



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**DENEYSEL TIP I DİYABETES MELLİTUS MODELİNDE
İSKELET KASI ATROFİSİ ÜZERİNE ANTRENMANIN
ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

Yakup TATAR

**FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Erhan NALÇACI**

**ANKARA
2019**

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DENEYSEL TIP I DİYABETES MELLİTUS MODELİNDE
İSKELET KASI ATROFİSİ ÜZERİNE ANTRENMANIN
ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Yakup TATAR

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Erhan NALÇACI

İKİNCİ DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Ali Doğan DURSUN

Bu araştırma Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü'nün
15A0230006 proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA

2019

Etik Beyan

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Deneysel Tip I Diyabetes Mellitus Modelinde İskelet Kası Atrofisi Üzerine Antrenmanın Etkisinin İncelenmesi” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir. Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Yakup TATAR

Tarih:

İmza:

KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Fizyoloji Anabilim Dalında
Yakup TATAR tarafından hazırlanan
“Deneysel Tip I Diyabetes Mellitus Modelinde İskelet Kası Atrofisi Üzerine Antrenmanın Etkisinin İncelenmesi” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından DOKTORA TEZİ olarak OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 17.04.2019

Prof.Dr. Metin BAŞTUĞ
Ankara Üniversitesi
Jüri Başkanı

Prof.Dr. Erhan NALÇACI
Ankara Üniversitesi
Raportör

Prof.Dr. Bizden SABUNCUOĞLU
Ankara Üniversitesi
Üye

Prof.Dr. Haydar DEMİREL
Hacettepe Üniversitesi
Üye

Doç.Dr. Şevin GÜNEY
Gazi Üniversitesi
Üye

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Prof.Dr. Mehmet AKAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	i
Kabul ve Onay	ii
İçindekiler	iii
Önsöz	vi
Simgeler ve Kısaltmalar	viii
Şekiller	x
Çizelgeler	xii
1. GİRİŞ	1
1.1. Diabetes Mellitus Sınıflaması	2
1.1.1. Tip 1 Diabetes Mellitus	2
1.1.2. Tip 2 Diabetes Mellitus	3
1.2. Diabetes Mellitus Komplikasyonları	4
1.2.1. Akut Komplikasyonlar	5
1.2.2. Kronik Komplikasyonlar	6
1.2.2.1. Kronik Mikrovasküler Komplikasyonlar	6
1.2.2.2. Kronik Makrovasküler Komplikasyonlar	10
1.2.3. Kas Atrofisi	10
1.3. İskelet Kasında İnsulin Sinyal Yolu	11
1.4. İskelet Kası Regülasyonu ve Atrofi	15
1.5. İskelet Kas Kütlesini Düzenleyen Mekanizmalar	16
1.5.1. Ubikuitin Proteazom Sistemi	16
1.5.2. Otofaji-Lizozom Sistemi (ALS)	18
1.6. Tip 1 Diyabette Protein Metabolizması ve Kas Kütlesi	20
1.7. Egzersiz	21
1.7.1. Egzersiz Tipleri	22
1.7.2. Egzersiz ve Enerji	23
1.7.3. Egzersiz ve Kas Lifleri	24
1.8. Amaç ve Hipotez	27

2. GEREÇ ve YÖNTEM	32
2.1. Deney Hayvanları	32
2.2. Deneysel Tip I Diyabet Oluşturulması	33
2.3. Kan Glukozu ve Ağırlık Ölçümleri	33
2.4. Egzersiz Protokolü	33
2.5. Dokuların Alınması	37
2.6. Kas Yaş-Kuru Ağırlık ve Nem Tayini Ölçümleri	38
2.7. Kas Dokularından Akt1, Akt2, FoxO1 Protein Düzeylerinin ELISA Yöntemi İle Tayini	38
2.7.1. Dokuların Homojenizasyonu	38
2.7.2. ELISA Aşamaları	39
2.8 İzole Organ Banyosu Yöntemi ile Kas Fonksiyonlarının İncelenmesi	43
2.8.1 Kreps Solüsyonunun Hazırlanışı	43
2.8.2 Deney Düzeneği	43
2.8.3 İzometrik Kasılmaların Kaydedilmesi	45
2.9. Soleus ve Plantaris Kaslarında Fibril Çaplarının Ölçümü	48
2.10. İstatistiksel Analiz	49
3. BULGULAR	50
3.1. Kan Glukoz Ölçümleri	50
3.2. Vücut Ağırlığı Ölçümleri	51
3.3. Kas Ağırlık Ölçümleri	53
3.4. AKT1, AKT2, FoxO1 Protein Düzeylerinin Ölçümü	57
3.5. Soleus ve Plantaris Kası Fonksiyon Ölçümleri	64
3.6. Soleus ve Plantaris Kasları Fibril Çaplarının Ölçümü	67
4. TARTIŞMA	70
4.1. Kan Glukoz ve Vücut Ağırlık Takip Değerleri	70
4.2. Kas-vücut Ağırlığı Oranları	72
4.3. Kas Fonksiyon Ölçümleri	73

4.4. AKT ve FoxO1 Protein Düzeylerinin Ölçümü	76
4.5. Kas Fibril Çapları	83
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	87
ÖZET	93
SUMMARY	94
KAYNAKLAR	95
EKLER	97
EK 1: Etik Kurul Kararı	105
ÖZGEÇMİŞ	107



ÖNSÖZ

Tez çalışmamızda deneysel Tip 1 diyabet modelinde 42 gün boyunca haftada 5 gün, günde 60 dakika olacak şekilde farklı iki antrenman protokolü ile fiziksel antrenmanın diyabette gözlenen iskelet kası atrofisi üzerine etkileri incelenmiştir.

Doktora tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, çalışmanın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen ve tez çalışmasını değerli katkıları ile yöneten danışman hocalarım Prof.Dr. Erhan NALÇACI ve Dr. Öğr. Üyesi Ali Doğan DURSUN'a saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Doktora eğitimim ve deney çalışmalarım süresince yardımlarını ve desteklerini hiç esirgemeyen, değerli bilgi ve katkıları ile tez çalışmasının tamamlanmasında katkıları olan TOBB ETÜ Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Gülriz ERİŞGEN hocama;

Doktora eğitimim boyunca çalışmalarım için imkan sağlayan ve her konuda yardımını alabildiğim Ankara Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Metin BAŞTUĞ hocama;

Tez çalışmamın gelişimine çok önemli katkıları olan Prof. Dr. Bizden SABUNCUOĞLU hocama;

Histolojik incelemeler aşamasında yardımları ve emeği için Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında Uzm. Dr. Ferda TOPAL'a;

Tez çalışmamda deneyimlerini hiç esirgemeyen TOBB ETÜ Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi Prof. Dr. Mustafa TURAN hocama;

Laboratuvar çalışmalarım sırasında her türlü ilgi ve desteklerini esirgemeyen arkadaşlarım Hümeysra ÇOLAKER, Hasan ÇALIŞKAN ve Fırat AKAT'a;

Teşekkürü bir borç biliyorum.

Özel olarak, tez çalışmamın her aşamasında önemli fedakarlıkları ile yardım ve desteklerini asla esirgemeyen, yerinde ve önemli uyarıları ile tezimin gelişmesine katkıları olan, tez çalışmasından da öte bilim insanı olma yolunda bana vizyon kazandıran ve bilimsel çalışmanın nasıl yapılması gerektiği konusunda çok önemli kazanımlar elde etmemi sağlayan TOBB ETÜ Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Dr. Öğr. Üyesi Ayşe Meltem SEVGİLİ hocama teşekkür ve şükranlarımı sunarım.

Son olarak tez çalışmamı, zor doktora eğitimim sürecinde zaman zaman ihmal ettiğim sevgili eşim Meral TATAR, dünyalar güzeli kızlarım Nisan ve Duru'ya armağan ediyorum.

SİMGELER ve KISALTMALAR

4EBP	Eukaryotic Translation İnitiation Factor4E-Binding Protein
ADP	Adenozin difosfat
AKT	v-Akt Murin Timoma Viral Onkogen Homolog
ALS	Otofaji-Lizozom Sistemi
ATP	Adenozin Trifosfat
CO ₂	Karbon Dioksit
DK	Diyabetik Ketoasidoz
DM	Diabetes Mellitus
DPN	Distal Periferik Nöropati
E1	Ubikuitin-Aktive Eden Enzim
E2	Ubikuitin-Konjuge Eden Enzim
E3	Ubikuitin Ligaz Enzim
EAS	Elektriksel Alan Stimülasyon
EDL	Ekstansör Digitorum Longus
eIF4E	Eukaryotic translation initiation factor 4E
FoxO	Forkheadbox O
GSK3 β	Glikojen Sentaz Kinaz 3-Beta
HCl	Hidroklorik Asit
HHNK	Hiperglisemik Hiperozmolar Nonketotik Koma
Hsc70	Isı Şok Bağımlı Protein 70
IGF	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
İp	İntraperitoneal
IRS	İnsülin Reseptör Substratı
KAH	Koroner Arter Hastalığı
KBH	Kronik böbrek hastalığı
LAMP-2	Lizozom Bağlantılı Membrane Protein 2
LC3	Hafif Zincir-3 Geni
MAPK	Mitogen-Aktif Protein Kinaz
mTORC	Mammalian Target of Rapamycin Complex

mTORC1	Mammalian Rarget of Rapamycin Complex-1
mTORC2	Mammalian Rarget of Rapamycin Complex-2
MyoD	Myojenik Differansiyasyon 1
NaOH	Sodium Hidroksit
NF-κB	Nükleer Faktör-κB
PBS	Fosfatlı Salin Homojenizasyon Tamponu
PCr	Kreatin Fosfat
PDK1	3-fosfo İnozitol-Bağımlı Protein Kinaz-1
PI3K	Fosfatidilinozitol 3-Kinaz
PI-3P	Fosfatidilinozitol 3-Fosfat
PKB	Protein Kinaz B
Rheb	Ras Homolog Enriched in Brain
S6K	Ribosomal Protein S6 Kinaz
S6K1	Ribosomal Protein S6 Kinaz-1
STZ	Streptozotosin
SVL	Süperior Vastus Lateralis
TSC1	Tuberous Sclerosis Complex-1
TWEAK	Tümör Nekrotize Faktör-Benzeri Zayıf Apoptoz İndükleyici
Ub	Ubikuitinin
ULK1	Unc-51 Like Autophagy Activating Kinase-1
UPS	Ubikuitin Proteazom Sistemi

ŞEKİLLER

Şekil 1.1.	İskelet kasında insülin sinyal yolu ve protein metabolizması.	12
Şekil 1.2.	Ubikuitin proteozom sistemi.	34
Şekil 2.1.	Egzersiz protokollerinin uygulandığı koşu bandı.	34
Şekil 2.2.	Egzersiz protokollerinin uygulandığı koşu bandı.	34
Şekil 2.3.	AKT2 ELİSA kiti için standart solüsyonu hazırlama ve seyreltme basamakları.	40
Şekil 2.4.	Standart solüsyonu hazırlama ve seyreltme basamakları.	41
Şekil 2.5.	Organ banyosu deney düzeneği.	44
Şekil 2.6.	Organ banyosu.	45
Şekil 2.7.	Elektriksel alan elektrodu.	47
Şekil 2.8.	Soleus kası öngerim ve farklı frekanslardaki kas kontraksiyon cevap örnekleri.	47
Şekil 2.9.	Kontrol ve deney gruplarında iskelet kas kesitleri; ok ucu: iskelet kas lifi enine kesiti, Hematoksilen Eozin boyama, Scale bar=50 µm.	48
Şekil 2.10.	Enine iskelet kası kesitleri, Hematoksilen-Eozin boyama, Scale bar=50 µm.	49
Şekil 3.1.	Deney gruplarının kan glukoz düzeylerinin haftalara göre değişimini gösterir şekil (mg/dl).	51
Şekil 3.2.	Deney gruplarının vücut ağırlıklarını gösterir şekil (g).	52
Şekil 3.3.	Soleus yağ ağırlığının vücut ağırlığına oranı (100 gr vücut ağırlığı başına normalize edilmiştir).	54
Şekil 3.4.	Soleus kuru ağırlığının vücut ağırlığına oranı (100 gr vücut ağırlığı başına normalize edilmiştir).	55
Şekil 3.5.	Plantaris yağ ağırlığının vücut ağırlığına oranı (100 gr vücut ağırlığı başına normalize edilmiştir).	56

Şekil 3.6. Plantaris kuru ağırlığının vücut ağırlığına oranı (100 gr vücut ağırlığı başına normalize edilmiştir).	57
Şekil 3.7 Soleus kasında AKT1 düzeyi (pg/ml).	58
Şekil 3.8 Plantaris kasında AKT1 düzeyi (pg/ml).	59
Şekil 3.9. Soleus kasında AKT2 düzeyi (pg/ml).	60
Şekil 3.10. Plantaris kasında AKT2 düzeyi (pg/ml).	60
Şekil 3.11. Soleus kasında FoxO1 düzeyi (pg/ml).	61
Şekil 3.12. Plantaris kasında FoxO1 düzeyi (pg/ml).	62
Şekil 3.13. K ve DM gruplarında soleus ve plantaris kaslarındaki AKT1 düzeyi (pg/ml).	63
Şekil 3.14. K ve DM gruplarında soleus ve plantaris kaslarındaki AKT2 düzeyi (pg/ml).	64
Şekil 3.15. Soleus kası frekans-cevap ölçümlerinin karşılaştırılması.	65
Şekil 3.16. Plantaris kası frekans-cevap ölçümlerinin karşılaştırılması.	67
Şekil 3.17. Gruplara göre soleus lif çapları.	68
Şekil 3.18. Gruplara göre plantaris lif çapları.	69

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. Diyabet Sınıflandırması (Petersmann ve ark., 2018).	4
Çizelge 1.2. Kemirgenlerdeki kas lifi tipleri ve baskın oldukları iskelet kasları (Smerdu V ve ark., 1994).	26
Çizelge 1.3. Tip I, IIa ve IIb kas liflerinin özellikleri.	26
Çizelge 2.1. Çalışma grupları.	32
Çizelge 2.2. E1 egzersiz protokolü.	35
Çizelge 2.3. E2 egzersiz protokolü.	36
Çizelge 3.1. Deney gruplarının kan glukoz düzeyleri (mg/dl).	50
Çizelge 3.2. Deney gruplarının vücut ağırlıkları ölçümleri (g).	52
Çizelge 3.3. Soleus yaş ağırlığının vücut ağırlığına oranı ortalama ve standart hata değerleri (100 gr vücut ağırlığı başına normalize edilmiştir).	53
Çizelge 3.4. Soleus kuru ağırlığının vücut ağırlığına oranı ortalama ve standart hata değerleri (100 gr vücut ağırlığı başına normalize edilmiştir).	54
Çizelge 3.5. Plantaris yaş ağırlığının vücut ağırlığına oranı ortalama ve standart hata değerleri (100 gr vücut ağırlığı başına normalize edilmiştir).	55
Çizelge 3.6. Plantaris kuru ağırlığının vücut ağırlığına oranı ortalama ve standart hata değerleri (100 gr vücut ağırlığı başına normalize edilmiştir).	56
Çizelge 3.7. Soleus kasında AKT1 düzeyi ortalama ve standart hata değerleri (pg/ml).	58
Çizelge 3.8. Plantaris kasında AKT1 düzeyi ortalama ve standart hata değerleri (pg/ml).	58
Çizelge 3.9. Soleus kasında AKT2 düzeyi ortalama ve standart hata değerleri (pg/ml).	59
Çizelge 3.10. Plantaris kasında AKT2 düzeyi ortalama ve standart hata değerleri (pg/ml).	60

Çizelge 3.11. Soleus kasında FoxO1 düzeyi ortalama ve standart hata değerleri (pg/ml).	61
Çizelge 3.12. Plantaris kasında FoxO1 düzeyi ortalama ve standart hata değerleri (pg/ml).	62
Çizelge 3.13. K ve DM gruplarında soleus ve plantaris kaslarındaki AKT1 düzeyi ortalama ve standart hata değerleri (pg/ml).	62
Çizelge 3.14. K ve DM gruplarında soleus ve plantaris kaslarındaki AKT2 düzeyi ortalama ve standart hata değerleri (pg/ml).	63
Çizelge 3.15. Soleus kası frekans-cevap ölçümleri (g).	65
Çizelge 3.16. Plantaris kası frekans-cevap ölçümleri (g).	66
Çizelge 3.17. Soleus kası lif çapları ortalama ve standart hata değerleri (μm).	68
Çizelge 3.18. Plantaris kası lif çapları ortalama ve standart hata değerleri (μm).	69

1. GİRİŞ

Diabetes mellitus (DM), insülin sekresyonunda veya insülinin etkisinde yetersizlik ya da her ikisinin birlikte görülebildiği, hiperglisemi ile karakterize bir metabolik hastalıktır. Diyabet gelişiminde, hücrelerde insüline direnç gelişiminden pankreatik β hücrelerinin otoimmün yıkımına kadar birçok patolojik değişiklik görülebilmektedir. Diyabette karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasındaki bozulmaların temelinde hedef dokularda insülinin yetersiz etkisi vardır. Diyabetten kaynaklanan kronik hiperglisemi, organlarda uzun süreli hasar, fonksiyon bozukluğu veya kaybına neden olmaktadır. En çok göz, böbrek, nöral yapılar, kalp ve kan damarları etkilenmektedir (ADA, 2014).

Yetişkinlerde bozulmuş glukoz toleransı ve diyabetin dünya genelindeki prevalansı son yıllarda artmaktadır. Kentleşme hızının artışı, beslenme şeklindeki düzensizlikler, obezite, sedanter yaşam tarzı ve fiziksel inaktivite, birçok ülke ve bölgede diyabet prevalansındaki artışı hızlandırmıştır (Cho ve ark., 2018).

Dünya sağlık örgütünün (WHO) tahminlerine göre 1980'de 108 milyon diyabet hastası varken bu sayının 2014 yılında 4 kat arttığı tahmin edilmektedir. Uluslararası Diyabet Federasyonunun (IDF) tahminlerine göre dünya çapındaki diyabet prevalansı 2000 yılında 151 milyon, 2003 yılında 194 milyon, 2006 yılında 246 milyon, 2009 yılında 285 milyon, 2011 yılında 366 milyon, 2013 yılında 382 milyon ve 2015 yılında 415 milyon olarak belirtilmiştir (Cho ve ark., 2018). 2035 yılında %55 oranında artarak 592 milyona ulaşacağı öngörülmektedir (IDF, 2013).

Yetişkinlerde bu hızlı artış olurken, son dönemlerde birçok ülkede okul öncesi yaş gruplarında Tip 1 DM sıklığı artmaktadır (Satman ve ark., 2002). Çocukluk çağında ve gençlerde Tip 2 diyabet prevalansı da hızlı artış göstermektedir. Türkiye Diyabet, Hipertansiyon, Obezite ve Endokrinolojik Hastalıklar Prevalans Çalışması-I'e (TURDEP-I) göre Türkiye'de 1997-1998 yılları arasında bozulmuş glukoz toleransı prevalansı % 6,7, Tip 2 diyabet prevalansı ise % 7,2'dir (Satman ve ark.,

2013). Türkiye çapında 20 yaş üzeri 26.499 kişinin katıldığı TURDEP-II çalışmasında Tip 2 diyabet sıklığının %13,7 olduğunu ve önceki senelere göre önemli bir artışın olduğu gösterilmiştir (Satman ve ark., 2013).

1.1. Diabetes Mellitus Sınıflaması

Diyabet altta yatan sebebe göre çok sayıda alt gruba ayrılır, ama genel olarak Tip 1 diyabet (Tip1 DM), Tip 2 diyabet (Tip 2 DM), diğer spesifik diyabet türleri ve gestasyonel diyabet olmak üzere 4 ana grupta sınıflandırılmaktadır (Bkz. Çizelge 1.1). Tip 1 ve Tip 2 DM en büyük kısmı oluşturmaktadır.

1.1.1. Tip 1 Diabetes Mellitus

Hastaların %5-10'unda görülen Tip 1 DM, insülin yokluğu ile giden otoimmün hastalık olup, çeşitli sebeplere bağlı olarak pankreas β hücrelerinin immün sistem hücreleri aracılığı ile hasarlanması ile sonuçlanmaktadır (Gan MJ ve ark., 2012) . Pankreas β hücre sayısı azalırken diğer taraftan devam eden inflamasyon ile birlikte β hücre fonksiyonu da azalmaktadır. İnsülin eksikliği vücuttaki dokuların ihtiyacı olan glukozu alıp kullanmasını engellemektedir. Tip1 DM, Banting ve Best (1922), kan glukoz seviyelerini düzenlemek için insülinin önemini ve ekzojen insülin tedavisini keşfedene kadar kadar ölümcül bir hastalıktı (Banting ve ark., 1922). Bununla birlikte, mevcut insülin preparatlarında yaklaşık bir asırlık gelişme olmasına rağmen, Tip 1 DM hastalarındaki kan glukoz düzeyinin kontrolü ve komplikasyonların önlenmesi hala zor bir konudur.

Tip 1 DM'in ortaya çıkış sıklığı çocukluk ve ergenlik yaş döneminde en yüksektir. Ancak hastalık her yaşta da ortaya çıkabilir. Erişkinlerde görülen formu olan 'erişkinde latent otoimmün diyabet' (latent autoimmune diabetes in adult, LADA) progresyonu çocukluk çağına göre daha yavaş olmaktadır.

β hücrelerinin otoimmün yıkımında genetik bir yatkınlığın ve çevresel faktörlerin etkisi olduğu düşünülmektedir. Çok sayıda çalışma yapılmasına rağmen etiyojoloji hala tam olarak anlaşılammıştır. Tip 1 diyabete ayrıca Graves hastalığı, Hashimoto tiroiditi veya Addison hastalığı gibi başka otoimmün bozukluklar da eşlik edebilmektedir.

Bazı hastalarda da kalıcı insülinopeni ve onun neden olduğu ketoasidoz olmasına rağmen herhangi bir otoimmünite bulgusu görülememektedir. Tip 1 DM'nin bu formu etiyojijisi bilinmeyen veya idiyopatik Tip 1 DM olarak isimlendirilmektedir. Diyabetin bu formu Afrika ve Asya kökenli hastalarda arasında daha sık görülmektedir (IDF, 2017).

Bazı diyabet tipleri, β hücre fonksiyonundaki monojenik defektlerle ilişkilidir; bu formu genellikle 25 yaş altında görülmektedir, hastalığın başlarında hafif bir hiperglisemi görülmektedir. Genellikle otozomal dominant paterndedir. 'Gençlerde latent otoimmün diyabet' (maturity-onset diabetes of the young, MODY) olarak adlandırılan bu diyabet formlarına sahip hastalarda, insülinin fonksiyonunda bozukluk yoktur, insülin sekresyonunda eksiklik bulunmaktadır (Arkkila ve Gautier, 2003).

1.1.2. Tip 2 Diabetes Mellitus

Tip 2 DM, hastalığın en sık görülen formudur. Diyabet hastalarının yaklaşık %90'ı Tip 2 DM'dir (Davis ve ark., 2010). İnsülin salgısı olmasına rağmen periferik dokularda insüline direnç mevcuttur. Tip 2 DM'nin ortaya çıkması uzun bir süreç almaktadır. Hastalığın ilk dönemlerinde insülin direnci, insülin hormonunun β hücreleri tarafından artan üretimi ile kompanse edilmeye çalışılır. Ancak hastalığın ileri aşamalarında insülin direnci kompanse edilememekte, pankreas β hücre rezervinde ve fonksiyonunda bozulmalar sonucunda insülin sekresyonunda da azalma meydana gelmektedir.

Tip 2 DM, etiyolojisinde genetik faktörlerin çok etkili olduğu karmaşık bir hastalıktır. Tip 2 DM ile ilişkili 50'den fazla gen tanımlanmıştır (Qiu ve ark., 2014). Çevresel faktörler de bu patolojinin gelişimi için çok önemlidir. Tip 2 DM ve insülin direnci doğrudan obezite ve sedanter yaşam tarzı ile ilişkilidir.

Çizelge 1.1. Diyabet Sınıflandırması (Petersmann ve ark., 2018).

1. Tip 1 DM	<ul style="list-style-type: none"> – İmmünojik faktörlerden kaynaklanan β hücre yıkımı sonucunda oluşan mutlak insülin eksikliği – ‘Erişkinde latent otoimmün diyabet’ (latent autoimmune diabetes in adult, LADA) – İdiyopatik Tip 1 DM – ‘Gençlerde latent otoimmün diyabet’ (maturity-onset diabetes of the young, MODY)
2. Tip 2 DM	<ul style="list-style-type: none"> – Rölatif insülin eksikliği ile birlikte olan predominant insülin direnci – Aşırı sekresyon eksikliği ile birlikte olan insülin direnci – Diğer hastalıklarla ilişkili (Metabolik sendrom vb)
3. Spesifik Diyabet Türleri	<ul style="list-style-type: none"> – Pankreas ekzokrin eksikliğine neden olan hastalıklar (pankreatit, kistik fibrozis, hemokromatozis vb) – Endokrinopatiler (Cushing sendromu, akromegali, feokromositoma vb) – İlaç veya kimyasallar ile indüklenen (Glukokortikoidler, nöroleptikler, interferon alfa, pentamidine vb), – β fonksiyonundaki genetik bozukluklar (gençlerin erişkin başlangıçlı diyabeti) – İnsülin fonksiyonundaki genetik bozukluklar – Diyabet ile ilgili diğer genetik sendromlar – Enfeksiyonlar
4. Gestasyonel Diyabet	

1.2. Diabetes Mellitus Komplikasyonları

Hastalık süreci iyi yönetilemez ise, bütün diyabet tiplerinde birçok sistemde komplikasyonlara neden olabilmekte ve sık hastaneye yatışlara, erken ölümlere yol açabilmektedir. Diyabetli hastaların karşılaştığı sağlık sorunları yaşam kalitelerini düşürmekte ve tıbbi bakım maliyetlerinin yükselmesine neden olmaktadır (IDF,

2017). Kan glukoz seviyesinin sürekli yüksek olması kalp, göz, böbrek, sinir gibi dokuları etkileyen yaygın vasküler hasara neden olmaktadır.

Diyabete bağlı gelişen metabolik bozukluklar sonucunda gelişen komplikasyonlar akut ve kronik olarak sınıflandırılmaktadır.

1.2.1. Akut Komplikasyonlar

Gelişen tedavi ve takip olanaklarına rağmen akut komplikasyonlar önemli oranda mortalite sebebi olmaya devam etmektedir. Diyabetin akut metabolik komplikasyonlarını aşağıdaki gibi özetleyebiliriz;

Akut Hipoglisemi Atakları: Kan glukoz seviyesinin 50 mg/dl'nin altına düşmesi ile görülmektedir.

Diyabetik Ketoasidoz (DK): Tip 1 DM'de daha fazla görülmekte olan glukagon, epinefrin ve diğer stres hormonlarının artışı sonucunda görülen hiperglisemi ve artmış ketogenez sonucunda aseton, asetoasetik asit, beta hidroksibütirik asit gibi keton cisimlerinin artmasına neden olur (Erdogan, 2013).

Hiperglisemik Hiperozmolar Nonketotik Koma (HHNK): Tip 2 DM'de daha fazla görülür. Ketonemi, ketonüri ve belirgin asidoz olmadan glukoz üretimi ve glukozun idrarla atılımı arasındaki dengenin bozulması ile ortaya çıkan az su alımı ve ozmotik diürez sonucu hücre dışı sıvı ve plazma hacminin azalmasıdır (TEMD, 2013).

1.2.2. Kronik Komplikasyonlar

Diyabetin kronik komplikasyonları mikrovasküler ve makrovasküler olarak sınıflandırılmaktadır. Kronik mikrovasküler komplikasyonlar özellikle göz, böbrek ve sinir sistemini etkilemektedir.

1.2.2.1. Kronik Mikrovasküler Komplikasyonlar

a) Göz ve Diyabet

Diyabetin gözde yaptığı hastalıklar içinde retinopati, maküler ödem, katarakt, glokom, odaklanma kaybı ve çift görme sayılabilmektedir. Kronik yüksek kan glukoz seviyesi nedeni ile retina kapillerlerinde gelişen hasar ve fokal oklüzyonlar görme kaybı ile sonuçlanmaktadır. Özellikle retinopati diyabetin herhangi bir aşamasında ortaya çıkabilmektedir. Makülada iskemiye bağlı ödem ile karakterizedir (Fong ve ark., 2004).

Diyabetik retinopati, çalışma yaşındaki yetişkinlerde (20-65 yaş arası) görme kaybının önde gelen nedenidir ve diyabetle yaşayan yaklaşık her üç kişiden biri, retinopatinin herhangi bir aşamasındadır. Uluslararası Körlüğü Önleme Derneği'nin tahminlerine göre, 2015 yılında 145 milyon insanda diyabetik retinopati'nin herhangi bir formunun görüldüğü ve bunların 45 milyonunda görmeyi tehdit eden ilerlemiş diyabetik retinopatinin varlığı tahmin edilmektedir (Congdon 2003; Fong ve ark., 2004). Diyabetli bireylerde herhangi bir retinopatinin görülme oranı %35 iken; proliferatif (görme tehdidi) retinopatinin görülme oranı %7'dir (Yau ve ark., 2012).

b) Böbrek ve Diyabet

Diyabetik nefropati erişkin yaştaki diyabetli hastalarda en önemli morbidite ve mortalite nedenlerinden biridir. Diyabet glomerül bazal membranında kalınlaşma, podosit hasarı, mezangial matrikste artış ile afferent ve efferent arteriyollerde

subintimal hiyalin birikimine bağlı kalınlaşmaya yol açmaktadır (Erdogan, 2003). Bu morfolojik değişiklikler, progresif böbrek hastalığının göstergesi olan filtrasyon yüzeyinin kaybına ve hiperfiltrasyona yol açmaktadır (Fakhruddin ve ark., 2017).

Kronik böbrek hastalığı (KBH) diyabetik nefropatinin doğrudan etkisi ile olmasının yanında diyabete bağlı hipertansiyon sonucu da ortaya çıkmaktadır. Ayrıca DM'ye sekonder olarak polinöropatik mesane disfonksiyonu, tekrarlayan idrar yolu enfeksiyonları veya makrovasküler anjiyopati insidansı da artmaktadır (Coresh ve ark., 2003).

c) Nöropati

Nöropati, diyabetin sık karşılaşılan bir komplikasyonudur. Nöropatinin etyopatogenezinde, diyabetin süresi, hiperglisemi, hipoinsülinemi, hiperinsülinemi derecesinin önemi vardır. Bunlar dışında ileri yaş, hipertansiyon, sigara, alkol kullanımı gibi diyabet dışı bazı bağımsız risk faktörleri de diyabetlilerde görülen nöropatilerin gelişiminde rol almaktadır.

Periferik nöropati, ekstremitelerin distal sinirlerini, özellikle de ayakları etkileyen en yaygın diyabetik nöropati formudur. Periferik nöropati duyu sinirleri etkilemesi ile ilerleyici his kaybına neden olarak özellikle eksternal travmalar sonucu ayaklarda ülserlere, ilerlemiş olgularda amputasyona neden olmaktadır. Nöropati ayrıca sekonder olarak erektil disfonksiyon, sindirim ve üriner sistemde otonomik disfonksiyon gibi bazı problemlere de yol açabilir (IDF, 2017).

Nöropati gelişmesi otonom, motor ve duysal fonksiyonları bozmaktadır. Akut/kronik, proksimal/distal, mono/poli, motor/sensörinöral altgruplarına göre sınıflandırılabilmektedir. Bunları aşağıdaki gibi sıralayabiliriz;

Distal Duysal ve Sensorimotor Polinöropati (DSPNP): Diyabet olgularında en sık ortaya çıkan, uzun dönem asemptomatik seyreden ve yavaş ilerleyen nöropatidir.

Klinik olarak bacaklarda karıncalanma, ağrı ve parestezi görülmesi en sık karşılaşılan belirtilerdir. Üst ekstremiteler alt ekstremitelere oranla daha nadir etkilenmektedir. Daha ciddi olgularda abdomende, başlarda anterior orta hatta, ilerlediğinde ise lateral bölgeye yayılan duysal kayıp görülmektedir.

Proksimal Simetrik Motor Nöropati: Kalça ve uyluk bölgesindeki kasların etkilendiği, daha çok kuvvetsizlik ve ağrı bulgularının görülebildiği bir nöropati tipidir. Patella refleksinde azalma hatta çok ciddi olgularda kayıp görülebilmektedir. Hastaların yarısında unilateral başlamaktadır, yaklaşık 8 hafta sonra karşı tarafta etkilenebilmektedir. Gliseminin iyi bir kontrolü ile iyileşme sağlanması mümkündür.

Distal Motor Nöropati: Hafif distal kas güçsüzlüğünün görülebildiği, genelde diyabetik duysal polinöropatiye eşlik eden bir nöropati formudur. Çok ileri vakalarda progresif motor güçsüzlük bilateral düşük ayağa neden olabilmektedir.

Diyabetik periferik nöropati gelişim mekanizmaları: Periferik nöropatinin gelişiminde çok sayıda farklı yolak görülebilmektedir. Nöropatide etyopatolojik yolaklar iç içe girmiş olmakla beraber iskemi ve metabolik kontrol bozukluğu iki ana neden olarak görülmektedir.

Kan glukoz artışı sonrası, poliol yolu aktivitesi ile sinir liflerinde biriken fruktoz, yapısal proteinlerde glikozilasyonu şiddetlendirmekte ve ileri glikasyon son ürünlerinin (AGE) ortaya çıkışını hızlandırmaktadır. Nitrik oksit azalması, artan AGE'ler ve AGE artışının tetiklediği serbest radikal artışı; kan akışında bozulmaya ve nöral doku iskemisine, daha uzun dönemde vazo vasorumlarda ve damar endotelinde hasara ve aksonal transportun azalmasına yol açarak nöral işlevlerde bozulmaya neden olmaktadır (Hopf ve Gutmann, 1990; Malik ve ark., 1993).

