

# Diyabetik Sıçanlarda L-karnitinin Karaciğer Protein Oksidasyonu Üzerine Etkisi

## The Effects of L-carnitine on Liver Protein Oxidation in Diabetic Rats

Gülben Sayılan Özgün\*

Sevgi Eskiocak\*

Necdet Süt\*\*

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Edirne

\*Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, \*\*Biyostatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı

### ÖZET

**Amaç:** Streptozotosin ile oluşturulan deneysel diyabette karaciğerde oksidatif stresin arttığı bildirilmektedir. Bu çalışmanın amacı antioksidan aktiviteye sahip L-karnitin diyabette gözlenen karaciğer protein oksidasyonu üzerindeki etkilerini araştırmaktır.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmada yirmi erişkin erkek Wistar cinsi sıçan rastgele üç gruba ayrıldı: Kontrol (n=5), diyabet (n=8) ve L-karnitin+diyabet grubu (n=7). Diyabet ve L-karnitin+diyabet gruplarına sitrat tamponunda (pH 4.5) hazırlanmış tek doz 50 mg/kg streptozotosin intraperitoneal olarak verildi. Kontrol grubuna sadece sitrat tamponu enjekte edildi. Streptozotosin enjeksiyonundan 72 saat sonra intraperitoneal olarak 15 gün boyunca L-karnitin+diyabet grubuna L-karnitin (500 mg/kg/gün), diğer gruplara serum fizyolojik verildi.

**Bulgular:** Diyabet ve L-karnitin+diyabet gruplarının karaciğer dokusu non-protein tiyol düzeyleri kontrol grubuna göre düşük bulundu (her ikisi için,  $p<0.001$ ). Diyabet ve L-karnitin+diyabet grubunun karaciğer protein tiyol düzeyi kontrol grubuna göre daha yüksekti (her ikisi için,  $p<0.05$ ). Diyabet grubunun karaciğer protein karbonil düzeyi kontrol grubuna ve L-karnitin+diyabet grubuna göre yüksek olarak tespit edildi (her ikisi için  $p<0.05$ ).

Kontrol, diyabet ve L-karnitin+diyabet gruplarının karaciğer dokusu total ve protein tiyol düzeyleri arasında (sırasıyla  $p<0.01$ ,  $p<0.001$ ,  $p<0.01$ ) ve L-karnitin+diyabet grubunda protein tiyol düzeyi ile non-protein tiyol düzeyleri arasında ( $p<0.05$ ) anlamlı pozitif ilişki vardı.

**Sonuç:** L-karnitin, diabetes mellitusta karaciğerde gözlenen protein oksidasyonunu kısmen önlediğini bildirebiliriz.

**Anahtar Sözcükler:** Diabetes mellitus; karaciğer; L-karnitin

### ABSTRACT

**Objective:** It has been reported that liver oxidative stress increases in streptozotocin induced experimental diabetes. The aim of this study is to investigate the effects of L-carnitine possessing antioxidant activity on liver protein oxidation seen in diabetes.

**Materials and Methods:** In the study, twenty adult male rats of Wistar strain were randomly divided into three groups as follows: control (n=5), diabetes (n=8) and L-carnitine+diabetes groups (n=7).

Diabetes and L-carnitine+diabetes groups were intraperitoneally injected with a single dose of 50 mg/kg streptozotocin prepared in the citrate buffer (pH 4.5). Control group was injected with only citrate buffer. 72 hours after the streptozotocin injection, intraperitoneal L-carnitine injection (500 mg/kg/day) was given L-carnitine+diabetes groups, physiological saline were given to other groups for 15 days.

**Results:** The levels of liver tissue non-protein thiol of the diabetes and L-carnitine+diabetes groups were found to be lower than those in the control group ( $p<0.001$  for both). Liver protein thiol levels of the diabetes and L-carnitine+diabetes groups were higher than those in the control group ( $p<0.05$  for both). Liver protein carbonyl level of the diabetes group was determined higher than those in the control group and L-carnitine+diabetes group ( $p<0.05$  for both).

There was a significant positive correlation between liver tissue total and protein thiol levels in control, diabetes, L-carnitine+diabetes groups ( $p<0.01$ ,  $p<0.001$ ,  $p<0.01$  respectively) as well as between liver protein thiol and non-protein thiol levels ( $p<0.05$ ) in L-carnitine+diabetes group.

