



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**DENEYSEL TIP 1 DİYABETES MELLİTUS'TA
AEROBİK EGZERSİZİN LİPOLİSAKKARİT İLE
HASAR OLUŞTURULMUŞ SIÇAN AKCİĞERLERİ
ÜZERİNE ETKİSİ**

Dr. Göktaş ÖMERCİOĞLU

**FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Metin BAŞTUĞ**

ANKARA/2018

ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

TEZ SINAVI TUTANAĞI

I. UZMANLIK ÖĞRENCİSİNİN		
Adı, Soyadı	: Dr.Göktuğ Ömercioğlu	Sınav tarihi: 12 / 06 / 2018
Anabilim/Bilim Dalı	: Fizyoloji Anabilim Dalı	
Tez Danışmanı	: Prof.Dr.Metin Baştuğ	

II. TEZ İLE İLGİLİ BİLGİLER		
Tezin Başlığı: Deneysel Tip 1 Diyabetes Mellitus'ta Aerobik Egzersizin Lipopolisakkarit ile Hasar Oluşturulmuş Sıçan Akciğerleri Üzerine Etkisi		
Tezin Niteliği:	☒ Ana Dal Uzmanlık Tezi	☐ Yan Dal Uzmanlık Tezi
Kaçıncı tez sınavı olduğu:	☒ 1	☐ 2 ☐ 3

III. KARAR		
Yapılan tez sınavı sonucunda yukarıda belirtilen tezin "Tıpta Uzmanlık Tezi" olarak		
☒ Kabulüne		
☐ Reddine		
☐ Düzeltmeler yapıldıktan sonra tekrar değerlendirilmesine		
☒ Oy birliği ☐ Oy çokluğu ile karar verilmiştir.		

IV. AÇIKLAMALAR		
Lütfen, tezin reddi veya düzeltme istenmesi durumunda gerekçeli açıklamalarınızı buraya yazınız		



Jüri Başkanı

Prof.Dr.Hakan FİÇİCİLAR

Ankara Üniv. Tıp Fak. Fizyoloji Anabilim Dalı



Jüri Üyesi

Prof.Dr.Metin BAŞTUĞ

Ankara Üniv. Tıp Fak. Fizyoloji Anabilim Dalı



Jüri Üyesi

Doç.Dr.Şevin GÜNEY

Gazi Üniv. Tıp Fak. Fizyoloji Anabilim Dalı



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**DENEYSEL TIP 1 DİYABETES MELLİTUS'TA
AEROBİK EGZERSİZİN LİPOLİSAKKARİT İLE
HASAR OLUŞTURULMUŞ SIÇAN AKCİĞERLERİ
ÜZERİNE ETKİSİ**

Dr. Göktuğ ÖMERCİOĞLU

**FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Metin BAŞTUĞ**

**Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'nün
17L0230013 nolu projesi ile desteklenmiştir.**

ANKARA/2018

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince hoşgörüsünü, tecrübesini, zamanını, bilgisini benden bir an olsun bile esirgemeyen, görüş ve fikirleri ile bu çalışmaya yön veren değerli danışman hocam Prof. Dr. Metin Baştuğ'a,

Bilgi, görüş ve önerileri ile yanımda olan değerli çalışma arkadaşım Arş. Gör. Fırat Akat'a,

Çalışmamızın histolojik analizlerini titizlikle yürüten sayın Prof. Dr. Belgin Can ve Doç. Dr. Deniz Billur'a,

Bilimsel ya da bireysel her türlü katkıyı sağlamaktan çekinmeyen tüm hocalarıma, arkadaşlarıma ve çalışanlara,

Manevi desteğiyle hep yanımda olan sevgili eşim Dr. Emel Ömercioğlu'na,

Hayatımın her anında sevgi ve emeklerini benden esirgemeyen, destekleriyle her zaman yanımda olan ve yüreklendiren çok değerli babam Hasan Ömercioğlu, annem Emine Ömercioğlu ve canım kardeşim Bengisu Ömercioğlu'na,

En içten teşekkür, sevgi ve saygılarımı sunarım.

Dr. Göktuğ ÖMERCİOĞLU

Mayıs 2018

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	v
TABLolar DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. DİYABETES MELLİTUS TARİHÇESİ VE TANIMI	5
2.1.1. Tarihçesi.....	5
2.1.2. Tanımı	6
2.2. DİYABETES MELLİTUS'UN SINIFLAMASI	7
2.2.1. Tip 1 Diyabetes Mellitus.....	7
2.2.2.1. Tip 1 diyabetes mellitus'un etiyolojisi:.....	8
2.2.2. Tip 2 Diyabetes Mellitus.....	11
2.2.3. Gestasyonel Diyabetes Mellitus (GDM).....	12
2.2.4. Diğer Spesifik Diyabet Türleri.....	12
2.3. DİYABETES MELLİTUS VE PREDİYABET İÇİN TANI	
KRİTERLERİ	13
2.3.1. Diyabetes Mellitus Tanı Kriterleri	13
2.3.2. Prediyabet Tanı Kriterleri	14
2.4. EGZERSİZ TANIMI VE AEROBİK EGZERSİZ	14
2.4.1. Egzersiz Tanımı	14
2.4.2. Aerobik Egzersiz.....	15
2.5. MAKSİMAL OKSİJEN TÜKETİMİ (VO_{2max}) VE EGZERSİZDE	
TÜKENME	16
2.6. EGZERSİZDE ENERJİ VE GLUKOZ METABOLİZMASI	17
2.6.1. Egzersizde Enerji	17
2.6.2. Glukoz Metabolizması	18
2.7. FARKLI FİZİKSEL EGZERSİZ TİPLERİNİN ETKİLERİ	19
2.7.1. Genel Etkileri	19
2.7.2. Oksidatif Stres Üzerine Etkileri	20

2.8. EGZERSİZ VE DİYABET	22
2.9. SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ (SOR) VE OKSİDATİF STRES	24
2.10. ANTİOKSİDAN SİSTEM	27
2.10.1. Enzimatik Antioksidanlar	27
2.10.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	28
2.11. DİYABETES MELLİTUS VE OKSİDATİF STRES	29
2.12. EGZERSİZ, OKSİDATİF STRES VE DİYABETES MELLİTUS İLİŞKİSİ	33
2.13. AKUT SIKINTILI SOLUNUM SENDROMU (ARDS)	33
2.13.1. Patogenez	34
3. GEREÇ ve YÖNTEM	36
3.1. ETİK YAKLAŞIM	36
3.2. DENEY HAYVANLARI	36
3.3. DENEYSEL TİP 1 DİYABET OLUŞTURULMASI	37
3.4. ANTRENMAN PROGRAMI	37
3.5. ARTIMLI YÜK TESTİ	40
3.6. AKUT AKCİĞER HASARI OLUŞTURULMASI	41
3.7. BİYOLOJİK MATERYALLERİN TEMİNİ	42
3.8. ARTER KANI ÖLÇÜMLERİ	42
3.9. DOKU HOMOJENİZASYONU	42
3.10. MALONDİALDEHİT (MDA) ÖLÇÜMÜ	43
3.11. 8-HİDROKSİDEOKSİGUANOZİN (8-OHdG) ÖLÇÜMÜ	43
3.12. REDOKS STATUS ÖLÇÜMLERİ	44
3.12.1. Total Oksidan Status (TOS) Ölçümü	44
3.12.2. Total Antioksidan Status (TAS) Ölçümü	44
3.12.3. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) Hesaplanması	45
3.13. HİSTOLOJİK İNCELEMELER	45
3.13.1. Işık Mikroskopik (IM) İncelemeler İçin Yapılan Çalışmalar	45
3.13.2. İmmünohistokimyasal İncelemeler İçin Yapılan Çalışmalar	47
3.13.3. Transmisyon Elektron Mikroskopik (TEM) İncelemeler İçin Yapılan Çalışmalar	49
3.13.4. Yarı İnce Kesit Boyama Protokolü	50

3.13.5. İnce Kesit Boyama Protokolü	50
3.14. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	50
4. BULGULAR	52
4.1. DENEY HAYVANLARININ VÜCUT AĞIRLIK VE KAN GLUKOZ DEĞERLERİ SONUÇLARI	52
4.2. DENEY HAYVANLARININ MAKSİMUM İŞ YÜKÜ DEĞERLERİ	54
4.3. DENEY HAYVANLARININ SAKRİFİKASYONU SIRASINDA ALINAN ARTER KAN ÖRNEKLERİNDE ÖLÇÜLEN KAN GAZLARI, KAN ASİT-BAZ DÜZEYİ BELİRTEÇLERİ VE ELEKTROLİT SONUÇLARI	55
4.4. DENEY HAYVANLARININ SAKRİFİKASYON SONRASI AKCİĞER DOKUSUNDA ÖLÇÜLEN OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİ.....	59
5.TARTIŞMA	72
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	83
7. ÖZET.....	85
8. ABSTRACT	87
KAYNAKLAR	89
EKLER.....	112
EK-1. ETİK KURULU KARARI.....	112

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

°	: Derece
8-OHdG	: 8-Hidroksideoksiguanozin
A.Ü.	: Ankara Üniversitesi
A1	: Birinci absorbans değeri
A2	: İkinci absorbans değeri
AGE	: İleri glikasyon son ürünleri
APG	: Açlık plazma glukozu
ARDS	: Akut sıkıntılı solunum sendromu
ATP	: Adenozintrifosfat
BAG	: Bozulmuş açlık Glukozu
BGT	: Bozulmuş glukoz toleransı
C	: Santigrat
CAT	: Katalaz
cBase (B)	: Aktüel baz fazlalığı
cBase(Ecf)	: Standart baz fazlalığı
cCa ²⁺	: Kalsiyum konsantrasyonu
cCl ⁻	: Klor konsantrasyonu
cHCO ₃ ⁻ (P)	: Aktüel bikarbonat
cHCO ₃ ⁻ (P,st)	: Standart bikarbonat
cK ⁺	: Potasyum konsantrasyonu
cNa ⁺	: Sodyum konsantrasyonu
CO ₂	: Karbondioksit
ctCO ₂ (B)	: Karbondioksit konsantrasyonu
ctHb	: Hemoglobin

ctO₂	: Oksijen konsantrasyonu
dk	: Dakika
DM	: Diyabetes mellitus
DNA	: Deoksiribonükleik asit
GDM	: Gestasyonel diyabetes mellitus
Glukoz 1-P	: Glukoz 1-fosfat
GPx	: Glutasyon peroksidaz
GSH	: Redükte glutasyon
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
HbA_{1c}	: Hemoglobin A _{1c}
Hct	: Hematokrit
HE	: Hematoksilen-Eozin
HLA	: İnsan lökosit antijenleri
IDF	: Uluslararası Diyabet Federasyonu
IRS-1	: İnsülin reseptör substratı-1
i.p.	: İntraperitoneal
KOAH	: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı
KVH	: Kardiyovasküler hastalık
LPS	: Lipopolisakkarit
MA	: Mallory Azan
MDA	: Malondialdehit
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
NADH	: Nikotinamid adenin dinükleotit
NO	: Nitrik oksit

O2	: Süperoksit Radikali
OGTT	: Oral glikoz tolerans testi
OSİ	: Oksidatif stres indeksi
PBS	: Phosphate buffered saline
pCO₂	: Karbondioksit parsiyel basıncı
pO₂	: Parsiyel oksijen basıncı
QC1	: Kalite kontrol 1
QC2	: Kalite kontrol 2
R1	: Reaktif 1
R2	: Reaktif 2
saO₂	: Oksijen satürasyonu
SOD	: Süperoksit dismutaz
SOR	: Serbest oksijen radikalleri
STZ	: Streptozotosin
TAS	: Total antioksidan status
TBARS	: Thiobarbitürik asid
TEM	: Transmisyon elektron mikroskopik
TOS	: Total oksidan status
TURDEP	: Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Projesi
VO_{2max}	: Maksimal oksijen tüketimi
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
µg	: Mikrogram
µm	: Mikrometre

TABLolar DİZİNİ

Tablo 3.1. Antrene gruplardaki hayvanlara uygulanan bir haftalık adaptasyon protokolü.....	38
Tablo 3.2. Maksimal iş yükü değeri 50m/dk ve 10° eğim olan bir hayvan için örnek günlük antrenman programı: Antrenman programı, haftada beş gün, (iki gün egzersiz bir gün dinlenme; üç gün egzersiz bir gün dinlenme olacak şekilde) 12 hafta boyunca uygulanmıştır.....	40
Tablo 3.3. Artımlı yük testi tablosu: 0., 3., 6. ve 9. haftalarda uygulanmıştır. Hayvanın elektrik cezasına rağmen koşmadığı hız maksimum iş yükü olarak kabul edilmiştir.	41
Tablo 4.1. Deney hayvanlarının başlangıç ve sakrifikasyon öncesi vücut ağırlığı ve kan glukoz değerleri ile çalışma boyunca gözlenen vücut ağırlıkları değişimi ($Ort \pm S.D.$, bütün gruplar $n=6$). Ağırlık değişimi = (son ağırlık-ilk ağırlık)/ilk ağırlık x 100.....	53
Tablo 4.2. Antrenman grubundaki deney hayvanlarına uygulanacak antrenman protokolünün belirlenmesi için 0, 3, 6 ve 9. haftalarda artımlı yük testi uygulanarak belirlenen maksimal oksijen tüketimine (VO_{2max}) karşılık geldiği öngörülen maksimum iş yükü değerleri.	54
Tablo 4.3. Deney hayvanlarının sakrifikasyonu sırasında alınan heparinize arter kanı örneklerinde değerlendirilen kan gazları, kan asit-baz düzeyi belirteçleri ve elektrolit değerleri ($Ort \pm S.D.$, bütün gruplar $n=6$).....	58
Tablo 4.4. Deney hayvanlarının sakrifikasyon sonrası akciğer dokusunda ölçülen oksidatif stres parametreleri ($Ort \pm S.D.$, bütün gruplar $n=6$).....	61
Tablo 4.5. Akciğer dokusu örneklerinde inflamasyon bulguları (infiltrasyon, makrofaj birikimi, hemoraji perivasküler ödem ve alveolar kalınlaşma), kollajen artışı, apoptoz varlığını saptamak için yapılan Kaspaz-3 immun reaktivitesi ve TUNEL boyama skorları tablosu ($Ort \pm S.D.$, bütün gruplar $n=6$).....	63

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Diyabette glukoz toksisitesine ilişkin olarak gelişen oksidatif stresin beta hücrelerindeki moleküler mekanizması (190, 191).....	30
Şekil 2.2. Hiperglisemide temel oksidatif stres kaynağı olan mekanizmalar (190, 191).....	31
Şekil 3.1. Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Elektronik Mühendisliği Bölümü tarafından imal edilmiş olan hız, eğim ve ceza kontrolüne olanak veren küçük deney hayvanı koşu bantları	39
Şekil 4.1. Deney hayvanlarının vücut ağırlığı ve kan glukoz değerleri. (A) Başlangıç vücut ağırlıkları. (B) Deney hayvanlarının sakrifikasyonu öncesi, son vücut ağırlıkları (C) Çalışma boyunca gözlenen vücut ağırlıkları değişimi [Ağırlık Değişimi = (Son Ağırlık-İlk Ağırlık)/İlk Ağırlık x 100]. (D) Deney hayvanlarının sakrifikasyonu öncesi kan glukoz değerleri.	52
Şekil 4.2. Antrenman grubundaki deney hayvanlarının başlangıç, 3, 6 ve 9. hafta maksimum iş yükü değerleri.....	54
Şekil 4.3. Deney hayvanlarından sakrifikasyon sırasında alınan heparinize arter kanı örneklerinde değerlendirilen (A) pH düzeyi (B) Karbondioksit konsantrasyonu	55
Şekil 4.4. Heparinize kanda ölçülen elektrolit düzeyleri. (A) Sodyum iyonu konsantrasyonu. (B) Potasyum iyonu konsantrasyonu (C) Klor iyonu konsantrasyonu (D) Kalsiyum iyonu konsantrasyonu.	56
Şekil 4.5. Heparinize kanda ölçülen kan asit-baz düzeyleri belirteçleri (A) Aktüel bikarbonat (B) Standart bikarbonat (C) Aktüel baz Fazlası (D) Standart baz fazlası düzeyleri.....	57
Şekil 4.6. Akciğer dokusunda değerlendirilen (A) MDA (B) 8-OHdG düzeyleri.....	59
Şekil 4.7. Akciğer dokusunda değerlendirilen (A) Total oksidan status (B) Total antioksidan status (C) Oksidatif stres indeksi düzeyleri.	60

- Şekil 4.8.** Sedanter gruba ait ışık mikrograflar izlenmektedir. Yıldız: infiltrasyonu (küçük kutucuk x1000 büyütme); Ok; makrofaj (küçük kutucuk x1000 büyütme); Kuyruklu ok: interalveolar septum; HE: Hematoksilin eozin; MA: Mallory azan; Bar: 100 µm 64
- Şekil 4.9.** Antrene gruba ait ışık mikrograflar izlenmektedir. Yıldız: lökosit infiltrasyonu; Ok; makrofaj; Kuyruklu ok: interalveolar septum; HE: Hematoksilin eozin; MA: Mallory azan; Bar: 100 µm 65
- Şekil 4.10.** Akciğer dokusu örneklerinde inflamasyon bulgularının; (A) infiltrasyon (B) makrofaj birikimi, (C) hemoraji, (D) perivasküler ödem ve (E) alveolar kalınlaşma skorları. 67
- Şekil 4.11.** Akciğer dokusu örneklerinde ışık mikroskopisi incelemesi ile kollajen artışı skorlaması. 67
- Şekil 4.12.** Yarı ince kesitlere ait ışık mikrograflarda interalveolar septumlar (kuyruklu ok) izlenmektedir. Boya: Toluidin Mavis. Büyütme: 400x..... 68
- Şekil 4.13.** Sedanter ve antrene gruplara ait elektron mikrograflar izlenmektedir. a: alveol; c: kapiller; e: eritrosit; m: makrofaj; yıldız: tip II alveolar hücre. Büyütme: x7750. 69
- Şekil 4.14.** Sedanter ve antrene gruplarının Kaspaz-3 ve TUNEL mikrografları izlenmektedir. Büyütme x400. 70
- Şekil 4.15.** Akciğer dokusunda apoptoz varlığını saptamak için yapılan (A) Kaspaz-3 immun reaktivitesi, (B) TUNEL boyama skorları. 71

1. GİRİŞ

Dünyadaki önemli sağlık sorunlarından olan diyabetes mellitus (DM); insülinin salgılanmasında ve/veya etki mekanizmasında bozukluk sonucunda meydana gelen hiperglisemi ile karakterize metabolizma hastalığıdır. Akciğerler de dahil olmak üzere bütün vücutta endotel üzerindeki etkisi nedeniyle DM mikrovasküler ve makrovasküler hasarla karakterize yaygın metabolik bir hastalıktır. Proteinlerin non-enzimatik glikasyonu akciğerlerde bağ dokusunda ve yaygın kapiller ağda inflamatuvar ve oksidatif hasara neden olmaktadır. Ayrıca endotel disfonksiyonuna neden olan vasküler hasarın apoptotik süreci hızlandığı da bilinmektedir.

Görülme sıklığı hızla artan kronik hastalıkların başında gelmektedir (1). Dünyadaki DM'li kişi sayısının Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) raporlarına göre, 2040 yılında 642 milyon kişiye ulaşacağı öngörülmektedir (2). Ülkemizde Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından desteklenen Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Projesi-1 (TURDEP-I) çalışması sonuçlarına göre 20 yaş ve üzeri bireylerin bozulmuş glukoz toleransı (BGT) sıklığı %6,7, Tip 2 DM prevalansı ise %7,2 iken (3), daha güncel olan ülke genelinde 26.499 kişinin katıldığı TURDEP-II çalışması sonuçlarına göre tip 2 DM sıklığının %13,7'ye vardığı görülmüştür (1). Ayrıca DM'ye bağlı morbidite ve mortalite oranı da her geçen gün artmaktadır.

DM'de komplikasyonların açığa çıkmasında, hiperglisemik kaynaklı oksidatif stresin önemli rol oynadığı bilinmektedir. Hiperglisemi, proteinlerin nonenzimatik glikasyonuna, glukoz oksidasyonuna ve oksidatif yıkımlarına sebep olur. Oksidatif stres, DM ve komplikasyonlarının gelişimini, ilerlemesini hızlandırırken, antioksidan savunma mekanizmaları enzimatik ve/veya nonenzimatik etkileri ile dokuları ve hücreleri oksidatif hasardan korur. Bozulmuş antioksidan savunma mekanizmasının ve/veya artmış serbest oksijen radikallerin (SOR) üretiminin DM'de etkin olması, DM gelişimini önlemede ve tedavisinde antioksidan maddelerin ve vitaminlerin kullanılabileceği düşüncesini ortaya çıkarmıştır.

Dengeli beslenme ve düzenli egzersiz DM riskini azaltmada önemli faktörler olarak öne sürülmektedir. Düzenli aerobik egzersizin DM'den korunmada insülin direncini düşürerek etki gösterdiği ortaya konmuştur (4). Ayrıca egzersiz DM'li hastaların komplikasyon gelişme riskini azaltarak yaşam kalitelerini artırmada ve glukoz düzeylerinin kontrolünde de önemli yer tutmaktadır.

Egzersizin hangi şiddette ve sıklıkta, ne kadar süre ile yapıldığı önemlidir. Egzersiz ani ve yüksek şiddette yapıldığında organizmada SOR oluşumunu indüklemekte ve antioksidan sistem ile serbest radikaller arasında dengesizlik oluşmakta, doku hasarı ile karakterize oksidatif stres meydana gelebilmektedir. Akut egzersizin, antioksidan enzimlerin fonksiyonunu olumsuz etkileyebileceği ileri sürülmüştür (5-8). Kronik olarak yapılan, ılıman egzersizler ise, hem SOR üretimini azaltmaları hem de antioksidan enzimlerin aktivitesini artırmaları nedeniyle bireylere önerilmektedir (9-11). Diyabetik hastalarda düzenli egzersizin kan glukoz regülasyonunu sağladığı, hücrelerin insüline duyarlılığını arttırdığı, ihtiyaç duyulan insülin miktarını ve dokularda insülin direncini azalttığı, kan lipitleri düzeyini düşürdüğü, kilo vermeyi kolaylaştırdığı (12-14), kardiovasküler sistemi ve metabolik kontrolü iyileştirdiği bildirilmektedir (15, 16). Fiziksel inaktivite ve obezitenin ise, bozulmuş glukoz toleransı gelişmesi riskini arttırdığı ve tip 2 DM gelişmesine yol açabileceği belirtilmektedir (17).

DM'nin patogenezinin daha iyi ortaya konulması, tedavi seçeneklerinin incelenmesi ve DM'den korunma amacıyla, deneysel DM modelleri oluşturulmaktadır (18, 19). Modeller arasında diyet, cerrahi uygulamalar ya da kimyasal maddeler yer almaktadır. Pankreas β hücrelerinin kimyasal maddeler ile tahribatı hedeflenen modelde, genellikle alloxan ve streptozotosin (STZ) kullanılmakta olup, deney hayvanlarından genellikle fare ve sıçan tercih edilmektedir (19, 20). Bu kimyasal maddeler, düşük antioksidan kapasiteye sahip pankreas β hücrelerinde, oksidatif stres kaynaklı yıkıma sebep olmaktadır (21, 22)

Alveolo-kapiller geçirgenlikte artma sonucu ortaya çıkan akut akciğer hasarına akut sıkıntılı solunum sendromu (ARDS) denir. Klinik ve postoperatif birçok hastalıkta ARDS gözlenmektedir. Multitravma, gastrik aspirasyon,

pankreatitis, hemorajik şok, ciddi yanıklar ve kardiyopulmoner by-pass hastalarında akciğer hasarı görülme sıklığı fazladır. DM'nin neden olduğu endotel hasarı sonucu, tüm dokularda inflamasyona ve oksidatif strese neden olduğu bilinmektedir. Bu nedenle DM'li hastalarda ARDS riski daha fazladır. ARDS etyolojisinde pulmoner ve ekstrapulmoner nedenler ileri sürülmüştür. Pulmoner nedenler olarak pnömoniler, gastrik içeriğin aspirasyonu, inhalasyon hasarı ve yağ embolisi sıralanırken, ekstrapulmoner nedenler olarak sepsis, travma, akut pankreatitis ve kardiyopulmoner by-pass ileri sürülmektedir. Sayılan nedenlerden ötürü yaygın bir metabolizma hastalığı olan DM'de ARDS gelişim riski yüksektir.

Çalışmamızda haftada beş gün, günde 60 dakika aerobik antrenmanın sağlıklı ve STZ ile indüklenen tip 1 DM'li deney hayvanlarının akciğerleri ve lipopolisakkarit (LPS) ile oluşturulmuş akut akciğer hasarından koruma üzerine etkileri biyokimyasal ve histopatolojik yöntemlerle araştırılmıştır.

Çalışmamızın amacı:

1) Düzenli aerobik egzersizin tip 1 DM'li sıçan akciğerlerinde inflamatuvar ve oksidatif hasara karşı koruyucu etkisi olup olmadığı ve apoptotik süreçteki rolünü,

2) Düzenli aerobik egzersizin LPS ile oluşturulan akciğer hasarına karşı sağlıklı ve tip 1 DM'li sıçan akciğerinde koruyucu etkisi olup olmadığını ve apoptotik süreçteki rolünü araştırmaktır.

Bu çalışma, tip 1 DM'de ve akciğer hasarında oluşan oksidatif stres, inflamasyon ve apoptotik süreçte egzersizin etkilerinin incelenip, düzenli aerobik egzersiz yapanlarda, tip 1 DM'de ve akciğer hasarında meydana gelen değişikliklerin histolojik ve biyokimyasal mekanizmalarının daha iyi anlaşılmasına olanak sağlayacaktır. Elde edilen veriler önemli bir toplum sağlığı problemi olan DM'de akciğer hasarına bağlı komplikasyonların engellenmesinde ve tedavi edici planlamaların oluşturulmasında katkı sağlayabilecektir.

Hipotezlerimiz:

Düzenli aerobik egzersiz;

- 1) STZ ile oluşturulmuş tip 1 DM'li sıçanların akciğerlerinde inflamasyona, oksidatif strese ve apoptozise karşı koruyucu etkiye sahiptir.
- 2) Sağlıklı ve tip 1 DM'li sıçanlarda LPS ile oluşturulan akciğer hasarında inflamasyona, oksidatif strese ve apoptozise karşı koruyucu etkiye sahiptir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. DİYABETES MELLİTUS TARİHÇESİ VE TANIMI

2.1.1. Tarihçesi

DM ile ilgili ilk kayıtlara, Mısır'da bulunmuş bir Ebers papirüsünde MÖ 1550 yıllarında rastlanmıştır ve sık idrara çıkmak olarak tariflenmiştir (23, 24). Diyabetes eski Yunanca'da sifon anlamına gelir. Mellitus ise mel kelimesinden türemiştir ve yine Yunanca'da bal anlamına gelmektedir (25). Hastalığın klinik tanıları antik çağdan (MÖ 700-MS 500) beri bilinmektedir (26-28). Hint hekimleri MÖ 400 yılında, hastaların idrarlarına sineklerin ve karıncaların geldiğini görmüşler ve idrarın tatlı olduğunu düşünmüşlerdir. Bu nedenle bu hastalığa tatlı idrar anlamında madhumeh adını vermişlerdir (26). MS 2. yüzyılda Areteus "Diyabetes" kelimesini ilk kez kullanmıştır. Areteus DM'nin belirtilerini, sık idrara çıkma, su ihtiyacında artış ve zayıflama olarak bildirmiştir. Ayrıca hastaların nemli vücuta sahip olduğunu, su kaybının böbrekler ile devamlı olduğunu ve hastalığın ilerleyerek ölüme sebep olabileceğini belirtmiştir (27). MS 1000'li yıllarda ise DM'un tanımını İbn-i Sina yapmış, damarlara ilişkin komplikasyonlarını açıklamıştır(29, 30).

1815 yılında Chevreul, idrardaki şekerin glukoz olduğunu saptamıştır. Paul Langerhans 1869 yılında, pankreasta küçük hücre topluluklarını göstermiştir. Günümüzde bu hücre toplulukları "Langerhans Adacıkları" olarak bilinmektedir. 1893 yılında Edouard Laguesse, bu hücrelerin pankreas bezinin endokrin hücreleri olduğunu söylemiştir. 19. yüzyılda Josef von Mering ve Oscar Minkowski, pankreas bezinin önemini göstermek amacıyla bir köpeğin pankreas bezini çıkartmışlar ve DM'nin belirtileri olan zayıflama, su içme, idrara çıkma gözlemlemişlerdir. Josef von Mering ve Oskar Minkowski 1921 yılında Nobel ödülünü kazanmışlardır. 1936 yılında daha insülin ölçümü yapılamadığı yıllarda Harold Himsworth, insüline bağımlı olan ve olmayan şeklinde iki diyabet tipi olduğunu belirtmiştir(31, 32).

1921 yılında J.J.R.Macleod, Fredirick G.Banting, James B.Collip ve Charles H.Best ortak çalışmaları sonucu insülini bulmuşlardır. Banting ve Best insülini pankreası çıkartılmış Diyabetik köpeğe vermişler ve kan şekerinin düştüğünü gözlemlemişler. 10 Ocak 1922’de Collip ilk insan deneyini yapmıştır. İnsülini daha da saflaştırarak Diyabetik hasta olan Leonard Thomson üzerinde denemiş ve DM’yi tedavi etmiştir. 1923 yılından sonra insülin yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. İnsülin kullanılmadan önce tip 1 DM’lilerin çoğu ketoasidoz komasından ölürken, günümüzde bu oran % 1'lere inmiştir.

2.1.2. Tanımı

İnsülinin mutlak ya da rölatif yetersizliği veya insülin etkisinin bozukluğu sonucunda gelişen DM; hiperglisemi ile seyreden, karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmalarında bozukluklara yol açan, sürekli tıbbi bakım gerektiren, akut metabolik ve kronik dejeneratif komplikasyonlar gelişimine sebep olan endokrin ve metabolik bir hastalıktır (19, 33, 34)

Günümüzde görülme sıklığı gittikçe artan kronik hastalıkların başında gelmektedir. Görülme sıklığındaki artışa paralel olarak morbidite ve mortalitesi yüksektir (35). Gelişmiş ülkelerde mortalite sebepleri arasında iskemik kalp hastalığı, inme, trekea ve akciğer kanserleri, alt solunum yolu enfeksiyonları, alzheimer ve diğer demans hastalıkları, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH), kolon ve rektal kanserlerinden sonra 8. sırada yer almaktadır (36). Dünyada 2013 yılında 5.1 milyon insanın DM ve komplikasyonları nedeniyle öldüğü, bu ölümlerin %50’ye yakınının 60 yaş altı hastalarda görüldüğü ve az gelişmiş ülkelerde bu oranın %75’e kadar çıktığı bildirilmiştir (37).

Tip 1 DM ve tip 2 DM olarak iki ana gruba ayrılır. Genel olarak vakaların %90’ı Tip 2, %10 kadarı da tip 1 DM’dir.

2.2. DİYABETES MELLİTUS'UN SINIFLAMASI

DM'nin tüm tipleri hiperglisemi temelinde gelişse de altta yatan nedenler büyük değişkenlik gösterir (38). DM sınıflamasının etyolojik gruplamayı ve klinik kriterlere dayanan diyabet evrelerini içermesi önerilmektedir.

Diyabetin sınıflandırılması, 1979 yılında Ulusal Diyabet Veri Grubu ve 1985 yılında WHO tarafından klinik belirtiler dikkate alınarak yapılmıştır. Bugün kullanılan sınıflandırma Amerikan Diyabet Derneği tarafından önerilen etiyolojik sınıflandırmadır (39). DM'nin sınıflandırması 4 ana gruba ayrılmıştır. Bunlar;

1. Tip I DM

a. İmmün aracılı

b. İdiyopatik

2. Tip II DM

3. Diğer spesifik diyabet tipleri

4. Gestasyonel Diabetes mellitus (GDM)

2.2.1. Tip 1 Diabetes Mellitus

İnsülin bağımlı diyabet, çocukluk çağı diyabeti, juvenil diyabet olarak da adlandırılan Tip 1 DM endojen insülin eksikliği ya da yokluğu ile karakterizedir. İnsülin ekzojen olarak yerine konulmadıkça, insülin yokluğu hiperglisemi ve ketoasidoz ile sonuçlanır ve bu tip 1 DM'nin karakteristik iki özelliğidir.

Tüm DM'lu hastaların yaklaşık %5-10'u tip 1 DM'lidir ve görülme sıklığı gittikçe artmaktadır (40). DM'nin bu tipi genellikle çocuk ve genç yaşlarda görülmektedir. 1996 yılında dünyada yaklaşık 497 bin çocuğun tip 1 DM olduğu, her yıl 15 yaş altı 79 bin çocuğun daha buna dahil olduğu bildirilmiştir (41). Bununla

birlikte son yıllarda erişkinlerde görülen tip 1 DM olguları da artmaktadır ve erişkinde latent otoimmün diyabet olarak adlandırılmaktadır (39).

Diyabet hastalarının birinci derecede akrabalarında, hastalığın görülme riskinin 15-20 kat daha fazla olduğu bildirilmektedir (42, 43).

2.2.2.1. Tip 1 diyabetes mellitus'un etiyolojisi:

Tip I DM'nin etiyolojik olarak iki alt formu vardır. Tip IA formu %90'ını oluşturur ve otoimmün kaynaklıdır. Tip IB idiyopatik (nonotoimmün) formu ise %10'unu oluşturur ketoasidozis ve insülin eksikliği ile karakterizedir (44).

Otoimmünite

DM'nin insan lökosit antijen (HLA) allelleri ile ilişkisi olduğunun tespiti, HLA moleküllerinin peptidleri bağlama şeklinin DM oluşumu ile ilişkili olduğunun görülmesi, immünsupresif ilaçların kullanılmasıyla pankreas β hücre fonksiyonunun devamlılığının sağlanması ve vücutta bazı otoantikorların belirlenmesi, tip I DM'nin otoimmün kökenli hastalık olduğunu göstermiştir.

Tip 1 DM patogenezinde otoimmünitenin varlığı postmortem çalışmalara ve yaşayan hastaların pankreatik biyopsilerine dayandırılmaktadır. Bu çalışmalarda yeni tip 1 DM tanısı alan hastalarda pankreas β hücre adacık rezidülerinde kronik inflamatuvar mononükleer hücre infiltrasyonu (insülinitis) olduğu görülmüştür. İnfiltratta T hücreler ve makrofajlar tayin edilmiştir. Hastalıktan sonra β hücrelerinde total bir kayıp görülmekte ve diğer adacık hücre tipleri yaşamlarına devam etmektedir (45).

İnsülinitisin temel belirteci yeni tanı almış tip 1 DM'li hastalarda dolaşımdaki adacıklarla ilişkili otoantikorların varlığıdır. İnsülin otoantikorları, adacık hücre otoantikorları, anti-fogrin antikorları, tirozin fosfotaza karşı otoantikorlar ve glutamik asit dekarboksilaz antikorları tip 1A DM'de dolaşımda bulunabilir. Tüm bu adacık otoantikorları DM gelişimine sebep olmaz, bu da insülinitisin her zaman

kritik hücre hasarına sebep olmadığını düşündürmektedir. Tip 1 DM aylar veya yıllarca adacık antikorlarının dolaşımında tespit edilebildiği immünolojik anormalliklerin olmasına rağmen normogliseminin görüldüğü bir prodromal dönemden sonra klinik olarak ortaya çıkmaktadır (46).

Genetik

Tip 1 DM 6. kromozomun kısa kolundaki majör histokompaktibilite kompleks bölgesindeki HLA allelleri ile ilişkilidir. HLA'lar kendilerini kodlayan genlerdeki polimorfizmler yoluyla değişkenlik gösterebilen hücre yüzey glikoproteinleridir. HLA moleküllerinin peptidleri bağlama şekli DM oluşumu ile ilişkilidir. Sınıf II HLA'lar hem kendi hem de yabancı antijenleri hücreler lenfositlere sunup otoimmün süreci başlatmada önemlidir.

Çevresel ve Maternal Faktörler

Tip 1 DM için genetik faktörler önemli olmakla birlikte, görülme sıklığında hızla artış ve tek yumurta ikizlerinde < %50 olması çevresel faktörlerin tip 1 DM patogeneğinde göreceli olarak önemli rol oynadığını göstermektedir. En sık rastlanan çevresel faktörler virüsler, toksinler ve diyetler. İnek sütü ile erken yaşlarda beslenme ve psikolojik stres gibi bir takım diğer etkiler de araştırılmaktadır. Yakın zamandaki meta analizler ve kohort çalışmaları, doğum ağırlığı, sezaryen ile doğum yapma ve annelik yaşındaki artışların (sırasıyla her kilo için %7, % 20 ve her 5 yılda %5) etkili olduğunu da göstermiştir. Fakat henüz patofizyolojisi aydınlatılamamıştır.

Viral Enfeksiyonlar

Viral enfeksiyonların DM gelişiminde rol oynadığı bilinmektedir. Örneğin, kabakulak enfeksiyonu tip 1 DM gelişimine sebep olabilir. İntrauterin kızamıkçık enfeksiyonundan etkilenen çocuklarda % 20 oranında DM görülmektedir. Tip 1 DM'li birçok kişide Cocksackie B virüsü enfeksiyonunun özellikle B4 serotipine ait serolojik veya klinik kanıtlar saptanmıştır. Cocksackie B virüsü enfeksiyonu nedeniyle ölen çocuklarda pankreas β hücre hasarı tespit edilmiştir.