DeneySEL diyabet modellerinde tübülün glikasyonunda artış tanımlanmıştır. Miyelinli ve miyelinsiz aksonlardaki mikrotübüllerin yapısal kaybı görülmekle beraber diyabetik polinöropati patogenezindeki katkıları tartışmalıdır (Bisby 1980;

Tomlinson ve ark., 1984). Nörofilamanların ve mikrotübüllerin kaybedilmesi ile gelişen aksonlarda genel ilerleyici dejenerasyonunun distal periferik nöropati (DPN) patolojisine katkı sağlayabileceği, ancak oluşan nörodejeneratif anormalliklerin tümünü açıklayamayacağı şeklinde yorumlanmaktadır.

Diyabetik ensefalopati: Diyabet, bilişsel işlevlerde ve beyin görüntülemelerinde görülebilen yapısal değişikliklerle karakterize yavaş ilerleyen ve "diyabetik ensefalopati" olarak adlandırılan değişikliklere neden olmaktadır. Bilişsel işlev bozukluğu iki farklı diyabet formunda da görülmektedir. Diyabetik beyindeki değişikliklerin vücudun herhangi bir yerinde görülen mikrovasküler ve makrovasküler değişikliklerle benzer olduğu varsayılmakla birlikte, fizyopatolojik mekanizmalar net ortaya konmamıştır. Tip 2 diyabetli hastalarda bilişsel bozukluğun şiddetinin hem hipertansiyon ve dislipidemi gibi vasküler hastalık risk faktörleri ile hem de diyabetin başlangıç yaşına, hipergliseminin derecesine, hastalık süresine, tedavi şekline bağlı olduğuna dair bulgular mevcuttur (Brands ve ark., 2005). Diyabete bağlı bilişsel işlevlerde bozulma hafif-orta düzeyde olup, demans riskinde artış ile karakterizedir (Biessels ve ark., 2006). Birçok çalışmada, diyabet hastalarında, diyabet olmayan kişilere göre Alzheimer hastalığı gelişme riskinin daha fazla olduğu ve Alzheimer hastalarının %80'inde glukoz intoleransı veya diyabet bulunduğu gösterilmiştir (Brands ve ark., 2005; Johnson ve ark., 2004).

Beyin atrofisi ve beyaz cevher anormalliklerinin gelişiminin, AGE'lerin depolanması ve bunların kendi reseptörleri ile etkileşimi ile ilişkili olduğu da öne sürülmektedir. Kronik hipergliseminin; karbonhidratların, serbest amino asitlerin veya proteinlerin glikasyonuna neden olarak ya da lipit oksidasyonunun bir son ürünü olarak reaktif AGE'lerin oluşumuna neden olduğu kabul edilmektedir.

1.2.2.2. Kronik Makrovasküler Komplikasyonlar

Diyabette kronik makrovasküler komplikasyonlar anjina veya miyokard infarktüsüne yol açan kardiyovasküler hastak (KVH), inme, diyabetik ensefalopati ve diyabetik ayağa neden olan periferik arter hastalığıdır (PAH) (IDF 2017).

Diyabet hastalarında yüksek kan glukoz seviyesi koagülasyon sisteminin daha aktif çalışmasına neden olarak kanın pıhtılaşma riskini artırmaktadır. Diyabet diğer taraftan kan basıncını ve kolesterol seviyesini de yükselterek anjina, koroner arter hastalığı (KAH), miyokard infarktüsü, inme, periferik arter hastalığı ve konjestif kalp yetmezliği gibi kardiyovasküler komplikasyonların riskini artırmaktadır (World Health Organization n.d.). Diyabetli kişilerde, diyabetli olmayan kişilere göre kardiyovasküler hastalık oranı 2-3 kat daha fazla olmaktadır (Forouzanfar ve ark., 2015; Vazquez ve ark., 2007).

1.2.3. Kas Atrofisi

Mikro-makrovasküler komplikasyonlar dışında, insülin eksikliği ve direnci karaciğer, yağ dokusu ve iskelet kasları üzerinde etkileriyle bütün vücut metabolizmasında değişikliklere neden olmaktadır. Özellikle iskelet kasında Tip 1 DM'in kas kitlesi üzerinde dramatik etkileri bulunmaktadır. İnsülin eksikliği Tip 1 DM hastalarındaki kas atrofisinin en önemli sebebi olarak düşünülebilir. Diyabette iskelet kaslarındaki değişim ve insülin sinyal yolları arasındaki ilişki oldukça karışık ve tam olarak anlaşılabilmiş değildir. Genel olarak iskelet kası atrofisi, katabolik ve anabolik dengenin bozulması ile kas güçsüzlüğü ve fiziksel kapasite azalma ile sonuçlanan bir süreçtir (Bonaldo ve Sandri, 2013).

1.3. İskelet Kasında İnsülin Sinyal Yolu

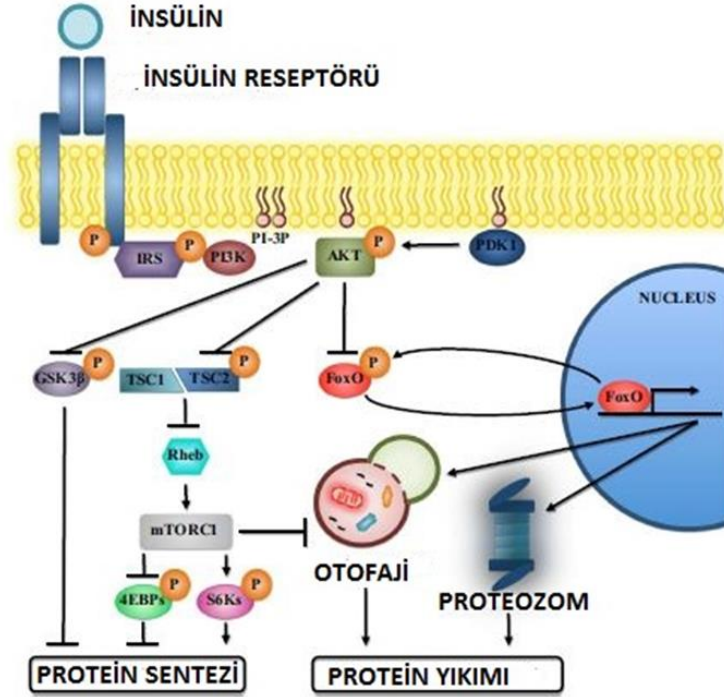
İnsülin sinyal yolunun (Bkz. Şekil 1.1) kas kitlenin düzenlenmesinde çok önemli rolü bulunmaktadır. Bu yolakta oluşabilecek patolojiler kasta protein sentez ve yıkımı arasında dengenin bozulmasına ve bunun sonucunda kasta atrofiye, bazı durumlarda da hipertrofiye neden olabilmektedir.

İnsülin, sarkolemma zarında reseptörü üzerine bağlanıp tirozin kinazın aktive olması ile etki göstermektedir. İnsülin reseptörü otofosforile olarak insülin reseptör substratı (IRS) için bağlanma bölgesi oluşturmaktadır. İnsülin reseptör substratının IRS1 ve IRS2 olmak üzere iki alt grubu bulunmaktadır. Fare çalışmalarında IRS1 geninin ablasyonunun hücre büyümesini engellediği (Araki ve ark., 1994), IRS2'nin yokluğunun hücre boyutu üzerinde etkili olmadığı gösterilmiştir. Ancak IRS2 eksikliğinin tip 2 diyabet gelişmesine neden olduğu gösterilmiştir (Withers ve ark., 1998).

IRS'nin insülin reseptörü tarafından fosforile edilmesi ile birlikte, IRS üzerinde fosfatidilinozitol 3-kinaz (PI3K) için bağlanma bölgesi oluşur. PI3K'in aktivasyonu sonucu oluşan fosfatidilinozitol 3-fosfat (PI-3P), v-Akt murin timoma viral onkogen homolog (AKT) veya diğer ismi ile protein kinaz B (PKB) ve 3-fosfo inozitid-bağımlı protein kinaz-1 (PDK1) için zarda bağlanma bölgesi oluşturmaktadır (Hay ve Sonenberg, 2004).

AKT, birçok hücre içi mekanizmada etkili olan bir serin / treonin kinazdır. AKT'nin AKT1, AKT2, AKT3 olmak üzere 3 alt grubu tanımlanmıştır. AKT1 ve AKT2 iskelet kasında fazla miktarda bulunmaktadır (Altomare ve ark., 1998). Fareler ile yapılan çalışmalarda AKT1 ablasyonunun, glukoz metabolizmasında değişiklik yapmadığı, hücre büyümesinde bozukluk meydana getirdiği (Chen ve ark., 2001), AKT2 ablasyonunun ise insülin direncinde artışa yol açtığı, hücre büyümesinde daha az etkili olduğu gösterilmiştir (H. Cho ve ark., 2001). Yapılan çalışmalarda AKT1'in, hücre büyümesinde önemli bir regülatör olduğu, AKT2'nin ise glukoz

metabolizmasında daha etkili olduğu görülmektedir. AKT1'in sürekli uyarılmasının iskelet kasında hipertrofiye neden olduğu gösterilmiştir (Blaauw ve ark., 2009).



Şekil 1.1. İskelet kasında insülin sinyal yolu ve protein metabolizması (Sala ve Zorzano, 2015). IRS (İnsülin reseptör substratı), PI3K (Fosfatidilinositol 3-kinaz), AKT (v-Akt murine timoma viral onkogen homolog), PDK1 (3-fosfoinositid-bağımlı protein kinaz-1), PI-3P (Fosfatidilinositol 3-fosfat), GSK3B (Glikojen sentaz kinaz 3 beta), mTORC2 (Mammalian target of rapamycin complex-2), TSC1 (Tuberous sclerosis complex-1), Rheb (Ras homolog enriched in brain), mTORC1 (Mammalian target of rapamycin complex-1), 4EBP (Eukaryotic translation initiation factor4E-binding protein), S6K1 (Ribosomal protein S6 kinase-1), ULK1 (Unc-51 like autophagy activating kinase-1), FoxO (Forkheadbox O).

Memeli rapamisinini kompleksi (mTORC) bir serin/treonin kinazdır. Memeli hücrelerinde 2 kompleks halde bulunurlar. Memeli rapamisinini kompleks 2 (mTORC2) ve 3-fosfoinozotid-bağımlı protein kinaz-1'in (PDK1) AKT'i fosforile edip aktifleştirdiği gösterilmiştir (Facchinetti ve ark., 2008). AKT'nin maksimal aktivite göstermesi için mTORC2 ve PDK1'in normal seviyelerde olması gerektiği belirtilmekle birlikte iskelet kasında AKT aktivasyonundaki rolü ile ilgili başka çalışmalarda çelişkili veriler mevcuttur. Bentzinger ve ark. (2008), mTORC2 için esansiyel protein olan "rictor" proteininin genetik ablasyonu ile yaptıkları bir çalışmada, kasta mTORC2'nin AKT aktivasyonu için gerekli olmadığını gösterilirken

(Bentzinger ve ark., 2008), yapılan diğerk bir çalışmada iskelet kasında rictor ablasyonu ile AKT aktivitesinin azaldığı gsterilmiştir (Mammucari ve ark., 2007).

mTORC1 rapamisine duyarlıdır ve insülin sinyal yolundaki AKT'den sonra en önemli efektördür (Hay ve Sonenberg, 2004). AKT, mTORC1'i indirek olarak aktiveleştirir. AKT bunu tuberosklerozis kompleks 2 (TSC2) inhibisyonu ile yapmaktadır (Potter ve ark., 2002). TSC2, TSC1 ile kompleks halde bulunur ve mTORC1 aktivasyonunda görev alan "Ras homolog enriched in brain"i (Rheb) inaktive eder (Inoki ve ark., 2003). İnsülin sinyal yolağında AKT, mTORC1'i inhibisyonu inhibe ederek aktiveleştirmektedir.

mTORC1, ribozomal protein S6 kinazları (S6K) fosforlayarak protein sentezini düzenlemektedir. Ribozomal S6K'nın iki alt grubu bulunmaktadır, S6K1 ve S6K2. Bu iki kinaz, ribozomal protein S6 ve mRNA translasyonunda görev alan diğerk faktörleri fosforilleyerek protein sentezini uyarır (Bodine ve ark., 2001). Farelerde yapılan "knock-out" S6K1 çalışmalarında miyofibril boyutlarında azalma olduğu gsterilmiştir (Ohanna ve ark., 2005). Ayrıca mTORC1, ökaryotik translasyon başlatıcı faktör 4E-bağlayan protein'i (4EBP) fosforlayarak inhibe etmektedir. 4EBP protein sentezinin ilk basamaklarında görev alan translasyon başlatıcı faktörü (eIF4E) inhibe etmektedir. Sonuç olarak mTORC1, 4EBP'yi fosforlayarak inhibe ettiği için eIF4E'yi indirek olarak aktiveleştirir ve sistem protein sentezi yönüne kayar (Bodine ve ark., 2001).

mTORC1'in protein yıkımında inhibitör bir fonksiyonu da bulunmaktadır. mTORC1'in, otofagazom oluşmasında anahtar rolü olan Unc-51 benzeri otofaji aktive eden kinaz 1'i (ULK1) fosforilleyerek inhibe ettiği ve böylece otofajiyi engellediği düşünölmektedir (Mizushima 2010). Fakat mTORC1'in iskelet kasında otofaji ile ilgili rolü ile ilgili çelişkili gürüşler de bulunmaktadır. mTORC1 inhibisyonu ile yapılan bir çalışmada iskelet kasında açlık ile indüklenen otofajide değişiklik olmadığı gsterilmiştir (Mammucari ve ark., 2007). İskelet kasında mTORC1 aktivasyonu artırılarak yapılan başka bir çalışmada, açlık ile indüklenen otofajinin inhibisyonu ve azalan otofaji ile birlikte gelişen myopati gsterilmiştir

(Castets ve ark., 2013). Otofajinin patolojik aktivasyonu kas kitlesi yıkımına neden olmasına rağmen, bazal otofaji kas yapı özelliği, kitlesi ve fonksiyonunun devamlılığı için bir kontrol mekanizmasıdır (Masiero ve ark., 2009).

AKT, mTORC1 aktivasyonundaki etkilerinden bağımsız olarak, glikojen sentaz kinaz 3 beta'yı (GSK3 β) fosforilleyip inhibe ederek protein sentezini aktive etmektedir. GSK3 β , glukoz metabolizması regülasyonundaki görevinden başka protein sentezi inhibisyonunda da rolü bulunmaktadır. Bunu protein translasyonunun başlamasında görevi olan eIF2B inhibisyonu ile yapmaktadır (Rommel ve ark., 2001). Sonuç olarak AKT'nin GSK3 β 'yi fosforlaması, protein sentezinin aktivasyonu ile sonuçlanmaktadır.

AKT'nin diğer bir hedefi bir transkripsiyon faktörü olan "Forkheadbox O"dur (FoxO). İskelet kasında FoxO'nun, FoxO1, FoxO3, FoxO4 alt grupları eksprese olmaktadır. Bunların atrofinin majör regülatörlerinden oldukları rapor edilmiştir. FoxO1 ekspresyonunun artmasının iskelet kasında atrofiye neden olduğu gösterilmiştir (Sandri ve ark., 2004; Kamei ve ark., 2004a). Yapılan in vivo çalışmalarda FoxO3'ün de, iskelet kasında protein yıkımını artırdığı gösterilmiştir. FoxO3, ubiquitin proteazom sistemi (UPS) yolu ile gerçekleşen protein yıkımında rol olarak birçok genin ekspresyonunu indükleyerek etki etmektedir. Özellikle kasa spesifik E3 ubiquitin ligazlar olan MuRF1, atrogin 1 ve çeşitli proteazomal alt birimleri üzerinden etkisini göstermektedir (Zhao ve ark., 2007). FoxO'nun iskelet kasında etkisini yalnızca UPS aktivitesini artırarak göstermediği ayrıca iskelet kasında otofagazom formasyonunu da indüklediği gösterilmiştir (Mammucari ve ark., 2007). Bu çalışmalar FoxO'nun, iskelet kasında UPS ve otofajiyi koordineli bir şekilde kontrol eden çok önemli bir regülatör olduğunu göstermektedir. AKT, FoxO için negatif bir regülatördür. AKT FoxO'yu fosforlayarak hücre çekirdeğinden sitozole geçmesine neden olur ve FoxO'nun sitozolde şaperonlar tarafından tutularak transkripsiyonunun inhibe olduğu gösterilmiştir (Stitt ve ark., 2004).

1.4. İskelet Kası Regülasyonu ve Atrofi

İskelet kası insan vücut ağırlığının %40'ını oluşturmaktadır. İskelet kası çok yüksek düzeyde plastisite gösterir. Egzersiz, kas boyutu, protein içeriği artışı ile karakterize iskelet kası hipertrofinine yol açmaktadır (Kandarian ve Jackman, 2006). Diğer taraftan uzun süreli hareketsizlik iskelet kas kitlesi kaybına ve atrofiye neden olmaktadır. İskelet kas atrofisine diyabet, kanser, AIDS, inflamatuvar bağırsak hastalığı (İBS), sepsis, kronik kalp yetmezliği (KKY), böbrek yetmezliği (BY), yanıklar, kistik fibrozis, amiyotrofik lateral sklerozis (ALS), Guillain-Barre sendromu (GBS), multiple sklerozis, spinal kord yaralanması, dermatomozit, diyabetik nöropati gibi vücutta farklı sistemleri tutan birçok kronik hastalık sebep olabilmektedir (Tisdale 2004).

İskelet kas atrofisi kas lifi çapı, protein içeriği ve kuvvetinde azalma ile karakterizedir (Davison ve Birch, 2008). İskelet kas atrofisi protein yıkımının artması veya protein sentezinde azalma ya da her ikisinin birlikte olması sonucu olabilmektedir (Jackman ve Kandarian, 2004). Farklı fizyolojik ve patofizyolojik uyarılar, farklı mekanizmalarla kas atrofisini tetiklemektedir. Kronik hastalıklarda proinflamatuvar sitokinler, glukokortikoidler, tümör kaynaklı faktörler ve endotoksinlerin artışı da kas atrofisinde etyolojisinde rol oynamaktadır (Ventadour ve Attaix, 2006).

Tip 1 ve 2 DM tiplerinde insülin metabolizmasındaki farklı patofizyolojik nedenlerden dolayı iskelet kas kitlesi üzerindeki etkileri değişiklik göstermektedir. Özellikle tedavi edilmeyen Tip 1 DM'li olgular dramatik kas kaybı gösterirken, insülin direncinde veya Tip 2 DM'de kas kaybı, çelişen bulgular olmakla beraber, Tip 1 DM'deki gibi aşikar değildir. Tip 2 DM'nin kardiyovasküler ve kronik böbrek hastalığı gibi patolojik durumlarla birlikte olması durumunda kas kaybı görüldüğü belirtilmektedir (Wang ve ark., 2006). Diyabete eşlik eden bu kronik hastalıklarda IL-6 ve myostatin seviyesinin arttığı gösterilmiştir (Fülster ve ark., 2013; Carrero ve ark., 2008). Tip 2 DM ve insülin direncinde iskelet kas kas kaybının bir diğer nedeni de yaşlır. Yaşlı, obez ve sarkopenik kişilerde yapılan çalışmalarda insülin direnci

olanların normal sağlıklı olanlara göre iskelet kas kitlesi kaybının daha fazla olduğu bulunmuştur (Kim ve ark., 2010). Dolaşımdaki testesteron, adiponektin ve IGF-1 gibi iskelet kasında protein sentezinde etkili olan faktörlerin dolaşımında azaldığı gösterilmiştir (Kob ve ark., 2015).

1.5. İskelet Kas Kitlesini Düzenleyen Mekanizmalar

İskelet kas kitlesi protein sentezi ve yıkımı arasındaki denge ile sağlanmaktadır. İskelet kası; fiziksel aktivite, beslenme, sitokinler, büyüme faktörleri, hormonlar gibi çeşitli uyarılara karşı yüksek adaptasyon ve cevap kapasitesine sahiptir (Rennie ve ark., 2004). Bu uyarılar protein sentezi ve yıkımı arasında dengeyi sağlayarak kas kitlesi ve miyofibril boyutlarını etkilemektedir (Sandri 2008). İskelet kas kitlesi protein sentezi ve yıkımı arasındaki dengede rol alan yollar ve sistemlerden en önemli olanları;

- a) Kalsiyum bağlı yolak (Calcium-dependent pathway)
- b) Kaspaz bağlı yolak (Caspase-dependent pathways)
- c) Ubikuitin proteazom sistemi (UPS)
- d) Otofaji-lizozom sistemi (ALS)

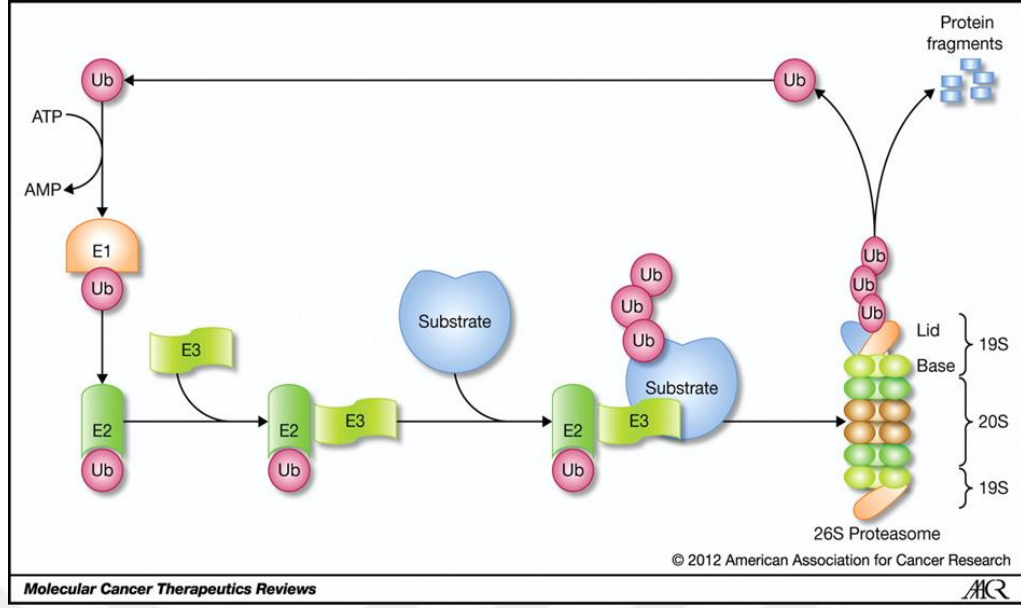
Bu yollar ve sistemler içinden UPS ve otofaji-lizozom sistemi iskelet kas kitlesi regülasyonunda daha aktif rol alırlar.

1.5.1. Ubikuitin Proteazom Sistemi

UPS, lizozomlar, kalpainler ve kaspazlar protein yıkımında görev almaktadırlar. İskelet kasları da dahil çoğu sistemde, intrasellüler proteinlerin yıkımı önemli oranda UPS ile gerçekleşmektedir (Bkz. Şekil 1.2) (Rock ve ark., 1994).

UPS'de protein yıkımı iki aşamada gerçekleşmektedir, poliubikuitiniasyon ve proteinin proteozom (multiproteolitik kompleks) tarafından tanınması ile yıkımı aşamalarıdır. UPS ile protein yıkımı ubikuitin-aktive eden enzim (E1), ubikuitin-konjuge eden enzim (E2), ubikuitin ligaz (E3) enzimlerinin zincirleme olarak ubikuitini hedef proteine bağlanması ile başlamaktadır. Adenozintrifosfat (ATP) bağımlı E1 aktivasyonu ile ubikuitinin (Ub) C-terminali aktive olur. Aktive olan Ub, E2'e transfer olur. E3 konjugasyonu ile Ub, spesifik substratı tanıma ve transfer olma özelliği kazanır. İlk Ub'nin substrata bağlanmasından sonra daha fazla Ub molekülü eklenir ve sonucunda poliubikuitin zinciri oluşur. Ubikuitin zinciriyle bağlanmış proteinler, 26S proteozom tarafından tanınıp yıkıma uğrarlar (Jagoe ve Goldberg, 2001). 19S (ATPase-regulator caps) ve 20S proteolitik kor, 26S proteozomu (multiproteolitik kompleks) oluşturur. Bu yapı ATP bağımlı komplekstir. 20S, α ve β alt gruplardan oluşur. β alt grubu proteolitik aktiviteden asıl sorumlu alt birimdir. β 1 (caspase-like activity), β 2 (trypsin-like activity) ve β 5 (chymotrypsin-like activity) β 'nin alt birimleridir (Höhn ve Grune, 2014).

Protein yıkımı sürecinde gerekli enerji ATP hidrolizinden sağlanmaktadır (Voges ve ark., 1999) . Çalışmalarda rat iskelet kasındaki total proteinin %50'sinin yıkımının UPS yoluyla gerçekleştiği görülmüştür. Kas tipleri arasında farklılık bulunmaktadır. Örneğin soleus kasındaki UPS'ne bağlı kas yıkımı yüzdesinin ekstensor digitorium longus kasına göre daha düşük olduğu bulunmuştur (Tawa ve ark., 1997; Wing ve Goldberg, 1993) .



Şekil 1.2. Ubikuitin proteozom sistemi (American Association for Cancer Research)

1.5.2. Otofaji-Lizozom Sistemi (ALS)

Otofajinin kas kitlesi ve fonksiyonu regülasyonunda çok önemli olduğu gösterilmiştir. Otofagazomlar lizozomlar ile birleşip otolizozomları oluşturur. Lizozomal inhibitörleriyle yapılan rat çalışmalarında, iskelet kasındaki toplam protein yıkımının yaklaşık %25-30'nun otofaji-lizozom sistemi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Fakat bu oran kas tipine göre değişiklik göstermektedir. Örneğin otofaji-lizozom sisteminin rol aldığı protein yıkım oranı epitroklear kasında %20 iken, bacak ve kalçadaki büyük kas gruplarında %25-35 oranlarında olduğu gösterilmiştir (Mitch ve ark., 1994).

UPS sisteminin rolü ile ilgili çok sayıda çalışma varken otofaji süreci ile ilgili daha az çalışma mevcuttur. Memelilerde 3 otofaji yolu iyi tanımlanmıştır; şaperon bağımlı otofaji, mikrootofaji ve makrootofaji.

1) Şaperon bağımlı otofaji, ısı şok bağımlı protein 70'in (Hsc70) rol aldığı, çözümlü sitozolik proteinlerin selektif olarak lizozoma alınması ile karakterizedir.

2) Mikrotofaji otofaji, lizozomal membranın direkt invajinasyonu ile sitozolik materyallerin küçük veziküllere alımı ve yıkımı şeklinde olan otofajidir.

3) Makrotofaji, disfonksiyonel organelleri ve protein agregatlarını sitozolden temizlemek için, çift zarlı vezikül formasyonu (fagozom) ve yıkım için bu veziküllerin lizozomla birleşmesi ile oluşan otofaji şeklidir.

İskelet kasında protein yıkımından asıl sorumlu olan makrotofajidir. Hafif zincir 3 geni (LC3) otofagozomun ilk aşamalarının ilerlemesinde önemli bir proteindir. Proteaz Atg4 etkisi ile LC3B-I lipitlenerek otofagozom formasyonu için genel bir belirteç olan LC3B-II'ye dönüşür. Lizozomal membranda bulunan lizozom bağlantılı membran protein 2 (LAMP-2), otofagozom ve lizozomun birleşmesinde görev almaktadır (Murton ve ark., 2008).

Son yıllarda, iskelet kas kitlesinin regülasyonunda rolü olan sinyal mekanizmalarının anlaşılmasında önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Genel olarak, insülin ve insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) gibi büyüme faktörleri ile fosfatidil inozitol 3-kinaz (PI3K) / AKT yolağının aktivasyonu iskelet kasında kitle kaybını önlemektedir. IGF-1 gibi miyojenik differansiyasyon 1 (MyoD)'in de hipertrofi ve kas kitlesinin korunması gibi anabolik etkileri mevcuttur (Sabadine ve ark., 2018). Diğer taraftan nükleer faktör- κ B (NF- κ B), aktivatör protein-1 (AP-1), p53, FoxO ve p38 mitogen-aktif protein kinaz (MAPK) yolları ve tümör nekrotize faktör-benzeri zayıf apoptoz indükleyici (TWEAK) ve reseptörü olan fibroblast büyüme faktörü ile indüklenen 14 (Fn-14) de iskelet kasında atrofiye sebep olmaktadır (Cuenda ve Rousseau, 2007; Davison ve Birch, 2008).

Ayrıca UPS ve bu sistem içinde görev alan kas RING Finger 1 (MuRF1) ve kas atrofi F-box/atrogin-1 (Atr-1) atrojenlerinin upregülasyonu (Lecker ve ark., 1999) ve negatif kas büyüme yolağı (TGF β /myostatin yolu) gibi mekanizmalarında kas kitlesi regülasyonunda önemli rolleri olduğu gösterilmiştir (Tobin ve Celeste, 2005).

Tip 1 diyabette, bu yolların regülasyonundaki bozukluklar özellikle UPS ve otofaji ile kas proteinlerinin yıkımı ve sonrasında kronik kas atrofisi ve kas disfonksiyonu ile sonuçlanmaktadır. Ayrıca diyabette nöropati, vaskülopati ve bağ dokusu bozuklukları diyabette iskelet kas komplikasyonlarını artırmakta ve fiziksel performansta azalmalara neden olmaktadır (Sabadine ve ark., 2018).

1.6. Tip 1 Diyabette Protein Metabolizması ve Kas Kütlesi

Tip 1 DM hayvan modellerinde iskelet kasında UPS ve otofaji aktivitesinde artış olduğu gösterilmiştir (Price ve ark., 1996). Tip 1 diyabette, UPS ve otofaji sisteminin aktivasyonunun, iskelet kasında atrofiye neden olduğu bilinmektedir (Zhao ve ark., 2007). İskelet kasında atrofi sürecinde birçok transkripsiyonel değişikliğin etkisi görülmektedir.

Streptozotosin (STZ) enjeksiyonu ile yapılan diyabet modellerinde kan glukoz seviyelerinde ve kas kitle kaybında hızlı bir artış görülmüştür (Sala ve ark., 2014). Bu etkinin benzeri insülin tedavisi almayan Tip 1 DM hastalarında da görülmektedir. İnsülinin, insan iskelet kasında protein yıkımını engellediği gösterilmiştir (Nair ve ark., 1995). Diğer taraftan, insülin hormonu insan iskelet kasında protein sentezini hipertrofi yönünde etkilememektedir. Fakat insülin, fare modellerinde ve in vitro kas hücre çalışmalarında protein sentezini uyarabilmektedir (Sala ve Zorzano, 2015). Fare modellerinde yapılan çalışmalarda, insülinin protein katabolizması üzerindeki etkisinin, UPS'de yer alan genlerin baskılanması sonucu UPS'nin inhibiyonu ile gerçekleşmektedir (Lecker ve ark., 1999).

Tip 1 DM'de insülin eksikliğinin, kas atrofisinin asıl sebebi olduğu ve insülin tedavisi ile kas kaybının engellenebileceği düşünülmese de rağmen, yapılan çalışmalarda diğer yolların bu kaybı devam ettirdiği görülmüştür. IGF-1 bu faktörlerden biridir ve Tip 1 DM hastalarında dolaşımdaki seviyeleri düşük bulunmuştur (Van Lunteren ve Moyer, 2003). IGF-1 iskelet kası için anabolik etki göstermektedir ve iskelet kas regülasyonunda rol almaktadır (Sacheck 2004). IGF-1

ekspresyonu, kas kitlesi ve kuvvetinde artışa neden olduğu (Musaro ve ark., 2001) diğer taraftan IGF-1 reseptör ablasyonunun kas gelişimini etkilediği ve atrofiye neden olduğu gösterilmiştir (Mavalli ve ark., 2010). IGF-1, insülin ile aynı yolağı kullanmaktadır.

Bir diğer faktör kortizoldür. Tip 1 DM'de kandaki dolaşımı artar. Açlık, asidoz, insülinopeni gibi durumlarda iskelet kasında protein yıkımı artışına neden olmaktadır. Proteozomun birkaç alt biriminde artışa neden olarak UPS'yi aktive etmektedir (Wang ve ark., 2006).

Kas kaybına neden olan diğer bir faktörde IL-6'dır. IL-6'da özellikle çocuklarda olmak üzere Tip 1 DM'de artmaktadır (Gordin ve ark., 2008). Hücre içindeki ana mediatörü sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü 3'tür (STAT-3) (Hirano ve ark., 2000). IL-6/STAT-3 aktivasyonunun iskelet kasında miyostatin ekspresyonunu indükleyerek kas kitlesi kaybına neden olduğu görülmüştür. STZ ile indüklenen Tip 1 DM fare çalışmalarında iskelet kasında STAT-3 ablasyonunun kas kitlesi kaybında düzelmeye neden olduğu gösterilmiştir (Zhang ve ark., 2013).

1.7. Egzersiz

Fiziksel aktivite, iskelet kaslarının kasılması ile enerji harcanarak gerçekleştirilen vücut hareketleridir (Caspersen ve Christenson, 1985). "Egzersiz" terimi ve fiziksel aktivitenin birçok benzer yanı olduğu için birbirinin yerine kullanılmaktadır. Örneğin her ikisi de iskelet kaslarının kasılıp enerji harcanarak yapılan vücut hareketleridir. Hareketlerin yoğunluğu, süresi ve sıklığı, fiziksel kapasite ile pozitif korelasyon gösterir. Fakat egzersiz, fiziksel aktivite ile eş anlamlı değildir.

Egzersiz, fiziksel aktivitenin alt kategorisinde yer almaktadır. Egzersiz planlı, yapılandırılmış, tekrarlanan, amaca yönelik olan ve fiziksel uygunluğun bir veya daha çok bileşenini geliştirmeyi hedefleyen fiziksel aktivitelerdir (Caspersen ve

Christenson, 1985). Egzersizin, diyabet, hipertansiyon, kardiyovasküler hastalıklar, kanser gibi birçok kronik hastalık ve genel mortalite üzerindeki yararlı etkisi hakkında çok sayıda yayın bulunmaktadır. Özellikle geçtiğimiz yüzyıldaki modernleşme ve otomasyonun insan yaşamı sedanter davranışların ortaya çıkmasına neden olduğu bilinmektedir. Günümüzde de sedanter hayat tarzının giderek arttığı ve yaklaşık olarak 5,3 milyon ölümün dolaylı olarak fiziksel inaktiviteye bağlı olduğu tahmin edilmektedir (Wen ve Wu, 2012).

