



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**STREPTOZOTOSİN İLE OLUŞTURULAN
DİYABETİK SIÇAN MODELİNDE
ALFA LİPOİK ASİT VE KUERSETİNİN
DİYAfram FONKSİYONU ÜZERİNE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Esra ÖZTÜRK

DOKTORA TEZİ

Doç. Dr. Mukadder OKUYAN

TRABZON-2024

BEYAN

Bu tez çalışmasının Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Hazırlama ve Yazım Kılavuzu standartlarına uygun olarak yapıldığını ve yazıldığını, tezin akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma eserim olduğunu, tezde yer alan ve bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kullanılan kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışılması ve yazımı aşamalarında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

13/12/2024
Esra ÖZTÜRK
(İmza)

İthaf

Bu doktora tezimi, benim bu günlere gelmem için hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan kıymetli ailem ve her gün sabır ve kararlılıkla diyabetle mücadele eden, yaşamlarını özveriyle sürdüren tüm diyabet hastalarına ithaf ediyorum.



TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimim ve doktora tezimin her aşamasında bilgi ve tecrübeleri ile yol gösteren ve sürekli motivasyonu beni her adımda destekleyen, hiçbir zaman yardımlarını esirgemeyen değerli danışman hocam Doç. Dr. Mukadder OKUYAN'a,

Lisansüstü eğitimim ve çalışmalarım da bilge rehberliği ve değerli katkıları nedeniyle KTÜ Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Ahmet AYAR'a; tez sürecimde değerli katkılarını sunan KTÜ Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Nuri İhsan KALYONCU'ya; çalışmalarım da yardım ve desteklerini esirgemeyen mesai arkadaşlarım Arş. Gör. Dr. Arif Kamil SALİHOĞLU'na, Arş. Gör. Dr. Osman AKTAŞ'a ve Arş. Gör. Burak ÖZGÖREN'e; lisansüstü eğitimim boyunca her zaman yanımda olan ve çok kıymetli anılar paylaştığım değerli arkadaşım Dr. Öğr. Üyesi Öznur GEDİKLİ'ye,

Doktora tezime değerli katkı ve desteklerinden dolayı KTÜ Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Ahmet ALVER'e ve biyokimyasal analizlerin çalışılmasında yardımcı olan ve gösterdikleri anlayış ve fedakarlıktan dolayı tıbbi biyokimya anabilim dalındaki kıymetli arkadaşlarım Arş. Gör. Dr. Neslihan SAĞLAM, Arş. Gör. Dr. Elif ŞAHİN ve Arş. Gör. Dr. Sevil KÖR'e,

Doktora tez deneylerimi yürüttüğüm süre içerisinde büyük bir özveride bulunarak katkı ve desteklerini benden esirgemeyen KTÜ Cerrahi Uygulama Araştırma Merkezi'nin değerli çalışanları Vet. Hekim Sait AL'a, Vet. Sağlık Teknikeri İbrahim AYDIN'a ve Osman ÇAKIR'a,

Hayatım boyunca her koşulda yanımda olan şefkatlerini ve maddi-manevi yardımlarını esirgemeyen babam Kadir ŞEKERCİ, annem Ayşe ŞEKERCİ'ye ve doktora eğitimim sırasında ailelerine katıldığım, destek ve hoşgörülerini her daim hissettiğim kayınpederim Hayrettin ÖZTÜRK ve kayınvalidem Fatma ÖZTÜRK'e, her zaman bana destek olan, her türlü fedakarlığı ve sabrı gösteren sevgili eşim Abdullah ÖZTÜRK'e,

Doktora tez çalışmamı destekleyen KTÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne (BAP06, Proje kodu: HDP-12862) teşekkürlerimi sunarım.

Esra ÖZTÜRK

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇ KAPAK SAYFASI	
ONAY	
BEYAN	
İthaf	
TEŞEKKÜR	
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
RESİMLER DİZİNİ	xii
KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ	xiii
ÖZET	xvi
ABSTRACT	xvii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Diabetes Mellitus (Diyabet)	4
2.1.1. Diyabet'in Epidemiyolojisi	4
2.1.2. Diyabetin Sınıflandırılması	5
2.1.3. Diyabetin Patofizyolojisi	7
2.1.4. Deneysel Diyabet Modelleri	10
2.1.5. Streptozotosin Diyabetin Modeli	11
2.2. Antioksidanlar	12
2.2.1. Enzimatik Antioksidanlar	12
2.2.2. Alfa-Lipoik Asit	13
2.2.2.1. Alfa-Lipoik Asitin Yapısı	14
2.2.2.2. Alfa-Lipoik Asitin Metabolizması	14
2.2.2.3. Alfa-Lipoik Asitin Antioksidan Özellikleri	15
2.2.3. Kuersetin	18
2.2.3.1. Kuersetinin Yapısı	19
2.2.3.2. Kuersetinin Metabolizması	20
2.2.3.3. Kuersetinin Antioksidan Özellikleri	20
2.3. Diyafram	21

2.3.1. Diyafram Anatomisi	21
2.3.2. Diyafram Fizyolojisi ve Diyaframın Solunumdaki Rolü	22
2.4. Sinir-Kas Kavşağı	25
2.4.1. Çizgili Kasta Uyarılma-Kasılma Bağlantısı	28
3. GEREÇ ve YÖNTEM	30
3.1. Gereç	30
3.1.1. Deney Hayvanları	30
3.1.2. Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler	30
3.1.3. Kullanılan Kit ve Kimyasal Maddeler	31
3.2. Yöntem	32
3.2.1. Streptozotosin ile Kimyasal Diyabet İndüksiyonu	32
3.2.2. Deney Gruplarının Dizaynı	32
3.2.3. Diyafram İzolasyonu ve Sıçan Diyafram Kas Preparatının Hazırlanması	33
3.2.4. Elektriksel Alan Stimülasyonu ve İzometrik Kasılmaların Kaydedilmesi	35
3.2.5. Diyafram Kas Dokusunda Süperoksit Dismutaz ve Katalaz Aktiviteleri ile Malondealdehit Düzeyinin Ölçümü	36
3.2.5.1. Doku Süperoksit Dismutaz Aktivitesi Tayini	38
3.2.5.2. Doku Katalaz Aktivitesi Tayini	39
3.2.5.3. Doku Malondealdehit Düzeyi Ölçümü	40
3.2.6. Doku Glutasyon Peroksidaz Aktivitesi Tayini	41
3.2.7. Protein Miktar Tayini	41
3.2.8. İstatistiksel Yöntem	42
4. BULGULAR	44
4.1. Deney Hayvanlarının Vücut Ağırlıkları ve Açlık Kan Glukoz Düzeyleri	44
4.2. Diyabetik Diyafram Kası Biyomekanik Bulguları	45
4.2.1. Alfa-Lipoik Asitin Diyabetik Diyafram Kası Biyomekanik Parametreleri Üzerine Etkisi	46
4.2.1.1. Alfa-Lipoik Asitin Maksimum Kasılma Cevabına Etkisi	46
4.2.1.2. Alfa-Lipoik Asitin Kasılma Süresine Etkisi	46
4.2.1.3. Alfa-Lipoik Asitin Sarsı Kuvvetine Etkisi	48
4.2.1.4. Alfa-Lipoik Asitin Tetaniye Etkisi	48
4.2.2. İnsülin ile Kombinasyon Şeklinde Uygulanan Alfa-Lipoik Asitin	

Diyabetik Diyafram Kası Biyomekanik Parametreleri Üzerine Etkisi	50
4.2.2.1. İnsülin ile Kombinasyon Şeklinde Uygulanan Alfa-Lipoik Asitin Maksimum Kasılma Cevabına Etkisi	50
4.2.2.2. İnsülin ile Kombinasyon Şeklinde Uygulanan Alfa-Lipoik Asitin Kasılma Süresine Etkisi	51
4.2.2.3. İnsülin ile Kombinasyon Şeklinde Uygulanan Alfa-Lipoik Asitin Sarsı Kuvvetine Etkisi	52
4.2.2.4. İnsülin ile Kombinasyon Şeklinde Uygulanan Alfa-Lipoik Asitin Tetaniye Etkisi	53
4.2.3. Kuersetinin Diyafram Kası Biyomekanik Parametreleri Üzerine Etkisi	55
4.2.3.1. Kuersetinin Maksimum Kasılma Cevabına Etkisi	55
4.2.3.2. Kuersetinin Kasılma Süresine Etkisi	55
4.2.3.3. Kuersetinin Sarsı Kuvvetine Etkisi	57
4.2.3.4. Kuersetinin Tetaniye Etkisi	57
4.3. Diyabetik Diyafram Dokusunda Alfa-Lipoik Asitin Malondealdehit Düzeyi ile Süperoksit Dismutaz, Katalaz ve Glutasyon Peroksidaz Aktivitesine Etkileri	59
4.3.1. Alfa-Lipoik Asitin Malondealdehit Düzeyine Etkisi	59
4.3.2. Alfa-Lipoik Asitin Süperoksit Dismutaz Aktivitesine Etkisi	60
4.3.3. Alfa-Lipoik Asitin Katalaz Aktivitesine Etkisi	61
4.3.4. Alfa-Lipoik Asitin Glutasyon Peroksidaz Aktivitesine Etkisi	62
4.4. Diyabetik Diyafram Dokusunda Kuersetinin Malondealdehit Düzeyi ile Süperoksit Dismutaz, Katalaz ve Glutasyon Peroksidaz Aktivitesine Etkileri	63
4.4.1. Kuersetinin Malondealdehit Düzeyine Etkisi	63
4.4.2. Kuersetinin Süperoksit Dismutaz Aktivitesine Etkisi	64
4.4.3. Kuersetinin Katalaz Aktivitesine Etkisi	65
4.4.4. Kuersetinin Glutasyon Peroksidaz Aktivitesine Etkisi	66
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	69
6. KAYNAKLAR	81
EKLER	94
EK 1. Etik Kurul Onay Belgesi	95
ÖZGEÇMİŞ	96