Apoptozis

Pankreas β hücrelerini yıkımlarının bir diğer sebebi programlı hücre ölümü olan apoptozistir. Bu duruma çeşitli yollarla tetiklenen hücresel kaspazlar neden olur ve olay ölüm sinyali veren molekül (Fas)'ı infiltre eden hücrelerin yüzeyi üzerindeki FasL-ligand ile etkileşimini içermektedir. Apoptozu indükleyen diğer faktörler arasında makrofajlardan üretilen nitrik oksit (NO), toksik serbest radikaller ve sitotoksik T hücreleri tarafından üretilen granzyme B ve perforin ile hücre zarının bozulması bulunmaktadır. T hücresi sitokinleri Fas ve FasL'yi tetikler, NO ve toksik serbest radikallerin salgılanmasını indükler.

Diyet Faktörleri

Tip 1 DM'li hastaların % 5-10' unda çölyak hastalığı bulunmaktadır (47). Hayvan modellerinde gerçekleştirilen tip 1 DM çalışmalarında buğday gluteninin diyabetojenik olduğu, yapılan başka çalışmalarda, tip 1 DM ve çölyak hastalığı olan bireylerin hastalığın spesifik allellerini paylaştıkları gösterilmiştir (48). Buğday, tip 1 DM'li bazı hastalarda subklinik bağırsak inflamasyonunu tetikler ve lümen antijenlerinin bağırsak permeabilitesini artırır.

Erken anne sütünden kesmenin ve diyetle inek sütünün sokulmasının tip 1 DM'yi tetikleyebileceği ileri sürülmüştür. Süt kompozisyonundaki değişikliklerden kaynaklı veya süt hassasiyetine sahip diyabete yatkın insanlardan oluşan alt grubun varlığı nedeniyle araştırmalar tutarsızdır. İnsülin için bağışıklık toleransı, insan sütüne kıyasla çok daha az insülin içeren inek sütü ile de tehlikeye girebilir.

Toksinler

Pankreas β hücrelerinin çevresel toksinlerinin olabileceği fikri, hayvanlarda tip 1 DM oluşumuna neden olan kimyasalların varlığı ile desteklenmiştir. Örnek olarak alloksan ve STZ hücre membranını hasarlama, çeşitli enzimlerle etkileşime girme ve deoksiribo nükleik asit (DNA) fragmentasyonu gibi yollarla pankreas β hücrelerine zarar verir (45).

Deneysel Diyabetik Hayvan Modelleri

DM çalışmalarında hayvan modelleri kullanmak tartışılan bir konu olmakla birlikte hastalığın moleküler temellerini, komplikasyonlarının patogenezi ve terapötik ajanların kullanımını anlamak için en önemli yöntemi deneysel modellerdir (49). Modellerin çoğu küçük hacmi, kısa üreme döngüsü, kolay ulaşılabilirliği ve ekonomik nedenlerle rodentlerden sağlanır (50).

Deneysel DM hayvan modelleri genetik, spontan otoimmün, kimyasal, viral enfeksiyonlar, cerrahi, beslenme modelleri şeklinde kısaca sınıflandırılabilir. Tip 1 DM hayvan çalışmaları içinde kimyasal yöntemler sıklıkla kullanılmakta ve bu yöntemlerden STZ uygulamaları ön plana çıkmaktadır.

Antimikrobiyal, kemoterapötik alkilleyici bir ajan olan STZ diyabet araştırmalarında insülin sekresyonunu inhibe ederek insülin bağımlı DM'ye sebep olur. DNA'ya ve hücresel enerji depolarına zarar vererek pankreas β hücrelerinde nekroza yol açar (51). Genel olarak kullanılan tek seferde ratlarda 50-200 mg/kg, farelerde 35-65 mg/kg STZ uygulama dozları yüksek olarak kabul edilir. Bu değer pankreas β hücre ablasyonuna ve hiperglisemiye sebep olur (52).

Hijyen Hipotezi

Batılı toplumlarda artan atopi insidansı ve erken başlangıçlı tip 1 DM, mikobakteriler, laktobasiller ve helmint solucanları gibi yaygın patojenlere maruz kalma eksikliğinin bir sonucu olabilir. Kronik maruziyet antijenlere karşı daha iyi bir T hücre yanıtı içerebilirken, daha steril bir ortama abartılı tepki ile sonuçlanır. Bu hipotezi destekleyen ilişkisel verilerin varlığına rağmen hala doğruluğu kanıtlanmamıştır (45).

2.2.2. Tip 2 Diyabetes Mellitus

İnsülin bağımlı olmayan diyabet veya erişkin diyabet olarak da adlandırılır. Tüm DM vakalarının % 90'dan fazlasını oluşturmaktadır. Obezite ve fiziksel

inaktiviteye bağı olarak giderek sıklığı artmaktadır (40, 53). Genetik yatkınlığı olan bireylerde yaşam tarzıyla tetiklenen ve giderek artan insülin rezistansı vardır (41). Tip 2 DM genel olarak 40 yaş üstünde görülmektedir ve yaşlanma ile sıklığı artmaktadır (39). Dünyada toplumun % 5-10'u tip 2 DM'lidir (34, 41).

Hiperglisemi yavaş geliştiği için klasik DM tablosunun fark edilmesi zaman alabilir. Bu hastalar tanı almamış oldukları zamanda bile, mikro ve makrovasküler komplikasyonların gelişmesi açısından risk altındadırlar. İnsülin seviyeleri tip 2 DM'li hastalarda çoğu zaman normal hatta artmıştır ancak kan glukoz düzeyini düşürecek etkinlikte değildir. Bu durum insülin direnci olarak tanımlanmaktadır. Birçok hasta yeterli fiziksel aktivite, düzenli ve dengeli beslenme, oral anti-diyabetikler ile iyileşebilir. Kan glukoz düzeyleri kontrol altına alınamadığında ekzojen insülin tedavisi başlamak gerekebilir (39, 40)

2.2.3. Gestasyonel Diyabetes Mellitus (GDM)

Gebelikte ortaya çıkan ve gebeliğin bitmesi ile sonlanan DM türüdür. Gebeliklerin %7'sinde GDM gözlenmektedir (40). İnsülin duyarlılığının azalmasına bağı geçici durum olsa da, glukoz toleransının bozulması ve belirtilerin gebelik sonrasında da devam ettiğinde tip 2 DM'ye dönüşebilmektedir (54-56).

Genellikle gebeliğin 24. haftasından sonra plasentadan salgılanan hormonların insülin direncini arttırmasına bağı olarak gelişir. Kan glukoz düzeyinin artması, fetusun normalden iri olmasına neden olmaktadır. Etiyolojisinde önceki gebelikte makrozomi, ölü doğum, geç hamilelik, glukozüri, hipertansiyon, obezite ve genetik faktörler bulunmaktadır (57-61).

2.2.4. Diğer Spesifik Diyabet Türleri

Tip 1 DM, Tip 2 DM ve GDM dışında da diyabet oluşabilir veya bazı nadir görülen hastalıklara diyabet eşlik edebilir (39). Bunlar; gençlerin erişkin başlangıçlı DM gibi monogenik defektler, endokrinopatiler (akromegali, glukagonoma, feokromositoma, aldosteronoma, hipertiroidizm, Cushing sendromu,

somatostatinoma), Tip A insülin direnci sendromu, infeksiyonlar (sitomegalovirus, konjenital rubella sendromu), ekzokrin pankreas hastalıkları (kistik fibrosis, pankreatit, neoplaziler, travma vb.), ilaca bağlı DM (tiazid grubu diüretikler kortikosteroidler, , atipik antipsikotikler vb.), lipoatrofik diyabet gibi genetik defektler, Rabson-Mendenhall sendromu, immün kaynaklı nadir DM formları (Stiff-man sendromu, anti-insülin reseptör antikorlarına bağlı diyabet vb.) ve DM ile ilişkili bazı genetik sendromlardır (Down sendromu, Klinefelter sendromu, Turner sendromu, Huntington koresi, Friedreich ataksisi, Prader-willi sendromu, miyotonik distrofi, Laurence-Moon-Biedl sendromu, Wolfram sendromu, porfiria vb.).

2.3. DİYABETES MELLİTUS VE PREDİYABET İÇİN TANI KRİTERLERİ

Diyabet veya prediyabet tanısı; açlık plazma glukozu (APG), 2 saatlik oral glukoz tolerans testi (OGTT) ve glikozillenmiş hemoglobin A_{1c} (HbA_{1c}) ölçümleri ile konur. Diyabet tanı yöntemleri aşağıda özetlenmiştir.

2.3.1. Diyabetes Mellitus Tanı Kriterleri

➤ Açlık plazma glukoz (APG) ölçümü: Gece boyu açlığı takiben plazma glukoz düzeyinin ölçülmesi en fazla kabul gören ve ekonomik olan yaklaşımdır. APG düzeyi ≥ 126 mg/dL ise DM tanısı konulur.

➤ Oral glukoz tolerans testi (OGTT): Yüksek riskli kişilerde OGTT yapılması prediyabet ve DM tanısı konmasında yararlıdır. 75 gram glukozlu sıvı içirildikten iki saat sonra kan glukoz düzeyinin ≥ 200 mg/dL olması DM tanısını koydurur.

➤ Rastgele kan glukoz ölçümü: DM semptomları (polidipsi, poliüri) varlığında rastgele bir zamanda ölçülen plazma glukoz düzeyinin ≥ 200 mg/dL olması da DM tanısı koydurur.

➤ HbA_{1c}: Standardize edilmiş HbA_{1c} ölçümü de DM tanı kriterleri arasına girmiştir. HbA_{1c} ≥ %6.5 (48 mmol/mol) olması DM tanısı koydurur (62).

2.3.2. Prediyabet Tanı Kriterleri

Normal glukoz metabolizması ile aşikar DM arasındaki süreç prediyabetik dönem olarak tanımlanır. Bu süreç, normal kan glukoz değerleri ile DM değerleri arasında gri bölge olarak adlandırılabilir. Prediyabet tanımlamasına giren durumlar şunlardır (40):

- Bozulmuş Açlık Glukozu (BAG): APG düzeyinin 100-125 mg/dL olması,
- Bozulmuş Glukoz Toleransı (BGT): OGTT testinde 2. saat plazma glukoz düzeyinin 140 mg/dl ile 199 mg/dL arasında olması,
- Yüksek Risk Grubu: HbA_{1c} düzeyinin %5.7 (39 mmol/mol) ile 6.4 (46 mmol/mol) arasında olması.

Prediyabet DM riskinin yüksek olduğunun göstergesidir. BAG ve BGT obezite, dislipidemi ve hipertansiyon ile ilişkilidir. Prediyabetli hastalar hayatlarının ileriki dönemlerinde %70 oranında DM tanısı almaktadır (39)

2.4. EGZERSİZ TANIMI VE AEROBİK EGZERSİZ

2.4.1. Egzersiz Tanımı

Fiziksel aktivite, iskelet kaslarının kasılmasıyla, bazal düzeyin üzerinde enerji harcanan bedensel hareketlerdir. Egzersiz, fiziksel aktivitenin alt sınıfıdır. Hollman, morfolojik değişikliklere sebep olmadan performans artışı amacı ile sistematik tekrarlayan hareket şeklinde egzersizi tanımlamıştır (63).

WHO'ya göre 2020 yılına kadar ölümlerin %70'inin ve hastalıkların %60'ının kronik hastalıklardan dolayı olması beklenmektedir (36). Danimarka'da fiziksel olarak hareketsizlik ölüm sebebi olarak kabul edilmekte (64), Hastalık

Kontrol ve Korunma Merkezleri fiziksel hareketsizliği kronik hastalığın bir nedeni olarak belirlemektedir (65).

Fiziksel olarak aktif olmayan bireyler aktif bireylerle karşılaştırıldığında; aktif olmayan bireylerin ortalama beş yıl daha kısa ömürlü oldukları gözlemlenmiştir. Aynı çalışmada fiziksel olarak aktif bireylerde aktif olmayan bireylere göre hastalıksız yaşam süresinin 8 yıl daha uzun olduğu gösterilmiştir (64).

2.4.2. Aerobik Egzersiz

Aerobik egzersiz, uzun süreli, ritmik ve daha az kuvvet harcanarak gerçekleştirilen fiziksel aktivitelerdir. Yürüme, koşma, merdiven çıkma, bisiklete binme ve yüzme gibi aktiviteler maksimum oksijen tüketimini (VO_{2max}) artıran, geniş kas gruplarının kullanıldığı aerobik egzersiz türleridir. Aerobik egzersiz sırasında ihtiyaç duyulan enerji eldesi için yeterli miktarda oksijenin (O_2) aktif kasa sunulabilmesi gereklidir. Artan yoğunlukta ve maksimal yüklenme içeren egzersizlerde, enerji üretim ve tüketimi ile birlikte aktif kaslarda kan akımı ve O_2 tüketimi de orantılı bir şekilde artmaktadır (66, 67). Bununla birlikte sürekli ve ağır egzersizlerde belirli bir aşamadan sonra tüketilen O_2 miktarı artış göstermemektedir. Maksimal aerobik kapasite veya VO_{2max} en yüksek O_2 tüketimini ifade eder (68).

Aerobik kapasite; kan volümü, eritrosit sayısı ve hemoglobin miktarı gibi hematolojik bileşenlerin fizyolojik kapasiteleri ile kas hücrelerinin egzersiz sırasındaki oksidatif mekanizmalarının etkinliklerine bağlıdır (69-71). Aerobik kapasite ayrıca kardiyovasküler, pulmoner ve nöromüsküler sistem kapasitelerinin önemli göstergesidir. Fizyolojik fonksiyon kapasiteleri ne kadar yüksek ise VO_{2max} değerleri o kadar fazladır (72).

Aerobik kapasitenin birim zamandaki değeri, aerobik güç olarak tanımlanmaktadır. Aerobik güç, bireyin kilogram başına, mililitre (ml) cinsinden dakikada tükettiği oksijen miktarıdır (73).

Aerobik kapasite, genellikle koşu bandı (treadmill) veya bisiklet ergometresi kullanılarak ölçölür. Uygulanan egzersiz testleri sırasında kalp atım hızı, EKG ve kan basıncı takip edilmelidir. Oksijen tüketimi artan iş yüküne paralel olarak artış gösterir. Egzersiz yoğunluğu arttığı halde, bir noktadan sonra O₂ tüketim miktarı değışiklik göstermemekte ve plato çizmektedir. Bu çizgi VO_{2max} değerini verir. VO_{2max} değerinde, kan laktat düzeyi %79-80 mg ve üzerinde, kalp atım hızı maksimal düzeyde, solunum değışim oranı da 1,07-1,15 değerinde olmalıdır (70, 71, 74).

2.5. MAKSİMAL OKSİJEN TÜKETİMİ (VO_{2max}) VE EGZERSİZDE TÜKENME

VO_{2max}, egzersiz protokolünün kademeli olarak artırılarak uygulanması sırasında erişilen, O₂ tüketiminin en yüksek olduğu değerdir (66, 74). Başka bir ifade ile vücudun egzersiz sırasında kullanabildiği en yüksek O₂ değeridir (75).

Egzersiz şiddeti ve süresi artarken O₂ tüketimi de buna paralel olarak artar. Fakat solunum ve dolaşım sistemlerinin sınırlaması nedeniyle O₂ kullanımı bir noktada sabit değerde kalır. Bu nokta VO_{2max} değeridir.

VO_{2max} değerine ulaşılmadan önce alınan O₂ miktarının ihtiyaç duyulan adenoziñtrifosfat (ATP) sentezine yetmediği bir aşamada aerobik mekanizmalara ilave olarak anaerobik mekanizmalar da devreye girer. Bu aşamaya anaerobik eşik denir. Anaerobik eşik kandaki laktat değeri ölçölerek tespit edildiğinde laktat eşik değeri olarak isimlendirilir. Normalde laktik asit birikmez. Ancak anaerobik eşik geçilip, yoğun egzersiz devam ettirildiği zaman kanda laktik asit birikir (66). Kan laktat eşik değeri, 4 mmol/L olarak kullanılmaktadır.

Laktik asit düzeyinin 4 mmol/L seviyelerini aşması, tükenmenin başlangıcını ifade eden kan parametresi olarak değerdendirilmektedir. Bu düzeylerde kişi yaklaşık olarak VO_{2max}'ının %65-70'i seviyesindedir ve anaerobik glikoliz daha yoğundur. Bu şiddetteki egzersiz yaklaşık 40 dk-1 saat kadar sürdürülebilir (76). Egzersiz şiddeti

VO_{2max}'ın %75'lerini aşarsa laktik asit hızla yükselir. Laktik asit düzeyleri VO_{2max}'ın %95'inde 14-15 mmol/L, %100'ünde 18 mmol/L'ye ulaşır.

2.6. EGZERSİZDE ENERJİ VE GLUKOZ METABOLİZMASI

2.6.1. Egzersizde Enerji

Enerji, canlı organizmalar için temel ihtiyaçtır. Bu ihtiyaç, vücudun anlık gereksinimine göre değişkenlik gösterir. Dinlenimde ve fiziksel aktivite durumlarında enerji ihtiyacı aynı değildir. Dinlenim durumunda düşük enerji ile yaşamsal fonksiyonlar devam ettirilebilirken, fiziksel aktivite halinde daha fazla enerji ihtiyacı vardır. Enerji oluşturma şekillerinin temel hedefi ATP molekülünü meydana getirmektir. Enerjinin hangi kaynaktan ve hangi yolla sağlandığı, egzersizin türüne, süresine, şiddetine ve egzersiz yapan kişinin kondisyonel durumuna göre değişir (77).

ATP-fosfokreatin sistemi hücrede enerji için gerekli ATP elde etme yollarından ilkidir. Kreatin fosfat kas kasılması sırasında ATP'nin sentezi için gerekli enerjinin ilk bir dakikalık kaynağıdır.

Glikolitik enerji sistemi hücrenin glikojenden ATP elde etmesidir. Fosforilaz enzimi glikojeni glukoz 1-fosfat (Glukoz 1-P)'a dönüştürür ve glukoz 1-P sitoplazmada pirüvik asite kadar glikolize olur. Ortamda O₂ yeterli değilse oluşan pirüvik asit laktik asite metabolize olur. Bir molekül glukozdan net iki molekül ATP sentezlenir. Pirüvat basamağında ortamda O₂ mevcutsa ATP üretimi oksidatif sistemle gerçekleştirilir. Reaksiyon glikolitik metabolizmada oluşan pirüvik asitin, mitokondriye kolaylaştırılmış transportu sonrası O₂ varlığında mitokondriyal oksidatif enzimler ile karbondioksite (CO₂) kadar yıkılması ile gerçekleşir. Bu yol ile 1 molekül glukozdan net 38 molekül ATP sentezlenir.

Egzersizin gerçekleştirilmesi esnasında enerji ağırlıklı olarak oksidatif sistemden sağlanıyorsa aerobik egzersiz, glikolitik sistemden sağlanıyorsa anaerobik egzersiz olarak isimlendirilir.

Anaerobik egzersizde hücre O_2 'den bağımsız olarak enerji ihtiyacını karşılar. Örnek olarak ağırlık kaldırma, maraton koşusu ve zıplama gibi fiziksel aktiviteler anaerobik enerji sistemini kullanır. Direnç (rezistans) egzersizleri olarak da isimlendirilen anaerobik egzersizler, kasın güçlü, ani ve hızlı bir şekilde kasılmasını gerektiren fiziksel aktivitelerdir.

Aerobik enerji sistemi anaerobik enerji sistemine göre geç devreye girer ve ATP ihtiyacına yavaş cevap verir.

Egzersizin tipine, süresine, şiddetine göre aerobik ve anaerobik enerji sistemleri devreye girer. Düşük şiddetli egzersizlerde enerji aerobik yoldan elde edilir. Düşük şiddette ve aerobik tipte egzersiz laktat birikimini engeller. Bu durum egzersizin uzun süre devam ettirilebilme avantajını sağlar. Fakat egzersiz yoğunluğu arttıkça, aerobik ve anaerobik sistemlerin ikisi birden çalışır.

2.6.2. Glukoz Metabolizması

Egzersiz boyunca kas dokusuna glukoz girişi, plazma insülin konsantrasyonu ve insülin salgılanma hızıyla ters orantılıdır. Egzersiz sırasında kas dokusunda glukoz kullanımı insüline bağımlı ve insüline bağımsız olarak 2 şekilde gerçekleşmektedir.

Hem insülin hem de egzersiz, iskelet kasında glukoz kullanımını sinerjistik olarak uyarmaktadır. Egzersiz sırasında insüline bağımlı glukoz metabolizması oksidatif olmayan yolla gerçekleşmektedir. Egzersiz yapan kasta insülin bağımlı glukoz kullanımının artmasında esterifiye olmamış yağ asitlerinin kullanımının azalması, kapiller geçirgenliğin artması ve postreseptör düzeyde insülin sinyalinde aktivasyon etkilidir (14). Ayrıca egzersiz sırasında oluşan kas kasılmaları insülin bağımsız olarak kasa glukoz alımını artırmaktadır.

Akut egzersiz sonrası kas hücresine glukoz taşınmasının arttığını gösteren çok sayıda çalışma vardır. Glukoz alımındaki artış ile orantılı olarak transvers tübüller ve

plazma membranı ilişkili glukoz taşıyıcıların sayısı, egzersiz sonrası artmaktadır (78, 79).

2.7. FARKLI FİZİKSEL EGZERSİZ TİPLERİNİN ETKİLERİ

2.7.1. Genel Etkileri

Tüm sağlıklı erişkin veya DM’li kişilerde sağlığın devamı için fiziksel aktivite veya egzersiz önerisi 30 dk/gün olacak şekilde orta dereceli aerobik aktivitedir.

250.000 orta yaşlı kadın ve erkeklerde yapılan çalışmaya göre haftanın birçok günü 30 dakika orta dereceli aerobik fiziksel aktivite yapan kişilerde mortalite riski %40 oranında azalmıştır (80). Orta dereceli aerobik aktivite; kişinin taşikardik olmasına ve nefesinin sıklaşmasına rağmen rahat bir şekilde konuşabilmesi olarak tanımlanabilir (81).

Fiziksel uygunluk üzerine sürekli ve kısa aralıklı egzersizin etkilerini araştıran birçok çalışmada her iki egzersiz türünün de kardiyovasküler form tutmada birbirine yakın oranda artış sağladığı gösterilmiştir (82-84). Murphy ve ark. (85) yaptıkları çalışmada kısa aralıklı egzersizde daha yüksek VO_{2max} değerleri bulurken, De Busk ve ark. (86) sürekli egzersizde VO_{2max} artışını daha yüksek bulmuştur.

Egzersizlerin kan glukoz düzeyine etkilerini karşılaştıran çalışmalarda çoğunlukla akut etkiler araştırılmıştır (87-90). Fakat uzun dönem etkilerini karşılaştıran çalışmalar oldukça sınırlıdır (84).

Açlık kan lipitleri üzerine de sürekli ve kısa aralıklı egzersiz tiplerinin etkilerini araştıran çalışmalar bulunmaktadır (83, 85, 91-93). Bu çalışmalar haftada yaklaşık 300-1000 kalori yaktıran 60-200 dakikalık orta şiddette egzersizin, normolipidemik kişilerde kan lipit düzeylerini değiştirmede göstermiştir. Kan lipitlerinde olumlu değişiklikler elde etmek için egzersiz ile haftada 1200-2200 kalori yakılması gerekmektedir (94).

Yapılan bir çalışmada, kısa süreli şiddetli iki egzersiz periyodunun (2×200 kcal), aynı düzeyde sürekli şiddetli egzersize (400 kcal) göre egzersiz sonrası daha fazla oksijen tüketimine neden olduğu saptanmıştır (95).

Haftada beş gün, altı aylık kısa aralıklı tempolu yürüyüşün (3×10 dk, 5 gün/hafta) fazla kilolu insanlarda arter duvarı rijiditesini azalttığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada ayrıca arter duvarı rijiditesi ile NO arasında negatif korelasyon olduğu tespit edilmiştir (96). Zhou ve ark. (97) yaptığı çalışmada 10'ar dakikalık (3×10 dk) şiddetli egzersizin sürekli egzersize göre arter duvarı rijiditesinde daha fazla azalmaya neden olduğu gözlemlemiştir. Bu etki Zheng ve arkadaşlarının yaptığı 15 dakikalık (2×15 dk) şiddetli egzersizin etkilerini gösteren çalışma ile uyumlu sonuçlar ortaya koymaktadır (98).

Egzersizin psikolojik etkilerini araştıran bir çalışmada; 16 hafta boyunca yapılan aralıklı veya sürekli aerobik egzersiz sonrasında sağlıklı kişilerde duygu durum ve öz yeterlik açısından bir fark görülmemesine karşın (82), fibromiyaljili hastalarda duygu durum açısından aralıklı veya sürekli aerobik egzersiz benzer iyileştirici sonuçlar ortaya çıkarmıştır (85, 99).

2.7.2. Oksidatif Stres Üzerine Etkileri

Egzersiz oksidatif stres düzeyinde süre ve şiddete bağlı olarak artış sağlamaktadır. Sportif aktivite süresince artan kas kontraksiyonlarından dolayı O_2 ihtiyacı artar ve ihtiyaç duyulan enerji de buna bağlı olarak yükselir.

Tüm vücut normal istirahat durumuna göre şiddetli egzersiz sırasında yaklaşık 20 kat daha fazla O_2 kullanır. Egzersize katılan kaslarda bu oran 200 kata kadar çıkabilmektedir (100). Bu durum temel enerji yolunda (mitokondrial elektron transport zincirinde) kaçaklara neden olur, bazı reaktif oksijen türlerinin (süperoksit ve hidroksil radikalleri gibi) artmasına sebep olur (101, 102). Neticede artan oksidatif stres ortaya çıkar.

Oluşan oksidatif stres düzeyleri tüm egzersiz tiplerinde aynı değildir. Bu farklılıklar egzersizin tipine, yoğunluğuna, süresine ve bireyin antrene olup olmama durumuna göre değişiklik göstermektedir. Egzersizle birlikte görülen oksidatif stres genellikle antioksidan savunma sistemlerinin güçlenmesiyle birlikte olur. Yapılan çalışmalarda, düzenli ve uzun süreli yapılan fiziksel aktivitenin oksidatif strese dayanıklılığı güçlendirdiği serbest radikal hasarını azalttığı gösterilmiştir (103, 104).

Egzersiz temelde akut ve kronik olarak süre ve şiddetine göre iki bölümde incelenebilir. Akut egzersiz antrene olmamış bireylerin tek sefer uyguladığı egzersiz programıdır. Sempatoadrenal aktivite sonucunda hipotalamo hipofizer adrenal aks çalışır ve oluşan strese yanıt verilir. Bu yanıtla sempatik sistem uyarılır; adrenokortikotropik hormon (ACTH), kortikotropin serbestleştirici faktör (CRF), kortizol ve enkefalin salgılanır. Egzersizle birlikte bu hormonlar vücutta veya aktivite halindeki kaslarda oluşan O_2 ve besin maddeleri ihtiyacını karşılamak için salgılanır.

Kronik ve düzenli egzersizin aksine akut ve tek seferlik egzersiz özellikle hormonal ve dolaşımsal boyutta olumsuz reaksiyonlara da neden olmaktadır. Örneğin kronik, orta / düşük şiddette ve düzenli egzersizin plazma kortizol seviyelerini düşürdüğü buna karşılık akut ve düzensiz egzersizin ise plazma kortizol seviyelerini anlamlı olarak yükselttiği gösterilmiştir (105).

Antrenmana bağlı olarak plazma total antioksidan kapasitesinde kısa sürede, oksidatif strese adaptasyonu gösterebilir (106). Yapılan çalışmalarda farklı egzersiz protokollerin farklı seviyede oksidatif strese neden olduğu (107-109) ve kronik antrenmanların antioksidan savunma sistemlerini geliştirdiği (110-112) ortaya konulmuştur.

Düzenli bir periyot ile belli program dahilinde uygulanan egzersiz kronik egzersizdir. Bu tip egzersiz, oksidatif strese karşı korur ve vücudun direncini artırır (103, 113). Uzun süreli yapılan düzenli aerobik egzersizin kronik hastalıklardan koruduğu bilinen bir gerçektir.

Akut şiddetli egzersiz programının tükenene kadar sürdürülmesi tüketici egzersizdir. Bu süreçte karaciğer ve kas glikojeni tükenir, kas ve yağ dokusundan yağ mobilizasyonu artar. İleri aşamalarda derin dokularda ısı bozukluğu ve dokulara O₂ dağılımı bozukluğu ortaya çıkar. Kaslarda doku hasarı tükenme aşamasına doğru artarak ortaya çıkar. Egzersizin devam ettirilmesinde bu kas hasarının en önemli engel olduğu düşünülmektedir (114).

Yüksek şiddetli egzersizle meydana gelen kas hasarı esnasında dezmin ve miyofilament ağı bozulur, Z bantları ayrılır ve protein yıkımı artar. Bu hasar aynı zamanda tamir mekanizmalarını da uyarır. Rejenerasyon periyodunda oluşan sarkomer yapıları daha güçlüdür. Bu süreç, antrene olma durumunu açıklayan bir mekanizmadır (115).

2.8. EGZERSİZ VE DİYABET

Fiziksel hareketsizliğin neden olduğu hastalıklar farklı fenotiplere sahip olmasına rağmen patojenite mekanizmaları bazı aynı temelleri paylaşmaktadır. Fiziksel hareketsizlik vücut kitle indeksinden bağımsız olarak tüm mortalite nedenlerinin risk faktörüdür (116). Fiziksel hareketsizliğin visseral yağ birikimine, sonuç olarak insülin direncine, nörodejenerasyona, ateroskleroza ve tümör büyümesine neden olan inflamatuvar yolların aktivasyonuna yol açtığı düşünülmektedir (117)

Fiziksel inaktivite, tip 2 DM, depresyon, demans, kardiyovasküler hastalık (KVH), kolon kanseri ve postmenopozal meme kanseri riskini artırmaktadır (118-123). Bunlar sık karşılaşılan kronik hastalıklar olup erken morbidite riski ile ilişkilidirler.

DM günümüzün sağlığa ilişkin en büyük sorunlarından biridir. Yalnızca kişileri değil aynı zamanda toplumu da ciddi şekilde etkilemektedir. Tip 2 DM'li hastalarda, KVH, alzheimer hastalığı, vasküler demans riskinin belirgin şekilde artmış olduğu bilinmektedir (124). Ayrıca majör depresyon prevalansının da yüksek olduğu iyi bilinmektedir (125). Buna ek olarak, tip 2 DM'li hastalarda kolon,

karaciğer, pankreas, göğüs ve endometriyal kanser riski de yüksektir (126). Hatta Pedersen (116), tip 2 DM, KVH, meme kanseri, kolon kanseri, depresyon ve demansın fiziksel inaktivite hastalıkları olduğunu öne sürmüştür.

DM tedavisinde fiziksel aktivitenin önemi uzun zamandır bilinmektedir (127). Egzersizin diyabet üzerine etkinliği çalışmaları son on yılda önemli şekilde artmıştır.

Birçok çalışma egzersiz süresince kan glukozunun insülin aracılığıyla ya da insüline gerek duymaksızın dokular tarafından kullanımının artmış olduğunu göstermiştir. Prediyabetiklerde ve DM'lilerde egzersizin kan glukoz düzeyini normal sınırlara çekilmesine olumlu etki gösterdiği açıktır. Özellikle düzenli yapılan aerobik egzersiz insülin direncini düşürerek insülin verimliliğini ve kullanımını artırmaktadır.

Kesitsel araştırmalar antrene kişilerin sedanter kişilere göre daha fazla insülin duyarlılığının olduğunu göstermiştir (128-131). Ayrıca bu araştırmalar yaşlanmanın insülin duyarlılığını azaltmasına rağmen, endurans sporu yapan yaşlı bireylerin sedanter genç bireylerden daha fazla insülin sensitif olduğunu göstermiştir (132). Antrenmanın insülin duyarlılığını nasıl geliştirdiği son yirmi yılda kapsamlı olarak araştırılmaktadır.

İnsülin duyarlılığını arttırmak için en uygun egzersiz modelinin aerobik egzersiz olduğu düşünülmektedir. Egzersiz programının şiddeti, süresi, frekansı ve egzersize katılan kas kitlesi bu cevabı değiştirebilir. Ayrıca, akut ve uzun süreli egzersiz de glukoz alımını etkileyen mekanizmalar farklıdır (133).

Sağlıklı bireylerde yapılan çalışmada tek bir egzersiz seansından sonra yapılan ölçümde tüm vücutta insülinle uyarılan glukoz alımının en az 16 saat boyunca arttığı gösterilmiştir (134, 135). Akut egzersizin OGTT'de insülin cevabını azalttığı gösterilmiştir (136). Bu durum periferik insülin duyarlılığını arttığını düşündürmüştür. Egzersiz süresine ve moduna bağlı olarak akut egzersiz etkisi değişebilmektedir (133).

Tip 2 DM ve obez olgularda iskelet kasında insülin sinyalizasyonunda bozukluklar gösterilmiştir (137, 138). İnsülin reseptör substratı-1 (IRS-1)'in fosforilasyonu ve fosfatidilinositol 3-kinazın insülin stimüle edici aktivitesi azaldığı gözlemlenmiştir. Sıçanlarda endurans egzersizinin, ERK-1 ve IRS-1'in gen ifadesini (mRNA seviyelerini) arttırdığı bulunmuştur (139). ERK1, MAP kinaz izoformudur. MAP kinaz yolu glikojen sentaz aktivitesinin regülasyonunda ve insülinin postreseptör etkileşiminde önemli rol almaktadır (140).

Tip 2 DM'li erkek ve kadın bireylerde kas kılcal yoğunluğu azalmıştır (141). Endurans egzersizi ile sağlıklı (142) ve tip 2 DM'lilerde kılcal yoğunluk artmaktadır (143).

Endurans egzersizi yapan bireylerde iskelet kaslarında GLUT4 up-regüle olmaktadır (128). Sağlıklı kişilerin iskelet kasında (144-146), BGT'li kişilerde (147) ve tip 2 DM'lilerde GLUT4 içeriğinin egzersizle arttığı gösterilmiştir (148).

2.9. SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ (SOR) VE OKSİDATİF STRES

Nötr atomda proton sayısı elektron sayısına eşittir. Bu durumda atom reaktif değildir. İyonlar elektron alan veya veren elektriksel olarak yüklü hale geçen, reaktif ve son derece kararsız yapılardır. Yüksek enerjilerinden kurtulmak için başka iyonlarla ve/veya atomlarla reaksiyona girmektedirler. Serbest radikaller de, dış orbitasında eşlenmemiş elektron içeren, organik ve inorganik kimyasallarla kolay bir şekilde tepkime oluşturabilen, hücre içinde oluştuklarında nükleik asitlerde ve diğer proteinlerde hasar oluşturan yüksek enerjili ve stabil olmayan bileşiklerdir. Eşlenmemiş elektron serbest radikallere reaktivlik kazandırması sonucu organizmada biyolojik materyallere zarar vermekte; kalp-damar hastalıkları, kanser, katarakt ve sinir sistemi dejenerasyonuna bağlı birçok hastalığa da sebep olmaktadır (149).

Serbest radikaller endojen veya ekzojen kaynaklıdır. Endojen olarak; redoks döngüleri, mitokondriyal elektron taşıma zinciri ile fagositik ve endotelial hücrelerdeki oksidatif reaksiyonlar, araşidonik asit metabolizması ile otooksidasyon

reaksiyonları esnasında ksantin oksidaz ve nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz (NADPH oksidaz) gibi enzimlerin etkisiyle oluşmaktadır. Önemli ekzojen kaynaklar ise ilaçlar, endüstriyel kirleticiler, iyonize radyasyon, diyet, sigara dumanı, ksenobiyotikler ve ultraviyole ışıktır (150).

Normal metabolizmanın sürdürülmesi, hücrelerde enerji üretimi ve bağışıklık sisteminde önemli rol oynayan nötrofil, makrofaj gibi hücrelerin savunma mekanizmaları için gerekli olan birçok reaksiyonda serbest radikaller üretilmekte ise de fazla miktarda üretildiklerinde metabolizmaya ciddi zarar verebilmektedirler (149, 151, 152).

Dışarıdan alınan besin maddelerinden, organizma içerisinde O_2 kullanılarak enerji sağlanması esnasında oluşan reaktif moleküller; oksidan moleküller, reaktif oksijen partikülleri veya SOR olarak tanımlanmaktadır. Bu moleküllerin aşırı üretimi ve/veya indirgenmelerinin yetersiz kalması, hücrelerin redoks durumlarında değişikliğe yol açmakta ve hücre makro moleküllerinin yüksek enerjili serbest radikaller tarafından okside olmasına neden olmaktadır. Aerobik organizmalarda oluşan bu moleküller protein, lipit ve DNA hasarlarına neden olan metabolik reaksiyonlara yol açmaktadırlar. Bu reaksiyonların sebep olduğu tahribatların engellenemediği ya da savunma sistemlerinin yetersiz kaldığı durumlarda, serbest radikaller organizmada artış göstererek hücre ve doku hasarları oluşturmaktadır (153).