**Conclusion:** L-carnitine partially prevents liver protein oxidation seen in diabetes mellitus.

**Key Words:** Diabetes Mellitus; liver; L-carnitine

## GİRİŞ

Diyabette artmış glukoz düzeyleri, reaktif oksijen türlerinin ve reaktif nitrojen türlerinin oluşumunu arttırarak diyabetin hedef organlardaki komplikasyonlarının oluşumuna yol açar (1). Streptozotosin (STZ) ile oluşturulan deneysel diyabet modelinde karaciğerde protein oksidasyonunun (2) ve lipid peroksidasyonunun (3) arttığı bildirilmiştir.

Proteinlerin reaktif türevler tarafından oksidasyonu aromatik aminoasit türevlerinin nitrasyonuna, tiyol gruplarının oksidasyonuna, ileri oksidasyon protein ürünlerinin (AOPP) oluşmasına ve bazı amino asid kalıntılarının karbonil türevlerine (PC) dönüşümüne yol açar (4). Bu oksidatif değişikliklerin başlıca sonuçları; enzim aktivitesinde azalma, protein fonksiyonlarının kaybı, proteaz inhibitör aktivitenin kaybı, protein agregasyonu, proteolize artmış/azalmış yatkınlık, reseptör aracılıklı endositozun bozulması, gen transkripsiyonundaki değişimler, immünojen aktivitedeki artış olarak sıralanabilir (5,6).

Kan ve dokudaki redoks değişimleri proteinlerin sistein kalıntıları ve disülfid bağları gibi redoks değişimlerine hassas bölgelerini etkilemektedir. Oksidasyona uğrayan proteinlerde disülfid bağlarının kırılması, sistein kalıntılarının oksidasyonu ve yanlış yeni disülfid bağlarının oluşumu söz konusudur. Tüm bu değişiklikler proteinin üç boyutlu yapısının

bozulmasına yol açar. Tersiyer yapının bozulması proteinin proteolize ve oksidatif hasara yatkınlığını arttırır. Ayrıca tersiyer yapının bozulması ile ligand ve allosterik bağlanma bölgelerinin de geometrisi değişmekte ve proteinler işlevlerini kaybetmektedir. Redoks değişimi göstergesi olan protein tiyol (P-SH) hücre içi redoks durumuna göre değişkenlik göstermesine rağmen; PC ve AOPP proteinlerdeki kalıcı oksidatif hasarın göstergeleri olarak kullanılmaktadır (4,7,8).

Streptozotosin, oksidan maddeler meydana getirerek pankreas beta hücrelerinin selektif olarak harabiyetine neden olur. Streptozotosin, glukoz taşıyıcısı-2 (GLUT2) ile pankreas beta hücrelerine girerek DNA alkilasyonuna yol açar. DNA hasarı poli-ADP-ribozilasyon aktivasyonunu indükler.

Poli-ADP-ribozilasyonu, hücrel NAD<sup>+</sup> ve ATP azalmasına neden olur. Streptozotosin uygulanmasından sonra gelişen ATP yıkımı ksantin oksidaz için substrat sağlayarak süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikallerinin oluşumuna yol açar. Bunun yanında STZ toksik miktarlarda nitrik oksit oluşturarak akonitaz aktivitesini inhibisyonu ile de DNA hasarına yol açar. Tüm bunların sonucunda beta hücreleri apoptoz veya nekroz yoluyla ölür ve böylece diyabet gelişir (9).

Karnitin, L -hidroksi- -N-trimetilammonyobutanoat yapısındadır. Karaciğer ve böbrekte

proteinlere bağılı lizin kalıntılarının S-a denozil metiyonin kullanılarak ardışık metillenmesi sonucu sentezlenir. Uzun zincirli yağ asitlerini sitozolden mitokondri matriksine taşıyarak yağ asidi metabolizmasında görev alır. Eksikliği; mitokondri içine yağ asitlerinin transportunun azalması nedeniyle sitozolik trigliserid birikmesine yol açar. Bu da insülin direncinin patogeneğinde yer almaktadır (10). Tip 1 ve tip 2 diyabetli hastalarla yapılan çalışmalarda serum L-karnitin düzeyinin azaldığı bildirilmektedir (11,12). L-karnitin uygulamasının STZ ile diyabet geliştirilmiş sıçanlarda anti-oksidatif etki gösterdiği bulunmuştur (13). Sağlıklı ve diyabetik bireylerde öglisemik-hiperinsülinemik klem uygulamasında akut hiperkarnitineminin non-oksidatif glukoz kullanımını arttırdığı bildirilmektedir (14).

