

**Diyabetik Sıçan Böbrek ve Karaciğer Dokularında Karnozinin Tedavi Edici****Etkilerinin DNA Hasarı Açısından Değerlendirilmesi****Evaluation of the Therapeutic Effects of Carnosine in Terms of DNA Damage in****Diabetic Rat Kidney and Liver Tissues**

Esra BALCIOĞLU<sup>1</sup>  Münevver BARAN<sup>2</sup>  Fazile CANTÜRK TAN<sup>3</sup>  Tuba ÖZKUL<sup>4</sup> 

Arzu YAY<sup>1</sup>  Menekşe ÜLGER<sup>1</sup>  Betül YALÇIN<sup>1</sup>  Demet BOLAT<sup>1</sup> 

**ÖZ**

**Amaç:** Diyabetes mellitus, insülin salgısının göreceli eksikliği veya dokuların insüline duyarlılığındaki azalmaya bağlı meydana gelen metabolik bir sendromdur. Oksidatif stresin diyabete bağlı komplikasyonların patofizyolojisinde rol oynadığı ve DNA hasarına neden olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada diyabetin böbrek ve karaciğer dokularında meydana getirdiği DNA hasarına karşı karnozinin tedavi edici etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

**Araçlar ve Yöntem:** 32 tane Sprague Dawley cinsi sıçan; kontrol, streptozotosin (STZ), karnozin ve STZ+karnozin grubu olmak üzere 4 gruba ayrıldı. 16 sıçana 50 mg/kg STZ intraperitoneal (ip) olarak uygulandı. STZ uygulamasından sonraki 3. günde hayvanların kan şekeri seviyesi ölçüldü ve 250 mg/dL'nin üzerindeki diyabet olarak kabul edildi. Diyabetli sıçanlardan 8'ine 10 gün süreyle karnozin uygulandı. Düzenli aralıklarla kan şekeri seviyeleri ve vücut ağırlıkları ölçüldü. Dekapitasyon sonrası elde edilen karaciğer ve böbrek dokularında Comet Assay yöntemi ile DNA hasarı belirlendi.

**Bulgular:** STZ grubunda vücut ağırlığında azalma ve kan glikoz düzeylerinde artış meydana geldiği tespit edildi. Comet Assay yöntemi sonuçlarına göre STZ grubunun böbrek ve karaciğer dokularında DNA hasarında artış, STZ+karnozin grubunda ise DNA hasarında azalma meydana geldiği belirlendi.

**Sonuç:** Antioksidan olarak kullanılan karnozinin böbrek ve karaciğer dokusunda diyabetin neden olduğu DNA hasarının azalmasına katkı sağladığı sonucuna varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** comet assay; diyabetes mellitus; DNA hasarı; karnozin; streptozotosin

**ABSTRACT**

**Purpose:** Diabetes mellitus is a metabolic syndrome due to a relative deficiency of insulin secretion or a decrease in the sensitivity of tissues to insulin. It is known that oxidative stress plays a role in the pathophysiology of diabetes-related complications and causes DNA damage. In this study, it was aimed to examine the therapeutic effect of carnosine on DNA damage caused by diabetes on kidney and liver tissues.

**Materials and Methods:** 32 Sprague Dawley rats were divided into 4 groups as control, streptozotocin (STZ), carnosine and STZ+carnosine. 50 mg/kg STZ was administered intraperitoneally to 16 rats. On the 3rd day after STZ administration, the blood sugar level of the animals was measured and those above 250 mg/dL were considered as diabetes. Carnosine was administered to 8 rats that were considered to have diabetes for 10 days. Blood glucose levels and body weights were measured at regular intervals. After decapitation, DNA damage was determined by Comet Assay method in obtained liver and kidney tissues.

**Results:** It was determined that there was a decrease in body weight and an increase in blood glucose levels in the STZ group. According to the results of the Comet Assay method, it was determined that there was an increase in DNA damage in kidney and liver tissues of the STZ group, and a decrease in DNA damage in the STZ+carnosine group.

**Conclusion:** It was concluded that carnosine used as an antioxidant contributes to the reduction of DNA damage caused by diabetes in kidney and liver tissue.

**Keywords:** comet assay; diabetes mellitus; DNA damage; carnosine; streptozotocin

Gönderilme tarihi: 06.09.2021; Kabul edilme tarihi: 14.03.2022

<sup>1</sup> Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD, Kayseri, Türkiye.

<sup>2</sup> Erciyes Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Temel Eczacılık Bilimleri, Kayseri, Türkiye.

<sup>3</sup> Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyofizik AD, Kayseri, Türkiye.

<sup>4</sup> Erciyes Üniversitesi, Halil Bayraktar S.H.M.Y.O. Elektronöfiziyojoloji Programı, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler, Kayseri, Türkiye.

Sorumlu Yazar: Esra Balcioğlu, Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD, Kayseri, Türkiye. e-posta: esrabalcioğlu79@hotmail.com

**Makaleye atf için:** Balcioğlu E, Baran M, Cantürk Tan F, Özkul T, Yay A, Ülger M, Yalçın B, Bolat D. Diyabetik sıçan böbrek ve karaciğer dokularında karnozinin tedavi edici etkilerinin DNA hasarı açısından değerlendirilmesi. Ahi Evran Med J. 2022;6(3):248-254. DOI: 10.46332/aemj.991916

