

Research Articles

Open Access

Pengaruh Pemberian Diet Tinggi Lemak Tinggi Gula terhadap Gambaran Histologi Hati Tikus *Wistar* Usia Kanak-Kanak*Effect of High Fat High Sugar Diet on Liver Histology of Wistar Rats of Childhood Age*Mohammad Ikkal Gusman¹, Jelita Inayah S¹, Rosdianah Rahim¹, Dewi Setiawati¹, Fatmawati²¹Pendidikan Dokter FKIK Universitas Islam Negeri Alauddin, Makassar| email : kedokteran@uin-alauddin.ac.id²Departemen Ilmu Falaq FSH Universitas Islam Negeri Alauddin, Makassar| email : piaud.ftk@uin-alauddin.ac.id*Korespondensi Penulis : mohammadikkal1403@gmail.com**Abstrak****Latar belakang:** *Non Alcoholic Fatty Liver Disease* (NAFLD) atau perlemakan hati *non alcohol* adalah penyakit degeneratif yang berkaitan erat dengan obesitas.**Tujuan:** untuk melihat pengaruh pemberian diet tinggi lemak, tinggi gula terhadap gambaran hati tikus wistar usia kanak-kanak dengan kelompok kontrol. Serta perbandingan berat hati kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.**Metode:** penelitian eksperimental laboratorium dengan sampel penelitian 8 ekor Tikus Wistar berumur 8 minggu dengan berat 180 gram serta dilakukan adaptasi 2 minggu dan dibagi 2 kelompok yaitu kelompok perlakuan dan kelompok kontrol dengan pemberian pakan dan minuman secara *ad libitum* selama 7 minggu . Analisis data menggunakan uji *Independent T-test*.**Hasil:** Rerata perbandingan berat hati lebih besar pada kelompok perlakuan (A) sebesar 12,75 gram dibandingkan kelompok kontrol 9,25 gram. Persentase kerusakan sel hati pada kelompok perlakuan lebih besar dibandingkan kelompok kontrol dengan nilai rata-rata kelompok perlakuan (A) sebesar 91,10% dan kelompok kontrol (B) 4,07% ($p = 0,000$).**Kesimpulan:** Pemberian diet tinggi lemak tinggi gula dapat mempengaruhi perubahan gambaran hati tikus wistar usia kanak-kanak dengan perbandingan persentase kerusakan tertinggi pada kelompok perlakuan dibanding kelompok kontrol. Serta pemberian diet tinggi lemak tinggi gula mempengaruhi penambahan berat hati tertinggi pada kelompok perlakuan dibandingkan kelompok kontrol.**Kata Kunci:** NAFLD; Diet Tinggi Lemak; Diet Tinggi Gula**Abstract****Introduction:** *Non-Alcoholic Fatty Liver Disease* (NAFLD) or *non-alcoholic fatty liver* is a degenerative disease that is closely related to obesity.**Objective:** to see the effect of giving a high-fat, high-sugar diet on the liver picture of Wistar rats of childhood age with the control group. As well as a comparison of the liver weight of the treatment group and the control group.**Method:** experimental laboratory research with a research sample of 8 Wistar rats aged 8 weeks weighing 180 grams and carried out 2 weeks of adaptation and divided into 2 groups, namely the treatment group and the control group by giving food and drink *ad libitum* for 7 weeks. Data analysis using the *Independent T-test* test.**Result:** The mean comparison of liver weight was more significant in the treatment group (A) at 12.75 grams compared to the control group at 9.25 grams. The percentage of liver cell damage in the treatment group was more significant than the control group with an average value of treatment group (A) of 91.10% and control group (B) of 4.07% ($p = 0.000$).**Conclusion:** Giving a high-fat high-sugar diet can affect changes in the liver picture of childhood wistar mice with the highest percentage comparison of damage in the treatment group compared to the control group. As well as giving a high-fat high-sugar diet affects the highest liver weight gain in the treatment group compared to the control group.**Keywords:** NAFLD; High-Fat; High-Sugar Diet

PENDAHULUAN

Malnutrisi adalah keadaan yang disebabkan oleh ketidakseimbangan antara pengambilan makanan dengan kebutuhan gizi untuk tumbuh dan berkembang. Indonesia masih menghadapi permasalahan gizi yang berdampak serius terhadap kualitas sumber daya manusia (SDM), salah satunya adalah malnutrisi. Seseorang akan mengalami malnutrisi jika tidak mengonsumsi makanan dengan jumlah, jenis, dan kualitas gizi yang memadai untuk diet yang sehat dalam jangka waktu yang lama (1). Malnutrisi masih menjadi masalah kesehatan anak di Indonesia dengan prevalensi gizi lebih 3,1%, gizi kurang 11,8% dan gizi buruk 3,9% (2).