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No		Sayfa
Tablo 1.	Diyabetin etiyolojik sınıflandırılması	6
Tablo 2.	Kullanılan cihazlar ve malzemeler	30
Tablo 3.	Kullanılan kit ve kimyasal maddeler	31
Tablo 4.	Deney gruplarının dizaynı	34
Tablo 5.	Bütün gruplara ait biyomekanik parametrelerin ortalama $\pm$ SEM Değerleri	59
Tablo 6.	ALA ve KUE dozlarının diyabetik diyafram kas dokusunda MDA düzeyi ile SOD, CAT ve GPx aktivitelerine ait ortalama $\pm$ SEM Değerleri	68

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Sayfa
Şekil 1. T1DM ve T2DM’de insülin sinyalleşmesinin şematik gösterimi	7
Şekil 2. T1DM’nin immünopatogenezi	9
Şekil 3. T2DM patofizyolojisinin şematik diyagramı	10
Şekil 4. DM’nin hayvan modelleri	11
Şekil 5. Beta hücrelerinde STZ’nin etki mekanizması	12
Şekil 6. ALA’nın optik izomerlerinin kimyasal yapısı ve doğal kaynakları	14
Şekil 7. ALA’nın biyolojik özellikleri	16
Şekil 8. ALA’nın Nrf2 aracılı transkripsiyon yoluyla Faz II genlerinin indüksiyonu için önerilen etki mekanizması	18
Şekil 9. Kuersetinin kimyasal yapısı ve doğal kaynakları	19
Şekil 10. Kuersetinin antioksidan aktivitesinin temel prensibi	21
Şekil 11. Diyaframın göğüsten görünüşü	23
Şekil 12. Diyaframın karından görünüşü	23
Şekil 13. Bir nöromusküler kavşağın genel organizasyonu ve işlevi	27
Şekil 14. Kas kasılmasına doğru aşağı yöndeki olaylar dizisini aktive eden sinaptik sinyalleşmeyle ilişkili hücresel olaylar dizisi	27
Şekil 15. Triad kavşağında uyarılma kasılma bağlantısı	28
Şekil 16. Kuvvet oluşumunun altında yatan hücresel olaylar	29
Şekil 17. Deney gruplarındaki her bir hayvana uygulanan işlem ve testleri gösteren deney akış diyagramı	34
Şekil 18. İzometrik kasılma yanıtlarının analizinden elde edilen parametreler	37
Şekil 19. Diyafram kas dokusunda SOD aktivitesini hesaplamak için kullanılan standart grafiği	39
Şekil 20. Diyafram kası MDA standart grafiği	41
Şekil 21. Protein tayininde kullanılan standart grafiği	42
Şekil 22. Deney gruplarına ait açlık kan glukoz düzeyi değişimleri	44
Şekil 23. Gruplara ait trase örnekleri	45
Şekil 24. STZ ile oluşturulan diyabette ALA dozlarının diyafram kasında maksimum kasılma cevabına etkisi	47
Şekil 25. STZ ile oluşturulan diyabette ALA dozlarının diyafram kasında kasılma süresine etkisi	47

Şekil 26.	STZ ile oluşturulan diyabette ALA dozlarının diyafram kasında sarsı % AUC'ye etkisi	49
Şekil 27.	STZ ile oluşturulan diyabette ALA dozlarının diyafram kasında tetani % AUC'ye etkisi	49
Şekil 28.	STZ ile oluşturulan diyabette insülin ile kombinasyon şeklinde uygulanan ALA dozlarının diyafram kasında maksimum kasılma cevabına etkisi	51
Şekil 29.	STZ ile oluşturulan diyabette insülin ile kombinasyon şeklinde uygulanan ALA dozlarının diyafram kasında kasılma süresine etkisi	52
Şekil 30.	STZ ile oluşturulan diyabette insülin ile kombinasyon şeklinde uygulanan ALA dozlarının diyafram kasında sarsı % AUC'ye etkisi	53
Şekil 31.	STZ ile oluşturulan diyabette insülin ile kombinasyon şeklinde uygulanan ALA dozlarının diyafram kasında tetani % AUC'ye etkisi	54
Şekil 32.	STZ ile oluşturulan diyabette KUE dozlarının diyafram kasında maksimum kasılma cevabına etkisi	56
Şekil 33.	STZ ile oluşturulan diyabette KUE dozlarının diyafram kasında kasılma süresine etkisi	56
Şekil 34.	STZ ile oluşturulan diyabette KUE dozlarının diyafram kasında sarsı % AUC'ye etkisi	58
Şekil 35.	STZ ile oluşturulan diyabette KUE dozlarının diyafram kasında tetani % AUC'ye etkisi	58
Şekil 36.	ALA dozlarının diyafram kas dokusunda MDA düzeyine etkileri	60
Şekil 37.	ALA dozlarının diyafram kas dokusunda SOD aktivitesine etkileri	61
Şekil 38.	ALA dozlarının diyafram kas dokusunda CAT aktivitesine etkileri	62
Şekil 39.	ALA dozlarının diyafram kas dokusunda GPx aktivitesine etkileri	63
Şekil 40.	KUE dozlarının diyafram kas dokusunda MDA düzeyine etkileri	64
Şekil 41.	KUE dozlarının diyafram kas dokusunda SOD aktivitesine etkileri	65
Şekil 42.	KUE dozlarının diyafram kas dokusunda CAT aktivitesine etkileri	66
Şekil 43.	KUE dozlarının diyafram kas dokusunda GPx aktivitesine etkileri	67

RESİMLER DİZİNİ

Resim No		Sayfa
Resim 1.	Diyafram eksplantasyonu	35
Resim 2.	Diyafram kas preparatının hazırlanması	35
Resim 3.	İzole organ banyo sistemi ve elektriksel alan stimülasyonu	37



KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

AC	Adenilat Siklaz
AChE	Asetilkolinesteraz
ACh	Asetilkolin
ADA	Amerikan Diyabet Derneği
ADP	Adenozin difosfat
ALA	Alfa-Lipoik Asit
AMPK	AMP ile aktive edilen protein kinaz
ANOVA	Tek yönlü varyans analizi
APC	Antijen sunan hücre
ARE	Antioxidant Response Element
ATP	Adenozin trifosfat
AUC	Area under curve
BChE	Butirilkolinesteraz
BSA	Sığır Serum Albümin
CAT	Katalaz
DHLA	Dihidrolipoik Asit
DHPR	Dihidropiridin reseptörü
DM	Diabetes Mellitus
EDTA	Etilendiamin Tetra Asetik Asit
GPx	Glutasyon Peroksidaz
GSH	Glutasyon
IDF	Uluslararası Diyabet Federasyonu
IDDM	İnsüline Bağımlı Diabetes Mellitus
i.p.	İntraperitoneal
KEAP1	Kelch-like ECH-associated protein 1
KS	Kasılma süresi
KTÜ	Karadeniz Teknik Üniversitesi
LADA	Latent Otoimmün Diyabet
MAF	Muskuloaponevrotik Fibrosarkom Onkogen Familyası
MAPK	Mitogenle Aktive Olan Protein Kinaz
MDA	Malondialdehit

nAChR	Nikotinik Asetilkolin Reseptörleri
NBT	Nitroblue Tetrazolium
NIDDM	İnsüline Bağımlı Olmayan Diabetes Mellitus
NRF2	Nuclear factor erythroid 2-related factor 2
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
RYR	Riyanodin reseptörü
SF	Serum Fizyolojik
SOD	Süperoksit Dismutaz
STZ	Streptozotosin
T1DM	Tip 1 Diyabet
T2DM	Tip 2 Diyabet
VGSC	Voltaj bağımlı sodyum kanalı
VGCC	Voltaj bağımlı kalsiyum kanalı

