

# Yoğun Müsküler Egzersiz Sonrasında Sıçan Karaciğerinde Görülen Morfolojik ve Serum Biyokimyasal Değişiklikleri ve Karnitinin Etkisi

## MORPHOLOGICAL CHANGES ON RAT LIVER AND SERUM CHEMICAL CHANGES DURING INTENSIVE MUSCULAR EXERCISE AND THE EFFECT OF CARNITINE

Ömer COŞKUN\*, Recep KUTLUBAY\*\*, Birkan YAKAN\*\*

\* Öğr.Gör.Dr.,Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji AD,

\*\* Doç.Dr.,Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji AD, KAYSERİ

### Özet

*L-Karnitin, yoğun müsküler egzersizde; karaciğer dokusu üzerine morfolojik etkilerinin araştırıldığı bu çalışmada, yetişkin 80 erkek sıçan üzerinde yapıldı. Çalışmada kullanılan sıçanlar kontrol, karnitin, egzersiz ve karnitin+egzersiz grupları olmak üzere, 4 eşit gruba ayrıldılar.*

*Kontrol ve egzersiz grubuna; 3 ml serum fizyolojik uygulandı. Karnitin ve karnitin+egzersiz grubuna ise; aynı hacimde serum fizyolojik içerisinde 300 mg/kg karnitin olacak şekilde, 10 gün boyunca intraperitoneal uygulandı. Enjeksiyonları takiben egzersiz gruplarına 30 dakika yüzmeye egzersizi yaptırıldı.*

*Karaciğer dokusundan hazırlanan preparatlar morfolojik olarak ışık mikroskobu seviyesinde değerlendirildi. Hematoksilen-Eosin yöntemiyle boyanan kesitlerde herhangi bir bulgu gözlenmedi. Best Carmine ile boyanan preparatlarda ise diğer gruplarda glikojen granülleri gözlenirken, egzersiz grubunda gözlenmedi. İstatistiksel sonuçlar da bunu destekliyordu ( $p<0.01$ ).*

*Sıçanlardan alınan serum örneklerinde ise; egzersiz grubunda serum serbest karnitin düzeyleri anlamlı olarak azalırken, diğer gruplarda normal sınırlar içerisindeydi.*

*Literatürde L-Karnitin uygulanmasıyla yoğun musküler egzersizde vücut glikojen depolarının korunduğu belirtilmiştir. Biz de çalışmamızın sonucunda yoğun musküler egzersiz sonucunda azalan serum serbest karnitin düzeylerinin ve karaciğer glikojen depolarının L-Karnitin verilmesiyle korunduğunu gözledik.*

**Anahtar Kelimeler:** L-Karnitin, Karaciğer, Sıçan

T Klin Tıp Bilimleri 1999, 19:209-214

### Summary

*This study was carried out on 80 male adult rats to investigate the morphologic effects of L-Carnitine on liver tissue during intensive muscular exercise. The rats used in this study were divided into 4 equal groups called control, carnitine, exercise and carnitine+exercise groups.*

*3 ml of 0.9% NaCl were applied to both exercise and control groups. Same volume 0.9% NaCl with 300 mg/kg L-Carnitine were applied to carnitine and carnitine+exercise groups for ten days. Exercise groups were forced to swimming for 30 minutes following the injections.*

*Liver tissues were prepared, stained and examined using a light microscope. We did not observe any significant difference among the groups when the sections were stained with Haematoxylen-Eosin method. When Best Carmin staining were applied to the sections, considerable glycogen granules were observed in other groups but not in exercise groups. Statistical evaluation supports this result ( $p<0.01$ ).*

*We have taken serum samples. Free carnitine levels were significantly low in exercise groups and in other groups it was within normal region.*

*In the literature body glycogen reservoirs is preserved with treated L-Carnitine in intensive muscular exercise. In our study we observed that intensive muscular exercise decreased free carnitine levels in serum and decrease liver glycogen, reservoirs is preserved by L-Carnitine treatment.*

