

# Steroid Tedavisinin Karnitin Düzeyi Üzerine Etkileri

Naci Topaloğlu\*, Zübeyde Gündüz\*\*

## Özet

Karnitin eksikliğinde yağlanma ve ilerleyici kas zayıflığı ortaya çıkmaktadır. Bu çalışmada uzun süre verilen prednizolon tedavisinin vücut sıvıları ve dokulardaki serbest karnitin konsantrasyonları üzerine etkileri araştırıldı. Çalışmada erişkin dişi Wistar-Albino sıçanlar kullanıldı ve 4 gruba ayrıldı. Grup I (n=8)'e 15 ve grup III (n=9)'e 30 gün süreyle oral 2 mg/kg/gün dozundaki prednizolona eşdeğer metilprednizolon, grup II (n=8)'e 15 gün, grup IV (n=10)'e 30 gün süreyle plasebo verildi. Serum serbest karnitin düzeyi, karaciğer, kalp ve iskelet kası doku serbest karnitin düzeyleri için grup I ve II'den 15. günde, grup III ve IV'den 30. günde kan örnekleri ve dekapitasyonu takiben karaciğer, kalp kası ve biceps femoris kasından doku örnekleri alındı. Steroid tedavisi verilen sıçanlar ile kontrol sıçanların idrar, serum, kalp ve iskelet kası serbest karnitin konsantrasyonları açısından fark tespit edilemedi ( $p>0,05$ ). Buna karşılık 15 gün süreyle prednizolon tedavisi verilen sıçanların karaciğer doku karnitin konsantrasyonları grup II ve III'den düşük bulundu ( $p<0,05$ ). Bu bulgulara göre prednizolon tedavisinin erken dönemde karaciğer dokusu serbest karnitin konsantrasyonlarını düşürdüğü, buna karşılık tedavinin ileri döneminde vücut sıvıları ve dokularındaki serbest karnitin konsantrasyonlarını etkilemediği sonucuna varıldı.

**Anahtar kelimeler:** Karnitin, steroid tedavisi, sıçan, prednisolon

Yağ asitleri; beyin, eritrosit ve sürrenal medulla dışındaki dokularda enerji üretimi maddesi olarak kullanılmaktadır. Özellikle iskelet ve kalp kasında başlıca enerji maddesi yağ asitleridir (1). Yağ asitlerinin enerjiye dönüştürülebilmesi için karnitine ihtiyaç vardır. Karnitin 3-hidroksi-4-N-trimetilammonium-butirat yapısında bir amino asit olup, uzun zincirli yağ asitlerinin mitokondri içine girişini kolaylaştırarak  $\beta$ -oksidasyon ve sonucunda enerji oluşumunu sağlamaktadır (2) ve karnitin tüm hayvan türlerinde, pek çok mikroorganizma ve bitki türlerinde bulunmaktadır (3-6).

Diğer taraftan adrenokortikal steroidler adrenal kortekste kolesterolden sentez edilen hormonlardır. Vücudun normal fonksiyonlarının devamı için fizyolojik dozlarda salınması gereklidir.

Kortikosteroidlerin karbonhidrat, lipid ve protein metabolizmasının düzenlenmesi, sıvı ve elektrolit dengesinin sağlanması, kardiovasküler, immün sistem, böbrek, iskelet kası, endokrin ve sinir sisteminin normal fonksiyonlarının devamı için önemli etkileri vardır. Fizyolojik dozlarda salınması gereken kortikosteroidlerin aşırı derecede salgılanması veya dışarıdan steroid analoglarının alınması ile birçok sistem üzerinde yan etkiler oluşmaktadır. Steroidler; bir çok endokrin ve endokrin dışı hastalığın tedavisinde kullanılan ilaçlardır (7, 8). Steroid tedavisinin bir çok sistem üzerine olan ve bilinen yan etkilerinin dışında karnitin metabolizması üzerine etkileri konusunda yapılan çalışmalar yetersizdir.

Kliniğimizde, nefrotik sendromlu çocuklarda prednizolon tedavisini takiben serum karnitin konsantrasyonlarının düştüğü gözlenmiştir. Bu gözlemden yola çıkarak steroid miyopatisinin bir nedeninin de karnitin eksikliği olabileceği varsayılarak, prednizolonun doku, serum ve idrar karnitin düzeylerine etkisini araştırmayı düşündük. Sıçanlar üzerinde yaptığımız bu çalışma ile amacımız; steroid tedavisi sonrası oluşan karnitin metabolizmasındaki değişiklik olup olmadığının tespit edilmesi ve steroid alan

\*Özel Çanakkale Anadolu Hastanesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği, Çanakkale.

