



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**DİYABETİK MİYOPATİDE YÜKSEK YOĞUNLUKLU
ARALIKLI ANTRENMAN'IN (HIIT) İSKELET KASI
ATROFİSİ, FONKSİYONU VE MİYOKİN PROFİLİ
ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ**

Yeşim ÖZÇATAL

**FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Fırat AKAT**

**ANKARA
2022**

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DİYABETİK MİYOPATİDE YÜKSEK YOĞUNLUKLU
ARALIKLI ANTRENMAN'IN (HIIT) İSKELET KASI
ATROFİSİ, FONKSİYONU VE MİYOKİN PROFİLİ
ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

Yeşim ÖZÇATAL

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Fırat AKAT

Bu araştırma Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü'nün
21B0230016 proje numarası ile desteklenmiştir

ANKARA
2022

Etik Beyan

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Yüksek Lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Diyabetik Miyopatide Yüksek Yoğunluklu Aralıklı Antrenman’ın (HIIT) İskelet Kası Atrofisi, Fonksiyonu ve Miyokin Profili Üzerindeki Etkileri” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Yeşim ÖZÇATAL

Tarih:

İmza:

KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Fizyoloji Anabilim Dalında

Yeşim ÖZÇATAL tarafından hazırlanan

“Diyabetik Miyopatide Yüksek Yoğunluklu Aralıklı Antrenman’ın (HIIT) İskelet Kası Atrofisi, Fonksiyonu ve Miyokin Profili Üzerindeki Etkileri” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak OY BİRLİĞİ

ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 14.01.2022

İmza

Prof. Dr. Metin BAŞTUĞ

Ankara Üniversitesi

Jüri Başkanı

İmza

Doç. Dr. Şevin GÜNEY

Gazi Üniversitesi

Raportör

İmza

Dr. Öğr. Üyesi Fırat AKAT

Ankara Üniversitesi

Üye

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

İmza

Prof. Dr. Fügen AKTAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	vii
Simgeler ve Kısaltmalar	ix
Şekiller	xii
Çizelgeler	xiv

1. GİRİŞ	1
1.1. Diabetes Mellitus	1
1.2. İskelet Kası	2
1.3. Diyabetik Miyopati	4
1.3.1. İlerleyici Kas Kütlesi Kaybı (Atrofi)	5
1.3.2. Azalmış Kas Kuvveti	5
1.3.3. Artmış Kas Yorgunluğu	5
1.4. Diyabetik Nöropati	7
1.5. Egzersiz	8
1.6. Yüksek Yoğunluklu Aralıklı Antrenman (HIIT)	9
1.7. Miyokinler	11
1.7.1. İnterlökin-6 (IL-6)	12
1.7.2. İrisin	14
1.7.3. Miyonektin	14
1.8. Amaç ve Hipotez	15

2. GEREÇ VE YÖNTEM	17
2.1. Deney Hayvanları ve Etik İzin	17
2.2. Grupların Oluşturulması	17
2.3. Diyabetik Hayvanların Oluşturulması	19
2.4. Artımlı Yük Testi ve HIIT Protokolü	19
2.5. Hayvanların Sakrifikasyonu	22
2.6. Ağırlık ve Kan Glikozu Takibi	23
2.7. İzole İskelet Kasında Fonksiyon Ölçümü	24

2.7.1. Öngerim-Cevap Ölçümleri	25
2.7.2. Sarsı (Twitch) Cevaplarının Alınması	25
2.7.3. Kuvvet-Frekans Değerlendirmesi	25
2.7.4. Yorgunluk Değerlendirmesi	26
2.8. Yaş – Kuru Ağırlık ve Nem Tayini	27
2.9. Miyokin Düzeyi Ölçümleri	27
2.9.1. Dokuların Homojenizasyon İşlemi	27
2.9.2. ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) Aşamaları	28
2.10. İstatistiksel Analiz	28
3. BULGULAR	30
3.1. Hayvan Takip Değerleri	30
3.2. Atrofi Parametreleri	31
3.3. Maksimum Egzersiz Kapasitesi (MEK) Değerleri	33
3.4. Kas Fonksiyonu Değerleri	34
3.4.1. Sarsı Morfolojisi	34
3.4.2. Kuvvet-Frekans Ölçümleri	38
3.4.3. Yorgunluk Ölçümleri	40
3.5. Miyokinler	43
3.5.1. İnterlökin-6 (IL-6)	43
3.5.2. İrisin (FNDC5)	45
3.5.3. Miyonektin	46
4. TARTIŞMA	48
4.1. Hayvan Takip Değerleri (Vücut Ağırlığı, Kan Glikoz Düzeyleri)	48
4.2. Kas Atrofisi Değerlendirmesi	49
4.3. Hayvanların MEK Değerleri	52
4.4. Kas Fonksiyonu Ölçümleri	53
4.5. Serum ve Kas Dokusu IL-6 Düzeyleri	59
4.6. Serum ve Kas Dokusu İrisin Düzeyleri	62
4.7. Serum ve Kas Dokusu Miyonektin Düzeyleri	64
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	65
5.1. Sonuç	66
5.2. Öneriler	66
ÖZET	67

SUMMARY	69
KAYNAKLAR	70
EKLER	85
EK 1 : Etik Kurul Kararı	85
ÖZGEÇMİŞ	87



ÖNSÖZ

Öncelikle, araştırmamızı planlama süresince büyük bilgi birikimi ile katkısını hiçbir zaman eksik etmeyen, tez ve proje sürecimiz içerisinde karşılaştığımız zorluklarda pratik zekâsı, sabrı ve sakinliği ile elinden geldiğini ardına koymayan, bilimsel araştırma ve deneyler sırasında cesaretin ne kadar önemli olduğunu gösteren değerli danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Fırat AKAT’a,

Yüksek lisansım boyunca desteğini her zaman yanımda hissettiğim, beni çalışmalarım konusunda yüreklendiren değerli bölüm başkanımız Prof. Dr. Metin BAŞTUĞ’a,

Yüksek lisans eğitimi sürecimde bana ayrıntıların önemini gösteren, tecrübesi ile beni her zaman bir adım ileri götüren, tezimin gelişimine büyük katkı sağlayan değerli hocam Prof. Dr. Hakan FIÇICILAR’a,

Deney süresince karşımıza çıkan, ön göremediğimiz kritik problemler noktasında ivedilikle yardımımıza koşan, çok değerli bilim insanı Doç. Dr. Aykut PELİT’e,

Tez çalışmamız boyunca bilgi ve tecrübesi ile her zaman yanımızda bulunan sayın Doç. Dr. Ahmet Mert ERTUNÇ’a,

Bana araştırma ve öğrenme sürecinin her zaman bilim tarihi ile bir bütün olduğunu gösteren, bilimsel araştırma sürecini öğreten değerli hocam Prof. Dr. Erhan NALÇACI’ya

Öğrenim ve araştırma hayatımda çok büyük katkıları olan değerli hocalarım Prof. Dr. Canan KALAYCIOĞLU, Prof. Dr. Metehan ÇİÇEK, Doç. Dr. Güvem GÜMÜŞ AKAY, Dr. Öğr. Üyesi Emel GÜNEŞ ve Dr. Öğr. Üyesi Sertaç ÜSTÜN’e,

Tez süresi boyunca her zaman yardımına koşan değerli arkadaşlarım Arş. Gör. Dr. Hasan ÇALIŞKAN ve Arş. Gör. Seda KOÇAK'a

Genel Yurtiçi Yüksek Lisans Bursu ile yüksek lisansım boyunca araştırmalarım için maddi destek sağlayan Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumuna (TÜBİTAK),

Teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Son olarak, hayatımın her aşamasında desteğini hiçbir zaman eksik etmeyen, sabırlarını bazen zorladığım, sevgilerinin sınırsız olduğunu bildiğim, düştüğümde hayatıma neşe kaynağı olan, harika çözümlerle içimi ferahlatan, ilk ve daimi eğitimcilerim canım anneme, babama ve manevi desteği ile her an yanımda olan canım kardeşime yüksek lisans tezimi armağan ediyorum.

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACSM	Amerikan spor hekimliği koleji
AMPK	5'-adenozin monofosfat (AMP) ile aktive edilmiş protein kinaz
ATP	Adenozin trifosfat
BDNF	Beyin kaynaklı nörotrofik faktör
Ca ⁺²	Kalsiyum
CT	Kasılma süresi
CTRP	C1q/TNF-related protein
%CV	Yüzde varyasyon katsayısı
DF	Düşük frekanslı
DM	Diabetes mellitus
DM+HIIT	Diyabet+Antrenman grubu
DT ₅₀	Yarı gevşeme zamanı
DTR	Derin tendon refleksi
EAS	Elektriksel alan stimülasyon
EDL	Ekstensor digitorum longus
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
FHL	Fleksör hallucis longus
FGF-21	Fibroblast büyüme faktörü-21
FITT	Frekans, yoğunluk, tip, süre
FITT-VP	V: hacim, P: patern ve ilerleme
FNDC5	Fibronektin tip III alan içeren protein 5
GLUT4	Glikoz taşıyıcı-4
HIIT	Yüksek yoğunluklu aralıklı antrenman
Hz	Hertz
IGT	Bozulmuş glikoz toleransı
IL-1Ra	IL-1 reseptör antagonisti
IL-1β	İnterlökin 1 beta
IL-6	İnterlökin-6

IL-6R	İnterlökin-6 reseptörü
IL-10	İnterlökin-10
IL-15	İnterlökin-15
K	Kontrol grubu
KA	Kuru ağırlık
KA/VA	Kuru ağırlık/vücut ağırlığı
MEK	Maksimum egzersiz kapasitesi
mg/dl	miligram/desilitre
mg/kg	miligram/kilogram
MHC	Miyozin ağır zinciri
MICT	Orta şiddette aerobik egzersiz
ms	milisaniye
mN/cm ² x ms	milinewton/santimetrekare x milisaniye
N/cm ²	kuvvet/santimetrekare
PBS	Phosphate Buffered Saline
PGC-1 α koaktivatör-1 alfa	Peroksizom proliferatör aktive edici reseptör gamma
Ps	Sarsı genliği
ROS	Reaktif oksijen türevleri
SERCA1	Sarko/endoplazmik retikulum Ca ²⁺ -ATPaz-1
SERCA2	Sarko/endoplazmik retikulum Ca ²⁺ -ATPaz-2
sn	saniye
SOL	Soleus
SPARC	Osteonektin
STZ	Streptozotosin
T1DM	Tip 1 diabetes mellitus
T2DM	Tip 2 diabetes mellitus
TNF α	Tümör nekrozis faktör α
V	Volt
VO _{2max}	Maksimum aerobik kapasite
YA	Yaş ağırlık

YA/VA

Yaş ağırlık/vücut ağırlığı

YF

Yüksek frekanslı



ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Diyabetik miyopatinin gelişimi ve kas kalitesinin bozulması	7
Şekil 1.2. IL-6'nın diğer sitokinlerle birlikte proinflamatuvar ve antiinflamatuvar profili	13
Şekil 2.1. Hayvan deneyleri akış şeması	19
Şekil 2.2. Antrenman protokollerinde kullanılan koşu bandı	21
Şekil 2.3. HIIT protokolü	21
Şekil 2.4. Alt arka bacak soleus kası	22
Şekil 2.5. Alt ön bacak EDL kası	23
Şekil 2.6. Soleus (SOL) ve EDL kaslarının yan yana görüntüsü	23
Şekil 2.7. İzole İskelet Kası Protokolü	24
Şekil 2.8. Yorgunluk protokolü	26
Şekil 3.1. Hayvanların sakrifikasyon öncesi ölçülen takip parametreleri	30
Şekil 3.2. Soleus ve EDL kaslarından elde edilen YA/VA ve nem yüzdesi (%) verileri	32
Şekil 3.3. Soleus ve EDL kaslarından elde edilen KA/VA verileri	33
Şekil 3.4. Diyabetik ve non-diyabetik hayvanlarda ölçülen MEK değerleri	34
Şekil 3.5. Kasın boy ve kütlesine göre normalize edilmiş sarsı genliği değerleri	35
Şekil 3.6. Kasılma ve gevşeme zamanları	36
Şekil 3.7. Maksimum kasılma ve minimum gevşeme hızları	37
Şekil 3.8. Soleus kasının 10, 30, 50, 70, 100, 120 Hz frekanslarında izometrik kasılma kuvvetleri	38
Şekil 3.9. EDL kasının 10, 30, 50, 70, 100, 120 Hz frekanslarında izometrik kasılma kuvvetleri	39

Şekil 3.10. Farklı frekanslarda (10, 30, 50, 70, 100 ve 120 Hz) verilen uyarılara karşı alınan kasılma genliği cevaplarından oluşan kuvvet-frekans grafikleri	40
Şekil 3.11. Soles kasının DF yorgunluk kaydı	41
Şekil 3.12. EDL kasının DF yorgunluk kaydı	41
Şekil 3.13. Soleus kasının YF yorgunluk kaydı	41
Şekil 3.14. EDL kasının YF yorgunluk kaydı	42
Şekil 3.15. Yorgunluk indeksleri	42
Şekil 3.16. İnterlökkin-6 (IL-6) ölçümleri	44
Şekil 3.17. FNDC5 ölçümleri	45
Şekil 3.18. Miyonektin ölçümleri	46
Şekil 4.1. Diyabetik iskelet kasında Ca^{+2} homeostazisinde görülen değişimler	59
Şekil 4.2. Hücrel redoks durumunun iskelet kasında izometrik kuvveti üzerindeki bifazik etkisine yönelik teorik bir model	59
Şekil 4.3. IL-6'nın sinyalizasyonu	62

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. İskelet kaslarının sınıflandırılması ve farklı lif tiplerinin özellikleri	3
Çizelge 3.1. Soleus ve EDL kasları için ölçülen yaş ağırlık (YA), kuru ağırlık (KA) ve nem yüzdesi (%) değerleri	31



1. GİRİŞ

Kronik hastalıklar, progresyonu yaş ilerledikçe ağır seyreden ve devamlı olan hastalıklar olarak tanımlanmaktadır. Yüzyıllar içerisinde kronik hastalıklara çeşitli ilaçlar geliştirilmiş olsa da, 21. yüzyılda, özellikle kentleşme ve teknolojinin ilerlemesi, kişilerin yaşam tarzında değişikliğe yol açmıştır. Hareketsizlik ve kötü beslenme alışkanlıklarının kazanılması ile çeşitli hastalıkların oluşma sıklığı artmış ve kronik hastalıkların yönetimi zorlaşmıştır (Ginter ve Simko, 2013).

1.1. Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus (DM), ana bulgusu kronik hiperglisemi olan, zamanla çeşitli dokularda (kardiyovasküler sistem, retina, böbrekler, sinir sistemi vb.) hasara yol açan, insülin salgısı ve hassasiyetinin bozulması nedeniyle gelişen metabolik bir hastalıktır (Petersmann ve ark., 2019; World Health, 2016). DM, klinik seyrine göre iki alt tipe ayrılır. İnsülin-bağımlı diyabet olarak da bilinen Tip 1 diabetes mellitus (T1DM), insülin salgılayan pankreas β hücrelerinin yıkımıyla gelişen insülin eksikliği ve hiperglisemi ile karakterize, kronik, otoimmün bir hastalıktır (DiMeglio ve ark., 2018; Hurtado ve Vella, 2019). Tip 2 diabetes mellitus (T2DM) ise, beslenme, yaşam tarzı ve genetik faktörlerden etkilenen, erken dönemde insülin etkinliğinin bozulması, ilerleyen dönemde pankreas harabiyeti ile seyreden, hiperglisemi ile karakterize kronik, metabolik bir hastalıktır ve diyabet vakalarının yaklaşık %90'ını oluşturur (Hurtado ve Vella, 2019). 2000 yılında, diyabetli yetişkinlerin sayısı 151 milyonken 2009'da bu sayı %88 oranında artarak 285 milyona ulaşmıştır. Günümüzde 20-79 yaşları arasındaki yetişkinlerin %9,3'ünün (463 milyon) diyabet ile yaşadığı bilinmektedir. Dünya çapında, 2030'a kadar 578 milyon ve 2045'e kadar 700 milyon diyabetli yetişkin olacağını tahmin edilmektedir (Williams ve ark., 2019).

1.2. İskelet Kası

İskelet kası, memelilerde, vücut kütlesinin yaklaşık %40'ını oluşturur ve kas lifi kasılmalarına bağlı olarak postür, hareket ve solunum gibi lokomotor aktivitelerde, kimyasal enerjiyi mekanik bir işe dönüştürmede, metabolizmanın düzenlenmesinde rol alır (Barclay, 2017; Pedersen, 2013; Wang ve Pessin, 2013).

İskelet kası hücreleri, metabolik profil, kasılma hızı ve hücresel kalsiyum (Ca^{+2}) kullanımına göre çeşitli alt tiplere ayrılabilir. Miyozin ağır zinciri (MHC) izoformlarına dayalı olan sınıflandırmaya göre kas lifi tipleri, tip I, IIa, IIx ve IIb (insan iskelet kasında ifade edilmez) ve birden fazla MHC'yi ifade eden lifler olarak ayrılmaktadır. Bu liflerin temel metabolik profillerinde ve çeşitli yapısal özelliklerinde belirgin farklılıklar gözlenmektedir (Manickam ve Wahli, 2017; Talbot ve Maves, 2016; Westerblad ve ark., 2010). Kasılma hızındaki farklılıklar, çapraz köprülerin ve adenozin trifosfat (ATP) tüketiminin hızına göre belirlenir. Tip I lifler en yavaş, tip IIa lifler orta ve IIx/b lifler en hızlı kasılan liflerdir. Hızlı tip II liflerde sarko/endoplazmik retikulum Ca^{+2} -ATPaz-1 (SERCA-1), yavaş tip I liflerde sarko/endoplazmik retikulum Ca^{+2} -ATPaz-2 (SERCA-2) yoğunudur. Ayrıca, hızlı tip II lifler genellikle yavaş tip I liflere göre daha düşük oksidatif kapasiteye sahiptir, ancak sıçanlarda tip IIa'da tip I liflere göre daha yüksek oksidatif kapasite gözlenmiştir. Protein sentezi ve yıkımı (protein turnover) tip I liflerde, tip II liflere göre daha hızlıdır, bu lifler, açlığa karşı daha dayanıklıdır. Farklı lif tiplerindeki iskelet kaslarının özellikleri Çizelge 1.1'de gösterilmiştir.

Sonuç olarak, iskelet kasları, uzun süreli düşük yoğunluklu aktiviteler için optimize edilmiş yavaş kasılan, enerjiyi tasarruflu kullanan ve yüksek oksidatif kapasiteli liflerin yanı sıra, temelde anaerobik metabolizmaya bağlı, hızlı ve kısa patlayıcı hareketler için uygun, yüksek enerji tüketen lifler de içermektedir.

Çizelge 1.1. İskelet kaslarının sınıflandırılması ve farklı lif tiplerinin özellikleri (Manickam ve Wahli, (2017)'den değiştirilerek alınmıştır.)

Kas Lifi Özellikleri	Tip I	Tip IIa	Tip IIx/d	Tip II (glikolitik)
MHC izoformu	MHC I	MHC IIa	MHC IIx/d	MHC IIB
Sarsı/kasılma zamanı	Yavaş	Orta	Hızlı	Çok hızlı
Görüntü	Kırmızı	Kırmızı	Beyaz	Beyaz
ATP sentezi	Oksidatif	Oksidatif baskın	Glikolitik	Glikolitik
Yorgunluğa direnç	Yüksek	Orta	Düşük	Çok düşük
Kas çapı	Küçük	Orta	Geniş	Geniş
Kapiller yoğunluk	Yüksek	Yüksek	Düşük	Düşük
Mitokondriyal yoğunluk	Yüksek	Yüksek	Düşük	Düşük
Endurans kapasitesi	Yüksek	Orta	Düşük	Düşük
Kuvvet üretimi	Zayıf	Orta	Kuvvetli	Çok kuvvetli
İnsanlar	Bulunur	Bulunur	Bulunur	Bilinmiyor
Kemirgenler	Bulunur	Bulunur	Bulunur	Bulunur
Motor nöron büyüklüğü	Küçük	Orta	Geniş	Çok geniş
Ağırlıklı yakıt kaynağı	Trigliseritler	Kreatin fosfat, glikojen	Kreatin fosfat, glikojen	Kreatin fosfat

1.3. Diyabetik Miyopati

Hem T1DM hem de T2DM’de iskelet kasının kütlesi ve fonksiyonunda anlamlı kayıplar gerçekleşir. Bu kayıplar ‘diyabetik miyopati’ olarak adlandırılır. Diyabetin, daha az çalışılmış bir komplikasyonu olan diyabetik miyopati, azalmış kas kütlesi, kas zayıflığı ve azalmış fiziksel kapasite ile karakterizedir (Andersen ve ark., 1997; Chiu ve ark., 2016). İskelet kası lokomasyon ve glikoz dengesinde önemli rol oynayan bir organ olduğundan diyabetik miyopati, diyabetin diğer komplikasyonlarının gelişiminde de kilit bir role sahiptir (Bianchi ve Volpato, 2016; Kahn ve ark., 1992). Diyabetik miyopati, çeşitli hayvan modellerinde (Krause ve ark., 2009; Krause ve ark., 2011) çalışılmış ve 2 ila 6 hafta arasında geliştiği gösterilmiştir. Literatürde yer alan birçok çalışma, Streptozotosin (STZ) ve diyabetin yani hızlı kasılan glikolitik liflere, daha önce ve daha fazla etki ettiğini (Armstrong ve ark., 1975; Cai ve ark., 2021; Cotter ve ark., 1989; Imam ve ark., 2012; Kelleher ve ark., 2010; Nonaka ve ark., 2015; Pepato ve ark., 1996; Shamsi ve ark., 2014) ortaya koymuştur. Ek olarak, kronik egzersiz ile diyabetik atrofinin önüne geçilebileceği çalışmalarda gösterilmiştir (Sanchez ve ark., 2005). Literatürde birçok çalışmada soleus ve extensor digitorum longus (EDL) kaslarının MHC izoformuna göre sınıflandırılmış lif tipi dağılımları çizelge 1.2’de gösterilmiştir (Pelit, 2006). Soleus kasının büyük oranda tip I lif ve EDL kasının büyük oranda tip II lifler barındırdığı görülmektedir. Diyabet ile birlikte tip II lif oranında artış olabilmektedir (Jerkovic ve ark., 2009; Klueber ve Feczko, 1994; Song ve ark., 1999).

Şekil 1.1’de gösterildiği üzere, diyabette, birçok sebepten dolayı diyabetik miyopati gelişmekte ve kas kalitesinde düşüş görülmektedir (Krause ve Hawke, 2012). Kas kalitesinin düşmesine sebep olan iskelet kasındaki değişimler şunlardır (Bianchi ve Volpato, 2016; Hernández-Ochoa ve Vanegas, 2015; Senefeld ve ark., 2018):

1.3.1. İlerleyici Kas Kütlesi Kaybı (Atrofi)

Atrofi, hücre, organel, sitoplazma ve proteinlerinin kaybı sebebiyle meydana gelen küçülmeden dolayı, bir doku veya organın boyutundaki azalma olarak tanımlanır (Bonaldo ve Sandri, 2013). Kas atrofisi, protein sentezi ve yıkımı arasındaki dengesizliğe bağlı olarak kas kütlesindeki azalma ile karakterizedir ve kas kütlesi kaybı olarak da bilinir. Yaşlanma, nörolojik hastalıklar, obezite ve diyabet gibi durumlar, farklı derecelerde kas atrofisine yol açabilir (Dumitru ve ark., 2018). Oksidatif lifler, hareketsizlik, mikro yerçekimi ve denervasyon kaynaklı atrofiden daha fazla etkilenirken, glikolitik lifler, kanser kaşeksisi, DM, kronik kalp yetmezliği ve yaşlanmaya karşı daha savunmasızdır (Wang ve Pessin, 2013).

1.3.2. Azalmış Kas Kuvveti

Kas kuvveti azalması; kas kütlesi kaybı, kas yapısındaki ve lif tipindeki değişiklikler gibi kasa özgü faktörlerden kaynaklanabileceği gibi, azalmış kortikal ve spinal uyarılabilirlik, azalmış sinir iletim hızı, azalmış maksimal motor ünite deşarj oranı gibi nörolojik faktörlerden de etkilenmektedir (Bianchi ve Volpato, 2016).

1.3.3. Artmış Kas Yorgunluğu

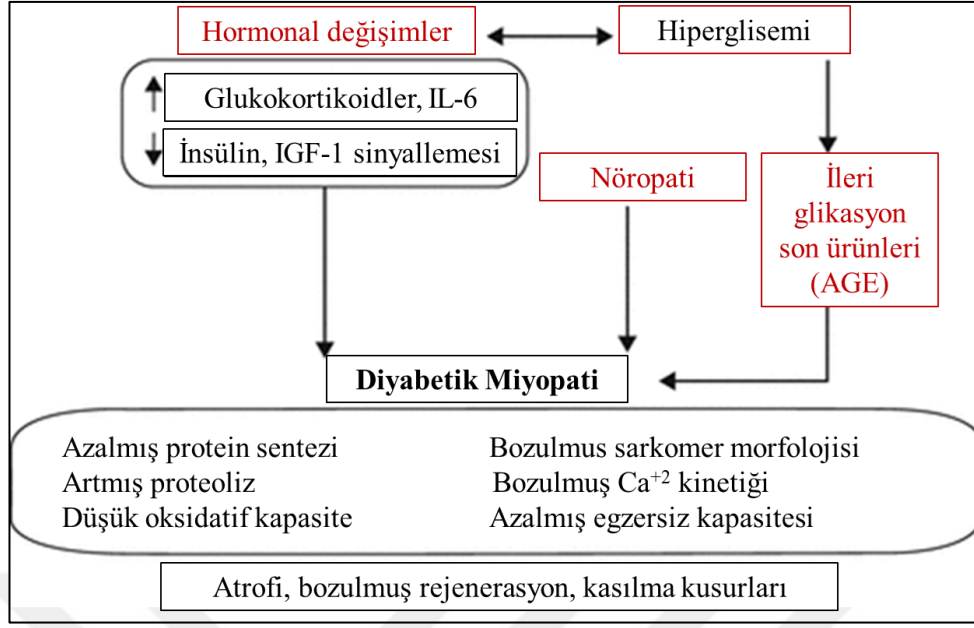
Kas yorgunluğu, kas gücünde geri dönüşümlü, kısa vadeli, aktiviteye bağlı bir azalmadır. Tekrarlı ve sürekli kasılma gerektiren aktivitelerde kişinin performansını sınırlar. Sağlıklı yetişkinlerde ekstremit yorgunluğuna sebep olan mekanizmalar arasında kaslara giden impulsta eksiklikler, nöromüsküler yayılmadaki bozukluklar, iskelet kası liflerinin azalmış kuvvet kapasitesi ve kasta kan akışının bozulması yer almaktadır (Senefeld ve ark., 2018).

T1DM’de kas kütlesinde ve miyofibril çapında azalma görülür. Ayrıca metabolik kontrolün bozulmasına bağlı glikolitik fenotip baskınlığı da gözlenmiştir

(Crowther ve ark., 2003; Fritzsche ve ark., 2008; Krause ve ark., 2013; Krause ve ark., 2011). Her ne kadar T1DM’li insanlarda yapılan ilk çalışmalarda kapiller yoğunlukta bir değişim görülme de (Leinonen ve ark., 1982), T1DM’li farelerle yapılan çalışmalar hastalığın iskelet kasında kapillerizasyon ve anjiyogenezi azalttığını göstermektedir (Kivelä ve ark., 2006; Krause ve ark., 2009). Kas yapısı ve metabolizmasındaki bu değişimleri genellikle kas fonksiyonundaki kayıplar izler (Almeida ve ark., 2008; Gordon ve ark., 2010; Huttunen ve ark., 1984; Poortmans ve ark., 1986). T2DM de iskelet kasında benzer değişimlere neden olur. T2DM’li bireylerde artmış glikolitik kas lifi sayısı (MÅrin ve ark., 1994; Nyholm ve ark., 1997), kas atrofisi (Huang ve ark., 2010) ve azalmış kapiller yoğunluk (Prior ve ark., 2009) bildirilmiştir.

Çizelge 1.2. Soleus ve EDL kaslarının sağlıklı ve diyabetik sıçanlarda lif tipi dağılımları (Pelit, (2006) Doktora Tezi’nden alınmıştır.)

Çalışmalar	Kaslar	Tip I	Tip IIa	Tip II
Jerkovic ve ark. (sağlıklı)	Soleus	%89	%11	-
	EDL	%9	%34	%57
Lee ve ark. (sağlıklı)	Soleus	%95,1	%4,9	-
	EDL	%5,6	%94,4	-
Song ve ark. (diyabetik)	Soleus	%84	%16	-
	EDL	%3	%57	%40
Klueber ve Feczko (diyabetik)	EDL	-	%47,5	%52,5
	EDL	-	%53,6	%46,4



Şekil 1.1. Diyabetik miyopatinin gelişimi ve kas kalitesinin bozulması (Krause ve Hawke, (2012)’den değiştirilerek alınmıştır.)

1.4. Diyabetik Nöropati

İskelet kasları, vücudun yaklaşık %40’ını oluştursa da, iskelet kasları yalnız düşünülemez. İskelet kaslarında bol miktarda kan damarları ve sinirler bulunmaktadır. İskelet kasındaki kasılma fonksiyonu sadece iskelet kasının iç dinamiklerinden değil aynı zamanda motor sinirde meydana gelen değişimlerden de etkilenmektedir. Buradan hareketle diyabetin en önemli komplikasyonlarından birisi olan diyabetik nöropatinin iskelet kası fonksiyonu bozulmasındaki payını anlamak oldukça önemlidir.

Sinir yapısındaki hasarlar sonucu ortaya çıkan nöropati, iskelet kasını etkilemektedir. Nöropati, başlıca, santral ve periferik olarak ikiye ayrılmaktadır. Periferik nöropatiler, çeşitli patolojilere sekonder olarak ortaya çıkar ve nöropatinin en sık görülen çeşididir. Periferik nöropatinin en sık karşılaşılan semptomu parestezidir; ağrı, güçsüzlük ve derin tendon reflekslerinin (DTR) kaybı paresteziye eşlik edebilir. Periferik nöropatiler ilerleyici olabilmektedir. Nöropatilerin gelişimi

kişinin yaşı ve diyabetin süresi ile oldukça ilişkilidir ve genellikle aylar ıla yıllar içinde gelişirken, bazıları daha hızlı kendini gösterebilir (Hammi ve Yeung, 2019).

Periferik sinir disfonksiyonunun ortaya çıktığı çeşitli hastalıkların yanı sıra, diyabette yaygın bir komplikasyon olarak ortaya çıkan diyabetik nöropati, nöropati insidansının önemli bir kısmını oluşturmaktadır (Bansal ve ark., 2006).

Kemirgenlerde diyabetik nöropatinin belirlenebilmesi ve ilerleyişini gözlemleyebilmek için literatürde çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Genel olarak, davranış deneyleri, sinir iletim hızı ve sinir yapısı parametrelerinden 2'sinin varlığı ile kemirgende diyabetik nöropati varlığı söylenebilmektedir (Biessels ve ark., 2014).

