

DİYABETİN VE KARNOZİNİN KEMİK YAPISI VE MİNERAL YOĞUNLUĞU ÜZERİNE ETKİLERİ
EFFECTS OF DIABETES AND CARNOSINE ON BONE STRUCTURE AND MINERAL DENSITY

ARAŞTIRMA YAZISI

2013; 23: 203-209

Arzu YAY¹, Esra BALCIOĞLU¹, Hande YAPIŞLAR², Saim ÖZDAMAR¹

¹Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji AD, Kayseri

²İstanbul Bilim Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji AD, İstanbul

Özet:

Bu çalışmada streptozotocin (STZ) ile oluşturulan diyabetin sıçan femurundaki kemik yapısı ile mineral yoğunluğunda oluşturduğu değişiklikler ve bu değişiklikler üzerine karnozinin yararlı etkisinin olup olmadığını belirlemek amaçlanmıştır.

Çalışmada 32 adet 350-400 gr ağırlığında *Wistar* türü erkek sıçan kullanıldı. Kontrol, karnozin, diyabet ve diyabet+karnozin grubu olmak üzere dört farklı grup oluşturuldu. Deneden üç hafta sonra sıçanların sağ femurları çıkarıldı. Uzun eksenine paralel kesilen kemik dokusu taramalı elektron mikroskobu için hazırlandı ve ve back scattered electron (BSE) modunda görüntüldü. Ayrıca, energy-dispersive system (EDS) ile mineral analizleri yapıldı.

Taramalı elektron mikroskobu ile yapılan incelemelerde, kontrol, diyabetik, karnozin ile diyabetik-karnozin gruplarına ait kemik yapısı ve trabekül kalınlıkları arasında belirgin bir farklılık yoktu. Hem diyafiz hem de epifiz bölgesi kemik mineral dansitesi (KMD) açısından karşılaştırıldığında; gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu.

Sonuç olarak, STZ ile oluşturulan diyabetin KMD'de azalmaya yol açtığı ancak karnozinin bu değişimi etkilemediği görülmüştür.

Anahtar kelimeler: Diyabet, karnozin, kemik mineral yoğunluğu; taramalı elektron mikroskobu

GİRİŞ

Diyabetes mellitus (DM) pek çok sistemi etkileyen akut ve kronik komplikasyonlar ile seyreden kronik bir hastalıktır. Diyabetik hastalarda hiperglisemi nedeni ile zamanla kronik toksisite gelişmekte ve ortaya çıkan doku hasarına bağlı

Summary:

This study aims to determine the effects of streptozotocin-induced diabetic on mineral density and bone structure in the femur of rat and whether of carnosine has a beneficial effect on these changes.

In this study, 32 male *Wistar* rats weighing 350-400 gr were used. Four different groups were formed including control, carnosine, diabetes and diabetes+carnosine. After three weeks from experiment, right femurs of the rats were removed. The bone tissues cut parallel to long axis were observed by scanning electron microscope in back scattered electron (BSE) mode. Additionally, mineral analysis was performed with energy-dispersive system (EDS).

In observations with scanning electron microscopy, no significant difference of bone structure and trabecular thickness was found between control, diabetic, carnosine with diabetic-carnosine groups. When we compared all the groups in terms of bone mineral density (BMD) neither the diaphysis nor the epiphysis of femur was statistically significant.

As a result, streptozotocin-induced diabetes caused decrease in BMD, but this change, was not affected by carnosine.

Key words: Diabetes, carnosine, bone mineral density, scanning electron microscopy

olarak gelişen nefropati, retinopati, nöropati, kalp-damar hastalıkları, ateroskleroz, metabolizma bozuklukları gibi komplikasyonlar bireyin yaşam kalitesini düşürmektedir. Diyabetin kontrol altında tutulması ve bu komplikasyonların önlenmesi

Makale Geliş Tarihi : 15.07.2013

Makale Kabul Tarihi:02.12.2013

Corresponding Author: Arzu YAY, Öğr.Gör.Dr.

Phone: 0 352 207 66 66- 207 66 60

Fax: 0 352 437 76 27

E-mail: arzu.yay38@gmail.com

hastanın yaşam kalitesini arttıracaktır (1).