Dari data riskesdas di atas mengungkapkan bahwa saat ini Indonesia mempunyai tiga beban masalah gizi (*triple burden*) yaitu stunting, wasting dan obesitas.(3) Obesitas merupakan masalah kesehatan yang banyak mengenai anak dan menyebabkan gangguan kesehatan yang dapat berlangsung seumur hidup jika dibiarkan.(4)

Studi literatur yang dilakukan Sharma, et al, didapatkan bahwa obesitas akan berisiko tinggi untuk mengalami sindrom metabolik yang terdiri atas hiperglikemia, dislipidemia, hipertensi, resiko kardiovaskuler, gangguan paru, penyakit hati *non alcoholic* (*Non alcoholic fatty liver disease*, NAFLD), dan lainnya.(5)

Perlemakan hati (*fatty liver* disingkat FL) merupakan penyakit yang ditandai dengan adanya trigliserida dengan jumlah lebih dari 5% pada hepatosit. FL dibagi menjadi dua: perlemakan hati non-alcoholic (non-alcoholic fatty liver, disingkat NAFLD) dan perlemakan hati alcoholic (*alcoholic fatty liver*, disingkat AFLD).(6)

NAFLD didefinisikan sebagai deposisi lipid yang signifikan dalam hepatosit >5% dari hepatosit sarat lemak di hati, tanpa bukti cedera hepatoseluler atau fibrosis.(7)

NAFLD adalah akumulasi lemak di sel hati yang mirip dengan penyakit hati alkoholik tanpa adanya asupan alkohol, dimana masih bersifat reversibel namun jika tidak ada perubahan gaya hidup akan meningkat menjadi NASH (*Non alcoholic steatohepatitis*) yang nantinya akan memperbesar terjadinya berbagai derajat fibrosis (8).

Pada masa kini prevalensi NAFLD diseluruh dunia sekitar 25,24% dengan prevalensi tertinggi di Timur Tengah dan Amerika Selatan, terendah di Afrika(9) dan asia 27,4%.(10) NAFLD pada anak usia 5-9 tahun sekitar 3%, remaja 8-11% dan 38% untuk remaja obesitas.(11) Studi terbaru menunjukkan sekitar 25% anak-anak dengan NAFLD memiliki NASH dan telah menunjukkan bahwa fibrosis hati merupakan penanda prognostik terpenting dari perkembangan penyakit hati (12).

NAFLD sering dikaitkan dengan diet tinggi lemak, obesitas, dan resistensi insulin yang akan mengarah pada gangguan lipolisis di perifer, sehingga mengakibatkan peningkatan asam lemak ke hati meningkat dan terjadi Ketidakseimbangan antara sintesis, absorpsi serta sekresi asam lemak yang akan menimbulkan akumulasi di hati membentuk NAFLD.(13) Asupan fruktosa juga telah dikaitkan dengan perkembangan penyakit hati, sedangkan menghindari fruktosa mengarah pada perbaikan NAFLD. Metabolisme fruktosa memiliki banyak aspek unik, yang paling terpenting adalah kemampuannya untuk mendukung peningkatan *De Novo Lipogenesis* (DNL) hati.

Studi pada hewan pengerat dan manusia menunjukkan bahwa DNL hati adalah kelainan sentral dalam perkembangan NAFLD. Fruktosa merangsang lipogenesis dengan cara yang tidak bergantung pada insulin, dan itu menginduksi resistensi insulin dengan mengaktifkan isoform PKC (Protein kinase C) baru dan dengan menghasilkan zat perantara lipid dengan sendirinya dapat meningkatkan perkembangan penyakit hati berlemak. DNL hati, asupan makanan, dan lipolisis adiposit merupakan kontributor penting untuk NAFLD.(14)

NAFLD dapat memicu perubahan bentuk histologi hati terutama pada sel hepatosit dan mempengaruhi struktur di sekitarnya. Perubahan ini juga bisa disertai dengan penambahan berat hati (*hepatomegaly*) akibat akumulasi lemak, *lipid droppled* (*steatosis*), *ballooning hepatosis*, peradangan di lobus hati (*inflamasi lobuler*) dan fibrosis.(13)

Berdasarkan pemaparan di atas maka kami tertarik untuk melakukan penelitian bagaimana pola diet tinggi lemak tinggi gula akan mempengaruhi gambaran histologi hati pada tikus wistar yang jika dianalogikan umurnya setara dengan usia kanak-kanak pada manusia.