\*\*Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Pediatrik Nefroloji Bilim Dalı, Kayseri.

**Yazışma Adresi:** Dr. Naci TOPALOĞLU

Özel Çanakkale Anadolu Hastanesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği, 17100 Çanakkale- Türkiye

Tel: 0 533 527 36 57

E-mail: nacitopaloglu@mynet.com

hastaların bu yönden değerlendirilmesinin sağlanması idi.

## Gereç ve Yöntem

### Deney hayvanları:

Çalışmada dişi Wistar-Albino sıçanlar (175-270 gr) kullanıldı. Sıçanlar sıcaklığın  $22\pm 2$  °C ve 12 saat aydınlık karanlık ortamının sağlandığı mekanda barındırıldı. Standart yem ve içme suyu verildi. Çalışma Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi etik komitesi tarafından onaylandı.

### Deneysel protokol:

Hayvanlar çalışmada, 15 ve 30 günlük süreler için iki gruba bölündü. Bu iki grup da kontrol ve deney olmak üzere 10'ar hayvandan oluşan iki alt gruba ayrıldı. Dolayısıyla, çalışmadaki gruplar; Grup 1: 15 gün steroid verilen deney grubu, Grup 2 : 15 gün çeşme suyu verilen kontrol grubu, Grup 3 : 30 gün steroid verilen deney grubu, Grup 4 : 30 gün çeşme suyu verilen kontrol grubundan meydana geldi.

Deney grubundaki hayvanlara 2 mg/kg/gün prednizolona eşdeğer dozda metilprednizolon, 1 ml suda eritilmiş halde gavajla verildi. Kontrol grubundakilere ise gavaj sondasıyla 1 ml şebeke suyu verildi. Bu işlem her gün sabah aynı saatlerde uygulandı.

### İdrar, kan ve doku örneklerini toplanması:

İlaç verilmeye başlamadan önce (0. gün) ve ilaç verilmesini takip eden 15. ve 30.günlerde hayvanlar metabolik kafeslere yerleştirilerek 24 saatlik idrarları toplandı, ağırlıkları ve yem tüketimleri ölçüldü. Toplanan idrar miktarları ölçülüp çalışma için  $-20$  °C de saklandı.

15 günlük steroid tedavisi ve kontrol hayvanlarının kan örnekleri 15.günün sonunda, 30 günlük steroid tedavisi ve kontrol hayvanları için ise, kan örnekleri 30.günün sonunda ketamin (100 mg/kg, i.p) ve chlorpromazine (12,5 mg/kg; i.p) anestezisi altında uyutularak—abdominal aortadan alındı ve santrifüje edilerek serumları 70°C de saklandı. Ayrıca sıçanlardan arka ekstremitte iskelet kası (biceps femoris) ile kalp ve karaciğerleri alındı. Alınan numuneler steril şişelere konularak  $-196$  °C sıvı nitrojende dondurulup  $-70$  °C de saklandı.

### Serum, idrar ve dokuda serbest karnitinin ölçümü:

Serum örneklerinin, idrar numunelerinin, standartların ve kör olarak kabul ettiğimiz tridistile suyun 1 ml'eri üzerine 0.5'er ml 80 mmol/L çinko sülfat ilave edilip karıştırıldı. Bu karışımın üzerine 0.5'er ml 80 mmol/L baryum hidroksit ilave edildikten sonra tekrar karıştırıldı ve  $+4$  °C'de 4000 rpm'de (1770 x g) 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonunda oluşan

süpernatantlardan 1'er ml başka bir tüpe alındı ve üzerlerine yeniden 0.5'er ml 80 mmol/L çinko sülfat ve 80 mmol/L baryum hidroksit ilave edilerek ve tekrar karıştırılıp,  $+4$  °C'de 4000 rpm'de yeniden santrifüj edildi. İkinci santrifüj sonunda oluşan üstteki süpernatantlardan 400 µl alındı ve 1 ml hacimli spektrofotometre küvetlerine aktarıldı. Üzerine sırasıyla, önce 405 µl HEPES (hidroksietilpiperazin etansulfonik asit) tamponu, 100 µl DTNB (ditiyotrobenzoat), 25 µl Ac. CoA (asetil koenzim A) ilave edildi. Oda ısısında, 410 nm dalga boyunda, spektrofotometrede kör küvetine karşı absorbans değişiklikleri izlendi. Absorbansda önemli değişiklik olmadığı 2. dakikadaki, absorbans değeri  $A_1$  olarak okundu. Daha sonra küvetlere, reaksiyonu başlatmak için kör tüpü hariç, 2 µl (1 Ü) CAT (karnitin açıl transferaz) ilave edildi. Absorbansda giderek artış meydana geldiği görüldü. Absorbansda hiçbir değişikliğin olmadığı ve stabil hale geldiği 20. dakikada reaksiyon platoya ulaştı. Bu son absorbans değeri de  $A_2$  olarak kaydedildi (9, 10).