1.5. Egzersiz

Egzersiz, fiziksel uygunluğun bir veya daha fazla bileşeninin iyileştirilmesi veya sürdürülmesine yönelik, planlı, tekrarlı, yapılandırılabilen ve amaca yönelik gerçekleştirilebilen bir fiziksel aktivite alt kategorisidir (Dasso, 2019). Egzersizin, kişinin kardiyovasküler, pulmoner ve metabolik hastalıkların yanı sıra kanser, anksiyete, depresyon ve erken ölüm riskini azaltma gibi faydaları vardır. Her ne kadar egzersizin yararlı etkileri birçok çalışma ile gösterilmiş olsa da, doğru egzersiz yönteminin belirlenmesi hala üzerinde araştırma yapılan bir alandır.

Egzersiz programına katılım öncesi çeşitli taramalar yapılması önemlidir. Kardiyovasküler egzersiz reçetesinde sıklıkla FITT (frekans, yoğunluk, tip, süre) kullanılır. FITT, egzersizin sıklığı, yoğunluğu, süresi ve türünü kapsar. Son Amerikan Spor Hekimliği Koleji (ACSM) yönergelerine göre egzersiz reçetesi, FITT-VP (V: hacim, P: patern ve ilerleme) olarak gösterilmiştir. Doğru antrenman, yüksek yoğunluklu egzersiz koşullarını tolere etme, yorgunluğu geciktirme ve iyileşmeyi geliştirme becerisinin artmasına katkıda bulunur (Porcari ve ark., 2015; Powell ve ark., 2011).

Egzersiz yapmak için gereken enerji, anaerobik ve aerobik metabolizma yollarından gelir. Anaerobik egzersiz, oksijen kullanımından bağımsız olarak, kaslardaki enerji kaynakları tarafından beslenen, çok kısa süreli, yoğun bir fiziksel aktivite olarak tanımlanır. Anaerobik egzersizde, aerobik egzersize göre daha az ATP üretilir ve glikoliz son ürünleri laktata çevrilir. Anaerobik egzersiz, laktatta sürekli bir artışa yol açar ve bu artışının başlangıç noktası anaerobik eşik (laktat eşiği) olarak adlandırılır (Patel ve ark., 2017). Aerobik egzersiz, büyük kas grupları kullanılarak sürekli olarak sürdürülebilen ve doğası gereği ritmik olan herhangi bir aktivite olarak tanımlanır. Bisiklet, dans, yürüyüş, koşu, yüzme, aerobik egzersize örnek olarak verilebilir. Aerobik kapasiteyi, kardiyorespiratuar sistemin oksijen sağlama kapasitesi ve iskelet kaslarının oksijeni kullanma verimliliği olarak tanımlar. Aerobik kapasite için kıstas ise, maksimal oksijen kapasitedir (VO_{2max}) (Patel ve ark., 2017).

VO_{2max} , oksidatif fosforilasyon yoluyla maksimum enerji üretiminin üst sınırıdır ve dayanıklılık performansının önemli bir belirleyicisidir. VO_{2max} Fick denklemiyle, maksimum kardiyak output ve dokular tarafından kullanılan oksijene göre belirlenir (Powers ve ark., 2007; Yıldız, 2012). Anaerobik eşik değer ve VO_{2max} değerleri, kişiye özel egzersiz yoğunluğunun saptanması için önemlidir (Yıldız, 2012). VO_{2max} 'ın belirlenmesinde, farklı avantajları ve dezavantajları olan, direkt ölçüm ve endirekt ölçüm yöntemleri bulunmaktadır.

1.6. Yüksek Yoğunluklu Aralıklı Antrenman (HIIT)

HIIT temelde, birbirini takip eden yüksek yoğunluklu egzersiz seansları arasında yer alan aktif dinlenme dönemlerinden oluşur (Cassidy ve ark., 2017). Her ne kadar farklı HIIT protokolleri tanımlanmış olsa da, genellikle yüksek şiddetli periyotta VO_{2max} 'ın %80-90'ına karşılık gelen şiddette 1-4 dakika kadar sürdürülürken, aktif dinlenme döneminde ise şiddet %50-60'a düşürülmektedir. Aktif dinlenme döneminin temel amacı kişiyi bir sonraki yüksek şiddetli egzersiz periyoduna hazırlamaktır. Genellikle toplam egzersiz süresi en az 20 dakika olmakla birlikte, 10-30 saniyelik

aralıklarla kişinin VO_{2max} 'ın üzerine çıkmaya zorlandığı supramaksimal egzersiz tarzı kısa süreli HIIT protokollerine de rastlanmaktadır (Burgomaster ve ark., 2005).

HIIT programlarının verimli bir şekilde, kardiyovasküler uygunluğu ve diğer çeşitli fizyolojik parametreleri klasik egzersiz programlarına göre daha güçlü iyileştirebilecekleri düşünülmektedir (Murawska-Cialowicz ve ark., 2020; Porcari ve ark., 2015).

Günümüzde uzmanlar, kişilerin haftanın günlerine yayılmış, toplamda haftalık 150 dakika civarında orta şiddette aerobik egzersiz (MICT) yapmasını, ayrıca haftanın en az iki gününü de direnç egzersizlerine ayırmasını önermektedirler (Colberg ve ark., 2010). Birçok çalışma, hipertansiyon, diyabet, obezite gibi durumlarda, klasik bir antrenman olarak kabul edilen MICT ile son zamanlarda popüler olan HIIT'i karşılaştırmıştır (Groussard ve ark., 2019; Keating ve ark., 2017; Maillard ve ark., 2016; Miguet ve ark., 2020; Ramos ve ark., 2015; Su ve ark., 2019).

HIIT'in, antrenmandan sonra vücut ve yağ kütlesinde daha büyük bir azalmaya yol açtığı bulunmuştur (Coswig ve ark., 2020). Ayrıca, kardiyopulmoner uygunluğu iyileştirmede MICT'den daha faydalı olduğu gösterilmiştir (Su ve ark., 2019). Ek olarak, antrenman programının bir süre askıya alınması durumunda MICT protokollerinin olumlu etkileri tersine dönmüş, fakat HIIT protokollerinin olumlu etkilerinin uzun sürdüğü ve korunduğu gösterilmiştir (Gripp ve ark., 2021). HIIT'in, özellikle antrenmandan sonra, daha fazla kalori yakma eğiliminde olduğu için, faydaları daha kısa sürede ortaya çıkmaktadır (Kravitz ve Zuhl, 2014). Ek olarak, hücre ölümü olmaksızın düzenli olarak hafif iskemik reperfüzyona maruz kalındığında, kalpte ön koşullandırma yoluyla kardiyoproteksiyon artar. Bu bağlamda, çok sayıda çalışmada, kronik egzersizin, hatta akut egzersizin bile, kardiyoproteksiyon elde etmek için ön koşullandırmanın pratik yaklaşımlardan biri olduğu gösterilmektedir. HIIT'in etkisi ve kardiyoproteksiyon mekanizmalarına yönelik çalışmalar sınırlı olsa da, HIIT ile ön-koşullandırmanın iskemik reperfüzyona karşı kardiyoproteksiyon etkilerinin MICT'den daha büyük olabileceği gösterilmiştir (Ramez ve ark., 2019).

HIIT, tüm fiziksel uygunluk seviyelerindeki bireylere uyarlanabilir. Ek olarak, bisiklet, yürüyüş, yüzme, eliptik ve çapraz antrenman gibi çeşitli egzersiz tiplerinde HIIT uygulanabilir (Powers ve ark., 2007).

1.7. Miyokinler

Egzersiz ile birlikte kaslardan salgılanması artan ve “egzersiz faktörü” olarak adlandırılan (Febbraio ve Pedersen, 2002; Pedersen ve ark., 2001) moleküllerin varlığı yaklaşık elli yıldır bilinmektedir. İlk olarak, proinflamatuvar özelliği ile bilinen İnterlökin-6 (IL-6), bir egzersiz faktörü olarak tanımlanmıştır. Kas kaynaklı IL-6’nın tanımlanmasının ardından, kısa süre sonra kasların yüzlerce peptit salgılayabildiği anlaşılmıştır. Günümüzde üç binden fazla miyokin bildirilmiştir (Legård ve Pedersen, 2019; Severinsen ve Pedersen, 2020; Whitham ve Febbraio, 2016). Miyokinler, kas lifleri tarafından üretilen, ifade edilen ve salgılanan, otokrin, parakrin veya endokrin etkiler gösteren sitokinler ve diğer peptitler olarak tanımlanmaktadır (Severinsen ve Pedersen, 2020). Bununla birlikte, miyokin terimi, iskelet kası hücresi yerine iskelet kası dokusu tarafından sentezlenen bir proteini tarif etmek için de kullanılmaktadır (Pedersen ve ark., 2004). Kas dokusu çeşitli bağ dokuları, kılcal damarlar ve sinir hücreleri katmanları içerdiği için çeşitli hücre tipleri iskelet kası dokusu analizine dahil edilmiş olur. Yani, aslında miyokin teriminin temel olarak, iskelet kası hücreleri tarafından sentezlenen ve salgılanan bir protein için kullanılmasının daha doğru olacağı belirtilmekte ve tanımının bu şekilde yapılması önerilmektedir (Eckel, 2019; Raschke ve Eckel, 2013).

Miyokinler aralarında kasın da bulunduğu, birçok organ ve dokuda hücreler arası iletişime aracılık ederler (Severinsen ve Pedersen, 2020). Ayrıca, kasılma ile düzenlenen miyokinlerin birçoğu adipositler tarafından da salgılanmaktadır ve bu faktörler adipo-miyokinler olarak da adlandırılabilir (Raschke ve Eckel, 2013). Miyokinleri organ iletişim ağları içinde kritik araçlar olarak düşünmek, egzersizin moleküler temeline ilişkin yeni bir anlayış geliştirmede etkili olmuştur (Eckel, 2019). Miyokinler lipid ve glikoz metabolizması, beyaz yağda kahverengileşme, kemik

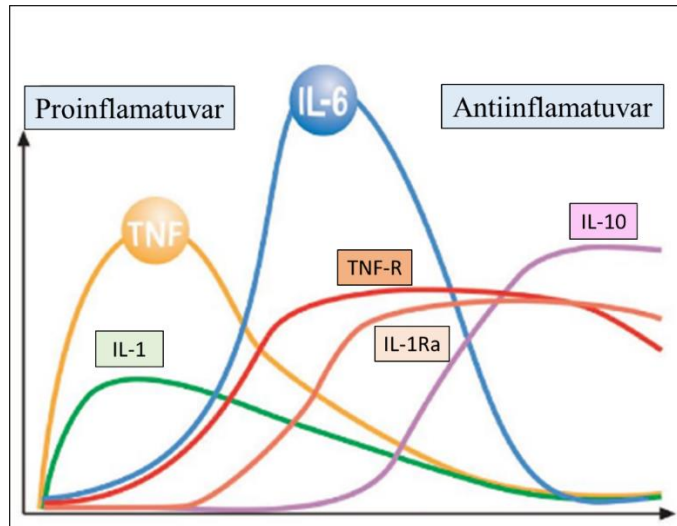
oluşumu, endotel hücre fonksiyonu, hipertrofi, insülin hassasiyeti, deri yapısı ve tümör büyümesi üzerine etkilerini gösterir. Miyokinlerin, kanser, diyabet, kardiyovasküler veya nörodejeneratif hastalıklarla mücadelede etkili olabileceği veya egzersiz reçetesi vermek için gerekli egzersiz türü ve miktarını izlemede yararlı biyobelirteçler olarak kullanılabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle, miyokinlerin tanımlanması ve fonksiyonel karakterizasyonu üzerine kapsamlı araştırmalar yürütülmektedir (Eckel, 2019; Severinsen ve Pedersen, 2020). Birçok miyokin dolaşıma salgılanmaz ve iskelet kasında otokrin veya parakrin faktörler olarak işlev görerek, kas kütlesinde, yağ oksidasyonunda, glikoz alımında, insülin hassasiyetinde rol oynar. Diyabette değişen bazı miyokinler IL-6, irisin, miyonektin, miyostatin, interlökin 15 (IL-15), apelin, musclin, beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF), osteonektin (SPARC), fibroblast büyüme faktörü-21 (FGF-21), decorin, olarak sıralanabilir (Eckel, 2019; Garneau ve Aguer, 2019; Piccirillo, 2019; Thyfault ve Bergouignan, 2020).

1.7.1. İnterlökin-6 (IL-6)

İnterlökin 6 (IL-6) 2000 yılında ilk tanımlanan ve en çok çalışılan miyokindir. Kas kasılmasının süresinden, yoğunluğundan, kasılmaya katılan kas kütlesi miktarından etkilenecek ve buna yanıt olarak dolaşıma verilir (Durrer ve ark., 2017; Febbraio ve Pedersen, 2002; Fischer, 2006; Lee ve Jun, 2019; Legård ve Pedersen, 2019). Yapılan çalışmalarda akut egzersizi takiben dolaşımdaki IL-6'da görülen artışın antiinflamatuvar özellikte olduğu, şekil 1.2'de gösterildiği gibi, interlökin 1 reseptör antagonisti (IL-1Ra), interlökin 10 (IL-10)'u stimüle ettiği, tümör nekrozis faktör α (TNF α)'yı baskıladığı gösterilmiştir (Durrer ve ark., 2017; Petersen ve Pedersen, 2006). İskelet kası kasılması ile IL-6 konsantrasyonunun, dinlenme durumuna göre 5 ila 100 kat arttığı (Legård ve Pedersen, 2019; Rosendal ve ark., 2005) ve bu artışının üstel olduğu çalışmalarda belirtilmektedir (Legård ve Pedersen, 2019; Ostrowski, 1998; Redfearn ve ark., 2005).

IL-6 salgılandığı hücreye ve uğradığı posttranslasyonel modifikasyona göre çeşitlilik gösteren glikozillenme durumu nedeniyle 22-27 kilodalton (kDa) arasında

değişen moleküler ağırlığa sahiptir. 28'i sinyal 184'ü gövde olmak üzere 212 amino asitlik bir öncül (prekürsör) protein olarak sentezlenir (Hirano ve ark., 1994). IL-6 birçok hücre tipinde sentezlenmekle birlikte in-vivo ortamda ana IL-6 kaynağı uyarılmış monosit/makrofajlar, fibroblastlar ve vasküler endotelial hücrelerdir (Akira ve ark., 1993). IL-6'nın glikoz metabolizması üzerinde oldukça etkili olduğu ve insülin benzeri (insülinomimetik) bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. IL-6'nın 5'-adenozin monofosfat (AMP) ile aktive edilmiş protein kinaz (AMPK) ve PI3K-Akt sinyal yolları üzerinden ile glikoz alımını ve yağ asidi oksidasyonunu arttırdığı in-vitro olarak gösterilmiştir. Literatürde iskelet kası atrofisi üzerinde etkisinin olumsuz yönde olduğu ve bazı kas hastalıklarında aşırı üretildiğini belirten çalışmalara rastlanmaktadır (Lee ve Jun, 2019). Cipryan ve ark. HIIT'in IL-6'nın serum düzeylerinde bir artışa neden olduğunu öne sürerken (Cipryan, 2017), Khalafi ve ark. yaptıkları meta analiz çalışmasında HIIT tipi protokollerin IL-6 düzeylerinde anlamlı bir değişikliğe neden olmadığını öne sürmüşlerdir (Khalafi ve Symonds, 2020). Diyabette ise serum ve iskelet kası düzeylerinde artış gözlemlendiğini, egzersiz uygulaması ile bu düzeylerin azaldığını gösteren birçok çalışmalar (Kazemi, 2019; Shamsi ve ark., 2014) literatürde yer almakta iken, kastaki düzeylerinde diyabet ve egzersiz ile anlamlı değişim göstermeyen çalışmalar da yer almaktadır (Pattamaprapanont ve ark., 2016).



Şekil 1.2. IL-6'nın diğer sitokinlerle birlikte proinflamatuvar ve antiinflamatuvar profili (Petersen ve Pedersen, (2006)'dan değiştirilerek alınmıştır.)

1.7.2. İrisin

İrisin, FNDC5'in bölünmüş bir şeklidir ve 2002 yılında egzersizin yararlı etkisinin potansiyel bir aracısı olarak rapor edilmiştir (Lee ve Jun, 2019; Raschke ve ark., 2013). Kasta, peroksizom proliferatör aktive edici reseptör gama koaktivatör 1-alfa'nın (PGC-1 α) ekspresyonu, fibronektin tip III alan içeren protein 5 (FNDC5) ekspresyonunu uyarır, böylece termogeneze etki eder. Kandaki irisin değerleri tartışmalı olsa da egzersizle birlikte artış gösterdiği belirtilmektedir. Ayrıca, irisin ve miyostatin, egzersizden sonra iskelet kaslarından zıt olarak salgılanmakta ve miyojenik bir rolü olabileceği düşünülmektedir. İrisinin, kemirgenlerde IL-6 sinyalini aktive ederek iskelet kası hipertrofisine neden olduğunu ve denervasyonun neden olduğu atrofiyi zayıflattığını ve kas uydu hücreleri aktivasyonu ile protein sentezinin yükselmesi ile hipertrofide rol aldığı, bunun yanında miyojenik farklılaşmada etkisi gösterilmiştir (Lee ve Jun, 2019; Reza ve ark., 2017). Archundia-Herrera ve ark. adolesan çağındaki obez kadınlarla yaptıkları çalışmada HIIT egzersizinin iskelet kası irisin düzeylerini arttırdığını ancak plazma irisin seviyelerini değiştirmedığını saptamışlardır (Archundia-Herrera ve ark., 2017). Cialowicz ve ark. ise HIIT uygulanan erkeklerde kan irisin konsantrasyonunun arttığını bildirmişlerdir (Murawska-Cialowicz ve ark., 2020). Ek olarak, diyabetik hayvan çalışmalarında irisin düzeylerinin sedanter diyabetlilerde azaldığı, antrenmanla birlikte plazma düzeyinin arttığı gösterilmiştir (Amri ve ark., 2019; Bayat ve ark., 2020; Dünnwald ve ark., 2019; Fouda ve Gabr, 2021; Hashemvarzi, 2020; Sadeghipour ve ark., 2020). Diyabetik iskelet kasında seviyelerinin ve ekspresyonunun azaldığı (Jiang ve ark., 2021), antrenman ile birlikte düzeylerinde artış görüldüğü (Kim ve Song, 2017; Rahmati – Ahmadabad ve ark., 2021) belirtilmektedir.

1.7.3. Miyonektin

CTRP ailesinde yer alan miyonektin (CTRP-15), ağırlıklı olarak iskelet kasında eksprese edilmesinin (Seldin ve ark., 2012) yanı sıra, CTRPler arasında tek iskelet kasından eksprese edilen miyokindir (Li ve ark., 2018). Kas kasılmasını takiben

dolaşıma geçerek insüline benzer etkiler göstermektedir (Seldin ve ark., 2012). Park ve ark. miyonektinin AMPK sinyal yolağı aktivasyonu üzerinden hücreye glikoz alımı ve yağ asitlerinin oksidasyonunu arttırdığını göstermişlerdir (Park ve ark., 2009). İskelet kasından eksprese edildiğı ve salgılandığının ilk kez gösterildiğı Seldin ve ark.'nın fareler üzerinde yaptığı çalışmada miyonektinin, oksidatif-yavaş sarsı (soleus) kas lifi tiplerinde glikolitik-hızlı sarsı (plantaris) kas lifi tiplerine daha fazla eksprese edilme potansiyelinde olduğı belirtilmiştir. Bu durum, mitokondriyal biyogenez ile ilişkilendirilmiştir (Seldin ve Wong, 2012). Miyonektinin protein sentezini arttırıp, protein yıkımını baskılayarak kas kütlesini arttırıcı yönde etki gösterdiği da bildirilmiştir (Bonaldo ve Sandri, 2013; Seldin ve ark., 2013). Yapılan bir çalışmada diyabetik hayvanlarda soleus kasında ekspresyonunun düşük olduğunu ve antrenman sonrasında yükseldiğini belirtilmiştir (Rahmati – Ahmadabad ve ark., 2021). T2DM ve bozulmuş glikoz toleransı (IGT) durumunda plazma miyonektin seviyelerinde bir artış olduğı, hatta T2DM'li hastalarda IGT'li hastalara göre daha yüksek seviyelerde seyrettiğı gösterilmiştir (Li ve ark., 2018.). Bir diğeryandan T2DM'li hastalarda ve obezlerde dolaşımda konsantrasyonlarının azalmış olduğı belirtilmektedir (Li ve ark., 2020; Li ve ark., 2021; Zhang ve ark., 2020). Akut ve kronik egzersizin miyonektin serum düzeyi üzerindeki etkisine bakılacak olursa, antrenman sonrası miyonektin konsantrasyonu ve insülin direncinde azalma olduğunu belirten çalışmalar (Lim ve ark., 2012; olmasına karşın, antrenman ile miyonektin düzeylerinde artış olabileceğini gösteren çalışmalar (Peterson ve ark., 2014; Seldin ve Wong, 2012) da bulunmaktadır.

1.8. Amaç ve Hipotez

Önerilen çalışmada, egzersiz reçetesi kriterlerine uygun olarak oluşturulan kronik HIIT protokolünün sağlıklı ve diyabetik durumda iskelet kası işlevleri üzerine etkilerinin ve altında yatan moleküler mekanizmalarının aydınlatılması amaçlanmaktadır. Bu amaç doğrultusunda karşılaştırmalı olarak,

1. İzole iskelet kası çalışması ile diyabetik miyopati kriterlerinden olan kas kuvveti ve yorgunluğun lif tipi bazında değerlendirilmesi,

2. Diyabetik miyopatinin bir diğerkriteri olan kas atrofisinin lif tipi bazında değerkendirilmesi,
3. İki farklı baskın lif tipine sahip kaslarda miyokin tayinlerinin sağlanması ve karşılaştırılması,
4. Serum miyokin düzeylerinin antrenman sonucu değışimlerinin farklı gruplar arasında düzeyleri araştırılmıştır.

Literatürdeki bilgiler ışığında ve yukarıda yer alan amaçlar doğrultusunda, diyabetik iskelet kasında, lif tiplerinin diyabetten farklı düzeylerde etkilenebileceğı hipotezlenmiştir. Buradan yola çıkarak kas liflerinde miyopatinin gözleneceğı, dolayısıyla atrofi, kontraktıl performansta ve yorgunluğa karşı gösterilen dirençte bir azalma olacağı beklenmektedir.

Miyokin bazında bakılacak olursa, diyabetik durumda irisin ve miyonektin düzeylerinin iskelet kaslarında ve serumda azalması, IL-6 düzeylerinin iskelet kası ve serumda artması ve proinflatuvar bir etki göstermesi hipotezlenmektedir.

HIIT protokolünün diyabete bağı kas atrofisini miyokinler üzerinden önleyebileceğı, kontraktıl performansta ve yorgunluğa dirençte antrenmanla artış görülebileceğı hipotezlenmektedir.

Miyokin seviyeleri açısından ise, IL-6 iskelet kası ve serum düzeylerinin normalizasyonu, irisin ve miyonektin seviyelerinin antrenman yapan gruplarda artış beklenmektedir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'na ait araştırma laboratuvarında yürütülmüştür.

2.1. Deney Hayvanları ve Etik İzin

Çalışmamızda, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Eğitim ve Araştırma Laboratuvarı'nda üretilen 10 haftalık, erkek, yaklaşık 250-300 g ağırlığında, Wistar albino (*Rattus norvegicus*) cinsi 60 adet sıçan kullanılmıştır.

Hayvanlar, 12 saat aydınlık/karanlık siklusunda, 22-24 °C sıcaklık %50-55'lik bağıl nemde, Ankara Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalı Deney Hayvanı Laboratuvarı'nda barındırıldı. Hayvanların standart pelet sıçan yemi ve içme suyuna *ad libitum* erişimi sağlandı.

Çalışmamızda kullanılan deney hayvanları ve deney prosedürleri için Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'na (AÜ HADYEK) resmi başvuru yapılarak etik kurul izni (Karar no: 2021-8-47) alındı.

2.2. Grupların Oluşturulması

Örneklem büyüklüğü hesaplamaları için Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr İ. Safa GÜRCAN'dan danışmanlık alındı. Örneklem büyüklüğü istatistiksel analizlerde tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılacağı göz önüne alınarak, testin gücü (1- β) 0,80; etki büyüklüğü (d) 0,50; tip bir hata (α) 0,05 seçildiğinde örneklem genişliği 48 olarak G*Power (ver 3.1.9.6) programı kullanılarak hesaplandı. Ancak çalışmanın doğasına bağlı çeşitli riskler

nedeniyle hesaplanan örneklem büyüklüğüne ulaşmak için hayvan sayısı %25 arttırılmıştır (n=60). Bu riskler:

a) Diyabet kaynaklı riskler:

Streptozotosin (STZ) ile indüklenen diyabet modelinde yaklaşık %10'luk bir mortalite öngörülmektedir. Ek olarak, çeşitli teknik aksaklıklar nedeniyle enjeksiyon yapılan hayvanların yaklaşık %10'unda diyabet gelişmemekte ve bu hayvanlar deney dışı kalmaktadır.

b) Egzersiz kaynaklı riskler:

Egzersiz gruplarındaki hayvanların bir kısmı antrenman programına uyum göstermemekte, bir kısmı ise antrenman sırasında sakatlanarak deney dışı kalmaktadır. Geçmiş araştırma tecrübelerimize bahsedilen risklerin gerçekleşme olasılığı yaklaşık %20'dir.

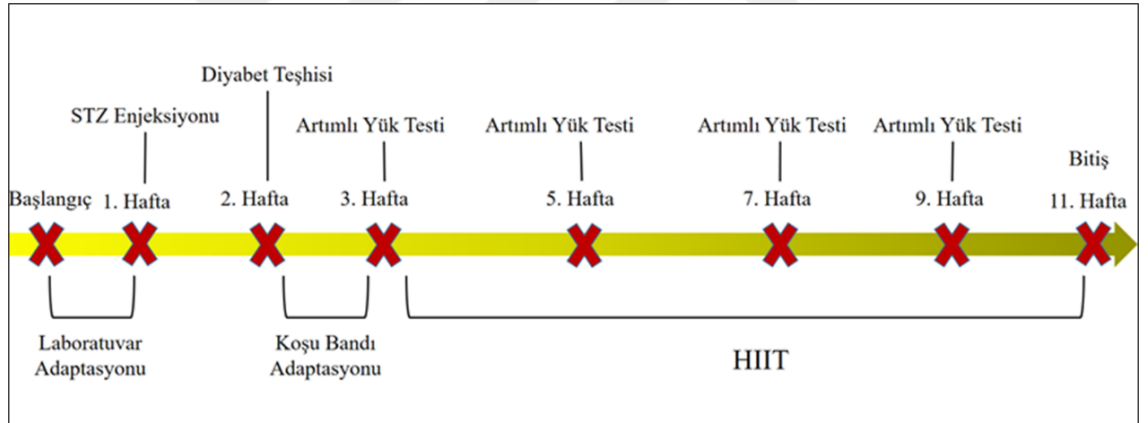
Alınan hayvanlar 4 gruba rastgele eşit olarak dağıtıldı. Gruplar:

1. Kontrol (K) (n=15)
2. Diyabet (DM) (n= 15)
3. Antrenman (HIIT) (n= 15)
4. Diyabet + Antrenman (DM + HIIT) (n= 15)

Laboratuvarına getirilen hayvanlar deneylere alınmadan önce, bir hafta boyunca laboratuvar adaptasyonu için bekletildi. Hayvan deneyleri akış şeması, şekil 2.1'de verilmiştir.

2.3. Diyabetik Hayvanların Oluşturulması

Tip 1 diyabet modeli oluşturmak için, diyabet gruplarındaki (DM ve DM+HIIT) 11 haftalık hayvanlara, literatüre uygun olarak, 60 mg/kg dozunda, sitrat tamponunda çözülmüş (0,1 M Sitrat Tamponu; pH:4,5) STZ (Sigma Aldrich, S0130, Missouri, ABD), intraperitoneal (i.p.) yoldan enjekte edildi (Luippold, 2012). Hayvanlar enjeksiyondan önce, 12-16 saat aç bırakıldı. Enjeksiyondan 1, 3 ve 7 gün sonra, kuyruk veninden glikometre (OnCall Plus Acon Labs. Inc. ABD) ile kan şekeri ölçümleri yapıp, her üç ölçümü de 300 mg/dl (16,7 mmol/l) üzeri olan hayvanlar diyabetik kabul edildi. 300 mg/dl kan şekeri düzeyinin altında kalan hayvanlar çalışma dışı bırakıldı. Enjeksiyonun ardından diyabetin oturması için, antrenman protokolüne kadar 2 hafta süreyle beklenildi. Çalışma boyunca tüm hayvanların kan şekeri (haftalık) ve vücut ağırlığı (gün aşırı) değerleri olarak takip edildi.



Şekil 2.1. Hayvan deneyleri akış şeması

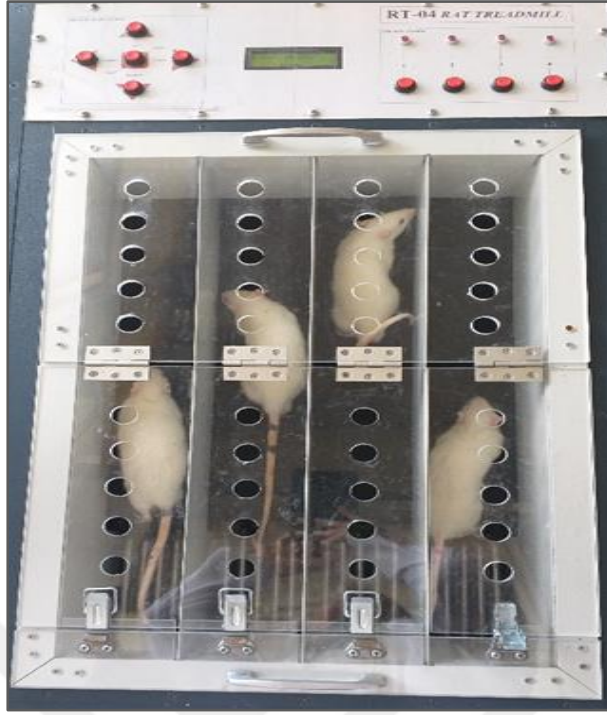
2.4. Artımlı Yük Testi ve HIIT Protokolü

Egzersizler, deney hayvanlarına özgü, Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Elektronik Mühendisliği Bölümü tarafından üretilmiş olan koşu bantlarında yapıldı (Bkz. Şekil 2.2). Hayvanların egzersiz sırasında strese girmemeleri için koşu bandına kademeli olarak adapte olmaları sağlandı. Adaptasyon protokolü 1 hafta sürdü. İlk iki gün hayvanlar koşu bandı çalıştırılmadan koşu bandına konulup diğer

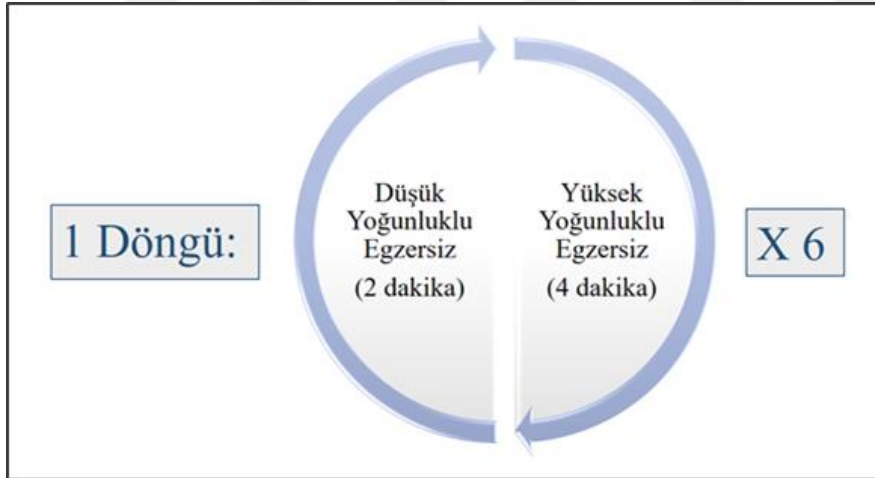
günlerde hız ve eğim dereceli olarak artırılarak koşu bandında koşmaya alışmaları sağlandı. Adaptasyon programındaki koşunun antrenman etkisi oluşturmaması için hızı, eğimi ve süresi çok düşük tutuldu. Adaptasyon periyodunda ve antrenman programı süresince her hayvandan sonra koşu bandı temizlenerek bir önceki hayvanın dışkı ve idrarının bırakacağı kokular uzaklaştırıldı.