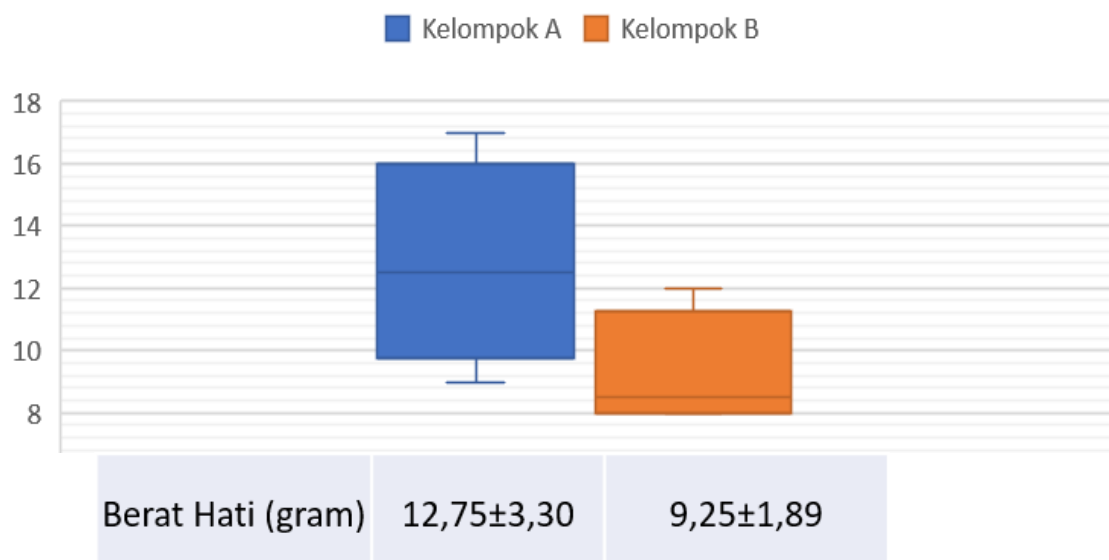
METODE

Jenis penelitian yang dilakukan adalah eksperimental laboratorium dengan menggunakan desain rancangan penelitian kelompok kontrol (*post test with control group*). Penelitian ini menggunakan 8 ekor Tikus Putih (*Rattus Novergicus*) Strain Wistar berumur 8 Minggu dengan berat badan 180 gram dan dibagi menjadi 2 kelompok secara random yaitu kelompok perlakuan (pemberian pakan diet tinggi lemak serta minuman tinggi gula) dan kelompok kontrol (pemberian pakan dan minuman standart). Pemberian pakan dan minuman diberikan selama 7 minggu secara *ad libitum*. Setelah 7 minggu perlakuan, dilakukan *sacrifice* (dislokasi servikal) kepada 2 kelompok dan dilakukan pengambilan organ hati untuk pembuatan preparate histologi dengan pewarnaan HE. Preparate histologi lalu dilihat di bawah mikroskop untuk menilai kerusakan hati. Penilaian kerusakan hati menggunakan aplikasi image J dengan mengambil 4 sudut pandang yaitu kiri atas, kanan atas, kiri bawah dan kanan bawah yang dianggap paling representatif terhadap kerusakan sel hati. Data yang diambil merupakan data primer yang akan diolah menggunakan uji statistik SPSS 25.0.00 version for windows dengan uji perbandingan *independent sampel t test*.

Penelitian ini telah mendapat izin dari Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran dan ilmu kesehatan UIN Alauddin Makassar dengan B-2134/Un.06.1-FKIK/PP.09/6/2021.