## GİRİŞ

Diyabetes mellitus (DM), insülin eksikliği veya insülin direnci sonucu gelişip hiperglisemi ve glikozüriyle kendini gösteren, kronik ve akut komplikasyonlara neden olabilen endokrin bir hastalıktır.<sup>1</sup> Diyabetin neden olduğu komplikasyonların ortaya çıkmasında en önemli etken olarak serbest radikal oluşumuyla antioksidan savunma mekanizması arasındaki dengesizlik sonucu oluşan oksidatif stres gösterilmektedir.<sup>2</sup> Deneysel diyabet modelinin oluşturulmasında sıklıkla kullanılan streptozotosinin (STZ) etkilediği bölgelerden biri de nükleer DNA'dır. Streptozotosinin hücre içindeki dekompozisyonu ile meydana gelen reaktif karbonyum iyonları DNA bazlarında alkilasyona neden olur. Sonuç olarak STZ pankreasın  $\beta$  hücrelerinde hasar meydana getirerek insüline bağımlı ve insülden bağımsız diyabete neden olmaktadır.<sup>3,4</sup> Bu da pankreası serbest oksijen radikal hasarına daha açık hale getirmektedir.<sup>4</sup>

Antioksidanların oksidatif stresin oluşumunu engelleyebileceği ile ilgili yapılan çalışmalara gün geçtikçe hız kazanmaktadır. Reaktif oksijen türleri tarafından hücrelerde hasara neden olan oluşumlar antioksidanlarla engellenerek hücre, doku ve organlardaki savunma sistemleri desteklenmektedir.<sup>5</sup> Karnozin, serbest oksijen radikallerini etkisiz hale getirdiğinden dolayı kuvvetli antioksidan özelliğe sahip bir maddedir. Aynı zamanda literatürde karnozinin, NO üretimini artırıcı etkisi olduğunu gösteren bazı çalışmalar da bulunmaktadır. Karnozinin, bu etkisini NOS üretimini tetikleyerek gösterdiği düşünülmektedir.<sup>6</sup> Antioksidan özelliğe sahip olan karnozinin, oksidatif stres hasarına karşı hücrelerdeki koruyucu etkilerine ilaveten, yapılan hücre kültürü çalışmalarında hücrelerin yaşam süresini uzattığı, yaşlı hücreleri gençleştirdiği, proteinlerin ve DNA'nın glikasyonunu inhibe ettiği ve hücresel homeostazisin korunmasında etkili olduğu belirlenmiştir.<sup>6</sup> Aynı zamanda karnozinin, diyabette oluşan oksidatif hasara karşı koruyucu etkisi olduğu da ifade edilmektedir.<sup>7-9</sup> Karnozinin diyabette lipid peroksidasyonunu azaltıcı bir molekül olarak görev yapabildiği, katalaz aktivitesini anlamlı olarak artırdığı ve MDA seviyelerini de azalttığı gözlenmiştir.<sup>10</sup>

Literatürde karnozinin antioksidan özelliğini belirlemek için yapılan çalışmalar bulunmasına rağmen, biyolojik et-

kileri hakkındaki tartışmalar devam etmektedir. Bu çalışmanın amacı; karnozinin antioksidan özelliğinden yararlanarak diyabetin karaciğer ve böbrek dokularında meydana getireceği DNA hasarı üzerine olumlu etkisi olup olmadığını araştırmaktır.

## ARAÇLAR ve YÖNTEM

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Deneysel Hayvanları Etik Kurul Başkanlığının 07.11.2019 tarih ve 19/210 nolu Etik Kurul onayı doğrultusunda planlandı ve uygulandı. Çalışmada, 32 adet Sprague Dawley cinsi (200-250 g) erkek sıçan kullanıldı. Araştırma süresince sıçanlar 19-21 °C sabit sıcaklıkta ve uygun laboratuvar koşullarında (12 saat aydınlık/karanlık), standart ve otomatik olarak klimatize edilen odalarda plastik kafeslerde barındırıldı. Deneysel boyunca sıçanlar günlük içme suyu ve pelet yemle beslendi. Deneysel başlangıcında sıçanların vücut ağırlıkları ölçülerek rastgele 4 gruba ayrıldı.

Kontrol grubuna; deney süresince intraperitoneal olarak serum fizyolojik uygulaması yapıldı. STZ grubuna; 0.1 M sitrat tamponu (pH:4.5) içerisinde hazırlanmış Streptozotosin (50 mg/kg, ip) uygulaması yapıldı.<sup>11</sup> STZ+Karnozin grubuna; 0.1 M sitrat tamponu (pH:4.5) içerisinde hazırlanmış Streptozotosin (50 mg/kg, ip) uygulaması+10 gün süreyle 10 mg/kg karnozin (ip) uygulaması yapıldı. Karnozin grubuna; On gün boyunca 10 mg/kg<sup>12</sup> karnozin uygulaması yapıldı. Deneysel sonunda sıçanlar Xylasin+Ketamin (10 mg/kg+75 mg/kg, ip) ile anestezi altına alınarak doku örnekleri çıkarıldı.

## Kan Şeker Düzeylerinin Belirlenmesi

Sıçanlara herhangi bir madde uygulaması yapılmadan önce kuyruk veninden kan örnekleri alınarak glikometre ile ölçülüp kan glikoz seviyeleri belirlendi. Aynı gün 0.1 M sitrat tamponu (pH:4.5) içerisinde hazırlanmış STZ (50 mg/kg) enjeksiyonu yapıldı. STZ enjeksiyonundan 72 saat sonra sıçanların kan glikoz düzeyleri ölçülerek, 250 mg/dL'nin üzerinde olanlar diyabetli olarak kabul edildi.<sup>6</sup> Deneysel başladığı gün ile karnozin uygulamalarının 1., 5. ve 10. gününde olmak üzere kan glikoz düzeyleri ve vücut ağırlıkları toplam 4 kez ölçüldü.

