b>k-n 0.001</b>	s-n 0.941
İnsülin (µIU/mL)	18.6 (7.6-10.8)	14.8 (0.3-78.6)	-	0.655			
Mikroalbuminüri	9.0 (2.0-30.0)	9.0 (3.0-798.0)	-	0.317			
Mikroalbuminuri2	8.0 (2.0-21.15)	12.88 (2.0-1117.2)	-	<b>0.026</b>			
Diyabet(%)	42.2	37.0	-	<b>&lt;0.001</b>			
Hipertansiyon(%)	29.4	33.3	25.0	0.682			
Hiperlipidemi (%)	35.3	42.6	2.5	<b>&lt;0.001</b>			
Yaş (yıl)	50.0 (29.0-62.0)	46.0 (20.0-59.0)	43.0 (18.0-80)	0.467			
Cins (Kadın/Erkek)	10/7	28/26	25/15				
Boy (cm)	162.0 (148.0-180.0)	165.0 (147.0-180.0)	162.0 (152.0-185.0)	0.720			
Vücut Ağırlığı (kg)	85.0 (67.0-104.0)	84.5 (55.0-126.5)	68.0 (47.0-87.0)	<b>&lt;0.001</b>			
VKI (kg/m <sup>2</sup> )	32.7 (25.0-35.6)	32.25 (21.0-49.0)	24.39 (19.7-29.0)	<b>&lt;0.001</b>			
Bel Çevresi (cm)	105.0 (90.0-114.0)	106.0 (80.0-132.0)		0.594			
Kalça Çevresi (cm)	114.0 (88.0-123.0)	108.5 (84.0-149.0)		0.721			

**Tablo-4c:** Steatoz, NASH ve Kontrol grubunun demografik klinik ve laboratuvar bulgularının karşılaştırılması.

Değişkenler	Steatoz(n=17) Medyan (min-max)	NASH(n=54) Medyan (min-max)	Kontrol(n=40) Medyan (min-max)	p değeri	Gruplar arası anlamlılık		
Boyun Çevresi (cm)	39.0 (37.0-42.0)	40.0 (34.0-45.0)		0.828			
Ortalama Sistolik Tansiyon (mmHg)	120.0 (100.0-185.0)	120.0 (100.0-180.0)	120.0 (90.0-150.0)	0.255			
Ortalama Diyastolik Tansiyon(mmHg)	80.0 (60.0-100.0)	80.0 (60.0-120.0)	80.0 (50.0-100.0)	0.244			
USG steatoz grade	2.0 (0.0-3.0)	2.0 (1.0-3.0)		0.670			

(k): kontrol grubu, (s): steatoz grubu, (n): NASH grubu.

Kontrol (n=40), Steatoz (n=17) ve NASH grubu (n=54) CB2-R ekspresyonu açısından karşılaştırıldıklarında, CB2-R ekspresyonunun istatistiksel olarak farklı olduğu saptandı (p= 0.043). Kontrol grubu ile Steatoz grubu karşılaştırıldığında CB2-R ekspresyonu arasında fark saptanmadı (p=0.084). Kontrol grubu ile NASH'li hastalar karşılaştırıldığında CB2-R ekspresyonu arasında fark saptanmadı (p=0.243). Steatozlu hastalar ve NASH'li hastaların CB2-R ekspresyonu karşılaştırıldığında aralarında anlamlı farklılık saptandı (p= 0.017) (tablo-5).

**Tablo-5:** Kontrol, Steatoz ve NASH grubunun CB2-R ekspresyonu açısından birbiriyle karşılaştırılması.

	CB2-R ekspresyonunun yüzdesi	p değeri	Gruplar arası anlamlılık (p değerleri)
	Medyan (min-max)		
<b>Kontrol (n=40)</b>	72.5 (20-95)	<b>0.043</b>	Kontrol-steatoz 0.084
<b>Steatoz (n=17)</b>	90 (50-100)		Kontrol-NASH 0.243
<b>NASH (n=54)</b>	75 (20-100)		<b>Steatoz-NASH 0.017</b>

**Min:** minimum, **Max:** maksimum, **n:** hasta sayısı.

Steatoz grubundaki hastaların CB2-R ekspresyon yüzdesi ile NAS skorunu oluşturan parametrelerden histolojik steatozun Grade'i, lobüler inflamasyon, balonlaşma, portal inflamasyon, fibrozis stage'i nin ayrı ayrı ilişkisi incelendiğinde, reseptör ekspresyonu ile aralarında herhangi bir

korelasyon saptanmadı ( $p>0.05$ ). Steatoz grubundaki hastaların CB2-R ekspresyon yüzdesi ile NAS skoru arasında korelasyon saptanmadı ( $p=0.941$ ). NASH grubundaki hastalarda da CB2-R ekspresyon yüzdesi ile NAS skorunu oluşturan parametrelerden histolojik steatozun grade'i, lobüler inflamasyon, balonlaşma, portal inflamasyon, fibrozis stage'in ayrı ayrı ilişkisi incelendiğinde, reseptör ekspresyonu ile aralarında herhangi bir korelasyon saptanmadı ( $p>0.05$ ). NASH grubundaki hastaların CB2-R ekspresyon yüzdesi ile NAS skoru arasında ilişki saptanmadı ( $p=0.889$ ) (tablo-6).

Steatoz grubundaki hastaların USG'deki steatozun grade'i ile CB2-R ekspresyon yüzdesi arasında ilişki değerlendirildiğinde, aralarında korelasyon saptanmadı ( $p=0.502$ ). NASH grubundaki hastaların USG'deki steatozun grade'i ile CB2-R ekspresyon yüzdesi arasında ilişki değerlendirildiğinde, aralarında korelasyon saptanmadı ( $p=0.527$ ).

**Tablo-6:** Steatoz ve NASH grubunda histopatolojik bulguların CB2-R ekspresyonu ile korelasyonu.

	Patolojik bulguların CB2-R ekspresyonu ile korelasyonu	
	Steatoz	NASH
	p değeri	p değeri
<b>Histolojik steatoz</b>	0.438	0.632
<b>Lobüler inflamasyon</b>	0.512	0.550
<b>Balonlaşma</b>	0.835	0.359
<b>Portal İnflamasyon</b>	0.383	0.687
<b>Fibroz stage</b>	0.723	0.613
<b>NAS skor</b>	0.941	0.889

Kontrol grubunda fibrozis, inflamasyon, konjesyon, hyelinizasyondan en az biri olanlarla olmayanlar arasında CB2-R ekspresyon yüzdesi arasında istatistiksel fark saptanmadı ( $p= 0.929$ ) (tablo-7).

**Tablo-7:** Kontrol grubunda fibrozis, inflamasyon, konjesyon, hyelinizasyondan en az biri olanlarla olmayanlar arasında CB2-R ekspresyonunun karşılaştırılması.

	CB2- R ekspresyon yüzdesi		p değeri
	En az 1 parametre olan	En az 1 parametre olmayan	
	Medyan (min-max)	Medyan (min-max)	
<b>Kontrol grubu (n=40)</b>	70 (50-95)	75 (20-95)	0.929

**Min:** minimum, **Max:** maksimum, **n:** hasta sayısı.

Steatoz grubunda CB2-R'lerinin ekspresyonun yüzdesi ile HOMA-IR arasındaki ilişki değerlendirildiğinde aralarında korelasyon saptanmadı ( $p=0.539$ ). NASH grubunda CB2-R'lerinin ekspresyonun yüzdesi ile HOMA-IR arasındaki ilişki değerlendirildiğinde aralarında korelasyon saptanmadı ( $p=0.165$ ) (tablo-8).

**Tablo-8:** CB2-R ekspresyonunun HOMA-IR ve USG steatoz grade'i ile korelasyonu.

	CB2-R ekspresyonu ile korelasyon	
	Steatoz	NASH
	p değeri	p değeri
<b>HOMA-IR</b>	0.539	0.165
<b>USG steatoz grade</b>	0.545	0.660

Steatoz grubunda hiperlipidemisi olan ve olmayanların CB2-R ekspresyonu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ( $p=0.660$ ) (tablo-9).



**Tablo-9:** Normalipidemik ve hiperlipidemik Steatozlu hastaların CB2-R ekspresyonunun karşılaştırılması.

	Hiperlipidemi	Normalipidemi	p değeri
	Medyan (min-max)	Medyan (min-max)	
<b>Steatoz CB2-R</b>	90 (65-100)	75 (30-85)	0.660

**Min:** minimum, **Max:** maksimum.

NASH grubunda hiperlipidemisi olan ve olmayanların CB2-R ekspresyonunun yüzdesi karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ( $p=0.697$ ) (tablo-10).

**Tablo-10:** Normalipidemik ve hiperlipidemik NASH'lı hastaların CB2-R ekspresyonunun karşılaştırılması.

	Hiperlipidemi	Normalipidemi	p değeri
	Medyan (min-max)	Medyan (min-max)	
<b>NASH CB2-R</b>	80 (50-100)	70 (20-100)	0.697

**Min:** minimum, **Max:** maksimum.

Steatoz grubunda hiperlipidemisi olanlar ve NASH grubunda hiperlipidemisi olanlar karşılaştırıldığında, CB2-R ekspresyonu açısından anlamlı farklılık saptandı ( $p=0.019$ ) (tablo-11). Normalipidemik olanlarda iki grup arasında anlamlı farklılık saptanmadı ( $p=0.172$ ) (tablo-12).

**Tablo-11:** Hiperlipidemik Steatozlu ve NASH'lı hastaların CB2-R ekspresyonunun karşılaştırılması

<b>Hiperlipidemi olanlarda CB2-R ekspresyonunun yüzdesi</b>			
	Steatoz	NASH	p değeri
	Medyan (min-max)	Medyan (min-max)	
<b>CB2-R ekspresyonunun yüzdesi</b>	<b>90 (65-100)</b>	80 (50-100)	<b>0.019</b>

**Min:** minimum, **Max:** maksimum.

**Tablo-12:** Normallipidemik steatozlu ve NASH'li hastaların CB2-R ekspresyonunun karşılaştırılması.

Normallipidemi olanlarda CB2-R ekspresyonunun yüzdesi			
	Steatoz	NASH	p değeri
	Medyan (min-max)	Medyan( min-max)	
CB2-R ekspresyonunun yüzdesi	75 (30-85)	70 (20-100)	0.172

**Min:** minimum, **Max:** maksimum.

Steatoz ve NASH'li hastaların hepsi (NAYKH) ele alındığında, %40.84 hastada (n=29) hiperlipidemi saptanırken, %57.74 (n=41) hastada yoktu. NAYKH grubunda hiperlipidemisi olan veya olmayanlar arasında CB2-R ekspresyonu açısından anlamlı farklılık saptanmadı (p=0.650) (tablo-13).

**Tablo-13:** NAYKH grubunda CB2-R ekspresyonu ile lipid profilinin karşılaştırılması.

	CB2-R ekspresyonunun yüzdesi		p değeri
	Hiperlipidemi	Normallipidemi	
	Medyan (min-max)	Medyan (min-max)	
NAYKH (n:71)	80 (30-100)	72.5 (20-100)	0.650

**Min:** minimum, **Max:** maksimum, **n:** hasta sayısı.

Steatoz grubundaki hastaların, yaş, boy, bel, kalça ve boyun çevresi, VKİ, kilo, sistolik tansiyon, diyastolik tansiyonu değerlerinin ayrı ayrı CB2-R ekspresyonu arasında ilişkisi değerlendirildiğinde aralarında herhangi bir korelasyon saptanmadı (p>0.05).

Steatoz grubundaki hastaların AST, ALT, ALP, GGT, LDH, TBil, DBil, Tprotein, albumin, TG, Tkolesterol, HDL, LDL, seruloplazmin, bakır, hba1c, HOMA-IR, BUN, Kreatinin, TSH, C peptit, Hb, trombosit, MCV, MPV, PT, INR, sedimantasyon, mikroalbuminüri değerlerinin ayrı ayrı CB2-R ekspresyonu ile ilişkisi değerlendirildiğinde aralarında herhangi bir korelasyon saptanmadı (p>0.05)

NASH grubundaki hastaların yaş, boy, bel, kalça ve boyun çevresi, VKİ, kilo değerlerinin ayrı ayrı CB2-R ekspresyonu arasında ilişkisi değerlendirildiğinde aralarında herhangi bir korelasyon saptanmadı ( $p>0.05$ ).

NASH grubundaki hastaların sistolik ve diyastolik arteriyal tansiyon değerleri ile CB2-R ekspresyonu ilişkisi karşılaştırıldığında bu değerlerle negatif yönde korelasyon saptandı ( $r=0.381$ ;  $p=0.05$  ve  $r=0.374$ ;  $p=0.005$ ).

