

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

**NON-ALKOLİK YAĞLI KARACİĞER HASTALIĞINDA
KAFEİN TÜKETİMİNİN SERUM CK18 PROTEİNİ
ÜZERİNE ETKİSİ**

Dyt. Kübra UÇAR

**Toplum Beslenmesi Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

ANKARA

2018

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

**NON-ALKOLİK YAĞLI KARACİĞER HASTALIĞINDA
KAFEİN TÜKETİMİNİN SERUM CK18 PROTEİNİ ÜZERİNE
ETKİSİ**

Dyt. Kübra UÇAR

**Toplum Beslenmesi Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Zeynep GÖKTAŞ**

**ANKARA
2018**

ONAY SAYFASI

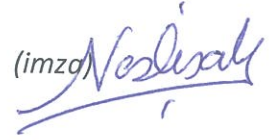
NON-ALKOLİK YAĞLI KARACİĞER HASTALIĞINDA KAFEİN TÜKETİMİNİN SERUM

CK18 PROTEİNİ ÜZERİNE ETKİSİ

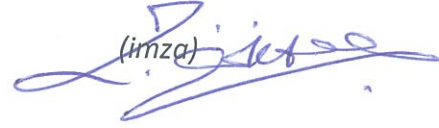
Dyt. Kübra Uçar

Bu çalışma 10.01.2018 tarihinde jürimiz tarafından "Toplum Beslenmesi Programı"nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

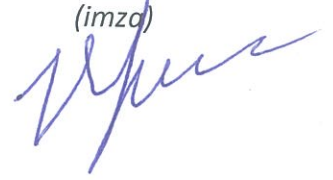
Jüri Başkanı: Prof. Dr. Neslişah Rakıcioğlu
Hacettepe Üniversitesi

(imza) 

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Zeynep Gökteş
Hacettepe Üniversitesi

(imza) 

Üye: Doç. Dr. Hilal Yıldırım
Gazi Üniversitesi

(imza) 

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

Tarih 18 Ocak 2018

(imza)
Prof. Dr. Diclehan Orhan
Enstitü Müdürü



YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

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

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

o Tezimin/Raporumun Şubat 2020 tarihine kadar erişime açılmasını ve fotokopi alınmasını (İç kapak, Özet, İçindekiler ve Kaynakça hariç) istemiyorum.

(Bu sürenin sonunda uzatma için başvuruda bulunmadığım takdirde, tezimin/raporumun tamamı her yerden erişime açılabilir, kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir)



22.01.2018

Dyt. Kübra UÇAR

ETİK BEYAN

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

22.01.2018

Dyt. Kübra UÇAR

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince bana hep yol göstererek desteğini, sabrını, güler yüzünü ve bilgisini esirgemeyen, birlikte çalışmaktan mutluluk ve onur duyduğum tez danışmanım, değerli hocam Doç. Dr. Zeynep GÖKTAŞ’a,

Çalışma süresince yardımlarını esirgemeyerek verdiği her türlü destek için Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi’nde görev yapan Uzm. Dr. Evrim KAHRAMANOĞLU AKSOY’a,

Hayatım boyunca bana her zaman destek vererek en güzel şekilde örnek olan, varlığıyla kendimi güvende hissettiğim ağabeyim Dr. Muhammed Kürşad UÇAR’a,

Tüm zor zamanlarımda desteklerini her zaman hissettiğim çok değerli arkadaşlarım Tuba Nur YILDIZ ve Esra GAZİOĞULLARI’na,

Aramızda mesafeler olsa da her daim bana destek vererek yüzümü güldüren, üniversite hayatımın bana kattığı canım dostum Tuğçe SEKİN’e,

Güzel ve huzurlu bir iş ortamında çalışmamı sağlayan, her biri benim için ayrı değerli olan sevgili oda arkadaşlarıma,

Son olarak, hayatımdaki her başarıda en büyük paya sahip, her zaman desteklerini hissettiğim, en değerlim canım annem Ayşegül UÇAR, babam Ahmet Mahmut UÇAR ve ağabeyim Ahmet Serhat UÇAR’a

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Uçar, K., Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığında Kafein Tüketiminin Serum CK18 Proteini Üzerine Etkisi, Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Toplum Beslenmesi Programı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2018. Bu çalışmanın amacı, non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAYKH) görülen bireylerde kafein alımı ile karaciğer fibrozu göstergesi olan serum sitokeratin 18 (CK18) seviyesi arasındaki ilişkiyi incelemektir. Çalışmaya gerekli muayeneler ve testler sonucunda NAYKH tanısı almış, 19-64 yaş aralığındaki 20 kadın ve 20 erkek birey katılmıştır. Bireylere genel özelliklerini, beslenme alışkanlıklarını ve fiziksel aktivite durumlarını belirlemek amacıyla yüz yüze görüşme tekniği ile anket uygulanmıştır. Bireylerin beslenme durumlarını saptamak amacıyla 24 saatlik geriye dönük besin tüketim kaydı ve besin tüketim sıklığı, kafein alımlarını belirlemek amacıyla kafein tüketim sıklığı kayıtları alınmıştır. Bireylerle yapılan görüşme sırasında antropometrik ölçümleri alınmış ve kan örnekleri toplanmıştır. Çalışmaya katılan bireylerin yaş ortalaması erkeklerde $39,7 \pm 10,66$ yıl, kadınlarda ise $48,1 \pm 13,01$ yıldır ($p>0,05$). Bireylerin yaşları ile diyetle aldıkları günlük toplam kafein miktarı arasında negatif ilişki bulunmuştur ($p=0,013$). Diyetle alınan günlük toplam kafein miktarı ile ALT düzeyi ($p=0,003$) ve AST düzeyi arasında ($p=0,039$) pozitif ilişki, açlık plazma glikozu arasında ($p=0,022$) negatif ilişki bulunmuştur. Diyetle alınan günlük toplam kafein miktarı ile antropometrik ölçümler arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır ($p>0,05$). Serum CK18 düzeyi ile toplam kafein alımı arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p>0,05$). Bireylerin vücut yağ yüzdesi ve serum CK18 düzeyi arasında pozitif korelasyon bulunmuştur ($r=0,510$; $p=0,002$). Kafein kaynaklarına göre incelendiğinde, bireylerin günlük bitter çikolata ile aldıkları kafein miktarı ile serum CK18 düzeyi arasında negatif ($r=-0,420$; $p=0,019$) ilişki bulunmuştur. NAYKH'lı bireylerde kafein tüketiminin hastalıkla ilişkili parametrelere etkisinin netleşmesi için daha çok araştırmaya gereksinim duyulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı, CK18, kafein

ABSTRACT

Uçar, K., The Effect of Caffeine Consumption on Serum CK18 Protein in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease, Hacettepe University, Institute of Health Sciences Community Nutrition Programme, Master of Sciences Thesis, Ankara, 2018. The aim of this study is to investigate the association between caffeine intake and serum cytokeratin 18 level (CK18), which is a liver fibrosis indicator in individuals with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). A total of 20 female and 20 male subjects between the ages of 19-64, who were diagnosed with NAFLD, were included in the study. A questionnaire was administered face-to-face in order to determine individuals' general characteristics, nutrition habits and physical activity status. Twenty-four hour dietary recall and food frequency questionnaire we administered, to determine the nutritional status. Caffeine frequency questionnaire we administered, to determine the caffeine consumption. Anthropometric measurements were taken and blood samples were collected during interviews. The average age of the participants in the study was 39.7 ± 10.66 years in male and 48.1 ± 13.01 years in female subjects ($p > 0.05$). There was a negative correlation between age and the total amount of daily caffeine consumption ($p=0.013$). There were positive correlations between the daily caffeine consumption and ALT level ($p = 0.003$), AST level ($p = 0.039$), and a negative correlation between the daily caffeine consumption and fasting plasma glucose ($p = 0.022$). There were no significant correlations between the daily caffeine consumption and anthropometric measurements ($p>0.05$). There were no significant correlations between serum CK18 level and total caffeine intake ($p > 0.05$). There was a positive correlation between body fat percentage and serum CK18 level ($r = 0.510$; $p = 0.002$). When analyzed according to caffeine sources, there was a negative correlation between the caffeine intake from dark chocolate and serum CK18 level ($r = -0.420$, $p = 0.019$). More research is needed to clarify the effect of caffeine consumption on disease-related parameters in individuals with NAFLD.

Key words: Non-alcoholic fatty liver disease, CK18, caffeine

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR	xii
ŞEKİLLER	xiv
TABLolar	xv
1. GİRİŞ	1
1.1. Kuramsal Yaklaşımlar	1
1.2. Amaç ve Varsayımlar	3
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı	4
2.1.1. Görülme Sıklığı ve Risk Faktörleri	4
2.1.2. Patogenez	6
2.1.3. Klinik ve Laboratuvar Bulgular	7
2.1.4. Prognoz	8
2.1.5. Tedavi	9
2.2. Kafein	11
2.2.1. Güvenilir Alım Düzeyi ve Farmakolojisi	12
2.2.2. Etki Mekanizması	13
2.2.3. Bağımlılık ve Tolerans	14
2.3. Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığında Fibroz ve Kafein	15
2.4. Karaciğer Fibrozu Göstergesi: Sitokeratin 18 (CK18)	18
3. BİREYLER ve YÖNTEM	20
3.1. Araştırma Yeri, Zamanı ve Örneklem Seçimi	20
3.2. Araştırmanın Genel Planı	20
3.3. Verilerin Toplanması	21
3.3.1. Genel Bilgiler, Beslenme Alışkanlığı ve Fiziksel Aktivite Durumu	21

3.3.2. 24 Saatlik Geriye Dönük Besin Tüketim Kaydı	21
3.3.3. Besin Tüketim Sıklığı	22
3.3.4. Kafein Tüketim Sıklığı	22
3.3.5. Antropometik Ölçümler	22
3.3.6. Biyokimyasal Ölçümler	23
3.3.7. Serumda Protein Analizi	24
3.4. Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi	24
4. BULGULAR	26
4.1. Bireylerin Genel Özellikleri	26
4.2. Bireylerin Genel Beslenme ve Fiziksel Aktivite Durumları	28
4.3. Antropometrik Ölçümlerin Değerlendirilmesi	31
4.4. Bireylere ait Biyokimyasal Bulgular	33
4.5. Bireylerin Günlük Enerji ve Besin Ögesi Alımları	37
4.6. Bireylerin Serum Protein Düzeyleri	43
4.7. Bireylerin Günlük Kafein Tüketimleri ve Çeşitli Faktörlerle İlişkisi	49
5. TARTIŞMA	63
5.1. Bireylerin Genel Özelliklerinin Değerlendirilmesi	63
5.2. Bireylerin Genel Beslenme ve Fiziksel Aktivite Durumlarının Değerlendirilmesi	65
5.3. Antropometrik Ölçümlerin Değerlendirilmesi	67
5.4. Bireylere Ait Biyokimyasal Bulguların Değerlendirilmesi	68
5.5. Bireylerin Günlük Enerji ve Besin Ögesi Alımlarının Değerlendirilmesi	69
5.6. Bireylerin Serum Protein Düzeylerinin Değerlendirilmesi	72
5.7. Bireylerin Günlük Kafein Tüketimlerinin ve Çeşitli Faktörlerle İlişkisinin Değerlendirilmesi	75
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	79
6.1. Sonuçlar	79
6.2. Öneriler	83
7. KAYNAKLAR	85
8. EKLER	
EK 1: Aydınlatılmış Onam Formu	
EK 2: Etik Kurul Onayı	
EK 3: Araştırmada Kullanılan Anket Formu	
EK 4: Biyokimya Referans Değerleri	

EK 5: ELİSA Kit Protokolleri

EK 6: Grafikler

9. ÖZGEÇMİŞ



SİMGELER ve KISALTMALAR

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ALP	Alkalen Fosfataz
ALT	Alanin Aminotransferaz
AST	Aspartat Aminotransferaz
BeBİS	Beslenme Bilgi Sistemi
BİA	Biyoelektriksel İmpedans Analizi
BKİ	Beden Kütle İndeksi
BMH	Bazal Metabolik Hız
BT	Bilgisayarlı Tomografi
cAMP	Siklik Adenozin Monofosfat
CK18	Sitokeratin18
CTGF	Konnektif Doku Büyüme Faktörü
ÇDYA	Çoklu Doymamış Yağ Asidi
DSM	Mental Bozuklukların Tanısal ve Sayımsal El Kitabı
DYA	Doymuş Yağ Asidi
EFSA	Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi
ELİSA	Enzyme-Linked Immunosorbant Assay
GGT	Gama Glutamil Transpeptidaz
HDL	Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
HOMA-IR	Homeostatik Model Değerlendirme-İnsülin Direnci
HSC	Hepatik Stellat Hücre
IL-6	İnterlökin-6
IL-8	İnterlökin-8
LDL	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
MetS	Metabolik Sendrom
MR	Manyetik Rezonans
NASH	NonAlkolik SteatoHepatit
NAYKH	NonAlkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı
NHANES	Ulusal Sağlık ve Beslenme İnceleme Anketi
PDGF-β	Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü

PPAR-γ	Peroksizom Proliferatör-Aktive Reseptör- γ
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
sFAS	Çözünebilir FAS
siRNA	Küçük İnterferans RNA
SPSS	Sosyal Bilimler için İstatistiksel Paket Programı
TBSA	Türkiye Beslenme ve Sağlık Araştırması
TDYA	Tekli Doymamış Yağ Asidi
TGF-β	Transforme Edici Büyüme Faktörü- β
TNF-α	Tümör Nekroz Faktör- α
TÖBR	Türkiye'ye Özgü Besin ve Beslenme Rehberi
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
US	Ultrasonografi
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
4.1. Açlık İnsülin ile Serum TNF-alfa Düzeyleri Arasında Korelasyon Grafiği	46
4.2. HOMA-IR ile Serum TNF-alfa Düzeyleri Arasında Korelasyon Grafiği	46
4.3. Total Bilirubin ile Serum CK18 Düzeyleri Arasında Korelasyon Grafiği	47
4.4. Direkt Bilirubin ile Serum CK18 Düzeyleri Arasında Korelasyon Grafiği	47
4.5. Boyun Çevresi ile Serum IL-6 Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği	48
4.6. Vücut Yağı (%) ile Serum CK18 Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği	48
4.7. Yaş ile Diyetle Alınan Günlük Toplam Kafein Miktarı Arasında Korelasyon Grafiği	53
4.8. Diyetle Alınan Günlük Toplam Kafein Miktarı ile ALT Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği	54
4.9. Diyetle Alınan Günlük Toplam Kafein Miktarı ile AST Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği	55
4.10. Diyetle Alınan Günlük Toplam Kafein Miktarı ile Açlık Plazma Glikozu Arasında Korelasyon Grafiği	55
4.11. Siyah Demleme Çay ile Alınan Günlük Kafein Miktarı ve ALT Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği	57
4.12. Siyah Demleme Çay ile Alınan Günlük Kafein Miktarı ve LDL Kolesterol Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği	57
4.13. Siyah Demleme Çay ile Alınan Günlük Kafein Miktarı ve Trigliserit Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği	58
4.14. Hazır Kahve ile Alınan Günlük Kafein Miktarı ve GGT Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği	58
4.15. Hazır Kahve ile Alınan Günlük Kafein Miktarı ve Total Bilirubin Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği	59
4.16. Kolalı İçecekler ile Alınan Günlük Kafein Miktarı ve Kreatinin Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği	59
4.17. Bitter Çikolata ile Alınan Günlük Kafein Miktarı ve HDL-Kolesterol Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği	60
4.18. Bitter Çikolata ile Alınan Günlük Kafein Miktarı ve Serum CK18 Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği	60
4.19. Sütlü Çikolata ile Alınan Günlük Kafein Miktarı ve Total Kolesterol Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği	61
4.20. Çikolatalı Gofret ile Alınan Günlük Kafein Miktarı ve Serum IL-6 Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği	61

TABLOLAR

Tablo	Sayfa
2.1. NAYKH'ın primer nedenleri ve risk faktörleri	6
2.2. NAYKH'da lezyonların derecelendirilmesi ve evrenmesi	9
3.1. WHO'ya göre metabolik komplikasyon risk oluşumunun cinsiyetlere göre kesişim noktaları	23
4.1. Bireylerin Cinsiyetlerine Göre Genel Özelliklerinin Dağılımı	26
4.2. Bireylerin Cinsiyetlerine Göre Hastalık Durumlarının Dağılımı	27
4.3. Bireylerin Cinsiyetlerine Göre Sigara ve Alkol Kullanma Durumları	28
4.4. Bireylerin Cinsiyetlerine Göre Genel Beslenme Alışkanlıkları	29
4.5. Bireylerin Cinsiyetlerine Göre Sıvı Tüketim Durumları	30
4.6. Bireylerin Cinsiyetlerine Göre Fiziksel Aktivite Durumları	30
4.7. Bireylerin Cinsiyetlerine Göre Vücut Ağırlığı Değişimi ve Değerlendirme Durumları	31
4.8. Bireylerin Cinsiyetlerine Göre BKİ Dağılımları	31
4.9. Bireylerin Cinsiyetlerine Göre Antropometrik Ölçümlerinin Ortalama, Standart Sapma ve Alt-Üst Değerleri	32
4.10. Bireylerin Biyokimyasal Bulgularının Ortalama, Standart Sapma, Alt-Üst Değerleri ve Referans Değerlerle Karşılaştırılması	34
4.11. Bireylerin BKİ Sınıflamasına Göre Biyokimyasal Bulgularının Ortalama ve Standart Sapma Değerleri	35
4.12. Bireylerin HOMA-IR Değerlerine Göre Biyokimyasal Bulgularının Ortalama, Standart Sapma ve Alt-Üst Değerleri	36
4.13. Bireylerin Cinsiyetlerine Göre Günlük Enerji ve Besin Ögesi Alımlarının Ortalama, Standart Sapma ve Alt-Üst Değerleri	38
4.14. Bireylerin Cinsiyetlerine Göre Günlük Önerilen Enerji ve Besin Ögesi Gereksinimlerini Karşılama Dağılımları	40
4.15. Erkek ve Kadın Bireylerin Besin Gruplarına Göre Günlük Besin Tüketim Miktarlarının Ortalama ve Standart Sapma Değerleri	42
4.16. Bireylerin Cinsiyetlerine Göre Serum Protein Düzeylerinin Ortalama ve Standart Sapma Değerleri	43
4.17. Bireylerin BKİ Sınıflamasına Göre Serum Proteinleri Ortalama ve Standart Sapma Değerleri	44
4.18. Bireylerin HOMA-IR Değerlerine Göre Serum Proteinleri Ortalama, Standart Sapma ve Alt-Üst Değerleri	44
4.19. Bireylerin Cinsiyetlerine Göre Günlük Kafein Alım Kaynakları ve Toplam Kafein Alım Miktarlarının Ortalama ve Standart Sapma Değerleri	50

4.20.	Bireylerin BKİ Sınıflamasına Göre Toplam Kafein Alımlarının Ortalama ve Standart Sapma Değerleri	51
4.21.	Bireylerin Kafein Sınıflamasına Göre Antropometrik Ölçümlerinin Ortalama ve Standart Sapma Değerleri	51
4.22.	Bireylerin Kafein Sınıflamasına Göre Biyokimyasal Bulgularının Ortalama ve Standart Sapma Değerleri	52
4.23.	Bireylerin Kafein Alım Miktarlarının Sınıflamasına Göre Serum Proteinleri Ortalama ve Standart Sapma Değerleri	52



1. GİRİŞ

1.1. Kuramsal Yaklaşımlar

Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı (NAYKH), histolojik bulguları alkolik yağlı karaciğer hastalığına benzediği halde alkol kullanmayan veya düşük miktarda alkol tüketen kişilerde görülen karaciğer yağlanması olarak tanımlanır (1). Basit steatozdan non-alkolik steatohepatit (NASH), ilerlemiş fibroz ve siroza kadar geniş spektrumlu bir karaciğer hasarıdır (2). Basit steatoz ilerleyici olmayan bir seyir gösterirken; hücre yıkımı ve inflamasyon ile karakterize olan NASH fibroz ve siroz gelişme riski olan ilerleyici bir durumdur. Bu nedenle NASH'in steatozdan ayırt edilmesi büyük önem taşır (1,2). Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı; obezite, tip 2 diyabet ve hiperlipidemi ile yakından ilişkilidir (2,3). Gelişmiş ülkelerde daha yüksek olmakla birlikte yetişkinlerde görülme sıklığı %20-30 arasındadır (1). Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı olan bireylerin %5-10'unda NASH görülmektedir (1).

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığının patogenezi halen açık değildir. Gelişimi ve ilerlemesinde etkili mekanizmalar karmaşık ve çok etkenlidir. Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığının patogenezi açıklamada uzun yıllar “çift vuruş hipotezi” kabul görmüştür (4). Hipoteze göre, ilk vuruştan insülin direnci sorumludur. Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı ile obezite, tip 2 diyabet, hiperlipidemi arasındaki ilişkinin bu hastalıklarda görülen insülin direncinden kaynaklandığı düşünülmektedir (3). İlk vuruşun etkisiyle karaciğerin, oksidatif stres ve pro-inflamatuvar sitokinlerin neden olduğu ikinci vuruşa karşı savunmasız hale geldiği ileri sürülmektedir (5). Böylece hepatositlerde inflamasyon ve fibroz oluşumu görülmektedir (5).

Çalışmalar artan hepatosit apoptozunun inflamasyon ve fibroza neden olduğunu, böylece steatozun steatohepatite ilerlemesinde etkili olabileceğini göstermiştir (6,7). Apoptoz, kaspazlar olarak adlandırılan bir enzim grubu tarafından düzenlenen programlı hücre ölümüdür. Apoptozun ilk aşamalarında kaspazlar, epitel spesifik ara filament sitokeratin 18 (CK18)'i 3 parçaya ayırırlar (8–11). Kırılma ile oluşan CK18 neo-epitopu, monoklonal antikor M30 tarafından tanınır. Diğer adı M30 antijen olan CK18 neo-epitopu sadece apoptozla oluşmaktadır (8). Bu nedenle apoptozla artan kaspaz aktivasyonu monoklonal antikor M30 ile hastaların serumlarında belirlenebilir (12).

Kafein, tüm dünyada yaygın olarak başta kahve, çay olmak üzere birçok yiyecek ve içeceklerle, takviye olarak veya ilaçlarla alınmaktadır (2). Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde nüfusun %85'inin günde en az bir kafeinli içecek tükettiği tahmin edilmektedir (13). Kahve, kafein, klorojenik asit, kafestol ve kahveol gibi aktif bileşikler içerir. Anti-oksidatif ve anti-fibrotik özelliklere sahip olan bu bileşiklerin fibroz, siroz ve hepatoselüler kanser gibi karaciğer hastalıklarına karşı koruma sağlayabildiği düşünülmektedir (14). Yapılan bir araştırmada, NAYKH'lı bireylerde kahvenin antioksidan etkisi incelenmiştir. Çalışma sonucunda yüksek kahve tüketiminin NAYKH'da koruyucu etkisi olduğu ancak antioksidanlar arasında anlamlı bir fark bulunmadığı belirtilmiştir (15). Araştırmalarda genellikle ileri fibrozlu bireylerin kahve tüketimlerinin düşük olduğu görülmüştür (16,17). Bunun sebepleri 1) karaciğerde metabolize olan kahvenin, ileri karaciğer bozukluğunda daha az tüketiminin faydalı olduğunun düşünülmesi 2) karaciğer hastalığı olan bireylerin kahvenin sağlıksız olduğunu düşünmesi olarak belirtilmiştir (17). Ancak yakın zamanda yapılan bazı çalışmalarda kahve tüketiminin artmasıyla karaciğer enzimlerinde ve fibroz derecesinde düşüş olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle kahve tüketiminin, hastalığı ilerlemiş bireylerde komplikasyonlara karşı koruyucu etki gösterebileceği düşünülmektedir (16–21). Modi ve arkadaşları, günde 2 fincandan fazla kahve tüketiminin düşük karaciğer fibrozu ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir (17). Bu sonucu destekleyen farklı bir çalışmada, kahve tüketimi ile NAYKH başlangıcı arasında herhangi bir ilişki bulunmamıştır (21). Yapılan bir çalışmada düşük insülin dirençli (HOMA-IR <4,3) NAYKH'lı bireylerde kahve tüketimi ile ilerlemiş fibroz arasında ters ilişki olduğu gösterilmiştir. Ancak HOMA-IR seviyesi daha yüksek olan bireylerde kahvenin ileri fibroza karşı koruyucu etkisi olmadığı rapor edilmiştir (22).

Kahvenin karaciğer fibrozu üzerine olumlu etkilerinin içerdiği kafeinden kaynaklandığı düşünülmektedir (23,24). Bunu düşündüren sebepler şu şekilde sıralanabilir.

- Yapısal olarak adenezine benzeyen kafeinin, karaciğer fibrozunun başlıca araçları olan hepatik stellat hücreleri A_{2a} adenezin reseptörü antagonizması yoluyla inhibe etmesi

- Kahvenin yapısındaki diğer sayısız bileşenin çok düşük konsantrasyonlarda bulunması, daha da önemlisi kahve ürünleri ve hazırlama yöntemleri arasında büyük farklılıkların olması
- Bazı gözlemsel çalışmalarda hem kahve hem de kafein tüketiminde tutarlı etkiler görülürken kafeinsiz kahvede etki görülmemesi (23,24).

1.2. Amaç ve Varsayımlar

Bu çalışmanın amacı non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı görülen bireylerde kafein alımı ile karaciğer fibrozu göstergesi olan serum CK18 seviyesi arasındaki ilişkiyi incelemektir.

Varsayımlar:

- Diyetle yüksek kafein alımında serum CK18 seviyesi azalır.
- Diyetle yüksek kafein alımında serum ALT ve AST seviyeleri azalır.
- Diyetle yüksek kafein alımında serum TNF- α seviyesi azalır.
- Diyetle yüksek kafein alımında serum IL-6 seviyesi azalır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı

Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı (NAYKH); viral enfeksiyon, önemli miktarda alkol alımı (kadınlar için 10 g/gün, erkekler için 20 g/gün) ve karaciğer hastalığının herhangi bir etiyolojisi olmaksızın hepatositlerde %5'in üzerinde yağ birikimi olarak tanımlanır (25). Kronik karaciğer hastalıklarının en yaygın nedenlerindendir. Basit steatozdan non-alkolik steatohepatit (NASH), fibroz, siroz ve hepatoselüler karsinoma kadar ilerleyebilen geniş spektrumlu bir karaciğer hasarındır. Basit steatoz ilerleyici olmayan bir seyir gösterirken, NASH fibroz ve siroz gelişme riski olan ilerleyici bir durumdur (1). Avrupa'da her yıl karaciğer sirozundan yaklaşık 170.000, karaciğer kanserinden ise 47.000 kişi hayatını kaybetmektedir (25). Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığının sadece karaciğer ile ilişkili morbidite ve mortalite ile sınırlı olmaması multisistem bir hastalık olduğunu göstermektedir (26).

Nonalkolik steatohepatit kavramı, 1980 yılında Ludwig ve arkadaşları tarafından histolojik bulguları alkolik yağlı karaciğer hastalığına benzediği halde alkol kullanmayan kişilerde görülen hastalık tablosu olarak tanımlanmıştır (27). Daha sonraki yıllarda klinik özellikleri NASH'e benzediği halde, hastalığa özgü patolojik bulguların tamamını göstermeyen vakalar görülmüştür. Adlandırmadan kaynaklı karışıklığı önlemek için "Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı" kavramı getirilmiştir (28). Bu genel kavramın alt grupları şu şekilde tanımlanabilir.

Steatoz: Karaciğerde yağlanmanın olduğu ancak herhangi bir inflamasyon bulgusunun olmadığı gruptur (29).

Non-Alkolik Steatohepatit (NASH): Karaciğerde yağlanmaya ek olarak alkolik karaciğer hastalığındaki gibi hepatositlerde inflamasyon, balonlaşma, Mallory cisimcikleri, megamitokondria, fibrozis gibi bulguların görüldüğü gruptur (29).

2.1.1. Görülme Sıklığı ve Risk Faktörleri

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı, kronik karaciğer hasarının ve asemptomatik transaminaz yüksekliğinin en yaygın nedeni olarak görülmektedir. Dünya genelindeki ülkelere göre, NAYKH prevalansı genel nüfusun %6-35'i

(ortalama %20) olarak rapor edilmiştir (30). Yakın zamanda yapılmış bir çalışmanın epidemiyolojik verilerine göre, Asya toplumlarında %15-20, Amerika'da %30, Avrupa'da ise yaklaşık %25 olarak bildirilmiştir (31). Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı en sık 60'lı yaşlarda olmakla birlikte her yaş grubunda görülebilmektedir (26). Literatüre bakıldığında hem kadın hem de erkeklerde sık görüldüğüne dair çalışmalar mevcuttur (26,32). Yapılan bir çalışmada hastalığın erkeklerde yaklaşık 2 kat daha sık görüldüğü belirtilirken (26) farklı bir çalışmada %65-83 oranında kadınlarda gözlendiği bildirilmiştir (32). Kesitsel verilere göre, tüm dünyada batı tarzı beslenen yetişkinlerin %20-30'unda NAYKH, %2-5'inde ise hastalığın alt grubunun (NASH gibi) olduğu tahmin edilmektedir. Ayrıca tüm yetişkinlerin %1-2'sinde NASH'in siroza ilerleme riski olduğu belirtilmektedir (33). Türkiye'de 242 NAYKH'lı yetişkin bireyle yapılan bir araştırmada, 140 bireyde (%57,9) steatoz ve 102 bireyde (%42,1) NASH olduğu saptanmıştır (34). Farklı bir çalışmada, 2-20 yaş arası otopsi yapılmış 66 obez bireyin %10,6'sında (7 kişi) yağlı karaciğer saptanmıştır (35).

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı, metabolik sendrom (MetS)'un hepatik yansıması olarak düşünülmektedir (36). Obezite, tip 2 diyabet, insülin direnci ve hiperlipidemi önemli risk faktörleridir. Bu nedenle hastalığın prevalansı toplum geneline göre risk gruplarında daha yüksektir (37). Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı prevalansı obezite, tip 2 diyabet ve hiperlipidemi gibi risk gruplarında sırası ile %30-100, %10-75 ve %20-95 arasında değişmektedir (38). Hastanede yatan hastalarla yapılan bir çalışmada NAYKH'lı bireylerin oranı %20 olarak bulunmuştur. Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı olmayan bireylerde obezite prevalansı %16,7 iken olan bireylerde %53,31'dir. Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı olan bireylerin yaklaşık %61'inde MetS'un olduğu saptanmıştır (39).

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı, obezite ve metabolik sendromun diğer bileşenlerinin prevalansının artmasına paralel olarak giderek yaygınlaşmaktadır. Önümüzdeki on yıl içerisinde karaciğer nakli için önde gelen endikasyon olacağı öngörülmektedir (37). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, diyabetli hastaların yaklaşık %70'inde azalmış NAYKH ile ilişkili parametrelerin arttığı ve yaklaşık %18'inde karaciğer sertliğinin arttığı gösterilmiştir (40). Diyabetik hastalarda NAYKH ve ilerlemiş fibroz prevalansının yüksek olduğu ve obezite ve dislipidemisi

olanların özellikle yüksek risk altında olduğu belirtilmiştir (40). Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığının primer nedenleri ve risk faktörleri Tablo 2.1.'de özetlenmiştir.

Tablo 2.1. NAYKH'ın primer nedenleri ve risk faktörleri (41,42)

İnsülin direnci
Diabetes Mellitus (özellikle tip 2), glikoz intoleransı
Abdominal obezite (Bel çevresi: kadınlarda>88 cm, erkeklerde>102 cm)
Hipertrigliseridemi, hiperkolesterolemi, düşük yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol düzeyi
Hipertansiyon
İleri yaş
Leptin eksikliği veya direnci
Hızlı Ağırlık kaybı

Doğumsal metabolik anormallikler, uzun süre total parenteral beslenme, bariyatrik cerrahi, protein malnütrisiyonu, HIV (Human Immunodeficiency Virus) enfeksiyonu, inflamatuvar barsak hastalığı, antibiyotikler ve sitotoksik grubu ilaçlar gibi faktörler NAYKH'ın sekonder risk faktörleri arasında sayılabilmektedir (43).

2.1.2. Patogenez

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı, metabolik sendrom bileşenleri ile yakın ilişkilidir. Gittikçe artan prevalansı da göz önüne alındığında gelişiminin altında yatan mekanizmaların anlaşılması çok önemlidir. Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığının gelişimi ve ilerlemesinde ilk olarak “çift vuruş hipotezi” kabul görmüştür (4). Ancak bu hipotez moleküler ve metabolik değişiklikleri açıklamada yetersiz olduğu için günümüzde “çoklu vuruş hipotezi” kabul görmektedir. Hipoteze göre, trigliseritlerin yıkımı ile açığa çıkan serbest yağ asitlerinin karaciğerde artışı ilk vuruştur. İlk vuruştan insülin direnci sorumludur. İnsülin direncinin hastalığın patogenezindeki bu önemli rolü, NAYKH ile metabolik sendrom arasındaki yakın ilişkiyi açıklamaktadır (3). İlk vuruşun etkisiyle oksidatif stres, reaktif oksijen türlerinin üretimi, endoplazmik retikulum stresi, mitokondriyal fonksiyon bozuklukları, adipokin dengesinde bozulma ve pro-inflamatuvar sitokinlerin (Tümör Nekroz Faktör (TNF)- α), İnterlökin (IL)-6, IL-8 gibi) sorumlu olduğu ikinci vuruş gerçekleşmektedir. Pro-inflamatuvar sitokinlerin salınımı, endoplazmik retikulum stresi ve inflamasyona neden olan moleküllerin dolaşımdaki seviyelerinin artması sonucunda ince bağırsak geçirgenliğinin artabileceği ileri sürülmektedir. Ayrıca genetik faktörler veya epigenetik değişiklikler,

hepatositlerin yağ içeriğini, enzimatik süreçleri ve inflamatuvar ortamı etkilemektedir. Birçok faktörün sorumlu olduğu ikinci vuruşun etkisiyle hepatositlerde inflamasyon ve fibroz oluşumu aktive edilmektedir (1).

2.1.3. Klinik ve Laboratuvar Bulgular

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığında hastaların çoğu asemptomatiktir. Semptomatik olan hastalarda karnın sağ üst kısmında ağrı, yorgunluk, halsizlik, abdominal rahatsızlık gibi spesifik olmayan belirtiler görülmektedir (44). Bazı hastalarda saptanabilen tek muayene bulgusu hepatomegali olabilmektedir (45). Bu nedenle hastalığın tanısında laboratuvar bulguları önemlidir. En yaygın laboratuvar bulgusu transaminazlardaki yüksekliktir. Alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) düzeylerinde 3-4 kat artış görülebilir. Alanin aminotransferaz/aspartat aminotransferaz oranının 1'den büyük olması NAYKH için karakteristiktir. Ancak bazı hastalarda transaminaz düzeyi normal olabileceği gibi AST düzeyi de yüksek olabilir. Hastaların bir kısmında alkalen fosfataz (ALP) ve gamaglutamil transpeptidaz (GGT) düzeyleri de yüksek olabilmektedir (46). Bilirubin, albümin ve globülin düzeyleri sirotik olmayan durumlarda normal düzeylerdedir (47). Hastalığın gelişimi ve ilerlemesinde insülin direncinin rolü büyüktür. Bu nedenle hastalarda açlık kan şekeri ile birlikte açlık insülin düzeyi de ölçülerek *Homeostatik Model Değerlendirme (HOMA)* yöntemi ile insülin direncinin değerlendirilmesi önemlidir (29).

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığının teşhisinde önemli miktarda alkol tüketiminin olmaması gerekir. Bazı çalışmalarda NAYKH tanısı için günlük tüketilen alkol miktarı 20-40 g olarak belirtilmiştir (48,49). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada bu eşik değeri kadınlar için 10 g, erkekler için 20 g olarak rapor edilmiştir (25).

Karaciğer yağlanmalarının tanısında spesifik semptomların, klinik ve laboratuvar bulguların olmayışından dolayı radyolojik bulgular önemlidir. Klinikte çoğunlukla ultrasonografi (US) ile karaciğer yağlanması belirlenerek tanı konulmaktadır. Hastalığın tanısına katkı sağlayan diğer görüntüleme yöntemleri de bilgisayarlı tomografi (BT) ve manyetik rezonans (MR)'tır (50). Bu görüntüleme yöntemleri ile karaciğerde yağlanma görülebilse de, basit yağlanma ile NASH ayrımı

yapılamamaktadır (51). Nonalkolik steatohepatitin hepatoselüler balonlaşma, mallory cisimcikleri, inflamasyon, fibroz başlangıcı gibi özelliklerini ve varlığını belirlemek için karaciğer biyopsisi gerekir (37). Nonalkolik steatohepatit tanısında basit yağlanma ile steatohepatiti ayırt edebilen fibroz ve yapısal değişiklikleri gösteren karaciğer biyopsisi altın standarttır (48).

Karaciğer yağlanmasında hepatositlerde mikroveziküler, makroveziküler ya da her iki form da birlikte bulunacak şekilde yağ vakuolleri görülür (52). Nonalkolik steatohepatit tanısı için gerekli histopatolojik bulgular, belirgin yağlanma (makroveziküler), mikst tip lobül içi iltihabi infiltrasyon ve hepatositlerde balonlaşmadır. Ancak tanı için gerekme de NASH’de görülebilen bazı bulgular vardır. Bunlar, zon 3 perisinüzoidal fibrozis, yağ kistleri, mallory cisimcikleri, hepatositlerde megamitokondria gibi bulgulardır (52). Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığında lezyonların derecelendirilmesi ve evrenmesi Tablo 2.2.’de gösterilmiştir.

2.1.4. Prognoz

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı, steatoz, steatohepatit, siroz ve bunların komplikasyonlarını içeren geniş çaplı bir hastalıktır (53). Konu ile ilgili klinik çalışmalara bakıldığında NAYKH’lı bireylerin genel popülasyona kıyasla mortalite ve morbidite oranının arttığı görülmektedir (53). Amerika’da 2005 yılında yapılan bir çalışmada, 420 NAYKH’lı birey 7 yıl boyunca takip edilmiştir. Çalışmada karaciğer ile ilişkili ölüm oranı %1,7 olarak saptanmış, 1 hastaya karaciğer nakli gerekmiş, 2 hastada hepatoselüler karsinom gelişmiştir. Sonuç olarak NAYKH’lı bireylerdeki mortalite oranının genel nüfusa kıyasla daha yüksek olduğu saptanmış olup bu durum, yaşın ilerlemesi, bozulmuş açlık glikozu ve siroz ile ilişkilendirilmiştir (53). Farklı bir çalışmada, NAYKH’lı bireylerde özellikle NASH olanlarda kontrol grubuna kıyasla yaşam süresinin kısaldığı rapor edilmiştir (54). Genel olarak steatozun iyi seyir gösterdiği, NASH’in kötü seyirli ilerleyici bir durum olduğu kabul edilmektedir. Geçmişte yapılmış bir çalışmada, 132 NAYKH’lı birey 18 yıl boyunca takip edilmiştir. Biyopside tip 2-3-4 olan grupta siroz gelişimi %22 iken, sadece steatoz olanlarda %4 olarak saptanmıştır (55). Ortalama 3,2 yıllık aralıklarla 103 hastaya seri biyopsi

yapılan bir çalışmada, hastaların %37'sinde fibrozis evresinin ilerlediği, %34'ünde değişmediği, %29'unda ise gerilediği rapor edilmiştir (56).

Tablo 2.2. NAYKH'da lezyonların derecelendirilmesi ve evrenmesi (52)

1. Steatoz İçin Dereceleme			
Derece 1	Hepatositlerin %33'ünden daha azı etkilenmiştir.		
Derece 2	Hepatositlerin %33-66'sı etkilenmiştir.		
Derece 3	Hepatositlerin %66'dan fazlası etkilenmiştir.		
2. Nekroinflamatuvar Aktivite Sınıflaması			
	Derece 1 (Hafif)	Derece 2 (Orta)	Derece 3 (Şiddetli)
Steatoz	Lobülde %66'ya varabilen etkilenme, daha çok makroveziküler	Değişik derecede, genellikle karışık (makroveziküler ve mikroveziküler)	Tipik olarak lobüllerin %66'sından fazlası etkilenmiş (panasiner); yaygın mikst steatoz
Balonlaşma	Bazen zon 3 hepatositlerde	Zon 3 de belirgin	Baskın olarak zon 3 de, belirgin
Lobüler inflamasyon	Dağınık ve hafif akut inflamasyon (polimorfonükleer hücreler) ve kronik inflamasyon (mononükleer hücreler)	Balonlaşmış hepatositlerle birlikte polimorfonükleer hücreler görülebilir; periselüler fibroz; hafif kronik inflamasyon görülebilir	Dağınık akut ve kronik inflamasyon; polimorfonükleer hücreler, zon 3'te balonlaşma ve fibroz alanlarında yoğunlaşmış olabilir
Portal inflamasyon	Yok veya hafif	Hafif ila orta	Hafif veya orta
3. Fibrozis Evresi			
Evre 1	Fokal veya yaygın, zon 3 perivenüler, perisinüzoidal veya periselüler fibrozis		
Evre 2	Yukarıdaki gibi, ek olarak fokal veya yaygın periportal fibrozis		
Evre 3	Fokal veya yaygın köprüleşme fibrozu		
Evre 4	Siroz		

2.1.5. Tedavi

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı için günümüzde etkinliği kanıtlanmış standart bir tedavi yöntemi bulunmamaktadır. Tedavide amaç, hastalık için risk

faktörlerinin kontrol altına alınması ve mümkünse ortadan kaldırılmasıdır (57). Henüz hastalığı tedavi edebilen ruhsatlı herhangi bir ilaç yoktur. Hastalığın patogenezinde insülin direnci önemli bir faktör olduğundan insülin direncini azaltıcı ilaçlar (biguanidler, glitazonlar) kullanılmaktadır. Karaciğer koruyucu veya antifibrojenik olduğu düşünülen (betain, vitamin E, lesitin, beta-karoten, selenyum gibi) ilaçlar üzerinde çalışılmaktadır (58). Geçmişten günümüze hastalığın tedavisini ağırlık kaybı, hepatotoksik ajanların uzaklaştırılması, hiperlipidemi ve hipergliseminin kontrol altına alınması oluşturmaktadır (59).

Yaşam Tarzı Değişikliği: Diyet ve Egzersiz

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı, metabolik sendromun hepatik yansıması olarak görülmektedir. Obezite, insülin direnci ve metabolik sendromun diğer bileşenleri hastalık için önemli risk faktörleridir. Tedavi amacına uygun olarak risk faktörleriyle mücadelede en önemli yaklaşım, beslenme ve egzersiz ile yapılan yaşam tarzı değişikliğidir (60). Obezite ve insülin direnci kötü beslenme alışkanlığı ve hareketsiz yaşam tarzı ile ilişkilidir. Doğru beslenme alışkanlığı ve fiziksel aktivitenin artırılmasıyla vücut ağırlığı kontrolü sağlanabilir. Ağırlık kontrolünün de hastalığın ilerlemesini geciktirdiği belirtilmektedir (61). Literatürde diyet ve egzersizin NAYKH'lı bireylerde hastalıkla ilişkili biyokimyasal parametreleri iyileştirdiğini gösteren çalışmalar mevcuttur (62–64).

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığında ağırlık kaybı, yavaş, aşamalı ve düzenli olmalıdır. Böylece serbest yağ asidi dağılımını düzenler, periferik glikoz kullanımı artırarak ekstrahepatik insülin duyarlılığını artırır, adipoz dokudaki inflamasyon ve serbest oksijen radikallerini azaltır (58). Hızlı ağırlık kaybı ise periferdeki yağ dokusundan karaciğere gelen serbest yağ asitlerini artırarak karaciğerde yağlanmaya sebep olmaktadır. Bu durum karaciğerdeki hasarı artırarak hastalığın gidişatını kötüleştirebilmektedir (65). Amerikan Gastroenteroloji Derneği hafif kilolu bireyler için (Beden Kütle İndeksi (BKİ)>25 kg/m²) 6 ayda vücut ağırlığının %10'u kadar ağırlık kaybını önermektedir (66). Haftalık ağırlık kaybı 0,45-0,9 kg arasında olmalıdır. Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı için spesifik bir diyet tedavisi yoktur. Ancak hastaların doymuş yağ ve kolesterolü fazla, lif ve antioksidanı az aldıkları rapor edilmiştir (67). Klinik uygulamada düşük kalorili (500-1000

kkal/gün kadar kısıtlama) ve düşük yağlı diyet önerilmektedir. Karbonhidrattan zengin bir diyetin NAYKH'lı bireylerin klinik durumlarını kötüleştirebileceği belirtilmiştir (68). Diyetle alınan günlük doymuş yağ asidinin (DYA) enerjinin %6-10 arasında olmasının, %25'ine kadar tekli doymamış yağ asidi (TDYA) alımı ve n-3 çoklu doymamış yağ asidi (ÇDYA) alımının artmasının NAYKH'lı bireyler için faydalı olabileceği ifade edilmektedir (61). Protein alımının bireyin tıbbi durumuna ve vücut ağırlığına göre ayarlanması gerekmektedir. Hepatitte günlük protein gereksinimi en az 1,0-1,2 g/kg olarak tahmin edilirken siroz varlığında 1,5 g/kg'a kadar değişebilmektedir (68). Egzersiz, visceral yağ dokusunu azaltır ve ağırlık kaybının devamlılığını sağlar. Ayrıca glikoz dengesi ve artmış insülin duyarlılığı gibi faydaları ile hastalığın tedavisinde etkili olmaktadır (58).

Morbid obez olan veya obeziteye eşlik eden hastalıkları olan bireylerde alternatif ağırlık kaybı seçeneği bariyatrik cerrahidir. Bu yöntem hastalarda oldukça iyi ağırlık kayıpları sağlar. Literatürde bariyatrik cerrahinin hastalığın patogenezinde etkili olan metabolik anormalliklerin bir kısmını iyileştirdiği ve histolojik bulguları düzelttiğini gösteren çalışmalar mevcuttur (69,70). Ancak hızlı ağırlık kaybı sonrası steatohepatit şiddetlenebilir, bu yüzden rejim yapan hastaların ağırlık kayıpları ve biyokimyasal testleri mutlaka takip edilmelidir (59).

2.2. Kafein

Kafein, birçok bitki türünün yapısında doğal olarak bulunan alkaloid bir maddedir (71). Tüm dünyada yaygın olarak başta kahve, çay olmak üzere çikolata, kola ve enerji içecekleri gibi çok sayıda yiyecek-içecek, takviye olarak veya ilaçlarla alınır (72-74). Orta düzey (400 mg'a kadar) kafein tüketiminin ruh halini olumlu etkilediği, uyanıklık ve fiziksel performansı artırdığı bilinirken yüksek düzey tüketim bilişsel bozukluk, seğirme, titreme ve anksiyeteye neden olabilmektedir. Ancak kafein tüketen bireylerde, kafeinin bırakılması halinde baş ağrısı, yorgunluk, keyifsizlik gibi semptomlar görülebilmektedir. Psikoaktif ilaçlarla benzer etki göstermesine rağmen kafein, ciddi bir tehlike arz etmediğinden genellikle ilaç olarak sayılmaz (75).

Ulusal Sağlık ve Beslenme İnceleme Anketi (NHANES) 2009-10 verilerine dayanarak, ABD'de 2-19 yaş arası çocuk ve adölesan bireylerin %71'inin gün içerisinde kafein tükettikleri, 12-19 yaş arası ortalama kafein tüketiminin 78,3 mg

olduğu bildirilmiştir (76). 2001-10 verilerine göre ise ABD’de 19 yaş üstü bireylerin %89’unun yiyecek ve içeceklerle (takviye ve ilaçlar hariç) kafein aldığı tahmin edilmektedir. Bu nüfusun günlük ortalama kafein alımı 211 mg’dır. Tüketenlerin %46’sı kafeini tek seferde almaktadır. Kafein alımının %98’i içeceklerle (kahve ~%64, çay ~%16, alkolsüz içecekler ~%18) sağlanmıştır (71). Yaş ayrımı yapılmaksızın ABD’de tüm nüfusun %87’sinin düzenli olarak kafeinli içecekler tükettiği ve günlük ortalama kafein alımının 193 mg olduğu tahmin edilmektedir. En yüksek alım, günlük ortalama 336 mg ile 35-54 yaş arası erkeklerdedir (72). Türkiye Beslenme ve Sağlık Araştırması (TBSA) 2010 verilerine göre, ülkemizde 20 yaş ve üzeri bireylerin %92,9’u çayı, %21,3’ü kahve ve neskafeyi her gün tüketmektedir (77). Türkiye’de 20-60 yaş arası bireylerin dahil edildiği bir çalışmada, ortalama kafein alımı $150,0 \pm 122,06$ mg olarak bulunmuştur (78).

2.2.1. Güvenilir Alım Düzeyi ve Farmakolojisi

Kafein güvenliği üzerine yapılan kapsamlı incelemelere göre, sağlıklı yetişkin bireylerin günlük 400 mg’a kadar kafein tüketiminin olumsuz yan etkilerle ilişkili olmadığı gösterilmiştir. Orta düzeyde kafein tüketen bireylerde toksisite, kemik durumu ve kalsiyum dengesi, kardiyovasküler etkiler ve davranışsal değişiklikler bakımından olumsuz durumlar saptanmamış, ancak erkeklerde üremeyi etkilediği ya da kanser görülme sıklığını artırdığı belirlenmiştir (79–81). Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA), yetişkin bir birey için günlük ortalama 400 mg kafein alımının yan etkilere neden olmadığını doğrulamıştır. Kanada Hükümeti maksimum kafein alım seviyesi/gün olarak, hamilelik planlayan, hamile olan veya emziren kadınlar için 300 mg, 4-6 yaş için 45 mg, 7-9 yaş için 62,5 mg, 10-12 yaş için 85 mg, 13-18 yaş arası için 2,5 mg/kg/gün alımı, 12 yaş ve altındaki çocuklar için ise kısıtlama yapılmasını önermektedir (82).

Kafein (1,3,7-trimetilksantin), ana bileşik olan ksantin üzerine üç metil grubunun yerleşmesiyle oluşur (73). Kimyasal formülü $C_8H_{10}N_4O_2$ ’dir. Oral olarak alındığında gastrointestinal sistem aracılığıyla hızlıca ve tamamen kana emilir (75). Kafein öğün ile birlikte tüketildiğinde emilim daha yavaş gerçekleşir (73). Pik plazma konsantrasyonu için gerekli süre bireysel farklılıklara bağlı olarak 15-120 dakika arasında değişmektedir. Ancak çoğu bireyde kafeinin tüketilmesinden sonra yaklaşık

30-60 dakika içerisinde pik plazma seviyesine ulaşılır (75). Kafeinin %10-35'i plazma proteinlerine bağlıdır (72). Dolaşımdaki kafein hızlıca tüm dokulara dağıtılır ve kan-beyin bariyerini geçerek etkilerini gösterir (73).

İnsanlarda 25'ten fazla kafein metaboliti tanımlanmıştır. Başlıca metabolik yolu sitokrom P450 karaciğer enzim sistemidir. Kafein bu yolla temelde 3 aktif metabolite parçalanır: paraksantin (%80), teobromin (%10), teofilin (%4) (72). Karaciğer, metil gruplarının çıkarılmasıyla bu üç metaboliti ksantine parçalar. Ksantin, ya idrarla atılır ya da vücutta tekrar kullanılır (75). Dolaşımdaki kafeinin ortalama yarı ömrü (alınanın yarısının vücuttan atımı) 3-5 saattir. Bu sayede birçok doku ile uzun süre etkileşime girebilir (73). Kafeinin yarı ömrü birçok faktöre bağlı olarak değişebilir. Karaciğer hastalığı olan bireylerde artarken, sigara içenlerde %50'ye kadar azalır. Doğum kontrol hapı kullanan kadınlarda iki katına çıkabilir, gebelik döneminde artar. Yüksek doz kafein alımında da yarılanma ömrü uzar (75). Yeni doğanlarda karaciğer enzim sistemi olgunlaşmamış olduğundan (yaklaşık 6 aylıkken tamamen olgunlaşır) kafeinin yarılanma ömrü (80-100 saat) belirgin şekilde artmıştır (72).

2.2.2. Etki Mekanizması

Kafein molekülü yapısal olarak adenozine benzemektedir. Her biri farklı doku dağılımı ve farmakolojik profile sahip 4 farklı G proteine bağlı adenosin reseptörü tanımlanmıştır. Bunlar, A₁, A_{2a}, A_{2b}, A₃ reseptörleridir. Adenosin reseptör duyarlılığı ve yoğunluğu bireyler arasında değişkenlik göstermektedir (73). Kafein adenozine yapısal benzerliğinden dolayı hücre yüzeylerindeki adenosin reseptörlerine bağlanır. Böylece adenosinin “antagonisti” olarak hareket eder. Kafeinin fizyolojik ve psikolojik uyarıcı etkilerinin özellikle A₁ ve A_{2a} reseptörlerinde adenosinin etkilerini inhibe etmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. A₁ reseptörleri, beynin tüm bölgelerinde (hipokampus, serebral korteks, serebellum ve bazı talamik çekirdeklerde yoğun konsantrasyonlarda) bulunur. A_{2a} reseptörleri de beynin dopamin açısından zengin bölgelerinde (striatum, koku alma tüberkülleri) bulunur (75). Adenosin endojen pürin nükleosididir. Genellikle merkezi ve periferel sinir sisteminde engelleyici/baskılayıcı etkiler (çoğu nörotransmitter salınımının ve sinaptik iletimin inhibisyonu, motor aktivitenin baskılanması, kalp atış hızı, kan basıncı ve vücut

sıcaklığının düşürülmesi gibi) gösterir. Kafein, A₁ ve A_{2a} reseptörlerine bağlanarak adenosin girişini engeller ve böylece çeşitli merkezi ve periferik etkiler üretir (72,75).

Kafein, dopamin reseptörleri ile birlikte lokalize olan ve fonksiyonel olarak etkileşime giren adenosin reseptörleriyle rekabet ederken dolaylı olarak dopamin aktivitesini de artırmaktadır. Adenosin reseptörleri dopamin reseptörleri ile fonksiyonel reseptör heteromerleri oluşturabilirler (A₁-D₁ ve A_{2a}-D₂ gibi) (72). Kafein, adenosin A_{2a} reseptörlerini inhibe ederek bu reseptörlerin dopamin D₂ reseptörleri üzerindeki negatif etkisini azaltır. Böylece dopaminerjik sinir iletimi potansiyelizasyonunu sağlamış olur. Kafeinin zindelik/canlılık içeren olumlu bir ruh hali oluşturabilme yeteneğinin bu mekanizma ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (75).

2.2.3. Bağımlılık ve Tolerans

Kafein bağımlılığı, kafeinin oluşturduğu fizyolojik etkilere hızlı bir şekilde toleransa neden olur. Tolerans, bir maddenin belli bir miktarına verilen tepkinin zamanla azalması olarak tanımlanabilir. Bu durumda aynı etkilerin görülmesi için daha fazla miktarda alım gerekir (75). Kafein tolerans derecesi tüketim sıklığına ve dozuna, vücuttan atılma hızındaki bireysel farklılıklar gibi çeşitli faktörlere bağlıdır. Düzenli kafein kullanan bireylerde orta ve yüksek doz alımlarda tam tolerans görülürken, düşük doz alımlarda tam olarak tolerans gelişmeyebilir. Kafein kullanan bireylerin beyan etmiş oldukları tolerans sıklığı %8-50 arasında rapor edilmiştir. Ancak bu oranın kafeine bağımlı bireyler arasında % 92'ye kadar çıktığı belirtilmektedir (72). Kafeinin genellikle birkaç gün içinde kan basıncı, kalp atış hızı, diürez, plazma epinefrin ve norepinefrin düzeyleri, renin aktivitesi, sinirlilik üzerine toleransı gösterilmiştir. Günde 2 fincan kahve tüketimi ile 1 hafta içinde uyku bozukluğuna karşı tolerans gelişebileceği bildirilmiştir (75).

Çoğu kafein kullanıcısında günlük kafein alımının azaltılması veya tamamen kesilmesi bazı semptomlar ile sonuçlanmaktadır (72). Kafeinin bırakılması ile görülen semptomlar, kullanımı sırasında görülmeyen bazı belirtileri kapsamaktadır. Bu belirtiler baş ağrısı, yorgunluk, güçsüzlük, uyuşukluk, konsantrasyon bozukluğu, depresyon, kas sertliği, enerji ve aktiflikte azalma, uyku hali, sinirlilik, mide bulantısı, kusma olarak sıralanabilir (72,75). Kafeinin tamamen bırakılmasıyla bireysel değişikliklere bağlı olarak semptomların başlangıcı 6-43 saat arasında değişebilir.

Ancak genellikle 12-24 saat içerisinde semptomlar görülmeye başlar. 1-2 gün içerisinde de pik etki yapar. Semptomlar genellikle 2-9 gün arası devam eder. Bireyin kafein alım dozu arttıkça bıraktığı zaman görülen semptomların şiddeti de artar. Bu semptomlar günlük 100 mg kadar düşük dozlarda kafein alan bireylerde de görülebilir. Kafeinin yeniden tüketilmesiyle bu semptomlar hızlı bir şekilde ve tamamen ortadan kalkabilmektedir (72).

Yüksek dozlarda (400-800 mg) kafein alımı baş ağrısı, anksiyete, sinirlilik, olumsuz ruh hali ve mide bozulması gibi etkilere neden olabilmektedir (72). Yan etkilere neden olan kafein miktarı ağırlık, cinsiyet, yaş gibi bireysel farklılıklara bağlı olarak değişebilmektedir (83). Mental Bozuklukların Tanısal ve Sayımsal El Kitabı (DSM)-IV-TR tarafından kafein zehirlenmesi, akut kafein tüketimine yanıt olarak klinik açıdan önemli sorunlara neden olan semptomların gelişmesi olarak tanımlanır. Tanıda akut dönemde en az 250 mg kafein tüketimine bağlı ortaya çıktığı belirtilmiştir (84). Uzun dönem ve yüksek dozlarda kafein alımının kalsiyum dengesi ve kemik metabolizması üzerine olumsuz etkileri olduğu bilinmektedir (80).

2.3. Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığında Fibroz ve Kafein

Yapılan çalışmalarda kahve tüketimi düşük karaciğer enzimleri ile ilişkilendirilmiştir (85–87). Ulusal Sağlık ve Beslenme İnceleme Anketi-I verileri ile yapılan bir çalışmada günde 2 fincandan fazla kahve tüketiminin daha düşük kronik karaciğer hastalığı riski ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (87).

Kahvenin/Kafeinin çeşitli mekanizmalarla hepatosit ve hepatik stellat hücreler (HSC) de anti-fibrotik etkisi olduğu düşünülmektedir (14,88). Molloy ve arkadaşları, NASH'li bireylerde kahve/kafein tüketimi ile fibroz riskinin ters ilişkili olduğunu göstermiştir (20). Zelber-Sagi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da, kahve tüketimi ile NAYKH insidansı ve prevalansı arasında ilişki bulunmamış ancak kahve tüketimi ile fibroz riskinin ters ilişkili olduğu rapor edilmiştir (21).

Kahve kafeinin diyetle alımındaki en önemli kaynaklarından biridir. Kahvenin karaciğer fibrozu üzerine olumlu etkilerinin içerdiği kafeinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bunu düşündüren sebepler şu şekilde sıralanabilir.

- Yapısal olarak adenozone benzeyen kafeinin, adenosinerjik etkisiyle karaciğer fibrozunun başlıca aracıları olan HSC'leri, A_{2a} adenosin reseptörü antagonizması yoluyla inhibe ettiğinin düşünülmesi
- Kahvenin yapısındaki diğer sayısız bileşenlerin çok düşük konsantrasyonlarda bulunması, kahve çeşitleri ve üretim yöntemleri arasında büyük farklılıkların olması
- Bazı gözlemsel çalışmalarda hem kahve hem de kafein tüketiminde tutarlı etkiler görülürken kafeinsiz kahvede etkinin görülmemesi (23,46).