Hücre zedelenmesinde SOR'ların rolleri iyi belirlenmiştir. Mitokondriyal solunum ve enerji üretimi esnasında üretilen, hücrenin savunma sistemleri tarafından yok edilebilen bir çeşit oksijen kaynaklı serbest radikallerdir. SOR üretimi arttığında ya da ortadan kaldırma sistemleri yetersiz kaldığında oluşan SOR fazlalığı oksidan stres denilen duruma neden olur. Hücre zedelenmesi çoğu durumda serbest radikaller tarafından gerçekleştirilir. SOR'un etkilerine örnek olarak; hücresel yaşlanma, kimyasal zedelenme, iskemi-reperfüzyon, oksijen ve diğer gazların toksisitesi, radyasyon zedelenmesi, mikroorganizmaları fagositik hücrelerin öldürmesi ve inflamatuvar hücrelerin sebep olduğu doku zedelenmesi verilebilir (38).

Serbest radikaller, doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımına yol açtığından, peroksidasyon ürünleri oluşturmakta ve sonuçta lipozomal membranların (özellikle hücre ve mitokondri) okside olması sonucu bu yapıların fiziksel ve kimyasal özelliklerini değiştirmekte, membranın iyon geçirgenliğini bozmakta ve böylece yaygın membran, organel ve hücre hasarına sebep olmaktadır.

Serbest oksijen radikalleri, lipidlerin yanı sıra kükürt içeren aminoasitler ile doymamış aminoasitlerin (triptofan, tirozin, fenilalanin, metiyonin, sistein, histidin) oksidasyonuna neden olarak proteinlerin parçalanmasına, agregasyonuna ve hücre enzimlerinin fonksiyonlarında bozulmalara neden olmaktadır. Serbest oksijen radikallerinin, nükleer ve mitokondrial DNA'daki heterosiklik bazlarla ve deoksiriboz-fosfatlarla da reaksiyon vermesi sonucunda DNA bazları modifiye olmakta, riboz-fosfat zinciri kırılmakta ve hücrelerin enerji kaybetmeleriyle nekrotik tipte hücre ölümü gerçekleşmektedir (154-156). Radikal oksijen türlerinin DNA'ya etkisi sonucunda oluşan 8-hidroksi deoksiguanozin (8-OHdG)'in plazmadaki düzeyinin yüksek bulunması, oksidatif DNA hasarının göstergesi olarak kabul edilmektedir (157).

Egzersiz oksijen tüketimini artırarak serbest radikal ve SOR üretimini arttırmaktadır (158). Oksidan stres düşük seviyede olduğunda sağlığı geliştirmesine karşılık SOR seviyesinin yükselmesi hücre hasarı tetiklemektedir (159, 160). Egzersizin arttırdığı oksidan stres hücre hasarını defans mekanizmalarını harekete geçirerek; stresle ilişkili hastalıkların sıklığını azaltmakta ve yaşlılık sürecini geciktirmektedir (115).

Yağ asitlerinin oksidasyonu metilen gruplarından hidrojen atomunun reaktif radikal tarafından koparılması ile başlamaktadır. Karbon merkezli radikal oluşuktan sonra moleküler oksijenin bağlanması sonucu lipid hidroperoksitleri oluşmaktadır. Lipid hidroperoksitleri yıkımı ile de biyoaktif aldehitler meydana gelmektedir. Bunlardan en önemlileri malondialdehit (MDA) ve 4-hidroksi nonenal'dir (161).

MDA, enzim aktivitelerinin ve membran iyon geçirgenliğinin değişmesi gibi olumsuz durumların ortaya çıkmasına sebep olabilmektedir. DNA bazları ile de çok

kolay reaksiyona girebilmektedir. Bu etkiler, MDA'ya genotoksik, mutajenik ve kanserojenik nitelik kazandırmaktadır (154, 155, 162, 163).

Serbest radikallerin direkt ölçüm zorluğu nedeniyle sebep olduğu doku hasarını göstermek için oksidatif hasar sonucu oluşan ürünler ölçülmektedir. MDA lipid peroksidasyonunun yıkım ürünüdür ve oksidatif hasarın invivo göstergesi olarak en sık ölçülen parametredir (164). Egzersize yanıtta da oksidatif stres marker olarak çoğunlukla MDA kullanılmaktadır (161).

2.10. ANTİOKSİDAN SİSTEM

Antioksidanlar; serbest radikallerin, oluşumlarını ve sebep oldukları oksidasyon olaylarını engelleyen, bunların zararlı etkilerini azaltan ve/veya yok eden maddelerdir. Antioksidanlar oksidasyonu geciktirerek ve/veya inhibe ederek, serbest radikali zayıf bir moleküle çevirerek veya bir hidrojen iyonu aktararak etkisiz hale getirdikleri bildirilmektedir (165, 166).

Antioksidanlar kaynaklarına göre endojen/ekzojen, etki mekanizmalarına göre direkt/indirekt, fonksiyonel süreçlerine göre metal bağlayan/ radikal tutucu, çözünme özelliklerine göre lipofilik/hidrofilik, etki yerlerine göre sistemik/sitozolik, kimyasal özelliklerine göre enzimatik/non-enzimatik gibi farklı birkaç şekilde sınıflandırılabilir (167, 168).

Antioksidan süreçler, en baştan SOR oluşumunu engelleyerek ve/veya endojen antioksidan savunma sistemini arttırarak ve/veya serbest radikalleri süpürerek çalışır (169).

2.10.1. Enzimatik Antioksidanlar

Süperoksit Dismutaz (SOD): Oksijeni metabolize eden bütün hücrelerde bulunur. Memeli dokularında SOD enziminin %90'ı hücre içi yerleşimli olup eritrositlerin, beyin hücrelerinin ve hepatositlerin mitokondri matrikslerinde geri kalan kısmı da hücre dışında bulunur. Dokulara göre SOD aktivitesi değişiklik

gösterir (Kalpte karaciğere göre dört kat daha az bulunur). Serbest radikallere karşı ilk tepkimeye giren SOD enzimidir. Endojen olarak üretilir ve süperoksit radikalinin hücre hasarı oluşturmalarını engeller. SOD, süperoksit radikalini H_2O_2 'ye dönüştürür ve peroksidazlar aracılığıyla da O_2 'ye indirgenmesini sağlar (170-173).

Katalaz (CAT): Eritrositlerin sitoplazmalarında, hepatositlerin mitokondrilerinde, diğer hücrelerin ise genellikle peroksizomlarında yer alır. Yapısında Fe^{+3} bulunduran 4 hem grubundan meydana gelen hemoproteindir. Kalp, iskelet kası ve beyinde az miktarlarda bulunurken, böbrek, karaciğer ve eritrositlerde fazla bulunur. CAT, H_2O_2 'yi, O_2 'ye ve suya çevirerek etkisiz hale getirir (172, 174).

Glutasyon Peroksidaz (GPx): 4 selenyum atomu içeren, tetramerik yapıda enzim olup sitozolde bulunur ve H_2O_2 'nin indirgenmesinde rol oynar (175).

Glutasyon Redüktaz: Okside glutasyonu NADPH varlığında redükte glutatyon (GSH) indirgeyen enzimdir. Etkinliğinin azalması durumunda hücrelerin oksidatif hasardan korunması azalmaktadır (175).

Glutasyon-S-Transferaz: Hücre içi H_2O_2 'nin yok edilmesinde etkilidir. H_2O_2 'yi suya çevirerek, methemoglobin oluşmasını engeller ve membran lipitlerinin hasarlanmasını önleyerek, hücre bütünlüğünün korunmasını sağlar. Dimerik yapıdadır ve hücre sitoplazmasında yer alır. Geniş spektrumlu substrat özgüllüğü olan enzimdir, birçok dokuda bulunur. Kimyasal maddelerin toksik etkilerine maruz kalınan durumlarda savunma görevi yapar. Lipit H_2O_2 'lerin indirgenmesini sağlar. Enzim aktivitesinin selenyum eksikliğinde azaldığı gösterilmiştir (11, 166, 176).

2.10.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

Enzimatik olmayan antioksidanlar düşük molekül ağırlığına sahiptirler ve okside olarak başka substratın oksidasyonunu geciktiren veya önleyen antioksidanlardır. Endojen (glutasyon, lipoik asit vb) olabildikleri gibi ekzojen (askorbik asit, karotenoidler ve polifenoller vb) olarak da alınabilmektedirler (171, 177).

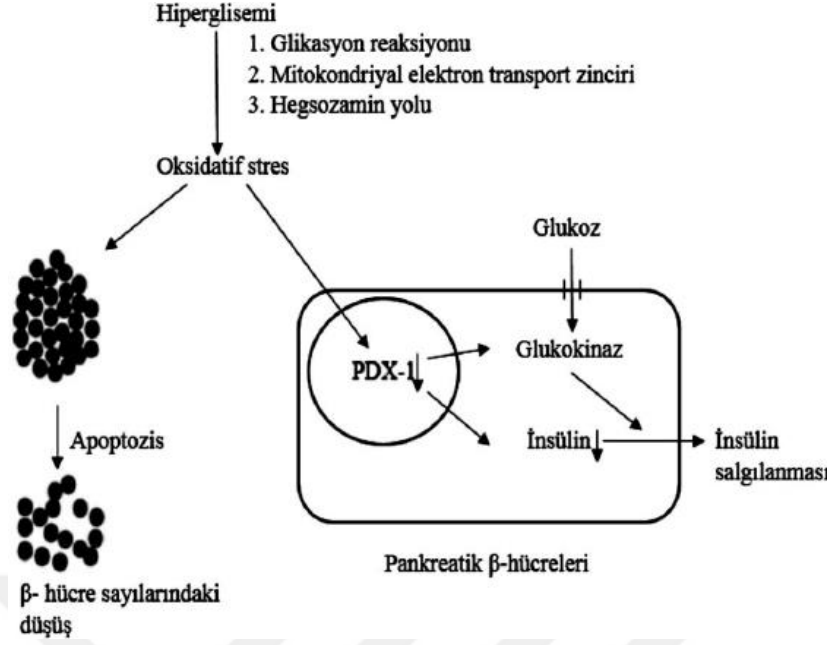
2.11. DİYABETES MELLİTUS VE OKSİDATİF STRES

Oksidan ve antioksidan sistemleri normal organizmada denge halindedir ve bu olay oksidatif denge olarak isimlendirilmektedir. Oksidatif dengenin amacı serbest radikallerin zararlı etkilerinden korunmaktır. Oksidanlar lehine denge bozulduğunda oksidatif stres durumundan söz edilir (178). Başka ifadeyle denge üzerine kurulu prooksidan/antioksidan sistemin prooksidan tarafına kayması ile ortaya çıkan duruma oksidatif stres denilir (179). Oksidatif stres; antioksidan savunma mekanizması ile serbest radikal oluşumu arasındaki dengesizliği tanımlar ve sonuçta doku hasarına yol açar (180).

DM'de antioksidan üretiminin azaldığı buna karşılık serbest radikal oluşumunun arttığı belirtilmiştir. Bu olay DM'nin önemli komplikasyonu olarak kabul edilmektedir (181).

Çalışmalarda diyabetin eritrosit zar lipitlerinde, plazma lipoproteinlerinde ve çeşitli dokularda lipit peroksidasyonunu arttırdığı gösterilmiştir (182, 183). Her iki DM türünde (tip1-tip 2), protein oksidasyonunda da artış görülmektedir (184, 185). Lipit peroksidasyonu sonucu meydana gelen membran hasarı kolaylıkla geri dönüşümsüz noktaya ulaşabilir ve oldukça zararlıdır. Lipit peroksidasyon ürünlerinden MDA zar bileşenlerinin çapraz bağlanmasına, polimerizasyonuna neden olur. Bu durum zarda; deformasyon, iyon transportu hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu ve enzim aktivitesi gibi değişiklikler yapar (186-188).

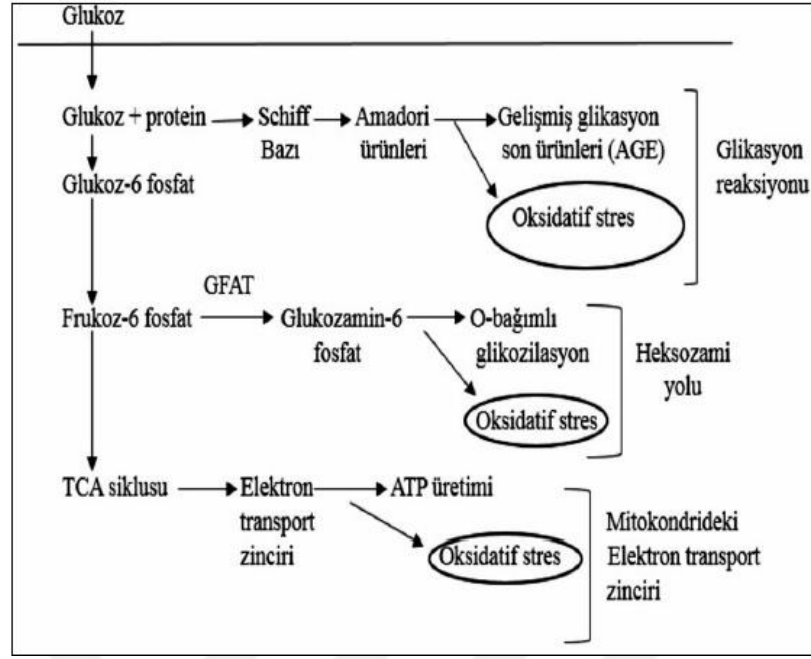
β hücrelerinin insülin gen ekspresyonunun oksidatif strese maruz kalmaları sonucunda değişmektedir. Bunun nedeninin oksidatif stres sonucu karbonhidrat metabolizması için önemli olan glikokinaz ve insülin gibi enzimlerin ve hormonların gen ekspresyonlarını uyaran transkripsiyon faktörü Pankreatic ve Duodenal Homebox 1'in (PDX-1) DNA'ya bağlanma potansiyelindeki azalma olduğu belirtilmektedir (189) (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Diyabette glukoz toksisitesine ilişkin olarak gelişen oksidatif stresin beta hücrelerindeki moleküler mekanizması (190, 191)

Oksidatif stresin artması sonucu oluşan diyabetik komplikasyonlar; protein kinaz C yolunun etkilenmesi, transkripsiyon etmenlerinin aktivasyonu, ileri düzeyde glukozile son ürünlerin artışı ile ilişkilidir (181). Glikasyon reaksiyonları bu mekanizmaları etkileyen serbest oksijen metabolitlerinin kaynakları arasındadır (190).

Serbest radikaller protein glikasyonunun dışında, hekzoamin yolunda ve elektron transport sisteminde de oluşabilmektedir (Şekil 2.2). Ayrıca, DM’li hastalarda oksidatif stresin artması ile artan superoksit radikalleri ile birleşen NO daha reaktif peroksinitrit radikalinin oluşumuna neden olmaktadır ve DM komplikasyonlarının oluşmasında da rol oynamaktadır (189).



Şekil 2.2. Hiperglisemide temel oksidatif stres kaynağı olan mekanizmalar (190, 191)

Kronik dönemde görülen DM komplikasyonlarını oluşturan sebeplerin; serbest radikallerle oluşan protein glikasyonu, otooksidatif glukozillenme ve glukoz otooksidasyonu sonucunda oluşan doku hasarları olduğu belirtilmektedir (178).

DM’de metabolik stres enerji metabolizmasındaki değişiklikler sonucunda oluşur. Metabolik stres oksidatif stresi artırır, hücrel süreçlere olumsuz etki göstererek kronik dönem komplikasyonların alt yapısını oluşturur. Ayrıca DM’de E ve C vitamini seviyelerinin ve kan antioksidan seviyesinin düştüğüne dair çalışmalar bulunmaktadır (192, 193). Aynı zamanda DM’de enzimatik antioksidanlardan süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) seviyelerinin de azalmış olduğu gösterilmiştir (193, 194).

DM’de SOR üretimi üç mekanizma ile açıklanmaktadır:

1- Glukozun Oto-oksidasyonu:

Glukozun yüksek olduğu ortamlarda glukoz geçiş elementleri aracılığı ile reaktif süperoksit anyonuna ve ketoaldehitlere çevrilir. Bu reaksiyonların sonunda

süperoksit radikali hidrojen peroksit (H_2O_2) üzerinden hidroksil radikalini oluşturur. Hidroksil radikalının reaktif özelliği yüksektir. Reaksiyonlar sonucunda nikotinamid adenin dinükleotit (NADH) açığa çıkar, oluşan NADH solunum zincirinde kullanılır ve ATP üretimi için gereken enerji oksidatif fosforilasyon ile sağlanır. Sonuçta süperoksit radikal üretiminin hücre içi glukoz konsantrasyonu yükseldiğinde bu yolla arttığı düşünülmektedir. Bu konuda son yıllarda yapılan çalışmalar, DM’de birçok patolojinin artan SOR üretimi ile ilgili olduğunu göstermektedir (195, 196).

2- Protein glikasyonu ve ileri glikasyon son ürünleri (AGE) oluşumu:

Glukoz konsantrasyonu arttığında, glukoz enzim aracılığına ihtiyaç olmadan glikasyon sürecini proteinlere bağlanarak başlatır. Bu proteinler SOR’u kolaylıkla üretebilirler. Moleküler oksijene elektron vererek glikasyona uğrayan protein SOR oluşturabilir. Burada rol oynayan glikasyon reaksiyonları non-enzimatiktir. Önce Schiff bazları daha sonra Amadori ürünleri meydana gelir. Amadori ürünleri Schiff bazlarına göre daha karardır. Son aşamada Amadori ürünlerinden AGE oluşur. AGE’ler endotelin-1 aracılığıyla vazokonstriksiyonu artırır. Daha sonraki aşamalarda toksik etkilerini serbest radikal üretimini artırarak, endotel hasarına yol açarak ve proteinlerin yapısını, fonksiyonlarını değiştirerek gösterirler (35).

3- Poliöl yolu:

Poliöl yolu kanda glukoz konsantrasyonu arttığı zaman ortaya çıkan bir diğer mekanizmadır ve sorbitol üretimi bu yol aracılığı ile oluşur. Aldoz redüktaz enzimi NADPH aracılığıyla aktive edilir. Sonuç olarak hücre içi NADPH tüketilir. NADPH, NO sentezlenmesinde ve okside glutatyonun redükte edilmesinde kullanılır. NADPH depoları o aşamaya kadar tükendiğinden dolayı bu aşamalar gerçekleşemez. Bu durumun sonucu olarak hücredeki antioksidan kapasite sınırlanır (181).

Vazodilatör etkili NO sentezi ve redükte glutatyon azalması sonucu vasküler komplikasyonların ortaya çıkış hızı da artar (197). Sorbitolün kendisinin de toksik etki göstermesinden dolayı bazı hastalıkların (nefropati, retinopati, katarakt, nöropati, kalp hastalığı) patogeneğinde etkili olduğu düşünülmektedir (35).

Vazodilatatör madde kaybı endonöronal hipoksi yapması sonucunda nöron ve Schwann hücrelerinde hasar meydana getirir (198, 199).

DM’de kronik olarak kan glukoz düzeyinin yüksek seyretmesi neticesinde görülen tüm bu bulgular oksidatif stresin artabileceğini göstermektedir.

2.12. EGZERSİZ, OKSİDATİF STRES VE DİYABETES MELLİTUS İLİŞKİSİ

Egzersiz vücudun O₂ kullanımında anlamlı bir artışa yol açar. Bu yüzden istirahat durumu ile karşılaştırıldığında oksidatif stresi artırdığı bilinmektedir. Yapılan çalışmalarla düzenli kronik egzersiz programlarının antioksidan sistemi güçlendirdiği, oksidatif hasara karşı organizmayı daha dirençli bir duruma getirdiği gösterilmiştir (200). DM ise başlı başına bir oksidatif stres kaynağıdır. Egzersiz ve DM’nin bir araya gelmesiyle oluşan oksidatif stres soru işaretidir. Ancak yapılan araştırmalar sonucunda DM korunmasında ve tedavisinde düzenli aerobik egzersiz yerini almıştır (201). Yine de egzersiz / DM / oksidatif stres ilişkisini çok parametrelili ve çok yönlü şekilde gösteren araştırmaların sayısı azdır ve konu araştırmaya açıktır.

1996’da bu ilişkiyi ortaya koyan bir çalışma yapılmıştır. Laaksonen ve ark. (202) tip 1 DM’li hastalarda lipid peroksidasyonunu ürünü olan tiobarbituric acid (TBARS) düzeylerine egzersiz öncesi ve sonrası bakmışlardır. Sonuç olarak; tip 1 DM’li hastalarda fiziksel egzersizin oksidatif stresten koruduğunu göstermişlerdir.

DM oluşturulmuş sıçanlarla yapılan başka çalışmada, egzersiz sonucunda vastus lateralis kasında TBARS seviyelerinin azaldığı ve gastrokneimus kasında glutatyon peroksidaz (GPx) düzeyinin arttığı bulunmuştur (203).

2.13. AKUT SIKINTILI SOLUNUM SENDROMU (ARDS)

ARDS inflamasyon sonucunda alveoler kapiller geçirgenlik artışının neden olduğu ileri derece de hipoksi ve akciğerlerde yaygın infiltrasyon ile karakterize O₂ tedavisine yanıtız, hızlı gelişen ve kardiyojenik olmayan akut solunum yetmezliği

sendromudur. Travma, sepsis, pnömoni, kardiyopulmoner bypass, yanıklar, pankreatit ve çoklu nakiller en önemli risk faktörleridir.

Akut akciğer hasarı; primer (pulmoner) ve sekonder (ekstra-pulmoner) olarak sınıflandırılır. Primer sebepler arasında genel olarak pnömoni, pulmoner duman ve toksik gaz inhalasyonu, tromboemboli bulunurken, sekonder sebepler arasında akciğer dışı enfeksiyonlar, sepsis, travma, ilaç toksisiteleri, pankreatit ve kan transfüzyonları bulunur (204, 205).

İmmünyüpresyon, DM, kronik böbrek yetmezliği, kalp yetmezliği ve koroner arter hastalığı gibi kronik hastalıkların varlığı kötü prognoz ile ilişkilidir (205)

ARDS oksidatif stresin arttığı ve SOR'un salındığı patolojik olaylar olup yüksek morbidite-mortalite oranına sahiptir. ARDS tedavisinde birçok farmakolojik tedavi denenmiş olmasına rağmen mortalite oranı değişmemiştir. Akut akciğer hasar oluşumu engellenebilir veya tedavi edilebilirse ARDS mortalite oranının azalması beklenebilir.

2.13.1. Patogenez

Yoğun inflamasyon sonucunda görülen yaygın alveoler hasara bağlı olarak ARDS'deki klinik tablo ortaya çıkmaktadır. İnflamasyon; TNF- α , IL-1'in etkisiyle başlar ve IL-6, IL-8 gibi proinflamatuvar sitokinlerin etkisiyle alveole nötrofil göçüyle devam eder. Lökositler tarafından oluşturulan SOR ile proteazların salgılanması sonucunda kapiller ve alveol epitelinde hasar meydana gelir. Böylece alveoler ödeme karşı görev yapan bariyer ortadan kalkmış olur ve kapiller geçirgenlikte artış görülür. Vasküler alandan interstisyuma protein sızar ve geri emilimi sağlayan ozmotik denge bozulur. Alveol boşlukları debristen ve proteinden zengin sıvı ile dolar. Tip 2 pnömositlerde meydana gelen hasar sonucunda sürfaktan yapımı azalır, sürfaktan fonksiyonları ve yapısı bozulur. Sonuç olarak alveoller kollabe olur. Fizyolojik şantta ve ventilasyon perfüzyon oranında bozulma sonucu hipoksemi gelişir, ayrıca fizyolojik ölü boşluk solunumunda artmaya bağlı hiperkarbi gelişir. Erken dönemde

interstisyel ödeme, eksudasyona ve geç dönemde yaygın interstisyel fibrozise baēlı olarak akciēer kompliyansında azalma ve havayolu rezistansında artış görülür.



3. GEREÇ ve YÖNTEM

Sunulan tez Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinatörlüğü tarafından 17L0230013 Nolu “Deneysel Tip 1 Diyabetes Mellitus’ta Aerobik Egzersizin Lipopolisakkarit ile Hasar Oluşturulmuş Sıçan Akciğerleri Üzerine Etkisi.” başlıklı lisansüstü tez projesi olarak desteklenmiştir.

3.1. ETİK YAKLAŞIM

Çalışma Ankara Üniversitesi (A.Ü.) Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul’undan alınan 15/02/2017 tarih ve 2017-4-25 karar numaralı etik kurul onayı ile gerçekleştirilmiştir (Ek 1). Deney hayvanları T.C. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı tarafından hayvan barındırma ruhsatı verilen deney hayvanı bakım ünitesinde, hayvan refahını gözetecek ve uluslararası etik kurallara uygun şekilde barındırılmıştır.

3.2. DENEY HAYVANLARI

Çalışmada, A.Ü. Tıp Fakültesi Deney Hayvanı Yetiştirme ve Temini Laboratuvarı’nda üretilen 48 adet, 10 haftalık, erkek Wistar Albino türü (*Rattus norvegicus*) sıçanlar kullanıldı. Hayvanlar, deneyler başlamadan iki hafta önce A.Ü Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı’nda egzersiz programının uygulanacağı laboratuvara getirilerek laboratuvara adapte olmaları sağlandı. Hayvanlar 12 saat aydınlık/karanlık döngüsünde, 22-24°C sıcaklık ve %50-55’lik bağıl nemli ortamda barındırıldı. Standart sıçan yemi ve musluk suyuna *ad libitum* erişimleri sağlandı. Laboratuvara adaptasyon dönemini takiben hayvanlar rastgele gruplara ayrıldı:

A. Sedanter gruplar

1. Kontrol grubu (K, n=6)
2. Akciğer hasarı grubu (AH, n=6)
3. Diyabetes Mellitus grubu (DM, n=6)
4. Akciğer hasarı+Diyabetes Mellitus grubu (AH+DM, n=6)

B. Antrene gruplar

1. Kontrol grubu (K, n=6)
2. Akciğer hasarı grubu (AH, n=6)
3. Diyabetes Mellitus grubu (DM, n=6)
4. Akciğer hasarı+Diyabetes Mellitus grubu (AH+DM, n=6)

3.3. DENEYSEL TİP 1 DİYABET OLUŞTURULMASI

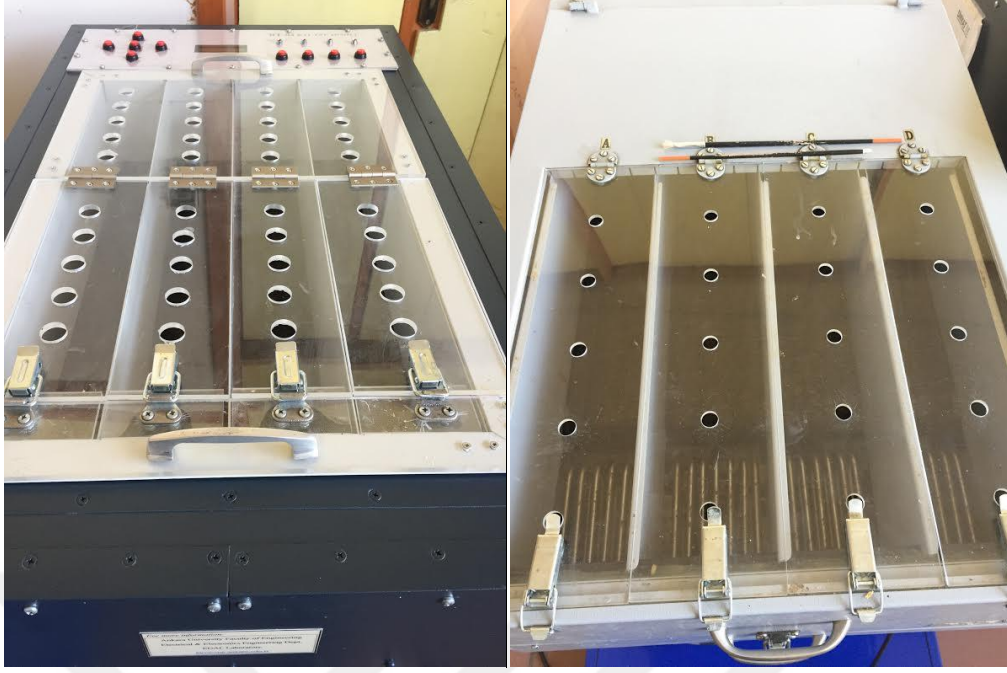
DeneySEL Tip 1 DM oluşturmak için 11 haftalık hayvanlara tek doz (50 mg/kg) STZ intraperitoneal (i.p.) olarak enjekte edildi. Enjeksiyondan sonraki 1., 3. ve 7. günde kan glukoz düzeyleri ölçülerek 250 mg/dL ve üstü değerlere sahip sıçanlar DM kabul edilerek çalışmaya alındı. Deney boyunca haftalık glukoz ölçümleri yapıldı.

3.4. ANTRENMAN PROGRAMI

Antrene gruplardaki hayvanlar bir hafta süresince antrenman programına adapte edildi (Tablo 3.1). 12. haftadan itibaren antrene gruplarda bulunan hayvanlara belirlenen bireysel egzersiz protokolüne göre 12 hafta süresince antrenman yaptırıldı. Sedanter gruplardaki hayvanlar ise bu süre boyunca kafeslerinde bekletildi. Antrenman protokolü, A.Ü Mühendislik Fakültesi Elektronik Mühendisliği Bölümü tarafından imal edilmiş olan hız, eğim ve ceza kontrolüne olanak veren küçük deney hayvanı koşu bandında 09.00-15.00 saatleri arasında gerçekleştirildi (Şekil 3.1).

Tablo 3.1. Antrene gruplardaki hayvanlara uygulanan bir haftalık adaptasyon protokolü.

Gün	Hız (metre/dakika)	Eğim (°)	Süre (dakika)
1	5	0	5
	8	0	5
	8	2	5
2	5	0	5
	8	0	5
	8	2	5
	11	2	5
	11	4	5
3	5	0	5
	8	0	5
	8	2	5
	11	2	5
	11	4	5
	14	4	5
4	14	6	5
	5	0	5
	8	0	5
	8	2	5
	11	2	5
	11	4	5
	14	4	5
	14	6	5
5	14	8	10
	5	0	5
	8	0	5
	8	2	5
	11	2	5
	11	4	5
	14	4	5
	14	6	5
	14	8	10
6	14	10	10
	5	0	5
	8	0	5
	8	2	5
	11	2	5
	11	4	5
	14	4	5
	14	6	5
	14	8	10
	14	10	15



Şekil 3.1. Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Elektronik Mühendisliği Bölümü tarafından imal edilmiş olan hız, eğim ve ceza kontrolüne olanak veren küçük deney hayvanı koşu bandları

Uygulanacak antrenman protokolünün belirlenmesi için hayvanlara 0., 3., 6. ve 9. haftalarda artımlı yük testi uygulanarak VO_{2max} 'a karşılık geldiği öngörülen maksimum iş yükü değerleri belirlendi. Her hayvan için maksimum iş yükünün %70'i (%70 VO_{2max}) ayrı ayrı hesaplandı. Üçer hafta ara (0.,3.,6.,9.) ile iş yükleri hesaplanarak, karşılık gelen hız ve eğimde, 12 hafta boyunca, haftada beş gün, günde 45 dakika egzersiz yaptırıldı. Hayvanlar belirlenen hedef hız ve eğime ulaşmadan önce ısınma (7,5 dakika) ve hedef hız ve eğimde yapılan antrenman tamamlandıktan sonra soğuma (7,5 dakika) dönemine alındılar (Tablo 3.2).

Tablo 3.2. Maksimal iş yükü değeri 50m/dk ve 10° eğim olan bir hayvan için örnek günlük antrenman programı: Antrenman programı, haftada beş gün, (iki gün egzersiz-bir gün dinlenme; üç gün egzersiz-bir gün dinlenme olacak şekilde) 12 hafta boyunca uygulanmıştır.

	Hız (metre/dakika)	Eğim (°)	Süre (dakika)
ISINMA DÖNEMİ	5	0	30 saniye
	8	0	30 saniye
	8	2	30 saniye
	11	2	30 saniye
	11	4	30 saniye
	14	4	30 saniye
	14	6	30 saniye
	14	8	30 saniye
	14	10	30 saniye
	17	10	30 saniye
	20	10	30 saniye
	23	10	30 saniye
	26	10	30 saniye
	29	10	30 saniye
	32	10	30 saniye
HEDEF ANTRENMAN	35	10	45 dakika
SOĞUMA DÖNEMİ	32	10	30 saniye
	29	10	30 saniye
	26	10	30 saniye
	23	10	30 saniye
	20	10	30 saniye
	17	10	30 saniye
	14	10	30 saniye
	14	8	30 saniye
	14	6	30 saniye
	14	4	30 saniye
	11	4	30 saniye
	11	2	30 saniye
	8	2	30 saniye
	8	0	30 saniye
	5	0	30 saniye

3.5. ARTIMLI YÜK TESTİ

Hayvanlar koşu bandında düşük iş yükünde (5 m/dk hız ve 0° eğim) koşturulmaya başlandı. Her 3 dakikada bir, hız 3 m/dk ve/veya eğim 2° artırıldı (206). Sıçanların koşuya devam edemediği iş yükü maksimum iş yükü olarak kabul edildi (Tablo 3.3).

Tablo 3.3. Artımlı yük testi tablosu: 0., 3., 6. ve 9. haftalarda uygulanmıştır. Hayvanın elektrik cezasına rağmen koşmadığı hız maksimum iş yükü olarak kabul edilmiştir.

Hız (metre/dakika)	Eğim (°)	Süre (dakika)
5	0	3
8	0	3
8	2	3
11	2	3
11	4	3
14	4	3
14	6	3
14	8	3
14	10	3
17	10	3
20	10	3
23	10	3
26	10	3
29	10	3
32	10	3
35	10	3
38	10	3
41	10	3
44	10	3
47	10	3
50	10	3
53	10	3
56	10	3
59	10	3
62	10	3
65	10	3
68	10	3

3.6. AKUT AKCİĞER HASARI OLUŞTURULMASI

Antrenman programının bitiminden 24 saat sonra akciğer hasarı gruplarında yer alan hayvanlara steril koşullarda ve anestezi altında (90 mg/kg Ketamin + 10 mg/kg Xylazine i.p.) trakeostomi yapıldı. İntratrakeal yoldan LPS (Lipopolysaccharides from Escherichia coli O55:B5; L2880; Sigma Aldrich St.

Louis, Missouri, ABD) 100 µg/100g canlı ağırlık dozunda verildi (207). Ardından trakeostomi ipek sütür ile kapatıldı.

3.7. BİYOLOJİK MATERYALLERİN TEMİNİ

Akciğer hasarı gruplarında intratrakeal LPS uygulamasından 24 saat sonra, diğer gruplarda son egzersizden 48 saat sonra hayvanlara anestezi (90 mg/kg Ketamin + 10 mg/kg Xylazine i.p.) uygulandı. Usulüne uygun olarak karotis arterinden kan gazları, asit-baz dengesi belirteçleri ve elektrolitlerin tayini için heparinize edilmiş enjektör ile birer ml kan örneği alındı. Ardından sol akciğer ve diyafram çıkartıldı, biyokimyasal analizler için sıvı azotta dondurularak -80°C'de derin dondurucuda saklandı. Sağ akciğer dokusu histopatolojik ve apoptozis incelemeleri için tamponlu formalin ve gluteraldehit solüsyonları içerisinde saklandı.

3.8. ARTER KANI ÖLÇÜMLERİ

Karotis arterinden alınan heparinize edilmiş kan örnekleri kan gazı ölçüm cihazına (Radiometer, ABL80 Serisi Kartuşlu Kan Gazı Analizörü Kopenhag, Danimarka) yüklenerek pH, karbondioksit parsiyel basıncı (pCO₂), oksijen parsiyel basıncı (pO₂), hemotokrit (Hct), sodyum konsantrasyonu (cNa⁺), potasyum konsantrasyonu (cK⁺), kalsiyum konsantrasyonu (cCa²⁺), klor konsantrasyonu (cCl⁻), hemoglobin konsantrasyonu (ctHb), aktüel bikarbonat [cHCO₃⁻(P)], standart bikarbonat [cHCO₃⁻(P,st)], aktüel baz fazlalığı [cBaz (B)], standart baz fazlalığı [cBaz(Ecf)], karbondioksit konsantrasyonu [ctCO₂(B)], oksijen satürasyonu (saO₂) ve oksijen konsantrasyonu (ctO₂) parametreleri ölçüldü.

3.9. DOKU HOMOJENİZASYONU

Donmuş sol akciğer dokuları çözülerek tartıldı. Sıvı azot içerisinde porselen tokmak ve havan yardımı ile parçalandı. Gram doku başına 5 ml homojenizasyon tamponu eklendi. Homojenizasyon tamponu olarak PBS (Phosphate Buffered Saline) tablet (P4417-100TAB Sigma Aldrich, St. Louis, Missouri, ABD) çözeltisi kullanıldı. Tampon içerisindeki doku parçaları teflon uçlu homojenizatör (Glas-Col

LLC, Homogenizer; IN, ABD) yardımıyla daha ince parçalanma gerçekleştirildi. Elde edilen homojenizat içerisindeki hücrelerin membranlarının parçalanması için ultrasonik yöntem olarak sonikatör (Fisher Scientific Sonic Dismembrator 550 New Hampshire, ABD) cihazından yararlanıldı (4 nolu kademedeki, 3 dakika boyunca 10 saniye atım, 5 saniye bekleme döngüleri halinde uygulandı). Ardından +4°C’de 5000g’ye karşılık gelen devirde, soğutmalı ultrasantrifüj ile 5 dakika boyunca santrifüj edildi. Elde edilen süpernatant ELISA ve kolorimetrik ölçümlerde kullanılmak üzere -80°C’de saklandı. Homojenizatların protein konsantrasyonları Bradford metodu ile ölçüldü.