NASH grubundaki hastaların AST, ALT, ALP, GGT, LDH, TBil, DBil, Tpro, albumin, TG, Tkolesterol, LDL, seruloplazmin, bakır, hba1c, HOMA-IR, BUN, Kreatinin, TSH, C peptit, Hb, trombosit, MCV, MPV, PT, INR, sedimantasyon değerlerinin ayrı ayrı CB2-R ekspresyonu ile ilişkisi değerlendirildiğinde aralarında korelasyon saptanmadı ( $p>0.05$ ).

NASH grubundaki hastaların HDL ve mikroalbuminüri değerleriyle CB2-R ekspresyonunun ilişkisi değerlendirildiğinde aralarında negatif yönde korelasyon olduğu saptandı (tablo-14).

**Tablo-14:** NASH'li hastalarda HDL ve mikroalbuminürinin CB2-R ekspresyonu ile korelasyonu.

	<b>CB2-R ekspresyonu</b>
<b>HDL</b>	$r= 0.292$ ; $p=0.032$
<b>Mikroalbuminüri</b>	$r=0.290$ ; $p=0.035$

NAYKH grubunda, CB2-R'lerinin ekspresyonun yüzdesi ile histolojik steatoz, lobüler inflamasyon, balonlaşma, portal inflamasyon, fibroz stage arasında ilişkisi değerlendirildiğinde ise sadece lobüler inflamasyon ile istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptandı ( $r=0.243$ ;  $p=0.041$ ). Lobüler inflamasyon arttığında CB2-R ekspresyonunun yüzdesi azaldığı belirlendi (tablo-15).

**Tablo-15:** NAYKH grubunda CB2-R ekspresyonu ile patolojik bulguların korelasyonu.

	CB2-R ekspresyonu ile patolojik bulguların ilişkisi (korelasyonu)
	NAYKH (Steatoz+NASH) (n=71)
<b>Histolojik steatoz</b>	p=0.129
<b>Lobüler inflamasyon</b>	<b>r=0.243; p=0.041</b>
<b>Balonlaşma</b>	p=0.648
<b>Portal inflamasyon</b>	p=0.533
<b>Fibroz stage</b>	p=0.732
<b>NAS skoru</b>	p=0.058

Steatoz grubunun %70'inde (n=12), NASH grubunun %83'ünde (n=46) HOMA IR  $\geq 2.5$  idi. Steatoz grubunda HOMA IR  $\geq 2.5$  olanlarla, HOMA IR $<2.5$  olanların CB2-R ekspresyonu arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmadı (p=0.442) (tablo-16).

NASH grubunda HOMA IR  $\geq 2.5$  olanlarla, HOMA IR $< 2.5$  olanların CB2-R ekspresyonu açısından herhangi bir farklılık saptanmadı (p=0.765) (Tablo-16).

**Tablo-16:** Steatozu olan ve NASH'li olan hastaların, HOMA-IR değerine göre CB2-R ekspresyonunun karşılaştırılması.

	HOMA-IR $< 2.5$	HOMA-IR $\geq 2.5$	p değeri
	Medyan (min-max) (n)	Medyan (min-max) (n)	
<b>Steatoz CB2-R</b>	n=5 90 (65-100)	n=12 82.5 (50-100)	0.442
<b>NASH CB2-R</b>	n=8 75 (30-100)	n=46 75 (20-100)	0.765

**Min:** minimum, **Max:** maksimum, **n:** hasta sayısı

NAYKH grubunda hastaların % 19.71'inin (n=14) HOMA IR $< 2.5$  % 80.28 (n=57) HOMA IR  $\geq 2.5$  idi. İR olan ve olmayanlar arasında CB2-R ekspresyonu açısından anlamlı farklılık saptanmadı (p=0.288) (tablo-17).

**Tablo-17:** CB2-R ekspresyonun NAYKH grubunda HOMA-IR Değerine Göre karşılaştırılması.

	CB2-R ekspresyonun yüzdesi		p değeri
	HOMA- IR<2.5	HOMA-IR≥2.5	
	Medyan(min-max)	Medyan(min-max)	
<b>NAYKH</b>	80 (30-100)	75 (20-100)	0.288

**Min:** minimum, **Max:** maksimum.

**Tablo-18:** CB2-R ekspresyonun, HOMA IR <2.5 olan Steatoz ve NASH'lı hastalarda karşılaştırılması.

	HOMA IR< 2.5 olanlarda CB2-R ekspresyonunun yüzdesi		p değeri
	Steatoz	NASH	
	Medyan (min-max) (n)	Medyan (min-max) (n)	
<b>CB2 -R ekspresyonunun yüzdesi</b>	n=5 90 (65-100)	n=8 75 (30-100)	0.065

**Min:** minimum, **Max:** maksimum, **n:** hasta sayısı.

**Tablo-19:** CB2-R ekspresyonun, HOMA IR<2.5 olan Steatoz ve NASH'lı hastalarda karşılaştırılması.

	HOMA IR≥2.5 olanlarda CB2 -R ekspresyonunun yüzdesi		p değeri
	Steatoz	NASH	
	Medyan (min-max) (n)	Medyan (min-max) (n)	
<b>CB2-R ekspresyonunun yüzdesi</b>	n=12 82.5(50-100)	n=46 75(20-100)	0.128

**Min:** minimum, **Max:** maksimum, **n:** hasta sayısı.

Steatoz grubunda CB2-R ekspresyonunun yüzdesi ile VKİ arasında herhangi bir korelasyon saptanmadı ( $p=0.399$ ). Steatoz grubunun %76.4'ünün ( $n=13$ ) VKİ  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup>, %23.5'inin ( $n=4$ ) VKİ  $< 30$  kg/m<sup>2</sup> idi. Steatoz grubunun VKİ  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup> ve VKİ  $< 30$  kg/m<sup>2</sup> olanlar arasında CB2-R ekspresyonu açısından anlamlı farklılık bulunmadı ( $p=0.296$ ). NASH grubunun CB2-R ekspresyonunun yüzdesi ile VKİ arasında korelasyon saptanmadı ( $p=0.828$ ). NASH grubunun %64.81'inin ( $n=35$ ) VKİ  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup>, %35.18'inin ( $n=19$ ) VKİ  $< 30$  kg/m<sup>2</sup> olup, CB2-R ekspresyonunun yüzdesi ve

VKİ  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup> ve VKİ  $< 30$  kg/m<sup>2</sup> olanlar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (p=1.00) (tablo-20).

**Tablo-20:** Obez olan ve olmayan Steatozlu hastaların ve NASH'li hastaların CB2-R ekspresyonunun karşılaştırılması.

	VKİ $< 30$ kg/m <sup>2</sup>	VKİ $\geq 30$ kg/m <sup>2</sup>	p değeri
	Medyan (min-max)	Medyan (min-max)	
<b>Steatoz CB2-R</b>	60 (50-100)	90 (65-100)	0.296
<b>NASH CB2-R</b>	60 (30-100)	75 (20-100)	1.00

**Min:** minimum, **Max:** maksimum.

Steatoz grubunda obezitesi olanlar ile NASH grubunda obezitesi olan hastaların CB2-R ekspresyon yüzdesi karşılaştırıldığında, Steatozlu obez grupta CB2-R'lerinin daha fazla oranda eksprese olduğu saptandı (p=0.09) (tablo-21).

**Tablo-21:** Obez Steatozlu hastaların ve obez NASH'li hastaların CB2-R ekspresyonunun karşılaştırılması.

VKİ $\geq 30$ kg/m <sup>2</sup> olanlarda CB2-R ekspresyonunun yüzdesi			
	Steatoz	NASH	p değeri
	Medyan (min-max)	Medyan (min-max)	
<b>CB2-R ekspresyonunun yüzdesi</b>	<b>90 (65-100)</b>	75 (20-100)	<b>0.009</b>

**Min:** minimum, **Max:** maksimum.

Steatoz grubunda obez olmayanlarla NASH grubunda obez olmayan hastaların CB2-R ekspresyonunun yüzdesi karşılaştırıldığında aralarında anlamlı farklılık saptanmadı (p=0.845) (tablo22).

**Tablo-22:** Obez olmayan steatozlu hastaların ve obez olmayan NASH'li hastaların CB2-R ekspresyonunun karşılaştırılması.

VKİ<30kg/m <sup>2</sup> olanlarda CB2-R ekspresyonunun yüzdesi			
	Steatoz	NASH	p değeri
	Medyan (min-max)	Medyan (min-max)	
CB2-R ekspresyonunun yüzdesi	60 (50-100)	60 (30-100)	0.845

**Min:** minimum, **Max:** maksimum, **VKİ:** vücut kitle indeksi.

NAYKH grubunda VKİ  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup> 48, VKİ  $< 30$  kg/m<sup>2</sup> olan 23 hastanın CB2-R ekspresyonları karşılaştırıldığında, CB2-R ekspresyonu açısından aralarında herhangi bir farklılık saptanmadı (p=0.356) (tablo-23).

**Tablo-23:** NAYKH'da vücut kitle indeksine göre CB2-R ekspresyonun karşılaştırılması.

	CB2-R ekspresyonunun yüzdesi		p değeri
	VKİ $< 30$ kg/m <sup>2</sup>	VKİ $\geq 30$ kg/m <sup>2</sup>	
	Medyan (min-max)	Medyan (min-max)	
NAYKH	60 (30-100)	75 (20-100)	p=0.356

**Min:** minimum, **Max:** maksimum, **VKİ:** vücut kitle indeksi.

Steatoz grubunda OGTT'si normal, bozulmuş açlık glukozu ve diyabeti olan hastaların CB2-R ekspresyon yüzdeleri karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (p=0.618) (tablo-24).

NASH grubunda OGTT'si normal, bozulmuş açlık glukozu, bozulmuş glukoz toleransı ve diyabeti olan hastaların CB2-R ekspresyon yüzdeleri karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (p=0.975) (tablo-24).

**Tablo-24:** Steatozlu ve NASH'li hastaların, AKŞ, IFG, IGT, Tip 2 DM varlığına göre CB2-R ekspresyonunun karşılaştırılması

	CB2-R ekspresyon yüzdesi				p değeri
	AKŞ	IFG	IGT	Tip 2 DM	
	Medyan (min-max)	Medyan (min-max)	Medyan (min-max)	Medyan (min-max)	
<b>Steatoz</b>	92.5 (50-100)	82.5 (50-100)	-	70 (65-100)	0.618
<b>NASH</b>	70 (30-100)	70 (20-90)	75 (50-80)	77.5 (50-100)	0.975
<b>p değeri</b>	0.057	0.352	-	0.530	

**Min:** minimum, **Max:** maksimum, **AKŞ:** açlık kan şekeri, **IFG:** bozulmuş açlık glukozu, **IGT:** bozulmuş glukoz toleransı, **DM:** diyabetis mellitus

Steatozlu grupta CB2-R ekspresyonunun, metabolik sendrom ile korelasyonu saptanmadı (p=0.202).

Steatozlu hastaların 8'i metabolik sendromlu olup, 9'unda metabolik sendrom yoktu. Steatozlu hastalarda metabolik sendromu olan ve olmayanlar arasında CB2-R ekspresyonunun yüzdesi arasında anlamlı fark saptanmadı (p= 0.200) (tablo-25).

NASH grubunda CB2-R ekspresyonunun, metabolik sendrom ile korelasyonu saptanmadı (p=0.225). NASH grubunun %70.7 (n=40) metabolik sendromlu olup, %25.92'sinde (n=14) metabolik sendrom yoktu. NASH'li hastalarda metabolik sendromu olan ve olmayanlar arasında CB2-R ekspresyonunu açısından anlamlı farklılık saptanmadı (p= 0.124) (tablo-25).

**Tablo-25:** Metabolik sendromu olan ve olmayan Steatozlu ve NASH'li hastaların CB2-R ekspresyonu açısından karşılaştırılması.

	Metabolik sendrom yok	Metabolik sendrom var	p değeri
	Medyan (min-max)	Medyan (min-max)	
<b>Steatoz CB2-R</b>	92.5 (50-100)	70 (50-100)	0.200
<b>NASH CB2-R</b>	60 (30-85)	75 (20-100)	0.124

**Min:** minimum, **Max:** maksimum.



Metabolik sendromu olmayan Steatoz ve metabolik sendromu olmayan NASH grubu, CB2-R ekspresyonu yüzdesi açısından karşılaştırıldığında, Steatozlu grupta daha fazla oranda reseptör ekspresyonu saptandı ( $p=0.002$ ) (tablo-26).

**Tablo-26:** Metabolik sendromu olmayan Steatozlu ve NASH'lı hastaların CB2-R ekspresyonu açısından karşılaştırılması.

<b>Metabolik sendrom yok</b>			
	<b>Steatoz</b>	<b>NASH</b>	<b>p değeri</b>
	<b>Medyan (min-max)</b>	<b>Medyan (min-max)</b>	
<b>CB2-R ekspresyonunun yüzdesi</b>	<b>92.5 (50-100)</b>	60 (30-85)	<b>0.002</b>

**Min:** minimum, **Max:** maksimum.

Metabolik sendromu olan Steatoz ve metabolik sendromu olan NASH grubu, CB2-R ekspresyonu yüzdesi açısından karşılaştırıldığında, aralarında farklılık saptandı ( $p=0.675$ ) (tablo-27).