### Doku DNA Hasarının Değerlendirilmesi

Böbrek ve karaciğer dokusu DNA hasarı, tek hücre düzeyinde Comet assay kullanılarak araştırıldı. Comet assay nötral şartlar altında uygulandı.<sup>13</sup> Floresan mikroskop (Olympus, BX51, Tokyo, Japonya) kullanılarak 200x büyütmede görüntüler alındı. Her gruptan rastgele seçilen 50 hücrenin görüntüsü, Comet Assay Software Project (CASP-1.2.2/Windows 2010) kullanılarak analiz edildi. DNA hasarının miktarını hesaplamak için yedi parametre (baş, kuyruk ve comet uzunluğu, baş DNA, kuyruk DNA, kuyruk momenti ve olive kuyruk momenti) kullanıldı. DNA hasarı, böbrek ve karaciğer hücrelerinin çekirdeklerinden göç eden ve kuyruklu yıldız neden olan parçalanmış DNA tarafından tespit edildi. Kuyruklu yıldız neden olmayan çekirdekler hasarsız olarak değerlendirildi.<sup>14</sup>

### İstatistiksel Analiz

İstatistiksel verilerin analizi SPSS 22 (Statistical Package for the Social Sciences) yazılım programı kullanılarak sayısal değişkenlerin normal dağılımı Shapiro-Wilk testi ile değerlendirildi. Gruplar arası karşılaştırmalar; normal dağılım gösteren değişkenlerde Tek Yönlü Varyans Analiziyle, fark olması halinde ise çoklu karşılaştırmalar Tukey

testiyle yapıldı. Normal dağılım göstermeyen değişkenlerde gruplar arası karşılaştırmalar Kruskal-Wallis Analiziyle yapıldı. Ortaya çıkan farkın hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek için de Dunn testi yapıldı.  $p < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

### BULGULAR

Kontrol ve deney gruplarının vücut ağırlığı bulgularının istatistiksel karşılaştırması Tablo 1'de sunulmuştur. Ortalama vücut ağırlıkları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde; deney başlangıcında ( $p=0.608$ ) ve karnozin uygulamasının 1. gününde vücut ağırlıkları açısından kontrol ve deney grupları arasında anlamlılık düzeyinde fark olmadığı tespit edilmiştir ( $p=0.142$ ). Karnozin uygulamasının 5. gününde ortalama vücut ağırlıkları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde; kontrol grubu ile karnozin ve STZ+karnozin grupları arasında anlamlı fark olmadığı, ancak kontrol grubu ve STZ grubu arasında anlamlı fark olduğu tespit edilmiştir ( $p < 0.001$ ). Karnozin uygulamasının 10. gününde ortalama vücut ağırlıkları tüm gruplar için istatistiksel olarak değerlendirildiğinde; tek farkın kontrol ile STZ grupları arasında olduğu belirlenmiştir ( $p < 0.001$ ).

**Tablo 1.** Kontrol ve deney gruplarına ait vücut ağırlıkları ve kan glikoz düzeyi.

Ölçüm günleri	Kontrol Ortalama±SD	STZ Ortalama±SD	Karnozin Ortalama±SD	STZ+Karnozin Ortalama±SD	p	
Vücut ağırlığı	Deney başlangıcında	273.13±25.47 <sup>a</sup>	257.13±17.91 <sup>a</sup>	268.50±43.57 <sup>a</sup>	281.88±51.16 <sup>a</sup>	.608
	Karnozin uygulamasının 1. günü	276.50±34.45 <sup>a</sup>	246.13±36.93 <sup>a</sup>	264.13±16.81 <sup>a</sup>	272.00±9.27 <sup>a</sup>	.142
	Karnozin uygulamasının 5. günü	282.75±38.75 <sup>a</sup>	236.13±14.74 <sup>b</sup>	270.00±12.43 <sup>a</sup>	257.50±20.50 <sup>ab</sup>	<0.001
	Karnozin uygulamasının 10. günü	284.25±30.59 <sup>a</sup>	253.00±17.32 <sup>b</sup>	269.13±15.36 <sup>ab</sup>	263.88±19.09 <sup>ab</sup>	<0.001
Kan glikoz düzeyi	Deney başlangıcında	111.50±16.69 <sup>a</sup>	112.25±27.21 <sup>a</sup>	117.88±21.29 <sup>a</sup>	115.88±18.86 <sup>a</sup>	.923
	Karnozin uygulamasının 1. günü	127.00±25.43 <sup>a</sup>	459.50±93.96 <sup>b</sup>	120.88±29.52 <sup>a</sup>	309.25±80.77 <sup>c</sup>	<0.001
	Karnozin uygulamasının 5. günü	132.38±17.53 <sup>a</sup>	752.00±95.71 <sup>b</sup>	128.13±23.94 <sup>a</sup>	364.00±71.02 <sup>c</sup>	<0.001
	Karnozin uygulamasının 10. günü	137.50±22.89 <sup>a</sup>	637.25±84.67 <sup>b</sup>	120.50±26.21 <sup>a</sup>	469.13±77.99 <sup>c</sup>	<0.001

Aynı satırda yer alan aynı harfler gruplar arası benzerliği, farklı harfler farklılığı ifade etmektedir.

Tüm gruplara ait kan glikoz düzeylerine bakıldığında diyabetik gruplardaki sıçanların kan glikoz düzeylerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılık seviyesinde yükseldiği ( $p < 0.001$ ) saptanmıştır (Tablo 1). Deney başlangıcında ortalama kan glikoz düzeyleri istatistiksel

olarak değerlendirildiğinde; kontrol ve deney grupları arasında anlamlı fark olmadığı tespit edilmiştir ( $p=0.923$ ). Karnozin uygulamasının 1., 5. ve 10. gününde ortalama kan glikoz düzeyleri istatistiksel olarak değerlendirildiğinde; kontrol ve karnozin grupları arasında anlamlı bir fark olmadığı, fakat kontrol grubuyla kıyaslandığında STZ

ve STZ+karnozin grupları arasında anlamlı fark olduğu gözlenmiştir ( $p<0.001$ ). İlâveten STZ+karnozin grubunda ortalama kan glikoz düzeyinin STZ grubuna göre istatistiksel olarak da anlamlılık seviyesinde farklı olduğu tespit edilmiştir ( $p<0.001$ ) (Tablo 1).