Simgeler

α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
δ	Delta
ϵ	Epsilon
ms	milisaniye
k	Reaksiyon hız sabiti
V	Volt

Formüller

CaCl₂	Kalsiyum klorür
CH₃OH	Metanol
C₈H₁₅N₇O₇	Streptozotosin
C₁₅H₁₀O₇	Kuersetin
CuCl₂	Bakır (II) Klorür
DTT	1,4-Dithiothreitol
H₃PO₄	Fosforik Asit
KH₂PO₄	Monopotasyum fosfat
NaHCO₃	Sodyum bikarbonat
NaHPO₄.2H₂O	Sodyum Hidrojen Fosfat Dihidrat

(NH₄)₂SO₄	Amonyum sülfat
MgCl₂	Magnezyum klorür
NaHPO₄	Disodyum fosfat
Na₂CO₃	Sodyum karbonat
H₂O₂	Hidrojen peroksit
H₂O	Su
HCl	Hidrojen klorür
NaCl	Sodyum klorür
KCl	Potasyum klorür
-OH	Hidroksil
O₂⁻	Oksijen
Cl⁻	Klorür
Na⁺²	Sodyum
K⁺	Potasyum
Ca⁺²	Kalsiyum
Mg⁺²	Magnezyum
Pi	Serbest fosfat

ÖZET

Streptozotosin ile Oluşturulan Diyabetik Sıçan Modelinde Alfa-Lipoik Asit ve Kuersetinin Diyafram Fonksiyonu Üzerine Etkilerinin Araştırılması

Diabetes mellitus (Diyabet) vücuttaki glukoz, lipid ve amino asit metabolizmasındaki değişiklikler ile karakterize, kronik komplikasyonlara neden olan metabolik bir hastalıktır. Bu komplikasyonlar solunum sistemi üzerinde de etkili olmaktadır. Bu çalışmada streptozotosin (STZ) ile oluşturulan diyabetik sıçanlarda α -lipoik asit (ALA) ve kuersetinin (KUE) diyafram kas kontraksiyonu üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Diyafram solunumda önemli rol oynayan bir kas olup, diyabetin bu kasın fonksiyonlarını nasıl etkilediği ve bu etkinin oksidatif stresle olan ilişkisi araştırılmıştır. Çalışmada 83 adet Sprague Dawley türü erkek sıçan (8-10 haftalık) kullanıldı. STZ ile diyabet oluşturulduktan sonra 13 gruba ayrılan sıçanlara sekiz hafta boyunca intraperitoneal serum fizyolojik, sodyum bikarbonat, ALA (30, 60 ve 120 mg/kg), KUE (30, 60 ve 120 mg/kg) ve subkutan insülin (8 IU/kg) uygulandı. Ayrıca insülin (8 IU/kg) ile kombinasyon şeklinde ALA (30, 60, 120 mg/kg) subkutan uygulandı. Diyaframın biyomekanik özellikleri izole organ banyo sisteminde diyafram kas preparatına elektriksel alan stimülasyonu uygulanarak belirlendi. Diyafram dokusunda oksidatif stres durumunu tespit etmek için malondialdehit (MDA) düzeyi ile süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) aktiviteleri ölçüldü. Bütün diyabetik gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında diyaframda maksimum kasılma ve tetanik kasılma kuvvetlerinin azaldığı saptanmıştır ($p<0.05$). İnsülin ile kombinasyon şeklinde uygulanan 120 mg/kg ALA diyabetik sıçanların diyaframında maksimum kasılma cevabı ve tetanik kasılma kuvvetini artırmıştır ($p<0.05$). Diyabetik hayvanlarda yüksek çıkan MDA düzeyini ALA ve KUE uygulamaları azaltmıştır ($p<0.05$). Diyabetik hayvanlarda düşük seviyede bulunan CAT ve GP_x aktivitesini ALA ve KUE uygulaması artırmıştır ($p<0.05$). Sonuç olarak STZ ile oluşturulan diyabetin diyaframın biyomekanik fonksiyonlarını olumsuz etkilediği ve kasılma kuvvetinde azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. İnsülinle kombinasyon şeklinde uygulanan 120 mg/kg ALA'nın diyafram kas performansını önemli ölçüde iyileştirdiği gözlemlenmiştir. ALA'nın, diyabetin kas ve oksidatif stres üzerindeki olumsuz etkilerini azaltmada potansiyel bir tedavi olabileceği düşünülmektedir. Bu bağlamda diyabet tedavisinde oksidatif stresi hedef alan yaklaşımlar uzun vadede solunum kas fonksiyonları üzerinde olumlu sonuçlar oluşturabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: Alfa-lipoik asit, Diabetes Mellitus, Diyafram, Kuersetin, Streptozotosin

ABSTRACT

Investigation of Effects of Alpha-Lipoic Acid and Quercetin on Diaphragm Function in Streptozotocin-Induced Diabetic Rat Model

Diabetes mellitus is a metabolic disease characterized by changes in glucose, lipid and amino acid metabolism, leading to chronic complications that also affect the respiratory system. This study aimed to investigate the effects of α -lipoic acid (ALA) and quercetin (QUE) on diaphragm muscle contraction in streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats. The diaphragm is a muscle that plays an important role in respiration, and the study was investigated how diabetes affects the function of this muscle and the relationship of this effect with oxidative stress. A total of 83 male Sprague Dawley rats (8-10 weeks old) were used in the study. After diabetes was induced with STZ, rats were divided into 13 groups and intraperitoneally saline, sodium bicarbonate, ALA (30, 60 and 120 mg/kg), QUE (30, 60 and 120 mg/kg), and subcutaneous insulin (8 IU/kg) were administered for eight weeks. In addition, ALA (30, 60, 120 mg/kg) was administered subcutaneously in combination with insulin. The biomechanical properties of the diaphragm were determined by applying electrical field stimulation to the diaphragm muscle preparation in the isolated organ bath system. Malondialdehyde (MDA) levels and superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPx) activities were measured to determine the oxidative stress in the diaphragm tissue. Compared to the control group, all diabetic groups showed a significant reduction in maximum contraction and tetanic contraction forces in the diaphragm ($p < 0.05$). The administration of 120 mg/kg ALA in combination with insulin increased maximum contraction response and tetanic contraction force in the diaphragm of diabetic rats ($p < 0.05$). ALA and QUE applications decreased the high MDA level in diabetic animals ($p < 0.05$). ALA and QUE applications increased the CAT and GPx activities, which were found to be low in diabetic animals ($p < 0.05$). As a result, it was determined that STZ-induced diabetes negatively affected the biomechanical functions of the diaphragm and caused a decrease in contraction force. It was observed that 120 mg/kg ALA administered in combination with insulin significantly improved diaphragm muscle performance. It is thought that ALA may be a potential treatment to reduce the negative effects of diabetes on muscle and oxidative stress. Therefore, we suggest that approaches targeting oxidative stress in diabetes treatment may have long-term positive effects on respiratory muscle function.

Keywords: Alpha-lipoic acid, Diabetes Mellitus, Diaphragm, Quercetin, Streptozotocin

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Diabetes Mellitus (Diyabet, DM) modern çağın en yaygın sağlık sorunlarından biri olarak görülmekte ve diyabetik hasta sayısı sürekli olarak artış göstermektedir (1). Dünya genelinde milyonlarca insanı etkileyen DM, kan şekerinin hücrelere girişini kolaylaştırarak enerjiye dönüşümünü sağlayan insülin hormonu ile ilişkilidir. Bu hastalık, insülinin vücutta yeterince ya da hiç sentezlenememesi veya üretilen insüline karşı direnç gelişmesi durumlarında ortaya çıkmaktadır (2). DM azalmış insülin aktivitesinin neden olduğu glukoz, lipid ve amino asit metabolizmasındaki anormalliklerle karakterize edilen ve kronik komplikasyonlara yol açan heterojen etiyolojiye sahip bir hastalıktır (3). Tip 1 diyabet (T1DM), tip 2 diyabet (T2DM) ve gestasyonel diyabet (GDM) dahil olmak üzere yaygın olarak kabul edilen üç ana diyabet formu vardır ve vakaların yaklaşık %90'ını T2DM oluşturmaktadır. Tüm diyabet vakaları uygun şekilde yönetilmediğinde yüksek oranda morbitide ve mortalite ile sonuçlanmaktadır (2).

DM'nin neden olduğu sürekli yüksek kan şekeri seviyeleri, retina, böbrek, kalp, sinir ve çizgili kaslar gibi çeşitli organlarda uzun süreli hasar ve devamında işlevsel bozukluk ve de yetersizliklere neden olmaktadır. DM solunum kaslarının dayanıklılığını ve vital kapasiteyi azaltarak solunum fonksiyonlarında bozulmaya neden olduğu rapor edilmiştir (4). Diyabetik hastalarda diyafram fonksiyon bozukluğuna bağlı olarak akciğer hacimlerinin azaldığı bildirilmiştir (5). Diyafram, solunum için gerekli olan ve sağlıklı bireylerde ana solunum kası olarak görev yapan bir çizgili kastır. Bu kasın sürekli tekrarlanan aktivitesi, istirahat halindeki toplam ventilasyonun yaklaşık %70'ini oluşturmaktadır (6).