Antrenman programına alınacak hayvanların maksimal egzersiz kapasiteleri (MEK) artımlı yük testi ile belirlendi ve ilk gün teste düşük uyum göstermeleri ihtimaline karşın, test art arda 2 gün tekrarlandı. İki testin ortalaması MEK değeri olarak alındı. Artımlı yük testi, Helderug ve ark. ile Wisløff ve ark.'nın çalışmalarındaki protokollere göre kurgulanmıştır (Helgerud ve ark., 2007; Wisløff ve ark., 2001). Hayvanlar, 25° eğim ve 8 m/sn hızla teste tabi tutuldu. 20 dakikalık ısınmanın ardından, hız her iki dakikada bir 2 m/sn arttırıldı. Hayvanın elektriksel veya mekanik stimülasyona rağmen koşmayı reddettiği hız değeri o hayvanın MEK değeri olarak kabul edildi.

Hayvanların antrenman programı MEK değerlerine göre düzenlendi. Tüm antrenman programı boyunca koşu bandının eğimi, sabit (25°) tutuldu, egzersiz şiddeti koşu hızı değiştirilerek ayarlandı. Uygulanan HIIT egzersizi 4 dakikalık (%85-95 MEK) yüksek şiddetli ve 2 dakikalık (%40-50 MEK) aktif dinlenme periyotlarından oluşmaktadır. Bir oturum 6 döngüden oluşmaktadır. Döngülere başlamadan önce hayvanlara MEK değerinin %40-50'sine karşılık gelen şiddette 6 dakika ısınma koşusu yaptırıldı (Şekil 2.3) Hayvanlara sadece hafta içi günlerde sabah (9:00-12:00 saatleri arasında) bir oturum antrenman yaptırıldı. Antrenman programı 8 hafta boyunca sürdürüldü.



Şekil 2.2. Antrenman protokollerinde kullanılan koşu bandı



Şekil 2.3. HIIT protokolü

Hayvanların MEK değerindeki değişim 2, 4 ve 6. haftalarda tekrar edilen artımlı yük testiyle takip edildi ve koşu hızları güncellendi.

2.5. Hayvanların Sakrifikasyonu

Son egzersiz seansından 24 saat sonra, bir gece önceden (12-16 saat) aç bırakılan hayvanlar sakrifiye edildi. Vücut ağırlıkları ölçülen hayvanların kuyruk venlerinden glikometre ile açlık kan şekeri ölçümleri yapıldı. Ardından hayvanlar intraperitoneal (i.p.) yoldan 50 mg/kg sodyum tiyopental enjeksiyonu ile anestezi altına alındı. Parmak kıstırma yanıtlarına bakılarak anestezi derinliği takip edildi. Yeterli anestezi derinliğinin sağlanmasının ardından hayvan ekstremitelerden sabitlendi ve göğüs kafesi açılıp sağ ventriküle heparinize enjektör ile girilerek yüksek miktarda ($\approx 8-10$ ml) kan alındı. Alınan kan, sarı kapaklı serum tüpüne aktarıldıktan sonra $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 2-3 saat bekletildi, ardından 5000 g, $+4^{\circ}\text{C}$, 10 dakika boyunca santrifüj edildi. Elde edilen serum, tüplere bölünerek -80°C 'de ileri analizler için saklandı.

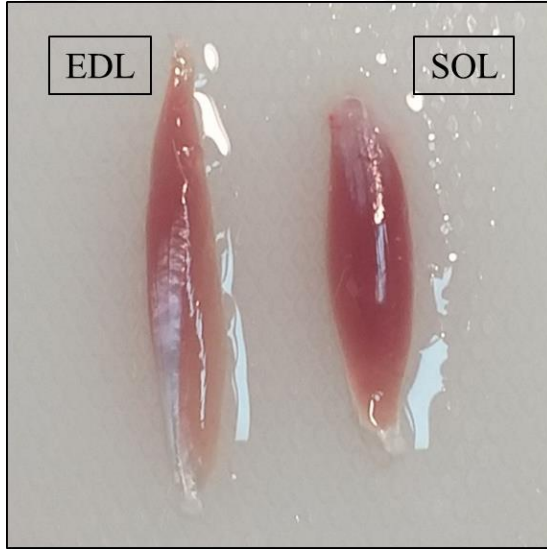
Ardından hayvanların soleus ve EDL kasları iki taraflı olarak çıkarıldı (Bkz. Şekil 2.4, Şekil 2.5 ve Şekil 2.6). Her çıkartılan dokunun ağırlığı, tartılarak not edildi. Sağ ekstremitede soleus ve EDL kaslarından izole kas fonksiyonu ölçümleri yapıldı.



Şekil 2.4. Alt arka bacak soleus kası



Şekil 2.5. Alt ön bacak EDL kası



Şekil 2.6. Soleus (SOL) ve EDL kaslarının yan yana görüntüsü

2.6. Ağırlık ve Kan Glikozu Takibi

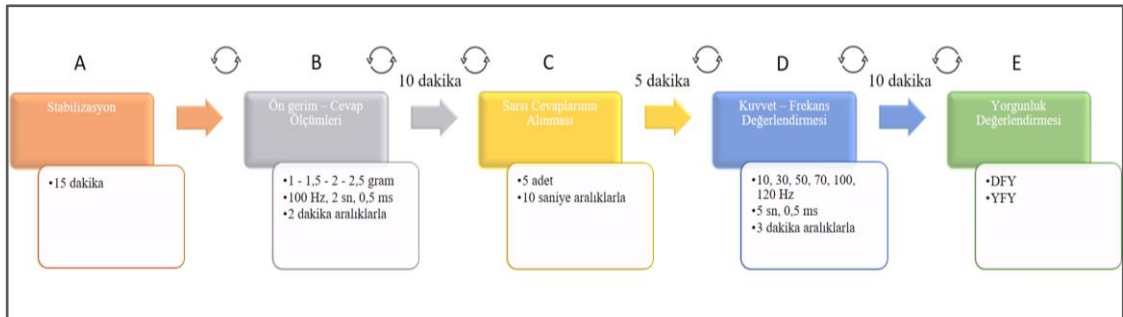
Diyabetin prognozunu takip etmek ve diğer gruplar ile karşılaştırma yapmak için tüm hayvanların kan şekeri ve vücut ağırlıkları düzenli olarak takip edildi. Kan glikoz-zaman ve vücut ağırlığı-zaman grafiklerinde eğri altında kalan alanlar gruplar arasında karşılaştırıldı. Hayvanların sakrifikasyondan hemen önce açlık kan şekerleri alındı.

2.7. İzole İskelet Kasında Fonksiyon Ölçümü

Hayvanların sağ ekstremite soleus ve EDL kasları organ banyosuna (Commat LTD. IOBS99 Ankara, Türkiye) alınmadan önce, karbojen ile (%95 O₂ ve %5 CO₂ karışımı) gazlandırılan Krebs-Henseleit (mM: 118 NaCl, 4,7 KCl, 1,2 MgSO₄, 1,2 KH₂PO₄, 25 NaHCO₃, 2,5 CaCl₂ ve 11 Glikoz, pH: 7,20-7,40) çözeltisi (Tatar, 2019) içerisinde, petri kabında 3.0 ipek ipler ile uçlarından bağlandı. Kasın bir ucu; platin elektrotların bağlı bulunduğu cam çubuğun alt kısmındaki çengele, diğer ucu ise kuvvet çevirgecine (transducer) (Biopac MP35 Biopac Systems Inc. CA ABD) yerleştirildi. Kas sıcaklığı 28 °C’de sabit tutulan ve karbojen ile sürekli gazlandırılan Krebs-Henseleit çözeltisi içeren hazne içerisine daldırıldı. Kasın platin elektrotlar arasında kalmasına ve kuvvet çevirgecine dik açı ile bağlanmasına özen gösterildi. Krebs-Henseleit çözeltisi, izole iskelet kası fonksiyon ölçümü protokolü boyunca belli aralıklarla yenilendi.

Kaslar, stimülatör (Biopac Systems Inc. CA, ABD) ile uyarıldı ve EAS için uyarı şiddeti 60 Volt (V) olarak seçildi. Literatürde 15 V (Tastekin ve ark., 2018) 150 V (Demirel ve ark., 2013) aralığında, farklı voltajlarda çalışmalar yer almaktadır. Yapılan voltaj – gerim ön çalışmalarında, en uygun voltajın (maksimum kasılmanın gözlemlendiği) 60 V olduğu tespit edilmiş ve uyarı şiddeti 60 V olarak belirlenmiştir.

Aşağıda detayları verilen ve şekil 2.7’de gösterilen ölçümler, iki organ banyosunda, sağ ekstremite soleus ve EDL kaslarında aynı anda yapıldı:



Şekil 2.7. İzole İskelet Kası Protokolü

2.7.1. Öngerim-Cevap Ölçümleri

Öngerim-cevap ölçümleri için kasın ön gerimi sırası ile 1 – 1,5 – 2 ve 2,5 grama ayarlanarak EAS uygulandı (Şiddet: 60 V, frekans: 100 Hz, süre: 2 saniye (sn), puls süresi: 0,5 milisaniye (ms)). Öngerim-cevap ölçümleri sırasında kasın en yüksek kasılma cevabı verdiği öngerim düzeyi “optimum değer” olarak belirlendi. Takip eden analizler için kasın gerimi belirlenen değere ayarlandı.

2.7.2. Sarsı (Twitch) Cevaplarının Alınması

Elde edilen sarsı eğrilerinden, sarsı genliği (Ps) (Kasılma kuvveti (N/cm²), kasılma süresi (CT) (ms), yarı-gevşeme süresi (DT₅₀) (ms), maksimum kasılma hızı ve minimum gevşeme hızı değerleri (mN/cm² x ms) hesaplandı (Pelit ve ark., 2008). Tüm sarsı parametreleri beş adet sarsı eğrisinden elde edilen sonuçların ortalaması alınarak hesaplandı.

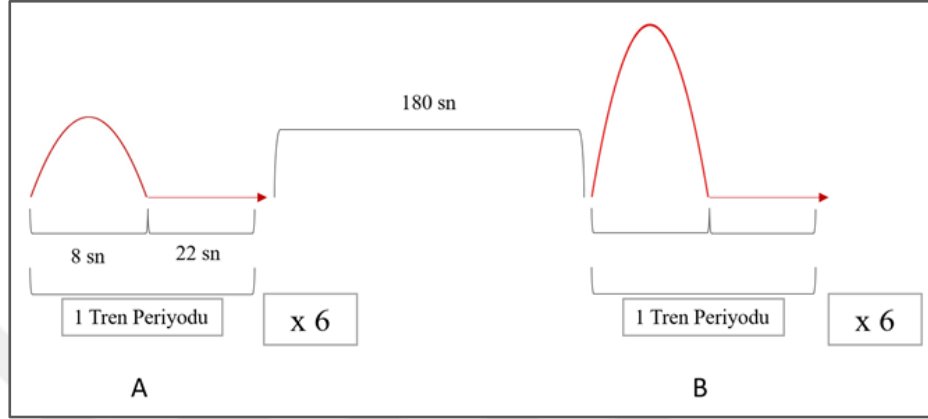
2.7.3. Kuvvet-Frekans Değerlendirmesi

Ölçümler sırası ile 10, 30, 50, 70, 100, 120 Hz frekanslarda kare dalgalardan oluşan elektriksel uyarılar (5 sn, 0,5 ms) verilerek yapıldı. Kuvvet-frekans grafiğindeki kasılma eğrilerinin dalga boyları ölçülerek gram cinsinden ifade edildi. Elde edilen değerler iskelet kaslarının kütle ve uzunluk değerleri ile aşağıdaki formül kullanılarak N/cm²'ye çevrildi (Sara ve ark., 2004).

$$\text{Kuvvet/cm}^2 = [\text{kuvvet (N)} \times \text{iskelet kasına özgü yoğunluk (1,06 g/cm}^3\text{)} \times \text{kas uzunluğu (cm)}] / \text{kas ağırlığı (g)}$$

2.7.4. Yorgunluk Değerlendirmesi

Soleus ve EDL kaslarında farklı protokollerde yorgunluk oluşturuldu (Pelit, 2006). Yorgunluk protokolü Şekil 2.8’de gösterilmiştir.



Şekil 2.8. Yorgunluk protokolü A) DF yorgunluk protokolü B) YF yorgunluk protokolü

Soleus kası için düşük frekanslı (DF) yorgunluk protokolü,

5 Hertz (40 adet puls), 0.5 ms, tren süresi 8 sn, tren periyodu 30 sn, toplam 6 döngü

Soleus kası için yüksek frekanslı (YF) yorgunluk protokolü,

50 Hertz (400 adet puls), 0.5 ms, tren süresi 8 sn, tren periyodu 30 sn, toplam 6 döngü

EDL kası için DF yorgunluk protokolü,

10 Hertz (80 adet puls), 0.5 ms, tren süresi 8 sn, tren periyodu 30 sn, toplam 6 döngü

EDL kası için YF yorgunluk protokolü,

100 Hertz (800 adet puls), 0.5 ms, tren süresi 8 sn, tren periyodu 30 sn, toplam 6 döngü

DF yorgunluk protokolünün ardından 3 dakikalık dinlenme süresi verildi ve dinlenme süresinin ardından YF yorgunluk protokolü uygulandı.

DF ve YF yorgunluk protokollerinin başlangıcında ve hemen bitiminde birer adet twitch alındı ve bu bitiş sarsısı/başlangıç sarsısının yüzdelik değeri ile yorgunluk indeksi hesaplandı (Demirel ve ark., 2013).

2.8. Yaş – Kuru Ağırlık ve Nem Tayini

Çalışmamızda yaş-kuru ağırlık ve nem tayini ölçümleri için AXIS AGS100 cihazı kullanıldı. Fonksiyonel ölçümleri tamamlanan kaslar, bütün olarak ısıya dayanıklı alüminyum örnek kabının içerisinde cihaza yerleştirildi ve kurutma işlemi yapıldı. Kasın çıkarıldığı anda tartılan ilk ağırlığı (yaş ağırlık) ile kuru ağırlığı kaydedildi ve bu veriler kullanılarak nem ve kuru madde oranları hesaplandı. Kas ağırlıkları terminal vücut ağırlığına göre normalize edildi.

2.9. Miyokin Düzeyi Ölçümleri

2.9.1. Dokuların Homojenizasyon İşlemi

Sakrifikasyon sırasında çıkartılıp dondurulmuş olan soleus ve EDL kası örneklerinin öncelikle ağırlıkları ölçüldü, ardından doku örneklerinden ≈ 300 -500mg ağırlığında bir parça kesildi. Tartılan parça içi sıvı azot dolu havanın içerisine alındı, çözülmesine izin verilmeden tokmak yardımıyla sıvı azot içerisinde ezilerek küçük

parçalara ayrıldı. Homojenizasyon tamponu olarak soğuk PBS (Phosphate Buffered Saline; 0,02 mol/L, pH7 7,0-7,2) tamponu kullanıldı. Homojenizasyon tamponu 1:1 oranda eklendikten sonra dokular buz üzerinde teflon uçlu homojenizatör yardımı ile ezildi. Elde edilen süspansiyonun ileri düzeyde parçalanması için iki kere donma-çözme döngüsü uygulandı. Ardından homojenizatlar 1500g, +4°C, 15 dakikalık ayar da santrifüj edildi, süpernatant saklandı. Kas dokusundan elde edilen homojenizatlardan Bradford yöntemi ile total protein konsantrasyonu ölçüldü.

2.9.2. ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) Aşamaları

Hayvanların serum, soleus ve EDL total kas dokusu ve izole iskelet kası hücresi homojenizatlarında IL-6 (Elabscience Cat No: E-EL-R0015) ve İrisin (Elabscience; Cat. No: E-EL-R1104) ve miyonektin (BTLaboratory Cat No: E1471Mo) miyokinlerinin düzeyi ELISA yöntemi ile tayin edildi. Deneyler ELISA kitlerinin talimatnamesine uygun olarak yapıldı. Örnekler çift tekrarlı olarak çalışıldı. Örneğin sonuç değeri tekrarların ortalaması alınarak belirlendi. Tekrarlar arasındaki farklılığı gösteren yüzde varyasyon katsayısı (% CV) 10'dan büyük olan örneklerin sonuçları kabul edilmedi. Doku örneklerindeki miyokin düzeyleri dokunun total protein konsantrasyonlarına göre normalize edildi.

2.10. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz için GraphPad Prism (GraphPad Prism for Windows v5 2007) programı kullanıldı. Öncelikle tüm veri setlerine normal dağılım testi (Shapiro-Wilk) uygulandı. Grupların karşılaştırılmasında normal dağılım analizi, verinin doğası ve diğer parametrik test varsayımları göz önüne alınarak parametrik veya non-parametrik test kullanmasına kararı verildi. Ardından her bir parametre için çoklu karşılaştırma testleri olan One-way ANOVA ve Kruskal-Wallis kullanıldı. Anlamlı sonuç bulunduğunda uygun Post-Hoc testi (Tukey) kullanılarak varyasyonun kaynağı

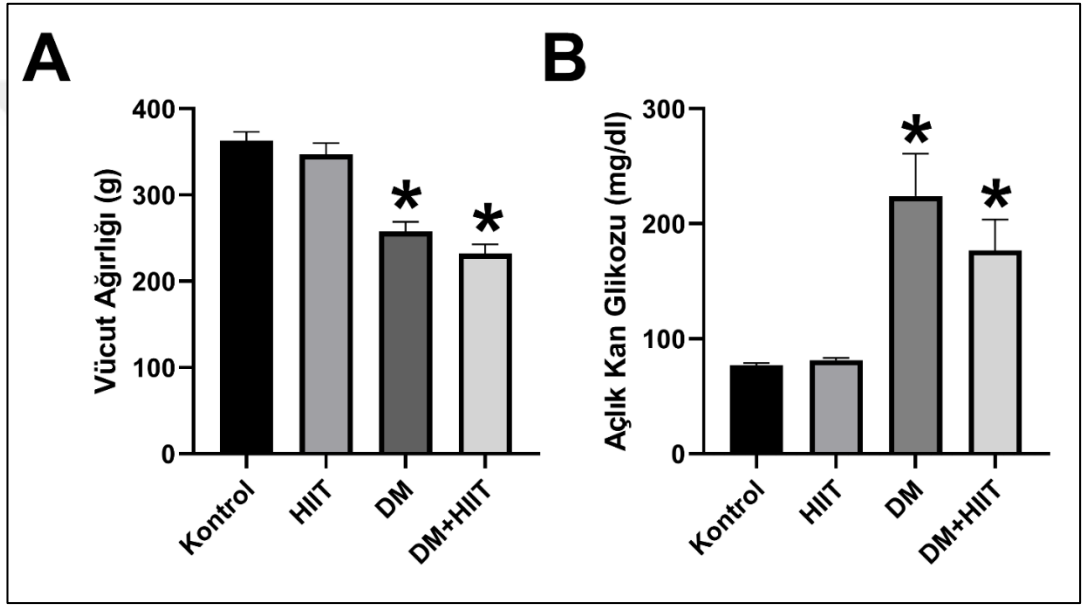
araştırıldı. $p<0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Değerler ortalama+standart sapma olarak verildi.



3. BULGULAR

3.1. Hayvan Takip Değerleri

Hayvanların, sakrifikasyondan önce vücut ağırlıkları ve açlık kan glikozu değerleri ölçülmüştür (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Hayvanların sakrifikasyon öncesi ölçülen takip parametreleri. (A) Vücut ağırlığı (B) Açlık Kan Glikozu (ölçümlerde kullanılan hayvan sayıları K: 12, DM: 12, HIIT: 12, DM+HIIT: 15) (*: $p < 0.05$ vs. Kontrol) ($\bar{x} \pm SH$).

Vücut ağırlığı değerleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark göstermektedir ($F_{(3,50)}=0.174$; $p < 0.0001$). DM ve DM+HIIT grubundaki vücut ağırlıkları kontrol grubuna göre önemli derece düşüktür (sırasıyla $p < 0.0001$ ve $p < 0.0001$). Egzersiz uygulaması ise vücut ağırlıklarında anlamlı bir değişime neden olmamıştır ($p > 0.05$).

Açlık kan glikozu değerleri gruplar arasında anlamlı fark göstermektedir ($F_{(3,49)}=9.137$; $p < 0.0001$). Her iki diyabetik grubun da (DM ve DM+HIIT) açlık kan şekeri değerleri kontrole göre anlamlı derecede yüksektir (sırasıyla $p=0.001$ ve

p=0.0328). Ancak egzersiz uygulaması açlık kan şekeri seviyelerinde istatistiksel açıdan önemli bir farka yol açmamıştır (p>0.05).

3.2. Atrofi Parametreleri

Soleus ve EDL kasları için yaş ve kuru ağırlıklar tartılmış, bu veriler kullanılarak nem yüzdesi değerleri ölçülmüştür. Ağırlıklar terminal vücut ağırlığı değerine göre normalize edilmiştir (Çizelge 3.1, Şekil 3.2 ve Şekil 3.3).

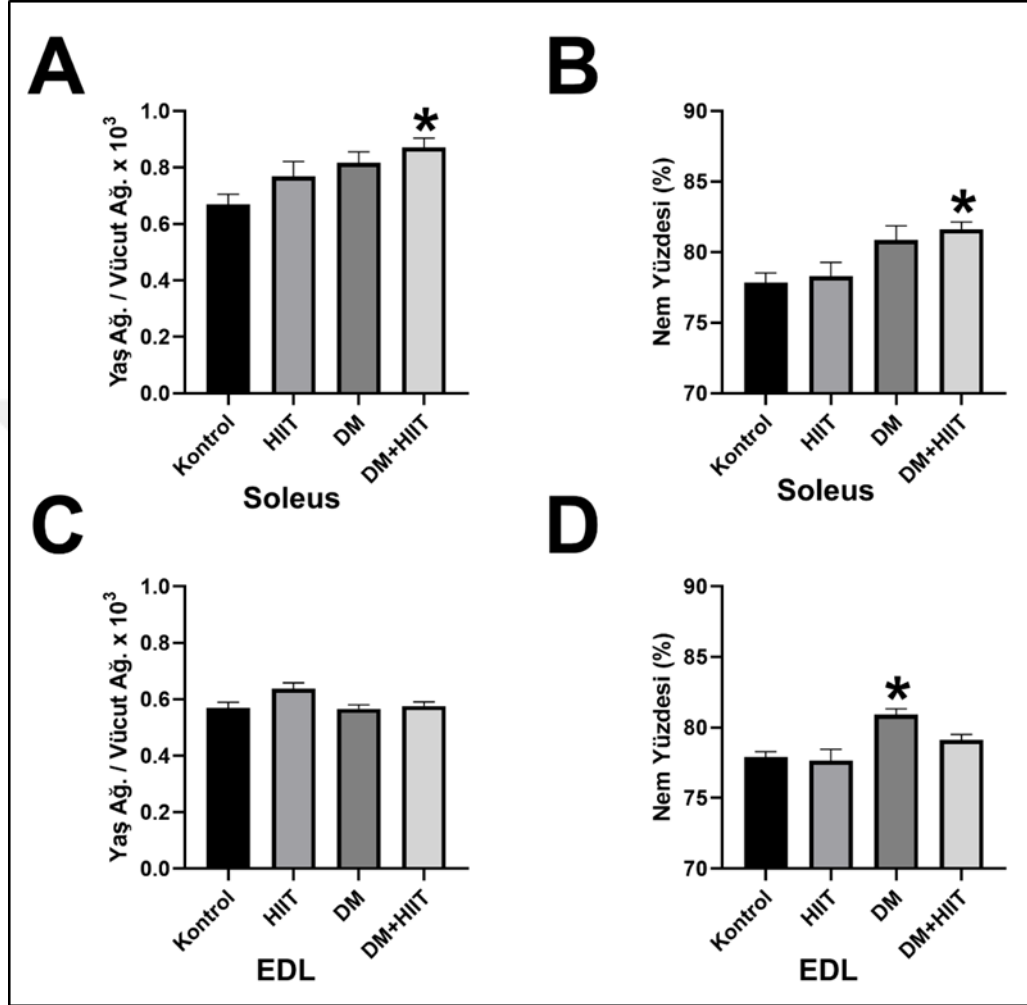
Çizelge 3.1. Soleus ve EDL kasları için ölçülen yaş ağırlık (YA), kuru ağırlık (KA) ve nem yüzdesi (%) değerleri. Tüm ağırlıklar vücut ağırlığı (VA) değerine göre normalize edilmiş, notasyon kolaylığı açısından 10^3 ile çarpılmıştır (ölçümlerde kullanılan hayvan sayıları K: 12, DM: 12, HIIT: 12, DM+HIIT: 15). (*: p<0.05 vs. Kontrol) ($\bar{x} \pm SS$).

	SOLEUS		
	YA / VA x 10^3	KA / VA x 10^3	Nem (%)
Kontrol	0,67 $\pm$ 0,12	0,15 $\pm$ 0,03	77,85 $\pm$ 2,38
HIIT	0,77 $\pm$ 0,17	0,17 $\pm$ 0,02	78,29 $\pm$ 3,39
DM	0,82 $\pm$ 0,13	0,15 $\pm$ 0,02	80,88 $\pm$ 3,45
DM+HIIT	0,87 $\pm$ 0,12 *	0,16 $\pm$ 0,02	81,62 $\pm$ 1,94 *
	EDL		
	YA / VA x 10^3	KA / VA x 10^3	Nem (%)
Kontrol	0,57 $\pm$ 0,06	0,13 $\pm$ 0,02	77,90 $\pm$ 1,32
HIIT	0,64 $\pm$ 0,07	0,14 $\pm$ 0,01 *	77,66 $\pm$ 2,78
DM	0,57 $\pm$ 0,05	0,11 $\pm$ 0,01 *	80,91 $\pm$ 1,41 *
DM+HIIT	0,58 $\pm$ 0,06	0,12 $\pm$ 0,01	79,13 $\pm$ 1,33

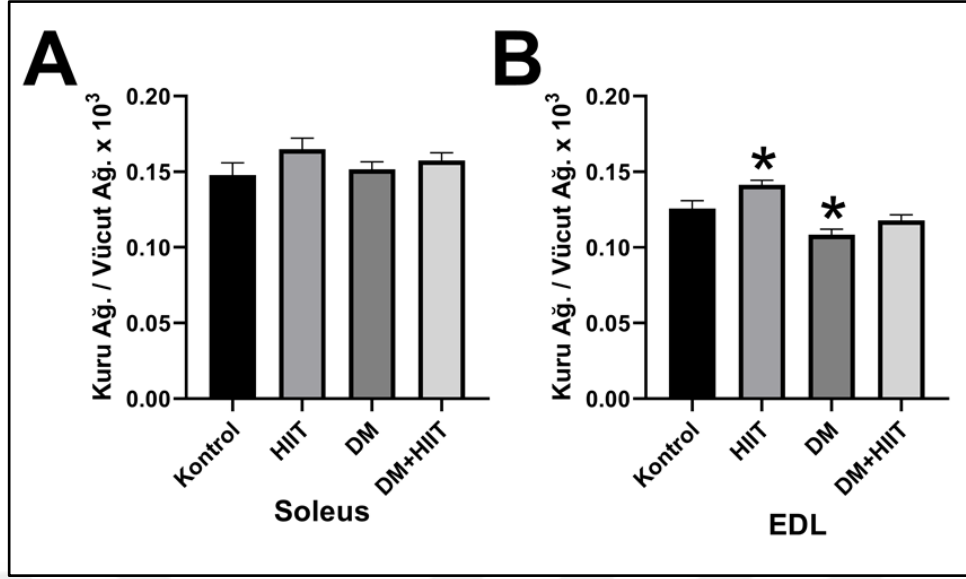
*: p<0,05 vs. Kontrol

Soleus kasının yaş ağırlık/vücut ağırlığı (YA/VA) ve nem yüzdesi parametreleri gruplar arasında anlamlı fark göstermektedir (sırasıyla $F_{(3,42)}=4.975$; p=0.0048 ve $F_{(3,46)}=0.174$; p=0.0024). Gruplar arasında karşılaştırma yapıldığında her iki parametre için de DM+HIIT grubundaki değerler kontrole yüksek bulunmuştur (sırasıyla p=0.0028 ve p=0.0075). Her iki parametre için de diğer gruplar arasında anlamlı bir

fark saptanamamıştır ($p>0.05$). Soleus kası KA/VA oranı gruplar arasında farklı değildir.



Şekil 3.2. Soleus ve EDL kaslarından elde edilen YA/VA ve nem yüzdesi (%) verileri (A) Soleus kasında vücut ağırlığına göre normalize edilmiş yaş ağırlık (B) Soleus kasında nem yüzdesi (C) EDL kasında vücut ağırlığına göre normalize edilmiş yaş ağırlık (D) EDL kasında nem yüzdesi (ölçümlerde kullanılan hayvan sayıları K: 12, DM: 12, HIIT: 12, DM+HIIT: 15) (*: $p<0.05$ vs. Kontrol) ($\bar{x} \pm SH$).