### Doku homojenatlarının hazırlanması:

Serbest karnitin ölçümünde kullanılan, karaciğer, kalp ve iskelet kası homojenatları, Harper ve ark. (11) tarafından geliştirilen metoda göre hazırlandı. Ratlardan alınarak 70°C'de çalışmaya kadar saklanan doku numuneleri, liyofilize edildi. Ortam ısısına gelen numunelerin üzerlerine 3'er ml HEPES tamponu ilave edildi. HEPES tamponu içindeki doku numuneleri kas dokuları için 4 dak/1 g kas dokusu, karaciğer için tamamen süspanse hale gelinceye kadar, buz kalıplarının içerisinde sonifiyere tutuldu. Süspansiyon haline getirilen materyal yüksek devirli santrifüjde 14000 x g (12855 rpm)'de 1 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonunda serbest karnitin fraksiyonu süpernatant kısmında kalır. Ön işlem sonucu elde edilen doku homojenatları, serum serbest karnitin ölçüm metodundaki aynı yöntemle çalışıldı.

### İstatistiksel değerlendirme:

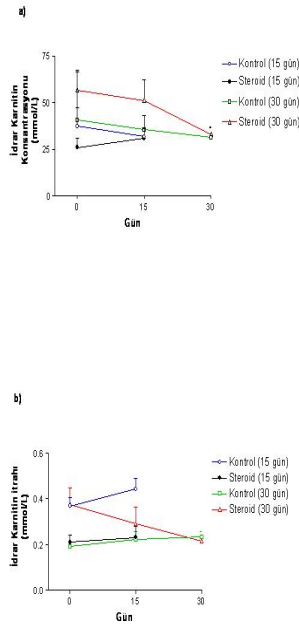
Çalışmada her bir grup için elde edilen idrar, serum, karaciğer, iskelet ve kalp kası karnitin değerlerinin ortalamaları, standart hataları ve standart sapmaları hesaplandı. Gruplar arası karşılaştırmalar nonparametrik test olan Mann-Whitney U testiyle yapıldı. Grup içi tekrarlayan parametreler Friedman ve Wilcoxon testleri ile karşılaştırıldı. Person testi ile de gruplar arası ilişkiler değerlendirildi.

## Bulgular

Çalışmaya alınan sıçanların ağırlıkları, gruplar kendi aralarında incelendiğinde anlamlı bir değişim tesbit edilmemiştir.

Sıçanların ortalama idrar karnitin konsantrasyonları gruplar halinde Şekil 1-a'da verilmiştir. İdrar karnitin konsantrasyonları hem 15 hem de 30 günlük steroid tedavilerinde kontrol gruplarına göre rakamsal olarak farklı olmakla birlikte istatistiksel olarak bir anlamlılık saptanamadı ( $p>0,05$ ).

Sıçanların ortalama idrar karnitin itrahi gruplar halinde karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı bir fark görülmemektedir (Şekil 1-b).

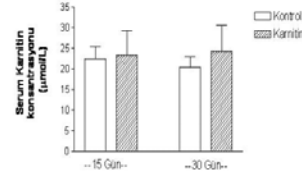


Şekil 1. İdrar karnitin konsantrasyonu (a) ve itrahi (b) (mmol/L)

Sıçanların ortalama kreatinin klirenslerine bakıldığında; gruplar arası anlamlı bir fark tespit edilememiştir.

Hayvanların ortalama serum karnitin değerleri; 15 gün steroid tedavisi alan grupta  $23,38 \pm 16,27$  µmol / L, kontrol grubunda  $22,26 \pm 8,79$  µmol / L iken steroid tedavisini 30 gün alan grupta  $24,24 \pm 18,81$  µmol / L ile kontrol grubunda  $20,30 \pm 7,97$  µmol / L idi. Steroid tedavisi alanlarda kontrollerine göre değerler hafif yüksek olmasına rağmen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi (Şekil 2).

Hayvanların ortalama iskelet kası karnitin değerleri, 15.günlük steroid tedavisinde  $0,46 \pm 0,34$  µmol / g, 15.günlük kontrol'de  $0,67 \pm 0,84$  µmol/g, 30 gün steroid tedavisinde  $0,28 \pm 0,12$  µmol/g, 30 günlük kontrol grubunda ise  $0,24 \pm 0,13$  µmol/g olup; 15 günlük tedavi gruplarının iskelet kası ortalama karnitin değerleri rakamsal olarak düşük görünmekle birlikte, gruplar arasında. Hayvanların ortalama kalp istatistiksel



Şekil 2. Serum karnitin konsantrasyonu ile ilişkili parametreler (µmol / L).