Kafeinin karaciğerde anti-fibrotik etki mekanizmaları halen net değildir. Ancak yapılan çalışmalarda bu etkisi bazı olası mekanizmalar üzerinden açıklanmaya çalışılmıştır (23,88–96). Karaciğerdeki fibrojenik süreç transforme edici büyüme faktörü beta-1 (TGF- β 1) tarafından düzenlenmektedir. Transforme edici büyüme faktörü beta, HSC'leri miyofibroblastlara (fibroblast benzeri hücreler) farklılaşması ve bir dizi ekstraselüler matriks moleküllerinin sentezlenmesi için indükler. Hepatositler fibrojenik süreçte önemli hücre tipi olarak tanınmaktadır ve fibrotik dokularda daha fazla üretildiği bilinmektedir. Hepatositler hasarlı karaciğerde konnektif doku büyüme faktörü (CTGF) sentezler. Konnektif doku büyüme faktörü, TGF- β tarafından upregüle edilir. Hepatositler, karaciğerde CTGF'nin temel hücresel kaynağıdır. Bu nedenle CTGF, karaciğer ve diğer dokularda bu sitokinin pro-fibrojenik etkisini artırarak TGF- β 'nın esas düzenleyicisi olarak öne sürülmektedir. Fibrojenizde CTGF'nin önemli rolü, fibrotik karaciğerde belirgin derecede artışı ile gösterilmiştir (92,94). Bazı çalışmalarda küçük interferans RNA (siRNA) ile CTGF seviyesi düşürülerek deneysel fibrozun azaltıldığı veya önlendiği gösterilmiştir (91,93). Moleküler mekanizması net olmamakla birlikte Siklik Adenosin Monofosfat (cAMP), TGF- β tarafından indüklenen CTGF'nin inhibitörü olarak tanımlanmıştır (90). Kafein ve diğer metilksantinlerin fosfodiesteraz aktivitesini inhibe ederek hücre içi cAMP seviyesini yükselttiği bilinmektedir (89).

Herhangi bir sebeple hasar gören karaciğerde, hasarlı hepatositlerin ürettiği reaktif oksijen türleri (ROS) kupffer hücreleri ve HSC'leri aktive eder (95). Endojen antioksidanların tükenmesine neden olan aşırı ROS birikimi, fibrojenik sitokinlerin indüksiyonu (TGF- β , Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü (PDGF- β) ve TNF- α gibi) ve HSC'lerin uyarılması yoluyla dolaylı olarak ekstraselüler matriks birikimine

katkıda bulunur (95). Shin ve arkadaşlarının ratlarla yaptığı çalışmada, kahvenin (kafeinin yanı sıra diğer bileşenlerinde) fibrojenik sitokinlerin kontrolü aracılığıyla (özellikle TGF- β ve PDGF- β) HSC'lerin inaktivasyonunu sağlaması ve antioksidan aktivitesi sayesinde karaciğer fibrozuna karşı koruyucu etkisi olduğu belirtilmiştir (95). Gressner ve arkadaşları, kafeinin peroksizom proliferatör-aktif reseptör (PPAR)- γ upregülasyonu, SMAD3 fosforilasyonunun inhibisyonu, SMAD2 (TGF- β efektörü) yıkımının uyarılması yoluyla hepatositlerde TGF- β tarafından indüklenen CTGF ekspresyonunu azaltarak modüle ettiğini rapor etmişlerdir (92). Shim ve arkadaşları, kafein uygulanmış hücrelerde TGF- β seviyesinin azaldığını göstermişlerdir. Transform edici büyüme faktörü beta seviyesinin düşürülmesinin, HSC'lerde prokollajen 1C, α -SMA ve metalloproteinaz 1 inhibitörünün dokudaki düzeyinin azaltılması yoluyla fibrozu önlediği belirtilmiştir (96). Chen ve arkadaşları, kafeinin otofaji-lizozomal yolla karaciğerde beta oksidasyonu uyararak, hepatositlerde TGF- β sinyalini etkileyerek CTGF ekspresyonunun inhibisyonu, HSC adezyonu ve aktivasyonunu inhibe ederek fibrozun ilerlemesini zayıflatabileceğini rapor etmişlerdir (88).

Bazı deneysel çalışmalarda kemirgenlerde karaciğer fibroz/siroz modellerinde kafein veya filtre kahvenin fibrozu azalttığı gösterilmiştir (94–98). Ancak Türk kahvesi (filtrelenmemiş) ile yapılan farklı bir çalışmada, karaciğer fibrozunu azaltmadığı ve aminotransferaz seviyelerini artırdığı belirtilmiştir (99).

A2_a reseptörleri, fibrojeniz ve kontraktileti düzenleyen HSC tarafından ekspere edilir. Kahve/Kafein gibi bazı adenosin reseptörü antagonistlerinin karaciğer inflamasyonu ve fibrozuna karşı koruyucu etkisi olabileceği de düşünülmektedir (23).

Kahve farklı yöntemlerle (filtrelenmiş, espresso vb.) ve kavurma biçimi ile hazırlanabilir. Hazırlama yöntemindeki ve kavurma türündeki farklılıklar kahvenin bileşimini değiştirmektedir. Filtrasyon işlemi kahvenin kafestol ve kahveol içeriğini önemli derecede azaltmakta fakat espresso hazırlama yöntemine göre klorojenik asiti daha iyi korumaktadır (13,14). Avrupa'da obez hastalarla yapılan bir çalışmada, filtre kahve tüketimi ile karaciğer fibroz şiddeti arasında ters ilişki bulunmuştur. Ayrıca espresso tüketimi, düşük HDL kolesterol düzeyi, yüksek trigliserit düzeyi ve yüksek MetS prevalansı ile ilişkili bulunmuştur (16). Yakın zamanda yapılan bir meta-analiz

çalışması, total kafein alımının karaciğer fibrozu ya da prevalansı ile ilişkili olmadığını, ancak filtre kahve ile kafein tüketiminin karaciğer fibrozunu azaltabileceğini göstermiştir (13).

2.4. Karaciğer Fibrozu Göstergesi: Sitokeratin 18 (CK18)

Karaciğer biyopsisi, NAYKH teşhisinde ve NASH ile steatozu ayırt etmede altın standarttır. Ancak hem pahalı hem de klinik riskleri olan bir yöntemdir. Günümüzde diğer görüntüleme yöntemleri ve biyokimyasal bulgular hastalığın tanısına katkı sağlasa da NASH ile steatozu ayırt etmede yetersizdirler. Bu nedenle bu ayrımı yapabilen ucuz ve basit bir tanı yönteminin geçerliliğinin doğrulanmasına ihtiyaç vardır. Deneysel ve klinik araştırmalar, hepatosit apoptozunun NAYKH'ın patogeneğinde önemli bir rol oynadığını öne sürmektedir (100). Apoptoz, kaspazlar tarafından düzenlenen programlı hücre ölümüdür. Kaspazlar, zimojen (inaktif haberci) olarak sitoplazmada bulunan ve aktif merkezlerinde sistein yer aldığından, “sistein proteazlar” olarak adlandırılan bir grup enzimdir. Kaspazlar, başlatıcılar ve efektörler (sonlandırıcılar) olarak ikiye ayrılırlar (100). Hem NASH'li hastalarda hem de NASH'li hayvan modellerinde apoptozun hepatositlerde baskın hücre ölüm prosesi olduğu gözlenmiştir. Apoptoz işlemi, efektör kaspazları (esas olarak kaspaz-3) aktive eder. Aktifleşen kaspazlar, epitel spesifik ara filament sitokeratin 18 (CK18)'i parçalarlar. Parçalanma ile oluşan CK18 neoepitopu monoklonal antikör M30 tarafından tanınır. Diğer adı M30 antijen olan CK18 neoepitopu sadece apoptoziste oluşmaktadır (8).

Sitokeratin 18, karaciğerdeki başlıca ara filament bir proteindir. Hepatositlerdeki hücre ölümü sonrası kaspaz-kırılmış CK18 parçaları kan dolaşımına girer. Dolaşımdaki CK18 seviyesi, NAYKH'lı bireylerde NASH varlığı için yeni bir biyobelirteç olarak araştırılmaktadır (101). Yakın zamanda yapılan araştırmalarda CK18'in NASH için iyi bir biyobelirteç olduğu gösterilmiştir (100,102,103). Bazı çalışmalarda ise CK18'in çözünebilir Fas (sFas) ile birlikte NASH teşhisinde ve şiddetinin değerlendirilmesinde kullanılabileceği belirtilmiştir (104,105). Rosso ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, CK18 ve karaciğer sertliğinin NAYKH'da ilerlemiş fibrozun tahminini artırabileceği rapor edilmiştir (106). Mandelia ve arkadaşları da,

NAYKH'lı çocuklarda CK18'in fibroz göstergesi olarak umut vadeden non-invazif biyobelirteç olduğunu göstermiştir (101).



3. BİREYLER ve YÖNTEM

3.1. Araştırma Yeri, Zamanı ve Örneklem Seçimi

Kesitsel olan bu araştırma, non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı görülen bireylerde diyetle kafein alımının, karaciğer fibrozu göstergesi olan CK18 proteini, karaciğer fonksiyon testleri, antropometrik ölçümler ve inflamatuvar proteinler olan TNF- α ve IL-6 üzerine etkisini saptamak amacıyla tasarlanmıştır.

Araştırmaya Şubat 2017 ve Ocak 2018 tarihleri arasında Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi Gastroenteroloji Bölümü'ne başvurmuş, gerekli muayeneler ve testler sonucunda yeni NAYKH tanısı almış, 19-64 yaş aralığındaki 20 kadın ve 20 erkek olmak üzere toplam 40 gönüllü birey dahil edilmiştir. Çalışmaya katılmak için gönüllü olan bireylere aydınlatılmış onam formu imzalatılmıştır (EK 1). Bu araştırma Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Etik Kurul tarafından 16969557-612 Sayılı 2017/09 Toplantı No ve GO 17/309-09 karar No ile onaylanmıştır (EK 2).

3.2. Araştırmanın Genel Planı

Çalışmaya Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi Gastroenteroloji Bölümü'ne başvurmuş; günlük alkol tüketimi erkekler için 30 g, kadınlar için 20 g ve üzerinde olmayan klinik laboratuvar ve ultrasonografik kriterler sonucu yeni NAYKH tanısı alan bireyler dahil edilmiştir. Bilinen NAYKH haricinde karaciğer hastalık öyküsü, virütik hepatit hastalıkları ve bunların haricinde inflamatuvar hastalık öyküsü olan, abdominal veya bariyatrik cerrahi geçiren, mental hastalıkları bulunan bireyler ve gebeler çalışma kapsamı dışında tutulmuştur. Çalışma başlangıcında bireylere aydınlatılmış onam formu imzalatılarak gönüllü bireyler çalışmaya dahil edilmiştir. Araştırma kriterlerine uygun gönüllü bireyler gastroenterolog tarafından araştırmacı diyetisyene yönlendirilmiştir. Çalışmaya katılan bireylerden tedavinin bir parçası olarak yapılan ve ulaşılabilen biyokimyasal testlere ek olarak serum TNF- α , IL-6 ve CK18 düzeylerinin ölçülmesi için hastalar bilgilendirilerek ayrıca kan alınmıştır.

3.3. Verilerin Toplanması

Tüm katılımcılara yüz yüze gerçekleştirilerek 6 bölümden oluşan bir anket formu uygulanmıştır (EK 3). Bu bölümler ile ilgili bilgiler aşağıda verilmektedir.

3.3.1. Genel Bilgiler, Beslenme Alışkanlığı ve Fiziksel Aktivite Durumu

Katılımcılara anketin genel bilgiler kısmında yaş, cinsiyet, medeni durumu, eğitim durumu ve süresi, meslek, tanı aldıkları beslenme ile ilintili kronik sağlık sorunu, sigara ve alkol kullanım durumu sorulmuştur. Sigara kullanım durumunda halen içenler ve içip bırakanlar için toplam sigara içme süresi, halen içenler için günlük içilen sigara adeti kaydedilmiştir. Alkol kullanım durumunda, halen alkol kullananlar için bir seferde tüketilen miktar (mL) ve genellikle tüketilen alkolün türü sorulmuştur.

Anketin beslenme alışkanlıkları kısmında ana ve ara öğün sayısı, ana öğün atlama durumu (varsa atlanılan öğün), hafta içi ve hafta sonu öğün saati düzeni, besin desteği kullanım durumu (varsa adı), özel bir diyet uygulama durumu (varsa diyetin adı ve diyeti kimin önerdiği) ve genel olarak beslenmelerini nasıl değerlendirdikleri sorgulanmıştır.

Anketin fiziksel aktivite durumu kısmında düzenli spor/egzersiz yapma durumu, yapanlar için egzersiz türü ve süresi (dk/gün), son 6 ayda vücut ağırlığı değişimi ve şimdiki vücut ağırlığını nasıl değerlendirdikleri sorgulanmıştır.

3.3.2. 24 Saatlik Geriye Dönük Besin Tüketim Kaydı

Araştırmada Besin Tüketim Kaydı Formu kullanılarak “24 saatlik geriye dönük hatırlatma yöntemi” ile bireysel günlük besin tüketimi belirlenmiştir. Tüm katılımcılara yemek ve besin fotoğraf kataloğu kullanılarak araştırmacı tarafından bir gün önce tükettiği tüm besinler ve içecekler sorulmuştur (107). Saptanan günlük besin miktarları üzerinden hastaların günlük enerji ve besin ögesi alımları Beslenme Bilgi Sistemi (BeBİS) programı 8. versiyon kullanılarak hesaplanmıştır (108). Enerji ve besin ögesi alımlarının karşılaştırılmasında Türkiye’ye Özgü Besin ve Beslenme Rehberi (TÖBR)’nde önerilen güvenilir alım düzeyleri referans alınmıştır (109).

3.3.3. Besin Tüketim Sıklığı

Besin Tüketim Sıklığı, 24 saatlik besin tüketim kaydı ile birlikte kullanılarak elde edilen bilgileri doğrulamak ve besin tüketim örüntüsü hakkında bilgi vermek amacıyla kullanılmıştır. Bu çalışmada beslenme durumunu saptamak amacıyla son altı ay göz önüne alınarak tüm besin ve içecekler yemek ve besin fotoğraf kataloğu kullanılarak sorulmuş olup miktar (gram, mL) ve sıklıkları (hiç, haftada 1-2, haftada 3-4 vb.) değerlendirilmiştir (107).

3.3.4. Kafein Tüketim Sıklığı

Tüm katılımcıların kafein tüketimlerinin değerlendirilebilmesi için kafein tüketim sıklığı formu oluşturulmuştur. Bireylere kafein içeren yiyecek, içecek, sporcu besin desteği ve kullandığı ilaçlar miktar ve sıklıkları ile birlikte geriye dönük son altı ay düşünülerek sorulmuş ve kaydedilen veriler doğrultusunda bireylerin ortalama günlük kafein alım miktarları belirlenmiştir. Bireylerin toplam kafein alım miktarları ≤ 150 , $150-250$, ≥ 250 mg/gün olarak sınıflandırılmıştır.

3.3.5. Antropometrik Ölçümler

Tüm bireylerin antropometrik ölçümleri araştırmacı tarafından alınmıştır.

Vücut Ağırlığı: Bireylerin vücut ağırlığı 0,7 kg yaklaşıkyla yalın ayak şekilde ve metal aksesuar olmadan TANİTA TBF-215 kullanılarak ölçülmüştür. Tüm ölçümler aynı cihaz kullanılarak yapılmıştır.

Boy Uzunluğu: Duvara dayalı boy ölçer ile yalın ayak ve desteksiz şekilde baş Frankfurt düzlemde (göz üçgeni ve kulak kepçesi üstü aynı hizada yere paralel) iken ölçüm yapılmıştır (110).

Beden Kütle İndeksi (BKİ): Vücut ağırlığının kilogram (kg) cinsinden değerinin boyun metre (m) cinsinden karesine bölünmesi sonucu elde edilmiştir (kg/m^2). Beden Kütle İndeksi değerlendirmesi Dünya Sağlık Örgütü (WHO) sınıflandırmasına göre yapılmıştır. Beden Kütle İndeksi değeri 18,5-24,9 arasında olanlar normal, 25,0-29,9 arasında olanlar hafif kilolu, 30,0-34,9 arasında olanlar 1. dereceden obez, 35,0-39,9 arasında olanlar 2. dereceden obez, 40,0 ve üzeri olanlar morbid obez olarak değerlendirilmiştir (111).

Bel Çevresi: Bireyler ayakta durur pozisyonda ve kollar iki yanda iken alt kaburga kemiği ile iliak kemiği arasındaki mesafenin orta noktasından esnemeyen mezur ile ölçülmüştür (110). Bel çevresi Tablo 3.1'e göre değerlendirilmiştir.

Kalça Çevresi: Bireyler ayakta durur pozisyondayken kalçanın en geniş kısmından yere paralel şekilde esnemeyen mezur ile ölçülmüştür (110).

Boyun Çevresi: Bireyler ayakta durur pozisyondayken baş dik ve gözler karşıya bakacak şekilde adem elması çıkıntısının olduğu seviyeden esnemeyen mezur ile ölçülmüştür (112).

Bel/Kalça Oranı: Bel çevresinin kalça çevresine bölünmesi ile elde edilmiştir (110). Bel/Kalça oranı Tablo 3.1.'e göre değerlendirilmiştir.

Vücut Kompozisyonu Ölçümü: Tüm bireylerin vücut kompozisyonu Bioelektrik İmpedans Analizi (BİA) yöntemiyle TANİTA TBF 215 kullanılarak ölçülmüştür. Ölçüm öncesi ve sırasında aşağıdaki kurallara dikkat edilmiştir (110).

- 24 saat önce alkol kullanılmaması
- En az 2-4 saat öncesine kadar yemek yenilmemesi
- Test öncesi çok su içilmemesi
- Testten 4 saat öncesi çay kahve içilmemesi
- Bireyin üzerinde metal bulunmaması
- Bireylerde kalp pili bulunmaması
- Ölçümün çıplak ayakla yapılması

Tablo 3.1. WHO'ya göre metabolik komplikasyon risk oluşumunun cinsiyetlere göre kesişim noktaları (113)

Gösterge	Kesişim Noktası	Metabolik Komplikasyon Riski
Bel çevresi	>94 cm (E); 80 cm (K)	Artmış risk
Bel çevresi	>102 cm (E); 88 cm (K)	Büyük ölçüde artmış risk
Bel/kalça oranı	≥0,9 (E); 0,85 (K)	Büyük ölçüde atmış risk

E, Erkek; K, Kadın

3.3.6. Biyokimyasal Ölçümler

Bireylerin Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya Laboratuvarı'nda yapılan ve hasta dosyasından ulaşılabilen ALT, AST, GGT, ALP, kreatinin, lipid profilleri (HDL-kolesterol, LDL-kolesterol, Total-kolesterol,

trigliserit), total bilirubin, direkt bilirubin, açlık kan glikozu, açlık insülin sonuçları kaydedilmiştir. Bireylerin biyokimyasal bulgularının karşılaştırılmasında Ankara Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya Laboratuvarı'nın referans değerleri kullanılmıştır (EK 4). Çalışmaya katılan bireylerin insülin direnci düzeylerini saptamak için (3.1)'deki HOMA-IR formülünden yararlanılmıştır. Bireylerde insülin direnci varlığı için HOMA-IR değerlerinin kesim noktası 3,87 olarak kabul edilmiştir (114).

$$HOMA - IR = \frac{Açlık Kan Şekeri (mg / dL) * Açlık İnsülin Düzeyi (\mu U / ml)}{405} \quad (3.1)$$

3.3.7. Serumda Protein Analizi

Tüm bireylerden 10-12 saat açlık sonrası kan örnekleri toplanmıştır. Bu örnekler 15 dakika santrifüj edilmiş ve ayrılan serumlar -80 °C'de saklanmıştır. Serum örneklerinde ELİSA (Enzyme-Linked ImmunoSorbant Assay) kitleri ile TNF- α (BOSTER, ABD), IL-6 (BOSTER, ABD) ve CK18 (Elabscience, ABD) proteinleri üretici firma prosedürlerine uygun şekilde ve ikişer kez (duplike) çalışılmıştır (EK 5). Antikor kaplı 96 kuyucuklu plakalara serum örnekleri (seyreltilmeden) ve standartlar eklenerek inkübe edilmiştir. Ardından yıkama işlemi yapılarak ikinci antikor eklenmiş ve inkübe edilmiştir. Daha sonra tekrar yıkama işlemi yapılmış, kuyucuklara substrat eklenmiş ve inkübe edilmiştir. Son olarak durdurma solüsyonu eklenerek plakalar 30 dakika içerisinde 450 nm dalga boyutundaki spektrofotometre ile okunarak serumlardaki protein miktarları belirlenmiştir (EK 5).

3.4. Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Çalışmadan elde edilen bulguların istatistiksel değerlendirmesinde Sosyal Bilimler İçin İstatistiksel Paket programı (SPSS) kullanılmıştır. Verilere Levene's test uygulanarak dağılımın normalitesi değerlendirilmiştir. Veriler arasındaki korelasyon hesaplamaları Pearson korelasyon testi ile yapılmıştır. Nitel değişkenler arasındaki ilişkinin incelenmesinde ki-kare testi kullanılmıştır. Ortalama veriler arasındaki farkın anlamlı olup olmadığı iki grup karşılaştırılırken bağımsız örneklem t testi, ikiden fazla grup karşılaştırılırken ANOVA testi kullanılarak analiz edilmiştir. Elde edilen veriler; sayı (S), yüzde (%), ortalama ($\bar{x}$), standart sapma (SD), alt-üst değerler şeklinde

sunulmuştur. Sonuçlar %95 güven aralığında p değeri 0,05 altında olduğunda anlamlı sayılmıştır. Besin tüketim kayıtlarının değerlendirilmesinde BeBİS kullanılarak tüketilen besinlerin ortalama günlük enerji ve besin öğeleri değerleri hesaplanmıştır.



4. BULGULAR

4.1. Bireylerin Genel Özellikleri

Çalışmaya, uygun kriterleri karşılayan yeni NAYKH tanısı alan yaşları 19-64 yaş aralığında 20'si kadın ve 20'si erkek olmak üzere toplam 40 gönüllü birey dahil edilmiştir. Bireylerin genel özellikleri Tablo 4.1'de verilmiştir. Çalışmaya katılan erkek bireylerin yaş ortalaması $39,7 \pm 10,66$ yıl, kadınların $48,1 \pm 13,01$ yıldır. Erkeklerin %40'ı lise mezunu, kadınların %60'ı ilkokul mezunudur. Erkek bireylerin eğitim süresi $11,1 \pm 4,44$ yıl, kadınların ise $6,6 \pm 4,07$ yıldır. Cinsiyetler arasında yaş, medeni durum, eğitim durumu ve eğitim süresi açısından anlamlı farklılık bulunmamaktadır ($p > 0,05$). Erkeklerin %50'sinin serbest meslekle uğraştığı kadınların ise %80'inin ev hanımı olduğu görülmektedir ($p < 0,001$).

Tablo 4.1. Bireylerin Cinsiyetlerine Göre Genel Özelliklerinin Dağılımı

	Erkek (n=20)		Kadın (n=20)		p
Yaş (yıl) ($\bar{x} \pm SD$)	39,7 $\pm$ 10,66		48,1 $\pm$ 13,01		0,203**
Medeni Durumu	S	%	S	%	
Evli	16	80,0	17	85,0	
Bekar	4	20,0	1	5,0	
Boşanmış/Dul	0	0,0	2	10,0	
$X^2=4,730^* p>0,05$					
Eğitim Durumu	S	%	S	%	
Okuryazar	0	0,0	2	10,0	
İlkokul mezunu	5	25,0	12	60,0	
Ortaokul mezunu	2	10,0	1	5,0	
Lise mezunu	8	40,0	4	20,0	
Üniversite mezunu	4	20,0	1	5,0	
Yüksek lisans ve doktora	1	5,0	0	0,0	
$X^2=10,755^* p>0,05$					
Eğitim süresi (yıl) ($\bar{x} \pm SD$)	11,1 $\pm$ 4,44		6,6 $\pm$ 4,07		0,155**
Meslek	S	%	S	%	
Ev Hanımı	0	0,0	16	80,0	
Serbest Meslek	10	50,0	1	5,0	
Memur	0	0,0	2	10,0	
İşçi	5	25,0	0	0,0	
Emekli	5	25,0	0	0,0	
Öğrenci	0	0,0	1	5,0	
$X^2=48,750^* p<0,001$					

* Ki-kare testi

** t testi

Tablo 4.2’de bireylerin cinsiyetlerine göre hastalık durumlarının dağılımı gösterilmiştir. Bireylerin tamamı NAYKH tanısı almıştır. Buna ek olarak en az bir hastalıkları olma durumu erkeklerde %40 iken kadınlarda %80’dir ($p<0,05$). Diyabet görülme sıklığı erkeklerde %10 kadınlarda %45 iken romatizmal hastalıklar erkeklerde görülmezken kadınlarda %15 oranında görülmektedir ($p<0,05$).

Tablo 4.2. Bireylerin Cinsiyetlerine Göre Hastalık Durumlarının Dağılımı

Hastalık Durumu	Erkek				Kadın				<i>p</i> *
	Var		Yok		Var		Yok		
	S	%	S	%	S	%	S	%	
Toplam Hastalık Durumu	8	40,0	12	60,0	16	80,0	4	20,0	0,010
Kalp Damar	2	10,0	18	90,0	2	10,0	18	90,0	1,000
Diyabet	2	10,0	18	90,0	9	45,0	11	55,0	0,013
Hipertansiyon	4	20,0	16	80,0	8	40,0	12	60,0	0,168
Ülser/Gastrit/Reflü	1	5,0	19	95,0	0	0,0	20	100,0	0,235
Romatizmal Hastalıklar	0	0,0	20	100,0	3	15,0	17	85,0	0,036
Tiroid	1	5,0	19	95,0	2	10,0	18	90,0	0,545
Hiperlipidemi	2	10,0	18	90,0	2	10,0	18	90,0	1,000
Alerji/Astım	1	5,0	19	95,0	2	10,0	18	90,0	0,545
Akdeniz Ateşi	0	0,0	20	100,0	1	5,0	19	95,0	0,235
Nörolojik/Psikiyatrik	0	0,0	20	100,0	1	5,0	19	95,0	0,235
Akciğer, KOAH	1	5,0	19	95,0	0	0,0	20	100,0	0,235
Uyku Apnesi	1	5,0	19	95,0	0	0,0	20	100,0	0,235

*Ki-kare testi

Tablo 4.3’de bireylerin cinsiyetlerine göre sigara ve alkol kullanma durumlarının dağılımı gösterilmiştir. Hiç sigara içmeyen bireylerin oranı her iki grupta da daha fazladır. Günde içilen ortalama sigara sayısı ve sigarayı bırakanlar için toplam sigara içme süresi (yıl) erkeklerde kadınlara göre daha fazladır ($p>0,05$). Alkol kullanma durumu incelendiğinde kadınların hiçbirinin alkol tüketmediği, erkeklerin ise %10’unun ($n=2$) ayda bir kez tükettiği saptanmıştır. Cinsiyetler arasında sigara kullanımı ve alkol tüketimi açısından istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 4.3. Bireylerin Cinsiyetlerine Göre Sigara ve Alkol Kullanma Durumları

Sigara ve Alkol Kullanım Durumu	Erkek (n=20)		Kadın (n=20)		p**
Sigara İçme Durumu	S	%	S	%	
Hayır, hiç içmedim.	11	55,0	13	65,0	
İçtim, bıraktım.	6	30,0	3	15,0	
Halen içiyorum.	3	15,0	4	20,0	
X ² =1,330* p>0,05					
Sigara Kullanımı					
Günde içilen sigara sayısı*** (x̄±SD)	26,7±11,55		11,8±6,99		0,084
Toplam sigara içme süresi (yıl) (x̄±SD)					
Bırakanlar için	20,7±14,53		9,7±9,29		0,279
Halen içenler için	12,3±2,52		19,5±4,93		0,073
Alkol Kullanma Durumu	S	%	S	%	
Hayır	18	90,0	20	100,0	
Evet	2	10,0	0	0,0	
X ² =2,878* p>0,05					

* Ki-kare testi

** t testi

*** Sigara içen bireylerin ortalama ve standart sapma değerleri hesaplanmıştır.

4.2. Bireylerin Genel Beslenme ve Fiziksel Aktivite Durumları

Bireylerin cinsiyetlerine göre genel beslenme alışkanlıkları Tablo 4.4'de değerlendirilmiştir. Her iki grubun ortalama ana öğün sayısının aynı, ara öğün sayısının da benzer olduğu görülmektedir. Bireyler arasında atlanan öğünler incelendiğinde öğle öğününü atlayanların oranı erkek (%75) ve kadınlarda (91,7) daha fazladır. Erkeklerin %58,8'inin hafta içi ve hafta sonu öğün saatlerinin düzenli olmadığı, kadınların ise %60'ının hafta sonu düzenli olmadığı görülmektedir. Her iki grupta da genel beslenmelerini orta olarak değerlendiren bireylerin sayısı daha fazladır. Bireylerin cinsiyetlerine göre genel beslenme alışkanlıkları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 4.4. Bireylerin Cinsiyetlerine Göre Genel Beslenme Alışkanlıkları

Beslenme Alışkanlıkları	Erkek (n=20)		Kadın (n=20)		p**
Ana öğün sayısı ($\bar{x} \pm SD$)	2,6 $\pm$ 0,50		2,6 $\pm$ 0,51		0,757
Ara öğün sayısı ($\bar{x} \pm SD$)	1,8 $\pm$ 0,80		1,9 $\pm$ 0,68		0,579
Öğün Atlama Durumu	S	%	S	%	
Hayır	8	40,0	8	40,0	
Evet	8	40,0	7	35,0	
Bazen	4	20,0	5	25,0	
$X^2=0,178^* p>0,05$					
Atlanan Öğünler	S	%	S	%	
Sabah	1	8,3	0	0,0	
Öğle	9	75,0	11	91,7	
Akşam	2	16,7	1	8,3	
$X^2=1,926^* p>0,05$					
Öğün Saat Düzeni					
Hafta içi	S	%	S	%	
Düzensiz	10	58,8	8	40,0	
Düzenli	7	41,2	12	60,0	
$X^2=1,303^* p>0,05$					
Hafta sonu	S	%	S	%	
Düzensiz	10	58,8	12	60,0	
Düzenli	7	41,2	8	40,0	
$X^2=0,005^* p>0,05$					
Multivitamin Kullanımı	S	%	S	%	
Hayır	16	94,1	16	80,0	
Evet	1	5,9	4	20,0	
$X^2=1,684^* p>0,05$					
Diyet Uygulama Durumu	S	%	S	%	
Evet	0	0,0	1	5,0	
Hayır	20	100,0	19	95,0	
$X^2=1,412^* p>0,05$					
Beslenme Değerlendirme Durumu	S	%	S	%	
İyi	3	17,6	3	15,0	
Orta	7	41,2	12	60,0	
Kötü	5	29,4	4	20,0	
Çok kötü	2	11,8	1	5,0	
$X^2=1,539^* p>0,05$					

* Ki-kare testi

** t testi

Bireylerin günlük su, diğer sıvı ve toplam sıvı tüketim miktarları Tablo 4.5’de verilmiştir. Buna göre erkeklerin günlük su tüketimi (1297,1 $\pm$ 838,80 mL) kadınlara (992,5 $\pm$ 496,64 mL) kıyasla daha fazladır. Ancak gruplar arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 4.5. Bireylerin Cinsiyetlerin Göre Sıvı Tüketim Durumları

Sıvı Tüketim Durumu	Erkek (n=17)	Kadın (n=20)	p^*
	($\bar{x}\pm SD$)	($\bar{x}\pm SD$)	
Günlük Su Tüketimi (mL/gün)	1297,1 $\pm$ 838,80	992,5 $\pm$ 496,64	0,180
Diğer Sıvı Tüketimi (mL/gün)	819,7 $\pm$ 567,24	734,5 $\pm$ 188,63	0,561
Toplam Sıvı Tüketimi (mL/gün)	2116,8$\pm$938,05	1727,0$\pm$498,88	0,116

* t testi

Bireylerin fiziksel aktivite durumları Tablo 4.6’da değerlendirilmiştir. Her iki grupta da düzenli egzersiz yapmayan bireylerin oranı daha fazladır ($p>0,05$). Ortalama egzersiz süresinin erkeklerde (33,3 $\pm$ 5,77 dk) ve kadınlarda (34,0 $\pm$ 6,52 dk) benzer olduğu görülmektedir ($p>0,05$).

Tablo 4.6. Bireylerin Cinsiyetlerine Göre Fiziksel Aktivite Durumları

Fiziksel Aktivite Durumu	Erkek (n=20)		Kadın (n=20)		p^{**}
Egzersiz Yapma Durumu	S	%	S	%	
Hayır	17	85,0	15	75,0	
Evet	3	15,0	5	25,0	
$X^2=0,630^* p>0,05$					
Egzersiz Türü	S	%	S	%	
Yürüyüş	3	15,0	5	25,0	
Egzersiz Süresi (dk) ($\bar{x}\pm SD$)	33,3$\pm$5,77		34,0$\pm$6,52		0,889

* Ki-kare testi

** t testi

Tablo 4.7’de bireylerin vücut ağırlığı değişimi ve değerlendirme durumları ile ilgili bilgiler yer almaktadır. Kadınlarda erkeklere göre son 6 ayda vücut ağırlığındaki artış ve azalma daha fazladır ($p>0,05$). Vücut ağırlıklarının değerlendirmeleri sorulduğunda erkeklerin %76,5’i ve kadınların %50’si şişman cevabını vermişlerdir ($p>0,05$).

Tablo 4.7. Bireylerin Cinsiyetlerine Göre Vücut Ağırlığı Değişimi ve Değerlendirme Durumları

	Erkek (n=20)		Kadın (n=20)		p^{**}
Son 6 ayda vücut ağırlığı değişimi	S	%	S	%	
Hayır	4	20,0	9	45,0	
Evet	12	60,0	11	55,0	
Bilmiyorum	4	20,0	0	0,0	
$X^2=3,160^* p>0,05$					
Vücut Ağırlığı Değişimi (kg)	S	($\bar{x}\pm SD$)	S	($\bar{x}\pm SD$)	
Artış	5	5,00 $\pm$ 2,12	2	6,25 $\pm$ 1,77	0,500
Azalma	7	4,93 $\pm$ 2,59	8	5,25 $\pm$ 3,28	0,838
Vücut Ağırlığı Değerlendirme	S	%	S	%	
Normal	3	17,6	6	30,0	
Şişman	13	76,5	10	50,0	
Çok şişman	1	5,9	4	20,0	
$X^2=3,096^* p>0,05$					

* Ki-kare testi

** t testi

4.3. Antropometrik Ölçümlerin Değerlendirilmesi

Çalışmaya katılan erkek ve kadınların BKİ sınıflamasına göre dağılımı Tablo 4.8’de verilmiştir. Her iki grupta da zayıf birey bulunmamaktadır. 1. dereceden obez olan bireyler erkek ve kadınlarda %40 (n=8) ile en yüksek orandadır ($p>0,05$).

Tablo 4.8. Bireylerin Cinsiyetlerine Göre BKİ Dağılımları

BKİ Sınıflaması	Erkek		Kadın	
	S	%	S	%
Normal	2	10,0	1	5,0
Hafif şişman	4	20,0	5	25,0
Obez I. sınıf	8	40,0	8	40,0
Obez II. sınıf	5	25,0	3	15,0
Morbid obez	1	5,0	3	15,0
$X^2=2,003^* p>0,05$				

* Ki-kare testi

Bireylerin cinsiyetlerine göre antropometrik ölçümlerinin ortalama, standart sapma ve alt-üst değerleri Tablo 4.9’da verilmiştir.

Tablo 4.9. Bireylerin Cinsiyetlerine Göre Antropometrik Ölçümlerinin Ortalama, Standart Sapma ve Alt-Üst Değerleri

Antropometrik Ölçümler	Erkek (n=20)		Kadın (n=20)	
	($\bar{x} \pm SD$)	Alt-Üst	($\bar{x} \pm SD$)	Alt-Üst
Beden kütle indeksi (kg/m ²)	32,4±4,69	23,3-40,4	33,2±6,12	21,4-43,9
Bel çevresi (cm)	110,2±11,70	85,0-131,0	103,5±13,78	77,0-127,0
Kalça çevresi (cm)	113,0±6,88	99,0-126,0	117,0±12,24	100,0-136,0
Bel/kalça oranı (cm)	1,0±0,06	0,85-1,1	0,9±0,07	0,8-1,0
Boyun çevresi (cm)	44,2±3,53	38,0-51,0	39,5±3,78	32,0-47,5
Bazal metabolik hız (kkal)	1944,6±268,87	1621,0-2710,0	1493,7±184,35	1153,0-1882,0
Vücut yağ yüzdesi	31,2±6,78	14,5-42,5	40,4±6,42	28,6-49,3
Yağsız vücut yüzdesi	68,8±6,78	57,5-85,8	59,6±6,42	50,7-71,4

Bireylerin antropometrik ölçümleri ve diyetle aldıkları günlük toplam kafein miktarı arasındaki korelasyon incelenmiş ancak istatistiksel açıdan önemli farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$). Cinsiyete göre korelasyon incelendiğinde kadınlarda diyetle alınan günlük toplam kafein miktarı ile bel/kalça oranı arasında ($r=0,481$; $p=0,032$) pozitif korelasyon saptanmıştır (EK 6) (Bkz. Ek Şekil 1.).

4.4.Bireylere ait Biyokimyasal Bulgular

Tablo 4.10’da tüm bireylerin kan biyokimyasal bulguları Ankara Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya Laboratuvarı’nın referans değerleri ile karşılaştırılmıştır. Bireylerin çoğunluğunun ALT, AST, LDL kolesterol, total kolesterol ve trigliserit düzeyinin referans değerin üzerinde olduğu görülmektedir. Bireylerin %89,3’ünde HDL kolesterol düzeyi referans değerin altındadır.

Bireylerin BKİ sınıflamasına göre biyokimyasal parametrelerinin ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 4.11’de verilmiştir. Çalışmaya katılan tüm bireylerin BKİ sınıflamasına göre biyokimyasal bulguları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

Bireylerin HOMA-IR değerlerinin gruplandırılmasına göre biyokimyasal bulgularının ortalama, standart sapma ve alt-üst değerleri Tablo 4.12’de verilmiştir. HOMA-IR<3,87 ve HOMA-IR $\geq$ 3,87 olan gruplar arasında LDL kolesterol düzeyi bakımından anlamlı farklılık saptanmıştır ($p<0,05$).

Tablo 4.10. Bireylerin Biyokimyasal Bulgularının Ortalama, Standart Sapma, Alt-Üst Değerleri ve Referans Değerlerle Karşılaştırılması

Biyokimyasal Bulgular	(x±SD)	Referans		Referans	
		Alt-Üst	Değerin Altı	Değerin Üstü	Referans Değerler
		S	%	S	%
ALT (U/L)	90,0±47,25	-	-	32,00	84,20
AST (U/L)	51,7±23,37	-	-	28,00	73,70
GGT (U/L)	Erkek	75,2±22,84	-	8,00	42,10
	Kadın	74,1±95,00	-	10,00	55,60
ALP (U/L)	82,3±36,37	1	2,7	2,00	5,40
Kreatinin (mg/dL)	Erkek	0,9±0,14	1	5,3	0,00
	Kadın	0,7±0,8	0	0,0	0,00
HDL-Kolesterol (mg/dL)	46,8±11,35	25	89,3	-	>60
LDL-Kolesterol (mg/dL)	129,9±46,48	-	-	22,00	81,50
Total Kolesterol (mg/dL)	220,2±45,97	-	-	17,00	63,00
Trigliserit (mg/dL)	219,8±211,36	-	-	15,00	53,60
Total bilirubin (mg/dL)	0,8±0,39	0	0,0	5,00	13,50
Direkt bilirubin (mg/dL)	0,3±0,13	-	-	3,00	8,10
Açlık plazma glükozu (mg/dL)	108,3±31,60	1	2,6	18,00	47,40
Açlık insülin (µIU/ml)	22,1±19,90	-	-	7,00	21,90
HOMA-IR	6,2±5,78	-	-	-	-

Tablo 4.11. Bireylerin BKİ Sınıflamasına Göre Biyokimyasal Bulgularının Ortalama ve Standart Sapma Değerleri

Biyokimyasal Bulgular	Normal (n=3) ($\bar{x} \pm SD$)	Hafif şişman (n=9) ($\bar{x} \pm SD$)	BKİ Sınıflaması			p*
			Obez I. Sınıf (n=14) ($\bar{x} \pm SD$)	Obez II. Sınıf (n=8) ($\bar{x} \pm SD$)	Morbid Obez (n=4) ($\bar{x} \pm SD$)	
ALT (U/L)	92,0 $\pm$ 44,30	87,4 $\pm$ 52,84	97,9 $\pm$ 51,44	83,5 $\pm$ 35,54	79,5 $\pm$ 61,52	0,949
AST (U/L)	37,7 $\pm$ 5,77	58,4 $\pm$ 33,81	53,1 $\pm$ 20,42	47,8 $\pm$ 18,98	50,3 $\pm$ 25,05	0,734
GGT (U/L)	77,0 $\pm$ 24,75	111,1 $\pm$ 128,14	61,0 $\pm$ 20,94	66,9 $\pm$ 30,62	47,7 $\pm$ 18,71	0,449
ALP (U/L)	91,7 $\pm$ 22,18	85,0 $\pm$ 41,87	82,8 $\pm$ 23,41	76,9 $\pm$ 10,39	77,0 $\pm$ 27,22	0,929
Kreatinin (mg/dL)	0,8 $\pm$ 0,12	0,8 $\pm$ 0,10	0,8 $\pm$ 0,20	0,8 $\pm$ 0,15	0,7 $\pm$ 0,12	0,767
HDL-Kolesterol (mg/dL)	49,5 $\pm$ 0,70	51,3 $\pm$ 15,29	44,4 $\pm$ 12,07	47,4 $\pm$ 11,43	44,8 $\pm$ 5,90	0,812
LDL-Kolesterol (mg/dL)	143,0 $\pm$ 14,14	112,2 $\pm$ 33,01	130,6 $\pm$ 62,57	128,2 $\pm$ 23,59	157,0 $\pm$ 48,38	0,755
Total Kolesterol (mg/dL)	223,0 $\pm$ 19,79	196,0 $\pm$ 42,71	237,5 $\pm$ 52,38	209,2 $\pm$ 29,10	221,7 $\pm$ 59,93	0,504
Trigliserit (mg/dL)	153,5 $\pm$ 26,16	163,5 $\pm$ 86,80	309,8 $\pm$ 311,20	194,6 $\pm$ 98,13	121,5 $\pm$ 26,24	0,496
Total bilirubin (mg/dL)	0,7 $\pm$ 0,07	0,8 $\pm$ 0,32	0,9 $\pm$ 0,45	0,8 $\pm$ 0,32	1,0 $\pm$ 0,64	0,755
Direkt bilirubin (mg/dL)	0,3 $\pm$ 0,03	0,3 $\pm$ 0,11	0,3 $\pm$ 0,13	0,3 $\pm$ 0,15	0,3 $\pm$ 0,23	0,995
Açlık plazma glükozu (mg/dL)	84,7 $\pm$ 15,82	97,0 $\pm$ 29,71	114,1 $\pm$ 34,87	122,3 $\pm$ 30,45	103,3 $\pm$ 26,70	0,299
Açlık insülin (µIU/ml)	9,7 $\pm$ 0,31	13,2 $\pm$ 11,57	31,9 $\pm$ 29,00	18,9 $\pm$ 8,54	29,1 $\pm$ 7,68	0,198
HOMA-IR	2,0 $\pm$ 0,41	3,9 $\pm$ 5,42	9,3 $\pm$ 7,67	5,4 $\pm$ 2,25	6,5 $\pm$ 1,73	0,189

*ANOVA

Tablo 4.12. Bireylerin HOMA-IR Değerlerine Göre Biyokimyasal Bulgularının Ortalama, Standart Sapma ve Alt-Üst Değerleri

Biyokimyasal Bulgular	HOMA-IR					
	<3,87			≥3,87		
	S	($\bar{x}\pm$ SD)	Alt-Üst	S	($\bar{x}\pm$ SD)	Alt-Üst
ALT (U/L)	16	84,9±50,15	26,0-218,0	16	97,9±40,91	56,0-181,0
AST (U/L)	16	43,4±13,75	26,0-79,0	16	56,9±23,97	31,0-105,0
GGT (U/L)	16	64,2±28,80	25,0-129,0	16	66,7±34,39	29,0-154,0
ALP (U/L)	16	77,8±20,92	43,0-112,0	16	83,6±29,22	47,0-173,0
Kreatinin (mg/dL)	16	0,8±0,14	0,7-1,2	16	0,8±0,17	0,6-1,2
HDL-Kolesterol (mg/dL)	12	49,0±11,30	36,0-76,0	11	46,1±10,43	30,0-61,0
LDL-Kolesterol (mg/dL)	12	122,0±28,19	73,0-166,0	11	155,9±47,25	114,0-270,0
Total Kolesterol (mg/dL)	12	205,3±34,63	126,0-248,0	11	233,8±56,56	178,0-373,0
Trigliserit (mg/dL)	12	172,2±80,87	80,0-317,0	11	160,9±60,82	81,0-269,0
Total bilirubin (mg/dL)	16	0,9±0,42	0,5-2,1	16	0,8±0,36	0,4-1,7
Direkt bilirubin (mg/dL)	16	0,3±0,12	0,2-0,7	16	0,3±0,14	0,1-0,6
Açlık plazma glükozu (mg/dL)	16	90,8±17,58	71,0-132,0	16	124,3±32,33	79,0-172,0
Açlık insülin (µIU/ml)	16	10,6±3,39	4,6-16,5	16	33,5±23,00	12,8-112,2

*t testi

4.5. Bireylerin Günlük Enerji ve Besin Ögesi Alımları

Bireylerin cinsiyetlerine göre günlük enerji ve besin ögesi alımlarının ortalama, standart sapma ve alt-üst değerleri Tablo 4.13’de verilmiştir. Protein (g/kg), kolesterol, E, B₆, B₁₂, C vitamini ve folik asit alımlarının erkeklerde kadınlara göre daha yüksek olduğu görülmektedir.

Bireylerin cinsiyetlerine göre günlük önerilen enerji ve besin ögesi gereksinimlerini karşılama dağılımları Tablo 4.14’de verilmiştir. Erkek ve kadın bireylerin enerji ve besin ögelerini çoğunlukla gereksinimlerinin üzerinde aldıkları görülmektedir.

Tablo 4.15’de erkek ve kadın bireylerin besin gruplarına göre günlük besin tüketim miktarlarının ortalama ve standart sapma değerleri verilmiştir.

Tablo 4.13. Bireylerin Cinsiyetlerine Göre Günlük Enerji ve Besin Ögesi Alımlarının Ortalama, Standart Sapma ve Alt-Üst Değerleri

Besin Ögesi Alımları	Erkek (n=20)		Kadın (n=20)	
	($\bar{x} \pm SD$)	Alt-Üst	($\bar{x} \pm SD$)	Alt-Üst
Enerji (kkal/kg)	46,2 $\pm$ 22,97	17,2-100,5	31,34 $\pm$ 8,93	18,3-52,1
Karbonhidrat (g)	529,2 $\pm$ 236,56	116,5-953,5	312,6 $\pm$ 89,34	159,4-478,3
Karbonhidrat (%)	52,3 $\pm$ 12,21	13,0-71,0	52,8 $\pm$ 7,17	36,0-68,0
Protein (g/kg)	1,75 $\pm$ 0,89	0,7-4,3	1,2 $\pm$ 0,48	0,5-2,7
Protein (%)	15,9 $\pm$ 4,25	12,0-29,0	15,8 $\pm$ 2,48	11,0-21,0
Yağ (g)	148,9 $\pm$ 72,42	38,3-284,0	84,9 $\pm$ 28,18	43,4-143,1
Yağ (%)	31,8 $\pm$ 9,12	17,0-58,0	31,3 $\pm$ 6,72	17,0-48,0
Lif (g)	53,5 $\pm$ 20,16	15,1-86,1	39,7 $\pm$ 11,24	18,9-60,1
ÇDYA (g)	33,8 $\pm$ 13,3	12,9-62,4	20,0 $\pm$ 8,42	7,9-41,6
ÇDYA (%)	7,6 $\pm$ 1,95	4,6-12,4	7,2 $\pm$ 2,01	3,1-11,6
TDYA (g)	50,9 $\pm$ 26,27	11,8-106,1	30,4 $\pm$ 8,91	14,0-46,2
TDYA (%)	10,9 $\pm$ 3,65	5,1-18,3	11,37 $\pm$ 2,94	5,6-17,7
DYA (g)	52,6 $\pm$ 34,49	9,5-130,9	28,0 $\pm$ 11,37	9,8-47,0
DYA (%)	11,0 $\pm$ 5,68	3,8-31,3	10,2 $\pm$ 3,35	3,9-17,0
Kolesterol (mg)	499,6 $\pm$ 322,25	73,1-1279,0	277,2 $\pm$ 119,51	81,2-591,6
A vitamini (µg)	2717,4 $\pm$ 1475,32	129,3-5081,0	1815,6 $\pm$ 674,59	714,5-3165,6
Karoten (mg)	10,2 $\pm$ 7,03	0,2-25,5	8,0 $\pm$ 3,74	2,6-16,7
E vitamini eşdeğeri (mg)	33,8 $\pm$ 15,36	8,1-69,0	21,2 $\pm$ 7,9	8,7-41,7
B ₁ vitamini (mg)	2,1 $\pm$ 0,92	0,5-4,1	1,5 $\pm$ 0,38	0,7-2,1
B ₂ vitamini (mg)	2,8 $\pm$ 1,17	0,9-5,2	1,9 $\pm$ 0,6	1,2-3,1
Niasin (mg)	59,7 $\pm$ 24,91	22,6-124,7	36,5 $\pm$ 11,84	17,3-69,6

Tablo 4.13. (Devam) Bireylerin Cinsiyetlerine Göre Günlük Enerji ve Besin Ögesi Alımlarının Ortalama ve Standart Sapma Değerleri

Besin Ögesi Alımları	Erkek (n=20)		Kadın (n=20)	
	($\bar{x} \pm SD$)	Alt-Üst	($\bar{x} \pm SD$)	Alt-Üst
B ₆ vitamini (mg)	2,8±1,25	0,9-5,7	1,9±0,59	1,1-3,2
B ₁₂ vitamini (µg)	8,3±6,7	0,7-27,8	3,6±1,84	1,1-8,7
Folik asit (µg)	686,4±251,51	119,5-1174,5	537,8±152,46	292,7-793,5
C vitamini (mg)	365,5±248,93	102,3-1178,9	255,2±107,98	79,7-471,4
K vitamini (µg)	248,5±190,35	24,8-816,4	229,3±162,56	70,3-726,7
Sodyum*(mg)	5443,1±2662,56	1091,4-12337,5	3655,1±921,57	2207,3-5962,5
Potasyum (mg)	5961,5±2399,36	1487,2-11068,4	4205,8±1113,52	2123,4-6311,9
Kalsiyum (mg)	1791,9±885,59	230,6-3961,6	1176,1±355,84	725,5-1963,2
Magnezyum (mg)	647,4±233,15	168,3-1123,7	445,8±114,11	250,5-673,4
Demir (mg)	25,1±9,33	8,4-50,0	16,9±4,26	9,4-24,5
Çinko (mg)	21,6±9,27	7,3-42,5	12,8±3,5	6,7-20,0

* Yemeklere eklenen tuzdan gelen sodyumu içermemektedir.

Tablo 4.14. Bireylerin Cinsiyetlerine Göre Günlük Önerilen Enerji ve Besin Ögesi Gereksinimlerini Karşılama Dağılımları

Besin Ögesi	Erkek			Kadın		
	GAD Altı S	%	GAD Üstü S %	GAD Altı S	%	GAD Üstü S %
Enerji (kkal/kg)	8	40,0	12 60,0	12	60,0	8 40,0
Karbonhidrat (%)	11	55,0	9 45,0	12	60,0	8 40,0
Protein (g/kg)	1	5,0	17 85,0	3	15,0	13 65,0
Yağ (%)	1	5,0	10 50,0	1	5,0	12 60,0
Lif (g)	2	10,0	18 90,0	3	15,0	17 85,0
Çoklu doymamış yağ asitleri (g)	3	15,0	17 85,0	3	15,0	17 85,0
Doymuş yağ asitleri (g)	4	20,0	16 80,0	8	40,0	12 60,0
Kolesterol (mg)	7	35,0	13 65,0	13	65,0	7 35,0
A vitamini (µg)	2	10,0	18 90,0	0	0,0	20 100,0
E vitamini eşdeğeri (mg)	1	5,0	19 95,0	3	15,0	17 85,0
B ₁ vitamini (mg)	3	15,0	17 85,0	4	20,0	16 80,0
B ₂ vitamini (mg)	2	10,0	18 90,0	0	0,0	20 100,0
Niasin (mg)	0	0,0	20 100,0	16	80,0	20 100,0
B ₆ vitamini (mg)	2	10,0	18 90,0	1,3	6,5	17 85,0
B ₁₂ vitamini (µg)	2	10,0	18 90,0	2,4	12,0	15 75,0
Folik asit (µg)	4	20,0	16 80,0	400	2000	17 85,0
C vitamini (mg)	0	0,0	20 100,0	90	450	19 95,0
K vitamini (µg)	5	25,0	15 75,0	120	600	17 85,0
Sodyum** (mg)	2	10,0	18 90,0	2400	12000	19 95,0
Potasyum (mg)	2	10,0	18 90,0	3500	17500	14 70,0

*GAD: Güvenilir Alım Düzeyi

** Yemeklere eklenen tuzdan gelen sodyumu içermemektedir

Tablo 4.14. (Devam) Bireylerin Cinsiyetlerine Göre Günlük Önerilen Enerji ve Besin Ögesi Gereksinimlerini Karşılama Dağılımları

Besin Ögesi	Erkek					Kadın				
	GAD Altı S	%	GAD Üstü S	%	GAD	GAD Altı S	%	GAD Üstü S	%	GAD
Kalsiyum (mg)	3	15,0	17	85,0	1000	8	40,0	12	60,0	1000
Magnezyum (mg)	2	10,0	18	90,0	420	3	15,0	17	85,0	320
Demir (mg)	1	5,0	19	95,0	10	1	5,0	19	95,0	10
Çinko (mg)	2	10,0	18	90,0	11	5	25,0	15	75,0	10

*GAD: Güvenilir Alım Düzeyi

Tablo 4.15. Erkek ve Kadın Bireylerin Besin Gruplarına Göre Günlük Besin Tüketim Miktarlarının Ortalama ve Standart Sapma Değerleri

Besin Grubu (g)	Erkek (n=20) ($\bar{x} \pm SD$)	Kadın (n=20) ($\bar{x} \pm SD$)
Süt ve Süt Ürünleri	395,4 $\pm$ 284,12	250,0 $\pm$ 165,09
Et/Yumurta/Kurubaklagil	262,7 $\pm$ 173,18	131,3 $\pm$ 73,45
Kırmızı et	76,4 $\pm$ 102,30	22,0 $\pm$ 22,42
Tavuk/hindi	93,2 $\pm$ 109,29	57,3 $\pm$ 57,96
Balık	24,5 $\pm$ 32,94	11,0 $\pm$ 12,50
Yumurta	48,5 $\pm$ 34,57	30,0 $\pm$ 15,12
Kurubaklagil	28,3 $\pm$ 20,97	16,0 $\pm$ 14,48
Ekmek ve Tahıllar	619,5 $\pm$ 388,73	351,7 $\pm$ 173,85
Meyve	723,3 $\pm$ 382,29	522,0 $\pm$ 282,47
Sebze	468,2 $\pm$ 319,06	434,2 $\pm$ 169,41
Yağlar	49,3 $\pm$ 28,61	22,6 $\pm$ 14,28
Yağlı Tohumlar	60,6 $\pm$ 30,41	59,2 $\pm$ 32,04

4.6. Bireylerin Serum Protein Düzeyleri

Tablo 4.16’da bireylerin cinsiyetlerine göre serum protein düzeylerinin ortalama ve standart sapma değerleri verilmiştir. Buna göre erkek ve kadınlar arasında serum TNF-alfa, IL-6 ve CK18 proteinleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 4.16. Bireylerin Cinsiyetlerine Göre Serum Protein Düzeylerinin Ortalama ve Standart Sapma Değerleri

Serum Proteinleri	Erkek (n=17) ($\bar{x}\pm SD$)	Kadın (n=17) ($\bar{x}\pm SD$)	p^*
TNF-alfa (pg/mL)	4,2 $\pm$ 3,03	3,6 $\pm$ 2,89	0,513
IL-6 (pg/mL)	4,6 $\pm$ 2,37	4,3 $\pm$ 1,72	0,665
CK-18 (mU/mL)	214,7 $\pm$ 30,96	225,6 $\pm$ 12,01	0,185

* t testi

Bireylerin BKİ sınıflamasına göre serum proteinleri ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 4.17’de gösterilmiştir. Buna göre BKİ gruplarına göre serum TNF-alfa, IL-6 ve CK-18 düzeyleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 4.18’de bireylerin HOMA-IR değerlerine göre serum proteinleri ortalama, standart sapma ve alt-üst değerleri verilmiştir. Buna göre HOMA-IR gruplandırmasına göre serum TNF-alfa, IL-6 ve CK-18 düzeyleri arasında anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 4.17. Bireylerin BKİ Sınıflamasına Göre Serum Proteinleri Ortalama ve Standart Sapma Değerleri

Serum Proteinleri	BKİ Sınıflaması				p*
	Normal (n=2) ($\bar{x} \pm SD$)	Hafif şişman (n=7) ($\bar{x} \pm SD$)	Obez I. Sınıf (n=14) ($\bar{x} \pm SD$)	Obez II. Sınıf (n=7) ($\bar{x} \pm SD$)	
TNF-alfa (pg/mL)	3,0±1,49	3,8±1,24	4,4±3,58	4,4±3,65	0,657
IL-6 (pg/mL)	2,4±0,24	3,8±2,23	4,8±1,70	5,0±2,93	0,500
CK-18 (mU/mL)	216,6±15,77	203,4±39,35	222,7±21,69	227,9±5,06	0,298

*ANOVA

Tablo 4.18. Bireylerin HOMA-IR Değerlerine Göre Serum Proteinleri Ortalama, Standart Sapma ve Alt-Üst Değerleri

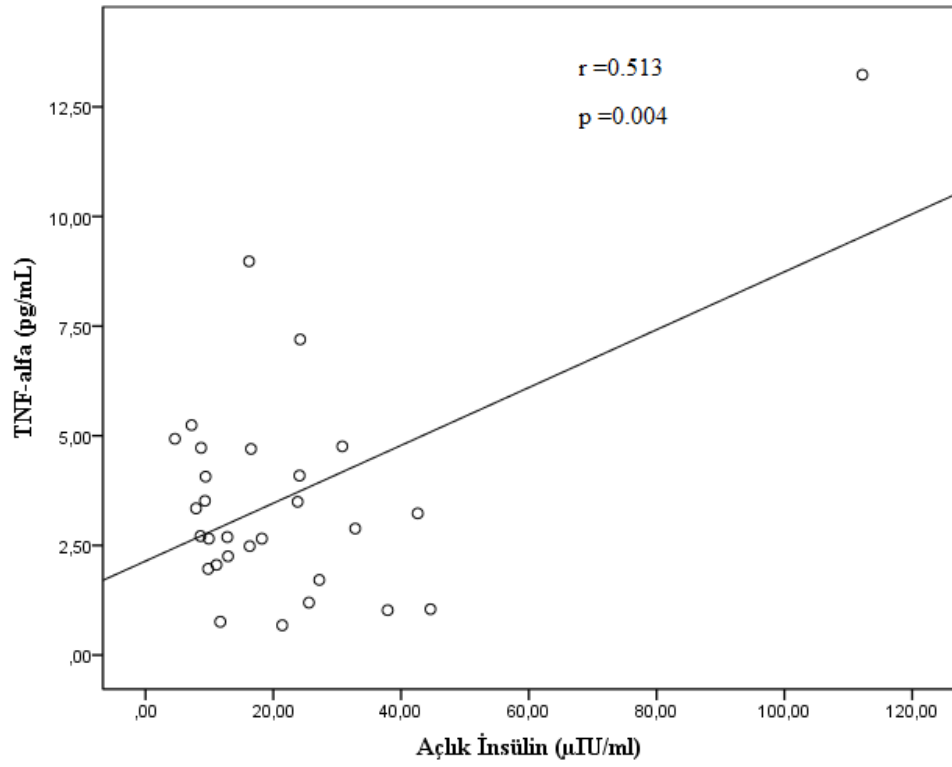
Serum Proteinleri	HOMA-IR					
	<3,87			≥3,87		
	S	($\bar{x} \pm SD$)	Alt-Üst	S	($\bar{x} \pm SD$)	Alt-Üst
TNF-alfa (pg/mL)	15	3,6±1,96	0,8-9,0	14	3,6±3,29	0,7-13,2
IL-6 (pg/mL)	15	3,9±1,88	2,2-8,8	14	5,0±2,31	2,7-11,4
CK-18 (mU/mL)	15	211,0±32,40	117,5-234,9	14	227,3±10,46	202,0-243,3

*t testi

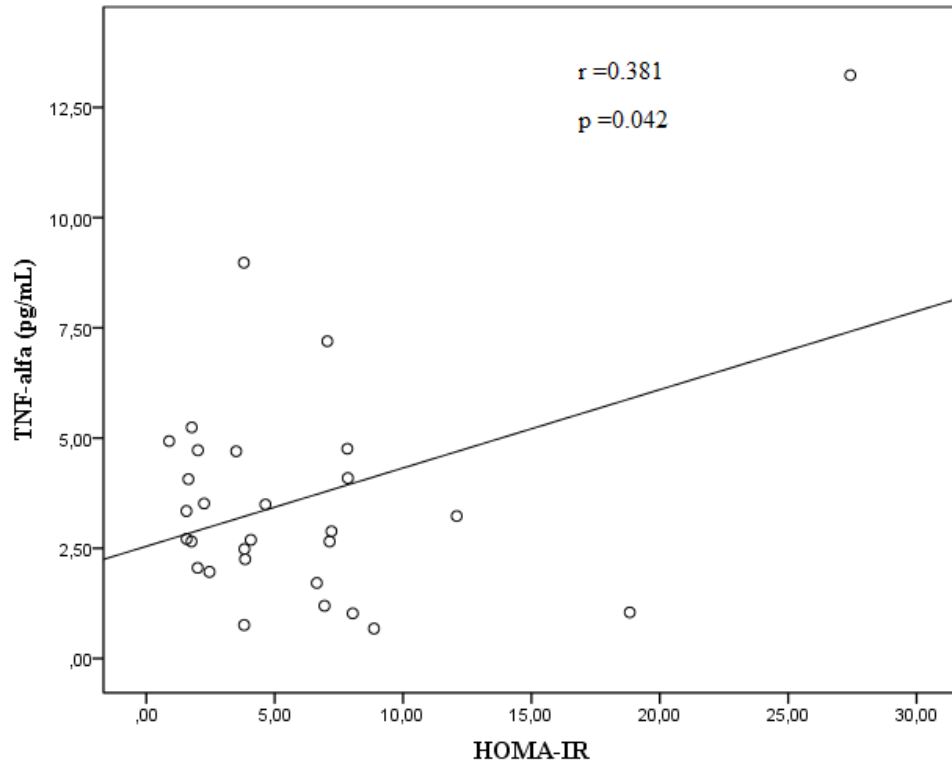
Bireylerin diyetle aldıkları günlük toplam kafein miktarları ve serum proteinleri arasındaki korelasyon incelenmiş ancak istatistiksel açıdan anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p>0,05$). Bireylerin serum protein düzeyleri ile antropometrik ölçümleri ve biyokimyasal bulguları arasındaki korelasyonlardan istatistiksel açıdan anlamlı olanlar Şekil 4.1-Şekil 4.6 arasındaki korelasyon grafiklerinde gösterilmiştir.