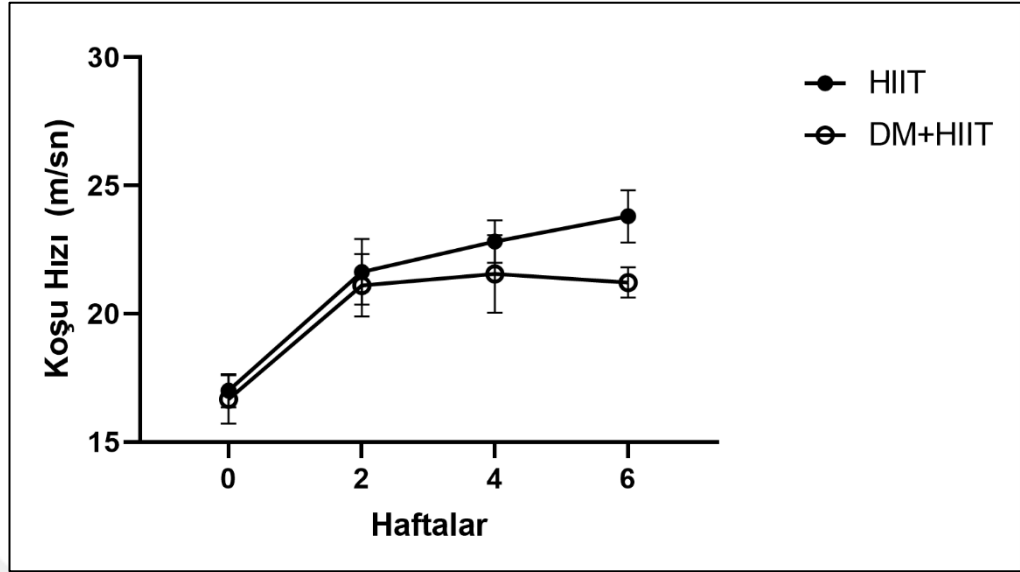
Şekil 3.3. Soleus ve EDL kaslarından elde edilen KA/VA verileri (A) Soleus kasında vücut ağırlığına göre normalize edilmiş kuru ağırlık (B) EDL kasında vücut ağırlığına göre normalize edilmiş kuru ağırlık (ölçümlerde kullanılan hayvan sayıları K: 12, DM: 12, HIIT: 12, DM+HIIT: 15) (*: $p < 0.05$ vs. Kontrol) ($x \pm SH$).

EDL kasında ise YA/VA oranı gruplar arasında fark göstermezken ($F(3,43)=3.472$; $p > 0.05$) nem yüzdesi değeri farklı bulunmuştur ($F(3,43)=7.528$; $p=0.0004$). DM grubundaki nem yüzdesi ile kontrol arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlıdır ($p=0.0016$). Egzersiz uygulanan diyabetiklerde (DM+HIIT) ise bu fark kaybolurken, sağlıklı egzersiz yapan hayvanların nem yüzdesi değerleri de kontrolden farksızdır (sırasıyla $p > 0.05$ ve $p > 0.05$). EDL kası KA/VA oranı DM grubunda anlamlı olarak azalmıştır. DM+HIIT grubunda KA/VA oranında DM grubundaki anlamlılığın kaybolduğu görülmektedir. HIIT grubunda KA/VA oranında anlamlı bir artış vardır.

3.3. Maksimum Egzersiz Kapasitesi (MEK) Değerleri

MEK değerleri sadece egzersiz yapan gruplarda (HIIT ve DM+HIIT), 0, 2, 4 ve 6. haftalarda ölçülmüştür (Şekil 3.4).

($F_{(3,53)}=15.43$; $p<0.0001$)



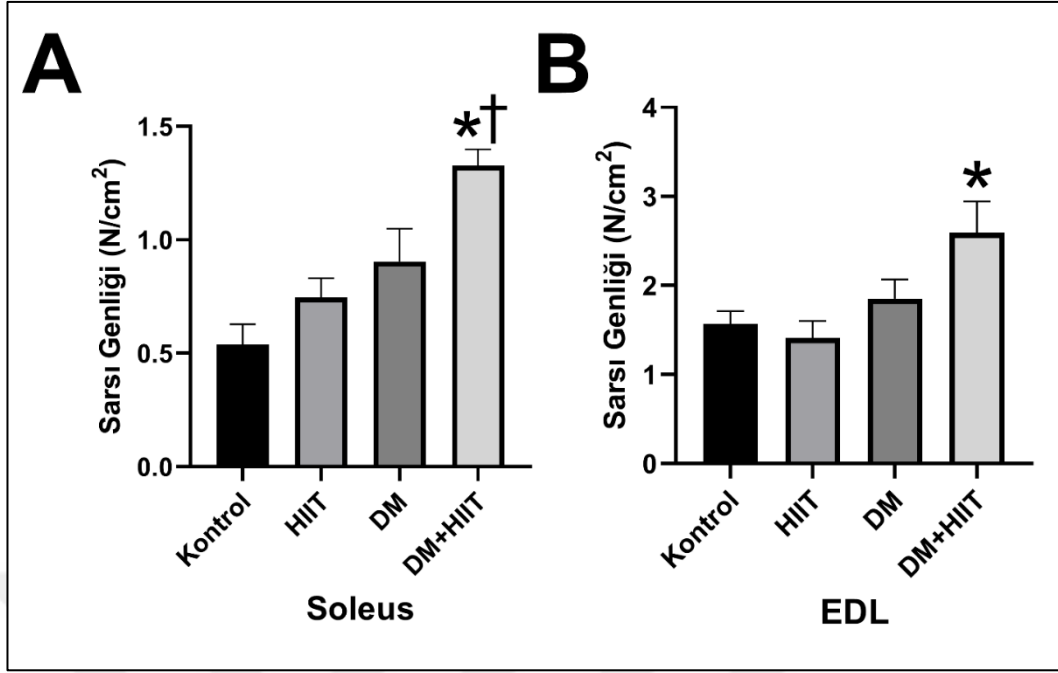
Şekil 3.4. Diyabetik ve non-diyabetik hayvanlarda ölçülen MEK değerleri (ölçümlerde kullanılan hayvan sayıları K: 7, DM: 6, HIIT: 7, DM+HIIT: 12)

MEK değeri her iki grupta da zamana bağlı bir artış göstermektedir. Dördüncü haftadan itibaren diyabetik ve non-diyabetik hayvanların MEK değerleri arasında bir ayrışma eğilimi gözlenmektedir. Ancak bu eğilim anlamlılık düzeyine ulaşmamıştır ($F_{(1,18)}=1.729$; $p=0.2051$).

3.4. Kas Fonksiyonu Değerleri

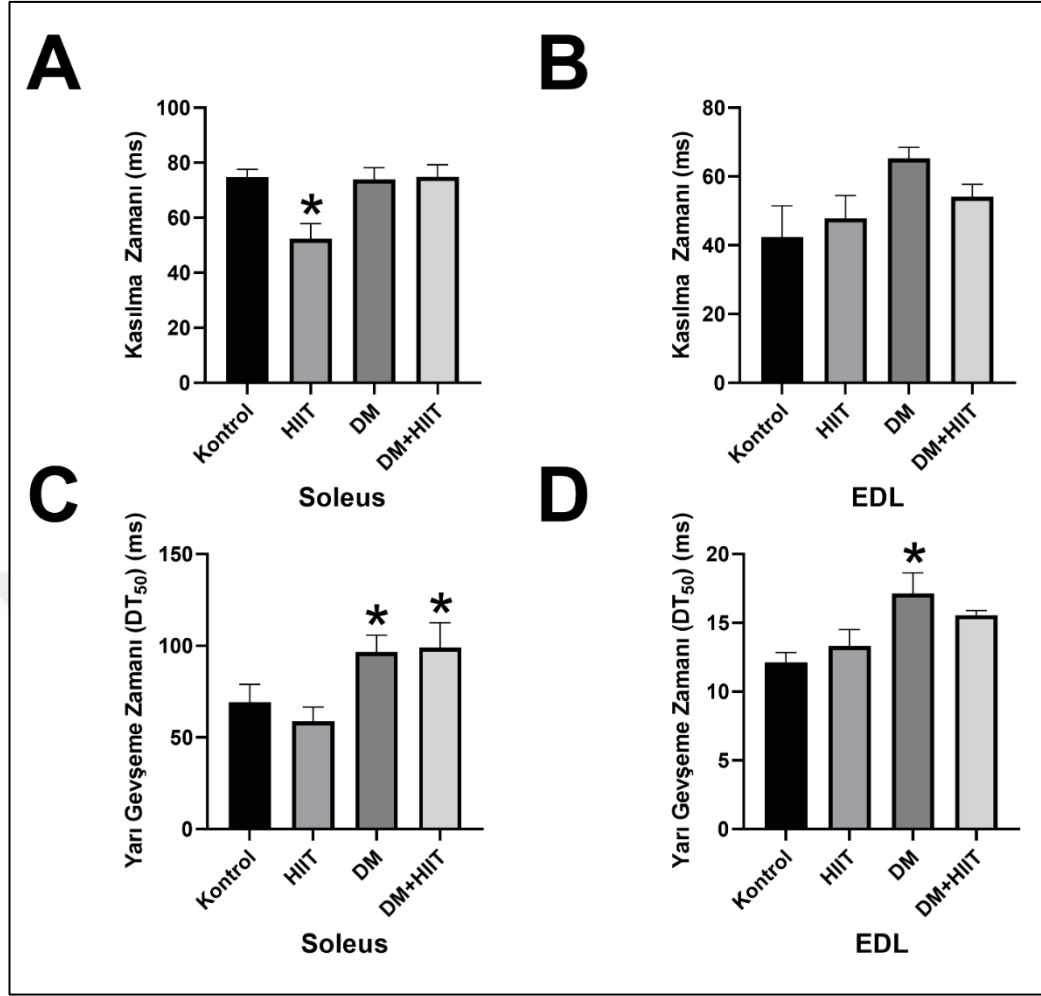
3.4.1. Sarsı Morfolojisi

Soleus ve EDL kaslarında gözlenen sarsıların genlikleri, kasılma-gevşeme zamanları ve kasılma-gevşeme hızları ölçülmüştür (Şekil 3.5, 3.6 ve 3.7).



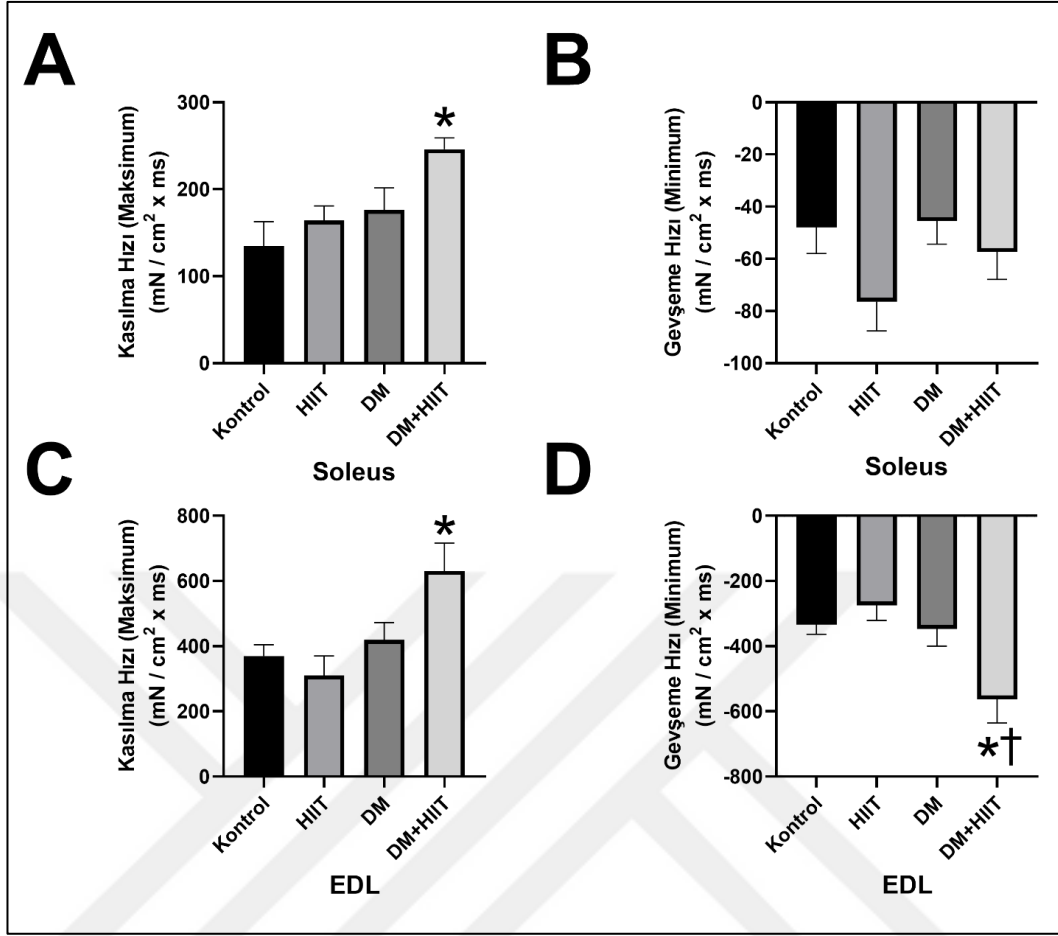
Şekil 3.5. Kasın boy ve kütlesine göre normalize edilmiş sarsı genliği değerleri (A) Soleus kasında sarsı genliği değerleri (B) EDL kasında sarsı genliği değerleri (ölçümlerde kullanılan hayvan sayıları K: 7, DM: 6, HIIT: 7, DM+HIIT: 12) (*: $p < 0.05$ vs. Kontrol; †: $p < 0.05$ vs. DM) ($\bar{x} \pm SH$).

Soleus ve EDL kaslarında sarsı genlikleri gruplar arasında fark göstermektedir (sırasıyla $F_{(3,24)}=12.05$; $p < 0.0001$ ve $(F_{(3,25)}=4.277$; $p=0.0144$). Soleus kasında sarsı genlikleri DM+HIIT grubunda hem kontrole, hem de DM grubuna anlamlı derecede yüksektir ($p < 0.0001$ ve $p=0.0204$). DM ve HIIT grupları kontrolden farksızdır ($p > 0.05$). EDL kasında sarsı genlikleri DM+HIIT grubunda kontrole göre anlamlı derecede yüksektir ($p=0.0399$). DM ve HIIT grupları kontrolden farksızdır ($p > 0.05$).



Şekil 3.6. Kasılma ve gevşeme zamanları. **(A)** Soleus kasında kasılma zamanı **(B)** EDL kasında kasılma zamanı **(C)** soleus kasında yarı gevşeme zamanı **(D)** EDL kasında yarı gevşeme zamanı (ölçümlerde kullanılan hayvan sayıları K: 7, DM: 6, HIIT: 7, DM+HIIT: 12) (*: $p < 0.05$ vs. Kontrol) ($\bar{x} \pm SH$).

Soleus kasındaki kasılma zamanları gruplar arasında fark gösterirken ($F_{(3,21)}=5.021$; $p=0.0088$). EDL kasında benzer bir farka rastlanmamıştır ($F_{(3,22)}=2.450$; $p=0.0905$). Soleus kasında HIIT grubunda kontrole göre kasılma zamanında anlamlı bir azalma görülmektedir ($p=0.0257$). Yarı gevşeme zamanlarında ise her iki kas için gruplar arası farklılık söz konusudur (sırasıyla $F_{(3,25)}=25.17$; $p<0.0001$ ve $F_{(3,26)}=5.096$; $p=0.0066$). Soleus kasında hem DM hem de DM+ HIIT gruplarındaki yarı gevşeme zamanı kontrole göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (sırasıyla $p=0.0003$ ve $p<0.0001$). EDL kasında ise sadece DM ve kontrol grupları arasında bir anlamlı farka rastlanmıştır ($p=0.0080$).



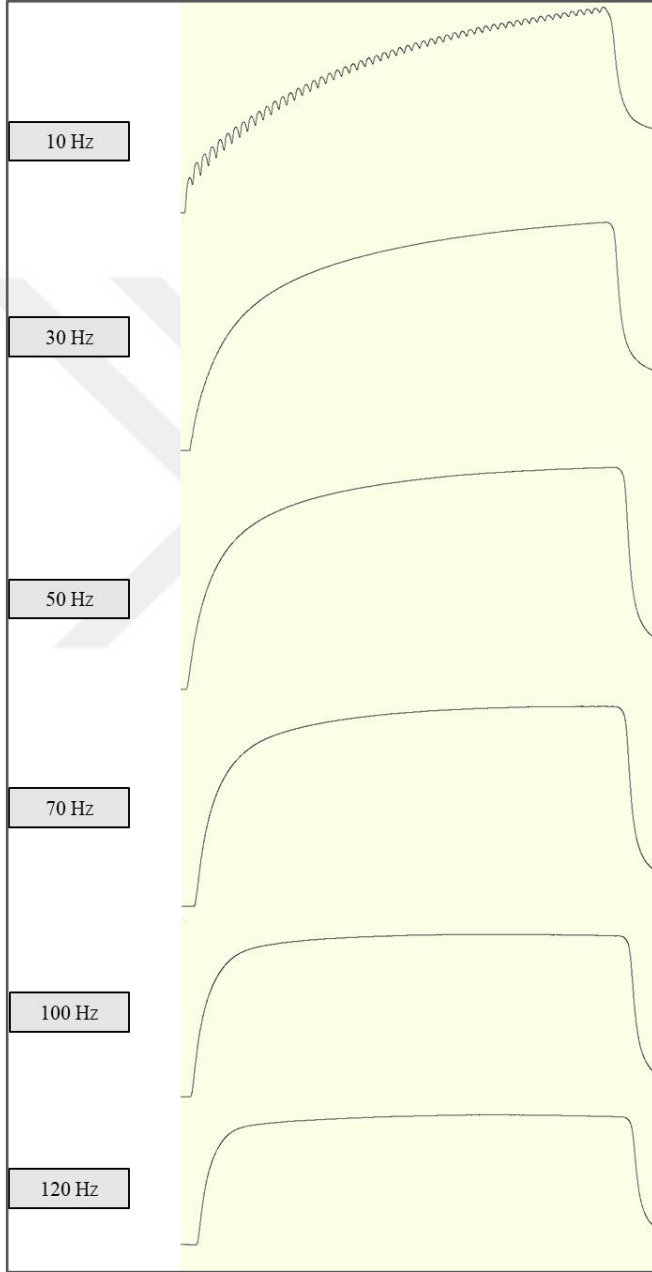
Şekil 3.7. Maksimum kasılma ve minimum gevşeme hızları (A) Soleus kasında maksimum kasılma hızı (B) Soleus kasında minimum gevşeme hızı (C) EDL kasında maksimum kasılma hızı (D) EDL kasında minimum gevşeme hızı (ölçümlerde kullanılan hayvan sayıları K: 7, DM: 6, HIIT: 7, DM+HIIT: 12) (*: $p < 0.05$ vs. Kontrol) ($\bar{x} \pm SH$).

Soleus kasında maksimum kasılma hızları gruplar arasında farklı bulunurken ($F_{(3,25)}=5.610$; $p=0.0044$), minimum gevşeme hızları gruplar arasında farksızdır ($F_{(3,25)}=1.746$; $p=0.1832$). Soleus kası kasılma hızlarında sadece DM+HIIT grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farka rastlanmıştır ($p=0.0035$).

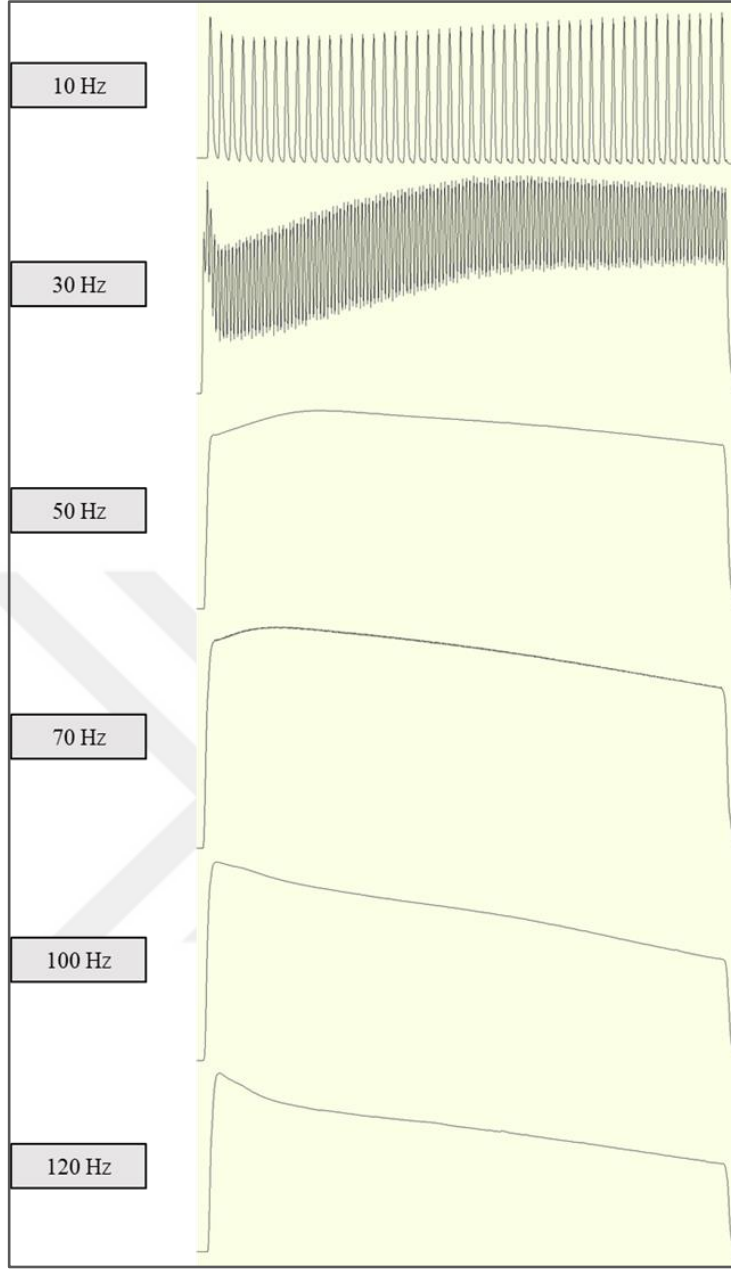
EDL kasında hem maksimum kasılma hem de minimum gevşeme hızları gruplar arasında farklıdır (sırasıyla $F_{(3,26)}=4.777$; $p=0.0088$ ve $F_{(3,27)}=5.382$; $p=0.0049$). Kasılma hızı verilerinde DM+HIIT grubu ile kontrol arasında anlamlı fark saptanırken ($p=0.0370$), gevşeme hızı verilerinde ise benzer şekilde DM+HIIT ile kontrol grubu arasında anlamlı farka rastlanmıştır ($p=0.0352$). Ek olarak DM ile DM+HIIT grubu arasında da anlamlı fark bulunmaktadır ($p=0.0410$).

3.4.2. Kuvvet-Frekans Ölçümleri

BioPac cihazından alınan soleus ve EDL kaslarının kuvvet – frekans kayıtları şekil 3.8 ve 3.9’de gösterilmiştir.

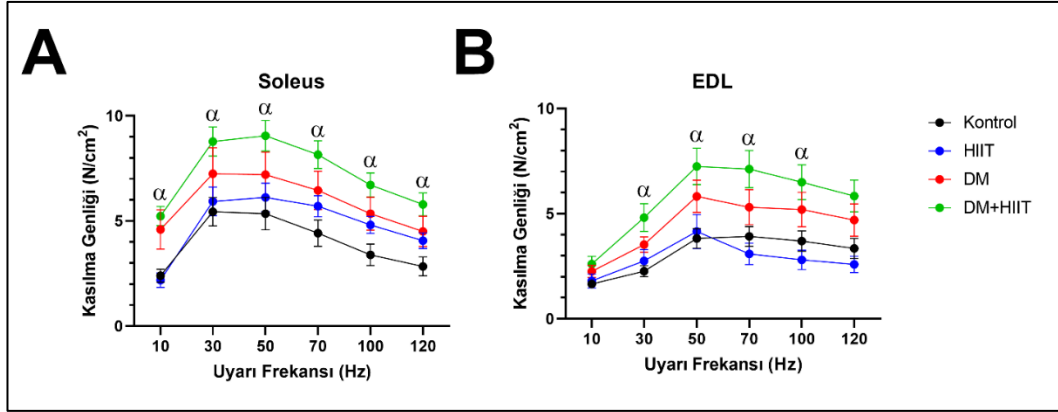


Şekil 3.8. Soleus kasının 10, 30, 50, 70, 100, 120 Hz frekanslarında izometrik kasılma kuvvetleri (Kontrol grubundan alınmıştır.)



Şekil 3.9. EDL kasının 10, 30, 50, 70, 100, 120 Hz frekanslarında izometrik kasılma kuvvetleri (Kontrol grubundan alınmıştır.)

Soleus ve EDL kaslarına farklı frekanslarda (10, 30, 50, 70, 100 ve 120 Hz) verilen uyarılara karşı alınan kasılma genliği cevapları ölçülmüştür (Şekil 3.10).

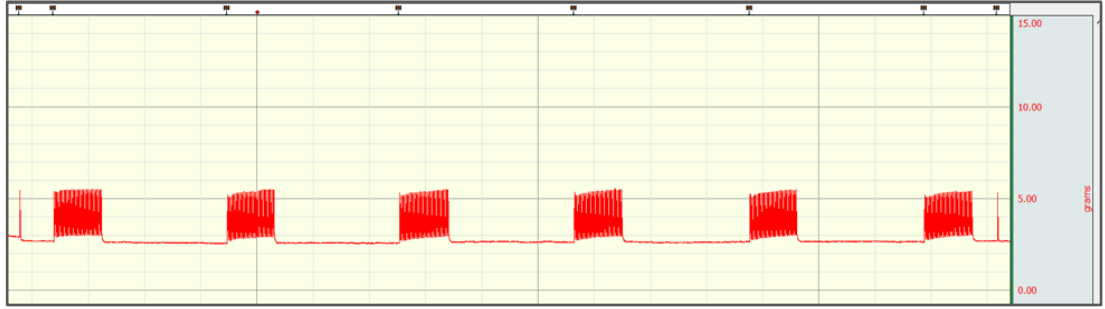


Şekil 3.10. Farklı frekanslarda (10, 30, 50, 70, 100 ve 120 Hz) verilen uyarılara karşı alınan kasılma genliği cevaplarından oluşan kuvvet-frekans grafikleri. (A) Soleus kasından elde edilen kuvvet-frekans grafiği (B) EDL kaslarından elde edilen kuvvet frekans grafiği (ölçümlerde kullanılan hayvan sayıları K: 7, DM: 6, HIIT: 7, DM+HIIT: 12) (α : $p < 0.05$ K vs. DM+HIIT).

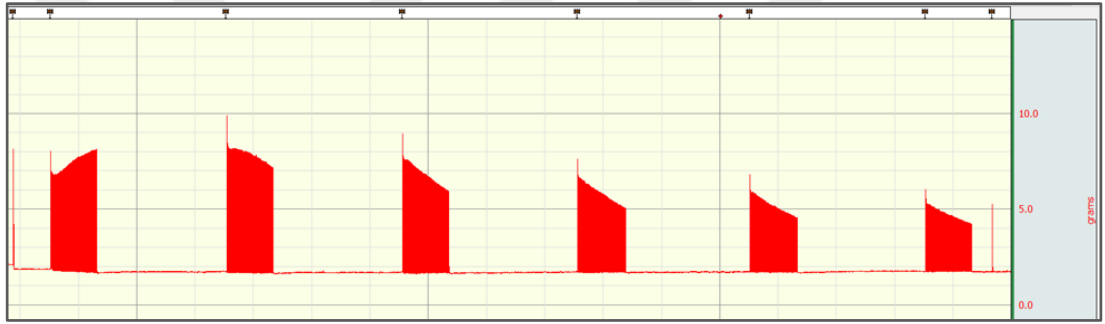
Soleus ve EDL kaslarında kaydedilen kasılma-genliği eğrileri gruplar arasında anlamlı fark göstermektedir (sırasıyla $F_{(3,23)}=5.736$; $p=0.0044$ ve $F_{(3,25)}=5.198$; $p=0.0063$). Her iki kas için de DM+HIIT eğrisi kontrol eğrisinden farklı frekans değerlerinde ayrılmaktadır. Soleus kası için tüm frekans değerlerinde, EDL kası için ise 30, 50, 70 ve 100 Hz değerlerinde DM+HIIT eğrisi kontrole göre anlamlı derecede yüksek kasılma genliği cevabı göstermiştir ($p < 0.05$). Diğer eğriler arasında hem soleus hem de EDL kaslarında, herhangi bir frekans değerinde anlamlı bir ayrışma tespit edilmemiştir ($p > 0.05$)

3.4.3. Yorgunluk Ölçümleri

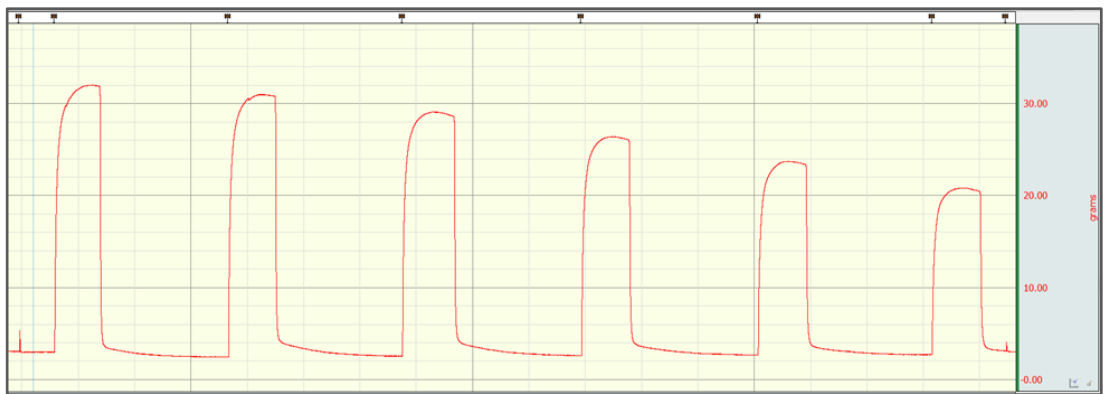
Şekil 3.11 ve 3.12’de, soleus ve EDL kaslarının düşük frekanslı (DF) yorgunluk protokolü kayıtları, şekil 3.13 ve 3.14’te ise yüksek frekanslı (YF) yorgunluk protokolü kayıtları gösterilmektedir.



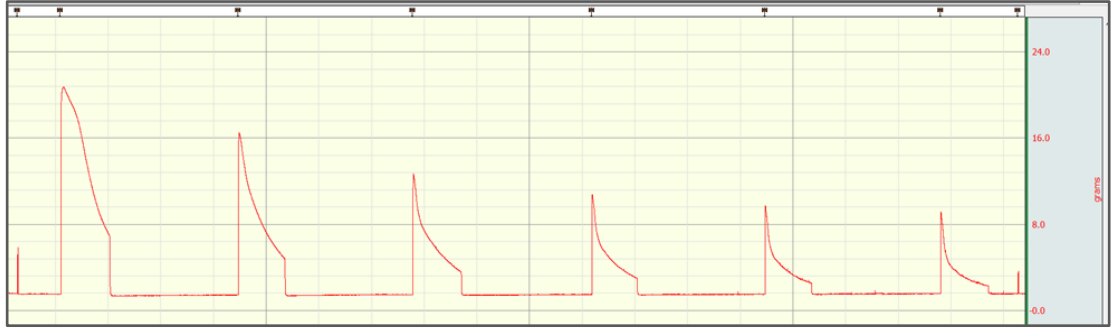
Şekil 3.11. Soles kasının DF yorgunluk kaydı (Kontrol grubundan alınmıştır.)



Şekil 3.12. EDL kasının DF yorgunluk kaydı (Kontrol grubundan alınmıştır.)