Çalışma sonunda sıçanlardan alınan böbrek (Şekil 1) ve karaciğer (Şekil 2) doku örneklerinde DNA hasar düzeyleri nötral comet yöntemiyle belirlendi.

Kontrol ve deney gruplarında DNA hasarını tayin ettiğimiz çalışmamızda, kontrol ve deney gruplarında, kontrol grubuna göre STZ grubunun comet parametrelerinin anlamlı bir şekilde yüksek olduğu görüldü. STZ grubuyla, karnozin ve STZ+karnozin grupları karşılaştırıldığında, antioksidan olarak karnozin uygulanan gruplarda comet parametreleri daha düşüktü (Tablo 2 ve 3).

**Tablo 2.** Böbrek dokusuna ait comet assay sonuçları.

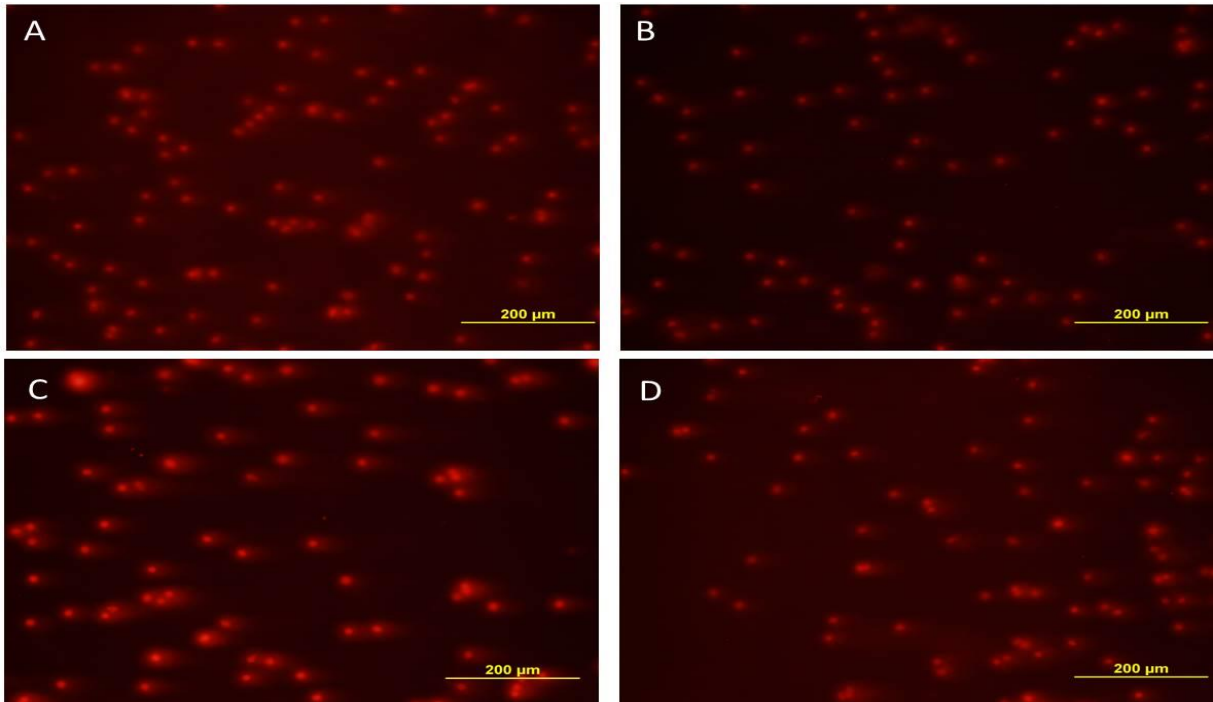
Ölçüm Bölgeleri	Kontrol Ortalama±SD	Karnozin Ortalama±SD	STZ Ortalama±SD	STZ+Karnozin Ortalama±SD	p
Baş uzunluğu (µm)	118.08±15.67 <sup>a</sup>	134.76±13.54 <sup>b</sup>	132.16±18.33 <sup>b</sup>	131.72±22.02 <sup>b</sup>	<0.001
Kuyruk uzunluğu (µm)	17.54±8.29 <sup>a</sup>	44.54±11.59 <sup>b</sup>	87.60±16.82 <sup>c</sup>	61.78±15.13 <sup>d</sup>	<0.001
Comet uzunluğu (µm)	135.60±17.02 <sup>a</sup>	179.30±21.68 <sup>b</sup>	219.76±27.24 <sup>c</sup>	193.50±29.78 <sup>d</sup>	<0.001
Baş DNA (%)	95.54±1.29 <sup>a</sup>	92.52±1.81 <sup>b</sup>	82.32±1.64 <sup>c</sup>	90.46±1.47 <sup>d</sup>	<0.001
Kuyruk DNA (%)	4.46±1.29 <sup>a</sup>	7.48±1.81 <sup>b</sup>	17.68±1.64 <sup>c</sup>	9.54±1.47 <sup>d</sup>	<0.001
Kuyruk momenti	1.16±0.37 <sup>a</sup>	3.50±1.46 <sup>b</sup>	15.48±4.00 <sup>c</sup>	6.64±3.04 <sup>d</sup>	<0.001
Olive kuyruk momenti	2.64±1.04 <sup>a</sup>	5.00±1.61 <sup>b</sup>	13.68±3.51 <sup>c</sup>	7.68±4.73 <sup>d</sup>	<0.001

Aynı satırda yer alan aynı harfler gruplar arası benzerliği, farklı harfler farklılığı ifade etmektedir.