3.10. MALONDİALDEHİT (MDA) ÖLÇÜMÜ

Elde edilmiş olan doku homojenizatlarında MDA konsantrasyonunun tayini için üreticinin talimatları takip edilerek (MDA ELISA Kit Elabscience E-EL-0060; Houston Texas, ABD) ELISA yöntemi uygulandı. Plağa yüklenen örneklerin 450 nm dalga boyundaki absorbans değerleri spektrofotometre yardımıyla ölçüldü. Örneklerden ve standart çözeltiden elde edilen absorbans ölçümleri birlikte değerlendirilerek, örneklerin konsantrasyon değerlerine ulaşıldı. Elde edilen konsantrasyon değerleri örneğin protein konsantrasyonuna bölünerek normalize edildi. MDA konsantrasyonları nmol/mg protein cinsinden ifade edildi.

3.11. 8-HİDROKSİDEOKSİGUANOZİN (8-OHdG) ÖLÇÜMÜ

Elde edilmiş doku homojenizatlarında 8-OHdG konsantrasyonunun tayini için üreticinin talimatları takip edilerek (8-OHdG ELISA Kit Elabscience E-EL-0028; Houston Texas, ABD) ELISA yöntemi uygulandı. Plağa yüklenen örneklerin 450 nm dalga boyundaki absorbans değerleri spektrofotometre yardımıyla ölçüldü. Örneklerden ve standart çözeltiden elde edilen absorbans ölçümleri birlikte değerlendirilerek örneklerin konsantrasyon değerlerine ulaşıldı. Elde edilen konsantrasyon değerleri örneğin protein konsantrasyonuna bölünerek normalize edildi. 8-OHdG konsantrasyonları nmol/mg protein cinsinden ifade edildi.

3.12. REDOKS STATUS ÖLÇÜMLERİ

Akciğer dokusu homojenizatlarında total oksidan status (TOS) ve total antioksidan status (TAS) ölçümleri yapıldı. Oksidatif stres indeksi (OSİ) hesaplandı. Ölçümlerde üreticinin talimatnamesi takip edildi (Rel Assay Diagnostics, Gaziantep, Türkiye).

3.12.1. Total Oksidan Status (TOS) Ölçümü

Mikroplakların her bir kuyucuğuna 37,5 µl örnek veya standart (10 µmol H₂O₂ Equiv/L) eklendi. Üzerlerine 250 µl reaktif 1 (R1) maddesi ilavesini takiben 30 saniye beklenildi ve 530 nm dalga boyunda birinci absorbans değeri (A1) ölçüldü. Takiben 12,5 µl reaktif 2 (R2) maddesi eklenilerek plak 37°C’de beş dakika inkübe edildi. İnkübasyonun ardından 530 nm dalga boyunda ikinci absorbans değeri (A2) ölçüldü. Aşağıdaki formül kullanılarak TOS µmol/L cinsinden hesaplandı:

$$\Delta \text{ Abs Örnek veya Standart} = A2 - A1$$

$$\text{Standart Konsantrasyonu} = 10 \text{ µmol/L}$$

$$\text{Sonuç} = \frac{(\Delta \text{ Abs Örnek})}{(\Delta \text{ Abs Standart})} \times \text{Standart Konsantrasyonu}$$

Kitin doğru çalışıp çalışmadığını anlamak için kalite kontrol 1 (QC1) ve kalite kontrol 2 (QC2) maddeleri örnek gibi yüklendi. Sonuçlar beklenen konsantrasyon aralığında bulundu.

Örneklerin TOS değerleri aynı örneğin protein konsantrasyonuna bölünerek normalize edildi. “10⁻³ µmol H₂O₂ Equiv. / mg protein” birimi ile ifade edildi

3.12.2. Total Antioksidan Status (TAS) Ölçümü

Mikroplakların her bir kuyucuğuna 15 µl örnek veya standart (1 mmol/L Trolox Equiv/L) eklendi. Üzerlerine 250 µl R1 maddesi ilave edilmiştir. 30 saniye

beklenilerek 660 nm dalga boyunda A1 ölçüldü. Takiben 37,5 µl R2 maddesi eklenilerek plak 37°C’de 5 dakika inkübe edildi. İnkübasyonun ardından 660 nm dalga boyunda A2 ölçüldü. Aşağıdaki formül kullanılarak TAS mmol/L cinsinden hesaplandı:

$$\Delta \text{ Abs Örnek veya Standart} = A2-A1$$

$$\text{Sonuç} = \frac{[(\Delta \text{Abs H}_2\text{O}) - (\Delta \text{Abs Örnek})]}{[(\Delta \text{Abs H}_2\text{O}) - (\Delta \text{Abs Standart})]}$$

Kitin doğru çalışıp çalışmadığını anlamak için QC1 ve QC2 maddeleri örnek gibi yüklendi. Sonuçlar beklenen konsantrasyon aralığında bulundu.

Örneklerin TAS değerleri aynı örneğin protein konsantrasyonuna bölünerek normalize edildi. “10⁻³ mmol Trolox Equiv. / mg protein” birimi ile ifade edildi.

3.12.3. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) Hesaplanması

Her denek için ölçülen TOS değeri TAS değerine bölünerek OSİ değeri elde edildi.

$$\text{Oksidatif Stres İndeksi} = \frac{\text{Total Oksidan Status}}{\text{Total Antioksidan Status}} \times 100$$

3.13. HİSTOLOJİK İNCELEMELER

3.13.1. Işık Mikroskopik (IM) İncelemeler İçin Yapılan Çalışmalar

Kontrol ve çalışma gruplarından alınan akciğer dokusu örnekleri tespit amacıyla %10’luk fosfat tamponlu formalin solüsyonunda 24-72 saat süreyle fikse edildi. Fikse olan akciğer örnekleri akan su altında yıkandıktan sonra dereceli alkollerden geçirilerek (%70, %80, %90 ve %100) dehidratasyon işlemleri tamamlandı. Ksilene alınan doku örnekleri şeffaflandıktan sonra 60 °C’lik etüvde sıvı parafinle 3 saat inkübe edildi ve parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan

sliding mikrotom (Leica RM 2125RT) ile 4 µm kalınlığında kesitler alındı ve ışık mikroskobu incelemesi için Hematoksilen-Eozin (HE) ve Mallory Azan (MA) ile boyandı.

Hematoksilen-Eozin boyaması için bir gece etüvde bekletilen kesitler, deparafinizasyon işlemi için 30 dakika ksilende bekletildi. Deparafinizasyon işlemi tamamlandıktan sonra kesitler sırasıyla %100, %96 ve %75'lik dereceli alkollerde iki dakika bekletildikten sonra distile suya alındı. Alkollerden tamamen kurtulan kesitler hematoksilen boyası ile iki dakika boyandıktan sonra çeşme suyuna alınarak artık boyaların dokunun üzerinden uzaklaştırılması sağlandı. Ardından eozin solüsyonuna alınan kesitler bir dakika boyandıktan sonra yeniden suya alınarak yıkama işlemi gerçekleştirildi. Boyama işlemi tamamlandıktan sonra kesitler dereceli alkollerden geçirildi ve ksilende 20 dakika bekletildikten sonra entellan kullanılarak lamelle kapatıldı.

Mallory Azan (MA) boyaması için; kesitler deparafinizasyon işleminden sonra hidratasyon işlemi için dereceli alkollerden (%100, %96 ve %75) geçirildi ve çeşme suyunda yıkandı. Daha sonra kesitler 60°C etüvde bir saat boyunca %0,1 Azokarmin G solüsyonu içinde bekletildi. Fazla boya yıkanarak %1 anilin alkol solüsyonu içinde farklandırma işlemini takiben %1 asetik alkolde durulama işlemi yapıldı. %5'lik fosfotungustik asitle mordanlama işlemi gerçekleştirildikten sonra kesitler suda yıkandı ve %0,25 anilin mavisi ile %1 Orange G solüsyonundan oluşan karışım ile 60 dakika boyunca boyandı. Boyama işleminden sonra çeşme suyunda yıkanan kesitler, sırasıyla %75, %96 ve %100 etanol serisi ile dehidratasyon işlemini takiben ksilen ile şeffaflandırıldıktan sonra entellan kullanarak lamelle kapatıldı ve ışık mikroskobu ile incelemeye hazır hale getirildi.

Boyanan preparatlar, ışık mikroskobuyla (Zeiss Axio Scope A1) incelendi ve fotoğraflandı. Hematoksilen eozin (HE) boyalı kesitlerde inflamasyon derecesini belirlemek için makrofaj birikimi, hemoraji, perivasküler ödem ve alveolar septal kalınlaşma için 0 (yok) dan 4 (şiddetli)'e kadar (Skor 0: -, Skor 1: +/-, Skor 2: +, Skor 3: ++, Skor 4: ++++) bir skorumlama sistemi kullanıldı (208). MA ile boyalı kesitler üzerinde pulmoner fibrosis şiddetini belirlemek için modifiye edilen Ashcroft

skorlaması kullanılarak benzer şekilde 0 ile 4 değerleri arasında fibrosis skorlaması yapıldı (209).

3.13.2. İmmünohistokimyasal İncelemeler İçin Yapılan Çalışmalar

Rutin takip işlemlerinden sonra sert parafin bloklara gömülen akciğer dokularından 4 µm kalınlığında alınan kesitler poli-L- lizin kaplı lamalar üzerine alındı ve gece boyunca 60°C’lik etüvde deparafinize edildi. Kaspaz 3 primer antikoru ile boyama için; kesilen deparafinize edilen kesitler, %100, %80, %70 ve %60 etanol serisinde hidrasyon işlemine tabi tutuldu. Alkolleri tamamen uzaklaştırmak için distile suda yıkanan kesitler sitrat buffer solüsyonu ile kaynatılarak formaldehitin kapattığı epitoplara açılması sağlandı. Soğuyan sitrat buffer içinden alınan kesitlerin çevresi doku sınırlayıcı kalem yardımıyla çizilerek PBS yardımıyla yıkandı. Hidrojen peroksidad ile endojen peroksidad aktivitesinin bloke edilmesi için 10 dk boyunca oda ısısında HRP polymer (TA-060- HP, UltraVision LP Detection System HRP Polymer & DAB Plus Chromogen, ThermoScientific) ile bekletildi, 10 dk’dan sonra PBS ile yıkandı. İmmünolojik olmayan reaksiyonların durdurulması için Ultra “V” Block solüsyonu (TA-060- UB, UltraVision LP Detection System HRP Polymer & DAB Plus Chromogen, ThermoScientific) damlatıldı ve oda ısısında beş dakika bekletildi. Kaspaz-3 primer antikoru (sc-373730, SantaCruz) PBS ile 1:100 dilüe edildi ve +4°C’de gece boyu inkübe edildi. İnkübasyon işleminin ardından PBS ile yıkanan kesitler Primary Antibody Enhancer (TL-060- PB, UltraVision LP Detection System HRP Polymer & DAB Plus Chromogen, ThermoScientific) solüsyonunda on dakika boyunca oda ısısında bekletildi. PBS ile yıkanarak HRP Polymer (TL-060- PH, UltraVision LP Detection System HRP Polymer & DAB Plus Chromogen, ThermoScientific) solüsyonunda oda ısısında 15 dakika boyunca bekletildi. PBS ile yıkama işlemini takiben DAB kromojen (UltraVision LP Detection System HRP Polymer & DAB Plus Chromogen, ThermoScientific) ile oda ısısında pozitif reaksiyon oluşana kadar bekletildi ve reaksiyon oluşuktan sonra distile su ile reaksiyonun devam etmesi engellendi. Çekirdek boyaması için Mayer’s Hematoksilen ile boyama 1-2 dakika boyunca boyandıktan sonra distile su ile yıkama işlemi yapıldı. %80 ve %90 etanol serisinde dehidrasyon işlemini

takiben 20 dakika ksilen ile şeffaflandırdıktan sonra entellan kullanarak lamelle kapandı.

Boyanan preparatlar, Zeiss Axio Scope A1 marka ışık mikroskopuyla incelendi. Her preparattan 40X büyütmede 6 farklı alanın fotoğrafları çekilerek boyanma yoğunluğuna göre ImageJ software (ImageJ1,51j8, National Institutes of Health, USA) programı kullanılarak boyanma düzeylerine (i) göre; negatif: 0, düşük pozitif: 1, pozitif: 2, yüksek pozitif:3 değerleri verildi. Elde edilen değerler H-SCORE= $\sum P_i (i+1)$ formülü kullanılarak sayısallaştırıldı. Formüldeki 1; optik yoğunluğun düzeltilmesi için kullanıldı.

Deney gruplarında apopitotik hücreleri değerlendirmek için TUNEL (In Situ Cell Death Detection Kit, POD, 11684817910 ROCHE) yöntemi uygulanmıştır. Rutin takip işlemlerinden sonra sert parafin bloklara gömülen akciğer dokularından 4 µm kalınlığında alınan kesitler poli-L-lizin kaplı lamalar üstüne alınarak gece boyunca 60°C'lik etüvde rdından 20 dakika ksilende deparafinize edildi. Hidratasyon işlemi için dereceli alkollerde sırasıyla (%95, %80, %70 ve %60) ikişer dakika bekletildikten sonra distile suda yıkandı. Sitrat buffer solüsyonunda ısı ve basınçla antijenik maske engellendikten sonra kesitlerin çevresi doku sınırlayıcı kalem yardımıyla çizilerek PBS ile yıkandı. Hidrojen peroksidaz ile endojen peroksidaz aktivitesinin bloke edilmesi için 10 dk boyunca oda ısısında HRP polymer (TA-060-HP, UltraVision LP Detection System HRP Polymer & DAB Plus Chromogen, ThermoScientific) ile bekletildi, on dakikadan sonra PBS ile yıkandı. Hazırlanan TUNEL reaksiyon solüsyonu (900 µl boya solüsyonu ve 100 µl enzim solüsyonu, In Situ Cell Death Detection Kit, POD, 11684817910 ROCHE) damlatılarak 37°C'de 60 dakika boyunca bekletildi. PBS ile yıkanma işlemini takiben kit içinde bulunan Converter-POD solüsyonu damlatıldı ve 37°C'de 30 dakika bekletildi (In Situ Cell Death Detection Kit, POD, 11684817910 ROCHE). DAB kromojen ile oda ısısında pozitif reaksiyon oluşana kadar bekletildi ve (UltraVision LP Detection System HRP Polymer & DAB Plus Chromogen, ThermoScientific) reaksiyon oluşuktan sonra distile su ile reaksiyonun devam etmesi engellendi. %80 ve %90 etanol serisinde dehidratasyon işlemini takiben 20 dakika ksilen ile şeffaflandırdıktan sonra entellan kullanarak lamelle kapandı.

Boyanan preparatlar, ışık ve flüoresan mikroskopuyla (Zeiss Axio Scope A1) incelenmiş ve 40x büyütmede fotoğraflanmıştır. Apoptotik indeks aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (210).

Apoptozis İndeksi (%) = (TUNEL pozitif boyanan hücre sayısı / Total hücre sayısı) x100

3.13.3. Transmisyon Elektron Mikroskopik (TEM) İncelemeler İçin Yapılan Çalışmalar

Kontrol ve çalışma gruplarına ait akciğer dokularından 1 mm³ hacmindeki bir parça % 2,5'luk gluteraldehit içerisinde alındı. TEM için tespit ve takip işlemleri aşağıdaki sıra ile uygulandı.

- 1. Tespit (ön tespit) işlemi için 0,2 M fosfat tamponu içerisinde % 2,5 gluteraldehit ve % 2 paraformaldehit (pH=7.2-7.4) solüsyonunda +4⁰C' de 2-4 saat bekletildi.
- 1. Yıkama 0,1 M fosfat tamponunda (2 x 15 dakika, rotatorda) yapıldı.
- 2. Tespit için 0,1 M fosfat tamponunda % 1 OsO₄ (rotatorda ve karanlıkta, 2 saat) bekletildi.
- 2. Yıkama işlemi için ise 0,1 M fosfat tamponunda (3 x 20 dakika) bekletildi.
- Örnekler distile su ile yıkandılar.
- Blok boyama işlemi için % 70 etanolde % 0,05 uranil asetat ve % 1 fosfotungstik asit solüsyonunda rotatorda ve karanlıkta, 2 saat süre ile bekletildiler.
- Dehidratasyon için % 70, % 96, %100 etanol, propilenoksit kullanıldı.
- 1:1propilen / Araldite karışımı ile rotatorda 1 saat süre ile boyandılar.
- Ardından araldite alınıp 2 saat bekletildiler.

- Bloklama için blok kalıbı içerisine akciğer dokuları konuldu, üzerine araldite eklendi.

- Polimerizasyon işlemi için hazırlanan bloklar 80°C'de 1 gece süre ile tutuldu, sonrasında etüv kapatılarak bloklar kendi halinde soğumaya bırakıldı.

3.13.4. Yarı İnce Kesit Boyama Protokolü

Ultramikrotom ile 700-1000 nm kalınlığında kesitler alındı. Kesitler ısıtıcıda kurutulduktan sonra distile su içinde Toluidin mavisi / Azur II boyası (%1 boraks, %1 Toluidin mavisi, %1 Azur II) ile boyandı (50 – 60°C ısıtıcıda boya kuruyana kadar). Ardından tekrar distile su ile yıkandı. Kesitler ısıtıcıda kurutuldu ve soğutuldu. Entelan ile kapatıldı.

Boyanan preparatlar kuruduktan sonra ışık mikroskopuyla (Zeiss Axio Scope A1) incelendi ve fotoğraflandı.

3.13.5. İnce Kesit Boyama Protokolü

Hazırlanan bloklardan ultramikrotom ile 70 – 90 nm kalınlığında kesitler alındı ve boyama setine yerleştirildi. Distile suda 1-2 dakika yıkandıktan sonra %8'lik uranil asetatı 45 dakika bekletildi. Ardından önce distile suda 1-2 dakika daha sonra 0,1 N NaOH içerisinde yıkandı. %0,7 kurşun sitrat / %0,9 sodyum sitrat solüsyonunda 20 dakika bekletildikten sonra önce 0,1 N NaOH içerisinde daha sonra distile su içinde 1-2 dakika yıkandı. Boyanarak hazırlanan gridler kurumaları için kurutma kağıdına alındı, daha sonra grid kutusuna yerleştirildi. İncelemeler LEO 906E marka TEM ile yapıldı. Görüntülemeler Sharpeye CCD ve Image SP (Germany) dijital görüntüleme sistemi programı ile gerçekleştirildi.

3.14. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Antrenmanın parametrelere olan etkisinin anlamlılık düzeyinin değerlendirilmesi amacıyla Two-way ANOVA testi kullanıldı. Post-Hoc test olarak Bonferroni testi kullanıldı. Sedanter ve antrenman yapan aynı gruplar arasında ikili

karşılaştırmalar için Mann-Whitney U testi kullanıldı. Skorlama tipindeki histolojik verilerin analizinde Kruskal Wallis testi kullanıldı. Post-Hoc test olarak da Tukey seçildi.

İstatistiksel analizler SPSS 15.0 programı kullanılarak yapıldı. İstatistiksel anlamlılık derecesi $p<0,05$ olarak kabul edildi. Değerler ortalama $\pm$ standart sapma ($X\pm SD$) olarak verildi.

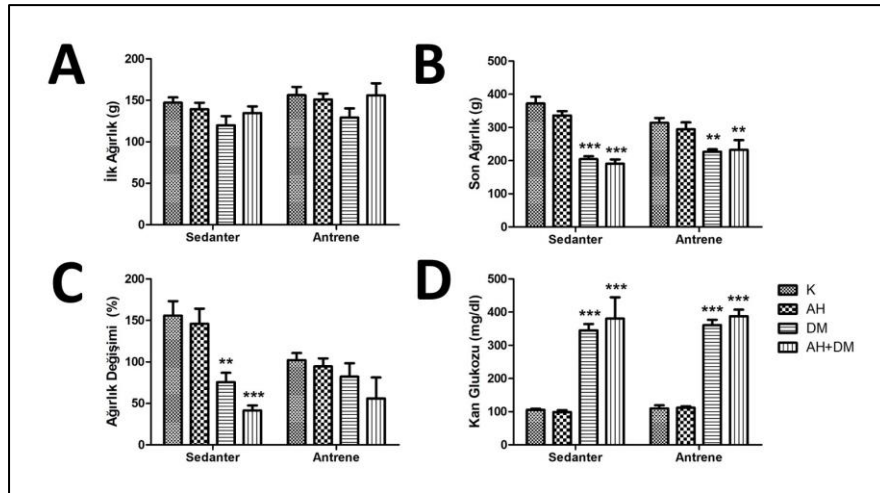


4. BULGULAR

4.1. DENEY HAYVANLARININ VÜCUT AĞIRLIK VE KAN GLUKOZ DEĞERLERİ SONUÇLARI

Deney hayvanlarının başlangıç ve sakrifikasyon öncesi vücut ağırlığı ve kan glukoz değerleri ile çalışma boyunca gözlenen vücut ağırlıkları değişimi Tablo 4.1’de verilmiştir.

Deney hayvanlarının ilk ağırlık değerleri gruplar arasında fark göstermemektedir (Şekil 4.1.A). Son ağırlık değerleri ise diyabetli gruplarda kontrol gruplarına göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Egzersiz etkisi anlamlı bulunmamıştır (Şekil 4.1.B). Ağırlık değişimleri sedanter diyabetli gruplarda anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Antrene gruplarda ise gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Antrenmanın etkisi istatistiksel olarak anlamlılığa çok yakındır ($p=0,0629$; Şekil: 4.1.C). Diyabetli gruplarda kan glukozu anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Antrenman etkisi anlamlı bulunmamıştır (Şekil 4.1.D).



Şekil 4.1. Deney hayvanlarının vücut ağırlığı ve kan glukoz değerleri. (A) Başlangıç vücut ağırlıkları. (B) Deney hayvanlarının sakrifikasyonu öncesi, son vücut ağırlıkları (C) Çalışma boyunca gözlenen vücut ağırlıkları değişimi [Ağırlık Değişimi = (Son Ağırlık-İlk Ağırlık)/İlk Ağırlık x 100]. (D) Deney hayvanlarının sakrifikasyonu öncesi kan glukoz değerleri.

* Sedanter ya da antrene K grubu ile anlamlı farklılık ($p<0,05$).

** Sedanter ya da antrene K grubu ile anlamlı farklılık ($p<0,01$).

*** Sedanter ya da antrene K grubu ile anlamlı farklılık ($p<0,001$).

Tablo 4.1. Deney hayvanlarının başlangıç ve sakrifikasyon öncesi vücut ağırlığı ve kan glukoz değerleri ile çalışma boyunca gözlenen vücut ağırlıkları değişimi (Ort±S.D., bütün gruplar n=6). Ağırlık değişimi = (son ağırlık-ilk ağırlık)/ilk ağırlık x 100

Sedanter					Antrene			
	K	AH	DM	AH + DM	K	AH	DM	AH+DM
Vücut Ağırlığı (g)								
Başlangıç	147,29 ± 16,73	139,17 ± 19,22	119,83 ± 27,07	134,80 ± 17,66	156,33 ± 24,12	151,13 ± 19,89	129,17 ± 27,27	156,00 ± 35,87
Son	372,14 ± 52,98	336,00 ± 32,02	204,67 ± 20,95***	190,60 ± 29,03***	313,83 ± 36,32	294,50 ± 58,93	226,83 ± 17,29**	232,33 ± 72,01**
Ağırlık Değişimi(%)	%155,74 ± 46,24	%145,85 ± 44,95	%75,63 ± 27,59**	%41,46 ± 13,28***	%102,29 ± 20,53	%94,66 ± 27,24	%82,19 ± 39,68	%55,88 ± 62,10
Kan Şekeri (mg/dl)								
Başlangıç	99,57 ± 13,23	99,83 ± 7,81	103,50 ± 13,69	117,40 ± 18,17	100,67 ± 9,61	106,63 ± 6,30	108,83 ± 20,28	109,33 ± 18,17
Son	105,43 ± 9,50	99,00 ± 13,13	345,00 ± 45,96***	325,75 ± 86,78***	109,83 ± 22,99	111,75 ± 11,95	361,17 ± 38,18***	387,50 ± 48,52***

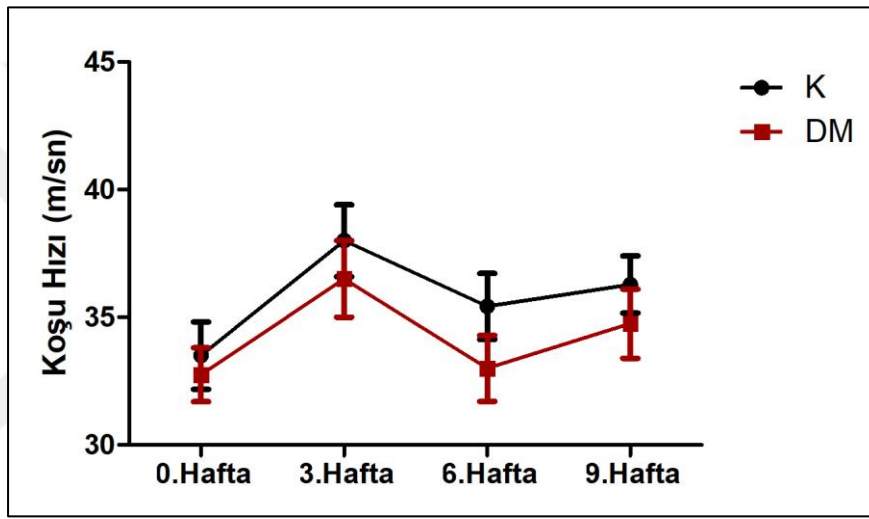
* Sedanter ya da antrene K grubu ile anlamlı farklılık (p<0,05).

** Sedanter ya da antrene K grubu ile anlamlı farklılık (p<0,01).

*** Sedanter ya da antrene K grubu ile anlamlı farklılık (p<0,001).

4.2. DENEY HAYVANLARININ MAKSİMUM İŞ YÜKÜ DEĞERLERİ

Deney hayvanlarına uygulanacak antrenman protokolünün belirlenmesi için 0, 3, 6 ve 9. haftalarda artımlı yük testi uygulanarak belirlenen maksimal oksijen tüketimine (VO_{2max}) karşılık geldiği öngörülen maksimum iş yükü değerleri Tablo 4.2.'de ve Şekil 4.2.'de verilmiştir. Antrenman yaptırılan diyabetik ve non-diyabetik gruplarındaki deney hayvanlarının ortalama maksimum iş yükü değerleri arasında anlamlı bir farklılık gözlenmedi.



Şekil 4.2. Antrenman grubundaki deney hayvanlarının başlangıç, 3, 6 ve 9. hafta maksimum iş yükü değerleri

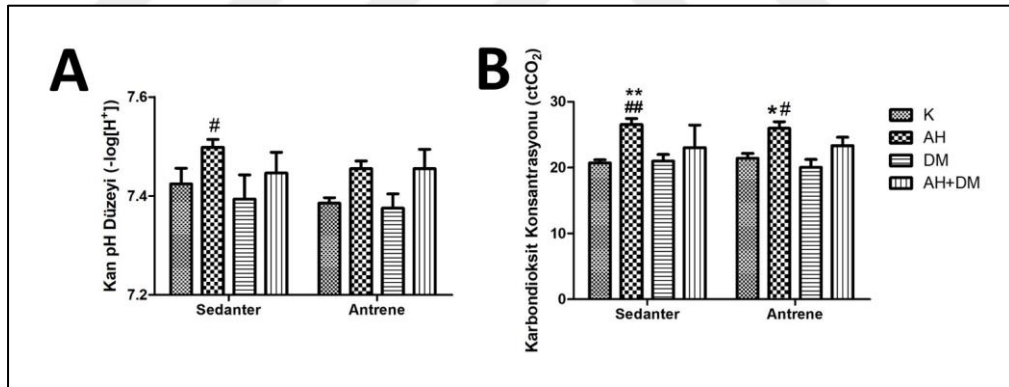
Tablo 4.2. Antrenman grubundaki deney hayvanlarına uygulanacak antrenman protokolünün belirlenmesi için 0, 3, 6 ve 9. haftalarda artımlı yük testi uygulanarak belirlenen maksimal oksijen tüketimine (VO_{2max}) karşılık geldiği öngörülen maksimum iş yükü değerleri.

	Antrenmanlı Sağlıklı Hayvanlar (n=12)	Antrenmanlı Diyabetik Hayvanlar (n=12)
0.Hafta	33,50 ± 4,96	32,75 ± 3,65
3.Hafta	38,00 ± 5,26	36,50 ± 5,20
6.Hafta	35,43 ± 4,83	33,00 ± 4,49
9. Hafta	36,29 ± 4,20	34,75 ± 4,69

4.3. DENEY HAYVANLARININ SAKRİFİKASYONU SIRASINDA ALINAN ARTER KAN ÖRNEKLERİNDE ÖLÇÜLEN KAN GAZLARI, KAN ASİT-BAZ DÜZEYİ BELİRTEÇLERİ VE ELEKTROLİT SONUÇLARI

Deney hayvanlarının sakrifikasyonu sırasında alınan arter kanı örneklerinde değerlendirilen kan gazları, kan-asit baz düzeyi belirteçleri ve elektrolit değerleri Tablo 4.3’de verilmiştir.

Deney hayvanlarının arter kanı pH değerleri sedanter AH grubunda DM grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Egzersiz etkisi anlamlı bir fark oluşturmamıştır (Şekil 4.3.A). ctCO_2 ’ye bakıldığında, gruplar kendi içerisinde değerlendirildiğinde, AH gruplarının K ve DM gruplarına göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu bulunmuştur. Egzersiz etkisine bakıldığında anlamlı bir fark bulunmamıştır (Şekil 4.3.B).



Şekil 4.3. Deney hayvanlarından sakrifikasyon sırasında alınan heparinize arter kanı örneklerinde değerlendirilen (A) pH düzeyi (B) Karbondiyoksit konsantrasyonu

* Sedanter ya da antrene K grubu ile anlamlı farklılık ($p < 0,05$)

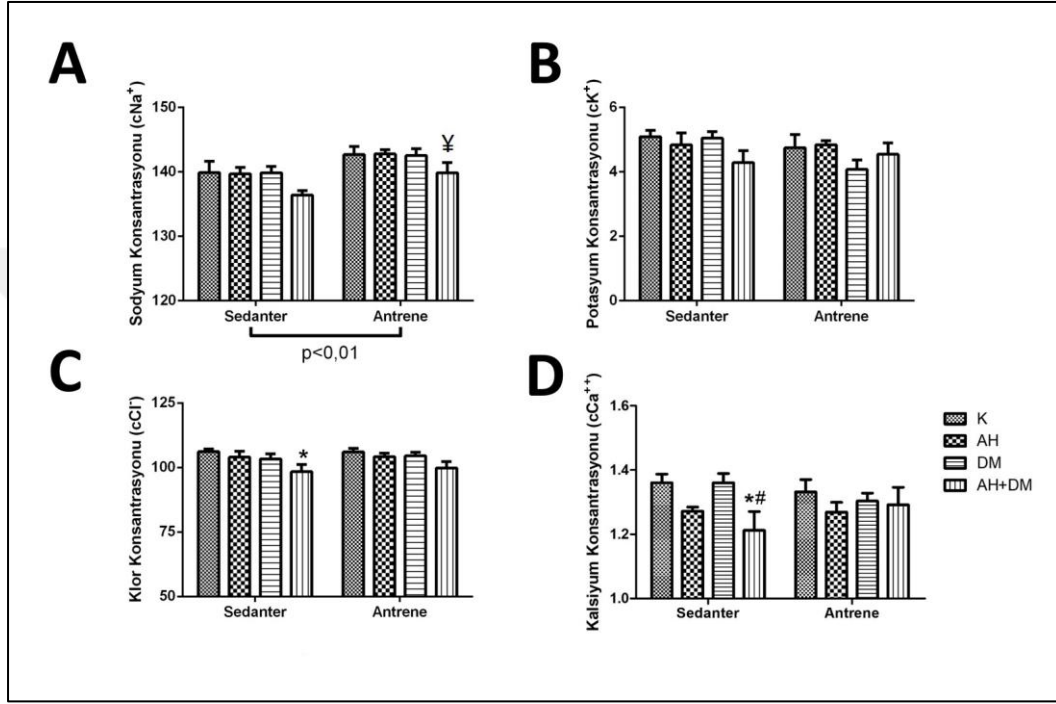
** Sedanter ya da antrene K grubu ile anlamlı farklılık ($p < 0,01$)

Sedanter ya da antrene DM grubu ile anlamlı farklılık ($p < 0,05$)

Sedanter ya da antrene DM grubu ile anlamlı farklılık ($p < 0,01$)

Arter kanı elektrolit konsantrasyonları, cNa^+ , cK^+ , cCl^- , cCa^{++} ölçülmüştür. cNa^+ değerlendirildiğinde egzersizin etkisi anlamlı bulunmuştur. Antrenmanlı AH+DM grubunun cNa^+ ’nın sedanter AH+DM grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu saptanmıştır (Şekil 4.4.A). cK^+ değerlerine bakıldığında gruplar

arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır (Şekil 4.4.B). cCl^- sedanter AH+DM grubunda sedanter K grubuna göre anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur. Egzersiz etkisi ise anlamlı bulunmamıştır (Şekil 4.4.C). cCa^{++} değerleri sedanter AH+DM grubunda sedanter K ve DM grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Egzersiz etkisi anlamlı bulunmamıştır (Şekil 4.4.D).



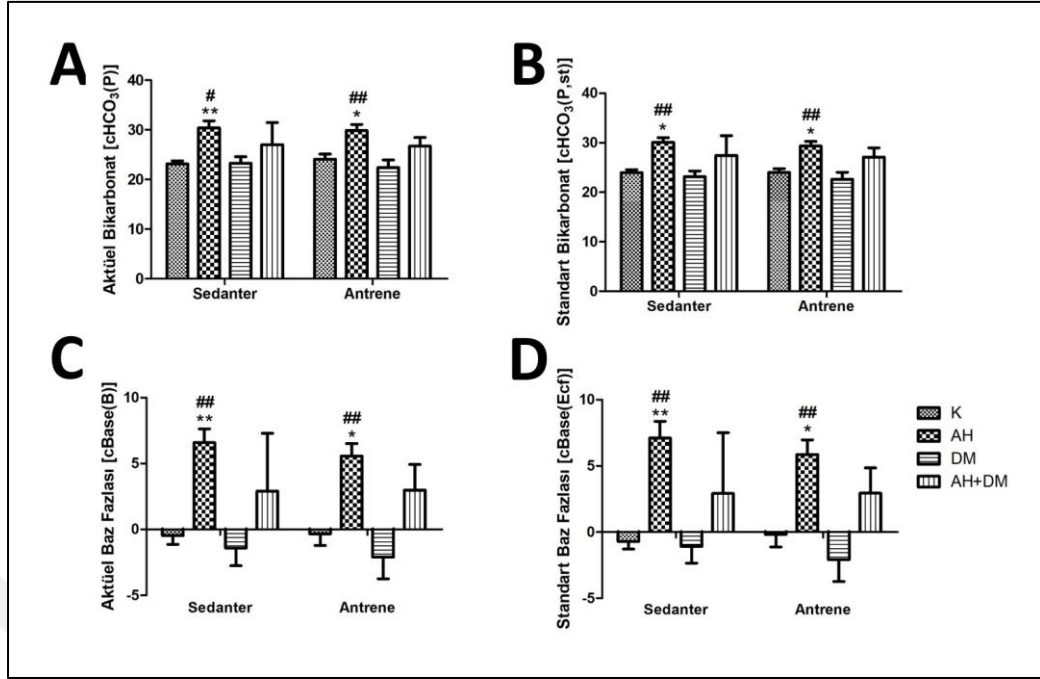
Şekil 4.4. Heparinize kanda ölçülen elektrolit düzeyleri. (A) Sodyum iyonu konsantrasyonu. (B) Potasyum iyonu konsantrasyonu (C) Klor iyonu konsantrasyonu (D) Kalsiyum iyonu konsantrasyonu.

*Sedanter K grubu ile anlamlı farklılık (p<0,05)

Sedanter DM grubu ile anlamlı farklılık (p<0,05)

¥ Benzer uygulama yapılan sedanter grup ile anlamlı farklılık (p<0,05)

$cHCO_3^-$ (P) ve $cHCO_3^-$ (P.st) değerlerine bakıldığında AH gruplarında K ve DM gruplarına göre anlamlı yüksek bulunmuştur. Egzersiz etkisi anlamlı bulunmamıştır (Şekil 4.5.A ve B). $cBaz$ (B) ve $cBaz$ (Ecf) değerlerine bakıldığında AH gruplarında K ve DM gruplarına göre anlamlı fark bulunmuştur. Egzersiz etkisi anlamlı bulunmamıştır (Şekil 4.5.C ve D).