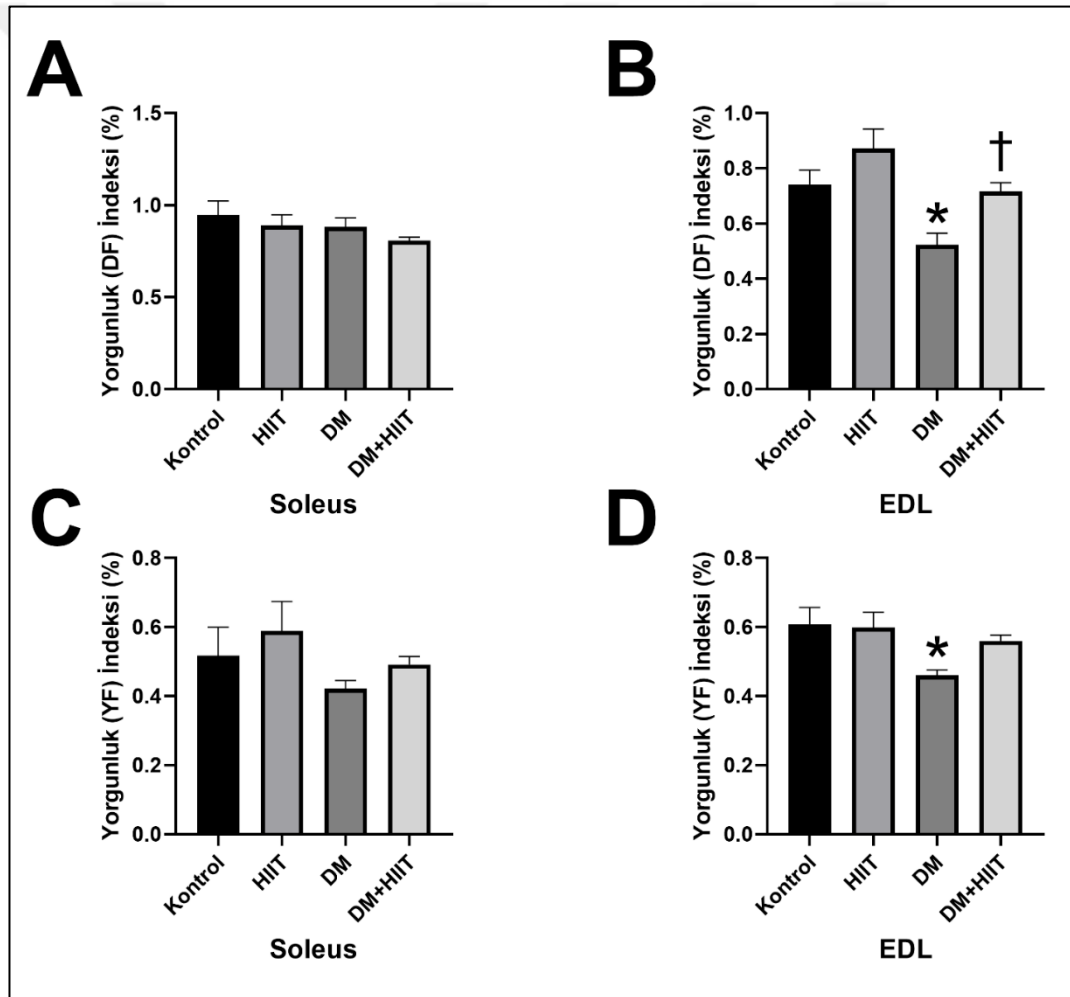


Şekil 3.13. Soleus kasının YF yorgunluk kaydı (Kontrol grubundan alınmıştır.)



Şekil 3.14. EDL kasının YF yorgunluk kaydı (Kontrol grubundan alınmıştır.)

Soleus ve EDL kasları için YF ve DF yorgunluk değerleri ayrı ayrı hesaplanmıştır (Şekil 3.15).



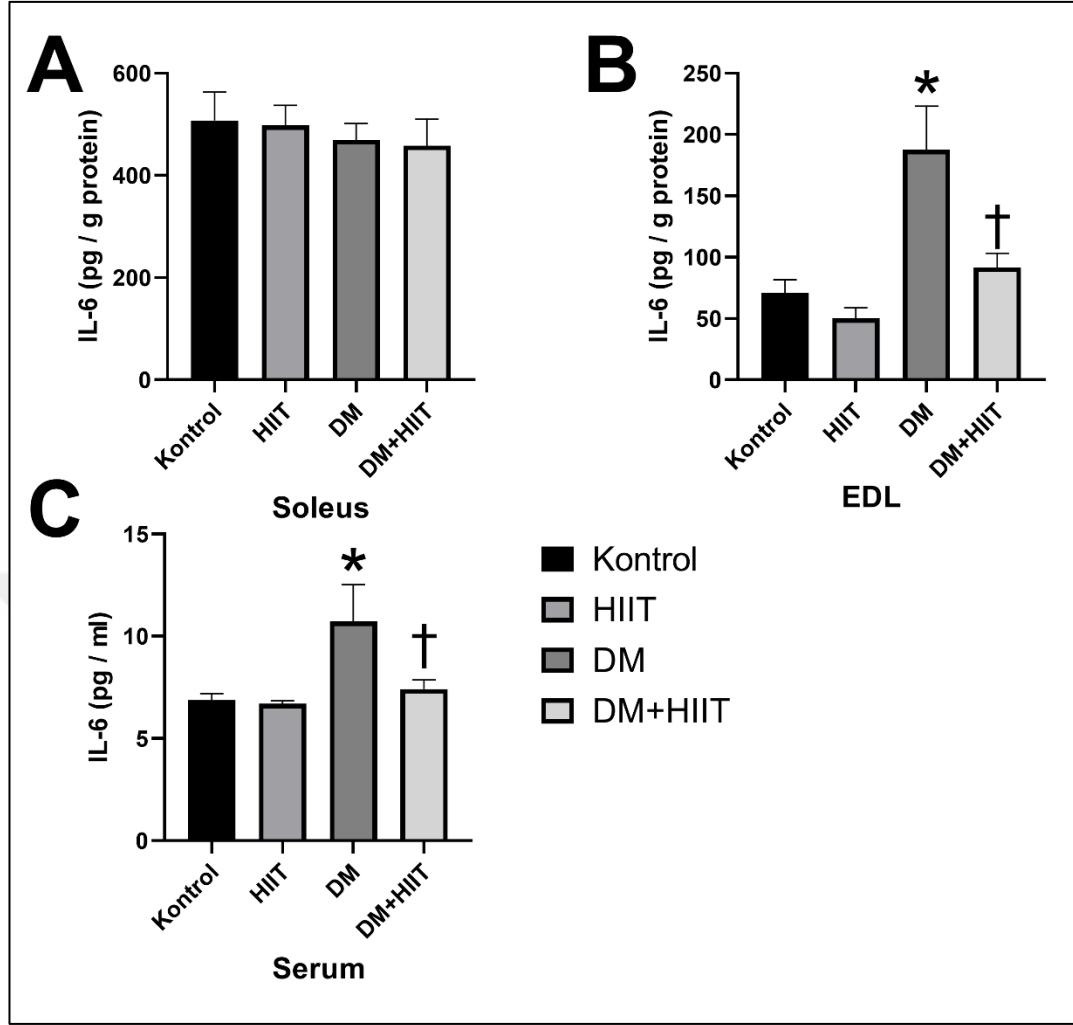
Şekil 3.15. Yorgunluk indeksleri. (A) Soleus kası için düşük frekanslı (DF) yorgunluk indeksi (B) EDL kası için düşük frekanslı (DF) yorgunluk indeksi (C) Soleus kası için yüksek frekanslı (YF) yorgunluk indeksi (D) EDL kası için yüksek frekanslı (YF) yorgunluk indeksi (ölçümlerde kullanılan hayvan sayıları K: 7, DM: 6, HIIT: 7, DM+HIIT: 12) (*: $p < 0.05$ vs. Kontrol; †: $p < 0.05$ vs. DM) ($\bar{x} \pm SH$).

Soleus kasları için hem düşük hem de yüksek frekanslı yorgunluk indeksleri gruplar arasında fark göstermemiştir (sırasıyla $F_{(3,23)}=1.755$; $p=0.1839$ ve $F_{(3,20)}=1.836$; $p=0.1732$). EDL kasında ise hem düşük hem de yüksek frekanslı yorgunluk indekslerinde gruplar arasında fark bulunmuştur (sırasıyla $F_{(3,26)}=7.492$; $p=0.0009$ ve $F_{(3,24)}=3.292$; $p=0.0378$). Her iki indeks için diyabet gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma (yorgunluk artışı) tespit edilmiş olup (sırasıyla $p=0.0202$ ve $p=0.0342$), egzersiz uygulamasının yol açtığı düzelme her iki indekste de kendini göstermiştir. Ek olarak düşük frekanslı yorgunluk parametresinde DM ile DM+HIIT grubu arasında anlamlı fark saptanmıştır ($p=0.0223$).

3.5. Miyokinler

3.5.1. İnterlökin-6 (IL-6)

IL-6 düzeyleri soleus ve EDL kası homojenizatlarında ve serumda ölçülmüştür. Homojenizatlardaki IL-6 konsantrasyonu total protein konsantrasyonuna bölünerek normalize edilmiştir (Şekil 3.16).

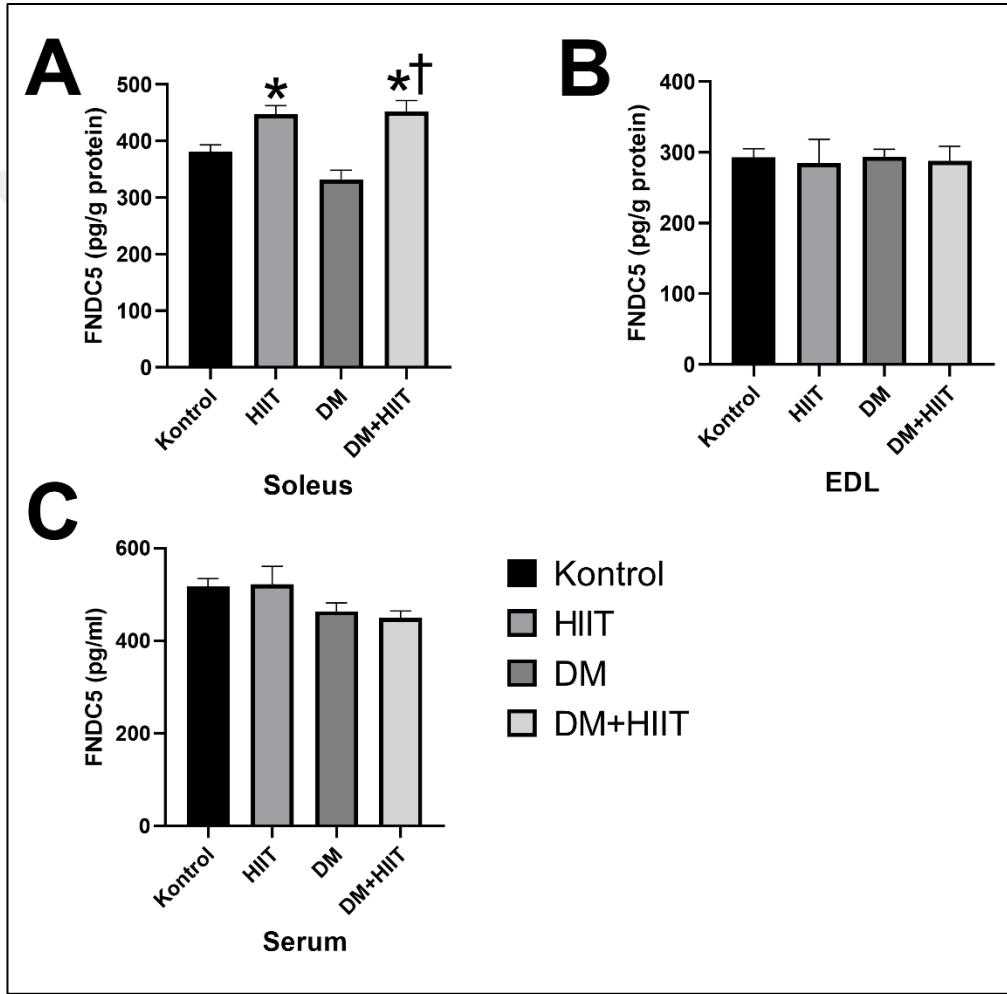


Şekil 3.16. İnterlökin-6 (IL-6) ölçümleri (A) Soleus kası homojenizatlarındaki gram protein başına düşen IL-6 miktarı (B) EDL kası homojenizatlarındaki gram protein başına düşen IL-6 miktarı (C) Serum IL-6 konsantrasyonu (ölçümlerde kullanılan hayvan sayıları K:7, DM: 7, HIIT: 7, DM+HIIT: 7) (*: $p<0.05$ vs. Kontrol; †: $p<0.05$ vs. DM) ($\bar{x}\pm SH$).

Soleus kası homojenizatlarında ölçülen IL-6 düzeyleri gruplar arasında farklılık göstermemiştir ($F_{(3,24)}=0.2619$; $p=0.8521$). EDL homojenizatları ve serumda ölçülen IL-6 düzeyleri ise gruplar arasında farklıdır (sırasıyla $F_{(3,21)}=9.568$; $p=0.0003$ ve $F_{(3,21)}=6.547$; $p=0.0027$). Hem EDL kasında hem de serumda diyabet gruplarında IL-6 kontrole göre artmış (sırasıyla $p=0.0015$ ve $p=0.0043$), diyabetik egzersiz gruplarında ise bu artış kontrol düzeylerine çekilmiştir. Her iki örnekte de DM ile DM+HIIT grupları arasında anlamlı farka rastlanmıştır (sırasıyla $p=0.0123$ ve $p=0.0149$).

3.5.2. İrisin (FNDC5)

İrisinin perkürsörü olan ve irisin ile korelasyon gösteren FNDC5 düzeyleri soleus ve EDL kası homojenizatlarında ve serumda ölçülmüştür. Homojenizatlardaki FNDC5 konsantrasyonu total protein konsantrasyonuna bölünerek normalize edilmiştir (Şekil 3.17).



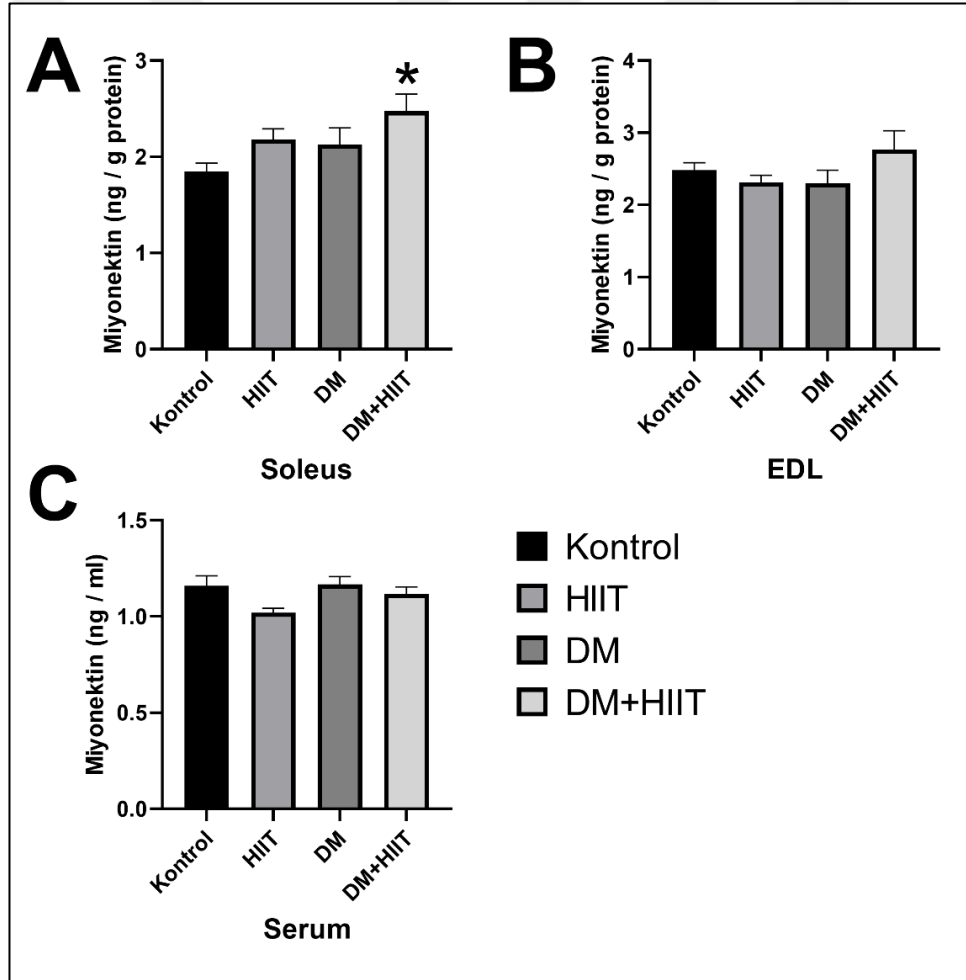
Şekil 3.17. FNDC5 ölçümleri (A) Soleus kası homojenizatlarındaki gram protein başına düşen FNDC 5 miktarı (B) EDL kası homojenizatlarındaki gram protein başına düşen FNDC5 miktarı (C) Serum FNDC5 konsantrasyonu (ölçümlerde kullanılan hayvan sayıları K:7, DM: 7, HIIT: 7, DM+HIIT: 7) (*: $p<0.05$ vs. Kontrol; †: $p<0.05$ vs. DM) ($\bar{x}\pm SH$).

EDL kası homojenizatları ve serumda ölçülen FNDC5 düzeyleri gruplar arasında farksızdır (sırasıyla $F_{(3,24)}=0.04217$; $p=0.9882$ ve $F_{(3,24)}=2.003$; $p=0.1404$). Soleus kasında FNDC5 düzeyleri gruplar arasında fark göstermektedir ($F_{(3,23)}=12.82$;

$p<0.0001$). Egzersiz yapan gruplarda (HIIT ve DM+HIIT) FNDC5 düzeyleri kontrole göre anlamlı düzeyde fazladır ($p=0.0397$ ve $p=0.0195$). Ayrıca DM ve DM+HIIT grupları arasında da anlamlı fark bulunmaktadır ($p<0.0001$).

3.5.3. Miyonektin

Miyonektin düzeyleri soleus ve EDL kası homojenizatlarında ve serumda ölçülmüştür. Homojenizatlardaki miyonektin konsantrasyonu total protein konsantrasyonuna bölünerek normalize edilmiştir (Şekil 3.18).



Şekil 3.18. Miyonektin ölçümleri (A) Soleus kası homojenizatlarındaki gram protein başına düşen miyonektin miktarı (B) EDL kası homojenizatlarındaki gram protein başına düşen miyonektin miktarı (C) Serum miyonektin konsantrasyonu (ölçümlerde kullanılan hayvan sayıları K:7, DM: 7, HIIT: 7, DM+HIIT: 7) (*: $p<0.05$ vs. Kontrol; †: $p<0.05$ vs. DM) ($\bar{x}\pm SH$).

EDL homojenizatları ve serumda yapılan ölçümlerde miyonektin düzeyleri ölçümleri gruplar arasında farksızdı ($F_{(3,23)}=1.611$; $p=0.2141$ ve $F_{(3,24)}=2$; $p=0.0591$). Soleus kasında gruplar arasında anlamlı farka rastlanmıştır ($F_{(3,23)}=3.235$; $p=0.0409$). DM+HIIT grubundaki miyonektin seviyeleri kontrole göre önemli ölçüde fazladır ($p=0.0241$). Diğer gruplar arasında herhangi bir fark bulunmamıştır.



4. TARTIŞMA

Sunulan çalışmada, STZ enjeksiyonu ile diyabet oluşturulan hayvanlara 8 hafta boyunca HIIT tipi egzersiz uygulanmış, diyabet ve egzersizin farklı lif tiplerine sahip iskelet kasları üzerindeki etkileri incelenmiştir. Sonuçlar diyabet uygulamasının, diyabetik miyopatinin kas zayıflığı bileşenlerini yeterince göstermemesi ile birlikte, diyabetten lif tipi özellikleri nedeniyle daha fazla etkileneceği öngörülmüş EDL kasında, atrofi ve yorgunluk parametreleri ile miyopati başlangıcına dair belirtiler tespit edilmiştir. Diyabetin iskelet kaslarında oluşturduğu olumsuzlukların HIIT tipi egzersiz uygulaması ile önlenemediği anlaşılmaktadır. Soleus kasında ise diyabetik miyopatiye işaret eden anlamlı bir değişime rastlanmamıştır.

4.1. Hayvan Takip Değerleri (Vücut Ağırlığı, Kan Glikoz Düzeyleri)

Hayvanların başlangıç ağırlıkları farksızdır. Diyabetik hayvanların (DM ve DM+HIIT grupları) çalışma sonunda ölçülen vücut ağırlıkları, diyabetik olmayanlara (K ve HIIT grupları) kıyasla belirgin derecede düşük bulunmuştur. Bu bulgu laboratuvarımızda yapılan önceki çalışmalarla ve literatürdeki diğer STZ modeli çalışmaları ile uyumludur (Caliskan ve ark., 2020; Howarth ve ark., 2005; Zafar ve Naqvi, 2010). Egzersizin enerji tüketimini arttırdığı, metabolizmayı hızlandırdığı ve buna bağlı olarak vücut ağırlığında bir azalmaya sebep olduğu bilinmektedir. Ancak çalışmamızda uygulanan HIIT protokolü vücut ağırlığı üzerinde hem sağlıklı hem de diyabetik hayvanlarda anlamlı bir değişime neden olmamıştır. Literatürde STZ ile oluşturulan diyabet modellerine egzersiz protokolünün uygulandığı ve vücut ağırlığı değişimi gözlenmeyen çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. (Yazdani ve ark., 2020) (Lee ve ark., 2012).

Sakrifikasyondan hemen önce ölçülen açlık kan şekeri değerleri, diyabetli hayvanlarda anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur. Ayrıca düzenli aralıklarla takip edilen kan şekeri değerleri diyabetli hayvanların kan şekerlerinin (tokluk) deney

protokolü boyunca 300 mg/dl üzerinde seyrettiğini göstermektedir. Vücut ağırlığı verileri ile birlikte değerlendirildiğinde diyabet modelinin sorunsuz şekilde oluşturulduğu anlaşılmaktadır.

Literatürde diyabetik bireylerde veya diyabetik hayvan modellerinde, egzersiz uygulamasının kan glikoz düzeylerinin kontrolüne yardımcı olduğunu gösteren çalışmalar yer almaktadır (Kim ve ark., 2014; Tan ve ark., 2012). Ancak çalışmamızdaki egzersiz uygulamasının açlık kan glikozu seviyelerine anlamlı bir etkisi gözlenmemiştir. Yazdani ve ark. STZ ve yüksek yağlı diyetle beslenen hayvanlara 8 hafta boyunca HIIT tipi egzersiz uygulamışlar ve egzersizin kan glikoz düzeyine anlamlı bir etki yapmadığını göstermişlerdir (Yazdani ve ark., 2020). Lee ve ark. STZ ile indüklenen diyabet modelinde uyguladıkları 4 haftalık yüzme egzersizinin ardından diyabetik hayvanların vücut kütlesinde ve kan şekeri düzeylerinde anlamlı bir değişime yol açmadığını bildirmişlerdir (Lee ve ark., 2012). Ek olarak, laboratuvarımızda daha önce farklı egzersiz protokolleri ile yürütülen diyabet-egzersiz çalışmalarının bazılarında da egzersize bağlı anlamlı vücut ağırlığı ve kan glikoz düzeyi değişimi gözlenmemiştir (Caliskan ve ark., 2020).

STZ uygulaması, pankreas β hücrelerinin büyük bir bölümünü hızlı ve geri dönüşsüz olarak tahrip eder (Mythili ve ark., 2004). Uygulanan egzersizin geri dönüşsüz olarak hasarlanan pankreas dokusunda anlamlı bir iyileşmeye neden olmadığı ve kan glikoz seviyelerini bu nedenle değiştiremediği düşünülmektedir. Ancak bu konuda daha geniş bilgiye sahip olabilmek için açlık insülin düzeylerinin ölçülüp HOMA testinin yapılması ve pankreas β hücrelerindeki hasarın histolojik olarak incelenmesi gerekmektedir.

4.2. Kas Atrofisi Değerlendirmesi

Çalışmamızda iskelet kaslarının (soleus ve EDL) yaş ağırlıkları vücut ağırlığına ve kuru ağırlıkları vücut ağırlığına göre normalize edilmiş ve gruplar arasında karşılaştırılmıştır. Ek olarak, alınan iskelet kasları nem terazisinde kurutularak

tartılmış, nem yüzdesi değerleri hesaplanmıştır. Hesaplanan nem yüzdesi değeri, dokunun ödem düzeyi hakkında bilgi vermektedir. KA/VA oranı dikkate alındığında, EDL kasında sedanter diyabetik grupta ödem ve atrofinin gözlemlendiği, antrenman ile birlikte atrofinin ve ödemin önlemlendiği görülmektedir. Bunun yanında DM+HIIT grubunun soleus kasında YA/VA oranında bir artış görülürken bu artışın nem yüzdesi artışı ile birlikte seyrettiği söylenebilir. Dolayısıyla soleus kası kütlelerinde herhangi bir değişim görülmediği söylenebilir.

Atrofi verilerimiz genel olarak literatür ile uyum göstermektedir. Nonaka ve ark. Wistar albino cinsi dişi sıçanlarla STZ ile indüklenen diyabet modeli oluşturmuşlar, 8 haftalık diyabetin, EDL ve soleus kaslarında kontrol grubuna göre anlamlı bir atrofik değişime sebep olmadığını bildirmişlerdir (Nonaka ve ark., 2014). Ancak aynı ekip yaptıkları benzer bir çalışmada STZ ile indüklenen diyabette, 3 haftada, EDL kasında diyabete bağlı atrofi gelişimini gözlemlemiştir (Nonaka ve ark., 2015). Cotter ve ark. STZ enjeksiyonu ile diyabet yaptıkları, Sprague-Dawley cinsi sıçanlarla yaptıkları çalışmada üçüncü ayın sonunda soleus kasında anlamlı bir atrofik değişime rastlamamışlar, ancak EDL ve tibialis anterior kaslarında diyabete bağlı atrofi gelişimini gözlemlemiştir. Atrofi ile ilgili ölçümlerin histolojik olarak da desteklendiği bu çalışmada, diyabette hızlı liflerin atrofiye daha yatkın olduğu belirtilmiştir (Cotter ve ark., 1989). Benzer şekilde Armstrong ve ark. erkek Sprague-Dawley sıçanlarda STZ ile indüklenen 10 haftalık tip 1 diyabet modelinde, tip IIa liflerde oksidatif kapasite kaybı olduğunu, hızlı kasılan glikolitik liflerin ise boyutunda önemli derecede azalma görüldüğünü bildirmişlerdir. Üç farklı lif tipinin değerlendirildiği çalışmada diyabetten en az etkilenen lif tipinin yavaş oksidatif lifler olduğunu öne sürülmüştür (Armstrong ve ark., 1975). Pepato ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, genç erkek Wistar albino sıçanlara yüksek doz (135 mg/kg) STZ enjeksiyonu yapılmıştır. 1, 3, 5 ve 10. günlerde sakrifikasyonlar yapılmış ve kas kütleleri değerlendirilmiştir. Onuncu günde EDL kasında %30'luk bir kütle kaybı görülürken soleusta bu kaybın oldukça az olduğu bildirilmiştir. (Pepato ve ark., 1996). Kelleher ve ark. tarafından yapılan çalışmada, erkek Sprague-Dawley sıçanlara yapılan STZ uygulamasından dört hafta sonra soleus kasında %15.8 ve EDL kasında %32.0 oranında atrofi geliştiği gösterilmiştir (Kelleher ve ark., 2010). Shamsi ve ark.

erkek Wistar albino sıçanlara tek doz STZ uygulamışlar ve hayvanları beş hafta boyunca bir tür direnç egzersizi olan merdiven tırmanma egzersizi programına almışlardır. Flexor hallucis longus (FHL) ve soleus kasları üzerinde inceleme yapan araştırmacılar egzersiz yapan diyabetik grupta FHL kütlesini sedanter diyabetlilere göre anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır, soleus kasında ise herhangi bir fark gözlemlenmemişlerdir (Shamsi ve ark., 2014). Sanchez ve ark. Sprague Dawley sıçanlarına tek doz (60 mg/kg) STZ uygulamış ve ardından hayvanları, haftada 5 gün, günde 60 dakika olacak şekilde 12 haftalık bir dayanıklılık antrenmanına dahil etmişlerdir. Egzersiz yapan diyabetik sıçanlarda, diyabetin yol açtığı atrofinin önüne geçildiği öne sürülmüştür (Sanchez ve ark., 2005). Bu bilgiler ışığında STZ ile oluşturulan diyabet modelinde iskelet kaslarında atrofinin incelenmesinde, diyabetin dozu, diyabetin oluşturulma ayı ve en önemlisi diyabetin süresinin önemli olduğu görülmektedir.

Literatürde, bu çalışmanın verileri ile uyuşmayan bazı çalışmalar da yer almaktadır. Najemnikova ve ark.'nın erkek Sprague-Dawley sıçanlara tek doz STZ uygulayarak yaptığı çalışmada 30 günlük diyabetin ardından yapılan ölçümlerde, soleus ve plantaris kaslarında atrofiye rastlanmazken gastrocnemius kasında diyabete bağlı atrofi geliştiği tespit edilmiştir (Najemnikova ve ark., 2007). Bu çalışmada farklı lif tiplerinde diyabetik iskelet kası atrofisinin görülme sebebi diyabetin süresi olabilir. Lee ve ark. diyabetik hayvanları 4 haftalık yüzme egzersiz protokolüne dahil etmişler ve egzersiz yapan diyabetli grup ile sedanter diyabetik grubun kas kütleleri arasında anlamlı bir fark bulamamışlardır (Lee ve ark., 2012). Burada ise akut egzersiz protokolü uygulanmıştır.

Sonuç olarak, farklı lif tiplerinin baskın olduğu kasların diyabetten farklı düzeylerde etkilendikleri görüşü literatürde yaygındır ve çalışmamızın verileri ile uyumludur. Özellikle EDL gibi glikolitik liflerin baskın olduğu kaslar diyabete bağlı atrofiden daha erken ve şiddetli etkilenmektedir. Bu sonuçlar ilerleyen bölümlerdeki veriler ile birlikte değerlendirildiğinde EDL kasının diyabetten daha erken etkilendiği ve egzersiz uygulamasının bu zararlı etkiyi önlediğine dair hipotezimizi

desteklemektedir. Bu verilere ek olarak iskelet kası atrofisinin histolojik olarak değerlendirilmesi de ileriki çalışmalarda önem arz edebilir.