DM'nin patogenezinde oksidatif stres önemli bir rol oynamaktadır. DM'de bozulmuş karbonhidrat metabolizmasına bağlı olarak gelişen hiperglisemi, serbest radikal üretimi ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) artışına neden olmaktadır (7). DM durumunda artan ROS üretimi ile birlikte vücuttaki antioksidan/preoksidan dengesizlik, oksidatif stres ve bu durumun neden olduğu çeşitli hücrel ve doku hasarlarına yol açmaktadır (8). Serbest radikallerin diyafram kas kontraktilitesi üzerinde olumsuz etki gösterdiği bilinmektedir (9). Oksidatif stres diyafram kaslarında yorgunluğa neden olmakta ve diyaframın ROS'a maruz kalmasını artırmaktadır (10). ROS birikimini önlemek ve oksidatif stresi kontrol altına almak için antioksidan tedavinin tercih edilebilecek bir seçenek olduğu görülmektedir (1, 11).

Günümüzde antidiyabetik ilaçların yan etkileri, yüksek maliyeti, sınırlı erişimi ve bilinçsiz kullanımı önemli sorunlar oluşturmaktadır. Bu nedenle, yan etkileri en az ve

diyabetin yönetiminde tamamlayıcı ilaç tedavisinin geliştirilmesine yardımcı olması açısından bitkisel antioksidanlar tercih edilmektedir (12, 13). Bir antioksidan, serbest radikalleri hücrelere bağlanmadan önce stabilize eder veya devre dışı bırakır. Hücreler, organ sistemlerini serbest radikallerin neden olduğu hasara karşı korumak için sinerjik olarak ve birbirleriyle kombinasyon halinde çalışan oldukça karmaşık antioksidan enzimatik ve enzimatik olmayan etkilere sahiptir. Antioksidanlar endojen olarak üretilbildikleri gibi diyetin bir parçası veya diyet takviyeleri olarak eksojen kaynaklardan da elde edilebilmektedir. En verimli enzimatik antioksidanlar süperoksit dismutaz (SOD) katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidazı (GPx) içermektedir. Enzimatik olmayan antioksidanlar, E ve C vitaminleri, tiyol antioksidanlar (glutatyon, tioredoksin ve lipoik asit), melatonin, karotenoidler, doğal flavonoidler gibi bileşikler kapsamaktadır (14).

Alfa-lipoik asit (ALA), diyabet patolojisinde önemli bir tedavi ajanı olarak öne çıkan ve pek çok biyokimyasal fonksiyonda temel antioksidan görevi gören bir bileşiktir. ALA, insülin mimetik ve anti-inflamatuar aktiviteye sahip güçlü bir antioksidandır. Diyetteki ALA hızla emilir, hücre içine taşınır ve enzimlerin etkisi altında dihidrolipoik aside (DHLLA) indirgenir. DHLLA formu ile serbest oksijen radikallerini temizleme ve diğer besinlerle redoks etkileşimleri yoluyla lipid peroksidasyonunu inhibe etme yeteneğine sahiptir. Mitokondriyal biyoenerjetik reaksiyonlarda önemli bir rol oynayan ALA, retinopati, nöropati ve diğer vasküler hastalıklar gibi diyabetik komplikasyonların önlenmesinde kullanılmaktadır (15).

Kuersetin (KUE) bitkilerde doğal olarak bulunan ve antioksidan özellik gösteren bir flavonoiddir. KUE, ROS temizleyicisi ve peroksidasyon reaksiyonlarının baskılayıcısı olarak görev yapmaktadır. Ayrıca anti-inflamatuar, anti-tümör ve immünomodülatör gibi çeşitli farmakolojik aktivitelere sahiptir (16). Akut KUE tüketiminin, streptozotosin (STZ) veya alloksan ile indüklenen diyabetik hayvanlarda yemek sonrası kan glukozunun kontrolünde etkili olduğu bulunmuştur (17). KUE'nin STZ ile oluşturulan diyabetik hayvanlarda pankreası oksidatif strese karşı koruduğu ve hiperglisemiye iyileştirdiği rapor edilmiştir (18). Bu nedenle ALA ve KUE'nin diyabetik sıçanlarda diyafram kasındaki diyabetin neden olduğu oksidatif hasarı azaltarak diyaframın kasılabilirliğini artıracak kabul edilmiştir.

Deney hayvanlarında pankreatik hücreler üzerindeki toksik etkileri nedeniyle diyabeti tetiklemek amacıyla STZ kullanılmaktadır (19). Normal solunum işlevinin temel ve

en önemli kası diyaframdır. STZ ile indüklenmiş diyabette diyaframın kontraktil parametreleri üzerine etkileri yeterince anlaşılamamıştır ve araştırılmaya değer bir konudur. Deney hayvanlarında diyafram kas preparatı elektriksel olarak uyarılması diyafram kas kuvvetini ölçmek için kullanılan bir araçtır. Böylece nöromusküler sistemin karmaşıklığı daha erişebilir ve izole bir ortamda tekrarlanabilen bir model olması nedeniyle tercih edilmektedir.

Sunulan doktora tezi kapsamında STZ ile oluşturulan erkek Sprague Dawley sıçanlara sekiz hafta boyunca intraperitoneal (i.p.) olarak uygulanan 30, 60 ve 120 mg/kg dozlarında ALA ve 30, 60 ve 120 mg/kg dozlarında KUE dozlarının diyafram kontraksiyonu üzerine etkileri, izole organ banyo sisteminde diyafram kas preparatına elektriksel alan stimülasyonu verilerek araştırılmıştır. Aynı protokol uygulanmak üzere STZ ile oluşturulan diyabetik sıçanlara 8 IU/kg insülin ile kombinasyon şeklinde 30, 60 ve 120 mg/kg ALA sekiz hafta boyunca subkutan enjekte edilerek diyafram kontraksiyonu üzerine etkinliği incelenmiştir. Ayrıca diyafram kasında oksidatif stres durumunu tespit etmek için MDA düzeyi ile SOD, CAT ve GPx aktiviteleri ölçülmüştür.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Diyabet

Diyabetin keşfi, tanımı ve tedavisi, yaklaşık 3500 yıllık tıbbi bir geçmişe dayanmaktadır. Ebers Papirüsleri'nde milattan önce 1552 yılında Mısırlı hekim Hesy-Ra tarafından ilk defa diyabetten söz edilmiştir. Milattan sonra 200'lü yıllarda Kapadokya'lı Areateus sıvının vücutta kalmadığını, insan vücudunu terk edecek bir kanal olarak kullandığını belirtmiş ve Yunancada sifon anlamına gelen "diabetes" terimini kullanmıştır. İbn-i Sina (980-1037) ayaklarda görülen "Diyabetik kangreni" tanımlayarak bu hastalığın sinir hücrelerinin hasarına neden olduğunu fark etmiştir. Thomas Willis, 1675 yılında, diyabetik hastaların idrarının tatlı tadı nedeniyle hastalığa "mellitus" adını eklemiştir; bu tatlılık daha önceden de eski Yunan ve Hint kültürlerinde gözlemlenmiş ve karıncaları cezbeden "madhumeha" (bal idrarı) olarak adlandırılmıştır. (20). Claude Bernard (1846-1848), hayvan kanında glukoz varlığını ve karaciğerde şeker üreten "glikojen" (şeker oluşturucu) adlı bir maddenin olduğunu keşfetmiştir. Mering ve Minkowski, 1889'da pankreasın diyabet patogenezindeki rolünü bulmuştur. Banting, Best ve Collip 1922'de Toronto Üniversitesi'ndeki ineklerin pankreasından insülin hormonunu saflaştırmış ve diyabet için etkili bir tedavinin mevcudiyetine yol açmıştır (21). Günümüzde DM, ülkedeki ve dünyadaki en yaygın kronik metabolik hastalıklardan biri olup hastalığın gelişimi, seyri ve tedaviyle ilişkili yan etkilerin aydınlatılması üzerine araştırmalar devam etmektedir.