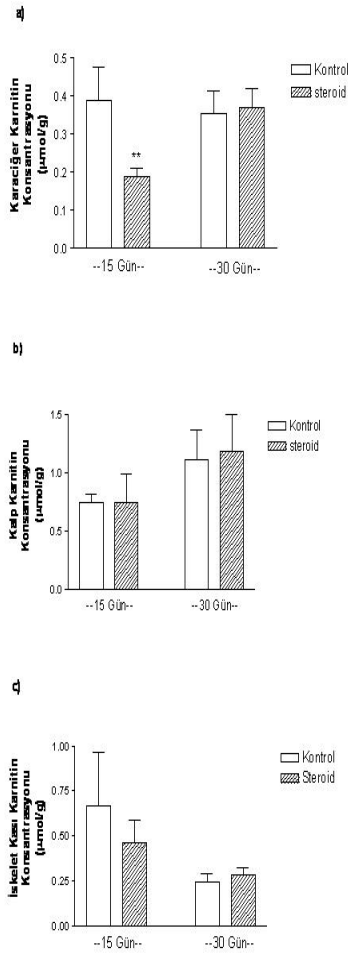
olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi (Şekil 3-c).

kası karnitin değerleri, 15 günlük steroid tedavisinde  $0,74 \pm 0,70$  µmol / g, 15 günlük kontrolde  $0,75 \pm 0,21$  µmol / g, 30 günlük steroid tedavisinde  $1,18 \pm 0,94$  µmol / g, 30 günlük kontrolde ise  $1,11 \pm 0,81$  µmol / g olup, 30 günlük tedavi gruplarında kalp kası karnitin değerleri 15 günlük tedavi gruplarından daha yüksek ölçülmesine rağmen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi (Şekil 3-b).

Hayvanların ortalama karaciğer karnitin değerleri, 15 günlük steroid tedavisinde  $0,19 \pm 0,06$  µmol/g, 15 günlük kontrolde  $0,38 \pm 0,25$  µmol/g, 30. Günlük steroid tedavisinde  $0,37 \pm 0,15$  µmol/g, 30.günlük kontrolde ise  $0,35 \pm 0,19$  µmol/g olup Şekil 3-a'da görülmektedir. 15 günlük steroid tedavisi alan sıçanların karaciğer karnitin düzeylerinin 15 günlük kontrol ve 30 günlük steroid alan sıçanların karaciğer karnitin düzeylerine göre anlamlı olarak düşük olduğu saptanmıştır ( $p<0,05$ ).

## Tartışma

Kortizon molekülü üzerinde çeşitli modifikasyonlarla halojenizasyon, esterifikasyon, hidroksilasyon yapılarak antiinflamatuvar etkinliği artırılmıştır. Bununla birlikte kortikosteroidlerin, birçok sistem üzerine yan etkileri vardır (12). Yan etkileri en aza indirmek için; en düşük etkili dozda, yarı ömrü kısa ilaçlar tercih edilmesi, yeterli beslenme ve fiziksel aktivitenin sağlanması önerilmektedir (12).



Şekil 3. Karaciğer, kalp ve iskelet kası karnitin konsantrasyonları (µmol/g doku) (\*\* p<0,05)

Steroidlerin kas iskelet sistemi üzerine etkileriyle ilgili birçok çalışma vardır. Miyopati ve osteoporoz bilinen en önemli yan etkilerdir (1, 12). Seene ve ark. (13) sıçanlar üzerinde yaptığı çalışmada glukokortikoidlerin kas liflerinde azalma ve kuvvet kaybı oluşturduğu, bunun da farklı kas liflerinde farklı şekil ve derecede görüldüğünü göstermişlerdir. Kas tipinin hızlı ve yavaş kasılmasına göre de atrofinin derecesi değişmektedir.

Kelly ve ark. (14) yaptığı çalışmada ise, 10 gün süresince steroid verilen sıçanlarda ağırlık kaybı olduğunu tespit etmişlerdir. Bunun nedeninin de kortikosteroidlerin iskelet kasları üzerindeki katabolik etkisinin kas atrofini oluşturmasına bağlı olabileceği belirtilmiştir (1). Steroidlerin

ağırlık artışı yaptığı yönündeki yaygın kanaat ise santrpedal yağlanma ve mineralokortikoid etkilerinden dolayı su ve tuz tutmalarından kaynaklanmaktadır (15).