4.3. Hayvanların MEK Değerleri

Egzersiz protokolü uygulamasına dâhil edilen sağlıklı ve diyabetik hayvanların egzersize başlamadan önce ve egzersiz protokolü süresince iki haftalık aralıklarla MEK değerleri ölçülmüştür. Başlangıçta farksız olan MEK değerleri, egzersiz etkisiyle anlamlı artış göstermiş ancak gruplar karşılaştırıldığında diyabetik ve sağlıklı hayvanlar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Ancak veriler incelendiğinde 4. haftadan itibaren diyabetik ve sağlıklı hayvanlar arasındaki farkın açılma trendi göze çarpmaktadır. Bu eğilim bize diyabetin ilerleyen zamanlarda olumsuz etkilerinin daha belirgin bir şekilde ortaya çıkma ihtimali olduğunu düşündürmektedir. Laboratuvarımızda daha önce yapılan egzersiz çalışmalarında antrenman, hem diyabetik hem sağlıklı sıçanlarda egzersiz kapasitesini arttırmış ancak egzersiz kapasitesi gruplar arasında anlamlı fark göstermemiştir (Caliskan ve ark., 2020). Costa ve ark.'nın yaptığı obezite modeli ve HIIT egzersizini birleştiren çalışmada başlangıçtaki MEK değerlerinin obez hayvanlarda %9,1 oranında düşük olduğu ancak onuncu haftanın sonunda antrenmana katılan bu iki grup arasında, MEK değerleri açısından anlamlı bir fark görülmediği bildirilmiştir (Costa ve ark., 2021). Artımlı yük testi ile ölçülen MEK değerinin her ne kadar VO_{2max} düzeyi ile korelasyon gösterdiği düşünülse de kullanılan test indirekt bir ölçüm yöntemidir. İlerleyen çalışmalarda metabolik ve telemetrik koşu bandı sistemleri ile direkt olarak VO_{2max} değerinin hesaplanabilmesi hem diyabetik ve non-diyabetik hayvanlar arasındaki egzersiz kapasitesi kıyaslamalarının daha sağlıklı yapılmasına imkân verecek hem de egzersiz programlarının daha hassas planlanmasını sağlayacaktır. Çalışmamızda teknik imkânsızlıklar nedeniyle direkt ölçüm yöntemlerinin kullanılamaması çalışmamızın kısıtlılıklarından birisidir.

4.4. Kas Fonksiyonu Ölçümleri

İskelet kası fonksiyonunun değerlendirilmesinde sarsı morfolojisi, kuvvet-frekans ve yorgunluk analizleri yapılmıştır. Soleus ve EDL kaslarının kuvvet – frekans analizleri, diyabetin kas kasılma gücünde herhangi bir bozulmaya neden olmadığını göstermektedir. Bunun yanı sıra egzersiz uygulaması diyabetli olmayan hayvanlarda kas kuvvetini arttırmazken, diyabetik hayvanlara uygulanan egzersiz her iki kas için de kas kuvvetinde anlamlı bir artışa neden olmuştur.

Literatürde diyabetin kas kuvvetine olan olumsuz etkileri ile ilgili çeşitli yayınlara rastlanmıştır. Chonkar ve ark. Wistar cinsi sıçanlarda tek doz 60 mg/kg STZ uygulamasından 6-8 hafta sonra, diyabette soleus ve EDL kaslarında izometrik kasılma kuvvetinin, 10-50 Hz frekans aralıklarında azaldığını bildirmişlerdir (Chonkar ve ark., 2006). Pelit ve ark. Wistar albino sıçanlara tek doz 45 mg/kg STZ uygulamasından bir ay sonra, soleus ve EDL kaslarının kuvvet parametrelerinde azalma gözlemlemişlerdir. (Pelit ve ark., 2008). Virgen – Ortiz ve ark. Sprague Dawley sıçanlarda tek doz 60 mg/kg STZ uygulamasından 4 hafta sonra, diyabetik sıçanlarda soleus kasında, tetanik kuvvet ve sarsı kuvvetinin daha büyük oranlarda azaldığını, sarsı genliği ve yarı gevşeme sürelerinde artış olduğunu bildirmişlerdir (Virgen-Ortiz ve ark., 2018). Bunun yanı sıra Ashfaq ve ark. dişi Sprague Dawley sıçanlarında yüksek yağlı beslenme ve 35 mg/kg dozunda STZ uygulaması ile tip 2 diyabet modeli oluşturmuşlar, soleus ve EDL kaslarında diyabet ile birlikte kontrole göre anlamlı bir kuvvet kaybı gerçekleşmediğini bildirmişlerdir (Ashfaq ve ark., 2017). Çalışmamızın hipotezlerinden birisi, diyabette anlamlı bir kuvvet kaybının görüleceği yönünde olmakla birlikte sonuçlarımız bu hipotezi yanlışlamıştır. Uygulanan diyabet süresinin kas kuvvetinde anlamlı bir değişime neden olacak şiddette bir bozulmaya yol açmadığı anlaşılmaktadır. Kas kuvveti ile yakından ilgili olan kas kütlesinde de anlamlı bir değişim görülmemesi bu düşüncüyü desteklemektedir. Çalışmamız bu anlamda literatürdeki genel eğilimden ayrılmaktadır.

Çalışmamızda DM+HIIT grubundaki hayvanların hem soleus hem de EDL kaslarında kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde bir kuvvet artışı tespit edilmiştir.

DM ile DM+HIIT grupları arasında ise herhangi bir fark gözlenmemiştir. Bu durumun sebebi, deney boyunca yaşanan hayvan kayıpları nedeniyle DM+HIIT grubundaki veri sayısı diğer tüm gruplardaki veri sayısından daha fazladır. Gruplarda eşit sayıda verinin elde edilmemiş olması çalışmamızın kısıtlılıklarından birisidir. Her ne kadar tüm gruplarda parametrik testlerin kullanımına olanak sağlayacak sayıda veriye ulaşılmış olsa da grupların örnek sayılarının eşit olmaması istatistik testlerin gücünü düşüren bir özellik olarak kabul edilmektedir. Buradan hareketle denek sayılarının artırılmasının elde edilen sonuçların kesinliği açısından gerekli olduğu düşünülmektedir.

Yorgunluk indekslerine bakıldığında diyabetin veya egzersiz uygulamasının soleus kasında yorgunluk parametrelerinde herhangi bir değişikliğe neden olmadığı görülmektedir. EDL kasında ise hem yüksek hem de düşük frekanslı yorgunluk indekslerinde diyabetin yorgunluğa direnci azaltıcı etkisi açıkça gözlenmektedir. Egzersiz uygulaması ise diyabetin yarattığı bu olumsuz etkiyi engellemiştir.

Literatürde diyabetle birlikte iskelet kaslarında yorgunluğa direncin azaldığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Cotter ve ark. 19 haftalık Sprague Dawley sıçanlara tek doz (45 mg/kg) STZ uygulayarak diyabet oluşturdukları çalışmalarında, 4 aylık diyabetin diyabet grubunda soleus kasının yorgunluk direncini anlamlı derecede azalttığını bildirmişlerdir (Cotter ve ark., 1993). McGuire ve ark. Wistar cinsi sıçanlarda STZ uygulamasından 8 hafta sonra, soleus ve EDL kaslarında uyguladıkları yorgunluk protokolü ile yorgunluk direncinin (kasın endüransının) azaldığını ve soleus kasında bu durumun daha belirgin olduğunu göstermişlerdir (McGuire ve MacDermott, 1999). Kubasov ve ark. STZ ile indüklenen diyabet modelinde, 12 ve 30 günlük diyabet sürelerini takiben uyguladıkları 3 dakikalık yorgunluk protokolü sonrası, EDL kasında anlamlı bir yorgunluk artışı gözlemlenmezken, soleus kasında yorgunluğun daha hızlı bir şekilde ortaya çıktığını belirtmişlerdir (Kubasov ve ark., 2014). Ashfaq ve ark.'nın Sprague Dawley cinsi sıçanlarla yaptığı tip 2 diyabet modeli çalışmasında soleus ve EDL kaslarının yorgunluğa dirençlerinin kontrole göre anlamlı derecede azaldığı bildirilmiştir (Ashfaq ve ark., 2017). Huang ve ark.'nın yaptığı longitudinal çalışmada, Sprague Dawley sıçanlara tek doz (60 mg/kg) STZ

uygulamasından 4, 8, 12, 16 hafta sonra, diyafram, EDL, soleus kaslarını incelemişlerdir. Araştırmacılar, soleus ve EDL kaslarında yorgunluğa direncin, diyabetle birlikte haftalar ilerledikçe artan bir şiddetle zayıfladığını ve EDL kasının oransal olarak diyabete bağlı yorgunluktan erken dönemde (4-12 hafta) daha fazla etkilendiğini, 16. haftada ise soleustaki yorgunluk artışının EDL'in önüne geçtiğini bildirmişlerdir (Huang ve ark., 2018). Huang ve ark.'nın yaptığı bu çalışma farklı kasların diyabete bağlı yorgunluk hassasiyetlerinin diyabet süresine göre değişkenlik gösterebileceğini ortaya koymuştur. Bu bilgi literatürdeki uyumsuz sonuçlara açıklaması getirmesi bakımından oldukça kıymetlidir.

Çalışmamızdaki veriler göz önüne alındığında, hem düşük hem yüksek frekanslı yorgunluk protokollerinde soleus kasında herhangi bir değişim görülmezken EDL kasında diyabete bağlı yorgunluk direncinin düşüş göstermesini, EDL ve soleus kası arasındaki metabolik farklılıklar ile açıklamak mümkündür. EDL kasında hızlı tip MHC izoformu bulunur ve bu nedenle çapraz köprü siklusu, yavaş kasılan soleus kasına göre daha hızlı ATP tüketir (Allen ve ark., 2008; Bottinelli ve Reggiani, 2000). Bir diğer önemli fark sarkoplazmik retikulum (SR) zarında yer alan SERCA (Sarko/endoplazmik retikulum Ca^{2+} -ATPaz) adlı kalsiyum taşıyıcıları ile ilişkilidir. EDL kasında SERCA-1 izoformu baskınken (Lytton ve ark., 1992) ve soleus kasında SERCA-2 izoformu (Everts ve ark., 1989) daha fazla bulunmaktadır. Kas gevşemesi sırasında kalsiyumun SR'ye geri alınımının oldukça fazla enerji harcayan bir süreç olduğu göz önüne alınırsa iki kasın yorgunluğa farklı derecelerde direnç göstermeleri anlaşılabilir. Son olarak, iskelet kaslarının yorgunluğa direncinin önemli belirleyicilerinden birisi de, kas lifinin mitokondri yoğunluğu ve oksidatif metabolizmayı kullanma kapasitesidir (Allen ve ark., 2008). Tüm bunlara ek olarak, literatürde glikolitik lif yoğunluğu fazla olan kasların bu çalışma özelinde EDL kasının diyabet kaynaklı hasara karşı daha hassas olduğunu değişik analizlerle gösteren çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Cai ve ark., 2021; Cotter ve ark., 1989; Imam ve ark., 2012). Verilerimize ve eldeki literatür bilgilerine göre EDL kasının yorgunluktan daha fazla etkilenmesi, kasın diyabetik miyopatiye karşı soleus kasına göre daha hassas oluşu ile açıklanabilir. Ayrıca çalışmamızda, EDL kasında gösterilen ancak soleus

kasına yansımayan proinflamatuvar durum da bu düşüncemizi desteklemektedir. Yorgunluk sonuçlarımızın literatürdeki genel görüş ile uyumlu olduğu söylenebilir.

Hem soleus hem EDL kaslarında sarsı morfolojisi (sarsı genliği, kasılma-gevşeme zamanları ve hızları) detaylı bir şekilde incelenmiştir. Sarsı genliği değerlerinde diyabetin herhangi olumsuz bir etkisine rastlanmamıştır. Sadece DM+HIIT grubunda her iki kasta da anlamlı genlik artışları gözlenmiştir. Sonuçlar kuvvet-frekans analizi verilerimiz ile tutarlılık göstermektedir. Kasılma zamanı verilerinde de diyabetik miyopati ile ilişkilendirilebilecek bir değişime rastlanmamıştır. EDL kasında diyabet grubunda kasılma zamanı ortalaması artış göstermiş olsa da bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildir. Soleus kasında HIIT egzersizi ile birlikte sağlıklı hayvanların kasılma zamanı değerlerinde bir azalma saptanmıştır. Egzersiz yapan diyabetli hayvanlarda paralel bir değişim gözlenmemiştir. İki sonuç birlikte düşünüldüğünde, diyabetin egzersizin yarattığı olumlu etkiyi bu veri özelinde azalttığı söylenebilir.

Gevşeme sürecinde yaşanan bozulmalar genellikle diyabete bağlı patolojilerin erken belirteçleridir. Gevşemeyi kontrol eden ve kalsiyum homeostazisinde önemli görevleri olan kanal veya pompalar diyabetten daha erken etkilenir. Çalışmamızdaki yarı gevşeme zamanları incelendiğinde hem EDL hem soleus kasında diyabetin gevşeme zamanını arttırıcı etkisi göze çarpmaktadır. Kaslar arasındaki tek fark EDL kasındaki bozulma egzersiz uygulaması ile engellenebilirken, soleusta egzersizin koruyucu etkisi görülmemektedir. Bu sonuçlar kasların diyabetik miyopatiden etkilenmeye başladığını ortaya koymaktadır. Ancak egzersizin koruyucu etkisi kasların lif tipi özellikleri nedeniyle soleus ve EDL kasına farklı oranlarda yansıdığı anlaşılmaktadır. EDL kasından elde edilen gevşeme zamanı verileri yorgunluk ve IL-6 verilerimiz ile uyumludur. Ek olarak EDL kasının diyabetik miyopatiden etkilenmeye başladığını öne süren hipotezimizi de desteklemektedir. Son olarak kasılma-gevşeme hızı verilerinde de genlik verilerine benzer bir şablon görülmektedir. DM+HIIT grubundaki genel artış trendi bu veriler için de anlamlı düzeyde gerçekleşmiştir.

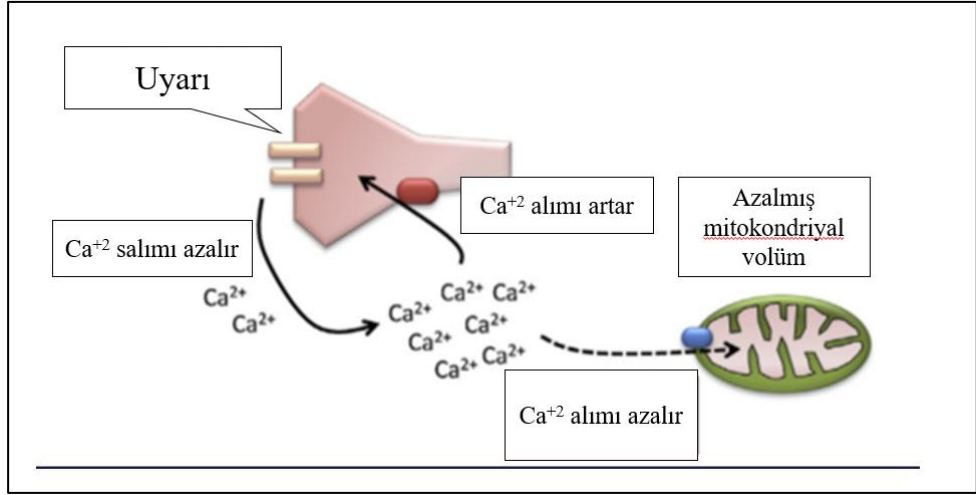
Literatür genelinde diyabetik miyopati ile birlikte kasılma ve gevşeme zamanlarının uzadığı, sarsı genliklerinin azaldığı gözlenmektedir. Huang ve ark. STZ ile indüklenen tip 1 diyabetik sıçanların iskelet kaslarında (soleus, EDL ve diyafram) sarsı genliğinin azaldığını, kasılma ve gevşeme sürelerinin uzadığını belirtmişlerdir. EDL kasında bozulma 12. Haftada ortaya çıkarken soleusta daha erken başlamış haftalar boyunca devam etmiştir. (Huang ve ark., 2018). Imam ve ark., 29 günlük diyabet sonrasında sonra soleus ve EDL kontraktıl cevaplarını değerlendirmişler, soleus kasında kasılma ve gevşeme sürelerinin diyabetik grupta anlamlı düzeyde uzadığını bildirmişlerdir. EDL kasını da değerlendiren araştırmacılar kasılma sürelerinde anlamlı bir değişime rastlamamışlardır (Imam ve ark., 2012). McGuire ve ark. 8 haftalık STZ modelinin ardından soleus ve EDL kaslarında yaptıkları değerlendirmede, soleus kasının yarı gevşeme zamanının arttığını, ancak EDL kasında herhangi bir değişim görülmediğini bildirmişlerdir. (McGuire ve MacDermott, 1999). Ljubisavljevic ve ark. STZ ile indüklenen diyabetten 2 ay sonra, diyabetin, soleus ve gastrokinemius kaslarında kasılma ve gevşeme zamanlarında yavaşlamaya sebep olduğunu bildirmişlerdir. (Ljubisavljevic ve ark., 2010). Ek olarak, Ashfaq ve ark.'nın STZ ve yüksek yağlı besleme ile oluşturdukları tip 2 diyabet modelinde, diyabet soleus ve EDL kaslarında sarsı genlikleri etkilemezken soleus kasında kasılma ve gevşeme zamanlarında uzamaya neden olmuştur (Ashfaq ve ark., 2017).

Literatürün genelinde diyabetin kalsiyum homeostazisi (Bkz. Şekil 4.1.) üzerindeki olumsuz etkileri (Eshima ve ark., 2014) nedeniyle kasılma ve gevşeme zamanlarını uzattığı konusunda bir ittifak vardır. Çalışmamızda diyabetin etkisi kasılma zamanlarına yansımaya da gevşeme zamanlarında anlamlı bir artışa sebep olduğu görülmektedir. Bu artış EDL kasında egzersiz uygulaması ile önlenebilmiştir. Kalsiyum homeostazisine katkı veren çok sayıda bileşen olduğu düşünülürse hangi mekanizmanın etkilendiğini tespit etmek için ileri elektrofizyolojik analizler yapılması ve çeşitli kalsiyum taşıyıcılarının ifade düzeylerinin belirlenmesi gerekmektedir. IL-6 verisiyle gevşeme zamanı verilerinin gösterdiği paralellik, ilerleyen çalışmalarda EDL kası için IL-6 ile kalsiyum homeostazisi arasında bağlantı kurmaya olanak verebilir. Çalışmamızda hücre içi kalsiyum homeostazisi ile ilgili analizlerin yapılamamış olması çalışmamızın eksikleri arasındadır. Sarsı genliğindeki ve kasılma-gevşeme

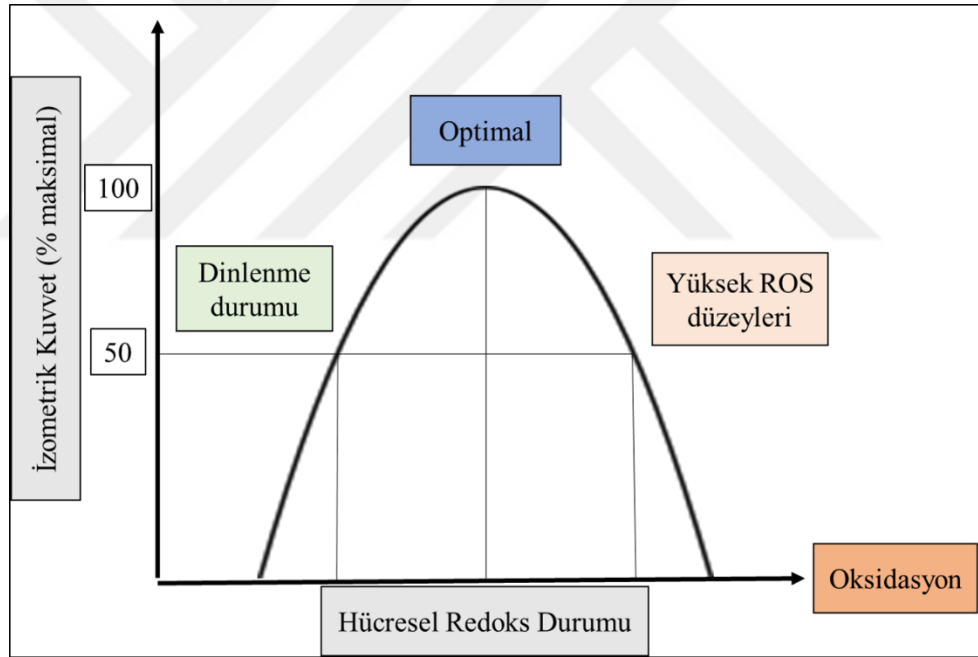
hızlarındaki artış trendi, kuvvet-frekans grafiğindeki eğilim ile paralellik göstermektedir. Elde edilen bu tutarlılık DM+HIIT grubundaki artışın değerlendirmeye değer olduğunu düşündürmektedir.

Çalışmamızda oksidatif stres parametreleri değerlendirilmemiştir. Bilindiği üzere diyabet yaygın ve yoğun bir oksidatif stres artışına neden olur. Egzersizin uzun dönemde antioksidan savunma sistemlerini güçlendirdiği bilinmektedir, ancak egzersiz bu etkisini akut dönemde reaktif oksijen türevlerinde (ROS) ılımlı artışlar yaparak yol açtığı ön koşullama etkisi (Bkz. Şekil 4.2) sayesinde gerçekleştirir (Powers ve ark., 2010; Radak ve ark., 2013; Ristow ve Schmeisser, 2014). Sunulan perspektif bizlere DM+HIIT grubunda gözlemlediğimiz, fonksiyon verileri içerisinde tutarlılık gösteren, ancak alan bilgisi dahilinde açıklayamadığımız performans artışının yorumlanmasında oksidatif stres bileşenlerinin incelenmesinin gerekliliğini göstermektedir. Çalışmamızda oksidatif stres bileşenleri ile ilgili bir verinin olmayışı önemli bir kısıtlılıktır. İlerleyen çalışmalarda benzer deney dizaynlarında oksidatif stres parametrelerinin de gözlenmesinin faydalı olacağı düşünülmektedir.

Buna ek olarak, ileride tartışılan miyonektin verilerinde de sadece DM+HIIT grubuna özgü diğer grupları etkilemeyen bir artış trendi görülmektedir. Ancak çalışmamız miyonektin artışı ile kas fonksiyonundaki artış arasında ilişki kurmak için yeterli veriye sahip değildir. Miyonektinin özgün etkisinin anlaşılması için ileri çalışmaların yapılması gerekmektedir.



Şekil 4.1. Diyabetik iskelet kasında Ca^{2+} homeostazisinde görülen değişimler (Eshima, (2014)’ten değiştirilerek alınmıştır.)



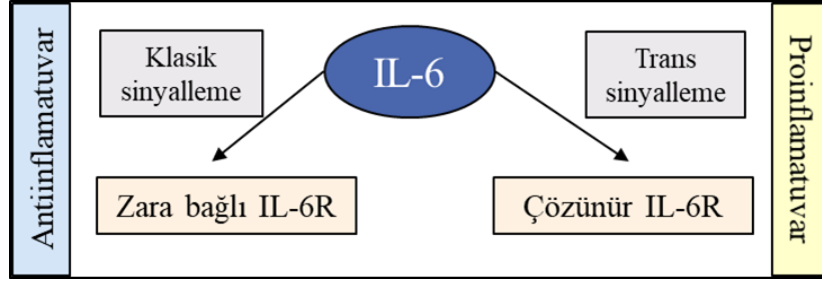
Şekil 4.2. Hüresel redoks durumunun iskelet kasında izometrik kuvveti üzerindeki bifazik etkisine yönelik teorik bir model (Powers ve ark., (2010)’dan değiştirilerek alınmıştır.)

4.5. Serum ve Kas Dokusu IL-6 Düzeyleri

Çalışmamızda, sedanter diyabetik sıçanların serum ve EDL kası örneklerinde IL-6 düzeylerinin arttığı ve egzersizin uygulamasının bu artışı engelleyebildiği anlaşılmaktadır. Ancak soleus kası IL-6 düzeylerinde diyabet ve/veya egzersiz uygulaması sonrasında herhangi anlamlı bir değişime rastlanmamıştır. Bu sonuçlar EDL kasında diyabetik miyopatinin yol açtığı bir proinflamatuvar etkiye işaret etmektedir. Kasların diyabetin yol açtığı serum IL-6 sonuçlarına yansıyan yaygın inflamasyondan farklı derecelerde etkilenmesi EDL kasının diyabetik hasara karşı daha hassas olduğu yönündeki düşüncemizi desteklemektedir. Ek olarak diyabetin EDL kasındaki zararlı etkisi uygulanan egzersiz ile önlenebilmiştir. Literatürde, bulgularımızı destekleyen çeşitli çalışmalar yer almaktadır. Shamsi ve ark. erkek Wistar albino sıçanları, tek doz 55 mg/kg STZ uygulamasının ardından, 5 haftalık direnç antrenmanına tabi tutmuşlar, FHL kasında IL-6 seviyelerinin diyabetik hayvanlarda yükseldiğini ve uygulanan direnç antrenmanının FHL IL-6 seviyelerinde azalmaya yol açtığı göstermişlerdir. Ek olarak, direnç egzersizinin sağlıklı hayvanlarda FHL IL-6 seviyelerinde herhangi bir değişikliğe neden olmadığını bildirmişlerdir (Shamsi ve ark., 2014). Pattamaprapanont ve ark. erkek Wistar albino cinsi sıçanları yüksek yağlı diyetle beslenmiş, 2 hafta sonra tek doz (35 mg/kg) STZ enjeksiyonu ile tip 2 diyabet modeli oluşturmuşlardır. Diyabetin oluşmasının ardından hayvanların bir kısmına 8 haftalık dayanıklılık antrenmanı uygulanmıştır. Çalışma sonucunda, hem diyabetik hem de non-diyabetik hayvanlarda soleus kası IL-6 seviyelerinde herhangi bir anlamlı değişim gözlememişlerdir. Ayrıca bu çalışmada, interlökin-6 reseptörü (IL-6R) değerlerine de bakılmıştır. Diyabet, soleus kaslarındaki IL-6R protein seviyelerinde, herhangi bir değişime neden olmamıştır. Dayanıklılık antrenmanı ile birlikte IL-6R protein seviyeleri sağlıklı sıçanlarda %25 diyabetik hayvanlarda ise %15 düzeyinde bir artış göstermiştir (Pattamaprapanont ve ark., 2016). Kazemi ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, Wistar albino cinsi sıçanlar STZ enjeksiyonu ile diyabetik yapıldıktan sonra 6 hafta boyunca, haftada 5 gün olacak şekilde koşu bandı egzersizine alınmıştır. 6. haftanın sonunda çeşitli inflamatuvar sitokinlerin plazma düzeyleri incelenmiştir. Sonuçlar, sedanter diyabetik hayvanlarda plazma IL-6, TNF α ve interlökin-1 beta (IL-1 β) seviyelerinde anlamlı artışlar

olduğunu göstermektedir. Ek olarak, ilgili sitokin seviyelerinin, egzersiz yapan diyabetik hayvanlarda anlamlı azalma gösterdiği bildirilmiştir. Araştırmacılar sitokin konsantrasyonları ve diyabetin şiddeti ile miyostatin adlı bir miyokin arasında pozitif yönlü bir korelasyon olduğunu vurgulanmıştır (Kazemi, 2019). Çalışmamızda miyostatin incelemesi yapılmamıştır, ilerleyen çalışmalarda miyostatin düzeylerinin çalışmamızdaki parametreler ile birlikte değerlendirilmesinin anlamlı olacağı düşünülmektedir. Literatürde IL-6'nın egzersizden farklı etkilendiği ile ilgili makaleler de bulunmaktadır. Bortolon ve ark. erkek Wistar albino cinsi sıçanlara tek doz (65 mg/kg) STZ uygulamasını takiben maksimum 48 saat süren tüketici egzersiz modeli uygulamıştır. Tüketici egzersizin başlamasından hemen sonra, 2 saat, 24 saat ve 48 saat sonra hayvanların soleus kasları alınmıştır. 2 saatlik tüketici egzersizin diyabetik hayvanlarda soleus TNF- α , IL-1 β , IL-6, L-selektin seviyelerinde artışa neden olduğunu öne sürülmüştür. Araştırmacılar diyabetin IL-6 seviyelerine olan etkisi ile ilgili veriyi paylaşmamıştır (Bortolon ve ark., 2020). Ancak bu çalışmadaki egzersiz protokolü çalışmamızla benzerlik göstermemektedir.

IL-6 bazı koşullarda proinflamatuvar, bazı koşullarda ise antiinflamatuvar bir sitokin olarak etki gösterebilmektedir (Fuster ve Walsh, 2014; Hogg, 2018; Karkhur ve ark., 2019). IL-6'nın iki yönlü etkisi IL-6 ile birlikte salgılanan sitokin profilinin değişimi ile regüle edilmektedir. Her ne kadar çalışmamızda EDL kasındaki artışın proinflamatuvar karakterli bir artış olduğu ve HIIT uygulamasının antiinflamatuvar bir etki gösterdiği düşünülse de kesin yoruma varmak için inflamasyon kaskadının diğer bileşenlerinin eş zamanlı olarak incelenmesi oldukça yararlı olacaktır. Ek olarak, IL-6'nın etkisinin temel belirleyicisi olan IL-6R ekspresyonu değişirse de afinitesi değişebilmektedir. İlerleyen çalışmalarda IL-6R ekspresyonu ve afinitesinin farklı kas dokularında karşılaştırılmalı olarak incelenmesi, IL-6 sinyalizasyonu hakkında bize daha detaylı yorum yapabilme olanağı sağlayacaktır (Bkz. Şekil 4.3). İlgili analizlerin yapılamamış olması çalışmamızın limitasyonları arasındadır.



Şekil 4.3. IL-6'nın sinyalizasyonu (Hogg, (2018) ve Karkhur, (2019)'dan değiştirilerek alınmıştır.)