**Key Words:** L-Carnitine, Liver, Rat

T Klin J Med Sci 1999, 19:209-214

**Geliş Tarihi:** 06.01.1999

**Yazışma Adresi:** Dr. Ömer COŞKUN

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Histoloji-Embriyoloji AD  
38039 KAYSERİ

T Klin J Med Sci 1999, 19

Sporcular uzamış egzersizlerde kan şekeri düzeyini kontrol etmek amacıyla sıkı idman yaparak aerobik kapasitelerini arttırmak için yağ asitlerini kullanabilir ve glikojen depo-

lar. Kas glikojen miktarı 60-90 dakika boyunca %75-80 maksimal kapasitede egzersiz için enerji sağlayabilir. Kas glikojeni bittiğinde, kan glukozunu normale yakın tutmak için pankreastan glukagon salgılanır ve böylece karaciğer glikojeni glukozla dönüşür (1). Karaciğerde glikojen, granüller içinde depo edilmektedir (2). Vücut ağırlığı 70 kg. olan normal yetişkin bir insanda, karbonhidrat alımından sonra, karaciğer ağırlığının %4'ü kadar glikojen karaciğerde depolanmaktadır (3). Karaciğer glikojeni tükendiğinde, kan glukoz düzeylerinin düşmesine bağlı, egzersiz kapasitesinde azalma olur. Ayrıca literatürde yoğun müsküler egzersizde serum serbest karnitin düzeyinin de azaldığı ve bunun da egzersiz kapasitesinin azalmasında rolü olduğu söylenmektedir (4,5). Karnitin uzun zincirli yağ asitlerinin mitokondriyona girmesini sağlayarak vücudun enerji metabolizmasına katkıda bulunur (6-14). Literatürde karaciğer glikojeni ve karnitin arasındaki ilişkiye yönelik pek az sayıda çalışma vardır (15,16). Sıçanlara 750 mg/kg L-Carnitine verildikten sonra egzersiz yaptırılmış ve biyokimyasal açıdan glikojen depoları incelenmiştir (15). Egzersiz yaptırılan ve karnitin uygulanmayan sıçanlarda karaciğerdeki glikojen miktarı, egzersiz yaptırılan ve karnitin uygulanan sıçanlara oranla önemli ölçüde azalmıştır. Böylece karnitin, glikojen sentezinde önemli bir faktör olabileceği görüşü ağırlık kazanmıştır. Bu çalışmanın amacı, yoğun muskuler egzersizde karaciğer glikojen granülleri ve karnitin arasındaki ilişkiyi morfolojik ve biyokimyasal yonden değerlendirmektir.

### Materyel ve Metod

Swiss albino tipi, yaklaşık 100 günlük, ortalama 200 gram ağırlığında 80 erkek sıçan 4 eşit gruba ayrıldı: Kontrol grubu, karnitin grubu, egzersiz grubu ve karnitin+egzersiz grubu.

**Kontrol Grubu:** On gün boyunca sedanter yaşayarak, intraperitoneal olarak %0.9'luk sodyum klorürden, her bir sıçana, 3 ml. enjekte edildi.

**Karnitin grubu:** Bu gruptaki sıçanlara on gün boyunca 300 mg/kg L-Karnitin (9) ampülü, günde tek doz olacak şekilde, 3 ml %0.9'luk sodyum klorür içinde çözülerek intraperitoneal olarak enjekte edildi.

**Egzersiz Grubu:** On gün boyunca sabah %0.9'luk sodyum klorürden 3 ml. intraperitoneal enjekte edilerek, 30 dakika yüzme egzersizi yaptırıldı.

**Karnitin+Egzersiz Grubu:** On gün boyunca sabah karnitin grubuyla aynı dozda L-Karnitin intraperitoneal enjekte edildikten sonra, 30 dakika yüzme egzersizi yaptırıldı.

