

Deneysel kolitte L-karnitinin serum paraoksonaz, arilesteraz ve laktonaz aktivitelerine ve oksidatif duruma etkisi

[Effect of L-carnitine on serum paraoxonase, arylesterase and lactonase activities and oxidative status in experimental colitis]

Eray Özgün¹,
Gülben Sayılan Özgün¹,
Sevgi Eskiocak¹,
Ömer Yalçın²,
Selma Süer Gökmen¹

¹Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Edirne
²Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Edirne

Yazışma Adresi
[Correspondence Address]

Eray Özgün

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı
Edirne
Tel. 0 284 235 7641/1617
E-posta. drozgune@hotmail.com

Kayıt Tarihi : 24 Mayıs 2013; Kabul Tarihi : 9 Ocak 2013
[Registered: 24 May 2013; Accepted: 9 January 2013]

ÖZET

Amaç: Oksidatif stres inflamatuvar barsak hastalıklarının patogeneğinde önemli rol oynar. Bu çalışmada, antioksidan L-karnitinin deneysel kolitte, kolonda da sentez edilen paraoksonaz 1 enzim aktivitelerine ve oksidatif duruma etkisini inceledik.

Gereç ve Yöntem: Wistar albino dişi sıçanlar kontrol, kolit, ön tedavi ve tedavi olmak üzere rastgele dört gruba ayrıldı. Kolit oluşturmak için kolit, tedavi ve ön tedavi gruplarına tek doz 1 mL asetik asit (%4) intrarektal olarak uygulandı. Ön tedavi grubuna kolit oluşturulmadan 1 saat önce, tedavi grubuna ise kolit oluşturulduktan 24 saat sonra 500 mg/kg L-karnitin tek doz halinde intraperitoneal olarak verildi. Tüm gruplar intrarektal uygulamadan 48 saat sonra sakrifiye edildi. Kolit varlığı histopatolojik olarak gösterildi. Serumda paraoksonaz, arilesteraz ve laktonaz aktiviteleri, total oksidan ve antioksidan durum, malondialdehit ve total sialik asit ölçüldü. Oksidatif stres indeksi formülden hesaplandı.

Bulgular: Asetik asitle kolit oluşturulan grupta serum malondialdehit, total sialik asit, total oksidan durum ve oksidatif stres indeksi anlamlı olarak artarken, paraoksonaz, arilesteraz ve laktonaz aktiviteleri ve total antioksidan durum anlamlı olarak azaldı. L-Karnitin malondialdehit, total sialik asit, total oksidan durum ve oksidatif stres indeksinde anlamlı bir azalmaya yol açarken, sadece tedavi grubunun serum arilesteraz ve laktonaz aktivitelerinde anlamlı bir artışa yol açtı.

Sonuç: Asetik asitle oluşturulan deneysel kolitte L-karnitin, arilesteraz ve laktonaz aktivitelerini artırıcı, oksidatif stresi azaltıcı bir etkiye sahiptir. Bu nedenle L-karnitin, inflamatuvar barsak hastalıklarının tedavisinde yararlı olabilir.

Anahtar Sözcükler: Deneysel kolit, L-karnitin, paraoksonaz, arilesteraz, laktonaz, oksidatif stres, malondialdehit, total sialik asit

Çıkar Çatışması: Yazarlar arasında çıkar çatışması yoktur.

ABSTRACT

Aim: Oxidative stress plays an important role in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. We investigated antioxidant L-carnitine effect on activities of paraoxonase 1 enzyme which is also synthesized in colon and oxidative status in experimental colitis.

Material and Methods: Wistar albino female rats were divided into four groups randomly: control, colitis, pre-treatment and treatment groups. To induce colitis, single dose of 1 mL acetic acid (%4) was given intrarectally to colitis, pre-treatment and treatment groups. Single dose of 500 mg/kg L-carnitine was given intraperitoneally 1 hour before inducing colitis to pre-treatment group and 24 hours after inducing colitis to treatment group. All groups were sacrificed 48 hours after intrarectally administration. Existence of colitis was confirmed by histopathological changes. Paraoxonase, arylesterase and lactonase activities, total oxidant and antioxidant status, malondialdehyde, and total sialic acid were measured in serum. Oxidative stress index was calculated from the formula.

Results: While serum malondialdehyde, total sialic acid, total oxidant status and oxidative stress index were significantly elevated, serum paraoxonase, arylesterase and lactonase activities and total antioxidant status were significantly decreased in acetic-acid induced experimental colitis. In acetic-acid induced experimental colitis, L-carnitine caused a significant decrease in serum malondialdehyde, total sialic acid, total oxidant status and oxidative stress index but a significant increase in serum arylesterase and lactonase activities of treatment group only.

Conclusion: L-Carnitine has an increasing effect on serum arylesterase and lactonase activities and decreasing effect on oxidative stress in acetic acid-induced experimental colitis. Therefore, L-carnitine may be useful for the treatment of inflammatory bowel disease.

Key Words: Experimental colitis, L-carnitine, paraoxonase, arylesterase, lactonase, oxidative stress, malondialdehyde, total sialic acid

Conflict of Interest: The authors have no conflict of interest.

Giriş

İnflamatuvar barsak hastalıkları olan ülseratif kolit ve Crohn, kronik, tekrarlayıcı ve immün sistemin aracılık ettiği hastalıklardır. İnflamatuvar barsak hastalıklarının patogenezi tam olarak bilinmemekle birlikte, oksidatif stresin önemli rol oynayabileceği ileri sürülmüştür. Kolon epitelinden fazla miktarda üretilen hidrojen peroksitin, bazal membran ve hücreler arası bağlantılara zarar vererek submukozal bölgeye bakteriyel antijen geçişine sebep olabileceği ve bu antijenlere karşı oluşan immün yanıtın ülseratif kolite öncülük edebileceği öne sürülmüştür [1].

Canlıların yaşamsal ve biyokimyasal fonksiyonlarını devam ettirebilmesi için, pro-oksidanlar ve antioksidanlar arasında sürekli olarak kontrol edilmesi gereken bir denge vardır. Bu dengenin pro-oksidanlar lehine bozulması (oksidatif stres) oksidatif hasara yol açabilir [2]. Poliansatüre yağ asitlerinin oksidasyonu sonucu oluşan malondialdehit (MDA) lipid peroksidasyonunun en önemli göstergelerindedir [3].

Oksidatif stres ve antioksidan durumun değerlendirilmesi için birçok belirteç ve bunları ölçen farklı yöntemler bulunmaktadır. Ancak bu belirteçlerin ayrı ayrı ölçülmesi hem zaman alıcı hem de masraflıdır [2,4]. Bu nedenle son yıllarda total oksidan durum (TOS) [5] ve total antioksidan durum (TAS) ölçülmekte ve [6] oksidatif stres indeksi (OSI) hesaplanmaktadır [7].