2.1.1. Diyabetin Epidemiyolojisi

Diyabet Federasyonu (IDF) verilerine göre dünya çapında 20-79 yaş aralığında yaklaşık 579 milyon yetişkin diyabet hastalığı ile mücadele etmektedir. 2030 yılına kadar bu sayının 643 milyona, 2045 yılına varıldığında ise 783 milyona ulaşması beklenmektedir. 2021 yılında yetişkinlerde diyabet prevalansı %10.5 iken, bu oranın 2030'da %11.3'e 2045'te ise %12.2'ye yükseleceği tahmin edilmektedir. Uluslararası istatistiklere göre, 2021 yılında 0-19 yaş arası T1DM'li çocuk ve gençlerin sayısı 1.2 milyon olarak kaydedilmiştir; aynı yıl içinde yaş gruplarına göre diyabetin görülme sıklığında bir artış olduğu gözlemlenmiştir; 2045 yılı için yapılan bilimsel tahminlere göre benzer eğilimlerin devam edeceği öngörülmektedir. En düşük diyabet prevalansı 20-24 yaş grubunda (2021'de %2.2), en yüksek prevalans ise 75-79 yaş arası yetişkinlerde (2021'de %24) görülmektedir ve bu oranın 2045'te %24.7'ye çıkacağı tahmin edilmektedir. 20-79 yaş arası kadınlar arasında diyabet prevalansı %10.2 ile erkeklerden (%10.8) biraz daha düşüktür (22). Türkiye'de ise

diyabet prevalansının artış hızı dünya ortalamasının üç, Avrupa ortalamasının dört katı seviyesine ulaştığı rapor edilmiştir. Türkiye’de tedavi altında 9.5 milyon diyabetli hasta olduğu tahmin edilmektedir ve bu sayı her yıl giderek artış göstermektedir (23).

Diyabetin global etkisinin prevalans üzerinden izlenmesi mümkündür. Ancak prevalansın yükselmesi her zaman diyabet gelişme riskinin arttığı anlamına gelmemektedir. Diyabetli bireylerin daha kaliteli sağlık hizmeti alması ve daha uzun süre yaşaması sonucunda prevalans artış gösterebilmektedir. Bu durum dikkate alınarak yeni diyabet vakalarının görülme sıklığını ifade eden insidansın incelenmesi önem taşımaktadır. T1DM için standart bir raporlama yöntemi bulunurken, T2DM insidansını bildiren yayınlanmış çalışmaların sayısı nispeten azdır (22).

2.1.2. Diyabetin Sınıflandırılması

DM’nin sınıflandırılması hastalığın klinik değerlendirmesinde ve gerekli tedaviye karar vermede fayda sağlamaktadır. Mevcut kullanılan sınıflandırma, hastalığın hem etiyolojisine hem de patogenezinin dayanmaktadır (Tablo 1) (24). Amerikan Diyabet Derneği (ADA)’nın 2023 yılında güncellediği sınıflandırmaya göre diyabet dört kategori altında incelenmektedir:

1. Tip 1 diyabet: otoimmün β -hücresi yıkımına bağlı olarak genellikle mutlak insülin eksikliğine yol açar, yetişkinlikte gizli otoimmün diyabet ile sonuçlanır.

2. Tip 2 diyabet: sıklıkla insülin direnci ve metabolik sendrom olan β -hücresinin yeterli insülin sekresyonunun progresif kaybına bağlı gelişen otoimmün olmayan diyabettir.

3. İlk iki kategoriye girmeyen özel nedenlere bağlı diyabet türleri: örneğin, monojenik diyabet sendromları (yenidoğan diyabeti ve genç yetişkinlikte başlayan diyabet gibi), ekzokrin pankreas hastalıkları (kistik fibroz ve pankreatit gibi) ve ilaç veya kimyasalların neden olduğu diyabet (glukokortikoid kullanımı, HIV/AIDS tedavisi veya organ transplantasyonu sonrası gibi) türleridir.

4. Gestasyonel diyabet: gebeliğin ikinci veya üçüncü trimesterinde ortaya çıkan ve gebelik öncesinde diyabet teşhisi konmamış kadınlarda görülen diyabettir.

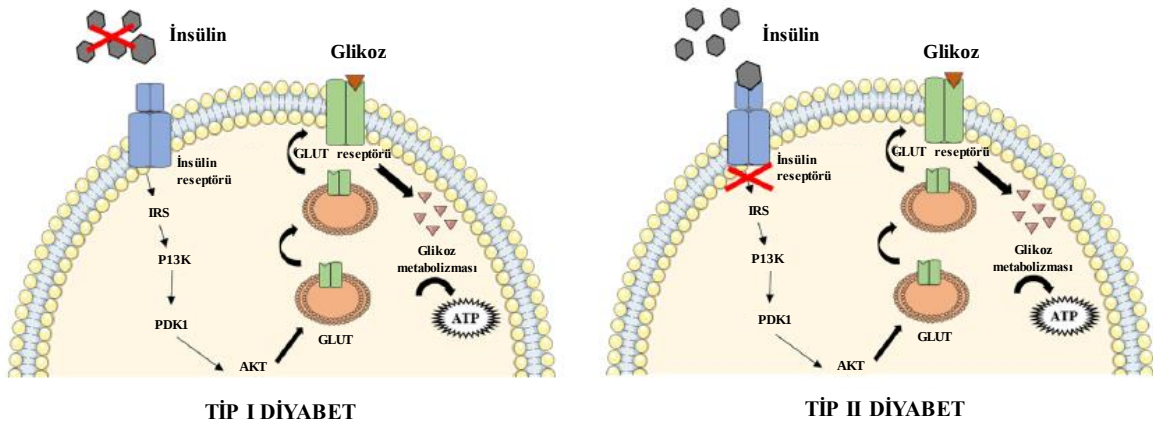
Tablo 1. Diyabetin etiyolojik sınıflandırılması (24)

I. Tip 1 diyabet (β -hücre yıkımı, genellikle mutlak insülin eksikliğine yol açar) A. Bağışıklık aracılı B. İdiyopatik II. Tip 2 diyabet (göreceli insülin eksikliğine sahip baskın insülin direncinden insülin direncine sahip baskın bir sekreter kusura kadar değişebilir)	2. Cushing sendromu 3. Glukagonom 4. Feokromositoma 5. Hipertiroidizm 6. Somatostatinoma 7. Aldosteronoma 8. Diğerleri
III. Diğer spesifik tipler A. β-hücresi fonksiyonunun genetik kusurları 1. MODY 3 (Kromozom 12, HNF-1a) 2. MODY 1 (Kromozom 20, HNF-4a) 3. MODY 2 (Kromozom 7, glukokinaz) 4. MODY'nin diğer çok nadir formları (örneğin, MODY 4: Kromozom 13, insülin hızlandırıcı faktör-1; MODY 6: Kromozom 2, NöroD1; MODY 7: Kromozom 9, karboksil ester lipaz) 5. Geçici yenidoğan diyabeti (en yaygın ZAC / HYAMI'da 6q24 baskı hatası) 6. Kalıcı yenidoğan diyabeti (en yaygın olarak b-hücresi KATP kanalının Kir6.2 alt birimini kodlayan KCNJ11 geni) 7. Mitokondriyal DNA 8. Diğerleri B. İnsülin etkisinde genetik bozukluklar 1. Tip A insülin direnci 2. Leprikonizm 3. Rabson-Mendenhall sendromu 4. Lipoatrofik diyabet 5. Diğerleri C. Ekzokrin pankreas hastalıkları 1. Pankreatit 2. Travma / pankreatektomi 3. Neoplazi 4. Kistik fibroz 5. Hemokromatoz 6. Fibrokalsülöz pankreatopati 7. Diğerleri D. Endokrinopatiler 1. Akromegali	E. İlaç veya kimyasal kaynaklı 1. Vacor 2. Pentamidin 3. Nikotinik asit 4. Glukokortikoidler 5. Tiroid hormonu 6. Diazoksit 7. β-Adrenerjik agonistler 8. Tiazidler 9. Dilantin 10. g-İnterferon 11. Diğerleri F. Enfeksiyonlar 1. Konjenital kızamıkçık 2. Sitomegalovirüs 3. Diğerleri G. İmmün aracılı diyabetin nadir formları 1. "Stiff man" sendromu 2. Anti-insülin reseptör antikorları 3. Diğerleri H. Bazen diyabetle ilişkili diğer genetik sendromlar 1. Down sendromu 2. Klinefelter sendromu 3. Turner sendromu 4. Wolfram sendromu 5. Friedreich ataksisi 6. Huntington kore 7. Laurence-Moon-Biedl sendromu 8. Miyotonik distrofi 9. Porfiri 10. Prader-Willi sendromu 11. Diğerleri
IV. Gestasyonel diyabet	

Sınıflandırma, tedavinin belirlenmesi için oldukça önem arz etmektedir, ancak bazı bireyler tanı konulduğunda net bir şekilde T1DM veya T2DM olarak açıkça kategorize edilemezler. T1DM ve T2DM, klinik prezentasyonu ve hastalığın ilerlemesinin önemli ölçüde değiştiği heterojen hastalıklardır (25).