Bu çalışmanın amacı, STZ ile diyabet oluşturulmuş sıçanlarda L-karnitin karaciğer dokusunda protein oksidasyonu üzerine etkisini ortaya koymaktır. Bu çalışmada diyabette redoks değişimini göstermek amacıyla karaciğer dokusunda total tiyol (T-SH), redoks değişimine karşı savunmayı göstermek için non-protein tiyol (Np-SH) ölçümleri yapıldı. Dokudaki proteinlerin oksidatif stresten etkilene düzeylerinin göstergesi olarak da P-SH, AOPP ve PC seviyeleri analiz edildi.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Üniversitemiz yerel etik onayı alındıktan sonra, standart koşullarda yetiştirilen 4 aylık erişkin erkek Wistar sıçanlar Deney Hayvanları Birimi'nden temin edildi. Sıçanlar bazal diyet ile beslendiler, 22±2°C oda ısısı, %60 nem oranı, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık ritim sağlandı. Çalışmada 20 adet sıçan rastgele olarak kontrol (n=5), diyabet (n=8), L-karnitin+diyabet (n=7) olmak üzere 3 gruba ayrıldı. Diyabet oluşturmak için taze olarak pH 4.5 sitrat tamponu ile hazırlanan STZ kullanıldı. Diyabet ve L-karnitin+diyabet grubundaki sıçanlara tek doz STZ 50 mg/kg intraperitoneal (ip) olarak verildi. Kontrol grubu hayvanlara ise eş zamanlı olarak pH

4.5 sitrat tamponu solüsyonu ip yoldan enjekte edildi.

STZ uygulandıktan sonra 72. saatte kan glukoz seviyeleri ölçüldü ve 200 mg/dL'nin üzerinde değeri olan sıçanlar diyabetik olarak kabul edildi (15). Diyabet geliştiği tespit edilenlerden L-karnitin+diyabet grubundaki sıçanlara 2 hafta boyunca L-karnitin 500 mg/kg/gün dozunda ip olarak verildi. Kontrol ve diyabet grubundaki hayvanlara ise 15 gün boyunca ip olarak %0.9'luk serum fizyolojik uygulandı. Deney sonunda rampun (10 mg/kg) ve ketalar (50 mg/kg) anestezisi altında sıçanların batın ön duvarı insizyonla açılıp diyaframdan kalbe ulaşarak ponksiyonla kanları alınarak sakrifiye edildi. Karaciğer doku örnekleri % 0.9'luk soğuk serum fizyolojik ile yıkandı. Doku GSH ve tiyol düzeyleri aynı gün içinde çalışıldı. Geri kalan doku örnekleri diğer protein oksidasyon göstergeleri çalışılmak üzere analiz gününe kadar -70°C'de saklandılar.

Karaciğer dokuları 1/10 (w/v) oranında 0.15M KCl ile homojenize edildi. Homojenatlar 2000xg ve 4500xg'de ardışık iki defa santrifüj edildikten sonra berrak süpernatantlarda T-SH ve Np-SH düzeyleri Sedlak ve Lindsay'ın (16) tanımladıkları yöntemle göre analiz edildi. Bu yöntem doku homojenatlarında bulunan tüm indirgenmiş tiyol (-SH) gruplarının ve deproteinize süpernatantlardaki indirgenmiş -SH gruplarının bazik ortamda DNTB ile sarı renkli bir bileşik oluşturması ve bu bileşiğin renginin 412 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanır. Sırasıyla T-SH ve Np-SH analizleri yapıldı. T-SH değerlerinden Np-SH değerleri çıkarılarak P-SH düzeyleri bulundu.

Karaciğer dokusu PC düzeylerinin ölçümünde, Reznick ve Packer (17) tarafından geliştirilen metod kullanıldı. Bu yöntem protein yapısında bulunan karbonil gruplarının 2,4-dinitrofenilhidrazin ile oluşturdukları dinitrofenilhidrazonların renk şiddetinin 370 nm dalga boyunda ölçülmesine dayanmaktadır. Dokular, içinde %0.1'lik digitonin, 1 mM EDTA, 5 µg/mL aprotinin ve 40 µg/mL fenil-

metilsülfolil florid bulu nan fosfat tamponu (pH 7.4) ile 1/10 (w/v) oranında homojenize edildi. Homojenatlar 10000xg'de 10 dakika santrifüj edildi. Elde edilen berrak süpernatantlar protein karbonil analizi için kullanıldı.

Karaciğer dokusu AOPP düzeyleri, Witko-Sarsat ve arkadaşlarının (18) tanımladığı spektrofotometrik yöntemle ölçüldü. Dokular 1/10 (w/v) oranında fosfat tampon solüsyonu ile homojenize edildi. Bu yöntem AOPP'nin potasyum iyodür ile oluşturduğu renkli kompleksin 340 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanmaktadır.