Paraoksonaz gen ailesinin paraoksonaz 1 (PON1, aril dialkilfosfat, EC 3.1.8.1), paraoksonaz 2 ve paraoksonaz 3 olarak adlandırılan üç üyesi bulunmaktadır. PON1, Ca²⁺ bağımlı bir enzim olup, dolaşımında HDL'ye bağlı olarak taşınır [8]. PON1 enzimi, paraoksonun hidrolizini sağlayan paraoksonaz aktivitesine, fenilasetatin hidrolizini sağlayan arilesteraz aktivitesine [9] ve laktonların hidrolizini sağlayan laktonaz aktivitesine [10,11] sahiptir.

İlk olarak toksikolojik çalışmalarda, paraokson gibi organofosfatları hidroliz edici etkisi [12] araştırılan PON1 enziminin, daha sonraki yıllarda HDL'nin yapısında bulunduğu, lipid peroksidasyonu ürünlerinin birikimini engelleyen bir antioksidan enzim olduğu ve aterosklerozu önleyici bir role sahip olduğu gösterilmiştir [13,14]. Ayrıca inflamasyon ve oksidatif stresin arttığı durumlarda PON1 aktivitesinin azaldığı bildirilmiştir [8].

Doku ve hücrelerin yapısal bileşenleri olan sialik asitler, glikolipidlerde ve glikoproteinlerin N-terminal ucunda bulunan dokuz karbonlu şeker neuraminik asidin asetillenmiş türevleridirler. Asidik yapılarından dolayı hücre yüzeyinin negatif yüküne önemli katkı sağlarlar. Sialik asitler ayrıca hücre-hücre ve hücre-matriks etkileşimlerinde görev alırlar [15].

Akut ve kronik inflamatuvar yanıtın komponentleri olan çoğu akut faz proteini ve inflamasyona duyarlı protein [16], oligosakkarid yan zincirlerinin terminal pozisyonunda sialik asit içerir [17]. Akut faz reaksiyonu veya inflamasyonun belirgin olduğu inflamatuvar barsak hastalıkları gibi durumlarda da bu serum proteinlerinin

düzeyindeki artışa bağlı olarak total sialik asit düzeylerinin arttığı gösterilmiştir [18,19].

L-Karnitin (L-β-hidroksi-γ-N-trimetilaminobütirik asit), proteine bağlı lizil kalıntılarının S-adenozil metiyonin aracılıklı metilasyonu ile karaciğer ve böbrekte sentez edilir. Uzun zincirli yağ asitlerinin β-oksidasyonu için açıl-karnitin esterleri şeklinde mitokondriye taşınmasında kofaktör olarak görev alan L-karnitin [20] bu yolla lipid peroksidasyonunu ve reaktif oksijen türlerinin oluşumunu önler [21]. Ayrıca L-karnitin oksidatif strese bağlı oluşan protein oksidasyonunu önlemede kısmen başarılı olduğu da gösterilmiştir [22,23].

İntrarektal yoldan verilen asetik asidin (%3-5) akut inflamasyona yol açarak, distal kolon ile sınırlı, deneysel akut inflamatuvar barsak hastalığı oluşturduğu bildirilmiştir [24]. İnflamatuvar barsak hastalıklarının paraoksonaz ve arilesteraz aktivitesinde bir azalmaya yol açtığı [25,26] gösterilmesine rağmen laktonaz aktivitesine etkisi bilinmemektedir. Ayrıca inflamatuvar barsak hastalıklarında L-karnitin tedavisinin PON1 enzim aktivitesi üzerine etkisini araştıran bir çalışma da bulunmamaktadır.

Bu çalışmanın amacı, inflamatuvar barsak hastalıklarında L-karnitin paraoksonaz, arilesteraz ve laktonaz aktivitesine ve oksidatif duruma etkisini araştırmaktır. Bu amaçla, asetik asit ile deneysel kolit modeli oluşturulan Wistar albino sıçanlarda, kolit oluşumundan önce veya sonra uygulanan, L-karnitin serum paraoksonaz, arilesteraz ve laktonaz aktivitesine, TOS, TAS, OSI, MDA ve total sialik asit (TSA) düzeylerine etkisi incelenmiştir.

Gereç ve Yöntemler

Çalışma öncesi üniversitemiz yerel etik kurul onayı (tarih:22.06.2011, no:TÜHDYEK-2011/35) alındı. Deneysel Hayvanları Birimi'nden ağırlıkları 200-250 g arasında değişen, standart koşullarda yetiştirilmiş 28 adet erişkin Wistar albino dişi sıçan temin edildi. Standart diyet ile beslenen sıçanlar, %60 nem oranına sahip, 22±2°C oda ısısında ve 12 saat aydınlık/12 saat karanlık ritminde barındırıldı. Sıçanlar, kontrol, kolit, ön tedavi ve tedavi grubu olmak üzere eşit sayıda rastgele 4 gruba ayrıldı.

Asetik asitin (%3-5) intrarektal yoldan verilmesi ile deneysel akut inflamatuvar barsak hastalığı oluşturulmaktadır. Kolit tablosu, distal kolonla sınırlı olmakla birlikte, başlangıç hasarı, epitelyal nekroz ve ödem şeklinde meydana gelmekte olup; lamina propria, submukoza ya da dış kas tabakasına kadar yayılım gösterebilmektedir. Başlangıçta lökosit infiltrasyonu görülmezken, 12 saat sonra, epitelyal bariyerin yıkımına bağlı spesifik olmayan lökosit infiltrasyonu maksimum düzeyde görülebilmektedir [24]. Asetik asit uygulamasından 48 saat sonra incelenen kolon dokusunda kanama, ülser, mukoza kaybı, nötrofil infiltrasyonu, kript apsesi ve goblet hücre azalması olduğu bildirilmiştir [21].

Çalışmamızda, kolon dokularında dışkı bulunmaması için sıçanlar 12 saatlik açlığa tabi tutuldu ancak suya erişimleri serbest bırakıldı. Kolit modeli oluşturmak için [24], ketalar (50 mg/kg) ve rompun (10 mg/kg) anestezisi

altında 30° trendelenburg pozisyonuna getirilen sıçanlara 8 mm'lik kateter rektal yoldan 8 cm ileriye uzanacak şekilde yerleştirildi. Kolit grubuna, tedavi grubuna ve ön tedavi grubuna tek doz 1 mL asetik asit (%4) intrarektal yoldan uygulandı. Kontrol grubuna ise aynı şartlarda 1 mL serum fizyolojik intrarektal olarak verildi. Ön tedavi grubuna kolit oluşturulmadan 1 saat önce, tedavi grubuna ise kolit oluşturulduktan 24 saat sonra 500 mg/kg L-karnitin tek doz halinde intraperitoneal olarak uygulandı. Diğer gruplara ise serum fizyolojik intraperitoneal olarak verildi. İntrarektal uygulamadan 48 saat sonra tüm sıçanların rompun (10 mg/kg) ve ketalar (50 mg/kg) anestezisi altında batın ön duvarı insizyonla açılarak diyaframdan kalbe ulaşıldı ve ponksiyonla kanları alınarak sakrifiye edildi. Serumlar ayrılarak analiz gününe kadar -80°C'de saklandı. Tüm örneklerde çalışma ikişer kez tekrarlandı.