İlaçların verilmesinin planlandığı on gün boyunca, her gün sabah saat 09 civarı enjeksiyonları yapıldıktan sonra, 1x1 metre genişliğinde ve içinde 20-22 °C sıcaklıkta su bulunan tankta 30 dakika yüzme egzersizi yaptırıldı. Onuncu gün egzersizden hemen sonra, sıçanlar dekapite edildiler. Alınan karaciğer örnekleri, Bouin fiksatifinde 24 saat fikse edildi ve rutin işlemlerden geçirilerek 5 mikron kalınlığında doku kesitleri alındı ve

-Genel histolojik yapıyı gözleyebilmek amacıyla hematoksilin-eosin (HE),

-Karbonhidrat içeriğini saptayabilmek için Best Karmin histokimyasal yöntemleri uygulandı.

Preparasyonlar Olympus BH-2 ışık mikroskobu ile incelenerek mikrofotografı çekildi.

Gruplardan elde edilen karaciğer preparatlarında, hepatositler glikojen içeriği açısından incelendi. Her bir gruptan onar adet karaciğer preparatı seçildi. Her bir preparatta, rastgele bir sinüzoid duvarında yer alan on adet hepatositte (her bir grupta toplam 100 adet), glikojen granüllerinin var olup olmadığı sayıldı (17). Sonuçlar ki kare testiyle değerlendirildi.

Hepatositlerdeki glikojen granüllerinde yoğunluğuna göre evreleme yapıldı;

Evre 1. Hepatosit hücre stoplazmasında glikojen granülleri saptanamadı.

Evre 2. Hücre sitoplazmasında glikojen granülleri az miktarda saptandı.

Evre 3. Hepatosit sitoplazmasında glikojen granülleri orta derecedeydi.

Evre 4. Hepatositlerin sitoplazmasında çok miktarda glikojen granülleri saptandı.

Tüm gruplardaki sıçanlarda, serum serbest karnitini ve plazma laktatının biyokimyasal ölçümleri yapıldı. Sonuçlar istatistiksel açıdan incelendi. İki-den fazla grup olduğu için sonuçların istatistiksel değerlendirilmesinde Anova testi kullanıldı.

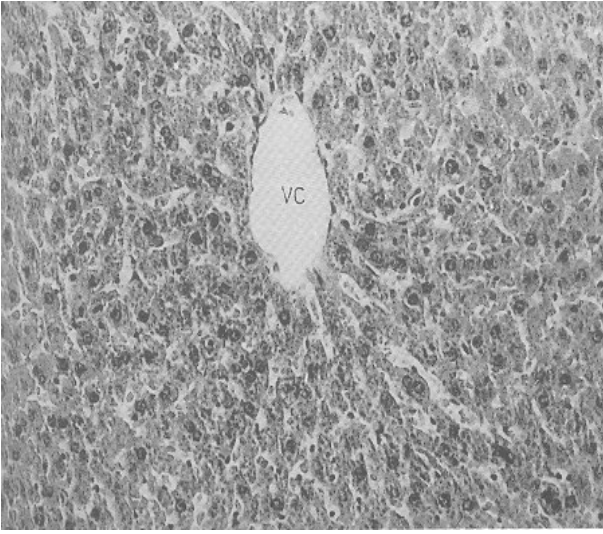
### Bulgular

Hematoksilen-Eosin ile boyanan karaciğer preparatlarında, gruplar arasında morfolojik bir fark gözlenmedi. Best Karmin ile boyanan karaciğer preparatlarında ise kontrol, karnitin ve karnitin+egzersiz gruplarında belirgin glikojen granülleri izlenirken, egzersiz grubunda gözlenmedi (bkz. Şekil 1-8).