**Tablo-27:** Metabolik sendromu olan Steatozlu ve NASH'lı hastaların CB2-R ekspresyonu açısından karşılaştırılması.

<b>Metabolik sendrom var</b>			
	<b>Steatoz</b>	<b>NASH</b>	<b>p değeri</b>
	<b>Medyan (min-max)</b>	<b>Medyan (min-max)</b>	
<b>CB2-R ekspresyonunun yüzdesi</b>	70 (50-100)	75 (20-100)	0.675

**Min:** minimum, **Max:** maksimum

NAYKH grubunda metabolik sendrom kriter sayısının artıp azalması ile CB2-R ekspresyonu arasında herhangi bir korelasyon saptanmadı ( $p=0.988$ ). NAYKH grubunda metabolik sendrom olup olmamasına göre CB2-R ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ( $p=0.940$ ) (tablo-28).

**Tablo-28:** NAYKH'da CB2-R Ekspresyonun Metabolik Sendrom varlığına göre değişimi.

	CB2-R ekspresyonun yüzdesi		p değeri
	Metabolik sendrom yok	Metabolik sendrom var	
	Medyan (min-max)	Medyan (min-max)	
<b>NAYKH</b>	75 (20-100)	80 (30-100)	0.940

**Min:** minimum, **Max:** maksimum.

NAYKH grubunda USG steatoz grade'i ile CB2-R ekspresyonu arasında herhangi bir korelasyon saptanmadı (p=0.750).

NAYKH grubunda 71 hastanın 13'ünde HOMA IR<2.5 ve 58'sinde HOMA-IR ≥2.5 olarak saptandı. NAYKH grubunda insulin rezistansı olan ve olmayanlar arasında CB2-R ekspresyonu arasında anlamlı farklılık saptanmadı (p=0.288).

NAYKH'lı 71 hastanın 44'ünde (%62) DM saptanmazken, 27 hastada (%38) DM mevcuttu. Diyabeti olan ve olmayan NAYKH'lı hastalar arasında CB2-R ekspresyonu açısından anlamlı farklılık yoktu (p=0.937) (tablo-29).

**Tablo-29:** CB2-R Ekspresyonun NAYKH'da Tip2 DM olup olmamasına Göre değişimi

	CB2-R ekspresyonun yüzdesi		p değeri
	DM yok	DM var	
	Medyan(min-max)	Medyan(min-max)	
<b>NAFLD</b>	75 (20-100)	75 (50-100)	0.940

**Min:** minimum, **Max:** maksimum.

NAYKH grubundaki 71 hasta ve 40 kontrol grubundan oluşan 111 kişinin %54.1'inin (n=60) OGTT'si normal, %13.5'inin (n=15) bozulmuş açlık glukozu, %9'unun (n=10) bozulmuş glukoz toleransı ve %23.4'ünün (n=26) tip 2 diyabeti mevcuttu. Tüm hasta grubunda bozulmuş açlık glukozu, bozulmuş glukoz toleransı, DM'i olan ve olmayan hastalar arasında CB2-R ekspresyonu açısından anlamlı farklılık saptanmadı (p=0.556).

NAYKH grubundaki toplam 71 hastanın 20'si hem diyabetik hem de obezdi. Diyabetik olup VKi<30 kg/m<sup>2</sup> olan 18 hasta mevcuttu. Diyabetik obez olup ve diyabetik olmayıp obez olmayan NAYKH'lı hastalar arasında CB2-R ekspresyonu karşılaştırıldığında aralarında anlamlı farklılık saptanmadı (p=0.869) (tablo-30).

**Tablo-30:** Tip 2 Diyabetli, obez NAYKH'lı hastaların, Tip 2 diyabeti olmayan ve obez olmayan NAYKH'lı hastalar ile CB2-R ekspresyonun karşılaştırılması.

	CB2-R ekspresyonun yüzdesi		p değeri
	DM ve obez	nonDM ve nonobez	
	Medyan (min- max)	Medyan (min- max)	
<b>NAFLD</b>	72.5 (50-100)	60 (30-100)	0.443

**Min:** minimum, **Max:** maksimum.

NASH ve steatozlu toplam 71 NAFLD'lı hasta birlikte değerlendirildiğinde CB2-R ekspresyon yüzdesi ile fibrozis stage arasındaki ilişki değerlendirildiğinde, aralarında korelasyon saptanmadı (p=0.732).

NAYKH grubunda CB2-R ekspresyonu ile histolojik steatoz arasında korelasyon saptanmadı (p=0.129).

NAYKH grubunda NAS skoru ile CB2-R ekspresyonu arasında herhangi bir korelasyon saptanmadı (p=0.058).

NAYKH grubundaki 71 hasta ve kontrol grubundan 40 hastanın CB2-R ekspresyonu yüzdeleri karşılaştırıldığında iki grup arasında CB2-R ekspresyonu arasında anlamlı farklılık yoktu (p= 0.924).

NAYKH grubunda CB2-R ekspresyonunun sistolik tansiyon ve mikroalbuminüri ile negatif yönde ilişkisinin olduğu saptandı (sırasıyla r= 0.254; p=0.032 ve r=0.272; p=0.023). Diğer biyokimyasal parametreler ve demografik verilerle ilişkisi saptanmadı.

CB2-R'leri kontrol grubunda 25 (%62.5) hastada, steatoz grubunda 3 (%17.6) hastada, NASH grubunda 22 (%40.7) hastada nükleer ve stoplazmik boyanma gösterdi.

CB1-R'leri NASH'lı 10 vakada portal alanlardaki bazı lenfositlerin nükleuslarında pozitif saptandı.

NAYKH grubundaki 52 vakada portal alanlardaki safra duktuslarındaki epitel hücre nükleuslarında CB2-R'lerinde pozitif boyanma mevcuttu.

Yapılan histolojik ve immunokimyasal değerlendirilmede NAYKH grubundaki ve kontrol grubundaki hiç bir olguda CB1-R'leri açısından nükleer boyanma saptanmadı veya çok hafif stoplazmik boyanma saptandı.

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Günümüzdeki sınırlı sayıdaki insan çalışmaları kannabinoidler ile yağlı karaciğer gelişimi arasındaki ilişkiyi göstermektedir (15,17). NAYKH, toplumda en sık kronik karaciğer hastalığı olarak kabul edilmektedir. NAYKH metabolik sendromun karaciğerdeki yansımasıdır. Batı ülkelerindeki prevalansı %20-30 olan yaygın klinik durumdur (67, 149, 150). NAYKH steatozdan, nonalkolik steatohepatit, siroz ve son dönem karaciğer yetmezliği ve HCC'ye kadar ilerleyen geniş spekturumlu karaciğer hastalıklarını içerir (19). NAYKH obezite, insülin rezistansı, hipertrigliseridemi, metabolik sendrom ve tip 2 DM ile ilişkilidir (6). Ancak metabolik yolak ve fibrosin progresyonuna katkıda bulunan palolojik yolaklar henüz tam olarak açıklığa kavuşmamıştır.

Günümüzde insanların kronik karaciğer hastalıklarının tedavisi açısından henüz efektif bir antifibrotik tedavi stratejisi mevcut değildir. Karaciğere spesifik antifibrotik tedavilerin geliştirilmesi için birçok çaba sarfedilmektedir. Çalışmalar, endojen lipid yapıdaki kannabinoid ligandların ve reseptörlerinin (CB1 ve CB2) kronik karaciğer hasarında anahtar rol oynadığını ileri sürmüşlerdir (12). Beden-kitle indeksi, yağ dağılımı ve glikoz tolerans bozukluğundan bağımsız olarak, HOMA-IR indeksi ile değerlendirilen insülin direnci, NAYKH varlığı ile uyumlu bulunmuştur. NAYKH çocukların genel olarak % 2.6'sında, obez çocukların ise % 22.5-52.8'inde bildirilmiş olmakla beraber, en sık olarak 50-60 yaşlarda ve % 65-83 oranında kadınlarda gözlenir (4). Bizim çalışmamızdaki NASH'lı hastaların yaş ortalaması 46 idi ve %51.8'i kadınlardan oluşmaktayken, steatozluların 58.8'i kadın ve yaş ortalaması 50 idi. NASH'lıların %25-75'inde hiperlipidemi ve/veya hiperglisemi söz konusudur (26). Bizimde literatürle uyumlu şekilde steatozlu hastalarımızın %35.3'ü bozulmuş açlık glukozlu, %29.4'ü diyabetliyken, NASH'lı hastalarımızın %7.4'ü bozulmuş açlık glukozlu, %37'si diyabetli idi.

NAYKH'ın prevalansı; tip 2 diyabet ve trigliserid yüksekliği olan hastalarda %50-55'e, obez bireylerde %75'e çıkmaktadır ve obez olan diyabetik bireylerin hemen hemen tamamında mevcuttur (22, 151). NAYKH ile ilişkili en yaygın risk faktörü metabolik sendrom mevcudiyetidir. Metabolik sendrom yaygın bir problemdir ve obezite, diyabet, hiperlipidemi ve hipertansiyon gibi metabolik problemlerde prevalansının yüksek olması nedeniyle büyük bir nüfus NAYKH gelişimi açısından risk altındadır (22). Nonalkolik steatohepatit (NASH), son yıllarda obezite ile paralel olarak sıklığı giderek artan, karaciğerde yağlanma ve inflamasyon ile seyreden, kronik bir hastalıktır. Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı, metabolik sendromun karaciğerdeki tezahürüdür (58). NASH patogenezi multifaktöryeldir. İnsülin direnci hepatoselüler yağ birikimi için önemli bir faktördür ve NASH'ın insülin rezistansı ile olan ilişkisini desteklemiştir. Bizim çalışmamızda steatozlu hastaların %52.9'unda metabolik sendrom, %35.3'ünde hiperlipidemi , %29.4'ünde hipertansiyon, %41.2'sinde diyabet vardı. NASH'lı grubun ise %74.1'inde metabolik sendrom, %42.6'sında hiperlipidemi, %33.3'ünde hipertansiyon ve %37'sinde diyabet mevcuttu.

Yağlı karaciğer gelişimi ile kannabinoid sistemin, obezite, yüksek yağlı diyet ve etanol gibi çeşitli faktörlerle ilişkisi hayvan çalışmalarıyla gösterilmiştir (8, 93, 95, 96). Son dönemdeki benzer insan çalışmaları da kannabinoidler ile hepatit C virüslü ve NAYKH'lı hastalardaki yağlı karaciğer gelişimi arasındaki ilişkiyi ortaya çıkarmıştır (12, 97). Bizim çalışmamızda Steatozlu hastalarda hiperlipidemisi olanlarla normalipidemik hastaların karaciğerlerindeki, CB2-R ekspresyonu karşılaştırıldığında anlamlı farklılık saptanmadı ( $p=.0660$ ). NASH'lı hastalarda da hiperlipidemisi olanlar ve normalipidemik hastaların karaciğerlerindeki, CB2-R ekspresyonu karşılaştırıldığında anlamlı farklılık saptanmadı ( $p=0.697$ ). Ancak steatozu ve hiperlipidemisi olanlarla, NASH'lı ve hiperlipidemisi olanlar karşılaştırıldığında, steatozlu grupta CB2-R ekspresyonunun anlamlı olarak daha fazla olduğu saptandı ( $p=0.019$ ). Obezite ve CB2-R ekspresyonu arasındaki ilişki incelendiğinde ise Steatozlu obez grupta, NASH'lı obez gruba göre CB2-R ekspresyonunun anlamlı olarak daha fazla olduğu

saptandı ( $p=0.009$ ). CB2 reseptörlerinin yağlı karaciğerde ekspresyonu metabolik sendromla olan ilişkisini göstermektedir (16). Bizim çalışmamızda metabolik sendromu olmayan steatozlularda CB2-R ekspresyonu, metabolik sendromu olmayan NASH'lılara göre daha fazla saptandı ( $p=0.002$ ). Ancak metabolik sendromu olan Steatozu olan hastalar ve NASH'i olan hastalar karşılaştırıldığında CB2-R ekspresyonu açısından aralarında anlamlı farklılık saptanmadı ( $p=0.675$ ). Steatozlu grupta metabolik sendromu olan ve olmayanlar arasında CB2-R ekspresyonu açısından fark saptanmadı ( $p=0.200$ ). NASH'lılarda da metabolik sendromu olan ve olmayanlar arasında CB2-R ekspresyonu açısından fark saptanmadı ( $p=0.124$ ).