2.1.3. Diyabetin Patofizyolojisi

T1DM, pankreas β -hücrelerinin T-hücreler tarafından tahrip edilmesiyle tanımlanan ve insülin eksikliğine bağlı olarak hiperglisemi ile karakterize edilen bir otoimmün bozukluktur. T1DM, ayrıca insüline bağımlı diyabet mellitus (IDDM) olarak da bilinir ve diyabet vakalarının yaklaşık %5-10'unu oluşturur (Şekil 1) (26, 27). Geleneksel olarak, bu diyabet tipinin çocukluk çağında ortaya çıktığına inanılmış ve "juvenil diyabet" olarak adlandırılmıştır. Ancak, vakaların büyük bir kısmı hala bu yaş grubunda olmasına rağmen, 35 ile 50 yaş arası yetişkinlerde de yaygın olarak görülmektedir. Yetişkinlerde görülen bu durum, latent otoimmün diyabet (LADA) olarak adlandırılır ve genellikle β -hücrelerinin daha yavaş bir kaybı ile karakterizedir (28). T1DM'de β -hücrelerinin T-hücre aracılı yıkımın kesin mekanizması bilinmemektedir ancak genetik yatkınlık (HLA sınıfı alelleri) ve çevresel faktörler (diyet faktörleri, viral enfeksiyon ve toksinler) büyük ölçüde rol oynamaktadır. T1DM'nin semptomatik başlangıcı ortaya çıktığında β -hücresinin yaklaşık %85'inden fazlası zaten hasarlanmış durumdadır (11).



Şekil 1. T1DM ve T2DM'nin insülin sinyalleşmesinin şematik gösterimi (Dhanya'dan, 30)

T1DM üç evre de incelenir:

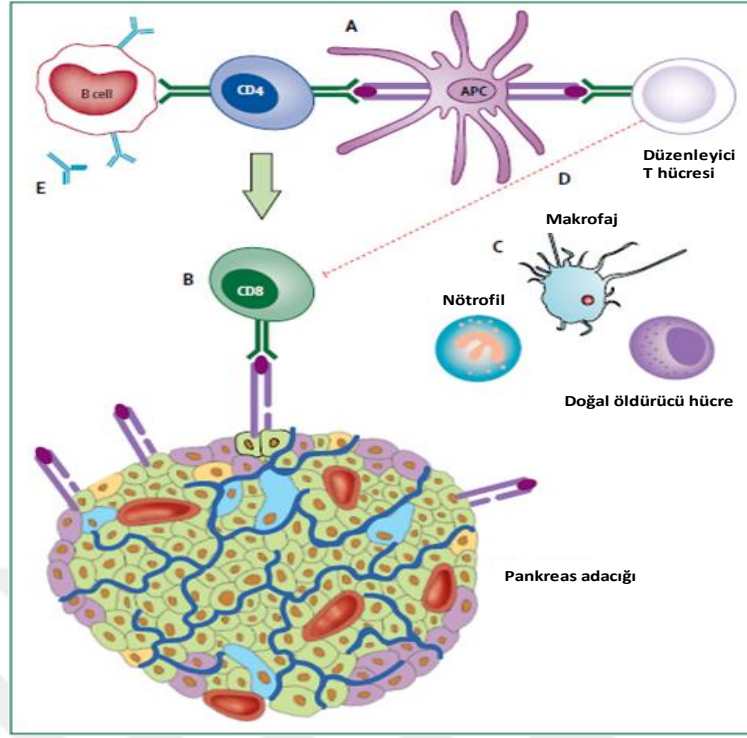
Evre 1'de, kişi normoglisemik durumdadır ve en az iki pankreatik otoantikora sahiptir. Bu evrede otoimmün belirteçler değişkendir ve kişi asemptomatiktir.

Evre 2, tanı kriterleri arasında iki veya daha fazla pankreatik otoantikoron varlığı ve disglisemi yer alır ancak kişi hala asemptomatik olduğundan bu aşama sıklıkla atlanmaktadır.

Evre 3, yeni başlayan hiperglisemi, klinik semptomlar ve mevcut otoantikokorlarla karakterizedir (28).

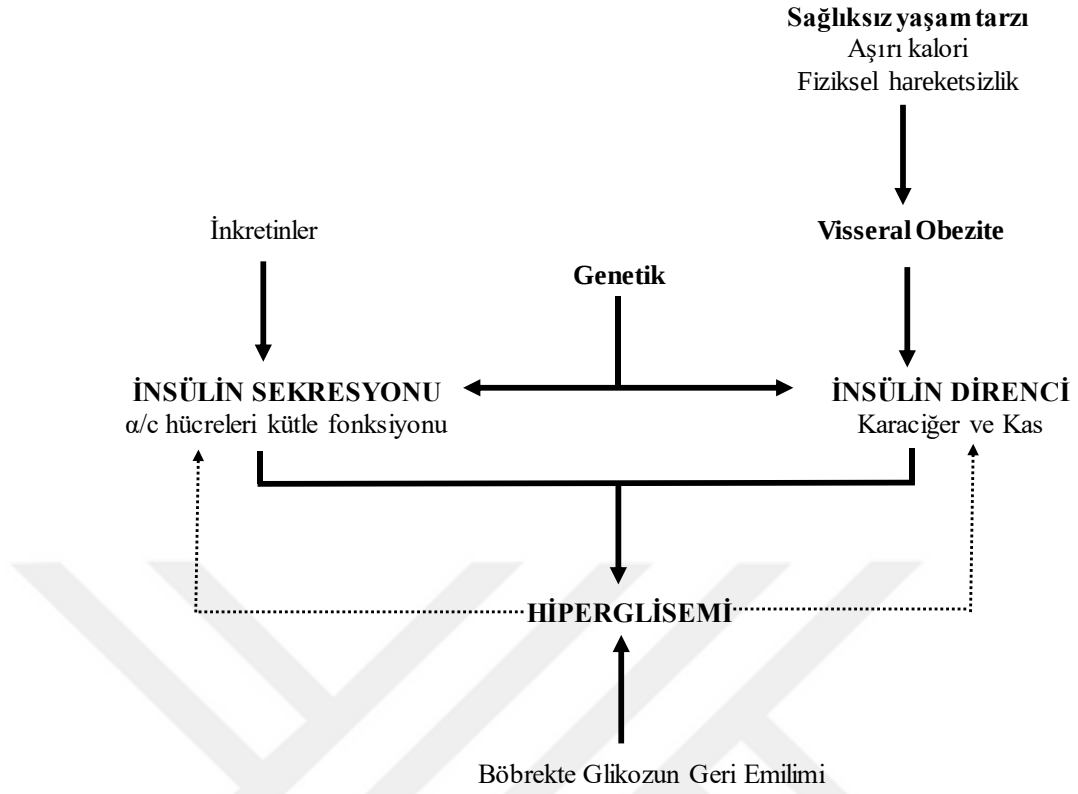
T1DM tanısı genellikle kişilerin poliüri, polidipsi ve kilo kaybı yaşadıkları üçüncü evrede konur; hastaların yaklaşık üçte birinde diyabetik ketoasidoz gelişmektedir (30). Bununla birlikte, ilerleyici insülin eksikliği nedeniyle, şiddetli hiperglisemi ve ardından ketoasidozun ortaya çıkmasıyla beraber bu kişiler yaşamlarının başlangıcında, ortasında ve hatta daha sonraki aşamalarında ciddi veya mutlak insülin eksikliği yaşamakta ve yaşamlarını sürdürebilmek için dışarıdan insülin alımına ihtiyaç duymaktadırlar (Şekil 1) (27).

Terminolojide, insüline bağımlı olmayan diyabet (NIDDM) ya da yetişkin başlangıçlı diyabet olarak da tanımlanan T2DM, diyabet vakalarının yaklaşık %90-95'ini oluşturmaktadır. T2DM, insülin direnci ve β -hücre disfonksiyonu ile karakterizedir (27). İnsülin direnci çeşitli hücresel yolakların bozulmasından kaynaklanır, bu da özellikle kas, karaciğer ve yağ dokusu gibi periferik dokularda hücrelerin insüline karşı duyarlılığı veya yanıtının azalmasına neden olmaktadır. Hastalığın erken evrelerinde, insülin duyarlılığının azalması, normoglisemiye sürdürmek için insülin sekresyonunda telafi edici bir artış sağlamak üzere β -hücrelerinin aşırı uyarılmasını tetiklemektedir. Böylece dolaşımdaki daha yüksek insülin seviyeleri (hiperinsülinemi) hipergliseminin önlenmesine yardımcı olmaktadır. Ancak zamanla, β -hücrelerinin artan insülin üretimi, insülin duyarlılığındaki düşüşü tam olarak telafi edemez. Bu durum β -hücrelerinin fonksiyonunun azalmasına ve sonuçta insülin eksikliğine neden olmaktadır. Bu eksiklik, normoglisemi seviyelerinin korunamamasına ve hipergliseminin ortaya çıkmasına yol açmaktadır. İnsülin düzeyinin düşmesi durumunda bile diyabetik ketoasidozun oluşumunu engellemek için yeterli insülin salgılanabilmektedir (31). Ancak diyabetik ketoasidoz, enfeksiyonlar veya diğer ağır stres durumları gibi patofizyolojik senaryolarla ilişkilendirilen durumlarla tetiklenmektedir. Yaygın kullanılan bazı ilaçlar, özellikle sodyum-glukoz ko-transporter-2 (SGLT2) inhibitörleri, kortikosteroidler ve ikinci nesil antipsikotikler diyabetik ketoasidoz riskini artırdığı bilinmektedir (27, 32).