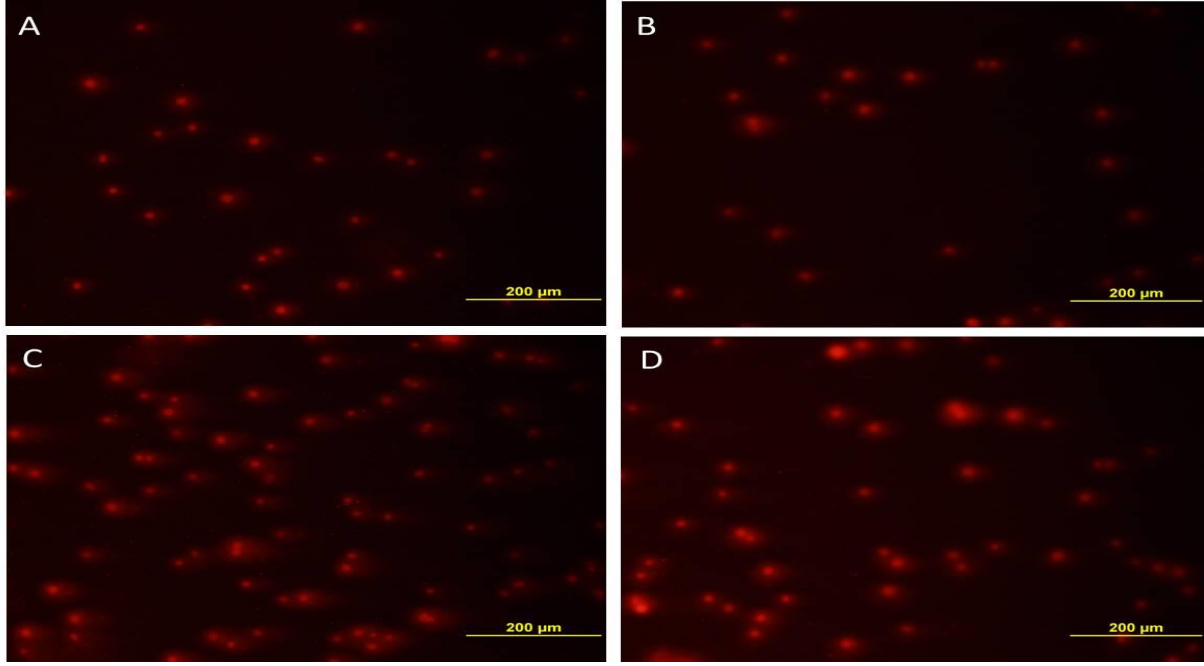
**Tablo 3.** Karaciğer dokusuna ait comet assay sonuçları.

Ölçüm Bölgeleri	Kontrol Ortalama±SD	Karnozin Ortalama±SD	STZ Ortalama±SD	STZ+Karnozin Ortalama±SD	p
Baş uzunluğu (µm)	131.40±19.93 <sup>a</sup>	136.76±22.09 <sup>ab</sup>	146.04±20.41 <sup>b</sup>	139.68±17.37 <sup>a</sup>	.004
Kuyruk uzunluğu (µm)	29.18±7.95 <sup>a</sup>	57.58±17.24 <sup>b</sup>	84.90±17.10 <sup>c</sup>	58.96±12.09 <sup>b</sup>	<0.001
Comet uzunluğu (µm)	160.58±24.40 <sup>a</sup>	194.34±25.43 <sup>b</sup>	230.94±27.11 <sup>c</sup>	198.64±19.99 <sup>b</sup>	<0.001
Baş DNA (%)	96.20±0.90 <sup>a</sup>	92.46±1.96 <sup>b</sup>	85.34±2.24 <sup>c</sup>	90.40±1.52 <sup>d</sup>	<0.001
Kuyruk DNA (%)	3.80±0.90 <sup>a</sup>	7.36±2.13 <sup>b</sup>	14.66±2.24 <sup>c</sup>	9.62±1.49 <sup>d</sup>	<0.001
Kuyruk momenti	1.34±0.47 <sup>a</sup>	6.16±3.17 <sup>b</sup>	12.58±4.47 <sup>c</sup>	5.74±1.98 <sup>b</sup>	<0.001
Olive kuyruk momenti	2.42±0.90 <sup>a</sup>	7.46±2.74 <sup>b</sup>	12.50±3.14 <sup>c</sup>	7.38±1.53 <sup>b</sup>	<0.001

Aynı satırda yer alan aynı harfler gruplar arası benzerliği, farklı harfler farklılığı ifade etmektedir.



**Şekil 1.** Böbrek doku hücrelerine ait comet resimleri ve değerleri **A)** Kontrol tail DNA %4.46, **B)** Karnozin tail DNA %7.48, **C)** STZ tail DNA % 17.68, **D)** STZ+ Karnozin tail DNA % 9.54.



**Şekil 2.** Karaciğer doku hücrelerine ait comet resimleri ve değerleri **A)**Kontrol tail DNA % 3.8, **B)** Karnozin tail DNA % 7.36, **C)** STZ tail DNA % 14.66, **D)** STZ+ Karnozin tail DNA % 9.62.