Şekil 4.5. Heparinize kanda ölçülen kan asit-baz düzeyleri belirteçleri (A) Aktüel bikarbonat (B) Standart bikarbonat (C) Aktüel baz Fazlası (D) Standart baz fazlası düzeyleri.

* Sedanter ya da antrene K grubu ile anlamlı farklılık ($p<0,05$)

** Sedanter ya da antrene K grubu ile anlamlı farklılık ($p<0,01$)

Sedanter ya da antrene DM grubu ile anlamlı farklılık ($p<0,01$)

Tablo 4.3. Deney hayvanlarının sakrifikasyonu sırasında alınan heparinize arter kanı örneklerinde değerlendirilen kan gazları, kan asit-baz düzeyi belirteçleri ve elektrolit değerleri (Ort±S.D., bütün gruplar n=6).

	Sedanter				Antrene			
	K	AH	DM	AH+DM	K	AH	DM	AH+DM
pH	7,42 ± 0,08	7,50 ± 0,04 [#]	7,39 ± 0,12	7,45 ± 0,09	7,40 ± 0,05	7,46 ± 0,04	7,38 ± 0,07	7,46 ± 0,10
pCO ₂ (mmHg)	36,66 ± 7,46	39,05 ± 7,80	40,72 ± 14,09	38,04 ± 6,71	40,12 ± 6,33	43,49 ± 6,62	39,28 ± 6,12	38,65 ± 5,65
pO ₂ (mmHg)	85,00 ± 23,00	76,83 ± 26,46	72,67 ± 18,42	70,60 ± 6,88	68,33 ± 9,56	67,88 ± 13,56	72,00 ± 11,85	81,33 ± 19,57
Hct (%)	39,14 ± 4,26	39,17 ± 9,43	39,33 ± 10,11	44,40 ± 10,04	41,00 ± 9,59	43,38 ± 7,44	40,33 ± 2,16	42,00 ± 7,10
cNa ⁺ (mmol/L)	139,86 ± 4,74	139,67 ± 2,42	139,83 ± 2,48	136,40 ± 1,5	142,67 ± 3,08	142,75 ± 1,91	142,50 ± 2,66	139,83 ± 3,87 [¥]
cK ⁺ (mmol/L)	5,09 ± 0,53	4,84 ± 0,91	5,04 ± 0,50	4,28 ± 0,83	4,74 ± 1,00	4,84 ± 0,37	4,07 ± 0,71	4,54 ± 0,87
cCa ²⁺ (mmol/L)	1,36 ± 0,07	1,27 ± 0,03	1,36 ± 0,07	1,21 ± 0,13 ^{*#}	1,33 ± 0,09	1,27 ± 0,09	1,30 ± 0,06	1,29 ± 0,13
cCl ⁻ (mmol/L)	106,14 ± 2,61	104,00 ± 5,69	103,33 ± 4,89	98,40 ± 6,19 [*]	106,00 ± 3,58	104,13 ± 4,05	104,50 ± 3,39	99,83 ± 5,98
ctHb (g/dl)	12,70 ± 1,36	12,85 ± 3,09	12,78 ± 3,43	14,46 ± 3,28	13,35 ± 3,25	14,15 ± 2,41	13,15 ± 0,81	13,70 ± 2,44
cHCO ₃ ⁻ (P) (mmol/L)	23,16 ± 1,53	30,38 ± 3,47 ^{***}	23,27 ± 3,22	27,02 ± 9,94	24,07 ± 2,57	29,86 ± 3,45 ^{***}	22,40 ± 3,69	26,72 ± 4,25
cHCO ₃ ⁻ (P,st) (mmol/L)	23,99 ± 1,55	30,12 ± 2,26 ^{***}	23,19 ± 2,92	27,44 ± 8,89	24,03 ± 1,85	29,35 ± 2,59 ^{***}	22,65 ± 3,41	27,13 ± 4,53
cBaz (B) (mmol/L)	-0,46 ± 1,77	6,58 ± 2,57 ^{***}	-1,40 ± 3,32	2,90 ± 9,82	-0,33 ± 2,16	5,56 ± 2,71 ^{***}	-2,10 ± 4,02	2,98 ± 4,77
cBaz (Ecf) (mmol/L)	-0,70 ± 1,54	7,10 ± 3,10 ^{***}	-1,07 ± 3,13	2,92 ± 10,26	-0,17 ± 2,33	5,86 ± 3,14 ^{***}	-2,08 ± 4,05	2,95 ± 4,66
ctCO ₂ (mmol/L)	20,70 ± 1,29	26,54 ± 2,28 ^{*#}	20,98 ± 2,45	23,04 ± 7,66	21,42 ± 1,83	25,96 ± 2,84 ^{*#}	20,03 ± 2,96	23,35 ± 3,07
sO ₂ (%)	94,97 ± 4,17	97,35 ± 1,15	93,70 ± 3,70	94,44 ± 1,52	92,67 ± 3,22	92,56 ± 4,58	93,00 ± 3,81	94,92 ± 3,87
ctO ₂ (Vol%)	16,93 ± 2,09	15,08 ± 3,96	15,85 ± 3,83	19,10 ± 4,41	17,18 ± 3,81	18,31 ± 3,37	17,10 ± 1,65	18,15 ± 2,94

* Sedanter ya da antrene K grubu ile anlamlı farklılık (p<0,05)

** Sedanter ya da antrene K grubu ile anlamlı farklılık (p<0,01)

Sedanter ya da antrene DM grubu ile anlamlı farklılık (p<0,05)

Sedanter ya da antrene DM grubu ile anlamlı farklılık (p<0,01)

¥ Benzer uygulama yapılan sedanter grup ile arasında anlamlı farklılık (p<0,05)

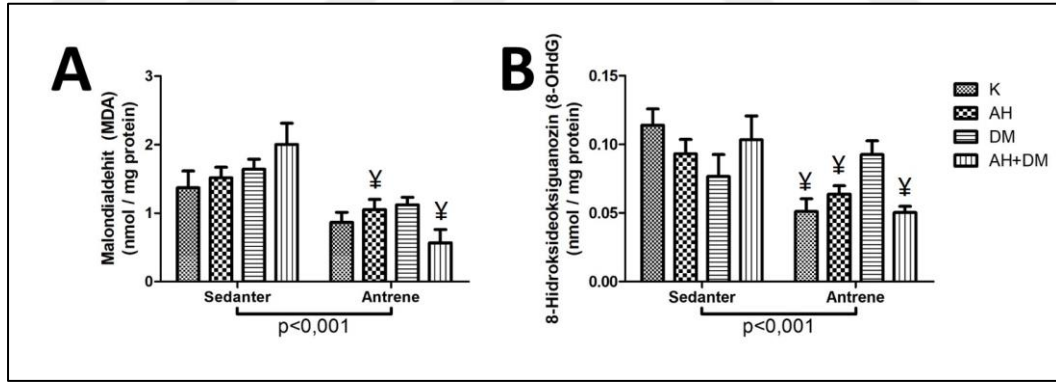
§ Antrenman etkisi (sedanter ve antrene gruplar arasında anlamlı farklılık, p<0,05)

4.4. DENEY HAYVANLARININ SAKRİFİKASYON SONRASI AKCİĞER DOKUSUNDA ÖLÇÜLEN OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİ

Deney hayvanlarının sakrifikasyon sonrası akciğer dokusunda ölçülen oksidatif stres parametreleri Tablo 4.4.'de verilmiştir.

Egzersiz yapan deney hayvanlarının akciğer dokusu MDA değerleri sedanter gruptakilere göre anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur. Sedanter ve antrene AH ve AH+DM gruplarının ikili karşılaştırmalarında aralarındaki farklılık anlamlı bulunmuştur (Şekil 4.6.A).

Egzersiz yapan deney hayvanlarının akciğer dokusu 8-OHdG değerleri sedanter gruptakilere göre anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur. Sedanter ve antrene K, AH ve AH+DM gruplarının ikili karşılaştırmalarında aralarındaki farklılık anlamlı bulunmuştur (Şekil 4.6.B).



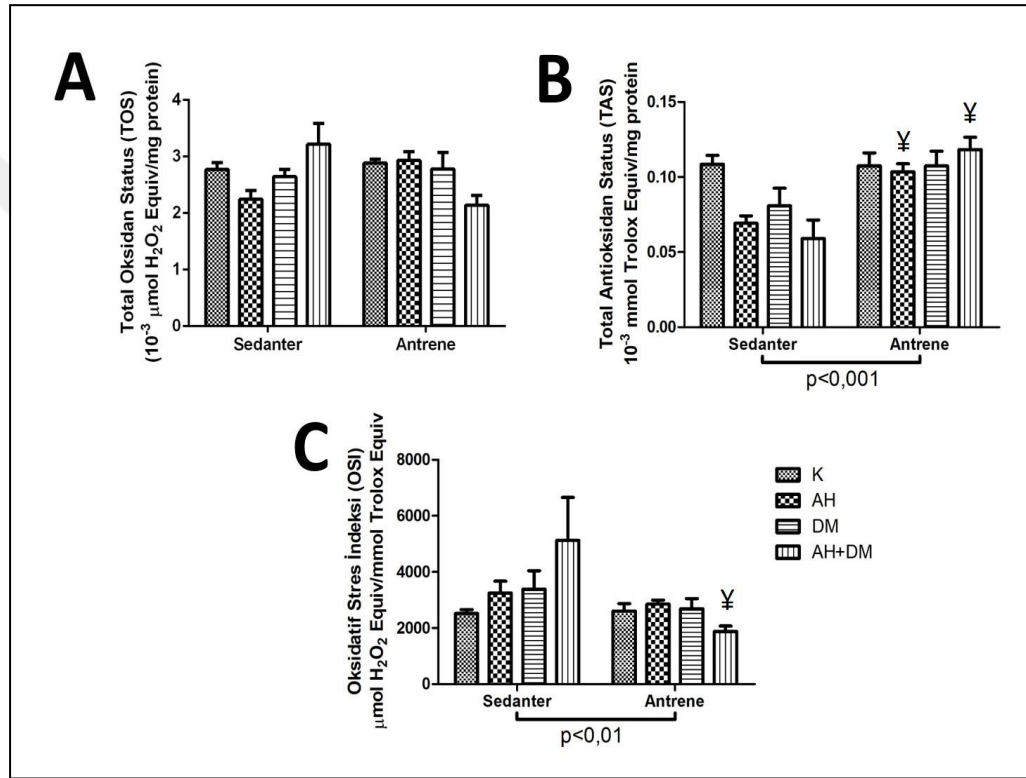
Şekil 4.6. Akciğer dokusunda değerlendirilen (A) MDA (B) 8-OHdG düzeyleri.

¥ Benzer uygulama yapılan sedanter grup ile anlamlı farklılık ($p<0,05$).

TOS değerlerine bakıldığında egzersiz etkisi anlamlı bulunmamıştır. Sedanter ve antrene grupların kendi içerisinde değerlendirilmeleri sonucunda da anlamlı farklılık saptanmamıştır (Şekil 4.7.A).

TAS değerleri üzerine egzersizin etkisi anlamlı bulunmuştur. Sedanter ve antrene AH ve AH+DM gruplarının ikili karşılaştırmalarında aralarındaki farklılık anlamlı bulunmuştur (Şekil 4.7.B).

OSI değerleri hesaplandığında, egzersizin etkisinin anlamlı olduğu görülmüştür. Sedanter ve antrene grupların ikili karşılaştırmalarında AH+DM'de anlamlı farklılık bulunmuştur (Şekil 4.7.C).



Şekil 4.7. Akciğer dokusunda değerlendirilen (A) Total oksidan status (B) Total antioksidan status (C) Oksidatif stres indeksi düzeyleri.

¥ Benzer uygulama yapılan sedanter grup ile anlamlı farklılık ($p < 0,05$).

Tablo 4.4. Deney hayvanlarının sakrifikasyon sonrası akciğer dokusunda ölçülen oksidatif stres parametreleri (Ort±S.D., bütün gruplar n=6).

Sedanter					Antrene				
	K	AH	DM	AH+DM	K	AH	DM	AH+DM	
AKCİĞER									
Total Oksidan Status (TOS) (10^{-3} μ mol H_2O_2 Equiv./mg protein)	2,77 ± 0,30	2,24 ± 0,38	2,64 ± 0,29	3,22 ± 0,82	2,88 ± 0,16	2,93 ± 0,40	2,78 ± 0,78	2,14 ± 0,42	
Total Antioksidan Status (TAS) (10^{-3} mmol Trolox Equiv./mg protein)	0,11 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,08 ± 0,03	0,06 ± 0,03	0,11 ± 0,02	0,10 ± 0,03 [¥]	0,11 ± 0,03	0,12 ± 0,02 [¥]	§
Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)	2516 ± 318,7	3244 ± 952,6	3381 ± 1482	5125 ± 3068	2607 ± 650,2	2853 ± 371,4	2685 ± 970,2	1880 ± 424,9 [¥]	§
Malondialdehit (MDA) (nmol/mg protein)	1,37 ± 0,60	1,64 ± 0,36	1,52 ± 0,35	2,01 ± 0,62	0,87 ± 0,42	1,12 ± 0,30 [¥]	1,05 ± 0,36	0,57 ± 0,47 [¥]	§
8-Hidroksi 2-deoksiguanozin (8-OHdG) (nmol/mg protein)	0,11 ± 0,03	0,09 ± 0,03	0,08 ± 0,04	0,10 ± 0,04	0,05 ± 0,02 [¥]	0,06 ± 0,02 [¥]	0,09 ± 0,02	0,05 ± 0,01 [¥]	§

[¥] Benzer uygulama yapılan sedanter grup ile arasında anlamlı farklılık ($p < 0,05$)

§ Antrenman etkisi (sedanter ve antrene gruplar arasında anlamlı farklılık, $p < 0,05$)

4.5. AKCİĞER DOKUSU ÖRNEKLERİNDE DEĞERLENDİRİLEN İNFLAMASYON, KOLLAJEN ARTIŞI, KASPAZ-3 İMMUN REAKTİVİTESİ VE TUNEL BOYAMA SKORLARI

Akciğer dokusu örneklerinde inflamasyon bulguları (infiltrasyon, makrofaj birikimi, hemoraji, perivasküler ödem ve alveolar kalınlaşma), kollajen artışı, apoptoz varlığını saptamak için yapılan Kaspaz-3 immün reaktivitesi ve TUNEL boyama skorları Tablo 4.5.'de verilmiştir.

Akciğer dokusunda ışık mikroskobu ile yapılan histolojik incelemelerde inflamasyon derecesini belirlemek için hücre infiltrasyonu, makrofaj birikimi, hemoraji, perivasküler ödem ve alveolar septal kalınlaşma skorlarından oluşturulan istatistiksel veriler değerlendirildi (Şekil 4.8., Şekil 4.9.).

Tablo 4.5. Akciğer dokusu örneklerinde inflamasyon bulguları (infiltrasyon, makrofaj birikimi, hemoraji perivasküler ödem ve alveolar kalınlaşma), kollajen artışı, apoptoz varlığını saptamak için yapılan Kaspaz-3 immün reaktivitesi ve TUNEL boyama skorları tablosu (Ort±S.D., bütün gruplar n=6).

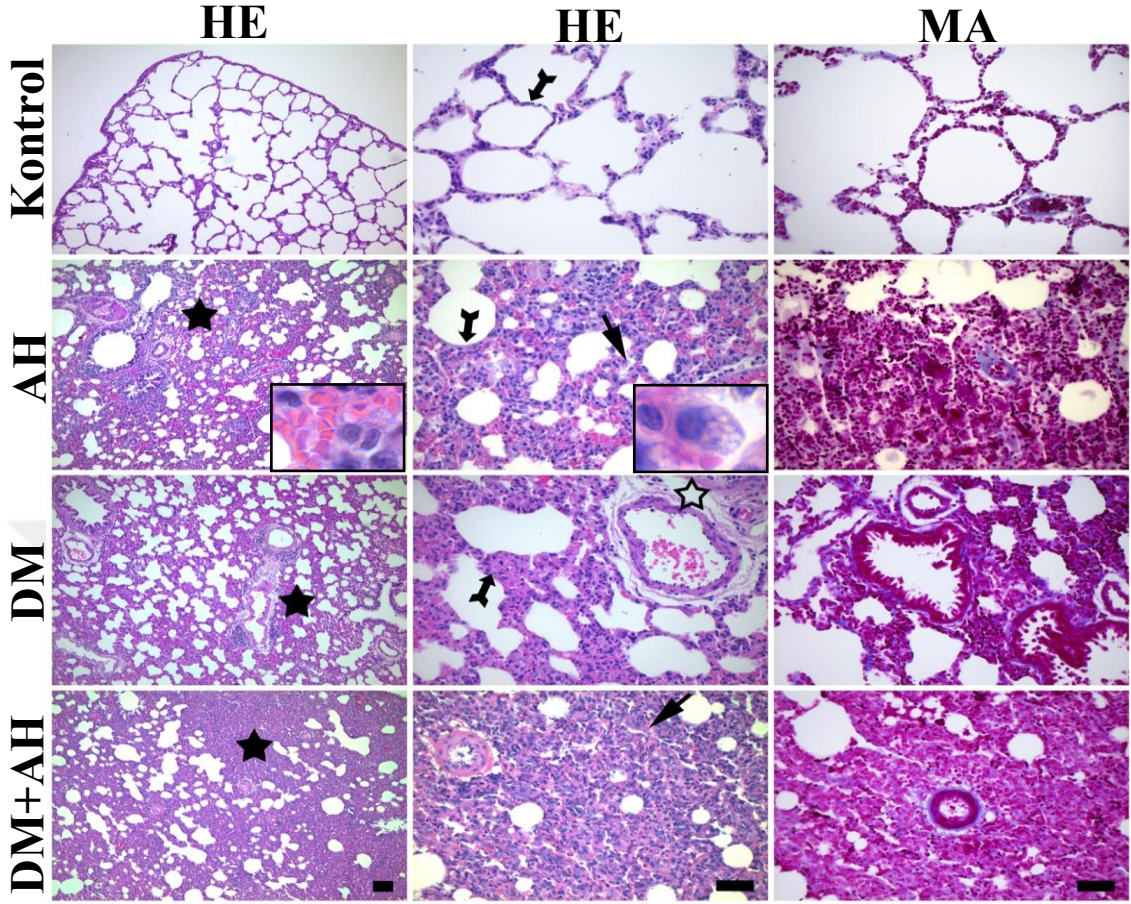
	Sedanter				Antrene			
	K	AH	DM	AH+DM	K	AH	DM	AH+DM
İnfiltrasyon	0,13 ± 0,35	2,88 ± 0,83***	2,00 ± 0,76*	3,00 ± 0,76***	0,00 ± 0,00	1,88 ± 0,64¥	1,25 ± 0,46	2,13 ± 0,64*
Makrofaj Birikimi	0,00 ± 0,00	2,50 ± 0,53***	1,63 ± 0,52	2,50 ± 0,76***	0,00 ± 0,00	1,75 ± 0,46¥	0,63 ± 0,74¥	1,63 ± 0,52¥
Hemoraji	0,00 ± 0,00	3,13 ± 0,64***	2,25 ± 0,71***	3,00 ± 0,76***	0,00 ± 0,00	2,38 ± 0,52¥	1,38 ± 0,52¥	2,25 ± 0,46*
Perivasküler Ödem	0,00 ± 0,00	2,50 ± 0,76***	1,88 ± 0,64**	2,63 ± 0,74***	0,00 ± 0,00	1,50 ± 0,53¥	0,88 ± 0,64¥	1,38 ± 0,52¥
Alveolar Kalınlaşma	0,00 ± 0,00	3,00 ± 0,76***	2,50 ± 0,53*	3,38 ± 0,74***	0,00 ± 0,00	2,83 ± 0,52	1,88 ± 0,83	2,63 ± 0,52**
Kollajen Artışı	0,00 ± 0,00	1,25 ± 0,46***	0,50 ± 0,53	1,13 ± 0,35**	0,00 ± 0,00	1,00 ± 0,53*	0,38 ± 0,52	0,88 ± 0,35*
Kaspaz- 3	95,23 ± 7,39	149,01 ± 19,77***	176,67 ± 9,91***	177,27 ± 19,69***	100,40 ± 1,72	131,85 ± 13,78***	153,91 ± 14,51***	154,45 ± 26,06***
TUNEL	18,00 ± 6,76	41,75 ± 26,34***	65,13 ± 6,31***	63,25 ± 6,54***	28,00 ± 5,88	53,25 ± 13,00***	55,25 ± 11,36***	43,38 ± 6,46***

* Sedanter ya da antrene K grubu ile anlamlı farklılık (p<0,05)

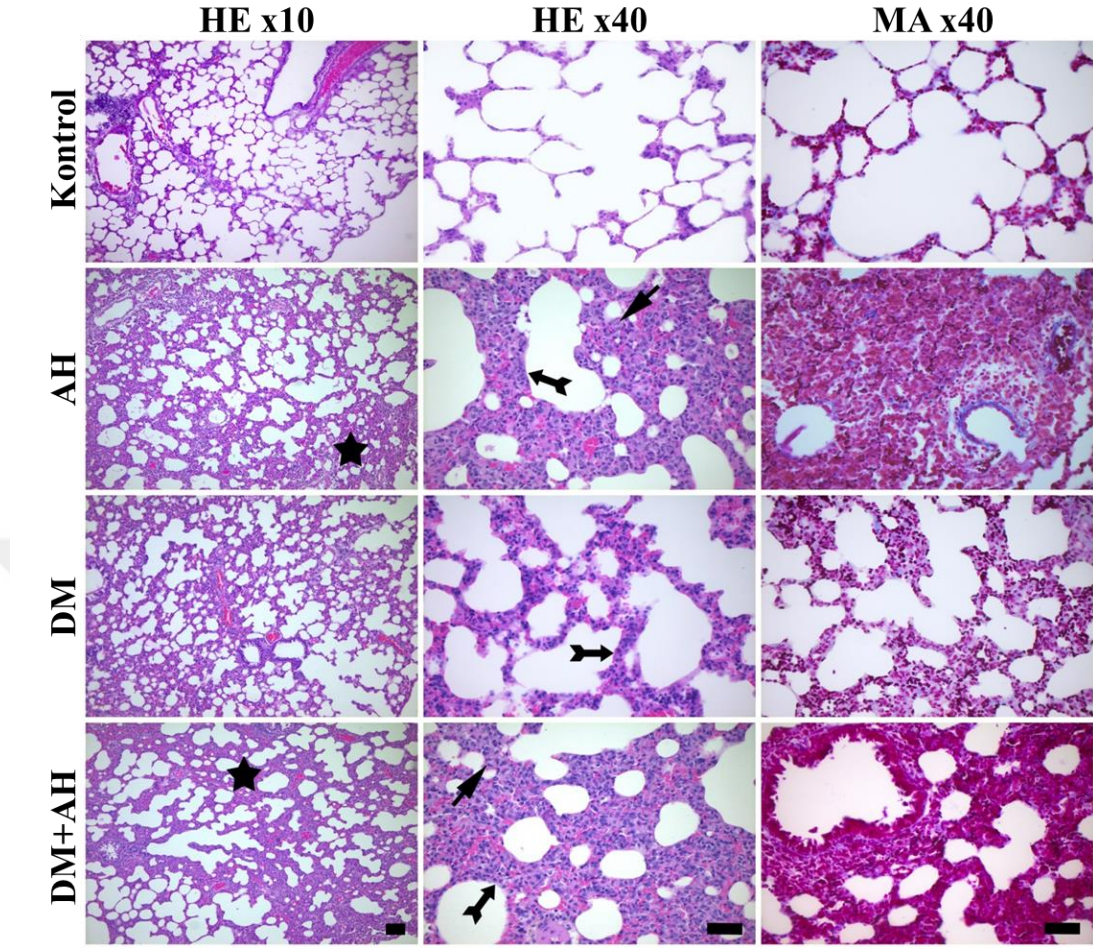
** Sedanter ya da antrene K grubu ile anlamlı farklılık (p<0,01)

*** Sedanter ya da antrene K grubu ile anlamlı farklılık (p<0,001)

¥ Benzer uygulama yapılan sedanter grup ile arasında anlamlı farklılık (p<0,05)



Şekil 4.8. Sedanter gruba ait ışık mikrogramları izlenmektedir. Yıldız; lökosit infiltrasyonu (küçük kutucuk x1000 büyütme), Ok; makrofaj (küçük kutucuk x1000 büyütme), Kuyruklu ok; interalveolar septum, HE: Hematoksilin eozin, MA: Mallory azan, MA boyamada kollajen fibriller mavi boyalı olarak izlenmektedir. Bar: 100 μ m



Şekil 4.9. Antrene gruba ait ışık mikyograflar izlenmektedir. Yıldız; lökosit infiltrasyonu, Ok; makrofaj, Kuyruklu ok; interalveolar septum, HE: Hematoksilin eozin; MA: Mallory azan, MA boyamada kollajen fibriller mavi olarak izlenmektedir. Bar: 100 µm

İnfiltrasyon değeriendirilmesi sonucunda sedanter gruplar kendi içerisinde değeriendirildiğinde K grubuna göre diğeri üç grupta (AH, DM, AH+DM) anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Antrene gruplar kendi içerisinde değeriendirildiğinde infiltrasyon skorunun AH+DM grubunda K grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğı gözlenmiştir. Sedanter ve antrene grupların ikili karşılaştırmalarında hücrese infiltrasyon skorları açısından yalnızca AH’da anlamlı farklılık bulunmuştur. (Şekil 4.10.A).

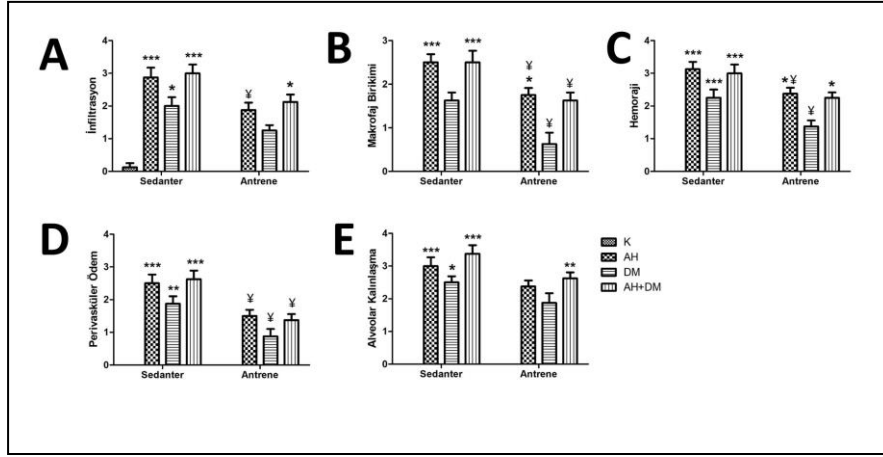
Makrofaj birikimini değeriendiren skorların sedanter gruplarda K grubuna göre AH ve AH+DM gruplarında istatistiksel olarak daha yüksek olduğı saptanmıştır. Antrene grupları kendi içerisinde değeriendirildiğinde sadece AH

grubunun K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu gözlenmiştir. AH, DM ve AH+DM grupları ikili karşılaştırıldığında sedanter gruplarda istatistiksel olarak antrene gruplara göre daha fazla makrofaj birikimi gözlenmiştir (Şekil 4.10.B).

Hemoraji açısından gruplara ait skorlar istatistiksel olarak değerlendirildiğinde sedanter gruplarda K grubuna göre diğer üç grupta (AH, DM, AH+DM) anlamlı artış görülmüştür. Antrene gruplar kendi içerisinde değerlendirildiğinde K grubuna göre AH ve AH+DM gruplarında anlamlı bir artış gözlenmiştir. Sedanter ve antrene AH ve DM gruplarının ikili karşılaştırmalarında aralarındaki farklılık anlamlı bulunmuştur (Şekil 4.10.C).

Perivasküler ödem skorlarının istatistiksel olarak değerlendirilmesi sonucu sedanter gruplarda K grubuna göre AH, DM ve AH+DM gruplarında anlamlı artış görülmüştür. Antrene gruplar kendi içerisinde değerlendirildiğinde anlamlı fark bulunmamıştır. Sedanter ve antrene AH, DM ve AH+DM gruplarının ikili karşılaştırmalarında aralarındaki farklılık anlamlı bulunmuştur (Şekil 4.10.D).

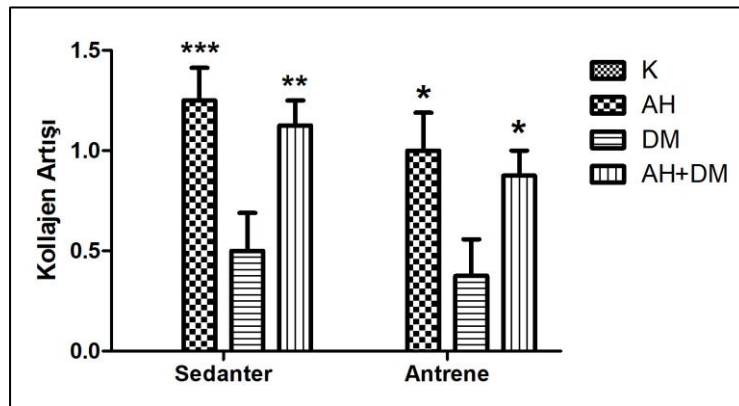
Alveolar kalınlaşma açısından yapılan istatistiksel değerlendirmelerde sedanter gruplarda K grubuna göre AH, DM ve DM+AH gruplarında anlamlı olarak artış bulunmaktadır. Antrene gruplar kendi içerisinde değerlendirildiğinde K grubu ile AH+DM grubu arasında anlamlı fark gözlenmiştir. Sedanter ve antrene gruplar arasında yapılan ikili karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (Şekil 4.10.E).



Şekil 4.10. Akciğer dokusu örneklerinde inflamasyon bulgularının; (A) infiltrasyon (B) makrofaj birikimi, (C) hemoraji, (D) perivasküler ödem ve (E) alveolar kalınlaşma skorları.

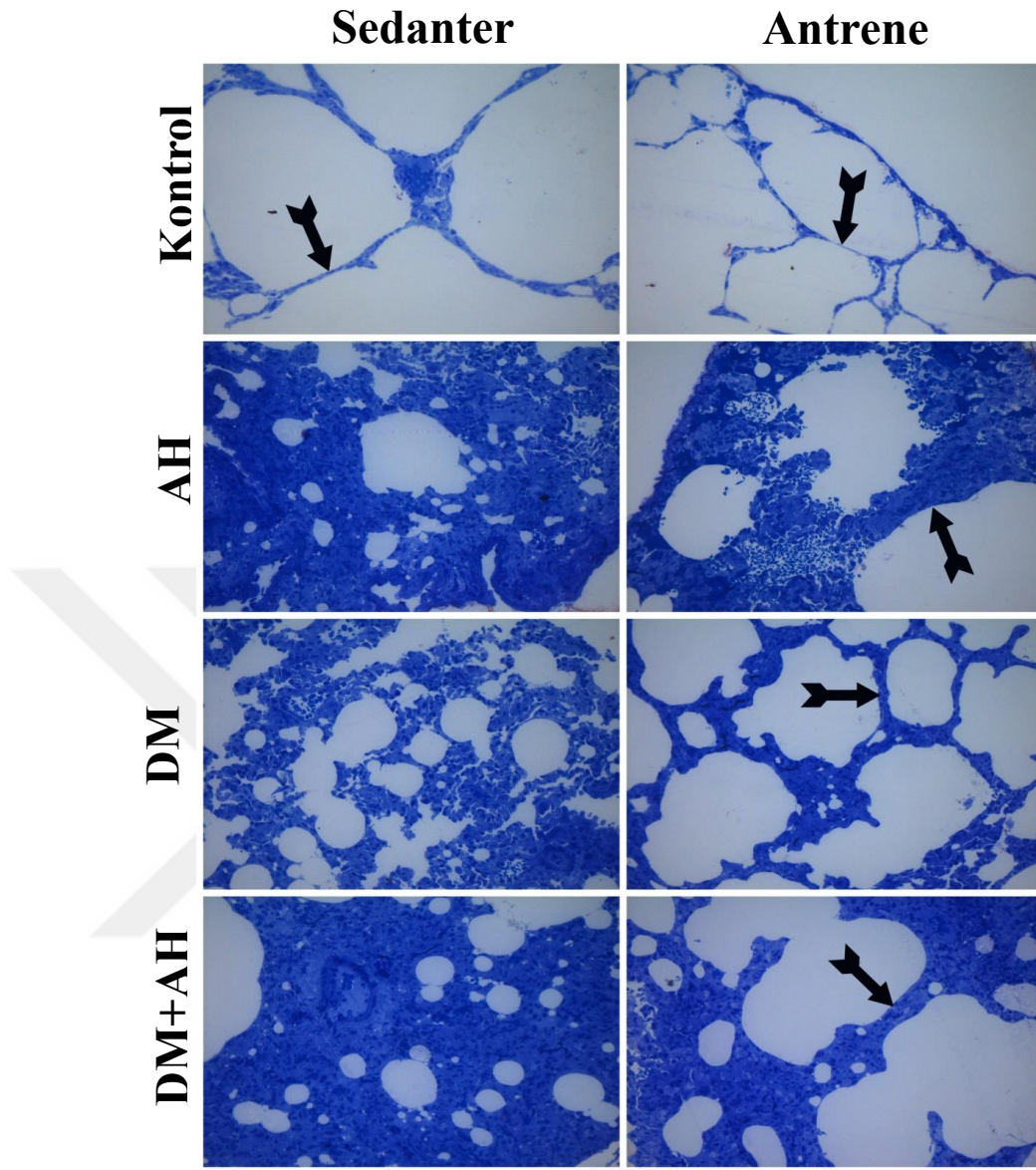
- * Sedanter ya da antrene K grubu ile anlamlı farklılık ($p<0,05$)
- ** Sedanter ya da antrene K grubu ile anlamlı farklılık ($p<0,01$)
- *** Sedanter ya da antrene K grubu ile anlamlı farklılık ($p<0,05$)
- Ξ Benzer uygulama yapılan sedanter grup ile anlamlı farklılık ($p<0,05$)

Pulmoner fibrosis şiddetini belirlemek için yapılan kollajen artışı skorlamasının istatistiksel değerlendirmesinde, sedanter ve antrene gruplar kendi içerisinde değerlendirildiğinde AH ve AH+DM gruplarında kollajen artışının K grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu gözlenmiştir. Sedanter ve antrene gruplar arasında yapılan ikili karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır (Şekil 4.11.).



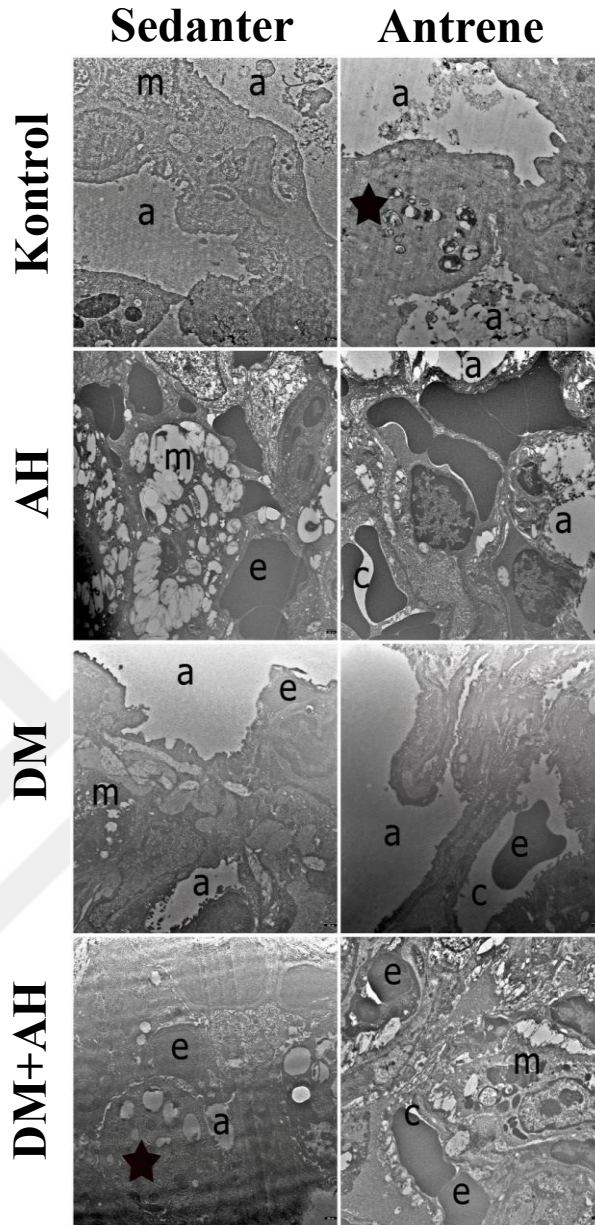
Şekil 4.11. Akciğer dokusu örneklerinde ışık mikroskopisi incelemesi ile kollajen artışı skorlaması.