Diyabetin neden olduğu komplikasyonların incelenmesi ve tedavi yaklaşımlarının belirlenmesinde deneysel diyabet modellerinin önemli bir yeri vardır. Streptozotosinin (STZ) pankreatik β hücrelerine olan spesifik toksisiteleri nedeniyle, diyabetojenik ajan olarak kabul edilmektedir ve bu nedenle deneysel diyabet çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadır (2,3). STZ pankreasta serbest radikal temizleyicisi olan superoksit dismutazı inhibe eder ve serbest radikallerin birikmesi sonucu β hücrelerini yıkıma uğratarak diyabet oluşturur. Diyabetik hastalarda iskelet ve kemik metabolizmasının etkilendiği uzun süredir bilinmektedir. Buna bağlı olarak STZ enjeksiyonunu takiben kemik üretimi azalır ve sonuçta osteoid matriks ve kemik oluşumunda azalma görülür (4). Ayrıca, kemik mineral yoğunluğundaki (KMD) kayıp DM'un kronik komplikasyonlarından biri olarak kabul edilmektedir (5).

Karnozin, vücutta endojen olarak sentezlenen histidin türevi, multifonksiyonel bir dipeptiddir. Beyin, iskelet ve kalp kası gibi uyarılabilen dokularda yüksek konsantrasyonlarda bulunmaktadır (6). Karnozinle ilgili pek çok çalışma ve teori olmasına rağmen, karnozinin biyolojik etkileri hala gizemini korumaktadır (1). Son yıllarda yapılan araştırmalar karnozinin, hücreleri oksidatif stres hasarına karşı koruyucu etkisinden başka, kültüre edilmiş hücrelerin yaşam süresini uzattığı, proteinlerin ve DNA'nın glikozilasyonunu inhibe ettiği ve hücrel homeostazın korunmasına yardımcı olduğunu göstermiştir (7-9).

Karnozin, kalp hastalıkları, felç, periferde arter sertleşmesi, böbrek ve göz problemleri gibi birtakım komplikasyonların riskini azalttığı için diyabetli hastalara önerilen bir diyet takviyesidir (9,10). Buna bağlı olarak, STZ ile oluşturulan diyabetli sıçanların kemik yapısındaki değişimleri üzerine karnozinin iyileştirici etkisinin olabileceği düşünülmüştür. Bu nedenle bu çalışmada, STZ ile oluşturulan diyabetin sıçan kemik yapısındaki değişiklikler ve karnozinin bu değişiklikler üzerine etkisinin olup olmadığının taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak incelenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada Erciyes Üniversitesi Hakan Çetinsaya Deneysel Klinik Araştırma Merkezi'nde yetiştirilen beş aylık 32 adet erkek *Wistar* albino sıçan (410 ± 36 gr) kullanıldı. Çalışma öncesinde Erciyes Üniversitesi Etik Kurulu'ndan izin alındı. Sıçanlar her biri sekiz denekten oluşan dört gruba ayrıldı ve tüm enjeksiyonlar intraperitoneal olarak yapıldı.

dı.

Araştırma Grupları

1. Kontrol Grubu: yedi gün süreyle her gün serum fizyolojik (% 0.9 NaCl) (1ml/kg) uygulanan grup,
2. Karnozin Grubu: 50 mg karnozin 4 ml serum fizyolojik içerisinde çözülürken yedi gün boyunca uygulanan grup (11).
3. STZ diyabet oluşturulan grup: Tek doz 200 mg STZ (4 ml serum fizyolojik içerisinde çözülmüş) uygulanan grup.
4. STZ + Karnozin Grubu: STZ ile diyabet oluşturulduktan sonra yedi gün süre ile karnozin (50mg/kg/gün) uygulanan grup.

Bütün enjeksiyonlar, her gün aynı saatte yapılmıştır. Çalışmada kullanılan karnozin (L-Carnosine, Fluka) ve STZ (Sigma), serum fizyolojik içerisinde çözülürken hazırlanmıştır. Diyabet oluşturulmuş gruplarda STZ enjeksiyonundan üç gün sonra sıçanların kan glukoz düzeyleri glukometre (Gluko Dr) ile ölçülerek diyabet olup olmadıkları kontrol edilmiştir. Sıçanın kuyruk veninden alınan kan glukometre kartlarına (strip) damlatılıp glukometre cihazına yerleştirilerek kan glukoz değerleri okunmuştur. Kan glukoz düzeyleri 250 mg/dl'nin üzerinde olan hayvanlar diyabetli olarak kabul edilmiştir. Çalışma 32 adet sıçanla başlatılmış, diyabet sonucu ölen sıçanların olması sebebiyle, 24 adet sıçanla tamamlanmıştır. Diyabet olmamış olan sıçanlara ilave doz verilerek aynı işlem uygulanmıştır. Sıçanlar, enjeksiyonların başlamasından üç hafta sonra anestezi altında uyutularak, her bir sıçanın sağ femuru elektron mikroskobik inceleme için uygun yöntemlerle çıkarıldı. Alınan kemiklerdeki yumuşak dokuların uzaklaştırılması için 37 °C'de 48 saat % 1'lik deterjanda (sodium dodecyl sulphate) bekletildi. Distile su ile altı saat yıkandıktan sonra aseton serilerinden (iki saat ve 48 saat) geçirilen kemikler etere (24 saat) alınarak yağlarından arındırıldı. Altın-paladyum ile kaplanan kemikler LEO 440 taramalı elektron mikroskobunda 20 kV'de BSE modunda görüntülendi. Ayrıca, femurun hem diyaforik hem de epifiz bölgelerinden EDX ile fosfat (P), kalsiyum (Ca) ve magnezyum (Mg) analizleri yapıldı.