Steroidlerin enerji metabolizmasına etkileri; protein, karbonhidrat ve yağ metabolizmaları üzerindeki etkileri nedeniyle önemli bir yer tutmaktadır. Yağların kullanılabilmesi ise karnitin varlığı ile mümkündür. Uzun zincirli yağ asitlerinin ekstramitokondriyal boşluktan mitokondriyal matrikse taşınması karnitin primer ve en önemli görevidir. Bundan dolayıdır ki serbest yağ asitlerinden β-oksidasyonla enerji elde edilebilmesi için karnitin varlığı gerekmektedir (16, 17).

Yağ asitlerinin enerjiye dönüştürülmesinde primer rolü olan karnitine duyulan ilgi 1905 yılında hayvan kaslarından izole edilmesiyle başlamış ve günümüze kadar artarak devam etmiştir (3). Karaciğer, böbrek ve beyin dokusunda sentez edilebilen karnitin sentezinde hayvan türlerine göre farklı dokular ön planda olabilir. Örneğin sıçanlarda karaciğer ön plandayken insanda böbrekler ön plandadır (16, 18).

Yapılan çalışmalar DTNB ile karnitin tayininin kolay uygulanabilir olduğu ama bazı sakıncalarının varlığını göstermiştir. Özellikle karnitin düzeylerinin düşük olduğu idrar ve serum numunelerinde doğru sonuç vermemektedir. Ayrıca bu metot, tiyol bileşiklerinden fazla etkilendiğinden, karaciğer gibi tiyolden zengin dokularda çok şiddetli renk oluşumu nedeniyle yanlış sonuçlar verebilir (19). HPLC ile karnitin tayin metotları oldukça spesifik fakat zayıf derecede duyarlı ve oldukça da pahalıdır. Radyoizotopik karnitin ölçüm metotları ise yüksek derecede duyarlı olmalarına rağmen pahalı bir metottur (20).

Karnitin ölçüm metotlarında proteinlerin presipitasyonu gerekir. Presipitasyon için en çok kullanılan tuzlar; sülfat, fosfat ve sitrat gibi polianyonik tuzlardır. Çalışmamızda presipitasyon için Seccombe ve ark. (9) çalışmalarında belirtilen çinko sülfat ve baryum hidroksit kullanıldı.

Karnitin ölçüm metotları sonuçlarının karşılaştırılmasıyla ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Farklı yöntemler olmasına rağmen, spektrofotometrik, enzimatik ve HPLC ile bulunan sonuçların birbiriyle yakın değerler olduğu gösterilmiştir (9, 20, 21).

Steroidlerin karnitin metabolizması üzerine etkileriyle ilgili yapılan çalışmalar kısıtlıdır. French ve ark. (22) 1985 yılında yaptığı çalışmada glukokortikoid tedavisinin kalp, böbrek ve karaciğerde karnitin konsantrasyonuna

etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada sıçanlar 48 saat aç bırakılmış ve açlığın 0, 24, ve 46. saatlerinde 0,05 mg /100 gram dozunda subkutanöz deksametazon enjekte edilmiştir. Bu işlemde 2,5 saat sonra hayvanların bir kısmına gavajla 2-tetradesilglisidat (TDG), bir kısmına da su verilmiş ve karaciğer kalp ve böbrekte karnitin konsantrasyonları ölçülmüştür. Sadece deksametazon verilen sıçanlarda, kalp ve böbrekte total ve serbest karnitin konsantrasyonunun arttığı, karaciğerde ise değişmediği görülmüştür. TDG verilen sıçanlarda ise kalp ve böbrekle birlikte karaciğerdeki karnitin konsantrasyonunda da artma gösterilmiştir. Ayrıca artmış kalp ve böbrek karnitin konsantrasyonlarının strese bağlı olabileceği belirtilmektedir. Bununla birlikte sıçanlarda ekstrahepatik dokularda karnitin sentezi yapılmadığından deksametazon tedavisine bağlı kalp ve böbrekteki karnitin konsantrasyonundaki artış karnitin uptake'nin artmasına bağlanmaktadır. Açlıkta diyetle karnitin alınmadığı için hepatic karnitin biyosentezi kendisi ve ekstrahepatik dokular için karnitini sağlamaktadır (22).