- * Sedanter ya da antrene K grubu ile anlamlı farklılık ($p<0,05$)
- **Sedanter ya da antrene K grubu ile anlamlı farklılık ($p<0,01$)
- *** Sedanter ya da antrene K grubu ile anlamlı farklılık ($p<0,001$)



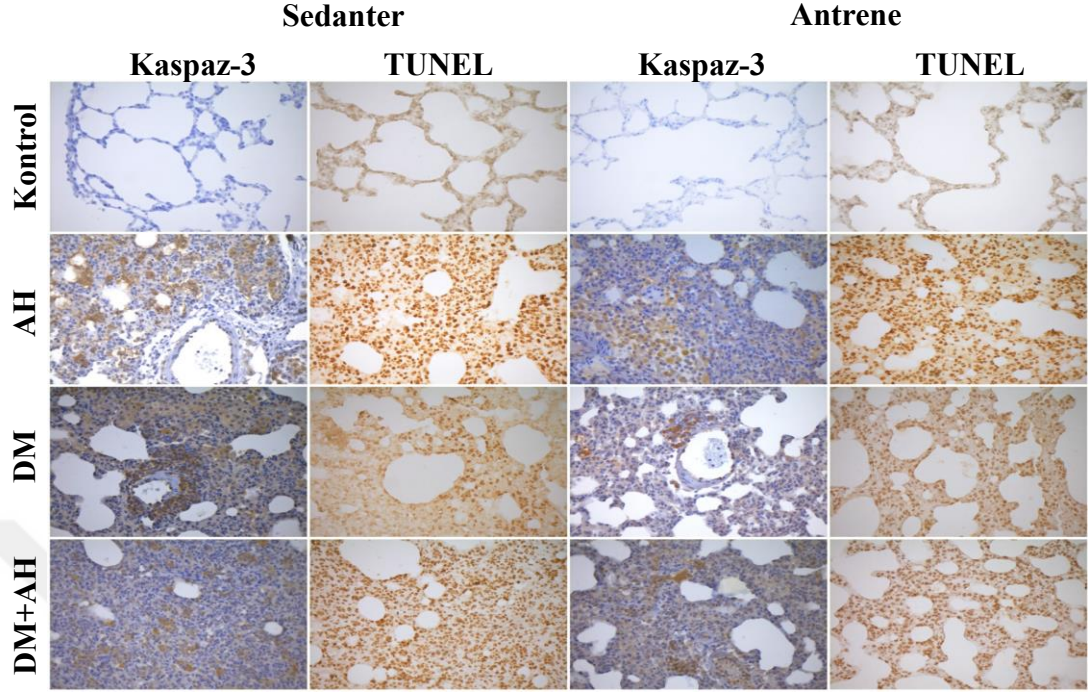
Şekil 4.12. Yarı ince kesitlere ait ışık mikrograflarda interalveolar septumlar (kuyruklu ok) izlenmektedir. Boya: Toluidin Mavisi. Büyütme: 400x

Elektron mikroskobu için hazırlanan bloklardan elde edilen yarı ince kesitlerin ışık mikroskobu incelemesi sonucunda AH, DM, AH+DM gruplarında interalveolar septumlarda kalınlaşma gözlemlendi (Şekil 4.12.).



Şekil 4.13. Sedanter ve antrene gruplara ait elektron mikrograflar izlenmektedir. a: alveol; c: kapiller; e: eritrosit; m: makrofaj; yıldız: tip II alveolar hücre. Büyütme: x7750.

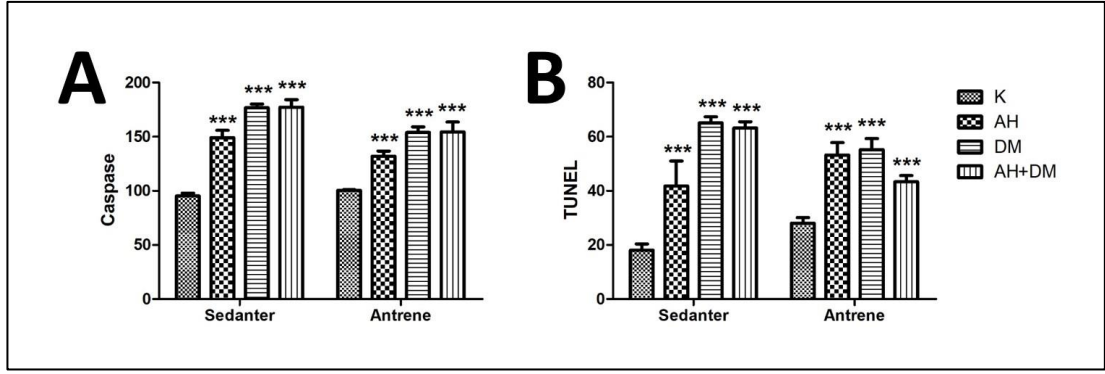
Transmisyon elektron mikroskobu incelemesinde sedanter ve antrene gruplara ait K grubu örnekleri doğal görünümde izlenirken, AH grubunda makrofaj ve eritrositlerin interalveoler alanda bol miktarda bulunması dikkat çekti. DM gruplarında AH grupları kadar olmamakla birlikte makrofaj ve eritrositlere rastlandı. AH+DM gruplarında da eritrosit ve makrofaj varlıkları hem antrene hem sedanter gruplarda izlendi (Şekil 4.13.).



Şekil 4.14. Sedanter ve antrene gruplarının Kaspaz-3 ve TUNEL mikrogramları izlenmektedir. Büyütme x400.

Apoptozis açısından Kaspaz-3 immün reaktivitesinin değerlendirilmesi sonucunda elde edilen istatistiksel verilere göre sedanter ve antrene gruplarda K grubuna göre AH, DM ve AH+DM gruplarında immün reaktivitenin anlamlı düzeyde yüksek olduğu gözlenmiştir. İkili karşılaştırmalarda sedanter ve antrene gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır (Şekil 4.14., Şekil 4.15A)

Apoptoz varlığını saptamak için yapılan TUNEL boyamasına ait değerlendirmede sedanter ve antrene gruplarda K grubuna göre AH, DM ve AH+DM gruplarında TUNEL pozitif boyanma gösteren hücrelerin varlığının anlamlı düzeyde fazla olduğu gözlenmiştir. İkili karşılaştırmalarda sedanter ve antrene gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır (Şekil 4.14., Şekil. 4.15.B).



Şekil 4.15. Akciğer dokusunda apoptoz varlığını saptamak için yapılan (A) Kaspaz-3 immun reaktivitesi, (B) TUNEL boyama skorları.

*** Sedanter ya da antrene K grubu ile anlamlı farklılık ($p<0,001$)

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada deney hayvanlarının vücut ağırlıkları, vücut ağırlık değişim yüzdeleri ile kan glukoz düzeyleri düzenli olarak takip edilmiş olup, deneylerin sonunda hayvanların arter kanı örneklerinde, kan gazları, asit baz düzeyi belirteçleri ve elektrolit değerleri; akciğer dokularında MDA, 8-OHdG, TAS, TOS değerleri ölçülmüş ve OSİ hesaplanmıştır. Ek olarak akciğer doku örneklerinde inflamasyon bulguları (infiltrasyon, makrofaj birikimi, hemoraji perivasküler ödem ve alveolar kalınlaşma), kollajen artışı, apoptoz varlığını saptamak için yapılan Kaspaz-3 immün reaktivitesi ve TUNEL apoptozis indeksi değerlendirilmiştir.

Egzersiz yapan gruplarda akciğer doku örneklerinde MDA ve 8-OHdG düzeyleri ile OSİ'nin düşük olduğu, TAS'ın yüksek olduğu saptanmıştır. Akciğer hasarı yapılan gruplarda egzersizin oksidatif stres üzerine koruyucu etkileri gözlenmiştir. Histolojik bulgular da egzersizin akciğer hasarından koruyucu etkilerini göstermekte olup oksidan stres göstergelerini destekler niteliktedir.

Çalışmada kullanılan deney hayvanlarının vücut ağırlıkları değerlendirildiğinde genel olarak egzersizin etkisi gözlenmemiştir. DM'li gruplardaki hayvanların ağırlıkları kontrol gruplarına göre anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur. Benzer şekilde kan glukozu üzerine de antrenmanın etkisi anlamlı bulunmamıştır.

Sunulan çalışmada, deneysel diyabet oluşturma amacıyla 50 mg/kg STZ, hayvanlara i.p. enjeksiyonla ve tek doz olarak uygulanmış olup kan glukoz değerleri 250 mg/dl'den yüksek olan hayvanlar DM kabul edilmiştir. Deneysel DM oluşturmak amacıyla çalışmamızda kullandığımız pankreas β hücrelerine spesifik olan STZ birçok çalışmada kullanılmıştır (211-214). Deneysel diyabet oluşturmak için deney hayvanları çalışmalarında kullanılan STZ'nin tek enjeksiyonluk dozları 40-100 mg/kg olarak raporlanmıştır (211-213, 215-218). Genel olarak kan glukoz değerinin 250 mg/dl'den yüksek olması bizim çalışmamızda olduğu gibi deneysel DM geliştiğinin bir göstergesi olarak kabul görmektedir (211, 219).

Ahmedi ve ark. (220) tarafından 20 kadın sporcuda yapılan çalışmada sekiz haftalık, haftada üç gün ve 45 dakika süreli aerobik egzersizin bizim çalışmamızda olduğu gibi glukoz düzeyleri üzerine etkisi olmadığı bildirilmiştir. Buna karşın Zeinali ve ark. (221) elit sporcularda dayanıklılık ve sürat içeren iki farklı akut egzersiz metodu uyguladıkları çalışmada her iki grupta da egzersiz sonrası glukoz düzeylerinde anlamlı artış olduğunu gözlemişlerdir.

Arter kan örneklerinde Na^+ değerlerinde egzersizin etkisi anlamlı çıkmıştır (Şekil 4.4.) Çalışmada egzersiz gruplarında Na^+ değerlerinin yüksek olmasının dehidratasyona bağlı olabileceği düşünülmüştür.

Kan gazları ve asit baz düzeyi belirteçleri üzerine egzersizin etkisinin anlamlı olmadığı bulunmakla birlikte, sedanter AH grubunda arter kanı pH değerlerinin DM grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu, ctCO_2 'nin hem sedanter hem antrene AH gruplarında K ve DM gruplarına göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu, cHCO_3^- (P), cHCO_3^- (P.st), cBaz (B) ve cBaz (Ecf) değerlerinin de sedanter ve antrene AH gruplarında K ve DM gruplarına göre anlamlı olarak yüksek olduğu saptanmıştır (Tablo 4.3., Şekil 4.3., Şekil 4.5.).

Bu sonuçlar akciğer hasarı yapılan gruplarda kompanse respiratuar asidozu destekler niteliktedir. Kan gazı için arter kanı örnekleri akciğer hasarını takibeden 24 saat içinde alınmış olduğundan, bu süre zarfında, önce gelişen respiratuar asidoz tampon mekanizmalar ile kompanse edilmiş, hatta alkalozla dönüşmüştür. CO_2 konsantrasyonunun, HCO_3^- düzeylerinin yüksek olması ve baz fazlası bunu göstermektedir.

TOS düzeyleri değerlendirildiğinde anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. Bununla birlikte egzersiz yapan gruplarda TAS düzeylerinin anlamlı olarak yüksek olduğu saptanmıştır. OSI, TAS düzeylerinin yüksek olması nedeniyle egzersiz yapan gruplarda düşük olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.4., Şekil 4.7.). Oksidan hasar göstergeleri MDA ve 8-OHdG değerleri de OSI'ye benzer şekilde egzersiz yapan gruplarda düşük bulunmuştur (Tablo 4.4., Şekil 4.6.).

Serbest radikal düzeylerinin in vivo ölçülmesi reaktivitelerinin yüksekliği, yarı ömürlerinin kısıllığı, konsantrasyonlarının düşüklüğü ve oluşan ürünlerin kompleksliği nedeniyle zordur. Bu nedenle çoğunlukla doku ve kan örneklerinde lipit peroksidasyonunun göstergesi olan MDA, DNA hasarının göstergesi olarak 8-OHdG gibi oksidatif hasarın ikincil reaksiyon ürünleri tayin edilir (222-224). MDA, endojen lipit peroksidasyon ürünü olup, üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu ile oluşur (225). Yapılan pek çok çalışma sonucu diyabetiklerde ölçülen MDA düzeyi sağlıklı popülasyona göre daha yüksek tespit edilmiştir.

Egzersiz neden olduğu oksidatif stres bulguları fiziksel egzersizin tipi, ağırlığı ve süresine bağlı olarak farklılık göstermektedir (102, 226, 227). Egzersizin MDA üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda farklı sonuçlar bulunmuştur. Hara ve ark. (228) yüzme egzersizinin sıçanlarda karaciğer, iskelet kası ve beyinde lipit peroksidasyonunu arttırdığını, Temiz ve ark. (229) da sıçanlarda yorucu ve akut egzersizin eritrositte lipit peroksidasyonunda artışa yol açtığını, Semin ve ark. (230) farelerde 60 dakikalık koşu egzersizinin iskelet kasında ve böbrekte lipit peroksidasyonunu arttırdığını bildirmişlerdir. Belviranlı (231) sıçanlar üzerinde yaptığı çalışmada altı hafta boyunca ve haftada beş gün olmak üzere akut (30 m/dk hızda tükeninceye kadar) ve kronik (25 m/dk hızda 45 dakika) yüzme egzersizi uyguladıkları hayvanlarda, plazma MDA düzeylerinin akut egzersiz yapan grupta daha yüksek, kronik egzersiz yapan grupta ise daha düşük olduğunu bildirmektedir. Benzeri bazı araştırmalarda da akut egzersizde plazma, iskelet kası, karaciğer ve akciğer gibi dokularda lipit peroksidasyonunun ve MDA değerlerinin arttığı saptanmıştır (232, 233). Koz ve ark. (234) sıçanlarda periyodik olarak artış gösteren sürelerde (1; 1,5 ve 2 saat) uyguladığı akut yüzme egzersizleri sonucu eritrosit MDA düzeylerinin değişmediğini, kaslardaki MDA düzeylerinin ise arttığını bildirmiş ve maksimal akut yüzme egzersizinin kaslarda lipit peroksidasyonunu artırdığını savunmuştur. Genel olarak literatürde düzenli yapılan egzersizin MDA değerlerini düşürdüğü bilgisi mevcuttur (235-238). Bunun tersine egzersizin MDA düzeyleri üzerine etkisinin olmadığını rapor eden çalışmalar da vardır (9, 239-242).

Birçok çalışmada belirlenen MDA düzeylerine ilişkin farklılığın, ölçüm yöntemlerinin veya uygulanan egzersiz protokollerinin farklılığından

kaynaklanabileceği belirtilmiş olmakla birlikte (243), genel olarak akut egzersizin oksidatif hasarda artışa neden olurken, düzenli kronik egzersizin ters etkileri olduğu gözlenmektedir. Bununla birlikte, oksidatif stres ürünlerinin egzersiz sonrasında artmayabileceği, egzersizi izleyen saatler veya günler sonra maksimal düzeylerine ulaşabileceği bildirilmiştir (102).

Çalışmamızda seçtiğimiz egzersiz protokolü uzun süreli ve şiddeti ılımlı olarak adlandırabileceğimiz, aerobik enerji metabolizmalarını kullanan türdeydi. Akciğerlerde oksidatif stres göstergeleri (MDA, 8-OHdG, OSI) literatür verilerine paralel olarak egzersiz yapan gruplarda daha düşük bulunmuştur. Akciğer hasarı oluşturulan DM'li olan ve olmayan gruplarda oksidatif stres göstergeleri düşük olarak tespit edilmiştir.

STZ ile deneysel diyabet oluşturulan birçok araştırmada diyabetli gruplarda böbrek, karaciğer, pankreas ve plazma dokularında oksidatif stres göstergelerinin arttığı belirtilmiştir (181, 222, 244-249). Diyabetli bireylerde gerçekleştirilen çalışmalarda da plazma ve serum MDA düzeylerinin artmış olduğu bildirilmektedir (182, 250, 251).

Akut veya tüketici egzersizin SOR üretimini artırmasına karşın, düzenli kronik egzersizin antioksidan enzimlerin aktivitesini yükselttiği ve MDA düzeyini azalttığı bildirilmiştir (10, 237). Çalışmamızda da benzer sonuçlar alınmıştır. Akciğer dokusu TAS düzeyleri antrene akciğer hasarı gruplarında (AH ve AH+DM) sedanter gruptakilere göre daha yüksek, MDA düzeyleri ise daha düşük idi (Tablo 4.4., Şekil 4.7.). Bu bulgu düzenli aerobik egzersizin etkisinin antioksidan savunma kapasitelerini artırmış olmasına bağlı olabileceği yorumuna götürmüştür.

Bu konu kapsamında gerçekleştirilen araştırmalarda da benzer bildirimler olduğu görülmektedir. STZ ile DM oluşturulan sıçanlarda sekiz haftalık düzenli koşu bandı antrenmanının böbrekte ve vastus lateralis kasında lipid peroksidasyonunu ve hiperglisemiye azaltmasına karşın, akut egzersizin karaciğer lipid peroksidasyonundaki artışı önleyemediği kaydedilmiştir (252). Radak ve ark. (253), iskelet kası ve karaciğer dokusunda akut egzersizin oksidatif strese yol açtığını, orta

şiddetteki düzenli antrenmanların sağlıklı sıçanlarda antioksidan savunmayı artırdığını ve lipid peroksidasyonu azalttığını bildirmişlerdir. Coşkun ve ark. (254) eritrosit ve pankreas dokusunda orta şiddette egzersizin, STZ ile oluşturulan tip I DM’li sıçanlarda insülin hassasiyetini artırdığı, β hücrelerini koruduğu ve lipid peroksidasyonu azaltıp antioksidan enzim aktivitesini artırarak koruyucu etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Çelik ve ark. (255), futbolcuların kan dokusunda egzersiz sonrası belirledikleri MDA düzeyindeki düşüşün sebebini, antrenmanda antioksidan savunma sistemin güçlenmesine ve oluşan serbest radikal miktarının ve lipid peroksidasyonun azalmasına bağlamışlardır.

Lemos ve ark. (256) yaptıkları çalışmada, kronik egzersiz programındaki DM’li sıçanların serum MDA düzeylerinin düşük, akut egzersiz yaptırdıkları grupta ise yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Francescato ve ark. (257) plazmadan yaptıkları çalışmada üç saatlik aerobik yürüyüş egzersizi sonrasında DM’li ve sağlıklı bireyler arasında oksidatif stres parametreleri açısından anlamlı fark tespit etmemişlerdir.

Diyabetli insanlarda ve deneysel diyabet oluşturulmuş sıçanlar üzerinde gerçekleştirilen birçok çalışmada antioksidan sistem parametre düzeylerinin azaldığı bildirilmiştir. Kuyvenhoven ve Meinders (222), DM’li hastaların eritrositlerinde yüksek oksidatif stres ve SOR miktarı ile paralel olarak GSH değerlerinin düşük olduğunu gözlenmiştir. Molina ve ark. (258), fare karaciğerinde oksidatif strese karşı bir flavonoid türevi olan Quercetin’in etkilerini inceledikleri araştırmada GSH, SOD, CAT ve GPx aktivitelerinde önemli azalma olduğunu saptamışlardır. Abou-Seif ve Youssef (259), diyabetli insanlarda plazmada SOD aktivitesinin ve GSH miktarının azaldığını belirtmişlerdir. Adewole ve ark. (152), oksidatif stresin pankreas β hücrelerinde yarattığı morfolojik değişikliklerin belirlenmesinin amaçlandığı çalışmalarında, STZ ile deneysel diyabet oluşturdukları sıçanlarda plazma SOD, CAT, GPx aktivitelerinin anlamlı düzeylerde azaldığını bildirmişlerdir. Coşkun ve ark. (260) ile Durmuş ve ark. (261) STZ ile DM oluşturulan sıçanlarda pankreas ve retina dokularında antioksidan enzim düzeylerinde azalma gözlendiğini, Mamdouh ve Fatma (262), diyabetiklilerin plazmalarında total antioksidan kapasite düzeyinin %75 oranında düşük olduğunu bildirmişlerdir. Bagri ve ark. (263), STZ ile DM

oluşturulmuş sıçanlarda flavonoid grubundan nar çiçeğinin bazı biyokimyasal parametreler ile enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar üzerine olan etkisinin incelenmesinin amaçlandığı çalışmalarında, DM oluşturulan grubun pankreas dokusunda SOD, CAT, GPx düzeylerinin önemli düzeyde düşük olduğunu kaydetmişlerdir. Abdelmoaty ve ark. (216), STZ ile diyabet oluşturulmuş sıçanlarda Quercetin'in etkilerini belirlemek amacıyla gerçekleştirdikleri çalışmada, diyabet grubunun pankreas dokusunda SOD, GPx ve CAT değerlerinin anlamlı olarak düştüğünü bildirmişlerdir. Arya ve ark. (264) deneysel DM oluşturulmuş sıçanların serumlarında antioksidan enzim düzeylerinin düştüğünü belirtmişlerdir. STZ ile deneysel DM oluşturulmuş hayvanlarda antioksidan kapasitenin düşmesi, DM ile oksidatif stres arasındaki ilişkiyi doğrular niteliktedir.

Diyabette egzersizin antioksidan kapasite üzerindeki etkilerine dair sınırlı sayıda araştırma sonucuna ulaşılabilmektedir. Nazıroğlu ve Butterworth (265), STZ ile diyabet oluşturulan sıçanlarda antrenmanın plazma ve eritrosit GPx, GSH ve CAT düzeylerini önemli ölçüde düşürdüğünü bildirmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada ise DM'li sıçanlarda sekiz haftalık aerobik antrenmanın beyin Cu/Zn- SOD ve GPx aktivitesini yükselttiğini kaydetmişlerdir.

Yukarıda açıklanmış araştırmalarda incelenen dokular ile uygulanan egzersiz tipleri ve sürelerinde farklılıklar olduğu dikkati çekmektedir. Bu farklılıklara bağlı olarak antioksidatif parametre düzeylerine ve aktivitelere ilişkin farklı sonuçlara ulaşılması doğal görünmektedir.

Her ne kadar akut ve yoğun fiziksel egzersiz, inflamatuvar belirteçleri arttırıp, oksidan ve antioksidanlar arasındaki dengeyi bozup, oksidatif stresi arttırırsa da, düzenli egzersiz programları antioksidan savunmayı güçlendirmekte ve oksidatif stresi azaltmaktadır (225). Ayrıca oksidatif stres egzersizin süresinden, sıklığından ve şiddetinden etkilenmektedir. Leelayuwart ve ark. (266) sedanter tip 2 DM'li hastalara sekiz hafta, haftada üç gün, 30 dk süreyle Çin'in geleneksel hafif şiddette aerobik egzersizi olan kol sallama hareketleri yaptırdıkları çalışmalarında kanda HbA_{1c}, MDA düzeylerinde düşme, glutasyon düzeylerinde ise yükselme tespit etmişlerdir. Kaczor ve ark. (267) ise farelere, sekiz hafta boyunca, haftada iki kez,

günde 30 dakika süren koşu bandında egzersiz yaptırmış ve kas dokusu MDA düzeyinde düşme tespit etmişlerdir.

Literatürlerde düzenli egzersizin kas GSH seviyesini nasıl etkilediği ile ilgili çelişkili sonuçlar bulunmaktadır. Powers ve ark. (268) kısa derlemelerinde egzersizin kas GSH seviyelerinde yükselmeye sebep olduğunu belirtmişlerdir. Sen ve ark. (269) sıçanlarda 10 haftalık endurans egzersizi sonrasında gastroknemius, vastus lateralis ve latismus dorside GSH'da bir fark gözlemlenemediklerini, karaciğer dokusunda GSH'da yükselme olduğunu saptamışlardır. Salminen ve Vilko (270) ise egzersizin yavaş kasılan kaslarda (kırmızı vastus) GSH'da artışa neden olduğunu, hızlı kasılan kaslarda ise (beyaz vastus) farklılığa sebep olmadığını bildirmişlerdir. Leeuwenburgh ve ark. (271) sıçanlara sekiz haftalık endurans egzersizi yaptırmışlar ve soleus kasında (yavaş dominant) GSH miktarında ve GSH/GPX oranında azalma olduğunu göstermişlerdir.

Sürekli, ağır ve yorucu egzersizler, organizmada serbest radikal oluşumunu tetikleyen önemli faktörlerdir. Egzersiz sırasında, vücutta artan enerji ihtiyacına bağlı olarak kullanılan O₂ miktarı artmakta, bu durum SOR'un oluşumunda artışa neden olmaktadır (107, 237, 272, 273). Maksimal aerobik egzersiz esnasında tüm vücudun oksijen tüketimi dinlenim durumuna göre 15-20 kat, aktif kaslardaki O₂ tüketimi ise 100 kat kadar artmaktadır. Artmış O₂ tüketimi yanında, egzersizde kasta iskemi oluşması, kalsiyum homeostazisinin bozulması ve ksantin oksidazın katalizlediği reaksiyonlar sonucu SOR üretiminde artışa neden olması oksidatif hasar oluşturabilmektedir (102, 226, 227). Uzun süreli, ağır egzersizlerde oluşan radikaller, iskelet kası ve kalp kası hücre membranlarında hasara, kas kontraktilitesinde ve miyofibril yapısında bozulmaya, ayrıca kan üre, kreatin kinaz, laktat dehidrogenaz aktivitesi gibi bazı biyokimyasal parametrelerde değişikliklere yol açmaktadır (274-277). Bunun yanı sıra ağır egzersizlerde SOR üretebilen nötrofil, monosit ve makrofaj gibi hücrelerin aktivasyonu da söz konusudur (227).

Vücuttaki önemli antioksidanlardan biri olan SOD aktivitesi üzerine egzersizin etkisinin belirlenmesi kapsamında gerçekleştirilen çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Powers ve ark. (278) ile Husain ve Somani (279), treadmill

antrenmanlarının sıçanların kalp dokusunda SOD aktivitesinde artışa neden olduğunu belirtmişlerdir. Burneiko ve ark. (280) da, sıçanlarda sekiz hafta süreyle haftada iki ve beş gün egzersizin karaciğer dokusunda SOD aktivitesinde artışa neden olduğunu göstermişlerdir. Qiao ve ark. (281), antrenmansız sıçanlara uygulanan aralıklı anaerobik yüzme egzersizinin hem iskelet kası hem kalp dokusunda yüksek SOD aktivitesi ile sonuçlandığını rapor etmişlerdir. Lima ve ark. (282) da, Wistar türü sıçanların karaciğerlerinde altı hafta süresince, haftada beş gün ve günlük 60 dakikalık aerobik yüzme egzersizinden sonra uyguladıkları tükenme egzersizi akabinde, SOD aktivitesinde yükselme olduğunu belirtmişlerdir. İnsan ve hayvanlarda yapılan bazı çalışmalarda aerobik egzersizin SOD aktivitesinde artışa neden olduğunu (237, 238, 283, 284) veya farklılık gözlenmediği şeklinde zıt bilgiler mevcuttur (285-287).

Antioksidan savunma sisteminin önemli bir bileşeni olan ve hücre sisteminde membran bütünlüğünün korunmasını sağlayan GSH düzeyi üzerine egzersizin etkisinin araştırıldığı çalışmalarda da çelişkili bildirimler mevcuttur. Venditti ve ark. (288), sıçan karaciğerinde gerçekleştirdikleri çalışmada 10 hafta boyunca haftada beş gün ve süresi giderek artan yüzme programının, GSH aktivitesinde artışa neden olduğunu göstermişlerdir. Araştırmaların bir kısmında egzersizin farklı dokularda GSH düzeylerinde artışa yol açtığı belirtilirken (284, 289-291), bazılarında tersine azalmaya yol açtığı bildirilmiştir (292-295). Lima ve ark. (282), altı haftalık yüzme egzersizinin GSH aktivitesinde SOD aktivitesine benzer şekilde azalmaya yol açtığının bildirmişlerdir. Liu ve ark. (111) sıçanlarda sekiz hafta uygulanan kronik egzersizin kalp dokusu GSH düzeyleri üzerinde farklılığa neden olmadığını, Çolakoğlu ve ark. (296) da plazma GSH düzeylerinde farklılık belirlenmediğini kaydetmişlerdir.

Diyabetiklerde SOR oluşumunun ve lipid peroksidasyonun arttığı, oksidatif stresin DM etiyolojisinde ve komplikasyonlarının şekillenmesinde önemli rolü bulunduğu bilinmektedir (297). 1978'de Dillard ve ark. (298) egzersizin bir lipid peroksidasyon ürünü olan pentan üretimini artırdığını ekspire edilen havada tespit etmişlerdir. Davies ve ark. (232) 1982'de tüketici egzersiz uyguladıkları sıçanlarda SOR üretiminin 2-3 kat arttığını göstermişlerdir. Takip eden yıllarda, tüketici

egzersizle oksidatif stres ürünlerinin arttığı gösterilmiştir (287, 299, 300). Farklı çalışmalarda, düzenli yapılan egzersizin, antioksidan savunma mekanizmalarını güçlendirdiği ortaya konmuştur (301, 302). Deveden ve ark. (303) kas dokusunda yaptıkları çalışmada tüketici egzersiz sonrasında, özellikle üçüncü günde yapılan ölçümlerde oksidatif stres göstergesi parametrelerden MDA'nın antrene bireylerde daha düşük olduğu, antioksidan parametrelerden GSH'ın ise yüksek olduğu saptanmıştır.

Bu çalışmalar, egzersizin akut ve tüketici değil, düzenli ve kişinin kondisyon durumuna göre ayarlanmış bir şiddette yapılmasının daha doğru olduğunu, böylece oluşabilecek oksijen radikallerinin ve oksidatif hasarın artan antioksidan savunma sistemleri ile dengelenmesinin, hatta aşılmasının, yani antioksidan sistemin daha da güçlenmesinin mümkün olabileceğini göstermektedir.

Düzenli fiziksel egzersizin uzun vadede oksidatif stres düzeyini düşürüp antioksidan savunma sistemini güçlendirdiği, yukarıda örneklerini de verdiğimiz birçok çalışma ile ortaya konmuştur. Egzersizin düzensiz, akut ve şiddetli bir yoğunluk ile uygulanması halinde oksidatif stres yükünü artırdığını söylemek mümkündür. Bu anlamda akut ve tüketici bir egzersiz programının DM'li ve akciğer hasarı oluşmuş bireylerde oksidan/antioksidan sistemlere nasıl etki ettiğine dair yapılmış çalışmaya rastlanamamıştır.

Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar, düzenli aerobik egzersiz programının, LPS ile AH oluşturduğumuz sıçan akciğerlerinde oksidatif stres parametrelerinde (MDA, 8OHdG) anlamlı düzeyde azalmaya neden olduğu yönündedir (Tablo 4.4.1., Şekil 4.4.1.). Bu bulgularımız düzenli egzersizin diğer organ ve dokularda oksidatif stresten koruyucu etkisini gösteren çalışmalarla uyumlu gözükmektedir. Ek olarak çalışmamızda TAS sonuçları da düzenli aerobik egzersizin antioksidan savunma mekanizmalarında güçlendirici etkisini göstermektedir (Tablo 4.4.1., Şekil 4.4.2.). Bu da egzersizin antioksidan enzimler, SOD ve GSH üzerinde etkisini gösteren diğer çalışmalarla uyumludur. Ancak çalışmamızda antioksidan enzimlerin değerlendirilmemiş olması bir eksiklik olarak gözükmektedir.

Çalışmamızda akciğer hasarı oluşturma modelinin literatür ile uyumlu olduğu gözlenmektedir. Deney hayvanlarında akciğer hasarı ve ARDS oluşturmakta kullanılan çeşitli metodlar bulunmaktadır (304). Bu yöntemler i.p. LPS enjeksiyonu, intratrakeal HCl, tekrarlayan tuz lavajı, endotoksin infüzyonu, bleomisin, pulmoner iskemi-reperfüzyon ve oleik asitin intravenöz enjeksiyonu olarak sıralanabilir (305-310). Uygulanan bu yöntemler, akciğerlerde alveolo-kapiller membranın yapısının bozulmasına, permeabilite artışına, infiltrasyona, sitokin salınımına, intraalveoler ve interstisyel sıvı artışına, intrapulmoner kan akımında değişikliklere ve bunlara ilave olarak hemorajiye, ventilasyon-perfüzyon oranı bozukluğuna ve hipoksik solunum yetmezliğine neden olurlar (311, 312). İntratrakeal LPS uygulaması yapılan sıçanların akciğerlerinde meydana gelen ARDS'ye benzer doku hasarı ve metabolik değişimler, ARDS çalışmaları için iyi bir deneysel model olduğunu göstermektedir.

Bulmuş ve ark. (313) tarafından sıçanlarda oleik asit ile oluşturulan akciğer hasarı üzerine yapılan bir çalışmada, 100 mg/kg dozda oleik asit uygulanan grubun akciğer dokusunda artan vasküler permeabilite ile birlikte interstisyel ve interalveoler ödem, hemoraji, perivasküler ve intra-alveoler alanlarda hiyalin membranla birlikte interstisyel ve interalveoler mononükleer hücre infiltrasyonu ile karakterize diffüz alveolar hasar görülmüştür. α -lipoik asit verilen grubun akciğerlerinde histolojik olarak normal bir görünüm izlendiği ve minimum düzeyde perivasküler mononükleer hücre infiltrasyonlarının belirlendiği bildirilmiştir.

Kang ve ark. (314) tarafından taurin etkinliğini gösteren bir çalışmada sıçanlara verilen LPS ile oluşturulan akciğer hasarı modelinde, LPS uygulanan gruptaki sıçanların akciğer dokusunda bol sitoplazmalı hiperkromik beyaz kan hücrelerinden oluşan ağır perivasküler ve interstisyel inflamasyon görüldüğü bildirilmiştir.

Çalışmamızda LPS uygulanan gruplara ait akciğer dokularının histopatolojik verileri incelendiğinde literatür bulguları ile paralel olduğu gözlenmektedir.

Egzersiz tüm antrene gruplarda sedanter gruplara göre infiltrasyon, makrofaj birikimi ve perivasküler ödemde azalmaya yol açtığı gözlenmiştir.

Hemoraji skorları açısından ise, gruplar arasındaki ikili karşılaştırmalarda tüm antrene gruplarda azalma gözlenmekle birlikte, egzersizin koruyucu etkisi sadece AH ve DM gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Ancak, alveoler kalınlaşma açısından ikili karşılaştırmalarda egzersizin etkisinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir.

Kollajen artışı açısından gruplar arasında yapılan ikili karşılaştırmalarda da egzersizin koruyucu etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Sedanter gruplarda kaspaz-3 immunreaktivitesi açısından tüm grupların özellikle DM grubunun K gruplarına göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu, antrene gruplar arasında en fazla immünreaktivitenin AH+DM grubunda olduğu görülmüştür. İkili karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı olmasa da egzersizin koruyucu etkisi tüm gruplarda, özellikle DM gruplarında gözlenmektedir. TUNEL pozitif boyanma gösteren hücrelerin sayımı sonucunda elde edilen apoptotik indeks değerlerine göre, sedanter DM grubunda K grubuna göre oldukça belirgin farklılık gözlenmiştir. İkili karşılaştırmalarda sedanter AH grubuna göre antrene AH grubunda artış görülmüştür. DM ve AH+DM grupları üzerinde egzersizin apoptotik indeksi azaltıcı etkisi olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir.

Akciğerlerin histolojik incelemelerinde inflamasyon belirteçleri olan infiltrasyon, makrofaj birikimi, perivasküler ödem ve hemoraji skorlarının genel olarak akciğer hasarı oluşturulan gruplarda DM’li gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı olmasa da daha yüksek olduğu gözlemlendi. Diğer taraftan Kaspaz-3 immun reaktivitesi ve TUNEL boyama skorlarının özellikle DM’li gruplarda daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Bu bulgu kronik bir hastalık olan DM’nin apoptozise zemin hazırladığını düşündürmektedir. Ek olarak apoptozis skorlarının antrene gruplarda istatistiksel olarak anlamlı olmasa da sedanter gruplara göre daha düşük olduğu gözlenmektedir. Bu gözlem istatistiksel olarak önemli farklılık bulunmayışının nedenin deney hayvanı sayısının azlığı olabileceği yorumuna götürmektedir.

Genel olarak histolojik bulgularımız da akciğerlerde egzersizin DM’ye ve LPS ile oluşturulan AH’na karşı koruyucu olduğunu göstermektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda haftada beş gün, günde 60 dakika aerobik antrenmanın sağlıklı ve STZ ile indüklenen tip 1 DM’li deney hayvanlarının akciğerleri ve LPS ile oluşturulmuş akut akciğer hasarı üzerine etkileri biyokimyasal ve histopatolojik yöntemlerle değerlendirilmiştir. Düzenli aerobik egzersizin tip 1 DM’li sıçan akciğerlerinde inflamatuvar ve oksidatif hasara karşı koruyucu etkisi olup olmadığı ve apoptotik süreçteki rolü ile LPS ile oluşturulan akciğer hasarına karşı sağlıklı ve tip 1 DM’li sıçan akciğerlerinde koruyucu etkisi olup olmadığını araştırılmıştır.