1.7.1. Egzersiz Tipleri

Egzersiz, kullanılan enerji ağırlıklı olarak oksidatif sistemden sağlanıyorsa aerobik egzersiz; glikolitik sistemden sağlanıyorsa anaerobik egzersiz olarak isimlendirilir.

Aerobik egzersiz, kalp hızı ve enerji harcamalarında önemli artışlara neden olan dinamik aktivitelerde büyük kas gruplarının kullanıldığı egzersiz tipidir. Enerji glukozun ve yağların oksijen kullanılarak yakılması ile elde edilir. Düzenli aerobik egzersiz, kardiyovasküler sistem ve iskelet kası fonksiyonlarında gelişmeye, bu da dayanıklılık performansında artışa yol açmaktadır. Maraton koşusu, yürüyüş, bisiklet sürme, yüzme gibi egzersiz modelleri submaksimal şiddette olan uzun süreli aerobik aktivitelere örnektir.

Anaerobik egzersiz, enerjinin büyük bir kısmının glikoliz ve depolanmış fosfokreatin ile sağlandığı, enerjinin oksijenden bağımsız elde edildiği, yüksek yoğunluklarda kısa süreli yapılan egzersizlerdir. Direnç egzersizleri anaerobik egzersize örnektir. Direnç egzersizleri, direncin değiştirilerek yapıldığı birtakım egzersiz setlerini tanımlamaktadır. Yapılan setlerin sayısını, sıklığını ve dinlenme aralığını değiştirerek kas kuvvetini, gücünü ve dayanıklılığını artırmak için özel olarak tasarlanmış egzersiz tipleridir. Ağırlık kaldırma, kısa süreli hız koşusu ve zıplama gibi kısa süreli egzersizlerdir. Futbol tenis, basketbol gibi sporlar aerobik gruba girmesine rağmen anaerobik süreçleri vardır.

Kas kuvveti, kasın güç üretme kabiliyetinin bir ölçüsüdür. Genellikle izometrik ölçümler için maksimum istemli kasılma ve dinamik ölçümler için “one-repetition maximum” (1RM) olarak ifade edilmektedir. Kas dayanıklılığı, kasın bir dirence karşı tekrarlayan kasılmalar yapabilmesi ile ölçülmektedir (Howley 2001).

1.7.2. Egzersiz ve Enerji

Kas lifi için gerekli ATP 3 yolla elde edilebilmektedir,

1) ATP-PCr Sistemi: Kreatin fosfat (PCr) depoları kullanılarak, adenzindifosfatın (ADP) fosforilasyonunu ile ATP elde edilmektedir. Bu yol ile, kasılma aktivitesinin başlangıcında ATP çok kısa sürede elde edilir. Depo miktarının kısıtlılığı nedeniyle kreatin fosfattan bir dakikadan daha az süredeki egzersizler için enerji sağlanabilir. Kreatin ve fosfat arasındaki kimyasal bağ koptuğunda, salınan enerji miktarı, ATP'deki terminal fosfat bağı kırıldığında salınanla aynıdır. Fosfat grubu ile birlikte bu enerji, kreatin kinaz tarafından katalize edilen geri dönüşümlü bir reaksiyonda ATP oluşturmak için ADP'ye aktarılmaktadır.

2) Glikolitik Sistem: Sitozolde glikolitik yolla ADP'nin fosforilasyonunu ile ATP elde edilmektedir. Bu sistemde 1 molekül glukozdan net olarak 2 molekül ATP sentezlenir. Glikojenden fosforilaz enzimi ile glukoz 1-fosfat (Glukoz 1-P) oluşur. Oluşan glukoz 1-P sitozolde pirüvik asite kadar glikolize olur. Ancak ortamda oksijen yok ise oluşan pirüvik asit laktik asite dönüşür.

Eğer egzersizin yoğunluğu, maksimum ATP yıkım hızının %70'ini aşıyorsa, glikoliz sistemi kas tarafından üretilen toplam ATP'nin giderek daha önemli bir kısmına katkıda bulunur. Glikolitik yol, metabolize edilen her glikoz molekülünden sadece küçük miktarlarda ATP üretilmesine rağmen, yeterli enzim ve substrat mevcut olduğunda ATP'yi oldukça hızlı bir şekilde üretebilir ve bunu oksijen yokluğunda (anaerobik koşullar) yapabilir. Glikoliz için kullanılan glukoz kan veya kaslardaki glikojen depolarından elde edilebilmektedir.

Kas aktivitesinin yoğunluğu arttıkça, toplam ATP üretiminin daha büyük bir kısmı anaerobik glikoliz sistemi ile gerçekleşmektedir. Bu artış ile paralel olarak laktik asit üretiminde yükselme olmaktadır.

3) Oksidatif Sistem: Mitokondride ADP'nin oksidatif fosforilasyonunu ile ATP elde edilebilmektedir. Glikolitik sistem ile oluşan pirüvik asit, oksijen varlığında kolaylaştırılmış transport ile mitokondriye taşınır ve mitokondrideki oksidatif enzimler ile karbon dioksit (CO_2) kadar yıkılır. Bu yol ile 1 molekül glukozdan 38 molekül ATP elde edilmektedir.

Orta düzeyde kas aktivitesinde, kas kasılması için kullanılan ATP'nin çoğu oksidatif fosforilasyon ile sentezlenmektedir. Orta şiddetteki egzersizin ilk 5-10 dakikasında, kas glikojeninin glukozla parçalanmasından açığa çıkan glukoz oksidatif fosforilasyonda kaynak olarak kullanılmaktadır. Takip eden 30 dakika boyunca, kanla taşınan kan şekeri ve yağ asitleri eşit oranda enerji kaynağı olarak kullanılmaktadır. Egzersizin bu sürenin sonrasındaki bölümünde, yağ asitleri giderek daha önemli hale gelir ve kasın glukoz kullanımını azalır.

ATP'nin kreatin fosfattan oluşumu çok hızlı olması ve sadece tek bir enzimatik reaksiyon gerektirmekle birlikte, bu sistemden elde edilebilen ATP miktarı hücrede bulunan ilk kreatin fosfat konsantrasyonuyla sınırlıdır. Eğer kasılma aktivitesi birkaç saniyeden uzun sürerse, kas çok enzimli glikoliz ve oksidatif fosforilasyon sistemlerini kullanmaya başlamaktadır.

1.7.3. Egzersiz ve Kas Lifleri

İskelet kası lifleri aynı mekanik ve metabolik özelliklere sahip değildir. Farklı kas lifleri, maksimum kasılma hızlarına (hızlı ya da yavaş) ve ATP'yi kullandıkları sisteme göre (oksidatif ya da glikolitik) göre sınıflandırılırlar. Miyofibril miyozin ağır zincir (MHC) izoformlarının immünflorans yöntemi ve miyozin ATPaz aktivitesi sınıflandırmada kullanılmaktadır. ATPaz aktivitesinin düşük olduğu miyozin içeren lifler yavaş lifler (slow twitch fiber) veya tip I olarak isimlendirilmektedir. Aksine,

daha yüksek ATPaz aktivitesine sahip miyozin içeren liflere hızlı lifler (fast twitch fiber) veya tip II lifler denir.

Bu kas liflerinin alt grupları kemirgenlerde tip I, IIa, IId/x ve IIb (Delp ve Duan, 1996), insanlarda ise tip I, IIa, IIb olarak tanımlanmıştır (Smerdu ve ark., 1994) (Bkz. Çizelge 1.2). Tip I kas liflerinde oksidatif; tip IIa, IId/x ve IIb kas liflerinde ise glikolitik metabolizma hakimdir (Bkz. Çizelge 1.3).

Tip I liflerin kapiller yoğunluğu ve mitokondri sayısı fazladır. Dayanıklılık gerektiren aerobik aktivitelerde kullanılan kas gruplarında yoğun olan kas lifleridir. Bu liflerde kullanılan ATP'in büyük kısmı kan dolaşımı ile taşınan oksijen ve substrat içeriğine bağlıdır. Kas lifleri çok sayıda küçük kan damarı ile çevrilidir. Kas liflerine oksijenin difüzyon hızını artıran aynı zamanda oksijen depolayan bir protein olan myogloblin yoğunluğundan dolayı kas lifleri koyu kırmızı bir renktedir, bu nedenle, oksidatif liflere sıklıkla kırmızı kas lifleri de denilmektedir.

Tip II kas liflerinde özellikle IIb de glikolitik sistem baskındır. Kapiller yoğunlukları belirgin şekilde daha düşüktür. Yüksek enerji gerektiren kısa süreli direnç egzersizlerinde kullanılan kas gruplarındaki baskın kas lifleridir. Glikolitik lifler az miktarda mitokondriye sahiptir, ancak yüksek bir glikolitik enzim konsantrasyonuna ve büyük bir glikojen deposuna sahiptirler. Sınırlı oksijen kullanımından dolayı, bu lifler nispeten az kan damarı ile çevrilidir ve az miktarda miyogloblin içerir. Miyogloblin oranının düşük olmasından dolayı, glikolitik lifler beyaz kas lifleri olarak da isimlendirilmektedir.

Çizelge 1.2. Kemirgenlerdeki kas lifi tipleri ve baskın oldukları iskelet kasları (Smerdu V ve ark., 1994).

Metabolizma	Kas Lifi Tipi	Kas
Oksidatif	Tip I	Soleus (%86 I) Gastroknemius derin kırmızı kısım Vastus intermedius
Glikolitik-Predominant oksidatif	Tip IIa	Plantaris (%60 IIb) Gastroknemius yüzeysel beyaz kısım
Glikolitik-Intermediate oksidatif	Tip II d/x	Vastuslateralis beyaz kısım Ekstensör digitorum longus
Glikolitik-Düşük oksidatif	Tip IIb	Tibialis anterior

Çizelge 1.3. Tip I, IIa ve IIb kas liflerinin özellikleri.

	Tip I	Tip IIa	Tip IIb
ATP Üretimi	Oksidatif	Oksidatif	Glikolitik
Mitokondri İçeriği	Çok	Çok	Az
Kapiler Yoğunluk	Çok	Çok	Az
Myogloblin İçeriği	Çok	Çok	Az
Aktivite	Aerobik	Uzun süreli anaerobik	Kısa süreli anaerobik
Glikolitik Enzim İçeriği	Az	Orta	Yüksek
Glikojen İçeriği	Az	Orta	Yüksek
Myozin ATPaz Aktivitesi	Düşük	Yüksek	Yüksek
Kontraksiyon zamanı	Yavaş	Hızlı	Çok hızlı
Güç üretimi	Düşük	Yüksek	Çok yüksek
Dayanıklılık	Fazla	Orta	Düşük
Motor nöron büyüklüğü	Küçük	Büyük	Çok büyük
Kontraksiyon zamanı	Yavaş	Hızlı	Çok hızlı

1.8. Amaç ve Hipotez

Nüfusun yaşlanması, artan kentleşme, beslenme alışkanlıklarındaki değişimler, azalan fiziksel aktivite ve sağlıksız davranış tutumları gibi hızlı kültürel ve sosyal değişimlere bağlı olarak çoğu ülkede görülme sıklığı artan diyabet, ciddi ve yaygın bir küresel soruna dönüşmektedir (IDF, 2013). Diyabet prevalansındaki hızlı artış diyabetin önlenmesi ve tedavisi için yapılacak yeni çalışmaların önemini daha da artırmaktadır.

İnsülin direnci karaciğer, adipoz doku ve iskelet kası gibi birçok dokuda metabolik değişikliklere neden olmaktadır. Bugüne kadar yapılan çalışmalar Tip 2 DM'nin daha çok glukoz ve lipid metabolizmasına etkileri üzerinde yoğunlaşırken, son yıllarda diyabetin protein metabolizması ve iskelet kası kitlesi üzerine etkileri de çalışılmaya başlanmıştır. İskelet kası, glukoz kullanımını insülin aracılığı ile gerçekleştirmesi ve organizmada önemli protein rezervine sahip olması nedeni ile diyabetten ciddi şekilde etkilenmektedir.

Direnç egzersizleri başta olmak üzere egzersizin kas hipertrofisini sağlamak ve atrofiye neden olan durumlarda kas atrofisini azaltmak gibi etkileri bulunmaktadır (Akima ve ark., 2009; Watson ve ark., 2015). 6-12 haftalık direnç egzersizinin (haftada üç kez, %70-80 One Rep Max 1RM) Tip 2 DM hastalarında, diz ekstensör kas boyutlarında artışa ve kas fonksiyonunda düzelmeye neden olduğu gösterilmiştir (Geirsdottir ve ark., 2012). Egzersiz, mTORC yolağı üzerinden kas hipertrofisini ve protein sentezini uyarılmaktadır. Egzersiz ile oluşan mekanik uyarı, direk mTORC1 üzerinden etki ederek TSC2'nin mTORC1 üzerinde olan inhibisyonu olmadan etki ettiği görülmüştür (Jacobs ve ark., 2013; Watson ve ark., 2015). mTORC1 uyarısı S6K1 ve 4EBP1 gibi protein sentezi ve hipertrofide çok önemli rolü olan proteinleri fosforile etmektedir (Goodman 2013).

Tip 2 DM hastalarındaki protein sentezi kapasitesindeki azalmanın kastaki 4EBP1 fosforilasyonunun azalmasına bağlı olabileceği düşünülmektedir (Pereira ve ark., 2008; Stephens ve ark., 2015). Obez hayvan modellerinde (obez sarkopenik

Zucker rat) yapılan çalışmalarda, kastaki protein sentezi oranının kontrol gruba göre %15 oranında daha az olduğu gösterilmiştir (Nilsson ve ark., 2013). Yaşlı Tip 2 DM hastalarında, insülin direnci ve UPS'nin aktivasyondaki artışın daha fazla kas kaybıyla sonuçlandığı görülmüştür (Bassil ve Gougeon, 2013).

Direnç egzersizleri, Tip 2 DM'deki insülin direncinin düzelmesi için etkili bir yöntemdir. Ayrıca direnç egzersizinde mTOR, insülin ve IGF-1'den bağımsız olarak aktive olmaktadır (Apró ve ark., 2015). Tip 2 DM'lilerde, direnç egzersizi ile yapılan çalışmalarda vastus lateralis tip1 ve tip2 kas liflerinde %18-21 oranında artış olduğu gösterilmiştir (N. Brooks ve ark., 2006).

Egzersiz, protein sentezindeki mTORC1 aktivasyonuna direk etkisi yanında mTORC2'nin upregülasyonu ile kas atrofisini iyileştirici etkisi olabileceği düşünülmektedir. mTORC2, AKT'yi aktive ederek UPS'nin inaktivasyonuna neden olmaktadır (Zoncu ve ark., 2011). Sağlıklı insanlarda, 8 haftalık egzersiz programı ile yapılan çalışmada, kasta FoxO1'de azalma görülürken AKT ve mTOR'un fosforilasyonunun arttığı gösterilmiş olup, egzersiz yaptırılmayan kontrol grubunda AKT fosforilasyonunun azaldığı ve FoxO1'in arttığı gösterilmiştir (Léger ve ark., 2006). Direnç egzersizi protokolü ile yapılan bir çalışmada, kastaki atrogen-1 mRNA'sının 48 saat sonra azaldığı gösterilirken (Mascher ve ark., 2008) diğer bir çalışmada egzersizin MuRF1 mRNA'sını arttırdığı gösterilmiştir (Apró ve ark., 2015). Sağlıklı popülasyondaki bu farklı veriler ile, egzersize cevap olarak UPS aktivasyonunun zarar görmüş proteinlerin ortadan kaldırılması için gerekli olduğu düşünülebilir (Figueiredo ve ark., 2015).

Egzersiz şekli ve şiddetinin UPS sistem üzerinde farklı etkileri olabilmektedir. Yoğun egzersiz programı atrojen sinyalini artırırken, az yoğunluktaki direnç egzersizlerinde UPS aktivasyonunun azaldığı düşünülmektedir (Mascher ve ark., 2008). Tip 2 DM'de egzersizle birlikte UPS aktivasyonunun azalması, inflamatuvar yollarının üzerinden olabilir. Örneğin, uzun süreli direnç egzersizi ile yapılan 12 aylık bir çalışmada yaşlı Tip 2 DM hastalarının kas kitlesinde % 4,5 artış gösterilirken, dolaşımdaki CRP seviyeleri düşük bulunmuştur (Mavros ve ark.,

2014). Egzersiz Tip 2 DM'de, IRS1-PI3K-AKT yolağı üzerinden insülin duyarlılığını arttırırken diğer taraftan mTORC yolağını uyararak protein sentezini arttırmaktadır (Conn ve ark., 2014). Egzersiz ile düzelen sistemik ve lokal (kas) inflamasyon ile birlikte protein sentezinde artma ve IRS1-PI3K-AKT yolağı upregülasyonu ile protein sentez yıkımında etkili olan UPS aktivitesi azalmaktadır (de Alvaro ve ark., 2004).

Literatürde, diyabette görülen kas atrofisi ile ilgili çalışmaların daha çok Tip 2 DM ile yapıldığı gözükmektedir. Tip 1 DM'de hipoglisemi ve diabetik ketoasidoz gibi akut komplikasyonların gelişim riski fazla olduğu ve Tip 1 DM oranının toplam diyabet vakalarının %10-15'ini oluşturduğu için Tip 1 DM'de egzersizin etkilerini araştıran çalışmalar nispeten daha azdır. Egzersizin Tip 2 DM de olduğu gibi Tip 1 DM'de de özellikle insülin sinyal yolağı ve bu yolaktaki moleküller üzerinden diyabetteki atrofiyi engelleyici veya azaltıcı etkisi olabileceğini düşünmek uygundur.

Çalışmamızda deneysel Tip 1 DM modelinde 42 gün boyunca haftada 5 gün günde 60 dakika olacak şekilde farklı iki antrenman protokolü ile fiziksel antrenmanın diyabette gözlenen iskelet kası atrofisi üzerine etkilerinin tartışılması planlanmıştır.

Çalışmada oksidatif metabolizmanın hakim olduğu soleus kası ve glikolitik metabolizmanın hakim olduğu plantaris kasının kullanılması planlanmıştır. Soleus kası ayağa plantar fleksiyon yaptırmasının yanında ayaktayken diz ve ayak bileği eklemlerini tespit ederek ayakta dik durmaya yardım eder, plantaris kası ise diz eklemleri fleksiyonda iken internal rotasyon yaptırırken diğer yandan plantar fleksiyona yardımcı olmaktadır.

Çalışmanın amaçlarını aşağıdaki gibi sıralanabilir;

1. Egzersizin Tip 1 DM'de gözlenen iskelet kası atrofisi üzerine etkisinin kas fonksiyon çalışmaları ile incelenmesi

2. Farklı iki antrenman protokolü kullanılarak ılımlı egzersiz ile yoğun egzersiz uygulamalarının etkilerinin karşılaştırılması
3. Farklı iki kas örneği kullanılarak farklı egzersiz protokollerinin farklı lif tipi içeren kaslardaki etkisinin araştırılması
4. Kas kitlesi regülasyonu sürecinde rol alan AKT1, AKT2 ve FoxO1 protein seviyelerinde değişikliklerin belirlenmesi
5. Işık mikroskobu ile kas fibril çap değişimlerinin değerlendirilmesi ile farklı egzersiz uygulamalarının kas atrofisi üzerindeki etkilerinin incelenmesi

Bu amaç ve hedefler doğrultusunda doğrultusunda hipotezlerimiz;

1. Egzersiz, Tip 1 DM'de gözlenen iskelet kası atrofisi gelişimini azaltır.
2. Uygulanan yoğun egzersizin kas atrofisini düzeltici etkisi ılımlı egzersize göre daha fazladır.
3. Yoğun egzersiz oksidatif kas lifinin daha yoğun olduğu soleus kasında daha fazla düzeltici etki gösterir.
4. Yoğun egzersiz grubunda daha belirgin olmak üzere AKT 1 ve AKT2 seviyelerinde artış olur.
5. Yoğun egzersiz grubunda daha belirgin olmak üzere FoxO1 seviyelerinde azalma olur.
6. Işık mikroskopi değerlendirilmesi ile yoğun egzersiz grubunda daha belirgin olmak üzere kas atrofisi ve lif hasarı daha az olur.

Yapılan detaylı literatür taramasında Tip 1 DM'de özellikle farklı antrenman protokollerinin farklı tipdeki iskelet kaslarındaki atrofiye etkilerinin araştırıldığı çalışmaya rastlanmamıştır. Araştırmamız, bu yönüyle literatüre yeni ve özgün bulgular katabilme potansiyeli taşımaktadır.

Diyabetin komplikasyonları arasında yer alan iskelet kası atrofisi gelişiminde yer alan histopatolojik ve moleküler değişikliklerdeki mekanizmaların daha iyi

anlaşılması ile önemli bir toplum sağlığı problemi olan diyabet ve buna bağlı gelişen iskelet kası atrofisinin engellenmesinde önleyici ve tedavi edici planlamaların oluşturulmasına katkı sağlayacaktır.



2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Deney Hayvanları

Sunulan çalışmada Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenen 15A0230006 numaralı “Deneysel Tip 1 Diabetes Mellitus’ta Antrenmanın Kardiyoprotektif Etkisi” başlıklı altyapı projesindeki deney hayvanlarının soleus ve plantaris kasları kullanıldı. Çalışmamız için Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu’ndan izin alındı (Ek 1).

Çalışmada Ankara Üniversitesi Deney Hayvanları Eğitim ve Araştırma Laboratuvarı’ndan temin edilen Wistar Albino (*Rattus norvegicus*) cinsi erkek sıçanlar kullanıldı. 10 haftalık temin edilmiş olan sıçanlar deneyler sürecinde Ankara Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı’nda 12 saat aydınlık/karanlık siklusunda, 22-24 °C sıcaklık %50-55’lik bağıl nemde barındırıldı. Hayvanlar standart sıçan pelet yemi ile *ad libitum* olarak beslendi, içme suyu olarak musluk suyu verildi.

1 haftalık laboratuvara adaptasyon dönemini takiben deney hayvanları rastgele şekilde kontrol grubu ile iki farklı submaksimal egzersiz grubu olmak üzere toplam 3 ana gruba ayrıldı. Çalışmada, her ana grupta Tip 1 diyabet oluşturulan ve oluşturulmayan olmak üzere 2 alt gruba ayrılarak toplam 6 grup oluşturuldu (Bkz. Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1 Çalışma grupları.

Kontrol Grubu	1- Kontrol (K) 2- Diabetes Mellitus (DM)
Submaksimal Egzersiz Grubu (Protokol 1-E1)	1- Kontrol (KE1) 2- Diabetes Mellitus (DME1)
Submaksimal Egzersiz Grubu (Protokol 2-E2)	1- Kontrol (KE2) 2- Diabetes Mellitus (DME2)

2.2. Deneysel Tip I Diyabet Oluşturulması

1 haftalık adaptasyon sürecinden sonra (11. Haftada) deney hayvanlarına deneysel Tip I diyabet oluşturmak üzere 60 mg/kg streptozotosin (STZ) tek doz intraperitoneal (i.p.) uygulandı. Enjeksiyondan 1 hafta sonra (12. hafta) kan glukoz düzeyleri 300 mg/dL ve üzeri ölçülen sıçanlar diyabet olarak kabul edilip çalışmaya dahil edildi.

2.3. Kan Glukozu ve Ağırlık Ölçümleri

Deney hayvanlarının Ankara Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'na alınmalarıyla birlikte kan glukoz ve ağırlık ölçümleri düzenli yapıldı. 6 haftalık deney protokolü sürecince ve ötenazi hemen öncesi terminal kan glukozu ve ağırlık ölçümleri yapıldı.

2.4. Egzersiz Protokolü

12. haftadan itibaren Egzersiz 1 (E1) ve Egzersiz 2 (E2) gruplarındaki sıçanlara farklı hız ve eğimlerde 42 gün süresince egzersiz yaptırıldı. Kontrol ve diyabet gruplarındaki sıçanlar ise aynı süreyle kafeslerinde bekletildi. Egzersiz protokolleri, Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Elektronik Mühendisliği Bölümü tarafından tasarlanmış ve imal edilmiş olan koşu bandında (treadmill) gerçekleştirildi (Şekil 2.1. ve 2.2).



Şekil 2.1. Egzersiz protokollerinin uygulandığı koşu bandı.



Şekil 2.2. Egzersiz protokollerinin uygulandığı koşu bandı

E1 grubu egzersiz protokolü:

İlk 1 haftada, 0° eğimde hedef hız 10 metre/dakika, süre 60 dakika olacak şekilde artan şiddette egzersiz programı uygulandı. Devamında ise 5 hafta boyunca haftada 5 gün (10 metre/dakika, 0° eğim, 1 saat/gün) egzersiz yaptırıldı (Çizelge 2.2).

Çizelge 2.2. E1 egzersiz protokolü.

Deney günü	Hafta	Hafta günü	Hız (metre/dakika)	Eğim (°)	Süre(dakika)
1	1	1	5 10	0 0	5 10
2		2	5 10	0 0	5 10
3		3	10	0	20
4		4	10	0	30
5		5	10	0	40
6		6	10	0	50
7		7	10	0	60
8	2	1	dinlenim		
9-11		2-4	10	0	60
12		5	dinlenim		
13-14		6-7	10	0	60
15-42	3-6	2. hafta ile aynı			
43	Doku alımı				

E2 grubu egzersiz protokolü:

İlk 2 haftada, 10° eğimde hedef hız 20 metre/dakika, süre 60 dakika olacak şekilde artan şiddette egzersiz programı uygulandı. Devamında ise 4 hafta boyunca haftada 5 gün (20 metre/dakika,10° eğim, 1 saat/gün) egzersiz yaptırıldı (Çizelge 2.3).

Çizelge 2.3. E2 egzersiz protokolü.

Deney günü	Hafta	Hafta günü	Hız (metre/dakika)	Eğim(°)	Süre (dakika)
1	1	1	5 10	0 0	5 10
2		2	5 10	0 0	5 10
3		3	10	0	20
4		4	10	0	30
5		5	10	0	40
6		6	10	0	50
7		7	10	0	60
8	2	1	dinlenim		
9		2	10 10	0 5	30 30
10		3	10 10	5 10	30 30
11		4	10 10 15	5 10 10	5 25 30
12		5	10 10 15 20	5 10 10 10	5 20 20 15
13		6	10 10 15 20	5 10 10 10	5 5 20 30
14		7	10 10 15 20	5 10 10 10	5 5 5 45
15	3	1	dinlenim		
16		2	10 10 15 20	5 10 10 10	5 5 5 45
17		3	10 10 15 20	5 10 10 10	5 5 5 45
18		4	10 10 15 20	5 10 10 10	5 5 5 45
19		5	dinlenim		
20		6	10 10 15 20	5 10 10 10	5 5 5 45
21		7	10 10 15 20	5 10 10 10	5 5 5 45
22-42	4-6	3. hafta ile aynı			
43		Doku alımı			

2.5. Dokuların Alınması

Egzersiz protokolünün bitiminden (6. hafta son gün) 24 saat sonra ilgili gruplarda 50 mg/kg sodyum tiyopental intraperitoneal (İp) anestezisi altında ağrılı uyarana yanıt vermedikleri tespit edildikten sonra tüm deney hayvanlarının göğüs kafesleri açılıp kalpleri çıkarılarak ötenazi uygulandı. Kalplerin çıkarılmasından sonra deney hayvanları, diseke edilecek arka ekstremiteleri serbest bırakılarak cerrahi masaya tespit edildi.

Deri ekstremitenin gövdeye bağlandığı bölgeden dairesel olarak kesildi ve aşağı doğru çorap tarzında sıyrılarak ayrıldı. Soleus kasının diseksiyonu için önce Aşil tendonu distal kısmından kesildi, takibinde bu tendon, tutunan kaslar tibiadan uzaklaştırılacak şekilde diseke edildi. Aşil tendonuna bağlı kasların diseksiyonu sonrası soleus kasına ulaşıldı. Soleus distal tendonundan tutularak tibia arkasında yapıştığı noktaya kadar diseke edilerek çıkartıldı. Daha sonra plantaris kası diseksiyonuna geçildi. Aşil tendonunun serbestleşen distal ucundan penset yardımı ile tutularak gastroknemius kasının medial ve lateral kısımlarının altındaki plantaris kası ekspose edildi ve kalkenal tendondan itibaren triseps surae kasından dikkatli şekilde ayrılacak şekilde dize kadar diseke edildi. Aynı işlemler diğer arka ekstremitede içinde tekrarlandı.

Çalışmanın ilk gruplarında hayvanların arka sol ekstremitede kas dokuları 1,5 mL'lik Eppendorf tüpüne yerleştirilerek sıvı azotta dondurulduktan sonra -80°C'de (SANYO MDF-U2086S) moleküler çalışmalar yapılana kadar saklandı. Arka sağ ekstremiteden alınan doku örnekleri ise %10 tamponlu formalin solüsyonu içerisine alındı ve histopatolojik çalışmalar için ayrıldı.

Fonksiyon çalışmaları için oluşturulan gruplardaki hayvanların arka sol ekstremitede soleus ve plantaris kasları hızlı bir şekilde izole organ banyosuna asıldı. Arka sağ ekstremitede kas dokuları yaş-kuru ağırlık ve nem oranı çalışmaları için çıkarıldı.

2.6. Kas Yaş-Kuru Ağırlık ve Nem Tayini Ölçümleri

Sunulan çalışmada yaş-kuru ağırlık ve nem tayini ölçümleri için AXIS AGS100 cihazı kullanıldı. Cihazın kalibrasyonu yapıldıktan sonra ölçümü yapılacak olan kas bütün olarak ısıya dayanıklı alüminyum örnek kabının içerisinde cihaza yerleştirildi. Kurutma işlemi yapıldı. Kasın ilk ağırlığı ile kuru ağırlığı kaydedildi. Bu veriler kullanılarak nem ve kuru madde oranları hesaplandı.

2.7. Kas Dokularından AKT1, AKT2, FoxO1 Protein Düzeylerinin ELISA Yöntemi ile Tayini

Sunulan çalışmada soleus ve plantaris kaslarında AKT1, AKT2 ve FoxO1 protein düzeylerinin belirlenmesi için Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) yöntemi kullanıldı. Çalışma için MyBioSource marka Rat Akt1 (RAC-alpha serine/threonine-protein kinase)-MBS2886893, Rat Akt2 (RAC-beta serine/threonine-protein kinase)-MBS763346, Rat Forkhead box O1-MBS2880011 kodlu ELISA kitleri kullanıldı.

2.7.1. Dokuların Homojenizasyonu

1. Dokular -80°C dondurucudan sıvı azot dolu taşıyıcı kaba alındılar.
2. Çalışılacak olan örnekler Eppendorf tüpünden çıkarılıp çözünmesine izin verilmeden hassas terazide tartılıp 22 numaralı bistüri ucu kullanılarak 100-150 mg doku örneği tartılarak alındı.
3. Alınan doku parçaları porselen havanda tokmak yardımı ile sıvı azot varlığında ezildi ve toz haline getirildi.

4. Toz haline getirilen örnekler homojenizasyon tüpüne aktarılıp üzerine 1 gram dokuya 9 mililitre olacak şekilde fosfatlı salin homojenizasyon tamponu (PBS içeriği:0,0027 M potasyum klorür ve 0,137 M sodyum klorür) eklendi.

5. Homojenizasyonda ısı artışını engellemek için homojenizasyon tüpü kar dolu cam beher içinde tutuldu.

6. Homojenizatör (Glas_Col K5424) yardımıyla 3 dakika süre ile 40 dönüş/dakika (rpm) hızda homojenizasyon işlemi tamamlandı.

7. Homojenizat Eppendorf tüpe aktarıldı.

8. Tüp 5000 g'de 5 dakika +4 °C'de santrifüj (Hettich Zentrifugen Mikro 200R) edildi.

9. Süpernatant kullanılmak üzere -20 °C'ye konuldu, pelet atıldı,.

2.7.2. ELISA Aşamaları

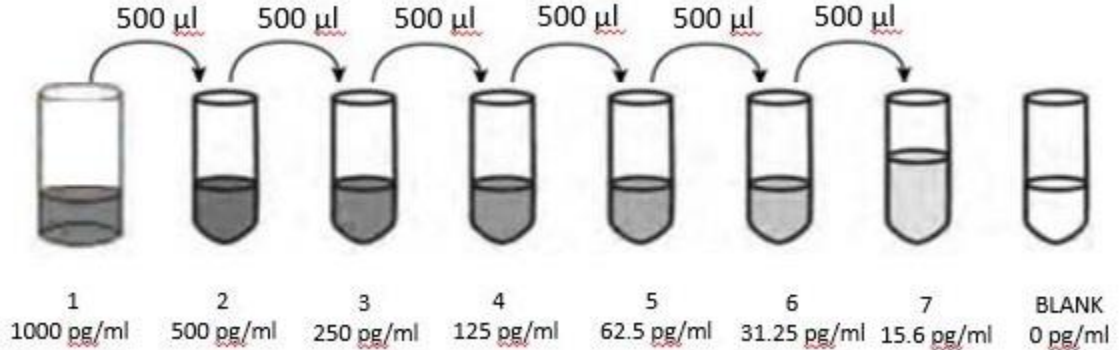
Solüsyonların Hazırlanışı (AKT2 Kiti):

1. **Yıkama solüsyonu hazırlama:** Her bir kuyu için 4,2 mL kullanılmak üzere hesaplandı. 18 mL'lik konsantre yıkama tamponu 432 mL distile su ile dilüe edilerek 450 mL'lik yıkama solüsyonu hazırlanıp, +4°C' de saklandı (her kit için).

2. **Biyotinli antikor solüsyonu hazırlama:** Biyotin antikoru, seyreltici tampon ile 1:100 olacak şekilde sulandırıldı. Her bir kuyucuğa 100 µl olacak şekilde 10 ml solüsyon hazırlandı. Solüsyon kullanımdan 30 dakika önce hazırlandı.

3. **HRP-streptavidin konjugat (SABC) solüsyonu hazırlama:** SABC, seyreltici tampon ile 1:100 olacak şekilde sulandırıldı. Her bir kuyucuğa 100 µl solüsyon olacak şekilde hesaplandı. Solüsyon kullanımdan 30 dakika önce hazırlandı.