Sakrifiye edilen tüm sıçanlardan kolon dokuları alınıp longitudinal insizyonla açılarak serum fizyolojik ile yıkandı. Kolon dokularının asetik asit uygulan bölge ile anüs arasını içine alacak şekilde distal bölümleri makroskopik olarak incelendi ve mukozal yüzeyden fotoğrafları çekildi. Kolon dokusunda makroskopik kolon hasarının derecesi Morris sınıflandırması kullanılarak yapıldı (Tablo 1) [27]. Kontrol grubundaki bazı hayvanların kolonlarında intrarektal kateter uygulamasına bağlı oluşan lokalize hafif ödem 0 olarak skorlandı.

Mikroskopik değerlendirme için sıçanların kolon dokularında makroskopik hasarın en fazla olduğu bölümler örnekledi. Bu bölümler, %10'luk formol solüsyonunda fikse edilip doku takibinden sonra parafinle bloklandı ve elde edilen kesitler hematoksilin-eozin ile boyandı. Mikroskopik kolon hasarının derecelendirilmesi

ışık mikroskopunda mukozal yapı kaybı (0-3), hücrel infiltrasyon (0-3), kript apsisi (0-1) ve goblet hücre azalması (0-1) incelenerek yapıldı ve toplam skor (0-8) üzerinden değerlendirildi (Tablo 2) [28]. Mikroskopik incelemede, tedavi grubundan bir sıçanda, ön tedavi grubunda ise iki sıçanda yaygın ülsere nekrotik alanlar nedeniyle bazı parametreler tam olarak değerlendirilememiş olup değerlendirilemeyen parametrelere en üst skor verildi. Patolojik inceleme sonucunda asetik asit uygulanan gruplarda literatürle [21] uyumlu olarak distal kolonda hiperemik ve ülsere kanamalı alanların varlığı, histopatolojik incelemede ise mukoza kaybı ve nötrofil infiltrasyonunda artış ile birlikte kript apsisi ve goblet hücre azalması görülmekteydi.

Total antioksidan durum ölçümünde, TAS kiti (RelAsay Diagnostic, Türkiye) kullanıldı. Yöntemin prensipi, örnekteki antioksidanların, koyu mavi-yeşil renkli ABTS radikalini, renksiz ABTS formuna indirgemesine dayanır [6]. TAS ölçümü için, kitin prosedüründe belirtildiği şekilde, spektrofotometre (Shimadzu UV 1700A) 25 °C'ye ayarlanarak, 500 µL reaktif 1 (ölçüm tamponu) ve 30 µL serum karıştırılıp 660 nm'de absorbansı ölçüldü. Karışıma 75 µL reaktif 2 (renkli ABTS solüsyonu) eklenerek 10 dk. inkübasyondan sonra tekrar 660 nm'de absorbans ölçüldü. Standartlar, serum yerine 0 (standart 1) ve 1 (standart 2) milimolar Trolox ekivalan/litre (mmol Trolox Eq/L) konsantrasyonlarındaki kitin standart çözeltileri kullanılarak çalışıldı. İkinci ve ilk ölçümler arasındaki farktan absorbans değişimi (ΔAbs) hesaplandı. Serumlardaki TAS düzeyleri (mmol Trolox Eq/L) kitte belirtilen aşağıdaki formülle hesaplandı. $TAS = \frac{[(\Delta Abs \text{ standart 1}) - (\Delta Abs \text{ numune})]}{[(\Delta Abs \text{ standart 1}) - (\Delta Abs \text{ standart 2})]}$

Tablo 1. Kolon dokusu makroskopik sınıflandırma kriterleri [27].

Skor	Makroskopik inceleme
0	Normal görünümlü mukoza
1	Lokalize hiperemi, ülser yok
2	Belirsiz inflamasyonlu linear ülser
3	Bir bölgede inflamasyonlu linear ülser
4	İki ya da daha fazla inflamasyon ve/veya ülserasyon bölgesi
5	İki veya daha fazla major inflamasyon ve ülserasyon bölgesi ya da kolonda 1 cm'den daha büyük bir tane inflamasyon ve ülserasyon bölgesi

Tablo 2. Kolon dokusu mikroskopik değerlendirme kriterleri [28].

Skor	Mikroskopik inceleme			
	Mukozal yapı kaybı	Hücrel infiltrasyon	Kript apsisi	Goblet hücre azalması
0	Yok	Yok	Yok	Yok
1	< %5	Az	Var	Var
2	%5-%10	Orta	-	-
3	> %10	Belirgin	-	-

Total oksidan durum ölçümünde, TOS kiti (RelAssay Diagnostic, Türkiye) kullanıldı. Yöntemin prensibi, örnekteki oksidanların ferröz iyon-şelatör kompleksini ferrik iyonlara okside etmesine ve oluşan ferrik iyonların asidik ortamda kromojen madde ile renk oluşturması esasına dayanır [5]. TOS ölçümü için, kitin prosedüründe belirtildiği şekilde, spektrofotometre (Shimadzu UV 1700A) 25 °C'ye ayarlanarak, 500 µL reaktif 1 (ölçüm tamponu) ve 75 µL serum karıştırılıp 530 nm'de absorbans ölçüldü. Karışıma 25 µL reaktif 2 (pro-kromojen solüsyon) eklenerek 10 dk. inkübasyondan sonra tekrar 530 nm'de absorbans ölçüldü. Kitin kalite değerlendirilmesi için kitin prosedüründe belirtildiği üzere numune yerine deiyonize su kullanılarak çalışılan reaktif körünün absorbansı 0.500'den küçüktü. Standart, serum yerine 20 mikromolar hidrojen peroksit (H₂O₂) ekivalan/litre (µmol H₂O₂Eq/L) içeren dilue standart çözeltisi kullanılarak çalışıldı. İkinci ve ilk ölçümler arasındaki farktan absorbans değişimi (ΔAbs) hesaplandı. Serumlardaki TOS düzeyleri (µmol H₂O₂Eq/L) kitte belirtilen aşağıdaki formülle hesaplandı.

$$TOS = [(\Delta Abs \text{ serum}) / (\Delta Abs \text{ standart})] \times 20$$

Paraoksonaz aktivitesi, 1 mM CaCl₂ ve 1 mM paraokson çözeltisi içeren Tris-HCl (50mM, pH:8) kullanılarak 25 °C'de 412 nm'de spektrofotometre (Shimadzu UV 1700A) ile kinetik olarak ölçüldü. Oluşan p-nitrofenol miktarının hesaplanması için molar ekstinksiyon katsayısı olarak 17000 M⁻¹cm⁻¹ kullanıldı. Enzim ünitesi, 1 dakikada 1 µmol p-nitrofenol oluşturan enzim miktarı olarak kabul edildi. Paraoksonaz aktivitesi U/L olarak verildi [9].