Obezite sonucu oluşan adipoz doku inflamasyonu insülin rezistansı ile ilişkilidir (66). Adipoz dokudaki CB2-R'lerinin proinflamatuvar özelliği İR gelişmesine katkıda bulunabilir. Cnr2 -/- farelerde insülin sensitivitesinde iyileşme ve yağ inflamasyonunda azalma gözlenmiştir (129). CB2-R'lerinin yağ dokusunda inflamasyonda rollerinin dışında vurgulanması gereken, CB2-R'lerinin karaciğer ve iskelet kası gibi insülin sensitif dokularda eksprese edildiğidir (13, 152). Bu dokularda da İR'ye katkıda bulunabilirler. CB2-R'lerinin İnsulin sekresyonu üzerindeki istenmeyen etkileri, CB2-R'lerinin pankreas B hücrelerinde eksprese olarak insülin sekresyonunu inhibe etmesiyle açıklanabilir (153, 154).

Hepatik yağ metabolizmasında yağların alınması, sentez, yıkım ve salınım basamaklarındaki bozuklukta insülin direncinin olması önemli rol oynar. Bizim çalışmamızda insülin rezistansı olan, steatozlu hastalar veya NASH'lı hastalar arasında CB2-R ekspresyonu açısından farklılık saptanmadı. İnsülin rezistansı olmayan steatozli veya NASH'lı hastalar karşılaştırıldığında da aralarında CB2-R ekspresyonu açısından farklılık saptanmadı. Steatozlu hastalarda insülin rezistansı olanlar veya olmayanlar arasında CB2-R ekspresyonunda fark saptanmadı. NASH'lı hastalarda da insülin rezistansı olanlar veya olmayanlar arasında CB2-R ekspresyonunda fark saptanmadı.

Mendez-Sanchez ve ark.'nın (15) çalışmasında normal insan karaciğer dokusunda CB2-R ekspre edilmediği belirtilmişken, çeşitli deneysel

çalışmalarda normal farelerin karaciğer hepatositleri ve HepG2 hücresinde kannabinoid reseptörlerinin ekspresyonu gösterilmiştir (8, 9, 10, 96). Cnr2 (kannabinoid reseptör geni)'nin direk aktivasyonu, karaciğerde lipogenezin artışı ve/veya yağ asidi  $\beta$  oksidasyonunun inhibisyonuna neden olur ve bu da steatoz mekanizmasını oluşturur. Julien ve ark.'nın (13) çalışmasında, CB2-R'lerin hepatik miyofibroblast hücrelerinde düşük seviyede saptanması nedeniyle, RT-PCR ile farelerin aktive olmuş karaciğer yıldızsı hücrelerinde, CB2-R'lerinin analizi yapılmıştır ve CB2-R aktive olmayan hücrelerde de hafifçe eksprese edildiği görülmüştür. CB2-R aktivasyonu, Hepatik miyofibroblastların büyümesinin inhibisyonunu indüklediğini belirtmiştirler (13). Siroz sırasında, hem CB1 hem de CB2 reseptörleri, karaciğer miyofibroblast hücrelerinde eksprese edilmektedir (12, 13). İnsanlarda yapılan çalışmalarda ise normal insan karaciğerinde CB1 ve CB2 reseptörlerinin hepatositlerde eksprese edilmediği ancak CB2 reseptörlerinin nonalkolik yağlı karaciğer hastalıklarında hepatosit, kolanjiyosit ve karaciğer yıldızsı hücrelerinde eksprese olduğu belirtilmiştir (13, 15). Diğer çalışmalarda ise CB2-R'leri hepatositlerde eksprese edilmediklerinden anti steatogenik sinyallerin Kupfer hücrelerinden orijin alabileceği belirtilmiştir (129, 143). Bu verilerle çelişkili olarak bizim çalışmamızda normal dokudaki hepatosit nükleuslarında CB2 R pozitif boyanma gösterdi. Mendez-Sanchez ve ark.'nın (15) çalışmasında CB2-R'lerinin, NAYKH'da immünlokalizasyonu ve ekspresyonunu araştırılmıştır. Kolorektal karsinomun karaciğer metastazı olan 2 hasta, hemanjiomu olan 1 hasta ve fokal nodüler hiperplazisi olan 1 hastanın karaciğer dokusundaki normal alanları histokimyasal olarak ve PCR tetkiki ile retrospektif incelenmiştir. Bir örnekte, nükleer pozitiflik saptanmazken, zayıf hepatoselüler ve kolanjiyoselüler stoplazmik immunreaktivite saptanmıştır. Parankimal olmayan hücrelerde antikora boyanma görülmemiştir. Bu çalışmada NAYKH'da CB2 reseptörlerinin hepatositler, kolanjiyositler ve hepatik stellat hücrelerinde immünlokalize olduğu ancak normal karaciğerde bulunmadığı saptanmıştır (15). Julien ve ark. (13) insanlarda NAYKH ile ilişkili olmayan sirozda, sadece karaciğer yıldızsı hücrelerin CB2-R antikoru ile immünreaksiyon gösterdiğini rapor ettiler (13). Ancak RT-PCR tekniği



kullanıldığında ise NAYKH'lı hepatositlerde anti CB2-R antikoru immunreaktifken, normal KC dokusunda olmadığı saptanmıştır. Bu çalışmalarda belirtildiğinin aksine bizim çalışmamızda CB2-R'lerinin sadece steatoz ve NASH'lı hastalar değil aynı zamanda kontrol grubundaki hepatositlerde de eksprese olduğu ve steatoz grubundaki ekspresyonun NASH'e göre daha fazla olduğu saptandı ( $p=0.017$ ). Kontrol grubu ve steatoz grubu ( $p=0.084$ ), kontrol grubu ve NASH grupları arasında ise CB2-R ekspresyonu açısından anlamlı farklılık saptanmadı ( $p=0.243$ ). Daha önce yapılan bu çalışmalara bakıldığında normal karaciğer alanlarına sahip kontrol grubunun örnek sayısının çok az olması nedeniyle, bu konuda net bir sonuca varılmasına engel olduğu kanısındayız.

Endokannabinoidler, CB1 ve CB2 reseptörlerini aktive ederek etkinliklerini gösteren endojen bileşenlerdir (7). Endokannabinoidler, CB1 reseptörlerini aktive ederek, yiyecek alımı ve lipolizi düzenlerler (8). CB2 reseptörleri, immun sistem hücrelerinde de saptanmıştır ancak buradaki kesin rolü bilinmemektedir (9). Normal karaciğer dokusunda immunhistokimyasal boyamada sinozidial duvarda kesik kesik (ayrık), punktuat, sirozlu örneklerde ise belirgin CB1-R immunreaktivite saptanmıştır. CB1-R'leri fibrotik septadaki nonparankimal hücrelerden olan içsi hücre, inflamatuvar hücreler, duktus epitel hücrelerinde baskın olarak eksprese olur. Bizim çalışmamızda hiçbir olguda hepatositlerde CB1-R'leri açısından immunohistokimyasal olarak pozitif boyanma saptanmadı ancak CB2-R'leri hepatositlerin nükleuslarında belirgin derecede seçici olarak pozitif boyandı ve NAYKH'ın %73'ünde ( $n=52$ ) portal alandaki safra duktuslarındaki epitel hücre nükleuslarında pozitif immunhistokimyasal boyanma gösterdi. Boyanan nükleusların yüzdesi belirtildiğinde, steatozlu hastaların CB2-R ekspresyonu medyanı 90 (50-100), NASH'lı hastaların 75 (20-100) ve kontrol grubunun 72.5 (20-95) saptandı ( $p=0.043$ ). CB1-R'leri için NAYKH'luların %14'ünde sadece portal alandaki bazı lenfositlerde nükleer boyanma izlendi.

Hepatoselüler Kannabinoid reseptörlerinin ekspresyonunun; steatoz, inflamasyon ve fibrozise bağlı olarak gelişen non-alkolik yağlı karaciğer hastalığının progresyonunda, potansiyel bir faktör olduğu belirtilmiştir (14).

Bizim çalışmamızda CB2-R ekspresyonunun patolojik bulgulardan histolojik steatoz, lobüler inflamasyon, balonlaşma, portal inflamasyon, fibroz stage ve NAS skoruyla ayrı ayrı ilişkisi olup olmadığı incelendiğinde; steatoz ve NASH grubu ayrı ayrı ele alındığında CB2-R ekspresyonu ve bu parametrelerle arasında herhangi bir korelasyon saptanmadığı görüldü. NASH'lı ve Steatozlu hastaların hepsini içeren NAYKH topluca ele alındığında ise patolojik bulgulardan sadece lobüler inflamasyon ile CB2-R'lerinin negatif yönde korele olduğu saptandı ( $r=0.243$ ,  $p= 0.041$ ). Bizim çalışmamızda Steatozlu hastalar, NASH'lı hastalar ve NAYKH'lı hastaların hepatositlerinde saptanan CB2-R ekspresyonunun, fibroz stage ile herhangi bir korelasyonu saptanmadı.

Hepatositlerdeki CB2-R'lerinin patolojik yolaklardaki rolü tam olarak aydınlatılamamıştır. CB2-R, 2-araşidonoilgliserol ile aktivasyona uğrayan lenfositlerden sitokin salınımını regüle eder. İnterlökin (IL)-8 üretiminde artışa ve İL-6 ve Tümör nekroz faktör-alfa üretiminde azalmaya neden olur (12, 14). CB2-R'leri makrofaj gibi immun sistem hücrelerinde eksprese olup çeşitli durumlardaki inflamatuvar cevapta rol alırlar (34). Kupffer hücrelerindeki ve myofibroblast hücrelerindeki CB2-R'leri belirgin upregülasyona uğrarken, CB1-R'leri hepatositlerde, hepatik miyofibroblast ve endotelial hücrelerde indüklenirler (16, 101, 155). Bizim çalışmamızda da CB1 reseptörleri portal alandaki bazı lenfositlerde nükleer boyanma gösterirken, CB2-R'leri hepatosit nükleusları ve bazı vakalarda portal alandaki safra duktus epitel hücre nükleuslarında pozitif boyanma saptandı. CB2-R yoksun farelerde steatozda alevlenme gözlenmiştir. CB2-R ajanisti JWH-133'le beslenen fareler alkolla beslendikleri süreçte steatozis oluşmamıştır (125). Bizim çalışmamızda Steatozlu hastalarda, histolojik steatoz derecesi daha fazla olan NASH' a göre daha fazla oranda CB2-R eksprese oluşu belki de CB2-R'lerin stetoza karşı koruyucu etkisi ile kompensatuvar olarak arttığı şeklinde yorumlanabilir. Ancak kontrol grubu ile Steatoz ve kontrol grubu ile NASH'li hastaları arasında CB2-R ekspresyonu açısından istatistiksel anlamlı fark saptanmaması bu tezi çürütmüştür. Preklinik ve klinik çalışmalar endokannabinoid sistemin obeziteyle ilişkili metabolik komorbitelerde önemli rolü olduğunu ve CB2-

R'lerin rollerini aydınlatmıştır (13, 35, 36). Obez farelerde, CB2-R'lerin inflamasyona, insülin rezistansına, yağlı karaciğer oluşumuna ve morbiditeye katkısı araştırılmıştır (129). Obezitenin progresyonu sırasında gelişen yağlı inflamasyona paralel olarak, adipoz dokudaki Cnr2 ekspresyonunun güçlü, karaciğer dokusunda ise orta derecede artış gösterdiği ve Cnr2 ekspresyonunun adipoz dokunun makrofajdan zengin stromal vasküler bölümde ve karaciğer non parankimal hücrelerinde arttığı gösterilmiştir (129, 156). Obez farelere CB2-R agonisti olan JWH-133 verildiğinde hayvanlarda İR ve steatozin arttığı, tersine CB2-R eksik hayvanlarda İnsülin duyarlılığında artış ve karaciğer yağlanmasına direnç saptanmıştır (129). Altı hafta süreyle yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde CB2-R agonisti olan JWH-133'ün uygulanması sonucunda, yağ dokusuna makrofaj infiltrasyonu sonucunda inflamatuvar cevabın ve insülin rezistansının arttığı görülmüştür. Yüksek yağlı diyetle 15 hafta süreyle beslenen ob/ob fareler veya hayvanlarda, farmakolojik ve genetik CB2-R inaktivasyonu uzun süreçte yağ dokusu ve karaciğer inflamasyonunu azalttığı saptanmıştır (129). Adipoz dokudaki CB2-R ekspresyonunun, inflamatuvar cevapta kritik rol oynadığı ve obeziteyle ilişkili İR ve yağlı karaciğere neden olduğu belirtilmiştir (129, 156). Bununla birlikte hepatik CB2-R'lerinin, karaciğer hasarında ve rejenerasyonunda, karaciğer fibrozisi ve alkolik karaciğer hastalığı gibi çeşitli safhadaki karaciğer hastalıklarında faydalı etki sağlayabilecekleri belirtilmiştir (13, 126, 157). Bizim çalışmamızda obez ( $VKİ > 30 \text{ kg/m}^2$ ) olan steatozlu hastalar ile obez NASH'li hastaların CB2-R ekspresyonu karşılaştırıldığında, steatozlu hastalarda ekspresyonun daha fazla olduğu saptandı. Obez olmayan Steatozlu hastalarla ve NASH'li hastalar karşılaştırıldığında aralarında CB2-R ekspresyonu açısından farklılık saptanmadı. Ancak steatozlularda obez olanlarla olmayanlar karşılaştırıldığında CB2-R ekspresyonu açısından aralarında fark saptanmadı. Visseral yağ ile oldukça iyi bağlantı gösteren parametrelerden olan bel ve kalça çevresi ölçümleri ile de CB2-R ekspresyonu arasında herhangi bir korelasyon saptanmadı. NASH'lilarda da obez olanlarla olmayanlar arasında CB2-R ekspresyonu arasında fark saptanmadı. Obez ve diyabetli olan NAYKH'li ve normal kilolu diyabetik

olmayan NAYKH'lilar karşılaştırıldığında CB2-R ekspresyonu açısından anlamlı farklılık saptanmadı.