4. **Standart solüsyonu hazırlama:** Standart tüpüne 1000 µl standart seyreltici tampon eklenerek konsantrasyonu 1000 pg/mL olan standart hazırlandı ve 1 numaralı tüp olarak numaralandırıldı. Yavaş bir şekilde karıştırılarak 10 dakika bekletildi. 7 adet Eppendorf tüpü alınarak her birine 500 µl standart seyreltici tampon eklendi. Tüpler 2'den 7'ye kadar numaralandırıldı ve son tüp kör (blank) tüpü olarak belirlendi. 1000 pg/mL'lik standart solüsyonundan 500 µl 2. tüpe eklendi ve karıştırıldı. 2 numaralı tüpten 500 µl alınarak 3. tüpe eklendi ve karıştırıldı. Bu işlem aynı şekilde 7 numaralı tüpe kadar devam edildi ve sırasıyla 500 pg/mL, 250 pg/mL, 125 pg/mL, 62,5 pg/mL, 31,25 pg/mL, 15,6 pg/mL konsantrasyonlarında standartlar hazırlandı. İçinde sadece 500 µl standart seyreltici solüsyonun bulunduğu tüp "blank" tüpü olarak isimlendirildi (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. AKT2 ELİSA kiti için standart solüsyonu hazırlama ve seyreltme basamakları.

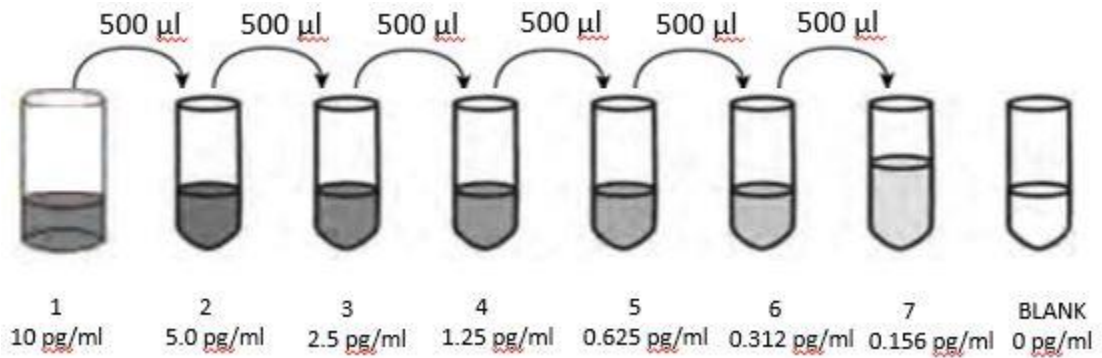
Solüsyonların Hazırlanışı (AKT1 ve FoxO1 Kitleri):

1. **Yıkama solüsyonu hazırlama:** Her bir kuyu için 2,8 mL kullanılmak üzere hesaplandı. 12 mL'lik konsantre yıkama tamponu 288 mL distile su ile dilüe edilerek 290,8 mL'lik yıkama solüsyonu hazırlanıp, +4°C'de saklandı (her kit için).

2. **Reagent A solüsyonu hazırlama:** Reagent A seyreltici tampon ile 1:100 olacak şekilde sulandırıldı. Her bir kuyucuğa 100 µl solüsyon olacak şekilde hesaplandı. Solüsyon kullanımdan 30 dakika önce hazırlandı.

3. **Reagent B solüsyonu hazırlama:** Reagent B seyreltici tampon ile 1:100 olacak şekilde sulandırıldı. Her bir kuyucuğa 100 µl solüsyon olacak şekilde hesaplandı. Solüsyon kullanımdan 30 dakika önce hazırlandı.

4. **Standart solüsyonu hazırlama:** Kit üreticisi talimatları doğrultusunda standart tüpüne 2000 µl standart seyreltici tampon eklenerek konsantrasyonu 10 pg/mL olan standart hazırlandı ve 1 numaralı tüp olarak numaralandırıldı. Yavaş bir şekilde karıştırılarak 10 dakika bekletildi. 7 adet Eppendorf tüpü alınarak her birine 500 µl standart seyreltici tampon eklendi. Tüpler 2'den 7'ye kadar numaralandırıldı ve son tüp blank tüpü olarak belirlendi. 10 pg/mL'lik standart solüsyonundan 500 µl 2. tüpe eklendi ve karıştırıldı. 2 numaralı tüpten 500 µl alınarak 3. tüpe eklendi ve karıştırıldı. Bu işlem aynı şekilde 7 numaralı tüpe kadar devam edildi ve sırasıyla 5 pg/mL, 2,5 pg/mL, 1,25 pg/mL, 0,625 pg/mL, 0,312 pg/mL, 0,156 pg/mL konsantrasyonlarında standartlar hazırlandı. İçinde sadece 500 µl standart seyreltici solüsyonun bulunduğu tüp blank tüpü olarak isimlendirildi (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Standart solüsyonu hazırlama ve seyreltme basamakları.

Deney Prosedürü (AKT2 Kiti):

- 1.** İlk olarak boş plate 2 kere yıkama solüsyonu ile yıkandı ve kurutuldu.
- 2.** Platede standart konulacak kuyucuklara 100 µl standardı konsantrasyonuna göre eklendi.
- 3.** Doku örneklerinin konulacağı kuyucuklara önce 90 µl standart seyreltici tampon eklendi.
- 4.** Dolaptan çıkarılıp eritilen doku homojenizatlarından 10 µl alıp önceden yerleri belirlenmiş kuyucuklara eklendi.
- 5.** 90 dakika 37°C' de inkübe edildi.
- 6.** Plate aspire edildi, 2 kere yıkandı.
- 7.** Her kuyucuğa 100 µl biyotinli antikor solüsyonu eklendi sonra 37°C'de 60 dakika süresince inkübe edildi.
- 8.** Plate aspire edilerek 3 kere yıkandı.
- 9.** Her kuyucuğa 100 µl SABC solüsyonu eklendi sonra 37°C'de 30 dakika süresince inkübe edildi.
- 10.** Plate aspire edilerek 5 kere yıkandı.
- 11.** Her kuyucuğa 90 µl TMB substratı eklendi sonra 37°C'de 20 dakika inkübe edildi.

12. Her kuyucuğa 50 µl reaksiyonu durdurma solüsyonu eklendi ve hemen ardından spektrofotometrede 450 nm'de sonuçlar okundu.

13. Optik dansitometre olarak elde edilen sonuçların konsantrasyon değerlerin standart eğrileri baz alınarak ve Curveexpert 1.4 programı kullanılarak hesaplandı.

AKT1 ve FoxO1 kitleri için bazı basamaklarda farklılıklar olmakla birlikte kit kılavuzlarında yer alan prosedürler genel olarak her örnek için benzerdir.

2.8 İzole Organ Banyosu Yöntemi ile Kas Fonksiyonlarının İncelenmesi

2.8.1 Krebs Solüsyonunun Hazırlanışı

Kas dokusunun *in vitro* ortamda elektrolit ve pH dengesini sağlamak için uygun milimolaritelerde kimyasallar kullanıldı (mM: 118 NaCl, 4,7 KCl, 1,2 MgSO₄.7H₂O, 1,2 KH₂PO₄, 25 NaHCO₃, 2,5 CaCl₂.2H₂O ve 11 Glukoz Monohidrat) (Park ve ark., 2012). Kimyasalların distile suda çözünmeleri sağlanırken aynı zamanda solüsyon oksijenlendirildi. hazırlanan solüsyonların pH'ı 7,20-7,40 aralığında olması özellikle de 7,40 değerine yakın olması sağlandı. Bu değerlerin dışında olan solüsyonlar 0,5-1 N sodyum hidroksit (NaOH) ve hidroklorik asit (HCl) ile titre edildi.

2.8.2 Deney Düzenegi

Çalışmada 50 ml hacminde izole organ banyosu kullanıldı. Deneyler sırasında ortam ısısı pompalı termosirkulatör (MAY WBC 3044-PR) yardımı ile 37⁰C'de tutuldu. Solüsyon devamlı olarak %95-%5 oksijen karbondioksit karışımı ile havalandırıldı. Çizgili kas elektriksel alan stimülasyon (EAS) yöntemi ile uyarıldı (Park ve ark., 2012). EAS için özel diyazn edilmiş platin levha elektrodlar MAY

ISO150-A stimulatörüne bağlanarak kullanıldı. İzometrik kasılma kuvveti (MAY FDT05) kuvvet çevirgeci ile ölçülüp veriler veri toplama ünitesine (MP35 BIOPAC) yollanarak bilgisayara kayıt edildi (Şekil 2.5 ve 2.6).



Şekil 2.5. Organ banyosu deney düzeneği



Şekil 2.6. Organ banyosu

2.8.3 İzometrik Kasılmaların Kaydedilmesi

Sıçan soleus ve plantaris kasları çıkarıldıktan sonra organ banyosuna alınana kadar %95 O₂ ve % 5 CO₂ içeren karışım ile havalandırılan Krebs solüsyonunda bekletildi.

Kasın bir ucu; platin elektrodların da bağlı bulunduğu; cam çubuğun alt kısmındaki çengele, diğer ucu ise kuvvet çevirgecine bağlandı. Kasların tamamı platin elektrotlar arasında kalacak şekilde ayarlama yapılarak asıldı. Dokular 20 dakika süre ile dinlenmeye bırakıldı. Dinlenim periyodu sonrası banyo içindeki krebs solüsyonu yenilendi. EAS için kullanılan tüm uyarılar 100 volt (V) olarak verildi.

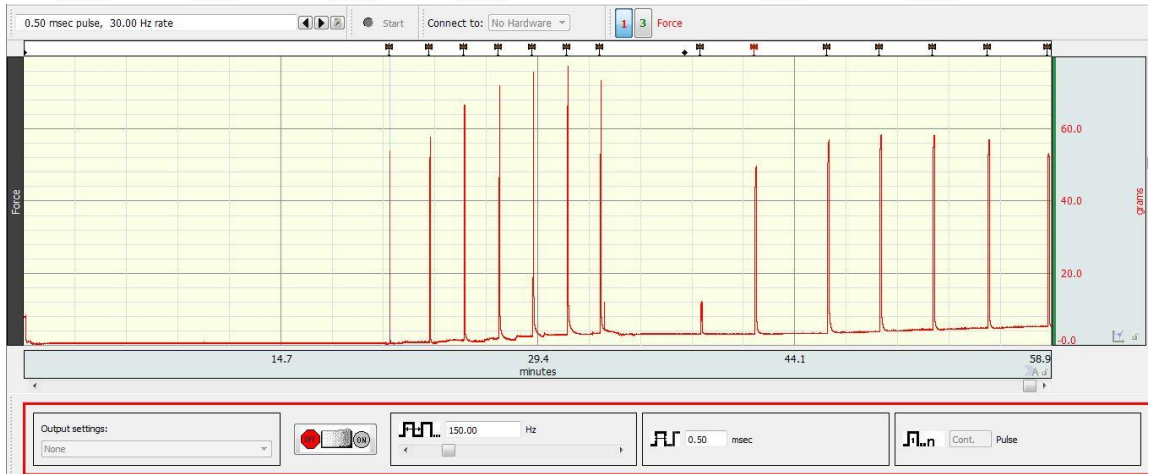
Soleus kaslarında öncelikle öngerim-cevap ölçümleri yapıldı. Bu ölçümler için kasın ön gerimi sırası ile 0,5 – 1 – 1,5 – 2 – 2,5 gramlara ayarlanarak EAS uygulandı (100 Hz, 2 sn, 0,5 ms) (Şekil 2.7). Öngerim düzeyleri aralarında dokuların 2 dakika süre ile dinlenmesine izin verildi. Öngerim-cevap ölçümleri sonrası banyo içindeki krebs solüsyonu yenilendi.

Öngerim-cevap ölçümleri sırasında kasın en yüksek kasılma cevabı verdiği ön gerim düzeyi “optimum değer olarak” belirlendi. Krebs solüsyonu değiştirildikten sonra kasın öngerimi kendi optimum değerine ayarlanarak 10 dakika süre ile dinlenmeye bırakıldı. Dinlenim dönemi sonrası krebs solüsyonu değiştirildi. Frekans-cevap ölçümleri, sırası ile 10, 30, 50, 70, 100, 120 Hz frekanslarda kare dalgalardan oluşan elektriksel uyarılar (5 sn, 0,5 ms) verilerek yapıldı. Her ölçüm arasında 3'er dakika dinlenim süresi verildi (Şekil 2.8).

Daha sonra plantaris kası organ banyosuna asıldı, ön gerim 2 g'a ayarlanarak 20 dakika dengelemeye bırakıldı. Frekans – cevap ölçümleri soleus kasında kullanılan deney protokolü aynı şekilde uygulanarak yapıldı. Kontraksiyonların değerlendirilmesinde *peak-to-peak* (P-P) ölçümü kullanıldı. P-P, seçilen alandaki maksimum genlik değeri ile seçilen alandaki minimum genlik değeri arasındaki farkı gösterir.



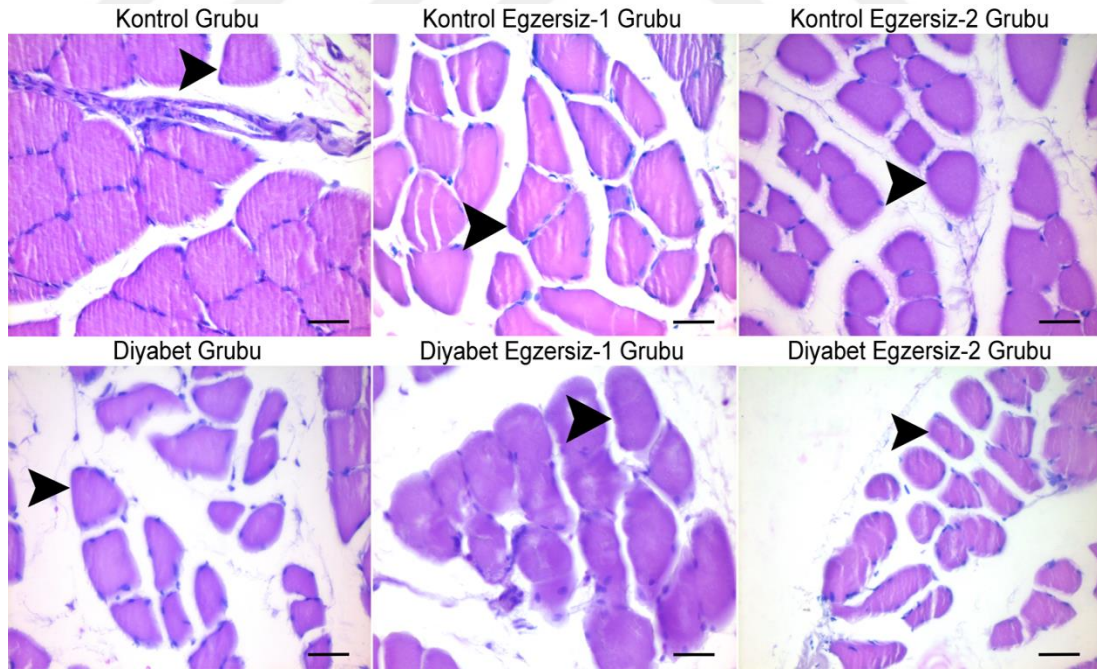
Şekil 2.7. Elektriksel alan elektrodu



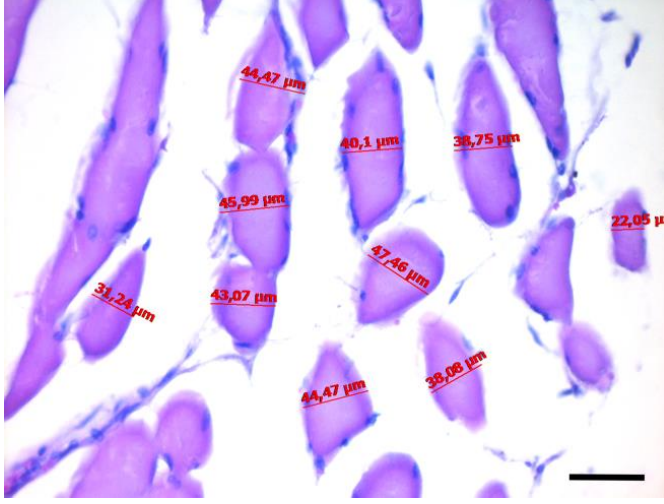
Şekil 2.8. Soleus kası öngirim ve farklı frekanslardaki kas kontraksiyon cevap örnekleri.

2.9. Soleus ve Plantaris Kaslarında Lif Çaplarının Ölçümü

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda sıçan soleus ve plantaris iskelet kasları diseke edildikten sonra tespit amacıyla ortalama 7 gün tamponlanmış %10'luk formalin içerisinde bekletildi. Fikse olan dokular rutin histolojik takip aşamalarından geçirildi; öncelikle akan su altında 15-20 dakika yıkanarak daha sonra sırasıyla %75 ve %96 ve %100'lük alkol serilerinde bekletilerek dehidrate edildi. Bu işlemten sonra dokular ksilol içerisinde şeffaflaştırıldı. Etüvde 60 °C'de 4 saat sıvı parafin içerisinde infiltrasyonu takiben dokular sert parafin bloklara gömüldü. Leica RM 2125RT model sliding mikrotom ile 7 µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitler Hematoksilen-Eozin ile boyanıp Zeiss Axio Scope A1 (Oberkochen, Germany) ışık mikroskobunda değerlendirildi ve görüntüledi (Şekil 2.9). 40'lık büyütmede çekilen fotoğraflar Axiovision Rel 4.8 programında her fotoğraf üzerinde 10 iskelet kası enine kesiti en dar çapı ölçülerek kaydedildi (Şekil 2.10). Ölçümler çift kör çalışılarak yapıldı.



Şekil 2.9. Kontrol ve deney gruplarında iskelet kas kesitleri; ok ucu: iskelet kas lifi enine kesiti, Hematoksilen Eozin boyama, Scale bar=50 µm.



Şekil 2.10. İskelet kası enine kesitleri, Hematoksilen-Eozin boyama, Scale bar=50 µm.

2.10. İstatistiksel Analiz

Araştırma verilerinin istatistiksel analizi için Statistical Package for Social Sciences (SPSS) sürüm 15 kullanıldı.

Kan glukoz düzeyi, vücut ağırlıkları ve fonksiyon ölçümlerinin istatistiksel değerlendirilmesinde tekrarlayan ölçümler için tekrarlayan çift yönlü ANOVA testi uygulandı. Sonuçların anlamlı çıktığı durumlarda ikili karşılaştırmalar Bonferroni testi ile yapıldı.

AKT1, AKT2, FoxO1 düzeyleri, yaş-kuru ağırlık ve kas lif çapı ölçümleri için tek yönlü ANOVA testi uygulandı. Sonuçların anlamlı çıktığı durumlarda ikili karşılaştırmalar Bonferroni testi ile yapıldı.

İstatistiksel analizler için anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak kabul edildi. Tüm veriler ortalama ve artı-eksi ortalamanın standart hatası şeklinde sunuldu.

3. BULGULAR

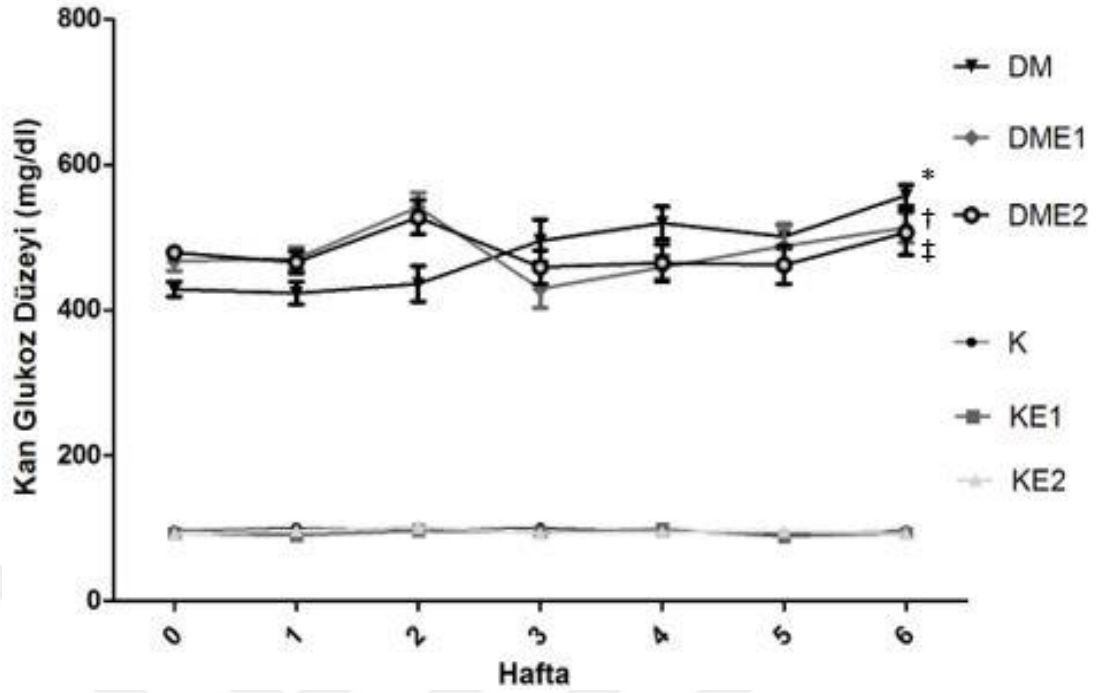
Çalışmamızda Tip 1 DM’de farklı egzersiz protokollerinin soleus ve plantaris kaslarında atrofi üzerine etkilerinin incelenmesi planlanmıştır. Bu amaçla kas fonksiyonları ile birlikte kas dokusunda AKT 1 ve 2, FoxO1 protein seviyeleri ve kas lif çap değişimleri araştırılmıştır. Ayrıca kasların yaş-kuru ağırlıkları, hayvanların haftalık kan glukoz düzeyleri ve vücut ağırlık ölçümlerinin sonuçları değerlendirilmiştir.

3.1. Kan Glukoz Ölçümleri

Hayvanların çalışmaya dahil edildikleri günden itibaren her hafta kan glukoz düzeyleri ölçüldü. Grupların glukoz değerleri Çizelge 3.1’de verildi. Diyabetik gruplarda STZ enjeksiyonu öncesi kan glukoz ortalamaları DM: $98\pm 1,2$; DME1: $93\pm 1,1$; DME2: $96\pm 1,8$ olarak ölçüldü. STZ enjeksiyonu sonrası ölçümler Çizelge 3.1’de verildi. Diyabet gruplarında STZ öncesi ve sonrası istatistiksel olarak anlamlı değişiklik görüldü. Deney hayvanlarından STZ enjeksiyonu uygulanıp diyabet olmayanlar deney dışı bırakıldı.

Çizelge 3.1. Deney gruplarının kan glukoz düzeyleri (mg/dl).

	0. Hafta	1. Hafta	2. Hafta	3.Hafta	4. Hafta	5. Hafta	6. Hafta
K (n:16)	97,0 ± 0,9	101,2 ± 2,4	98,7 ± 1,5	100,5 ± 2,8	96,1 ± 1,5	93,0 ± 1,3	96,9 ± 0,9
KE1 (n:16)	93,2 ± 1,1	90,1 ± 3,6	97,0 ± 2,4	94,9 ± 2,1	98,9 ± 2,4	89,2 ± 2,3	93,2 ± 1,4
KE2 (n:16)	92,0 ± 1,0	97,5 ± 3,0	101,3 ± 1,6	93,5 ± 2,8	94,9 ± 1,7	95,9 ± 1,7	93,3 ± 1,2
DM (n:16)	428,8 ± 9,7	423,5 ± 14,7	436,2 ± 23,2	495,3 ± 27,8	519,8 ± 21,2	500,9 ± 15,3	557,8 ± 13,7
DME1 (n:16)	467,4 ± 12,7	470,9 ± 14,6	541,4 ± 19,2	429,3 ± 24,5	458,9 ± 15,2	488,2 ± 29,4	513,5 ± 19,6
DME2 (n:16)	478,9 ± 7,9	465,8 ± 14,1	527,8 ± 22,3	459,0 ± 21,9	464,9 ± 24,2	462,0 ± 25,0	506,6 ± 29,3



Şekil 3.1. Deney gruplarının kan glukoz düzeylerinin haftalara göre değişimini gösterir şekil (mg/dl). K ve DM*; KE1 ve DME1†; KE2 ve DME2‡ grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p < 0,001$). DM, DME1 ile DME2 grupları arasında ve K, KE1, KE2 grupları arasında istatistiksel olarak fark yoktur ($p > 0,05$).

Deney hayvanlarında, 7 haftalık kan glukoz düzeylerini değerlendirmek amacıyla tekrarlayan ölçümler için tekrarlayan çift yönlü ANOVA testi yapıldığında gruplar arasında istatistiksel açıdan önemli fark görüldü ($p < 0,0001$). İkili karşılaştırmalar için Bonferroni test kullanıldı.

Bonferroni testinde farkın K ve DM*; KE1 ve DME1†; KE2 ve DME2‡ grupları arasında olduğu görüldü ($p < 0,001$). Diğer taraftan DM, DME1 ile DME2 grupları arasında ve K, KE1, KE2 grupları arasında anlamlı fark görülmedi (Şekil 3.1).

3.2. Vücut Ağırlığı Ölçümleri

Hayvanların çalışmaya alındıktan itibaren her hafta vücut ağırlıkları ölçüldü. Grupların vücut ağırlık değerleri Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Deney hayvanlarında, 7 haftalık vücut ağırlıklarını değerlendirmek amacıyla tekrarlayan ölçümler için tekrarlayan çift yönlü ANOVA testi yapıldığında gruplar arasında istatistiksel açıdan önemli fark görüldü ($p<0,0001$). İkili karşılaştırmalar için Bonferroni test kullanıldı.

Bonferroni testinde farkın K ve DM* ($p<0,001$); K ve KE2¥ ($p<0,05$); KE1 ve DME1† ($p<0,001$); KE2 ve DME2‡ ($p<0,05$); grupları arasında ilerleyen haftalarda belirginleşen istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü. KE1 ve KE2; K ve KE1; DM ve DME1; DM ve DME2; DME1 ve DME2 grupları arasında istatistiksel fark görülmedi ($p>0,05$) (Şekil 3.2).

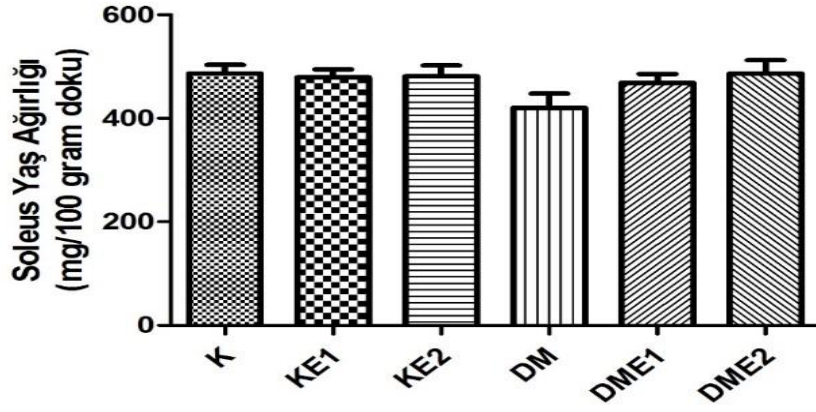
3.3. Kas Ağırlık Ölçümleri

Soleus Kas-Vücut Ağırlık Oranı

Kas yaş ağırlık ölçümlerinin yapıldığı hayvan grubunun soleus-vücut ağırlık oranları Şekil 3.3’de verilmiştir.

Çizelge 3.3. Soleus yaş ağırlığının vücut ağırlığına oranı ortalama ve standart hata değerleri (100 gr vücut ağırlığı başına normalize edilmiştir).

	K (n:8)	KE1 (n:8)	KE2 (n:8)	DM (n:8)	DME1 (n:8)	DME2 (n:8)
Ortalama	48,65	47,94	48,11	42,02	46,87	48,67
Standart hata	1,69	1,52	2,13	2,74	1,70	2,53

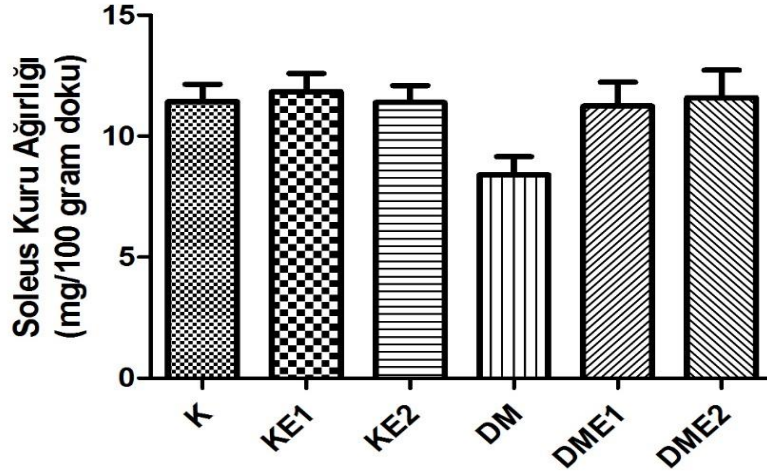


Şekil 3.3. Soleus yaş ağırlığının vücut ağırlığına oranı (100 gr vücut ağırlığı başına normalize edilmiştir). İstatiksel olarak gruplar arasında fark yoktur ($p>0,05$).

Gruplar arasındaki soleus yaş-vücut ağırlığı oranlarını değerlendirmek için kullanılan tek yönlü ANOVA testinde gruplar arasında istatiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p>0,05$).

Çizelge 3.4. Soleus kuru ağırlığının vücut ağırlığına oranı ortalama ve standart hata değerleri (100 gr vücut ağırlığı başına normalize edilmiştir).

	K (n:8)	KE1 (n:8)	KE2 (n:8)	DM (n:8)	DME1 (n:8)	DME2 (n:8)
Ortalama	11,43	11,84	11,39	8,41	11,25	11,59
Standart hata	0,71	0,76	0,70	0,75	0,98	1,13



Şekil 3.4. Soleus kuru ağırlığının vücut ağırlığına oranı (100 gr vücut ağırlığı başına normalize edilmiştir) İstatiksel olarak gruplar arasında fark yoktur ($p>0,05$).

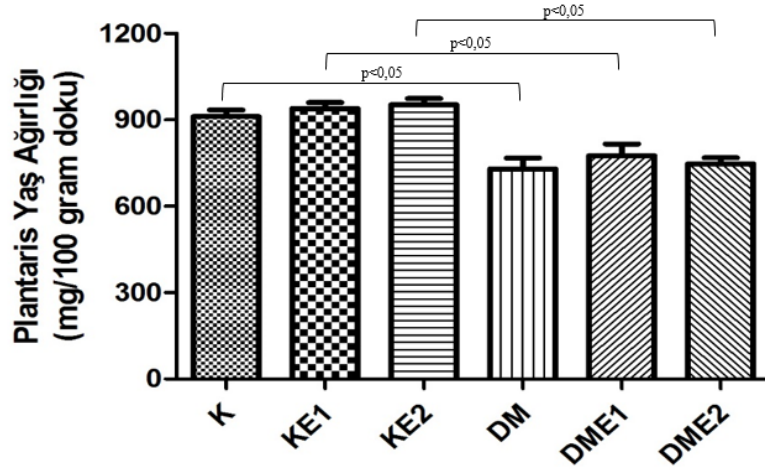
Gruplar arasındaki soleus kuru-vücut ağırlığı oranlarını değerlendirmek için kullanılan tek yönlü ANOVA testinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p>0,05$).

Plantaris Kas-Vücut Ağırlık Oranı

Kas yaş ağırlık ölçümlerinin yapıldığı hayvan grubunun plantaris-vücut ağırlık oranları Şekil 3.5’de verilmiştir.

Çizelge 3.5. Plantaris yaş ağırlığının vücut ağırlığına oranı ortalama ve standart hata değerleri (100 gr vücut ağırlığı başına normalize edilmiştir).

	K (n:8)	KE1 (n:8)	KE2 (n:8)	DM (n:8)	DME1 (n:8)	DME2 (n:8)
Ortalama	91,19	93,93	95,23	73,30	77,59	74,75
Standart hata	2,24	2,10	2,21	3,78	4,09	2,05



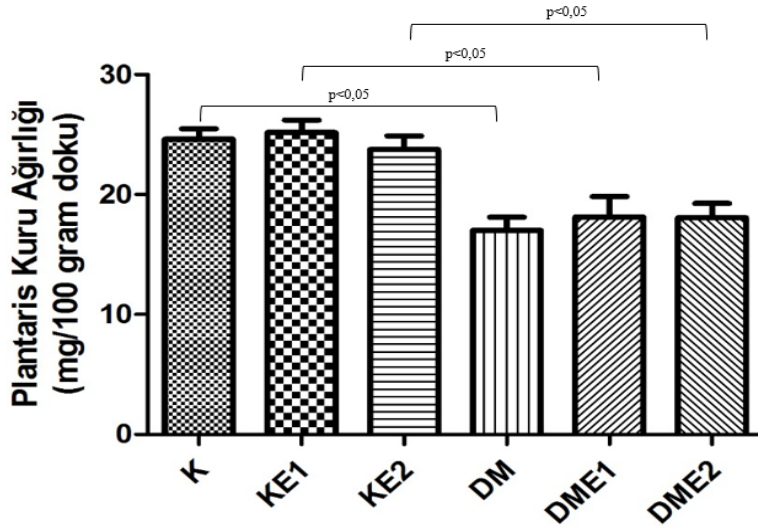
Şekil 3.5. Plantaris yaş ağırlığının vücut ağırlığına oranı (100 gr vücut ağırlığı başına normalize edilmiştir). K ve DM*; KE1 ve DME1†; KE2 ve DME2‡ grupları arasında anlamlı fark vardır ($p<0,05$).

Gruplar arasındaki plantaris yaş-vücut ağırlığı oranlarını değerlendirmek için kullanılan tek yönlü ANOVA testi yapıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü. İkili karşılaştırmalar için Bonferroni test kullanıldı.