Arilesteraz ve laktonaz aktiviteleri 1 mM CaCl₂ ve sırasıyla 1 mM fenil asetat veya dihidrokumarin çözeltisi içeren Tris-HCl (50mM, pH:8) kullanılarak 25 °C'de 270 nm'de spektrofotometre (Shimadzu UV 1700A) ile kinetik olarak ölçüldü. Arilesteraz ve laktonaz enzim aktivitelerinin hesaplanması için molar ekstinksiyon katsayısı olarak sırasıyla 1310 M⁻¹cm⁻¹ [9] ve 1295 M⁻¹cm⁻¹ [10] kullanıldı. Enzim ünitesi, 1 dakikada 1 mmol ürün oluşturan enzim miktarı olarak kabul edildi. Arilesteraz ve laktonaz aktiviteleri U/L olarak verildi.

Serum total sialik asit düzeyleri Warren tarafından geliştirilen tiyobarbitürik asit metodu kullanılarak ölçüldü [29]. Bunun için serum, 0,1 N sülfürik asit ile 80° C'ta 1 saat inkübe edilerek sialik asitler serbestleştirildi. Kalibrasyon eğrisinin elde edilmesi için 2, 4, 6, 8 ve 10 mg/100 mL konsantrasyonlarında standart N-asetilneuraminik asit çözeltileri kullanıldı. Ölçümler 540 nm dalga boyunda spektrofotometrik (Shimadzu UV 1700A) olarak yapıldı.

MDA düzeyleri ölçümünde Ohkawa metodu kullanıldı. Metodun prensibi, poliansatüre yağ asidlerinin peroksidasyonu ile oluşan MDA'nın sıcak ortamda tiyobarbitürik asit ile oluşturduğu bileşiğin pembe-kırmızı renginin 532 nm dalga boyunda spektrofotometrik (Shimadzu UV 1700A) olarak ölçülmesi esasına dayanır [30]. Malondialdehidin 532 nm'deki molar absorptivitesi

kullanılarak serumdaki MDA değerleri hesaplandı, sonuçlar nmol/mL olarak ifade edildi.

Gruplar arasındaki farklılıklar, her bir gruptaki dağılım normal ve varyans homojen ise tek yönlü varyans analizi ile, bu koşulların herhangi birinin sağlanmadığı durumlarda ise Kruskal Wallis testi ve anlamlı farkın varlığında Dunn testi ile değerlendirildi. Parametreler, her bir gruptaki dağılım normal ve varyans homojen ise ortalama±standart sapma (ort.±SS), bu koşulların herhangi birinin sağlanmadığı durumlarda ise ortanca [minimum-maksimum] olarak ifade edildi ve p<0.05'in altındaki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

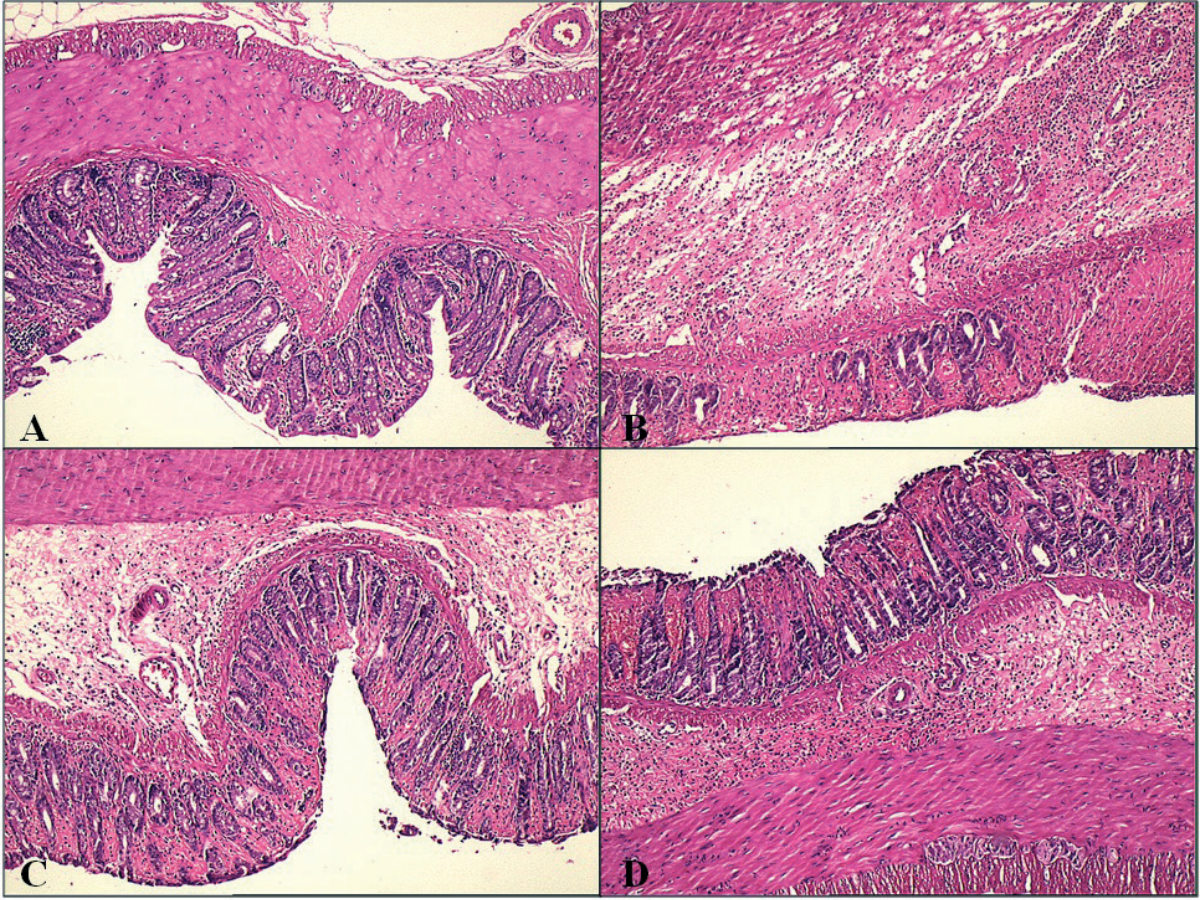
Tüm gruplardan birer sıçanın distal kolon dokusu mikroskopik görüntüleri Şekil 1'de görülmektedir. Sıçan gruplarının kolon dokusunun makroskopik ve mikroskopik skorları Tablo 3'de görülmektedir. Asetik asit uygulanan grupların kolon dokularının makroskopik skorları ve mikroskopik skor toplamları kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksekti (tümü için p<0.05). L-karnitin tedavisi uygulanan gruplar ile kolit grubu arasında kolon dokularının makroskopik skorları ve mikroskopik skor toplamları bakımından anlamlı fark yoktu.