Her bir gruptan seçilen onar adet karaciğer preparatında, rastgele bir sinüzoid duvarında yer

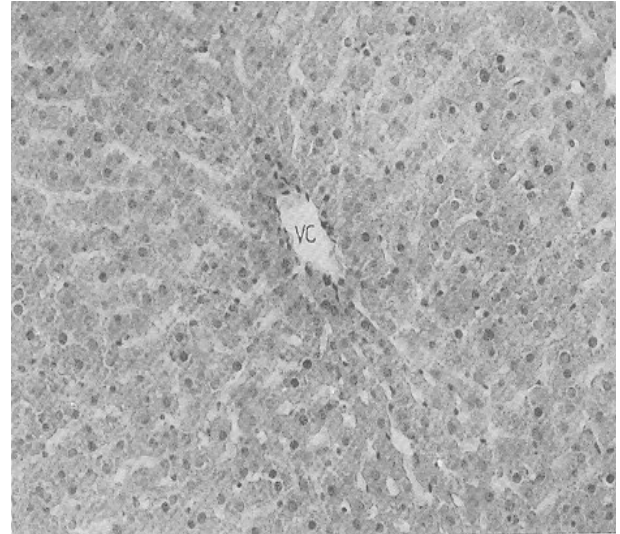
alan on adet hepatositte (toplam 100 adet), glikojen granüllerinin var olup olmadığı sayıldı (bkz. tablo 1). Sonuçlar ki kare testiyle değerlendirildi (bkz. Tablo 2).

Gruplar, glikojen granülü içeren hepatosit sayıları açısından karşılaştırıldığında grup 2 ve grup 4 arasındaki ilişki hariç, anlamlıydı ( $p<0.01$ ). Grup 2 (karnitin) ve grup 4 (karnitin+egzersiz) arasındaki ilişkinin anlamsız olması beklenen bir bulguydu.



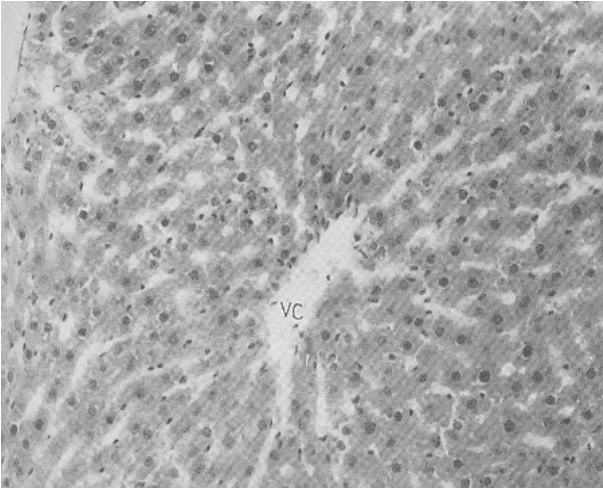
**Şekil 1.** Kontrol grubuna ait siçan karaciğerinde, vena centralis (VC) bölgesinden elde edilen ışık mikroskopik görünüm.

Boyası: Hematoksilen-Eosin  
Orijinal Büyütme: 20X



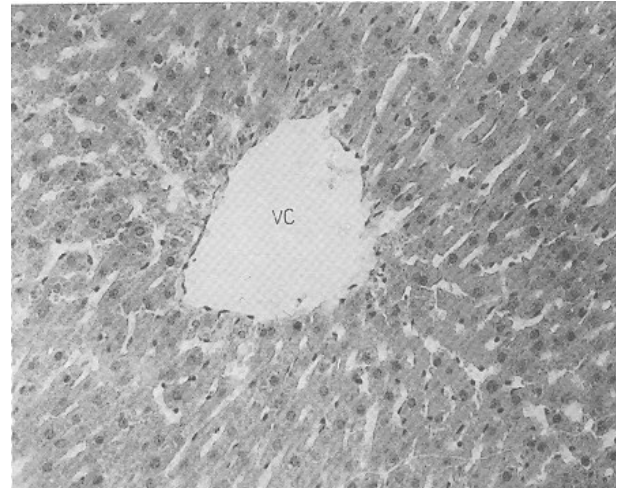
**Şekil 2.** Karnitin grubu siçan karaciğerinden vena centralis (VC) bölgesine ait görünüm.