- Açlık insülin ile serum TNF-alfa düzeyleri arasında ($r=0,513$; $p=0,004$) (Şekil 4.1),
- HOMA-IR ile serum TNF-alfa düzeyleri arasında ($r=0,381$; $p=0,042$) (Şekil 4.2),
- Total bilirubin ve serum CK18 düzeyleri arasında ($r=-0,451$; $p=0,010$) (Şekil 4.3),
- Direkt bilirubin ve serum CK18 düzeyleri arasında ($r=-0,400$; $p=0,023$) (Şekil 4.4),
- Boyun çevresi ve serum IL-6 düzeyi arasında ($r=0,371$; $p=0,031$) (Şekil 4.5),
- Vücut yağ yüzdesi ve serum CK18 düzeyi arasında ($r=0,510$; $p=0,002$) (Şekil 4.6) kuvvetli korelasyon bulunmuştur.

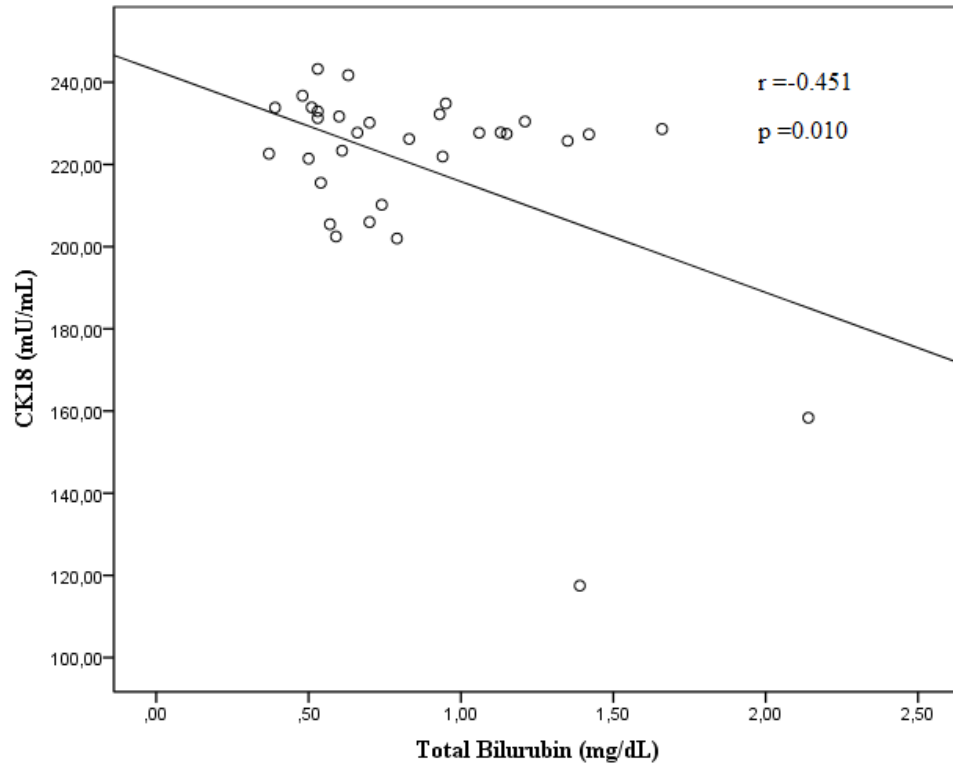
Cinsiyete göre korelasyon incelendiğinde erkeklerde serum CK18 düzeyi ile total bilirubin arasında ($r=-0,538$; $p=0,026$) (Bkz. Ek Şekil 2.), direkt bilirubin arasında ($r=-0,486$; $p=0,048$) (Bkz. Ek Şekil 3.), vücut yağ yüzdesi arasında ($r=0,538$; $p=0,026$) (Bkz. Ek Şekil 4.), serum TNF-alfa düzeyi ile açlık insülin arasında ($r=0,727$; $p=0,001$) (Bkz. Ek Şekil 5.), HOMA-IR arasında ($r=0,657$; $p=0,006$) (Bkz. Ek Şekil 6.) kuvvetli korelasyon saptanmıştır. Kadınlarda ise serum CK18 düzeyi ile vücut yağ yüzdesi arasında ($r=0,536$; $p=0,027$) (Bkz. Ek Şekil 7.), serum IL-6 düzeyi ile açlık insülin arasında ($r=0,633$; $p=0,020$) (Bkz. Ek Şekil 8.), HOMA-IR arasında ($r=0,855$; $p=0,000$) (Bkz. Ek Şekil 9.), boyun çevresi arasında ($r=0,561$; $p=0,019$) (Bkz. Ek Şekil 10.) kuvvetli korelasyon bulunmuştur (EK 6).



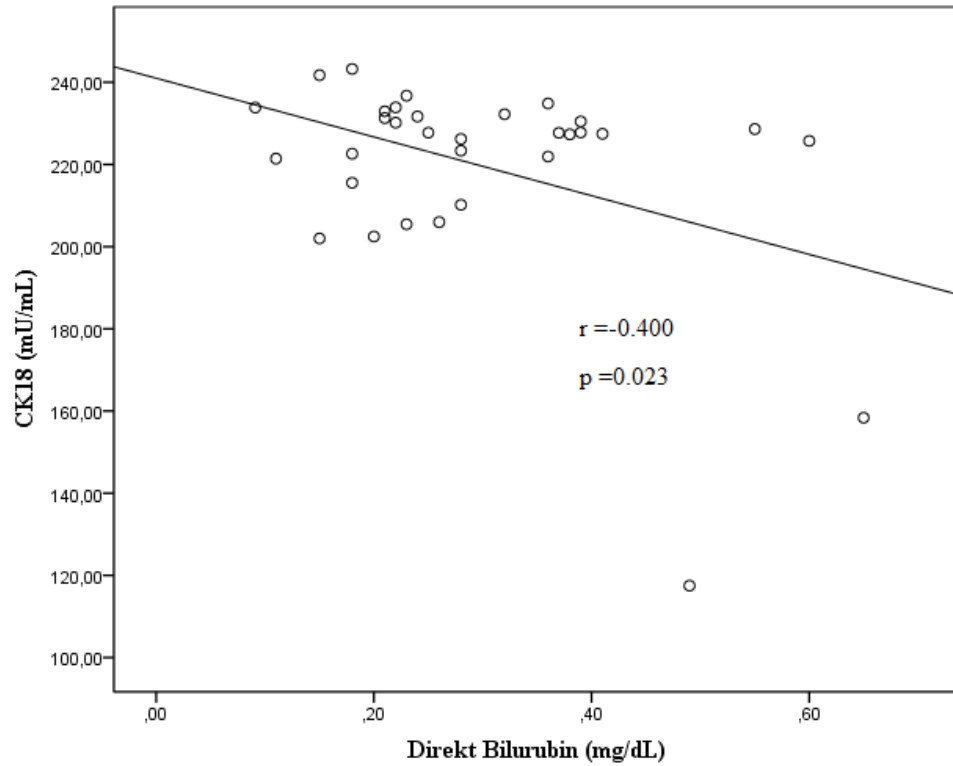
Şekil 4.1. Açlık İnsülin ile Serum TNF-alfa Düzeyleri Arasında Korelasyon Grafiği



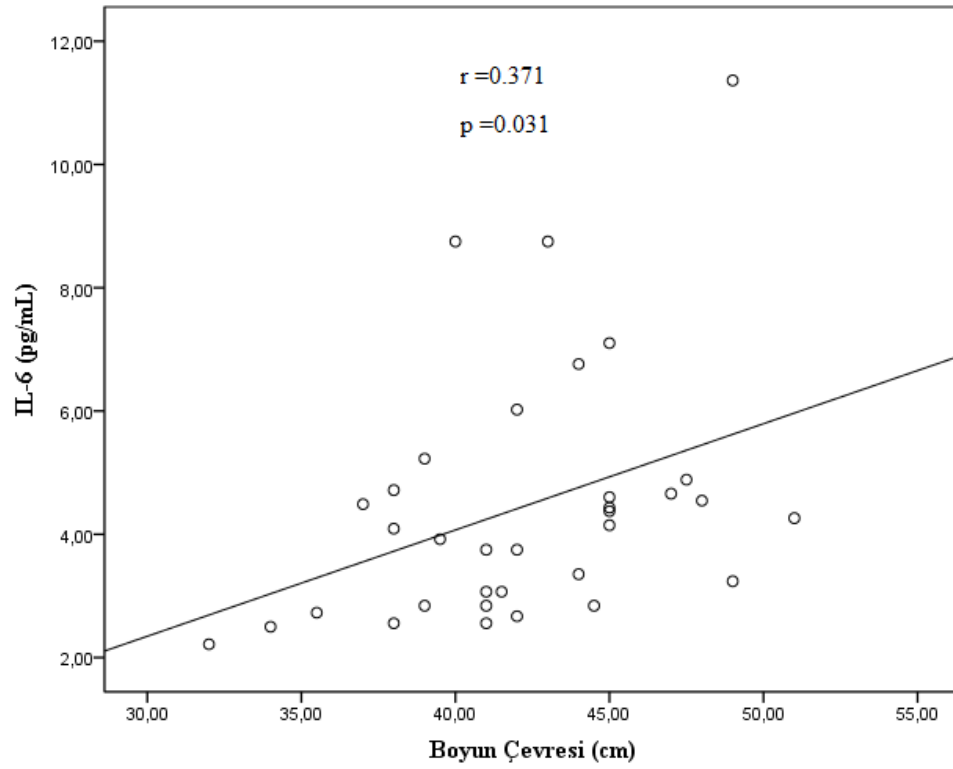
Şekil 4.2. HOMA-IR ile Serum TNF-alfa Düzeyleri Arasında Korelasyon Grafiği



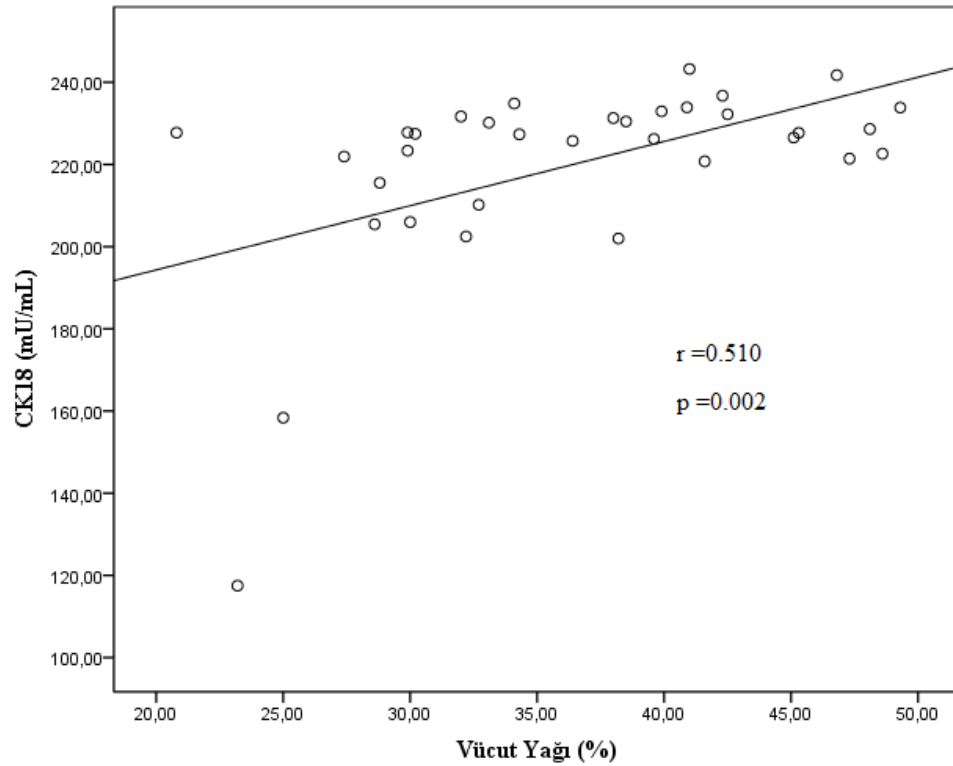
Şekil 4.3. Total Bilirubin ile Serum CK18 Düzeyleri Arasında Korelasyon Grafiği



Şekil 4.4. Direkt Bilirubin ile Serum CK18 Düzeyleri Arasında Korelasyon Grafiği



Şekil 4.5. Boyun Çevresi ile Serum IL-6 Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği



Şekil 4.6. Vücut Yağı (%) ile Serum CK18 Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği

4.7. Bireylerin Günlük Kafein Tüketimleri ve Çeşitli Faktörlerle İlişkisi

Bireylerin cinsiyetlerine göre günlük kafein alım kaynakları ve toplam kafein alım miktarlarının ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 4.19’da verilmiştir. Diyetle alınan günlük toplam kafein miktarı erkeklerde ($260,8 \pm 215,66$ mg) kadınlara ($211,2 \pm 126,33$ mg) göre daha yüksek bulunmuştur ($p > 0,05$). Hazır kahve ile alınan günlük kafein miktarının kadınlarda ($17,4 \pm 29,43$ mg) erkeklere ($5,8 \pm 11,92$ mg) kıyasla daha yüksek olduğu görülmektedir ($p > 0,05$). Siyah demleme çay ile alınan günlük kafein miktarı ise erkeklerde ($179,1 \pm 145,11$ mg) kadınlara ($139,4 \pm 59,29$ mg) göre daha yüksektir ($p > 0,05$).

Her iki grupta da kafein alımı çoğunlukla içeceklerle sağlanmıştır. Erkek ve kadınlarda ilk sıradaki kafein kaynağı siyah demleme çaydır. Erkeklerde espresso kahve çeşitleri, kadınlarda ise hazır kahve 2. sıradaki kafein kaynağıdır. Erkeklerde soğuk kahve, kadınlarda Türk kahvesi ise kafein kaynakları arasında 3. sırada yer almaktadır.

Tablo 4.19. Bireylerin Cinsiyetlerine Göre Günlük Kafein Alım Kaynakları ve Toplam Kafein Alım Miktarlarının Ortalama ve Standart Sapma Değerleri

Kafein Miktarı (mg/gün)	Erkek (n=17) ($\bar{x} \pm SD$)	Kadın (n=20) ($\bar{x} \pm SD$)	p^*
Toplam Kafein Alımı	260,8 $\pm$ 215,66	211,2 $\pm$ 126,33	0,391
Filtre kahve	4,4 $\pm$ 18,00	11,5 $\pm$ 51,64	0,589
Hazır kahve	5,8 $\pm$ 11,92	17,4 $\pm$ 29,43	0,120
Espresso kahve çeşitleri	22,4 $\pm$ 92,16	11,8 $\pm$ 52,89	0,667
Soğuk kahve	11,8 $\pm$ 48,51	0,0 $\pm$ 0,00	0,332
Türk kahvesi	10,7 $\pm$ 12,97	13,0 $\pm$ 24,80	0,732
Dibek kahvesi	0,0 $\pm$ 0,00	1,2 $\pm$ 5,17	0,364
Siyah demleme çay	179,1 $\pm$ 145,11	139,4 $\pm$ 59,29	0,304
Hazır siyah çay	3,9 $\pm$ 10,86	0,8 $\pm$ 2,44	0,258
Yeşil çay	1,2 $\pm$ 2,67	12,9 $\pm$ 26,85	0,068
Soğuk çay	6,8 $\pm$ 23,92	0,1 $\pm$ 0,23	0,261
Kolalı içecekler	5,8 $\pm$ 12,35	0,4 $\pm$ 1,28	0,094
Bitter çikolata	5,1 $\pm$ 10,96	1,7 $\pm$ 4,40	0,245
Sütlü çikolata	1,8 $\pm$ 3,30	0,2 $\pm$ 0,43	0,075
Fındıklı-Fıstıklı çikolata	0,1 $\pm$ 0,25	0,0 $\pm$ 0,00	0,332
Karamelli çikolata	0,1 $\pm$ 0,59	0,0 $\pm$ 0,00	0,332
Çikolatalı gofret	0,2 $\pm$ 0,50	0,0 $\pm$ 0,19	0,379
Sıcak çikolata	0,0 $\pm$ 0,02	0,0 $\pm$ 0,02	0,766
Çikolatalı süt	0,0 $\pm$ 0,04	0,0 $\pm$ 0,19	0,565
Kakao	0,3 $\pm$ 0,62	0,7 $\pm$ 2,54	0,496
Enerji içecekleri	1,4 $\pm$ 3,65	0,0 $\pm$ 0,00	0,131

* t testi

Bireylerin BKİ sınıflamasına göre toplam kafein alımlarının ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 4.20’de verilmiştir. Toplam kafein alımının en yüksek 1. dereceden obez (278,1 $\pm$ 217,87 mg) olan grupta olduğu görülmektedir. Toplam kafein alımı açısından BKİ sınıflamasına göre istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 4.20. Bireylerin BKİ Sınıflamasına Göre Toplam Kafein Alımlarının Ortalama ve Standart Sapma Değerleri

BKİ Sınıflaması	S	Toplam Kafein Alımı (mg/gün) ($\bar{x} \pm SD$)	<i>p</i> *
Normal	3	189,9 $\pm$ 35,82	0,589
Hafif şişman	8	213,8 $\pm$ 92,53	
Obez I. Sınıf	16	278,1 $\pm$ 217,87	
Obez II. Sınıf	7	156,8 $\pm$ 63,75	
Morbid obez	3	277,0 $\pm$ 302,89	
Total	37	234,0$\pm$172,40	

*ANOVA

Bireylerin kafein sınıflamasına göre antropometrik ölçümlerinin ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 4.21’de verilmiştir. Buna göre vücut yağ yüzdesinin kafein alım miktarı ≤ 150 mg/gün olan grupta 150-250 mg/gün olan gruba göre anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$).

Tablo 4.21. Bireylerin Kafein Sınıflamasına Göre Antropometrik Ölçümlerinin Ortalama ve Standart Sapma Değerleri

Antropometrik Ölçümler	Kafein Sınıflaması (mg/gün)			<i>p</i> *
	≤ 150 (n=13) ($\bar{x} \pm SD$)	150-250 (n=13) ($\bar{x} \pm SD$)	≥ 250 (n=11) ($\bar{x} \pm SD$)	
Beden kütle indeksi (kg/m²)	34,9 $\pm$ 5,44	30,2 $\pm$ 5,42	32,7 $\pm$ 4,51	0,086
Bel çevresi (cm)	110,3 $\pm$ 11,51	101,3 $\pm$ 13,94	108,6 $\pm$ 13,77	0,193
Kalça çevresi (cm)	120,0 $\pm$ 10,64	111,7 $\pm$ 9,65	113,0 $\pm$ 8,96	0,085
Bel/kalça çevresi (cm)	0,9 $\pm$ 0,95	0,9 $\pm$ 0,78	1,0 $\pm$ 0,58	0,251
Boyun çevresi (cm)	42,9 $\pm$ 4,34	40,2 $\pm$ 3,55	41,5 $\pm$ 4,62	0,252
Bazal Metabolik Hız (kkal)	1701,2 $\pm$ 244,90	1645,3 $\pm$ 348,45	1794,9 $\pm$ 400,09	0,551
Vücut yağı (%)	40,2 $\pm$ 6,63	31,9 $\pm$ 9,19	35,5 $\pm$ 6,71	0,032

*ANOVA

Bireylerin kafein sınıflamasına göre biyokimyasal bulgularının ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 4.22’de verilmiştir. ALT ve AST düzeylerinin kafein alım miktarı ≥ 250 mg/gün olan grupta diğer gruplara göre anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$). Bireylerin HDL kolesterol düzeyinin kafein alım miktarı 150-250 mg/gün olan grupta ≥ 250 mg/gün olan gruba kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur ($p < 0,05$).

Tablo 4.22. Bireylerin Kafein Sınıflamasına Göre Biyokimyasal Bulgularının Ortalama ve Standart Sapma Değerleri

Biyokimyasal Bulgular	Kafein Sınıflaması			p*
	≤150 ($\bar{x} \pm SD$)	150-250 ($\bar{x} \pm SD$)	≥250 ($\bar{x} \pm SD$)	
ALT (U/L)	81,2±42,24	80,1±30,62	124,1±60,44	0,048
AST (U/L)	49,4±20,44	44,9±19,90	68,4±26,62	0,047
GGT (U/L)	55,7±23,65	72,1±34,19	99,4±119,70	0,345
ALP (U/L)	74,6±19,31	90,6±31,21	85,2±29,66	0,352
Kreatinin (mg/dL)	0,8±0,18	0,8±0,14	0,7±0,18	0,453
HDL-Kolesterol (mg/dL)	46,3±10,56	55,0±10,14	38,9±10,37	0,022
LDL-Kolesterol (mg/dL)	139,9±53,43	131,4±21,89	106,1±49,47	0,315
Total Kolesterol (mg/dL)	217,8±64,82	215,9±22,74	220,1±37,20	0,985
Trigliserit (mg/dL)	172,2±63,91	147,9±74,41	372,6±383,62	0,085
Total bilirubin (mg/dL)	0,7±0,34	0,9±0,46	0,9±0,38	0,334
Direkt bilirubin (mg/dL)	0,3±0,15	0,3±0,12	0,3±0,13	0,218
Açlık plazma glukozu (mg/dL)	123,6±34,77	111,1±32,63	92,7±18,10	0,066
Açlık insülin (μIU/ml)	22,2±13,23	22,9±29,59	23,0±11,61	0,995
HOMA-IR	7,0±5,20	6,6±7,91	5,2±2,48	0,836

*ANOVA

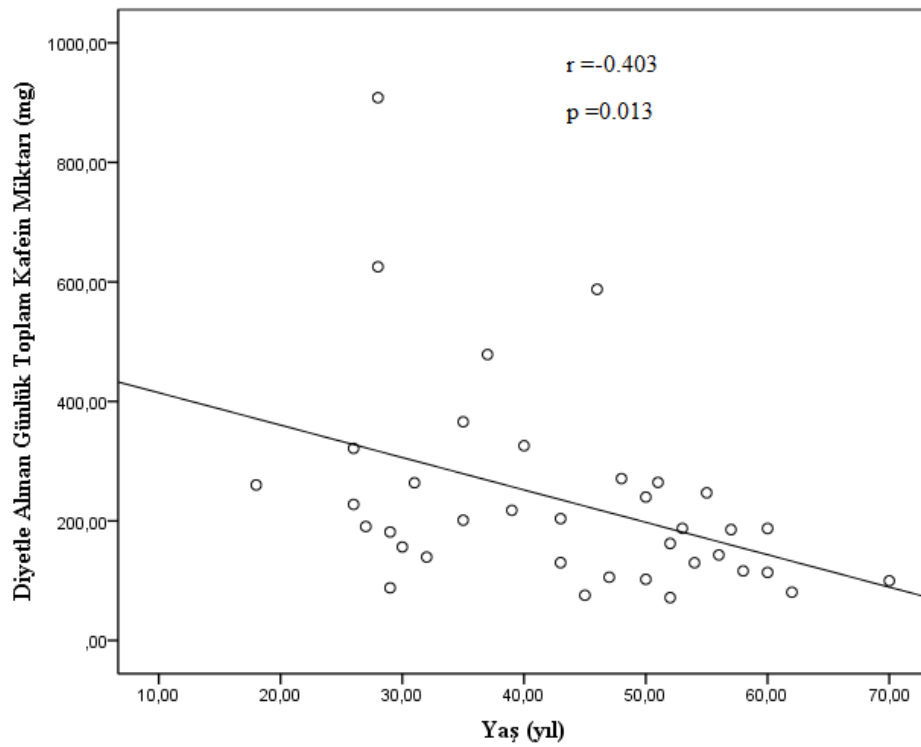
Bireylerin kafein alım miktarlarının sınıflandırılmasına göre serum proteinleri ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 4.23’de verilmiştir. Buna göre kafein alım miktarları farklı olan gruplar arasında TNF-alfa, IL-6 ve CK-18 düzeyi arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p > 0,05$).

Tablo 4.23. Bireylerin Kafein Alım Miktarlarının Sınıflamasına Göre Serum Proteinleri Ortalama ve Standart Sapma Değerleri

Serum Proteinleri	Kafein Sınıflaması (mg/gün)			p*
	≤150 ($\bar{x} \pm SD$)	150-250 ($\bar{x} \pm SD$)	≥250 ($\bar{x} \pm SD$)	
TNF-alfa (pg/mL)	3,6±2,89	3,8±3,56	4,9±2,86	0,662
IL-6 (pg/mL)	5,4±2,64	3,4±1,06	4,4±1,65	0,084
CK-18 (mU/mL)	228,0±9,70	205,5±37,95	223,7±13,40	0,080

*ANOVA

Şekil 4.7’de bireylerin diyetle aldıkları günlük toplam kafein miktarı ile yaşları arasındaki ilişki gösterilmektedir. Buna göre diyetle alınan günlük toplam kafein miktarı ile yaş arasında ($r=-0,403$; $p=0,013$) negatif korelasyon saptanmıştır. Cinsiyete göre korelasyon incelendiğinde kadınlarda diyetle alınan günlük toplam kafein miktarı ile yaş arasında ($r=-0,599$; $p=0,005$) kuvvetli negatif korelasyon saptanmış (EK 6) (Bkz. Ek Şekil 11.), erkeklerde istatistiksel açıdan anlamlı korelasyon bulunmamıştır ($p>0,05$).



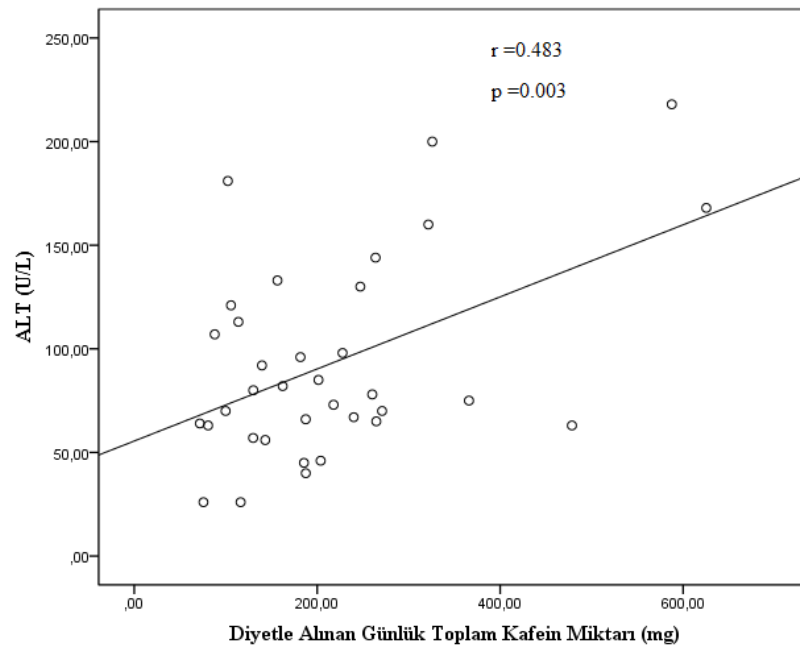
Şekil 4.7. Yaş ile Diyetle Alınan Günlük Toplam Kafein Miktarı Arasında Korelasyon Grafiği

Bireylerin diyetle aldıkları günlük toplam kafein miktarı ile biyokimyasal bulguları arasındaki korelasyonlardan istatistiksel açıdan anlamlı olanlar Şekil 4.8-Şekil 4.10 arasındaki korelasyon grafiklerinde gösterilmiştir.

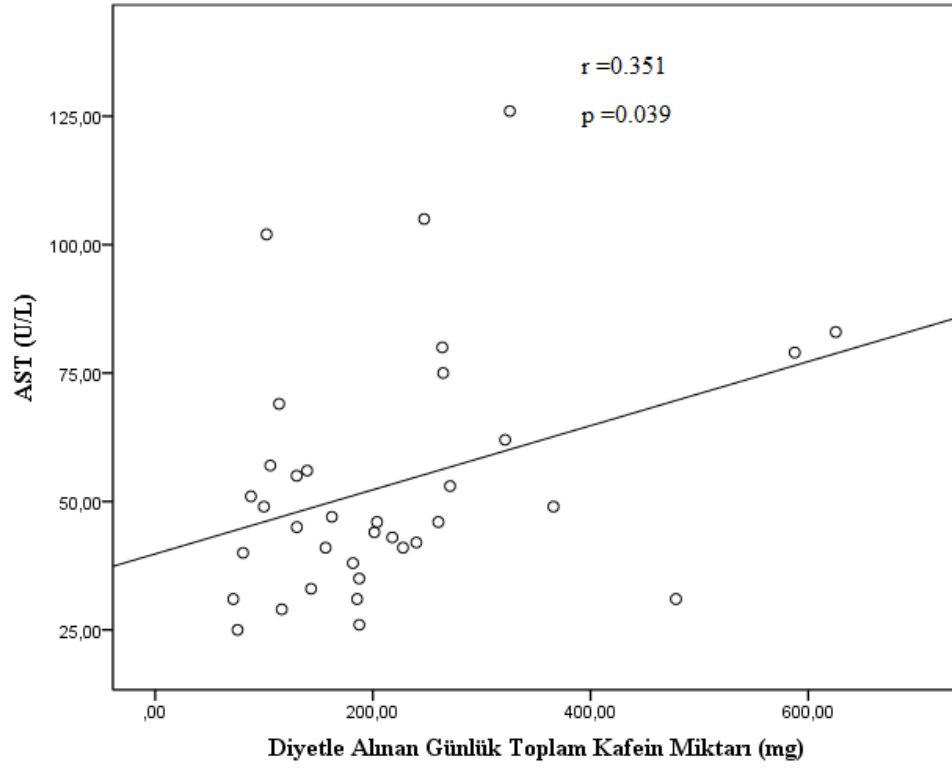
- Diyetle alınan günlük toplam kafein miktarı ile ALT düzeyi arasında ($r=0,483$; $p=0,003$) (Şekil 4.8),
- Diyetle alınan günlük toplam kafein miktarı ile AST düzeyi arasında ($r=0,351$; $p=0,039$) (Şekil 4.9),

- Diyetle alınan günlük toplam kafein miktarı ile açlık plazma glikozu arasında ($r=-0,387$; $p=0,022$) (Şekil 4.10) korelasyon saptanmıştır.

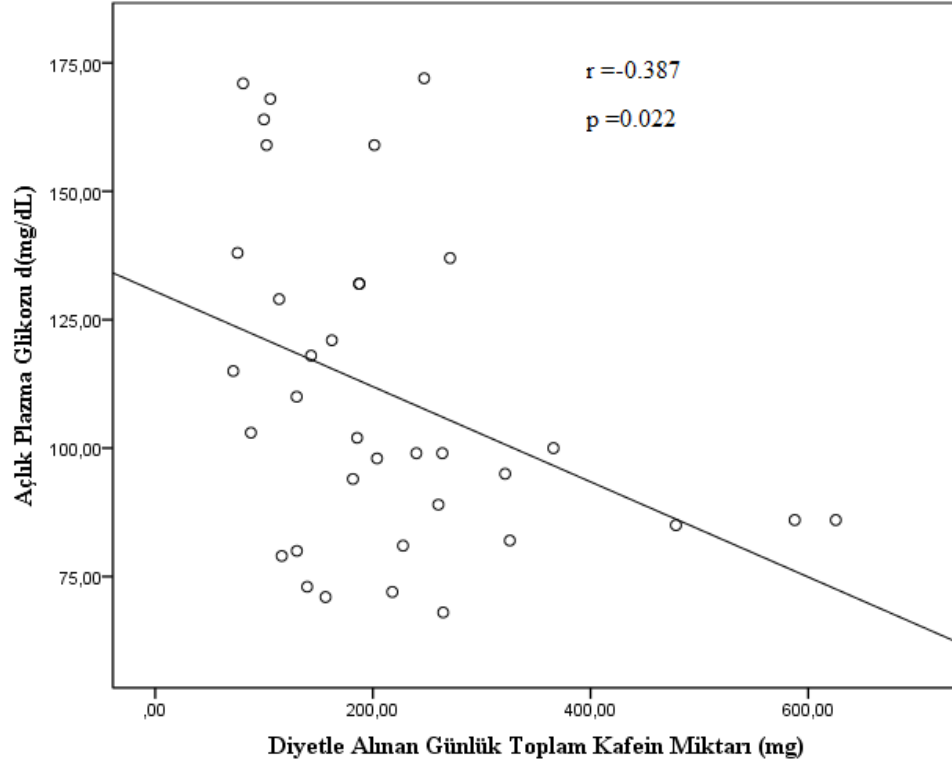
Cinsiyete göre korelasyon incelendiğinde erkeklerde diyetle alınan günlük toplam kafein miktarı ile LDL düzeyi arasında ($r=-0,605$; $p=0,037$) (Bkz. Ek Şekil 12.) negatif, trigliserit düzeyi arasında ($r=0,754$; $p=0,005$) (Bkz. Ek Şekil 13.) pozitif kuvvetli korelasyon saptanmıştır. Kadınlarda ise diyetle alınan günlük toplam kafein miktarı ile ALT düzeyi arasında ($r=0,507$; $p=0,027$) (Bkz. Ek Şekil 14.), total bilirubin düzeyi arasında ($r=0,694$; $p=0,001$) (Bkz. Ek Şekil 15.), direkt bilirubin arasında ($r=0,594$; $p=0,009$) (Bkz. Ek Şekil 16.) pozitif, açlık plazma glikozu arasında ($r=-0,480$; $p=0,038$) (Bkz. Ek Şekil 17.) negatif kuvvetli korelasyon bulunmuştur (EK 6).



Şekil 4.8. Diyetle Alınan Günlük Toplam Kafein Miktarı ile ALT Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği



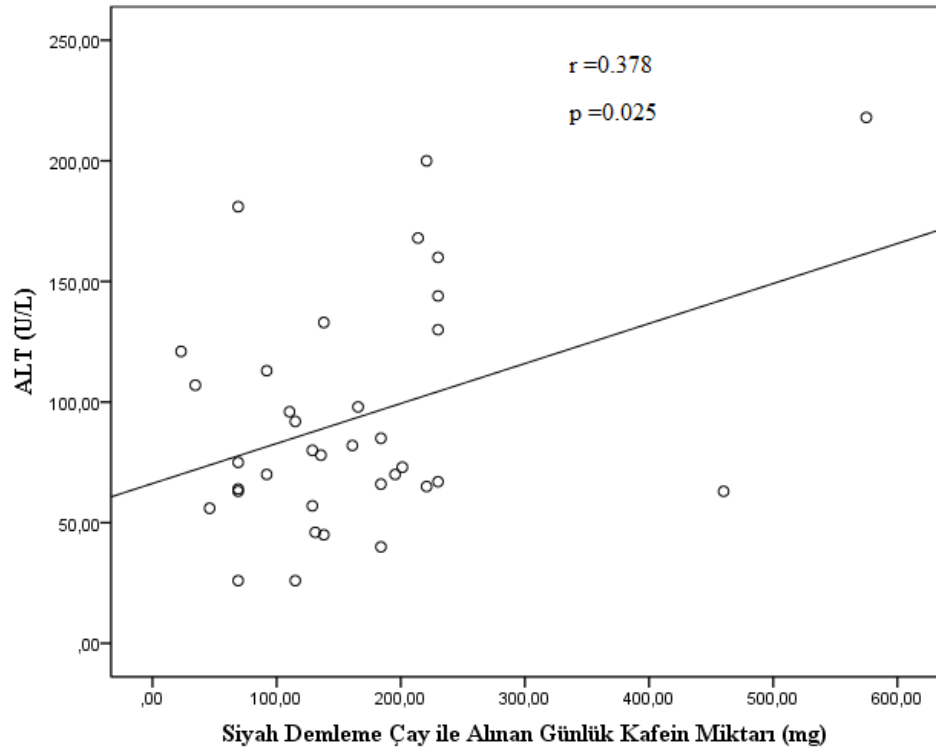
Şekil 4.9. Diyetle Alınan Günlük Toplam Kafein Miktarı ile AST Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği



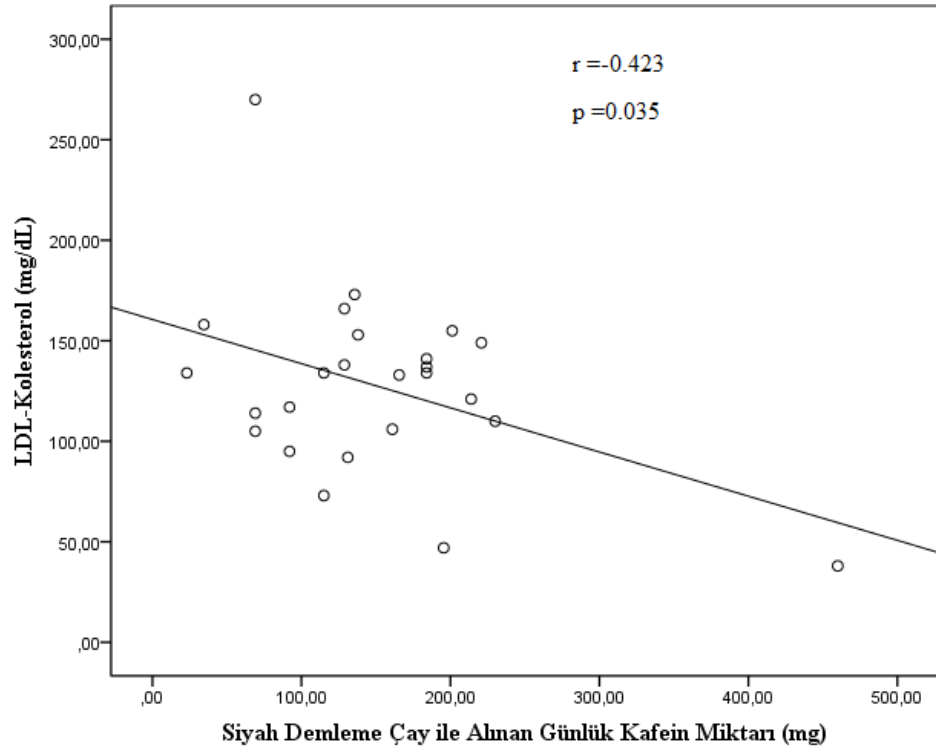
Şekil 4.10. Diyetle Alınan Günlük Toplam Kafein Miktarı ile Açlık Plazma Glukozu Arasında Korelasyon Grafiği

Bireylerin kafein kaynaklarına göre günlük aldıkları kafein miktarı ile serum proteinleri ve biyokimyasal bulgular arasındaki korelasyonlardan istatistiksel açıdan anlamlı olanlar Şekil 4.11-Şekil 4.20 arasındaki korelasyon grafiklerinde gösterilmiştir.

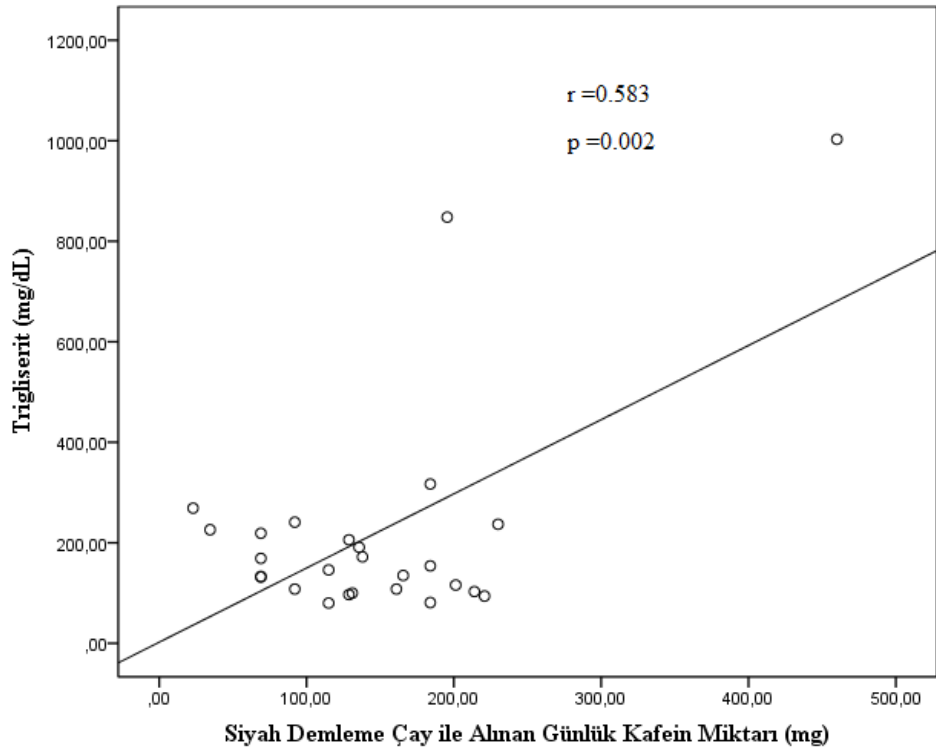
- Siyah demleme çay ile alınan günlük kafein miktarı ve ALT düzeyi arasında ($r=0,378$; $p=0,025$) (Şekil 4.11), LDL kolesterol düzeyi arasında ($r=-0,423$; $p=0,035$) (Şekil 4.12), trigliserit düzeyi arasında ($r=0,583$; $p=0,002$) (Şekil 4.13),
- Hazır kahve ile alınan günlük kafein miktarı ve GGT düzeyi arasında ($r=0,508$; $p=0,002$) (Şekil 4.14), total bilirubin düzeyi arasında ($r=-0,352$; $p=0,041$) (Şekil 4.15),
- Kolalı içecekler ile alınan günlük kafein miktarı ve kreatinin düzeyi arasında ($r=0,412$; $p=0,014$) (Şekil 4.16),
- Bitter çikolata ile alınan günlük kafein miktarı ve HDL kolesterol düzeyi arasında ($r=0,418$; $p=0,033$) (Şekil 4.17), serum CK18 düzeyi arasında ($r=-0,420$; $p=0,019$) (Şekil 4.18),
- Sütlu çikolata ile alınan günlük kafein miktarı ve total kolesterol düzeyi arasında ($r=-0,406$; $p=0,044$) (Şekil 4.19),
- Çikolatalı gofret ile alınan günlük kafein miktarı ve serum IL-6 düzeyi arasında ($r=0,755$; $p=0,000$) (Şekil 4.20) kuvvetli korelasyon saptanmıştır.



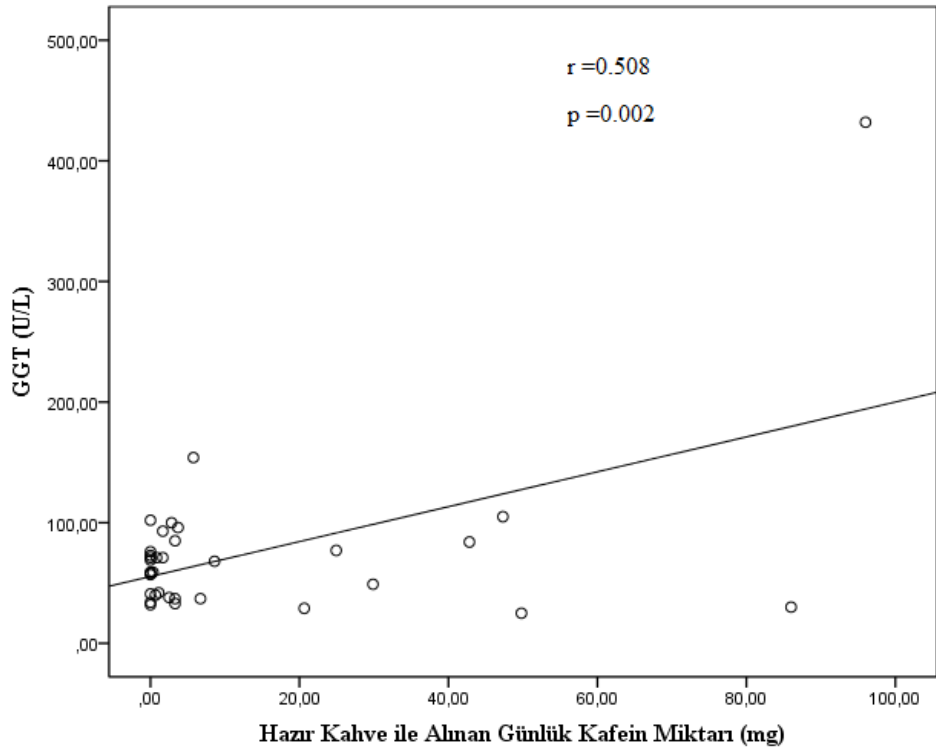
Şekil 4.11. Siyah Demleme Çay ile Alınan Günlük Kafein Miktarı ve ALT Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği



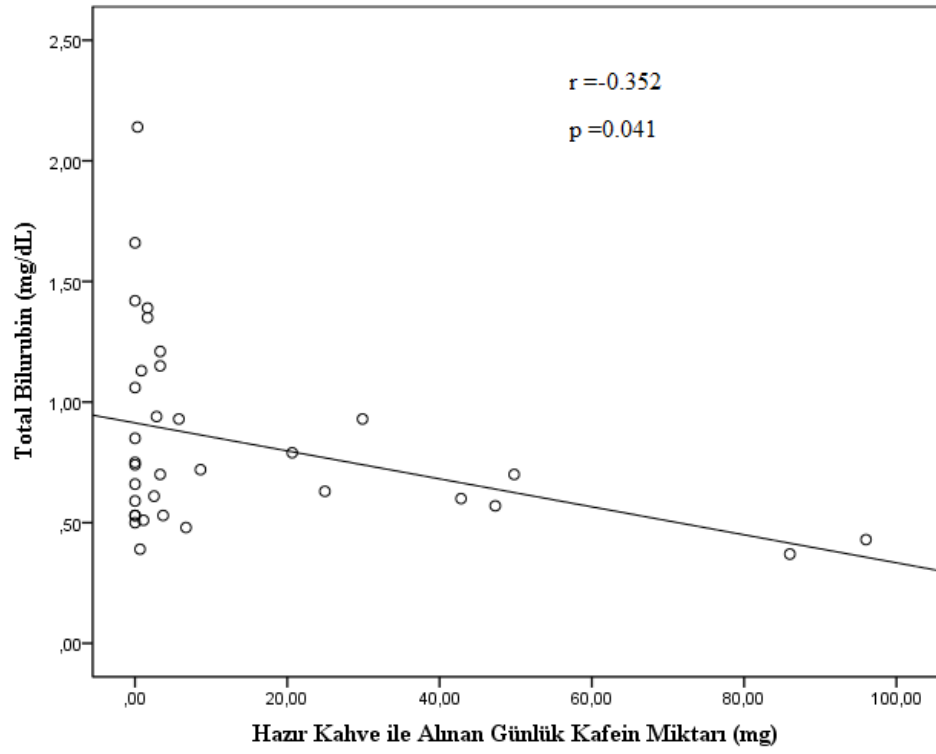
Şekil 4.12. Siyah Demleme Çay ile Alınan Günlük Kafein Miktarı ve LDL Kolesterol Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği



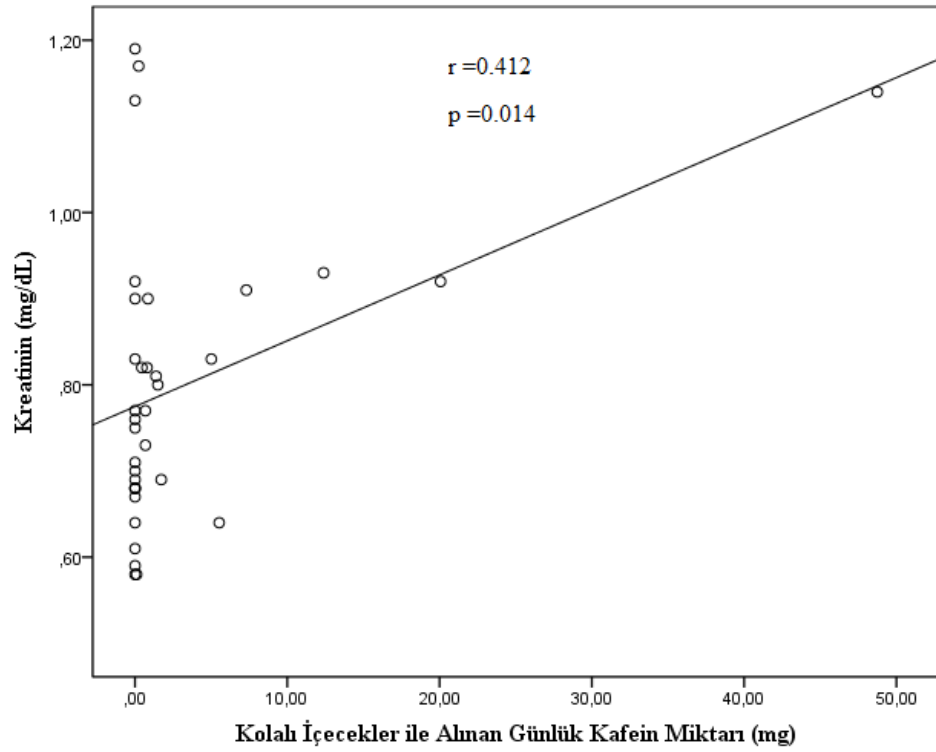
Şekil 4.13. Siyah Demleme Çay ile Alınan Günlük Kafein Miktarı ve Trigliserit Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği



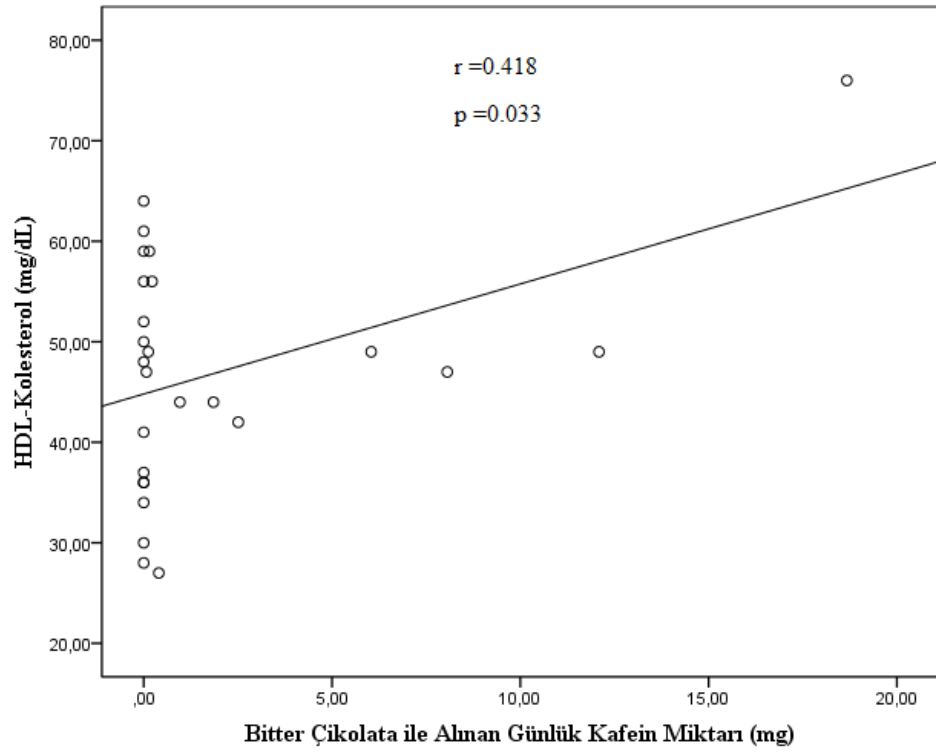
Şekil 4.14. Hazır Kahve ile Alınan Günlük Kafein Miktarı ve GGT Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği



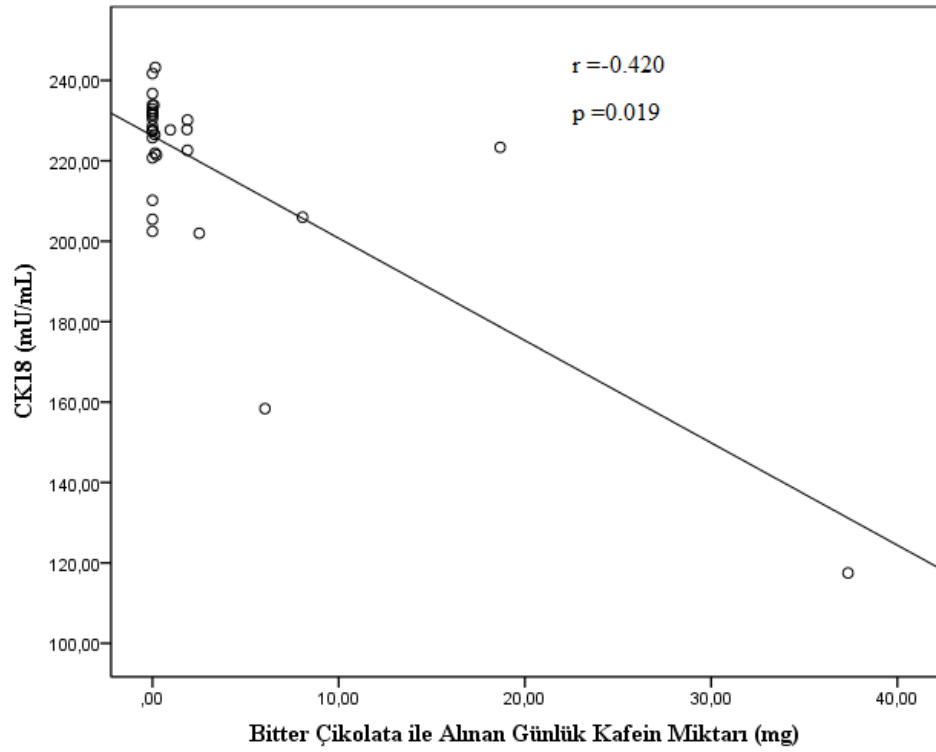
Şekil 4.15. Hazır Kahve ile Alınan Günlük Kafein Miktarı ve Total Bilirubin Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği



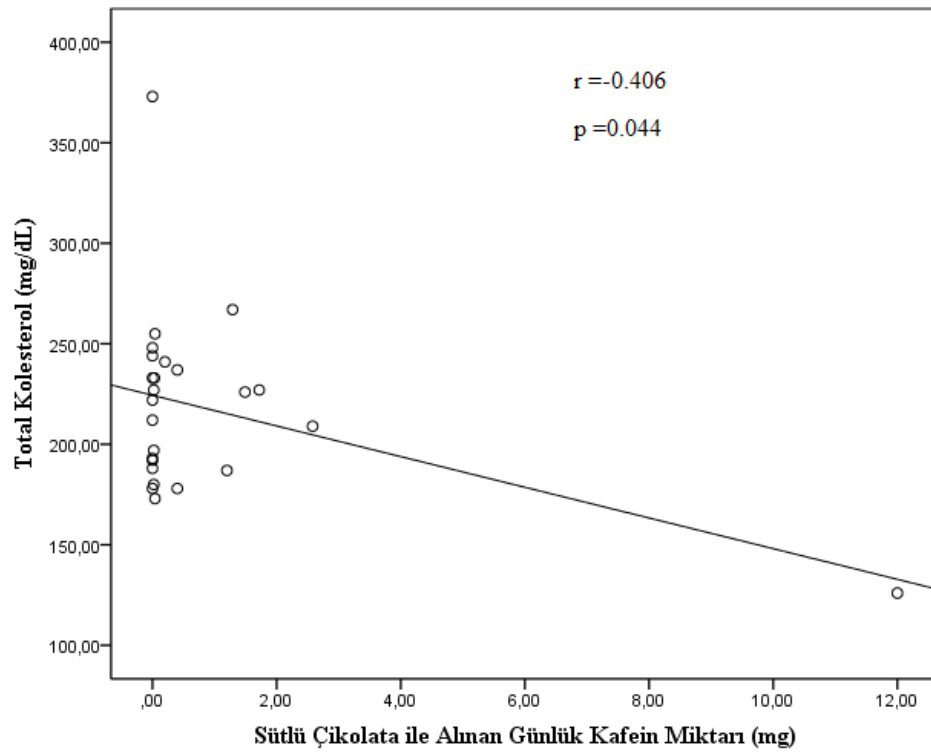
Şekil 4.16. Kolalı İçecekler ile Alınan Günlük Kafein Miktarı ve Kreatinin Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği



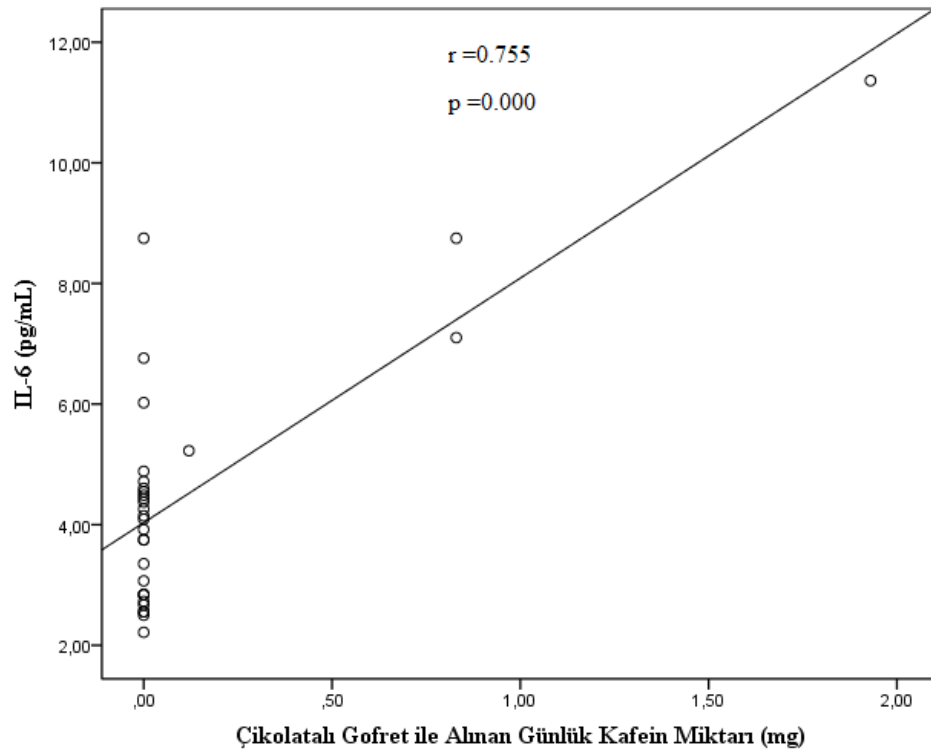
Şekil 4.17. Bitter Çikolata ile Alınan Günlük Kafein Miktarı ve HDL-Kolesterol Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği



Şekil 4.18. Bitter Çikolata ile Alınan Günlük Kafein Miktarı ve Serum CK18 Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği



Şekil 4.19. Sütlu Çikolata ile Alınan Günlük Kafein Miktarı ve Total Kolesterol Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği



Şekil 4.20. Çikolatalı Gofret ile Alınan Günlük Kafein Miktarı ve Serum IL-6 Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği

Cinsiyet ayrımına göre korelasyon incelendiğinde istatistiksel açıdan anlamlı olan korelasyonlar EK 6’te verilmiştir. Buna göre,

Erkeklerde,

- Siyah demleme çay ile alınan günlük kafein miktarı ve LDL kolesterol düzeyi arasında ($r=-0,609$; $p=0,036$) (Bkz. Ek Şekil 18.), trigliserit düzeyi arasında ($r=0,758$; $p=0,004$) (Bkz. Ek Şekil 19.),
- Bitter çikolata ile alınan günlük kafein miktarı ve serum CK18 düzeyi arasında ($r=-0,877$; $p=0,000$) (Bkz. Ek Şekil 20.),
- Türk kahvesi ile alınan günlük kafein miktarı ve ALP düzeyi arasında ($r=0,613$; $p=0,012$) (Bkz. Ek Şekil 21.),
- Sütlü çikolata ile alınan günlük kafein miktarı ve GGT düzeyi arasında ($r=-0,597$; $p=0,015$) (Bkz. Ek Şekil 22.), total kolesterol düzeyi arasında ($r=-0,722$; $p=0,008$) (Bkz. Ek Şekil 23.),
- Kakao tüketimi ile alınan günlük kafein miktarı ve ALT düzeyi arasında ($r=0,603$; $p=0,013$) (Bkz. Ek Şekil 24.), AST düzeyi arasında ($r=0,527$; $p=0,036$) (Bkz. Ek Şekil 25.), total kolesterol düzeyi arasında ($r=-0,615$; $p=0,033$) (Bkz. Ek Şekil 26.) korelasyon saptanmıştır.