İstatistiksel Analiz

Çalışma gruplarından elde edilen parametreler SPSS 15.0 (Statistical Package for the Social Sciences) programı kullanılarak değerlendirildi. Gruplar arasındaki farklılıkları belirlemek için tek yönlü varyans analizi (Çoklu karşılaştırma testi:

Tukey) testi kullanılmıştır. $p < 0.05$ değerleri istatistiksel açıdan önemli kabul edildi.

BULGULAR

Diyabet oluşturulan sıçanların ağırlıklarında, diyabet öncesine göre anlamlı bir azalma olduğu tespit edilirken diğer gruplarda, enjeksiyonların bitimini takiben ölçülen sıçan ağırlıklarında enjeksiyon öncesine göre belirgin bir farklılık yoktu (Tablo I). Diyabet oluşturulan sıçanlarda kan glukoz düzeyleri (440 mg/dl) kontrol grubuna ait sıçanlara göre (100 mg/dl) anlamlı düzeyde artmıştı.

SEM'de incelenen femur başlarındaki trabekül kalınlıkları ölçüldüğünde; grupların ortalamaları arasında belirgin bir fark görülmemektedir. En fazla ortalama farkı kontrol ve karnozin grupları arasında bulunmuştur (Tablo II).

SEM incelemelerinde, hem epifiz hem diyafiz bölgelerine ait kemik dokularının morfolojik yapıları karşılaştırıldığında gruplar arasında bir farklılık görülmedi. Bütün gruplarda kemik yapısı; epifiz bölgesinin dış kısmında ince bir kompakt kemik tabakası şeklinde gözlenmektedir. Orta kısımda ise trabeküllerden oluşan süngerimsi kemik yer almaktadır. Epifiz bölgesinden elde edilen SEM görüntülerinde deney grupları kontrol grubuna benzer trabeküler yapı gösteriyordu (Şekil 1-3-5-7) ve trabekül yapılarında herhangi bir incelleme mevcut değildi (Tablo II). Diyafiz bölgesinin kemik iliği boşluğuna bakan yüzünde kan damarlarını taşıyan ve kemiğin uzun eksenine dik uzanan volkman kanallarının açılma bölgeleri görülmekte-

dir. Diyafizin kompakt kemikten oluşan periosteuma bakan dış yüzünde ise lakünalar içine yerleşmiş olan osteositler yer almaktadır ve havers kanalları yuvarlak açıklıklar şeklinde gözlenmektedir (Şekil 2-4-6-8).

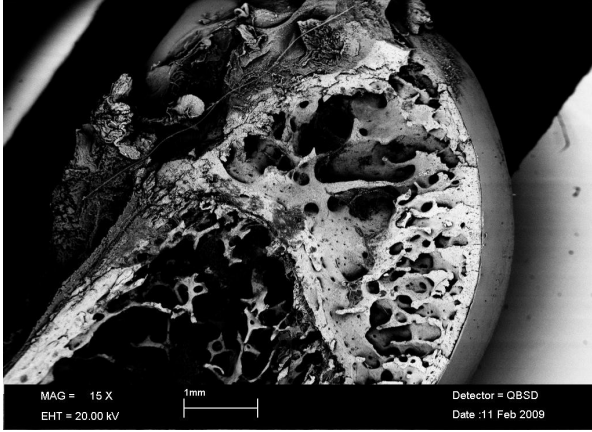
Kontrol ve deney grupları kemik mineral yoğunluğu açısından değerlendirildiğinde, gruplara ait sağ femurun epifiz ve diyafiz bölgesindeki ortalama P^+ miktarı bakımından gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmadığı ve deney gruplarındaki diyafiz ile epifiz bölgesindeki P^+ miktarının kontrole yakın olduğu gözlemlendi. Benzer şekilde, epifiz ve diyafiz bölgelerindeki Mg^{++} içeriği bakımından deney grupları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, ortalama Mg^{++} yoğunluğu açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunamadı ($p > 0.05$). Elde edilen sonuçlara dayanarak karnozin verilen diyabet grubunda P^+ ve Mg^{++} miktarı açısından karnozinin herhangi bir etkisinin olmadığı gözlemlenmiştir. Kalsiyum kemiklerin oluşumunu ve sağlamlığını sağlayan zorunlu minerallerden biridir. Çalışmamızda, kontrol ve deney gruplarının ortalama kalsiyum miktarı yönünden de karşılaştırması yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, kontrol grubu ile diyabet ve karnozin verilen diyabet grupları arasında ortalama kalsiyum miktarı bakımından farklılık vardı ve bu istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0.05$). Sonuçlara göre, kontrol grubu ile sadece karnozin verilen gruplarda, hem epifiz hem de diyafiz bölgelerindeki ortalama kalsiyum iyon yoğunluğu benzer değerlere sahip iken, diya-