Şekil 2. T1DM'nin immünopatogenezi (DiMeglio'dan, 31) A) T1DM gelişimi, antijen sunan hücrelerin (APC'ler) β hücrelerinden elde edilen peptidleri sunmasıyla başlar. Bu otoantijenleri taşıyan APC'ler, pankreatik lenf düğümlerine göç eder ve burada otoreaktif CD4+ T hücreleriyle etkileşime girerler. Bu etkileşim, otoreaktif CD8+ T hücrelerinin aktivasyonunu tetikler. B) Aktive edilen CD8+ T hücreleri pankreas adacıklarına geri döner ve majör doku uyumluluk kompleksi sınıf I yüzey molekülleri üzerinde immünojenik öz antijenleri eksprese eden β hücrelerini yok ederler. C) β hücrelerinin tahribatı, doğuştan gelen bağışıklık hücreleri (makrofajlar, doğal öldürücü hücreler ve nötrofiller) tarafından salınan proinflamatuvar sitokinler ve reaktif oksijen türleri ile daha da şiddetlenir. D) Otoimmün yanıt etkili bir şekilde baskılayamayan düzenleyici T hücrelerindeki kusurlar bu süreci daha da hızlandırır. E) Pankreas lenf düğümlerinde aktive olan T hücreleri ayrıca B hücrelerini uyarak β hücre proteinlerine karşı otoantikörler üretmelerine neden olur. Bu otoantikörler dolaşıma geçer ve tip 1 diyabetin tanısında önemli bir biyolojik belirteç olarak kabul edilir.

T2DM, yıllar içinde gelişen hafif hiperglisemi ile bile çok yavaş ve asemptomatik olarak ilerlemekte ve bu nedenle hastalığın ileri evrelerinde kilo kaybı, büyüme bozukluğu, bulanık görme, poliüri ve polidipsi gibi şiddetli hiperglisemi ile ilişkili klasik semptomlar ortaya çıkana kadar büyük ölçüde teşhis edilmemiş olarak kalmaktadır. T2DM artan yaş, obezite, ailede diyabet öyküsü, fiziksel hareketsizlik ve modern yaşam tarzlarının benimsenmesi ile ilişkilendirilmektedir. Obezite, dokuların insülin direncinin gelişimi üzerindeki etkisi nedeniyle sistemik glukozun homeostatik düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Bu nedenle T2DM'li hastaların pek çoğu kilolu veya obezdir (Şekil 3) (33).



Şekil 3. T2DM patofizyolojisinin şematik diyagramı (Zaccardi'den, 35)

2.1.4. Deneysel Diyabet Modelleri

Bir hastalığın deneysel hayvan modelinin varlığı, sadece hastalığın patofizyolojisinin anlaşılmasına değil, aynı zamanda potansiyel tedavilerin geliştirilmesine de katkı sağlamaktadır. Diyabet üzerinde çalışmak veya antidiyabetik ajanları test etmek için çeşitli hayvan modelleri geliştirilmiştir. Bu modeller, kimyasal, cerrahi (pankreatektomi) ve genetik manipülasyonlar gibi çeşitli yöntemlerle diyabeti indüklemek için kullanılmaktadır. Alloksan monohidrat, nikotinamid içeren veya içermeyen streptozotosin, ferrik nitrilotriasetat, ditizona ve anti-insülin serumu kullanılan diabetojenik ilaçlardır. Günümüzde kullanılan hayvan modelleri şunlardır (Şekil 4) (35):

1. Normoglisemik hayvan modeli
2. Oral glukoz yükleme hayvan modeli
3. Diyabetin kimyasal indüksiyonu
 - (i) Streptozotosin diyabet modeli
 - (ii) Alloksan diyabet modeli

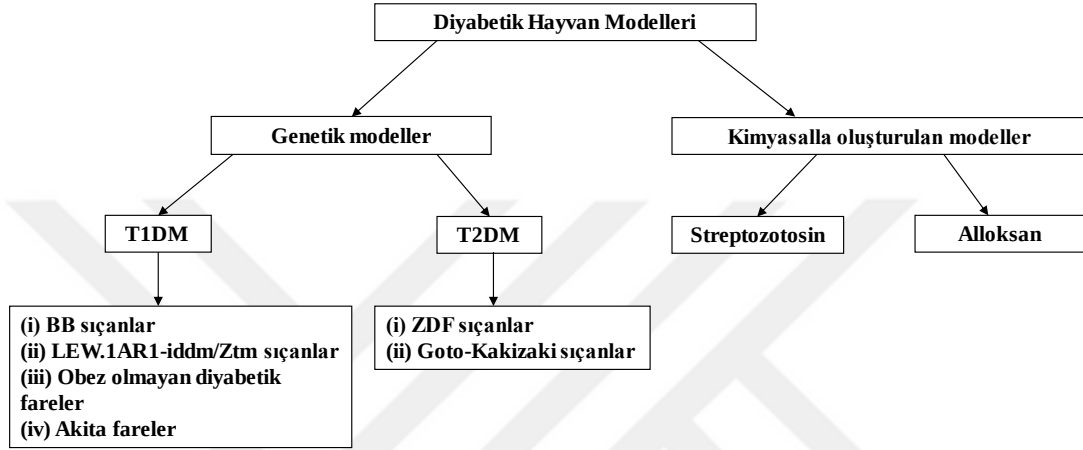
(iii) Diyabetin ferrik nitrilotriasetat indüksiyonu

4. Diyabetin cerrahi modeli

5. Genetik modeller

(i) Spontan olarak geliştirilen diyabetik sıçanlar

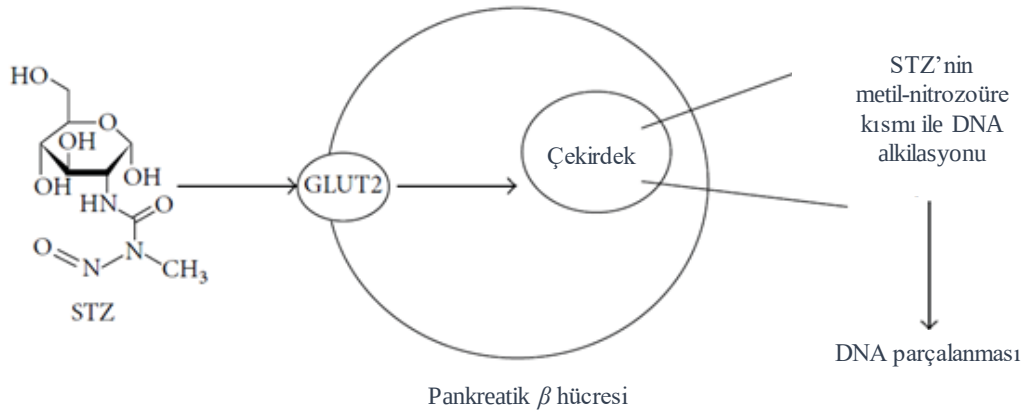
(ii) Genetik olarak geliştirilen diyabetik fareler



Şekil 4. DM'nin hayvan modelleri (Al-Awar'dan, 37)

2.1.5. Streptozotosin Diyabet Modeli

Streptozotosin veya streptozosin (STZ, 2-deoksi-2-(3-metil-3-nitrosoüre)-1-D-glukopiranoz), toprak bakterisi *Streptomyces achromogenes* fermentasyonlarından izole edilen ve geniş spektrumlu antibakteriyel özellikler gösteren bir bileşiktir. STZ, $C_8H_{15}N_3O_7$ moleküler formülüne ve 265 g/mol moleküler ağırlığa sahip bir nitrozüre glukopiranoz türevidir. STZ, pankreasın insülin üreten β -hücrelerine sitotoksik bir etki göstermekte ve etkileri uygulanan doza bağlı olarak uygulamadan sonraki 72 saat içinde görülebilmektedir (37). Rakieten ve arkadaşları 1963 yılında STZ'nin diyabetojenik olduğunu bildirmişlerdir ve 1963 yılından beri deney hayvanlarında diyabet indüksiyonu için en çok tercih edilen kimyasal ajanlardan biri olmuştur. STZ sıçanlarda diyabet indüksiyonu için en yaygın kullanılan ilaçlardan biri olmasına rağmen, kronik deneylerde kullanımının bazı dezavantajları bulunmaktadır. Özellikle yüksek kan şekeri seviyelerinden kaynaklanan insülinoma, böbrek ve karaciğer tümörü insidansına neden olabilmektedir. Bu problemler STZ'nin onkojenik etkisinden kaynaklanmaktadır (Şekil 5) (35).