Mevcut veriler ışığında, düzenli aerobik egzersiz:

1. Sağlıklı ve STZ ile oluşturulmuş tip 1 DM’li sıçanlarda LPS ile oluşturulan akciğer hasarında oksidatif strese karşı koruyucu etkiye sahiptir.
2. STZ ile oluşturulmuş tip 1 DM’li sıçanlarda LPS ile oluşturulan akciğer hasarında inflamasyona karşı koruyucu etkiye sahiptir.
3. İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte, düzenli aerobik egzersizin:
 - a. STZ ile oluşturulmuş tip 1 DM’li sıçanların akciğerlerinde oksidatif strese ve apoptozise,
 - b. STZ ile oluşturulmuş tip 1 DM’li sıçan akciğerlerinde inflamasyona ve,
 - c. STZ ile oluşturulmuş tip 1 DM’li sıçanlarda LPS ile oluşturulan akciğer hasarında apoptozise karşı koruyucu etkiye sahip olduğu gözükmemektedir.

Bu çalışma, tip 1 DM’de ve akciğer hasarında oluşan oksidatif stres, inflamasyon ve apoptotik süreçte egzersizin etkilerinin incelenebilmesine, düzenli aerobik egzersiz yapanlarda tip 1 DM’de ve akciğer hasarında meydana gelen değişikliklerin histolojik ve biyokimyasal mekanizmalarının daha iyi anlaşılmasına olanak sağlamıştır.

Bunlara ek olarak gerçekleştirilen çalışmanın özgün yanları:

1. Literatürde düzenli egzersizin DM’lilerde akut akciğer hasarına karşı koruyucu etkisinin incelendiği bir çalışma bulunamamıştır. Bilinenler akut akciğer hasarı sonrası bronkoalveoler lavaj (BAL) sıvısından elde edilen verilerdir. Ancak bu verilerin hiç biri DM’lilerde akut akciğer hasarına karşı egzersizin etkisine ait değildir.

2. Benzer şekilde, akut akciğer hasarı sonrasında DM’li ve sağlıklı bireylerde düzenli egzersizin arter kan gazları, kan asit-baz düzeyi belirteçleri ve elektrolit değerlerini üzerine etkisi hakkında da literatür bilgisine ulaşılamamıştır. Deney hayvanlarının sakrifikasyonu sırasında alınan heparinize arter kanı örneklerinde değerlendirilen kan gazları, kan asit-baz düzeyi belirteçleri ve elektrolit değerlerinin belirlenmiş olması önemli bir zgn yanıdır.

Bunlarla birlikte çalışmamız;

a) Antioksidan enzimler SOD, GPX ve CAT aktivitelerinin, protein oksidasyonu düzeylerinin belirlenememiş olması antioksidan savunma ve oksidatif hasar mekanizmalarının değerlendirilmesinde,

b) Gün içinde kademeli kan rneği alınamaması ise akciğer hasarının asit-baz dengesi üzerine etkisinin aydınlatılmasında yetersiz kalmıştır.

Bu eksikliklerin dikkate alınması suretiyle gerçekleştirilecek ileri çalışmalar, önemli bir toplum sağlığı problemi olan tip 1 DM’de akut akciğer hasarına bağlı komplikasyonların engellenmesinde ve tedavi edici planlamaların oluşturulmasında katkı sağlayabilecektir.

7. ÖZET

Deneysel Tip 1 Diabetes Mellitus'ta Aerobik Egzersizin Lipopolisakkarit ile Hasar Oluşturulmuş Sıçan Akciğerleri Üzerine Etkisi.

Dünyadaki önemli sağlık problemlerinden olan diyabetes mellitus (DM), hiperglisemi ile karakterize, insülin salgılanmasında ve/veya etki mekanizmasında bozukluk neticesinde oluşan yaygın metabolizma hastalığıdır. Hiperglisemi, glukoz oksidasyonuna, proteinlerin nonenzimatik glikasyonuna ve oksidatif yıkımlarına neden olur. Oksidatif stres, DM ve komplikasyonlarının gelişimini, ilerlemesini hızlandırırken, antioksidan savunma mekanizmaları enzimatik ve/veya non-enzimatik etkileri ile dokuları ve hücreleri oksidatif hasardan korur.

Alveolo-kapiller geçirgenlikte artmaya bağlı olarak ortaya çıkan klinik ve postoperatif birçok hastalıkta gözlenmekte olan akut akciğer hasarına akut sıkıntılı solunum sendromu (ARDS) denir. DM'nin neden olduğu endotel hasarı ile tüm dokularda inflamasyona ve oksidatif strese neden olduğu bilinmektedir. Bu nedenle DM'li hastalarda ARDS riski daha fazladır.

Düzenli egzersizin birçok hastalığın önlenmesinde yararlı olduğu bilinmektedir. Egzersizin antiinflamatuvar ve antioksidan etkileri tanımlanmış olmakla birlikte Tip 1 DM'de akciğer hasarı üzerine etkileri hakkında literatürde çok az çalışma bulunmaktadır.

Bu araştırma, düzenli aerobik egzersizin, tip 1 diyabetes mellituslu sıçan akciğerlerinde inflamatuvar ve oksidatif hasara karşı koruyucu etkisi olup olmadığını ve apoptotik süreçteki rolünü; lipopolisakkarit ile oluşturulan akciğer hasarına karşı sağlıklı ve tip 1 diyabetes mellituslu sıçan akciğerlerinde koruyucu etkisi olup olmadığını araştırmak amacıyla gerçekleştirilmiştir.

Çalışmada 12 haftalık Wistar Albino türü erkek sıçanlar, sedanter ve antrene olarak iki ana gruba ayrıldı. Bu iki ana grup kontrol (n=6), akciğer hasarı (n=6), diyabetes mellitus (n=6) ve akciğer hasarı+diyabetes mellitus (n=6) olmak üzere 4 alt

gruba ayrıldı. Antrenmanlı gruptaki hayvanlara artımlı yük testi ile belirlenen protokol çerçevesinde 12 hafta boyunca, haftada beş gün, günde bir saat egzersiz yaptırıldı. Akciğer hasarı gruplarında yer alan hayvanlara intratrakeal yoldan sakrifikasyondan 24 saat önce lipopolisakkarit (LPS) verildi. Karotis arterinden alınan kan arter kanı örneklerinden kan gazları, asit-baz dengesi belirteçleri ve elektrolitler ölçüldü. Sol akciğer homojenatlarında 8-hidroksi-2'deoksiguanozin, malondialdehit, total oksidan status, total antioksidan status fotometrik yöntemlerle ölçüldü, oksidatif stres indeksi hesaplandı. Histopatolojik ve apoptozis belirteçleri için doku örnekleri sağ akciğerlerden alındı.

Bulgularımız, düzenli aerobik egzersizin tip 1 DM'li sıçanların akciğerlerinde, sağlıklı ve tip 1 DM'li sıçanlarda LPS ile oluşturulan akciğer hasarında oksidatif stres ve inflamasyona karşı koruyucu etkiye sahip olduğunu gösterir niteliktedir.

Anahtar Sözcükler: Akut Akciğer Hasarı, Akut Sıkıntılı Solunum Sendromu, Egzersiz, Oksidatif Stres, Serbest Oksijen Radikalleri, Tip 1 Diyabetes Mellitus.

8. ABSTRACT

The Effect of Aerobic Exercise in Type 1 Diabetes Mellitus on Lipopolysaccharide induced Rat Lung injury

Diabetes mellitus (DM) is one of the most critical health problems throughout the world which is characterised by hyperglycemia, a failure in insulin secretion or in its mechanism of action. Hyperglycemia leads to glucose oxidation, non-enzymatic glycation of proteins and their oxidative degradation. Oxidative stress precipitates, the development of DM and its complications while enzymatic and non-enzymatic antioxidant defense mechanism protects the cells and tissues from oxidative injury.

Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS), manifests itself in lots of clinical conditions which show up with an increase in alveolo-capillary permeability. It has been known that; the endothelial injury induced by DM causes a diffuse inflammation and oxidative stress in all tissues. Because of that, the risk of ARDS is higher in diabetic patients.

Regular exercise have beneficial effects on preventing lots of diseases. The anti-inflammatory and anti-oxidant effects of exercise is a well known fact but, there are few studies in literature about the effect of exercise on the lung injury in type 1 diabetics.

This study aims to investigate if regular aerobic exercise has a protective effect against the inflammatory and oxidative injury in the lungs of Type 1 diabetic rats, also aims to define the role of exercise in apoptosis and also aims to examine if there is any protective effect against lipopolysaccharide induced lung injury in diabetic and non-diabetic rat lungs.

12 week old, male, Wistar albino rats were randomly divided into two groups named as “Sedantary” and “Training”. There two main groups were divided into four subgroups labeled as Control (n=6), Lung Injury (n=6), Diabetes mellitus (n=6),

Diabetes mellitus+Lung Injury (n=6). The exercise protocol applied to the animals in training group along 12 weeks, five days per week, one hour per day; is designated according to the results of incremental load test. Lung injury was induced by intratracheal lipopolysaccharide (LPS) injection, 24 hours prior to sacrifice. Blood gases, acid/base balance markers and electrolytes were measured in the blood samples taken from carotid artery. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine and malondialdehyde concentration and total oxidant status, total antioxidant status were determined by photometric assays in left lung homogenisates and oxidative stress index was calculated according to this data. The tissue samples taken from right lungs of animals were used to assess histopathologic and apoptotic markers.

Our results indicate that, regular exercise has a protective effect in both diabetic and non-diabetic rat lungs, against oxidative stress and inflammation which are seen in LPS induced lung injury.

Key Words: Acute Lung Injury, Acute Respiratory Distress Syndrome, Exercise, Free Oxygen Radicals, Oxidative Stress, Type 1 Diabetes Mellitus

KAYNAKLAR

1. Satman İ, Grubu TÇ. TURDEP-II Çalışması ilk sonuçlar, 32. TEMH Kongresi. 2010;13:17.
2. International Diabetes F. Five questions on the IDF Diabetes Atlas. *Diabetes Res Clin Pract.* 2013;102(2):147-8.
3. Satman I, Yilmaz T, Sengül A, Salman S, Salman F, Uygur S, et al. Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: results of the turkish diabetes epidemiology study (TURDEP). *Diabetes care.* 2002;25(9):1551-6.
4. Nassis GP, Papantakou K, Skenderi K, Triandafilopoulou M, Kavouras SA, Yannakoulia M, et al. Aerobic exercise training improves insulin sensitivity without changes in body weight, body fat, adiponectin, and inflammatory markers in overweight and obese girls. *Metabolism-Clinical and Experimental.* 2005;54(11):1472-9.
5. Packer L. Oxidants, antioxidant nutrients and the athlete. *Journal of sports sciences.* 1997;15(3):353-63.
6. Deaton CM, Marlin DJ. Exercise-associated oxidative stress. *Clinical Techniques in Equine Practice.* 2003;2(3):278-91.
7. Urso ML, Clarkson PM. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicology.* 2003;189(1-2):41-54.
8. Prior RL, Wu X, Schaich K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of agricultural and food chemistry.* 2005;53(10):4290-302.
9. Quindry JC, Stone WL, King J, Broeder CE. The effects of acute exercise on neutrophils and plasma oxidative stress. *Medicine & Science in Sports & Exercise.* 2003;35(7):1139-45.
10. Volvaard NB, Shearman JP, Cooper CE. Exercise-induced oxidative stress. *Sports medicine.* 2005;35(12):1045-62.
11. Finaud J, Lac G, Filaire E. Oxidative stress. *Sports medicine.* 2006;36(4):327-58.
12. Dempsey JC, Sorensen TK, Williams MA, Lee I-M, Miller RS, Dashow EE, et al. Prospective study of gestational diabetes mellitus risk in relation to maternal recreational physical activity before and during pregnancy. *American journal of epidemiology.* 2004;159(7):663-70.
13. Kim S, Love F, Quistberg DA, Shea JA. Association of health literacy with self-management behavior in patients with diabetes. *Diabetes care.* 2004;27(12):2980-2.

14. Sigal RJ, Kenny GP, Wasserman DH, Castaneda-Sceppa C. Physical activity/exercise and type 2 diabetes. *Diabetes care*. 2004;27(10):2518-39.
15. Marwick TH, Hordern MD, Miller T, Chyun DA, Bertonni AG, Blumenthal RS, et al. Exercise training for type 2 diabetes mellitus. Impact on cardiovascular risk. A scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*. 2009.
16. Chimen M, Kennedy A, Nirantharakumar K, Pang T, Andrews R, Narendran P. What are the health benefits of physical activity in type 1 diabetes mellitus? A literature review. *Diabetologia*. 2012;55(3):542-51.
17. Gleeson-Kreig JM. Self-monitoring of physical activity. *The Diabetes Educator*. 2006;32(1):69-77.
18. Van de Maele I, Rogier N, Daminet S. Retrospective study of owners' perception on home monitoring of blood glucose in diabetic dogs and cats. *The Canadian Veterinary Journal*. 2005;46(8):718.
19. Öntürk H, Özbek H. Deneysel diyabet oluşturulması ve kan şeker seviyesinin ölçülmesi. *Genel Tıp Dergisi*. 2007;17(4):231-6.
20. West IC. Radicals and oxidative stress in diabetes. *Diabetic Medicine*. 2000;17(3):171-80.
21. Peschke E, Ebelt H, Brömme H-J, Peschke D. 'Classical' and 'new' diabetogens—comparison of their effects on isolated rat pancreatic islets in vitro. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*. 2000;57(1):158-64.
22. Kök D. Deneysel diyabet oluşturulan ratların böbrek dokusu oksidan ve antioksidan durumu üzerine likopenin etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Van. 2011.
23. Ekim A. Tip 1 diyabetli çocukların yaş dönemlerine göre insülin uygulama becerileri. *Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İstanbul*. 2007:55-6.
24. Lakhtakia R. The history of diabetes mellitus. *Sultan Qaboos University Medical Journal*. 2013;13(3):368.
25. Sodeman W. TM: Sodeman's Pathologic Physiology mechanisms of disease. Çevirenleri: V Cesur, N Kemal.1.
26. Hatemi H. Diabetes mellitusun tarihçesi. *Aktüel tıp dergisi*. 1996;7:497-9.
27. Diabet BN. Metabolizma Hastalıkları. *Türk Diabet ve Obezite Vakfı Yayınları*. 1999;1:57-73.
28. Yenigün M, Ener N. Diabetes mellitus' un tarihçesi. İn: Yenigün M, Altuntaş Y, editörler Her yönüyle diabetes mellitus 2inci baskı İstanbul: Nobel tıp kitabevi. 2001:3-6.
29. Yenigün M. Her yönü ile diabetes mellitus: Haseki Hastanesi Vakfı yayını; 1995.
30. Williams G, Pickup J. Diyabet el kitabı. 3. baskı. Blackwell Publishing, S; 2004.

31. Scheuermann-Freestone M, Madsen PL, Manners D, Blamire AM, Buckingham RE, Styles P, et al. Abnormal cardiac and skeletal muscle energy metabolism in patients with type 2 diabetes. *Circulation*. 2003;107(24):3040-6.
32. Yang W, Lu J, Weng J, Jia W, Ji L, Xiao J, et al. Prevalence of diabetes among men and women in China. *New England Journal of Medicine*. 2010;362(12):1090-101.
33. Tanyeri F. Diabetes Mellitusun sınıflandırılması ve prevalansı. *Aktüel tıp dergisi*. 1996;7:500-3.
34. Federation ID. IDF diabetes atlas. Brussels: International Diabetes Federation. 2013.
35. Altan N, Dinçel A, Koca C. Diabetes mellitus and oxidative stress. *Tr Biokim Derg*. 2006;31(2):51-6.
36. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/index.html>. Accessed April. 2011.
37. Atlas ID. International Diabetes Federation, 2013. ISBN 2930229853. 2015:7.
38. Abbas AK, Fausto N, Mitchell RN, Kumar V. Robbins Patologia Básica: Elsevier Brasil; 2008.
39. Association AD. Diagnosis and classification of diabetes Mellitus—2014. *Diabetes care*. 2014;37(Supplement 1):S81-S90.
40. Group MoDMUW. VA/DoD clinical practice guideline for the management of diabetes mellitus. Version; 2010.
41. Green A, Sjølie AK, Eshøj O. Trends in the epidemiology of IDDM during 1970–2020 in Fyn County, Denmark. *Diabetes Care*. 1996;19(8):801-6.
42. Morales A, She J, Schatz D. Genetics of Type 1 Diabetes. *Pediatric Endocrinology*. 2004;1:403-10.
43. Yılmaz C, Yılmaz MT, İmamoğlu Ş, Akalın S, Aslan M, Başkal N. Diabetes Mellitus 2000. Gri Tasarım, İstanbul. 2000:73-84.
44. Association AD. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*. 2010;33(Suppl 1):S62.
45. Bilous R, Donnelly R. Handbook of diabetes: John Wiley & Sons; 2010.
46. Jahromi MM, Eisenbarth GS. Cellular and molecular pathogenesis of type 1A diabetes. *Cellular and molecular life sciences*. 2007;64(7-8):865.
47. Lazzarotto F, Basso D, Plebani M, Moscon A, Zanchetta R, Betterle C. Celiac disease and type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2003;26(1):248-9.
48. Association AD. Standards of medical care in diabetes—2011. *Diabetes care*. 2011;34(Suppl 1):S11.

49. Chatzigeorgiou A, Halapas A, Kalafatakis K, Kamper E. The use of animal models in the study of diabetes mellitus. *In Vivo*. 2009;23(2):245-58.
50. Srinivasan K, Ramarao P. Animal models in type 2 diabetes research: an overview. *Indian Journal of Medical Research*. 2007;125(3):451.
51. Lenzen S. The mechanisms of alloxan-and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*. 2008;51(2):216-26.
52. King AJ. The use of animal models in diabetes research. *British journal of pharmacology*. 2012;166(3):877-94.
53. Now DA. an initiative of the World Health Organization and the International Diabetes Federation. Geneva: World Health Organization. 2004.
54. Kayaalp SO. Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. 2. cilt: Hacettepe-Taş Kitapçılık Limited Şti.; 2000.
55. Altuntaş Y. Diabetes mellitus' un tanımı, tanısı ve sınıflaması. İn: Yenigün M, Altuntaş Y, editörler Her yönüyle diabetes mellitus 2inci baskı İstanbul: Nobel tıp kitabevi. 2001:51-62.
56. Beers MH BR. The Merck manual of diagnosis and therapy. . 2002: s.165-85.
57. Kühl C. Insulin secretion and insulin resistance in pregnancy and GDM: implications for diagnosis and management. *Diabetes*. 1991;40(Supplement 2):18-24.
58. Ryan EA, Imes SI, Liu D, McManus R, Finegood DT, Polonsky KS, et al. Defects in insulin secretion and action in women with a history of gestational diabetes. *Diabetes*. 1995;44(5):506-12.
59. Pallardo F, Herranz L, Garcia-Ingelmo T, Grande C, Martin-Vaquero P, Janez M, et al. Early postpartum metabolic assessment in women with prior gestational diabetes. *Diabetes Care*. 1999;22(7):1053-8.
60. Onat T, Emerk K, Sözmén E. İnsan biyokimyası. Palme yayıncılık. 2006;666.
61. Reece EA, Leguizamón G, Wiznitzer A. Gestational diabetes: the need for a common ground. *The Lancet*. 2009;373(9677):1789-97.
62. Coustan DR, Lowe LP, Metzger BE, Dyer AR. The Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome (HAPO) study: paving the way for new diagnostic criteria for gestational diabetes mellitus. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*. 2010;202(6):654. e1-. e6.
63. Çetin HN, Flock T. Genel kondüsyon antremanı ve sporda performans kontrolü: Hakan Basın Yayın Dağıtım; 2011.
64. Brønnum-Hansen H, Juel K, Davidsen M, Sørensen J. Impact of selected risk factors on expected lifetime without long-standing, limiting illness in Denmark. *Preventive medicine*. 2007;45(1):49-53.

65. Mokdad AH, Marks JS, Stroup DF, Gerberding JL. Actual causes of death in the United States, 2000. *Jama*. 2004;291(10):1238-45.
66. McArdle WD, Katch FI, Katch VL. Exercise physiology: nutrition, energy, and human performance: Lippincott Williams & Wilkins; 2010.
67. Guyton AC, Hall JE, Çavuşoğlu H, Yeğen BÇ, Aydın Z, Alican İ. Tıbbi fizyoloji: Nobel Tıp Kitabevleri; 2007.
68. LB R. Exercise Physiology. 1990:Chapter 46,1-29.
69. Astrand P-O. JB Wolffe Memorial Lecture." Why exercise?". *Medicine and science in sports and exercise*. 1992;24(2):153-62.
70. Foss ML, Keteyian SJ. Fox's physiological basis for exercise and sport: William C. Brown; 1998.
71. McArdle W, Katch FI, Katch VL. Essentials of exercise physiology. Lippincott & Williams. It was a typical winters evening, cold; 2000.
72. Akgün NE, Fizyolojisi S. Ege Üniversitesi Basımevi, 5. Baskı, İzmir. 1994.
73. McKardle W, Katch FI, Katch VL. Essentials of exercise physiology. Lippincott & Williams. It was a typical winters evening, cold; 2000.
74. Cooper CB, Storer TW. Egzersiz testleri ve yorumu. A Kayserilioğlu ve H Çavuşoğlu, Yüce Yayınları, İstanbul. 2003.
75. Dalleck L, Dalleck A. The ACSM exercise intensity guidelines for cardiorespiratory fitness: why the misuse? *Journal of Exercise Physiology Online*. 2008;11(4).
76. Çolakoğlu M. Dayanıklılık Gelişiminin Metabolik ve Fizyolojik Temelleri-1. CBÜ Beden Eğitimi ve Spor Bilimleri Dergisi. 1995;1(1):34-45.
77. Fox EL, Bowers RW, Foss ML, Cerit M, Yaman H. Beden eğitimi ve sporun fizyolojik temelleri: Bağırhan Yayınevi; 1999.
78. Goodyear LJ, King PA, Hirshman MF, Thompson CM, Horton ED, Horton ES. Contractile activity increases plasma membrane glucose transporters in absence of insulin. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*. 1990;258(4):E667-E72.
79. Roy D, Marette A. Exercise induces the translocation of GLUT4 to transverse tubules from an intracellular pool in rat skeletal muscle. *Biochemical and biophysical research communications*. 1996;223(1):147-52.
80. Leitzmann MF, Park Y, Blair A, Ballard-Barbash R, Mouw T, Hollenbeck AR, et al. Physical activity recommendations and decreased risk of mortality. *Archives of internal medicine*. 2007;167(22):2453-60.

81. O'Donovan G, Blazevich AJ, Boreham C, Cooper AR, Crank H, Ekelund U, et al. The ABC of Physical Activity for Health: a consensus statement from the British Association of Sport and Exercise Sciences. *Journal of sports sciences*. 2010;28(6):573-91.
82. Schachter CL, Busch AJ, Peloso PM, Sheppard MS. Effects of short versus long bouts of aerobic exercise in sedentary women with fibromyalgia: a randomized controlled trial. *Physical Therapy*. 2003;83(4):340-58.
83. Altena TS, Michaelson JL, Ball SD, Guilford BL, Thomas TR. Lipoprotein subfraction changes after continuous or intermittent exercise training. *Medicine and science in sports and exercise*. 2006;38(2):367-72.
84. Eriksen L, Dahl-Petersen I, Haugaard SB, Dela F. Comparison of the effect of multiple short-duration with single long-duration exercise sessions on glucose homeostasis in type 2 diabetes mellitus. *Diabetologia*. 2007;50(11):2245-53.
85. Murphy MH, Nevill AM, Neville C, Biddle S, Hardman AE. Accumulating brisk walking for fitness, cardiovascular risk, and psychological health. 2002.
86. DeBusk RF, Stenestrand U, Sheehan M, Haskell WL. Training effects of long versus short bouts of exercise in healthy subjects. *American Journal of Cardiology*. 1990;65(15):1010-3.
87. Gill J, Murphy MH, Hardman AE. Postprandial lipemia: effects of intermittent versus continuous exercise. *Medicine and science in sports and exercise*. 1998;30(10):1515-20.
88. Baynard T, Franklin RM, Goulopoulou S, Carhart R, Kanaley JA. Effect of a single vs multiple bouts of exercise on glucose control in women with type 2 diabetes. *Metabolism-Clinical and Experimental*. 2005;54(8):989-94.
89. Miyashita M, Burns SF, Stensel DJ. Exercise and postprandial lipemia: effect of continuous compared with intermittent activity patterns—. *The American journal of clinical nutrition*. 2006;83(1):24-9.
90. Murphy MH, Nevill AM, Hardman AE. Different patterns of brisk walking are equally effective in decreasing postprandial lipaemia. *International journal of obesity*. 2000;24(10):1303.
91. Ebisu T. Splitting the distance of endurance running: on cardiovascular endurance and blood lipids. *Research of physical education*. 1985;30(1):37-43.
92. Murtagh EM, Boreham CA, Nevill A, Hare LG, Murphy MH. The effects of 60 minutes of brisk walking per week, accumulated in two different patterns, on cardiovascular risk. *Preventive medicine*. 2005;41(1):92-7.
93. Quinn TJ, Klooster JR, Kenefick RW. Two short, daily activity bouts vs. one long bout: are health and fitness improvements similar over twelve and twenty-four weeks? *Journal of Strength and Conditioning Research*. 2006;20(1):130.

94. Durstine JL, Grandjean PW, Cox CA, Thompson PD. Lipids, lipoproteins, and exercise. *Journal of Cardiopulmonary Rehabilitation and Prevention*. 2002;22(6):385-98.
95. Cunha FA, Midgley AW, McNaughton LR, Farinatti PT. Effect of continuous and intermittent bouts of isocaloric cycling and running exercise on excess postexercise oxygen consumption. *Journal of science and medicine in sport*. 2016;19(2):187-92.
96. Kearney TM, Murphy MH, Davison GW, O'Kane MJ, Gallagher AM. Accumulated brisk walking reduces arterial stiffness in overweight adults: evidence from a randomized control trial. *Journal of the American Society of Hypertension*. 2014;8(2):117-26.
97. Zhou Z, He Z, Yuan M, Yin Z, Dang X, Zhu J, et al. Longer rest intervals do not attenuate the superior effects of accumulated exercise on arterial stiffness. *European journal of applied physiology*. 2015;115(10):2149-57.
98. Zheng L, Zhang X, Zhu W, Chen X, Wu H, Yan S. Acute effects of moderate-intensity continuous and accumulated exercise on arterial stiffness in healthy young men. *European journal of applied physiology*. 2015;115(1):177-85.
99. Osei-Tutu KB, Campagna PD. The effects of short-vs. long-bout exercise on mood, VO_{2max} , and percent body fat. *Preventive medicine*. 2005;40(1):92-8.
100. Child RB, Wilkinson DM, Fallowfield JL, Donnelly AE. Elevated serum antioxidant capacity and plasma malondialdehyde concentration in response to a simulated half-marathon run. *Medicine and science in sports and exercise*. 1998;30(11):1603-7.
101. Aslan R. Egzersize Bağlı Lipit Peroksidasyonu ve Antioksidan Statü Çalışmalarında Sonuçlara Etkili Faktörler. *Spor Hek Derg*. 1996;31(4):145-52.
102. Cooper C, Volvaard NB, Choueiri T, Wilson M. Exercise, free radicals and oxidative stress. Portland Press Limited; 2002.
103. Alessio HM, Goldfarb AH. Lipid peroxidation and scavenger enzymes during exercise: adaptive response to training. *Journal of Applied Physiology*. 1988;64(4):1333-6.
104. Radák Z, Naito H, Kaneko T, Tahara S, Nakamoto H, Takahashi R, et al. Exercise training decreases DNA damage and increases DNA repair and resistance against oxidative stress of proteins in aged rat skeletal muscle. *Pflügers Archiv*. 2002;445(2):273-8.
105. Hill E, Zack E, Battaglini C, Viru M, Viru A, Hackney A. Exercise and circulating cortisol levels: the intensity threshold effect. *Journal of endocrinological investigation*. 2008;31(7):587-91.
106. Prior RL, Cao G. In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. *Bio-Assays for Oxidative Stress Status*: Elsevier; 2001. p. 39-47.

107. Alessio HM. Exercise-induced oxidative stress. *Medicine and science in sports and exercise*. 1993;25(2):218-24.
108. Sen CK, Atalay M, Hanninen O. Exercise-induced oxidative stress: glutathione supplementation and deficiency. *Journal of Applied Physiology*. 1994;77(5):2177-87.
109. Sen CK. Oxidants and antioxidants in exercise. *Journal of applied physiology*. 1995;79(3):675-86.
110. Ji L. Oxidative stress during exercise: implication of antioxidant nutrients. *Free Radical Biology and Medicine*. 1995;18(6):1079-86.
111. Liu J, Yeo HC, Overvik-Douki E, Hagen T, Doniger SJ, Chu DW, et al. Chronically and acutely exercised rats: biomarkers of oxidative stress and endogenous antioxidants. *Journal of Applied Physiology*. 2000;89(1):21-8.
112. Di Massimo C, Scarpelli P, Penco M, Tozzi-Ciancarelli M. Possible involvement of plasma antioxidant defences in training-associated decrease of platelet responsiveness in humans. *European journal of applied physiology*. 2004;91(4):406-12.
113. Radák Z, Sasvári M, Nyakas C, Pucsok J, Nakamoto H, Goto S. Exercise preconditioning against hydrogen peroxide-induced oxidative damage in proteins of rat myocardium. *Archives of biochemistry and biophysics*. 2000;376(2):248-51.
114. MacIntyre DL, Reid WD, McKenzie DC. Delayed muscle soreness. *Sports Medicine*. 1995;20(1):24-40.
115. Radak Z, Chung HY, Goto S. Exercise and hormesis: oxidative stress-related adaptation for successful aging. *Biogerontology*. 2005;6(1):71-5.
116. Pedersen B. Body mass index-independent effect of fitness and physical activity for all-cause mortality. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*. 2007;17(3):196-204.
117. Pedersen BK. Muscles and their myokines. *Journal of Experimental Biology*. 2011;214(2):337-46.
118. Tuomilehto J, Lindström J, Eriksson JG, Valle TT, Hämäläinen H, Ilanne-Parikka P, et al. Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *New England Journal of Medicine*. 2001;344(18):1343-50.
119. Paffenbarger RS, Lee IM, Leung R. Physical activity and personal characteristics associated with depression and suicide in American college men. *Acta Psychiatrica Scandinavica*. 1994;89(s377):16-22.
120. Rovio S, Kåreholt I, Helkala E-L, Viitanen M, Winblad B, Tuomilehto J, et al. Leisure-time physical activity at midlife and the risk of dementia and Alzheimer's disease. *The Lancet Neurology*. 2005;4(11):705-11.

121. Nocon M, Hiemann T, Müller-Riemenschneider F, Thalau F, Roll S, Willich SN. Association of physical activity with all-cause and cardiovascular mortality: a systematic review and meta-analysis. *European Journal of Cardiovascular Prevention & Rehabilitation*. 2008;15(3):239-46.
122. Wolin KY, Yan Y, Colditz GA, Lee I. Physical activity and colon cancer prevention: a meta-analysis. *British journal of cancer*. 2009;100(4):611.
123. Monninkhof EM, Elias SG, Vlems FA, van der Tweel I, Schuit AJ, Voskuil DW, et al. Physical activity and breast cancer: a systematic review. *Epidemiology*. 2007;18(1):137-57.
124. Diamant M, Tushuizen ME. The metabolic syndrome and endothelial dysfunction: common highway to type 2 diabetes and CVD? *Current diabetes reports*. 2006;6(4):279-86.
125. Komulainen P, Pedersen M, Hänninen T, Bruunsgaard H, Lakka TA, Kivipelto M, et al. BDNF is a novel marker of cognitive function in ageing women: the DR's EXTRA Study. *Neurobiology of learning and memory*. 2008;90(4):596-603.
126. Richardson LC, Pollack LA. Therapy insight: influence of type 2 diabetes on the development, treatment and outcomes of cancer. *Nature Reviews Clinical Oncology*. 2005;2(1):48.
127. Joslin EP. The treatment of diabetes mellitus. *Southern Medical Journal*. 1948;41(4):386.
128. Hardin DS, Azzarelli B, Edwards J, Wigglesworth J, Maianu L, Brechtel G, et al. Mechanisms of enhanced insulin sensitivity in endurance-trained athletes: effects on blood flow and differential expression of GLUT 4 in skeletal muscles. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1995;80(8):2437-46.
129. King D, Dalsky G, Staten M, Clutter W, Van Houten D, Holloszy J. Insulin action and secretion in endurance-trained and untrained humans. *Journal of Applied Physiology*. 1987;63(6):2247-52.
130. Lohmann D, Liebold F, Heilmann W, Senger H, Pohl A. Diminished insulin response in highly trained athletes. *Metabolism-Clinical and Experimental*. 1978;27(5):521-4.
131. Vestergaard H, Andersen P, Lund S, Schmitz O, Junker S, Pedersen O. Pre-and posttranslational upregulation of muscle-specific glycogen synthase in athletes. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 1994;266(1):E92-E101.
132. Seals D, Hagberg J, Allen W, Hurley B, Dalsky G, Ehsani A, et al. Glucose tolerance in young and older athletes and sedentary men. *Journal of Applied Physiology*. 1984;56(6):1521-5.
133. Borghouts L, Keizer H. Exercise and insulin sensitivity: a review. *International journal of sports medicine*. 2000;21(01):1-12.
134. Mikines KJ, Sonne B, Farrell P, Tronier B, Galbo H. Effect of physical exercise on sensitivity and responsiveness to insulin in humans. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*. 1988;254(3):E248-E59.

135. Bogardus C, Thuillez P, Ravussin E, Vasquez B, Narimiga M, Azhar S. Effect of muscle glycogen depletion on in vivo insulin action in man. *The Journal of clinical investigation*. 1983;72(5):1605-10.
136. Young JC, Enslin J, Kuca B. Exercise intensity and glucose tolerance in trained and nontrained subjects. *Journal of applied physiology*. 1989;67(1):39-43.
137. Björnholm M, Kawano Y, Lehtihel M, Zierath JR. Insulin receptor substrate-1 phosphorylation and phosphatidylinositol 3-kinase activity in skeletal muscle from NIDDM subjects after in vivo insulin stimulation. *Diabetes*. 1997;46(3):524-7.
138. Goodyear LJ, Giorgino F, Sherman LA, Carey J, Smith RJ, Dohm GL. Insulin receptor phosphorylation, insulin receptor substrate-1 phosphorylation, and phosphatidylinositol 3-kinase activity are decreased in intact skeletal muscle strips from obese subjects. *The Journal of clinical investigation*. 1995;95(5):2195-204.
139. Kim Y, Inoue T, Nakajima R, Nakae K, Tamura T, Tokuyama K, et al. Effects of endurance training of gene expression on insulin signal transduction pathway. *Biochemical and biophysical research communications*. 1995;210(3):766-73.
140. Davis RJ. The mitogen-activated protein kinase signal transduction pathway. *Journal of Biological Chemistry*. 1993;268:14553-.
141. MÅrin P, Andersson B, Krotkiewski M, Björntorp P. Muscle fiber composition and capillary density in women and men with NIDDM. *Diabetes care*. 1994;17(5):382-6.
142. Andersen P, Henriksson J. Capillary supply of the quadriceps femoris muscle of man: adaptive response to exercise. *The Journal of physiology*. 1977;270(3):677-90.
143. Allenberg K, Johansen K, Saltin B. Skeletal Muscle Adaptations to Physical Training in Type II (Non-insulin-dependent) Diabetes Mellitus. *Journal of Internal Medicine*. 1988;223(4):365-73.
144. Houmard JA, Shinebarger MH, Dolan PL, Leggett-Frazier N, Bruner R, McCammon M, et al. Exercise training increases GLUT-4 protein concentration in previously sedentary middle-aged men. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*. 1993;264(6):E896-E901.
145. Houmard JA, Hickey M, Tyndall GL, Gavigan KE, Dohm GL. Seven days of exercise increase GLUT-4 protein content in human skeletal muscle. *Journal of applied physiology*. 1995;79(6):1936-8.
146. Gulve EA, Spina RJ. Effect of 7-10 days of cycle ergometer exercise on skeletal muscle GLUT-4 protein content. *Journal of Applied Physiology*. 1995;79(5):1562-6.

147. Hughes VA, Fiatarone MA, Fielding RA, Kahn BB, Ferrara CM, Shepherd P, et al. Exercise increases muscle GLUT-4 levels and insulin action in subjects with impaired glucose tolerance. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*. 1993;264(6):E855-E62.
148. Dela F, Ploug T, Handberg A, Petersen LN, Larsen JJ, Mikines KJ, et al. Physical training increases muscle GLUT4 protein and mRNA in patients with NIDDM. *Diabetes*. 1994;43(7):862-5.
149. Diplock A. Healthy lifestyles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients. ILSI Europe concise monograph series. 1998;59.
150. Sayılan G. Streptozotosin ile diyabet geliştirilmiş sıçanlarda L-karnitin protein oksidasyonu üzerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi, Edirne, 2008.
151. Valko M, Rhodes C, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*. 2006;160(1):1-40.
152. Adewole SO, Caxton-Martins EA, Ojewole JA. Protective effect of quercetin on the morphology of pancreatic β -cells of streptozotocin-treated diabetic rats. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*. 2007;4(1):64-74.
153. Yılmaz İ. Antioksidan içeren bazı gıdalar ve oksidatif stres. *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi*. 2010;17(2).
154. Del RM. An approach to free radicals in medicine and biology. *Acta Physiologica Scandinavica Supplementum*. 1980;492:153-68.
155. Halliwell B. Free radicals, reactive oxygen species and human disease: a critical evaluation with special reference to atherosclerosis. *British journal of experimental pathology*. 1989;70(6):737.
156. Diplock AT, Gutteridge JM, Shukla VK, Pryor W. Antioxidants, free radicals and polyunsaturated fatty acids in biology and medicine: 233 pp., 1993.: Pergamon; 1994.
157. Yu BP. Membrane alteration as a basis of aging and the protective effects of calorie restriction. *Mechanisms of ageing and development*. 2005;126(9):1003-10.
158. Allen R, Tresini M. Oxidative stress and gene regulation. *Free Radical Biology and Medicine*. 2000;28(3):463-99.
159. Radak Z, Zhao Z, Koltai E, Ohno H, Atalay M. Oxygen consumption and usage during physical exercise: the balance between oxidative stress and ROS-dependent adaptive signaling. *Antioxidants & redox signaling*. 2013;18(10):1208-46.
160. Ristow M, Schmeisser K. Mitohormesis: promoting health and lifespan by increased levels of reactive oxygen species (ROS). *Dose-Response*. 2014;12(2):dose-response. 13-035. Ristow.
161. Aebi H. [13] Catalase in vitro. *Methods in enzymology*. 105: Elsevier; 1984. p. 121-6.