Tablo I: Sıçanların Enjeksiyon Öncesi ve Sonrası Vücut Ağırlıkları

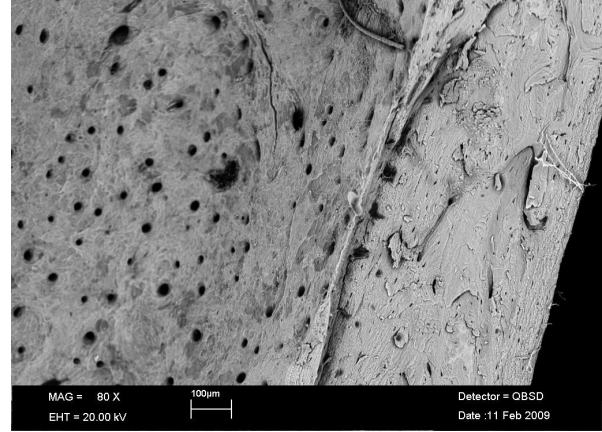
Gruplar	Vücut Ağırlığı (g)		n
	Enjeksiyondan Önce	Enjeksiyondan Sonra	
	$\bar{x} \pm ss$	$\bar{x} \pm ss$	
Kontrol grubu	420±12	426±16	8
Karnozin grubu	418±15	421±19	8
Diyabet +Karnozin grubu	409±12	341±19	8
Diyabet grubu	417±22	338±17	8

Tablo II: Araştırma Gruplarının Trabekül Kalınlığı Açısından Karşılaştırılması

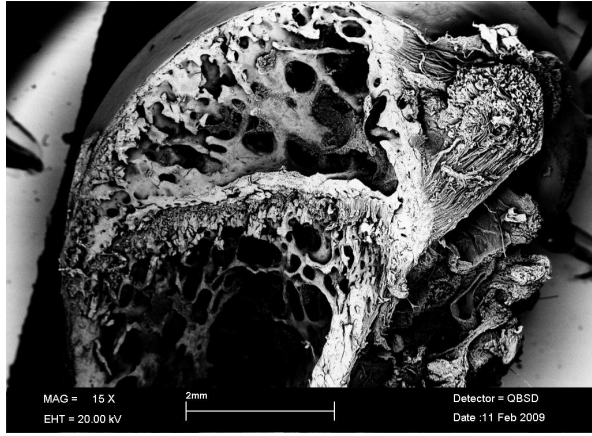
Gruplar	Trabekül Kalınlığı (μm)	
	$\bar{x} \pm ss$	n
Kontrol grubu	81±7.05	8
Karnozin grubu	73±6.40	8
Diyabet +Karnozin grubu	75±5.90	8
Diyabet grubu	75±7.29	8



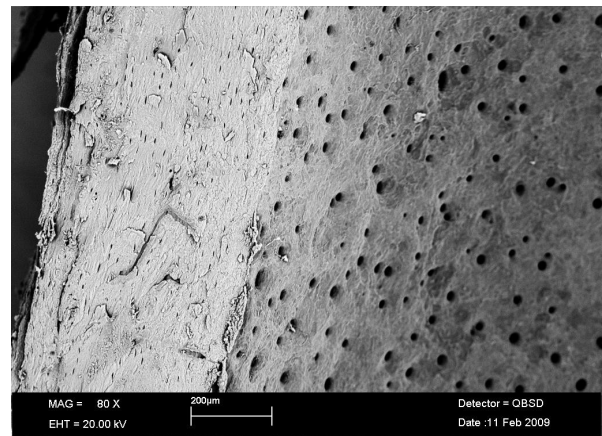
Şekil 1: Kontrol grubuna ait femurun epifiz bölgesinden görünüm.