Bonferroni testinde farkın K ve DM*; KE1 ve DME1†; KE2 ve DME2‡ grupları arasında olduğu görüldü ($p<0,05$). DM, DME1 ve DME2 grupları arasında anlamlı fark görülmedi ($p>0,05$). Aynı şekilde K, KE1 ve KE2 grupları arasında anlamlı fark görülmedi ($p>0,05$).

Çizelge 3.6. Plantaris kuru ağırlığının vücut ağırlığına oranı ortalama ve standart hata değerleri (100 gr vücut ağırlığı başına normalize edilmiştir).

	K (n:8)	KE1 (n:8)	KE2 (n:8)	DM (n:8)	DME1 (n:8)	DME2 (n:8)
Ortalama	24,62	25,16	23,77	17,02	18,15	18,05
Standart hata	0,87	1,04	1,11	1,09	1,68	1,21



Şekil 3.6. Plantaris kuru ağırlığının vücut ağırlığına oranı (100 gr vücut ağırlığı başına normalize edilmiştir). K ve DM*; KE1 ve DME1†; KE2 ve DME2‡ grupları arasında anlamlı fark vardır ($p<0,05$).

Gruplar arasındaki plantaris kuru-vücut ağırlığı oranlarını değerlendirmek için kullanılan tek yönlü ANOVA testi yapıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü. İkili karşılaştırmalar için Bonferroni test kullanıldı.

Bonferroni testinde farkın K ve DM*; KE1 ve DME1†; KE2 ve DME2‡ grupları arasında olduğu görüldü ($p<0,05$). DM, DME1 ve DME2 grupları arasında anlamlı fark görülmedi ($p>0,05$). Aynı şekilde K, KE1 ve KE2 grupları arasında anlamlı fark görülmedi ($p>0,05$).

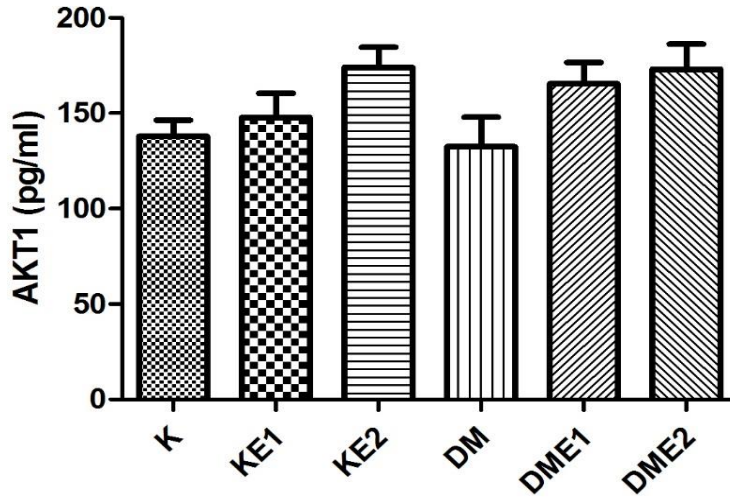
3.4. AKT1, AKT2, FoxO1 Protein Düzeylerinin Ölçümü

AKT1 Ölçümleri

Soleus ve plantaris kası AKT1 düzeyleri Şekil 3.7 ve 3.8’de verilmiştir.

Çizelge 3.7. Soleus kasında AKT1 düzeyi ortalama ve standart hata değerleri (pg/ml).

	K (n:6)	KE1 (n:7)	KE2 (n:6)	DM (n:7)	DME1 (n:7)	DME2 (n:6)
Ortalama	138,0	147,8	174,1	132,4	165,5	173,0
Standart hata	8,5	12,7	10,4	15,5	11,0	13,2

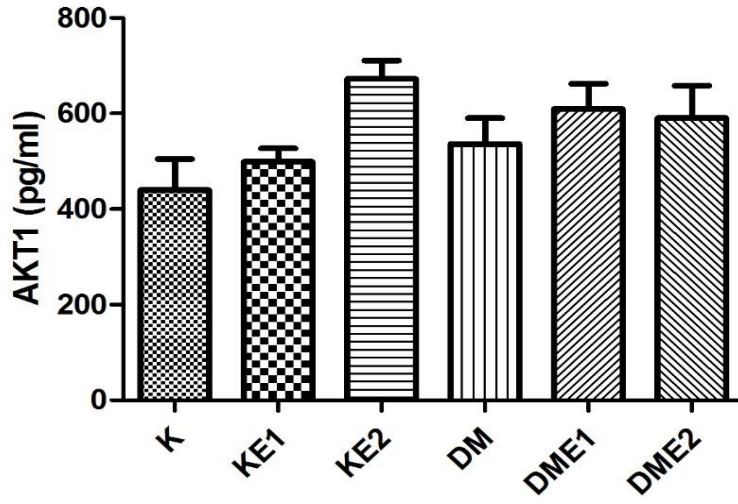


Şekil 3.7 Soleus kasında AKT1 düzeyi (pg/ml).

Gruplar arasındaki soleus kası AKT1 düzeyini değerlendirmek için kullanılan tek yönlü ANOVA testinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p>0,05$).

Çizelge 3.8. Plantaris kasında AKT1 düzeyi ortalama ve standart hata değerleri (pg/ml).

	K (n:6)	KE1 (n:6)	KE2 (n:6)	DM (n:5)	DME1 (n:6)	DME2 (n:7)
Ortalama	439,8	499,2	672,1	536,3	609,8	590,0
Standart hata	65,2	27,7	39,1	53,7	52,6	68,3



Şekil 3.8 Plantaris kasında AKT1 düzeyi (pg/ml).

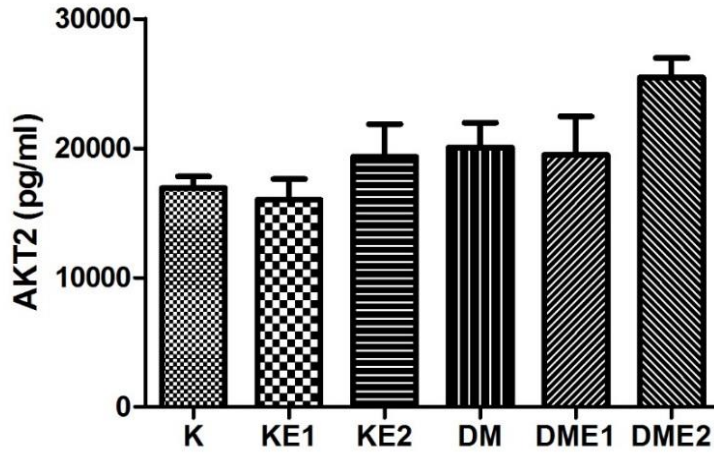
Gruplar arasındaki plantaris kası AKT1 düzeyini değerlendirmek için kullanılan tek yönlü ANOVA testinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p>0,05$).

AKT2 Ölçümleri

Soleus ve plantaris kası AKT2 düzeyleri Şekil 3.9 ve 3.10'da verilmiştir.

Çizelge 3.9. Soleus kasında AKT2 düzeyi ortalama ve standart hata değerleri (pg/ml).

	K (n:6)	KE1 (n:6)	KE2 (n:7)	DM (n:6)	DME1 (n:6)	DME2 (n:6)
Ortalama	16908	16006	19345	20060	19475	25450
Standart hata	893	1616	2527	1906	2984	1514

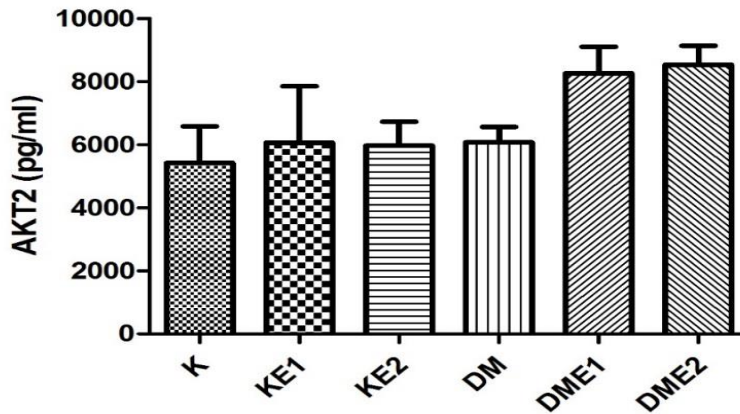


Şekil 3.9. Soleus kasında AKT2 düzeyi (pg/ml).

Gruplar arasındaki soleus kası AKT2 düzeyini değerlendirmek için kullanılan tek yönlü ANOVA testinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p>0,05$).

Çizelge 3.10. Plantaris kasında AKT2 düzeyi ortalama ve standart hata değerleri (pg/ml).

	K (n:6)	KE1 (n:6)	KE2 (n:6)	DM (n:5)	DME1 (n:7)	DME2 (n:6)
Ortalama	5422	6065	5970	6069	8259	8531
Standart hata	1155	1786	763	497	843	608



Şekil 3.10. Plantaris kasında AKT2 düzeyi (pg/ml).

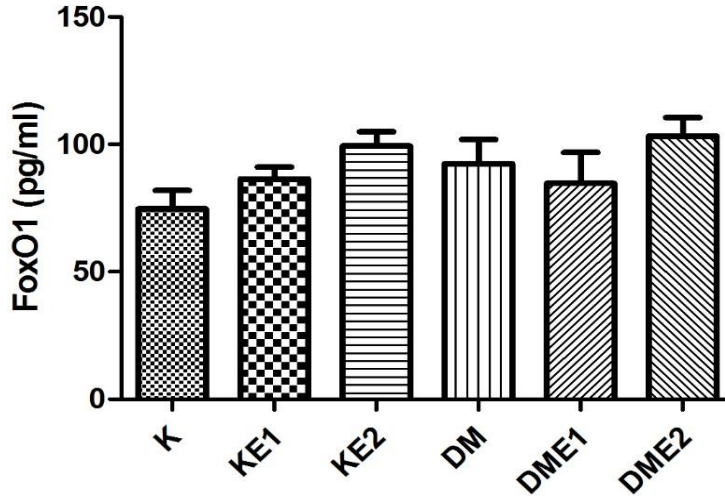
Gruplar arasındaki plantaris kası AKT2 düzeyini değerlendirmek için kullanılan tek yönlü ANOVA testinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p>0,05$).

FoxO1 Ölçümleri

Soleus ve plantaris kası FoxO1 düzeyleri Şekil 3.11 ve 3.12’de verilmiştir.

Çizelge 3.11. Soleus kasında FoxO1 düzeyi ortalama ve standart hata değerleri (pg/ml).

	K (n:8)	KE1 (n:6)	KE2 (n:7)	DM (n:6)	DME1 (n:6)	DME2 (n:6)
Ortalama	74,68	86,39	99,26	92,49	84,72	103,30
Standart hata	7,20	4,72	5,68	9,41	12,05	7,23

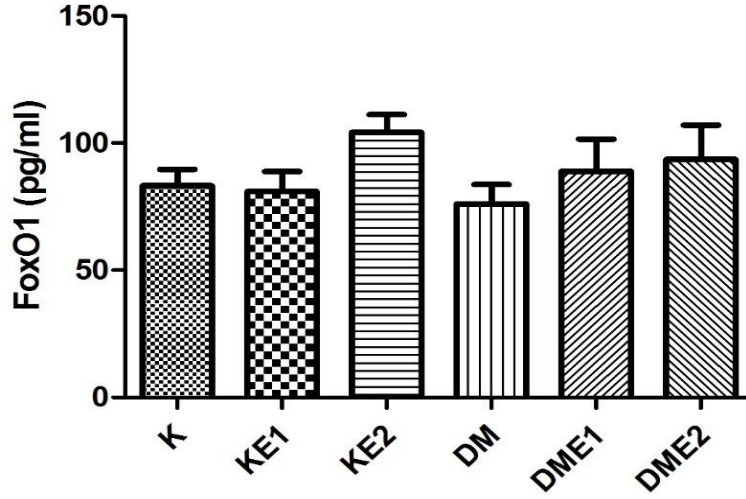


Şekil 3.11. Soleus kasında FoxO1 düzeyi (pg/ml).

Gruplar arasındaki soleus kası FoxO1 düzeyini değerlendirmek için kullanılan tek yönlü ANOVA testinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p>0,05$).

Çizelge 3.12. Plantaris kasında FoxO1 düzeyi ortalama ve standart hata değerleri (pg/ml).

	K (n:7)	KE1 (n:6)	KE2 (n:7)	DM (n:6)	DME1 (n:5)	DME2 (n:6)
Ortalama	83,14	80,90	104,10	76,11	88,94	93,58
Standart hata	6,59	7,88	7,11	7,63	12,57	13,51



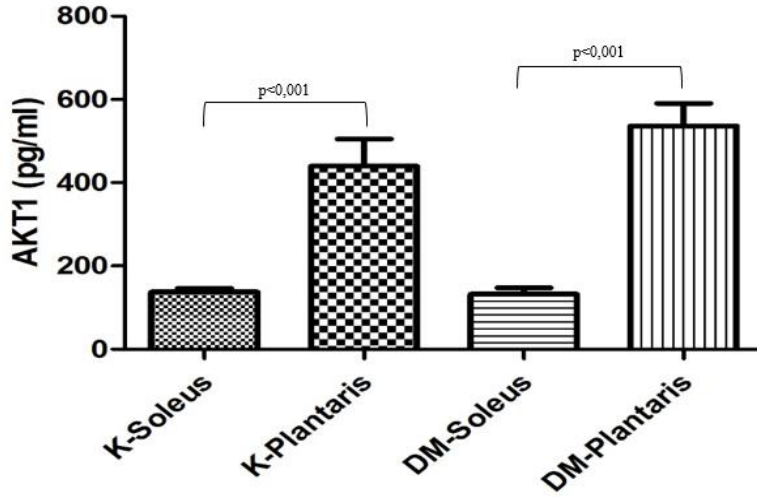
Şekil 3.12. Plantaris kasında FoxO1 düzeyi (pg/ml).

Gruplar arasındaki plantaris kası FoxO1 düzeyini değerlendirmek için kullanılan tek yönlü ANOVA testinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p>0,05$).

Soleus ve plantaris kasları arasındaki AKT1 ve AKT2 düzeylerini karşılaştırmak amacı ile her iki kasın DM ve K grupları arasındaki farka bakıldı. Sonuçlar Şekil 3.13 ve Şekil 3.14’de verilmiştir.

Çizelge 3.13. K ve DM gruplarında soleus ve plantaris kaslarındaki AKT1 düzeyi ortalama ve standart hata değerleri (pg/ml).

	K-Soleus (n:6)	K-Plantaris (n:6)	DM-Soleus (n:7)	DM-Plantaris (n:5)
Ortalama	138,0	439,8	132,4	536,3
Standart hata	8,5	65,2	15,5	53,7



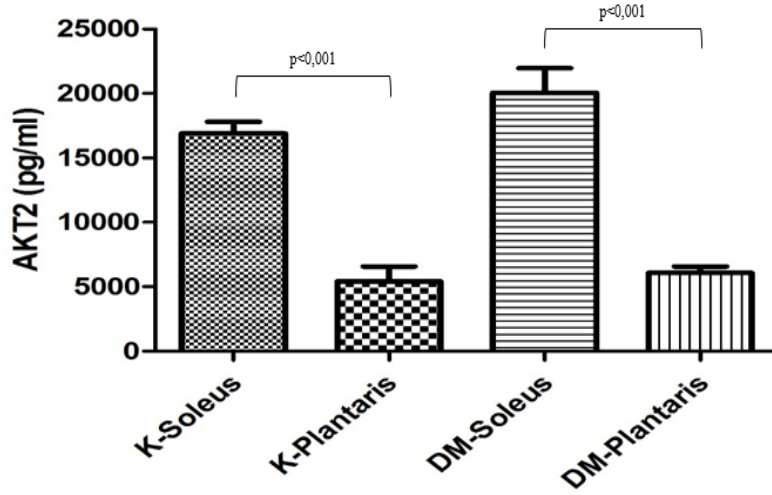
Şekil 3.13. K ve DM gruplarında soleus ve plantaris kaslarındaki AKT1 düzeyi (pg/ml). K-Soleus ve K-Plantaris^Φ; DM-Soleus ve DM-Plantaris^Ψ grupları arasında fark vardır (p<0,001).

K ve DM grupları arasındaki soleus-plantaris AKT1 düzeylerini karşılaştırma amacı için kullanılan tek yönlü ANOVA testi yapıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü. İkili karşılaştırmalar için Bonferroni test kullanıldı.

Bonferroni testinde farkın K-Soleus ve K-Plantaris^Φ; DM-Soleus ve DM-Plantaris^Ψ grupları arasında olduğu görüldü (p<0,001).

Çizelge 3.14. K ve DM gruplarında soleus ve plantaris kaslarındaki AKT2 düzeyi ortalama ve standart hata değerleri (pg/ml).

	K-Soleus (n:6)	K-Plantaris (n:6)	DM-Soleus (n:6)	DM-Plantaris (n:5)
Ortalama	16908	5422	20060	6069
Standart hata	893	1155	1906	497



Şekil 3.14. K ve DM gruplarında soleus ve plantaris kaslarındaki AKT2 düzeyi (pg/ml). K-Soleus ve K-Plantaris^Φ; DM-Soleus ve DM-Plantaris^Ψ grupları arasında fark vardır (p<0,001).

K ve DM grupları arasındaki soleus-plantaris AKT2 düzeylerini karşılaştırma amacı için kullanılan tek yönlü ANOVA testi yapıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü. İkili karşılaştırmalar için Bonferroni test kullanıldı.

Bonferroni testinde farkın K-Soleus ve K-Plantaris^Φ; DM-Soleus ve DM-Plantaris^Ψ grupları arasında olduğu görüldü (p<0,001).

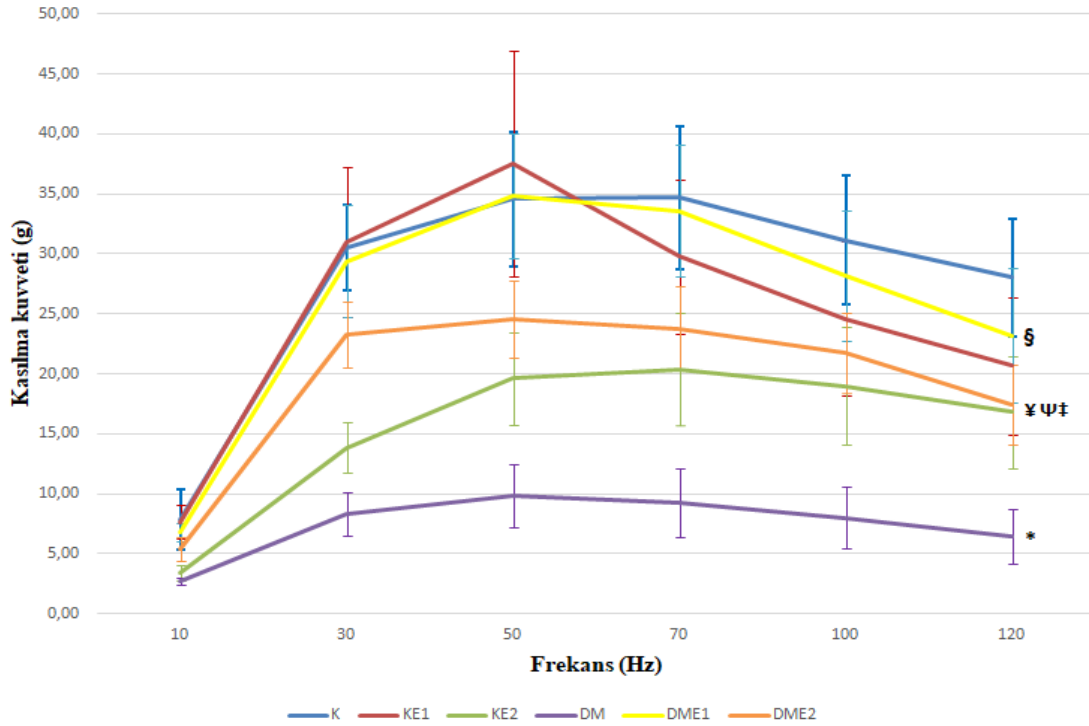
3.5. Soleus ve Plantaris Kası Fonksiyon Ölçümleri

Soleus Kası Fonksiyon Ölçümleri

Fonksiyon çalışmasına dahil edilen hayvanların soleus kasında farklı frekanslarda fonksiyon ölçümleri Çizelge 3.15 ve Şekil 3.15’de verilmiştir.

Çizelge 3.15. Soleus kası frekans-cevap ölçümleri (g).

	K (n:6)	KE1 (n:6)	KE2 (n:6)	DM (n:6)	DME1 (n:6)	DME2 (n:6)
10 Hz	7,84 ± 2,49	7,67 ± 1,37	3,42 ± 0,68	2,72 ± 0,28	6,83 ± 0,77	5,43 ± 1,00
30 Hz	30,48 ± 3,55	30,97 ± 6,29	13,84 ± 2,10	8,31 ± 1,84	29,39 ± 4,64	23,25 ± 2,77
50 Hz	34,57 ± 5,57	37,52 ± 9,45	19,60 ± 3,83	9,80 ± 2,65	34,82 ± 5,19	24,58 ± 3,21
70 Hz	34,70 ± 5,99	29,80 ± 6,42	20,41 ± 4,68	9,30 ± 2,87	33,59 ± 5,50	23,79 ± 3,49
100 Hz	31,15 ± 5,35	24,59 ± 6,44	18,97 ± 4,90	7,98 ± 2,56	28,23 ± 5,44	21,71 ± 3,33
120 Hz	28,03 ± 4,92	20,65 ± 5,74	16,81 ± 4,71	6,42 ± 2,30	23,21 ± 5,63	17,44 ± 3,34



Şekil 3.15. Soleus kası frekans-cevap ölçümlerinin gruplar arası karşılaştırılması. K ve DM* (P<0,001); DM ve DME1[§] (P<0,001); K ve KE2[†] (P<0,001); K ve DM* (P<0,001) (P<0,001); DM ve DME2[‡] (P<0,001); KE2 ve DME2^{†‡} (P<0,05) grupları arasında anlamlı fark vardır.

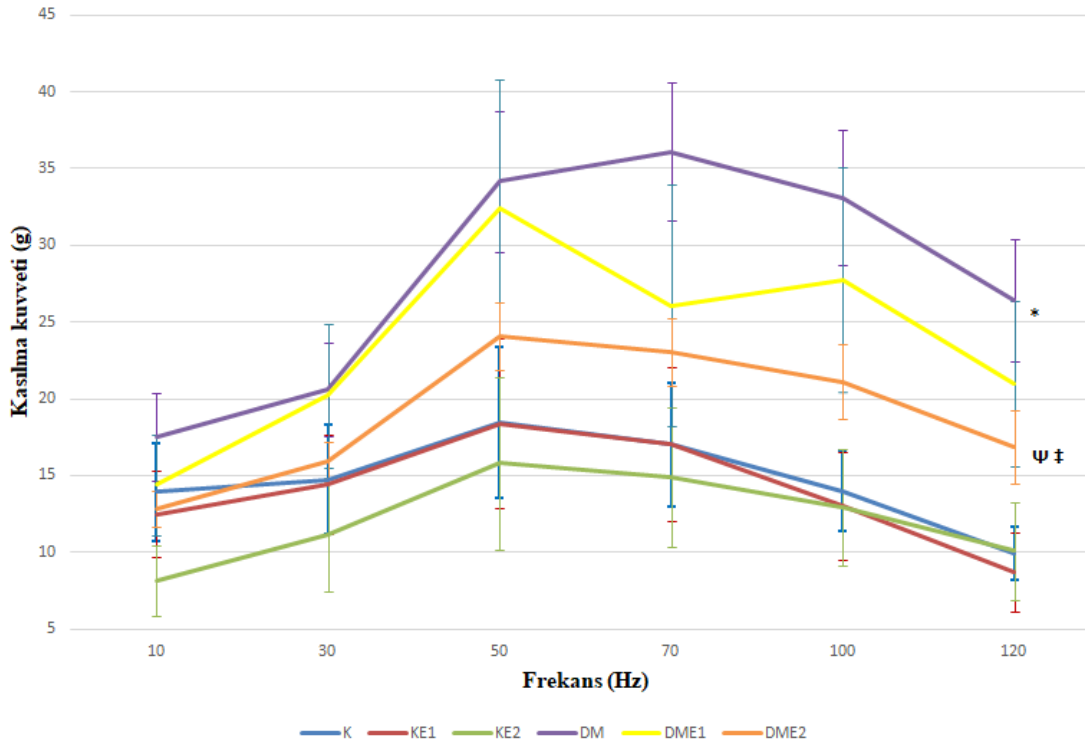
Soleus kasında fonksiyon ölçümleri tekrarlayan ölçümler için tekrarlayan çift yönlü ANOVA testi ile değerlendirildi. İstatiksel olarak K ve KE2[¥] (P<0,001); K ve DM* (P<0,001); DM ve DME1[§] (P<0,001); DM ve DME2^Ψ (P<0,001); KE2 ve DME2[‡] (P<0,05) grupları arasında anlamlı fark görüldü (Şekil 3.15).

Plantaris Kası Fonksiyon Ölçümleri

Fonksiyon çalışmasına dahil edilen hayvanların plantaris kasında farklı frekanslarda fonksiyon ölçümleri Çizelge 3.16 ve Şekil 3.16'da verilmiştir.

Çizelge 3.16. Plantaris kası frekans-cevap ölçümleri (g).

	K (n:5)	KE1 (n:5)	KE2 (n:5)	DM (n:5)	DME1 (n:5)	DME2 (n:5)
10 Hz	13,94 ± 3,18	12,51 ± 2,85	8,15 ± 2,32	17,50 ± 2,83	14,41 ± 3,26	12,84 ± 1,21
30 Hz	14,75 ± 3,59	14,46 ± 3,21	11,17 ± 3,68	20,61 ± 3,06	20,21 ± 4,69	15,88 ± 1,30
50 Hz	18,44 ± 4,94	18,38 ± 5,53	15,79 ± 5,64	34,14 ± 4,57	32,43 ± 8,40	24,09 ± 2,18
70 Hz	17,01 ± 4,02	17,04 ± 5,02	14,86 ± 4,55	36,11 ± 4,48	26,09 ± 7,85	23,02 ± 2,22
100 Hz	14,01 ± 2,63	12,99 ± 3,52	12,91 ± 3,78	33,11 ± 4,37	27,75 ± 7,31	21,10 ± 2,42
120 Hz	9,93 ± 1,73	8,74 ± 2,58	10,09 ± 3,21	26,44 ± 3,97	20,99 ± 5,38	16,88 ± 2,40



Şekil 3.16. Plantaris kası frekans-cevap ölçümlerinin gruplar arası karşılaştırılması. K ve DM*; KE2 ve DME2‡; DM ve DME2† grupları arasında anlamlı fark vardır (P<0,05).

Plantaris kasında fonksiyon ölçümleri tekrarlayan ölçümler için tekrarlayan çift yönlü ANOVA testi ile değerlendirildi. İstatiksel olarak K ve DM* (P<0,05); KE2 ve DME2‡ (P<0,05); DM ve DME2† (P<0,05) grupları arasında anlamlı fark görüldü (Şekil 3.16).

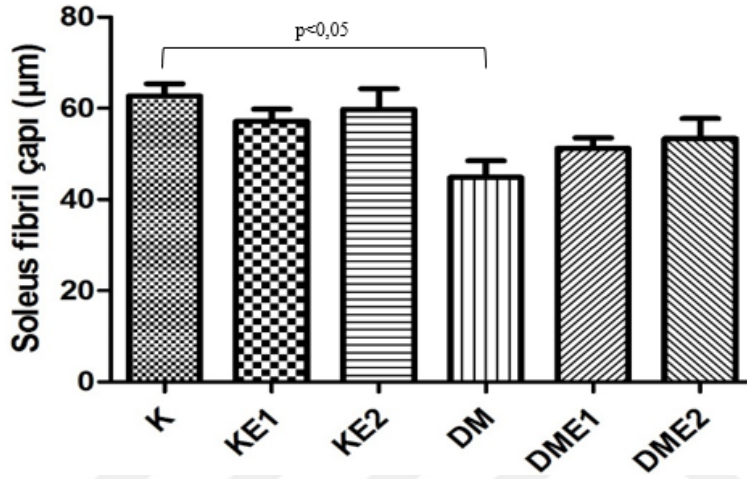
3.6. Soleus ve Plantaris Kasları Lif Çaplarının Ölçümü

Soleus Lif Çapı

Kas lif çaplarının ölçüldüğü hayvan gruplarında soleus lif çap ortalama değerleri Çizelge 3.17 ve Şekil 3.17' de verilmiştir.

Çizelge 3.17. Soleus kası lif çapları ortalama ve standart hata değerleri (μm).

	K (n:8)	KE1 (n:8)	KE2 (n:8)	DM (n:8)	DME1 (n:8)	DME2 (n:8)
Ortalama	62,73	57,19	59,78	44,82	51,2	53,39
Standart hata	2,66	2,63	4,48	3,65	2,31	4,38



Şekil 3.17. Gruplara göre soleus lif çapları. K ve DM* grupları arasında anlamlı fark vardır ($p<0,05$). DM, DME1 ve DME2 grupları arasında anlamlı fark yoktur ($p>0,05$). Aynı şekilde K, KE1 ve KE2 grupları arasında anlamlı fark yoktur ($p>0,05$).

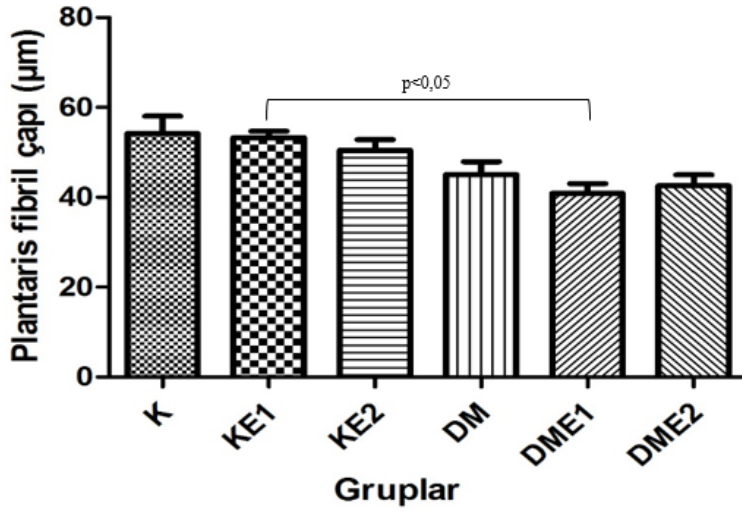
Gruplar arasındaki soleus lif çapını değerlendirmek için kullanılan tek yönlü ANOVA testinde K ve DM* grupları arasında anlamlı fark görüldü ($p<0,05$). DM, DME1 ve DME2 grupları arasında anlamlı fark görülmedi ($p>0,05$). Aynı şekilde K, KE1 ve KE2 grupları arasında anlamlı fark görülmedi ($p>0,05$).

Plantaris Lif Çapı

Kas lif çaplarının ölçüldüğü hayvan gruplarında plantaris lif çap ortalama değerleri Çizelge 3.18 ve Şekil 3.18' de verilmiştir.

Çizelge 3.18. Plantaris kası lif çapları ortalama ve standart hata değerleri (μm).

	K (n:8)	KE1 (n:8)	KE2 (n:8)	DM (n:8)	DME1 (n:8)	DME2 (n:8)
Ortalama	54,16	53,28	50,43	45,05	40,82	42,59
Standart hata	3,86	1,43	2,37	2,86	2,18	2,36



Şekil 3.18. Gruplara göre plantaris lif çapları. KE1 ve DME1†; grupları arasında anlamlı fark vardır ($p < 0,05$). DM, DME1 ve DME2 grupları arasında anlamlı fark yoktur ($p > 0,05$). Aynı şekilde K, KE1 ve KE2 grupları arasında anlamlı fark yoktur ($p > 0,05$).

Gruplar arasındaki plantaris lif çapını değerlendirmek için kullanılan tek yönlü ANOVA testinde KE1 ve DME1†; grupları arasında anlamlı fark görüldü ($p < 0,05$). DM, DME1 ve DME2 grupları arasında anlamlı fark görülmedi ($p > 0,05$). Aynı şekilde K, KE1 ve KE2 grupları arasında anlamlı fark görülmedi ($p > 0,05$).

4. TARTIŞMA

Sunulan çalışmada farklı egzersiz protokollerinin Tip 1 DM’de görülen iskelet kas atrofisi üzerine etkilerinin incelenmesi planlanmıştır. Diyabet hastalarında egzersiz reçetesi submaksimal egzersizler ile daha kolay uygulanabilir olacağından submaksimal şiddette egzersiz protokolleri tercih edilmiştir. Egzersiz programları literatürdeki benzer çalışmalardan yararlanılarak hazırlanmıştır (Barnard ve ark., 1976; Delavar ve Heidarianpour, 2016; Harris ve Starnes, 2001).

Çalışmanın bulguları; hayvan kan glukoz ve ağırlık takip değerleri, kas-vücut ağırlığı oranları, soleus ve plantaris kaslarında fonksiyon ölçümleri, kaslardaki AKT1, AKT2 ve FoxO1 düzeyleri ile her iki kasın lif çap değişimleri başlıkları altında tartışılmıştır.

4.1. Kan Glukoz ve Vücut Ağırlık Takip Değerleri

Deney hayvanlarının kan glukoz düzeyleri STZ uygulanan gruplarda (DM, DME1 ve DME2) STZ uygulanmayan gruplara (K, KE1 ve KE2) göre yüksek bulunmuştur. Uygulanan egzersiz protokollerinin STZ uygulanmayan gruplarda kan glukoz düzeyleri üzerinde etkisinin olmadığı görülmüştür. Diyabetik olan gruplara bakıldığında ise deneyin 2. haftasında egzersiz yaptırılan gruplarda (DME1, DME2) kan glukoz düzeyleri yüksek bulunmuştur (% 24-21). Fakat 6 haftalık deney süresinin sonunda diyabetik gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir. Uyguladığımız egzersiz protokollerinin kan glukoz seviyelerinde beklediğimiz düşüşü yapmaması çalışmamızda diyabetlilere herhangi bir tedavi yönteminin verilmemesinin bir sonucu olabilir. Sanchez OA ve ark. (2005), STZ enjeksiyonu ile yaptıkları Tip 1 DM çalışmasında insulin tedavisi verilen diyabetik grupta, insulin tedavisi verilmeyen diyabetik gruba göre kan glukoz düzeylerinde düşüş olduğu gösterilmiştir. Aynı çalışmada yaptırılan egzersizin diyabetlilerde kan glukoz düzeylerinde değişiklik yapmadığı bildirilmiştir (O. A. Sanchez 2005).