Kadınlarda,

- Yeşil çay ile alınan günlük kafein miktarı ve total bilirubin düzeyi arasında ($r=0,596$; $p=0,009$) (Bkz. Ek Şekil 27.), direkt bilirubin düzeyi arasında ($r=0,649$; $p=0,004$) (Bkz. Ek Şekil 28.),
- Siyah demleme çay ile alınan günlük kafein miktarı ve AST düzeyi arasında ($r=0,469$; $p=0,043$) (Bkz. Ek Şekil 29.), total bilirubin düzeyi arasında ($r=0,528$; $p=0,024$) (Bkz. Ek Şekil 30.),
- Türk kahvesi ile alınan günlük kafein miktarı ve total bilirubin düzeyi arasında ($r=0,582$; $p=0,011$) (Bkz. Ek Şekil 31.),
- Kakao tüketimi ile alınan günlük kafein miktarı ve serum CK18 düzeyi arasında ($r=-0,482$; $p=0,050$) (Bkz. Ek Şekil 32.),
- Hazır kahve ile alınan günlük kafein miktarı ve GGT düzeyi arasında ($r=0,581$; $p=0,012$) (Bkz. Ek Şekil 33.) korelasyon bulunmuştur.

5. TARTIŞMA

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı, kronik karaciğer hastalıklarının en yaygın nedenlerindendir. Basit steatozdan başlayarak karaciğer kanserine kadar ilerleyebilen geniş spektrumlu karaciğer hasarıdır (1). Dünya Sağlık Örgütü'nün 2016'da yayınlamış olduğu rapora göre 2000 yılında tüm ölüm nedenleri arasında 20. sırada olan karaciğer kanseri ölümlerin %1,3'ünü, 2015'de 16. sırada yer alarak %1,4'ünü oluşturmaktadır (115). Ölüm nedenleri arasında 12. sırada yer alarak 2030 yılında ölümlerin %1,7'sinden sorumlu olacağı düşünülmektedir (116). Ülkemizde Sağlık Bakanlığı'nın Türkiye Kronik Hastalıklar ve Risk Faktörleri Sıklığı Çalışmasına göre 2011'de kanser türleri arasında erkeklerin %3,3'ünde karaciğer kanseri görüldüğü belirtilmektedir (117).

Bu araştırmada, Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi Gastroenteroloji Bölümüne başvuran, gerekli muayeneler ve testler sonucunda yeni NAYKH tanısı almış, 19-64 yaş aralığındaki 40 bireyin (20 kadın, 20 erkek) diyetle kafein tüketimleri ile serum CK18 düzeyi arasındaki ilişki değerlendirilmiştir.

5.1. Bireylerin Genel Özelliklerinin Değerlendirilmesi

Erkeklerin yaş ortalaması $39,7 \pm 10,66$ yıl, kadınların ise $48,1 \pm 13,01$ yıldır ($p > 0,05$) (Bkz. Tablo 4.1.). Kadın ve erkek birey sayısı birbirine yakın olan benzer çalışmalarda yaş ortalamasının 45-55 arasında değiştiği görülmektedir (18–20,118). Ulusal Sağlık ve Beslenme İnceleme Anketi verileri ile yapılan kapsamlı bir çalışmaya göre, NAYKH'lı bireylerin yaklaşık %53'ü 45 yaş altında yaklaşık %36'sı 45-65 yaş aralığındadır (18). Bu durum, NAYKH'ın yetişkin bireylerde her yaş grubunda görülebildiğinin göstergesidir.

Bireylerin evli olma durumunun erkeklerde (%80) ve kadınlarda (%85) benzer olduğu görülmektedir (Bkz. Tablo 4.1.). Bireylerin eğitim durumlarında erkeklerde lise mezunu (%40), kadınlarda ise ilkokul mezunu (%60) olma oranı daha yüksektir (Bkz. Tablo 4.1.). Bu durumun her iki cinsiyet içinde eğitim düzeyi yüksek olan genç bireylerin sayısının az olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bireylerin ortalama eğitim süresi erkeklerde $11,1 \pm 4,44$ yıl, kadınlarda ise $6,6 \pm 4,07$ yıldır (Bkz. Tablo 4.1.). Erkeklerin aldığı eğitim süresinin kadınlara göre daha yüksek olması

Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) 2015 verileri ile benzerlik göstermektedir. Türkiye İstatistik Kurumu 2015 verilerine göre Türk toplumunda 25 yaş ve üzeri okuma yazma bilmeyen toplam nüfus oranı %5,4 iken, bu oran erkeklerde %1,8 kadınlarda ise %9'dur (119). Mesleki açıdan erkeklerde serbest meslek (%50), kadınlarda ise ev hanımı (%80) oranı yüksektir ($p<0,05$) (Bkz. Tablo 4.1.). Bu durum her iki cinsiyet için eğitim düzeyinin düşük olmasından kaynaklanmış olabilir.

Çalışmaya katılan tüm bireyler NAYKH tanısı almıştır. Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı haricinde tanı aldıkları başka hastalık bulunma oranı kadınlarda (%80) erkeklere (%40) kıyasla daha yüksektir ($p<0,05$) (Bkz. Tablo 4.2.). Bireylerin eşlik eden hastalıkları incelendiğinde diyabet görülme oranı kadınlarda (%45) erkeklere (%10) göre daha yüksektir ($p<0,05$) (Bkz. Tablo 4.2.). Tüm bireylerin %27,5'inde diyabet görülmektedir. Diyabet (özellikle tip 2), MetS'un hepatik yansıması olarak düşünülen NAYKH için en önemli risk faktörlerinden biridir (37). Benzer çalışmalara bakıldığında cinsiyet ayrımı yapılmaksızın tüm bireylerin yaklaşık %25'inde diyabet olduğu görülmektedir (22,118). Kadın birey sayısının çoğunlukta olduğu bir çalışmada, NAYKH'lı bireylerin %18,5'inde tip 2 diyabet saptanmıştır. Bu çalışmada ise tip 1 ve tip 2 diyabet ayrımı yapılmadan sadece diyabet prevalansı belirlenmiştir. Hipertansiyon, NAYKH için primer risk faktörleri arasında yer almaktadır (Bkz. Tablo 2.1). Bireylerde hipertansiyon görülme oranı kadınlarda (%40) erkeklere (%20) göre daha yüksektir ($p>0,05$) (Bkz. Tablo 4.2.). Tüm bireylerin %30'unda hipertansiyon görülmektedir. Bu çalışma, NAYKH'lı bireylerle yapılan çalışmalarda hipertansiyon görülme sıklığı ile benzerlik göstermektedir (56,118,120). Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı için en önemli risk faktörlerinden biri de hiperlipidemidir. Yapılan bir çalışmada, hiperlipideminin NAYKH için güçlü bir risk faktörü (OR:4,79 %95 CI:3,19–7,20) olduğu ve hastalık grubunun %3,8'inde görüldüğü belirtilmiştir. Bu çalışmada tüm bireylerde hiperlipidemi görülme oranı biraz daha yüksek (%10) bulunmuştur (Bkz. Tablo 4.2.).

Küresel Yetişkin Tütün Araştırması verilerine göre, ülkemizde 15 yaş ve üzeri yetişkinlerde aktif olarak tütün kullanma yüzdesi erkeklerde %41,5 kadınlarda ise %13,1'dir (121). Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı olan bireylerle yapılan bir çalışmada, bireylerin %20,6'sının sigara içtiği belirtilmektedir (120). Çalışmaya katılan erkek bireylerin %55'i kadınların ise %65'i sigarayı hiç içmemiştir. Halen

sigara içme oranı erkeklerde %15, kadınlarda %20'dir ($p>0,05$) (Bkz. Tablo 4.3.). Karaciğere ciddi zarar verebilen sigaranın bu çalışmaya katılan bazı bireyler tarafından halen kullanıldığı görülmektedir. Günde içilen sigara sayısı erkeklerde ($26,7\pm11,55$) kadınlara ($11,8\pm6,99$) göre daha fazladır ($p>0,05$). Sigara içenler için toplam sigara içme süresi ise kadınlarda ($19,5\pm4,93$ yıl) erkeklere ($12,3\pm2,52$ yıl) göre daha fazladır ($p>0,05$) (Bkz. Tablo 4.3). Yapılan bir çalışmada, NAYKH'lı bireylerde günlük içilen sigara sayısı ($12,94\pm17,22$ adet) sağlıklı bireylere kıyasla anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

Türkiye Beslenme ve Sağlık Araştırması 2010 verilerine göre Türkiye genelinde alkol kullanma oranı %15,1'dir. Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı olan bireylerle yapılan bir çalışmada ise bireylerin %32,4'ünün alkol kullandığı belirtilmektedir (120). Çalışmaya katılan erkek bireylerin %10'u alkol kullanırken kadınların hiçbirini kullanmamaktadır ($p>0,05$) (Bkz. Tablo 4.3.). Bu çalışmada hastalık tanısına rağmen halen alkol kullanan bireylerin olduğu görülmektedir.

5.2. Bireylerin Genel Beslenme ve Fiziksel Aktivite Durumlarının Değerlendirilmesi

Bireylerin beslenme alışkanlıkları incelendiğinde tüketilen ana öğün sayısının erkek ($2,6\pm0,50$) ve kadınlarda ($2,6\pm0,51$) aynı olduğu görülmektedir ($p>0,05$). Her iki cinsiyet için tüketilen ara öğün sayısı da birbirine benzerdir ($p>0,05$) (Bkz. Tablo 4.4.). Bireylerin öğün atlama durumları incelendiğinde en yüksek oranla erkeklerin ve kadınların %40'ının öğün atlamadıkları görülmektedir. Bu çalışmadaki erkek ve kadınların yaş ortalaması dikkate alınarak TBSA 2010 verilerine göre, 31-50 yaş arasındaki erkeklerin %67,7'si, kadınların ise 31-50 yaş arası %64,4'ü, 51-64 yaş arası %71,4'ü 3 ana öğün tüketmektedir (77). Evet veya bazen diyerek öğün atlama durumu olan bireylerin oranı erkek ve kadınlarda %60'dır. Atlanan öğün incelendiğinde erkeklerin %75'i, kadınların %91,7'si öğle öğününü atlamaktadır (Bkz. Tablo 4.4.). Türkiye Beslenme ve Sağlık Araştırması 2010 verilerine göre öğle öğününü atlayanların oranı erkeklerde 31-50 yaş arasında %20,3, kadınlarda 31-50 yaş arasında %21,6, 51-64 yaş arasında %19,6'dır. Bireylerin besin desteği kullanımları incelendiğinde kullanmama oranı erkeklerde (%94,1) kadınlara (%80) göre daha fazladır ($p>0,05$) (Bkz. Tablo 4.4.). Diyet uygulama durumları incelendiğinde sadece

kadın bireylerin %5'inin (n=1) diyet uyguladığı görülmektedir ($p>0,05$) (Bkz. Tablo 4.4.). Bu çalışmada erkek ve kadın bireylerin çoğunluğu 1. derece obez sınıflamasına girmektedir (Bkz. Tablo 4.8.). Bireylere beslenmelerini değerlendirme durumları sorulduğunda en yüksek oranla erkeklerin %41'i, kadınların %60'ı orta düzeyde olduğunu belirtmişlerdir ($p>0,05$) (Bkz. Tablo 4.4.). Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığında doğru beslenme alışkanlığı ile ağırlık kontrolünün sağlanabildiği ve hastalığın ilerlemesinin geciktirilebildiği belirtilmektedir (61). Bu çalışmadaki bireylerin çoğunluğunun 1. derece obez sınıflamasına girmesi ve diyet uygulayan bireylerin oranının çok düşük olması nedeniyle hastaların diyetisyene yönlendirilmesi ve ağırlık kontrolü konusunda bilinçlendirilmesi gerektiği düşünülmektedir.

Türkiye Beslenme ve Sağlık Araştırması 2010 verilerine göre, günlük ortalama su tüketim miktarı 31-50 yaş arasındaki erkeklerde 1098,88 mL, kadınlarda 31-50 yaş arasında 957,23 mL, 51-64 yaş arasında 984,06 mL'dir (77). Bireylerin su tüketimleri incelendiğinde erkeklerin ($1297,1\pm838,80$ mL) kadınlara ($992,5\pm496,64$ mL) göre daha fazla olduğu görülmektedir ($p>0,05$) (Bkz. Tablo 4.5.). Bu çalışmada erkek ve kadın bireylerin insan yaşamı için en önemli öge olan su tüketimlerinin düşük olduğu görülmektedir.

Bu çalışmada erkek (%85) ve kadınların (%75) çoğunluğunun düzenli egzersiz yapmadığı görülmektedir ($p>0,05$) (Bkz. Tablo 4.6.). Haftanın en az 3 günü düzenli egzersiz yapan tüm bireyler (erkek, 3; kadın, 5) yürüyüş yapmaktadır. Bir seferde yapılan ortalama egzersiz süresi erkeklerde ($33,3\pm5,77$ dk) ve kadınlarda ($34,0\pm6,52$ dk) birbirine benzerdir ($p>0,05$) (Bkz. Tablo 4.6.). Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığının tedavisinde egzersizin yer aldığı yaşam tarzı değişikliği önemli yer tutmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü yetişkin bireylere haftada 150 dk orta şiddette veya 75 dk ağır şiddette egzersiz yapmalarını önermektedir (122). Literatürde diyet ve egzersizin NAYKH'lı bireylerde hastalıkla ilişkili biyokimyasal parametreleri iyileştirdiğini gösteren çalışmalar mevcuttur (62–64). Fiziksel aktivite ile NAYKH arasındaki ilişkiyi inceleyen bir çalışmada NAYKH'lı bireylerin daha az fiziksel aktivite yaptığı ve fiziksel aktivite ile NAYKH oluşumu arasında ters ilişki olduğu gösterilmiştir (123).

Bireylerin son 6 ayda vücut ağırlığı değişimi incelendiğinde kadınlarda ($6,25 \pm 1,77$ kg) erkeklere ($5,00 \pm 2,12$ kg) göre daha fazla ağırlık artışı olmuştur ($p > 0,05$) (Bkz. Tablo 4.6.). Ağırlıkta azalma da kadınlarda ($5,25 \pm 3,28$ kg) erkeklere ($4,93 \pm 2,59$ kg) göre daha fazladır ($p > 0,05$) (Bkz. Tablo 4.6.). Ağırlık kontrolünün NAYKH gelişimi ve ilerlemesinde büyük rolü vardır. Amerikan Gastroenteroloji Derneği hafif kilolu bireyler için ($BKİ > 25 \text{ kg/m}^2$) 6 ayda vücut ağırlığının %10'u kadar ağırlık kaybını önermektedir. Ağırlık kaybı, yavaş, aşamalı ve düzenli olmalıdır (66). Aksi takdirde periferdeki yağ dokusundan karaciğere gelen serbest yağ asitleri karaciğerde yağlanmayı artırarak hastalığın gidişatını kötüleştirebilmektedir (65).

Bireylere vücut ağırlıklarını değerlendirme durumları sorulduğunda en yüksek oranla erkeklerin %76,5'i, kadınların ise %50'si kendini şişman görmektedir ($p > 0,05$) (Bkz. Tablo 4.6.).

5.3. Antropometrik Ölçümlerin Değerlendirilmesi

Obezite, NAYKH için en önemli risk faktörü olarak bilinmektedir. Obez bireylerde NAYKH prevalansının %30-100 arasında olduğu bildirilmektedir (38). Bu çalışmaya katılan erkek (%40) ve kadın (%40) bireylerin çoğunluğu 1. derece obez sınıflamasına girmektedir ($p > 0,05$) (Bkz. Tablo 4.8.).

Bu çalışmadaki erkeklerin BKİ ortalamaları ($32,4 \pm 4,69 \text{ kg/m}^2$) kadınlara ($33,2 \pm 6,12 \text{ kg/m}^2$) göre daha yüksek bulunmuştur ($p > 0,05$) (Bkz. Tablo 4.9.). Bu çalışma NAYKH'lı bireylerle yapılan çalışmalardaki BKİ ortalamaları ile benzerlik göstermektedir (19,22,118).

Bu çalışmadaki erkek ve kadın bireylerin bel çevresi WHO'ya göre büyük ölçüde metabolik komplikasyon riskini işaret etmektedir (Bkz. Tablo 3.1.). Bireylerin bel/kalça oranı erkeklerde kadınlara göre anlamlı derecede daha yüksektir (Bkz. Tablo 4.9.). Bu çalışmadaki bireylerin bel/kalça oranı literatürdeki NAYKH'lı bireylerle yapılan çalışmalar ile benzerlik göstermektedir (2,124). Çalışmadaki erkek ve kadın bireyler WHO'ya göre şişmanlığa bağlı kronik hastalık görülme riski taşımaktadır (Bkz. Tablo 3.1.).

Boyun çevresi ölçümünün, üst vücutta subkutan adipoz doku dağılımını belirlemede kullanılabilecek bir gösterge olduğu ve çeşitli metabolik risk faktörleri ile

bağlantılı olduğu belirtilmektedir. Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı olan bireylerde hastalığın önceden belirlenebilmesinde önemlidir (125). Bu çalışmada erkeklerin boyun çevresi kadınlara göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (Bkz. Tablo 4.9.).

Vücuttaki yağ miktarının vücut ağırlığına oranı %30'u aştığı zaman hemen hemen tüm hepatositlerin yüksek miktarda yağ içerdiği bildirilmektedir. Bu çalışmadaki erkek ve kadın bireylerin vücut yağ yüzdesi %30'un üzerinde bulunmuştur (Bkz. Tablo 4.9.). Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı olan bireylerle yapılan bir çalışmada tüm bireylerdeki vücut yağ yüzdesi ortalaması biraz daha yüksek bulunmuştur (19).

5.4. Bireylere Ait Biyokimyasal Bulguların Değerlendirilmesi

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı olan bireylerde en yaygın görülen laboratuvar bulgusu transaminazlardaki yüksekliktir. Alanin ve aspartat aminotransferaz düzeylerinde 3-4 kat artış görülebilmektedir. Alkalen fosfataz ve gamaglutamil transpeptidaz düzeyleri ise yüksek ya da normalde olabilmektedir (46). Bu çalışmaya katılan bireylerin çoğunluğunun ALT ve AST düzeylerinin referans değerinin üzerinde olduğu görülmektedir. Bireylerin ALP düzeyleri genellikle referans aralığındadır. Erkek ve kadın bireylerin yaklaşık yarısının ise GGT düzeyinin referans değer üzerinde olduğu saptanmıştır (Bkz. Tablo 4.10.).

Alanin ve aspartat aminotransferaz düzeyi bu çalışma ile benzer olan bir çalışmada, NAYKH'lı bireylerin ALT ve AST düzeylerinin hem tip 2 diyabetli hem de sağlıklı bireylere göre anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır (124). Cabelleria ve arkadaşları, NAYKH'lı bireylerde ALT düzeyinin erkeklerde ≥ 45 U/L, kadınlarda ise ≥ 34 U/L olmasının NAYKH için potansiyel güçlü bir risk faktörü (OR: 4,21, %95 Cl: 2,23-7,95) olduğunu göstermiştir (120).

İnsülin direnci NAYKH için en önemli risk faktörleri arasında yer almaktadır. Hastalığın patogenezinde ilk vuruş kabul edilen, trigliseritlerin yıkımı ile açığa çıkan serbest yağ asitlerinin karaciğerde artışından sorumludur (3). Yapılan bir çalışmada HOMA-IR >2 olmasının NAYKH riskini 2,8 kat (%95 Cl:1,9-4,3) artırdığı gösterilmiştir (36). Açlık plazma glikozu ve açlık insülin parametreleri HOMA yöntemiyle insülin direncinin saptanmasında kullanılmaktadır. Bu çalışmadaki

bireylerin %47,4'ünün açlık plazma glikozu, %21,9'unun da açlık insülin düzeyi referans değerin üzerinde bulunmuştur (Bkz. Tablo 4.10.). Çalışmadaki bireylerin HOMA-IR düzeylerinin de yüksek olduğu görülmektedir (Bkz. Tablo 4.10.). Bireylerin açlık glikoz ortalaması benzer olan bir çalışmada, NAYKH'lı bireylerdeki bu düzeyin sağlıklı bireylere göre önemli ölçüde yüksek olduğu saptanmıştır (19). Ayrıca bu çalışmada HOMA-IR <3,87 olan grubun LDL kolesterol düzeyi $\geq 3,87$ olan gruba göre anlamlı derecede düşüktür ($p < 0,05$) (Bkz. Tablo 4.12.).

Çalışmadaki bireylerin çoğunluğunun total ve direkt bilirubin düzeylerinin referans değeri aralığında olduğu belirlenmiştir (Bkz. Tablo 4.10.). Literatürdeki çalışmalara bakıldığında NAYKH'lı bireylerdeki bilirubin değerleri ile benzerlik göstermektedir (22,56,118).

Çalışmadaki bireylerin %89,3'ünün HDL kolesterol düzeyi referans değerin altındadır (Bkz. Tablo 4.10.) Bireylerin HDL düzeyleri ile fiziksel aktivite durumları arasındaki ilişki incelenmiş ancak istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p > 0,05$). Bireylerin yaklaşık yarısının trigliserit düzeyi referans değerin üzerinde bulunmuştur (Bkz. Tablo 4.10.). Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı olan bireylerde lipit profilini inceleyen bir çalışmada, bireylerin %17,7'sinde metabolik sendroma bağlı dislipidemi saptanmıştır. Metabolik sendroma bağlı dislipideminin, NAYKH için güçlü ve bağımsız bir risk faktörü (OR:3,31 %95 Cl:2,74–3,99) olduğu belirtilmektedir (126).

Bu çalışmada bireylerin biyokimyasal bulguları BKİ sınıflamasına göre değerlendirilmiş ancak BKİ grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p > 0,05$) (Bkz. Tablo 4.11.).

5.5. Bireylerin Günlük Enerji ve Besin Ögesi Alımlarının Değerlendirilmesi

Obezite ve insülin direnci NAYKH için önemli risk faktörleridir. Günümüzde bu risk faktörleri hareketsiz yaşam tarzının yanı sıra kötü beslenme ile ilişkilidir. Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı olan bireyler için önerilen günlük enerji gereksinimi 25-30 kkal/kg'dır. Günlük BMH'larına (Harris-Benedict denklemi ile hesaplanan) %20-40 ek yapılarak da hesaplanabilmektedir (68). Bu çalışmadaki erkek bireylerin

enerji alımı ortalaması $46,2 \pm 22,97$ kkal/kg, kadınların ise $31,3 \pm 8,93$ kkal/kg olarak bulunmuştur (Bkz. Tablo 4.13.). Bu değer özellikle erkeklerde NAYKH'lı bireyler için önerilen değerin çok üzerindedir. Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı olan bireylerin enerji alımları sağlıklı bireylere kıyasla daha yüksek bulunmaktadır (57). Bu çalışmada da erkek bireylerin %60'ının ve kadınların %40'ının enerjiyi gereksinimlerinin üzerinde aldığı saptanmıştır (Bkz. Tablo 4.14.).

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığında diyetteki karbonhidrat ve yağ yüzdesi önemli bir etkiye sahiptir. Karbonhidrattan zengin diyet, dolaşımdaki insülin konsantrasyonunun artmasına neden olur. Az yağlı, yüksek karbonhidratlı diyet, de novo yağ asidi sentezi yoluyla karaciğerde yağlanmayı artırabilir (68). Solga ve arkadaşlarının NAYKH'lı bireylerle yaptığı çalışmada, enerjinin %54'ünü karbonhidrattan karşılayan bireylerde %35'ini karşılayanlara kıyasla hepatik inflamasyon riskinin 6,5 kat arttığı saptanmıştır (127). Ueno ve arkadaşlarının NASH'li bireylerle yaptığı müdahaleli bir çalışmada, günlük 25 kkal/kg enerjinin %50'si karbonhidrattan, %30'u yağdan, %20'si de proteinden gelmektedir. Çalışma sonunda bireylerin BKİ değeri, histolojik bulguları, ALT ve insülin direnci düzeyinde iyileşme görülmüştür (128). Okita ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada %54 karbonhidrat, %25 yağ ve %21 protein içeren diyet müdahalesinde ise sadece bireylerin BKİ değerlerinde iyileşme gözlenmiştir (129).

Bu çalışmadaki erkek bireylerin %85'inin kadınların ise %65'inin protein alımlarının (g/kg) önerilenin üzerinde olduğu görülmektedir. Her iki cinsiyet için de bireylerin çoğunluğunda karbonhidrat alımı önerilenin altındadır. Erkek bireylerin %50'sinin kadınların ise %60'ının yağ alımı önerilenin üzerindedir (Bkz. Tablo 4.14.).

Amerikan Karaciğer Vakfı, yetişkinlerin günlük diyetle aldığı doymuş yağ asitlerinin enerjinin $<10\%$ olmasını önermektedir (122). Wang ve arkadaşları ratlarla yaptığı deneysel bir çalışmada yüksek doymuş yağ asidi alımının NAYKH'ı kötüleştirdiğini göstermiştir (130). Günlük diyetle alınan doymuş yağ asitlerinin enerjinin %6-10 arasında olmasının NAYKH'lı bireylerde faydalı olabileceği belirtilmektedir (61). Bu çalışmada enerjinin erkek bireylerde %11'i kadınlarda ise %10,2'si doymuş yağ asitlerinden karşılanmaktadır (Bkz. Tablo 4.13.).

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı olan bireylerde ÇDYA'nın (özellikle n-3) dolaşımında düşük seviyede olması, de novo lipogenezin artması, dolaşımdaki serbest yağ asitlerinin karaciğere alımının artması ve yağ asidi oksidasyonu azalması ile ilişkilidir. Tüm bunlar karaciğerde steatozun kötüleşmesine neden olmaktadır (61). Türkiye'ye Özgü Besin ve Beslenme Rehberi'ne göre günlük diyetle alınan ÇDYA'nın enerjiye olan katkısı $\leq 10\%$ olmalıdır (109). Bu çalışmada, hem erkek hem de kadın bireylerde ÇDYA'nın enerjiye olan katkısı $< 10\%$ 'dur (Bkz. Tablo 4.13.).

Musso ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, NASH'li bireylerin kontrol grubuna kıyasla doymuş yağ asidinden zengin, ÇDYA ve liften fakir beslendikleri gösterilmiştir (67). Birerdinc ve arkadaşları ise NAYKH'lı bireylerin lif alımlarını kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulmuştur (18). Bu çalışmada, erkek bireylerin %90'ının kadınların ise %85'inin lif alımlarının önerilen miktarın üzerinde olduğu saptanmıştır (Bkz. Tablo 4.14.). Erkek bireylerin %65'inin kolesterol alımı önerilenin üzerinde iken kadınların %65'inde önerilenin altındadır (Bkz. Tablo 4.14.).

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığının patogenezinde oksidatif stresin de yer aldığı birçok faktörün etkisiyle hepatositlerde inflamasyon ve fibroz oluşumu görülmektedir (1). Bu nedenle antioksidan özellik gösteren E ve C vitaminlerinin NAYKH'lı bireylerde olumlu etki gösterdiği belirtilmektedir (57,61,131). Musso ve arkadaşları, NASH'li bireylerin E ve C vitamini alımlarının kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğunu göstermiştir (67). Bu çalışmada erkek ve kadın bireylerin çoğunluğunda E ve C vitamini alımları önerilenin üzerindedir (Bkz. Tablo 4.14.).

Demir sitrik asit döngüsü, DNA biyosentezi, mitokondriyal solunuma katılan enzimlerin yapısında ve oksijen taşınmasında önemli rol oynamaktadır. Bununla birlikte aşırı demir alımı, daha çok ROS oluşumuyla organda ciddi hasara neden olabilmektedir. Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı olan bireylerde demir düzeninde bozulmaların daha sık görüldüğü belirtilmektedir. Bireylerde steatoza yol açan, hepatositlerin serbest yağ asitlerine maruz kalmasının demir metabolizmasındaki bozulma ile ilişkili olduğu ileri sürülmektedir (131). Birerdinc ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, NAYKH'lı bireylerin demir alımlarının sağlıklı bireylere göre

anlamalı ölçüde yüksek olduğu saptanmıştır (18). Bu çalışmada erkek ve kadınların %95'inin demir alımları önerilenin üzerindedir (Bkz. Tablo 4.14.).

Bu çalışmadaki erkek ve kadın bireylerin çoğunluğunda A, B₁, B₂, B₆, B₁₂, K vitamini, niasin, folik asit, sodyum, potasyum, kalsiyum, magnezyum ve çinko alımları önerilenin üzerindedir (Bkz. Tablo 4.14.).

Bu çalışmada, bireylerin beslenme durumunu saptamak amacıyla 24 saatlik besin tüketim kaydı ile birlikte son altı ayı değerlendiren besin tüketim sıklığı kullanılmıştır. Çalışmada BKİ değerine göre zayıf birey bulunmamaktadır. Bireylerin çoğu 1. derece obez grubuna girmektedir. Bu nedenle bireylerin genel olarak enerji ve besin ögesi alımlarının önerilen miktarların üzerinde olması beklenen bir durumdur.

5.6. Bireylerin Serum Protein Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığının gelişimi ve ilerlemesindeki mekanizmalar halen net olarak bilinmemektedir. Ancak sadece karaciğer ile ilişkili morbidite ve mortalite ile sınırlı olmaması multisistem bir hastalık olduğunu göstermektedir (26). Hastalığın patogenezi açıklamada günümüzde kabul gören hipoteze göre, insülin direncinin sorumlu olduğu ilk vuruştan sonra birçok faktörün (oksidatif stres, pro-inflamatuar sitokinler vb.) etkisiyle hepatositlerde inflamasyon ve fibroz oluşumu aktive edilmektedir (1).

Nonalkolik steatohepatit hücre yıkımı ve inflamasyon ile karakterize olan bir durumdur. Deneysel ve klinik çalışmalar NASH'li hastalarda hepatositlerde apoptoz oluşumunu göstermiştir (8). Yakın zamanda yapılan araştırmalarda karaciğerdeki başlıca ara filament bir protein olan CK18'in apoptoz göstergesi olarak NASH için iyi bir biyobelirteç olduğu gösterilmiştir (100,102,103). Apoptoz derecesi, hastalığın şiddeti ve fibroz düzeyi ile korelasyon göstermektedir (132). Rosso ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, CK18 düzeyinin NAYKH'da ilerlemiş fibrozun tahminini artırabileceği rapor edilmiştir (106). Mandelia ve arkadaşları da, NAYKH'lı çocuklarda CK18'in fibroz göstergesi olarak umut vadeden non-invazif biyobelirteç olduğunu göstermiştir (101).

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı olan bireylerde CK18 düzeyi ile hastalığın şiddeti arasındaki ilişkiyi inceleyen bir çalışmada, plazma CK18 düzeyi

NASH'li bireylerde (765,7 U/L [479,6-991,1]) basit steatoz (202,4 U/L [160,4-258,2]) ve kontrol (215,5 U/L [150,2-296,2]) grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Apoptoz göstergesi olarak CK18'in NASH için bağımsız tahmin edici faktör (her 50 U/L artış için OR:1,95; $p=0,009$) olduğu belirtilmiştir (132). Arab ve arkadaşlarının yakın zamanda yaptığı çalışmada, CK18 düzeyi NASH'li bireylerde (183,6 IU/L) kontrol grubuna (117,2 IU/L) kıyasla anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur. Ayrıca CK18 kesim noktası 130,5 IU/L (%92,9 duyarlılık, %63 spesifite) olarak belirlenmiştir (133). Maher ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, CK18 düzeyinin NASH'li grupta (460 ± 279 IU/L), NAYKH (167 ± 56 IU/L) ve kontrol (149 ± 57 IU/L) grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur. Ayrıca CK18 düzeyinin, NASH teşhisi için kesim noktası >240 U/L (%76,7 duyarlılık, %95 spesifite) olarak tahmin edilmiştir (102). Shen ve arkadaşlarının NAYKH'li hastalarla yaptığı çalışmada CK18 düzeyi ile fibroz derecesi arasında ($r=0,37$; $p<0,001$) pozitif korelasyon bulunmuştur (103). Benzer şekilde Tamimi ve arkadaşları da CK18 düzeyi ile fibroz derecesi arasında ($r=0,51$; $p<0,001$) pozitif korelasyon bulmuşlardır (105). Kronik Hepatit C tanısı alan hastalarla yapılan bir çalışmada, bireylerin CK18 düzeyleri ve fibroz dereceleri arasında ($r=0,881$; $p\leq0,001$) kuvvetli pozitif korelasyon bulunmuştur (134). Bu çalışmada erkek ve kadın bireylerde bulunan serum CK18 düzeyi, literatürde CK18 düzeyi ile fibroz derecesinin pozitif korelasyon gösterdiği çalışmalarla yakın bulunmuştur (Bkz. Tablo 4.16.).

Leung ve arkadaşlarının obez olmayan NAYKH'li bireylerle yaptığı çalışmada, düşük total bilirubin düzeyinin MetS'un diğer bileşenleri ile birlikte daha yüksek NAYKH aktivite skoru ile ilişkili ancak fibrozla ilişkili olmadığı gösterilmiştir (135). Bu çalışmada ise total bilirubin ve serum CK18 düzeyi arasında negatif korelasyon saptanmıştır (Bkz. Şekil 4.3.). Vücut yağ yüzdesinin artması visceral yağlanmanın arttığının bir göstergesidir. Karaciğerde yağlanmanın artması ise hastalığın seyri ve histolojik bulgulara kötüleşmeye neden olmaktadır. Bu çalışmada vücut yağ yüzdesinin artışı ile karaciğer fibrozu göstergesi olan serum CK18 düzeyi arasında pozitif korelasyon saptanmıştır (Bkz. Şekil 4.6.). Ayrıca bu çalışmada bireylerin BKİ sınıflamasına göre serum proteinleri düzeyleri arasındaki ilişki incelenmiş ancak istatistiksel açıdan anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p>0,05$) (Bkz. Tablo 4.17.).

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığında kronik inflamasyon durumu, hastalığın NASH'e ilerlemesine neden olabilmektedir. Pro-inflamatuar sitokinlerden olan TNF- α ve IL-6'nın, NASH'li hastalarda basit steatoz görülen hastalara kıyasla daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Ancak yine de bu sitokinler NASH ve basit steatoz ayrımında non-invaziv belirteç olarak kullanılmamaktadır (136). Jarrar ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada NAYKH'lı bireylerin serum TNF- α düzeyi ($6,0 \pm 16,6$ pg/mL) ve serum IL-6 düzeyi ($23,1 \pm 72,9$ pg/mL), obez kontrol grubuna (TNF- α $1,9 \pm 0,3$ pg/mL, IL-6 $7,6 \pm 6,3$ pg/mL) göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (137). Wieckowska ve arkadaşları ise plazma IL-6 düzeyinin fibroz ve NASH varlığı ile pozitif korelasyon gösterdiğini saptamıştır. Plazma IL-6 düzeyi NASH'li grupta ($4,5$ pg/mL) basit steatoz ($1,9$ pg/mL) ve kontrol ($0,9$ pg/mL) grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (138). Abiru ve arkadaşlarının çalışmasında da benzer şekilde serum TNF- α ve IL-6 düzeyleri NASH'li grupta basit steatoz ve sağlıklı bireylere göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (139). Bu çalışmada, serum TNF- α ve IL-6 düzeylerinin erkeklerde kadınlara göre daha yüksek olduğu ancak bu farkın istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı saptanmıştır (Bkz. Tablo 4.16.). Bu çalışmadaki serum TNF- α ve IL-6 düzeyleri ile daha önceki çalışmalar arasındaki farklılıkların, örneklem sayısının, aynı hastalıkta farklı alt gruplarla çalışılmasının, cinsiyet ve yaş dağılımının, kullanılan kit ve protokollerinin farklı olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

İnsülin direncinin hastalığın gelişimi ve ilerlemesinde önemli rol oynadığı bilinmektedir. Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığının patogenezinde insülin direncinin sorumlu olduğu ilk vuruş sonrası karaciğerin oksidatif stres ve pro-inflamatuar sitokinlerin neden olduğu ikinci vuruşa duyarlı hale geldiği belirtilmektedir (1). Bu çalışmada TNF- α düzeyi ile açlık insülin (Bkz. Şekil 4.1.) ve HOMA-IR (Bkz. Şekil 4.2.) düzeyleri arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. Ayrıca HOMA-IR $< 3,87$ ve $\geq 3,87$ olan gruplar arasında serum proteinleri düzeyleri incelenmiş ancak istatistiksel açıdan anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p > 0,05$) (Bkz. Tablo 4.18.)

Li ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, obez olmayan erkeklerde boyun çevresindeki artışın NAYKH riskini 2,18 kat (%95 Cl: 1,16-4,13) artırdığı gösterilmiştir (125). Bu çalışmada boyun çevresi ile inflamasyon göstergesi olan serum IL-6 düzeyi arasında pozitif korelasyon saptanmıştır (Bkz. Şekil 4.5.).

5.7. Bireylerin Günlük Kafein Tüketimlerinin ve Çeşitli Faktörlerle İlişkisinin Değerlendirilmesi

Kafein, tüm dünyada yaygın olarak başta kahve, çay olmak üzere çikolata, kola ve enerji içecekleri gibi çok sayıda yiyecek-içeceklerle, takviye olarak veya ilaçlarla alınır (72–74). Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi, yetişkinler için günlük ortalama 400 mg'a kadar kafein alımının yan etkilere neden olmadığını belirtmiştir (79). Ulusal Sağlık ve Beslenme İnceleme Anketi 2001-10 verilerine göre, ABD'de 19 yaş üstü bireylerin %89'unun yiyecek ve içeceklerle kafein aldığı tahmin edilmektedir. Bu nüfusun günlük ortalama kafein alımı 211 mg'dır. Kafein alımının %98'i içeceklerle (kahve ~%64, çay ~%16, alkolsüz içecekler ~%18) sağlanmıştır (71). Yaş ayrımı yapılmaksızın ABD'de tüm nüfusun %87'sinin düzenli olarak kafeinli içecekler tükettiği ve günlük ortalama kafein alımının 193 mg olduğu tahmin edilmektedir. En yüksek alım, günlük ortalama 336 mg ile 35-54 yaş arası erkeklerdedir (72). Türkiye'de 20-60 yaş arası bireylerin dahil edildiği bir çalışmada, ortalama kafein alımı $150,0 \pm 122,06$ mg olarak bulunmuştur (78).

Bu çalışmada, diyetle alınan günlük toplam kafein miktarının erkeklerde kadınlara göre daha yüksek olduğu ancak bu farkın istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı belirlenmiştir (Bkz. Tablo 4.19.). Her iki grupta da kafein alımı çoğunlukla içeceklerle sağlanmış olup ilk sıradaki kafein kaynağının siyah demleme çay olduğu görülmektedir (Bkz. Tablo 4.19.). Erkeklerde espresso çeşitleri, kadınlarda ise hazır kahve 2. sıradaki kafein kaynağıdır (Bkz. Tablo 4.19.). Benzer şekilde TBSA 2010 verilerine göre, ülkemizde 20 yaş ve üzeri bireylerin %92,9'u çayı, %21,3'ü kahve ve neskafeyi her gün tüketmektedir (77). Bireylerin hiçbirinde sporcu besin desteği ve ilaçlarla kafein alımı saptanmamıştır. Bireylerin BKİ sınıflamasına göre toplam kafein alımları değerlendirilmiş ancak istatistiksel açıdan anlamlı ilişki bulunmamıştır ($p > 0,05$) (Bkz. Tablo 4.20.).

Yapılan bir çalışmada hiç kahve tüketmeyen bireylerin yaş ortalaması (45 ± 12 yıl) 2 fincandan fazla tüketen bireylere (53 ± 9 yıl) göre daha düşüktür. Kahve tüketimi ile yaş ortalamasının pozitif ilişkili olduğu görülmektedir (22). Bu çalışmada ise cinsiyet ayrımı yapılmaksızın çalışmaya katılan bireylerin yaşları ile diyetle aldıkları günlük toplam kafein miktarı arasında negatif korelasyon saptanmıştır ($r = -0,403$;

$p=0,013$) (Bkz. Şekil 4.7.). İleri yaşta ve karaciğer hastalığı olan bireylerde kahvenin sağlıksız olduğunun düşünülmesi kahve tüketimini azaltabilmektedir.

Önceki yapılan çalışmalarda kahve/kafein tüketiminin karaciğer enzimleri (85–87), NAYKH şiddeti (19) ve fibrozu (13,16,94–99) üzerine etkileri araştırılmaktadır. Anty ve arkadaşlarının bariatrik cerrahi geçirmiş NAYKH'lı bireylerle yaptığı çalışmada, fibroz derecesi yüksek olan bireylerde ($\geq F2$) ALT, AST ve HOMA-IR düzeylerinin yüksek olduğu gösterilmiştir ($p<0,05$). Ayrıca fibroz derecesi yüksek olan bireylerde filtre kahve tüketiminin ve filtre kahveden gelen kafein miktarının düşük olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). Çay ve çikolata ile alınan kafein miktarının fibroz derecesi yüksek ve düşük olan bireylerde anlamlı derecede farklı olmadığı görülmektedir. Çalışmada şiddetli obezlerde filtre kahve tüketiminin fibroza karşı koruyucu olabileceği belirtilmiştir. Ayrıca espresso tüketimi düşük HDL kolesterol düzeyi, yüksek trigliserit düzeyi ve yüksek MetS prevalansı ile ilişkili bulunmuştur (16).

Bambha ve arkadaşları, fibroz derecesi yüksek olan bireylerde ($\geq F2$) ALT, ALP, GGT, açlık insülin ve HOMA-IR düzeylerinin daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Bu bireylerde kahve tüketiminin anlamlı derecede daha düşük olduğu, kahve tüketiminin sadece HOMA-IR $<4,3$ olan bireylerde fibroza karşı koruyucu olabileceğini belirtmişlerdir (22).

Birerdinc ve arkadaşlarının NHANES verileri ile yaptığı çalışmada, total kafein alımının NAYKH'lı grupta kontrole göre anlamlı derecede düşük olduğu gösterilmiştir. Kafein alımının düşük NAYKH riski (OR: 0,99) ile ilişkili olduğu ve koruyucu olabileceği ifade edilmiştir (18).

Catalano ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, günlük tüketilen kahve sayısının NAYKH ve kontrol grubu arasında farklı olmadığı görülmüştür. Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı olan grupta kahve tüketimi ile bazı değişkenler arasındaki korelasyon incelendiğinde, total kolesterol ($r=0,174$; $p=0,03$) ve LDL kolesterol ($r=0,186$; $p=0,02$) düzeyi ile pozitif, ALP düzeyi ($r=-0,158$; $p=0,04$) ile negatif ilişki saptanmıştır (19).

Molloy ve arkadaşları, günlük total kafein alımının basit steatozlu bireylerde hem sağlıklı bireylere hem de NASH'li bireylere göre anlamlı derecede düşük

olduğunu saptamıştır. Kafein kaynağına göre değerlendirdiklerinde günlük filtre kahve ile alınan kafein miktarının NASH derecesi ile ters orantılı olduğunu göstermişlerdir. Total kafein alımı ile bazı değişkenler arasındaki korelasyon incelendiğinde ALT ($r=0,173$; $p=0,02$) ile pozitif korelasyon bulunurken, HOMA-IR ve fibroz derecesi arasındaki korelasyon anlamlı bulunmamıştır (20). Ruhl ve Everhart'ın çalışmasında ise, kafein tüketiminin artması daha düşük ALT yükselmesi riski ile ilişkili bulunmuştur (87). Bu çalışmada bireylerin günlük diyetle aldıkları toplam kafein miktarı ile ALT (Bkz. Şekil 4.8.), AST (Bkz. Şekil 4.9.) arasında pozitif, açlık plazma glikozu (Bkz. Şekil 4.10.) arasında negatif korelasyon saptanmıştır. Ayrıca bireylerin kafein alımları sınıflandırıldığında ALT ve AST düzeylerinin ≥ 250 mg/gün olan grupta diğer gruplara göre anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır ($p<0,05$) (Bkz. Tablo 4.22.). Bu çalışma popülasyonu basit steatoz, NASH ve fibrozlu bireylerin dahil olduğu NAYKH'lı bireylerden oluşmaktadır. Kahvenin/kafeinin enzimlerin düşürülmesindeki etkisinin karaciğer hasarı en yüksek olan hastalarda daha belirgin olduğu belirtilmektedir (140).

Zelber-Sagi ve arkadaşları, kahve tüketimi ile NAYKH başlangıcı arasında ilişki olmadığını ancak NAYKH'lı bireylerde günde 3 fincandan fazla kahve tüketiminin fibroz riskini (OR: 0,49, %95 CI: 0,25-0,97) azalttığını göstermişlerdir (21). Graeter ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada ($n=1223$), kafein tüketimi ile hepatik steatoz ve serum ALT düzeyi arasında herhangi bir ilişki bulunmamıştır (2). Shen ve arkadaşlarının yakın zamanda yaptığı bir meta analiz çalışmasında, total kafein alımının NAYKH prevalansı ve fibrozu ile ilişkili olmadığı ancak NAYKH'lı bireylerde filtre kahve ile alınan kafein miktarı ile fibrozun anlamlı derecede azaltılabileceği ifade edilmiştir (13).

Ratlarla yapılan bazı deneysel çalışmalarda karaciğer fibroz/siroz modellerinde kafein veya filtre kahvenin fibrozu azalttığı gösterilmiştir (94–98). Poyrazoğlu ve arkadaşlarının Türk kahvesi (filtrelenmemiş) ile yaptıkları çalışmada ise karaciğer fibrozunu azaltmadığı ve aminotransferaz seviyelerini artırdığı belirtilmiştir (99).

Bu çalışmada kafein alım miktarı sınıflandırılarak serum proteinleri düzeyi arasındaki ilişki incelenmiş ancak istatistiksel açıdan anlamlı ilişki bulunmamıştır ($p>0,05$) (Bkz. Tablo 4.23.). Antropometrik ölçümler değerlendirildiğinde ise vücut

yağ yüzdesinin kafein alım miktarı ≤ 150 mg/gün olan grupta 150-250 mg/gün olan gruba göre anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$) (Bkz. Tablo 4.21.). Kafein kaynaklarına göre bazı biyokimyasal ve serum proteinleri arasında ilişki saptanmıştır. Siyah demleme çay ile alınan günlük kafein miktarı ALT (Bkz. Şekil 4.11.) ve trigliserit düzeyi (Bkz. Şekil 4.13.) ile pozitif, LDL kolesterol düzeyi (Bkz. Şekil 4.12.) ile negatif korelasyon göstermiştir. Hazır kahve ile alınan günlük kafein miktarı ile GGT düzeyi arasında pozitif (Bkz. Şekil 4.14.), total bilirubin düzeyi arasında negatif korelasyon (Bkz. Şekil 4.15.) saptanmıştır. Kolalı içeceklerle alınan günlük kafein miktarı, kreatinin düzeyi ile pozitif korelasyon göstermiştir (Bkz. Şekil 4.16.). Bitter çikolata ile alınan günlük kafein miktarı ile HDL kolesterol düzeyi arasında pozitif (Bkz. Şekil 4.17.), serum CK18 düzeyi arasında negatif korelasyon (Bkz. Şekil 4.18.) bulunmuştur. Sütlü çikolata ile alınan günlük kafein miktarı ile total kolesterol düzeyi arasında negatif korelasyon (Bkz. Şekil 4.19.) saptanmıştır. Çikolatalı gofret ile alınan günlük kafein miktarı ile serum IL-6 düzeyi arasında pozitif korelasyon (Bkz. Şekil 4.20.) bulunmuştur.

Bu çalışmada kafein miktarları ve bazı biyokimyasal parametreler, serum proteinleri ve antropometrik ölçümler arasında önceki çalışmalardan farklılıklar bulunabilmektedir. Bu durumun örneklem sayısı, yaş ve cinsiyet dağılımları, kullanılan kit ve protokollerinin farklı olabilmesi, hastalığın farklı alt grupları ile çalışılması gibi nedenlerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

6.1. Sonuçlar

Bu çalışma, non-alkolik yağlı karaciğer hastalığında kafein tüketiminin serum CK18 proteini üzerine etkisini incelemek amacıyla planlanmış olup aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir;

1. Çalışmaya, uygun kriterleri karşılayan NAYKH tanısı almış, yaşları 19-64 yaş aralığında 20 kadın ve 20 erkek olmak üzere toplam 40 gönüllü birey dahil edilmiştir. Çalışmaya katılan erkek bireylerin yaş ortalaması $39,7 \pm 10,66$ yıl, kadınların $48,1 \pm 13,01$ yıldır. Erkeklerin %80'i kadınların ise %85'i evlidir. Erkeklerin %40'ı lise mezunu, kadınların %60'ı ilkokul mezunudur. Erkek bireylerin eğitim süresi $11,1 \pm 4,44$ yıl, kadınların ise $6,6 \pm 4,07$ yıldır. Erkeklerin %50'si serbest meslekle uğraşırken kadınların %80'i ev hanımıdır.
2. Bireylerin NAYKH tanısına ek olarak en az bir hastalık bulunma durumu erkeklerde %40 iken kadınlarda %80'dir ($p < 0,05$). Erkeklerin %10'unda kadınların ise %45'inde diyabet bulunmaktadır. Kadınlarda artrit, gut, romatizmal hastalıklar %15 oranında görülmekteyken erkeklerde hiç görülmemektedir ($p < 0,05$).
3. Erkeklerin %55'i kadınların %65'i hiç sigara içmemiştir. Günde içilen sigara sayısı erkeklerde $26,7 \pm 11,55$, kadınlarda $11,8 \pm 6,99$ 'dur ($p > 0,05$). Sigara içme süresi bırakan erkeklerde $20,7 \pm 14,53$ yıl, kadınlarda $9,7 \pm 9,23$ yıl, halen içen erkeklerde $12,3 \pm 2,52$ yıl, kadınlarda $19,5 \pm 4,93$ yıldır ($p > 0,05$).
4. Kadınların hiçbirisi alkol tüketmemekte, erkeklerin ise %10'u ayda bir kez tüketmektedir ($p > 0,05$).
5. Bireylerin günlük diyetle aldıkları toplam kafein miktarı ile yaşları arasında negatif korelasyon saptanmıştır ($r = -0,403$; $p = 0,013$).
6. Ana öğün sayısı erkek bireylerde $2,6 \pm 0,50$, kadınlarda $2,6 \pm 0,51$ 'dir. Ara öğün sayısı ise erkeklerde $1,8 \pm 0,80$, kadınlarda $1,9 \pm 0,68$ 'dir. Erkek ve kadınların %60'ı öğün atlamaktadır. Bireylerin en yüksek oranla öğle öğününü atladıkları (erkeklerde %75, kadınlarda %91,7) görülmüştür. Erkeklerin

%58,8'inin hafta içi ve hafta sonu öğün saatlerinin düzenli olmadığı, kadınların ise %60'ının hafta sonu düzenli olmadığı görülmektedir. Her iki grupta da genel beslenmelerini orta olarak değerlendiren bireylerin sayısı daha fazladır. Bireylerin cinsiyetlerine göre genel beslenme alışkanlıkları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

7. Erkeklerin günlük su tüketimi ($1297,1\pm838,80$ mL) ve diğer sıvı tüketimi ($819,7\pm567,24$ mL) kadınların su tüketimi ($992,5\pm496,64$ mL) ve diğer sıvı tüketimine ($734,5\pm188,63$ mL) kıyasla daha fazladır ($p>0,05$).
8. Erkek bireylerin %85'i kadınların %75'i düzenli egzersiz yapmamaktadır ($p>0,05$). Ortalama egzersiz süresi erkeklerde $33,3\pm5,77$ dk, kadınlarda $34,0\pm6,52$ dk'dır ($p>0,05$). Erkeklerin %76,5'i ve kadınların %50'si kendisini şişman görmektedir ($p>0,05$).
9. Erkek ve kadınlar arasında zayıf birey bulunmamaktadır. 1. dereceden obez olan bireyler erkek ve kadınlarda %40 ($n=8$) ile en yüksek orandadır ($p>0,05$).
10. Erkeklerin vücut ağırlığı $93,9\pm17,13$ kg, kadınların ise $80,8\pm17,07$ kg'dır ($p<0,05$). Erkeklerin BKİ değeri $32,4\pm4,69$ kg/m², kadınların $33,2\pm6,12$ kg/m²'dir ($p>0,05$). Erkeklerin bel/kalça oranı $1,0\pm0,06$, kadınların ise $0,9\pm0,07$ 'dir ($p<0,001$). Erkeklerin boyun çevresi $44,2\pm3,53$ cm, kadınların $39,5\pm3,78$ cm'dir ($p<0,001$). Erkeklerin BMH'ı $1944,6\pm268,87$ kkal, kadınların $1493,7\pm184,35$ kkal'dir ($p<0,001$). Erkeklerin vücut yağ yüzdesi $31,2\pm6,78$, kadınların $40,4\pm6,42$ 'dir ($p<0,001$).
11. Bireylerin antropometrik ölçümleri ve günlük diyetle aldıkları toplam kafein miktarı arasında istatistiksel açıdan önemli farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).
12. Bireylerin ALT, AST, GGT, LDL kolesterol, total kolesterol, trigliserit, açlık plazma glikozu düzeyi ortalamalarının referans değerinin üzerindedir. Tüm bireylerin HDL kolesterol düzeyi ortalamaları ise referans değerinin altındadır. Bireylerin ALP, kreatinin, total bilirubin, direkt bilirubin ve açlık insülin değerleri ortalamaları referans değer aralığında bulunmuştur.

13. Çalışmaya katılan tüm bireylerin BKİ sınıflamasına göre biyokimyasal bulguları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$).
14. HOMA-IR $<3,87$ ve HOMA-IR $\geq 3,87$ olan gruplar arasında LDL kolesterol düzeyi bakımından anlamlı farklılık saptanmıştır ($p<0,05$).
15. Bireylerin cinsiyetlerine göre karşılama yüzdeleri bakımından enerji, karbonhidrat, protein, yağ, kolesterol, E, B₁, B₆, B₁₂ vitamini, niasin, folik asit, sodyum, potasyum, kalsiyum, demir ve çinko arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$).
16. Erkek ve kadın bireylerde enerjiye olan katkısı en fazla olan besin grubu ekmektir. Her iki grupta da 2. sırada süt ve süt ürünleri gelmektedir. Enerjiye 3. sırada katkı sağlayan besin grubu erkeklerde katı ve sıvı yağlar, kadınlarda ise meyvelerdir.
17. Erkek ve kadınlar arasında serum TNF-alfa, IL-6 ve CK18 proteinleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$).
18. Bireylerin BKİ sınıflamasına göre serum TNF-alfa, IL-6 ve CK-18 düzeyleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$).
19. Bireylerin HOMA-IR gruplandırmasına göre serum TNF-alfa, IL-6 ve CK-18 düzeyleri arasında anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0,05$).
20. Bireylerin günlük diyetle aldıkları toplam kafein miktarları ve serum proteinleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p>0,05$).
21. Bireylerin açlık insülin ile serum TNF-alfa düzeyleri arasında ($r=0,513$; $p=0,004$), HOMA-IR ile serum TNF-alfa düzeyleri arasında ($r=0,381$; $p=0,042$), Total bilirubin ve serum CK18 düzeyleri arasında ($r=-0,451$; $p=0,010$), Direkt bilirubin ve serum CK18 düzeyleri arasında ($r=-0,400$; $p=0,023$), Boyun çevresi ve serum IL-6 düzeyi arasında ($r=0,371$; $p=0,031$), Vücut yağ yüzdesi ve serum CK18 düzeyi arasında ($r=0,510$; $p=0,002$) kuvvetli korelasyon bulunmuştur.

22. Hazır kahve ile alınan günlük kafein miktarı kadınlarda ($17,4 \pm 29,43$ mg) erkeklere ($5,8 \pm 11,92$ mg) kıyasla daha yüksektir ($p > 0,05$). Siyah demleme çay ile alınan günlük kafein miktarı ise erkeklerde ($179,1 \pm 145,11$ mg) kadınlara ($139,4 \pm 59,29$ mg) göre daha yüksektir ($p > 0,05$).
23. Hazır kahve ile alınan günlük kafein miktarının kadınlarda ($17,4 \pm 29,43$ mg) erkeklere ($5,8 \pm 11,92$ mg) kıyasla daha yüksek olduğu görülmektedir ($p > 0,05$). Siyah demleme çay ile alınan günlük kafein miktarı ise erkeklerde ($179,1 \pm 145,11$ mg) kadınlara ($139,4 \pm 59,29$ mg) göre daha yüksektir ($p > 0,05$). Diyetle alınan günlük toplam kafein miktarı erkeklerde ($260,8 \pm 215,66$ mg) kadınlara ($211,2 \pm 126,33$ mg) göre daha yüksektir ($p > 0,05$).
24. Erkek ve kadın bireylerde kafein alımı çoğunlukla içeceklerle sağlanmıştır. Erkek ve kadınlarda ilk sıradaki kafein kaynağı siyah demleme çaydır. Erkeklerde espresso kahve çeşitleri, kadınlarda ise hazır kahve 2. sıradaki kafein kaynağıdır. Erkeklerde soğuk kahve, kadınlarda Türk kahvesi ise kafein kaynakları arasında 3. sırada yer almaktadır.
25. Bireylerin BKİ değerlerine göre incelendiğinde toplam kafein alımı, en yüksek 1. dereceden obez ($278,1 \pm 217,87$ mg) olan gruptadır ($p > 0,05$).
26. Vücut yağ yüzdesinin kafein alım miktarı ≤ 150 mg/gün olan grupta 150-250 mg/gün olan gruba göre anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$).
27. ALT ve AST düzeylerinin kafein alım miktarı ≥ 250 mg/gün olan grupta diğer gruplara göre anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$). Bireylerin HDL kolesterol düzeyinin kafein alım miktarı 150-250 mg/gün olan grupta, ≥ 250 mg/gün olan gruba kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur ($p < 0,05$).
28. Kafein alım miktarları farklı olan gruplar arasında TNF-alfa, IL-6 ve CK-18 düzeyi arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p > 0,05$).
29. Bireylerin diyetle aldıkları günlük toplam kafein miktarı ile yaşları arasında ($r = -0,403$; $p = 0,013$) negatif korelasyon saptanmıştır.

30. Bireylerin diyetle aldıkları günlük toplam kafein miktarı ile ALT düzeyi arasında ($r=0,483$; $p=0,003$), AST düzeyi arasında ($r=0,351$; $p=0,039$), açlık plazma glikozu arasında ($r=-0,387$; $p=0,022$) korelasyon saptanmıştır.
31. Bireylerin günlük siyah demleme çay ile alınan kafein miktarı ile ALT düzeyi arasında ($r=0,378$; $p=0,025$), LDL düzeyi arasında ($r=-0,423$; $p=0,035$), trigliserit düzeyi arasında ($r=0,583$; $p=0,002$), günlük hazır kahve ile alınan kafein miktarı ile GGT düzeyi arasında ($r=0,508$; $p=0,002$), total bilirubin düzeyi arasında ($r=-0,352$; $p=0,041$), günlük kolalı içecekler ile alınan kafein miktarı ile kreatinin düzeyi arasında ($r=0,412$; $p=0,014$), günlük bitter çikolata ile alınan kafein miktarı ile HDL düzeyi arasında ($r=0,418$; $p=0,033$), serum CK18 düzeyi arasında ($r=-0,420$; $p=0,019$), günlük sütlü çikolata ile alınan kafein miktarı ile total kolesterol düzeyi arasında ($r=-0,406$; $p=0,044$), günlük çikolatalı gofret ile alınan kafein miktarı ile serum IL-6 düzeyi arasında ($r=0,755$; $p=0,000$) kuvvetli korelasyon saptanmıştır.