CB2-R'lerin stimülatör etkisi ile inflamasyonda rol oynayan kemotaksis ve/veya makrofaj migrasyonunda artış olduğu sanılmaktadır (45, 128, 158). Ancak bizim çalışmamızda CB2-R ekspresyonunun ne Steatozlu hastalarda ne de NASH'li hastalarda lobüler veya portal inflamasyonla ilişkisi saptanmadı.

İskemi-reperfüzyon ile akut karaciğer hasarı oluşturulan deneysel çalışmalarda, CB2-R'lerin karaciğer hasarının ilerlemesini azalttığı ve rejeneratif cevabı arttırdığı saptanmıştır (101, 142). Benzer rejeneratif cevap parsiyel hepatektomide de indüklenmiştir. Bizim çalışmamızda kontrol grubunun çoğunu herhangi bir nedenle parsiyel hepatektomi yapılan hastaların normal karaciğer alanları oluşturduğundan hastaların CB2-R ekspresyonunun yüksek olması belki de CB2-R'lerin rejeneratif cevapla ilişkisinden kaynaklanmış olabilir. CB2-R'leri, hepatik fibroblastlarda İL-6'nın üretimini artırarak, hepatositlerde parakrin mitojenik etki oluştururlar ve bu da hepatosit rejenerasyonuna katkıda bulunur (143). Bazı çalışmalarda CB2-R'lerinin inflamatuvar olduğu (34, 45, 128, 129, 158) belirtilmişken tersine, endokannabinoidlerin, CB2-R bağımlı mekanizmalar aracılığıyla inflamatuvar hücre aktivasyonu ve nötrofil infiltrasyonunu inhibe ederek iskemiye bağlı karaciğer hasarını önlediği gösterilmiştir (101). CB2-R çıkarılmış farelerde iskemiye sekonder karaciğer hasarının daha şiddetli seyrettiği görülmüştür. CB2-R agonisti olan JWH-133 ile inflamatuvar hücre infiltrasyonunun, doku ve serum TNF- $\alpha$  düzeyinin, doku lipid peroksidasyonun ve dokuda adezyon moleküllerinin azaldığı ve hepatik iskemiye karşı koruyucu olduğu belirtilmiştir (101). Deneysel olarak oluşturulan hepatik iskemi modelinde, karaciğere selektif CB2-R aganistleri kullanıldığında, inflamatuvar hücre infiltrasyonunun azalması sonucunda serum transaminazlarının azaldığı saptanmıştır. CB2-R aktivasyonunun protektif olduğu, CB2-R -/- eksik farelerde HIR ilişkili doku hasarının ve proinflamatuvar cevabın daha agresif olmasıyla gösterilmiştir (101, 146). Ayrıca CB2-R'lerinin antifibrotik rolü olduğu belirtilmiştir (13).

Obez hastalarda endojen CB2-R ligandı olan 2-arachidonoylglycerol miktarının arttığı belirlenmiştir (119). Abdominal obezitesi olan hastalarda, endokannabinoid sistemin aşırı aktive olduğu saptanmıştır. Bu hastalarda, CB1/CB2-R endojen ligandları olan 2-AG'ün, dolaşımdaki düzeyi arttığı ve visseral yağ kitlesi ile güçlü bir şekilde korele olduğu saptanmıştır (120, 121). Bizim çalışmamızda, bel çevresi ölçülerek belirlenen abdominal obezitesi olan Steatozlu hastaların ve NASH'lı hastaların CB2-R ekspresyonu arasında herhangi bir korelasyon saptanmadı. İnsanlarda yapılan çalışmalarda Rimonabant tedavisi alan yüksek kilolu hastalarda alanin aminotransferaz seviyelerinde azalma saptandığı belirtilmiştir (123, 159). Bu da yağlı karaciğerdeki faydalı etkilerini desteklemiştir (159). Selektif CB2-R agonistlerinin, hepatik hücre aktivasyonunu/inflamatuvar cevabı azaltıp, inflamatuvar hücrelerin endotele migrasyon ve adezyonunu azaltıp, koruyucu olabileceği belirtilmiştir. Bununla çelişkili olarak, Deveaux ve ark. (129) yüksek yağlı diyetle beslenen CB1-R'leri çıkarılmış farelerde hepatik CB2-R'lerinin aktivasyonu sonucu bir miktar TG birikimi olabileceğini göstermişlerdir. Bu çalışmada hepatik CB2-R'leri çıkarılmış farelerde, yüksek yağlı diyetin indüklediği yağlı karaciğerin wild tip farelere göre anlamlı olarak daha az olduğu saptanmıştır. Bu da CB2-R'lerinin aktivasyonun da steatozise katkıda bulunabileceğini desteklemektedir (123, 159).

CB1 reseptörü eksik farelerin, diyetle ilişkili hepatik steatoza ve obezite gelişimine dirençli oldukları gösterilmiştir (16). CB1 reseptörleri santral ve periferik etkileri aracılığıyla, obezite, insülin rezistansı ve NAYKH'da anahtar rol oynarlar (31). Yüksek yağlı diyetle veya etanolla beslenen farelerin karaciğerinde CB1-R'lerinin ekspresyonunun artmış olduğu ve karaciğerde yağlanma gözlenmiştir (8).

Hepatosit CB1 reseptörlerinin NASH sürecinde hepatoselüler hasara katkıda bulunduğu görülmüştür. Çünkü obez farelerde başlangıçta yüksek olan transaminazlar Rimonabant tedavisi sonrasında normale dönmüştür (95). Bu etki karaciğere özgü CB1-R'leri çıkarılmış farelerde de izlenmiştir (93). Spesifik CB1-R agonisti (HU210) ile Wild tip farelerin CB1-R'lerinin stimülasyonu ile hepatosit CB1-R'lerinin karaciğer steatozundaki rolü

gösterilmiştir (10). Periferik CB1-R antagonistlerinin Obez farelerde santral yan etkileri olmadan glukoz homeostazında, lipit profili ve yağlı karaciğerde iyileşme gibi faydalı etkileri olduğu gösterilmiştir (13). AM6545 sınırlı beyin penetrasyonu olan CB1-R antagonistidir (109, 117). AM6545 uygulanan farelerde steatozisin reversible olduğu ve dislipidemi ve glisemik kontrolü düzelttiği gözlenmiştir. İn vivo ve in vitro çalışmalar AM6545'in karaciğer ve yağ dokusundaki bozulmayı azalttığı göstermiştir (109). CB1-R aktivasyonu NASH'la ilişkili olan inflamatuvar cevap ve karaciğer hasarına neden olur (115).

Klinik ve deneysel çalışmalar CB1-R'lerin vücut kilo artışı, İR ve yağlı karaciğer ile olan ilişkisini göstermiştir (24, 33, 36, 79, 96, 138). CB1-R antagonizmasının sadece kilo kaybında rol almadığı aynı zamanda dislipidemi, insülin rezistansı ve diyabetin düzeltilmesi gibi birçok metabolik etkilerinin de olduğu saptanmıştır (103). Osei-Hyaiman ve ark.'nın (10) çalışması baz alınarak endokannabinoid sistemin NASH'da tedavi hedefi olabileceği fikri öne sürülmüştür. CB1-R'nin invers agonisti (antagonist) olan Rimonabant obezite tedavisinde kullanılarak bariatrik cerrahi oranını azaltacağı düşünülmekteydi. Temmuz 2006'da piyasaya sürülen Rimonabant SR141716; Malesef santral sinir sistemindeki endişe verici yan etkileri nedeniyle Ocak 2009'da piyasadan çekilmiştir (159). Sentetik, non-psikotropik endokannabinoidler yasal olarak kabul edilmiştir ve daha iyi tolere edilirler. Santral yan etkisi olmayan periferik etkili CB1-R antagonistlerinin geliştirilmesi NASH da, thiazolidinedionlara ikinci farmakoterapik seçim sağlayabileceği ileri sürülmekle birlikte daha ileri insan araştırmaları gerekmektedir (109, 106). CB2-R agonistlerinin psikotropik yan etkileri olmaması önemli ilgi alanı olabilir. Steatohepatitli insanlarda, endokannabinoid ekspresyonu ve EKS antagonizmasının terapötik rolü daha ileri çalışmalarla araştırılmasına gerek vardır.

Bizim çalışmamızda immunohistokimyasal olarak CB1-R'lerinin nükleer olarak hiç boyanmadığı portal alandaki bazı lenfositlerde pozitif nükleer boyanma gösterdiği görüldü. Bu nedenle CB1-R'lerinin metabolik sendrom ve parametreleri, NASH ve steatoz arasındaki ilişkisi araştırılmadı. Bu da CB1-

R'lerinin hem normal hemde NAYKH'lı dokularda immunohistokimyasal olarak saptanamayacak şekilde düşük düzeyde eksprese edildiğini ve CB1-R ekspresyonunun belirlenebilmesi için PCR tekniği ile çalışılması gerekliliği fikrini desteklemiştir.

Hepatik myofibroblast ve ekstraselüler matriksin üretiminin artması fibrozisin progresyonuna neden olur. İnsanlarda henüz efektif antifibrotik tedavi seçenekleri mevcut değildir. Karaciğer spesifik antifibrotik tedavi geliştirmek için çabalar sürmektedir. CB1-R'leri fibrozisi artırırken, CB2-R'leri stimülasyonu fibrozisin progresyonunu önler (12, 13, 33, 34, 119, 138). CB2-R'leri delesyona uğratılmış farelerin, kronik karbon tetraklorid intoksikasyonuna uğratılması sonucu CB2-R'lerinin antifibrogenik rolleri araştırılmıştır. Karaciğerde kollajen proteinlerin ölçümü yapılarak karaciğer fibrozisinn artış derecesi ölçülmüş ve CB2-R'leri çıkarılmış farelerde wild tip farelere göre anlamlı derecede karaciğer fibrozisinde artış olduğu saptanmıştır. Karaciğerde myofibroblast hücrelerinin artışı ve kollojen birikimi fibrozize neden olur. Bu fibrozisdeki artış düz kas  $\alpha$  aktinin ekspresyonunun artışıyla gösterilmiştir ve hepatik myofibroblastların akümüasyonunun artışı ile ilişkilidir (33, 155). Çalışmalar, karaciğer fibrogenik hücre kültüründe (hepatik myofibroblast ve aktive hepatik stellat hücreleri) CB2- R'lerinin aktivasyonunun, bu hücrelerin hem büyümesinin inhibisyonuna neden olduğunu hem de apopitozisini tetiklediğini göstermiştir (33). COX-2'nin hepatik myofibroblast hücrelerinin büyümesinin inhibisyonunda santral rolü daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (4, 160). Bundan yola çıkılarak, CB2-R'lerin fibrogenik hücreler üzerindeki moleküler etki mekanizması araştırılmış ve büyüme inhibisyonunun COX-2 ve oksidatif stres aracılıklı apopitozise bağlı olduğu gösterilmiştir. Hezode ve ark. (36) günlük kannabinoid kullanımının kronik HCV'li hastalarda fibrozis progresyonunda bağımsız bir risk faktörü olduğunu göstermiştir. Bu sonuçlara bakılarak, karaciğer CB2 R'lerinin karaciğer fibrozisi sırasında aktivasyonunun, karaciğer fibrogenik hücrelerin birikimini azaltarak, fibrozis progresyonunu azalttığı ileri sürülmüştür (33). Bizim hastalarımızda NASH grubu, steatoz grubu ve NAYKH grubunda CB2-R ekspresyonu ile fibroz stage veya NAS skoru

arasındaki ilişki ayrı ayrı incelendiğinde CB2-R ekspresyonu arasında herhangi bir korelasyon saptanmadı. Bu sonuçların hepsi birlikte değerlendirildiğinde CB2-R agonistlerinin bilinen in vivo etkileri hakkındaki bilgilerin hala karmaşık ve eksik olduğu görünmektedir. Daha ileri çalışmalarla çeşitli safhadaki karaciğer hastalıklarının tedavisinde faydalı olup olmadıklarının araştırılması gerekmektedir.