HASIL

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan didapatkan data perbandingan berat hati tikus kelompok perlakuan dan kelompok kontrol sebagai berikut:



Grafik 1. Perbandingan rerata berat hati kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol

Keterangan:

A : Kelompok Perlakuan

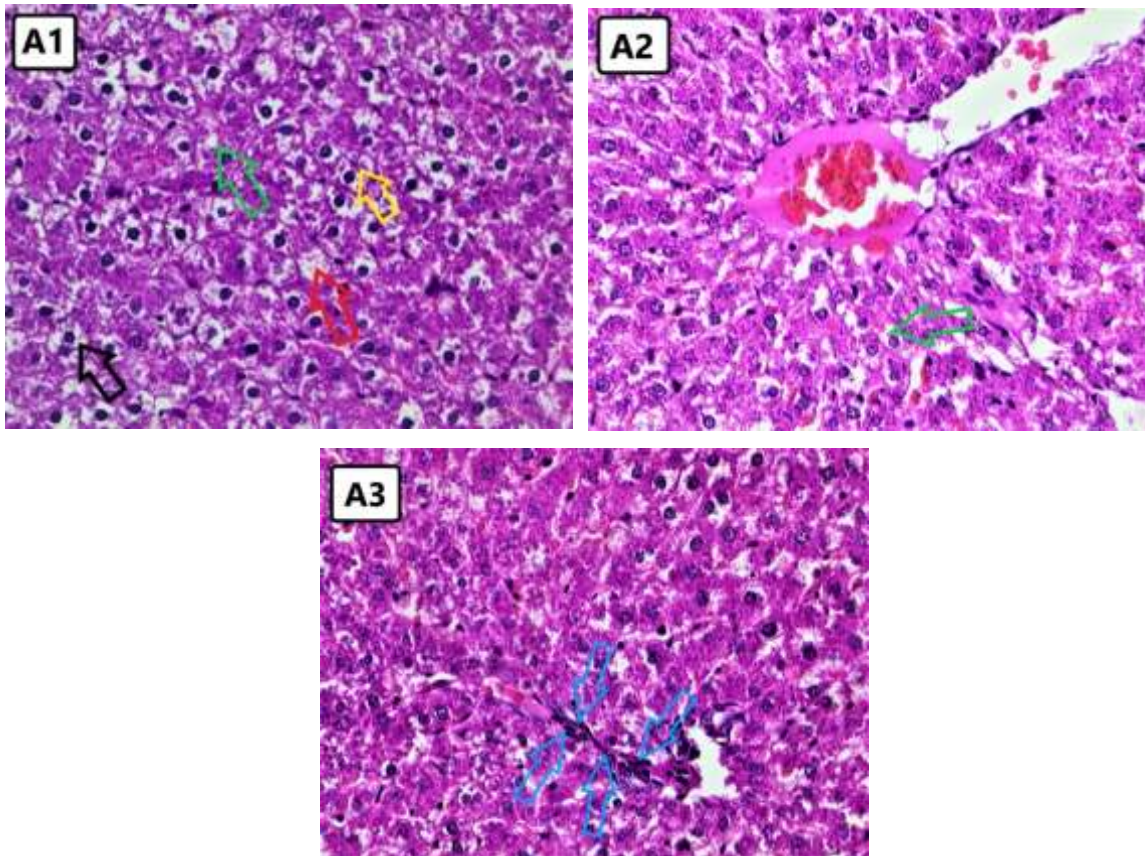
B : Kelompok Kontrol

Secara deskriptif diketahui bahwa rata-rata berat hati pada kelompok tikus A sebesar 12,75 gram dan pada tikus B sebesar 9,25 gram. Data terlebih dahulu diuji normalitas menggunakan uji normalitas Saphiro-Wilk dan didapatkan hasil data berdistribusi normal, dengan nilai signifikansi kelompok A dan B masing-masing sebesar 0,900 dan 0,086 yang lebih besar dari 0,05, sedemikian sehingga kedua kelompok tikus mengikuti sebaran normal.