Grupların serum TAS, TOS, OSI, MDA ve TSA değerleri Tablo 4'de görülmektedir. Kontrol, ön tedavi ve tedavi gruplarının MDA değerleri, kolit grubuna göre anlamlı olarak düşüktü (sırasıyla p<0.001, p=0.001 ve p=0.001). Kontrol, ön tedavi ve tedavi gruplarının TSA, TOS ve OSI değerleri de kolit grubuna göre anlamlı olarak düşüktü (tümü için p<0.001). Kontrol grubunun TAS değerleri, kolit grubuna göre anlamlı olarak yüksekti (p<0.01). Tedavi grubunun TAS değerleri, kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşüktü (p<0.05). Ön tedavi grubu ile diğer gruplar arasında TAS değerleri bakımından anlamlı fark saptanmadı.

Grupların serum paraoksonaz, arilesteraz ve laktonaz aktiviteleri Tablo 5'de görülmektedir. Kontrol grubunun paraoksonaz, arilesteraz ve laktonaz aktiviteleri, kolit grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu (p<0.05). Ön tedavi grubu ile kolit grubu arasında paraoksonaz, arilesteraz ve laktonaz aktiviteleri bakımından anlamlı fark yoktu. Tedavi grubunun arilesteraz ve laktonaz aktiviteleri kolit grubuna göre anlamlı olarak yüksek iken (her ikisi için p<0.05), tedavi grubu ile kolit grubu ile arasında paraoksonaz aktivitesi bakımından anlamlı fark yoktu.

Tartışma

İnflamatuvar barsak hastalıklarının patogeneğinde oksidatif stresin önemli rol oynayabileceği ileri sürülmüştür [1]. Antioksidan özelliğe sahip karnitin, inflamatuvar barsak hastalıklarında oksidatif stresi azalttığı gösterilmiştir [21,31]. Karnitin kolonik hücrelerde β-oksidasyonun sürdürülmesi için hız-kısıtlayıcı faktör olduğu da bildirilmiştir [32].



Şekil 1. Sıçanların kolon dokusunun histopatolojik görünümü

Mikroskopik incelemeler makroskopik hasarın en fazla olduğu bölümlerden yapılmıştır. (A) Kontrol grubuna ait barsak dokusu. Mukozada yüzey ve kript epiteli intact olup, berrak vakuollü sitoplazmaya sahip çok sayıda goblet hücresi içermektedir. Kriptler arası stroma oldukça incedir. Kriptler arası birkaç mononükleer iltihabi hücre mevcut olup, epitelde iltihap hücresi yoktur. (B) Kolit grubuna ait barsak dokusu. Mukozada kriptler belirgin derecede azalmış olup, şekilleri bozulmuştur. Mukozal yüzey epitelinin devamlılığı bozulmuş ve yerini mikst iltihabi hücre topluluğu almıştır. Kript ve yüzey epitelinde goblet hücresi belirgin derecede azalmıştır. Kriptler arası ve submukoza belirgin genişlemiş olup, kas tabakasına ve epitele de giren artmış mikst iltihabi hücre içermektedir. (C) Ön tedavi grubuna ait barsak dokusu. Mukozada kriptler hafif azalmış, şekilleri kısmen bozulmuştur. Yüzey epiteli rejenera görünümündedir. Kript ve yüzey epitelinde goblet hücresi azalmıştır. Kriptler arası stroma hafifçe genişlemiştir. Submukoza genişlemiş haldedir. Lamina propria ve submukozada epitele de giren mikst iltihabi hücreler bulunmaktadır. (D) Tedavi grubuna ait barsak dokusu. Mukozada kriptler biraz azalmış olup, şekilleri kısmen bozulmuştur. Yüzey epitelinin devamlılığı fokal alanlarda bozulmuştur. Kript ve yüzey epitelinde goblet hücresi oldukça azalmıştır. Kriptler arası stroma hafifçe genişlemiştir. Submukoza belirgin genişlemiş haldedir. Lamina propria ve submukozada epitele de giren mikst iltihabi hücreler bulunmaktadır. (**Hemato-silen Eosin, X50**)

Asetik asidin (%3-5) intrarektal yoldan uygulanmasıyla deneysel akut inflamatuvar barsak hastalığı oluşturulmaktadır [24]. İntrarektal asetik asit uygulanan kolit, tedavi ve ön tedavi gruplarının kolon dokularında makroskopik olarak lokalize hiperemi, linear ülserler ve inflamasyon bulunması, histopatolojik olarak belirgin mukozal yapı kaybı, hücresel infiltrasyon, goblet hücre azalması ve kript apsesi görülmesi inflamatuvar barsak hastalığının varlığını kanıtlamaktadır. Çetinkaya ve ark. [21] asetik asit ile oluşturulan deneysel kolitte L-karnitin tedavisinin kolon dokusunda makroskopik skoru değiştirmedığı oysa mikroskopik skoru azalttığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda da L-karnitin tedavisi kolon dokularında makroskopik skoru değiştirmedii. Ayrıca L-karnitin uygulanan gruplarda mikroskopik skorlarda azalma olmasına rağmen bu azalma istatistik-

sel olarak anlamlı değildi. Histopatolojik bulgularımız sonucunda asetik asit ile oluşturulan deneysel kolitte tek doz L-karnitin uygulamasının kolon hasarını önlemede yetersiz kaldığını söyleyebiliriz.

Kolit grubunun serum MDA düzeylerini, kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulduk. Tedavi ve ön tedavi gruplarının serum MDA düzeyleri ise kolit grubuna göre anlamlı olarak düşüktü. Literatürde Kurutas ve ark. [31], asetik asitle oluşturulan deneysel kolit modelinde L-karnitin, lipid peroksidasyonunu azalttığını göstermişlerdir. Bu çalışma ile uyumlu olarak, çalışmamız, asetik asit ile oluşturulan deneysel kolit modelinde lipid peroksidasyonunun arttığını, kolit oluşturulmadan önce veya oluşturulduktan sonra uygulanan tek doz 500 mg/kg L-karnitin tedavisinin ise lipid peroksidasyonu anlamlı olarak azalttığını göstermiştir.

Tablo 3. Grupların kolon dokularının makroskopik ve mikroskopik skorlarının dağılım yüzdeleri ve ortanca [minimum-maksimum] skorları.