6.2. Öneriler

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı, basit steatozdan başlayarak siroz ve kansere kadar ilerleyebilen ciddi bir hastalıktır. Obezite ve metabolik sendromun diğer bileşenlerinin görülme sıklığına paralel olarak yaygınlaşmaktadır. Hastalığın en iyi tedavisi, diyet ve egzersizle yapılan yaşam tarzı değişikliğidir. Bu nedenle bireyler ideal vücut ağırlığına ulaştırılmalı, ağırlık kontrolünün sağlanması için yeterli ve dengeli beslenmenin önemi anlatılarak sağlıklı beslenme konusunda bilinçlendirilmelidir. Ayrıca bireyler, uzmanlar tarafından imkanları doğrultusunda düzenli egzersiz yapmaları için yönlendirilmelidir.

Sigara, tüm vücudumuza olduğu gibi karaciğere de ciddi zarar vermektedir. Bireylere sigara kullanımını bırakmaları konusunda destek verilmelidir. Aynı zamanda bireylere alkolün karaciğere verdiği hasar anlatılarak alkol kullanımını bırakmaları sağlanmalıdır.

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığında kafein tüketimi bireysel özellikler dikkate alınarak değerlendirilmelidir. Yüksek düzey kafein tüketen bireylerde kısıtlama yapılmalıdır. Kafein alım miktarı kadar kaynakları da önemlidir. Bireylere

enerji içeriği yüksek kafein içeren yiyecek ve içecekleri sınırlandırmaları gerektiği vurgulanmalıdır. Kafein tüketiminin NAYKH ile ilişkili parametrelere etkisinin netleşmesi açısından daha çok çalışmaya gereksinim duyulmaktadır.



7. KAYNAKLAR

1. Buzzetti E, Pinzani M, Tsochatzis EA. The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Metabolism*. 2016;65(8):1038–48.
2. Graeter T, Niedermayer PC, Mason RA, Oeztuerk S, Haenle MM, Koenig W, et al. Coffee consumption and NAFLD: a community based study on 1223 subjects. *BMC Res Notes. BioMed Central*; 2015;8:640.
3. Mikolasevic I, Milic S, Wensveen TT, Grgic I, Jakopcic I, Stimac D, et al. Nonalcoholic fatty liver disease - A multisystem disease? *World J Gastroenterol*. 2016;22(43):9488–505.
4. Day, C P, James, O F. Steatohepatitis: A Tale of Two “Hits”? *Gastroenterology*. 1998;114(4):842–5.
5. Day C. Pathogenesis of steatohepatitis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2002;16(5):663–78.
6. Feldstein AE, Canbay A, Angulo P, Taniai M, Burgart LJ, Lindor KD, et al. Hepatocyte apoptosis and Fas expression are prominent features of human nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology*. 2003;125(2):437–43.
7. Susca M, Grassi A, Zauli D, Volta U, Lenzi M, Marchesini G, et al. Liver inflammatory cells, apoptosis, regeneration and stellate cell activation in NASH. *Dig Liver Dis*. 2001;33:768–77.
8. Ueno T, Toi M, Linder S. Detection of epithelial cell death in the body by cytokeratin 18 measurement. *Biomed Pharmacother*. 2005;59(2):359–62.
9. Ku NO, Liao J, Omary MB. Apoptosis Generates Stable Fragments of Human Type I Keratins. *J Biol Chem. American Society for Biochemistry and Molecular Biology*; 1997;272(52):33197–203.
10. MacFarlane M, Merrison W, Dinsdale D, Cohen GM. Active caspases and cleaved cytokeratins are sequestered into cytoplasmic inclusions in trail-induced apoptosis. *J Cell Biol*. 2000 Mar 20;148(6):1239–54.
11. Caulín C, Salvesen GS, Oshima RG. Caspase cleavage of keratin 18 and reorganization of intermediate filaments during epithelial cell apoptosis. *J Cell Biol*. 1997;138(6):1379–94.
12. Bantel H, Ruck P, Gregor M, Schulze-Osthoff K. Detection of elevated caspase activation and early apoptosis in liver diseases. *Eur J Cell Biol*. 2001;80(3):230–9.
13. Shen H, Rodriguez, A C, Shiani A, Lipka S, Shahzad G, Kumar A, et al. Association between caffeine consumption and nonalcoholic fatty liver disease: A systemic review and meta-analysis. *Therap Adv Gastroenterol*. 2016;9(1):113–20.
14. Saab S, Mallam D, Cox GA, Tong MJ. Impact of coffee on liver diseases: A systematic review. *Liver Int*. 2014;34(4):495–504.
15. Gutierrez-Grobe Y, Chavez-Tapia N, Sanchez-Valle V, Gavilanes-Espinar JG, Ponciano-Rodriguez G, Uribe M, et al. High coffee intake is associated with

- lower grade nonalcoholic fatty liver disease: The role of peripheral antioxidant activity. *Ann Hepatol.* 2012;11(3):350–5.
16. Anty R, Marjoux S, Iannelli A, Patouraux S, Schneck AS, Bonnafous S, et al. Regular coffee but not espresso drinking is protective against fibrosis in a cohort mainly composed of morbidly obese European women with NAFLD undergoing bariatric surgery. *J Hepatol.* 2012;57(5):1090–6.
 17. Modi, A A, Feld, J J, Park Y, Kleiner, D E, Everhart, J E, Liang, T J, et al. Increased caffeine consumption is associated with reduces hepatic fibrosis. *Hepatology.* 2010;51(1):201–9.
 18. Birerdinc A, Stepanova M, Pawloski L, Younossi ZM. Caffeine is protective in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2012;35(1):76–82.
 19. Catalano D, Martines GF, Tonzuso A, Pirri C, Trovato FM, Trovato GM. Protective role of coffee in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Dig Dis Sci.* 2010;55(11):3200–6.
 20. Molloy JW, Calcagno CJ, Williams CD, Jones FJ, Torres DM, Harrison SA. Association of coffee and caffeine consumption with fatty liver disease, nonalcoholic steatohepatitis, and degree of hepatic fibrosis. *Hepatology.* 2012;55(2):429–36.
 21. Zelber-Sagi S, Salomone F, Webb M, Lotan R, Yeshua H, Halpern Z, et al. Coffee consumption and nonalcoholic fatty liver onset: A prospective study in the general population. *Transl Res.* 2015;165(3):428–36.
 22. Bambha K, Wilson LA, Unalp A, Loomba R, Neuschwander-Tetri BA, Brunt EM, et al. Coffee consumption in NAFLD patients with lower insulin resistance is associated with lower risk of severe fibrosis. *Liver Int.* 2014;34(8):1250–8.
 23. Feld JJ, Lavoie ÉG, Michel F, Dranoff JA. I drink for my liver, Doc: emerging evidence that coffee prevents cirrhosis. *F1000 Res.* 2015;4:95.
 24. Wang C, Wei Y, Zhang X, Zhang Y, Xu Q, Sun Y, et al. A randomized clinical trial of exercise during pregnancy to prevent gestational diabetes mellitus and improve pregnancy outcome in overweight and obese pregnant women. *Am J Obstet Gynecol.* 2017;216(4):340–51.
 25. Blachier M, Leleu H, Peck-Radosavljevic M, Valla DC, Roudot-Thoraval F. The burden of liver disease in Europe: a review of available epidemiological data. *J Hepatol.* 2013;58(3):593–608.
 26. Byrne CD, Targher G. NAFLD: A multisystem disease. *J Hepatol. European Association for the Study of the Liver;* 2015;62(1):S47–64.
 27. Ludwig J, Viggiano T, McGill D, Oh B. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. *Mayo Clin Proc.* 1980;55(7):434–8.
 28. Adinolfi LE, Durante-Mangoni E, Zampino R, Ruggiero G. Review article: Hepatitis C virus-associated steatosis - Pathogenic mechanisms and clinical implications. *Aliment Pharmacol Ther Suppl.* 2005;22(2):52–5.

29. Sonsuz A, Baysal B. Karaciğer Yağlanması ve Non Alkolik Steatohepatit. *Güncel Gastroenteroloji*. 2011;15(2):98–106.
30. Vernon G, Baranova A, Younossi ZM. Systematic review: The epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Aliment Pharmacol Ther*. 2011;34(3):274–85.
31. Fazel Y, Koenig AB, Sayiner M, Goodman ZD, Younossi ZM. Epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease. *Metabolism*. Elsevier Inc.; 2016;65(8):1017–25.
32. Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med*. 2002;346(16):1221–31.
33. Goh GB-B, McCullough AJ. Natural History of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Dig Dis Sci*. Springer US; 2016;61(5):1226–33.
34. Sertoglu E, Ercin CN, Celebi G, Gurel H, Kayadibi H, Genc H, et al. The relationship of serum uric acid with non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Biochem*. The Canadian Society of Clinical Chemists; 2014;47:383–8.
35. Yüksel F, Türkkan D, Yüksel I, Kara S, Çelik N, Şamdanci ET. Fatty liver disease in an autopsy series of children and adolescents. *Hippokratia*. 2012;16(1):61–5.
36. Musso G, GAMBINO R, BO S, UBERTI B, BIROLI G, PAGANO G, et al. Should Nonalcoholic Fatty Liver Disease Be Included in the Definition of Metabolic Syndrome? A cross-sectional comparison with Adult Treatment Panel III criteria in nonobese nondiabetic subjects. *Diabetes Care*. 2008;31(3):562–8.
37. Neuschwander-Tetri B. Non-alcoholic fatty liver disease. *BMC Med*. BMC Medicine; 2017;15(1):45.
38. Clark JM, Brancati FL, Diehl AM. Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology*. 2002;122:1649–57.
39. Radu C, Grigorescu M, Crisan D, Lupșor M, Constantin D, Dina L. Prevalence and associated risk factors of non-alcoholic fatty liver disease in hospitalized patients. *J Gastrointest Liver Dis*. 2008;17(3):255–60.
40. Kwok R, Choi KC, Wong GL-H, Zhang Y, Chan HL-Y, Luk a. O-Y, et al. Screening diabetic patients for non-alcoholic fatty liver disease with controlled attenuation parameter and liver stiffness measurements: a prospective cohort study. *Gut*. 2016;65:1359–68.
41. Grundy SM, Cleeman JI, Bairey Merz CN, Brewer HB, Clark LT, Hunninghake DB, et al. Implications of Recent Clinical Trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III guidelines. *Circulation*. 2004;110(2):227–39.
42. Bayrakçı B, Günşar F. Nonalkolik Steatohepatit. *Güncel Gastroenteroloji*. 2005;9(2):167–76.
43. Kara M, Erdal M. Sıklığı Artan Bir Halk Sağlığı Sorunu: Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı. *TAF Prev Med Bull*. 2014;13(1):65–76.

44. Schreuder TC, Verwer BJ, van Nieuwkerk CM, Mulder CJ. Nonalcoholic fatty liver disease: an overview of current insights in pathogenesis, diagnosis and treatment. *World J Gastroenterol*. 2008;14(16):2474–86.
45. Reid AE. Nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology*. W.B. Saunders; 2001 Sep 1;121(3):710–23.
46. Diehl AM, Poordad F. Nonalcoholic Fatty Liver Disease. In: Feldman M, Friedman L, Sleisenger M, editors. *Gastrointestinal and Liver Disease*. Philadelphia: WB Saunders Company; 2002. p. 1393–401.
47. Kumar KS, Malet PF. Nonalcoholic Steatohepatitis. *Mayo Clin Proc*. Mayo Foundation for Medical Education and Research; 2000;75:733–9.
48. Oh MK, Winn J, Poordad F. Review article: Diagnosis and treatment of non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2008;28(5):503–22.
49. Neuschwander-Tetri BA. Nonalcoholic steatohepatitis and the metabolic syndrome. *Am J Med Sci*. 2005;330(6):326–35.
50. Sonsuz A. Nonalkolik Karaciğer Yağlanması. In: İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri. 2007. p. 91–8.
51. Younossi ZM. Review article: Current management of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2008;28(1):2–12.
52. Brunt EM. Pathology of steatohepatitis. *Bailliere's Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2002;16(5):691–707.
53. Brunt EM. Nonalcoholic steatohepatitis: definition and pathology. *Semin Liver Dis*. 2001;21(1):3–16.
54. Ekstedt M, Franzén LE, Mathiesen UL, Thorelius L, Holmqvist M, Bodemar G, et al. Long-term follow-up of patients with NAFLD and elevated liver enzymes. *Hepatology*. 2006;44(4):865–73.
55. Matteoni C, Younossi Z, Gramlich T, Boparai N, Liu Y, McCullough A. Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology*. 1999;116(6):1413–9.
56. Adams LA, Sanderson S, Lindor KD, Angulo P. The histological course of nonalcoholic fatty liver disease: A longitudinal study of 103 patients with sequential liver biopsies. *J Hepatol*. 2005;42(1):132–8.
57. Schwenger KJP, Allard JP. Clinical approaches to non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2014;20(7):1712–23.
58. Acay A. Non Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığında Güncel Medikal Tedavi. *Kocatepe Tıp Derg*. 2015;16:67–76.
59. Yalçın M, Bengi G, Akarsu M. Non-Alkolik Steatohepatit. *Güncel Gastroenteroloji*. 2014;18(2):232–43.
60. Çolak Y, Tuncer İ. NONALKOLİK KARACİĞER YAĞLANMASI VE STEATOHEPATİT. *İstanbul Tıp Fakültesi Derg*. 2010;73(3):85–91.
61. McCarthy EM, Rinella ME. The Role of Diet and Nutrient Composition in

- Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *J Acad Nutr Diet*. Elsevier; 2012;112(3):401–9.
62. Kugelmas M, Hill DB, Vivian B, Marsano L, McClain CJ. Cytokines and NASH: A pilot study of the effects of lifestyle modification and vitamin E. *Hepatology*. 2003;38(2):413–9.
 63. Hickman IJ, Jonsson JR, Prins JB, Ash S, Purdie DM, Clouston AD, et al. Modest weight loss and physical activity in overweight patients with chronic liver disease results in sustained improvements in alanine aminotransferase, fasting insulin, and quality of life. *Gut*. 2004;53(3):413–9.
 64. Kukla M, Zwirska-Korczala K, Hartleb M, Waluga M, Chwist A, Kajor M, et al. Serum chemerin and vaspin in non-alcoholic fatty liver disease. *Scand J Gastroenterol*. 2010;45(2):235–42.
 65. Sanyal AJ. Insulin resistance and nonalcoholic steatohepatitis: Fat or fiction? *Am J Gastroenterol*. 2001;96(2):274–6.
 66. Sanyal AJ. AGA technical review on nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2002;123(5):1705–25.
 67. Musso G, Gambino R, De Michieli F, Cassader M, Rizzetto M, Durazzo M, et al. Dietary habits and their relations to insulin resistance and postprandial lipemia in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 2003;37(4):909–16.
 68. Rusu E, Enache G, Jinga M, Dragut R, Nan R, Popescu H, et al. Medical nutrition therapy in non-alcoholic fatty liver disease – a review of literature. *J Med Life*. 2015;8(3):258–62.
 69. Klein S, Mittendorfer B, Eagon JC, Patterson B, Grant L, Feirt N, et al. Gastric Bypass Surgery Improves Metabolic and Hepatic Abnormalities Associated With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology*. 2006;130(6):1564–72.
 70. Dixon JB, Bhathal PS, Hughes NR, O'Brien PE. Nonalcoholic fatty liver disease: Improvement in liver histological analysis with weight loss. *Hepatology*. 2004;39(6):1647–54.
 71. Fulgoni VL, Keast DR, Lieberman HR. Trends in intake and sources of caffeine in the diets of US adults: 2001-2010. *Am J Clin Nutr*. 2015;101(5):1081–7.
 72. Evatt, D P, Griffiths, R R. Caffeine. *Encycl Hum Nutr*. 2013;2:221–7.
 73. McLellan TM, Caldwell JA, Lieberman HR. A Review of Caffeine's Effects on Cognitive, Physical and Occupational Performance. *Neurosci Biobehav Rev*. 2016;71:294–312.
 74. Tran NL, Barraij LM, Bi X, Jack MM. Trends and patterns of caffeine consumption among US teenagers and young adults, NHANES 2003-2012. *Food Chem Toxicol*. 2016;94:227–42.
 75. Revelle W, Condon DM, Wilt J. Caffeine. In: Ramachandran VS, editor. *Encyclopedia of Human Behavior (Second Edition)*. Academic Press; 2012. p. 423–9.
 76. Ahluwalia N, Herrick K, Moshfegh A, Rybak M. Caffeine intake in children in

- the United States and 10-y trends: 2001-2010. *Am J Clin Nutr.* 2014 Oct 1;100(4):1124–32.
77. Türkiye Beslenme ve Sağlık Araştırması 2010. Ankara: T.C. Sağlık Bakanlığı; 2014.
 78. Köksal E, Yardımcı H, Kocaadam B, Deniz Güneş B, Yılmaz B, Karabudak E. Relationship between dietary caffeine intake and blood pressure in adults. *Int J Food Sci Nutr.* 2017;68(2):1–7.
 79. EFSA NDA Panel (EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies). Scientific Opinion on the Safety of Caffeine. Vol. 13, *The EFSA Journal.* 2015.
 80. Nawrot P, Jordan S, Eastwood J, Rotstein J, Hugenholtz a, Feeley M. Effects of caffeine on human health. *Food Addit Contam.* 2003;20(1):1–30.
 81. Rotstein J, Barber J, Strowbridge C, Hayward S, Huang R, Benrejeb Godefroy S. Energy Drinks: An Assessment of the Potential Health Risks in the Canadian Context. *Int Food Risk Anal J.* 2013;3(5):1–29.
 82. Health Canada. Caffeine in Food. [Internet]. 2012. Available from: <http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/securit/addit/caf/food-caf-aliments-eng.php>
 83. de Mejia EG, Ramirez-Mares MV. Impact of caffeine and coffee on our health. *Trends Endocrinol Metab.* Elsevier Ltd; 2014;25(10):489–92.
 84. DSM-IV Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorder. 4th ed. American Psychiatric Organization. 2000. 1-915 p.
 85. Casiglia E, Spolaore P, Inocchio G, Ambrosio B. Unexpected effects of coffee consumption on liver enzymes. *Eur J Epidemiol.* 1993;9(3):293–7.
 86. Honjo S, Kono S, Coleman MP, Shinci K, Sakurai Y, Todoroki I, et al. Coffee drinking and serum gamma-glutamyltransferase: An extended study of self-defense officials of Japan. *Ann Epidemiol.* 1999;9(5):325–31.
 87. Ruhl CE, Everhart JE. Coffee and caffeine consumption reduce the risk of elevated serum alanine aminotransferase activity in the United States. *Gastroenterology.* 2005;128(1):24–32.
 88. Chen S, Teoh NC, Chitturi S, Farrell GC. Coffee and non-alcoholic fatty liver disease: Brewing evidence for hepatoprotection? *J Gastroenterol Hepatol.* 2014;29(3):435–41.
 89. Belibi FA, Wallace DP, Yamaguchi T, Christensen M, Reif G, Grantham JJ. The Effect of Caffeine on Renal Epithelial Cells from Patients with Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease. *J Am Soc Nephrol.* 2002;13(11):2723–9.
 90. Duncan MR, Frazier KS, Abramson S, Williams S, Klapper H, Huang X, et al. Connective tissue growth factor mediates transforming growth factor beta-induced collagen synthesis: down-regulation by cAMP. *FASEB J.* 1999;13:1774–86.
 91. George J, Tsutsumi M. siRNA-mediated knockdown of connective tissue growth factor prevents N-nitrosodimethylamine-induced hepatic fibrosis in rats. *Gene Ther.* 2007;14(10):790–803.

92. Gressner OA, Lahme B, Rehbein K, Siluschek M, Weiskirchen R, Gressner AM. Pharmacological application of caffeine inhibits TGF- β -stimulated connective tissue growth factor expression in hepatocytes via PPAR γ and SMAD2/3-dependent pathways. *J Hepatol. European Association for the Study of the Liver*; 2008;49(5):758–67.
93. Li G, Xie Q, Shi Y, Li D, Zhang M, Jiang S, et al. Inhibition of connective tissue growth factor by siRNA prevents liver fibrosis in rats. *J Gene Med*. 2006;8(7):889–900.
94. Moreno MG, Chavez E, Aldaba-Muruato LR, Segovia J, Vergara P, Tsutsumi V, et al. Coffee prevents CCl₄-induced liver cirrhosis in the rat. *Hepatol Int*. 2011;5(3):857–63.
95. Shin JW, Wang JH, Kang JK, Son CG. Experimental evidence for the protective effects of coffee against liver fibrosis in SD rats. *J Sci Food Agric*. 2010;90(3):450–5.
96. Shim SG, Jun DW, Kim EK, Saeed WK, Lee KN, Lee HL, et al. Caffeine attenuates liver fibrosis via defective adhesion of hepatic stellate cells in cirrhotic model. *J Gastroenterol Hepatol*. 2013;28(12):1877–84.
97. Arauz J, Moreno MG, Cortés-Reynosa P, Salazar EP, Muriel P. Coffee attenuates fibrosis by decreasing the expression of TGF- β and CTGF in a murine model of liver damage. *J Appl Toxicol*. 2013;33(9):970–9.
98. Furtado KS, Prado MG, Aguiar e Silva MA, Dias MC, Rivelli DP, Rodrigues MAM, et al. Coffee and Caffeine Protect against Liver Injury Induced by Thioacetamide in Male Wistar Rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2012;111(5):339–47.
99. Poyrazoglu OK, Bahcecioglu IH, Ataseven H, Metin K, Dagli AF, Yalniz M, et al. Effect of unfiltered coffee on carbon tetrachloride-induced liver injury in rats. *Inflammation*. 2008;31(6):408–13.
100. Pablo J, Hernández-rocha C, Morales C, Ignacio J, Solís N, Pizarro M, et al. Serum cytokeratin-18 fragment levels as noninvasive marker of nonalcoholic steatohepatitis in the chilean population. *Gastroenterol Hepatol. Elsevier España, S.L.U., AEEH and AEG*; 2017;40(6):388–94.
101. Mandelia C, Collyer E, Mansoor S, Lopez R, Lappe S, Nobili V, et al. Plasma Cytokeratin-18 Level As a Novel Biomarker for Liver Fibrosis in Children With Nonalcoholic. *Hepatology*. 2016;63(2):181–7.
102. Maher MM, Ibrahim WA, Saleh SA, Shash L, Abou H, Tarif M, et al. Cytokeratin 18 as a non invasive marker in diagnosis of NASH and its usefulness in correlation with disease severity in Egyptian patients. *Egypt J Med Hum Genet. Production and hosting by Elsevier B.V.*; 2015;16(1):41–6.
103. Shen J, Chan HL, Wong GL, Choi PC, Chan AW, Chan H, et al. Non-invasive diagnosis of non-alcoholic steatohepatitis by combined serum biomarkers. *J Hepatol. European Association for the Study of the Liver*; 2012;56(6):1363–70.
104. El Bassat H, Ziada DH, Hasby EA, Nagy H, Abo MH. Apoptotic and anti-apoptotic seromarkers for assessment of disease severity of non-alcoholic

- steatohepatitis. Arab J Gastroenterol. Arab Journal of Gastroenterology; 2014;15(1):6–11.
105. Tamimi TIA, Elgouhari HM, Alkhouri N, Yerian LM, Berk MP, Lopez R, et al. An apoptosis panel for nonalcoholic steatohepatitis diagnosis. J Hepatol. European Association for the Study of the Liver; 2011;54(6):1224–9.
 106. Rosso C, Paolo G, Lorena M, Vanni E, Mezzabotta L, Antonio G, et al. Cytokeratin 18-Aspartate396 apoptotic fragment for fibrosis detection in patients with non-alcoholic fatty liver disease and chronic viral hepatitis. Dig Liver Dis. Editrice Gastroenterologica Italiana; 2016;48(1):55–61.
 107. Rakıcıoğlu N, Tek NA, Ayaz A, Pekcan G. Yemek ve Besin Fotoğraf Katoloğu Ölçü ve Miktarlar. 7. Ankara: Merdiven Reklam Tanıtım; 2017.
 108. BeBİS (Beslenme Bilgi Sistemi) Bilgisayar Yazılım Programı Versiyon 8. 2017.
 109. Besler HT, Rakıcıoğlu N, Ayaz A, Büyüktuncer-Demirel Z, Gökmen-Özel H, Eroğlu-Samur G, et al. Türkiye’ye özgü besin ve beslenme rehberi. 1st ed. Ankara; 2015.
 110. Pekcan G. Beslenme Durumunun Saptanması. In: Diyet El Kitabı. 6th ed. Ankara: Hatiboğlu Yayınevi; 2011. p. 67–142.
 111. WHO. Obesity: preventing and managing the global epidemic. [Internet]. WHO Technical Report Series No:894. Geneva; 2000. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11234459>
 112. Fan S, Yang B, Zhi X, He J, Ma P, Yu L, et al. Neck circumference associated with arterial blood pressures and hypertension: A cross-sectional community-based study in northern Han Chinese. Springer US; 2017.
 113. WHO. Waist Circumference and Waist-Hip Ratio: Report of a WHO Expert Consultation. World Health Organization. Geneva; 2008.
 114. Esteghamati A, Ashraf H, Khalilzadeh O, Zandieh A, Nakhjavani M, Rashidi A, et al. Optimal cut-off of homeostasis model assessment of IR (HOMA-IR) for the diagnosis of metabolic syndrome: third national surveillance of risk factors of non-communicable diseases in Iran (SuRFNCD-2007). Nutr Metab (Lond). 2010;7(26):1–8.
 115. WHO. Estimates for 2000-2015 [Internet]. 2016 [cited 2017 Dec 24]. Available from: http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/estimates/en/index1.html
 116. WHO. Projections of mortality and causes of death, 2015 and 2030 [Internet]. 2013 [cited 2017 Dec 24]. Available from: http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/projections/en/
 117. T.C. Sağlık Bakanlığı. Türkiye Kronik Hastalıklar ve Risk Faktörleri Sıklığı Çalışması. Ankara; 2013.
 118. Adams LA, Lymp JF, St. Sauver J, Sanderson SO, Lindor KD, Feldstein A, et al. The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: A population-based

- cohort study. *Gastroenterology*. 2005;129(1):113–21.
119. İstatistiklerle Kadın, 2016 [Internet]. Türkiye İstatistik Kurumu. 2017 [cited 2017 Jan 1]. Available from: <http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=24643>.
 120. Caballería L, Pera G, Auladell MA, Torán P, Muñoz L, Miranda D, et al. Prevalence and factors associated with the presence of nonalcoholic fatty liver disease in an adult population in Spain. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2010;22(1):24–32.
 121. T.C. Sağlık Bakanlığı. Küresel Yetişkin Tütün Araştırması Türkiye 2012. Ankara; 2014.
 122. Information sheet: global recommendations on physical activity for health 18 - 64 years old [Internet]. [cited 2017 Dec 25]. Available from: http://www.who.int/dietphysicalactivity/publications/recommendations18_64yearsold/en/
 123. Zelber-sagi S, Nitzan-kaluski D, Goldsmith R, Webb M, Zvibel I, Goldiner I, et al. Role of Leisure-Time Physical Activity in Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Population-Based Study. *Hepatology*. 2008;48(6):1791–8.
 124. Marchesini G, Brizi M, Bianchi G, Tomassetti S, Bugianesi E, Lenzi M, et al. Nonalcoholic fatty liver disease: A feature of the metabolic syndrome. *Diabetes*. 2001;50(8):1844–50.
 125. Li Q, Wang N, Han B, Chen Y, Zhu C, Chen Y, et al. Neck circumference as an independent indicator to non-alcoholic fatty liver disease in non-obese men. *Nutr Metab (Lond)*. *Nutrition & Metabolism*; 2015;12(63):1–8.
 126. Du T, Sun X, Yuan G, Zhou X, Lu H, Lin X, et al. Lipid phenotypes in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism*. 2016;65(9):1391–8.
 127. Solga S, Alkhuraishe A, Clark J, Torbenson M, Greenwald A, Diehl A, et al. Dietary composition and nonalcoholic fatty liver disease. *Dig Dis Sci*. 2004;49(10):1578–83.
 128. Ueno T, Sugawara H, Sujaku K, Hashimoto O, Tsuji R, Tamaki S, et al. Therapeutic effects of restricted diet and exercise in obese patients with fatty liver. *J Hepatol*. 1997;27(1):103–7.
 129. Okita M, Hayashi M, Sasagawa T, Takagi K, Suzuki K, Kinoyama S, et al. Effect of a moderately energy-restricted diet on obese patients with fatty liver. *Nutrition*. 2001;17(7–8):542–7.
 130. Wang D, Wei Y, Pagliassotti MJ. Saturated fatty acids promote endoplasmic reticulum stress and liver injury in rats with hepatic steatosis. *Endocrinology*. 2006;147(2):943–51.
 131. Dongiovanni P, Lanti C, Riso P, Valenti L. Nutritional therapy for nonalcoholic fatty liver disease. *J Nutr Biochem*. Elsevier Inc.; 2016;29:1–11.
 132. Wieckowska A, Zein NN, Yerian LM, Lopez AR, McCullough AJ, Feldstein AE. In vivo assessment of liver cell apoptosis as a novel biomarker of disease severity in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2006;44(1):27–33.

133. Pablo J, Hernández-rocha C, Morales C, Ignacio J, Solís N, Pizarro M, et al. Serum cytokeratin-18 fragment levels as noninvasive marker of nonalcoholic steatohepatitis in the chilean population. *Gastroenterol Hepatol*. 2017;40(6):388–94.
134. El-Sherbiny WA, Farag RE-S, El-Baiomy AAE-B, El-Erian RA. Relation of cytokeratin 18-Apoptosense M30 to activity and fibrosis in chronic HCV patients. *Egypt J Basic Appl Sci*. Elsevier Ltd; 2015;2(3):153–8.
135. Leung JC-F, Loong TC-W, Wei JL, Wong GL-H, Chan AW-H, Choi PC-L, et al. Histological severity and clinical outcomes of nonalcoholic fatty liver disease in nonobese patients. *Hepatology*. 2017;65(1):54–64.
136. Alkhoury N, McCullough AJ. Noninvasive diagnosis of NASH and liver fibrosis within the spectrum of NAFLD. *Gastroenterol Hepatol*. 2012;8(10):661–8.
137. JARRAR MH, BARANOVA A, COLLANTES R, RANARD B, STEPANOVA M, BENNETT C, et al. Adipokines and cytokines in non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2007;27(5):412–21.
138. Wieckowska A, Papouchado BG, Li Z, Lopez R, Zein NN, Feldstein AE. Increased hepatic and circulating interleukin-6 levels in human nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol*. 2008;103(6):1372–9.
139. Abiru S, Migita K, Maeda Y, Daikoku M, Ito M, Ohata K, et al. Serum cytokine and soluble cytokine receptor levels in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Liver Int*. 2006;26(1):39–45.
140. Wadhawan M, Anand AC. Coffee and Liver Disease. *J Clin Exp Hepatol*. INASL; 2016;6(1):40–6.

8. EKLER

EK 1: Aydınlatılmış Onam Formu

ARAŞTIRMA AMAÇLI ÇALIŞMA İÇİN AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU

(Hekimin Açıklaması)

Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığıyla ilgili yeni bir araştırma yapmaktayız. Araştırmanın ismi “Nonalkolik Yağlı Karaciğer Hastalığında Kafein Tüketiminin Serum CK18 Proteini Üzerine Etkisi”dir.

Sizin de bu araştırmaya katılmanızı öneriyoruz. Ancak hemen söyleyelim ki bu araştırmaya katılıp katılmamakta serbestsiniz. Çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Kararınızdan önce araştırma hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız.

Bu araştırmayı yapmak istememizin nedeni, nonalkolik yağlı karaciğer hastalığının kronik karaciğer hastalıklarının en yaygın nedenlerinden biri olmasıdır. Bu araştırmayla kafein tüketiminin NAYKH tanısı almış bireylerde serum CK18 düzeyine ve hastalıkla ilişkili bazı biyokimyasal parametrelere etkisini saptamayı amaçlamaktayız. Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi Gastroenteroloji Bölümü ve Hacettepe Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü’nün ortak katılımı ile gerçekleştirilecek bu çalışmaya katılımınız araştırmanın başarısı için önemlidir.

Eğer araştırmaya katılmayı kabul ederseniz Uzm. Dr. Evrim Kahramanoğlu Aksoy veya onun görevlendireceği bir hekim tarafından muayene edileceksiniz ve bulgular kaydedilecektir. Muayene sonucunda doktorunuz uygun görürse bu çalışmaya alınacaksınız. Yine izniniz doğrultusunda bu çalışmayı yapabilmek için kolunuzdan 10-20 ml (1-2 tüp) kadar kan almamız gerekmektedir. Alınan kanda alanin aminotransferaz (ALT), asetil aminotransferaz (AST), alkalen fosfataz (ALP), gamaglutamiltransferaz (GGT), total bilirubin, direkt bilirubin, açlık plazma glikozu, TNF-alfa, IL-6 ve CK18 gibi maddelerin miktarı ölçülecektir. Görüşme sırasında Dyt. Kübra Uçar tarafından boy uzunluğu, vücut ağırlığı, bel, kalça ve boyun çevresi ile vücut yağ ve kas oranı ölçümü yapılacaktır. Genel bilgiler, beslenme alışkanlıkları ve fiziksel aktivite durumunu değerlendirmeye yönelik bir anket Dyt. Kübra Uçar

tarafından yüzyüze uygulanacaktır. Görüşme sırasında 24 saatlik geriye dönük besin tüketim kaydı alınacak, hem kafeine hem de tüm besinlere yönelik besin tüketim sıklığı anketi uygulanacaktır.

Kan alınması sırasında oluşabilecek riskler: 1-) İğne batmasına bağlı olarak az bir acı duyabilirsiniz. 2-) Az bir ihtimal de olsa iğne batması sonrasında kanamanın uzaması veya enfeksiyon riski vardır.

Bu çalışmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret istenmeyecektir. Çalışmaya katıldığınız için size ek bir ödeme de yapılmayacaktır.

Sizinle ilgili tıbbi bilgiler gizli tutulacak, ancak çalışmanın kalitesini denetleyen görevliler, etik kurullar ya da resmi makamlarca gereği halinde incelenebilecektir.

Bu çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Bu araştırmaya katılmak tamamen isteğe bağlıdır ve reddettiğiniz takdirde size uygulanan tedavide herhangi bir değişiklik olmayacaktır. Yine çalışmanın herhangi bir aşamasında onayınızı çekmek hakkına da sahipsiniz.

(Katılımcının/Hastanın Beyanı)

Sayın Uzm. Dr. Evrim Kahramanoğlu Aksoy tarafından Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi Gastroenteroloji Bölümü ve Hacettepe Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü’nde tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya “katılımcı” olarak davet edildim.

Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılacağına inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağının bilincindeyim) Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Uzm. Dr. Evrim Kahramanoğlu Aksoy’u (0312) 356 90 00 (iş) veya 0533 212 1579 (cep) no’lu telefonlardan ve Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi Gastroenteroloji Bölümü adresinden veya Yrd. Doç. Dr. Zeynep Göktaş’ı 0312 305 1094 (iş) veya 0543 253 7108 (cep) no’lu telefonlardan ve HÜSBF Beslenme ve Diyetetik Bölümü adresinden arayabileceğimi biliyorum.

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde “katılımcı” olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

Katılımcı	Görüşme tanığı	Katılımcı ile görüşen hekim
Adı, soyadı:	Adı, soyadı:	Adı soyadı, ünvanı:
Adres:	Adres:	Adres:
Tel:	Tel:	Tel:
İmza:	İmza:	İmza:

EK 2: Etik Kurul Onayı



T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 16969557 -612

Konu : ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU

Toplantı Tarihi : 04 NİSAN 2017 SALI
Toplantı No : 2017/09
Proje No : GO 17/309 (Değerlendirme Tarihi: 04.04.2017)
Karar No : GO 17/309- 09

Üniversitemiz Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü öğretim üyelerinden Yrd. Doç. Dr. Zeynep GÖKTAŞ' ın sorumlu araştırmacı olduğu, Uzm. Dr. Evrim Kahramanoğlu AKSOY ile birlikte çalışacakları ve Dyt. Kübra UÇAR' ın yüksek lisans tezi olan, GO 17/309 kayıt numaralı, "Nonalkolik Yağlı Karaciğer Hastalığında Kafein Tüketiminin Serum CK18 Proteinini Üzerine Etkisi" başlıklı proje önerisi araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup, etik açıdan uygun bulunmuştur.

- | | |
|---|--|
| 1. Prof. Dr. Nurten AKARSU (Başkan) | 10. Prof. Dr. Oya Nuran EMİROĞLU (Üye) |
| 2. Prof. Dr. Sevdâ F. MÜFTÜOĞLU (Üye) | 11. Yrd. Doç. Dr. Özay GÖKÖZ (Üye) |
| 3. Prof. Dr. M. Yıldırım SARA (Üye) | 12. Doç. Dr. Gözde GİRGİN (Üye) |
| 4. Prof. Dr. Necdet SAĞLAM (Üye) | 13. Doç. Dr. Fatma Visal OKUR (Üye) |
| 5. Prof. Dr. Hatice Doğan BUZOĞLU (Üye) | 14. Yrd. Doç. Dr. Can Ebru KURT (Üye) |
| 6. Prof. Dr. R. Köksal ÖZGÜL (Üye) | İZİMLİ
15. Yrd. Doç. Dr. H. Hüsrev TURNAGÖL (Üye) |
| 7. Prof. Dr. Ayşe Lale DOĞAN (Üye) | 16. Öğr. Gör. Dr. Müge DEMİR (Üye) |
| İZİMLİ | |
| 8. Prof. Dr. Elmas Ebru YALÇIN (Üye) | 17. Öğr. Gör. Meltem ŞENGEL (Üye) |
| 9. Prof. Dr. Mintaze Kerem GÜNEL (Üye) | 18. Av. Meltem ONURLU (Üye) |

EK 3: Araştırmada Kullanılan Anket Formu

ANKETÖR KODU:
Tarih: :...../...../2017

ANKET NO:

NON-ALKOLİK YAĞLI KARACİĞER HASTALIĞINDA KAFEİN TÜKETİMİNİN İNCELENMESİ

I. GENEL BİLGİLER

- Yaş (yıl):
- Cinsiyet: 1. Erkek 2. Kadın
- Boy:cm Ağırlık:kg
- Medeni durumu: 1. Evli 2. Bekar 3. Boşanmış/ Dul
- Eğitim durumu: 1. Okuryazar 2. İlkokul mezunu 3. Ortaokul mezunu
4. Lise mezunu 5. Üniversite mezunu 6. Yüksek lisans
ve doktora
- Eğitim süresi: (yıl)
- Meslek: 1. Ev hanımı 2. Serbest meslek 3. Memur 4. İşçi 5. Emekli
6. Öğrenci 7. Diğer.....
- Hekim tarafından tanısı konulmuş beslenme ilintili kronik sağlık
sorununuz/hastalığınız var mı? 1. Yok 2. Var
(belirtiniz.....)
- Sigara kullanıyor musunuz? 1. Hayır hiç içmedim 2. İçtim bıraktım
3. Halen içiyorum Adet:.....adet/gün Toplam sigara içme süresi:.....yıl
(içip bırakan ve halen içenler için)
- Alkol kullanıyor musunuz? 1. Hayır 2. Evetkez (gün/
hafta/ ay/yıl) Bir seferde tüketilen miktar (mL) Genellikle
tüketilen alkolün türü:.....

II. BESLENME ALIŞKANLIKLARI

- Günde kaç öğün yemek yersiniz? 1. Ana öğün:..... 2. Ara öğün:.....
- Ana öğünleri (*sabah, öğle, akşam*) atlar mısınız? 1. Hayır 2. Evet
3. Bazen
- Yanıt Evet ve Bazen ise; Genellikle hangi öğünü atlıyorsunuz? 1. Sabah 2.Öğle
3. Akşam
- Öğün saatleriniz düzenli midir? Hafta içi: 1.Hayır 2. Evet Hafta
Sonu: 1. Hayır 2. Evet
- Öğün saatlerinizi belirtiniz: Sabah..... Öğle.....
Akşam.....

16. Besin desteği (vitamin, mineral, bitkisel, omega 3 vb.) kullanıyor musunuz?
(Son 1 ay düşünölecek) 1. Hayır 2. Evet (Adı
nedir?.....) 3. Bilmiyorum
17. Uyguladığınız özel bir diyet var mı? 1. Evet (Diyetin
adı:.....
Diyeti kim önerdi?.....) 2. Hayır
18. Genel olarak beslenmenizi nasıl değeriendirirsiniz?
1. Çok iyi 2. İyi 3. Orta 4. Kötü 5. Çok kötü

III. FİZİKSEL AKTİVİTE DURUMU

19. Düzenli spor/egzersiz yapıyor musunuz? (Son bir hafta içinde en az 3 kez
günde 30 dakika ve üzeri süre aktivite yaptınız mı?)
1. Hayır 2. Evet Egzersiz/spor türü: Süresi (dakika/gün):
.....
20. Son 6 ayda vücut ağırlığınızda bir değerişiklik oldu mu?
1. Hayır, değerişme olmadı 2.Evet Arttı (kg):..... Azaldı (kg)..... 3.
Bilmiyorum
21. Şimdiki kilonuzu/vücut ağırlığınızı nasıl değeriendiriyorsunuz?
1.Çok zayıf 2. Zayıf 3. Normal 4. Şişman 5. Çok
şişman

IV. 24 SAATLİK GERİYE DÖNÜK BESİN TÜKETİM KAYDI

Tarih..... //2017

ÖĞÜN	Besin Adı- İçindekiler	Miktarı (g)	Artık (%)	Net Miktar (g)
SABAH Saat:				
KUŞLUK Saat:				
ÖĞLE Saat:				
İKİNDİ Saat:				
AKŞAM Saat:				
GECE Saat:				

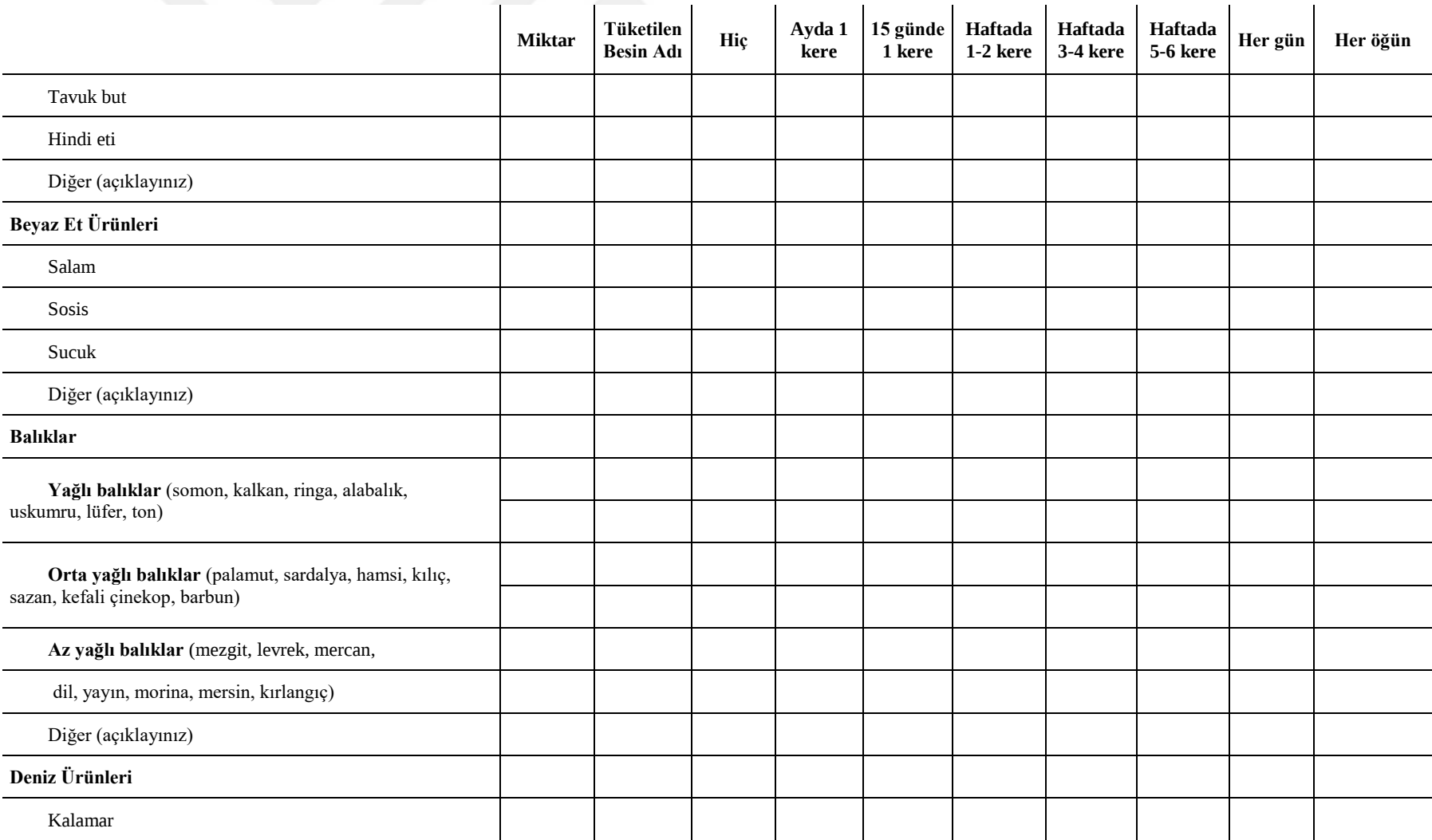
Su tüketimi: mL

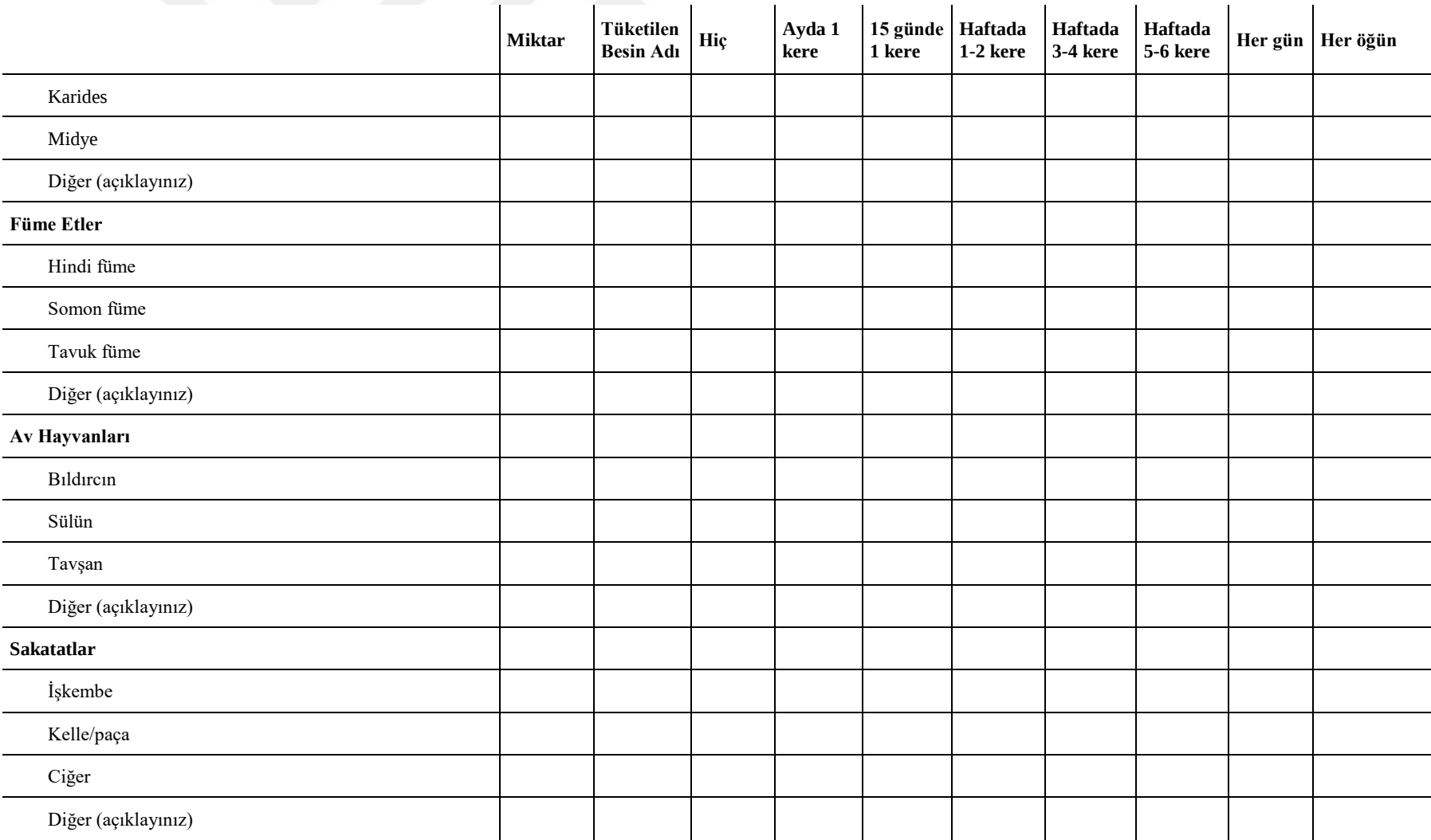
Diğer sıvı tüketimi: mL

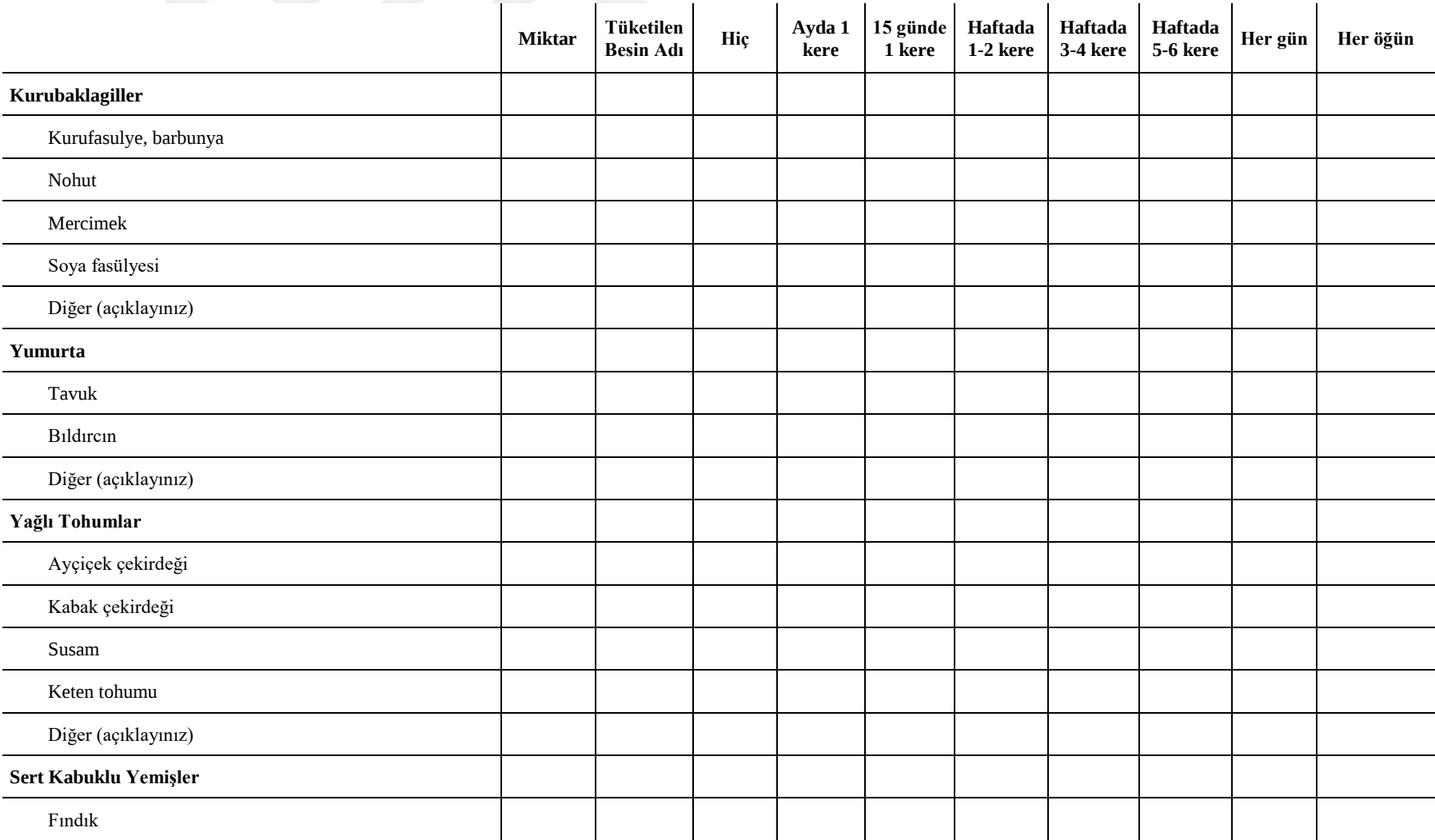
Toplam: mL

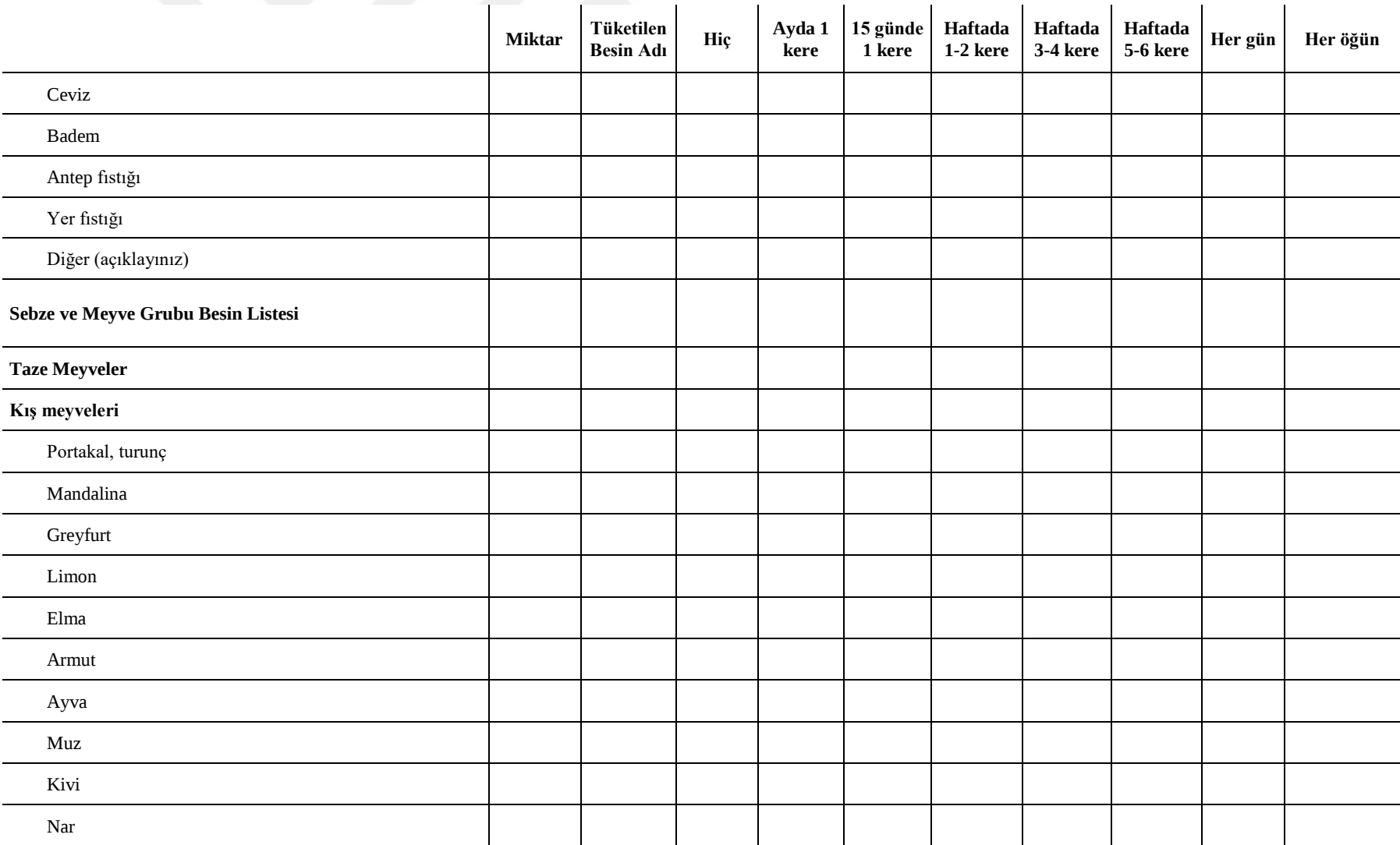
ESKİ TÜKETİM SIKLIĞI

[illegible]