Böbrek dokusuna ait baş uzunluğu parametresi istatistiksel olarak değerlendirildiğinde; kontrol grubu ile karnozin, STZ ve STZ+karnozin grupları arasında anlamlı fark olduğu belirlendi ( $p<0.001$ ). Kuyruk ve comet uzunluğu, baş DNA, kuyruk DNA, kuyruk ve olive kuyruk momenti bakımından elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde; kontrol, karnozin, STZ ve STZ+karnozin grupları arasında anlamlı fark olduğu tespit edildi ( $p<0.001$ ).

Karaciğer dokusuna ait baş uzunluğu parametresi istatistiksel olarak değerlendirildiğinde; en yüksek DNA hasarının STZ grubuna ait olduğu belirlendi. STZ grubundaki bu artış kontrol ve STZ+karnozin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılık seviyesindeydi ( $p<0.001$ ). Comet assay yöntemiyle baş ve kuyruk DNA ölçümlerinden elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde; kontrol, karnozin, STZ ve STZ+karnozin grupları arasında anlamlı fark olduğu tespit edildi ( $p<0.001$ ). Ayrıca kuyruk ve comet uzunluğu, kuyruk ve olive kuyruk momenti açısından elde edilen veriler değerlendirildiğinde de; kontrol, STZ ve karnozin grupları arasında anlamlı fark olduğu belirlendi ( $p<0.001$ ). Ancak yapılan analiz sonucunda elde edilen veriler açısından karnozin ve STZ+karnozin grupları arasında anlamlı farklılık gözlenmedi.

## TARTIŞMA

Diyabetes mellitus, pankreasın salgıladığı insülin hormonunun yetersizliği veya etkisizliği nedeniyle oluşan, karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasındaki değişiklikleri içeren, hiperglisemiyle karakterize, mortalitesi ve morbiditesi yüksek metabolik bir hastalıktır.<sup>15</sup> Diyabetik sıçanlarda hiperglisemi,<sup>16,17</sup> polidipsi, poliüri ve canlı vücut ağırlığında azalma meydana geldiği bildirilmiştir.<sup>18</sup> STZ ile deneysel diyabet oluşturulan sıçanların ağırlıklarının ilerleyen günlerle birlikte anlamlı bir şekilde azaldığı yapılan çalışmalarda da bildirilmiştir.<sup>19-22</sup> Bu çalışmada da, STZ grubunda ortalama vücut ağırlığında azalma meydana geldiği belirlendi. Elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde 5. günde STZ grubuyla kontrol ve karnozin grupları arasında, 10. günde ise STZ grubu ile sadece kontrol grubu arasında anlamlılık seviyesinde fark olduğu belirlendi. Bununla birlikte vücut ağırlığı değerlendirildiğinde kontrol ve karnozin grupları arasında anlamlı fark olmadığı tespit edildi. Böylece karnozin uygulamasının diyabetli sıçanların canlı vücut ağırlığını yükselttiği ve diyabetin lipolitik ve proteolitik etkilerine karşı koruyucu olabileceği düşünüldü.

Literatürde deneysel diyabet modelinin oluşturulmasında kullanılan STZ'nin sitotoksik etkiye sahip olduğu ve pankreatik  $\beta$  hücrelerine karşı spesifik toksisite göstererek  $\beta$  hücrelerinde deformasyona neden olduğu,<sup>23</sup> bunun sonucu

olarak da glikoz oksidasyonunun bozulduğu, insülin sentezinde ve salgılanmasında azalma meydana geldiği bildirilmiştir.<sup>24</sup>

Literatürde yer alan deneysel diyabet çalışmalarında kan glikoz düzeyinde artış meydana geldiği bildirilmiştir.<sup>25-29</sup> Mevcut çalışmada da, deney başlangıcından bitimine kadar geçen tüm süreç içerisinde STZ ve STZ+karnozin gruplarında kan glikoz seviyesinde artışın devam ettiği belirlendi. Ancak antioksidan olarak kullanılan karnozinin STZ+karnozin grubunda kan glikoz düzeyini düşürdüğü, bu düşüşün STZ grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi.

DNA kolaylıkla zarar görebilen bir moleküldür ve günde yaklaşık olarak on bin defa serbest radikal saldırısına maruz kalmaktadır. DNA'yı hedef alan serbest radikal saldırıları, hücre ölümlerine ve mutasyonlara neden olmaktadır.<sup>30</sup> Hidroksil radikalleri çoğunlukla bazlar ve deoksiribozlarla reaksiyona girerken, hidrojen peroksit membranlardan geçip çekirdeğin DNA'sına ulaşarak hücre disfonksiyonuna ve ölümüne neden olabilmektedir.<sup>31</sup> Diyabetes mellitusta ilerlemiş glikozillenme ürünlerinin DNA'yı etkilemesi sonucunda, DNA zincirinde kırılmalar, kromozomal değişiklikler, DNA'nın replikasyonunda, tamirinde ve transkripsiyonunda bozukluklar oluşmaktadır.<sup>32</sup> Kushwaha ve arkadaşları<sup>33</sup> streptozotisine bağlı diyabet oluşturulan sıçanlarda DNA hasarı ve apoptozise karşı enalaprilin koruyucu etkilerini araştırmışlar ve streptozotisin uygulanan DM grubunun karaciğer, kalp ve böbrek dokularında kuyruk uzunluklarının kontrol grubuna göre çok daha fazla olduğunu comet yöntemi ile ortaya koymuşlardır. Ayrıca deneysel hayvan çalışmaları dışında diyabetik hastalara ait DNA hasarının comet yöntemi ile aydınlatıldığı araştırmalarda hasarın artan hiperglisemiye paralel olarak yükseldiği de bildirilmiştir.<sup>34-37</sup>