	Skor	Kontrol (n=7)	Kolit (n=7)	Ön tedavi (n=7)	Tedavi (n=7)
MAKROSKOPİK DEĞERLENDİRME					
	0	100	-	-	-
	1	-	57,1	57,1	57,1
	2	-	-	-	-
	3	-	14,3	-	14,3
	4	-	-	14,3	14,3
	5	-	28,6	28,6	14,3
	Ortanca [minimum-maksimum]	0 [0-0]	1 [1-5] ^{a*}	1 [1-5] ^{a*}	1 [1-5] ^{a*}
MİKROSKOPİK DEĞERLENDİRME					
Mukoza yapı kaybı	0	-	-	-	-
	1	100	-	-	14,3
	2	-	14,3	42,9	42,9
	3	-	85,7	57,1	42,9
Hücre infiltrasyonu	0	14,3	-	-	-
	1	85,7	28,6	42,9	28,6
	2	-	42,9	28,6	71,4
	3	-	28,6	28,6	-
Kript apseleri	0	85,7	14,3	42,9	28,6
	1	14,3	85,7	57,1	71,4
Goblet hücre azalması	0	100	-	-	-
	1	-	100	100	100
	Ortanca [minimum-maksimum]	2 [1-3]	7 [5-8] ^{a*}	6 [4-8] ^{a*}	6 [4-7] ^{a*}

Skorlamalarda Tablo 1 ve Tablo 2'deki sınıflandırma kriterleri kullanıldı.

İstatistiksel analiz Kruskal Wallis testi, çoklu karşılaştırmalar Dunn testi ile yapıldı.

a: Kontrol grubuna göre karşılaştırma anlamlı.

*: p<0,05

Asetik asit ile oluşturulan deneysel kolit modelinde serum TOS düzeylerinin yükseldiği gösterilmiştir [33,34]. Literatürle uyumlu olarak kolit grubunun serum TOS düzeylerini kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulduk. Literatürde asetik asitle oluşturulan deneysel kolit modelinde, L-karnitin serum TOS düzeyleri üzerine etkisini gösteren bir çalışmaya rastlamadık. Asetik asit ile oluşturulan deneysel kolit modelinde L-karnitin etkisini incelemek amacıyla yaptığımız bu

çalışmada kolit modeli oluşturulmadan önce ve oluşturulduktan sonra verilen L-karnitin serum TOS düzeylerini anlamlı olarak azalttığını bulduk.

Asetik asit ile oluşturulan deneysel kolit modelinde serum TAS düzeyleri ile ilgili çelişkili bilgiler bulunmaktadır. Özyılmaz ve ark. [33] deneysel kolit modelinde serum TAS düzeylerinin değişmediğini bildirmişlerdir. Bitiren ve ark. [34] ise aynı modelde serum TAS düzeylerinin azaldığını bildirmişlerdir. Biz de deneysel kolit

Tablo 4. Kontrol, kolit, ön tedavi ve tedavi gruplarının serum TOS, TAS, OSI, MDA ve TSA düzeyleri (ort.±SS).

Gruplar	Kontrol (n=7)	Kolit (n=7)	Ön tedavi (n=7)	Tedavi (n=7)
TOS (mmol H ₂ O ₂ Eq/L)	13,30±1,51 a****	27,91±7,69	14,67±3,49 a****	14,82±2,47 a****
TAS (mmolTrolox Eq/L)	0,79±0,06 a**	0,63±0,06	0,69±0,08	0,67±0,08 b*
OSI	1,69±0,15 a****	4,49±1,31	2,12±0,45 a****	2,25±0,47 a****
MDA (nmol/mL)	3,31±0,44 a****	4,48±0,38	3,33±0,41 a****	3,34±0,59 a****
TSA (mg/dL)	76,52±6,52 a****	96,79±8,05	70,46±3,21 a****	75,30±5,87 a****

Tek yönlü varyans analizi ile değerlendirildi.

a: Kolit grubuna göre karşılaştırma anlamlı.

b: Kontrol grubuna göre karşılaştırma anlamlı.

*: p<0.05, **: p<0.01, ***: p=0.001, ****: p<0.001

Tablo 5. Kontrol, kolit, ön tedavi ve tedavi gruplarının serum paraoksonaz, arilesteraz ve laktonaz aktiviteleri (ortanca [minimum-maksimum]).

Gruplar	Kontrol (n=7)	Kolit (n=7)	Ön tedavi (n=7)	Tedavi (n=7)
Paraoksonaz (U/L)	95,32 [14,04-118,42] a*	15,30 [10,53-18,42]	21,35 [17,25-93,28]	85,97 [16,08-110,82]
Arilesteraz (U/L)	57,72 [13,90-67,34] a*	12,67 [9,77-14,51]	14,81 [12,06-56,65]	54,36 [12,98-64,59] a*
Laktonaz (U/L)	10,74 [7,87-13,12] a*	6,06 [4,71-7,59]	7,88 [7,47-12,00]	10,74 [7,29-13,96] a*

İstatistiksel analiz Kruskal-Wallis testi ile, çoklu karşılaştırmalar Dunn testi ile yapıldı.

a: Kolit grubuna göre karşılaştırma anlamlı.

*: p<0.05

modeli oluşturulan sıçanların serum TAS düzeylerini kontrol grubundan anlamlı olarak düşük bulduk. Literatürde deneysel kolit modelinde L-karnitin tedavisinin serum TAS düzeyleri üzerine olan etkisini gösteren bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda serum TAS düzeyleri L-karnitin uygulanan gruplar ile kolit grubu arasında farklı değildi. Aynı zamanda tedavi grubunun serum TAS düzeyleri kontrol grubundan anlamlı olarak düşük bulundu. Bu bulgular tek doz olarak uygulanan L-karnitin tedavisinin serum TAS düzeylerini arttırmada yetersiz kaldığını göstermektedir.

TOS değerinin TAS değerine oranıyla hesaplanan OSI, oksidatif stresin bir göstergesi olarak kullanılmaktadır [5-7]. Asetik asit ile oluşturulan deneysel kolit modelinde, Bitiren ve ark. [11] OSI düzeylerinin arttığını bildirmişlerdir. Biz de kolit grubunun OSI düzeylerini kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulduk.

Asetik asitle oluşturulan deneysel kolit modelinde L-karnitin, OSI düzeylerine etkisinin ilk kez incelen-

diği bu çalışmada, kolit modeli oluşturulmadan önce ve oluşturulduktan sonra verilen L-karnitin, OSI düzeylerini anlamlı olarak azalttığı bulundu.

Çalışmamız, asetik asit ile oluşturulan deneysel kolit modelinin, oksidatif strese ve lipid peroksidasyonuna neden olduğunu göstermiştir. Serum TOS, OSI ve MDA düzeylerindeki artışlar da bunu destekler niteliktedir. Kolit oluşturulmadan önce veya oluşturulduktan sonra uygulanan tek doz L-karnitin ise oksidatif stresi ve lipid peroksidasyonunu azaltmada etkili olduğu görülmüştür.