4.6. Serum ve Kas Dokusu İrisin Düzeyleri

Serum ve EDL örneklerinden elde edilen FNDC5 düzeyi verileri incelendiğinde diyabet ve/veya egzersiz uygulamasının anlamlı bir FNDC5 değişimine neden olmadığı anlaşılmaktadır. Ancak soleus kasında egzersiz uygulaması hem diyabetik hem de sağlıklı hayvanlarda FNDC5 düzeylerini anlamlı ölçüde artırmıştır. Elde edilen veriler literatür ile uyumludur. Nadimi ve ark. Sprague Dawley cinsi sıçanlarda STZ ile indüklenen diyabet modeli oluşturmuşlar, serum ve triceps kasındaki irisin ve FNDC5 seviyelerinin diyabet ve kontrol arasında anlamlı fark göstermediğini bildirmişlerdir (Nadimi ve ark., 2019). Rahmati-Ahmadabad ve ark.'nın yaptığı, STZ ile indüklenmiş diyabet modelinin kullanıldığı çalışmada, HIIT tipi egzersiz uygulanmış ve soleus kasındaki FNDC5 gen ekspresyonunun hem sağlıklı hem diyabetli HIIT gruplarında artış gösterdiği tespit edilmiştir (Rahmati-Ahmadabad ve ark., 2021). Kim ve Song tarafından Zucker diabetic fatty (ZDF) sıçanları ile, tip 2 diyabet modelinde hayvanlar, 12 haftalık direnç egzersizi protokolüne tabi tutulmuştur. 12 haftanın ardından soleus ve EDL kaslarında irisin ve FGF-21 seviyeleri ölçülmüştür. Antrenman yapan tip 2 diyabetli sıçanlarda, tip 2 diyabetli sedanter gruba göre soleus kasında irisin seviyelerinin oldukça yüksek olduğu gösterilmiştir. Ek olarak, FGF-21 ve irisin seviyelerinin kavrama kuvveti ile pozitif kolerasyon gösterdiği belirtilmektedir (Kim ve Song, 2017). Amri ve ark. Wistar albino cinsi sıçanlarda nikotinamid-STZ kombinasyonu ile tip 2 diyabet modeli oluşturmuşlar, ardından hayvanlara iki farklı egzersiz protokolü uygulamışlardır (10 hafta HIIT veya 10 hafta dayanıklılık antrenmanı). Buna göre serum irisin seviyelerinin HIIT protokolü

uygulayan diyabetli hayvanlarda, dayanıklılık egzersizi grubundaki hayvanlara göre daha yüksek düzeyde seyrettiği gözlemlenmiştir. Sedanter diyabetli hayvanlarda ise serum irisin seviyelerinde herhangi bir anlamlı değişim saptanmamıştır (Amri ve ark., 2019) Jiang ve ark., çeşitli diyabet modellerinde (db/db, STZ ve yüksek yağlı besleme), 12 haftalık diyabet süresinin sonunda irisin seviyeleri ve FNDC5 ekspresyonu üzerinde incelemelerde bulunmuştur. Tüm diyabet modellerinde dolaşımdaki irisin ve subkutan yağ dokusundaki FNDC5 gen ekspresyonunun azaldığı saptanmıştır. Ek olarak quadriceps kasındaki FNDC5 ekspresyonu, STZ'li farelerde önemli ölçüde düşük bulunmuştur. Plazma irisin düzeylerinin subkutan yağ dokusu FNDC5 ekspresyonu ile kolerasyon gösterdiği ancak epididimal yağ dokusu veya quadriceps kası ile ilişkili olmadığı öne sürülmüştür (Jiang ve ark., 2021). Fouda ve ark. yetişkin erkek Wistar albino sıçanları 2 hafta yüksek yağlı besin ile besledikten sonra tek doz 35 mg/kg STZ uygulaması ile tip 2 diyabet modeli oluşturmuş ve 5 haftalık yüzme protokolünün ardından serum irisin seviyelerini ölçmüştür. Buna göre, serum irisin seviyelerinin diyabetik hayvanlarda azaldığını, orta yoğunlukta egzersiz yapan veya vitamin D takviyesi alan diyabetik hayvanlarda, diyabetik sedanter hayvanlara göre yüksek olduğu öne sürmüşlerdir (Fouda ve Gabr, 2021). Bayat ve ark. nikotinamid-STZ kombinasyonu ile tip 2 diyabet oluşturulmuşlar, 70 gün süren direnç antrenmanı ve dayanıklılık antrenmanı sonrasında, serumda irisin ve betatropin değerlerine bakılmıştır. Antrenman sonrasında serum irisin ve betatropin düzeylerinin arttığı, fakat dayanıklılık antrenmanında artışların daha fazla olduğu öne sürülmüştür (Bayat ve ark., 2020). Dünnwald ve ark.'nın yaptığı çalışmada, tip 2 diyabetli hastaların bir kısmına 4 haftalık HIIT, bir kısmına ise 4 haftalık kronik orta şiddetli antrenman (MICT) protokolleri uygulanmıştır. HIIT yaptırılan tip 2 diyabetli hastaların serum irisin seviyeleri artış gösterirken, MICT yaptırılan hastalarda bir fark görülmediği bildirilmiştir. Araştırmacılar serum irisin seviyelerinde iki egzersiz tipi arasında görülen farklılığın nedeninin, uygulanan egzersiz protokolleri arasındaki şiddet ve tip farklılığına bağlamışlardır (Dünnwald ve ark., 2019). Hashemvarzi, 8 haftalık Wistar albino sıçanları, tek doz 60 mg/kg STZ enjeksiyonu yaptıktan sonra, 6 hafta boyunca %60-70 VO_{2max} kapasitesinde aerobik egzersiz protokolüne tabi tutmuştur. ELISA ile ölçülen serum FNDC5 ve irisin seviyelerinin diyabette anlamlı ölçüde azaldığı belirtilmektedir. (Hashemvarzi, 2020). Sadeghipour ve ark.'nın 2 aylık

Wistar albino sıçanlara tek doz 55 mg/kg STZ uygulaması ile diyabet oluşturmuş ardından 4 haftalık dayanıklılık egzersizi protokolü uygulanmıştır. Dayanıklılık egzersizi grubunda serum irisin seviyelerinde bir artış olduğu, sedanter diyabetik hayvanlarda ise hem serum irisin hem betatropin seviyelerinde önemli derecede azalma olduğu belirtilmektedir (Sadeghipour ve ark., 2020).

Literatürün genelinde çeşitli türlerde ve sürelerde uygulanan çeşitli diyabet modellerinde irisin ve/veya FNDC5 seviyelerinde bir azalma eğilimi gözlemlenmektedir. Çalışmamızda diyabetin FNDC5 seviyelerinde bir değişime yol açmadığı anlaşılmaktadır. FNDC5 sonuçları, önceki verilerle birlikte ele alındığında, diyabet modelimizin diyabetik miyopatinin tüm bileşenleri ile birlikte yerleşmediği düşüncemizi destekler niteliktedir. Literatürün geneline egemen bir diğer görüş egzersiz -özellikle HIIT- uygulamasının çeşitli kas lifi tipleri ve plazma irisin ve/veya FNDC5 seviyelerinde bir artışa sebep olduğu görüşüdür. Çalışmamızın sonuçları bu görüşü destekler niteliktedir. Ancak verilerimize egzersiz ile indüklenen FNDC5 artışı soleus kası ile sınırlı kalmıştır. Bu sonuçlar uyguladığımız egzersiz protokolünün FNDC5 açısından oksidatif lifleri daha çok etkilediğini göstermektedir. Farklı lif tiplerine ve farklı anatomik pozisyonlara sahip kas liflerinin aynı egzersiz programından farklı derecelerde etkilenmesi genel egzersiz fizyolojisi bilgisi ile uyumludur.

4.7. Serum ve Kas Dokusu Miyonektin Düzeyleri

Çalışmamızda son olarak serum, EDL ve soleus örneklerindeki miyonektin düzeyleri değerlendirilmiştir. Serum miyonektin düzeyleri gruplar arasında fark göstermemiştir. Hem EDL hem de soleus kasında DM+HIIT gruplarında bir artış trendi görülmekle birlikte sadece soleus kasında bu artış bir anlamlılık kazanmıştır.

Miyonektin ile ilgili literatürde oldukça az sayıda çalışma bulunmaktadır. Rahmati – Ahmadabad ve ark.'nın yaptığı çalışmada, 8 haftalık Wistar albino cinsi sıçanlarda STZ uygulaması ile diyabet oluşturmuş, ardından hayvanlara 6 hafta

boyunca HIIT veya MICT protokolleri uygulanmıştır. Diyabetli hayvanların soleus kaslarında miyonektin gen ekspresyonunun sağlıklı hayvanlara göre önemli ölçüde düşük olduğu belirtilmiştir. Ek olarak, soleus kasındaki miyonektin gen ekspresyonunun, MICT ve HIIT gruplarında anlamlı ölçüde yüksek bulunduğu, hatta MICT uygulayan grubun, HIIT uygulayan gruba göre daha yüksek ekspresyon seviyelerine ulaştığı bildirilmiştir (Rahmati-Ahmadabad ve ark., 2021). Zhang ve ark. 188 tip 2 diyabetli hasta ve 66 sağlıklı katılımcı ile yaptıkları geniş kapsamlı klinik çalışmada albüminüriye göre teşhis edilen diyabetik nefropatinin, serum miyokin konsantrasyonları ile ilişkisi incelenmiştir. Tip 2 diyabetli bireylerde serum miyonektin konsantrasyonlarının sağlıklı kontrollere göre anlamlı derecede azalmış olduğu göze çarpmaktadır. Bu sonuçlar göre araştırmacılar, serum miyonektin düzeyi ile diyabetik nefropati arasında ilişki kurulabileceğini öne sürmüşlerdir (Zhang ve ark., 2020). Çalışmamızda her ne kadar miyonektin konsantrasyonları ile kas kuvveti arasında bir paralellik gözlemlense de verilerimiz bu iki parametre arasında net bir ilişki kurmaya yetecek nitelikte değildir. Ancak gözlemlenen paralellik ve miyonektin ile ilgili literatürde yapılan çalışmaların azlığı ilerleyen çalışmalarda miyonektin ile kas kuvveti arasındaki ilişkinin incelenmesinin değerli olacağını düşündürmektedir.

Son olarak, glikozun moleküler düzeyde hücre içine alınması insülin duyarlı dokularda glikoz taşıyıcı-4 (GLUT4) ile gerçekleşir (Bryant ve ark., 2002; Görşiren, 2018). IL-6, irisin ve miyonektin ile birlikte birçok miyokin glikoz metabolizmasında etkilidir ve iskelet kasına glikoz alımında etkin rol alır. GLUT4 başlıca iskelet kasları, kalp kası ve adipoz dokuda olmak üzere, birçok doku ve organda bulunur (Minokoshi ve ark., 2013). GLUT4, sıçan iskelet kaslarında oksidatif – yavaş liflerde, glikolitik – hızlı liflere göre daha fazladır (Hocquette ve ark., 1995). Gelecek çalışmalarda farklı lif tipi özelliğindeki iskelet kaslarında immünohistokimya ile glikoz taşıyıcılarına bakılıp iskelet kaslarındaki miyokin düzeyleri ile birlikte değerlendirilmesi, antrenmanın diyabetik iskelet kası üzerine etkisi hakkındaki bilgilerimizi genişletecektir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

5.1. Sonuç

Tez çalışmamızda elde ettiğimiz veriler ve literatür bilgilerine dayanarak,

- a- Diyabetik miyopatinin glikolitik – yavaş sarsı lif tipi EDL kasında, oksidatif – yavaş sarsı lif tipi soleus kasına göre daha erken ortaya çıktığını,
- b- Kronik HIIT uygulamasının EDL kasında diyabette oluşan atrofi ve yorgunluğu önleyebildiğini,
- c- Kronik HIIT uygulamasının hem iskelet kaslarında, hem de sistemik ölçüde anti – inflamatuvar etki gösterebildiğini söyleyebiliriz.

5.2. Öneriler

- a- Diyabet süresi uzatılarak diyabetik miyopatinin etkileri ve diyabetin diğer komplikasyonları daha efektif bir şekilde görülebilir.
- b- Kullanılan hiperglisemi modeli değiştirilebilir.
- c- Miyokinlere, miyositlerden bakılarak, miyokin profili iskelet kası dokusu ile karşılaştırılabilir.
- d- Açlık insülin düzeylerine bakılıp HOMA testi yapılabilir.
- e- Direkt VO_{2max} ölçüm yöntemleri kullanılabilir.
- f- Pankreas ve soleus ile EDL kaslarının histolojik olarak incelenmesi, diyabetik miyopatinin gelişimi hakkında önemli bilgiler verebilir.
- g- Diyabetik miyopatinin gelişiminde önemli etkenlerden biri olan diyabetik nöropatinin incelenmesi, miyopatinin gelişimini aydınlatmada önemli bir katkı sağlayacaktır. Diyabetik nöropatinin varlığı için sinir iletim hızı çalışmaları, sinirdeki hasarın yapısal olarak incelenmesi ve diyabetin seyri boyunca davranış (örneğin, duysal fonksiyon testi olarak Von Frey testi, motor fonksiyon testi olarak Walking Track Analysis) deneylerinin yapılması önemlidir.

- h- İnflamasyonda IL-6 ile yakından ilişkili olan TNF- α , IL-1, IL-1 β , IL-1Ra, IL-10, miyostatin gibi sitokinlerin antrenman ile birlikte serum ve iskelet kası düzeylerine bakılması, IL-6'nın işlevi hakkında daha ayrıntılı fikir verecektir.
- i- IL-6 reseptörü düzeylerinin farklı kas dokularında incelenmesi, IL-6'nın proinflamatuvar/antiinflamatuvar sinyalizasyonu hakkında bilgi verebilir.
- j- Farklı baskın lif tiplerindeki iskelet kaslarında immünohistokimya ile glikoz taşıyıcılarına bakılabilir, iskelet kaslarındaki miyokin düzeyleri ile birlikte değerlendirilebilir ve antrenmanın diyabetik iskelet kası üzerine etkisi daha ayrıntılı incelenebilir.
- k- Farklı tip iskelet kaslarında kalsiyum homeostazisine bakılarak iskelet kaslarında diyabetten etkilenim aydınlatılabilir.
- l- Oksidatif stres parametrelerinin ileriki çalışmalarda incelenmesi, diyabette egzersizin ön koşullama etkisi üzerine daha ayrıntılı bir fikir verecektir.

ÖZET

Diyabetik Miyopatide Yüksek Yoğunluklu Aralıklı Antrenman'ın (HIIT) İskelet Kası Atrofisi, Fonksiyonu ve Miyokin Profili Üzerindeki Etkileri

Diyabet, yüksek kan şekeri seviyeleri ile seyreden kronik, metabolik bir hastalıktır ve 21. yüzyılın en sık görülen hastalıkları arasında yer almaktadır. Diyabet ile birlikte çeşitli komplikasyonlar görülmekte ve bu komplikasyonlar diyabetli bireylerde diyabetik miyopatiye yol açarak fonksiyonel kısıtlılıklara sebep olmaktadır. HIIT programlarının verimli bir şekilde, kardiyovasküler uygunluğu ve diğer çeşitli fizyolojik parametreleri klasik egzersiz programlarına göre daha güçlü iyileştirebilecekleri düşünülmektedir. Egzersiz ile birlikte, kas lifleri tarafından üretilen ve kana salgılanan miyokinler, hem lokal hem sistemik etkiler gösterebilmekte ve kas kütlesinde, yağ oksidasyonunda, glikoz alımında, insülin hassasiyetinde rol oynamaktadır. Bu çalışmada, 8 haftalık HIIT protokolünün diyabetik iskelet kasında iyileşmeye yol açacağı ve iskelet kası kalitesini artıracacağı beklenmektedir. Bunun yanında, HIIT uygulamasının iskelet kası işlevleri altında yatan moleküler mekanizmalar aydınlatılmaya çalışılmıştır.

10 haftalık Wistar albino cinsi erkek sıçanlar dört gruba ayrılmıştır: 1) Kontrol (K), 2) Diyabet (DM), 3) Antrenman (HIIT), 4) Diyabet+Antrenman (DM+HIIT). Tip I diyabet oluşturmak için 11 haftalık hayvanlara tek doz 60 mg/kg streptozotosin (STZ) i.p. yolla uygulanmıştır. Bir hafta sonra hayvanların maksimum egzersiz kapasiteleri belirlenmiştir. 4 dakika %85-95 VO_{2max} , 2 dakika %40-50 VO_{2max} , 6 döngü, 5 gün/hafta, 8 haftalık HIIT protokolü gerçekleştirilmiştir. Hayvanların vücut ağırlığı, kan glikozu, açlık kan glikozları ölçülmüştür. Çıkarılan soleus ve EDL kaslarından atrofi değerlendirilmesi yapılmış, izometrik kasılma, sarsı parametreleri ve yorgunluğa dirençleri ölçülmüştür. IL-6, irisin ve miyonektinin hem serum, hem soleus ve EDL kaslarındaki konsantrasyonları ELISA kiti ile ölçülmüştür.

Yapılan istatistiksel analizler sonucunda, soleus kas kütlesinde herhangi bir değişim görülmezken, EDL kasında DM'de atrofi görüldüğü ve antrenmanın atrofiyi önlediği gösterilmiştir. DM'de EDL kasında yorgunluğa direncin azaldığı, DM+HIIT grubunda yorgunluğa direncin DM grubuna göre artmış olduğu saptanmıştır. DM+HIIT'te kuvvet-frekans cevabının arttığı gözlenmiştir. Sarsı genliği (Ps) hem soleus hem EDL kasında DM+HIIT grubunda artmıştır. Kasılma zamanı (CT), HIIT grubunda soleus kasında azalmış, yarı gevşeme zamanı (DT_{50}) soleus ve EDL kaslarında DM grubunda artış gösterirken, soleus kasında DM+HIIT grubunda anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. IL-6, hem serum hem EDL'de DM grubunda artmış, DM+HIIT grubunda IL-6 seviyeleri DM grubuna göre azaltmıştır. İrisin, soleus kasında hem HIIT hem DM+HIIT grubunda artış göstermiştir. Miyonektin, soleus kasında yalnızca DM+HIIT grubunda anlamlı olarak yüksek seviyededir.

Çalışmamızın bulguları literatür bazında tartışıldığında, glikolitik – yavaş sarsı lif tipi EDL kasında, diyabetik miyopatinin, oksidatif – yavaş sarsı lif tipi soleus kasına göre daha erken ortaya çıktığı gösterilmiştir. Kronik HIIT protokolünün iskelet kasında atrofiyi önlediği, yorgunluğa direnci arttırdığı ve antiinflamatuvar etki gösterebildiği sonucuna ulaşılmıştır.

Anahtar Sözcükler: Diyabetik miyopati, HIIT, IL-6, irisin, miyonektin

SUMMARY

Effects of High Intensity Interval Training (HIIT) on Skeletal Muscle Atrophy, Function and Myokine Profile in Diabetic Myopathy

Diabetes is a chronic metabolic disease characterized with high blood glucose levels and is among the most common diseases of the 21st century. Various complications are associated with diabetes, of these complications is diabetic myopathy which leads to functional physical limitations. It is thought that HIIT exercise programs can efficiently improve cardiovascular fitness and various other physiological parameters more efficiently than classic exercise programs. During this type of exercise, myokines produced by muscle fibers and released into the circulation can have both local and systemic effects and play a massive role locally in muscle mass and systematically in fat oxidation, glucose uptake, and insulin sensitivity. In this study, it is expected that the 8-week HIIT exercise program will lead to improvement in diabetic skeletal muscle and increase skeletal muscle quality. In addition, the underlying molecular mechanisms undergoing in skeletal muscles during HIIT application will be clarified.

10-week-old Wistar albino male rats were divided into four groups as follows: 1) Control (C), 2) Diabetes (DM), 3) Training (HIIT), 4) Diabetes+Training (DM+HIIT). A single dose of 60 mg/kg streptozotocin (STZ) was administered intraperitoneally to 11-week-old animals to induce type I diabetes. After one week, the maximum exercise capacity of the animals was determined. 4 minutes 85-95% VO₂max, 2 minutes 40-50% VO₂max, 6 cycles, 5 days/week, 8 weeks HIIT protocol was performed. Animal body weight, blood glucose, and fasting blood glucose were measured. Assessment to evaluate muscle atrophy was made from the removed soleus and EDL muscles, isometric contraction, twitch parameters and resistance to fatigue were also measured. The concentrations of IL-6, irisin and myonectin in both serum and soleus and EDL muscles were measured with the ELISA kits.

As a result of the statistical analysis, it was shown that no change was observed in soleus muscle mass, but atrophy was observed in DM in the EDL muscle and training prevented that atrophy. It was determined that the resistance to fatigue in the EDL muscle was decreased in DM, but increased in the DM+HIIT group in comparison. It was observed that the force-frequency response increased in DM+HIIT. The twitch amplitude (P_s) increased in both soleus and EDL muscle in the DM+HIIT group. Contraction time (CT) decreased in the soleus muscle in the HIIT group. The half relaxation time (DT₅₀) increased in the soleus and EDL muscles in the DM group; but was found to be significantly higher in the soleus muscle in the DM+HIIT group. IL-6 was higher in both serum and EDL in the DM group than DM+HIIT group. Irisin was increased in the soleus muscle in both the HIIT and DM+HIIT groups. Myonectin was significantly higher in the soleus muscle only in the DM+HIIT group.

When the findings of our study were discussed on the basis of the literature, it was shown that diabetic myopathy appeared earlier in the glycolytic - slow motion fiber type EDL muscle than in the oxidative - slow motion fiber type soleus muscle. It has been concluded that the chronic HIIT protocol prevents atrophy in skeletal muscle, increases fatigue resistance, and can have anti-inflammatory effects.

Keywords: Diabetic myopathy, HIIT, IL-6, irisin, myonectin

KAYNAKLAR

- AKIRA S, TAGA T, KISHIMOTO T (1993). Interleukin-6 in biology and medicine. *Advances in immunology*, **54**: 1-78.
- ALLEN DG, LAMB GD, WESTERBLAD H (2008). Skeletal muscle fatigue: cellular mechanisms. *Physiological reviews*, **1**(88): 287-332
- ALMEIDA S, RIDDELL M, CAFARELLI E (2008). Slower conduction velocity and motor unit discharge frequency are associated with muscle fatigue during isometric exercise in type 1 diabetes mellitus. *Muscle & Nerve: Official Journal of the American Association of Electrodiagnostic Medicine*, **37**(2): 231-240.
- AMRI J, PARASTESH M, SADEGH M, LATIFI S, ALAEE M (2019). High-intensity interval training improved fasting blood glucose and lipid profiles in type 2 diabetic rats more than endurance training; possible involvement of irisin and betatrophin. *Physiology international*, **106**(3): 213-224.
- ANDERSEN H, GADEBERG P, BROCK B, JAKOBSEN J (1997). Muscular atrophy in diabetic neuropathy: a stereological magnetic resonance imaging study. *Diabetologia*, **40**(9): 1062-1069.
- ANDERSEN H, GJERSTAD MD, JAKOBSEN J (2004). Atrophy of foot muscles: a measure of diabetic neuropathy. *Diabetes care*, **27**(10): 2382-2385.
- ANDERSEN H, SCHMITZ O, NIELSEN S (2005). Decreased isometric muscle strength after acute hyperglycaemia in Type 1 diabetic patients. *Diabetic medicine*, **22**(10): 1401-1407.
- ARCHUNDIA-HERRERA C, MACIAS-CERVANTES M, RUIZ-MUÑOZ B, VARGAS-ORTIZ K, KORNHAUSER C, PEREZ-VAZQUEZ V (2017). Muscle irisin response to aerobic vs HIIT in overweight female adolescents. *Diabetology & metabolic syndrome*, **9**(1): 1-7.
- ARMSTRONG R, GOLLNICK P, IANUZZO C (1975). Histochemical properties of skeletal muscle fibers in streptozotocin-diabetic rats. *Cell and tissue research*, **162**(3): 387-393.
- ASHFAQ M, HUSSAIN MM, ALEEM SB (2017). Comparison of contractile properties between slow and fast skeletal muscles of female diabetic sprague-dawley rats. *PAFMJ*, **67**(1): 161-165.

- BANSAL V, KALITA J, MISRA U (2006). Diabetic neuropathy. *Postgraduate medical journal*, **82**(964): 95-100.
- BARCLAY CJ (2017). The basis of differences in thermodynamic efficiency among skeletal muscles. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, **44**(12): 1279-1286.
- BAYAT M, ALAEE M, AKBARI A, SADEGH M, LATIFI SA, PARASTESH M, SALEHI M, KARAMI H, AMRI J (2020). A comparative study of the antidiabetic effect of two training protocols in streptozotocin-nicotinamide diabetic rats. *Hormone molecular biology and clinical investigation*, **41**(2).
- BIANCHI L, VOLPATO S (2016). Muscle dysfunction in type 2 diabetes: a major threat to patient's mobility and independence. *Acta diabetologica*, **53**(6): 879-889.
- BIESSELS GJ, BRIL V, CALCUTT NA, CAMERON NE, COTTER MA, DOBROWSKY R, ZOCHODNE DW (2014). Phenotyping animal models of diabetic neuropathy: a consensus statement of the diabetic neuropathy study group of the EASD (Neurodiab). *Journal of the Peripheral Nervous System*, **19**(2): 77-87.
- BONALDO P, SANDRI M (2013). Cellular and molecular mechanisms of muscle atrophy. *Disease models & mechanisms*, **6**(1): 25-39.
- BORTOLON R, MURATA GM, BORGES L, WEIMANN E, SILVA M BB, DERMARGOS A, HATANAKA E (2020). Recovery of diabetic rats after physical exhaustion: kinetic alterations in muscle inflammation and muscle-signaling proteins to atrophy and hypertrophy. *Frontiers in physiology*, **11**: 1-8.
- BOTTINELLI R, REGGIANI C (2000). Human skeletal muscle fibres: molecular and functional diversity. *Progress in biophysics and molecular biology*, **73**(2-4): 195-262.
- BRYANT NJ, GOVERS R, JAMES DE (2002). Regulated transport of the glucose transporter GLUT4. *Nature reviews Molecular cell biology*, **3**(4): 267-277.
- BURGOMASTER KA, HUGHES SC, HEIGENHAUSER GJ, BRADWELL SN, GIBALA MJ (2005). Six sessions of sprint interval training increases muscle oxidative potential and cycle endurance capacity in humans. *Journal of Applied Physiology*, **6**(98): 1985-1990.
- CAI Y, ZHAN H, WENG W, WANG Y, HAN P, YU X, SHAO M, SUN H (2021). Niclosamide ethanolamine ameliorates diabetes-related muscle wasting by inhibiting autophagy. *Skeletal Muscle*, **11**(1): 1-10.

- CALISKAN H, AKAT F, OMERCIOGLU G, BASTUG G, FICICILAR H, BASTUG M (2020). Aerobic exercise has an anxiolytic effect on streptozotocin - induced diabetic rats. *Acta Neurobiologiae Experimentalis*, **80**(3): 245-255.
- CASSIDY S, THOMA C, HOUGHTON D, TRENELL MI (2017). High-intensity interval training: a review of its impact on glucose control and cardiometabolic health. *Diabetologia*, **60**(1): 7-23.
- CHIU CY, YANG RS, SHEU ML, CHAN DC, YANG TH, TSAI KS, CHIANG CK, LIU SH (2016). Advanced glycation end- products induce skeletal muscle atrophy and dysfunction in diabetic mice via a RAGE- mediated, AMPK- down- regulated, Akt pathway. *The Journal of pathology*, **238**(3): 470-482.
- CHONKAR A, HOPKIN R, ADEGHATE E, SINGH J (2006). Contraction and cation contents of skeletal soleus and EDL muscles in age- matched control and diabetic rats. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **1084**(1): 442-451.
- COLBERG SR, SIGAL RJ, FERNHALL B, REGENSTEINER JG, BLISSMER BJ, RUBIN RR, CHASAN-TABER L, ALBRIGHT AL, BRAUN B (2010). Exercise and type 2 diabetes: the American College of Sports Medicine and the American Diabetes Association: joint position statement executive summary. *Diabetes care*, **33**(12): 2692-2696.
- CIPRYAN L (2017). IL-6, antioxidant capacity and muscle damage markers following high-intensity interval training protocols. *Journal of human kinetics*, **56**(1): 139-148.
- COSTA LR, CASTRO CAD, MARINE DA, FABRIZZI F, FURINO VDO, MALAVAZI I, ANIBAL FDF, DUARTE ACGDO (2021). High-Intensity Interval Training Does Not Change Vasp and Omentin and Does Not Reduce Visceral Adipose Tissue in Obese Rats. *Frontiers in physiology*, **12**: 75-85.
- COSWIG VS, BARBALHO M, RAIOL R, DEL VECCHIO FB, RAMIREZ-CAMPILLO R, GENTIL P (2020). Effects of high vs moderate-intensity intermittent training on functionality, resting heart rate and blood pressure of elderly women. *Journal of translational medicine*, **18**(1): 1-11.
- COTTER M, CAMERON N, LEAN D, ROBERTSON S (1989). Effects of long- term streptozotocin diabetes on the contractile and histochemical properties of rat muscles. *Quarterly Journal of Experimental Physiology: Translation and Integration*, **74**(1): 65-74.
- COTTER M, CAMERON NE, ROBERTSON S, EWING I (1993). Polyol pathway- related skeletal muscle contractile and morphological abnormalities in diabetic rats. *Experimental Physiology: Translation and Integration*, **78**(2): 139-155.

- CROWTHER G J, MILSTEIN JM, JUBRIAS SA, KUSHMERICK MJ, GRONKA RK, CONLEY KE (2003). Altered energetic properties in skeletal muscle of men with well-controlled insulin-dependent (type 1) diabetes. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*, **284**(4): 655-662.
- DASSO NA (2019). How is exercise different from physical activity? A concept analysis. *Nursing forum*, **54**(2): 45-52.
- DEMIREL M, KAYA B, CERKEZ C, ERTUNC M, SARA Y (2013). L-Carnitine pretreatment protects slow-twitch skeletal muscles in a rat model of ischemia–reperfusion injury. *Vascular and endovascular surgery*, **47**(7): 540-545.
- DIMEGLIO LA, EVANS-MOLINA C, ORAM RA (2018). Type 1 diabetes. *The Lancet*, **391**(10138): 2449-2462.
- DUMITRU A, RADU BM, RADU M, CRETOIU SM (2018). Muscle changes during atrophy. *Muscle Atrophy*, **1088**: 73-92.
- DÜNNWALD T, MELMER A, GATTERER H, SALZMANN K, EBENBICHLER C, BURTSCHER M, SCHOBERSBERGER W, GRANDER W (2019). Supervised short-term high-intensity training on plasma irisin concentrations in type 2 diabetic patients. *International journal of sports medicine*, **40**(03): 158-164.
- DURRER C, FRANCOIS M, NEUDORF H, LITTLE JP (2017). Obesity, Diabetes and Energy Homeostasis: Acute high-intensity interval exercise reduces human monocyte Toll-like receptor 2 expression in type 2 diabetes. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, **312**(4): 529-538.
- ECKEL J (2019). Myokines in metabolic homeostasis and diabetes. *Diabetologia*, **62**(9): 1523-1528.
- ESHIMA H, POOLE DC, KANO Y (2014). In vivo calcium regulation in diabetic skeletal muscle. *Cell Calcium*, **56**(5): 381-389.
- EVERTS ME, ANDERSEN JP, CLAUSEN T, HANSEN O (1989). Quantitative determination of Ca²⁺-dependent Mg²⁺-ATPase from sarcoplasmic reticulum in muscle biopsies. *Biochemical Journal*, **260**(2): 443-448.
- FEBBRAIO MA, PEDERSEN BK (2002). Muscle- derived interleukin- 6: mechanisms for activation and possible biological roles. *The FASEB journal*, **16**(11): 1335-1347.
- FISCHER CP (2006). Interleukin-6 in acute exercise and training: what is the biological relevance. *Exerc immunol rev*, **12**: 6-33.