Antioksidan ajanların, 'pro-oksidan' aktiviteye de sahip olduğu bilinmektedir.<sup>38</sup> Bazı antioksidan ajanların in vitro hidrojen peroksit ürettiği bildirilmiştir.<sup>39</sup> Bu ajanlar sitotoksik olabilir ve DNA zincir kırılmaları ve baz modifikasyonuna sebep olabilir. Bununla birlikte karnozin aracılı koruyucu etkinin kesin moleküler mekanizmaları hala tam olarak bilinmemesine rağmen;<sup>40</sup> mevcut çalışmanın karnozin grubunda, kontrol grubuna kıyasla daha yüksek DNA hasarı olduğu belirlendi. Aynı zamanda karnozinin STZ ile

oluşan DNA hasarını azalttığı da tespit edildi. Bu durumda karnozinin STZ ile oluşan DNA hasarına karşı koruyucu etki oluşturabildiğini ancak kendisinin muhtemelen doz bağımlı DNA hasarı oluşturduğunu söyleyebiliriz. STZ ile diyabet oluşturulan sıçanlarda serbest radikal üretiminde artış meydana geldiği bildirilmiştir. Serbest radikallerde meydana gelen artış antioksidan savunma bileşenlerini azaltarak, hücre fonksiyonlarının bozulmasına ve hücre membranında oksidatif hasarın oluşmasına neden olmaktadır.<sup>41</sup>

Sonuç olarak; karaciğer ve böbrek dokularında diyabete bağlı olarak DNA hasarının meydana geldiği oluşturduğumuz deneysel diyabet modelinde belirlendi. Karnozinin, diyabete bağlı olarak ortaya çıkan böbrek ve karaciğer dokularındaki hasara karşı iyileştirici etki meydana getirdiği, DNA'da oluşan hasarı azaltarak hücre ve dokuları lipid peroksidasyonunun zararlı etkilerinden koruduğu düşünüldü.

#### **Çıkar Beyannamesi**

Herhangi bir çıkar çatışmasının olmadığını yazarlar beyan etmektedirler.

#### **Etik Kurul İzni**

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Deneysel Hayvanları Etik Kurul Başkanlığının 07.11.2019 tarih ve 19/210 nolu Etik Kurul onayı doğrultusunda planlandı ve uygulandı.

#### **Araştırmacıların Katkı Oranı Beyanı**

Ana fikir/Planlama: EB, MB, FCT, TÖ, AY, MÜ, BY, DB. Veri toplama/İşleme: EB, MB, FCT, TÖ, AY, MÜ, BY, DB. Veri analizi ve yorumlama: EB, MB, FCT, TÖ, AY, MÜ, BY, DB. Literatür taraması: EB, MB, FCT, AY. Yazım: EB, AY, MÜ, BY. Gözden geçirme ve düzeltme: EB, AY, MÜ, BY. Danışmanlık: EB.

#### **KAYNAKÇA**

1. Jangir RN, Jain, GC. Diabetes mellitus induced impairment of male reproductive functions: a review. *Curr Diabetes Rev.* 2014;10(3):147-157.
2. Vural H, Sabuncu T, Arslan SO, Aksoy N. Melatonin inhibits lipid peroxidation and stimulates the antioxidant status of diabetic rats. *J Pineal Res.* 2008;31(3): 193-198.
3. Lenzen, S. The mechanisms of alloxan-and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia.* 2008;51(2):216-226.