İnflamatuvar barsak hastalıklarında serum sialik asit düzeylerinde bir artış olduğu bildirilmiştir [18,19]. Deneysel kolit modelinde serum total sialik asit düzeylerinde bir artış olduğunu gösteren bulgumuz bu çalışmaları desteklemektedir. Akut miyokart infarktüsülü hastalarda gözlenen serum sialik asit artışından sialik asitçe zengin akut faz proteinlerinin, karaciğerden dolaşıma artmış atılımlarının kısmen sorumlu olabileceği bildirilmiştir

[35]. Benzer şekilde deneysel kolit modelinde serum total sialik asit düzeylerinde gözlediğimiz bu artış, akut faz proteinlerinin artışıyla kaynaklanmış olabilir.

Çalışmamızda L-karnitin verilmesi, serum total sialik asit düzeylerindeki artışı da belirgin olarak önledi. Deneysel kolit modelinde, L-karnitin verilmesi ile oksidatif strese ve lipid peroksidasyonunda gözlenen azalmanın yanı sıra serum total sialik asit düzeylerindeki artışın da önlenmesi, serum sialik asit artışında oksidatif stresin de rolü olabileceğini düşündürmektedir.

Esas olarak karaciğerde sentezlenen PON1'in böbrek ve kolonda da mRNA'sının varlığı gösterilmiştir [36]. Bu nedenle kolon hastalıklarında serum ve/veya doku PON1 enzim miktarındaki ve aktivitesindeki değişimin incelenmesi, hastalığın hem tanı ve izleminde hem de patogenezinin aydınlatılmasında önemli olabilir. PON1 enziminin en yaygın olarak ölçülen aktivitesi paraoksonaz ve arilesteraz aktivitesidir. Rothem ve ark. [37] ülseratif kolit hastalarının kolon biyopsilerinde, PON1 ekspresyonunun anlamlı olarak azaldığını, Baskol ve ark. [25] ise ülseratif kolitli hastalarda serum paraoksonaz aktivitesinin azaldığını göstermişlerdir. Boehm ve ark. [26] inflamatuvar barsak hastalığı olan bireylerde serum paraoksonaz ve arilesteraz aktivitesinde bir azalmanın olduğunu bildirmişlerdir. You ve ark. [38] ise dekstran sodyum sülfat ile oluşturulan deneysel kolit modelinde serum paraoksonaz aktivitesinin azaldığını ileri sürmüşlerdir.

You ve ark. [38]'dan farklı olarak, deneysel kolit modeli oluşturmak için asetik asit kullandığımız bu çalışma, paraoksonaz enziminin 3 ayrı aktivitesinin ölçülmesi bakımından da bir ilki oluşturmaktadır. Asetik asitle deneysel kolit oluşturduğumuz sıçanlarda serum PON1 enziminin paraoksonaz ve arilesteraz aktivitesini kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmış bulduk.

Laktonların doğal substrat olmaları ve yapısal olarak çoklu doymamış yağ asitlerinin okside metabolitlerine benzemesi nedeniyle paraoksonaz enzimlerinin aslında bir laktonaz olduğu bildirilmiştir [11]. Önceki çalışmalardan farklı olarak, asetik asitle deneysel kolit oluşturulmuş sıçanlarda serum laktonaz aktivitesini de ölçtük. Deneysel kolit oluşturulmuş sıçanların serum laktonaz aktivitesini kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmış bulduk. Bu bulgular, asetik asit ile oluşturulan deneysel kolit modelinde, PON1 enzim aktivitesinin azaldığını göstermektedir. PON1 aktivitesindeki azalmanın nedeni tam olarak bilinmemekle beraber PON1 ekspresyonunun azalması ve/veya artmış oksidatif stres bu azalmadan sorumlu olabilir.

Egzersizle uyarılan oksidatif stres modelinde PON1 aktivitesinin anlamlı olarak azaldığı ve L-karnitin uygulamasının ise bu azalmayı önlediği gösterilmiş olmasına rağmen [39], inflamatuvar barsak hastalıklarında, L-karnitin tedavisinin PON1 enzim aktivitesi üzerine etkilerini araştıran bir çalışma bulunmamaktadır.

L-karnitin uygulanan gruplarda serum paraoksonaz, arilesteraz ve laktonaz aktivitesi kolit grubuna göre

artmış olmasına rağmen, istatistiksel olarak anlamlı artış sadece kolit oluşturulduktan sonra L-karnitin uygulanan grubun arilesteraz ve laktonaz aktivitesinde bulundu. İstatistiksel olarak fark bulunmaması PON1 enzim aktivitesinin dağılımının geniş olmasından kaynaklanmış olabilir. Bulgularımız ışığında kolit oluşumundan sonra uygulanan L-karnitin, kolit oluşturulmadan önce uygulanan L-karnitine göre PON1 aktivitesi üzerine daha etkili olduğunu söyleyebiliriz. L-karnitin tedavisinin arilesteraz ve laktonaz aktivitesini arttırdığı bulgusu, L-karnitin lipid peroksidasyonunu azaltıcı etkisinde, bu enzim aktivitesinde yol açtığı artışın da katkısı olabileceğini gösteren önemli bir bulgudur.

Sonuç olarak çalışmamız, asetik asit ile oluşturulan deneysel kolit modelinde serum paraoksonaz, arilesteraz ve laktonaz aktivitesinin ve TAS düzeylerinin azaldığını, TOS, OSI, MDA ve TSA düzeylerinin arttığını, kolit oluşumundan sonra uygulanan L-karnitin ise arilesteraz ve laktonaz aktivitesinde artışa, TOS, OSI, MDA ve TSA düzeylerinde azalmaya yol açtığını göstermiştir. L-Karnitin, oksidatif stresi azaltmasının yanı sıra arilesteraz ve laktonaz aktivitesini de arttırması nedeniyle inflamatuvar barsak hastalıklarının tedavisinde yararlı olabilir.

Bilgi ve Teşekkür

Bu çalışmanın bazı verileri 12. Ulusal Klinik Biyokimya Kongresi'nde poster olarak sunulmuştur.

Kaynaklar

- [1] Pravda J. Radical induction theory of ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2005; 11(16):2371-84.
- [2] Kohen R, Nyska A. Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicol Pathol* 2002; 30(6):620-50.
- [3] Del Rio D, Stewart AJ, Pellegrini N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2005; 15(4):316-28.
- [4] Tarpey MM, Wink DA, Grisham MB. Methods for detection of reactive metabolites of oxygen and nitrogen: in vitro and in vivo considerations. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004; 286(3):431-44.
- [5] Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem* 2005; 38(12):1103-11.
- [6] Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem* 2004; 37(4):277-85.
- [7] Harma M, Harma M, Erel O. Increased oxidative stress in patients with hydatidiform mole. *Swiss Med Wkly* 2003; 133(41-42):563-6.
- [8] Précourt LP, Amre D, Denis MC, Lavoie JC, Delvin E, et al. The three-gene paraoxonase family: physiologic roles, actions and regulation. *Atherosclerosis* 2011; 214(1):20-36.
- [9] Gan KN, Smolen A, Eckerson HW, La Du BN. Purification of human serum paraoxonase/arylesterase. Evidence for one esterase catalyzing both activities. *Drug Metab Dispos* 1991; 19(1):100-6.
- [10] Draganov DI, Stetson PL, Watson CE, Billecke SS, La Du BN. Rabbit serum paraoxonase 3 (PON3) is a high density lipopro-