Boyası: Hematoksilen-Eosin  
Orijinal Büyütme: 20X



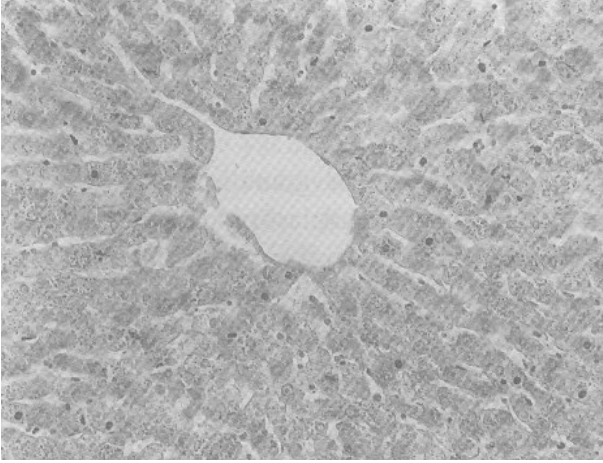
**Şekil 3.** Egzersiz grubuna ait karaciğer dokusunun vena centralis (VC) bölgesinin görünümü.

Boyası: Hematoksilen-Eosin  
Orijinal büyütmeye: 20X

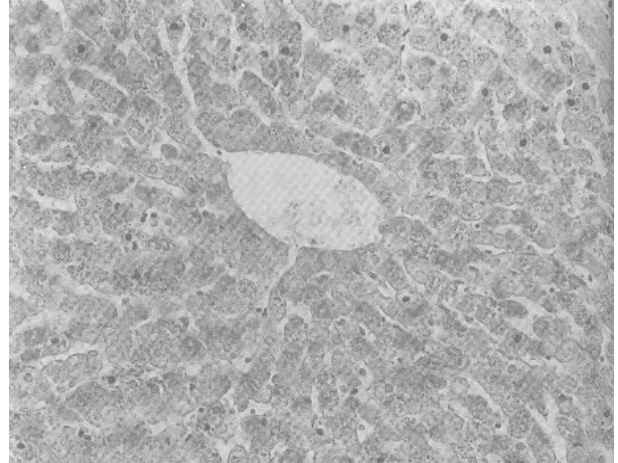


**Şekil 4.** Karnitin+Egzersiz grubu karaciğer dokusunun vena centralis (VC) bölgesinden elde edilen genel görünüm.

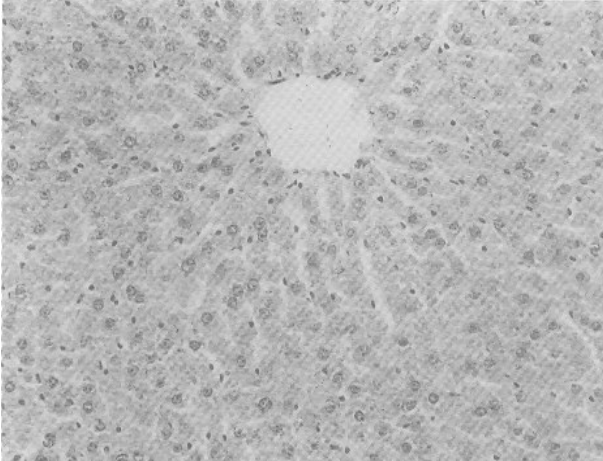
Boyası: Hematoksilen-Eosin  
Orijinal büyütmeye: 20X



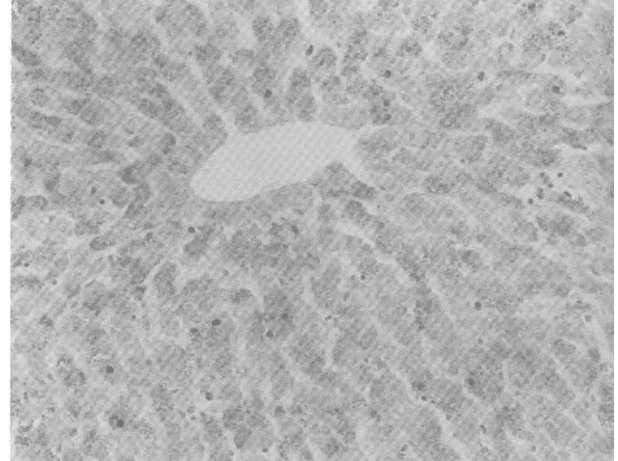
**Şekil 5.** Kontrol grubuna ait sıçan karaciğerinde, vena centralis (VC) ve glikojen granülleri (G) görülmektedir. Boyası: Best Karmin Orijinal büyütme: 20X