NAYKH'da endokannabinoid sistemin rollerini araştırmak üzere yaptığımız ve literatürde daha önce yapılan insan çalışmaları olarak sayısı birkaç taneyi geçmeyen araştırmaların en kapsamlı ve metodolojik olanı olan bu çalışmada, hastalarımız klinik, demografik, biyokimyasal ve histopatolojik olarak incelenmişlerdir. Ancak literatürdeki kısıtlı bilgilerin aksine CB1-R'lerinin karaciğer hücrelerinde eksprese olmaması ve CB2-R'lerinin ise tüm hasta karaciğer hücrelerinin yanı sıra kontrol karaciğer hücrelerinde de eksprese olması; arteryal tansiyon, obezite, hiperlipidemi, mikroalbuminüri, lobüler inflamasyon gibi bazı parametrelerle ilişkili olduğunu saptamamıza rağmen bu konuda bir sonuca varmamızı engellemiştir.

Sonuç olarak endokannabinoid sistemin yağlı karaciğer hastalığının patogenezendeki yeri ve tedavi seçeneklerindeki rollerinin belirlenmesi için daha ileri çalışmalara gerek vardır.



## KAYNAKLAR

1. Dolar E. Nonalcoholic steatohepatitis and hepatic fibrosis. *Turkiye Klinikleri J Int Med Sci* 2005;1:11-20.
2. Stanton MC, Chen SC, Jackson JV, et al. Inflammatory Signals shift from adipose to liver during high fat feeding and influence the development of steatohepatitis in mice. *J Inflamm (Lond)* 2011;8:8.
3. Ramadori G, Christ B. Cytokines and hepatic acute phase response. *Semin Liv Dis* 1999;19:141-55.
4. Angulo P. Non alcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med* 2002;16:1221-31.
5. Mallat A, Lotersztajn S. Endocannabinoids in the pathophysiology of obesity–The liver *Drug Discovery Today: Disease Mechanisms* 2010;7:185-90.
6. Zelber-Sagi S, Nitzan-Kaluski D, Halpern Z, Oren R. Prevalence of primary non-alcoholic fatty liver disease in population-based study and its association with biochemical and anthropometric measures. *Liver Int* 2006;26:856-63.
7. Di Marzo V, Matias I. Endocannabinoid control of food intake and energy balance. *Nat Neurosci* 2005;8:585-9.
8. Cote D, Marsicano G, Tschopp M, et al. The endogenous cannabinoid system affects energy balance via central orexigenic drive and peripheral lipogenesis. *J Clin Invest* 2003;112:423-31.
9. Sagiura T, Oka S, Gokoh M, Kishimoto S, Waku K. New perspectives in studies on endocannabinoid and cannabis: 2-arachidonoylglycerol as possible novel mediator of inflammation. *J pharmacol Sci* 2004;96:367-75.
10. Osei-Hyiaman D, DePetrillo M, Pacher P, et al. Endocannabinoid activation at hepatic CB1 receptors stimulates fatty acid synthesis and contributes to diet-induced obesity. *J Clin Invest* 2005;115:1298-305.
11. Biswas KK, Sarker KP, Abeyama K, et al. Membrane cholesterol but not putative receptors mediates anandamide-induced hepatocyte apoptosis. *Hepatology* 2003;38:1167-77.
12. Teixeira-Clerc F, Julien B, Grenard P, et al. CB1 cannabinoid receptor antagonism: a new strategy for the treatment of liver fibrosis. *Nat Med* 2006;12:671-6.
13. Julien B, Grenard P, Teixeira-Clerc F, et al. Antifibrogenic role of the cannabinoid receptor CB2 in the liver. *Gastroenterology* 2005;128:742–55.
14. Zamora-Valdes D, Ponciano-Rodriguez G, Chavez-Tapia NC, Mendez-Sanchez N. The endocannabinoid system in chronic liver disease. *Ann Hepatol* 2005;4:248-54.
15. Mendez-Sanchez N, Zamora-Valdes D, Pichardo-Bahena R, et al. Endocannabinoid receptor CB2 in nonalcoholic fatty liver disease. *Liver Int.* 2007;27:215–9.

16. Mallat A, Teixeira-Clerc F, Deveaux V. Cannabinoid receptors as new targets of antifibrosing strategies during chronic liver disease. *Expert Opin Ther Targets* 2007;11:403-9.
17. Malat A, Lotersztajn S. Cannabinoid receptors as novel therapeutic targets for the management of non-alcoholic steatohepatitis. *Diabetes Metab* 2008;34:680-4.
18. Ros J, Claria J, To-Figueras J. Endogenous cannabinoids a new system involved in homeostasis of arterial pressure in experimental cirrhosis in the rat. *Gastroenterology* 2002;122:85-93.
19. Farrell GC, Larter CZ. Nonalcoholic fatty liver disease: from steatosis to cirrhosis. *Hepatology* 2006;43:99-112.
20. Gastroenteroloji. Özden A, Şahin B, Yılmaz U, Soykan İ (editörler). 1. baskı. *Türk Gastroenteroloji Vakfı*; 2002:593-604.
21. Wigg AJ, Roberts-Thomson IC, Dymock RB, et al. The role of small intestinal bacterial overgrowth, intestinal permeability, endotoxaemia, and tumour necrosis factor  $\alpha$  in the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis. *Gut* 2001;48:206-11.
22. Akbar DH, Kawther AH. Non-alcoholic fatty liver disease and metabolic syndrome: what we know and what we don't know. *Med Sci Monit* 2006;12:23-6.
23. Ludwig J, McGill DB, Lindor KD. Review: Nonalcoholic steatohepatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 1997;12:398-403.
24. Postic C, Girard J. Contribution of de novo fatty acid synthesis to hepatic steatosis and insulin resistance: lessons from genetically engineered mice. *J Clin Invest* 2008;118:829–38.
25. Sheth SG, Gordon FD, Chopra S. Nonalcoholic steatohepatitis. *Ann Intern Med* 1997;126:137.
26. Çolak Y, Tuncer İ. Nonalkolik karaciğer yağlanması ve steatohepatit. *İst Tıp Fak* 2010;73:3.
27. Valenti L, Fracanzani AL, Dongiovanni P, et al. Tumor necrosis factor  $\alpha$  promoter polymorphisms and insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2002;122:274-80.
28. Pessayre D, Berson A, Fromenty B, Mansouri A. Mitochondria in steatohepatitis. *Semin Liver Dis* 2001;21:57-69.
29. Hsiao PJ, Kuo KK, Shin SJ, et al. Significant correlations between severe fatty liver and risk factors for metabolic syndrome. *J Gastroenterol Hepatol* 2007;22:2118-23.
30. Hotamisligil GS, Arner P, Caro JF, Atkinson RL, Spiegelman BM. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor in human obesity and insulin resistance. *J Clin Invest* 1995;95:2409-15.
31. Di Marzo V. Targeting the endocannabinoid system: to enhance or reduce? *Nat Rev Drug Discov* 2008;7:438–55.
32. Pacher P, Batkai S, Kunos G. The endocannabinoid system as an emerging target of pharmacotherapy. *Pharmacol Rev* 2006;58:389–462.
33. Kunos G, Osei-Hyiaman D. Endocannabinoids and liver disease. IV. Endocannabinoid involvement in obesity and hepatic steatosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008;294:1101–4.

34. Klein TW. Cannabinoid-based drugs as anti-inflammatory therapeutics. *Nat Rev Immunol* 2005;5:400–11.
35. Mallat A, Lotersztajn S. Endocannabinoids and Their Receptors in the Liver. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008;294:9–12.
36. Hezode C, Roudot-Thoraval F, Nguyen S, et al. Daily cannabis smoking as a risk factor for progression of fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2005;42:63-71.
37. Garcia-Ruiz C, Colell M, Morales A, Kaplowitz N, Fernandez-Checa JC. Role of oxidative stress generated from the mitochondrial electron transport chain and mitochondrial glutathione status in loss of mitochondrial function and activation of transcription factor nuclear factor-kappa B: studies with isolated mitochondria and rat hepatocytes. *Mol Pharmacol* 1995;48:825-34.
38. Poli G, Albano E, Dianzani MU. The role of lipid peroxidation in liver damage. *Chem Phys Lipids* 1987;45:117-42.
39. Sanyal AJ, Campbell-Sargent C, Mirshahi F, et al. Nonalcoholic steatohepatitis: association of insulin resistance and mitochondrial abnormalities. *Gastroenterology* 2001;120:1183-92.
40. Seki S, Kitada T, Yamada T, Sakaguchi H, Nakatani K, Wakasa K. In situ detection of lipid peroxidation and oxidative DNA damage in non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 2002;37:56-62.
41. Balkau B, Charles MA. Comment on the provisional report from the WHO consultation. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *Diabet Med* 1999;16:442-43.
42. Hotamisligil GS, Peraldi P, Budavari A, et al. IRS- 1 mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF-alpha and obesity-induced insulin resistance. *Science* 1996;271:665-8.
43. Washington K, Wright K, Shyr Y, et al. Hepatic stellate cell activation in nonalcoholic steatohepatitis and fatty liver. *Hum Pathol* 2000;31;822-8.
44. Kaser S, Moschen A, Cayon A, et al. Adiponectin and its receptors in non-alcoholic steatohepatitis. *Gut* 2005;54;117-21.
45. Derocq JM, Jbilo O, Bouaboula M, et al. Genomic and functional changes induced by the activation of the peripheral cannabinoid receptor CB2 in the promyelocytic cells HL-60. Possible involvement of the CB2 receptor in cell differentiation. *J Biol Chem* 2000;275:15621–8.
46. Chen SW, Chen YX, Shi J, et al. The Restorative Effect of Taurine on Experimental Non-alcoholic Steatohepatitis. *Dig Dis Sci* 2006;51:2225-34.
47. Yamauchi T, Kamon J, Waki H, et al. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipoatrophy and obesity. *Nat Med* 2001;7:941-6.
48. Sathya P, Martin S, Alvarez F. Nonalcoholic fatty liver disease in children. *Curr Opin Pediatr* 2002;14:593-600.
49. Saadeh S, Younossi ZM, Remer EM, et al. The utility of radiological imaging in non alcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2002;57:23-33.

50. Park SH, Kim PN, Kim KW, et al. Macrovesicular hepatic steatosis in living liver donors: use of CT for quantitative and qualitative assessment. *Radyology* 2006;239:105-12.
51. AGA technical review on nonalcoholic fatty liver diseases. *Gastroenterology* 2002;123:1705-25.
52. Iijima H, Moriyasu F, Tsuchiya K, et al. Decrease in accumulation of ultrasound contrast microbubbles in non-alcoholic steatohepatitis. *Hepatol Res* 2007;37:722-30.
53. Longo R, Pollesello P, Ricci C, et al. Proton MR spectroscopy in quantitative in vivo determination of fat content in human liver steatosis. *J Magn Reson Imaging* 1995;5:281-5.
54. Klinik Radyoloji. Tuncel E (editör). 1. Baskı. İstanbul Güneş ve Nobel Tıp Kitabevleri;2002:287-89.
55. Russo MW, Jacobson IM. Nonalcoholic fatty liver disease. *Hospital Physician* 2002;67:36-41.
56. Panicek DM, Giess CS, Schwartz LH. Qualitative assessment of liver for fatty infiltration on contrast-enhanced CT: is muscle a better standard of reference than spleen? *J Comput Assist Tomogr* 1997;21:699-705.
57. Isomaa B, Almgren P, Tuomi T, et al. Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. *Diabetes Care* 2001;24: 683-9.
58. Marchesini G, Bugianesi E, Forlani G, et al. Nonalcoholic Fatty Liver, Steatohepatitis and the Metabolic Syndrome. *Hepatology* 2003;37:917-23.
59. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, et al. American Heart Association; National Heart, Lung, and Blood Institute. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation* 2005;112:2735-52.
60. Reaven G. Role of İnsulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988; 37:1595-607.
61. Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med* 1998;15:539-53.
62. 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;285:2486-97.
63. Fulop T, Tessier D, Carpentier A. The metabolic syndrome. *Pathol Biol* 2006;54:375-86.
64. Her Yönüyle Diabetes Mellitus. Yenigün M (editör). İstanbul Nobel Tıp Kitabevleri; 2001:839-52.
65. Osei K, Rhinesmith S, Gaillard T, Schuster D. Impaired insulin sensitivity, insulin secretion, and glucose effectiveness predict future development of impaired glucose tolerance and type 2 diabetes in pre-