Ayrıca sunulan çalışmada kan glukoz seviyelerinde herhangi bir düzelmenin olmaması insülin bağımsız olarak egzersiz tipi, yoğunluğu ve süresi ile de ilişkili olabilir.

Diyabetik hastalarda egzersiz uygulamasının kan glukoz düzeylerinin kontrolünde yardımcı olduğu bilinmektedir. Ancak verilerimiz kan glukoz seviyelerinde beklediğimiz düşüşü gösterememiştir. Bu durum ölçümlerin egzersiz öncesi yapılıyor olması ve uzun dönemli kan glukoz değerlerini yansıtabilecek bir parametre kullanmamış olmamızdan kaynaklanıyor olabilir.

STZ ile yapılan Tip 1 DM modellerinde, hayvan vücut ağırlıklarının kontrol gruplarına göre önemli ölçüde düşük olduğu bilinmektedir (Chatzigeorgiou ve ark., 2009). Sunulan çalışmada deney hayvanları çalışmaya alındığında ölçülen vücut ağırlıkları arasında anlamlı fark yoktur. Ancak deney süresi boyunca diyabetik gruplardaki hayvanların (DM, DME1 ve DME2) vücut ağırlıklarında artış, diyabet olmayan gruplara göre (K, KE1 ve KE2) önemli derecede düşük olmuştur. Deney protokolünün 3. 4. 5. ve 6. haftalarında K, KE 1, KE2 gruplarında DM, DME1, DME2 gruplarına göre vücut ağırlıklarında anlamlı artış olduğu görülmektedir. Diyabet, hayvanlarda kilo alımını engellemiştir. Her iki egzersiz protokolü diyabetli grupların vücut ağırlıklarında değişiklik yapmamıştır. Diğer taraftan 5. ve 6. haftalarda K ve KE2 grupları arasında önemli fark bulunmuştur. E2 egzersiz protokolü kilo alımını azaltırken, E1 egzersiz protokolünün benzer bir etkisi görülmemiştir. İlerleyen haftalarda KE2 ile K grubu arasındaki fark daha belirgin hale gelmiştir. Uygulanan egzersiz protokollerinin etkisinin deney süresi uzadıkça arttığı görülmektedir. Bu bulgu egzersiz protokollerinin daha uzun sürelerde yaptırılması durumunda diyabet grubunda da egzersizin etkilerinin görülebileceğini düşündürmüştür.

4.2. Kas-vücut Ağırlığı Oranları

Diyabetli sıçanlarda kontrol grubuna göre artmış kan glukoz seviyesi ve düşük insülin seviyesi ile birlikte sıvı ve besin tüketiminde önemli artış olduğu bildirilmiştir (Ganguly ve ark., 1986). Özellikle Tip 1 diyabette sıvı ve besin tüketimindeki artışa rağmen toplam vücut ağırlığında azalma olduğu bilinmektedir. Ganguly ve ark., (1986), STZ enjeksiyonundan 8 hafta sonra ölçülen tartı değerlerinde diyabetik hayvanlarda önemli düşüş olduğunu göstermişlerdir. Sunulan çalışmada da vücut ağırlığı bulguları literatürle uyumludur. Ancak kas atrofisinin değerlendirilmesi bakımından toplam vücut ağırlığının yanında kas ağırlığının vücut ağırlığına oranının ölçümü önemlidir. Özellikle kas kuru ağırlıklarının ölçümü protein içeriği hakkında bilgi vermesi bakımından değerlidir.

Sunulan çalışmada soleus kasının yaş ve kuru ağırlıkları, 100 g vücut ağırlığı başına normalize edilerek değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi. Diyabetik sıçanlarda her iki egzersiz protolü ile birlikte soleus kuru ağırlıklarında istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte vücut ağırlığına oranının arttığı (DME1: %23, DME2: %27) görülmektedir. Bu sonuç soleus kasının egzersize daha iyi yanıt verdiğini düşündürmüştür. Plantaris kası için ise hem yaş hem de kuru ağırlıkta oranın, diyabet ve egzersiz yaptırılan diyabet gruplarında, sağlıklı gruplara göre istatistiksel olarak önemli derecede düşük seviyede kaldığı görülmektedir. Her iki egzersiz protokolünün de diyabetik gruplardaki azalan plantaris kas-vücut ağırlığı oranını etkilemediği görülmektedir.

Diyabetlilerde soleus yaş-kuru ağırlıklarının toplam vücut ağırlığı oranlarının sağlıklı gruplara göre azalmaması, soleus kasının plantaris kasına göre atrofiye daha dayanıklı olduğunu düşündürebilir fakat fonksiyon ve lif çap ölçümleri bu sonucu desteklememektedir.

4.3. Kas Fonksiyon Ölçümleri

Düzenli izometrik egzersiz yapanlarda iskelet kaslarının kitlesi ve kuvveti artmaktadır. Bu kontraktil proteinlerin miktarındaki artışa yani hiperplaziden çok hipertrofiye bağlı olarak gelişmektedir. Uzun mesafe koşuları gibi dayanıklılık egzersizlerinde kası besleyen damarlarda proliferasyon olmaktadır. Bu tür egzersiz çeşidinde kasın boyutunda önemli değişiklik olmaz iken respiratuar enzim sayısında artış olmaktadır. Ayrıca bağ dokusundaki artış kası hasara karşı daha dirençli hale getirmektedir (D.J. 2001).

Protein sentez-yıkım dengesinin yıkım yönüne kayması atrofi ile sonuçlanmaktadır. Diyabetik sedanter sıçanlarda hücrel atrofının, diyabetik nöropati, katabolik süreçlerin aktifleşmesi ve protein sentezini artırıp yıkımını azaltan insülin hormonunun azalmasının birlikte etkisi olduğu bildirilmektedir (Fahim ve ark., 2000; Forouzanfar ve ark., 2015). Literatürdeki çalışmalara baktığımızda mutlak veya göreceli bir insülin eksikliği durumunda, ubikuitin-proteazom yolunun aktivasyonuna bağlı olarak hem yapısal hem de kontraktil proteinlerin yıkım oranında artış ve protein sentezi oranında azalma olduğu bildirilmiştir (Farrell ve ark., 1998; Smith ve ark., 1989). Tek kas lifinde atrofının insülin uygulanmasıyla kısmi olarak düzeldiği gösterilmiştir. Bu durum insülinin protein sentezi üzerindeki etkisiyle açıklanmaktadır (Farrell ve ark., 1998). Yine literatürde Diyabette kas liflerinde kontraktil olmayan proteinlerin yıkımı ile birlikte atrofi olduğu ve miyozi-aktin bağı fazla etkilenmediği için kas gücünde önemli düşme olmadığı bildirilmiştir (Rennie ve Tipton, 2000).

Düzenli egzersiz programlarının diyabete bağlı gelişebilecek atrofi ve fonksiyon kaybını engellemesi beklenmektedir. Bu amaçla sunulan çalışmada diyabet ve egzersizde kas fonksiyonları değerlendirilmiştir.

İzole kas fonksiyonunu değerlendirmek için literatürde birçok yöntem yer almaktadır. Tez çalışmamızda soleus ve plantaris iskelet kaslarının fonksiyonları

yine literatürde etkin bir yöntem olarak tanımlanan izole organ banyosu yöntemi kullanılarak incelenmiştir (S. V Brooks ve Faulkner, 1988; Ertunc ve ark., 2009).

Tip 1 diyabetlilerde uyguladığımız egzersiz protokolüne benzer özellikleri olan Sanchez ve ark. (2005)'nin sıçanlarda kas atrofisini inceledikleri çalışmada 12 hafta süren 15 m/dk hızla başlayıp kademeli olarak 12. haftada 27 m/dk hıza ulaşılan, eğimin %10 olarak belirlendiği egzersiz protokolü uygulamışlardır. Diyabet STZ indüksiyonu ile oluşturulduktan sonra daha önceki çalışmalarından farklı olarak sıçanlara insülin tedavisi verilmiştir. Soleus ve ekstansör digitorum longus (EDL) kaslarından mikroskop yardımı ile alınan tek kas lifi üzerinde çalışmışlardır. Çalışmada diyabetik sıçanlarda EDL kas liflerinde diyabetik grupta %11 oranında daha düşük tepe kuvveti (peak force) olduğunu göstermişlerdir. Soleus kas liflerinde ise kas kuvveti kapasitesinin egzersiz veya diyabette etkilenmediği gösterilmiştir. Tepe kuvveti değerlerini lif kesit alanına normalize ederek özel gerim (specific tension) değerleri hesaplanmıştır. Özel gerim değerlerinin EDL kas liflerinde egzersiz yaptırılan grupta sedanter gruba oranla %13 daha yüksek olduğu gösterilmiştir. 'Özel gerim değerleri soleus kas liflerinde ise egzersiz yaptırılan grupta sedanter gruba oranla %20 daha düşük olduğu gösterilmiştir. Özel gerim değerlerinde diyabetik sıçanlarda egzersiz yaptırılan ve sedanter gruplar arasında anlamlı fark rapor edilmemiştir (O. A. Sanchez, 2005).

Çalışmada dayanıklılık egzersiz protokolü yaptırılan sağlıklı sıçanlarda sağlıklı sedanter gruba oranla tip 2 liflerden yoğun olan kasda daha büyük özel gerim değerleri rapor edilmiştir. Özel gerimdeki artışın sebebinin aktif olan myozin başındaki çapraz köprü sayısının artması veya her bir çapraz köprü başına üretilen kuvvetin artışından olabileceği öngörülmektedir.

Sanchez ve ark., (2005)'nin çalışmasında diyabet olmayan egzersiz grubunda kas lif çapında önemli bir azalma görülürken, tepe kuvvetinde değişiklik olduğu gösterilmemiştir. Bunun sonucunda tepe kuvvetinin kas lif kesit alanına oranını gösteren özel gerimde artış olduğu rapor edilmiştir. Çalışmada insülin tedavisi verildiğinde, dayanıklılık egzersizinin diyabetli sıçanlarda iskelet kasındaki atrofının

ilerlemesini engellediği gösterilmiştir. Kullanılan kaslarda protein sentezinin uyarıldığı ve protein yıkımında minimal değişikliklerin olduğu düşünülmektedir.

Literatürde dayanıklılık egzersizine kasın cevabı olarak lif çapında artış bulunmamasına rağmen kapillerlerde, mitokondriyal yoğunlukta, aerobik kapasitede ve lipid peroksidasyonunda artış olduğu rapor edilmiştir (Termin ve ark., 1989).

Diyabetin EDL kasında soleus kasına oranla tepe kuvvetini daha çok etkilediği gösterilmiştir. Soleus kasının diyabette atrofiden daha az etkilendiği bildirilmiştir (Hennig ve Lomo, 1985). Bu sonucu diyabette lif çapındaki farklı adaptasyonlara ve soleus kasının dayanıklılık egzersizinde daha çok kullanılması ile ilişkilendirmişlerdir. Rennie MJ ve ark., (2000), kas liflerinin daha çok kullanılmasının, diyabetin karakteristik özelliği olan katabolik sürecin neden olduğu kas lif atrofisini önleyebileceği düşünmüşlerdir. Soleus kasındaki yüksek kan perfüzyonunun, kası diyabetin indüklediği atrofiden koruyabileceği öngörülmektedir.

Tez çalışmamızda soleus kasının fonksiyonel değerlendirilmesinde kasın farklı frekanslardaki uyarıya verdiği cevap DM grubu sıçanlarda anlamlı olarak düşmüştür. E1 egzersiz protokolü diyabetin neden olduğu fonksiyon kaybını tamamen normale döndürmüştür. Diğer taraftan E1 egzersiz protokolü sağlıklı sıçanlarda fonksiyonu değiştirmemiştir. Soleus kasında E2 egzersiz protokolü sağlıklılarda kas fonksiyonu üzerinde anlamlı olarak düşüşe neden olmuştur. E2 egzersiz protokolü diyabetteki kas fonksiyon kaybını azaltmış fakat KE2 grubu ile kıyaslandığında normal altında kaldığı görülmektedir.

Sunulan çalışmada plantaris kas fonksiyon cevabında diyabetik sedanter grupta artma olmuştur. Kas fibril çapında anlamlı değişiklik olmamasına rağmen fonksiyonda farklı sonuçlar görülmüştür. Bu sonuç literatürdeki bilgilerle paralellik göstermemektedir. E1 egzersiz protokolünün bu cevap üzerinde herhangi bir değişiklik yapmamıştır. E1 egzersiz protokolü sağlıklı gruplarda da fonksiyon ölçümleri üzerinde değişiklik yapmamıştır. E2 egzersiz protokolüne bakıldığında,

diyabetteki fonksiyon cevabını azalttığı görülmüştür. E2 egzersiz protokolü sağlıklı gruplarda fonksiyon ölçümlerinde değişiklik yapmamıştır.

4.4. AKT ve FoxO1 Protein Düzeylerinin Ölçümü

AKT

Kas atrofisinin en karakteristik özelliği kas kitlesindeki azalmadır; bu durum artmış protein yıkımı ve iskelet protein sentezindeki azalma sonucu oluşmaktadır. Diyabette kas kitlesindeki kayıp doğrudan yaşam kalitesini etkilemekte ve diğer kronik hastalıklar için risk faktörü oluşturmaktadır. İskelet kasında atrofiyi önlemenin ve tedavi etmenin etkili bir yolu bulunmamaktadır ve bu nedenle kas atrofisi için etkili terapötik yaklaşımları araştırmak zorunludur.

Fiziksel egzersizin uzun zamandır sağlığın korunması için çok önemli olduğu ve düzenli yapılan egzersizin obezite ve diyabet gibi kronik hastalıkların riskini azaltabildiği bilinmektedir. Düzenli egzersiz, Tip 1 diyabet hastaları için tedavi planının önemli bir parçasıdır, hem kardiyovasküler mortalite hem de mikrovasküler komplikasyonlarda düzeltici etkisi olduğu bildirilmiştir (Moy ve ark., 1993).

Egzersizin kas proteinlerinin sentezini uyarabildiği ve kas liflerinin metabolizmasını ve fonksiyonlarını düzenleyen sinyal yollarını aktive edebildiği bilinmektedir. Bu nedenle, egzersiz özellikle diyabetin de komplikasyonlarından olan kas atrofisinde de tedavi edici bir yöntem olarak kullanılabilir.

Diğer taraftan egzersizin türü, şiddeti, süresi gibi parametrelere bağlı olarak doğru egzersiz planlanmasının yapılması çok önemlidir. Çünkü doğru planlanmayan egzersiz, özellikle diyabet hastalarında liflerde yapısal ve fonksiyonel değişikliklere neden olarak kas hasarına ve kasta fonksiyon kaybına neden olabilmektedir (Shen ve ark., 2018).

İskelet kası, direnç ve dayanıklılık egzersizlerine karşı farklı adaptasyon göstermektedir. AMPK-PGC-1 alfa sinyali yolunun, dayanıklılık egzersizinde AKT-TSC2-mTOR sinyal yolağında aktivasyona neden olarak protein sentezini artırdığı, direnç egzersizinde ise protein sentezinde daha az bir artışa neden olduğu gösterilmiştir. Diğer taraftan Vernon G. Coffey ve ark. (2006), insanlarda direnç (diz ekstansiyonu) ve dayanıklılık (bisiklet ergometresi) egzersizleri uygulayarak yaptıkları çalışmada egzersizlerden hemen ve 3 saat sonrası alınan kas biyopsilerini incelemiştir. AKT'nin dayanıklılık egzersizi yaptırılan grupta arttığı, direnç egzersizinden sonra AKT'de artış olmadığı gösterilmiştir. Protein sentezinde negatif düzenleyici olan TSC2'nin dayanıklılık egzersizinde azaldığı gösterilmiştir. Benzer şekilde, p70 S6K için bir substrat olan S6 proteininin fosforilasyonunun dayanıklılıkta direnç egzersizine oranla daha fazla arttığı gösterilmiştir. Vernon G. Coffey ve ark. (2006), dayanıklılık egzersizinden sonra Ser⁴⁷³'deki AKT fosforilasyonunun arttığı, fakat direnç egzersizinden sonra değişiklik olmadığını göstermişlerdir. Thr³⁰⁸ 'deki AKT fosforilasyonunda değişiklik gösterilmemiştir (Coffey ve ark., 2006).

Egzersiz türü, yoğunluğu ve süresi, protein sentezinin düzenlenmesindeki kritik faktörlerdir. Literatürde farklı direnç egzersiz protokollerinin uygulandığı çok sayıda çalışmaya rastlanılmaktadır. Literatürde yüksek şiddette direnç egzersizinin AKT fosforilasyonunu arttırdığını bildiren çalışmalar olduğu gibi (Atherton ve ark., 2005; Cuthbertson, 2005; Dreyer ve ark., 2006; Léger ve ark., 2006; Wilkinson ve ark., 2008), AKT fosforilasyonunda değişiklik yapmadığını rapor eden çalışmalarda mevcuttur (Coffey ve ark., 2006; Koopman ve ark., 2006; Mascher ve ark., 2007). Yoğun direnç egzersiz çalışmalarına başka bir örnek olarak Bolster ve ark. (2003)'nın sıçanlarda yaptığı ve yoğun direnç egzersizinin AKT ve mTOR fosforilasyonunda artışa neden olduğu çalışma gösterilebilir (Bolster ve ark., 2002).

Düşük şiddette direnç egzersiz protokolü uygulanan çalışmalara bakıldığında, AKT fosforilasyonunda artış olduğunu gösteren çalışmalar (Creer ve ark., 2005; Wilkinson ve ark., 2008) olduğu gibi, bazı çalışmalarda ise bu tip egzersizin AKT düzeylerinde değişiklik yapmadığı bildirilmiştir (Atherton ve ark., 2005; Deldicque

ve ark., 2008; Nader ve Esser, 2001). Literatüre bakıldığında, yüksek yoğunlukta ve düşük yoğunluktaki direnç egzersizlerinde AKT'deki değişimlerde birbirine zıt sonuçlar olduğu görülebilmektedir.

Literatürde dayanıklılık egzersiz protokolleri uygulanarak yapılan çalışmalarda yine birbirinden farklı sonuçlar rapor edildiği görülmektedir. Bazı dayanıklılık egzersiz çalışmalarında AKT seviyelerinde anlamlı değişiklik görülmezken (Mascher ve diğerleri, 2007; Widegren ve ark. 1998; Wojtaszewski ve ark. 2001), yapılan çalışmaların bazılarında dayanıklılık egzersizinin AKT seviyelerinde artışa neden olduğu rapor edilmiştir (Thorell ve ark., 1999; Sakamoto ve ark., 2004; Deshmukh ve ark., 2006, Wilson ve ark., 2006) . Ayrıca çalışmalar AKT seviyelerinin egzersizden sonra incelendiği zaman dilimine göre de farklılıklar göstermektedir.

Bazı çalışmalarda her iki egzersiz tipi uygulanarak AKT seviyelerindeki değişiklikler incelenmiştir. Wilkinson ve ark. (2008), sağlıklı insanlarda 10 haftalık deney protokolünde direnç egzersizi için diz ekstansiyonu ve bacak germe, dayanıklılık egzersizi için bisiklet ergometresi protokolü uygulanmıştır. AKT ve mTOR fosforilasyonunda her iki egzersiz protokolünden hemen ve 4 saat sonrasında 1,5 katlık artış olduğu gösterilmiştir (Wilkinson ve ark., 2008). Sunulan çalışmada ise 6 hafta boyunca yaptırılan koşu egzersizinin AKT seviyelerinde değişiklik yapmadığı görülmüştür.

Bilgisayarlı bisiklet ergometresi protokolü ve direnç egzersizi uygulanarak yapılan başka bir insan çalışmasında, direnç egzersizlerinde kas kuvveti ve kitlesinde artışın daha ön planda olduğu, dayanıklılık egzersizinde yağ oksidasyonu ve dayanıklılıkta yükselmeye neden olan vaskülarizasyon, mitokondriyal yoğunluk ve oksidatif kapasitede artışın daha fazla olduğu bildirilmiştir (Mascher ve ark., 2007).

Egzersiz ile birlikte kasta gerçekleşen adaptasyonun mekanizması tam olarak anlaşılacakla birlikte tranlasyonda görev alan enzimlerin aktivasyonu ve fosforilasyonunun rol aldığı düşünülmektedir. Birçok çalışmada insülin (Kimball ve

ark., 2002) ve IGF-1'in (Rommel ve ark., 2001) mitojenik uyarısının AKT ve mTOR fosforilasyonuna ve bunun sonucunda da miyotüplerde protein sentezinde artışa neden olduğu gösterilmiştir. Bu uyarının artışının sıçan kaslarında hipertrofiye neden olduğu bilinmektedir (Bodine ve ark., 2001).

Deldicque ve ark. (2008) çalışmalarındaki AKT düzeylerindeki farklılıkların konsantrik ve ekzantrik kasılma türlerinin farklı etkilerinden kaynaklandığını öne sürmüştür. Deldicque ve ark., (2008) çalışmalarındaki egzersiz protokolünde ekzantrik bileşen daha fazladır (Deldicque ve ark., 2008). Ekzantrik egzersiz, konsantrik egzersizle karşılaştırıldığında AKT fosforilasyonunu azaltma eğilimindedir (Eliasson ve ark., 2006). Ekzantrik kasılmaların, konsantrik kasılmalara kıyasla daha fazla proteoliz ve kas hasarına neden olduğu bildirilmiştir (Sorichter ve ark., 1995).

Bu sonuçlardan da anlaşılacağı gibi egzersizin süresi, farklı yoğunlukları, çalışılan deneklerin antrenman geçmişi gibi faktörler, kas kasılmasının tipi ve yoğunluğu hücresel düzeyde farklı sonuçlara neden olmaktadır

Sunulan çalışmada DM ve K gruplarında AKT1'in plantaris kasında, soleus kasına oranla çok yüksek seviyelerde olduğunu görülmektedir. AKT2 düzeyleri ise soleus kasında, plantarise göre çok yüksek seviyelerde çıkmıştır. AKT1'in plantaris kasına, AKT2'nin ise daha çok soleus kasında eksprese edildiği sonucu çıkarılabilir. Her iki kasta da gruplar arasında AKT1 ve AKT2 seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Çalışmada uyguladığımız submaksimal egzersizlerin AKT düzeyleri değiştirmedeği görülmüştür ve AKT üzerinden atrofının yavaşladığına dair bir bulguya ulaşamamıştır.

Sağlıklı ve diyabet gruplarının tümünde soleus ve plantaris kaslarında egzersiz ile birlikte istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte AKT1'in artma eğiliminde olduğu görülmektedir (%12-25). AKT2 düzeylerinde buna benzer bir etki görülmemiştir. Egzersiz ile AKT1 seviyelerindeki artış egzersiz süresinin ve şiddetinin artması ile anlamlı hale gelebilir.

Ayrıca literatürdeki çalışmalar ile sunulan çalışmalar arasında farklı sonuçların çıkmasında moleküler çalışmalarda farklı yöntemlerin kullanılmasının da etkisi olabilir. Literatürde moleküler çalışmalarında AKT'nin fosforile düzeylerinin de ölçüldüğü görülmektedir. Sunulan çalışmada da ELİSA yöntemi ile toplam AKT miktarı belirlenmiştir.

Mascher ve ark. (2007), yaptıkları çalışmada egzersizin sonunda insülin düzeyinde %60 oranında azalma olduğu, diğer taraftan AKT fosforilasyonunda da azalmanın olduğu, fakat bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını bildirmişlerdir. Egzersizden sonra insülinin tekrar yükselmeye başladığı dönemde, AKT fosforilasyonun da arttığı ve bu artışın 1. ve 2. saatlerde anlamlı düzeye ulaştığını rapor etmişlerdir. Egzersiz sonrası 3. saatteki AKT fosforilasyonundaki bazal seviyeye geri döndüğü bildirilmiştir (Mascher ve ark., 2007). Wojtaszewski ve ark. (2001) çalışmasının sonuçları bu çalışma ile paralellik göstermektedir. Fakat Wojtaszewski ve ark. (2001) çalışmasında egzersiz sonrası 1. ve 2. saatlerdeki değişimler rapor edilmemiştir (Wojtaszewski ve ark., 2001).

İnsülin AKT'nin en önemli aktivatörü olduğu bilinmektedir. Egzersiz tiplerinde iskelet kaslarında farklı kontraksiyonlara göre insülin seviyelerinin değişebildiği bildirilmiştir. Değişen insülin seviyelerinin AKT düzeylerini direk olarak etkileyebileceği ve kasın atrofiye olan direncini değiştirebileceği rapor edilmiştir. Egzersiz tiplerinde olan farklı kontraksiyonlarla değişen insülin seviyeleri, AKT düzeylerindeki farklılığı açıklayabilir (Sakamoto ve ark., 2004). Sunulan çalışmada insülin düzeyleri ile AKT fosforilasyonu ilişkisine bakılmamıştır.

Ayrıca AKT seviyelerinin egzersizden sonra incelendiği zaman dilimine göre de farklılıklar göstermektedir. AKT ve mTOR fosforilasyonunda kronik egzersiz protokolünden hemen sonra alınan dokularda artış gösterirken bu etki 4 saat sonrasında ortadan kalktığı gösterilmiştir (Wilkinson ve ark. 2008). Çalışmamızda AKT düzeylerinde değişiklik gösteremememiz, dokuları egzersiz sonrası 24. saatte çıkartmış olmamızdan kaynaklanıyor olabilir.

FOXO1

Özellikle son yıllarda, egzersize cevap olarak iskelet kasında gerçekleşen adaptasyonun altında yatan moleküler yolakları tanımlamak için çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bunlar arasında olan, FoxO transkripsiyon faktörlerinin, egzersizdeki iskelet kası adaptasyonunda önemli rolü olduğu düşünülmektedir.

FoxO1 ve FoxO3 iki önemli proteolitik sistemi olan ubiquitin-proteasome ve otofaji-lizozom yollarını üzerinden kas metabolizmasını düzenlemektedir. Hem akut hem de kronik egzersizin, özellikle egzersiz yoğunluğu veya süresi yüksek tutulduğunda, bu sistemlerin aktivitesini etkilediği bildirilmiştir (Sanchez ve ark., 2014) (a).

Slopack ve ark. (2014), 9 haftalık farelere 14 günlük sürede koşu bandı ile günde 60 dakika, 25 m/dk hızda yaptıkları dayanıklılık egzersizi protokolü uygularken diğer gruba aynı egzersiz protokolünü tek seferlik uygulayarak akut-kronik egzersizin FoxO1 transkripsiyonu üzerine etkilerini incelemiştir. Akut egzersizde protokolünde plantaris kasında egzersizden hemen ve 2 saat sonrasında bakıldığında FoxO1 ve FoxO3 mRNA seviyelerinde artış olduğu gösterilmiştir. Çalışmada 14 gün egzersiz yaptırılan grupta FoxO seviyelerinde düşüş olduğu gösterilmiştir. Egzersizin bu etkiyi FoxO1 ve FoxO3'ün nükleustan sitozole çıkmasına neden olarak inaktif olmasına neden olarak dolaylı olarak yaptığı düşünülmektedir. Çalışma sonuçlarına göre kısa süreli egzersizin FoxO düzeyinde artışa neden olduğu, ilerleyen günlerde FoxO'da azalma olduğu görülmektedir (Slopack ve ark., 2014).

M. Azad ve ark. (2016), 6 haftalık sıçanlarda akut ve kronik ekzantrik egzersizin Soleus ve superior vastus lateralis (SVL) FoxO1 düzeyleri üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Her iki egzersizin FoxO1 ekspresyonunda yalnızca SVL kasında anlamlı değişiklik yaptığı gösterilmiştir. Literatürdeki farklı egzersiz protokolleri uygulanarak yapılan diğer çalışmalara baktığımızda dayanıklılık egzersizinde, farelerde yavaş (soleus) ve hızlı (gastroknemius) kaslarındaki FoxO1

ekspresyonunu azalttığını bildirmişlerdir. FoxO1 mRNA'sında azalma ile eş zamanlı olarak, 4 haftalık yüzme egzersizinin yaptırılan farelerin soleus ve gastroknemius kaslar liflerinde hızlıdan yavaşa geçişe neden olduğu rapor edilmiştir (Zhu ve ark., 2011) . FoxO inhibisyonu, iskelet kasının dayanıklılık antrenmanına adaptasyonu için önemlidir ve kronik egzersizle gerçekleşen FoxO azalması, kas oksidatif kapasitesinin artmaya neden olabilir. FoxO1 yavaş oksidatif (tip 1) liflerle ilişkili gen ve proteinlerin ekspresyonunu azaltarak, yavaş oksidatif liflerin sayısını azaltmakta ve kasın oksidatif kapasitesinde değişikliğe neden olduğu ve bunu kalsinörin yolak inhibisyonu üzerinden yaptığı düşünülmektedir. FoxO1'in ekspresyonunun hızlı liflerde daha fazla olduğu gösterilmiştir (Sanchez ve ark., 2014).

Literatürde FoxO1'in diyabet iskelet kasında seviyesinin arttığı rapor edilmiştir (Kamei ve ark., 2003). Farelerde iskelet kasında FoxO1'in aşırı ekspresyonu olan grupta (transgenic) kontrol gruba göre kilo alımında azalma olduğu gösterilmiştir. Bunun yanında tip 1 liflerdeki yapısal proteinler ile ilgili genlerin ekspresyon seviyelerinde düşüş olduğu gösterilmiştir (Kamei ve ark., 2004b). FoxO1, iskelet kası kitlesini ve tip I lif gen ekspresyonunu negatif olarak düzenlemektedir ve iskelet kası fonksiyonunun bozulmasına neden olmaktadır.

Sunulan çalışmada soleus ve plantaris kaslarında deney grupları arasında FoxO1 düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Konu ile ilgili çalışmalarda farklı egzersiz protokollerine dair sonuçlar bulunmaktadır. Genelde sağlıklılarda, diyabet olmayanlarda yapılan çalışmalarda, kronik egzersizin FoxO1 seviyelerinde azalmaya, akut egzersizin ise artışa neden olduğu rapor edilmiştir. Tez çalışmamızda egzersiz yaptırılan sağlıklı gruplar ile kontrol sağlıklı grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Ayrıca FoxO1 düzeylerinde diyabetli grupta artış görülmemektedir.

Literatürdeki çalışmalar ile çalışmamızdaki FoxO1 düzeylerinde paralellik olmamasında AKT'de olduğu gibi moleküler çalışmalarda farklı yöntemlerin kullanılmasının da etkisi olabilir. Literatürde moleküler çalışmalarında FoxO1'in fosforile düzeylerinin de ölçüldüğü görülmektedir. Sunulan çalışmada da ELİSA

yöntemi ile toplam FoxO1 düzeyi ölçülmüştür.

Ayrıca literatürde AKT'de olduğu gibi FoxO1 seviyelerinin de egzersizden sonra incelendiği zaman dilimine göre de farklılıklar gösterdiği görülmektedir. Kronik egzersiz çalışmalarını egzersizden 2-4 saat sonrasında bakılan FoxO1 seviyelerinde düşüş olduğu gösterilmiştir (Zhu ve ark. 2011; Slopock ve ark. 2014). Çalışmamızda FoxO1 düzeylerinde değişiklik gösterememiz, dokuları egzersiz sonrası 24. saatte çıkartmış olmamızdan kaynaklanıyor olabilir.

4.5. Kas Lif Çapları

İskelet kası insan vücut ağırlığının yaklaşık %40'ı gibi büyük bir bölümü oluşturduğu için egzersiz kapasitesi, enerji ve glukoz metabolizması gibi işlevleri için önemlidir (Berchtold ve ark., 2000; Zurlo ve ark., 1990). Yaşlılarda daha belirgin olmak üzere insan iskelet kasında diyabet, obezite ve azalmış fiziksel aktivite ile ilişkili olarak ilerleyici kas lifi kaybı olmaktadır (Kamei ve ark., 2004b). İskelet kas kitlesi, lif büyüklüğü ve lif kompozisyonu, fiziksel aktivite, çevre koşulları veya patolojik durumlara göre düzenlenmektedir. Farklı kas lifi tiplerinde değişik koşullara göre farklı adaptasyonlar olabilmektedir. Örneğin sıçanlarda yapılan çalışmalarda 2 haftalık mikrogravite ortamında toplam iskelet kası kitlesinde %37'ye varan azalma ile birlikte tip I liflerde önemli oranda kontraktıl protein kaybı olduğu gösterilirken tip II liflerde bu kaybın olmadığı rapor edilmiştir (Fitts R, 2001).

Tip I ve tip II lif oranının diyabet ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Diyabette tip I lif sayısında kontrol grubuna göre azalma olduğu bildirilmiştir (Hickey ve ark., 1995; Tanner ve ark., 2002). Kamei ve ark., (2004), farelerde FoxO1 aktivasyonu ile yaptıkları çalışmada tip I liflerinin boyunda ve sayısında, tip II liflerin ise boyutunda belirgin bir düşüş olduğunu rapor etmişlerdir (Kamei ve ark., 2004b).

Stephenson ve ark. (1994), diyabette kas güçsüzlüğünün mekanizmalarını daha iyi anlayabilmek için insülin tedavisi almayan Tip 1 diyabetik sıçanlarda tek kas lifi üzerinde yaptıkları çalışmada özel gerim düzeyinde %25 oranında azalma olduğunu göstermişlerdir. Bu bulgular, kasılma proteinlerinin fonksiyonunun kontrolsüz diyabetle birlikte azaldığını göstermektedir (Stephenson ve ark., 1994).