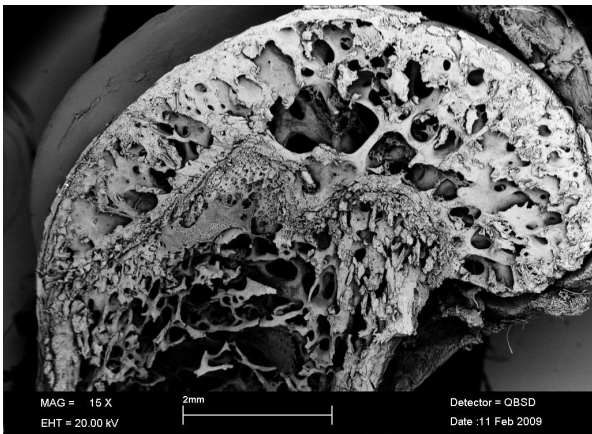
Şekil 2: Kontrol grubuna ait femurun diyafiz bölgesinin elektron mikrofrafı.



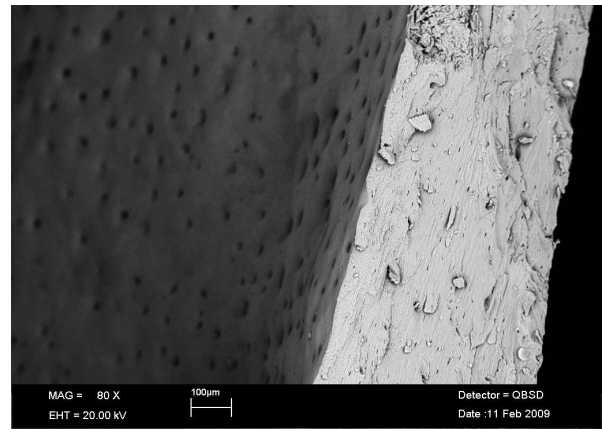
Şekil 3: Diyabet grubunda epifizin görünümü.



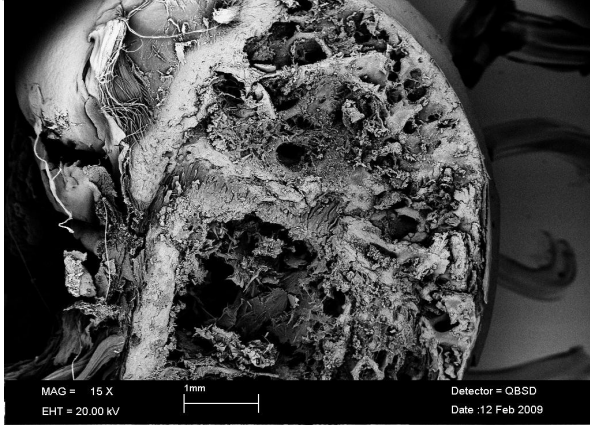
Şekil 4: Diyabet grubu femurunda diyafiz bölgesinden görünüm.



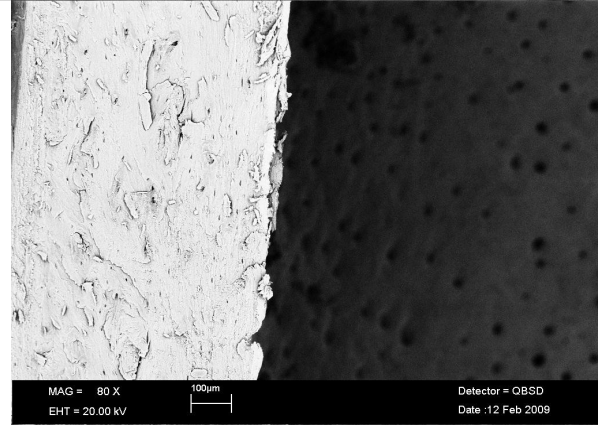
Şekil 5: Karnozin grubuna ait femurun epifiz bölgesinin elektron mikrofrafı.



Şekil 6: Karnozin grubu diyafizinin elektron mikroskobik görünümü.



Şekil 7: Karnozin + Diyabet grubunun epifiz bölgesinden görünüm.



Şekil 8: Karnozin+ Diyabet grubunda diyafiz bölgesinin elektoron mikrografi.