Doku protein analizi ise Lowry ve ark. (19) tanımladığı metodla spektrofotometrik olarak yapıldı. Bu yöntem alkali ortamda proteinlerin peptid bağlarının bakır iyonları ile kompleks oluşturması esasına dayanır. Bakır-peptid kompleksleri folin ayırıcı ile reaksiyona girerek mavi-mor renk oluşturmaktadır.

Sonuçların hepsi, doku protein miktarı ile oranlanarak nmol/mg protein olarak ifade edildi.

Gruplar arasındaki farklılıklar, her bir gruptaki dağılım normal ve grupların varyansları homojen ise Tek Yönlü ANOVA varyans analizi ile bu koşulların herhangi birinin sağlanmadığı durumlarda ise Kruskal Wallis testi ile değerlendirildi. Varyans analizleri ile gruplar arasında farklılık olduğu tespit edilen parametrelerde çoklu karşılaştırma testi olarak Bonferroni ya da Dunn post-hoc testleri kullanıldı. Her bir grupta değişkenlerin birbirleriyle ilişkisini ortaya koymak için Pearson korelasyon analizi uygulandı. Elde edilen değerler medyan (interkuartil aralık) olarak

ifade edildi ve  $p < 0.05$ 'in altındaki farklılıklar istatistiksel anlamlı olarak kabul edildi.

## BULGULAR

Enjeksiyonlardan sonraki 72. saatte kan glukoz düzeyleri kontrol grubunda 94.4 mg/dL iken diyabet oluşturulanlarda 358.13 mg/dL idi.

Karaciğer dokusu T-SH, Np-SH ve P-SH düzeyleri Tablo 1'de sunulmuştur. Karaciğer dokusu T-SH düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir.

Diyabet ve L-karnitin+diyabet gruplarının karaciğer dokusu Np-SH düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede (her ikisi için;  $p < 0.001$ ) azaldığı görülmüştür. Diyabet grubu ile L-karnitin+diyabet grubu arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir (Şekil 1-A).

Karaciğer dokusu P-SH düzeyleri diyabet grubu ile L-karnitin+diyabet grubu arasında anlamlı bir fark gözlenmezken her iki grubun kontrol grubuna göre anlamlı derecede (her ikisi için;  $p < 0.05$ ) arttığı saptanmıştır (Tablo 1, Şekil 1-B).

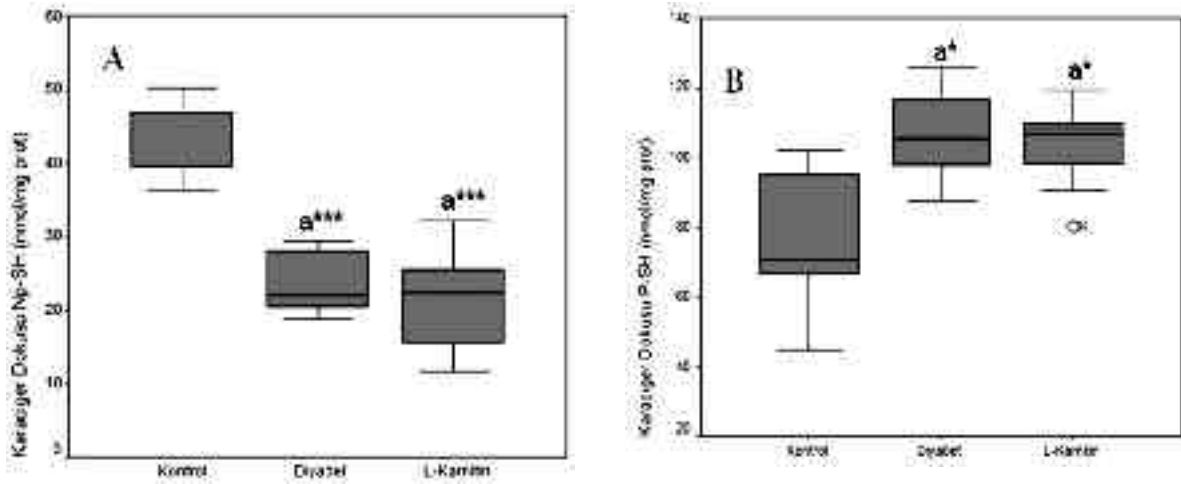
Diyabet grubunun karaciğer AOPP düzeyinin tüm grupların içinde en yüksek değere sahip olmasına rağmen kontrol grubu ile arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür (Tablo 2, Şekil 2-A).