Çalışmamızda kalp kası kuru ağırlığı başına karnitin konsantrasyonlarına bakıldığında 30 günlük çalışma ve kontrol gruplarındaki değerlerin 15 günlük gruplara göre yüksek ölçülmesine rağmen gruplar arasında istatistiksel bir fark tespit edilmedi. Çalışmamızda hayvanların aç bırakılmayıp beslenmeye devam edilmesi, steroid tedavisinin 48 saat yerine 15 ve 30 gün gibi bir süre uygulanması French ve ark. (22) dan farklı olarak karnitin değerlerinin steroid alınımı ile yükselmemesinin nedenleri olabileceğini düşünmekteyiz. French ve ark. (22) stresin kalp ve böbrekteki karnitin konsantrasyonunun yükselmesini açıklayabileceğini belirtmişlerdir. Yaptıkları çalışmada subkutan enjekte edilen steroid çalışmamızda gavajla verilmiştir. Bunun da sonuçlar arasındaki farkı yönlendiren stres için anlamlı olabileceğini düşünmekteyiz.

Karaciğer karnitin konsantrasyonlarına bakıldığında 15 gün steroid alanların kontrollerine ve 30 gün steroid alan gruba göre düşük olduğu ve bununda istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü. French ve ark. (22) çalışmasında TDG verilmeden önceki karnitin konsantrasyonunun karaciğerde değişmemesine rağmen, çalışmamızda 15 gün steroid alan sıçanlarda kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur. Çalışmamızdaki hayvanların beslenmesi ve steroid tedavisinin süresinin uzun olmasının bu farkı oluşturabileceğini düşünmekteyiz.

Molstad ve Bohmer (23) 1979 yılında yaptıkları çalışma ile kalp kası hücre vasatlarında prednizolonun karnitin üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Hücre büyüme vasatlarında prednizolon verilmesi sonrasında kontrol gruplarıyla arasında karnitin uptake oranı açısından % 150'lik bir artış izlenmiştir. Karnitin transportundaki prednizolon nedeniyle olan artış taşıyıcı hücre dizileri sayısındaki artışa bağlanmış ve bu hücre dizileri CCL 27 olarak adlandırılmışlardır. Prednizolon ve karnitin ikisi de membran taşıyıcı sentezinde artış sağlamaktadırlar. Glukokortikoidler enzim indükleyici özelliğe sahiptir. Membranlardaki taşıyıcı hücrelerdeki artış da steroidlerin bu enzim indükleme özelliğine bağlı olabileceği düşünülmüştür.

Guzman ve ark. (24) tarafından sıçanlar üzerinde yapılan çalışmada anabolik steroidlerin CPT üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Sıçanlara 4 haftalık egzersiz eğitimi yaptırılmış ve bu sürenin sonunda 8 hafta egzersiz ile birlikte haftanın 5 günü 2 mg/kg/gün dozunda anabolik steroid (fuloksimesteron ya da metilandrostanolon) verilmiş. Tedavi süresince hayvanların yedikleri yem miktarında ve vücut ağırlıklarında değişiklik izlenmemiş. Çalışmanın sonunda anabolik steroid verilen sıçanlarda CPT I'in aktivitesinde Ekstensor digitorum longus kası ve karaciğerde artma izlenirken, kalp ve soleus kaslarında herhangi bir etki görülmemiş. Ayrıca egzersizle bir değişiklik izlenmemiş. Sonuç olarak anabolik steroid verilen sıçanlarda karaciğer ve hızlı çalışan iskelet kası mitokondrilerindeki CPT I aktivitesinin arttığı, kalp ve yavaş çalışan iskelet kası mitokondrilerinde değişmediği görülmüştür. Anabolik steroidler malonil CoA inhibisyonuyla karaciğer enzimlerinin sensitivitesini etkilemezler.

Çalışmamızdaki iskelet kası karnitin değerlerine bakıldığında grup I ve II'deki karnitin konsantrasyonlarının grup III ve IV'e göre daha yüksek değerler tespit edilmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi. Molstad ve Bohmer'in (23) kalp kası hücre büyüme vasatlarında gösterdikleri steroide bağlı karnitin uptakenin artması çalışmamızda gözlenmemiştir. Bu farklılığın sebebi Arakawa ve ark.'nın da (25) belirttiği gibi farklı alınabilecek sonuçların deneyde kullanılan hayvanın günlük diyetinin özelliği ve vücut ağırlığıyla ilişkili olduğudur. Guzman ve ark. (24) anabolik steroidlerle yaptığı çalışmada hızlı ve yavaş çalışan iskelet kaslarında farklı CPT I aktivitesinin tespit edilmesine rağmen çalışmamızda sıçanların iskelet kaslarındaki karnitin konsantrasyonlarında steroide bağlı bir

değişiklik izlemedik. Çalışmamızda steroidlerin kullanılması, diyet farklılığı ve egzersize tabi tutulmaması farklı sonucun nedenleri olabileceğini düşünmekteyiz.