162. Porter NA. Mechanism of fatty acid and phospholipid autoxidation. *Chemical Changes in Food During Processing*; Springer; 1985. p. 73-8.
163. Diplock AT, Gutteridge JM, Shukla VK, Pryor W. Antioxidants, free radicals and polyunsaturated fatty acids in biology and medicine: 233 pp., 1993.: Pergamon; 1993.
164. Aktaş M, Değirmenci U, Yıldırım H, Ercan S, Tamer L, Atik U. Mda Ölçümünde Hplc Ve Spektrofotometrik Yöntemlerin Karşılaştırılması. *Mersin Üniv Tıp Fak Dergisi*. 2004;4:365-70.
165. Gutteridge J, Halliwell B. Transition metal ions and antioxidant proteins in extracellular fluids. *Atmospheric oxidation and antioxidants*. 1993;3:71-99.
166. Memişoğulları R. Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi. 2005.
167. Stahl W, van den Berg H, Arthur J, Bast A, Dainty J, Faulks RM, et al. Bioavailability and metabolism. *Molecular aspects of medicine*. 2002;23(1-3):39-100.
168. Cornelli U. Antioxidant use in nutraceuticals. *Clinics in dermatology*. 2009;27(2):175-94.
169. Winterbourn CC. Superoxide as an intracellular radical sink. *Free Radical Biology and Medicine*. 1993;14(1):85-90.
170. McIntyre M, Bohr DF, Dominiczak AF. Endothelial function in hypertension: the role of superoxide anion. *Hypertension*. 1999;34(4):539-45.
171. Halliwell B. Free radicals and other reactive species in disease. *eLS*. 2005.
172. Young I, Woodside J. Antioxidants in health and disease. *Journal of clinical pathology*. 2001;54(3):176-86.
173. Vincent AM, Russell JW, Low P, Feldman EL. Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Endocrine reviews*. 2004;25(4):612-28.
174. Garewal H. Antioxidants and disease prevention: CRC Press; 1997.
175. Aydın A, Orhan H, Sayal A, Özata M, Şahin G, Işimer A. Oxidative stress and nitric oxide related parameters in type II diabetes mellitus: effects of glycemic control. *Clinical biochemistry*. 2001;34(1):65-70.
176. Brigelius-Flohé R. Tissue-specific functions of individual glutathione peroxidases. *Free Radical Biology and Medicine*. 1999;27(9-10):951-65.
177. Kleczkowski M, Kluciński W, Sikora J, Zdanowicz M, Dziekan P. Role of the antioxidants in the protection against oxidative stress in cattle--nonenzymatic mechanisms (Part 2). *Polish journal of veterinary sciences*. 2003;6(4):301-8.
178. Serafini M, Del Rio D. Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the total antioxidant capacity the right tool? *Redox report*. 2004;9(3):145-52.

179. Halliwell B, Gutteridge JM. Free radicals in biology and medicine: Oxford University Press, USA; 2007.
180. Gumieniczek A, Hopkala H, Wójtowicz Z, Nikolajuk J. Changes in antioxidant status of heart muscle tissue in experimental diabetes in rabbits. *Acta biochimica polonica-english edition*. 2002;49(2):529-36.
181. Maritim A, Sanders a, Watkins J, 3rd. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. *Journal of biochemical and molecular toxicology*. 2003;17(1):24-38.
182. Mahboob M, Rahman M, Grover P. Serum lipit peroxidation and antioxidant enzyme levels in male and female diabetic patients. *Singapore medical journal*. 2005;46(7):322.
183. Peerapatdit T, Likidlilid A, Patchanans N, Somkasetrin A. Antioxidant status and lipit peroxidation end products in patients of type 1 diabetes mellitus. *J Med Assoc Thai*. 2006;89(Suppl 5):S141-S6.
184. Cakatay U, Telci A, Salman S, Satman L, Sivas A. Oxidative protein damage in type I diabetic patients with and without complications. *Endocrine research*. 2000;26(3):365-79.
185. Telci A, Cakatay U, Kayali R, Erdoğan C, Orhan Y, Sivas A, et al. Oxidative protein damage in plasma of type 2 diabetic patients. *Hormone and Metabolic Research*. 2000;32(01):40-3.
186. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. *Mimoza Yayınları*, Konya. 1995;32.
187. Köse K, Doğan P. Lipit peroksidasyonu. *Erciyes Tıp Dergisi*. 1992;340-50.
188. Onat T, Emerk K. Temel Biyokimya, Radikal Kavramı ve Oksijen Radikalleri. 1997;2:520-8.
189. Ceriello A. New insights on oxidative stress and diabetic complications may lead to a “causal” antioxidant therapy. *Diabetes care*. 2003;26(5):1589-96.
190. Kajimoto Y, Kaneto H. Role of Oxidative Stress in Pancreatic β -Cell Dysfunction. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2004;1011(1):168-76.
191. Baz H. Streptozotocinle indüklenen diyabetli ratlar üzerinde *Myrtus communis* L. yaprağı su ekstreşi etkilerinin araştırılması Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Erzurum, 2014.
192. Aguirre F, Martin I, Grinspon D, Ruiz M, Hager A, De Paoli T, et al. Oxidative damage, plasma antioxidant capacity, and glucemic control in elderly NIDDM patients. *Free Radical Biology and Medicine*. 1998;24(4):580-5.
193. Ashour M, Salem S, Hassaneen H, El-Gadban H, Elwan N, Awad A, et al. Antioxidant Status and Insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM). *Journal of clinical biochemistry and nutrition*. 1999;26(2):99-107.
194. Tüzün S, Girgin FK, Sözman EY, Menteş G, Ersöz B. Antioxidant status in experimental type 2 diabetes mellitus: effects of glibenclamide and glipizide on various rat tissues. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 1999;51(4-5):436-41.

195. Brownlee M, Vlassara H, Cerami A. Nonenzymatic glycosylation and the pathogenesis of diabetic complications. *Annals of internal medicine*. 1984;101(4):527-37.
196. Altan N, Altan VM, Mikolay L, Lerner J, Schwartz CF. Insulin-like and insulin-enhancing effects of the sulfonylurea glyburide on rat adipose glycogen synthase. *Diabetes*. 1985;34(3):281-6.
197. Das K, Chainy G. Modulation of rat liver mitochondrial antioxidant defence system by thyroid hormone. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*. 2001;1537(1):1-13.
198. Cameron NE, Cotter MA. Neurovascular dysfunction in diabetic rats. Potential contribution of autooxidation and free radicals examined using transition metal chelating agents. *The Journal of clinical investigation*. 1995;96(2):1159-63.
199. Cameron NE, Cotter MA. Metabolic and vascular factors in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Diabetes*. 1997;46(Supplement 2):S31-S7.
200. Dai Kim J, Yu BP, McCarter RJ, Lee SY, Herlihy JT. Exercise and diet modulate cardiac lipid peroxidation and antioxidant defenses. *Free Radical Biology and Medicine*. 1996;20(1):83-8.
201. AssociationDiabetes AD. Clinical Practice Recommendations. *Diabetes Care*. 1998:S1-95.
202. Laaksonen DE, Atalay M, Niskanen L, Uusitupa M, Hänninen O, Sen CK. Increased resting and exercise-induced oxidative stress in young IDDM men. *Diabetes Care*. 1996;19(6):569-74.
203. Gul M, Laaksonen D, Atalay M, Vider L, Hanninen O. Endurance training decreases oxidative stress in streptozotocin induced diabetic rat. *Scandinavian Journal of Sports Medicine and Sports*. 2002.
204. Goodman LR, Fumagalli R, Tagliabue P, Tagliabue M, Ferrario M, Gattinoni L, et al. Adult respiratory distress syndrome due to pulmonary and extrapulmonary causes: CT, clinical, and functional correlations. *Radiology*. 1999;213(2):545-52.
205. Brun-Buisson C, Minelli C, Bertolini G, Brazzi L, Pimentel J, Lewandowski K, et al. Epidemiology and outcome of acute lung injury in European intensive care units. *Intensive care medicine*. 2004;30(1):51-61.
206. Teixeira PSA, Do Rego ICC, Monteiro T, Dos Santos ACC, Ceccatto VM. Prescription of aerobic exercise training based on the incremental load test: a model of anaerobic threshold for Rats. *J Exerc Physiol Online*. 2012;15:45-52.
207. da Cunha AA, Nunes FB, Lunardelli A, Pauli V, Amaral RH, de Oliveira LM, et al. Treatment with N-methyl-D-aspartate receptor antagonist (MK-801) protects against oxidative stress in lipopolysaccharide-induced acute lung injury in the rat. *International immunopharmacology*. 2011;11(6):706-11.

208. Lee KH, Rhee KH. Radioprotective effect of cyclo (L-phenylalanyl-L-prolyl) on irradiated rat lung. *J Microbiol Biotechnol*. 2008;18(2):369-76.
209. Kulkarni AA, Thatcher TH, Hsiao H-M, Olsen KC, Kottmann RM, Morrisette J, et al. The triterpenoid CDDO-Me inhibits bleomycin-induced lung inflammation and fibrosis. *PloS one*. 2013;8(5):e63798.
210. Varghese F, Bukhari AB, Malhotra R, De A. IHC Profiler: an open source plugin for the quantitative evaluation and automated scoring of immunohistochemistry images of human tissue samples. *PloS one*. 2014;9(5):e96801.
211. Cetto AA, Wiedenfeld H, Revilla MC, Sergio IA. Hypoglycemic effect of *Equisetum myriochaetum* aerial parts on streptozotocin diabetic rats. *Journal of ethnopharmacology*. 2000;72(1-2):129-33.
212. Pushparaj P, Tan C, Tan B. Effects of *Averrhoa bilimbi* leaf extract on blood glucose and lipids in streptozotocin-diabetic rats. *Journal of ethnopharmacology*. 2000;72(1-2):69-76.
213. Benwahhoud M, Jouad H, Eddouks M, Lyoussi B. Hypoglycemic effect of *Suaeda fruticosa* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of ethnopharmacology*. 2001;76(1):35-8.
214. Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiological research*. 2001;50(6):537-46.
215. Vessal M, Hemmati M, Vasei M. Antidiabetic effects of quercetin in streptozocin-induced diabetic rats. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. 2003;135(3):357-64.
216. Abdelmoaty MA, Ibrahim M, Ahmed N, Abdelaziz M. Confirmatory studies on the antioxidant and antidiabetic effect of quercetin in rats. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. 2010;25(2):188-92.
217. Kanter M, Aktas C, Erboga M. Protective effects of quercetin against apoptosis and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rat testis. *Food and chemical toxicology*. 2012;50(3-4):719-25.
218. Sanders RA, Rauscher FM, Watkins JB. Effects of quercetin on antioxidant defense in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*. 2001;15(3):143-9.
219. Jaouhari J, Lazrek H, Jana M. The hypoglycemic activity of *Zygophyllum gaetulum* extracts in alloxan-induced hyperglycemic rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 2000;69(1):17-20.
220. Ahmadi N, Moghadasi M, Nuri R. Changes of serum retinol binding protein 4 levels following 8 weeks moderate aerobic exercise. *Asian journal of sports medicine*. 2013;4(3):208.

221. Zeinali S, Nodoushan IS, Firouzian A, Marandi SM, Aghajani H, Mazreno AB. The influence of one session of intensive physical activity on the amount of testosterone, cortisol, insulin and glucose hormone in elite athletes' blood serum hemostat. *Acta Kinesiologica*. 2012;6(2):47-51.
222. Kuyvenhoven J, Meinders A. Oxidative stress and diabetes mellitus: pathogenesis of long-term complications. *European Journal of Internal Medicine*. 1999;10(1):9-19.
223. Mansour SA, Mossa A-TH. Oxidative damage, biochemical and histopathological alterations in rats exposed to chlorpyrifos and the antioxidant role of zinc. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 2010;96(1):14-23.
224. Messarah M, Boumendjel A, Chouabia A, Klibet F, Abdenmour C, Boulakoud MS, et al. Influence of thyroid dysfunction on liver lipid peroxidation and antioxidant status in experimental rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 2010;62(3):301-10.
225. Atalay M, Laaksonen DE. Diabetes, oxidative stress and physical exercise. *Journal of sports science & medicine*. 2002;1(1):1.
226. Jenkins RR. Exercise and oxidative stress methodology: a critique-. *The American journal of clinical nutrition*. 2000;72(2):670S-4S.
227. König D, Berg A. Exercise and oxidative stress: is there a need for additional antioxidants. *Sports Med*. 2002;3:6-15.
228. Hara M, Iigo M, Ohtani-Kaneko R, Nakamura N, Suzuki T, Reiter RJ, et al. Administration of melatonin and related indoles prevents exercise-induced cellular oxidative changes in rats. *Neurosignals*. 1997;6(2):90-100.
229. Temiz A, Başkurt O, Pekcetin C, Kandemir F, Güre A. Leukocyte activation, oxidant stress and red blood cell properties after acute, exhausting exercise in rats [1] This research was done at: Department of Physiology, School of Medicine, Dokuz Eylül University, Balçova-Izmir, 35340 Turkey. *Clinical hemorheology and microcirculation*. 2000;22(4):253-9.
230. Semin I, Kayatekin BM, Gonenc S, Acikgoz O, Uysal N, Delen Y, et al. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme levels of intestinal renal and muscle tissues after a 60 minutes exercise in trained mice. *Indian journal of physiology and pharmacology*. 2000;44(4):419-27.
231. Belviranlı M. Üzüm çekirdeği ekstresinin sıçanlarda akut ve kronik egzersizin neden olduğu oksidatif hasar ve antioksidan savunma üzerine etkileri: Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2009.
232. Davies KJ, Quintanilha AT, Brooks GA, Packer L. Free radicals and tissue damage produced by exercise. *Biochemical and biophysical research communications*. 1982;107(4):1198-205.
233. Lin W-t, Yang S-c, Chen K-t, Huang C-c, Lee N-y. Protective effects of L-arginine on pulmonary oxidative stress and anti-oxidant defenses during exhaustive exercise in rats. *Acta Pharmacologica Sinica*. 2005;26(8):992.

234. Koz M, Erbaş D, Bilgihan A, Aricioğlu A. Effects of acute swimming exercise on muscle and erythrocyte malondialdehyde, serum myoglobin, and plasma ascorbic acid concentrations. *Canadian journal of physiology and pharmacology*. 1992;70(10):1392-5.
235. Lovlin R, Cottle W, Pyke I, Kavanagh M, Belcastro A. Are indices of free radical damage related to exercise intensity. *European journal of applied physiology and occupational physiology*. 1987;56(3):313-6.
236. Kretzschmar M, Müller D, Hübscher J, Marin E, Klinger W. Influence of aging, training and acute physical exercise on plasma glutathione and lipid peroxides in man. *International journal of sports medicine*. 1991;12(02):218-22.
237. Clarkson PM. Antioxidants and physical performance. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*. 1995;35(1-2):131-41.
238. Leeuwenburgh C, Hansen P, Shaish A, Holloszy JO, Heinecke JW. Markers of protein oxidation by hydroxyl radical and reactive nitrogen species in tissues of aging rats. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 1998;274(2):R453-R61.
239. Leaf DA, Kleinman MT, Hamilton M, Barstow TJ. The effect of exercise intensity on lipid peroxidation. *Medicine and science in sports and exercise*. 1997;29(8):1036-9.
240. Child R, Wilkinson D, Fallowfield J. Resting serum antioxidant status is positively correlated with peak oxygen uptake in endurance trained runners. *Journal of sports medicine and physical fitness*. 1999;39(4):282.
241. Dixon C. The effect of resistance training status on free radical production and muscle damage following an acute resistance exercise bout. 2003.
242. Husain K. Interaction of exercise training and chronic NOS inhibition on blood pressure, heart rate, NO and antioxidants in plasma of rats. *Pathophysiology*. 2003;10(1):47-56.
243. Hamilton KL, Staib JL, Phillips T, Hess A, Lennon SL, Powers SK. Exercise, antioxidants, and HSP72: protection against myocardial ischemia/reperfusion. *Free Radical Biology and Medicine*. 2003;34(7):800-9.
244. Zhang XF, Tan BKH. Antihyperglycaemic and anti-oxidant properties of andrographis paniculata in normal and diabetic rats. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 2000;27(5-6):358-63.
245. Cojocel C, Al-Maghrebi M, Thomson M, Rawoot P, Raghupathy R. Modulation of the transforming growth factor β 1 by vitamin E in early nephropathy. *Medical Principles and Practice*. 2005;14(6):422-9.
246. Akkaya H, Çelik S. Ratlarda diyabet öncesi ve sonrası oksidan-antioksidan durum. *FÜ Sağ Bil Vet Derg*. 2010;24(1):5-10.

247. Kumar S, Vasudeva N, Sharma S. GC-MS analysis and screening of antidiabetic, antioxidant and hypolipemic potential of *Cinnamomum tamala* oil in streptozotocin induced diabetes mellitus in rats. *Cardiovascular diabetology*. 2012;11(1):95.
248. Lim KH, Han J-H, Lee JY, Park YS, Cho YS, Kang K-D, et al. Assessment of antidiabetogenic potential of fermented soybean extracts in streptozotocin-induced diabetic rat. *Food and chemical toxicology*. 2012;50(11):3941-8.
249. Zhou Q, Liu F, Zhang J, Lu J, Gu Z, Gu G. Effects of triterpenic acid from *Prunella vulgaris* L. on glycemia and pancreas in rat model of streptozotocin diabetes. *Chinese medical journal*. 2013;126(9):1647-53.
250. Soliman G. Blood lipid peroxidation (superoxide dismutase, malondialdehyde, glutathione) levels in Egyptian type 2 diabetic patients. *Singapore medical journal*. 2008;49(2):129.
251. Cimbaljević B, Vasiljević A, Cimbaljević S, Buzadžić B, Korać A, Petrović V, et al. Interrelationship of antioxidative status, lipid peroxidation, and lipid profile in insulin-dependent and non-insulin-dependent diabetic patients. *Canadian journal of physiology and pharmacology*. 2007;85(10):997-1003.
252. Gul M, Laaksonen DE, Atalay M, Vider L, Hänninen O. Effects of endurance training on tissue glutathione homeostasis and lipid peroxidation in streptozotocin-induced diabetic rats. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*. 2002;12(3):163-70.
253. Radak Z, Taylor AW, Sasvari M, Ohno H, Horkay B, Furesz J, et al. Telomerase activity is not altered by regular strenuous exercise in skeletal muscle or by sarcoma in liver of rats. *Redox Report*. 2001;6(2):99-103.
254. Coskun O, Ocakci A, Bayraktaroglu T, Kanter M. Exercise training prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and β -cell damage in rat pancreas. *The Tohoku journal of experimental medicine*. 2004;203(3):145-54.
255. Çelik A, Varol R, Onat T, Dağdelen Y, Tugay F. Akut egzersizin futbolcularda antioksidan sistem parametrelerine etkisi. *Spor metre Beden Eğitimi ve Spor Bilimleri Dergisi*. 2007;4:167-72.
256. Teixeira de Lemos E, Pinto R, Oliveira J, Garrido P, Sereno J, Mascarenhas-Melo F, et al. Differential effects of acute (extenuating) and chronic (training) exercise on inflammation and oxidative stress status in an animal model of type 2 diabetes mellitus. *Mediators of inflammation*. 2011;2011.
257. Francescato MP, Stel G, Geat M, Cauci S. Oxidative stress in patients with type 1 diabetes mellitus: is it affected by a single bout of prolonged exercise? *PloS one*. 2014;9(6):e99062.

258. Molina MF, Sanchez-Reus I, Iglesias I, Benedi J. Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects against ethanol-induced oxidative stress in mouse liver. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2003;26(10):1398-402.
259. Abou-Seif MA, Youssef A-A. Evaluation of some biochemical changes in diabetic patients. *Clinica Chimica Acta*. 2004;346(2):161-70.
260. Coskun O, Kanter M, Korkmaz A, Oter S. Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and β -cell damage in rat pancreas. *Pharmacological research*. 2005;51(2):117-23.
261. Durmuş M, Yilmaz HR, Uz E, Ozcelik N. The effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) treatment on levels of MDA, NO and antioxidant enzyme activities in retinas of streptozotocin-induced diabetic rats. *Turkish Journal of Medical Sciences*. 2008;38(6):525-30.
262. Ali MM, Agha FG. Amelioration of streptozotocin-induced diabetes mellitus, oxidative stress and dyslipidemia in rats by tomato extract lycopene. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*. 2009;69(3):371-9.
263. Bagri P, Ali M, Aeri V, Bhowmik M, Sultana S. Antidiabetic effect of Punica granatum flowers: effect on hyperlipitemia, pancreatic cells lipid peroxidation and antioxidant enzymes in experimental diabetes. *Food and Chemical Toxicology*. 2009;47(1):50-4.
264. Arya A, Al-Obaidi MMJ, Shahid N, Noordin MIB, Looi CY, Wong WF, et al. Synergistic effect of quercetin and quinic acid by alleviating structural degeneration in the liver, kidney and pancreas tissues of STZ-induced diabetic rats: a mechanistic study. *Food and chemical toxicology*. 2014;71:183-96.
265. Naziroğlu M, Butterworth PJ. Protective effects of moderate exercise with dietary vitamin C and E on blood antioxidative defense mechanism in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Canadian journal of applied physiology*. 2005;30(2):172-85.
266. Leelayuwat N, Tunkumnerdthai O, Donsom M, Punyaek N, Manimanakorn A, Kukongviriyapan U, et al. An alternative exercise and its beneficial effects on glycaemic control and oxidative stress in subjects with type 2 diabetes. *Diabetes research and clinical practice*. 2008;82(2):e5-e8.
267. Kaczor JJ, Hall JE, Payne E, Tarnopolsky MA. Low intensity training decreases markers of oxidative stress in skeletal muscle of mdx mice. *Free Radical Biology and Medicine*. 2007;43(1):145-54.
268. Powers SK, Ji LL, Leeuwenburgh C. Exercise training-induced alterations in skeletal muscle antioxidant capacity: a brief review. *Medicine and science in sports and exercise*. 1999;31(7):987-97.

269. Sen CK, Marin E, Kretzschmar M, Hanninen O. Skeletal muscle and liver glutathione homeostasis in response to training, exercise, and immobilization. *Journal of Applied Physiology*. 1992;73(4):1265-72.
270. Salminen A, Vihko V. Endurance training reduces the susceptibility of mouse skeletal muscle to lipid peroxidation in vitro. *Acta Physiologica*. 1983;117(1):109-13.
271. Leeuwenburgh C, Fiebig R, Chandwaney R, Ji L. Aging and exercise training in skeletal muscle: responses of glutathione and antioxidant enzyme systems. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 1994;267(2):R439-R45.
272. Skarpanska Stejnborn A, Szyszka K. The influence of diet rich antioxidative vitamins on the glutathione level and the content of lipid peroxidation product in the blood of rowers. *Med Sport*. 2001;5:35-40.
273. da Cunha FM, Demasi M, Kowaltowski AJ. Aging and calorie restriction modulate yeast redox state, oxidized protein removal, and the ubiquitin–proteasome system. *Free Radical Biology and Medicine*. 2011;51(3):664-70.
274. Fallon K, Sivyer G, Sivyer K, Dare A. The biochemistry of runners in a 1600 km ultramarathon. *British journal of sports medicine*. 1999;33(4):264-9.
275. Balogh N, Gaal T, Ribiczeyné PS, Petri A. Biochemical and antioxidant changes in plasma and erythrocytes of pentathlon horses before and after exercise. *Veterinary Clinical Pathology*. 2001;30(4):214-8.
276. Hoffman R, Hess T, Williams C, Kronfeld D, Griewe-Crandell K, Waldron J, et al. Speed associated with plasma pH, oxygen content, total protein and urea in an 80 km race. *Equine Veterinary Journal*. 2002;34(S34):39-43.
277. Chevion S, Moran DS, Heled Y, Shani Y, Regev G, Abbou B, et al. Plasma antioxidant status and cell injury after severe physical exercise. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2003;100(9):5119-23.
278. Powers SK, Criswell D, Lawler J, Martin D, Lieu F, Ji LL, et al. Rigorous exercise training increases superoxide dismutase activity in ventricular myocardium. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 1993;265(6):H2094-H8.
279. Husain K, Somani S. Response of cardiac antioxidant system to alcohol and exercise training in the rat. *Alcohol*. 1997;14(3):301-7.
280. Burneiko RC, Diniz YS, Galhardi CM, Rodrigues HG, Ebaid GM, Faine LA, et al. Interaction of hypercaloric diet and physical exercise on lipid profile, oxidative stress and antioxidant defenses. *Food and chemical toxicology*. 2006;44(7):1167-72.
281. Qiao D, Hou L, Liu X. Influence of intermittent anaerobic exercise on mouse physical endurance and antioxidant components. *British journal of sports medicine*. 2006;40(3):214-8.

282. Lima FD, Stamm DN, Della-Pace ID, Dobrachinski F, de Carvalho NR, Royes LFF, et al. Swimming training induces liver mitochondrial adaptations to oxidative stress in rats submitted to repeated exhaustive swimming bouts. *PloS one*. 2013;8(2):e55668.
283. Ji LL. Antioxidant enzyme response to exercise and aging. *Medicine and science in sports and exercise*. 1993;25(2):225-31.
284. Inal M, Akyüz F, Turgut A, Getsfrid WM. Effect of aerobic and anaerobic metabolism on free radical generation swimmers. *Medicine and science in sports and exercise*. 2001;33(4):564-7.
285. Turgut K. Veteriner klinik laboratuvar teşhis. Bahçıvanlar Basım Sanayi AŞ Konya. 2000;885.
286. Laughlin M, Simpson T, Sexton W, Brown O, Smith J, Korthuis R. Skeletal muscle oxidative capacity, antioxidant enzymes, and exercise training. *Journal of Applied Physiology*. 1990;68(6):2337-43.
287. Tiidus PM, Pushkarenko J, Houston ME. Lack of antioxidant adaptation to short-term aerobic training in human muscle. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 1996;271(4):R832-R6.
288. Venditti P, Napolitano G, Barone D, Di Meo S. Effect of training and vitamin E administration on rat liver oxidative metabolism. *Free radical research*. 2014;48(3):322-32.
289. Marzatico F, Pansarasa O, Bertorelli L, Somenzini L, Della GV. Blood free radical antioxidant enzymes and lipid peroxides following long-distance and lactacidemic performances in highly trained aerobic and sprint athletes. *The Journal of sports medicine and physical fitness*. 1997;37(4):235-9.
290. Childs A, Jacobs C, Kaminski T, Halliwell B, Leeuwenburgh C. Supplementation with vitamin C and N-acetyl-cysteine increases oxidative stress in humans after an acute muscle injury induced by eccentric exercise. *Free Radical Biology and Medicine*. 2001;31(6):745-53.
291. Husain K, Hazelrigg SR. Oxidative injury due to chronic nitric oxide synthase inhibition in rat: effect of regular exercise on the heart. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*. 2002;1587(1):75-82.
292. Duthie GG. Determination of activity of antioxidants in human subjects. *Proceedings of the Nutrition Society*. 1999;58(4):1015-24.
293. Hellsten Y, Svensson M, Sjodin B, Smith S, Christensen A, Richter EA, et al. Allantoin formation and urate and glutathione exchange in human muscle during submaximal exercise. *Free Radical Biology and Medicine*. 2001;31(11):1313-22.
294. Svensson MB, Ekblom B, Cotgreave IA, Norman B, Sjöberg B, Ekblom Ö, et al. Adaptive stress response of glutathione and uric acid metabolism in man following controlled exercise and diet. *Acta Physiologica*. 2002;176(1):43-56.

295. Thompson D, Williams C, Garcia-Roves P, McGregor S, McArdle F, Jackson M. Post-exercise vitamin C supplementation and recovery from demanding exercise. *European journal of applied physiology*. 2003;89(3-4):393-400.
296. Çolakoğlu S, Çolakoğlu M, Kirkali G, Örmən M, Pınar A. E vitamini desteğinin submaksimal egzersizde oksidan stres ve dayanıklılık üzerine etkileri. *CBÜ Beden Eğitimi ve Spor Bilimleri Dergisi*. 1999;3(3):1-8.
297. Goh S-Y, Cooper ME. The role of advanced glycation end products in progression and complications of diabetes. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2008;93(4):1143-52.
298. Dillard C, Litov R, Savin W, Dumelin E, Tappel AL. Effects of exercise, vitamin E, and ozone on pulmonary function and lipid peroxidation. *Journal of Applied Physiology*. 1978;45(6):927-32.
299. Goldfarb AH, McIntosh MK, Boyer B. Vitamin E attenuates myocardial oxidative stress induced by DHEA in rested and exercised rats. *Journal of Applied Physiology*. 1996;80(2):486-90.
300. Turgay F, Kayatekin BM, Gönenc S, Yslegen Ç, Selamoglu S. Aerobic and anaerobic training effects on the antioxidant enzymes of the blood. *Acta Physiologica Hungarica*. 2000;87(3):267-74.
301. Atalay M, Marnila P, Lilius E-M, Hänninen O, Sen CK. Glutathione-dependent modulation of exhausting exercise-induced changes in neutrophil function of rats. *European journal of applied physiology and occupational physiology*. 1996;74(4):342-7.
302. Sen CK. Glutathione homeostasis in response to exercise training and nutritional supplements. *Stress adaptation, prophylaxis and treatment*: Springer; 1999. p. 31-42.
303. Deveden ET, Pınar L, Gökteş E, Özer Ç, Erdoğan D. After an Exhaustive Exercise the Most Prominent Muscle Damage Occurs a Day Later. *Journal of Physical Medicine & Rehabilitation Sciences/Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Bilimleri Dergisi*. 2013;16(3).
304. McGuigan CRM, Mullenix CP, Norlund MLL, Ward MD, Walts MM, Azarow LK. Acute lung injury using oleic acid in the laboratory rat: establishment of a working model and evidence against free radicals in the acute phase. *Current surgery*. 2003;60(4):412-7.
305. Van Helden H, Kuijpers W, Langerwerf P, Langen R, Haagsman H, Bruijnzeel P. Efficacy of Curosurf in a rat model of acute respiratory distress syndrome. *European Respiratory Journal*. 1998;12(3):533-9.
306. Brackenbury AM, Puligandla PS, McCaig LA, Nikore V, Yao L-J, Veldhuizen RA, et al. Evaluation of exogenous surfactant in HCL-induced lung injury. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2001;163(5):1135-42.

307. Germann P-G, Häfner D. A rat model of acute respiratory distress syndrome (ARDS): Part 1. Time dependency of histological and pathological changes. *Journal of pharmacological and toxicological methods*. 1998;40(2):101-7.
308. Nieman GF, Gatto LA, Paskanik AM, Yang B, Fluck R, Picone A. Surfactant replacement in the treatment of sepsis-induced adult respiratory distress syndrome in pigs. *Critical care medicine*. 1996;24(6):1025-33.
309. Villar J, Ribeiro SP, Mullen J, Kuliszewski M, Post M, Slutsky AS. Induction of the heat shock response reduces mortality rate and organ damage in a sepsis-induced acute lung injury model. *Critical care medicine*. 1994;22(6):914-21.
310. Sakuma T, Takahashi K, Ohya N, Kajikawa O, Martin TR, Albertine KH, et al. Ischemia-reperfusion lung injury in rabbits: mechanisms of injury and protection. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*. 1999;276(1):L137-L45.
311. Neumann P, Berglund JE, Andersson LG, Maripu E, Magnusson A, Hedenstierna GR. Effects of Inverse Ratio Ventilation and Positive End-Expiratory Pressure in Oleic Acid-Induced Lung Injury. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2000;161(5):1537-45.
312. Zhou Z-H, Sun B, Lin K, Zhu L-W. Prevention of rabbit acute lung injury by surfactant, inhaled nitric oxide, and pressure support ventilation. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2000;161(2):581-8.
313. Bulmuş FG, Gürsu MF, Muz MH, Yaman İ, Bulmuş Ö, Sakin F. Protective effects of alpha-lipoic acid on oleic acid-induced acute lung injury in rats. *Balkan medical journal*. 2013;30(3):309.
314. Kang H-S, Park H-M, Go H-K, Kim S-J, Kim J-S, Kim S-J, et al. Effect of antioxidant in an acute lung injury animal model. *Korean Journal of Chemical Engineering*. 2012;29(11):1591-6.

EKLER

EK-1. ETİK KURULU KARARI



T.C.
ANKARA ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
HAYVAN DENİYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARI

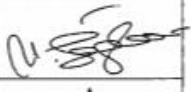
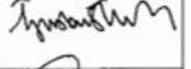
TOPLANTI TARİHİ : 15/02/2017
TOPLANTI NO : 2017-4
DOSYA NO : 2017-11
KARAR NO : 2017-4-25

Yürütücülüğünü Üniversitemiz Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof.Dr.Metin Baştuğ'un yaptığı; araştırmacı olarak Prof.Dr.Hakan Fıçıcılar, Prof.Dr.Belgin Can, Yrd.Doç.Dr.Deniz Billur, Arş.Gör.Dr.Göktuğ Ömercioğlu, Arş.Gör.Hasan Çalışkan, Arş.Gör.Fırat Akat, Öğr.Gör.Kutluhan Ertekin, Arş.Gör.Seda Koçak, Arş.Gör.Pınar Bayram, Arş.Gör.Şule Kızıl ve Uzm.Vet.HekAtilla İşgören'in katıldığı "Deneysel Tip 1 Diabetes Mellitus'ta Aerobik Egzersizin Lipopolisakkarit ile Hasar Oluşturulmuş Sıçan Akciğerleri Üzerine Etkisi" başlıklı araştırma projesinin içeriği Kurulumuzca incelenmiş olup, söz konusu çalışmanın Üniversite Senatosunun 12/2/2016 tarihli toplantısında 430/3642 sayılı kararı ile kabul edilen ve Hayvan Deneyleri Merkezi Etik Kurulu'nun 19/2/2016 tarih ve 42 sayılı kararı ile onaylanan "Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi"ne göre aşağıda belirtilen kapsamda yapılmasına; oybirliği ile karar verilmiştir.

Hayvan Türü : Sıçan
Hayvan Sayısı : 72
Geçerlilik Süresi : 01/06/2017-01/06/2018

ETİK KURUL ÜYELERİ				
Ünvanı / Adı / Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İmza
Prof.Dr.M.Taner KARAOĞLU (Başkan)	Viroloji Anabilim Dalı	Veteriner Fakültesi	E	
Prof.Dr.Tanju ÖZÇELİKAY (Başkan Vekili)	Farmakoloji Anabilim Dalı	Eczacılık Fakültesi	E	
Prof.Dr.Nuri YİĞİT (Üye)	Zooloji Anabilim Dalı	Fen Fakültesi	E	
Prof.Dr.Fatin CEDDEN (Üye)	Hayvan Yetiştirme Anabilim Dalı	Ziraat Fakültesi	E	
Prof.Dr.Mine KIRKAĞAÇ (Üye)	Su Ürünleri Mühendisliği Bölümü	Ziraat Fakültesi	K	
Prof.Dr.Emine DEMİREL YILMAZ (Üye)	Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı	Tıp Fakültesi	K	

Adres: Ankara Üniversitesi Rektörlüğü 06100 - Tandoğan/ANKARA Telefon : 0 (312) 212 60 40 / 2101 Faks : 0 (312) 212 60 49

Yrd.Doç.Dr.Mehmet SAĞLAM (Üye)	Cerrahi Anabilim Dalı	Veteriner Fakültesi	E	
Yrd.Doç.Dr.Atilla ÖZGÜR (Üye)	Veteriner Hekimliği Tarihi ve Deontoloji Anabilim Dalı	Veteriner Fakültesi	E	
Yrd.Doç.Dr.Gülnur GÖLLÜ BAHADIR (Üye)	Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı	Tıp Fakültesi	K	
Uzm.Vet.Hek.Atilla İŞGÖREN (Üye)	Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Laboratuvarı	Tıp Fakültesi	E	OYLAMAYA KATILMADI
Dr.Vet.Hek.Gülbüz ERTÜRK (Üye)	Active Veteriner Sağlık Merkezi	Serbest	E	
Uzm.Vet.Hek.Hüseyin DEDE (Üye)	Veteriner Hekimler Derneği	Serbest	E	
Fatma Aysun COŞKUN (Üye)	İktisat	Serbest	K	