Diyabet grubunun karaciğer PC düzeyi kontrol grubuna göre yükseldiği ( $p < 0.05$ ), L-karnitin+diyabet grubunun karaciğer PC düzeyinin ise diyabet grubuna göre düşük olduğu gözlenmiştir ( $p < 0.05$ ), (Tablo 2, Şekil 2-B).

**Tablo 1.** Kontrol, diyabet ve L-karnitin+diyabet gruplarının karaciğer dokusu T-SH, Np-SH ve P-SH değerleri (Medyan (interkuartil aralık)).

Gruplar	Kontrol (n=5)	Diyabet (n=8)	L-karnitin + Diyabet (n=7)	p
T-SH (nmol/mg protein)	121.3 (51.5)	126.8 (18.9)	124.5 (26.7)	0.774 <sup>§</sup>
Np-SH (nmol/mg protein)	46.6 (10.6)	21.98 (8.2) <sup>a***</sup>	22.3 (11.1) <sup>a***</sup>	0.001 <sup>#,†</sup>
P-SH (nmol/mg protein)	70.9 (42.7)	105.4 (22.9) <sup>a*</sup>	107.1 (19.6) <sup>a*</sup>	0.009 <sup>#,†</sup>

#: Tek Yönlü (ANOVA) Varyans Analizi ile değerlendirildi, §: Kruskal wallis test ile değerlendirildi, †: Gruplar arası karşılaştırmalar Bonferroni t-testi ile yapıldı, a: Kontrol grubuna göre karşılaştırma yapıldı, \*:  $p < 0.05$ , \*\*\*:  $p < 0.001$ , T-SH: Total tiyol, Np-SH: Non-protein tiyol, P-SH: Protein tiyol.



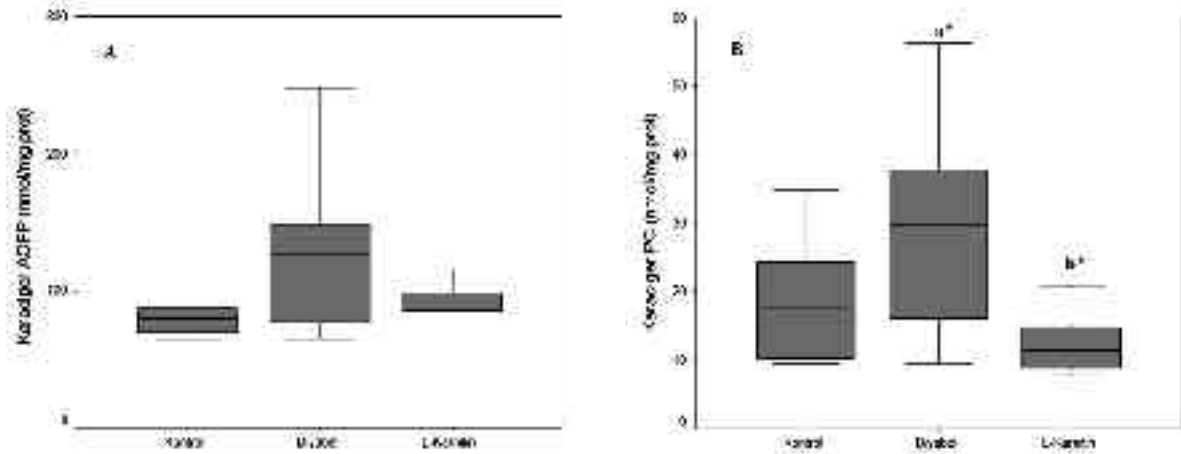
**Şekil 1.** Karaciğer dokusu Np-SH (a) ve P-SH (b) düzeyleri.

#: Tek Yönlü ANOVA varyans analizi ile değerlendirildi, †: Gruplar arası karşılaştırmalar Bonferroni t-testi ile yapıldı, a: Kontrol grubuna göre karşılaştırma yapıldı, \*: p<0.05, \*\*\*: p<0.001, Np-SH: Non-protein tiyol, P-SH: Protein tiyol.

**Tablo 2.** Kontrol, diyabet ve L-karnitin+diyabet gruplarının karaciğer dokusunda AOPP ve PC düzeyleri (Medyan (interkuartil aralık)).