Maebashi ve ark. (26) yaptığı çalışmada ACTH'nın karnitin ve lipid metabolizması üzerine olan etkilerini göstermişlerdir. Hipofonksiyonel endokrin hastalığı olanlara (adrenokortikal yetmezlik, hipotiroidi, hipopituitarizm), sentetik intramusküler ACTH enjeksiyonu yapılarak serum karnitin, serum lipidleri ve idrar karnitin ekskresyonuna bakılmıştır.

ACTH verilen normal kişilerde ve hipofonksiyonel endokrin hastalarında idrar karnitin ekskresyonundaki artmaya paralel olarak serum karnitin ve lipid konsantrasyonlarında da artma görülmüş. Bununla birlikte uzun dönemde prednizolon tedavisi sonucu adrenal yetersizlik gelişen hastalarda ACTH enjeksiyonu sonucu idrar karnitin ekskresyonunda ve buna paralel olarak da serum karnitin ve lipid seviyelerinde artış olmadığı gözlenmiştir. Karnitin seviyelerindeki artış özellikle ilaç uygulandıktan sonraki 1.günde pik yapıp 3.günde normal seviyesine gerilediği görülmüştür. Bu sonucun ACTH'nın direk karnitin üzerindeki etkisine veya lipolizi stimüle etmesine bağlı olabileceği belirtilmiştir (16).

Çalışmamızda idrar karnitin konsantrasyonları değerlendirildiğinde 30 gün steroid alan grupta en yüksek konsantrasyonda tespit edildi. Buna rağmen steroid alan ve almayan gruplar arasında istatistiksel bir farklılık izlenmedi.

Maebashi ve ark.'nın (26) çalışmasında ACTH verilen gruplardaki karnitin değerlerinin artması çalışmamızda tespit edilmedi. Bizim gruplarımızın hipofonksiyonel endokrin hastalığı yoktu ve biz steroid vermemize rağmen bu çalışmada ACTH verilmişti. Bunların sonuçlar arası farkların nedenleri olabileceğini düşünmekteyiz. Ayrıca, plazmaya göre idrar karnitin konsantrasyonu büyük değişiklikler göstermektedir. İdrar karnitini egzersiz, açlık, obezite ve menstrüel siklus gibi pek çok faktörden etkilenmektedir (27). Çalışmamızda sıçanların kullanılması ile Maebashi ve ark. çalışmasında insan deneklerin kullanılması en önemli farkı oluşturduğunu düşünmekteyiz.

Sonuç olarak steroidlerin karnitin metabolizmasına etkileriyle ilgili yapılan çalışmalar az sayıda ve tartışmalı sonuçlara sahiptir. Net olarak değerlendirmenin yapılabilmesi için daha geniş çalışmalara ihtiyaç vardır.

## The Effect of Steroid Treatment on Carnitine Levels

### Abstract

*Carnitine deficiency causes fatty liver and progressive muscle weakness. We evaluated the effect of long-term prednisolone treatment on free carnitine concentrations in body fluids and tissues. The female Wistar Albino rats were used in the study and were divided into four groups. Prednisolone was administered (2 mg/kg/d) orally for 15 days and 30 days to group I (n=8) and group III (n=9), respectively. Placebo was administered orally for 15 days and 30 days to group II (n=8) and group IV (n=10), respectively. Blood samples were obtained from abdominal aorta on day 15 in groups I and II, on day 30 in groups III and IV. Liver, heart muscle and skeletal muscle samples were also obtained on day 15 in groups I and II, on day 30 in groups III and IV following decapitation. Free carnitine concentrations of urine, serum, heart muscle, skeletal muscle were similar in all four groups ( $p>0.05$ ). However, the free carnitine concentrations of liver in group I were significantly reduced as compared with groups II and III ( $p<0.05$ ). The findings suggest that the long term prednisolone treatment reduced free carnitine concentration of liver tissue in early period of the treatment and this effect of prednisolone abolished in late period of treatment.*

**Key words:** Carnitine, Steroid treatment, Rat, Prednisolon

### Kaynaklar

1. Little TJ, Feinle-Bisset C. Oral and gastrointestinal sensing of dietary fat and appetite regulation in humans: modification by diet and obesity. *Front Neurosci* 2010; 4:178.
2. Bell FP, Vidmar TJ, Raymond TL. L-carnitine administration and withdrawal affect plasma and hepatic carnitine concentrations, plasma lipid and lipoprotein composition, and in vitro hepatic lipogenesis from labeled mevalonate in normal rabbits. *J Nutr* 1992; 122:959-966.
3. Bremer J. Carnitine--metabolism and functions. *Physiol Rev* 1983; 63:1420-1480.
4. Chavez GA, Hernandez IM, Ollarve CF. Myocardial protection by L-carnitine in children treated with adriamycin. *Rev Lat Cardiol* 1997; 18:208-214.
5. Akkuş A, Aydınuraz K, Daphan C ve ark. Effect of carnitine on cutaneous wound healing in immunosuppressed rats. *J Surg Res* 2009; 155:301-305.