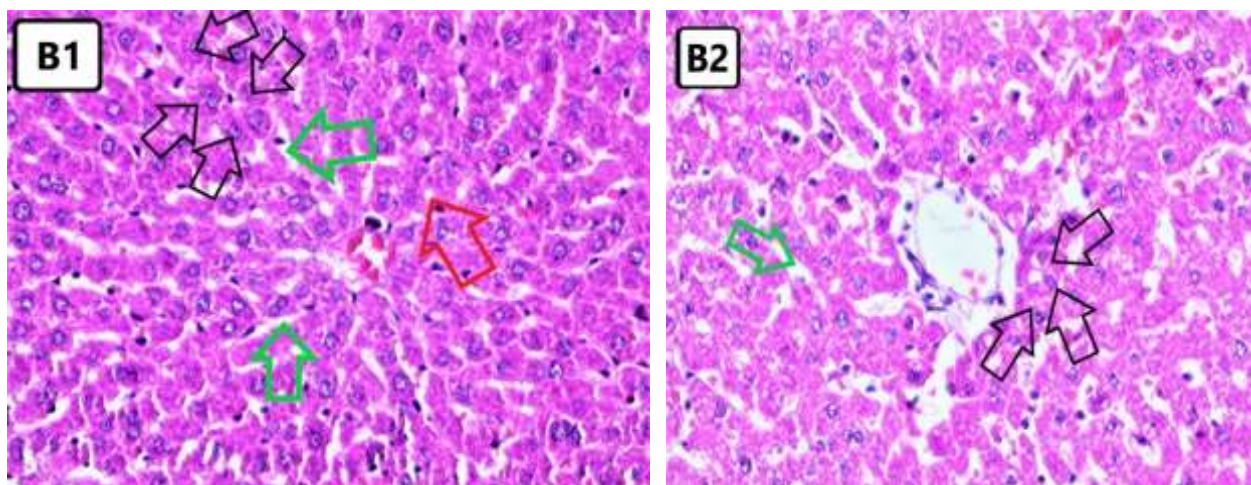
Untuk mengetahui homogenitas kedua kelompok sampel dilakukan uji Levene Test pada perbandingan berat hati kelompok A dan kelompok B didapatkan bahwa $p > 0,05$ sehingga variasi antar kelompok homogen.

Hasil data yang diperoleh berdistribusi normal dan homogen ($p > 0,05$), maka untuk mengetahui Perbandingan perbedaan berat hati dari kedua kelompok maka dilakukan uji t independent. Berdasarkan hasil yang didapatkan dari uji t independent diketahui nilai signifikansi sebesar $0,116 > 0,05$ yang berarti tidak terdapat perbedaan berat hati tikus yang signifikan antara kelompok A dan kelompok B.

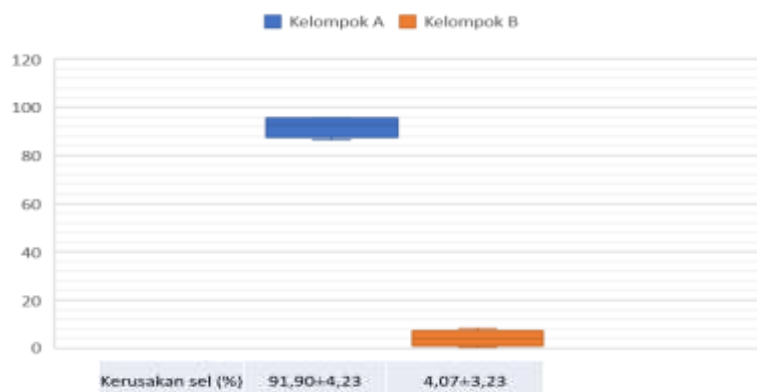
Sedangkan hasil Perbandingan gambaran kerusakan sel hati kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dapat dilihat sebagai berikut:



Gambar 1. Gambaran histopatologi Hati Kelompok Kontrol pulasan H.E. (B1). Tikus I panah merah : steatosis mikrovaskuler pada sel hepatosit, Panah hitam: Sel hati normal tersusun rapat dan radier, Panah hijau; Ruang perisinusoid. (B2). Tikus II Panah hitam; Sel hati normal tersusun rapat, Panah hijau; Ruang perisinusoid. Pembesaran 40x 10.



Gambar 2. Gambaran histopatologi Hati Kelompok Perlakuan pulasan H.E. (A1). Tikus I panah merah : clearing sitoplasma, Panah hitam: Degenerasi ballooning, Panah hijau; Droplet lipid mikrovaskuler, Panah Kuning; sel bengkak. (A2). Tikus II Panah hijau; sel hepatosit dengan mikrovaskuler.(A3). Tikus III Panah biru; Inflamasi lobuler. Pembesaran 40x 10.