Gruplar	Kontrol (n=5)	Diyabet (n=8)	L-karnitin + Diyabet (n=7)	p
AOPP (nmol/mg protein)	79.6 (53.5)	125.7(82.8)	86.2 (13.8)	0.201 \$,†
PC (nmol/mg protein)	17.6 (19.7)	29.8 (25.7) <sup>a†</sup>	11.4 (8.8) <sup>b†</sup>	0.039 #,†

#: Tek Yönlü (ANOVA) Varyans Analizi ile değerlendirildi, \$: Kruskal Wallis test ile değerlendirildi, †: Gruplar arası karşılaştırmalar Bonferroni t-testi ile yapıldı., a: Kontrol grubuna göre karşılaştırma yapıldı, b: Diyabet grubuna göre karşılaştırma yapıldı, \*: p<0.05, AOPP: İleri oksidasyon protein ürünleri, PC: Protein karbonil.



**Şekil 2.** Karaciğer dokusu AOPP (A)ve PC (B) düzeyleri.

a: Kontrolle göre karşılaştırma Bonferroni t-testi yapıldı, b: Diyabet grubuna göre karşılaştırma Bonferroni t-testi yapıldı, \*: p<0.05, AOPP: İleri oksidasyon protein ürünleri, PC: Protein karbonil.

Her bir gruptaki korelasyonlar Tablo 3'te verilmiştir. Kontrol, diyabet ve L-karnitin+diyabet gruplarının karaciğer dokusu T-SH ile P-SH düzeyi arasında pozitif ilişki olduğu gözlemlendi (sırasıyla r=0.984, p<0.01; r=0.956,

p<0.001 ve r=0.940 p<0.01). L-karnitin+diyabet grubunun P-SH düzeyi ile Np-SH düzeylerinin pozitif (r = 0.776, p<0.05) korelasyon gösterdiği saptanmıştır.

**Tablo 3.** Kontrol, diyabet ve L-karnitin+diyabet gruplarında görülen korelasyonlar.

Gruplar	Parametreler	r	p <sup>#</sup>
Kontrol	T-SH - P-SH	0.984	<0.01
Diyabet	T-SH - P-SH	0.956	<0.001
L-karnitin +	T-SH - P-SH	0.940	<0.01
Diyabet	P-SH - Np-SH	0.776	<0.05

#: Pearson's korelasyon analizi ile test edildi, T-SH: Total tiyol, P-SH: Protein tiyol, Np-SH: Non-protein tiyol.

## TARTIŞMA

Streptozotosin deneysel diyabet geliştirmekte yaygın olarak kullanılmaktadır. Çalışmamızda STZ uygulanan grupların 72. saatte ölçülen kan glukozu düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edildi. Bu bulgumuz 50 mg/kg STZ dozunun diyabet modelini oluşturmada yeterli olduğunu göstermektedir.

Deproteinize doku homojenatlarında ölçülen Np-SH'a katkıda bulunan bileşenler -SH grubu içeren serbest amino asitler ve glutatyonudur (GSH). Glutatyon yapısındaki sistein kalıntısının içerdiği tiyol grubu aracılığı ile hücre içinde redoks potansiyeli yüksek bir ortam sağlayarak, hücreyi oksidatif hasarlara karşı korur. Aşırı oksidatif stres veya antioksidan potansiyelin yetersizliğinde gözlenen oksidatif hasar sonucu oluşan hücre içi redoks değişiminde GSH hızla tüketilmekte ve gerek glutatyon sentaz gerekse glutatyon redüktaz enzimlerinin aktivitesi ile hızla yeniden üretilmekte veya yenilenmektedir (20,21). Diyabette GSH'ın azaldığı bildirilmiştir (22). Çalışmamızda diyabetik sıçanlarda kontrollere göre karaciğer dokularında Np-SH düzeyleri azalmıştı. Literatürde diyabet modelinde karaciğer Np-SH düzeylerinin çalışıldığı sınırlı sayıda çalışma yer almaktadır. Bu çalışmalarda da bizim bulgumuzla uyumlu olarak karaciğer Np-SH düzeylerinin azaldığı gösterilmiştir (2,23). Diyabet grubu ile L-karnitin tedavi grubunun Np-SH düzeyleri arasında fark bulunmaması L-karnitin hücre içi Np-SH'lerin redoks değişiminden etkilenmesini önleyememiş olduğunu düşündürmektedir.

Çalışmamızda diyabetik sıçanların karaciğer dokularında proteinlerdeki serbest -SH gruplarının miktarının ve proteinlerin dokudaki redoks değişiminden etkilenme şiddetinin göstergesi olan P-SH düzeylerinin kontrol grubuna göre arttığını saptadık. Doku P-SH düzeylerindeki artışın proteinlerdeki disülfid bağlarının kırılması sonucu -SH gruplarının serbest kalması nedeniyle olduğunu düşünmekteyiz. Bu bulgumuza dayanarak karaciğer dokusundaki proteinlerin katlanmalarının açıldığını, tersiyer yapılarının bozulduğunu ve işlevlerinde kayıp olabileceğini söyleyebiliriz. Daha önceki yayınımda diyabet modelinde böbrek dokusunda da P-SH düzeylerinin arttığını bildirmiştik (24).