- tein-associated lactonase and protect low density lipoprotein against oxidation. *J Biol Chem* 2000; 275(43):33435-42.
- [11] Draganov DI, Teiber JF, Speelman A, Osawa Y, Sunahara R, et al. Human paraoxonases (PON1, PON2, and PON3) are lactonases with overlapping and distinct substrate specificities. *J Lipid Res* 2005; 46(6):1239-47.
- [12] Costa LG, Richter RJ, Li WF, Cole T, Guizzetti M, et al. Paraoxonase (PON 1) as a biomarker of susceptibility for organophosphate toxicity. *Biomarkers* 2003; 8:1-12.
- [13] Mackness MI, Arrol S, Durrington PN. Paraoxonase prevents accumulation of lipoperoxides in low-density lipoprotein. *FEBS Lett* 1991; 286:152-4.
- [14] Aviram M, Rosenblat M. Paraoxonases 1, 2, and 3, oxidative stress, and macrophage foam cell formation during atherosclerosis development. *Free Radic Biol Med* 2004; 37(9):1304-16.
- [15] Traving C, Schauer R. Structure, function and metabolism of sialic acids. *Cell Mol Life Sci* 1998; 54:1330-49.
- [16] McPherson RA, Pincus RM. *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods* 2011; pp. 259-72, Elsevier Saunders, Philadelphia.
- [17] Lindberg G, Eklund G, Gullberg B, Rastam L. Serum sialic acid concentration and cardiovascular mortality. *Br Med J* 1991; 302:143-6.
- [18] Ricci G, D'Ambrosi A, Resca D, Masotti M, Alvisi V. Comparison of serum total sialic acid, C-reactive protein, alpha 1-acid glycoprotein and beta 2-microglobulin in patients with non-malignant bowel diseases. *Biomed Pharmacother* 1995; 49(5):259-62.
- [19] Baba R, Yashiro K, Nagasako K, Obata H. Significance of serum sialic acid in patients with Crohn's disease. *Gastroenterol Jpn* 1992; 27(5):604-10.
- [20] Mingrone G. Carnitine in type 2 diabetes. *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1033:99-107.
- [21] Cetinkaya A, Bulbuloglu E, Kantarceken B, Ciralik H, Kurutas EB, et al. Effects of L-carnitine on oxidant/antioxidant status in acetic acid-induced colitis. *Dig Dis Sci* 2006; 51(3):488-94.
- [22] Sayılan Özgün G, Eskiocak S, Süt N. Streptozotosin ile Diyabet Geliştirilmiş Sıçanlarda L-Karnitin Protein Oksidasyonu Üzerine Etkisi. *Turk J Bioch* 2010; 35(3):183-189.
- [23] Sayılan Özgün G, Eskiocak S, Süt N. Diyabetik sıçanlarda L-karnitin Karaciğer Protein Oksidasyonu üzerine Etkisi. *Türk Klinik Biyokimya Derg* 2012; 10(1):21-28.
- [24] Kawada M, Arihiro A, Mizoguchi E. Insights from advances in research of chemically induced experimental models of human inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2007; 13(42):5581-93.
- [25] Baskol G, Baskol M, Yurci A, Ozbakir O, Yucesoy M. Serum paraoxonase 1 activity and malondialdehyde levels in patients with ulcerative colitis. *Cell Biochem Funct* 2006; 24(3):283-6.
- [26] Boehm D, Krzystek-Korpacka M, Neubauer K, Matusiewicz M, Berdowska I, et al. Paraoxonase-1 status in Crohn's disease and ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2009; 15(1):93-9.
- [27] Morris GP, Beck PL, Herridge MS, Depew WT, Szewczuk MR, et al. Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon. *Gastroenterology* 1989; 96(3):795-803.
- [28] Appleyard CB, Wallace JL. Reactivation of hapten-induced colitis and its prevention by anti-inflammatory drugs. *Am J Physiol* 1995; 269(1 Pt 1):G119-25.
- [29] Warren L. The thiobarbituric acid assay of sialic acids. *J Biol Chem* 1959; 234:1971-5.
- [30] Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95(2):351-8.
- [31] Kurutas EB, Cetinkaya A, Bulbuloglu E, Kantarceken B. Effects of antioxidant therapy on leukocyte myeloperoxidase and Cu/Zn-superoxide dismutase and plasma malondialdehyde levels in experimental colitis. *Mediators Inflamm* 2005; 6:390-4.
- [32] D'Argenio G, Calvani M, Casamassimi A, Petillo O, Margarucci S, et al. Experimental colitis: decreased Octn2 and Atb0+ expression in rat colonocytes induces carnitine depletion that is reversible by carnitine-loaded liposomes. *FASEB J* 2006; 20(14):2544-6.
- [33] Ozyilmaz E, Yildirim B, Aydogdu M, Dincel AS, Elmas C, et al. Is there Any Link Between Oxidative Stress and Lung Involvement due to Inflammatory Bowel Disease: An Experimental Study. *Hepatogastroenterology* 2011; 58(112):1898-903.
- [34] Bitiren M, Karakilcik AZ, Zerir M, Ozardali I, Selek S, et al. Protective effects of selenium and vitamin E combination on experimental colitis in blood plasma and colon of rats. *Biol Trace Elem Res* 2010; 136(1):87-95.
- [35] Süer Gökmen S, Kazezoğlu C, Sunar B, Özçelik F, Güngör O, et al. Relationship between serum sialic acids, sialic acid-rich inflammation-sensitive proteins and cell damage in patients with acute myocardial infarction. *Clin Chem Lab Med* 2006; 44(2):199-206.
- [36] Mackness B, Beltran-Debon R, Aragonés G, Joven J, Camps J, et al. Human tissue distribution of paraoxonases 1 and 2 mRNA. *IUBMB Life* 2010; 62(6):480-2.
- [37] Rothem L, Hartman C, Dahan A, Lachter J, Eliakim R, et al. Paraoxonases are associated with intestinal inflammatory diseases and intracellularly localized to the endoplasmic reticulum. *Free Radic Biol Med* 2007; 43(5):730-9.
- [38] You Y, Fu JJ, Meng J, Huang GD, Liu YH. Effect of N-acetylcysteine on the murine model of colitis induced by dextran sodium sulfate through up-regulating PON1 activity. *Dig Dis Sci* 2009; 54(8):1643-50.
- [39] Siktar E, Ekinci D, Siktar E, Beydemir S, Gülçin I, et al. Protective role of L-carnitine supplementation against exhaustive exercise induced oxidative stress in rats. *Eur J Pharmacol* 2011; 668(3):407-13.