Grafik 2. batang Perbandingan kerusakan hati kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol

Keterangan:

A : Kelompok Perlakuan

B : Kelompok Kontrol

Dari data di atas dapat dilihat bahwa nilai rata-rata kerusakan sel untuk kelompok A sangat tinggi dibandingkan kelompok B yakni sebesar 91,10%. Sedangkan kelompok B hanya terdapat kerusakan sel sebesar 4,07%.

Uji Shapiro wilk dilakukan untuk kedua kelompok tikus berdasarkan kerusakan sel diketahui berdistribusi normal. Hal tersebut karena nilai signifikansi kedua kelompok tersebut sebesar 0,437 dan 0,919 yang lebih besar dari tingkat signifikansi 0,05. Setelah itu dilakukan uji Levene Test pada perbandingan kerusakan sel hati kelompok A dan kelompok B didapatkan bahwa $p > 0,05$ sehingga variasi antar kelompok homogen.

Hasil data yang diperoleh berdistribusi normal dan homogen ($p > 0,05$), maka untuk mengetahui Perbandingan kerusakan sel hati dari kedua kelompok maka dilakukan uji independent t test. Berdasarkan hasil yang didapatkan dari uji independent t test diketahui nilai signifikansi sebesar 0,000 yang berarti kurang dari taraf signifikansi 0,05 sehingga terdapat perbedaan perbandingan kerusakan sel hati yang signifikan dari kedua kelompok.

PEMBAHASAN

Pengukuran berat hati tikus

Perlemakan hati idealnya diikuti dengan kenaikan berat hati. walaupun hasil secara statistik tidak terdapat perbedaan bermakna yang signifikan, Akan tetapi pada pengukuran langsung setelah sacrifice didapatkan berat hati tertinggi pada kelompok tikus perlakuan adalah 17 gram dan terendah 9 gram sedangkan pada kelompok kontrol tertinggi 12 gram dan terendah 8 gram. Ini membuktikan bahwa perlemakan hati diikuti dengan kenaikan berat hati (hepatomegaly).

Penelitian yang dilakukan oleh Nadia et al, didapatkan bahwa pemberian diet tinggi lemak pada 10 tikus jantan dewasa selama 6 minggu menunjukkan pembesaran hati (hepatomegaly).(15) Pemberian diet tinggi lemak mempengaruhi sistem metabolisme lipid di hati dalam keadaan seperti itu kadar lipolisis trigliserida basal (TG) meningkat di adiposit, dan lebih banyak asam lemak bebas (FFA) dilepaskan ke dalam sistem peredaran darah. Kelebihan FFA yang bersirkulasi dapat dikirim ke jaringan target seperti hati. Asam lemak dioksidasi oleh mitokondria atau dimasukkan ke dalam TG, mengakibatkan akumulasi lipid di hati sehingga mengakibatkan perlemakan hati (fatty liver) yang diikuti dengan kenaikan berat hati.(16)

Pengamatan perubahan histologi hati tikus

Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop untuk melakukan pemeriksaan hitopatologi yang menjadi gold standart pada perlemakan hati non alkohol. Dari hasil yang didapatkan pada pemberian diet tinggi lemak tinggi gula ad libitum pada kelompok perlakuan dapat menyebabkan perubahan morfologi sel hati yang tadinya baik terjadi kerusakan. Sedangkan pada kelompok kontrol jarang ditemukan perubahan morfologi kerusakan sel hati, ini disebabkan karena kelompok kontrol hanya diberi pakan standar ad libitum selama penelitian berlangsung. Hal ini ditandai dengan hasil analisis statistik prosentase kerusakan sel hati menunjukkan terdapat perbedaan signifikan antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. ini didukung oleh Penelitian yang dilakukan oleh Rosa maria et al didapatkan terjadi banyak perubahan morfologi hati pada 4 tikus yang di sacrifice pada minggu ke 4 dalam kelompok pemberian diet tinggi lemak dibandingkan 4 tikus pada kelompok pakan standart.(17)

Hasil pengamatan gambaran sel hati tikus kontrol masih tampak sel hati normal tersusun rapat dan radier mengelilingi vena sentralis yang berhubungan dengan ruang perisinusoid, gambaran intake, intinya ditengah dengan sitoplasma yang normal serta butir-butir glikogen masih tampak secara ultrastruktural. Walaupun di salah satu lapang pandang terdapat gambaran steatosis mikrovesikuler dengan grade yang rendah hal ini tidak menjadi gambaran adanya kerusakan morfologi sel hati yang bermakna.