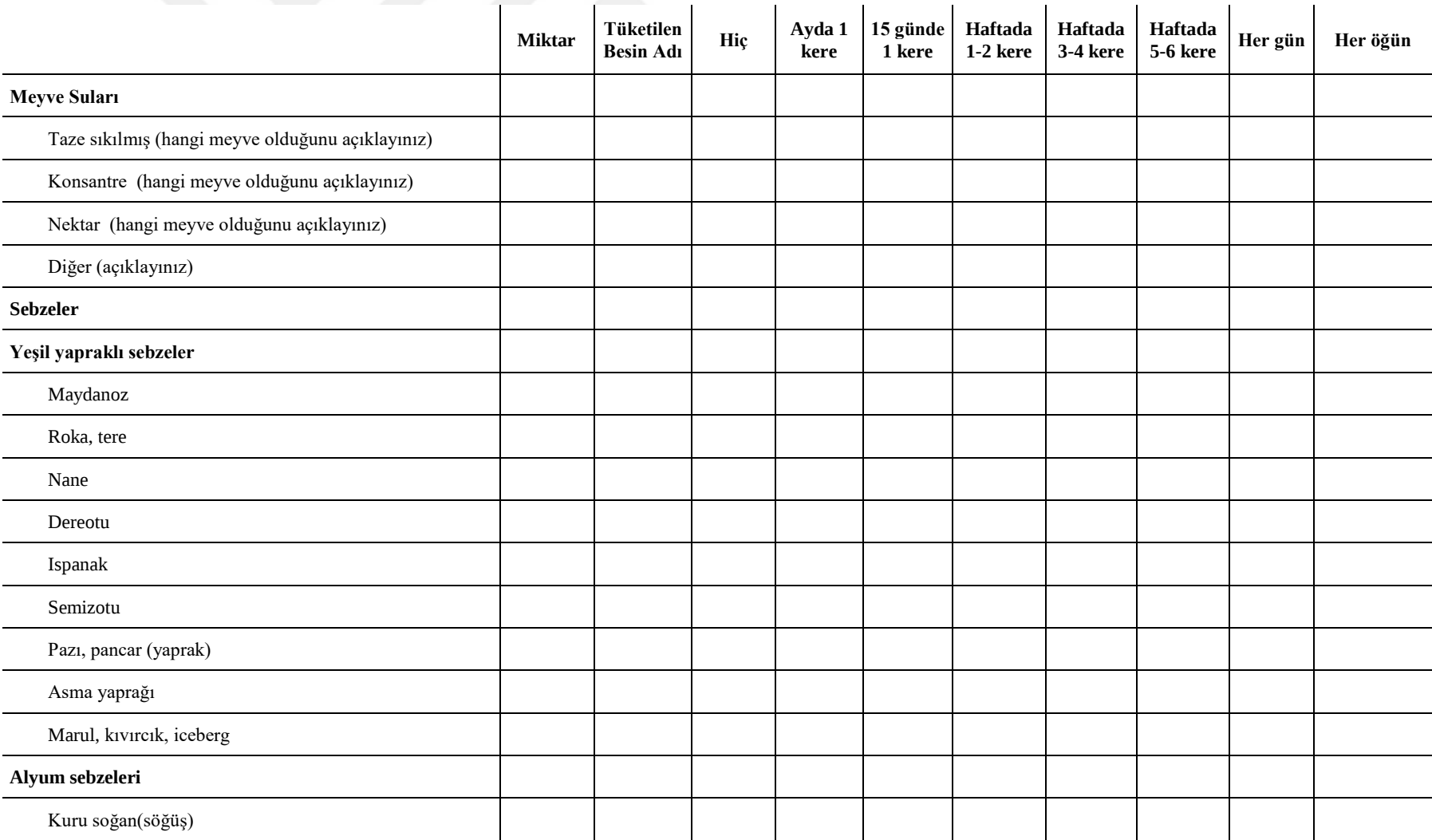


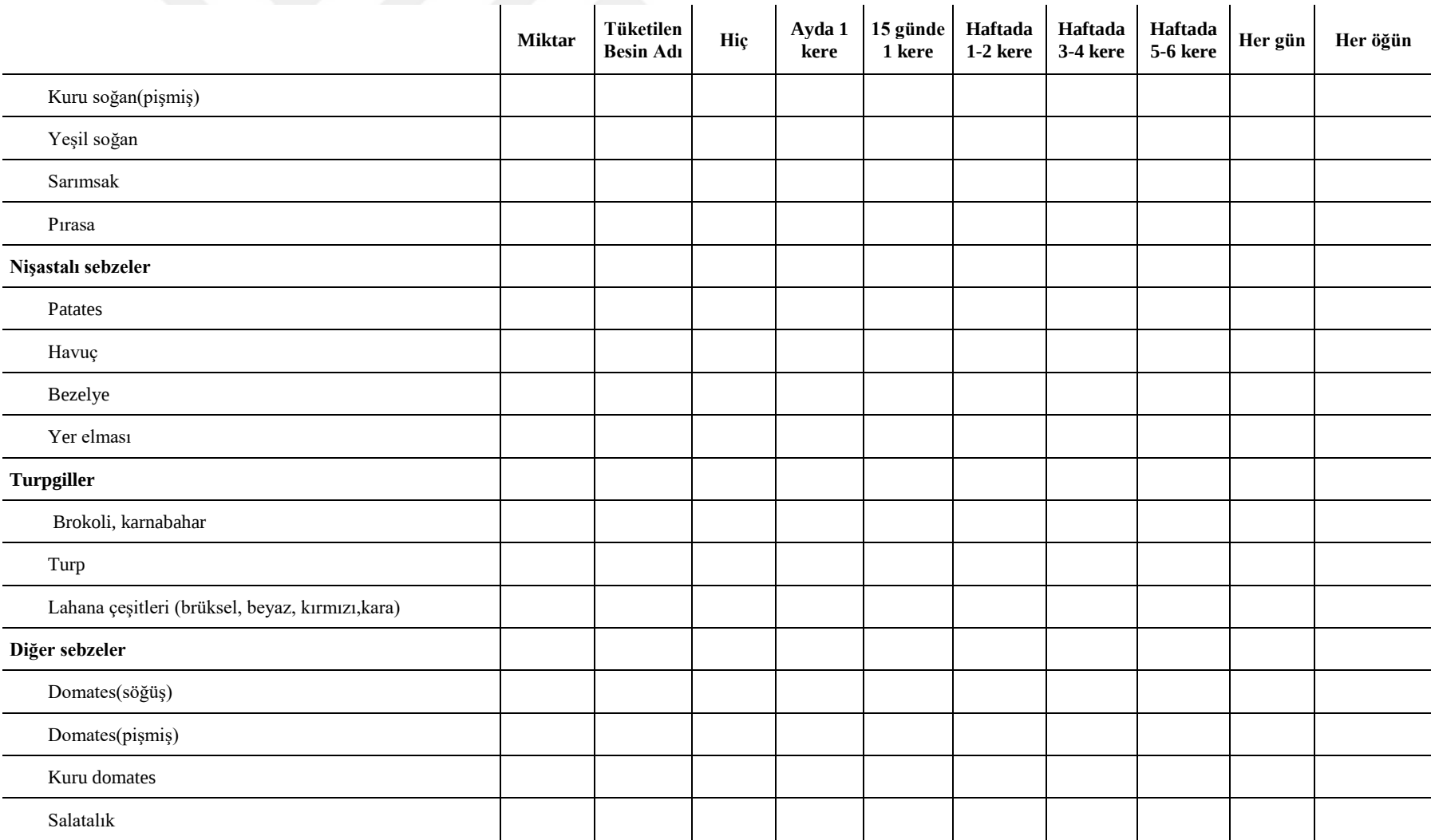


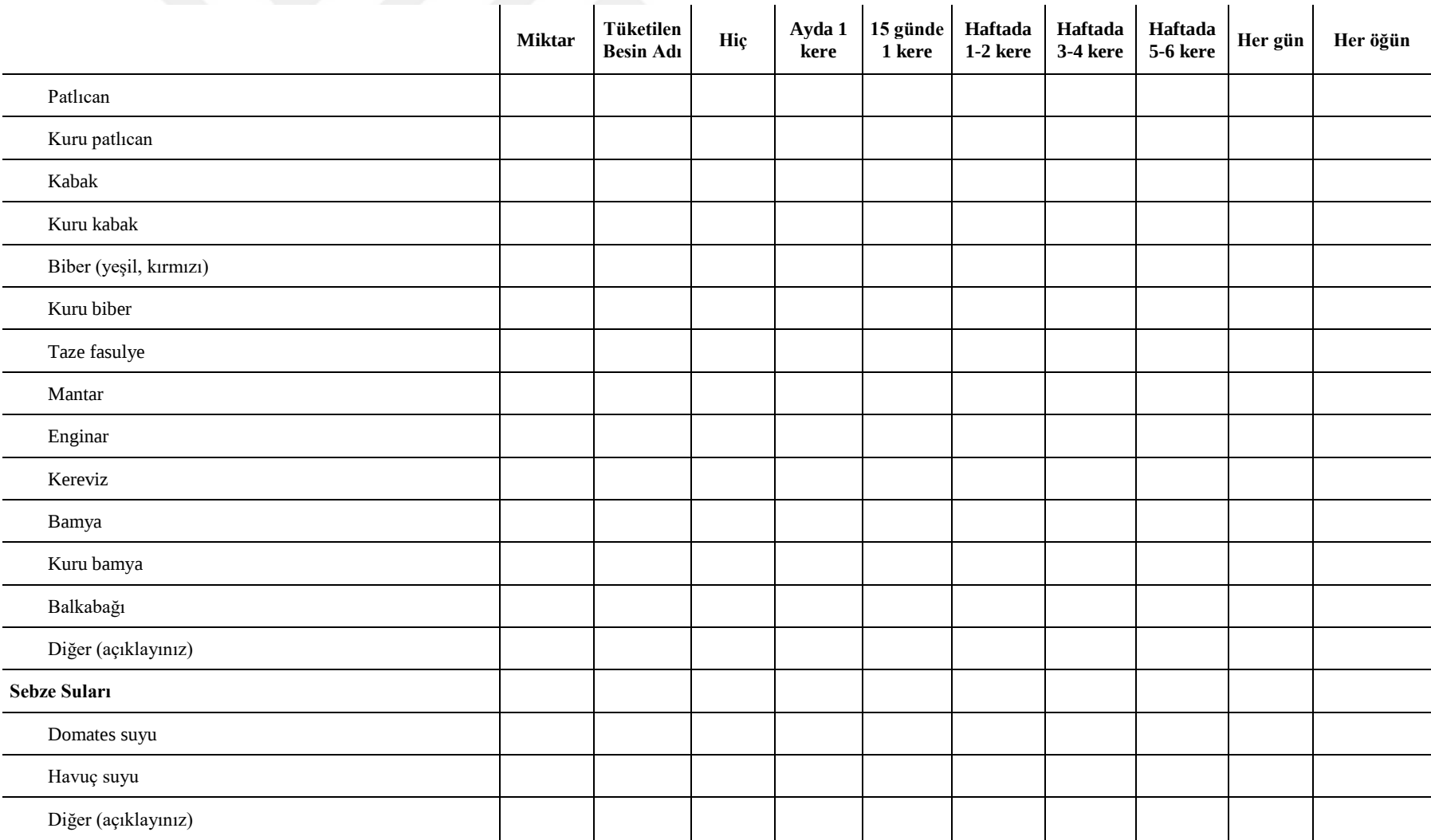


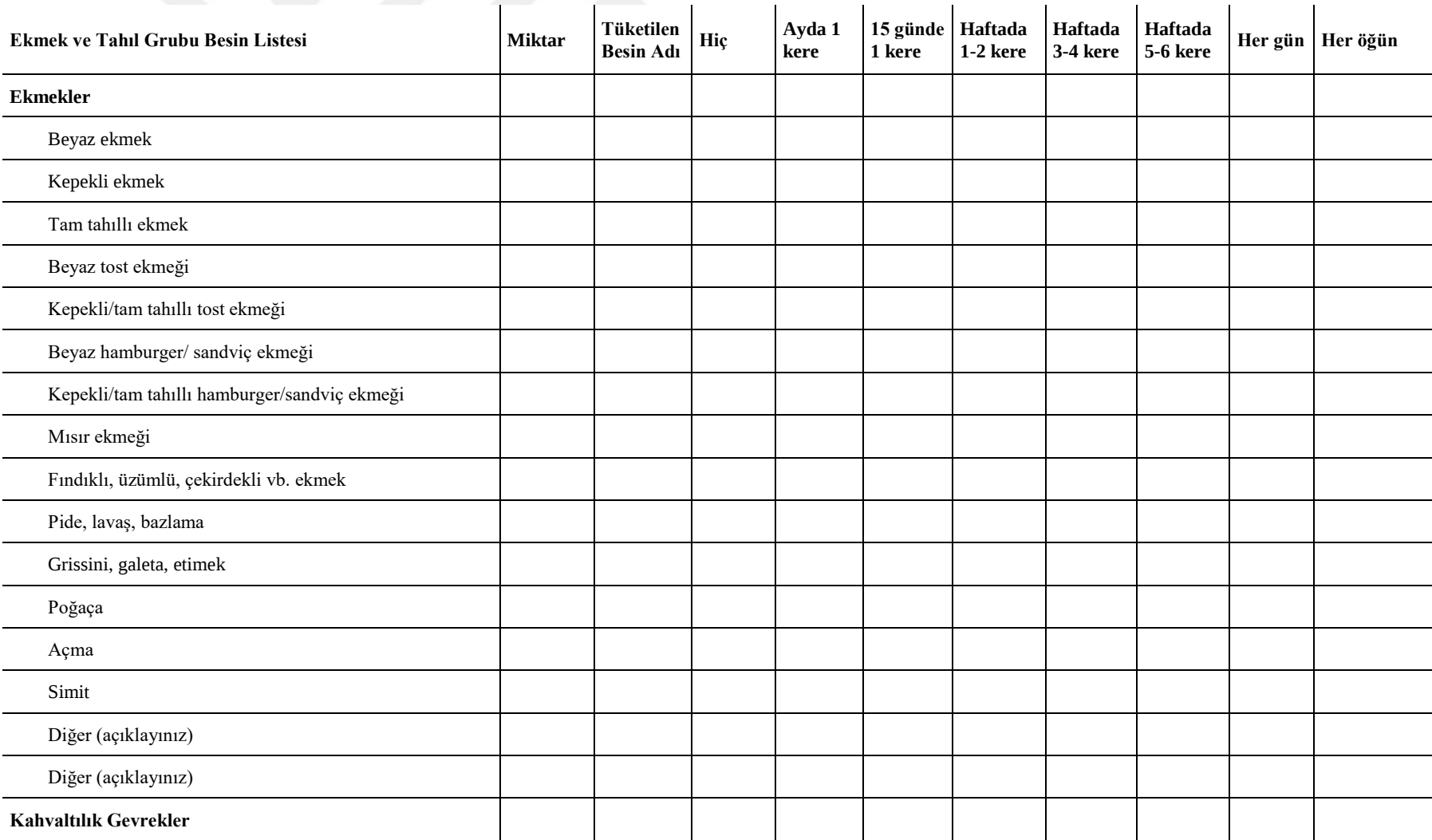


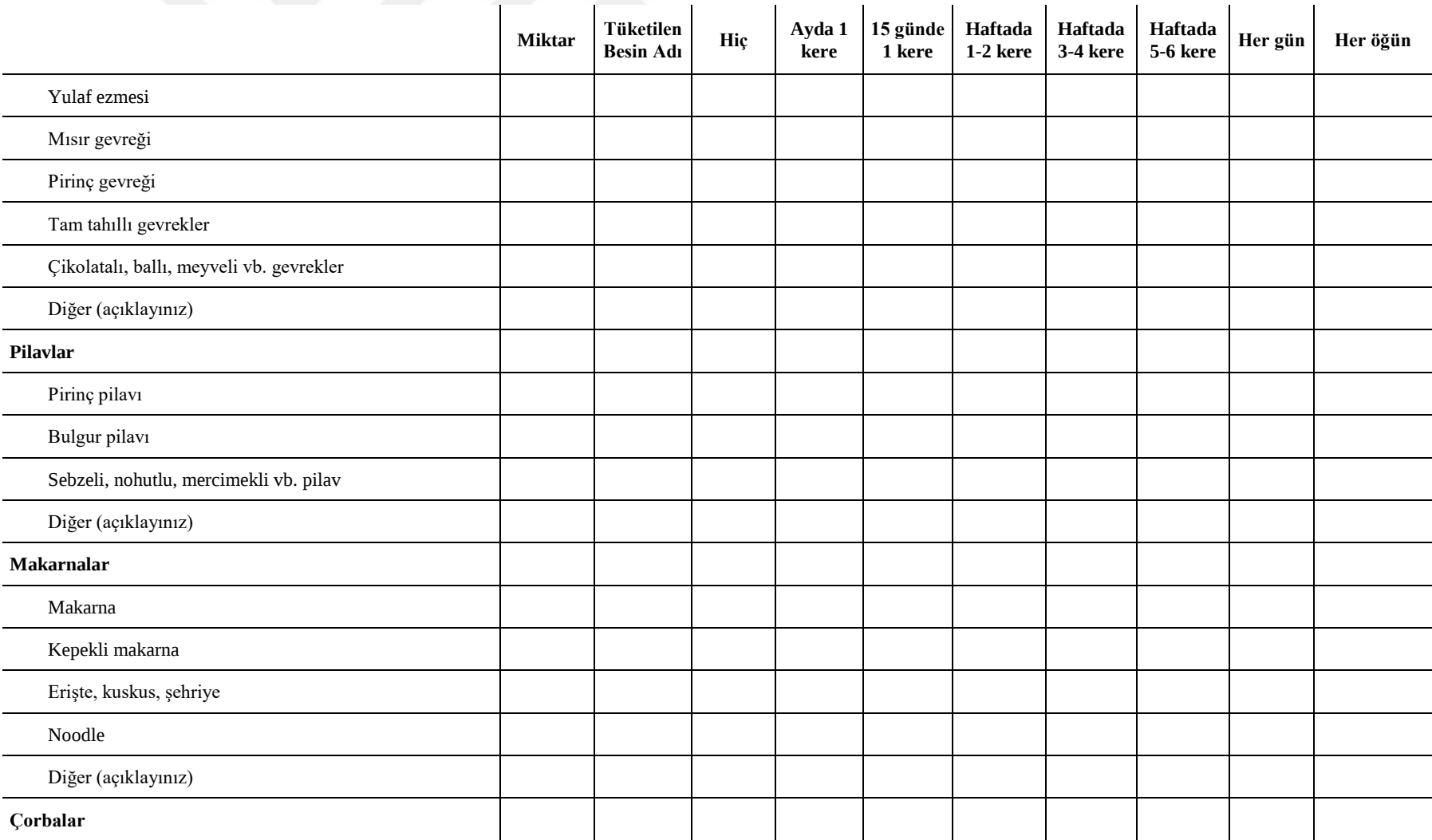
[illegible]

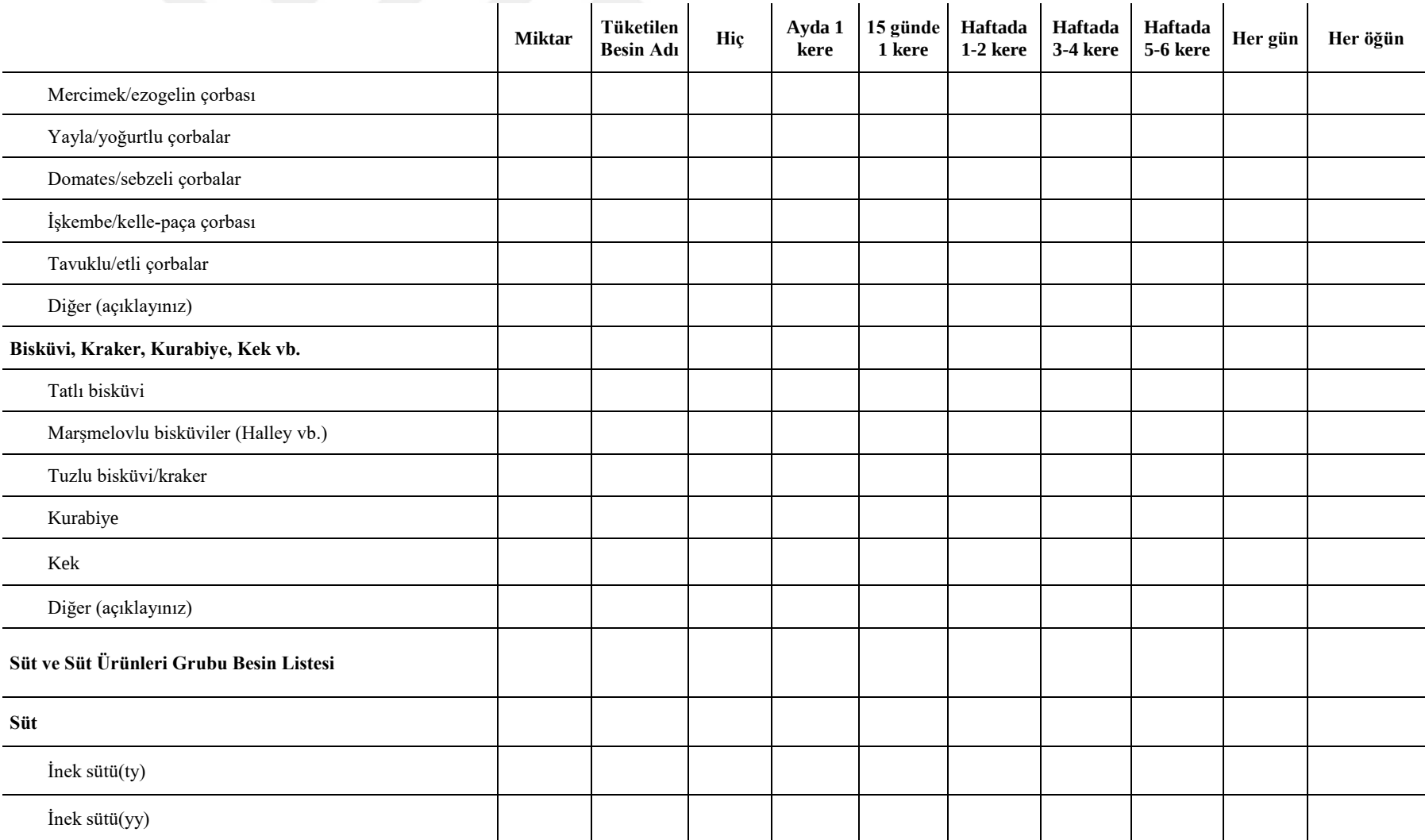


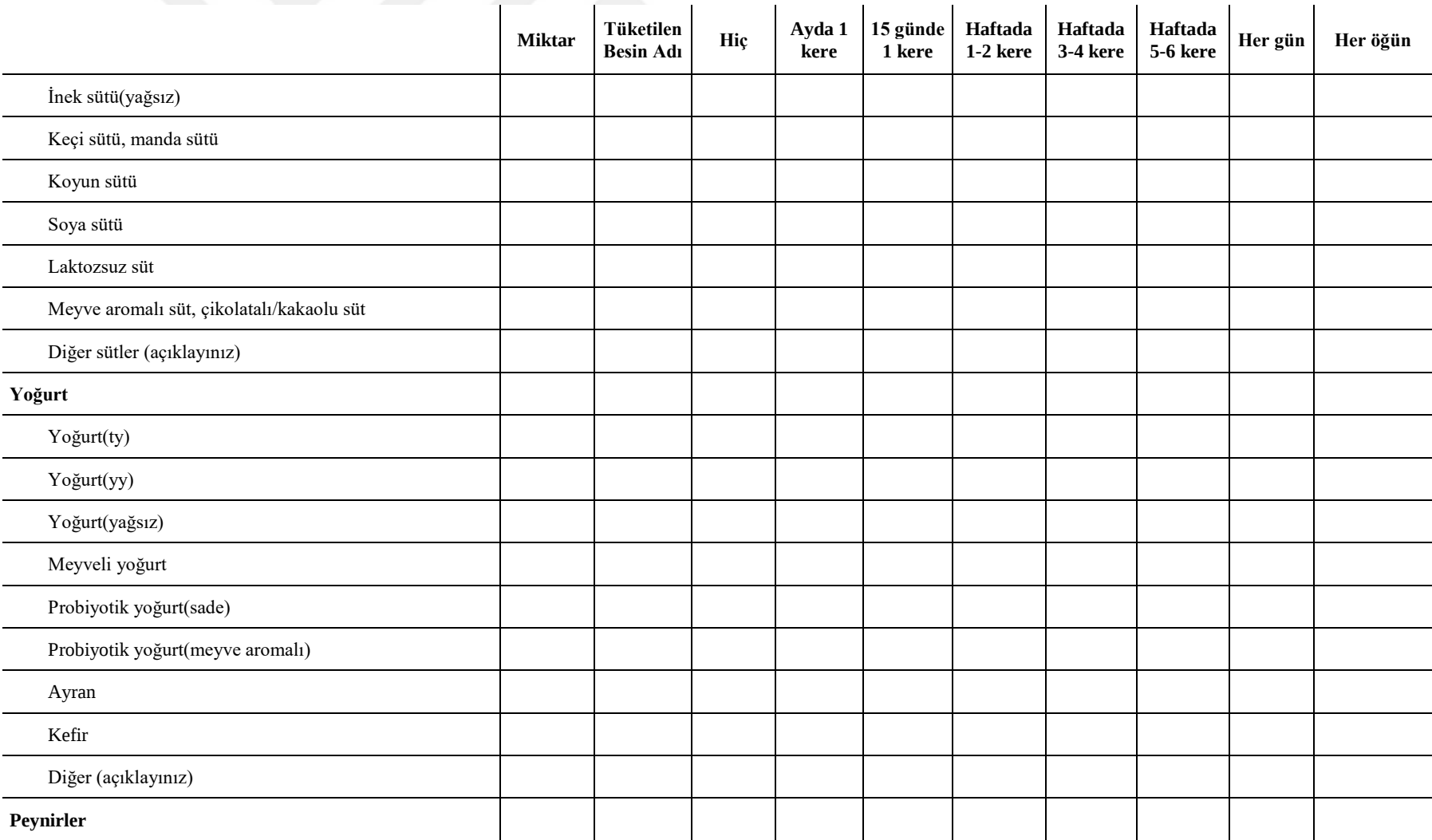


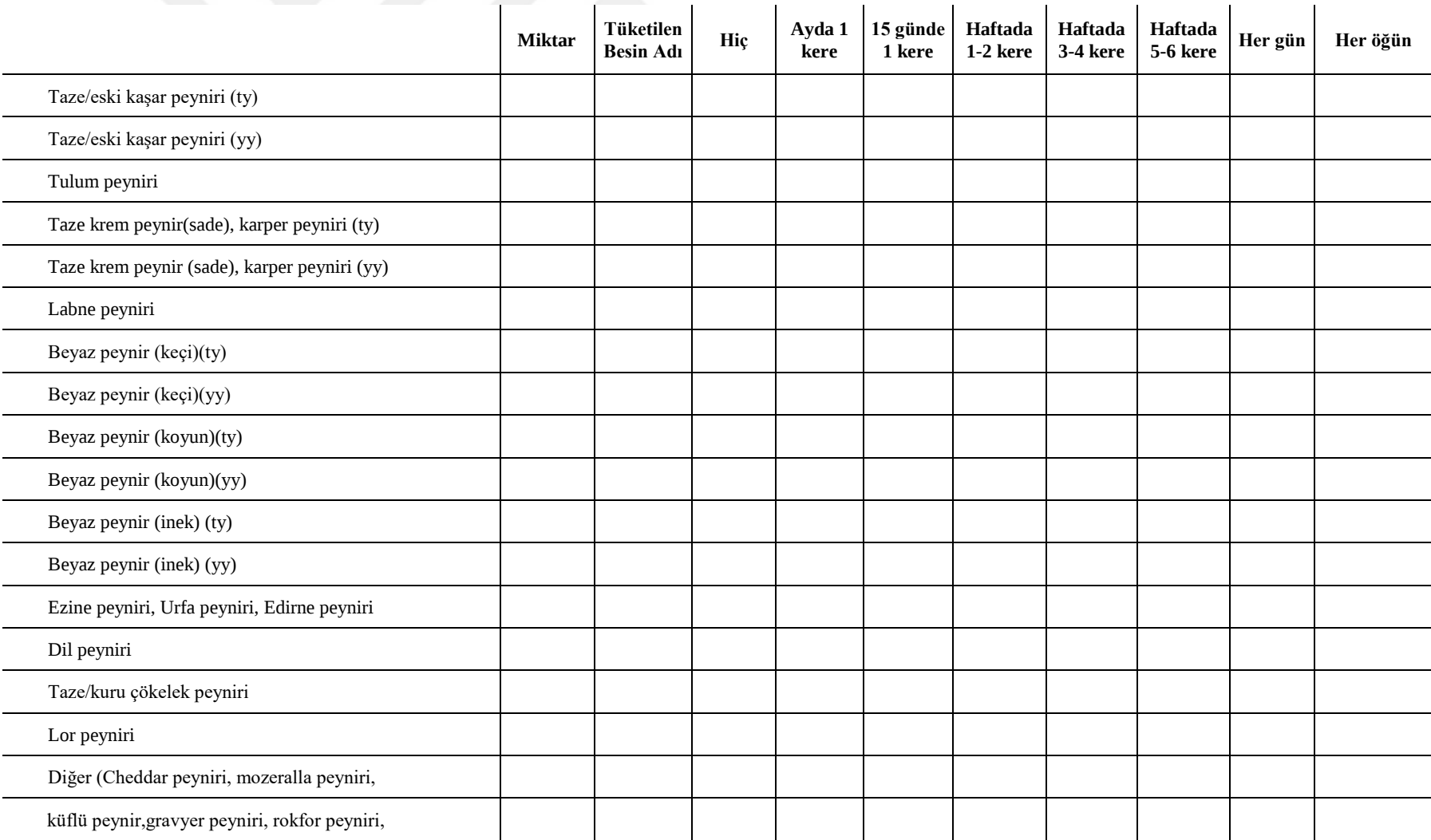


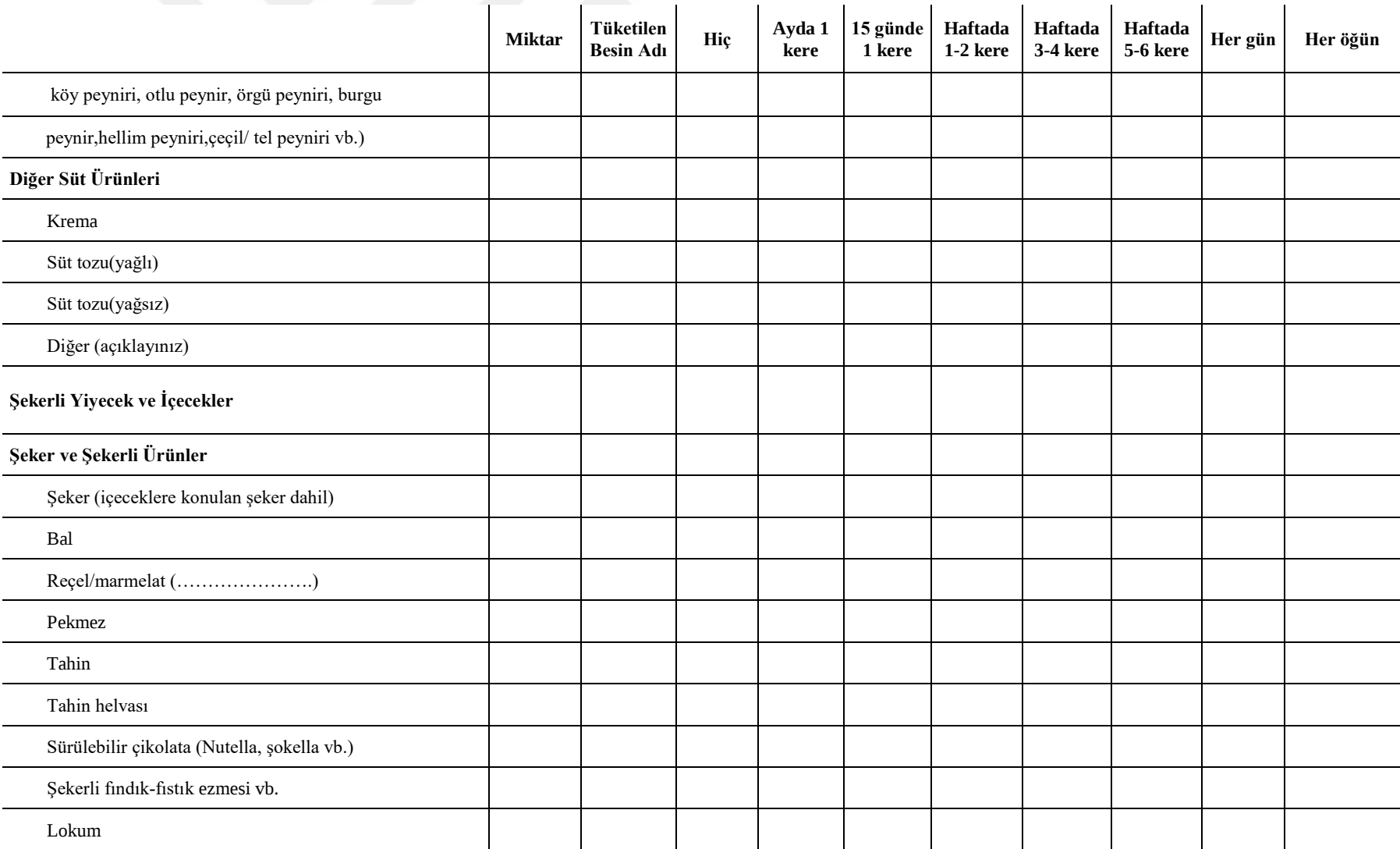


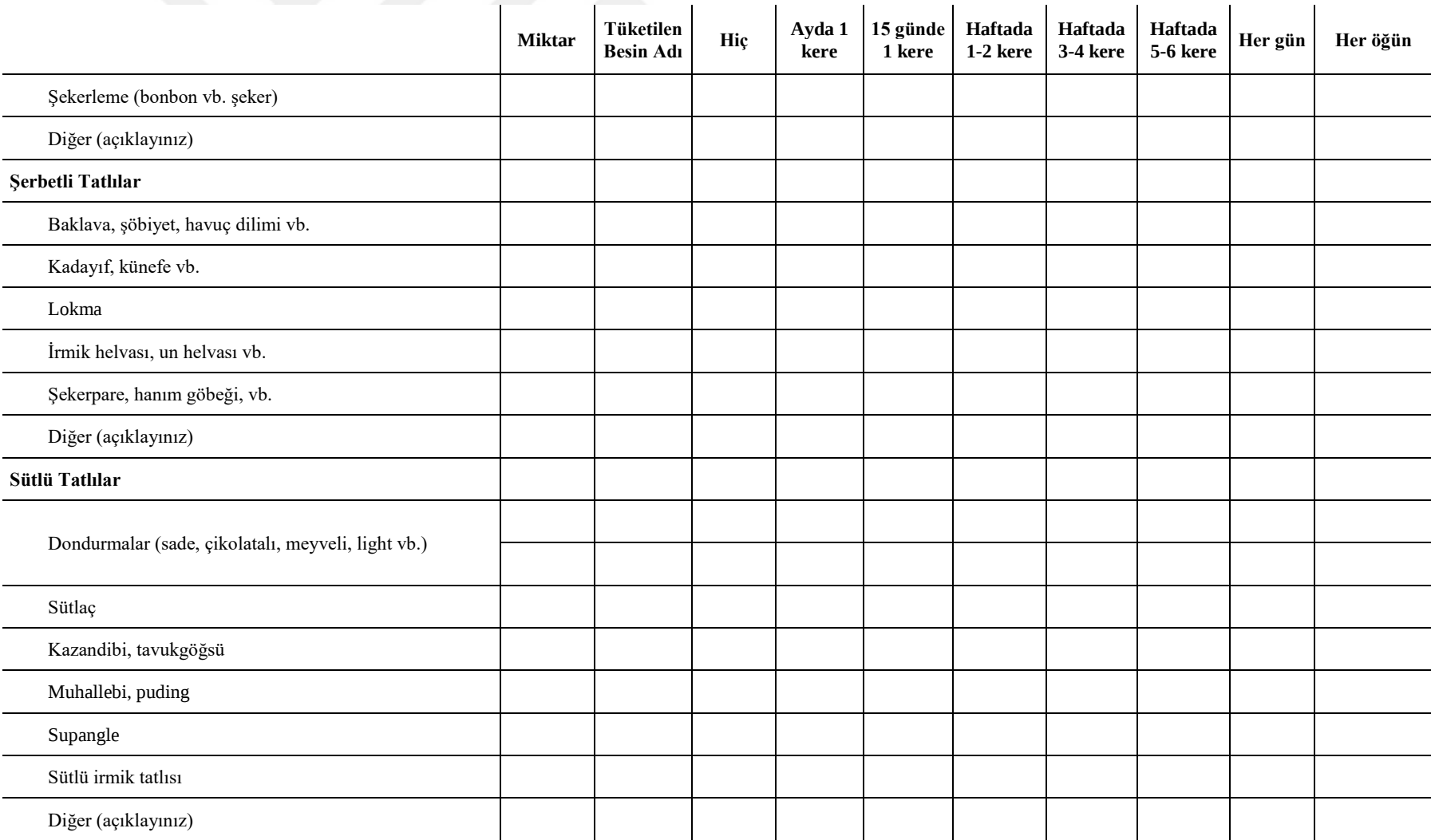


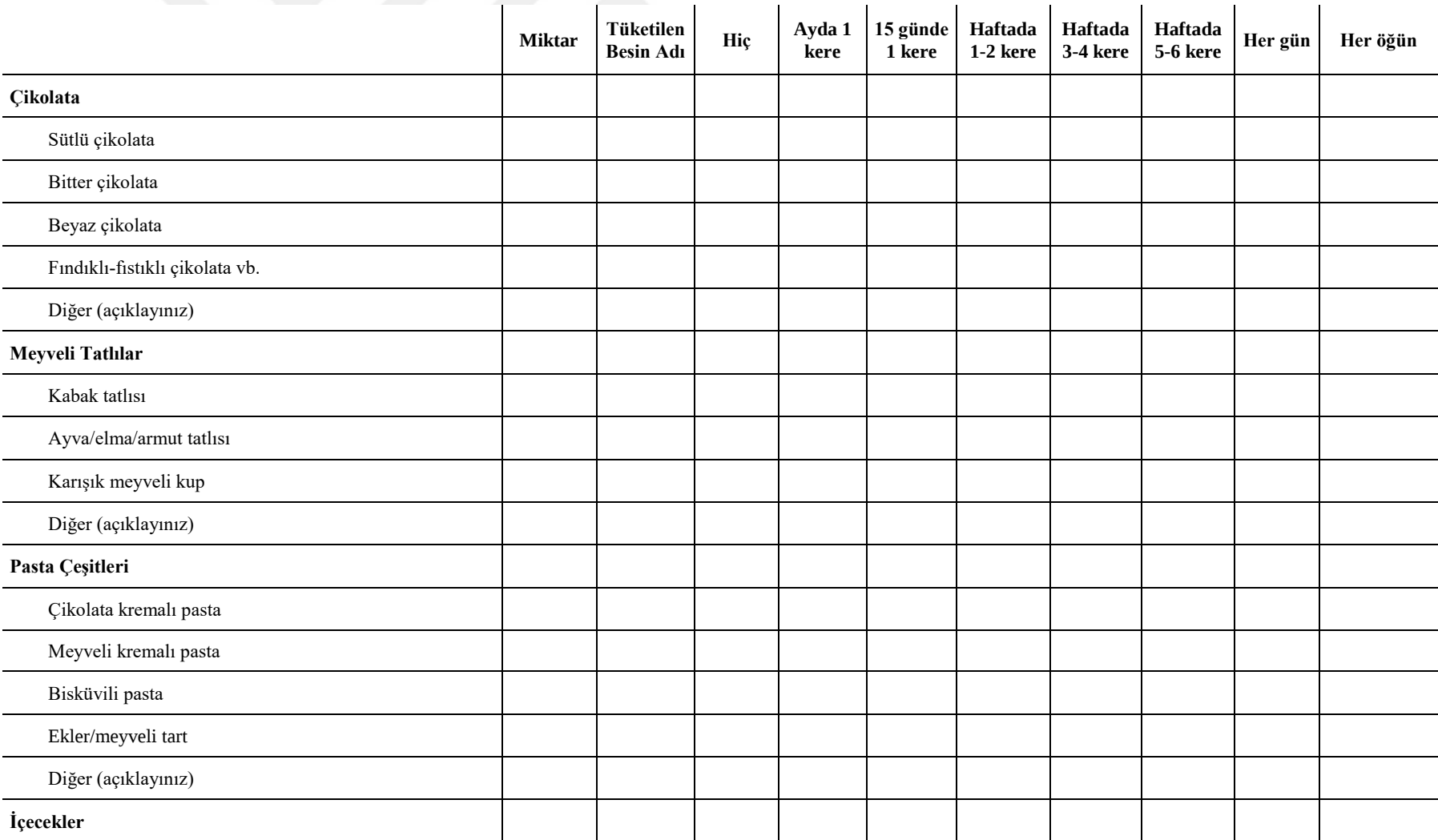


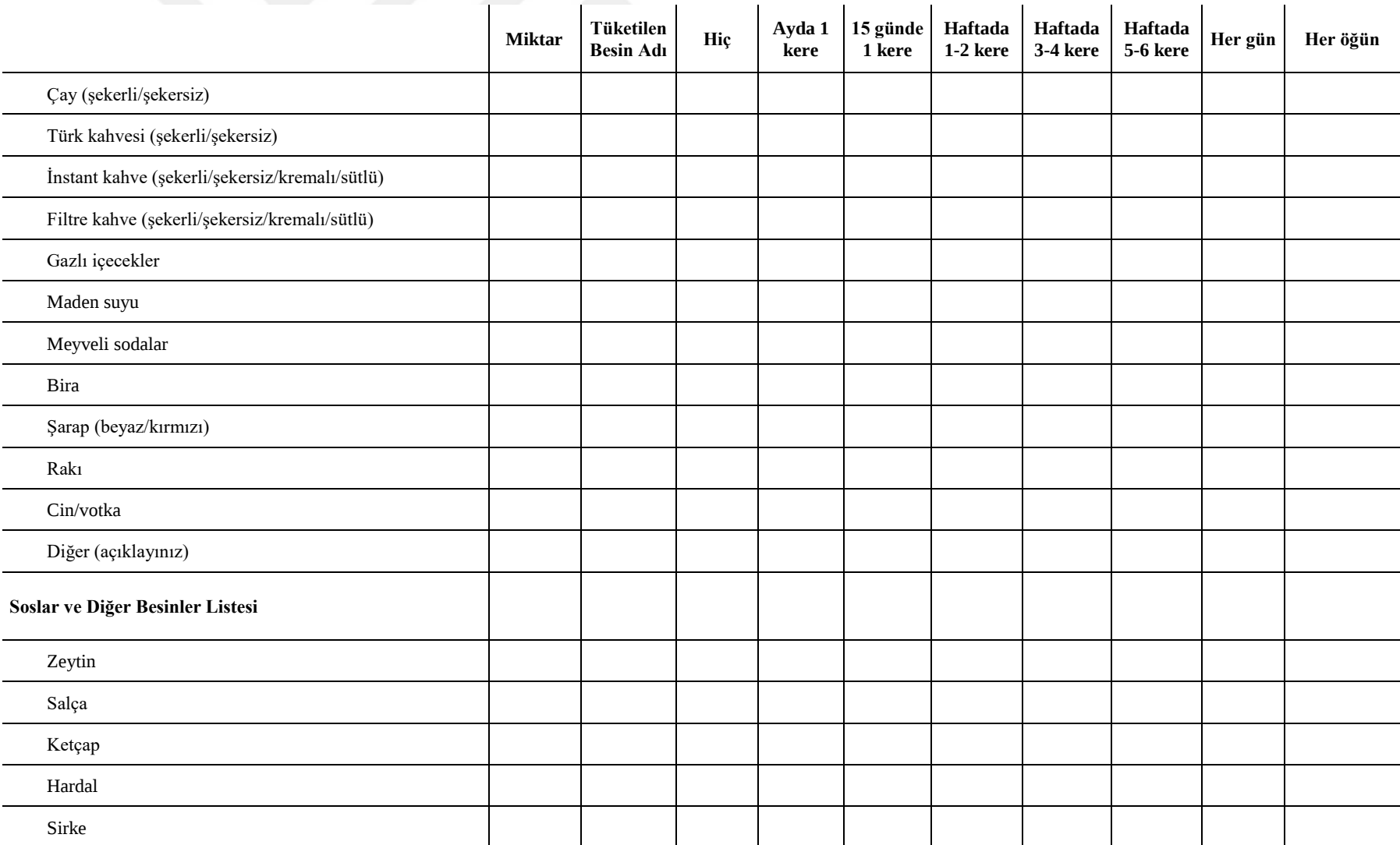








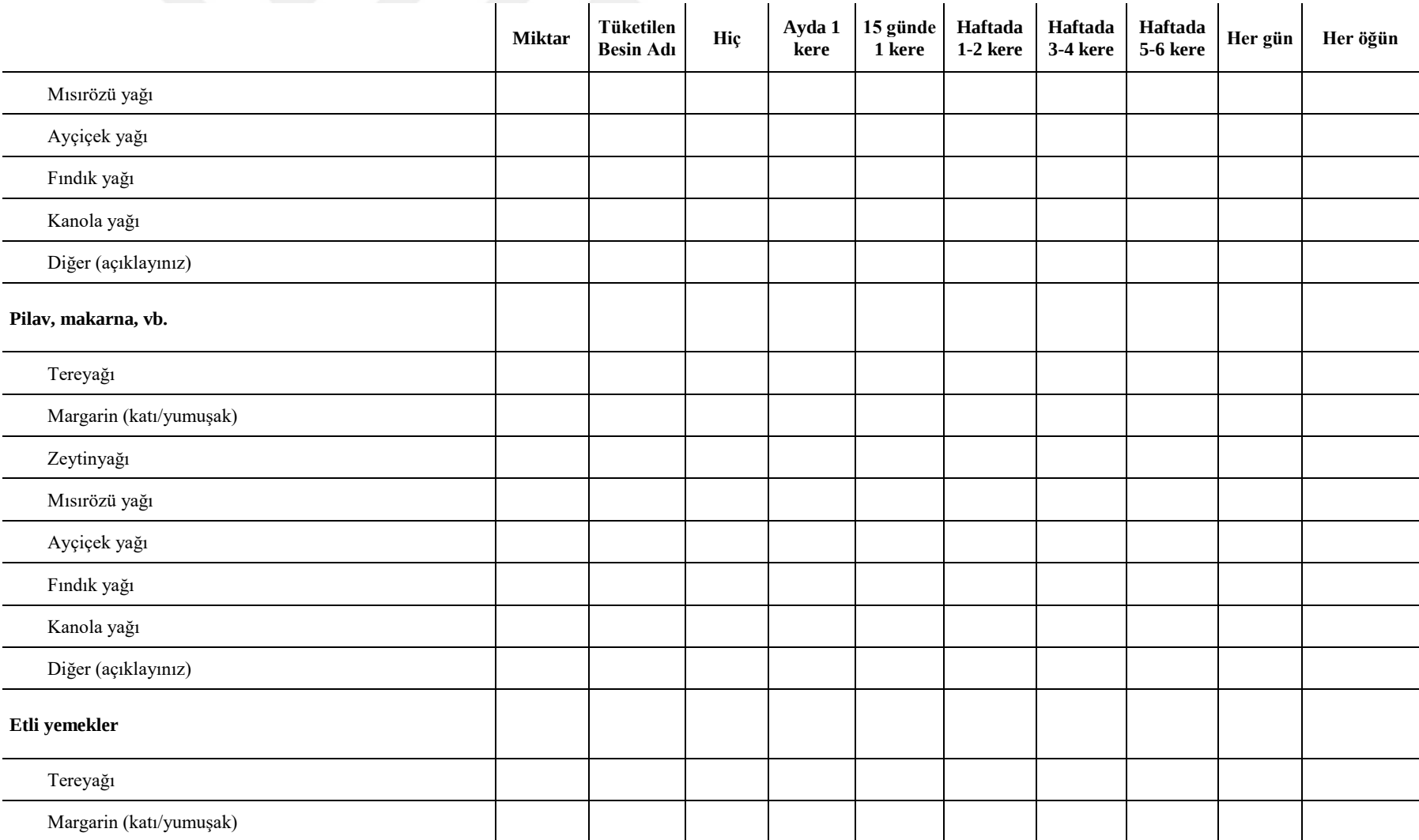


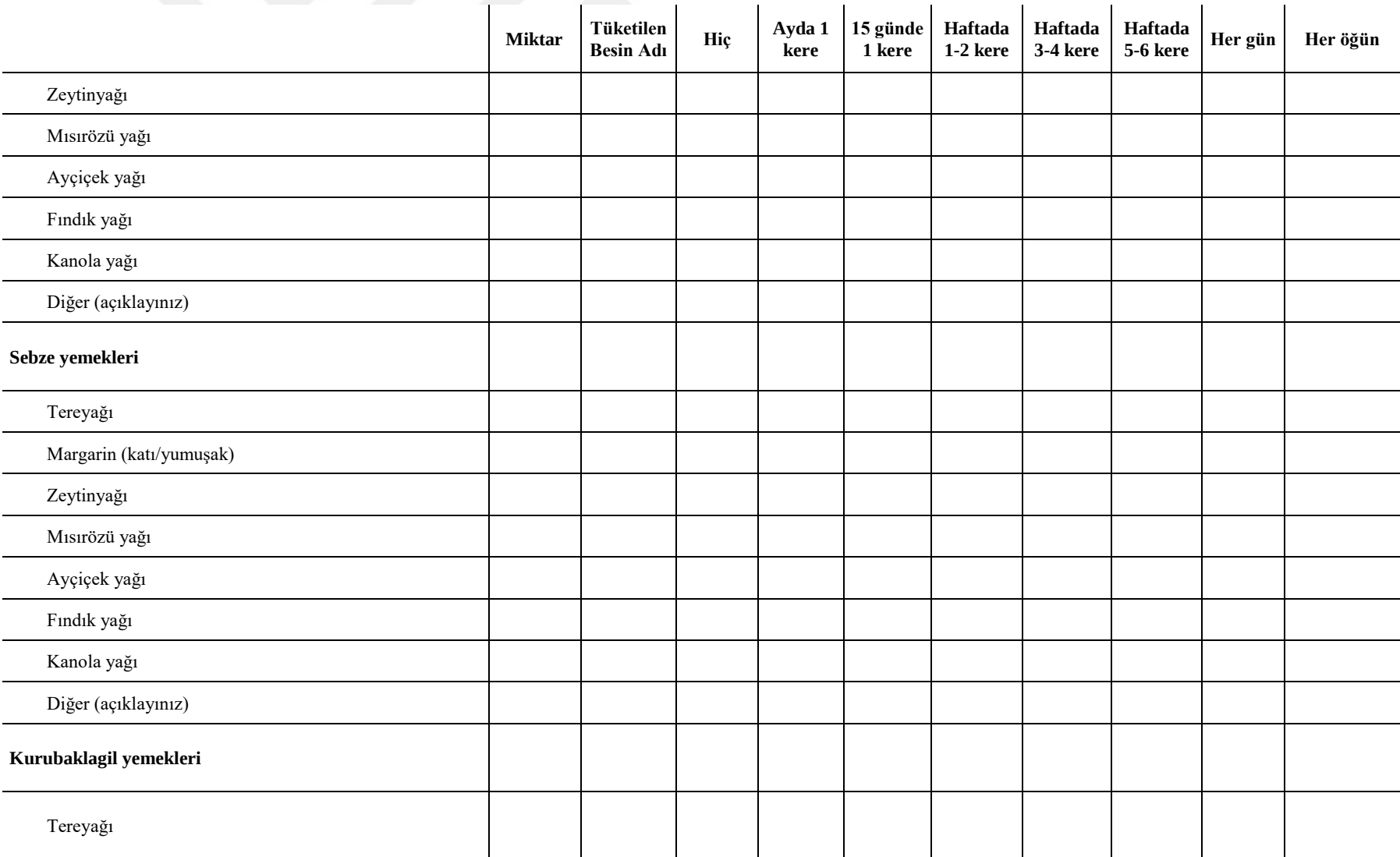


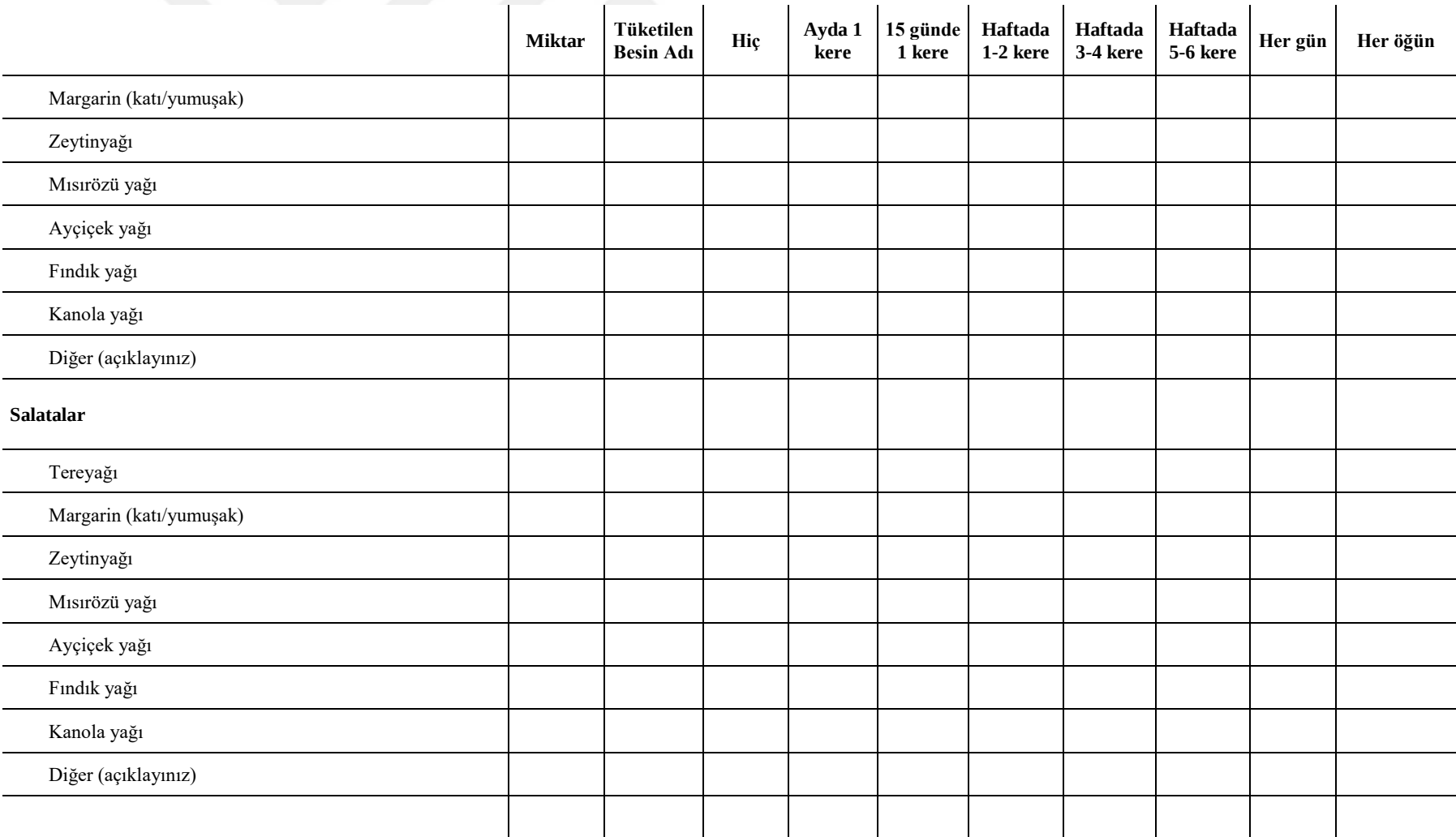


.....

[illegible]







Hamur kızartması

Et (köfte vb.)/balık kızartması

Diğer (açıklayınız)

KAFEİN TÜKETİM SIKLIĞI				
Kafein Kaynakları	Miktar	Tüketilen Besin Adı	Hiç	Ayda kere
Kahve Çeşitleri				
• Taze kahve				

[illegible]

[illegible]

EK 4: Biyokimya Referans Değerleri

Biyokimyasal Bulgular		Referans Değerler
ALT (U/L)		0-49
AST (U/L)		0-37
GGT (U/L)	Erkek	0-73
	Kadın	0-38
ALP (U/L)		45-129
Kreatinin (mg/dL)	Erkek	0.72-1.25
	Kadın	0.57-1.11
HDL-Kolesterol (mg/dL)		>60-Optimal Düzey
		50-60-Ortalama
		<50-Düşük
LDL-Kolesterol (mg/dL)		<100-Optimal Düzey
		100-129-Düşük Risk
		130-159-Sınır Yüksek
		160-189-Yüksek Risk
		>190-Çok Yüksek Risk
Total Kolesterol (mg/dL)		<200-Optimal Düzey
		200-239-Sınır Yüksek
		>240-Yüksek Risk
Trigliserit (mg/dL)		<150-Normal
		150-199-Sınır Yüksek
		200-499-Yüksek
		>500-Çok Yüksek
Total bilirubin (mg/dL)		0.3-1.3
Direkt bilirubin (mg/dL)		<0.5
Açlık plazma glukozu (mg/dL)		70-99
Açlık insülin (µIU/ml)		0-29.1

EK 5: ELISA Kit Protokolleri



BOSTER BIOLOGICAL TECHNOLOGY Co.,Ltd.
40459 Encyclopedia Circle, Fremont, CA 94538

Tel: (510)445-1120, (510)445-11 Fax: (510)445-1163 Email: Boster@bosterbio.com Web: www.bosterbio.com

Human TNF α ELISA Kit

Catalog No. EK0525

Size 96T(8 $\times$ 12 divisible strips)

For quantitative detection of human TNF α in cell culture supernates, serum and plasma(heparin, EDTA, citrate).

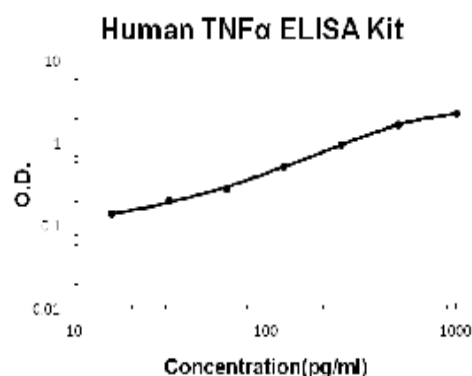
Typical Data Obtained from Human TNF α

(TMB reaction incubate at 37°C for 25 min)

Concentration(pg/ml)	0	15.6	31.2	62.5	125	250	500	1000
O.D	0.083	0.144	0.203	0.287	0.538	0.973	1.708	2.313

Typical Human TNF α ELISA Kit Standard Curve

This standard curve was generated at Boster for demonstration purpose only. A standard curve must be run with each assay.



Range	15.6pg/ml-1000pg/ml (cell culture supernates), 7.8pg/ml-500pg/ml (serum, plasma)
Sensitivity	< 1pg/ml
Specificity	Natural and recombinant human TNF α
Cross-reactivity	No detectable cross-reactivity with other relevant proteins

Storage

Store at 4°C for 6 months, at -20°C for 12 months. Avoid multiple freeze-thaw cycles (Shipped with wet ice.)

Principle

Boster's human TNF α ELISA Kit was based on standard sandwich enzyme-linked immune-sorbent assay technology. A monoclonal antibody from mouse specific for TNF α has been precoated onto 96-well plates. Standards and test samples are added to the wells, a biotinylated detection polyclonal antibody from goat specific for TNF α is added subsequently and then followed by washing with PBS or TBS buffer. Avidin-Biotin-Peroxidase Complex was added and unbound conjugates were washed away with PBS or TBS buffer. HRP substrate TMB was used to visualize HRP enzymatic reaction. TMB was catalyzed by HRP to produce a blue color product that changed into yellow after adding acidic stop solution. The density of yellow is proportional to the human TNF α amount of sample captured in plate.

Kit Components

Catalog number	Description	Quantity
-	96-well plate precoated with anti- human TNF α antibody	1
ST0000-10	Lyophilized recombinant human TNF α standard	10ng/tube $\times$ 2
AR1107	Biotinylated anti- human TNF α antibody	130 μ l(dilution 1:100)
AR1103	Avidin-Biotin-Peroxidase Complex (ABC)	130 μ l(dilution 1:100)
AR1106-1	Sample diluent buffer	30 ml
AR1106-2	Antibody diluent buffer	12ml
AR1106-3	ABC diluent buffer	12ml
AR1104	TMB color developing agent	10ml
AR1105	TMB stop solution	10ml

Material Required But Not Provided

1. Microplate reader in standard size.
2. Automated plate washer.
3. Adjustable pipettes and pipette tips. Multichannel pipettes are recommended in the condition of large amount of samples in the detection.
4. Clean tubes and Eppendorf tubes.
5. Washing buffer (neutral PBS or TBS).
 - Preparation of 0.01M TBS: Add 1.2g Tris, 8.5g NaCl; 450 μ l of purified acetic acid or 700 μ l of concentrated hydrochloric acid to 1000ml H₂O and adjust pH to 7.2-7.6. Finally, adjust the total volume to 1L.
 - Preparation of 0.01 M PBS: Add 8.5g sodium chloride, 1.4g Na₂HPO₄ and 0.2g NaH₂PO₄ to 1000ml distilled water and adjust pH to 7.2-7.6. Finally, adjust the total volume to 1L.

Notice for Application of Kit

1. To inspect the validity of experiment operation and the appropriateness of sample dilution proportion, pilot experiment using standards and a small number of samples is recommended.
2. The TMB Color Developing agent is colorless and transparent before using, contact us freely if it is not the case.
3. Before using the Kit, spin tubes and bring down all components to the bottom of tubes.
4. Duplicate well assay is recommended for both standard and sample testing.
5. Don't let 96-well plate dry, for dry plate will inactivate active components on plate.
6. Don't reuse tips and tubes to avoid cross contamination.
7. To avoid to use the reagents from different batches together.
8. In order to avoid marginal effect of plate incubation due to temperature difference (reaction may be stronger in the marginal wells), it is suggested that the diluted ABC and TMB solution will be pre-warmed in 37°C for 30 min before using.

Preparation

1. Sample Preparation and Storage

Store samples to be assayed within 24 hours at 2-8°C. For long-term storage, aliquot and freeze samples at -20°C.

Avoid repeated freeze-thaw cycles.

- **Cell culture supernates:** Remove particulates by centrifugation, assay immediately or aliquot and store samples at -20°C.
- **Serum:** Allow the serum to clot in a serum separator tube (about 4 hours) at room temperature or coat at 4°C overnight. Centrifuge at approximately 1000 X g for 10min. Analyze the serum immediately or aliquot and store frozen at -20°C.
- **Plasma:** Collect plasma using heparin, EDTA or citrate as an anticoagulant. Centrifuge for 10 min at 1000 x g within 30 min of collection. Analyze immediately or aliquot and store frozen at -20°C.

2. Sample Dilution Guideline

The user needs to estimate the concentration of the target protein in the sample and select a proper dilution factor so that the diluted target protein concentration falls near the middle of the linear regime in the standard curve.

Dilute the sample using the provided diluent buffer. The following is a guideline for sample dilution. Several trials may be necessary in practice. **The sample must be well mixed with the diluents buffer.**

- **High target protein concentration (10-100ng/ml).** The working dilution is 1:100. i.e. Add 1µl sample into 99 µl sample diluent buffer.
- **Medium target protein concentration (1-10ng/ml).** The working dilution is 1:10. i.e. Add 10µl sample into 90 µl sample diluent buffer.
- **Low target protein concentration (15.6-1000pg/ml).** The working dilution is 1:2. i.e. Add 50µl sample to 50 µl sample diluent buffer.
- **Very Low target protein concentration (≤15.6pg/ml).** No dilution necessary, or the working dilution is 1:2.