**Şekil 6.** Karnitin uygulanan karaciğer dokusuna ait görüntüm. Vena centralis (VC), glikojen granülleri (G). Boyası: Best Karmin Orijinal büyütme: 20X



**Şekil 7.** Egzersiz grubundan elde edilen karaciğer dokusunun vena centralis (VC) bölgesine ait görünüm. Boyası: Best Karmin Orijinal büyütme: 20X



**Şekil 8.** Karnitin+Egzersiz grubu karaciğer dokusuna ait genel görünüm. Vena centralis (VC) ve glikojen granülleri (G) Boyası: Best Karmin Orijinal büyütme: 20X

Hepatositlerdeki glikojen granüllerinde yoğunluğuna göre yapılan evreleme;

Kontrol grubunda evre 2 ve özellikle evre 3 hakimdi. Karnitin grubunda evre 3 ve özellikle evre 4 hakimdi. Egzersiz grubunda evre 1 bulguları hakimdi, nadiren de evre 2 bulgularına rastlandı. Karnitin+Egzersiz grubunda ise yer yer evre 4 bulgularına rastlanmakla birlikte evre 3 bulguları hakimdi.

Biyokimyasal olarak serum serbest karnitini egzersiz grubunda, diğer gruplara oranla anlamlı derecede azalmıştı ( $P < 0.001$ ). Plazma laktat düzeyi ise egzersiz grubunda, diğer gruplara oranla anlamlı derecede artmıştı ( $P < 0.001$ ) (bkz. Tablo 3).

### Tartışma ve Sonuç

Karnitin uzun zincirli yağ asitlerinin mitokondriye taşınmasını sağlayarak, oksidasyonunda rol

**Tablo 1.** Gruplardaki hepatositlerde glikojen içeriği

Gruplar	Glikojen granülü (+) olan hepatosit	Glikojen granülü (-) olan hepatosit	Toplam hepatosit
Kontrol (grup 1)	28	72	100
Karnitin (grup 2)	83	17	100
Egzersiz (grup 3)	11	89	100
Karnitin+Egzersiz (grup 4)	73	27	100

**Tablo 2.** Hepatositlerdeki glikojen içeriğinin istatistiksel değerlendirilmesi

Gruplar	Ki kare	
Grup 1 - 2	59.03	P<0.01
Grup 1 - 3	8.15	P<0.01
Grup 1 - 4	38.72	P<0.01
Grup 2 - 3	101.18	P<0.01
Grup 2 - 4	2.36	P>0.05
Grup 3 - 4	76.38	P<0.01

oyunar. Hızlı kasılan iskelet kasları, oksijen kaynaklarını çok çabuk tüketir ve anaerobik şartlarda oluşan pirüvat, sitrik asit siklusüne giremez ve laktata indirgenir. Ağır egzersizlerde, kaslardaki bu anaerobik metabolizmanın etkisi ile kas krampları hissedilir. Karaciğer, böbrek ve kalp, genelde laktatı alır ve okside eder. Ancak bu durum hipoksik koşullar altında gerçekleşebilir. Siliprandi ve arkadaşlarının gönüllüler üzerinde yaptığı bir çalışmada, 3 gün boyunca, egzersizden bir saat önce