Sedangkan pada tikus perlakuan didapatkan beberapa perbedaan yaitu pada sel hati tampak degenerasi ballooning, lipid droplet dengan bentuk mikrovesikuler, tampak sel bengkak dan juga clearing sitoplasma serta inti yang sudah hilang. Kemudian pada beberapa tempat ditemukan inflamasi lobuler walaupun masih minimal, hal ini membuktikan mulai terbentuk peradangan pada lobulus hati, dimana seharusnya peradangan lobulus hati tidak ada pada hati yang normal. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Rosa maria et al menunjukkan pemberian diet tinggi lemak memberikan gambaran perubahan hati yaitu pembengkakan hepatosit dan steatosis makrovesikuler dengan banyak vakuola sitoplasma diamati pada lebih dari 90% hepatosit.(17)

Penelitian yang dilakukan oleh Asgharhour A et al mengenai pemberian diet tinggi lemak tinggi gula pada tikus model selama 8 minggu terbukti membentuk NAFLD dan pemberian selama 16-24 minggu dapat membentuk NASH. Diet tinggi lemak dapat memicu gangguan lipolisis di perifer sehingga kadar asam lemak bebas (FFA) yang diangkut ke hati akan meningkat. Peningkatan sintesis FFA yang tidak sebanding dengan pemanfaatannya akan memicu akumulasi lipid di hati yang bermanifestasi sebagai perlemakan hati/steatosis. Jika hal ini terus dibiarkan maka kedepannya sel-sel hati akan bertamabah rusak dan membentuk gambaran degenerasi ballooning, inflamasi lobuler hingga kerusakan sel hati yang lebih besar.(18)

Pemberian diet tinggi gula juga sangat berkontribusi besar dalam hal kerusakan sel hati. Penelitian yang dilakukan zaki et al menunjukkan pemberian diet tinggi gula pada 6 tikus selama 6 minggu mempercepat dan memperparah kerusakan sel-sel hati.(19)

KESIMPULAN

Pada penelitian ini, pemberian diet tinggi lemak tinggi gula mempengaruhi pembesaran hati (hepatomegaly) serta gambaran hati tikus wistart usia kanak-kanak.

DAFTAR PUSTAKA

1. Suharidewi IGAT, Pinatih GI. GAMBARAN STATUS GIZI PADA ANAK TK DI WILAYAH KERJA UPT KESMAS BLAHBATUH II KABUPATEN GIANYAR TAHUN 2015. E-Jurnal Med Udayana [Internet]. 2017 Jun 15 [cited 2023 Jul 8];6(6). Available from: <https://ojs.unud.ac.id/index.php/eum/article/view/31484>
2. Kemenkes RI. Profil Kesehatan Indonesia 2018 [Internet]. Health Statistics. 2019. 207 p. Available from: <https://www.kemkes.go.id/downloads/resources/download/pusdatin/profil-kesehatan-indonesia/profil-kesehatan-indonesia-2018.pdf>
3. Setiyo P, Fakultas N, Masyarakat K, Muhammadiyah U, Timur K, No J, et al. JENIS KELAMIN DAN UMUR BERISIKO TERHADAP OBESITAS PADA REMAJA DI INDONESIA. An-Nadaa J Kesehat Masy [Internet]. 2020 Dec 19 [cited 2023 Jul 8];7(2):110–4. Available from: <https://ojs.uniska-bjm.ac.id/index.php/ANN/article/view/3581>
4. Zamzani M, Hadi H, Astiti D. Aktivitas fisik berhubungan dengan kejadian obesitas pada anak Sekolah Dasar. J Gizi dan Diet Indones (Indonesian J Nutr Diet [Internet]. 2017 May 22 [cited 2023 Jul 8];4(3):123–8. Available from: <https://ejournal.almaata.ac.id/index.php/IJND/article/view/339>
5. Sharma V, Coleman S, Nixon J, Sharples L, Hamilton-Shield J, Rutter H, et al. A systematic review and meta-analysis estimating the population prevalence of comorbidities in children and adolescents aged 5 to 18 years. *Obes Rev* [Internet]. 2019 Oct 1 [cited 2023 Jul 8];20(10):1341–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31342672/>
6. Ravertio D, Subroto T, Ketut Mariadi I, Somayana G, Made I, Dwipayana P. GAMBARAN PERLEMAKAN HATI NON-ALKOHOLIK DI RSUP SANGLAH DENPASAR PERIODE TAHUN 2017-2018. E-Jurnal Med Udayana [Internet]. 2019 Feb 19 [cited 2023 Jul 8];8(2):2019. Available from: <https://ojs.unud.ac.id/index.php/eum/article/view/48563>
7. Temple JL, Cordero P, Li J, Nguyen V, Oben JA. A Guide to Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Childhood and Adolescence. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2016 Jun 15 [cited 2023 Jul 8];17(6). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26874689/>
8. Bedossa P. Histological Assessment of NAFLD. *Dig Dis Sci* [Internet]. 2016 May 1 [cited 2023 Jul 8];61(5):1348–55. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26874689/>
9. Fang YL, Chen H, Wang CL, Liang L. Pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease in children and adolescence: From “two hit theory” to “multiple hit model.” *World J Gastroenterol* [Internet]. 2018 Jul 21 [cited 2023 Jul 8];24(27):2974–83. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30038464/>