- FOUDA AA, GABR NM (2021). EFFECT OF MODERATE SWIMMING EXERCISE WITH A DIETARY VITAMIN D ON SERUM IRISIN LEVEL IN DIABETIC RATS. *Al-Azhar International Medical Journal*, 2(5): 54-61.
- FRITZSCHE K, BLUHER M, SCHERING S, BUCHWALOW I, KERN M, LINKE A, OBERBACH A, ADAMS V, PUNKT K (2008). Metabolic profile and nitric oxide synthase expression of skeletal muscle fibers are altered in patients with type 1 diabetes. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*, 116(10): 606-613.
- FUSTER JJ, WALSH K (2014). The Good, the Bad, and the Ugly of interleukin- 6 signaling. *The EMBO journal*, 33(13): 1425-1427.
- GARNEAU L, AGUER C (2019). Role of myokines in the development of skeletal muscle insulin resistance and related metabolic defects in type 2 diabetes. *Diabetes & metabolism*, 45(6): 505-516.
- GINTER E, SIMKO V (2013). Type 2 diabetes mellitus, pandemic in 21st century. *Diabetes*, 771: 42-50.
- GORDON CS, SERINO AS, KRAUSE MP, CAMPBELL JE, CAFARELLI E, ADEGOKE OA, HAWKE TJ, RIDDELL MC (2010). Impaired growth and force production in skeletal muscles of young partially pancreatectomized rats: a model of adolescent type 1 diabetic myopathy? *PLoS One*, 5(11): 1-12.
- GÖRGİŞEN G (2018). İnsülin direncinde insülin reseptör substrat 1 (IRS1) proteininin rolü. *Bozok Tıp Dergisi*, 8(3): 114-121.
- GRIPP F, NAVA RC, CASSILHAS RC, ESTEVES EA, MAGALHÃES COD, DIAS-PEIXOTO MF, DE CASTRO MAGALHÃES F, AMORIM FT (2021). HIIT is superior than MICT on cardiometabolic health during training and detraining. *European Journal of Applied Physiology*, 121(1): 159-172.
- GROUSSARD C, MAILLARD F, VAZEILLE E, BARNICH N, SIRVENT P, OTERO YF, COMBARET L, MADEUF E, SOURDRILLE A, DELCROS G (2019). Tissue-specific oxidative stress modulation by exercise: A comparison between MICT and HIIT in an obese rat model. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2019: 1-12.
- HAMMI C, YEUNG B (2019). Neuropathy. *Treasure Island (FL): StatPearls Publishing*.
- HASHEMVARZI SA (2020). Effect of Adipose Tissue-Derived Stem Cell Transplantation and Six Weeks of Aerobic Exercise on FNDC5 and Irisin Levels in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Medical Laboratory Journal*, 14(6): 34-40.

- HELGERUD J, HØYDAL K, WANG E, KARLSEN T, BERG P, BJERKAAS M, SIMONSEN T, HELGESEN C, HJORTH N, BACH R (2007). Aerobic high-intensity intervals improve $\dot{V}O_{2\max}$ more than moderate training. *Medicine & science in sports & exercise*, **39**(4): 665-671.
- HERNÁNDEZ-OCHOA EO, VANEGAS C (2015). Diabetic myopathy and mechanisms of disease. *Biochemistry & pharmacology: open access*, **4**(5): 1-5.
- HIRANO T, MATSUDA T, NAKAJIMA K (1994). Signal transduction through gp130 that is shared among the receptors for the interleukin 6 related cytokine subfamily. *Stem cells*, **12**(3): 262-277.
- HOCQUETTE JF, BORNES F, BALAGE M, FERRE P, GRIZARD J, VERMOREL M (1995). Glucose-transporter (GLUT4) protein content in oxidative and glycolytic skeletal muscles from calf and goat. *Biochemical Journal*, **305**(2): 465-470.
- HOGG B (2018). Interleukin-6 and exercise; early evidence of a novel myokine. Master of Science Thesis, The University of Montana / Exercise Science.
- HOWARTH F, JACOBSON M, SHAFIULLAH M, ADEGHATE E (2005). Long- term effects of streptozotocin- induced diabetes on the electrocardiogram, physical activity and body temperature in rats. *Experimental physiology*, **90**(6): 827-835.
- HUANG BK, MONU JU, DOUMANIAN J (2010). Diabetic myopathy: MRI patterns and current trends. *American Journal of Roentgenology*, **195**(1): 198-204.
- HUANG L, CHEN L, QIU Y, LI S (2018). Abnormalities in the fiber composition and contractility in diabetic skeletal muscles. *INTERNATIONAL JOURNAL OF CLINICAL AND EXPERIMENTAL MEDICINE*, **11**(2): 753-763.
- HURTADO MD, VELLA A (2019). What is type 2 diabetes? *Medicine*, **47**(1): 10-15.
- HUTTUNEN N, KÄÄR M, KNIP M, MUSTONEN A, PUUKKA R, AKERBLOM H (1984). Physical fitness of children and adolescents with insulin-dependent diabetes mellitus. *Annals of clinical research*, **16**(1): 1-5.
- IMAM KA, MAJEED F, ARSHAD S (2012). Skeletal muscle contractile functions in streptozotocin induced type 1 diabetes mellitus. *Pakistan Journal of Physiology*, **8**(1): 27-31.
- JERKOVIC R, BOSNAR A, JURISIC-ERZEN D, AZMAN J, STARCEVIC-KLASAN G, PEHAREC S, COKLO M. (2009). The effects of long-term experimental diabetes

mellitus type I on skeletal muscle regeneration capacity. *Collegium antropologicum*, **33**(4): 1115-1119.

JIANG S, PIAO L, MA EB, HA H, HUH JY (2021). Associations of circulating irisin with FNDC5 expression in fat and muscle in type 1 and type 2 diabetic mice. *Biomolecules*, **11**(2): 1-13.

KAHN BB, ROSEN AS, BAK JF, ANDERSEN P, DAMSBO P, LUND S, PEDERSEN O (1992). Expression of GLUT1 and GLUT4 glucose transporters in skeletal muscle of humans with insulin-dependent diabetes mellitus: regulatory effects of metabolic factors. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, **74**(5): 1101-1109.

KARKHUR S, HASANREISOGLU M, VIGIL E, HALIM MS, HASSAN M, PLAZA C, NYUGEN QD (2019). Interleukin-6 inhibition in the management of non-infectious uveitis and beyond. *Journal of ophthalmic inflammation and infection*, **9**(1): 1-14.

KAZEMI F (2019). Myostatin alters with exercise training in diabetic rats; possible interaction with glycosylated hemoglobin and inflammatory cytokines. *Cytokine*, **120**: 99-106.

KEATING S, JOHNSON N, MIELKE G, COOMBES J (2017). A systematic review and meta- analysis of interval training versus moderate- intensity continuous training on body adiposity. *Obesity reviews*, **18**(8): 943-964.

KELLEHER AR, FAIRCHILD TJ, KESLACY S (2010). STZ-induced skeletal muscle atrophy is associated with increased p65 content and downregulation of insulin pathway without NF- κ B canonical cascade activation. *Acta diabetologica*, **47**(4): 315-323.

KHALAFI M, SYMONDS ME (2020). The impact of high- intensity interval training on inflammatory markers in metabolic disorders: A meta- analysis. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, **30**(11): 2020-2036.

KIM H-J, SONG W (2017). Resistance training increases fibroblast growth factor-21 and irisin levels in the skeletal muscle of Zucker diabetic fatty rats. *Journal of exercise nutrition & biochemistry*, **21**(3): 50-54.

KIM JS, LEE YH, KIM JC, KO YH, YOON CS, YI HK (2014). Effect of exercise training of different intensities on anti-inflammatory reaction in streptozotocin-induced diabetic rats. *Biology of sport*, **31**(1): 73-79.

KIVELÄ R, SILVENNOINEN M, TOUVRA A-M, MAARIT LEHTI T, KAINULAINEN H, VIHKO V, KIVELÄ R, SILVENNOINEN M, TOUVRA A-M, LEHTI TM (2006). Effects of experimental type 1 diabetes and exercise training on angiogenic gene expression and capillarization in skeletal muscle. *The FASEB journal*, **20**(9): 1570-1572.

- KLUEBER KM, FECZKO JD (1994). Ultrastructural, histochemical, and morphometric analysis of skeletal muscle in a murine model of type I diabetes. *The anatomical record*, **239**(1): 18-34.
- KRAUSE MP, AL-SAJEE D, D'SOUZA DM, REBALKA IA, MORADI J, RIDDEL MC, HAWKE TJ (2013). Impaired macrophage and satellite cell infiltration occurs in a muscle-specific fashion following injury in diabetic skeletal muscle. *PLoS One*, **8**(8): 70971.
- KRAUSE MP, HAWKE TJ (2012) Diabetes Mellitus, Myopathy. In: Mooren F.C. (eds) *Encyclopedia of Exercise Medicine in Health and Disease*. Springer, Berlin, Heidelberg.
- KRAUSE MP, MORADI J, NISSAR AA, RIDDELL MC, HAWKE TJ (2011). Inhibition of plasminogen activator inhibitor-1 restores skeletal muscle regeneration in untreated type 1 diabetic mice. *Diabetes*, **60**(7): 1964-1972.
- KRAUSE MP, RIDDELL MC, HAWKE TJ (2011). Effects of type 1 diabetes mellitus on skeletal muscle: clinical observations and physiological mechanisms. *Pediatric diabetes*, **12**(4pt1): 345-364.
- KRAUSE MP, RIDDELL MC, GORDON CS, IMAM SA, CAFARELLI E, HAWKE TJ (2009). Diabetic myopathy differs between Ins2 Akita+/- and streptozotocin-induced type 1 diabetic models. *Journal of Applied Physiology*, **106**(5): 1650-1659.
- KRAVITZ L, ZUHL M (2014). High Intensity Interval Training vs. Continuous Cardio Training: Battle of the Aerobic Titans. In: *USA: ACSM Health and Fitness Summit*.
- KUBASOV I, ARUTYUNYAN R, DOBRETISOV M, SHPAKOV A, MATROSOVA E (2014). Effect of insulin on characteristics of contractile responses of fast and slow skeletal muscles of rats with acute streptozotocin-induced diabetes. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, **50**(2): 136-145.
- LEE JH, JUN H-S (2019). Role of myokines in regulating skeletal muscle mass and function. *Frontiers in physiology*, **10**: 1-9.
- LEE Y, KIM J-H, HONG Y, LEE S-R, CHANG K-T, HONG Y (2012). Prophylactic effects of swimming exercise on autophagy-induced muscle atrophy in diabetic rats. *Laboratory animal research*, **28**(3): 171-179.
- LEGÅRD GE, PEDERSEN BK (2019). Muscle as an endocrine organ. In *Muscle and Exercise Physiology*, 285-307.

- LEINONEN H, MATIKAINEN E, JUNTUNEN J (1982). Permeability and morphology of skeletal muscle capillaries in type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia*, **22**(3): 158-162.
- LI K, LIAO X, WANG K, MI Q, ZHANG T, JIA Y, XU X, LUO X, ZHANG C, LIU H (2018). Myonectin predicts the development of type 2 diabetes. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, **103**(1): 139-147.
- LI L, WANG Q, QIN C (2020). Serum myonectin is increased after laparoscopic sleeve gastrectomy. *Annals of Clinical Biochemistry*, **57**(5): 360-364.
- LI Z, YANG YL, ZHU YJ, LI CG, TANG YZ, NI CL, NIU WY (2021). Circulating serum myonectin levels in obesity and type 2 diabetes mellitus. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*, **129**(07): 528-534.
- LIM S, CHOI SH, KOO BK, KANG SM, YOON JW, JANG HC, PARK KS (2012). Effects of aerobic exercise training on C1q tumor necrosis factor α -related protein isoform 5 (myonectin): association with insulin resistance and mitochondrial DNA density in women. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, **97**(1): 88-93.
- LJUBISAVLJEVIC M, QURESHI A, NAGELKERKE N (2010). The effects of neuropeptide Y on skeletal muscle contractile properties in streptozotocin diabetic rats. *Molecular and cellular biochemistry*, **333**(1): 27-32.
- LYTTON J, WESTLIN M, BURK SE, SHULL GE, MACLENNAN DH (1992). Functional comparisons between isoforms of the sarcoplasmic or endoplasmic reticulum family of calcium pumps. *Journal of Biological Chemistry*, **267**(20): 14483-14489.
- MAILLARD F, ROUSSET S, PEREIRA B, TRAORE A, DEL AMAZE PDP, BOIRIE Y, DUCLOS M, BOISSEAU N (2016). High-intensity interval training reduces abdominal fat mass in postmenopausal women with type 2 diabetes. *Diabetes & metabolism*, **42**(6): 433-441.
- MANICKAM R, WAHLI W (2017). Roles of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor β/δ in skeletal muscle physiology. *Biochimie*, **136**: 42-48.
- MÅRIN P, ANDERSSON B, KROTKIEWSKI M, BJÖRNTORP P (1994). Muscle fiber composition and capillary density in women and men with NIDDM. *Diabetes care*, **17**(5): 382-386.
- MCGUIRE M, MACDERMOTT M (1999). The influence of streptozotocin diabetes and metformin on erythrocyte volume and on the membrane potential and the contractile characteristics of the extensor digitorum longus and soleus muscles in rats. *Experimental physiology*, **84**(6): 1051-1058.

- MIGUET M, FEARNBACH NS, METZ L, KHAMMASSI M, JULIAN V, CARDENOUX C, PEREIRA B, BOIRIE Y, DUCLOS M, THIVEL D (2020). Effect of HIIT versus MICT on body composition and energy intake in dietary restrained and unrestrained adolescents with obesity. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, **45**(4): 437-445.
- MINOKOSHI Y, KAHN CR, KAHN BB (2003). Tissue-specific ablation of the GLUT4 glucose transporter or the insulin receptor challenges assumptions about insulin action and glucose homeostasis. *Journal of Biological Chemistry*, **278**(36): 33609-33612.
- MURAWSKA-CIALOWICZ E, WOLANSKI P, ZUWALA-JAGIELLO J, FEITO Y, PETR M, KOKSTEJN J, STASTNY P, GOLIŃSKI D (2020). Effect of HIIT with Tabata protocol on serum irisin, physical performance, and body composition in men. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **17**(10): 1-15.
- MYTHILI MD, VYAS R, AKILA G, GUNASEKARAN S (2004). Effect of streptozotocin on the ultrastructure of rat pancreatic islets. *Microscopy research and technique*, **63**(5): 274-281.
- NADIMI H, DJAZAYERY A, JAVANBAKHT MH, DEHPOUR A, GHAEDI E, DERAKHSHANIAN H, MOHAMMADI H, ZAREI M, DJALALI M (2019). The Effect of Vitamin D Supplementation on Serum and Muscle Irisin Levels, and FNDC5 Expression in Diabetic Rats. *Reports of biochemistry & molecular biology*, **8**(3): 236-243.
- NAJEMNIKOVA E, RODGERS CD, LOCKE M (2007). Altered heat stress response following streptozotocin-induced diabetes. *Cell stress & chaperones*, **12**(4): 342-352.
- NONAKA K, UNE S, TATSUTA N, ITO K, AKIYAMA J (2014). Changes in antioxidant enzymes and lipid peroxidation in extensor digitorum longus muscles of streptozotocin-diabetic rats may contribute to muscle atrophy. *Acta Physiologica Hungarica*, **101**(4): 421-428.
- NONAKA K, UNE S, AKIYAMA J (2015). Heat stress attenuates skeletal muscle atrophy of extensor digitorum longus in streptozotocin-induced diabetic rats. *Acta Physiologica Hungarica*, **102**(3): 293-300.
- NYHOLM B, QU Z, KAAL A, PEDERSEN SB, GRAVHOLT CH, ANDERSEN L, SALTIN B, SCHMITZ O (1997). Evidence of an increased number of type IIb muscle fibers in insulin-resistant first-degree relatives of patients with NIDDM. *Diabetes*, **46**(11): 1822-1828.
- OSTROWSKI K (1998). Rohde T, Zacho M, Asp S, and Pedersen BK. Evidence that interleukin-6 is produced in human skeletal muscle during prolonged running. *J Physiol*, **508**: 949-953.

- PATTAMAPRAPANONT P, MUANPRASAT C, SOODVILAI S, SRIMAROENG C, CHATSUDTHIPONG V (2016). Effect of exercise training on signaling of interleukin-6 in skeletal muscles of type 2 diabetic rats. *The review of diabetic studies: RDS*, **13**(2-3): 197-206.
- PATEL H, ALKHAWAM H, MADANIEH R, SHAH N, KOSMAS CE, VITTORIO TJ (2017). Aerobic vs anaerobic exercise training effects on the cardiovascular system. *World journal of cardiology*, **9**(2): 134-138.
- PEDERSEN B (2013). Muscle as a Secretory Organ. *Compr. Physiol.*, **3**: 1337-1362.
- PELIT A (2006). AC manyetik alana maruz bırakılan deneysel olarak oluşturulan diyabetli sıçanların extensor digitorum longus ve soleus kasının biyoelektrik, biyomekanik, biyokimyasal ve histolojik özellikleri. Doktora tezi, Çukurova Üniversitesi / Sağlık Bilimleri Enstitüsü / Biyofizik Anabilim Dalı.
- PELIT A, ÖZAYKAN B, TULI A, DEMIRKAZIK A, EMRE M, GÜNAY I (2008). The effects of magnetic field on the biomechanics parameters of soleus and extensor digitorum longus muscles in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Diabetes technology & therapeutics*, **10**(4): 294-298.
- PEDERSEN BK, STEENBERG A, FISCHER C, KELLER C, OSTROWSKI K, SCHJERLING P (2001). Exercise and cytokines with particular focus on muscle derived IL-6. *Exercise immunology review*, **7**: 18-31.
- PEPATO MT, MIGLIORINI RH, GOLDBERG AL, KETTELHUT IC (1996). Role of different proteolytic pathways in degradation of muscle protein from streptozotocin-diabetic rats. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*, **271**(2): 340-347.
- PETERSEN A, PEDERSEN B (2006). The role of IL-6 in mediating the anti inflammatory. *J Physiol Pharmacol*, **57**(10): 43-51.
- PETERSMANN A, MÜLLER-WIELAND D, MÜLLER UA, LANDGRAF R, NAUCK M, FRECKMANN G, HEINEMANN L, SCHLEICHER E (2019). Definition, classification and diagnosis of diabetes mellitus. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*, **127**(01): 1-7.
- PETERSON JM, MART R, BOND CE (2014). Effect of obesity and exercise on the expression of the novel myokines, Myonectin and Irisin. *PeerJ PrePrints*, **2**: 1-16.
- PICCIRILLO R (2019). Exercise-induced myokines with therapeutic potential for muscle wasting. *Frontiers in physiology*, **10**: 1-9.

- POORTMANS J, SAERENS P, EDELMAN R, VERTONGEN F, DORCHY H (1986). Influence of the degree of metabolic control on physical fitness in type I diabetic adolescents. *International journal of sports medicine*, **7**(04): 232-235.
- PORCARI J, BRYANT C, COMANA F (2015). Exercise physiology. FA Davis.
- POWELL KE, PALUCH AE, BLAIR SN (2011). Physical activity for health: What kind? How much? How intense? On top of what? *Annual review of public health*, **32**: 349-365.
- POWERS SK, HOWLEY ET, QUINDRY J (2007). Exercise physiology: Theory and application to fitness and performance. McGraw-Hill New York, NY.
- POWERS SK, NELSON WB, HUDSON MB (2011). Exercise-induced oxidative stress in humans: cause and consequences. *Free Radical Biology and Medicine*, **51**(5): 942-950.
- PRIOR SJ, MCKENZIE MJ, JOSEPH LJ, IVEY FM, MACKO RF, HAFER-MACKO CE, RYAN AS (2009). Reduced skeletal muscle capillarization and glucose intolerance. *Microcirculation*, **16**(3): 203-212.
- RADAK Z, ZHAO Z, KOLTAI E, OHNO H, ATALAY M (2013). Oxygen consumption and usage during physical exercise: the balance between oxidative stress and ROS-dependent adaptive signaling. *Antioxidants & redox signaling*, **18**(10): 1208-1246.
- RAHMATI-AHMADABAD S, ROSTAMKHANI F, MEFTAH GH, SHIRVANI H (2021). Comparative effects of high-intensity interval training and moderate-intensity continuous training on soleus muscle fibronectin type III domain-containing protein 5, myonectin and glucose transporter type 4 gene expressions: a study on the diabetic rat model. *Molecular Biology Reports*, **48**(8): 6123-6129.
- RAMEZ M, RAJABI H, RAMEZANI F, NADERI N, DARBANDI-AZAR A, NASIRINEZHAD F (2019). The greater effect of high-intensity interval training versus moderate-intensity continuous training on cardioprotection against ischemia-reperfusion injury through Klotho levels and attenuate of myocardial TRPC6 expression. *BMC cardiovascular disorders*, **19**(1): 1-10.
- RAMOS JS, DALLECK LC, TJONNA AE, BEETHAM KS, COOMBES JS (2015). The impact of high-intensity interval training versus moderate-intensity continuous training on vascular function: a systematic review and meta-analysis. *Sports medicine*, **45**(5): 679-692.
- RASCHKE S, ECKEL J (2013). Adipo-myokines: two sides of the same coin—mediators of inflammation and mediators of exercise. *Mediators of inflammation*, **2013**: 1-16.

- RASCHKE S, ELSEN M, GASSENHUBER H, SOMMERFELD M, SCHWAHN U, BROCKMANN B, JUNG R, WISLØFF U, TJØNNA AE, RAASTAD T (2013). Evidence against a beneficial effect of irisin in humans. *PLoS One*, **8**(9): 1-12.
- REDFEARN DP, TRIM GM, SKANES AC, PETRELLIS B, KRAHN AD, YEE R, KLEIN GJ (2005). Esophageal temperature monitoring during radiofrequency ablation of atrial fibrillation. *Journal of cardiovascular electrophysiology*, **16**(6): 589-593.
- REZA MM, SUBRAMANIAM N, SIM CM, GE X, SATHIAKUMAR D, MCFARLANE C, SHARMA M, KAMBADUR R (2017). Irisin is a pro-myogenic factor that induces skeletal muscle hypertrophy and rescues denervation-induced atrophy. *Nature communications*, **8**(1): 1-17.
- RISTOW M, SCHMEISSER K (2014). Mitohormesis: promoting health and lifespan by increased levels of reactive oxygen species (ROS). *Dose-Response*, **12**(2): 13-35.
- ROSENDAL L, SØGAARD K, KJAER M, SJØGAARD G, LANGBERG H, KRISTIANSEN J (2005). Increase in interstitial interleukin-6 of human skeletal muscle with repetitive low-force exercise. *Journal of Applied Physiology*, **98**(2): 477-481.
- SADEGHIPOUR HR, YEGANEH G, ZAR A, SALESI M, AKBARZADEH S, BERNARDI M (2020). The effect of 4-week endurance training on serum levels of irisin and betatrophin in streptozotocin-induced diabetic rats. *Archives of Physiology and Biochemistry*, **1**: 1-7.
- SANCHEZ OA, SNOW LM, LOWE DA, SERFASS RC, THOMPSON LV (2005). Effects of endurance exercise-training on single-fiber contractile properties of insulin-treated streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Applied Physiology*, **99**(2): 472-478.
- SARA Y, ERTUNC M, ONUR R (2004). The role of nitric oxide on contractile impairment during endotoxemia in rat diaphragm muscle. *European journal of pharmacology*, **505**(1-3): 177-186.
- SELDIN MM, LEI X, TAN SY, STANSON KP, WEI Z, WONG GW (2013). Skeletal muscle-derived myonectin activates the mammalian target of rapamycin (mTOR) pathway to suppress autophagy in liver. *Journal of Biological Chemistry*, **288**(50): 36073-36082.
- SELDIN MM, PETERSON JM, BYERLY MS, WEI Z, WONG GW (2012). Myonectin (CTRP15), a novel myokine that links skeletal muscle to systemic lipid homeostasis. *Journal of Biological Chemistry*, **287**(15): 11968-11980.
- SELDIN MM, WONG GW (2012). Regulation of tissue crosstalk by skeletal muscle-derived myonectin and other myokines. *Adipocyte*, **1**(4): 200-202.

- SENEFELD J, MAGILL SB, HARKINS A, HARMER AR, HUNTER SK (2018). Mechanisms for the increased fatigability of the lower limb in people with type 2 diabetes. *Journal of Applied Physiology*, **125**(2): 553-566.
- SEVERINSEN MCK, PEDERSEN BK (2020). Muscle–organ crosstalk: the emerging roles of myokines. *Endocrine reviews*, **41**(4): 594-609.
- SHAH S, SONAWANE P, NAHAR P, BUGE K, VAIDYA S (2011). Are we ignoring diabetic disability: a cross sectional study of diabetic myopathy. *Indian journal of medical sciences*, **65**(5): 186-192.
- SHAMSI MM, HASSAN Z, GHARAKHANLOU R, QUINN L, AZADMANESH K, BAGHERSAD L, ISANEJAD A, MAHDAVI M (2014). Expression of interleukin-15 and inflammatory cytokines in skeletal muscles of STZ-induced diabetic rats: effect of resistance exercise training. *Endocrine*, **46**(1): 60-69.
- SONG XM, KAWANO Y, KROOK A, RYDER JW, EFENDIC S, ROTH RA, ZIERATH JR (1999). Muscle fiber type-specific defects in insulin signal transduction to glucose transport in diabetic GK rats. *Diabetes*, **48**(3), 664-670.
- SU L, FU J, SUN, S, ZHAO G, CHENG W, DOU C, QUAN M (2019). Effects of HIIT and MICT on cardiovascular risk factors in adults with overweight and/or obesity: A meta-analysis. *PLoS One*, **14**(1): 1-21.
- TALBOT J, MAVES L (2016). Skeletal muscle fiber type: using insights from muscle developmental biology to dissect targets for susceptibility and resistance to muscle disease. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology*, **5**(4): 518-534.
- TAN S, LI W, WANG J (2012). Effects of six months of combined aerobic and resistance training for elderly patients with a long history of type 2 diabetes. *Journal of sports science & medicine*, **11**(3): 495-501.
- TASTEKIN B, PELIT A, POLAT S, TULI A, SENCAR L, ALPARSLAN MM, DAGLIOGLU YK (2018). Therapeutic potential of pterostilbene and resveratrol on biomechanic, biochemical, and histological parameters in streptozotocin-induced diabetic rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, **2018**: 1-10.
- TATAR Y (2019). Deneysel tip I diyabetes mellitus modelinde iskelet kası atrofisi üzerine antrenmanın etkisinin incelenmesi. Doktora tezi, Ankara Üniversitesi / Sağlık Bilimleri Enstitüsü / Fizyoloji Anabilim Dalı.
- THYFAULT JP, BERGOUIGNAN A (2020). Exercise and metabolic health: beyond skeletal muscle. *Diabetologia*, **63**(8): 1464-1474.

- WANG Y, PESSIN JE (2013). Mechanisms for fiber-type specificity of skeletal muscle atrophy. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care*, **16**(3): 243-250.
- WESTERBLAD H, BRUTON JD, KATZ A (2010). Skeletal muscle: energy metabolism, fiber types, fatigue and adaptability. *Experimental cell research*, **316**(18): 3093-3099.
- WHITHAM M, FEBBRAIO MA (2016). The ever-expanding myokinome: discovery challenges and therapeutic implications. *Nature reviews Drug discovery*, **15**(10): 719-729.
- WILLIAMS R, COLAGIURI S, CHAN J, GREGG E, KE C, LIM L-L, YANG X (2019). IDF Atlas 9th Edition 2019.
- WISLØFF U, HELGERUD J, KEMI OJ, ELLINGSEN Ø (2001). Intensity-controlled treadmill running in rats: $\dot{V}O_2$ max and cardiac hypertrophy. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, **280**(3): 1301-1310.
- WORLD HEALTH O (2016). Global report on diabetes. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/204871>
- VIRGEN-ORTIZ A, APOLINAR-IRIBE A, MUÑIZ J (2018). Gender-effect on the contractile properties of skeletal muscle in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of musculoskeletal & neuronal interactions*, **18**(2): 255-261.
- YAZDANI F, SHAHIDI F, KARIMI P (2020). The effect of 8 weeks of high-intensity interval training and moderate-intensity continuous training on cardiac angiogenesis factor in diabetic male rats. *Journal of physiology and biochemistry*, **76**(2): 291-299.
- YILDIZ SA (2012). What is the meaning of aerobic and anaerobic capacity? *Eurasian Journal of Pulmonology*, **14**(1): 1-8.
- YIN L, CHEN X, LI N, JIA W, WANG N, HOU B, YANG H, ZHANG L, QIANG G, YANG X (2021). Puerarin ameliorates skeletal muscle wasting and fiber type transformation in STZ-induced type 1 diabetic rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **133**: 1-13.
- ZAFAR M, NAQVI SN-U-H (2010). Effects of STZ-Induced diabetes on the relative weights of kidney, liver and pancreas in albino rats: a comparative study. *International Journal of Morphology*, **28**(1): 135-142.
- ZHANG J, HU W, LIN P, WANG R (2020). Decreased serum myonectin concentrations in diabetic nephropathy patients. *Clinical and Experimental Medicine*, **20**(4): 601-607.

EKLER

EK 1: Etik Kurul Kararı



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

TOPLANTI TARİHİ : 14/04/2021
TOPLANTI NO : 2021-8
DOSYA NO : 2021-33
KARAR NO : 2021-8-47

Yürüttüğü Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Dr. Öğr. Üyesi Fırat AKAT'ın yaptığı; araştırmacı olarak Prof. Dr. Metin BAŞTUĞ, Dr. Öğr. Üyesi Ferda TOPAL ÇELİKKAN, Arş. Gör. Dr. Ayşegül DURAK, Arş. Gör. Bilge SERDAROĞLU ve Fzt. Yeşim ÖZÇATAL'ın katıldığı "Diyabetik Miyopatide Yüksek Yoğunluklu Aralıklı Antrenman'ın (HIIT) İskelet Kası Atrofisi, Fonksiyonu ve Miyokin Profili Üzerindeki Etkileri" başlıklı çalışma 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 değerlendirilmiş ve çalışmanın aşağıda belirtilen kapsamda yapılmasına oy birliği ile karar verilmiştir.

Hayvan Türü : Sıçan
Hayvan Sayısı : 76
Geçerlilik Süresi : 15/04/2021 - 15/04/2022

ETİK KURUL ÜYELERİ				
Unvanı / 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. Emine DEMİREL YILMAZ (Üye)	Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı	Tıp Fakültesi	K	
Prof. Dr. Nuri YİĞİT (Üye)	Zooloji Anabilim Dalı	Fen Fakültesi	E	
Prof. Dr. Fatih CEDDEN (Üye)	Hayvan Yetiştirme Anabilim Dalı	Ziraat Fakültesi	E	
Prof. Dr. Mine KIRKAĞAÇ (Üye)	Su Ürünleri Mühendisliği Bölümü	Ziraat Fakültesi	K	

EK 1: Etik Kurul Kararı (devamı)

Doç. Dr. Gülnur GÖLLÜ BAHADIR (Üye)	Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı	Tıp Fakültesi	K	
Doç. Dr. Halit KANCA (Üye)	Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı	Veteriner Fakültesi	E	
Dr. Vet. Hek. Nigar YERLİKAYA (Üye)	Veteriner Hekimliği Tarihi ve Deontoloji Anabilim Dalı	Veteriner Fakültesi	K	
Dr. Vet. Hek. Gürbüz ERTÜRK (Üye)	Active Veteriner Sağlık Merkezi	Serbest	E	
Uzm. Vet. Hek. Hüseyin DEDE (Üye)	Veteriner Hekimler Derneği	Serbest	E	
Uzm. Vet. Hek. Attila İŞGÖREN (Üye)	Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Laboratuvarı	Tıp Fakültesi	E	
Fatma Aysun COŞKUN (Üye)	İktisat	Serbest	K	