Tablo III: Araştırma Gruplarının Kalsiyum, Magnezyum ve Fosfor Değerleri Açısından Karşılaştırılması

Diyafiz Bölgesi					
Değişkenler	Kontrol Grubu $\bar{x} \pm SS$	Diyabet Grubu $\bar{x} \pm SS$	Karcnozın Grubu $\bar{x} \pm SS$	Karcnozın+Diyabet Grubu $\bar{x} \pm SS$	p
Ca	29.383±2.26 ^a	24.625±1.76 ^b	29.971±1.12 ^a	24.688±1.33 ^b	0.001
Mg	0.263±0.08	0.223±0.02	0.220±0.11	0.226±0.09	0.731
P	12.317±1.09	12.323±1.236	12.323±1.236	11.176±1.15	0.157
Epifiz Bölgesi					
Değişkenler	Kontrol Grubu $\bar{x} \pm SS$	Diyabet Grubu $\bar{x} \pm SS$	Karcnozın Grubu $\bar{x} \pm SS$	Karcnozın+Diyabet Grubu $\bar{x} \pm SS$	p
Ca	29.721±1.99 ^a	25.826±2.03 ^b	31.005±2.19 ^a	26.995±1.59 ^b	0.001
Mg	0.208±0.06	0.188±0.07	0.187±0.06	0.185±0.04	0.866
P	12.925±2.07	12.977±1.90	12.247±1.16	9.755±1.94	0.004

Çoklu karşılaştırma test sonucuna göre (Tukey) her bir satırdaki değişkenin ortalama ± standart sapma ($\bar{x} \pm SS$) üzerindeki üst simgeler aynı harften oluşmuş ise ikili karşılaştırma sonucunda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın bulunmadığını; farklı harfler ise anlamlı bir farklılığın olduğunu gösterir.

bet grubu ve diyabet+karcnozın gruplarındaki, ortalama kemik kalsiyum yoğunlukları da birbirine benzerdi (Tablo III). Bu verilere dayanarak çalışmamızda, diyabetin kemikteki kalsiyum seviyesini düşürdüğü ve karcnozının olumlu bir etkisinin olmadığı görüldü.

TARTIŞMA

Diyabette, pankreasın insülin salgılayan β hücrelerinin harabiyeti sonucu insülin düzeylerinin azaldığı bilinmektedir. Diyabetin neden olduğu komplikasyonlarının incelenmesi ve tedavi yaklaşımlarının belirlenmesinde deneysel diyabet modelleri önemli bir yer tutmaktadır (2). STZ, pankreasta serbest radikal temizleyicisi olan süperoksit dismutazı inhibe eder ve böylece serbest radikallerin birikmesi sonucu β hücrelerini yıkıma uğratar. STZ enjeksiyonunu takiben kemik üretimi azalır ve sonuçta osteoid matriks ve kemik oluşumunda azalma görülür (12).

Osteoporoz düşük kemik kütlesi, kemik dokusunun mikro mimari düzeyde bozulması ve bunu izleyen kemik kırılabilirliğinde artış ve kırığa yatkınlık ile karakterize sistemik bir iskelet hastalığıdır (13). KMD'de kayıp mekanizması tam olarak belirlenmemekle birlikte, Tip 2 diyabetin kronik komplikasyonlarından biri olarak kabul edilmektedir (5). Diyabet olan bireyler sıklıkla aynı yaş, cinsiyet, boy ve ağırlığa sahip normal sağlıklı bireyler ile karşılaştırıldığında; düşük değerlerde kemik yoğunluklarına sahip olduğu tespit edilmiştir (2). Albright ve Reifenstein (14) ilk defa DM ve osteoporoz birlikteliğini gündeme getirmişken, Meema ve ark. (15) da diyabetin osteoporoz benzer bir klinik tablo oluşturduğunu ortaya koymuşlardır. Diyabetik hayvanlar ve insanlarda kemik ve mineral metabolizmasının değiştiği ve bunun kısmen insülin tedavisi ile düzeltilebileceği literatürde gösterilmiştir (16).