10. Fan JG, Kim SU, Wong VWS. New trends on obesity and NAFLD in Asia. *J Hepatol* [Internet]. 2017 Oct 1 [cited 2023 Jul 8];67(4):862–73. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28642059/>
11. Wegermann K, Suzuki A, Mavis AM, Abdelmalek MF, Diehl AM, Moylan CA. Tackling Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Three Targeted Populations. *Hepatology* [Internet]. 2021 Mar 1 [cited 2023 Jul 8];73(3):1199–206. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32865242/>
12. Corte C Della, Carpino G, De Vito R, De Stefanis C, Alisi A, Cianfarani S, et al. Docosahexanoic Acid Plus Vitamin D Treatment Improves Features of NAFLD in Children with Serum Vitamin D Deficiency: Results from a Single Centre Trial. *PLoS One* [Internet]. 2016 Dec 1 [cited 2023 Jul 8];11(12). Available from: </pmc/articles/PMC5158039/>
13. Sari JI, Jusuf AA, Krisnuhoni E. Perbandingan Berat Hati Tikus Sprague Dawley yang Diberikan Diet Kurang Kalori, Cukup Kalori, dan Tinggi Kalori pada Masa Pertumbuhan. *Alami J (Alauddin Islam Medical) J*. 2018;2(2):15.
14. Softic S, Cohen DE, Kahn CR. Role of Dietary Fructose and Hepatic De Novo Lipogenesis in Fatty Liver Disease. *Dig Dis Sci* [Internet]. 2016 May 1 [cited 2023 Jul 8];61(5):1282–93. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26856717/>
15. Hassan N, Soliman G, Okasha E, Shalaby A. Histological, Immunohistochemical, and Biochemical Study of Experimentally Induced Fatty Liver in Adult Male Albino Rat and the Possible Protective Role of Pomegranate. *J Microsc Ultrastruct* [Internet]. 2018 [cited 2023 Jul 8];6(1):44. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30023266/>
16. Zhang Y, Ge S, Yang Z, Li Z, Gong X, Zhang Q, et al. Disturbance of di-(2-ethylhexyl) phthalate in hepatic lipid metabolism in rats fed with high fat diet. *Food Chem Toxicol* [Internet]. 2020 Dec 1 [cited 2023 Jul 8];146. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33166671/>
17. Piña-Zentella RM, Rosado JL, Gallegos-Corona MA, Madrigal-Pérez LA, García OP, Ramos-Gomez M. Lycopene Improves Diet-Mediated Recuperation in Rat Model of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *J Med Food* [Internet]. 2016 Jun 1 [cited 2023 Jul 8];19(6):607–14. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27214602/>
18. Asgharpour A, Cazanave SC, Pacana T, Seneshaw M, Vincent R, Banini BA, et al. A diet-induced animal model of non-alcoholic fatty liver disease and hepatocellular cancer. *J Hepatol* [Internet]. 2016 Sep 1 [cited 2023 Jul 8];65(3):579–88. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27261415/>
19. Zaki SM, Fattah SA, Hassan DS. The differential effects of high-fat and high- -fructose diets on the liver of male albino rat and the proposed underlying mechanisms. *Folia Morphol (Warsz)* [Internet]. 2019 [cited 2023 Jul 8];78(1):124–36. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30009361/>