Tip 1 diyabet tanısı konulan hastalar insülin tedavisi almaktadır. İnsülinin etkisini göz ardı etmemek için Sanchez ve ark. (2003), insülin tedavisi verilen ve verilmeyen Tip 1 diyabetli sıçanlarda kas lifi çap ve tepe kuvveti kıyaslama çalışması yapmışlardır. İnsülin tedavisi verilen Tip 1 diyabetli sıçanlarda sağlıklı kontrol gruba göre kas lif çapında ve tepe kuvvetinde azalma olduğu gösterilmiştir. Diğer taraftan insülin tedavisi verilen diyabet grubu ile insülin tedavisi verilmeyen grup karşılaştırıldığında, insülin tedavisi verilen Tip 1 diyabetli lif çapının ve tepe kuvvetinin anlamlı olarak daha fazla olduğu gösterilmiştir (Thompson ve ark., 2013). Çalışmanın sonuçlarına bakıldığında, diyabetli grupta insülin uygulamasının, sadece kas atrofisinin ve kas güçsüzlüğünün ilerlemesini azaltabildiğini, ancak diyabetin neden olduğu kas atrofisini veya kas güçsüzlüğünü tamamen önleyemediği görülmektedir.

Çalışmamızdaki E2 egzersiz protokolüne benzer bir egzersiz uygulayan Sanchez ve ark. (2005), STZ ile indüklenmiş Tip 1 diyabetli sıçanlarda 10 haftalık dayanıklılık egzersizinin tek kas lifinde çap ve kontraksiyon değişimlerine etkisini incelemişlerdir. Diyabetli hayvanlara deney sürecinde insülin tedavisi verilmiş olup hayvanların ekstansör digitorum longus (EDL) ve soleus kasları lif çapları incelenmiştir. Diyabet grubunda EDL kasında kontrol grubuna göre kas lif çapında anlamlı düşüş olduğu rapor edilmiştir. Sıçanlarda uygulanan dayanıklılık egzersizinin EDL kasında diyabetli olmayan gruplarda değişiklik yapmadığı, sedanter diyabetik grupta anlamlı düzeyde kas lif çapında düzelmeye neden olduğu gösterilmiştir. Soleus kas liflerine bakıldığında lif çapının egzersiz ve diyabetten etkilenmediği gösterilmiştir (O. A. Sanchez 2005). Sanchez ve ark. (2005), çalışmasında soleus kas liflerinin diyabetteki atrofiye EDL kasına göre daha dirençli olduğu görülürken diğer taraftan EDL kasında egzersize cevabın daha iyi olduğu görülmektedir. Sunulan

çalışmada ise EDL ile aynı kas lifi grubunda olan plantaris kasının soleus kasına göre atrofiye daha dirençli olduğu, solues kasının ise egzersizle ile birlikte kas lifi çapında istatistiksel olarak anlamlı olamamakla birlikte artışın olduğu görülmektedir. Literatürdeki çalışmalar ile sunulan çalışma arasında farklı sonuçların çıkması egzersiz protokollerinin sürelerindeki farklılık ve insülin tedavisinin verilip verilmemesi ile ilişkili olabilir.

Henning ve ark. (1985), diyabetik sıçanların soleus ve EDL lif çaplarında görülen farkın oksitadif liflerin dayanıklılık egzersizine adaptasyonun farklı olması ile açıklamaktadırlar (Hennig ve Lomo, 1985). Soleus kasının bu sürekli aktif durumdan dolayı diyabetin karakteristik katabolik etkilerinden olan atrofiden etkilenmiyor olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca soleus kasında kan perfüzyonun fazla olması özellikle aminoasit kaynağı açısından daha iyi bir beslenme ve bunun sonucunda diyabetin indüklediği kas atrofisine karşı daha dirençli olduğu düşünülmektedir (Rennie ve Tipton, 2000).

Vikne ve ark. (2006), kas biyopsilerini alarak elektron mikroskobu aracılığı ile kas lif tiplerine özgü cevaplara baktıklarında, tip 2 lif alanlarında ekzantrik egzersizle birlikte konsantrik egzersize göre önemli artış olduğunu göstermişlerdir (Vikne ve ark., 2006).

Akagawa ve ark. (2018) sıçanlarda Tip 2 diyabet oluşturarak yaptıkları çalışmada, 2 haftalık koşu egzersizinin Tip 2 diyabet grubunda kas liflerindeki kesit alanını egzersiz yaptırılmayan Tip 2 diyabetlilere göre anlamlı şekilde artırdığını göstermişlerdir. Diğer taraftan aynı çalışmada egzersiz yaptırılan diyabetik gruptaki kesit alanı diyabet olmayan kontrol grubunun kesit alanı seviyesine çıkaramadığı gösterilmiştir. Ayrıca çalışmada egzersizin 6 hafta sonraki etkilerine bakıldığında benzer sonuçlar elde edilmiştir. 6 hafta sonra koşu egzersizinin Tip 2 diyabet grubundaki kas liflerindeki kesit alanını egzersiz yaptırılmayan Tip 2 diyabetli gruba göre anlamlı şekilde artırdığı gösterilmiştir. Diğer taraftan egzersiz diyabetli gruptaki kesit alanının, diyabet olmayan kontrol grubundaki kesit alanı düzeyine ulaşamadığı gösterilmiştir (Akagawa ve ark., 2018)

Çalışmamızda soleus kasındaki lif çapları diyabetik sedanter grupta, kontrol grubuna oranla düşük çıkmıştır. Soleus lif çaplarında diyabetik gruplarda her iki egzersiz protokolü ile istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmamakla birlikte, her iki egzersizin diyabette soleus kası lif çapında artışa neden olduğu görülmektedir. Egzersiz yaptırılan gün sayısının artması ile bu fark anlamlı hale gelebileceği düşünülmüştür. Literatürde daha uzun süreli yaptırılan egzersiz protokollerinin kas lif çapında artışa neden olduğu rapor edilmiştir (O. A. Sanchez 2005).

Plantaris kasında ise K ve DM grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Literatüre bakıldığında birçok çalışmada diyabette glikolitik kas liflerinde oksidatif liflere oranla atrofi daha sık görülürken (Hennig ve Lomo, 1985; Rennie ve Tipton, 2000), sunulan çalışmada plantaris kasının soleus kasına oranla atrofiye daha dirençli olduğu görülmüştür. Fakat diğer taraftan plantaris kasında her iki egzersiz protokolü ile birlikte kas lif çapında soleusa benzer bir artış görülmemiştir. Literatürdeki çalışmalarda genel olarak egzersiz protokolleri 10 hafta ve üstü sürelerde yapılmıştır. Sunulan çalışmada 6 haftalık deney protokolü uygulanmıştır. Bu süre plantaris kası için diyabete bağlı atrofisinin oluşması için yeterli bir süre olmayabilir ve yine bu süreye bağlı olarak egzersiz protokolleri kas lif çaplarında değişiklik yapmamış olabilir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Tez çalışmamızda deneysel Tip 1 diyabet modelinde 42 gün boyunca haftada 5 gün günde 60 dakika olacak şekilde farklı iki antrenman protokolü ile fiziksel egzersizin diyabette gözlenen iskelet kası atrofisi üzerine etkileri farklı tipteki kas liflerinde incelendi.

Bütün diyabetik gruplarda vücut ağırlığı anlamlı olarak düşük kaldı. Özellikle plantaris kaslarında diyabetik gruplarda kas-vücut ağırlığı oranlarında istatistiksel olarak anlamlı düşme oldu. Diğer taraftan lif çap ölçümlerine bakıldığında soleus kasında diyabet grubunda düşme görülürken, her iki egzersiz protokolünün diyabette lif çapında düzelmeye sebep olduğu görüldü. Plantaris kasında ise lif çaplarındaki azalmanın soleustaki kadar olmadığı görüldü. Plantaris kasında kas ağırlık oranı daha fazla düşerken lif çapındaki azalmanın soleus kasına göre az olması plantaris kasında atrofisinin kontraktıl olmayan yapılarda daha fazla görülmesine bağlı olabileceği düşünüldü.

Çalışmamızda kullanılan kas gruplarından soleus kası normalde büyük oranda Tip I kas lif tipinden oluşurken (%86-90), plantaris kası ise büyük oranda Tip IId/x ve I Ib'den oluşmaktadır (%29 IId/x; %60 I Ib). Kas lif çap ölçümleri yapılırken, çalışmamızda kas lif tiplerinde değişim olup olmadığı bakılamamıştır. Diyabet ve egzersize bağlı olarak özellikle plantaris kaslarında kas lif dağılımında değişiklik görülebilirdi. Diyabet ve egzersiz çalışmalarında değişkenlere bağlı olarak soleus ve plantaris kas lif tip dağılımında olabilecek değişikliklerin, fonksiyon ve kas lif çap sonuçları ile birlikte yorumlanması kas atrofisi hakkında ek bilgiler sağlayabilir.

Kas kitlesi regülasyonunda çok önemli yeri olan AKT1, AKT2 ve FoxO1 düzeylerinde diyabet veya egzersiz istatistiksel olarak anlamlı değişiklik yapmadı. Fakat DM ve K gruplarında AKT1'in plantaris kasında, solues kasına oranla çok yüksek seviyelerde olduğunu görüldü. AKT2 düzeyleri ise K ve DM gruplarının soleus kasında, plantarise göre çok yüksek seviyelerde bulundu. AKT1'in plantaris

kasına, AKT2'nin ise daha çok soleus kasına özgü olduğu sonucuna ulaşıldı. Farklı tipteki lif kaslarında farklı AKT altgruplarının baskın olduğu görüldü. Bunun, soleus ve plantaris kaslarındaki atrofiye olan farklı cevaplar ile ilişkili olabileceği düşünüldü.

AKT, PI3K ve PDK1'in etkisi ile birlikte fosforile edilerek aktif hale gelip PI3K/AKT yolağında protein sentezinin farklı aşamalarında rol almaktadır. Bunlardan biri de FoxO1'i fosforile ederek, FoxO1'in protein yıkımındaki rolünü inhibe etmesidir. Literatürdeki çalışmalarda daha çok AKT ve FoxO1 moleküllerinin fosforile düzeyleri ve toplam protein seviyeleri birlikte değerlendirilmiştir. Çalışmamızda AKT ve FoxO1 moleküllerinin toplam protein miktarları ölçülmüş olup, fosforile formları bakılamamıştır. Fakat bazı çalışmalarda da AKT ve FoxO1'in toplam protein seviyesi bakılması üzerinden diyabetteki atrofının değerlendirildiği bilinmektedir. AKT ve FoxO1 artışının da, bu moleküllerin aktivitelerini artırabileceği gösterilmiştir (Sandri ve ark., 2004; Lecker ve ark., 2004; Bodine SC ve ark., 2001). Her ne kadar AKT ve FoxO1 moleküllerinin fosforile formlarının düzeylerini ölçmemiş olmamız kesin bir yorum yapmamızı engelse de, moleküllerin direk artışında aktivitelerini artırabileceği düşünülebilir.

Diyabet grubundaki sıçanlarda soleus kaslarında elektriksel uyarıya cevap beklenildiği gibi düşük çıktı. Uyguladığımız E1 egzersiz protokolünün diyabetik grupta görülen fonksiyon kaybını düzelttiği görüldü. Sağlıklı sıçanların soleus kaslarındaki fonksiyonu E1 protokolü ile değişmedi. Soleus kasında E2 egzersiz protokolü sağlıklılarda kas fonksiyonu üzerinde anlamlı olarak düşüşe neden oldu. E2 egzersiz protokolü diyabetteki kas fonksiyon kaybını azaltmasına rağmen K grubunun seviyesine çıkaramadı. E1 egzersiz protokolünün diyabette soleus kasında daha yararlı olduğu sonucuna varıldı.

Plantaris kasında ilginç bir şekilde diyabetik grupta kas fonksiyon cevabının yüksek olduğu görüldü. E1 egzersiz protokolünün hem diyabetik hem de sağlıklı grupta anlamlı düzeyde etkisi olmadı. E2 egzersiz protokolünün diyabetik gruptaki fonksiyonu azalttığı görüldü. E2 egzersiz protokolü sağlıklı gruplarda fonksiyon

ölçümlerinde değişiklik yapmadı. Diyabetik grupta plantaris kasında fonksiyonun artması literatürdeki bilgilerle tam olarak açıklanamadı. Fonksiyondaki bu artışı net bir şekilde açıklayamamak ile birlikte, vücut ağırlığında azalma olmasına rağmen AKT ve FoxO1 seviyelerinde ve kas lif çapında anlamlı değişikliğin olmaması ile ilişkili olabileceği, kasta atrofi olurken kontraksiyonu sağlayan miyozin-aktin çapraz köprülerinin önemli ölçüde etkilenmediği düşünülebilir. Plantaris kasında ağırlık kaybının kontraktıl proteinlerden olmayıp daha çok bağ dokusu ve distrofin, plektin, alfa-beta kristalin, nebulin, desmin gibi yapısal proteinlerden olduğu ve bunun fonksiyon sonuçlarının farklı çıkmasında etkili olabileceği düşünülebilir.

Çalışmalarda atrofinin oluşması ve derecesi ile uygulanan egzersiz programlarının kasta yapabileceği değişiklikler deney protokollerindeki toplam diyabet süresine göre değişiklik gösterebileceği ve bunun farklı sonuçlar elde etmemize neden olduğu düşünülebilir.

Çalışmamızın sonuçlarını özetleyecek olursak;

- 1) Tip 1 DM iskelet kasında atrofi oluşturdu. Soleus lif çaplarında DM grubunda düşme görüldü, bu değişiklik kas ağırlıklarına tam olarak yansımadı. Plantaris kaslarında ise diyabetik gruplarda kas-vücut ağırlığı oranlarında istatistiksel olarak anlamlı azalma oldu. Lif çapları ölçüldüğünde ise buna paralel sonuçlar görüldü.
- 2) Dayanıklılık egzersizi, Tip 1 DM'de gözlenen iskelet kası atrofsi gelişimini azalttı. Soleus kasında her iki egzersiz protokolü lif çaplarını diyabetik gruplarda artırarak değerlerin kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı bulunmadığı değerlere çıkarttığı gözlemlendi. Ancak diyabetik olup egzersiz yapmayan grup ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark oluşmadı.
- 3) AKT1 ve AKT2 seviyelerinde değişiklik görülmedi. Kas kitlesi regülasyonunda çok önemli yeri olan AKT1 ve AKT2 düzeylerinde diyabet veya egzersiz istatistiksel olarak anlamlı değişiklik yapmadı. AKT1'in plantaris

kasına, AKT2'nin ise daha çok soleus kasına özgü olduğu sonucuna ulaşıldı. Farklı tipteki kas liflerinde farklı AKT alt gruplarının baskın olduğu görüldü.

4) FoxO1 seviyelerinde değişiklik görülmedi. Kas kitlesi regülasyonunda çok önemli yeri olan FoxO1 düzeylerinde diyabet veya egzersiz istatistiksel olarak anlamlı değişiklik yapmadı.

5) Diyabetin kas fonksiyonları üzerine etkisi kas tipine göre değişkenlik gösterdi. Diyabetik hayvanlarda soleus'un kasılma kuvvetleri düşmüştür. E1 ve E2 protokolleri ile bu düşüş ortadan kaldırılmıştır. Plantaris'in kasılma kuvveti diabetik gruplarda kontrole göre yüksek bulunmuştur. Plantaris kasında atrofi düşündürülen bulgular varken fonksiyonda artış görülmesi, atrofının kontraktıl olmayan yapıları daha fazla etkilediğini düşündürdü.

Özgünlük;

Literatürde, diyabette görülen kas atrofisi ile ilgili çalışmaların daha çok Tip 2 diyabetliler ile yapıldığı gözükmemektedir. Tip 1 diabetes mellitusta hipoglisemi ve diabetik ketoasidoz gibi akut komplikasyonların gelişim riski fazla olduğu için Tip 1 diabetes mellitusta egzersizin etkilerini araştırmak zordur ve bu konuda çalışmalar nispeten daha azdır.

Yapılan detaylı literatür taramasında Tip 1 diyabette özellikle farklı egzersiz protokollerinin farklı iskelet tip liflerinde kas atrofisine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Araştırmamız, bu yönüyle literatüre yeni ve özgün bulgular katabilme potansiyeli taşımaktadır.

Diyabetin komplikasyonları arasında yer alan iskelet kası atrofisi gelişiminde yer alan histopatolojik ve moleküler değişikliklerdeki mekanizmaların daha iyi anlaşılması ile önemli bir toplum sağlığı problemi olan diyabet ve buna bağlı gelişen

iskelet kası atrofisinin engellenmesinde önleyici ve tedavi edici planlamaların oluşturulmasına katkı sağlayacaktır.

Öneriler;

1) İskelet kasında egzersiz ve atrofi çalışılırken diyabetik nöropatinin kas atrofisine ve egzersizin nöropati üzerinde yapabileceği değişimleri anlamak için özellikle motor sinir iletim hızının ölçümünde içinde olduğu nöropatinin değerlendirildiği yöntemler sonraki çalışmalara eklenebilir.

2) Diyabette, nöropati geliştikten sonra kas atrofisinin daha çok görüldüğü bilinmektedir. Nöropati gelişimi için diyabet olan sürenin daha uzun olması gerekmektedir. Nöropatinin etkilerini görmek için çalışmalarda diyabetin başlangıcı ile egzersiz protokollerinin başlaması arasındaki sürenin artırılması düşünülebilir.

3) Diyabette iskelet kasında atrofi ve egzersizin atrofiye etkileri incelenirken, iskelet kas kitlesi regülasyonunda çok önemli düzenleyici olan mTORC 1 ve mTORC moleküllerinin çalışmaya dahil edilmesi çok önemli katkılar sağlayacaktır.

4) Takip eden çalışmalarda insülin düzeylerinin takip edilmesi ve/veya insülin tedavisi alan diyabetik grupların eklenmesi ile insülinin etkileri üzerine yorum yapmak ve insandaki Tip 1 diyabetin daha iyi taklit edilmesi mümkün hale gelecektir.

5) Çalışmada değerlendirilen moleküller ve yaptığımız fonksiyon çalışmaları farklı tip, yoğunluk ve sürelerdeki egzersiz protokelleri ile tekrarlanabilir ve bu iskelet kasında egzersizin diyabetin neden olduğu kas atrofisindeki etkisine farklı bir açıdan yaklaşabilme şansı verecektir.

6) AKT1, AKT2 ve FoxO1 moleküllerinin sadece toplam protein seviyeleri bakılmıştır. Yeni planlanacak çalışmalarda bu moleküllerin fosforile düzeylerinin farklı metodlar ile incelenmesi ve sonuçlarının toplam protein seviyeleri ile birlikte

yorumlanması, PI3K/AKT yolağı ve atrofi ile ilgili daha net veriler sağlayabilir. Ayrıca molekül düzeylerinin ölçümü egzersiz protokollerinin sonlanmasından farklı zaman dilimlerinde yapılabilir.

7) Takip eden çalışmalarda iskelet kas atrofisinde etkisi olan farklı sinyal yollarındaki moleküllerin eklenmesi, egzersizin kas atrofisi üzerindeki etkisini görmek adına yararlı olacaktır.

8) Kas fibril çapının yanında kaslarda histokimyasal yöntemler ile lif tip oranları incelenerek diyabet ve egzersize bağlı olarak değişim olup olmadığının araştırılması yararlı olacaktır.



ÖZET

Deneyisel Tip I Diyabetes Mellitus Modelinde İskelet Kası Atrofisi Üzerine Antrenmanın Etkisinin İncelenmesi

Yeterli düzeyde yapılan fiziksel aktivitenin kronik hastalıklar için hem koruyucu hem de tedavi edici etkisi kabul görmektedir. Yapılan araştırmalar sonucunda düzenli yapılan egzersizin diyabetten koruyucu rol oynadığı iyi bilinmektedir.

Egzersiz diyabetes mellitusun komplikasyonlarından biri olan kas atrofisi üzerine etkileri daha çok Tip 2 diyabetli vakalarda çalışılmıştır. Tip 2 diyabetlilerde çok sayıda çalışma yapılmasına rağmen, örneklem sayıları, hastalığın evresi, egzersiz şiddeti ve süresi gibi faktörlerden dolayı farklı sonuçlar elde edilmiştir. Diğer taraftan egzersizin Tip 1 diyabet üzerine etkisi ile ilgili az sayıda çalışma bulunmaktadır.

Çalışmamızda iki farklı yoğunlukta submaksimal egzersiz protokolü (E1:10 m/dk, 0° eğim, 1 saat/gün; E2: 20 m/dk, 10° eğim, 1 saat/gün) uygulanarak deneyisel Tip 1 diyabet modelinde fiziksel antrenmanın diyabette gözlenen iskelet kası atrofisi üzerine restore edici etkileri incelendi. Çalışmada oksidatif metabolizmanın hakim olduğu soleus kasları ve glikolitik metabolizmanın hakim olduğu plantaris kasları kullanıldı. Bu amaçla egzersiz programları sonrası alınan kas dokularında v-Akt murine timoma viral onkogen homolog 1,2 (AKT1, AKT2) ve Forkheadbox O1 (FoxO1) protein seviyeleri ve histolojik açıdan ışık mikroskopunda kasta atrofi ve lif hasarı değerlendirmeleri yapıldı. Ayrıca alınan kaslardan organ banyosunda kas fonksiyon ölçümleri ve yaş-kuru ağırlık ölçümleri yapıldı.

Yapılan istatistiksel analizler sonucunda E1 egzersiz protokolü diyabetin neden olduğu fonksiyon kaybını düzeltmiştir. Diğer taraftan E1 egzersiz protokolü sağlıklı sıçanlarda fonksiyonu değiştirmemiştir. Soleus kasında E2 egzersiz protokolü sağlıklılarda kas fonksiyonu üzerinde anlamlı olarak düşüşe neden olmuştur. Plantaris kasında diyabet kas fonksiyonunda cevabı artırmıştır. E2 egzersiz protokolüne bakıldığında, diyabetteki fonksiyon cevabını baskıladığı görülmüştür. AKT1, AKT2 ve FoxO1 düzeylerine baktığımızda diyabet veya egzersizin istatistiksel olarak anlamlı değişiklik yapmadığı saptanmıştır. Lif çap ölçümlerine bakıldığında soleus kasında diyabet grubunda düşme görülürken, her iki egzersiz protokolünün diyabette lif çapında düzelmeye sebep olduğu görülmektedir. Plantaris kasına bakıldığında ise lif çaplarındaki azalmanın soleus kasındaki kadar olmadığı görüldü.

Tez çalışmamızdan elde edilen verilerin literatür bilgisi ışığında tartışılmasıyla E1 egzersiz protokolünün diyabetik grupta soleus kasında görülen fonksiyon kaybını düzelttiği sonucuna ulaşılmıştır. Soleus kasında E2 egzersiz protokolünün sağlıklılarda kas fonksiyonu üzerinde anlamlı olarak düşüşe neden olduğu ve E2 egzersiz protokolünün diyabetteki kas fonksiyon kaybını azalttığı görülmektedir. E1 egzersiz protokolünün diyabette soleus kasında daha yararlı olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Plantaris kasında diyabetik grupta E2 egzersiz protokolünün diyabetik gruptaki fonksiyonu azalttığı görülürken sağlıklı gruplarda fonksiyon ölçümlerinde değişiklik yapmadığı sonucuna ulaşılmıştır.

Anahtar Sözcükler: Egzersiz, Kas atrofisi, Tip 1 diyabetes mellitus.

SUMMARY

Investigation of the Effect of Training on Skeletal Atrophy in Experimental Type I Diabetes Mellitus Model

Adequate physical activity is considered both protective and therapeutic for chronic diseases. As a result of the investigations, regular exercise is play a protective role in DM.

Despite the large number of studies in type 2 diabetes, different results have been obtained due to factors such as sample numbers, disease progression, exercise severity and duration. On the other hand, there are few studies on the effect of exercise on T1DM.

In the research proposal, we investigated the restorative effects of physical training on skeletal muscle atrophy observed in experimental type 1 diabetes mellitus model within two submaximal exercise with different intensity (E1:10 m/min, 0° slope, 1 hours/day; E2: 20 m/min, 10° slope, 1 hours/day). Soleus muscles dominated by oxidative metabolism and plantaris muscles dominated by glycolytic metabolism were used in the study. For this purpose we evaluated the v-Akt murine timoma viral oncogene homolog 1,2 (AKT1, AKT2) ve Forkheadbox O1 (FoxO1) protein levels in muscle tissues and histopathological examination of the atrophy and fibril damage in light microscopy was investigated. Also muscle function measurements and age-dry weight measurements were done.

According to statistical analysis, The E1 exercise protocol completely reversed the loss of function caused by diabetes. On the other hand, the E1 exercise protocol did not alter function in healthy rats. The E2 exercise protocol in the soleus muscle resulted in a significant decrease in muscle function in healthy individuals. Plantaris muscle increased the response to diabetes muscle function. When we look at the E2 exercise protocol, it has been found to suppress the function response in diabetes. When we look at AKT1, AKT2 and FoxO1 levels, it was found that diabetes or exercise did not make any statistically significant changes. When muscle diameters were measured, there was a decrease in fiber diameter in soleus muscles of diabetes group. It can be seen that both exercise protocols cause improvement in fiber diameter in diabetes. When the plantaris muscle was seen, it was seen that the decrease in fiber diameters was not as much as soleus muscle. In the plantaris muscle, it was seen that the decrease in fiber diameters was not as much as soleus muscle.

According to current data and literature, It is concluded that the E1 exercise protocol improves the loss of function seen in soleus muscle in the diabetic group. It is seen that the E2 exercise protocol in Soleus muscle causes a significant decrease in muscle function in healthy patients and E2 exercise protocol decreases muscle function loss in diabetes. The E1 exercise protocol was found to be more useful in soleus muscle in diabetes. E2 exercise protocol decreased the function of plantaris muscle in the diabetic group, while it was found that there was no change in functional measurements in healthy groups.

Key Words: Muscle atrophy, Training, Type 1 diabetes mellitus.

KAYNAKLAR

- ADA (2014). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, **37**: 81–90.
- AKAGAWA M, MIYAKOSHI N, KASUKAWA Y, ONO Y, YUASA Y, NAGAHATA I, SHIMADA Y (2018). Effects of activated Vitamin D, alfacalcidol, and low-intensity aerobic exercise on osteopenia and muscle atrophy in type 2 diabetes mellitus model rats. *PLoS ONE*, **13**: 1–15.
- AKIMA H, HOTTA N, SATO K, ISHIDA K, KOIKE T, KATAYAMA K (2009). Cycle Ergometer Exercise to Counteract Muscle Atrophy During Unilateral Lower Limb Suspension. *Aviation, Space, and Environmental Medicine*, **80**: 652–656.
- ALTOMARE DA, LYONS GE, MITSUUCHI Y, CHENG JQ, TESTA JR (1998). Akt2 mRNA is highly expressed in embryonic brown fat and the AKT2 kinase is activated by insulin. *Oncogene*, **16**: 2407–2411.
- APRÓ W, MOBERG M, HAMILTON DL, EKBLÖM B, VAN HALL G, HOLMBERG H-C, BLOMSTRAND E (2015). Resistance exercise-induced S6K1 kinase activity is not inhibited in human skeletal muscle despite prior activation of AMPK by high-intensity interval cycling. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, **308**: E470–E481.
- ARAKI E, LIPES MA, PATTI M-E, BRÜNING JC, HAAG III B, JOHNSON RS, KAHN CR (1994). Alternative pathway of insulin signalling in mice with targeted disruption of the IRS-1 gene. *Nature*, **372**: 186–190.
- ARKKILA PET, GAUTIER J-F (2003). Common Musculoskeletal Disorders Among the Diabetic Patients Attended At Birdem General Hospital in Dhaka. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, **17**: 945–970.
- ATHERTON PJ, BABRAJ J, SMITH K, SINGH J, RENNIE MJ, WACKERHAGE H (2005). Selective activation of AMPK-PGC-1 α or PKB-TSC2-mTOR signaling can explain specific adaptive responses to endurance or resistance training-like electrical muscle stimulation. *The FASEB Journal*, **19**: 786–788.
- BANTING FG, BEST CH, COLLIP JB, CAMPBELL WR, FLETCHER AA (1922). Pancreatic Extracts in the Treatment of Diabetes Mellitus. *Canadian Medical Association journal*, **12**: 141–6.
- BARNARD RJ, CORRE K, CHO H (1976). Effect of training on the resting heart rate of rats. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, **35**: 285–289.
- BASSIL MS, GOUGEON R (2013). Muscle protein anabolism in type 2 diabetes. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, **16**: 83–88.
- BENTZINGER CF, ROMANINO K, CLOËTTA D, LIN S, MASCARENHAS JB, OLIVERI F, RÜEGG MA (2008). Skeletal Muscle-Specific Ablation of raptor, but Not of rictor, Causes Metabolic Changes and Results in Muscle Dystrophy. *Cell Metabolism*, **8**: 411–424.
- BERCHTOLD MW, BRINKMEIER H, MÜNTENER M (2000). Calcium Ion in Skeletal Muscle: Its Crucial Role for Muscle Function, Plasticity, and Disease. *Physiological Reviews*, **80**: 1215–1265.

- BIESSELS GJ, DE LEEUW F-E, LINDEBOOM J, BARKHOF F, SCHELTENS P (2006). Increased cortical atrophy in patients with Alzheimer's disease and type 2 diabetes mellitus. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, **77**: 304–7.
- BISBY MA (1980). Axonal transport of labeled protein and regeneration rate in nerves of streptozocin-diabetic rats. *Experimental neurology*, **69**: 74–84.
- BLAAUW B, CANATO M, AGATEA L, TONIOLO L, MAMMUCARI C, MASIERO E, REGGIANI C (2009). Inducible activation of Akt increases skeletal muscle mass and force without satellite cell activation. *The FASEB Journal*, **23**: 3896–3905.
- BODINE SC, STITT TN, GONZALEZ M, KLINE WO, STOVER GL, BAUERLEIN R, YANCOPOULOS GD (2001). Akt/mTOR pathway is a crucial regulator of skeletal muscle hypertrophy and can prevent muscle atrophy in vivo. *Nature Cell Biology*, **3**: 1014–1019.
- BOLSTER DR, CROZIER SJ, KIMBALL SR, JEFFERSON LS (2002). AMP-activated Protein Kinase Suppresses Protein Synthesis in Rat Skeletal Muscle through Down-regulated Mammalian Target of Rapamycin (mTOR) Signaling. *Journal of Biological Chemistry*, **277**: 23977–23980.
- BONALDO P, SANDRI M (2013). Cellular and molecular mechanisms of muscle atrophy. *Disease Models & Mechanisms*, **6**: 25–39.
- BRANDS AMA, BIESSELS GJ, DE HAAN EHF, KAPPELLE LJ, KESSELS RPC (2005). The effects of type 1 diabetes on cognitive performance: a meta-analysis. *Diabetes care*, **28**: 726–35.
- BROOKS N, LAYNE JE, GORDON PL, ROUBENOFF R, NELSON ME, CASTANEDA-SCEPPA C (2006). Strength training improves muscle quality and insulin sensitivity in Hispanic older adults with type 2 diabetes. *International journal of medical sciences*, **4**: 19–27.
- BROOKS S V, FAULKNER JA (1988). Contractile properties of skeletal muscles from young, adult and aged mice. *The Journal of physiology*, **404**: 71–82.
- CASPERSEN CJ, CHRISTENSON GM (1985). Physical Activity, Exercise, and Physical Fitness: Definitions and Distinctions for Health-Related Research. *Public Health Rep.*, **100**: S126–S131.
- CASTETS P, LIN S, RION N, DI FULVIO S, ROMANINO K, GURIDI M, RÜEGG MA (2013). Sustained Activation of mTORC1 in Skeletal Muscle Inhibits Constitutive and Starvation-Induced Autophagy and Causes a Severe, Late-Onset Myopathy. *Cell Metabolism*, **17**: 731–744.
- CHATZIGEORGIOU A, HALAPAS A, KALAFATAKIS K, KAMPER E (2009). The use of animal models in the study of diabetes mellitus. *In vivo*, **23**: 245–58.
- CHEN WS, XU PZ, GOTTLÖB K, CHEN ML, SOKOL K, SHIYANOVA T, HAY N (2001). Growth retardation and increased apoptosis in mice with homozygous disruption of the akt1 gene. *Genes & Development*, **15**: 2203–2208.
- CHO H, THORVALDSEN JL, CHU Q, FENG F, BIRNBAUM MJ (2001). Akt1/PKB α Is Required for Normal Growth but Dispensable for Maintenance of Glucose Homeostasis in Mice. *Journal of Biological Chemistry*, **276**: 38349–38352.
- CHO NH, SHAW JE, KARURANGA S, HUANG Y, DA ROCHA FERNANDES JD, OHLROGGE AW, MALANDA B (2018). IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. *Diabetes Research and Clinical Practice*, **138**: 271–281.