Birçok antioksidan (E ve C Vitaminleri gibi) ser-

best radikallerin vücuda girmesinin engellenmesinde etkilidir. Karnozin sadece serbest radikallerin doku ve hücrelere girmesinin engellenmesinde değil aynı zamanda serbest radikallerin reaksiyonlarıyla oluşan tehlikeli bileşiklere karşı da etkilidir. Böylelikle dokuları ikinci bir tehlikeden korumaktadır (17,18). Karnozinle ilgili pek çok çalışma ve teori olmasına rağmen, karnozinin biyolojik etkileri halen gizemini korumaktadır. Yapılan bir çalışmada, karnozinin vücutta antioksidan, tampon, immün sistem güçlendirici ve nörotransmitter olarak etki ettiği gösterilmiştir (19). Karnozin, kalp hastalıkları, felç, periferde arter sertleşmesi, böbrek ve göz problemleri gibi bir takım komplikasyonların riskini azalttığı için diyabetli hastalara önerilen bir diyet takviyesidir (9,10). Yapılan hayvan deneylerinde, vücutlarında az miktarda karnozin bulunan diyabetik gebe sıçanların diyabetik yavru meydana getirme riskleri düşük bulunmuştur. Bu veri karnozinin fetal glikoz toleransını artırdığı şeklinde açıklanmıştır. Böylelikle karnozin diyabetik anneler için iyi bir besin takviyesi olabilir. Diyabetli sıçanlarda yapılan başka bir çalışmada ise karnozinin diyabetli eritrositlerin hemolitik stabilitesini artırdığı gösterilmiştir (20,21). Karnozinin diyabette multi-fonksiyonel bir antioksidan olarak diyabetik komplikasyonların önlenmesinde ve tedavisinde kullanılabileceği gösterilmiştir. Karnozinin, derideki fibroblastlarda meydana gelen yaşlanma belirtilerini geri dönüştürücü ve bu hücrelerin yaşam süresini uzatıcı etkisi vardır. Karnozinin bu etkiyi telomeraz kısılama sürecini azaltarak ve DNA hasarını inhibe ederek yaptığı düşünülmektedir (22,23). Alkolikler üzerinde yapılan bir çalışmada ise, karnozinin alkoliklerde eritrosit stabilitesini artırdığı, membran yapısını güçlendirdiği ve hemolize karşı dayanıklılık sağladığı bildirilmiştir. Karnozinin bu etkiyi eritrosit membranına entegre olarak yaptığı düşünülmektedir (23). Karnozinin bu iyileştirici etkilerine bağlı olarak çalışmamızda diyabet, karnozin ve diyabetik-karnozin grupları arasında, kemik yapısı ve KMD açısından SEM kullanılarak değerlendirilmeler yapılmıştır.

Tip I diyabetlilerde KMD'nin kontrol grubuna göre düşük olduğu bildirilmektedir (2). Tip II diyabetlilerde ise, osteoporoz riski normal veya yüksek KMD değerlerini gösteren çelişkili sonuçlar mevcuttur (3-4). Tip II diyabetliler ile kontrol grubu karşılaştırıldığında; Tip II diyabetlilerin daha düşük KMD sahip olabildikleri görülmüştür (24,25). Bu durumun osteoblastik aktivitenin azalması ve kollajen sentezinin olumsuz etkilenmesi gibi olaylara bağlı olarak gerçekleştiği belirtilmiştir (26). Mevcut çalışmada, sıçan femuruna ait epifiz ve diyafiz bölgelerinde P^+ ve Mg^{++} miktarı bakımından kontrol ve deney grupları arasında anlamlı bir

farklılık bulunamamıştır. Gruplar sağ femurdaki kalsiyum miktarı açısından değerlendirildiğinde, kontrol grubu ve karnozin verilen deney grubunun epifiz ve diyafiz bölgesindeki ortalama kalsiyum miktarının, diyabet grubu ve karnozin verilen diyabet grubuna ait kemik dokusundaki ortalama kalsiyum miktarına göre daha yüksek olduğu belirlendi. Çalışmadan elde edilen verilere göre KMD bakımından, karnozin grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılığın görülmemesi ve diyabet grubu ile karnozin verilen diyabet grupları arasında da anlamlı bir farklılığın bulunmaması karnozinin olumlu yönde bir etkiye sahip olmadığı düşüncesini doğurmuştur.

Diyabetik hastalarda iskelet ve kemik metabolizmasının etkilendiği uzun süredir bilinmektedir ve osteoporoz için olası bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir. Ancak bu soruna ilişkin bilgiler halen netlik kazanmamıştır. Diyabetli olguların yaşam süresinin uzaması ve yaşlı diyabetik popülasyonun artışı, olguların yaşam kalitesini yükseltebilmek için diyabetik osteopeni sorununa etkili bir çözüm gerekliliğini gündeme getirmiştir. Karnozinin beyin, iskelet ve kalp kası gibi farklı dokular üzerinde iyileştirici etkisinin olduğunun gösterilmesine rağmen (6) çalışmamızda, diyabetin kemik dokusundaki ortalama kalsiyum miktarını azalttığı ve karnozinin diyabetli kemikteki azalan kalsiyum miktarı üzerinde olumlu bir etkiye sahip olmadığı gözlenmiştir. Bu yönde daha uzun süreli çalışmaların yapılması ile daha anlamlı bilgilerin elde edilebileceğini düşünüyoruz.