Çalışmamızda karaciğer dokusu T-SH düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Çakatay (25) da glisemik kontrolü iyi olan ve iyi olmayan tip 2 diyabetli hastalarda, T-SH düzeylerinin değişmediğini bildirmiştir.

Bunların yanı sıra çalışmamızda grupların hepsinde karaciğer dokusu T-SH ve P-SH düzeyleri arasında pozitif korelasyon saptandı. Bu bulgumuz T-SH düzeyindeki değişimin proteinlerdeki serbest tiyol grupları ile ilişkisi olduğunu ve proteinlerin hücre redoks değişiminden etkilendiğini, ancak L-karnitin uygulamasının proteinlerin tiyol gruplarının indirgenmesini engelleyemediğini göstermektedir.

Diyabette artmış olan oksidatif stres vücudun doğal antioksidan kapasitesini aşmakta ve protein oksidasyonuna, PC bileşiklerinin ve AOPP oluşmasına yol açmaktadır. Okside proteinlerde proteolize yatkınlık ve normal fonksiyonda azalma meydana gelir. Proteinlerde yapısal değişikliğe yol açan başlıca mekanizmalar PC oluşumu ile sonuçlanan protein oksidasyonu, tiyol gruplarının kaybı, disülfid bağlarının kopması, AOPP oluşumu olarak sıralanmaktadır.

Literatürde AOPP ve PC düzeylerinin ölçümü en güvenilir protein oksidasyonu parametreleri olarak kabul edilmektedir. Çalışmamız

da diyabet grubunun karaciğer dokusunun AOPP ve PC düzeyleri kontrol ve L-karnitin+ diyabet grubuna göre artmıştı. Bu artış PC düzeyinde anlamlı fakat AOPP düzeyinde anlamsızdı. PC ve AOPP diyabetin ileri dönemlerinde artan parametrelerdir. Bu bulgumuz diyabet oluştuktan 15 gün sonra karaciğer dokusu PC karbonil oluşumunun arttığını ancak AOPP oluşumunun yeterince artmadığını göstermektedir. L-karnitin+diyabet grubunun PC düzeylerinin diyabet grubuna göre anlamlı şekilde düşük olması L-karnitin tedavisinin proteinleri kalıcı oksidatif hasardan koruduğunu göstermektedir.

Literatürde diyabet modelinde karaciğer PC düzeylerinin yükseldiği gösterilmiştir (2,26). Kayalı ve ark. (27) deneysel olarak oluşturulmuş kronik diyabette PC ve AOPP düzeylerinde akut diyabet ve kontrol grubundaki hayvanlara göre anlamlı derecede artış olduğunu bildirmişlerdir. Çakatay (25) da glisemik kontrolü iyi olmayan tip 2 diyabetli hastalarda, glisemik kontrolü iyi olanlara göre AOPP ve PC düzeylerinin arttığını bildirmiştir.

Sonuç olarak; STZ ile oluşturulmuş diyabet modelinde 500 mg/kg/gün L-karnitin uygulamasının proteinleri oksidatif hasardan korumakta kısmen başarılı olduğunu, proteinlerin redoks değişimlerinden etkilenmesini ise engelleyemediğini söyleyebiliriz. Farklı dozlarda ve daha uzun sürelerde L-karnitin uygulamasının diyabetik sıçanlarda protein oksidasyonuna etkisini gösteren yeni çalışmalara ihtiyaç olduğunu ve ayrıca proteinlerde tam bir koruma sağlanabilmesi için mutlaka redoks değişimine etkili başka bir ilaçla beraber kullanımının araştırılması gerektiğini söyleyebiliriz.

#### KAYNAKLAR

1. Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM. Are oxidative stress-activated signaling pathways mediators of insulin resistance and beta-cell dysfunction? *Diabetes* 2003; 52(1): 1-8.
2. Cumaoglu A, Cevik C, Rackova L, Ari N, Karasu C. Effects of antioxidant stobadine on protein carbonylation, advanced oxidation protein products and reductive capacity of liver in streptozotocin-

diabetic rats: role of oxidative/nitrosative stress. *Biofactors* 2007; 30(3): 171-8.