6. Zhang W, Miao J, Zhang G, et al. Muscle carnitine deficiency: adult onset lipid storage myopathy with sensory neuropathy. *Neurol Sci* 2010; 31:61-64.
7. Di Mauro S, Hays AP, Bonilla E. Myopathies In: Rudolph A M (ed), *Rudolph's Pediatrics*. Appleton & Lange, Norwalk 1987 pp 1803-1813.
8. Cassidy JT, Petty RS. *Textbook of Pediatric Rheumatology* (3 nd ed). W.B. Saunders Company, Philadelphia 1995, pp 323-364.
9. Seccombe DW, Dodek P, Frohlich J, et al. Automated Method for L-Carnitine Determination. *Clin Chem* 1976; 22:1589-1592.
10. Shihabi ZK, Oles KS, McCormick CP, Penry JK. Serum and Tissue Carnitine Assay Based on Dialysis. *Clin Chem* 1992; 38:1414-1417.
11. Harper P, Wadström C, Cederblad G. Carnitine Measurements in Liver, Muscle Tissue and Blood in Normal Subjects. *Clin Chem* 1993; 39:592-599.
12. Andersson PB, Goodkin DE. Glucocorticosteroid therapy for multiple sclerosis: a critical review. *J Neurol Sci* 1998; 160:16-25.
13. Seene T, Umnova M, Alev K, Pehme A. Effect of glucocorticoids on contractile apparatus of rat skeletal muscle. *J Steroid Biochem* 1988; 29:313-317.
14. Kelly FJ, McGrath JA, Goldspink DF, Cullen MJ. A morphological/biochemical study on the actions of corticosteroids on rat skeletal muscle. *Muscle Nerve* 1986; 9:1-10.
15. Friend DR. Review article: issues in oral administration of locally acting glucocorticosteroids for treatment of inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 1998; 12:591-603.
16. Guder WG, Wagner S. The role of the kidney in carnitine metabolism. *J Clin Chem Clin Biochem* 1990; 28:347-350.
17. Laforet P, Vianey-Saban C. Disorder of muscle lipid metabolism: diagnostic and therapeutic challenges. *Neuromuscul Disord* 2010; 20:693-700.
18. Brady PS, Brady LJ. Regulation of carnitine palmitoyltransferase in vivo by insulin and glucagon. *Biochem J* 1989; 258:677-682.
19. Weinstein I, Cook GA, Heimberg M. Regulation by oestrogen of carnitine palmitoyltransferase in hepatic mitochondria. *Biochem J* 1986 15; 237:593-596.
20. Benvenga S, Lakshmanan M, Trimarchi F. Carnitine is a naturally occurring inhibitor of thyroid hormone nuclear uptake. *Thyroid* 2000; 10:1043-1050.
21. Pastoris O, Dossena M, Foppa P, et al. Effect of L-carnitine on myocardial metabolism: results of a balanced, placebo-controlled, double-blind study in patients undergoing open heart surgery. *Pharmacol Res* 1998; 37:115-122.
22. French TJ, Good AW, Palmer TN, Sugden MC. Effect of dexamethasone on carnitine methabolism in liver and extrahepatic tissues. *Biosci Rep* 1985; 5:729-734.
23. Molstad P, Bohmer T. Transport of L Carnitine induced of the therapeutic effect of glucocorticoids in muscular carnitine deficiency syndrome. *Biochim Biophys Acta* 1979; 58: 94-99.
24. Guzmán M, Saborido A, Castro J, Molano F, Megias A. Treatment with anabolic steroids increases the activity of the mitochondrial outer carnitine palmitoyltransferase in rat liver and fast-twitch muscle. *Biochem Pharmacol* 1991; 41:833-835.
25. Arakawa N, Ha TY, Otsuka M. An improved high-performance liquid chromatographic assay for the determination of free and esterified carnitine in animal tissues. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 1989; 35:475-479.
26. Maebashi M, Kawamura N, Sato M, Yoshinaga K, Suzuki M, Urinary excretion of carnitine in man. *Lab Clin Med* 1976; 87:260-266.
27. Cinas P. Glukokortikoid kullanımı ve yan etkileri. VI. Ulusal Pediatrik Endokrinoloji Kongresi (Tebliğler). Üniversite Matbaası, Kayseri 2001, ss 53-58.