- COFFEY VG, ZHONG Z, SHIELD A, CANNY BJ, CHIBALIN A V., ZIERATH JR, VHAWLEY JA (2006). Early signaling responses to divergent exercise stimuli in skeletal muscle from well-trained humans. *The FASEB Journal*, **20**: 190–192.
- CONGDON NG (2003). Important Causes of Visual Impairment in the World Today. *Journal of the American Medical Association*, **290**: 2057.
- CONN VS, KOOPMAN RJ, RUPPAR TM, PHILLIPS LJ, MEHR DR, HAFDAHL AR (2014). Insulin Sensitivity Following Exercise Interventions. *Journal of Primary Care & Community Health*, **5**: 211–222.
- CORESH J, ASTOR BC, GREENE T, EKNOYAN G, LEVEY AS (2003). Prevalence of chronic kidney disease and decreased kidney function in the adult US population: Third national health and nutrition examination survey. *American Journal of Kidney Diseases*, **41**: 1–12.
- CREER A, GALLAGHER P, SLIVKA D, JEMIOLO B, FINK W, TRAPPE S (2005). Influence of muscle glycogen availability on ERK1/2 and Akt signaling after resistance exercise in human skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*, **99**: 950–956.
- CUENDA A, ROUSSEAU S (2007). p38 MAP-Kinases pathway regulation, function and role in human diseases. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research*, **17**: 1358–1375.
- CUTHBERTSON DJ (2005). Anabolic signaling and protein synthesis in human skeletal muscle after dynamic shortening or lengthening exercise. *AJP: Endocrinology and Metabolism*, **290**: E731–E738.
- DAVIS WA, KNUIMAN MW, DAVIS TME (2010). An Australian cardiovascular risk equation for type 2 diabetes: the Fremantle Diabetes Study. *Internal Medicine Journal*, **40**: 286–292.
- DAVISON KK, BIRCH LL (2008). NIH Public Access, **64**: 2391–2404.
- DE ALVARO C, TERUEL T, HERNANDEZ R, VE LORENZO M (2004). Tumor Necrosis Factor α Produces Insulin Resistance in Skeletal Muscle by Activation of Inhibitor κ B Kinase in a p38 MAPK-dependent Manner. *Journal of Biological Chemistry*, **279**: 17070–17078.
- DELAVAR R, HEIDARIANPOUR A (2016). The Effect of Aerobic Exercise Training on Plasma Apelin Levels and Pain Threshold in T1DM Rats. *Iranian Red Crescent medical journal*, **18**: e31737.
- DELDICQUE L, ATHERTON P, PATEL R, THEISEN D, NIELENS H, RENNIE MJ, FRANCAUX M (2008). Decrease in Akt/PKB signalling in human skeletal muscle by resistance exercise. *European Journal of Applied Physiology*, **104**: 57–65.
- DELP MD, DUAN C (1996). Composition and size of type I, IIA, IID / X, and IIB fibers and citrate synthase activity of rat muscle Composition and size of type I, IIA, IID / X, and IIB fibers and citrate synthase activity of rat muscle. *J Appl Physiol*, **80**: 261–270.
- DREYER HC, FUJITA S, CADENAS JG, CHINKES DL, VOLPI E, RASMUSSEN BB (2006). Resistance exercise increases AMPK activity and reduces 4E-BP1 phosphorylation and protein synthesis in human skeletal muscle. *Journal of Physiology*, **576**: 613–624.
- ELIASSON J, ELFEGOUN T, NILSSON J, KÖHNKE R, EKBLUM B, BLOMSTRAND E (2006). Maximal lengthening contractions increase p70 S6 kinase phosphorylation in human skeletal muscle in the absence of nutritional supply. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, **6**: E1197–E1205.
- ERTUNC M, SARA Y, ONUR R (2009). Differential contractile impairment of fast- and slow-twitch skeletal muscles in a rat model of doxorubicin-induced congestive heart failure. *Pharmacology*, **84**: 240–248.

- FACCHINETTI V, OUYANG W, WEI H, SOTO N, LAZORCHAK A, GOULD C, JACINTO E (2008). The mammalian target of rapamycin complex 2 controls folding and stability of Akt and protein kinase C. *The EMBO Journal*, **27**: 1932–1943.
- FAHIM MA, HASAN MY, ALSHUAIB WB (2000). Early morphological remodeling of neuromuscular junction in a murine model of diabetes. *Journal of applied physiology* (Bethesda, Md. : 1985), **89**: 2235–40.
- FAKHRUDDIN S, ALANAZI W, JACKSON KE (2017). Diabetes-Induced Reactive Oxygen Species: Mechanism of Their Generation and Role in Renal Injury. *Journal of Diabetes Research*, **2017**: 1–30.
- FARRELL PA, FEDELE MJ, VARY TC, KIMBALL SR, JEFFERSON LS (1998). Effects of intensity of acute-resistance exercise on rates of protein synthesis in moderately diabetic rats. *Journal of Applied Physiology*, **85**(6): 2291-2297.
- FIGUEIREDO VC, CALDOW MK, MASSIE V, MARKWORTH JF, CAMERON-SMITH D, BLAZEVIK AJ (2015). Ribosome biogenesis adaptation in resistance training-induced human skeletal muscle hypertrophy. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, **309**(1): E72–E83.
- FONG DS, AIELLO L, GARDNER TW, KING GL, BLANKENSHIP G, CAVALLERANO JD, AMERICAN DIABETES ASSOCIATION (2004). Retinopathy in diabetes. *Diabetes Care*, **27**(1): S84-7.
- FOROUZANFAR MH, ALEXANDER L, ANDERSON HR, BACHMAN VF, BIRYUKOV S, BRAUER M, MURRAY CJ (2015). Global, regional, and national comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks in 188 countries, 1990–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *The Lancet*, **386**: 2287–2323.
- GANGULY PK, MATHUR S, GUPTA MP, BEAMISH RE, DHALLA NS, GANGULY PK, GANGULY ALLAB K (1986). Calcium pump activity of sarcoplasmic reticulum in Calcium pump activity of sarcoplasmic reticulum in diabetic rat skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, **251**: 515–523.
- GEIRSDOTTIR OG, ARNARSON A, BRIEM K, RAMEL A, JONSSON P V, THORSDDOTTIR I (2012). Effect of 12-Week Resistance Exercise Program on Body Composition, Muscle Strength, Physical Function, and Glucose Metabolism in Healthy, Insulin-Resistant, and Diabetic Elderly Icelanders. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, **67**(11): 1259–1265.
- GOODMAN CA (2013). The Role of mTORC1 in Regulating Protein Synthesis and Skeletal Muscle Mass in Response to Various Mechanical Stimuli. *Reviews of physiology, biochemistry and pharmacology*, **166**: 43–95.
- GORDIN D, FORSBLOM C, RÖNNBACK M, PARKKONEN M, WADÉN J, HIETALA K, GROOP P-H (2008). Acute hyperglycaemia induces an inflammatory response in young patients with type 1 diabetes. *Annals of Medicine*, **40**(8): 627–633.
- HARRIS MB, STARNES JW (2001). Effects of body temperature during exercise training on myocardial adaptations. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, **280**: H2271–H2280.
- HAY N, SONENBERG N (2004). Upstream and downstream of mTOR. *Genes & Development*, **18**: 1926–1945.

- HENNIG R, LØMO T (1985). Firing patterns of motor units in normal rats. *Nature*, **314**: 164–166.
- HICKEY MS, CAREY JO, AZEVEDO JL, HOUMARD JA, PORIES WJ, ISRAEL RG, DOHM GL (1995). Skeletal muscle fiber composition is related to adiposity and in vitro glucose transport rate in humans. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, **268**: E453–E457.
- HIRANO T, ISHIHARA K, HIBI M (2000). Roles of STAT3 in mediating the cell growth, differentiation and survival signals relayed through the IL-6 family of cytokine receptors. *Oncogene*, **19(21)**: 2548-56.
- HÖHN TJA, GRUNE T (2014). The proteasome and the degradation of oxidized proteins: part III- Redox regulation of the proteasomal system. *Redox biology*, **2**: 388–94.
- HOPF HC, GUTMANN L (1990). Diabetic 3rd nerve palsy: evidence for a mesencephalic lesion. *Neurology*, **40**: 1041–5.
- HOWLEY ET (2001). Type of activity: resistance, aerobic and leisure versus occupational physical activity. *Med. Sci. Sports Exercise*, **33(6)**: S364–S369.
- IDF (2017). Eighth edition 2017. 16-17
- INOKI K, LI Y, XU T, GUAN K-L (2003). Rheb GTPase is a direct target of TSC2 GAP activity and regulates mTOR signaling. *Genes & Development*, **17**: 1829–1834.
- JACKMAN RW, KANDARIAN SC (2004). The molecular basis of skeletal muscle atrophy. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, **287(4)**: 834–843.
- JACOBS BL, YOU J-S, FREY JW, GOODMAN CA, GUNDERMANN DM, HORNBERGER TA (2013). Eccentric contractions increase the phosphorylation of tuberous sclerosis complex-2 (TSC2) and alter the targeting of TSC2 and the mechanistic target of rapamycin to the lysosome. *The Journal of Physiology*, **591**: 4611–4620.
- JOHNSON BF, NESTO RW, PFEIFER MA, SLATER WR, VINIK AI, CHYUN DA, YOUNG LH (2004). Cardiac abnormalities in diabetic patients with neuropathy: effects of aldose reductase inhibitor administration. *Diabetes care*, **27(2)**: 448–54.
- KAMEI Y, MIURA S, SUZUKI M, KAI Y, MIZUKAMI J, TANIGUCHI T, EZAKI O (2004a). Skeletal muscle FOXO1 (FKHR) transgenic mice have less skeletal muscle mass, down-regulated type I (slow twitch/red muscle) fiber genes, and impaired glycemic control. *Journal of Biological Chemistry*, **39**: 41114–41123.
- KAMEI Y, MIURA S, SUZUKI M, KAI Y, MIZUKAMI J, TANIGUCHI T, EZAKI O (2004b). Skeletal Muscle FOXO1 (FKHR) Transgenic Mice Have Less Skeletal Muscle Mass, Down-regulated Type I (Slow Twitch/Red Muscle) Fiber Genes, and Impaired Glycemic Control. *Journal of Biological Chemistry*, **279**: 41114–41123.
- KAMEI Y, MIZUKAMI J, MIURA S, SUZUKI M, TAKAHASHI N, KAWADA T, EZAKI O (2003). A forkhead transcription factor FKHR up-regulates lipoprotein lipase expression in skeletal muscle. *FEBS Letters*, **536(1–3)**: 232–236.
- KANDARIAN SC, JACKMAN RW (2006). Intracellular signaling during skeletal muscle atrophy. *Muscle & Nerve*, **33**: 155–165.
- KOOPMAN R, ZORENC AHG, GRANSIER RJJ, CAMERON-SMITH D, VAN LOON LJC (2006). Increase in S6K1 phosphorylation in human skeletal muscle following resistance exercise occurs mainly in type II muscle fibers. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, **290(6)**: E1245–E1252.

- LECKER SH, SOLOMON V, MITCH WE, GOLDBERG AL (1999). Muscle Protein Breakdown and the Critical Role of the Ubiquitin-Proteasome Pathway in Normal and Disease States. *The Journal of Nutrition*, **129**: 227S–237S.
- LÉGER B, CARTONI R, PRAZ M, LAMON S, DÉRIAZ O, CRETENAND A, RUSSELL AP (2006). Akt signalling through GSK-3 β , mTOR and Foxo1 is involved in human skeletal muscle hypertrophy and atrophy. *The Journal of Physiology*, **576**: 923–933.
- MALIK RA, TESFAYE S, THOMPSON SD, VEVES A, SHARMA AK, BOULTON AJ, WARD JD (1993). Endoneurial localisation of microvascular damage in human diabetic neuropathy. *Diabetologia*, **36**: 454–9.
- MAMMUCARI C, MILAN G, ROMANELLO V, MASIERO E, RUDOLF R, DEL PICCOLO P, SANDRI M (2007). FoxO3 Controls Autophagy in Skeletal Muscle In Vivo. *Cell Metabolism*, **6**: 458–471.
- MASCHER H, ANDERSSON H, NILSSON PA, EKBLUM B, BLOMSTRAND E (2007). Changes in signalling pathways regulating protein synthesis in human muscle in the recovery period after endurance exercise. *Acta Physiologica*, **191**: 67–75.
- MASCHER H, TANNERSTEDT J, BRINK-ELFEGOUN T, EKBLUM B, GUSTAFSSON T, BLOMSTRAND E (2008). Repeated resistance exercise training induces different changes in mRNA expression of MAFbx and MuRF-1 in human skeletal muscle. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, **294**(1): E43–E51.
- MASIERO E, AGATEA L, MAMMUCARI C, BLAAUW B, LORO E, KOMATSU M, SANDRI M (2009). Autophagy Is Required to Maintain Muscle Mass. *Cell Metabolism*, **10**: 507–515.
- MAVROS Y, KAY S, SIMPSON KA, BAKER MK, WANG Y, ZHAO RR, FIATARONE SINGH MA (2014). Reductions in C-reactive protein in older adults with type 2 diabetes are related to improvements in body composition following a randomized controlled trial of resistance training. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, **5**: 111–120.
- MIZUSHIMA N (2010). The role of the Atg1/ULK1 complex in autophagy regulation. *Current Opinion in Cell Biology*, **22**: 132–139.
- MOY CS, SONGER TJ, LAPORTE RE, DORMAN JS, KRISKA AM, ORCHARD TJ, DRASH AL (1993). Insulin-dependent diabetes mellitus, physical activity, and death. *American journal of epidemiology*, **137**: 74–81.
- MURTON AJ, CONSTANTIN D, GREENHAFF PL (2008). The involvement of the ubiquitin proteasome system in human skeletal muscle remodelling and atrophy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, **12**: 730–743.
- NADER GA, ESSER KA (2001). Intracellular signaling specificity in skeletal muscle in response to different modes of exercise. *Journal of Applied Physiology*, **90**(5): 1936–1942.
- NAIR KS, FORD GC, EKBERG K, FERNQVIST-FORBES E, WAHREN J (1995). Protein dynamics in whole body and in splanchnic and leg tissues in type I diabetic patients. *Journal of Clinical Investigation*, **95**(6): 2926–2937.
- NILSSON MI, DOBSON JP, GREENE NP, WIGGS MP, SHIMKUS KL, WUDECK E V., FLUCKEY JD (2013). Abnormal protein turnover and anabolic resistance to exercise in sarcopenic obesity. *The FASEB Journal*, **27**: 3905–3916.
- OHANNA M, SOBERING AK, LAPOINTE T, LORENZO L, PRAUD C, PETROULAKIS E, PENDE M (2005). Atrophy of S6K1 $-/-$ skeletal muscle cells reveals distinct mTOR effectors for cell cycle and size control. *Nature Cell Biology*, **7**(3): 286–294.

- PARK KH, BROTTTO L, LEHOANG O, BROTTTO M, MA J, ZHAO X (2012). Ex Vivo Assessment of Contractility, Fatigability and Alternans in Isolated Skeletal Muscles. *Journal of Visualized Experiments*, **69**: 1–8.
- PEREIRA S, MARLISS EB, MORAIS JA, CHEVALIER S, GOUGEON R (2008). Insulin Resistance of Protein Metabolism in Type 2 Diabetes. *Diabetes*, **57(1)**: 56–63.
- PETERSMANN A, NAUCK M, MÜLLER-WIELAND D, KERNER W, MÜLLER UA, LANDGRAF R, HEINEMANN L (2018). Definition, Classification and Diagnosis of Diabetes Mellitus Authors Definition of Diabetes mellitus Diagnostic criteria for Diabetes Mellitus HbA1c Diagnostic approach. *Canadian Journal of Diabetes*, **42**: 10-15
- POTTER CJ, PEDRAZA LG, XU T (2002). Akt regulates growth by directly phosphorylating Tsc2. *Nature Cell Biology*, **4(9)**: 658–665.
- QIU B, SHI X, WONG ET, LIM J, BEZZI M, LOW D, TERGAONKAR V (2014). NUCKS Is a Positive Transcriptional Regulator of Insulin Signaling. *Cell Reports*, **7(6)**: 1876–1886.
- RENNIE MJ, TIPTON KD (2000). PROTEIN AND AMINO ACID METABOLISM DURING AND AFTER EXERCISE AND THE EFFECTS OF NUTRITION. *Annual Review of Nutrition*, **20**: 457–483.
- RENNIE MJ, WACKERHAGE H, SPANGENBURG EE, BOOTH FW (2004). Control of the Size of the Human Muscle Mass. *Annual Review of Physiology*, **66(1)**: 799–828.
- ROCK KL, GRAMM C, ROTHSTEIN L, CLARK K, STEIN R, DICK L, GOLDBERG AL (1994). Inhibitors of the proteasome block the degradation of most cell proteins and the generation of peptides presented on MHC class I molecules. *Cell*, **78(5)**: 761–71.
- ROMMEL C, BODINE SC, CLARKE BA, ROSSMAN R, NUNEZ L, STITT TN, GLASS DJ (2001). Mediation of IGF-1-induced skeletal myotube hypertrophy by PI(3)K/Akt/mTOR and PI(3)K/Akt/GSK3 pathways. *Nature Cell Biology*, **3**: 1009–1013.
- SABADINE MA, RUSSO TL, LUNA GF, OLIVEIRA LEAL AM (2018). Effects of mesenchymal stromal cells on type 1 diabetes mellitus rat muscles. *Muscle and Nerve*, **58(4)**: 583–591.
- SACHECK JM (2004). IGF-I stimulates muscle growth by suppressing protein breakdown and expression of atrophy-related ubiquitin ligases, atrogin-1 and MuRF1. *AJP: Endocrinology and Metabolism*, **287(4)**: E591–E601.
- SALA D, IVANOVA S, PLANA N, RIBAS V, DURAN J, BACH D, ZORZANO A (2014). Autophagy-regulating TP53INP2 mediates muscle wasting and is repressed in diabetes. *Journal of Clinical Investigation*, **124**: 1914–1927.
- SALA D, ZORZANO A (2015). Differential control of muscle mass in type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Cellular and Molecular Life Sciences*, **72(20)**: 3803–3817.
- SANCHEZ AMJ, BERNARDI H, PY G, CANDAU RB (2014). Autophagy is essential to support skeletal muscle plasticity in response to endurance exercise. *AJP: Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, **307**: R956–R969.
- SANCHEZ AMJ, CANDAU RB, BERNARDI H (2014). FoxO transcription factors: Their roles in the maintenance of skeletal muscle homeostasis. *Cellular and Molecular Life Sciences*, **71**: 1657–1671.
- SANCHEZ OA (2005). Effects of endurance exercise-training on single-fiber contractile properties of insulin-treated streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Applied Physiology*, **99**: 472–478.

- SANDRI M (2008). Signaling in Muscle Atrophy and Hypertrophy. *Physiology*, **23(3)**: 160–170.
- SANDRI M, SANDRI C, GILBERT A, SKURK C, CALABRIA E, PICARD A, WALSH K, SCHIAFFIANO S, LECKER SH, GOLDBERG AL (2004). Foxo Transcription Factors Induce the Atrophy-Related Ubiquitin Ligase Atrogin-1 and Cause Skeletal Muscle Atrophy. *Cell*, **117(3)**: 399–412.
- SATMAN I, OMER B, TUTUNCU Y, KALACA S, GEDIK S, DINCCAG N, TUOMILEHTO J (2013). Twelve-year trends in the prevalence and risk factors of diabetes and prediabetes in Turkish adults. *European Journal of Epidemiology*, **28(2)**: 169–180.
- SATMAN I, YILMAZ T, SENGÜL A, SALMAN S, SALMAN F, UYGUR S, KING H (2002). Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: Results of the Turkish Diabetes Epidemiology Study (TURDEP). *Diabetes Care*, **25(9)**: 1551–1556.
- SHEN L, MENG X, ZHANG Z, WANG T (2018). Physical Exercise for Muscle Atrophy. *Advances in experimental medicine and biology*, **1088**: 529–545).
- SLOPACK D, ROUDIER E, LIU STK, NWADOZI E, BIROT O, HAAS TL (2014). Forkhead BoxO transcription factors restrain exercise-induced angiogenesis. *The Journal of Physiology*, **592**: 4069–4082.
- SMERDU V, KARSCH-MIZRACHI I, CAMPIONE M, LEINWAND L, SCHIAFFINO S (1994). Type IIx myosin heavy chain transcripts are expressed in type IIb fibers of human skeletal muscle. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, **267**: C1723–C1728.
- SMITH OL, WONG CY, GELFAND RA (1989). Skeletal muscle proteolysis in rats with acute streptozocin-induced diabetes. *Diabetes*, **38(9)**: 1117–22.
- SORICHTER S, KOLLER A, HAID C, WICKE K, JUDMAIER W, WERNER P, RAAS E (1995). Light Concentric Exercise and Heavy Eccentric Muscle Loading: Effects on CK, MRI and Markers of Inflammation. *International Journal of Sports Medicine*, **16**: 288–292.
- STEPHENS FB, CHEE C, WALL BT, MURTON AJ, SHANNON CE, VAN LOON LJC, TSINTZAS K (2015). Lipid-Induced Insulin Resistance Is Associated With an Impaired Skeletal Muscle Protein Synthetic Response to Amino Acid Ingestion in Healthy Young Men. *Diabetes*, **64(5)**: 1615–1620.
- STEPHENSON GM, O'CALLAGHAN A, STEPHENSON DG (1994). Single-fiber study of contractile and biochemical properties of skeletal muscles in streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes*, **43**: 622–8.
- STITT TN, DRUJAN D, CLARKE BA, PANARO F, TIMOFEYVA Y, KLINE WO, GLASS DJ (2004). The IGF-1/PI3K/Akt pathway prevents expression of muscle atrophy-induced ubiquitin ligases by inhibiting FOXO transcription factors. *Molecular cell*, **14(3)**: 395–403.
- TANNER CJ, BARAKAT HA, DOHM GL, PORIES WJ, MACDONALD KG, CUNNINGHAM PRG, HOUMARD JA (2002). Muscle fiber type is associated with obesity and weight loss. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, **282**: E1191–E1196.
- TERMIN, STARON RS, PETTE D (1989). Myosin heavy chain isoforms in histochemically defined fiber types of rat muscle. *Histochemistry*, **92**: 453–457.
- THOMPSON OA, SANCHEZ LM, SNOW DA, LOWE RC, SERFASS L V (2013). Streptozotocin-induced diabetic rats contractile properties of insulin-treated Effects of endurance exercise-training on single-fiber Downloaded from. *Journal of Applied Physiology*. **99(2)**: 472–8
- TISDALE M (2004). Cancer cachexia. *Langenbeck's Archives of Surgery*, **389**: 299–305.

- TOBIN JF, CELESTE AJ (2005). Myostatin, a negative regulator of muscle mass: Implications for muscle degenerative diseases. *Current Opinion in Pharmacology*, **5**: 328–332.
- TOMLINSON DR, MORIARTY RJ, MAYER JH (1984). Prevention and reversal of defective axonal transport and motor nerve conduction velocity in rats with experimental diabetes by treatment with the aldose reductase inhibitor Sorbinil. *Diabetes*, **33(5)**: 470–6.
- VAN LUNTEREN E, MOYER M (2003). Streptozotocin-diabetes alters action potentials in rat diaphragm. *Respiratory Physiology and Neurobiology*, **135**: 9–16.
- VAZQUEZ G, DUVAL S, JACOBS DR, SILVENTOINEN K (2007). Comparison of Body Mass Index, Waist Circumference, and Waist/Hip Ratio in Predicting Incident Diabetes: A Meta-Analysis. *Epidemiologic Reviews*, **29(1)**: 115–128.
- VENTADOUR S, ATTAIX D (2006). Mechanisms of skeletal muscle atrophy. *Current Opinion in Rheumatology*, **18(6)**: 631–635.
- GUNDERSEN V, GUNDERSEN K (2006). Muscular Performance after Concentric and Eccentric Exercise in Trained Men. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, **38(10)**: 1770–1781.
- WANG X, HU Z, HU J, DU J, MITCH WE (2006). Insulin resistance accelerates muscle protein degradation: Activation of the ubiquitin-proteasome pathway by defects in muscle cell signaling. *Endocrinology*, **147**: 4160–4168.
- WATSON EL, GREENING NJ, VIANA JL, AULAKH J, BODICOAT DH, BARRATT J, SMITH AC (2015). Progressive Resistance Exercise Training in CKD: A Feasibility Study. *American Journal of Kidney Diseases*, **66(2)**: 249–257.
- WEN CP, WU X (2012). Stressing harms of physical inactivity to promote exercise. *The Lancet*, **380**: 192–193.
- WILKINSON SB, PHILLIPS SM, ATHERTON PJ, PATEL R, YARASHESKI KE, TARNOPOLSKY MA, RENNIE MJ (2008). Differential effects of resistance and endurance exercise in the fed state on signalling molecule phosphorylation and protein synthesis in human muscle. *Journal of Physiology*, **586**: 3701–3717.
- WITHERS DJ, GUTIERREZ JS, TOWERY H, BURKS DJ, REN J-M, PREVIS S, WHITE MF (1998). Disruption of IRS-2 causes type 2 diabetes in mice. *Nature*, **391**: 900–904.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (2014). Global status report on noncommunicable diseases. **2014**: 298
- YAU JWY, ROGERS SL, KAWASAKI R, LAMOUREUX EL, KOWALSKI JW, BEK T (2012). Global Prevalence and Major Risk Factors of Diabetic Retinopathy. *Diabetes Care*, **35(3)**: 556–564.
- ZHAO J, BRAULT JJ, SCHILD A, CAO P, SANDRI M, SCHIAFFINO S, GOLDBERG AL (2007). FoxO3 Coordinately Activates Protein Degradation by the Autophagic/Lysosomal and Proteasomal Pathways in Atrophiying Muscle Cells. *Cell Metabolism*, **6(6)**: 472–483.
- ZHU S, LU Y, ZHU J, XU J, HUANG H, ZHU M, WANG Z (2011). Effects of Intrahepatic Bone-Derived Mesenchymal Stem Cells Autotransplantation on the Diabetic Beagle Dogs. *Journal of Surgical Research*, **168**: 213–223.
- ZONCU R, EFEYAN A, SABATINI DM (2011). mTOR: from growth signal integration to cancer, diabetes and ageing. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, **12(1)**: 21–35.

ZURLO F, LARSON K, BOGARDUS C, RAVUSSIN E (1990). Skeletal muscle metabolism is a major determinant of resting energy expenditure. *The Journal of clinical investigation*, **86(5)**: 1423–7.



EKLER

EK 1: Etik Kurul Kararı



T.C.
ANKARA ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARI

TOPLANTI TARİHİ : 25/03/2015
TOPLANTI NO : 2015-5
DOSYA NO : 2015-69
KARAR NO : 2015-5-97

Yürütücülüğünü Üniversitemiz Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Yrd.Doç.Dr.Ali Doğan Dursun'un yaptığı ve araştırmacı olarak Prof.Dr.Metin Baştuğ, Prof.Dr.Hakan Fıçıcılar, Araş.Gör.Fırat Akat, Dr.Yakup Tatar, Uzm.Dr.Ferda Topal Çelikkın ve Prof.Dr.Bizden Sabuncuoğlu'nun katıldığı "Deneysel Tip 1 Diabetes Mellitus'ta Antrenmanın Kardiyoprotektif Etkisi" başlıklı araştırma projesinin içeriği Kurulumuzca incelenmiş olup, söz konusu çalışmanın Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesine göre aşağıda belirtilen kapsamda yapılmasına oy birliğiyle karar verilmiştir.

Hayvan Türü : Sıçan
Hayvan Sayısı : 120
Geçerlilik Süresi : 01/09/2015-01/09/2018

ETİK KURUL ÜYELERİ				
Ünvanı / Adı / Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İmza
Prof.Dr.Oğuz SARİMEHMETOĞLU (Başkan)	Parazitoloji Anabilim Dalı	Veteriner Fakültesi	E	
Prof.Dr.Eyüp Sabri AKARSU (Başkan Vekili)	Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı	Tıp Fakültesi	E	
Prof.Dr.Tanju ÖZÇELİKAY (Üye)	Farmakoloji Anabilim Dalı	Eczacılık Fakültesi	E	
Prof.Dr.Nuri YİĞİT (Üye)	Zoooloji Anabilim Dalı	Fen Fakültesi	E	
Prof.Dr.Fatin CEDDEN (Üye)	Hayvan Yetiştirme Anabilim Dalı	Ziraat Fakültesi	E	
Prof.Dr.Aydın YAĞMURLU (Üye)	Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı	Tıp Fakültesi	E	
Prof.Dr.Mine KIRKAĞAÇ (Üye)	Su Ürünler Anabilim Dalı	Ziraat Fakültesi	K	
Yrd.Doç.Dr.Mehmet SAĞLAM (Üye)	Cerrahi Anabilim Dalı	Veteriner Fakültesi	E	

Adres: Ankara Üniversitesi Rektörlüğü 06100 - Tandoğan / ANKARA Tel: 0 (312) 212 60 40 / 2064 Faks: 0 (312) 212 60 49

EK 1: Etik Kurul Kararı (devamı)

Yrd.Doç.Dr.Atilla ÖZGÜR (Üye)	Veteriner Hekimliği Tarihi ve Deontoloji Anabilim Dalı	Veteriner Fakültesi	E	
Uzm.Vet.Hek.Atilla İŞGÖREN (Üye)	Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Laboratuvarı	Tıp Fakültesi	E	
Vet.Hek.Dr.Akife KAYA (Üye)	Referans Veteriner Kliniği	Serbest	K	
Uzm.Vet.Hek.Hüseyin DEDE (Üye)	Veteriner Hekimler Derneği	Serbest	E	
Fatma Aysun ÇOSKUN (Üye)	İktisat	Serbest	K	

ÖZGEÇMİŞ

I – Bireysel Bilgiler

Adı: Yakup

Soyadı: TATAR

Doğum yeri ve tarihi: Samsun, 1984

Uyruğu: TC

Medeni Durumu: Evli

Askerlik Durumu: Yapmış

İletişim Adresi ve Telefonu: Yeni Batı Mah. Erciyes Cad. Mimarlar 91 Sitesi
H Blok No:4 Batıkent / Yenimahalle / ANKARA +90 (533) 303 20 33

II – Eğitimi

Doktora AÜTF Fizyoloji ABD (2013-Devam Ediyor)

Lisans Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi (2001-2009)

Yabancı Dil: YÖKDİL: 90

III – Ünvanları

TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı
Öğretim Elemanı (Görevlendirme)

IV – Mesleki Deneyim

2017 - halen TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Elemanı (Görevlendirme)

2014 - 2017 TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Laboratuvarı Öğrenci Pratikleri Öğretim Elemanı (Part-Time)

2014 - 2017 TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mesleksel Beceri Öğrenci Pratikleri Öğretim Elemanı (Part-Time)

2014 - 2015 Özel Bilgi Hastanesi (Ankara)

2012 - 2014 Sağlık Bakanlığı, Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Acil Tıp Asistanlığı (istifa)

2011 - 2012 Sağlık Bakanlığı, Van Başkale Albayrak ASM, Aile Hekimliği

2010 - 2011 Sağlık Bakanlığı, Van Başkale Devlet Hastanesi, Pratisyen Hekim

2009 - 2010 Sağlık Bakanlığı, Sinop Ayancık Devlet Hastanesi, Pratisyen Hekim

VI – Bilimsel İlgi Alanları

Yayımlar:

A. Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler:

B. Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (*Proceedings*) basılan bildiriler:

B1. Colaker H, Dursun AD, **Tatar Y**, Omercioglu G, Bastug M. Effect of Exercise on PGC-1 α , PPAR- α , Irisin, and UCP1 Levels in Experimental Type 1 Diabetic Heart. At the ACSM Conference on Integrative Physiology of Exercise of the American College of Sports Medicine, held September 5-8, 2018 in San Diego, California.

B2. Dursun AD, Colaker H, Omercioglu G, **Tatar Y**, Akat F, Ficicilar H, Bastug M. Cardioprotective Effects of Exercise on the Experimental Type 1 Diabetes Mellitus; Investigating the Oxidative and Antioxidative Status. FEPS 2017; Joint Meeting of the Federation of European Physiological Societies and the Austrian Physiological Society with Participation of the Czech, French, Italian, Slovak, Slovenian, Swiss and Turkish Physiological Societies; 2017 September 13th–15th, Vienna, Austria. Acta Physiologica Sep 2017; 221(S713): 144-146(B05-10). DOI: 10.1111/apha.12940

B3. Dursun AD, Caliskan H, **Tatar Y**, Zaloglu N, Akat F, Bastuğ M, Ficicilar H Effects of exercise training on anxiety in diabetic rats. Joint Meeting of The Federation of European Physiological Societies and The French Physiological Society June 29th-July 1st 2016. Paris, France (PO.094) *Acta Physiol* 2016, 217 (Suppl. 708), 3–158. p69.

C. Ulusal hakemli dergilerde yayımlanan makaleler :

C1. Tatar Y. Streptozotosin ile İndüklenen Diyabet Modeline Genel Bir Bakış. Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi. E-ISSN: 2146-0132, 11 (1): 82-84, 2018; (Makale Kabul edilmiş olup, derginin 2019/1. sayısında yayınlanacaktır).

D. Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler:

D1. Ömercioğlu G, Dursun AD, Baştuğ M, Kızıl Ş, Bayram P, Fıçıcılar H, Can B, Çolaker H, **Tatar Y.** Deneysel tip 1 Diabetes Mellitus'ta antrenmanın akciğerler üzerindeki etkisi. Türkiye Solunum Araştırmaları Derneği 38. Ulusal Kongresi 15-19 Ekim 2016 Çeşme, İzmir. SS-043 (sözlü sunum).

VII – Bilimsel Etkinlikleri

Katıldığı Projeler:

1-) Ankara Üniversitesi BAP 15A0230006 numaralı “Deneysel tip 1 diabetes mellitusta antrenmanın kardiyoprotektif etkisi” isimli altyapı projesinde araştırmacı olarak görev yapmaktadır (Yürütücü: Dr. Öğr. Üyesi Ali Doğan Dursun, proje bütçesi: 186.474,00 TL).

2-) Yürütücülüğünü Dr. Öğr. Üyesi Rohat MELİK'in yaptığı Dr. Yakup Tatar'ın araştırmacı olarak görev aldığı 113S081 numaralı ve "Akıllı Sinir Sistemi İmplantları" başlıklı TÜBİTAK Araştırma Projesi.

Burs – Ödül:

113S081 numaralı ve "Akıllı Sinir Sistemi İmplantları" başlıklı TÜBİTAK Araştırma Projesi Bursu.

Katıldığı Kongre ve Bilimsel Toplantılar:

FEPS 2016; Joint Meeting of the Federation of European Physiological Societies and the French Physiological Society. 29 Haziran-1 Temmuz 2016; Paris, Fransa

Türk Fizyolojik Bilimler Derneği 42. Ulusal Kongresi. 5-8 Eylül 2016; Düzce Üniversitesi, Düzce

Katıldığı Kurslar:

Ankara Üniversitesi Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası, 2014, Ankara

Verdiği Seminerler:

1. Hipoksik Pulmoner Vazokonstriksiyonda İyon Kanallarının Rolü Semineri, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, 2014
2. Diyabetik Kardiyomyopati ve Egzersiz, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, 2015
3. Tip-1 ve Tip-2 Diyabetin İskelet Kas Kütlesi Üzerine Etkisi, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, 2016
4. İskelet Kası Diferansiyasyonu ve Lif Tipi Spesifikasyonunda FoxO1'in Moleküler Mekanizmaları, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, 2017
5. İskelet Kası ve Yaşlanma, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, 2018