3. Bukan N, Sancak B, Yavuz O, Koca C, Tutkun F, Ozcelikay AT, et al. Lipid peroxidation and scavenging enzyme levels in the liver of streptozotocin-induced diabetic rats. *Indian J Biochem Biophys* 2003; 40: 447-50.
4. Kayalı R, Çakatay U. Protein oksidasyonunun ana mekanizmaları. *Cerrahpaşa J Med* 2004; 35(2): 83-9.
5. Shacter E. Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. *Drug Metab Rev* 2000; 32(3-4): 307-26.
6. Davies MJ, Fu S, Wang H, Dean RT. Stable markers of oxidant damage to proteins and their application in the study of human disease. *Free Radic Biol Med* 1999; 27(11-12): 1151-63.
7. Nelson DL, Cox MM. The Three-Dimensional Structure of Proteins. In *Lehninger Principles of Biochemistry*, 5th Ed. New York, W. H. Freeman and Company; 2008. p. 140-1.
8. Champe PC, Harvey RA, Ferrier DR. Protein structure and function. In: Champe PC, Harvey RA, Eds. *Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry*. 4th Ed. Ohio, Lippincott Williams & Wilkins; 2007. p. 13-24.
9. Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol Res* 2001; 50(6): 537-46.
10. Mingrone G. Carnitine in type 2 diabetes. *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1033: 99-107.
11. Poorabbas A, Fallah F, Bagdadchi J, Mahdavi R, Aliasgarzadeh A, Asadi Y, et al. Determination of free L-carnitine levels in type II diabetic women with and without complications. *Eur J Clin Nutr* 2007; 61(7): 892-5.
12. Winter SC, Simon M, Zorn EM, Szabo-Aczel S, Vance WH, O'Hara T, et al. Relative carnitine insufficiency in children with type I diabetes mellitus. *Am J Dis Child* 1989; 143(11): 1337-9.
13. Uysal N, Yalaz G, Acikgoz O, Gonenc S, Kayatekin BM. Effect of L-carnitine on diabetogenic action of streptozotocin in rats. *Neuro Endocrinol Lett* 2005; 26(4): 419-22.
14. Mingrone G, Greco AV, Capristo E, Benedetti G, Giancaterini A, De Gaetano A, et al. L-carnitine improves glucose disposal in type 2 diabetic patients. *J Am Coll Nutr* 1999; 18(1): 77-82.
15. Soneru IL, Khan T, Orfalian Z, Abraira C. Acetyl-L-carnitine effects on nerve conduction and glycemic regulation in experimental diabetes. *Endocr Res* 1997; 23(1-2): 27-36.
16. Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem* 1968; 25(1): 192-205.

17. Reznick AZ, Packer L. Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl assay. *Methods Enzymol* 1994; 233: 357-63.
18. Witko-Sarsat V, Friedlander M, Capeillere-Blandin C, Nguyen-Khoa T, Nguyen AT, Zingraff J, et al. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney Int* 1996; 49 (5):1304-13.
19. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193(1): 265-75.
20. Memişoğulları R. Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi* 2005; 3: 30-9.
21. Aksoy Y. Antioksidan mekanizmada glutatyonun rolü. *T Klin J Med Sci* 2002; 22: 442-8.
22. Lu SC. Regulation of glutathione synthesis. *Mol Aspects Med* 2009; 30(1-2): 42-59.
23. Phillips SA, Mirrlees D, Thornalley PJ. Modification of the glyoxalase system in streptozotocin-induced diabetic rats. Effect of the aldose reductase inhibitor Statil. *Biochem Pharmacol* 1993; 46(5): 805-11.
24. Sayılan Özgün G, Eskiocak S, Süt N. Streptozotocin ile diyabet geliştirilmiş sıçanlarda L-Karnitin protein oksidasyonu üzerine etkisi. *Türk J Bioch* 2010; 3(3): 183-9.
25. Cakatay U. Protein oxidation parameters in type 2 diabetic patients with good and poor glycemic control. *Diabetes Metab* 2005; 31(6): 551-7.
26. Nakhaee A, Bokaeian M, Saravani M, Farhangi A, Akbarzadeh A. Attenuation of oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *Indian J Clin Biochem* 2009; 24(4): 419-25.
27. Kayali R, Telci A, Cakatay U, Karaca C, Akcay T, Sivas A, et al. Oxidative protein damage parameters in plasma in chronic experimental diabetes in rats. *Eur J Med Res* 2003; 8(7): 307-12.

---

**Yazışma adresi:**

Dr. Gülben Sayılan Özgün  
Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi,  
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Edirne  
Tel : 0 284 235 30 98  
E-posta: sayilanozgun@hotmail.com

---