oral karnitin verilmesinin (2 g/gün) plazma laktat ve pirüvat düzeyini düşürdüğü gösterilmiştir (14). Laschi'nin yaptığı çalışmada yoğun egzersizde 300 mg/kg karnitin verilmesinin iskelet kasları morfolojisinin korunmasında faydalı olduğu söylenmiştir (9). Buna bağlı olarak yapılan araştırmalar karnitin kullanımının yoğun egzersizlerde faydalı olabileceğini göstermiştir (6,7,12,15). Egzersiz yoğunluğunu tayin edebilmek için uygulanan yöntemlerden biri de laktat eşliğini ölçmektir. Yoğun müsküler egzersizlerde, aktif kaslardaki laktat üretiminin ve birikiminin artışına bağlı olarak, kan laktat düzeyi de artar (3,18,19). Bizim çalışmamızda da egzersiz grubunda plazma laktat düzeyinin anlamlı olarak artması (P<0.001), uygulanan egzersizin yüksek yoğunlukta olduğunu göstermektedir.

Egzersiz sırasında kas glikojeni tükenince, karaciğer glikojeni devreye girer. Karaciğer glikojeni de tükendiğinde, kan glikoz düzeylerinin düşmesine bağlı olarak, egzersiz kapasitesinde azalma olur (1). L-Karnitin, vücuttaki glikojen depolarının korunmasına yardımcı olarak, egzersiz kapasitesini arttırabilir. Bunu doğrular nitelikte siçanlara 750 mg/kg L-Karnitin enjekte edildikten sonra egzersiz yaptırılmış ve biyokimyasal açıdan glikojen depoları incelenmiştir (15). Egzersiz yaptırılan ve L-Karnitin uygulanmayan siçanlarda karaciğerdeki glikojen miktarı, egzersiz yaptırılan ve L-Karnitin uygulanan siçanlara oranla önemli ölçüde azalmıştır. Siçanlara karnitin verilmesi sonucu, karaciğerlerinde glikojen konsantrasyonu belirgin olarak yükseltilebilmiştir. Böylece karnitin, glikojen sentezinde önemli bir faktör olabileceği düşünülebilir.

Siçan karaciğerinde yaşamın ilk haftasında, laktasyonla birlikte yağ asitleri vücuda alınır ve karnitin aktivitesi başlar (20,21). Nishida ve

**Tablo 3.** Kontrol, karnitin, egzersiz ve karnitin+egzersiz gruplarında yapılan biyokimyasal ölçümlerin istatistiksel olarak değerlendirilmesi

Parametreler	Kontrol grubu (n:20)	Karnitin grubu (n:20)	Egzersiz grubu (n:20)	Karnitin + egzersiz grubu (n:20)	F	P
Serum serbest karnitini (µmol/l)	51.77±0.88	64.70±0.88	34.08±	54.51±2.75	1068.29	< 0.001
Plazma laktatı (mmol/l)	2.09±0.004	1.65±0.08	8.57±0.26	4.43±0.06	9560.02	< 0.001

arkadaşlarının yeni doğmuş sıçanların hepatosit kültürlerinde yaptığı bir çalışmaya göre; L-Karnitin, yeni doğan sıçanların kalp, iskelet kası ve karaciğer gibi organlarındaki karnitin konsantrasyonunu arttırdığı iddia edilmiştir (22).

Bizim çalışmamızda da egzersiz öncesi karnitin verilen grupta, karnitin verilmeyip egzersiz yaptırılan gruba göre karaciğer glikojen depolarının korunduğunu gözlemledik. Best Karmin metoduyla boyadığımız karaciğer preparatlarında kontrol, karnitin ve karnitin+egzersiz gruplarında glikojen granüllerini belirgin olarak tespit ettik. Ancak egzersiz grubunda glikojen granülleri normal karaciğerde görüldüğü gibi olmayıp belirgin bir azalma oldu. Bu bulgularımız literatürle uyum içerisindeydi (15). Ayrıca egzersiz grubunda serum serbest karnitin, diğer gruplara göre anlamlı şekilde azaldığını ( $P<0.001$ ) tespit ettik. Sonuç olarak yoğun muskuler egzersiz sonucunda azalan serum serbest karnitin düzeylerinin ve karaciğer glikojen depolarının, L-Karnitin verilmesiyle korunabileceğini gözlemledik.