- diabetic African Americans: implications for primary diabetes prevention. *Diabetes Care* 2004;27:1439-46.
66. Weisberg SP, McCann D, Desai M, et al. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest* 2003;112:1796-808.
  67. Parekh S, Anania FA. Abnormal lipid and glucose metabolism in obesity: implications for nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2007;132:2191–207.
  68. Mechoulam R. The pharmacohistory of cannabis sativa. In: Mechoulam R (eds). *Cannabinoids as Therapeutic Agents*. Boca Raton: CRC Press, 1986;1-18.
  69. Pertwee RG. Pharmacology of cannabinoid receptor ligands. *Curr Med Chem* 1999;6:635-64.
  70. Sugiura T, Kobayashi Y, Oka S, Waku K. Biosynthesis and degradation of anandamide and 2-arachidonoylglycerol and their possible physiological significance. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2002;66:173-92.
  71. Matsuda LA, Lolait SJ, Brownstein MJ, Young AC, Bonner TI. Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature* 1990;346:561-4.
  72. Devane WA, Hanus L, Breuer A, et al. Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science* 1992;258:1946-9.
  73. Gerard CM, Mollereau C, Vassart G, Parmentier M. Molecular cloning of a human cannabinoid receptor which is also expressed in testis. *Biochem J* 1991;279:129-34.
  74. Chakrabarti A, Onaivi ES, Chaudhuri G. Cloning and sequencing of a cDNA encoding the mouse brain-type cannabinoid receptor protein. *DNA Seq* 1995;5:385-8.
  75. Munro S, Thomas KL, Abu-Shaar M. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature* 1993;365:61-5.
  76. Van Sickle MD, Duncan M, Kingsley PJ, et al. Identification and functional characterization of brainstem cannabinoid CB2 receptors. *Science* 2005;310:329-32.
  77. Piomelli D, Gluffrida A, Calignano A, Rodriguez da Fonseca F. The cannabinoid system as a target for therapeutic drugs. *Trend Pharmacol Sci* 2000;21:218-24.
  78. Liu J, Gao B, Mirshahi F, et al. Functional CB1 cannabinoid receptors in human vascular endothelial cells. *Biochem J* 2000;346:835-40.
  79. Goutopoulos A, Makriyannis A. From cannabis to cannabinergics: new therapeutic opportunities. *Pharmacol Therapeut* 2002;95:103-17.
  80. Mechoulam R, Ben-Shabat S, Hanus L, et al. Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. *Biochem Pharmacol* 1995;50:83-90.
  81. Gonsiorek W, Lunn C, Fan X, et al. Endocannabinoid 2-arachidonyl glycerol is a full agonist through human type 2 cannabinoid receptor: antagonism by anandamide. *Mol Pharmacol* 2000;57:1045-50.

82. Sugiura T, Kodaka T, Nakane S, et al. Evidence that the cannabinoid CB1 receptor is a 2-arachidonoylglycerol receptor. Structure-activity relationship of 2-arachidonoylglycerol, ether-linked analogues and related compounds. *J Biol Chem* 1999;274:2794-801.
83. Mechoulam R, Gaoni Y. A total synthesis of D1-Tetrahydrocannabinol, the active constituent of Hashish. *J Am Chem Soc* 1965;84:3273-5.
84. Gomez Del Pulgar T, De Ceballos ML, Guzman M, Velasco G. Cannabinoids protect astrocytes from ceramide-induced apoptosis through the phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B pathway. *J Biol Chem* 2002;277:36527-33.
85. Cannich A, Wotjak CT, Kamprath K, et al. CB1 cannabinoid receptors modulate kinase and phosphatase activity during extinction of conditioned fear in mice. *Learning & memory* 2004;11:625-32.
86. Di Marzo V, Fontana A, Cadas H, et al. Formation and inactivation of endogenous cannabinoid anandamide in central neurons. *Nature*. 1994;372:686-91.
87. Saario SM, Savinainen JR, Laitinen JT, Jarvinen T, Niemi R. Monoglyceride lipase-like enzymatic activity is responsible for hydrolysis of 2-arachidonoylglycerol in rat cerebellar membranes. *Biochem Pharmacol* 2004;67:1381-7.
88. Pagotto U, Marsicano G, Cota D, Lutz B, Pasquali R: The emerging role of endocannabinoid system in endocrine regulation and energy balance. *Endocr Rev* 2006;27:73-100.
89. Cota D, Tschoep MH, Horvath TL, Levine AS. Cannabinoids, opioids and eating behavior: the molecular face of hedonism? *Brain Res Brain Res Rev* 2006;51:85-107.
90. Kaminski NE, Abood ME, Kessler FK, Martin BR, Schatz AR. Identification of a functionally relevant cannabinoid receptor on mouse spleen cells that is involved in cannabinoid-mediated immune modulation. *Mol Pharmacol* 1992;42:736-42.
91. Bouaboula M, Rinaldi M, Carayon P, et al. Cannabinoid-receptor expression in human leukocytes. *Eur J Biochem* 1993;214:173-80.
92. Cavuoto P, McAinch AJ, Hatzinikolas G, Cameron-Smith D, Wittert GA. Effects of cannabinoid receptors on skeletal muscle oxidative pathways. *Mol Cell Endocrinol* 2007;267:63–9.
93. Osei-Hyiaman D, Liu J, Zhou L, et al. Hepatic CB1 receptor is required for development of diet-induced steatosis, dyslipidemia, and insulin and leptin resistance in mice. *J Clin Invest* 2008;118:3160–9.
94. Preet A, Qamri Z, Nasser MW, et al. Cannabinoid receptors, CB1 and CB2, as novel targets for inhibition of non-small cell lung cancer growth and metastasis. *Cancer Prev Res* 2011;4:65-75.
95. Gary-Bobo M, Elachouri G, Gallas JF, et al. Rimobabant reduces obesity-associated hepatic steatosis and features of metabolic syndrome in obese Zucker fa/fa rats. *Hepatology* 2007;46:122-9.
96. Jeong WI, Osei-Hyiaman D, Park O, et al. Paracrine Activation of Hepatic CB(1) Receptors by Stellate Cell-Derived Endocannabinoids Mediates Alcoholic Fatty Liver. *Cell Metab* 2008;7:227–35.

97. Hezode C, Zafrani ES, Roudot-Thoraval F, et al. Daily cannabis use, a novel risk factor of steatosis severity in patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2008;134:432–9.
98. Esposito I, Proto MC, Gazerro P, et al. The cannabinoid CB1 receptor antagonist rimonabant stimulates 2-deoxyglucose uptake in skeletal muscle cells by regulating the expression of phosphatidylinositol-3-kinase. *Mol. Pharmacol* 2008;74:1678–86.
99. Defer N, Wan J, Souktani R, et al. The cannabinoid receptor type 2 promotes cardiac myocyte and fibroblast survival and protects against ischemia/ reperfusion-induced cardiomyopathy. *FASEB J* 2009;23:2120–30.
100. Lotersztajn S, Teixeira-Clerc F, Julien B, et al. CB2 receptors as new therapeutic targets during liver diseases. *Br J Pharmacol* 2008;153:286–9.
101. Batkai S, Osei-Hyiaman D, Pan H, et al. Cannabinoid-2 receptor mediates protection against hepatic ischemia/reperfusion injury. *FASEB J* 2007;21:1788–800.
102. Kishimoto S, Kobayashi Y, Oka S, et al. 2-Arachidonoylglycerol, an endogenous cannabinoid receptor ligand, induces accelerated production of chemokines in HL-60 cells. *J Biochem* 2004;135:517–24.
103. Pi-Sunyer FX, Aronne LJ, Heshamati HM, et al. Effect of rimonabant, a cannabinoid-1 receptor blocker, on weight and cardiometabolic risk factors in overweight or obese patients: RIO-North America: a randomized controlled trial. *JAMA* 2006;295:761–75.
104. Jbilo O, Ravinet-Trillou C, Arnone M, et al. The CB1 receptor antagonist rimonabant reverses the diet-induced obesity phenotype through the regulation of lipolysis and energy balance. *FASEB J* 2005;19:1567–9.
105. Starowicz KM, Cristino L, Matias I, et al. Endocannabinoid dysregulation in the pancreas and adipose tissue of mice fed with a high-fat diet. *Obesity (Silver Spring)* 2008;16:553–65.
106. Kunos G, Osei-Hyiaman D, Batkai S, et al. Should peripheral CB(1) cannabinoid receptors be selectively targeted for therapeutic gain? *Trends Pharmacol Sci* 2009;30:1–7.
107. Teixeira-Clerc F, Belot MP, Manin S, et al. Beneficial paracrine effects of cannabinoid receptor 2 on liver injury and regeneration. *Hepatology* 2010; 52:1046–59.
108. Neuschwander-Tetri BA. Hepatic lipotoxicity and the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis: the central role of nontriglyceride fatty acid metabolites. *Hepatology* 2010;52:774–88.
109. Tam J, Vemuri VK, Liu J, et al. Peripheral CB1 cannabinoid receptor blockade improves cardiometabolic risk in mouse models of obesity. *J Clin Invest* 2010;120:2953–66.
110. Jourdan T, Djaouti L, Demizieux L, et al. CB1 antagonism exerts specific molecular effects on visceral and subcutaneous fat and reverses liver steatosis in diet- induced obese mice. *Diabetes* 2010;59:926–34.
111. Bensaid M, Gary-Bobo M, Esclangon A, et al. The cannabinoid CB1 receptor antagonist SR141716 increases Acrp30 mRNA expression in

- adipose tissue of obese fa/ fa rats and in cultured adipocyte cells. *Mol Pharmacol* 2003;63:908–14.
112. You M, Crabb DW. Molecular mechanisms of alcoholic fatty liver: role of sterol regulatory element-binding proteins. *Alcohol* 2004;34:39–43.
  113. You M, Matsumoto M, Pacold CM, Cho WK, Crabb DW. The role of AMP-activated protein kinase in the action of ethanol in the liver. *Gastroenterology* 2004;127:1798–808.
  114. Purohit V, Russo D, Coates PM. Role of fatty liver, dietary fatty acid supplements and obesity in the progression of alcoholic liver disease: introduction and summary of the symposium. *Alcohol* 2004;34:3–8.
  115. Tilg H, Moschen AR. Evolution of inflammation in nonalcoholic fatty liver disease: the multiple parallel hits hypothesis. *Hepatology* 2010;52:1836–46.
  116. Mallat A, Lotersztajn S. Endocannabinoids and their role in fatty liver disease. *Dig Dis* 2010;28:261–6.
  117. Cluny NL, Vemuri VK, Chambers AP, et al. A novel peripherally restricted cannabinoid receptor antagonist, AM6545, reduces food intake and body weight, but does not cause malaise, in rodents. *Br J Pharmacol* 2010; 161:629–42.
  118. Purohit V, Rapaka R, Shurtleff D. Role of cannabinoids in the Development of fatty liver (steatosis). *The AAPS J* 2010;12:233-7.
  119. Engeli S, Bohnke J, Feldpausch M, et al. Activation of the peripheral endocannabinoid system in human obesity. *Diabetes* 2005;54:2838–43.
  120. Blüher M, Engeli S, Klötting N, et al. Dysregulation of the peripheral and adipose tissue endocannabinoid system in human abdominal obesity. *Diabetes* 2006;55:3053–60.
  121. Cote M, Matias I, Lemieux I, et al. Circulating endocannabinoid levels, abdominal adiposity and related cardiometabolic risk factors in obese men. *Int J Obes* 2006;31:692–9.
  122. Westerbacka J, Kotronen A, Fielding BA, et al. Splanchnic balance of free Fatty acids, endocannabinoids and lipids in subjects with nonalcoholic Fatty liver disease. *Gastroenterology* 2010;139:1961–71.
  123. Despres JP, Ross R, Boka G, et al. Effect of rimonabant on the high-triglyceride/ low-HDL-cholesterol dyslipidemia, intraabdominal adiposity, and liver fat: the ADAGIO-lipids trial. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009;29:416–23.
  124. Helmy A. Endocannabinoids and non-alcoholic steatohepatitis. *Saudi J Gastroenterol* 2006;12:36-7.
  125. Louvet A, Teixeira-Clerc F, Deveaux V, et al. Beneficial effects of cannabinoid receptor 2 on alcoholic liver disease. *J Hepatology* 2010;52: 307–8.
  126. Mallat A, Teixeira-Clerc F, Deveaux V, Manin S, Lotersztajn S. The endocannabinoid system as a key mediator during liver diseases: new insights and therapeutic openings. *British Journal of Pharmacology* 2011;163:1432-40.
  127. Louvet A, Teixeira-Clerc F, Deveaux V, et al. Cannabinoid receptor 2 protects from alcoholic liver disease. *Hepatology* 2009;50:325–6.



128. Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature* 2006;444:860–7.
129. Deveaux V, Cadoudal T, Ichigotani Y, et al. Cannabinoid CB2 receptor potentiates obesity associated inflammation, insulin resistance and hepatic steatosis. *PLoS One*. 2009;4:5844.
130. Dagon Y, Avraham Y, Ilan Y, Mechoulam R, Berry EM. Cannabinoids ameliorate cerebral dysfunction following liver failure via AMP-activated protein kinase. *FASEB J* 2007; 21: 2431-41.
131. Batkai S, Jarai Z, Wagner JA, et al. Endocannabinoids acting at vascular CB1 receptors mediate the vasodilated state in advanced liver cirrhosis. *Nat Med* 2001;7:827-32.
132. Anna P, Flisiak R. Role of cannabinoids in chronic liver diseases. *World J Gastroenterol* 2008;14:6109-14.
133. Gressner AM, Weiskirchen R. Modern pathogenetic concepts of liver fibrosis suggest stellate cells and TGF-beta as major players and therapeutic targets. *J Cell Mol Med* 2006;10:76-99.
134. Casanova ML, Blazquez C, Martinez-Palacio J, et al. Inhibition of skin tumor growth and angiogenesis in vivo by activation of cannabinoid receptors. *J Clin Invest* 2003;111:43-50.
135. DeLeve LD, Wang X, Kanel GC, Atkinson RD, McCuskey RS. Prevention of hepatic fibrosis in a murine model of metabolic syndrome with nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Pathol* 2008;173:993–1001.
136. Yang YY, Lin HC, Huang YT, et al. Effect of chronic CB1 cannabinoid receptor antagonism on livers of rats with biliary cirrhosis. *Clin Sci (Lond)* 2007;112:533–42.
137. Ravinet Trillou C, Delgorge C, Menet C, Arnone M, Soubrie P. CB1 cannabinoid receptor knockout in mice leads to leanness, resistance to diet-induced obesity and enhanced leptin sensitivity. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2004;28:640-8.
138. Bellocchio L, Mancini G, Vicennati V, Pasquali R, Pagotto U. Cannabinoid receptors as therapeutic targets for obesity and metabolic diseases. *Curr Opin Pharmacol* 2006;6:586–91.
139. Siegmund SV, Schwabe RF. Endocannabinoids and Liver Disease. II. Endocannabinoids in the pathogenesis and treatment of liver fibrosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008;294:357–62.
140. Deutsch DG, Goligorsky MS, Schid PC, et al. Production and physiological action of anandamide in the vasculature of the rat kidney. *J Clin Invest* 1997;100:1538-46.
141. Jaeschke H. Mechanisms of Liver Injury. II. Mechanisms of neutrophil-induced liver cell injury during hepatic ischemia-reperfusion and other acute inflammatory conditions. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006;290:1083–8.
142. Avraham Y, Zolotarev O, Grigoriadis NC, et al. Cannabinoids and capsaicin improve liver function following thioacetamide-induced acute injury in mice. *Am J Gastroenterol* 2008;103:3047–56.
143. Rajesh M, Pan H, Mukhopadhyay P, et al. Pivotal Advance: cannabinoid-2 receptor agonist HU-308 protects against hepatic

- ischemia/ reperfusion injury by attenuating oxidative stress, inflammatory response, and apoptosis. *J Leukoc Biol* 2007;82:1382–9.
144. Mukhopadhyay B, Cinar R, Yin S, et al. Hyperactivation of anandamide synthesis and regulation of cell cycle progression via CB1 receptors in the regenerating liver. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011;108:6323–8.
  145. Rajesh M, Mukhopadhyay P, Batkai S, et al. CB2-receptor stimulation attenuates TNF-alpha-induced human endothelial cell activation, transendothelial migration of monocytes, and monocyte-endothelial adhesion. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007;293:2210–8.
  146. Chang YH, Lee ST, Lin WW. Effects of cannabinoids on LPS stimulated inflammatory mediator release from macrophages: involvement of eicosanoids. *J Cell Biochem* 2001;81:715–23.
  147. Mukhopadhyay P, Batkai S, Rajesh M, et al. Pharmacological inhibition of CB1 cannabinoid receptor protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity. *J Am Coll Cardiol* 2007;50:528–36.
  148. Kleiner D, Brunt E, Van Natta M, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2005;41:1313-21.
  149. Cortez-Pinto H, de Moura MC, Day CP. Non-alcoholic steatohepatitis: from cell biology to clinical practice. *J Hepatol* 2006;44:197–208.
  150. Clark JM, Brancati FL, Diehl AM. Non alcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2002;122:1649-57.
  151. Adams LA, Angulo P, Lindor KD. Nonalcoholic fatty liver disease. *CMAJ* 2005;172:899-905.
  152. Mallat A, Lotersztajn S. Endocannabinoids as novel mediators of liver diseases. *J Endocrinol Invest* 2006;29:58–65.
  153. Starowicz KM, Cristino L, Matias I, et al. Endocannabinoid dysregulation in the pancreas and adipose tissue of mice fed with a high-fat diet. *Obesity Silver Spring* 2008;16:553–65.
  154. Juan-Pico P, Fuentes E, Bermudez-Silva FJ, et al. Cannabinoid receptors regulate Ca(2+) signals and insulin secretion in pancreatic beta-cell. *Cell Calcium* 2006;39:155–62.
  155. Mallat A, Lotersztajn S. Cannabinoid receptors as therapeutic targets in the management of liver diseases. *Drug News Perspect* 2008;21:363–8.
  156. Agudo J, Martin M, Roca C, et al. Deficiency of CB2 cannabinoid receptor in mice improves insulin sensitivity but increases food intake and obesity with age. *Diabetologia* 2010;53:2629–40.
  157. Mallat A, Hezode C, Lotersztajn S, et al. Environmental factors as disease accelerators during chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2008;48:657–65.
  158. Miller AM, Stella N. CB2 receptor-mediated migration of immune cells: it can go either way. *Br J Pharmacol* 2008;153:299–308.
  159. Van Gaal LF, Scheen AJ, Rissanen AM, et al. Long-term effect of CB1 blockade with rimonabant on cardiometabolic risk factors: two year results from the RIO-Europe Study. *Eur Heart J* 2008;29:1761–71.

- 160.** Weltman Md, Farrell Gc, Liddle C, Increased hepatocyte CYP2E1 expression in a rat nutritional model of hepatic steatosis with inflammation. *Gastroenterology* 1996;111:1645-53.

## KISALTMALAR LİSTESİ

- 2-AG:** 2 Arşidonil Gliserol  
**ACC:** Asetil Koenzim-A karboksilaz  
**ADA:** Amerika Diyabet Cemiyeti  
**AİDS:** Kazanılmış İmmun Yetmezlik Sendromu  
**AKŞ:** Açlık Kan Şekeri  
**ALP:** Alkaleen Fosfataz  
**ALT:** Alanin Aminotransferaz  
**AMA:** Anti-mitokondriyal Antikor  
**ANA:** Anti-nükleer Antikor  
**Apo B 100:** Apoprotein B 100  
**Apo E:** Apoprotein E  
**ASMA:** Anti-Düz Kas Antikoru  
**AST:** Aspartat Aminotransferaz  
**BT:** Bilgisayarlı Tomografi  
**CB1-R:** Kannabinoid 1 Reseptörü  
**CB2-R:** Kannabinoid 2 Reseptörü  
**COX-2:** Siklooksijenaz-2  
**CPT1:** Karnitin Palmitoil Transferaz  
**D Bil:** Direk Bilürubin  
**DM:** Diabetes Mellitus  
**EGIR:** İnsülin Direnci Çalışma Grubu  
**ESR:** Eritrosit Sedimentasyon Hızı  
**FAAH:** Yağ Asidi Amid Hidrolaz Enzimi  
**GGT:** Gamaglutamil Transpeptidaz  
**HCC:** Hepatosellüler Karsinom  
**HDL:** Yüksek Dansiteli Lipoprotein  
**HepG2:** İnsan karaciğer hepatosellüler karsinom hücre dizisi  
**HIR:** Hepatik İskemi-Reperfüzyon Hasarı  
**HOMA-IR:** Homeostasis Model Assesment-İnsülin Resistance

**İL-6:** İnterlökin 6

**IL-1 $\beta$ :** İnterlökin 1 Beta

**ICAM-1:** İnterleüer Adezyon Molekülü-1

**IDF:** Uluslar arası Diyabet Cemiyeti

**IR:** İnsülin Rezistansı

**LDL:** Düşük Dansiteli Lipoprotein

**MAGL:** Monoacilgliserol Lipaz

**MAP-Kinaz:** Mitojenle Aktive Edilen Kinaz

**MR:** Manyetik Rezonans

**mRNA :** Mesenger Ribonükleik Asit

**MS:** Metabolik Sendrom

**NAS:** NASH Aktivite Skoru

**NASH:** Non-alkolik Steatohepatit

**NAYKH:** Non-alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı

**NCEP-ATP III:** Amerikan Ulusal Kolesterol Eğitim Programı 3. Erişkin Tedavi Paneli

**Network Sınıflaması:** The Pathology Committee of the NASH Clinical Research Network (Network skortlama sistemi)

**NFk $\beta$  :** Nükleer Faktör k beta

**NO:** Nitrik Oksit

**OGGT:** Oral Glikoz Tolerans Testi

**PDGF:** Trombositten Kaynaklanan Büyüme Faktörü

**PI3K:** Fosfotidilinositol-3-Kinaz

**PMNL:** Polimorfonükleer Lökositler

**PMRS:** Proton Manyetik Rezonans Spektroskopisi

**PPAR gamma:** Peroxisome Proliferator-Activated Receptör Gamma)

**ROT:** Reaktif Oksijen Türleri

**SPSS:** Statistical Package for the Social Sciences

**SREBP1c:** Lipogenik Transkripsiyon Faktör Sterol Regülatuvar Element-Bağlayıcı Protein 1c

**T Bil:** Total Bilüribin

**TG:** Trigliserid

**THC:** Tetrahidrokannabinol

**TNF $\alpha$ :** Tümör Nekroz Faktör alfa

**USG:** Ultrasonografi

**UÜTF:** Uludağ Üniveristesi Tıp Fakültesi

**VCAM-1:** Vasküler Hücre Adezyon Molekülü-1

**VKİ:** Vücut Kitle İndeksi

**VLDL:** Çok Düşük Dansiteli Lipoprotein

**WHO:** Dünya Sağlık Örgütü

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca değerli bilgi ve deneyimlerini paylaşan, yetişmemde büyük emeği geçen başta İç Hastalıkları AD Başkanı Sayın Prof. Dr. Mustafa Yurtkuran olmak üzere tüm İç hastalıkları AD öğretim üyelerine, ayrıca Kardiyoloji AD, Göğüs Hastalıkları ve Tüberküloz AD, Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları AD öğretim üyelerine,

Sabrı, ilgisi ve yardımlarıyla tezimi tamamlamamda katkılarını esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerinden çok şey öğrendiğim tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Enver Dolar'a,

Tezin patoloji preparatlarının incelenmesi ve yorumlanmasında emeği geçen Sayın Doç. Dr. Şaduman Balaban Adım ve Uzman Dr Fatma Öz Atalay'a,

Yoğun asistanlık eğitimim boyunca ve yaşamımın her koşulunda sonsuz destek, yardım ve sevgilerini benden hiçbir zaman esirgemeyen, hayatıma anlam kazandıran, yetişmemde büyük katkılarında ve emeklerinden dolayı canım anneciğim ve biricik kardeşim Burça Eroğlu'na, hayattan erken yaşta ayrılmasına rağmen manevi desteğini her zaman hissettiğim babama,

Asistanlığımın başladığı ilk günden itibaren, arkadaşlık ve yardımseverliğini esirgemeyen, sıkıntılı asistanlık sürecimde, hiç tereddüzsüz bana manevi destekte bulunan can dostum Dr. Belkıs Şeniz Coşkun'a,

Dostlarım Dr. Gülen Tandoğan, Dr. Derya Karadayı, Dr Atakan Tekinalp olmak üzere birlikte çalıştığım tüm asistan arkadaşlarıma ve uzmanlarıma teşekkür ederim.

## ÖZGEÇMİŞ

1982 yılında İzmir'in Ödemiş ilçesinde doğdum. İlköğretimin ilk iki yılını Kars Gazi İlköğretim okulunda diğer yılları Giresun Namık Kemal İlköğretim okulunda tamamladım. Lisenin hazırlık ve birinci sınıfını Adana Ceyhan Lisesi'nde, diğer yıllarını Kocaeli İzmit Lisesinde tamamladım.

2000 yılında başladığım Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden 2006 yılında mezun oldum. 2006 yılında tıpta uzmanlık sınavını (TUS) kazandım ve Kasım 2006'da Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda asistan olarak çalışmaya başladım.

Halen araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.