3. Reagent Preparation and Storage

A. Reconstitution of the human TNFα standard: TNFα standard solution should be prepared no more than 2 hours prior to the experiment. Two tubes of TNFα standard (10ng per tube) are included in each kit. Use one tube for each experiment.

- a. 10,000pg/ml of human TNFα standard solution: Add 1ml sample diluent buffer into one tube, keep the tube at room temperature for 10 min and mix thoroughly.
- b. 1000pg/ml of human TNFα standard solution: Add 0.1ml of the above 10ng/ml TNFα standard solution into 0.9ml sample diluent buffer and mix thoroughly.
- c. 500pg/ml → 15.6pg/ml of human TNFα standard solutions: Label 8 Eppendorf tubes with 500pg/ml, 250pg/ml, 125pg/ml, 62.5pg/ml, 31.2pg/ml, 15.6pg/ml respectively. Aliquot 0.3ml of the sample diluent buffer into each tube. Add 0.3ml of the above 1000pg/ml TNFα standard solution into 1st tube and mix. Transfer 0.3ml from 1st tube to 2nd tube and mix. Transfer 0.3ml from 2nd tube to 3rd tube and mix, and so on.

Note: The standard solutions are best used within 2 hours. The 10ng/ml standard solution should be stored at 4°C for up to 12 hours, or at -20°C for up to 48 hours. Avoid repeated freeze-thaw cycles.

B. Preparation of biotinylated anti-human TNFα antibody working solution: The solution should be prepared no more than 2 hours prior to the experiment.

- a. The total volume should be: 0.1ml/well x (the number of wells). (Allowing 0.1-0.2 ml more than total volume)
- b. Biotinylated anti-human TNFα antibody should be diluted in 1:100 with the antibody diluent buffer and mixed thoroughly. (i.e. Add 1µl Biotinylated anti-human TNFα antibody to 99µl antibody diluent buffer.)

- C. Preparation of Avidin-Biotin-Peroxidase Complex (ABC) working solution: The solution should be prepared no more than 1 hour prior to the experiment.
- The total volume should be: 0.1ml/well x (the number of wells). (Allowing 0.1-0.2 ml more than total volume)
 - Avidin-Biotin-Peroxidase Complex (ABC) should be diluted in 1:100 with the ABC dilution buffer and mixed thoroughly. (i.e. Add 1µl ABC to 99µl ABC diluent buffer.)

Assay Procedure

The ABC working solution and TMB color developing agent must be kept warm at 37°C for 30 min before use. When diluting samples and reagents, they must be mixed completely and evenly. Standard TNFα detection curve should be prepared for each experiment. The user will decide sample dilution fold by crude estimation of TNFα amount in samples.

- Aliquot 0.1ml per well of the 1000pg/ml, 500pg/ml, 250pg/ml, 125pg/ml, 62.5pg/ml, 31.2pg/ml, 15.6pg/ml human TNFα standard solutions into the precoated 96-well plate. Add 0.1ml of the sample diluent buffer into the control well (Zero well). Add 0.1ml of each properly diluted sample of human cell culture supernates, serum or plasma (heparin, EDTA, citrate) to each empty well. See "Sample Dilution Guideline" above for details. It is recommended that each human TNFα standard solution and each sample be measured in duplicate.
- Seal the plate with the cover and incubate at 37°C for 90 min.
- Remove the cover, discard plate content, and blot the plate onto paper towels or other absorbent material. Do NOT let the wells completely dry at any time.
- Add 0.1ml of biotinylated anti-human TNFα antibody working solution into each well and incubate the plate at 37°C for 60 min.
- Wash plate 3 times with 0.01M TBS or 0.01M PBS, and each time let washing buffer stay in the wells for 1 min. Discard the washing buffer and blot the plate onto paper towels or other absorbent material. (Plate Washing Method: Discard the solution in the plate without touching the side walls. Blot the plate onto paper towels or other absorbent material. Soak each well with at least 0.3 ml PBS or TBS buffer for 1~2 minutes. Repeat this process two additional times for a total of THREE washes. Note: For automated washing, aspirate all wells and wash THREE times with PBS or TBS buffer, overfilling wells with PBS or TBS buffer. Blot the plate onto paper towels or other absorbent material.)
- Add 0.1ml of prepared ABC working solution into each well and incubate the plate at 37°C for 30 min.
- Wash plate 5 times with 0.01M TBS or 0.01M PBS, and each time let washing buffer stay in the wells for 1-2 min. Discard the washing buffer and blot the plate onto paper towels or other absorbent material. (See Step 5 for plate washing method).
- Add 90µl of prepared TMB color developing agent into each well and incubate plate at 37°C in dark for 25-30 min (Note: For reference only, the optimal incubation time should be determined by end user. And the shades of blue can be seen in the wells with the four most concentrated human TNFα standard solutions; the other wells show no obvious color).
- Add 0.1ml of prepared TMB stop solution into each well. The color changes into yellow immediately.
- Read the O.D. absorbance at 450nm in a microplate reader within 30 min after adding the stop solution.

For calculation, (the relative O.D.₄₅₀) = (the O.D.₄₅₀ of each well) – (the O.D.₄₅₀ of Zero well). The standard curve can be plotted as the relative O.D.₄₅₀ of each standard solution (Y) vs. the respective concentration of the standard solution (X). The human TNF α concentration of the samples can be interpolated from the standard curve. Note: if the samples measured were diluted, multiply the dilution factor to the concentrations from interpolation to obtain the concentration before dilution.

Summary

1. Add samples and standards and incubate the plate at 37°C for 90 min. Do not wash.
2. Add biotinylated antibodies and incubate the plate at 37°C for 60 min. Wash plate 3 times with 0.01M TBS.
3. Add ABC working solution and incubate the plate at 37°C for 30 min. Wash plate 5 times with 0.01M TBS.
4. Add TMB color developing agent and incubate the plate at 37°C in dark for 25-30min.
5. Add TMB stop solution and read.

Background

Tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha, or TNF) is secreted by macrophages in response to inflammation, infection and cancer.¹ Human Tumor Necrosis Factor (TNF) and Lymphotoxin (TNF-beta) are cytotoxic proteins which have similar biological activities and share 30% amino acid homology.² TNF-alpha is produced by monocytes, which can stimulate endothelial cells to produce the multilineage growth factor granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and extend the role of this immunoregulatory protein to the regulation of hematopoiesis in vitro.³ TNF is a soluble protein that causes damage to tumor cells but has no effect on normal cells. Human TNF has been purified to apparent homogeneity as a 17.3-kilodalton protein from HL-60 leukemia cells and has showed cytotoxic and cytostatic activities against various human tumor cell lines. The human TNF cDNA is 1585 base pairs in length and encodes a protein of 233 amino acids. The mature protein begins at residue 77, leaving a long leader sequence of 76 amino acids.⁴ TNF-alpha has been mapped to human chromosome 6.²

Reference

1. Brenner, D. A.; O'Hara, M.; Angel, P.; Chojkier, M.; Karin, M. Prolonged activation of JUN and collagenase genes by tumour necrosis factor-alpha. *Nature* 337: 661-663, 1989.
2. Nedwin, G. E.; Naylor, S. L.; Sakaguchi, A. Y.; Smith, D.; Jarrett-Nedwin, J.; Pennica, D.; Goeddel, D. V.; Gray, P. W. Human lymphotoxin and tumor necrosis factor genes: structure, homology and chromosomal localization. *Nucleic Acids Res.* 13: 6361-6373, 1985.
3. Broudy, V. C.; Kaushansky, K.; Segal, G. M.; Harlan, J. M.; Adamson, J. W. Tumor necrosis factor type alpha stimulates human endothelial cells to produce granulocyte/macrophage colony-stimulating factor. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 83: 7467-7471, 1986.
4. Wang, A. M.; Creasey, A. A.; Ladner, M. B.; Lin, L. S.; Strickler, J.; Van Arsdel, J. N.; Yamamoto, R.; Mark, D. F. Molecular cloning of the complementary DNA for human tumor necrosis factor. *Science* 228: 149-154, 1985.

Human IL-6 ELISA Kit

Catalog No. EK0410

Size 96T(8×12 divisible strips)

For quantitative detection of human IL-6 in cell culture supernates, serum and plasma(heparin, EDTA, citrate).

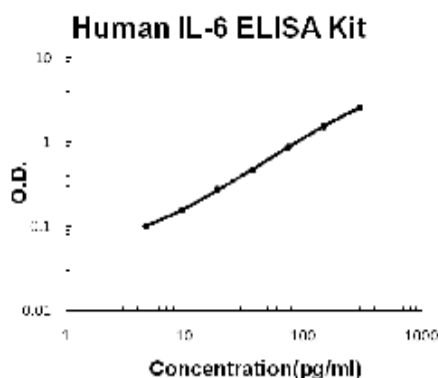
Typical Data Obtained from Human IL-6

(TMB reaction incubate at 37°C for 20 min)

Concentration(pg/ml)	0.0	4.69	9.38	18.75	37.5	75	150	300
O.D	0.042	0.100	0.155	0.274	0.472	0.874	1.543	2.576

Typical Human IL-6 ELISA Kit Standard Curve

This standard curve was generated at Boster for demonstration purpose only. A standard curve must be run with each assay.



Range	4.69pg/ml-300pg/ml
Sensitivity	< 0.3pg/ml
Specificity	Natural and recombinant human IL-6
Cross-reactivity	No detectable cross-reactivity with other relevant proteins

Storage

Store at 4°C for 6 months, at -20°C for 12 months. Avoid multiple freeze-thaw cycles (Shipped with wet ice.)

Precision

Intra-Assay Precision (Precision within an assay) Three samples of known concentration were tested on one plate to assess intra-assay precision.

Inter-Assay Precision (Precision between assays) Three samples of known concentration were tested in separate assays to assess inter-assay precision.

Sample	Intra-Assay Precision			Inter-Assay Precision		
	1	2	3	1	2	3
n	16	16	16	24	24	24
Mean(pg/ml)	16.3	98	179	18.2	99	185
Standard deviation	0.8	2.3	4.2	1.0	3.6	5.7
CV(%)	4.9	2.3	2.3	5.5	3.6	3.1

Principle

Boster's human IL-6 ELISA Kit was based on standard sandwich enzyme-linked immune-sorbent assay technology. A monoclonal antibody from mouse specific for IL-6 has been precoated onto 96-well plates. Standards(E.coli, P29-M212) and test samples are added to the wells, a biotinylated detection polyclonal antibody from goat specific for IL-6 is added subsequently and then followed by washing with PBS or TBS buffer. Avidin-Biotin-Peroxidase Complex was added and unbound conjugates were washed away with PBS or TBS buffer. HRP substrate TMB was used to visualize HRP enzymatic reaction. TMB was catalyzed by HRP to produce a blue color product that changed into yellow after adding acidic stop solution. The density of yellow is proportional to the human IL-6 amount of sample captured in plate.

Kit Components

Catalog number	Description	Quantity
-	96-well plate precoated with anti- human IL-6 antibody	1
ST0000-10	Lyophilized recombinant human IL-6 standard	10ng/tube×2
AR1107	Biotinylated anti- human IL-6 antibody	130µl(dilution 1:100)
AR1103	Avidin-Biotin-Peroxidase Complex (ABC)	130µl(dilution 1:100)
AR1106-1	Sample diluent buffer	30 ml
AR1106-2	Antibody diluent buffer	12ml
AR1106-3	ABC diluent buffer	12ml
AR1104	TMB color developing agent	10ml
AR1105	TMB stop solution	10ml

Material Required But Not Provided

1. Microplate reader in standard size.
2. Automated plate washer.
3. Adjustable pipettes and pipette tips. Multichannel pipettes are recommended in the condition of large amount of samples in the detection.
4. Clean tubes and Eppendorf tubes.
5. Washing buffer (neutral PBS or TBS).
 - Preparation of 0.01M TBS: Add 1.2g Tris, 8.5g NaCl; 450µl of purified acetic acid or 700µl of concentrated hydrochloric acid to 1000ml H₂O and adjust pH to 7.2-7.6. Finally, adjust the total volume to 1L.
 - Preparation of 0.01 M PBS: Add 8.5g sodium chloride, 1.4g Na₂HPO₄ and 0.2g NaH₂PO₄ to 1000ml distilled water and adjust pH to 7.2-7.6. Finally, adjust the total volume to 1L.

Notice for Application of Kit

1. To inspect the validity of experiment operation and the appropriateness of sample dilution proportion, pilot experiment using standards and a small number of samples is recommended.
2. The TMB Color Developing agent is colorless and transparent before using, contact us freely if it is not the case.
3. Before using the Kit, spin tubes and bring down all components to the bottom of tubes.
4. Duplicate well assay is recommended for both standard and sample testing.
5. Don't let 96-well plate dry, for dry plate will inactivate active components on plate.
6. Don't reuse tips and tubes to avoid cross contamination.
7. Avoid using the reagents from different batches together.
8. In order to avoid marginal effect of plate incubation due to temperature difference (reaction may be stronger in the marginal wells), it is suggested that the diluted ABC and TMB solution will be pre-warmed in 37°C for 30 min before using.

Preparation

1. Sample Preparation and Storage

Store samples to be assayed within 24 hours at 2-8°C. For long-term storage, aliquot and freeze samples at -20°C.

Avoid repeated freeze-thaw cycles.

- **Cell culture supernates:** Remove particulates by centrifugation, assay immediately or aliquot and store samples at -20°C.
- **Serum:** Allow the serum to clot in a serum separator tube (about 4 hours) at room temperature. Centrifuge at approximately 1000 X g for 15 min. Analyze the serum immediately or aliquot and store samples at -20°C.
- **Plasma:** Collect plasma using heparin, EDTA or citrate as an anticoagulant. Centrifuge for 15 min at 1500 x g within 30 min of collection. Assay immediately or aliquot and store samples at -20°C.

2. Sample Dilution Guideline

The user needs to estimate the concentration of the target protein in the sample and select a proper dilution factor so that the diluted target protein concentration falls near the middle of the linear regime in the standard curve. Dilute the sample using the provided diluent buffer. The following is a guideline for sample dilution. Several trials may be necessary in practice. **The sample must be well mixed with the diluents buffer.**

- **High target protein concentration (3-30ng/ml).** The working dilution is 1:100. i.e. Add 1 µl sample into 99 µl sample diluent buffer.
- **Medium target protein concentration (0.3-3ng/ml).** The working dilution is 1:10. i.e. Add 10 µl sample into 90 µl sample diluent buffer.
- **Low target protein concentration (4.69-300pg/ml).** The working dilution is 1:2. i.e. Add 50 µl sample to 50 µl sample diluent buffer.
- **Very Low target protein concentration (≤ 4.69pg/ml).** No dilution necessary, or the working dilution is 1:2.

3. Reagent Preparation and Storage

A. Reconstitution of the human IL-6 standard: IL-6 standard solution should be prepared no more than 2 hours prior to the experiment. Two tubes of IL-6 standard (10ng per tube) are included in each kit. Use one tube for each experiment.

- a. 10,000pg/ml of human IL-6 standard solution: Add 1 ml sample diluent buffer into one tube, keep the tube at room temperature for 10 min and mix thoroughly.
- b. 300pg/ml of human IL-6 standard solution: Add 0.03 ml of the above 10ng/ml IL-6 standard solution into 0.97 ml sample diluent buffer and mix thoroughly.

www.bosterbio.com

- c. 150pg/ml→4.69pg/ml of human IL-6 standard solutions: Label 6 Eppendorf tubes with 150pg/ml, 75pg/ml, 37.5pg/ml, 18.75pg/ml, 9.38pg/ml, 4.69pg/ml, respectively. Aliquot 0.3 ml of the sample diluent buffer into each tube. Add 0.3 ml of the above 300pg/ml IL-6 standard solution into 1st tube and mix. Transfer 0.3 ml from 1st tube to 2nd tube and mix. Transfer 0.3 ml from 2nd tube to 3rd tube and mix, and so on.

Note: The standard solutions are best used within 2 hours. The 10ng/ml standard solution should be stored at 4°C for up to 12 hours, or at -20°C for up to 48 hours. Avoid repeated freeze-thaw cycles.

- B. Preparation of biotinylated anti-human IL-6 antibody working solution: The solution should be prepared no more than 2 hours prior to the experiment.
 - a. The total volume should be: 0.1ml/well x (the number of wells). (Allowing 0.1-0.2 ml more than total volume)
 - b. Biotinylated anti-human IL-6 antibody should be diluted in 1:100 with the antibody diluent buffer and mixed thoroughly. (i.e. Add 1µl Biotinylated anti-human IL-6 antibody to 99µl antibody diluent buffer.)
- C. Preparation of Avidin-Biotin-Peroxidase Complex (ABC) working solution: The solution should be prepared no more than 1 hour prior to the experiment.
 - a. The total volume should be: 0.1ml/well x (the number of wells). (Allowing 0.1-0.2 ml more than total volume)
 - b. Avidin- Biotin-Peroxidase Complex (ABC) should be diluted in 1:100 with the ABC dilution buffer and mixed thoroughly. (i.e. Add 1µl ABC to 99µl ABC diluent buffer.)

Assay Procedure

The ABC working solution and TMB color developing agent must be kept warm at 37°C for 30 min before use. When diluting samples and reagents, they must be mixed completely and evenly. Standard IL-6 detection curve should be prepared for each experiment. The user will decide sample dilution fold by crude estimation of IL-6 amount in samples.

1. Aliquot 0.1ml per well of the 300pg/ml, 150pg/ml, 75pg/ml, 37.5pg/ml, 18.75pg/ml, 9.38pg/ml, 4.69pg/ml human IL-6 standard solutions into the precoated 96-well plate. Add 0.1ml of the sample diluent buffer into the control well (Zero well). Add 0.1ml of each properly diluted sample of human cell culture supernates, serum or plasma(heparin, EDTA, citrate) to each empty well. See "Sample Dilution Guideline" above for details. We recommend that each human IL-6 standard solution and each sample is measured in duplicate.
2. Seal the plate with the cover and incubate at 37°C for 90 min.
3. Remove the cover, discard plate content, and blot the plate onto paper towels or other absorbent material. Do NOT let the wells completely dry at any time.
4. Add 0.1ml of biotinylated anti-human IL-6 antibody working solution into each well and incubate the plate at 37°C for 60 min.
5. Wash plate 3 times with 0.01M TBS or 0.01M PBS, and each time let washing buffer stay in the wells for 1 min. Discard the washing buffer and blot the plate onto paper towels or other absorbent material. (Plate Washing Method: Discard the solution in the plate without touching the side walls. Blot the plate onto paper towels or other absorbent material. Soak each well with at least 0.3 ml PBS or TBS buffer for 1~2 minutes. Repeat this process two additional times for a total of THREE washes. Note: For automated washing, aspirate all wells and wash THREE times with PBS or TBS buffer, overfilling wells with PBS or TBS buffer. Blot the plate onto paper towels or other absorbent material.)
6. Add 0.1ml of prepared ABC working solution into each well and incubate the plate at 37°C for 30 min.
7. Wash plate 5 times with 0.01M TBS or 0.01M PBS, and each time let washing buffer stay in the wells for 1-2 min. Discard the washing buffer and blot the plate onto paper towels or other absorbent material.

FOR RESEARCH USE ONLY. NOT FOR DIAGNOSTIC AND CLINICAL USE.

Product Information Sheet

(See Step 5 for plate washing method).

8. Add 90µl of prepared TMB color developing agent into each well and incubate plate at 37°C in dark for 20-25 min (Note: For reference only, the optimal incubation time should be determined by end user. And the shades of blue can be seen in the wells with the four most concentrated human IL-6 standard solutions; the other wells show no obvious color).
9. Add 0.1ml of prepared TMB stop solution into each well. The color changes into yellow immediately.
10. Read the O.D. absorbance at 450nm in a microplate reader within 30 min after adding the stop solution.

For calculation, (the relative O.D.₄₅₀) = (the O.D.₄₅₀ of each well) – (the O.D.₄₅₀ of Zero well). The standard curve can be plotted as the relative O.D.₄₅₀ of each standard solution (Y) vs. the respective concentration of the standard solution (X). The human IL-6 concentration of the samples can be interpolated from the standard curve.

Note: if the samples measured were diluted, multiply the dilution factor to the concentrations from interpolation to obtain the concentration before dilution.

Summary

1. Add samples and standards and incubate the plate at 37°C for 90 min. Do not wash.
2. Add biotinylated antibodies and incubate the plate at 37°C for 60 min. Wash plate 3 times with 0.01M TBS.
3. Add ABC working solution and incubate the plate at 37°C for 30 min. Wash plate 5 times with 0.01M TBS.
4. Add TMB color developing agent and incubate the plate at 37°C in dark for 20-25 min.
5. Add TMB stop solution and read.

Background

The human interferon-beta 2 gene (IFNB2) product is identical to that for the B-cell stimulation factor-2 (BSF-2), the hybridoma growth factor (HGF) ("interleukin-6"), and the hepatocyte stimulating factor (HSF). Proteins derived from this gene mediate the plasma protein response to tissue injury (acute-phase response) and regulate the growth and differentiation of both B and T cells.¹ Interleukin-6 (IL6) has come to be regarded as a potential osteoporotic factor because it has stimulatory effects on cells of the osteoclast lineage, and, thus, may play a role in the pathogenesis of bone loss associated with estrogen deficiency.² IL-6 has many roles essential to the regulation of the immune response, hematopoiesis, and bone resorption.³ It is involved not only in the hepatic acute phase response but also in adipose tissue metabolism, lipoprotein lipase activity, and hepatic triglyceride secretion.⁴ Overproduction of IL-6, a proinflammatory cytokine, is associated with a spectrum of age-related conditions including cardiovascular disease, osteoporosis, arthritis, type 2 diabetes, certain cancers, periodontal disease, frailty, and functional decline.⁵ BSF-2 is a novel interleukin consisting of 184 amino acids.⁶ The standard product used in this kit is recombinant human IL-6, consisting of 184 amino acids with the molecular mass of 20.3kDa.

Reference

1. Bowcock, A. M.; Kidd, J. R.; Lathrop, G. M.; Daneshvar, L.; May, L. T.; Ray, A.; Sehgal, P. B.; Kidd, K. K.; Cavalli-Sforza, L. L. The human interferon-beta-2/hepatocyte stimulating factor/interleukin-6 gene: DNA polymorphism studies and localization to chromosome 7p21. *Genomics* 3: 8-16, 1988.
2. Ota, N.; Nakajima, T.; Nakazawa, I.; Suzuki, T.; Hosoi, T.; Orimo, H.; Inoue, S.; Shirai, Y.; Emi, M. A nucleotide variant in the promoter region of the interleukin-6 gene associated with decreased bone mineral density. *J. Hum. Genet.* 46: 267-272, 2001.
3. Chung, H. W.; Seo, J.-S.; Hur, S. E.; Kim, H. L.; Kim, J. Y.; Jung, J. H.; Kim, L. H.; Park, B. L.; Shin, H. D. Association of interleukin-6 promoter variant with bone mineral density in pre-menopausal women. *J. Hum. Genet.* 48: 243-248, 2003.
4. Ferrari, S. L.; Ahn-Luong, L.; Gamero, P.; Humphries, S. E.; Greenspan, S. L. Two promoter polymorphisms regulating interleukin-6 gene expression are associated with circulating levels of C-reactive protein and markers of bone resorption in postmenopausal women. *J. Clin. Endocr. Metab.* 88: 255-259, 2003.
5. Kiecolt-Glaser, J. K.; Preacher, K. J.; MacCullum, R. C.; Atkinson, C.; Malarkey, W. B.; Glaser, R. Chronic stress and age-related increases in the proinflammatory cytokine IL-6. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 100: 9090-9095, 2003.
6. Hirano, T.; Yasukawa, K.; Harada, H.; Taga, T.; Watanabe, Y.; Matsuda, T.; Kashiwamura, S.; Nakajima, K.; Koyama, K.; Iwamatsu, A.; Tsunasawa, S.; Sakiyama, F.; Matsui, H.; Takahara, Y.; Taniguchi, T.; Kishimoto, T. Complementary DNA for a novel human interleukin (BSF-2) that induces B lymphocytes to produce immunoglobulin. *Nature* 324: 73-76, 1986.

Human CK-18/KRT18(Cytokeratin 18) ELISA Kit

Synonyms: CYK18, K18

Catalog No : E-EL-H2072
96T

This manual must be read attentively and completely before using this product .

If you have any problems, please contact our Technical Service Center for help.

Phone: 240-252-7368(USA) 240-252-7376(USA)

Email: techsupport@elabscience.com

Website: www.elabscience.com

Please kindly provide us the lot number (on the outside of the box) of the kit for more efficient service.

Intended use

This ELISA kit can be applied to the in vitro quantitative determination of Human CK-18/KRT18 concentrations in serum, plasma and other biological fluids.

Specification

- Sensitivity: Human CK-18/KRT18 is 3.75 mU/mL
- Detection Range: 6.25-400 mU/mL
- Specificity: This kit recognizes natural and some recombinant Human CK-18/KRT18. No significant cross-reactivity or interference between Human CK-18/KRT18 and analogues was observed.
- Repeatability: Coefficient of variation is < 10%.

Test principle

This ELISA kit uses Sandwich-ELISA as the method. The micro ELISA plate provided in this kit has been pre-coated with an antibody specific to Human CK-18/KRT18. Standards or samples are added to appropriate micro ELISA plate wells and combined with the specific antibody. Then a biotinylated detection antibodies specific for Human CK-18/KRT18 and Avidin-Horseradish Peroxidase (HRP) conjugate are added to each micro plate well successively and incubated. After incubation, free components are washed away. Then the Substrate Reagent is added to each well, only those wells that contain Human CK-18/KRT18, biotinylated detection antibody and Avidin-HRP conjugate will appear blue in color. The enzyme-substrate reaction will be terminated by adding Stop Solution and appears yellow in color. The optical density (OD) can be measured with spectrophotometry at a wavelength of $450\text{ nm} \pm 2\text{ nm}$. The OD value is proportional to the concentration of Human CK-18/KRT18. The concentration of Human CK-18/KRT18 in samples can be calculated by comparing the OD of the samples with the standard curve.

Kit components & Storage

The unopened kit can be stored at 4°C for 1 month. If the kit is not used within 1 month, store the items separately according to the following conditions since the kit is received.

Item	Specifications	Storage
Micro ELISA Plate (Dismountable)	8 wells ×12 strips	-20°C, 6 months
Reference Standard	2 vials	
Concentrated Biotinylated Detection Ab (100×)	1 vial, 120 µL	
Concentrated HRP Conjugate (100×)	1 vial, 120 µL	-20°C(shading light), 6 months
Reference Standard & Sample Diluent	1 vial, 20 mL	4°C, 6 months
Biotinylated Detection Ab Diluent	1 vial, 10 mL	
HRP Conjugate Diluent	1 vial, 10 mL	
Concentrated Wash Buffer (25×)	1 vial, 30 mL	
Substrate Reagent	1 vial, 10 mL	4°C(shading light)
Stop Solution	1 vial, 10 mL	4°C
Plate Sealer	5 pieces	
Product Description	1 copy	
Certificate of Analysis	1 copy	

Note: All reagent bottle caps must be tightened to prevent evaporation and microbial pollution.

The volume of reagents in partial shipments is a little more than the volume marked on the label, please use in measuring instead of directly pouring.

Other supplies required

Microplate reader with 450 nm wavelength filter

High-precision transferpettor, EP tubes and disposable pipette tips

37°C Incubator

Deionized or distilled water

Absorbent paper

Loading slot for Wash Buffer

Note

1. Please wear lab coats and latex gloves for protection. Please perform the experiment following the national security columns of biological laboratories, especially detecting samples of blood or other body fluid.
2. The just opened ELISA Plate may appear water-like substance, which is normal and will not have any impact on the experimental results.
3. Do not reuse the diluted standard, biotinylated detection Ab working solution, concentrated HRP conjugate working solution. The unspent undiluted concentrated biotinylated detection Ab (100×) and other stock solution should be stored back according to the storage condition in the above table.
4. The microplate reader should be able to be installed with a filter that can detect the wavelength at 450 ± 10 nm. The optical density should be within 0–3.5.
5. Do not mix or use components from other lots (except for washing buffer and stop solution).
6. Change pipette tips between adding of each standard level, between sample adding, and between reagent adding. Also, use separate reservoirs for each reagent.

Sample collection

Serum: Allow samples to clot for 2 hours at room temperature or overnight at 4°C before centrifugation for 15 min at 1000×g at 2–8°C. Collect the supernatant to carry out the assay. Blood collection tubes should be disposable, and non-endotoxin.

Plasma: Collect plasma using EDTA or heparin as an anticoagulant. Centrifuge samples for 15 min at 1000×g at 2–8°C within 30 min of collection. Collect the supernatant to carry out the assay. Hemolysis samples are not suitable for ELISA assay!

Cell lysates: For adherent cells, gently wash the cells with moderate amount of pre-cooled PBS and dissociate the cells by trypsin. Collect the cell suspension into the centrifugal tube and centrifuge for 5 min at 1000×g. Discard the medium and wash the cells for 3 times with pre-cooled PBS. For each 1×10^6 cells, add 150–250 μ L of pre-cooled PBS to keep the cells resuspended. Repeat the freeze-thaw process for several times until the cells are lysed fully. Centrifuge for 10 min at 1500×g at 4°C. Remove the cell fragments, collect the supernatant to carry out the assay. Avoid repeated freeze-thaw cycles.

Tissue homogenates: It is recommended to get detailed references from other literatures before detecting different tissue types. For general information, hemolysis blood may affect the result, so the tissues should be minced to small pieces and rinsed in ice-cold PBS (0.01M, pH=7.4) to remove excess blood thoroughly. Tissue pieces should be weighed and then homogenized in PBS (tissue weight(g): PBS volume(mL) = 1:9) with a glass homogenizer on ice. To further break the cells, you can sonicate the suspension with an ultrasonic cell disrupter or subject it to freeze-thaw cycles. The homogenates are then centrifuged for 5 min at 5000×g to get the supernatant.

Cell culture supernatant or other biological fluids:

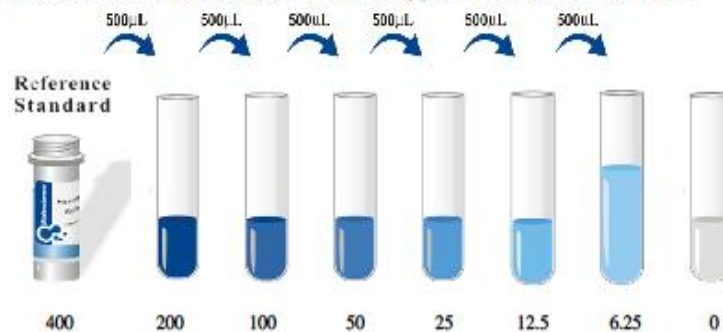
Centrifuge samples for 20 min at 1000×g at 2–8°C. Collect the supernatant to carry out the assay.

Note for sample:

1. Samples should be assayed within 7 days when stored at 4°C, otherwise samples must be divided and stored at -20°C (≤1 month) or -80°C (≤3 months). Avoid repeated freeze-thaw cycles.
2. Please predict the concentration before assaying. If the sample concentration is not within the range of the standard curve, users must determine the optimal sample dilutions for their particular experiments.
3. If the sample type is not included in the manual, a preliminary experiment is suggested to verify the validity.
4. If lysis buffer is used to prepare tissue homogenate or cell culture supernatant, there is a possibility of causing a deviation due to the introduced chemical substance.
5. Some recombinant protein may cannot be detected due to the mismatching with coated antibody or detection antibody.

Reagent preparation

1. Bring all reagents to room temperature (18–25°C) before use. Preheat the Microplate reader for 15 min before OD measurement.
2. **Wash Buffer:** Dilute 30 mL of Concentrated Wash Buffer with deionized or distilled water to prepare 750 mL Wash Buffer. Note: if crystals have formed in the concentrate, warm it in 40°C water bath and mix it gently until the crystals have completely dissolved.
3. **Standard working solution:** Centrifuge the standard at 10,000×g for 1 min. Add 1.0 mL of Reference Standard & Sample Diluent, let it stand for 10 min and turn it upside down for several times. After it dissolves fully, mix it thoroughly with a pipette. This reconstitution produces a stock solution of 400 mU/mL. Then make serial dilutions as needed. The recommended dilution gradient is as follows: 400, 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 0 mU/mL.
Dilution method: Take 7 EP tubes, add 500 µL of Reference Standard & Sample Diluent to each tube. Pipette 500 µL of the 400 mU/mL stock solution to the first tube and mix up to produce a 200 mU/mL stock solution. Pipette 500 µL of the solution from former tube to the latter one in order according to this step. The illustration below is for reference. Note: the last tube is regarded as blank. Don't pipette solution to it from the former tube.



4. **Biotinylated Detection Ab working solution:** Calculate the required amount before experiment (100 µL/well). In actual preparation, more account of 100–200 µL should be prepared. Centrifuge the stock tube before use, dilute the 100× Concentrated Biotinylated Detection Ab to 1×working solution with Biotinylated Detection Ab Diluent.
5. **Concentrated HRP Conjugate working solution:** Calculate the required amount before experiment (100 µL/well). In actual preparation, more account of 100–200 µL should be prepared. Dilute the 100× Concentrated HRP Conjugate to 1× working solution with Concentrated HRP Conjugate Diluent.

Assay procedure (A brief assay procedure is on the 11th page)

1. Add **Standard working solution** of different concentrations to the first two columns: Each concentration of the solution is added into two wells side by side (100 μ L for each well). Add samples to other wells (100 μ L for each well). Cover the plate with sealer provided in the kit. Incubate for 90 min at 37°C. Note: solutions should be added to the bottom of micro ELISA plate well, avoid touching the inside wall and foaming as possible.
2. Remove the liquid of each well, do not wash. Immediately add 100 μ L of **Biotinylated Detection Ab working solution** to each well. Cover with the Plate sealer. Gently mix up. Incubate for 1 hour at 37°C.
3. Aspirate or decant the solution from each well, add 350 μ L of **wash buffer** to each well. Soak for 1~2 min and aspirate or decant the solution from each well and pat it dry against clean absorbent paper. Repeat this wash step 3 times. Note: a microplate washer can be used in this step and other wash steps.
4. Add 100 μ L of **HRP Conjugate working solution** to each well. Cover with the Plate sealer. Incubate for 30 min at 37°C.
5. Aspirate or decant the solution from each well, repeat the wash process for five times as conducted in step 3.
6. Add 90 μ L of **Substrate Reagent** to each well. Cover with a new plate sealer. Incubate for about 15 min at 37°C. Protect the plate from light. Note: the reaction time can be shortened or extended according to the actual color change, but not more than 30min.
7. Add 50 μ L of **Stop Solution** to each well. Note: the order to add stop solution should be the same as the substrate solution.
8. Determine the optical density (OD value) of each well at once with a micro-plate reader set to 450 nm.

Calculation of results

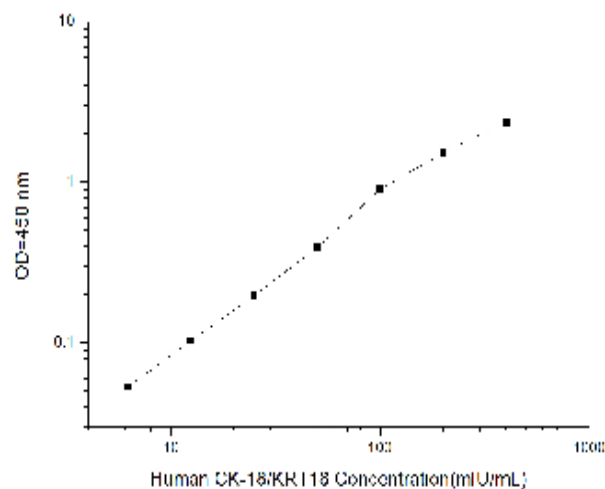
Average the duplicate readings for each standard and samples, then subtract the average zero standard optical density. Plot a four-parameter logistic curve on log-log graph paper, with standard concentration on the x-axis and OD values on the y-axis.

If samples have been diluted, the concentration calculated from the standard curve must be multiplied by the dilution factor. If the OD of the sample surpasses the upper limit of the standard curve, you should re-test it after appropriate dilution. The actual concentration is the calculated concentration multiplied dilution factor.

Typical data

As the OD values of the standard curve may vary according to the conditions of actual assay performance (e.g. operator, pipetting technique, washing technique or temperature effects), the operator should establish standard curve for each test. Typical standard curve and data below is provided for reference only.

Concentration (mU/mL)	400	200	100	50	25	12.5	6.25	0
OD	2.443	1.601	0.969	0.457	0.26	0.167	0.117	0.064
Corrected OD	2.379	1.537	0.905	0.393	0.196	0.103	0.053	—



Precision

Intra-assay Precision (Precision within an assay): 3 samples with low, middle and high level Human CK-18/KRT18 were tested 20 times on one plate, respectively.

Inter-assay Precision (Precision between assays): 3 samples with low, middle and high level Human CK-18/KRT18 were tested on 3 different plates, 20 replicates in each plate.

Sample	Intra-assay Precision			Inter-assay Precision		
	1	2	3	1	2	3
n	20	20	20	20	20	20
Mean(mU/mL)	18.51	61.86	159.46	19.61	63.54	150.53
Standard deviation	1.12	2.50	7.35	1.13	3.18	5.81
C V (%)	6.05	4.04	4.61	5.76	5.00	3.86

Recovery

The recovery of Human CK-18/KRT18 spiked to three different levels in samples throughout the range of the assay in various matrices was evaluated.

Sample Type	Range (%)	Average Recovery (%)
Serum (n=5)	92-104	99
EDTA plasma (n=5)	95-107	100
Cell culture media (n=5)	85-100	92

Linearity

Samples were spiked with high concentrations of Human CK-18/KRT18 and diluted with Reference Standard & Sample Diluent to produce samples with values within the range of the assay.

		Serum (n=5)	EDTA plasma(n=5)	Cell culture media (n=5)
1:2	Range (%)	93-106	93-107	94-110
	Average (%)	98	99	102
1:4	Range (%)	92-108	81-92	86-100
	Average (%)	98	87	93
1:8	Range (%)	88-102	83-95	84-94
	Average (%)	94	89	89
1:16	Range (%)	92-107	81-96	83-95
	Average (%)	98	88	89

Troubleshooting

Problem	Causes	Solutions
Poor standard curve	Inaccurate pipetting	Check pipettes.
	Improper standard dilution	Ensure briefly spin the vial of standard and dissolve the powder thoroughly by gentle mixing.
	Wells not completely aspirated	Completely aspirate wells between steps.
Low signal	Insufficient incubation time	Ensure sufficient incubation time.
	Incorrect assay temperature	Use recommended incubation temperature. Bring substrate to room temperature before use.
	Inadequate reagent volumes	Check pipettes and ensure correct preparation.
	Improper dilution	
	HRP conjugate inactive or TMB failure	Mix HRP conjugate and TMB, rapid coloring.
Deep color but low value	Plate reader settings not optimal	Verify the wavelength and filter setting in the Microplate reader.
		Open the Microplate Reader ahead to pre-heat.
Large CV	Inaccurate pipetting	Check pipettes.
High background	Concentration of target protein is too high	Use recommended dilution factor.
	Plate is insufficiently washed	Review the manual for proper wash. If using a plate washer, check that all ports are unobstructed.
	Contaminated wash buffer	Prepare fresh wash buffer.
Low sensitivity	Improper storage of the ELISA kit	All the reagents should be stored according to the instructions.
	Stop solution is not added	Stop solution should be added to each well before measurement.

SUMMARY

1. Add 100 μ L standard or sample to each well. Incubate for 90 min at 37°C.

2. Remove the liquid. Add 100 μ L Biotinylated Detection Ab. Incubate for 1 hour at 37°C.

3. Aspirate and wash 3 times.

4. Add 100 μ L HRP Conjugate. Incubate for 30 min at 37°C.

5. Aspirate and wash 5 times.

6. Add 90 μ L Substrate Reagent. Incubate for 15 min at 37°C.

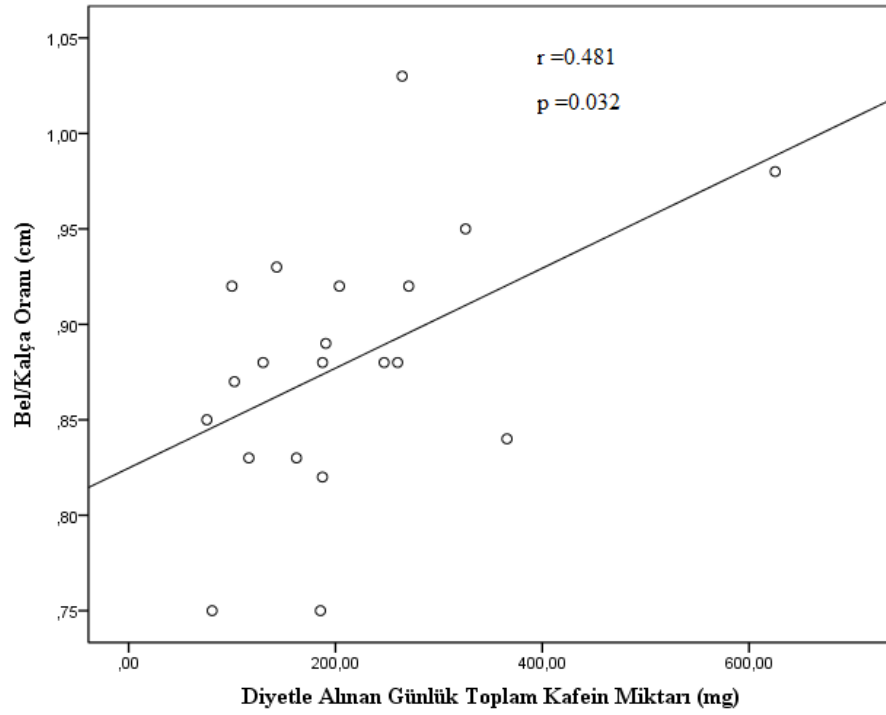
7. Add 50 μ L Stop Solution. Read at 450 nm immediately.

8. Calculation of results.

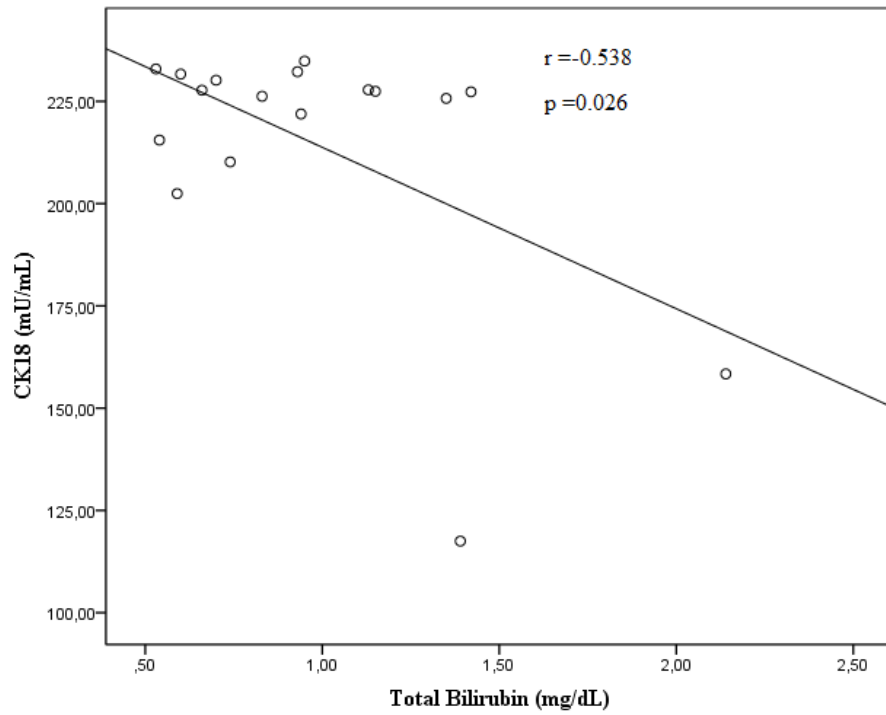
Declaration

1. Limited by current conditions and scientific technology, we can't completely conduct the comprehensive identification and analysis on all the raw material provided. So there might be some qualitative and technical risks for users using the kit.
2. The final experimental results will be closely related to the validity of products, operation skills of the operators and the experimental environments. Please make sure that sufficient samples are available.
3. To get the best results, please only use the reagents supplied by the manufacturer and strictly comply with the instructions in the description!
4. Incorrect results may occur because of wrong operations during the reagents preparation and loading, as well as incorrect parameter setting of Micro-plate reader. Please read the instruction carefully and adjust the instrument prior to the experiment.
5. Even the same operator might get different results in two separate experiments. In order to get better reproducible results, the operation of every step in the assay should be controlled.
6. Every kit has strictly passed QC test. However, results from end users might be inconsistent with our data due to some unexpected reasons such as transportation conditions, different lab equipments, and so on. Intra-assay variance among kits from different batches might arise from above reasons, too.
7. Valid period: 6 months.

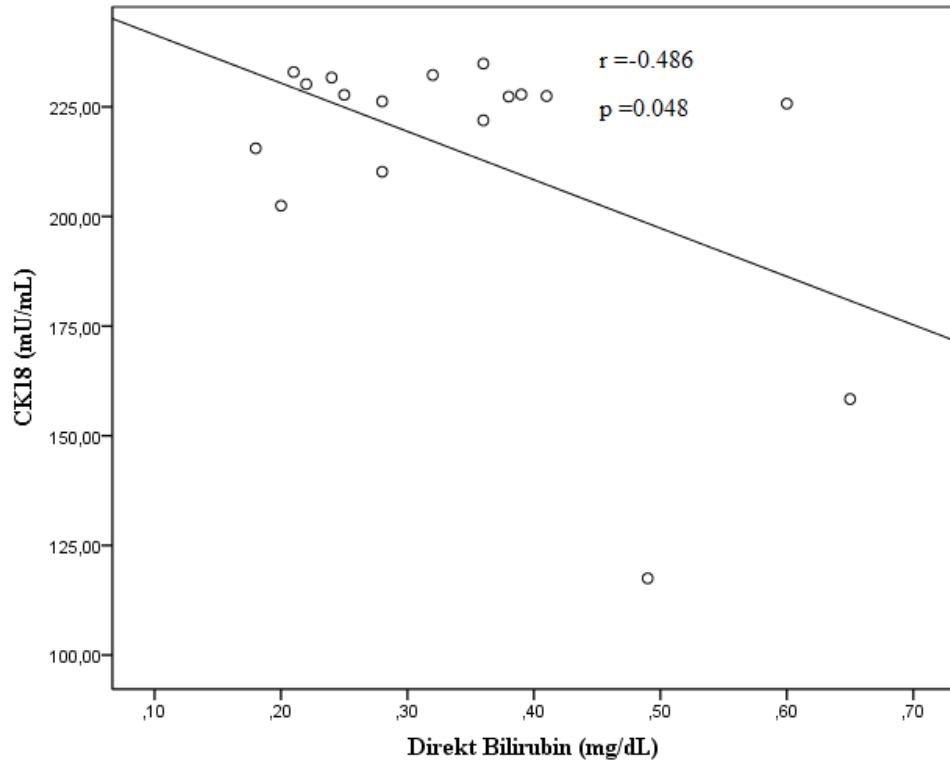
EK 6: Grafikler



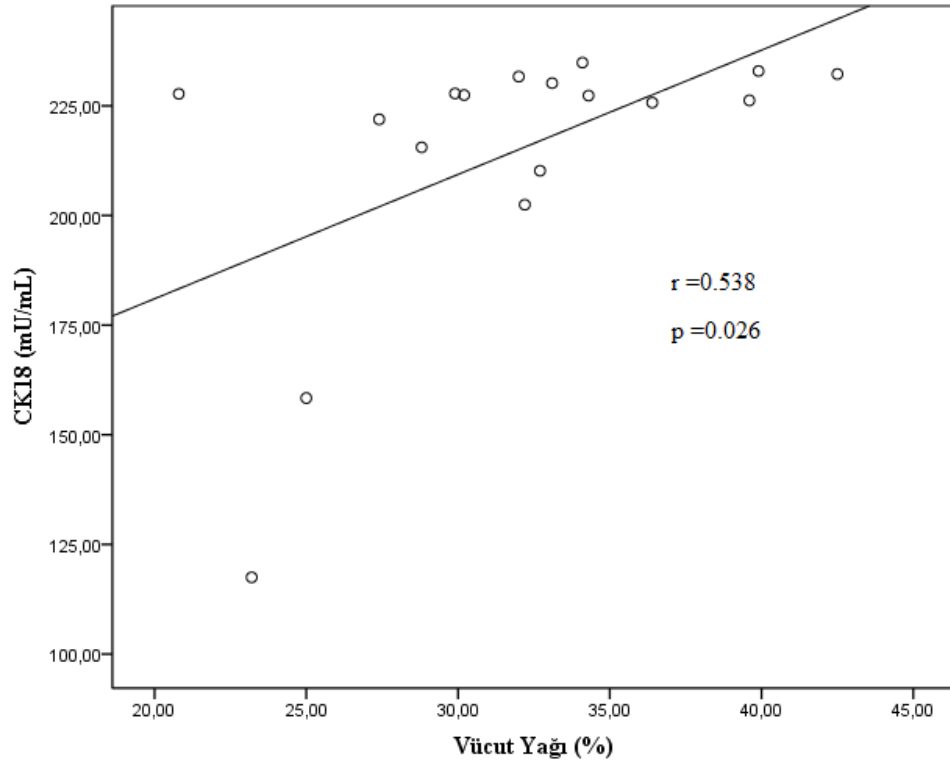
Ek Şekil 1. Kadınların Diyetle Aldıkları Günlük Toplam Kafein Miktarı ve Bel/Kalça Oranı Arasında Korelasyon Grafiği



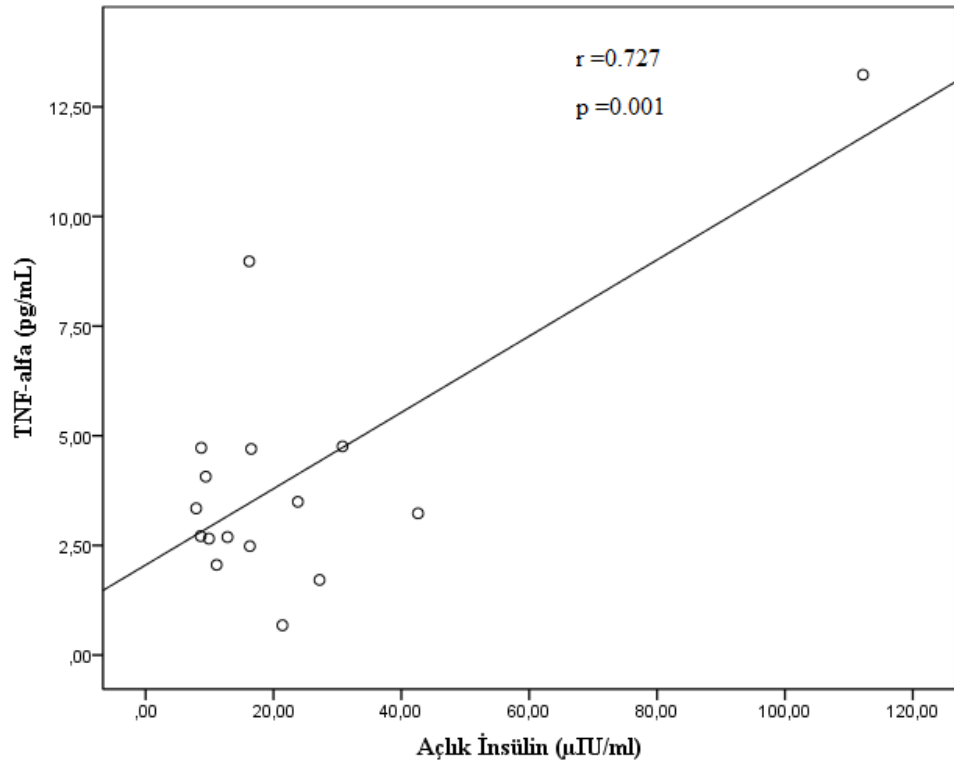
Ek Şekil 2. Erkeklerde Total Bilirubin ve Serum CK18 Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği



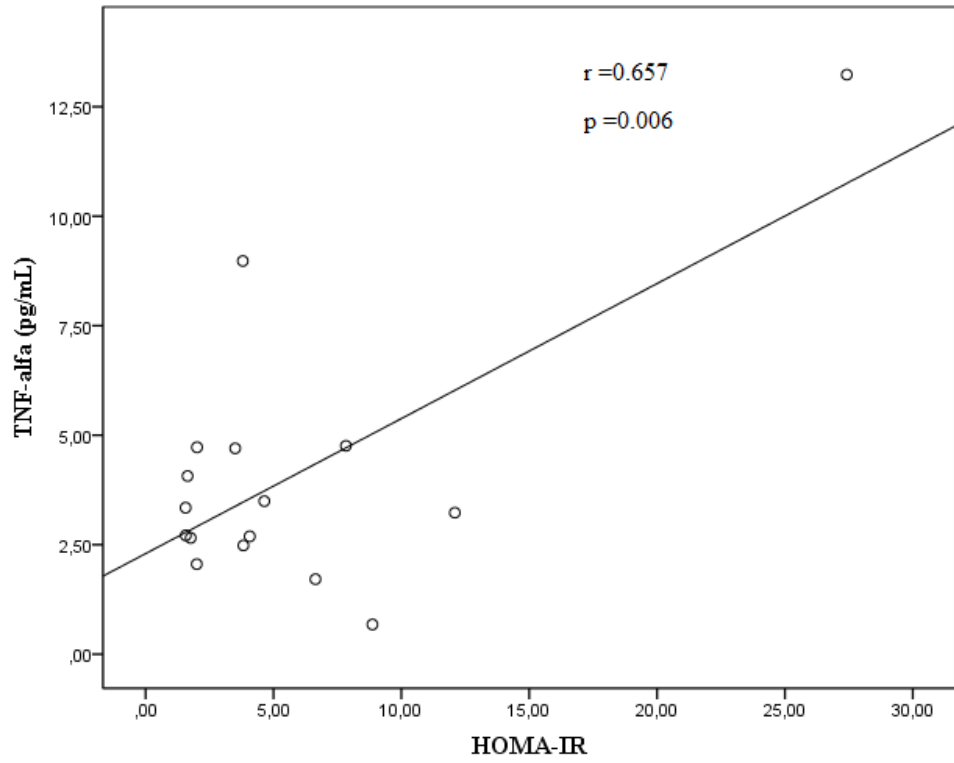
Ek Şekil 3. Erkeklerde Direkt Bilirubin ve Serum CK18 Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği



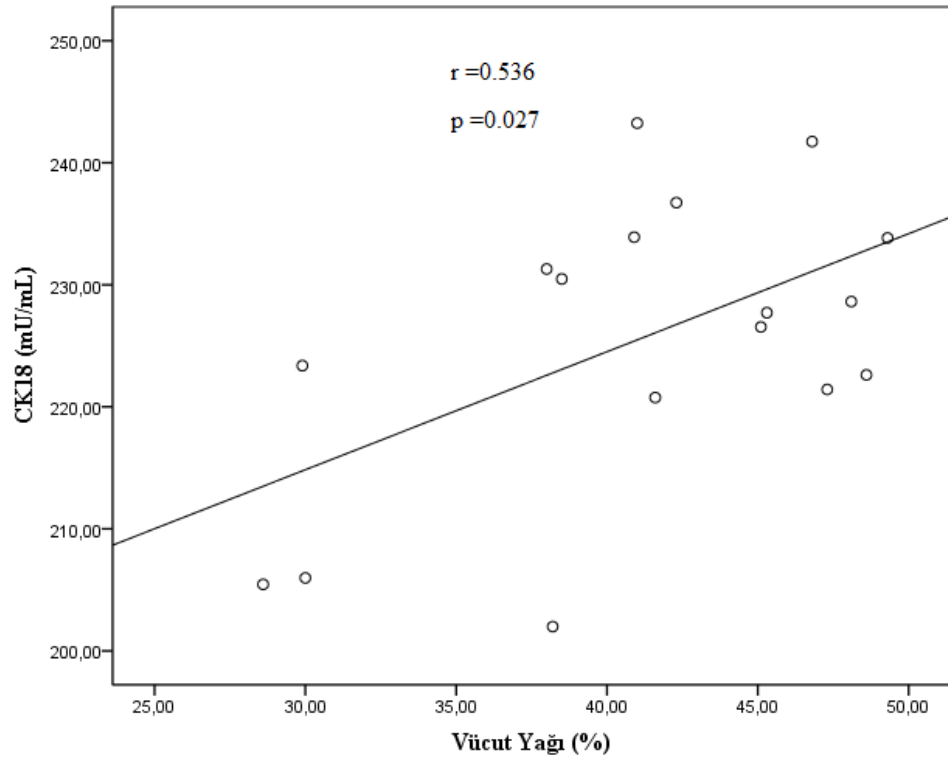
Ek Şekil 4. Erkeklerde Vücut Yağ Yüzdesi ve Serum CK18 Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği



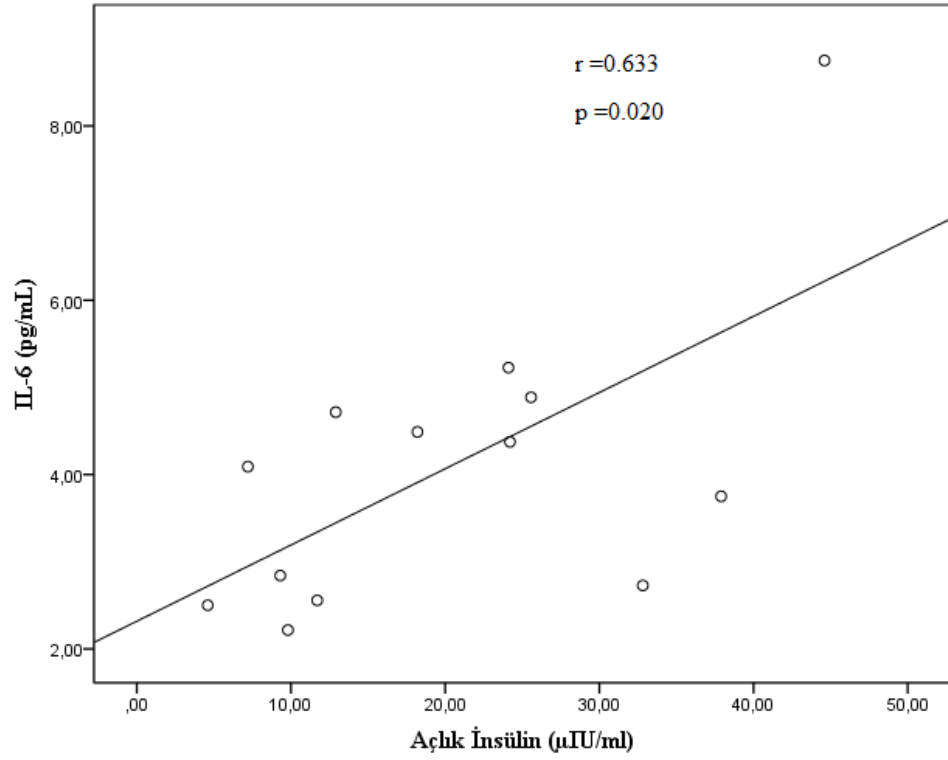
Ek Şekil 5. Erkeklerde Açlık İnsülin ve Serum TNF-alfa Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği



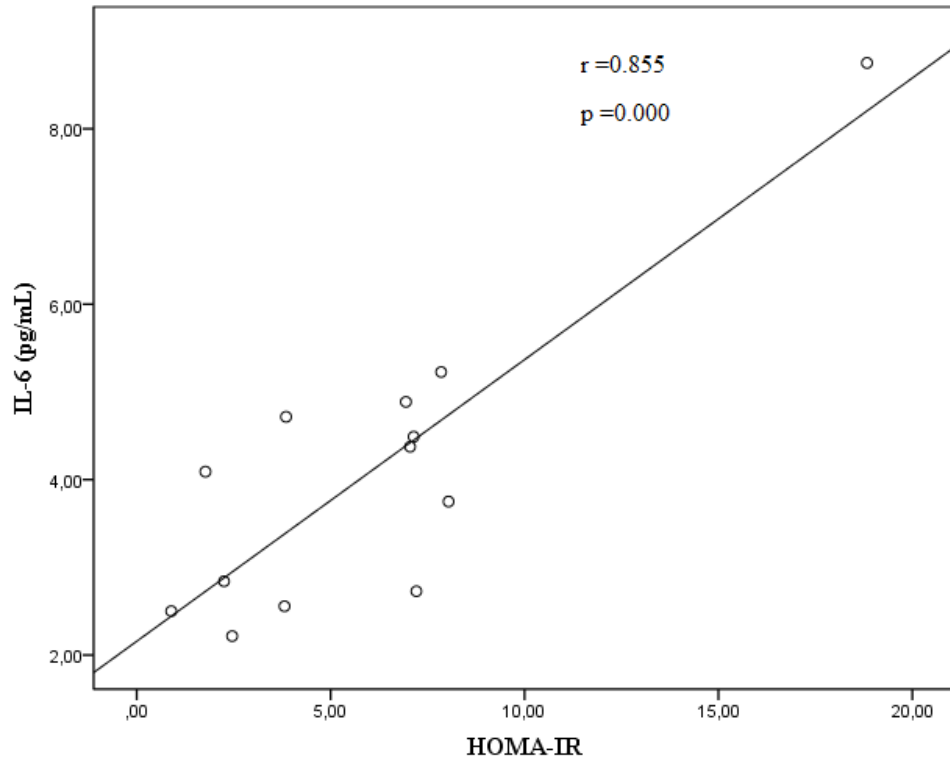
Ek Şekil 6. Erkeklerde HOMA-IR ve Serum TNF-alfa Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği



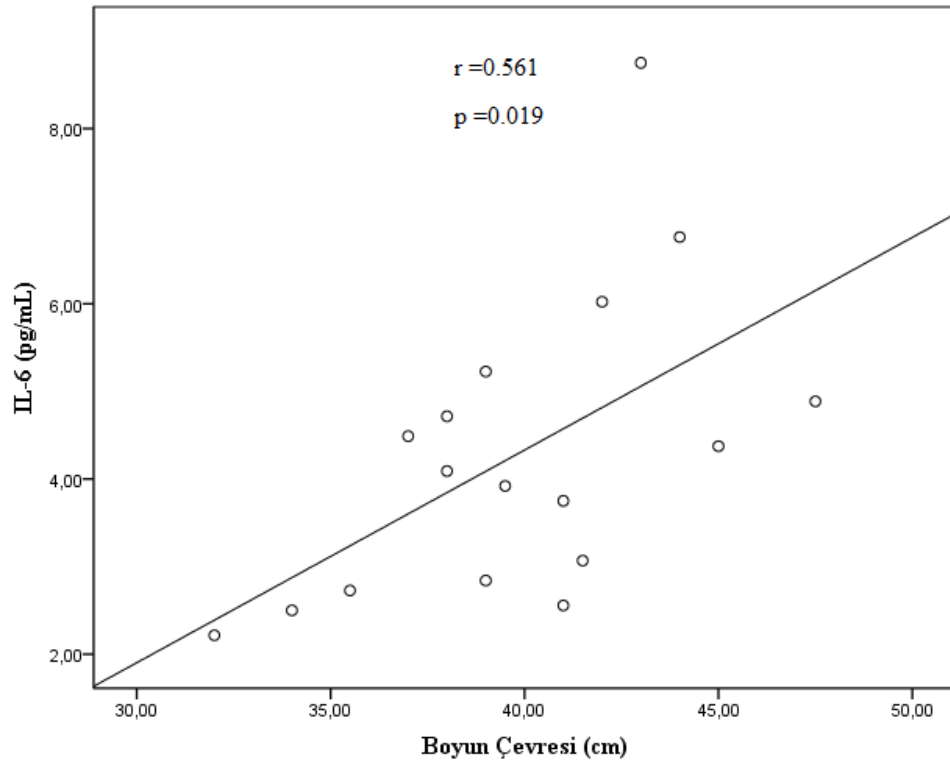
Ek Şekil 7. Kadınlarda Vücut Yağ Yüzdesi ve Serum CK18 Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği



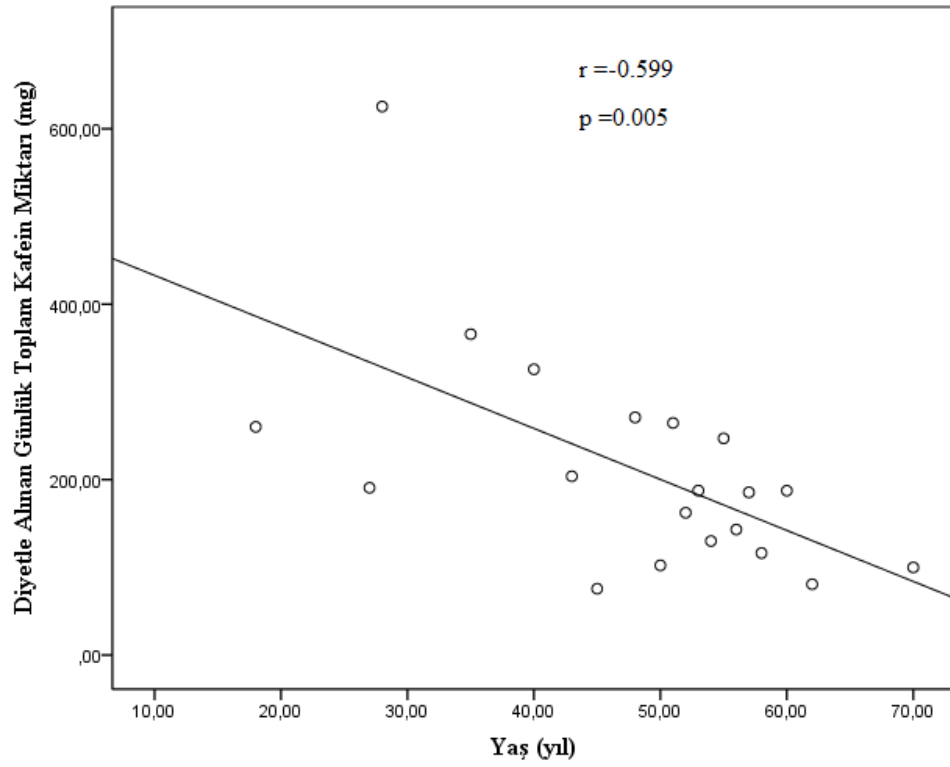
Ek Şekil 8. Kadınlarda Açlık İnsülin ve Serum IL-6 Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği



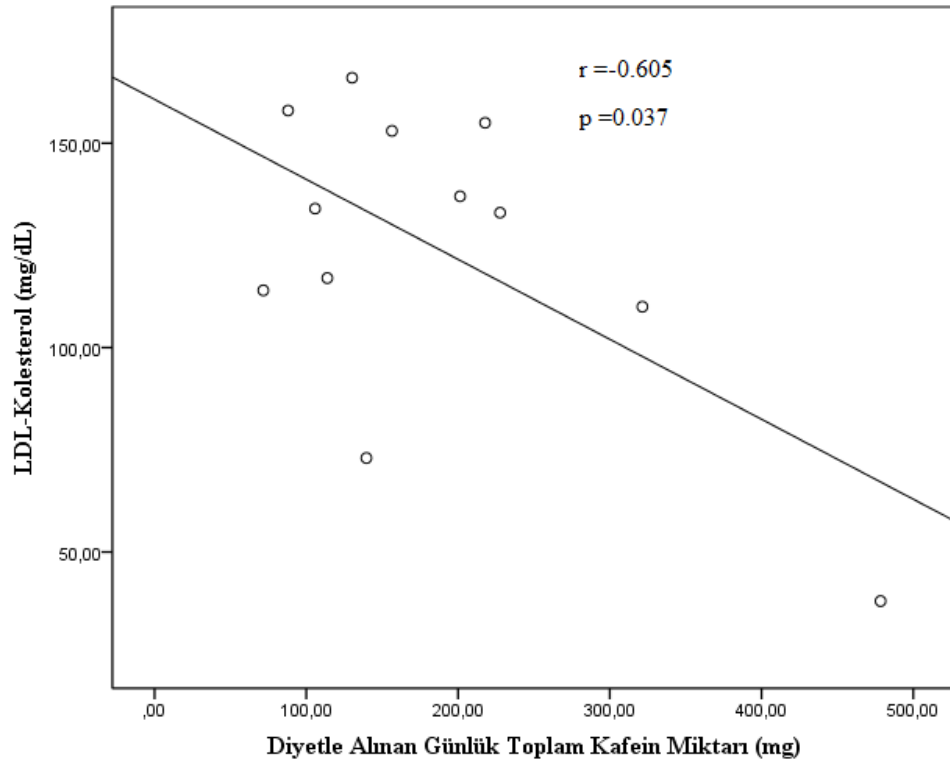
Ek Şekil 9. Kadınlarda HOMA-IR ve Serum IL-6 Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği



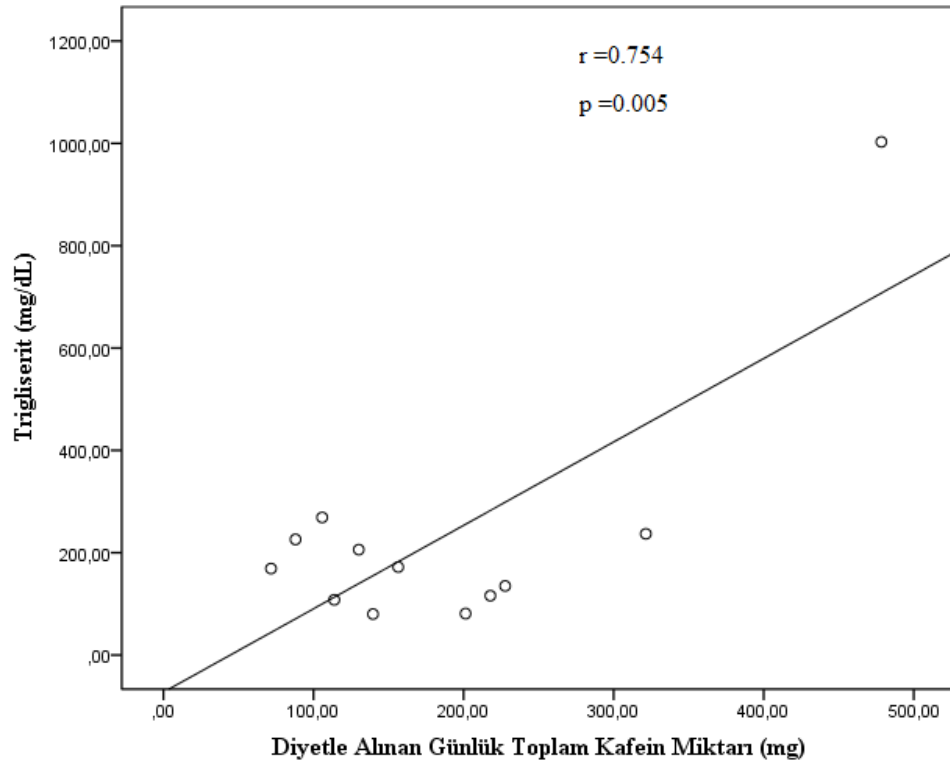
Ek Şekil 10. Kadınlarda Boyun Çevresi ve Serum IL-6 Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği



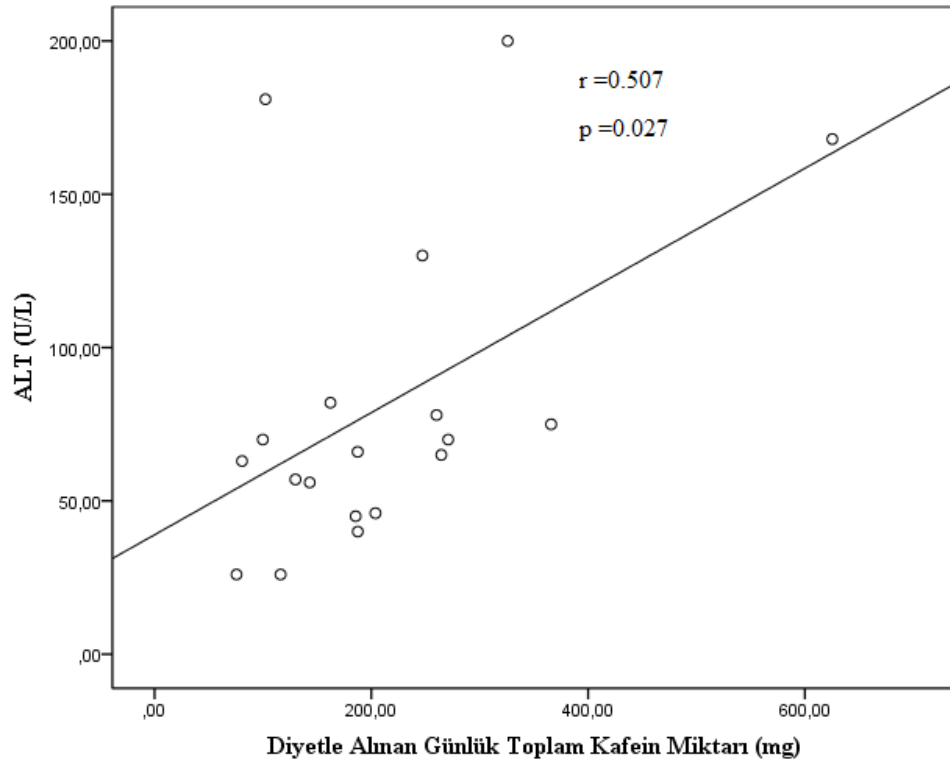
Ek Şekil 11. Kadınlarda Yaş ile Diyetle Alınan Günlük Toplam Kafein Miktarı Arasında Korelasyon Grafiği



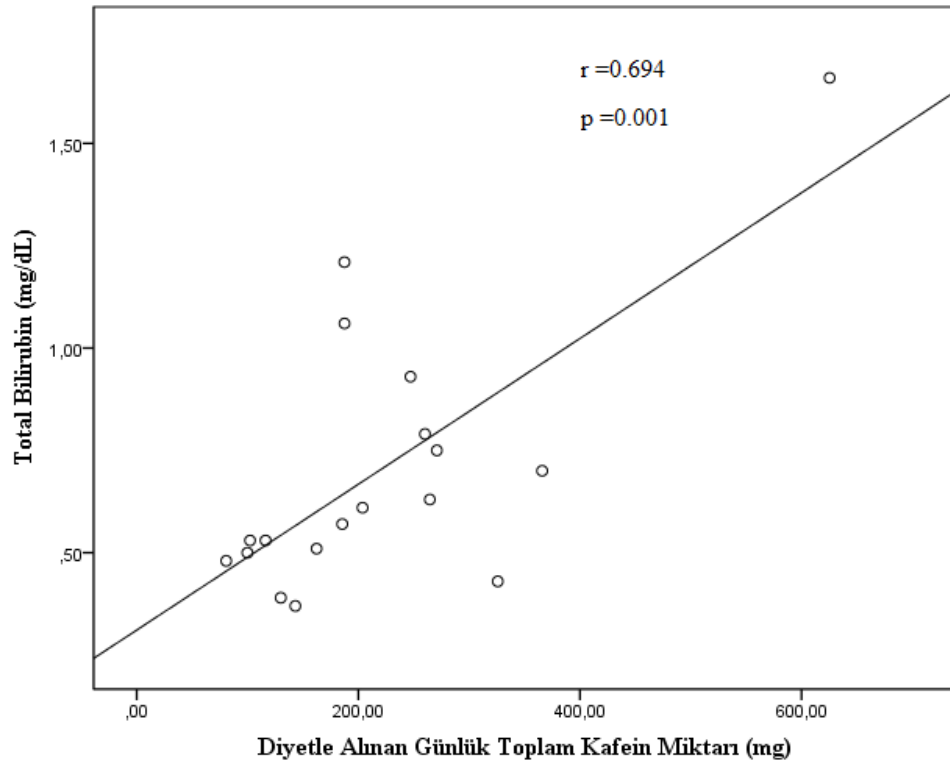
Ek Şekil 12. Erkeklerde Diyetle Alınan Günlük Toplam Kafein Miktarı ile LDL Kolesterol Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği



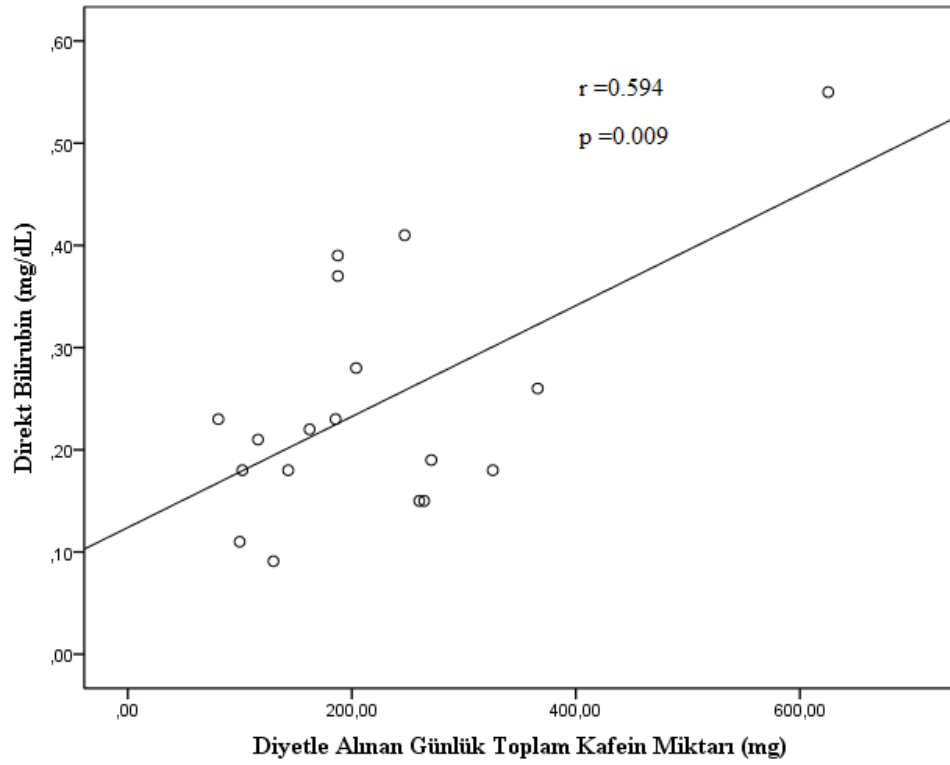
Ek Şekil 13. Erkeklerde Diyetle Alınan Günlük Toplam Kafein Miktarı ile Trigliserit Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği



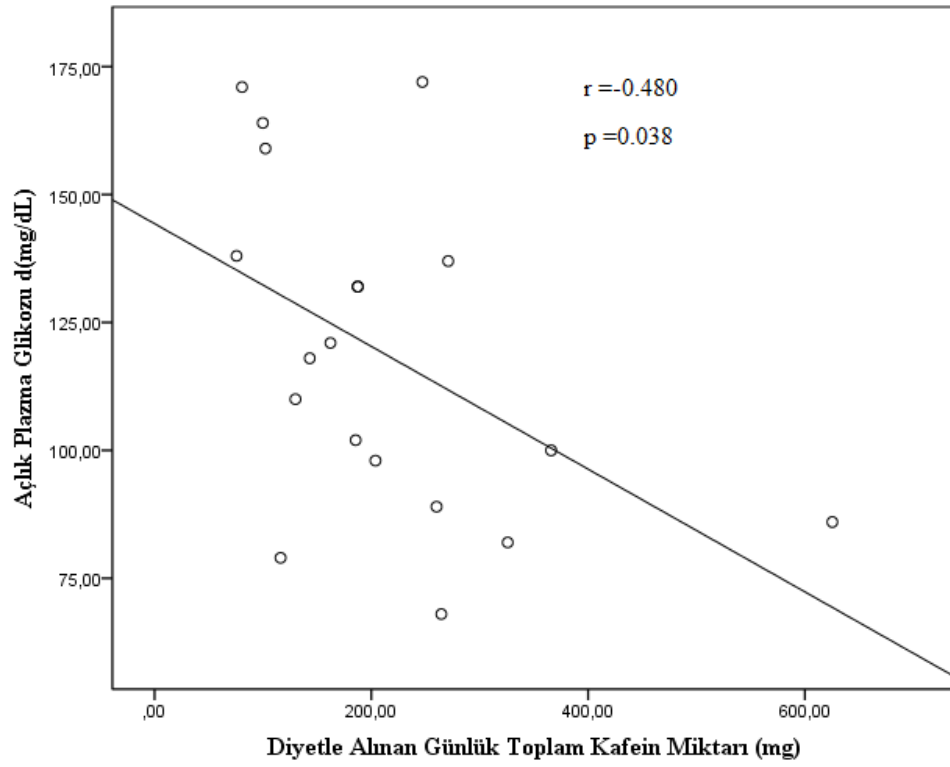
Ek Şekil 14. Kadınlarda Diyetle Alınan Günlük Toplam Kafein Miktarı ile ALT Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği



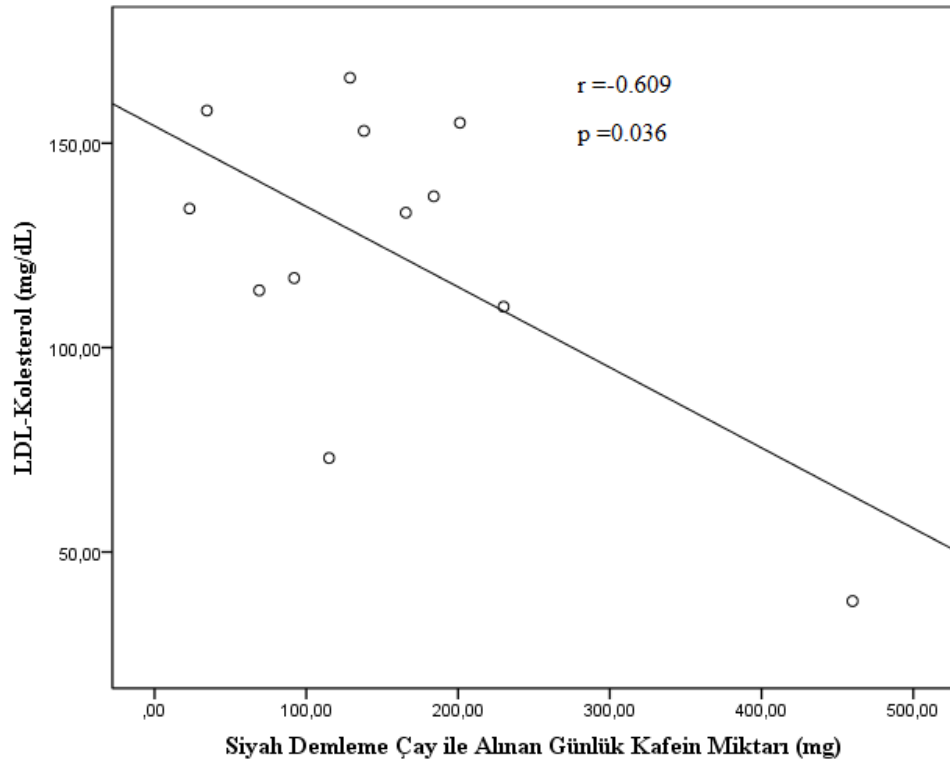
Ek Şekil 15. Kadınlarda Diyetle Alınan Günlük Toplam Kafein Miktarı ile Total Bilirubin Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği



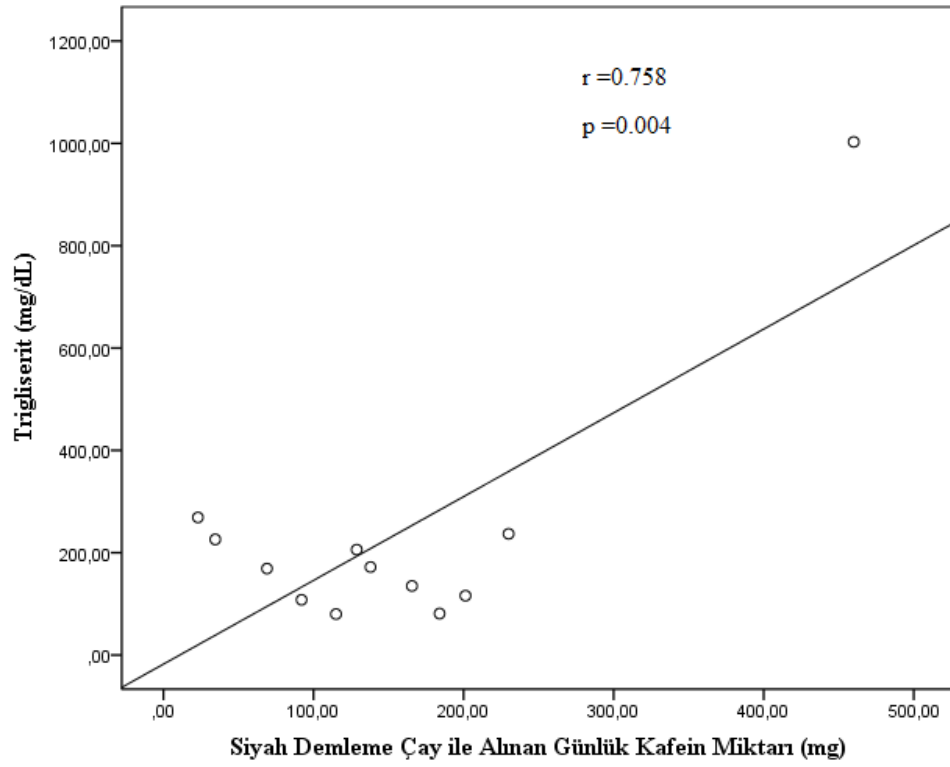
Ek Şekil 16. Kadınlarda Diyetle Alınan Günlük Toplam Kafein Miktarı ile Direkt Bilirubin Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği



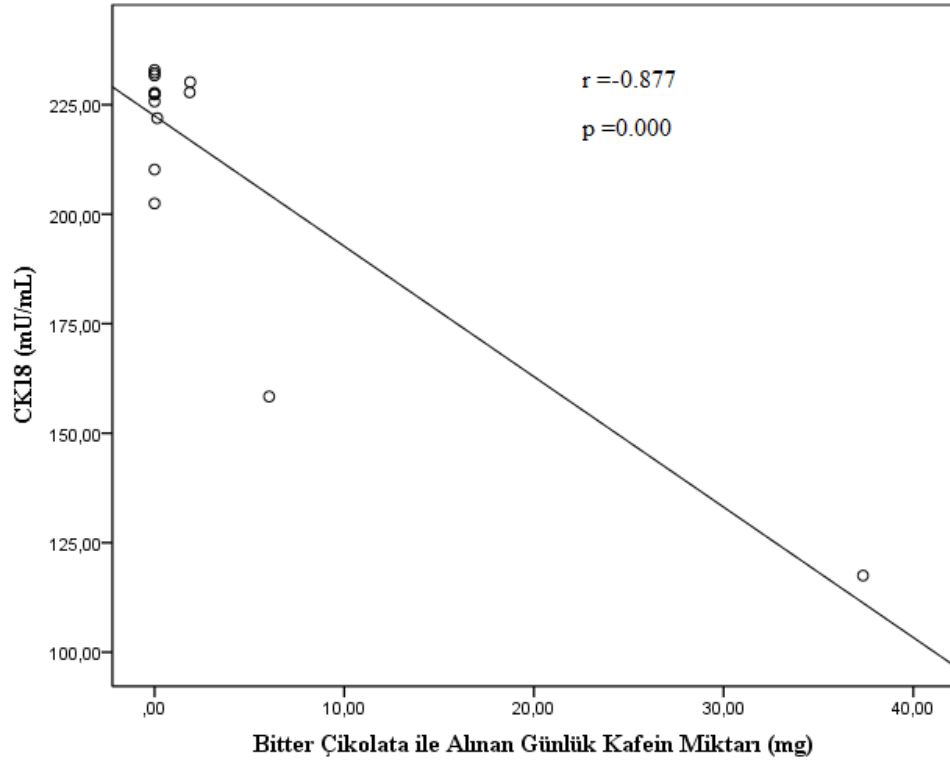
Ek Şekil 17. Kadınlarda Diyetle Alınan Günlük Toplam Kafein Miktarı ile Açlık Plazma Glukozu Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği



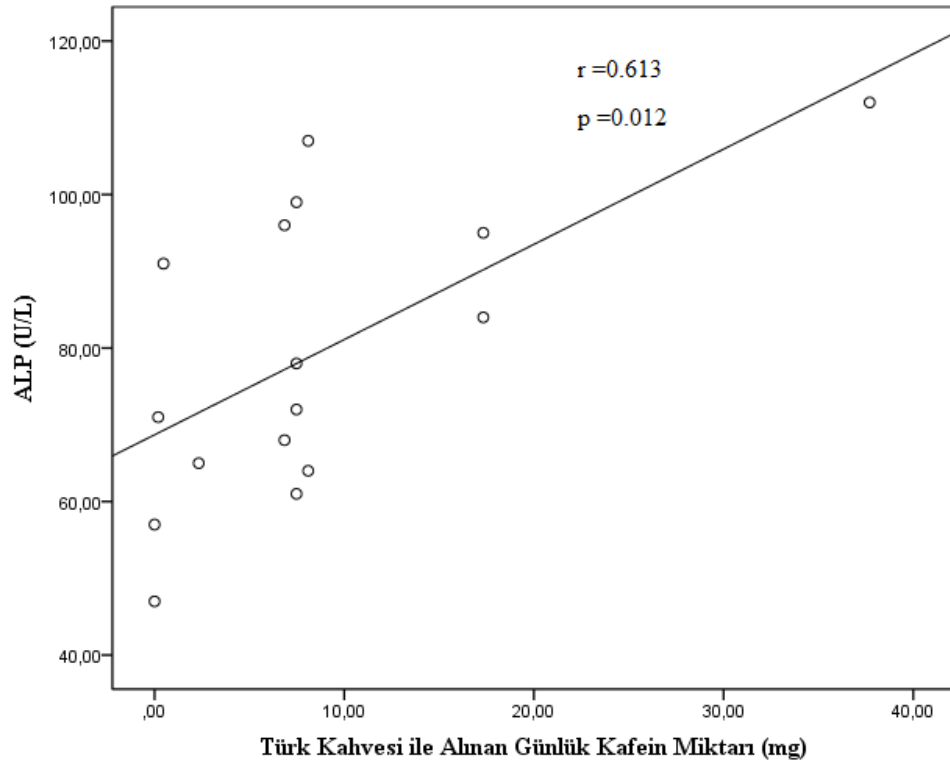
Ek Şekil 18. Erkeklerde Siyah Demleme Çay ile Alınan Günlük Kafein Miktarı ve LDL-Kolesterol Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği



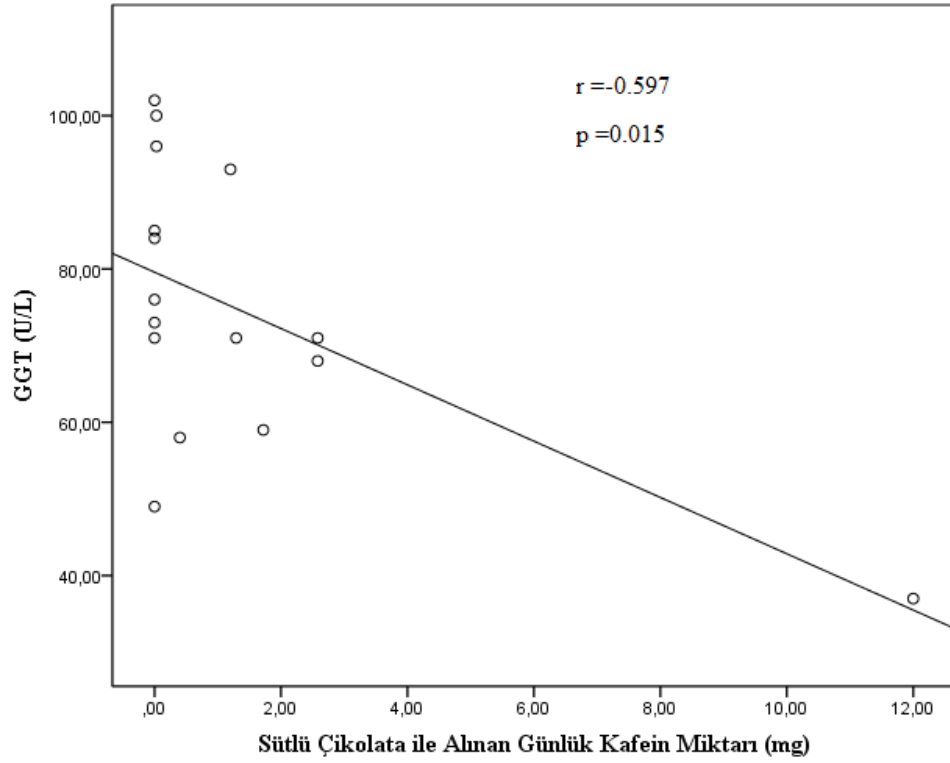
Ek Şekil 19. Erkeklerde Siyah Demleme Çay ile Alınan Günlük Kafein Miktarı ve Trigliserit Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği



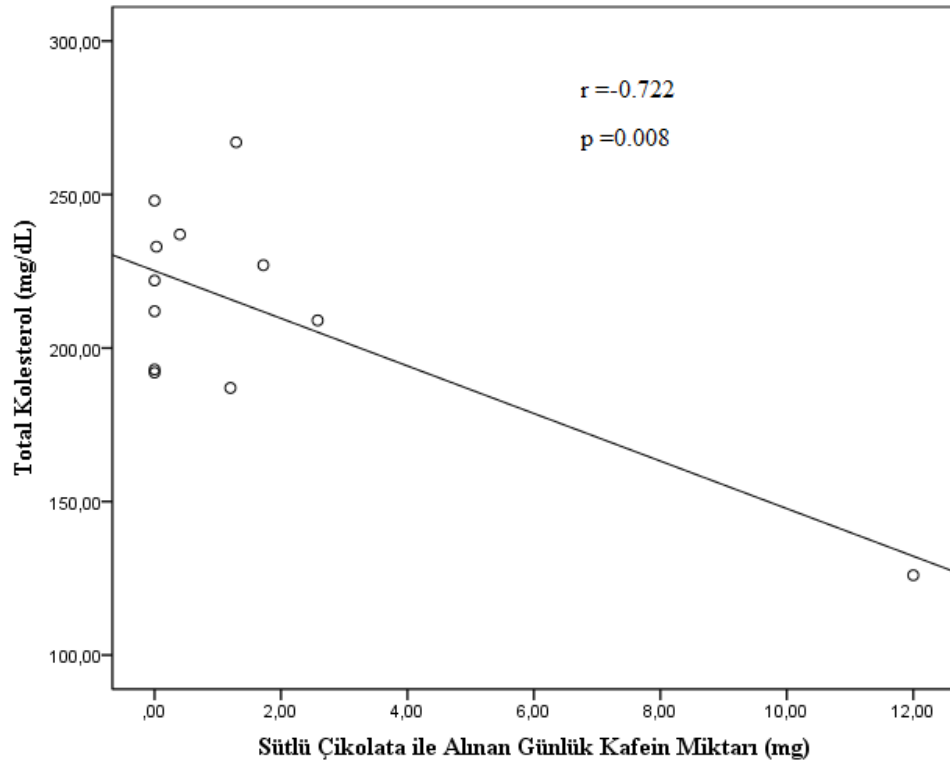
Ek Şekil 20. Erkeklerde Bitter Çikolata ile Alınan Günlük Kafein Miktarı ve Serum CK18 Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği



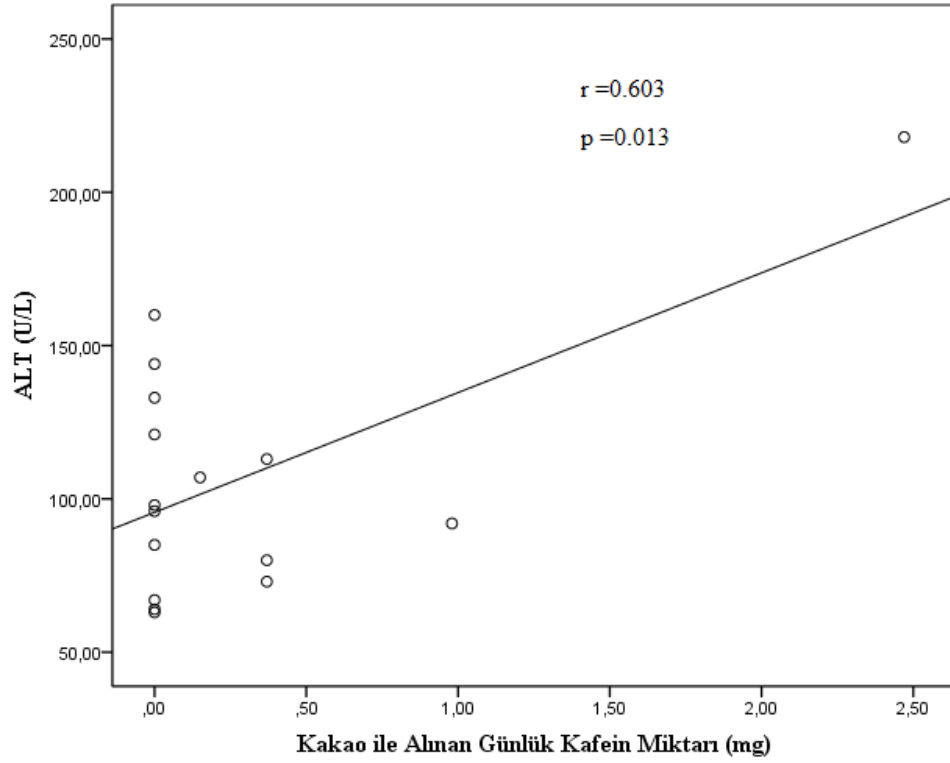
Ek Şekil 21. Erkeklerde Türk Kahvesi ile Alınan Günlük Kafein Miktarı ve ALP Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği



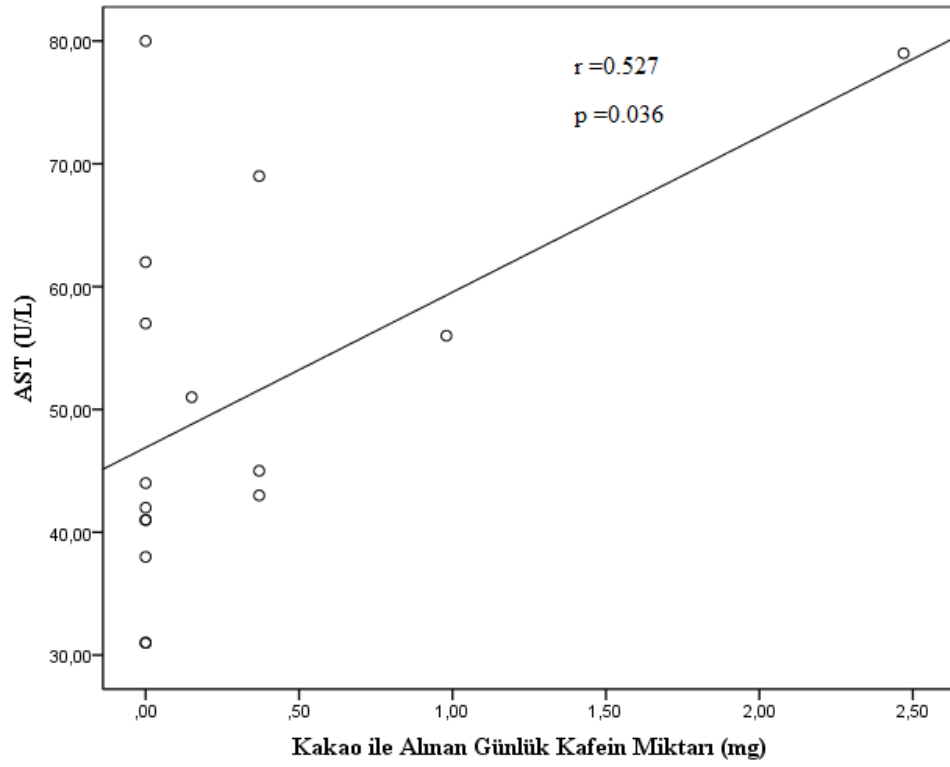
Ek Şekil 22. Erkeklerde Sütlü Çikolata ile Alınan Günlük Kafein Miktarı ve GGT Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği



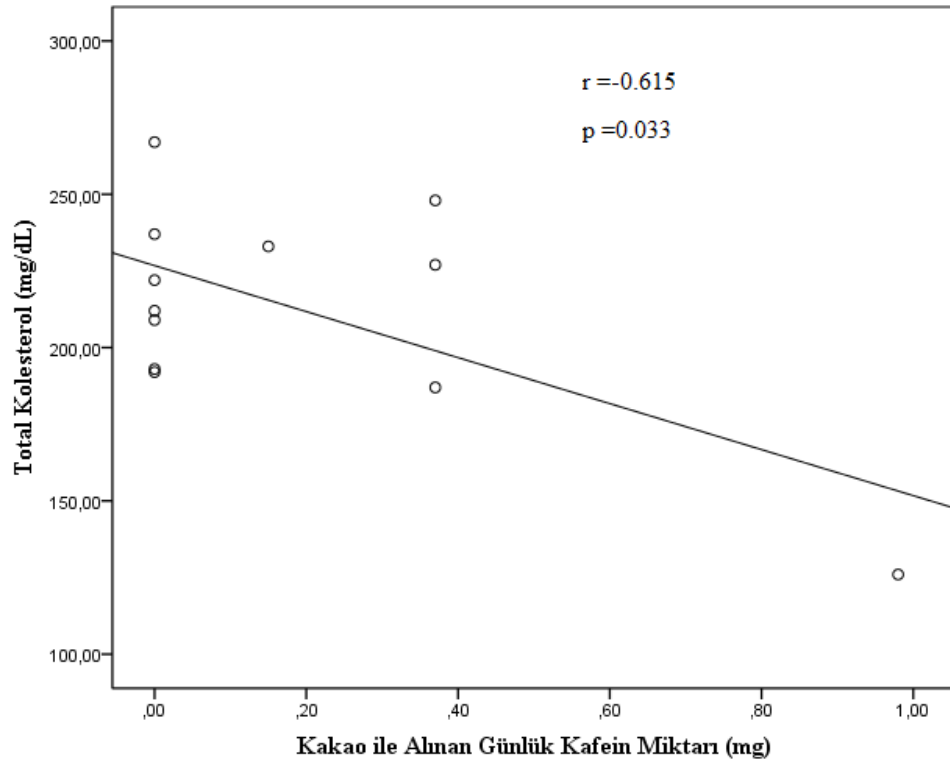
Ek Şekil 23. Erkeklerde Sütlü Çikolata ile Alınan Günlük Kafein Miktarı ve Total Kolesterol Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği



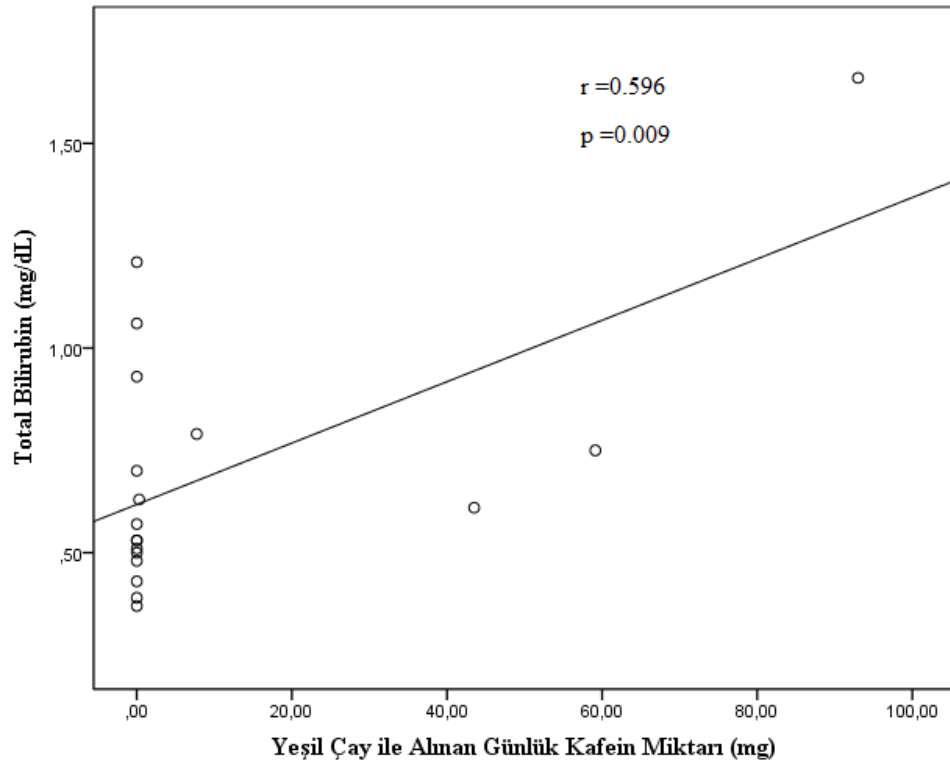
Ek Şekil 24. Erkeklerde Kakao ile Alınan Günlük Kafein Miktarı ve ALT Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği



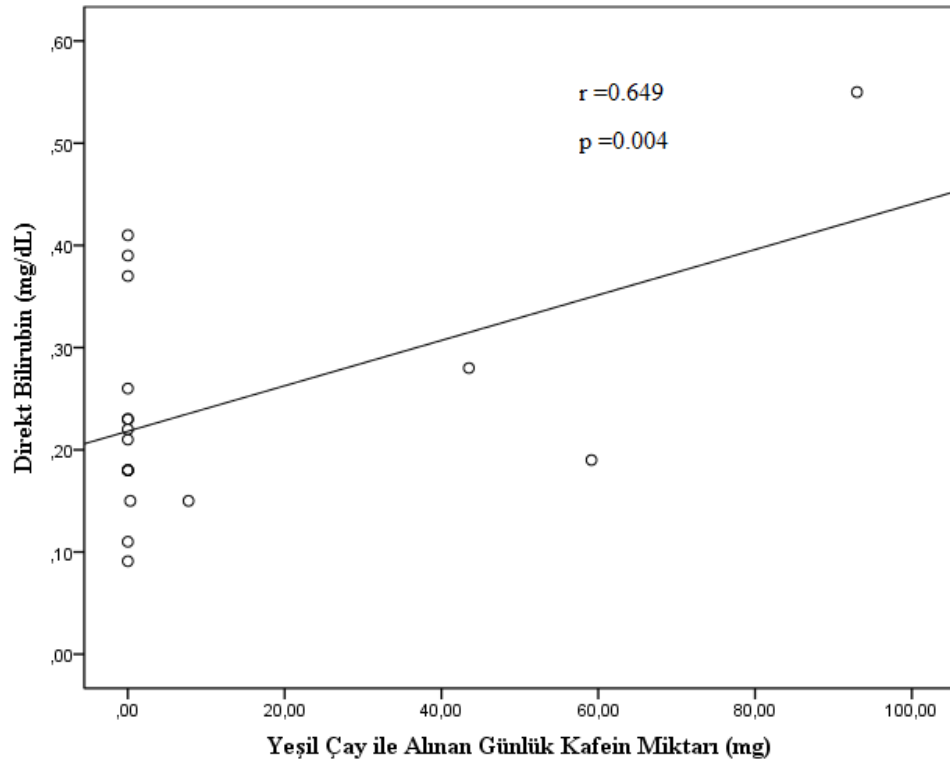
Ek Şekil 25. Erkeklerde Kakao ile Alınan Günlük Kafein Miktarı ve AST Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği



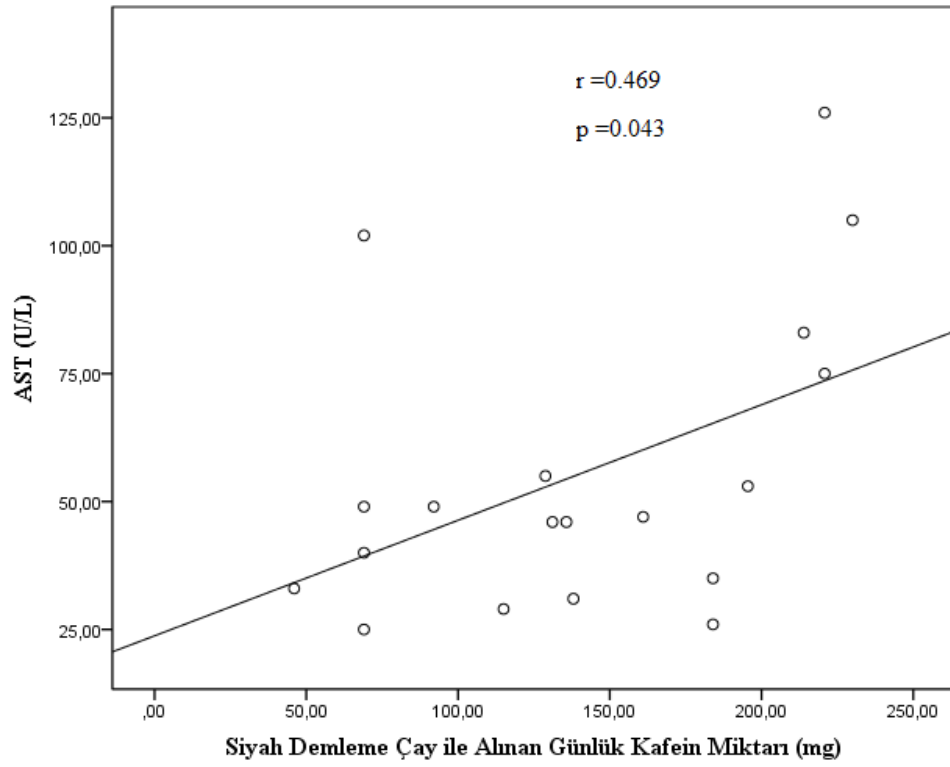
Ek Şekil 26. Erkeklerde Kakao ile Alınan Günlük Kafein Miktarı ve Total Kolesterol Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği



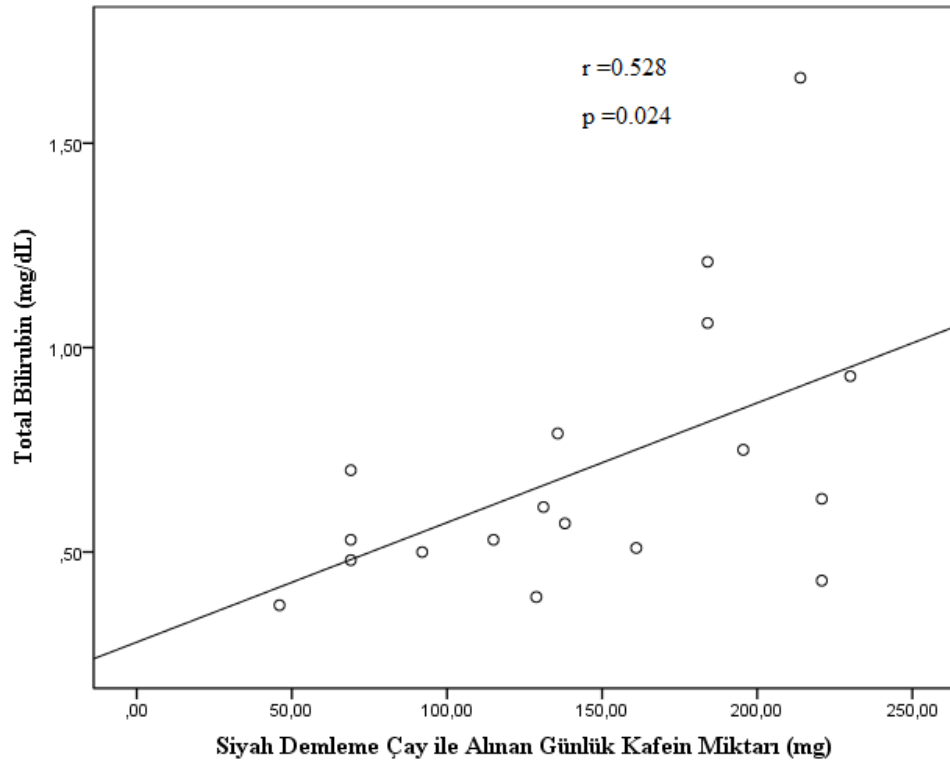
Ek Şekil 27. Kadınlarda Yeşil Çay ile Alınan Günlük Kafein Miktarı ve Total Bilirubin Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği



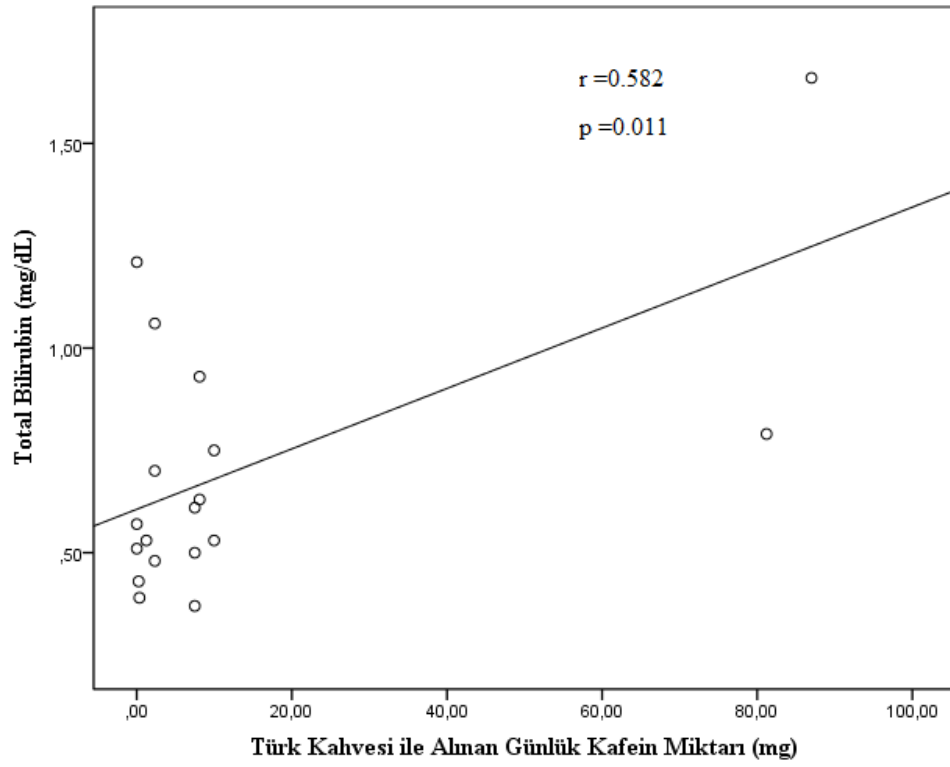
Ek Şekil 28. Kadınlarda Yeşil Çay ile Alınan Günlük Kafein Miktarı ve Direkt Bilirubin Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği



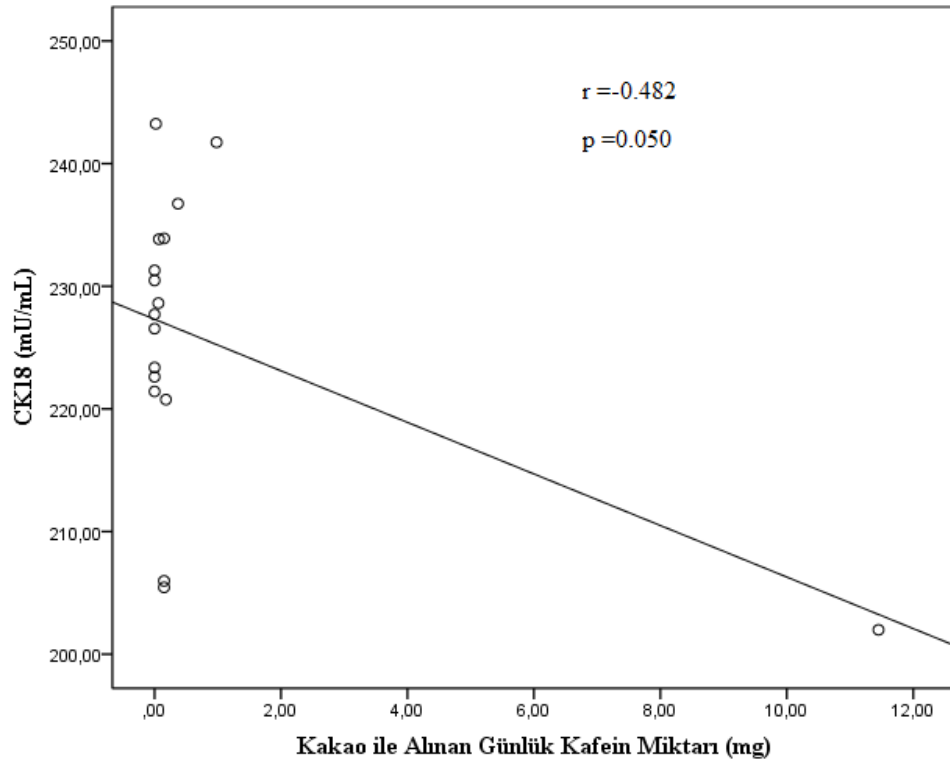
Ek Şekil 29. Kadınlarda Siyah Demleme Çay ile Alınan Günlük Kafein Miktarı ve AST Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği



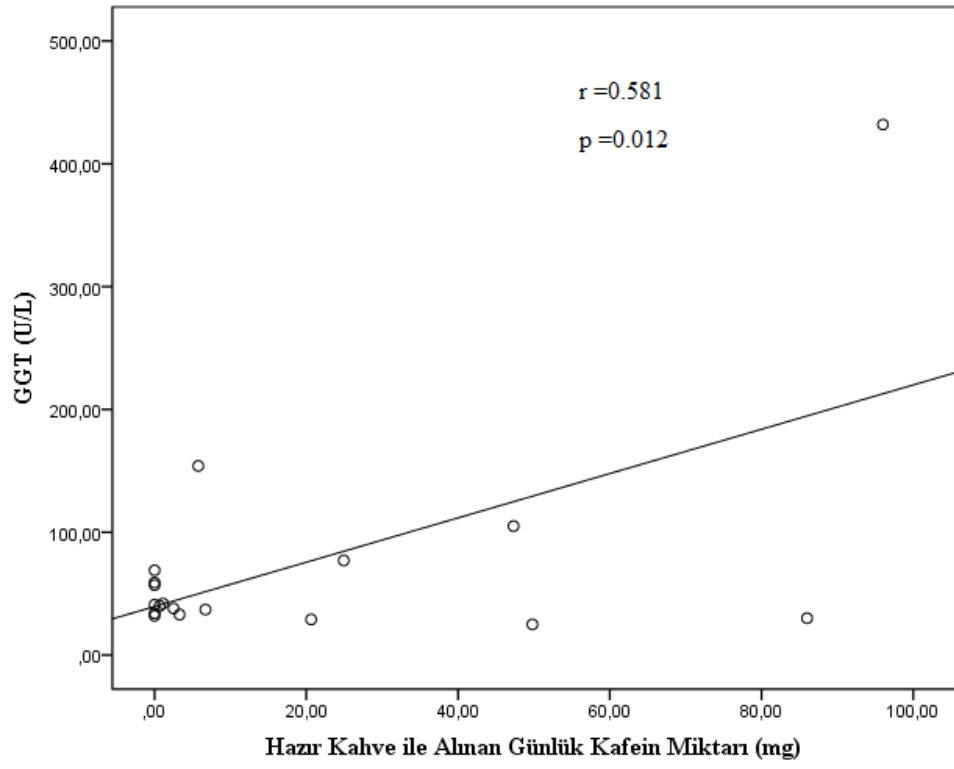
Ek Şekil 30. Kadınlarda Siyah Demleme Çay ile Alınan Günlük Kafein Miktarı ve Total Bilirubin Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği



Ek Şekil 31. Kadınlarda Türk Kahvesi ile Alınan Günlük Kafein Miktarı ve Total Bilirubin Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği



Ek Şekil 32. Kadınlarda Kakao ile Alınan Günlük Kafein Miktarı ve Serum CK18 Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği



Ek Şekil 33. Kadınlarda Hazır Kahve ile Alınan Günlük Kafein Miktarı ve GGT Düzeyi Arasında Korelasyon Grafiği

9. ÖZGEÇMİŞ

I. Bireysel Bilgiler

- Adı-Soyadı: Kübra UÇAR
- Doğum Yeri ve Tarihi: GÜMÜŞHANE-13.06.1993
- Uyruğu: Türkiye Cumhuriyeti
- İletişim Adresi/Telefon: kubraucar@hacettepe.edu.tr

+90 (506) 8660456

II. Eğitim Bilgileri

- Yüksek Lisans (2016-halen): Hacettepe Üniversitesi/Sağlık Bilimleri Enstitüsü/Toplum Beslenmesi
- Lisans (2011-2015): Gümüşhane Üniversitesi/Sağlık Yüksekokulu/Beslenme ve Diyetetik Bölümü
- Lise (2008-2011): Hatay Osman Ötken Anadolu Lisesi

III. Mesleki Deneyimi

- Araştırma Görevlisi (Ocak 2017-halen): Hacettepe Üniversitesi/Beslenme ve Diyetetik Bölümü
- Araştırma Görevlisi (Şubat 2016-Ocak 2017): Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi/Beslenme ve Diyetetik Bölümü

IV. Bilimsel Faaliyetleri

- Uçar K, Samur G. Otizmin Tedavisinde Güncel Beslenme Tedavisi Yaklaşımları. Beslenme ve Diyet Dergisi 2017;45(1):53-60.