#### KAYNAKLAR

1. Stamford R. Spor ve Tıp 1995; 12:32-3.
2. Üstüdal KM, Köker AH. Spor dallarında beslenme ve yüksek performans bilgisi. Can ofset matbaacılık. Kayseri, 1991: 22-6.
3. Mayes PA. Metabolism of glycogen and gluconeogenesis and control of the blood glucose. In: Harper's Biochemistry. Appleton and Lange, Connecticut, 1991: 135-40.
4. Siliprandi N, Di Lisa F. Metabolic changes induced by maximal exercise in human subjects following L-Carnitine administration. Biochem et Biophys Acta 1990; 1034:17-21.
5. Vecchiet L, Di Lisa F, Pieralisi G. Influence of L-Carnitine administration on maximal physical exercise. Eur J Appl Physiol 1990; 61:486-90.
6. Rebouche CJ. Carnitine metabolism and function in humans. Ann Rev Nutr 1986; 6:41-6.
7. Siliprandi N, Ciman M. Carnitine; Transport and function. Adv Clin Enzymol 1986; 4:93-102.
8. Decombaz JE. L-Carnitine supplementation, caffeine and fuel oxidation in the exercising rat. Nutr Res 1987; 3:923-33.
9. Laschi R. L-Carnitine and ischemia a morphological atlas of the heart and muscle, 1st ed. Fondazione Sigma-Tau, Pomezia 1987; 33-7.
10. Bahl JJ and Bressler R. The Pharmacology of Carnitine. Ann Rev Pharmacol Toxicol 1987; 27:257-77.
11. Hoppel C. The physiological role of carnitine. In: Ferrari R, Di Mauro S, Sherwood G. L-Carnitine and its role in medicine: from function to therapy. London: Academic Press, 1992: 5-19.
12. Carlin J, Reddan WE. Carnitine metabolism during prolonged exercise and recovery in humans. J Appl Physiol 1986; 61 (4):1275-78.
13. Pierrefiche G, Reynier M, Laborit H. Carnitine action neuromuscular disturbances in the fasting rat: potentiation by L-Lysine. Pharmacology 1993; 46:33-42.
14. Siliprandi N, Santorelli L, Ciman M, et al. Carnitine: metabolism and clinical chemistry. Clin Chim Acta 1989; 183:3-12.
15. Simi B, Mayet M, Sempore B, Favier RJ. Large variations in skeletal muscle carnitine level fail to modify energy metabolism in exercising rats. Comp Biochem 1990; 4:543-9.
16. Curto M, Piccinini M, Mioletti S, et al. Levels of carnitine and glycogen in rabbit tissues during development. Int J Biochem 1994; 2:163-9.
17. Sterio DC. The unbiased estimation of number and sizes of arbitrary particles using the disector. J Microscopy 1984; 134:127-36.
18. Hiatt WR, Regensteiner JG, Wolfel EE, et al. Carnitine and acylcarnitine metabolism during exercise in humans. J Clin Invest 1989; 84:1167-73.
19. Bangsbo BJ, Gollnick PD, Graham TE. Anaerobic energy production and O<sub>2</sub> deficit-debt relationship during exhaustive exercise in humans. J Physiol 1990; 422:539-59.
20. Tao R, Pech G, Yoshimura NN. Effect of carnitine on liver fat and nitrogen balance in intravenously fed growing rats. J Nutr 1981; 111:171-7.
21. Flores Ca, Hu C. Milk carnitine effects organ carnitine concentration in newborn rats. Journal of Nutrition 1996; 126(6):1673-82.
22. Nishida N, Sugimoto T, Taakeuchi T, Kobayashi Y. Effect of L-Carnitine on glycogen synthesis and ATP production in cultured hepatocytes of the newborn rat. J Nutr 1989; 119(11):1705-08.