KAYNAKLAR

1. Boldyrev A, Severin SE. The histidine containing dipeptides carnosine and anserine: distribution, properties and biological significance. *Adv Enzyme Regul* 1990; 30: 175-194.
2. Mathiassen B, Nielsen S, Ditzel J, Rodbro P. Longterm bone loss in insulin dependent diabetes mellitus. *J Intern Med* 1990; 227:325-327.
3. Baret-corner E Holbrook TL. Sex differences in osteoporosis in older adults with non-insulin dependent diabetes mellitus. *JAMA* 1992; 268: 333-337.
4. Leiding-Bruckner G, Ziegler R. Diabetes mellitus a risk for osteoporosis? *Exp. Clin. Endocrinol Diabetes* 2001; 109:493-514.
5. Takizawa M, Kameyama K, Maruyama M, Ishida H. Bone loss in type 2 diabetes mellitus-diabetic osteopenia. *Nippon Rinsho* 2003; 61:287-291.
6. Gulewitsch W, Amiradzibi S. Über das carnosin, eine neue organische base des fleischextractes. *Ber Dtsch Chem Ges* 1990; 33:1902-1903.
7. Bakardijev A, Bauer K. Biosynthesis, release and uptake of carnosine in primary cultures.

- Biochemistry 2000; 6:779-782.
8. Boldyrev AA. Problems and perspectives in studying the biological role of carnosine. *Biochemistry* 2000; 65:751-756.
 9. Brownson C, Hipkiss AR. Carnosine reacts with a glycated protein. *Free Radic Biol Med*. 2000; 28: 1564-1570.
 10. Nagai K, Nijima A, Yamano T, Otani H, Okumra N et al. Possible role of L-carnosine in the regulation of blood glucose through controlling autonomic nerves. *Exp Biol Med* 2003; 228: 1138-1145.
 11. Kurealla EG, Maltseva VV, Seslavina LS, Stvolinskii SL. Stimulating action of carnosine on hematopoietic stem cells. *Bull Exp Biol Med* 1991; 112: 966-968.
 12. Akpan JO. Reduction in blood and urine glucose levels in streptozotocin and alloxan diabetes by phenazine methosulfate. *Acta Diabetol Lat* 1989; 26:195-201.
 13. Sözen T. TEMD Osteoporoz ve Diğer Metabolik Kemik Hastalıkları Çalışma Grubu. Osteoporoz. Sık Görülen Metabolik Kemik Hastalıkları Kullanım Klavuzu 2008; ss 9-25.
 14. Albright F, Reifestein EC. Parathyroid glands and metabolic bone disease. Selected studies. Williams and Wilkins Company. Baltimore 1948; 150: 162.
 15. Meema EF, Meema S. The relationship of diabetes mellitus and body weight to osteoporosis in elderly females. *Can Med Ass J* 1967; 96: 132-139.
 16. Loder RT. The influence of diabetes mellitus on the healing of closed fractures. *Clin Orthop Relat Res* 1988; 232: 210-216.
 17. Gulyaeva NV, Dupin AM, Levshina IP. Carnosine prevents activation of free-radical lipid oxidation during stress. *Bull Exp Biol Med* 1989; 107: 148-152.
 18. Dahl TA, Midden WR, Hartman PE. Some pravelent biomolecules against singlet oxygen damage. *Photochem Photobiol* 1988; 47: 357-362.
 19. Boldyrev A, Severin SE. The histidine containing dipeptides carnosine and anserine: distribution, properties and biological significance. *Adv Enzyme Regul* 1990; 30: 175-194.
 20. Yang ZC, Xia K, Wang L, Jia SJ, Li D et al. Asymmetric dimethylarginine reduced erythrocyte deformability in streptozotocin-induced diabetic rats. *Microvasc Res* 2007; 73: 131-136.
 21. Korobov VN, Maurisio RB, Mukalov IO, Stvolinski SL. Carnosine stabilization of the normal erythrocyte membranes and in experimental diabetes. *Pathol Physiol Exp Ther* 2000; 2: 13-15.
 22. Quinn PJ, Boldyrev AA, Formazyuk VE. Carnosine: its properties, function and potential therapeutic applications. *Mol Aspects Med* 1992; 13: 379-444.
 23. Hipkiss A. Carnosine, a protective anti-aging peptide? *Int J Biochem* 1998; 30: 863-868.
 24. Kao CH, Tsou CT, Chen CC, Wang SJ. Bone mineral density in patients with noninsulin dependent diabetes mellitus by dual photon absorptiometry. *Nuc Med. Common* 1993; 14: 373-377.
 25. Krakauer JC, McKenna MJ, Buderer NF, Rao DS, Whitehouse FW, Parfitt AM. Bone loss and bone turnover in diabetes. *Diabetes* 1995; 44: 775-782.
 26. Tuna S, Çetin G, Gökcan G. Tip II diyabetiklerde kemik mineral dansitesinin (KMD) değerlendirilmesi. *İstanbul Tıp Dergisi* 2004; 4: 23-24.