4. Murata M, Takahashi A, Saito I, Kawanishi S. Site-specific DNA methylation and apoptosis: induction by diabetogenic streptozotocin. *Biochem Pharmacol.* 1999;57(8):881-887.
5. Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem.* 1995;41(12 Pt 2):1819-1828.
6. Yapışlar H, Aydoğan S. Effect of carnosine on erythrocyte deformability in diabetic rats. *Arch Physiol Biochem.* 2012;118(5):265-272.
7. Bakardijiev A, Bauer K. Biosynthesis, release and uptake of carnosine in primary cultures. *Biochemistry.* 2000;65(7):779-782.
8. Boldyrev AA. Problems and perspectives in studying the biological role of carnosine. *Biochemistry.* 2000;65(7):751-756.
9. Brownson C, Hipkiss AR. Carnosine reacts with a glycated protein. *Free Radic Biol Med.* 2000;28(10):1564-1570.
10. Lee Y, Hsu C, Lin M, Liu K, Yin M. Histidine and carnosine delay diabetic deterioration in mice and protect human low density lipoprotein against oxidation and glycation. *Eur J Pharmacol.* 2005;513(1-2):145-150.
11. Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol Res.* 2001;50(6):536-546.
12. Mirzakhani N, Farshid AA, Tamaddofard E, Imani M, Erfanparast A, Noroozina F. Carnosine improves functional recovery and structural regeneration after sciatic nerve crush injury in rats. *Life Sciences.* 2018; 215:22-30.
13. Akdağ MZ, Daşdağ S, Cantürk F, Karabulut D, Caner Y, Adalier N. Does prolonged radiofrequency radiation emitted from Wi-Fi devices induce DNA damage in various tissues of rats? *J Chem Neuroanat.* 2016;75 (Pt B):116-122.
14. Akdağ M, Daşdağ S, Cantürk F, Akdağ MZ. Exposure to non-ionizing electromagnetic fields emitted from mobile phones induced DNA damage in human ear canal hair follicle cells. *Electromagn Biol Med.* 2018;37(2):66-75.
15. Altınova A, Aktürk M, Törüner FB, Arslan M. Type I Diabetes Mellitus and Insulin Resistance. *Review. Türkiye Klinikleri J Med Sci.* 2007;27(2):220-223.
16. Thang J, Kusaka I, Massey A, Rollins S, Zhang J. Increased Rho. A translocation in aorta of diabetic rats. *Acta Pharmacol Sin.* 2006;27(5):543-548.
17. Satav JG, Katyare SS. Effect of STZ induced diabetes on oxidative energy metabolism in rat liver mitochondria. A comparative study of early and late effects. *Indian J Clin Biochem.* 2004;19(2):23-31.
18. Jangir RN, Jain GC. Diabetes mellitus induced impairment of male reproductive functions: a review. *Curr Diabetes Rev.* 2014;10(3):147-157.
19. Cooke DW, Plotnick L. Type 1 diabetes mellitus in pediatrics. *Pediatr Rev.* 2008;29(11):374-384.
20. Ballester J, Muñoz MC, Domínguez J, Rigau T, Guinovart JJ, Rodríguez-Gil JE. Insulin-dependent diabetes affects testicular function by FSH-and LH-linked mechanisms. *J Androl.* 2013;25(5):706-719.
21. Kanter M, Aktas C, Erboga M. Protective effects of quercetin against apoptosis and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rat testis. *Food Chem Toxicol.* 2012;50(3):719-725.
22. Khaki A, Fathiazad F, Nouri M, et al. Beneficial effects of quercetin on sperm parameters in streptozotocin-induced diabetic male rats. *Phytother Res.* 2010; 24(9):1285-1291.
23. Sajedianfard J, Behroozi Z, Nazifi S, Rajaian H. The effect of different oral doses of hydroalcoholic extract of silymarin on the blood oxidative stress indicators in streptozotocin induced diabetic rats. *Int J Pept Res Ther.* 2013;19(2):93-98.
24. Sajedianfard J, Behroozi Z, Nazifi S. The effects of a hydroalcoholic extract of Silymarin on serum lipids profiles in streptozotocin induced diabetic rats. *Comp Clin Pathol.* 2014;23(3):779-784.
25. Wainstein J, Ganz T, Boaz M, et al. Olive leaf extract as a hypoglycemic agent in both human diabetic subjects and in rats. *J Med Food.* 2012;15(7):605-610.
26. Ahmadvand H, Noori A, Dehnoo MG, Bagheri S, Cheraghi RA. Hypoglycemic, hypolipidemic and antiatherogenic effects of oleuropein in alloxan-induced Type 1 diabetic rats. *Asian Pac J Trop Dis.* 2014;4(1):421-425.
27. Liu X, Jiang L, Lei L, et al. Carnosine alleviates diabetic nephropathy by targeting GNMT, a key enzyme mediating renal inflammation and fibrosis. *Clinical Science.* 2020;134(23):3175-3193.
28. Karkabounas S, Papadopoulou N, Anastasiadou C, et al. Effects of  $\alpha$ Lipic Acid, Carnosine and Thiamine Supplementation in Obese Patients with Type 2 Diabetes Mellitus: A Randomized, Double-Blind Study. *J Med Food.* 2018;21(12):1197-1203.
29. Vahdatpour T, Nokhodchi, Zakeri-Mlani P, et al. L-leucine-glycine and carnosine dipeptides prevent diabetes induced by multiple lowdoses of streptozotocin in an experimental model of adult mice. *J. Diabetes Investig.* 2019;10(5):1177-1188.
30. Halliwell B, Dizdaroglu M. The measurement of oxidative damage to DNA by HPLC and GC/MS techniques. *Free Radic Res Commun.* 1992;16(2):75-87.
31. Aruoma OI, Halliwell B, Dizdaroglu M. Iron Ion-Dependent Modification of Bases in DNA by the Superoxide Radical-Generating System Hypoxanthine/Xanthine Oxidase. *J Biol Chem.* 1989;264(22): 13024-13028.
32. Türkmen F, Akkuş İ, Büyükbaş S, ve ark. Diabetes Mellitus'da Biyokimyasal Değişiklikler ve Komplikasyonlar. *Türkiye Klinikleri J Med Sci.* 1990;10(1):1-10.
33. Kushwaha S, Vikram A, Jena GB. Protective effects of enalapril in streptozotocin induced diabetic rat: studies of DNA damage, apoptosis and expression of CCN2 in the heart, kidney and liver. *J Appl Toxicol.* 2011;32(9):662-672.
34. Hannon-Fletcher MP, O'Kane MJ, Moles KW, Weatherup C, Barnett CR, Barnett YA. Levels of peripheral blood cell DNA damage in insulin dependent diabetes mellitus human subjects. *Mutat Res.* 2000;460(1):53-60.
35. Blasiak J, Arabski M, Krupa R, et al. DNA damage and repair in type 2 diabetes mellitus. *Mutat Res.* 2004;554(1-2):297-304.
36. Sliwiska A, Blasiak J, Kasznicki J, Drzewoski J. In vitro effect of glioclazide on DNA damage and repair in patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM). *Chem Biol Interact.* 2008;173(3):159-165.
37. Kasznicki J, Kosmalski M, Sliwiska A, et al. Evaluation of oxidative stress markers in pathogenesis of diabetic neuropathy. *Biol Rep.* 2012;39(9):8669-8678.
38. Szeto YT, Collins AR, Benzie IFF. Effects of dietary antioxidants on DNA damage in lysed cells using a modified comet assay procedure. *Mutat Res.* 2002;500(1-2):31-38.
39. Chai PC, Long LH, Halliwell B. Contribution of hydrogen peroxide to the cytotoxicity of green tea and red wines. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003;304(4):650-654.
40. Peters V, Yard B, Schmitt CP. Carnosine and Diabetic Nephropath. *Curr Med Chem.* 2020;27(11):1801-1812.
41. Baynes JW. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes.* 1991;40(4):405-412.