Şekil 5. Beta hücrelerinde STZ'nin etki mekanizması (Al-Awar'dan, 37)

2.2. Antioksidanlar

Diyabet vakalarının pek çoğunda ve diyabetik komplikasyonların patogeneğinde oksidatif stres önemli rol almaktadır, oksidatif stres ve diyabet arasındaki ilişki göz önüne alındığında, diyabetli hastaların sağlığını diyet antioksidan takviyeleriyle desteklemek yarar sağlamaktadır (11). Antioksidanlar, serbest radikallerin ve oksidanların etkisini engelleyen, azaltan, geciktiren ve/veya tamamen temizleyen ve vücudu oksidatif hasardan koruyan moleküllerdir (38). Bu moleküller yüksek etkinliğe sahiptir ve başlıca üç mekanizma ile serbest radikal kaynaklı oksidatif strese karşı savunma sağlamaktadırlar (11) :

1. ROS süpürücü ajan; ROS'un azalmasını kolaylaştırır,
2. Şelatlama ajanı; metalleri kompleks haline getirerek serbest radikal oluşumunu engeller,
3. Fenolik ajan; protonları serbest radikallerle değiştirerek yayılma reaksiyonunu önler.

Bir antioksidanın sağlık üzerindeki etkisi, sistemik biyoyararlanımına, belirli organ bölgelerine iletilen bileşiğin konsantrasyonuna ve bu antioksidanın beklenen işlevi yerine getirip getiremeyeceğine bağlıdır (39).

2.2.1. Enzimatik Antioksidanlar

İnsan vücudu, oluşan reaktif türleri nötralize eden bir enzim piline sahiptir. Vücut oksidatif strese maruz kaldığında SOD, CAT ve GPx gibi enzimler ilk antioksidan savunma hattını oluşturmaktadır. Bu enzimlerin oluşumu ve/veya etkinliği için selenyum, bakır,

manganez ve çinko olmak üzere birçok temel mineral gereklidir. Bu nedenle, bu mineralleri sağlayan besinler yetersizse, serbest radikallere karşı enzimatik savunmalar yetersiz kalmaktadır (40).

SOD (EC 1.15.1.11) esas olarak vücuttaki her hücrede bulunan endojen bir hücre içi enzimdir. SOD, O_2^- nin H_2O_2 'ye geçişini katalize eder. Ayrıca SOD, aktif merkezinde bakır ve çinko, bazen demir ve manganez bulunduran bir metalloenzimdir ve hücrelerin oksidatif hasara karşı korunmasında önemli bir rol oynamaktadır (41).

CAT (EC 1.11.1.6), çoğu hücrede mevcuttur ve esas olarak memeli hücrelerin peroksizomlarında bulunan bir enzimdir. CAT, H_2O_2 'nin H_2O ve O_2 'ye ayrışmasını katalize etmektedir. CAT, H_2O_2 konsantrasyonuna bağlı olarak iki enzimatik aktiviteye sahiptir. H_2O_2 konsantrasyonu yüksek ise, CAT katalitik davranmakta, yani H_2O ve O_2 oluşturarak H_2O_2 'yi gidermektedir. Bununla birlikte, düşük bir H_2O_2 konsantrasyonunda substratını oksitleyerek peroksik olarak hareket etmektedir (39).

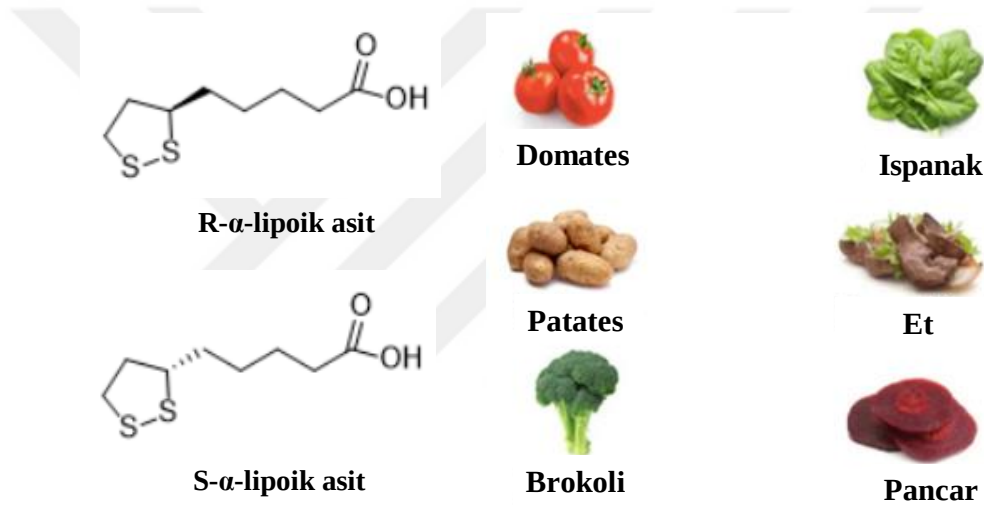
GPx (EC 1.11.1.9) hem sitozolde hem de mitokondride bulunmaktadır. GPx, glutasyonu kofaktör olarak kullanarak H_2O_2 ve lipid hidroperoksitlerin H_2O ve lipid alkollere indirgenmesini katalize etmektedir (42).

2.2.2. Alfa-Lipoik Asit

Alfa-lipoik asit (ALA), 1,2-ditiolan-3-pentanoik asit veya tiotik asit olarak da bilinen, mitokondride yaygın olarak bulunan ve enzimatik fonksiyonlarda kofaktör görevi gören kaprilik asit türevi bir antioksidandır. ALA, 1951'de Reed (43) tarafından bir asetat değiştirme faktörü olarak izole edilmiştir. İlk klinik kullanımı 1959'da ölüm kapağı mantarı olarak da bilinen *Amanita phalloides*'in neden olduğu akut zehirlenmenin tedavisine dayanmaktadır. ALA bitkiler, hayvanlar ve insanlardan üretilen ve doğada bulunan bir organosülfür bileşiğidir. Krebs döngüsünde, hücre için enerji üretiminde yer alan bazı enzimatik kompleksler için bir kofaktör olarak görev yaparak çeşitli kimyasal reaksiyonlarda önemli roller oynamaktadır. Ayrıca proteinlerle kovalent bağlar oluşturur ve terapötik potansiyele sahiptir (44). ALA antioksidan ve terapötik potansiyeli nedeniyle evrensel bir antioksidan olarak kabul edilmektedir. ALA bir dizi hücresel etkiye sahiptir. Güçlü bir antioksidan olarak işlev görürken aynı zamanda bir metal şelatörü ve hücresel sinyal yollarının aracısıdır (45).

2.2.2.1. Alfa-Lipoik Asitin Yapısı

ALA tek bir kiral merkeze sahip olup birbirinin ayna görüntüsü olarak kabul edilen S ve R enantiyomerleri olarak adlandırılan iki konfigürasyona sahiptir (Şekil 6). Hem S hem de R enantiyomerleri ALA'da eşit olarak bulunmaktadır. Ancak R izomerik formu doğal olarak bulunurken, S izomeri kimyasal işlemlerle hazırlanmakta yani sentetiktir. Gıdalar, R enantiyomerinin doğal bir kaynağıdır ve canlı organizmaların içinde proteinlerle kovalent bağlar oluşturarak doğal olarak üretilmektedir. ALA doğada R enantiyomeri olarak bulunurken, sentetik takviyeler R ve S formlarının rasemik bir bileşiminden oluşmaktadır (46).



Şekil 6. ALA'nın optik izomerlerinin kimyasal yapısı ve doğal kaynakları (Salehi'den, 48)

2.2.2.2. Alfa-Lipoik Asitin Metabolizması

ALA'nın plazma ve insan hücrelerindeki miktarı, diyet yoluyla alınmadığı sürece vücut ihtiyaçlarını karşılamak için yeterli değildir. ALA'nın diyet yoluyla ağızdan alımı, vücudun enerji ihtiyacını karşılamak için miktarını önemli ölçüde artırmaktadır. Çalışmalar, açlık sırasında hem R hem de S izomerlerinin karışımının ağız yoluyla alındığında ALA emiliminde %40'lık bir artış olduğunu, gıda kaynakları yoluyla alındığında ise %20'lik bir azalma meydana geldiğini göstermektedir. ALA R- izomerinin etkinliği, plazmada daha fazla stabilite göstermekte ve uygun şekilde emilmektedir. ALA'nın biyoyararlanımının gıda alımından sonra büyük ölçüde azaldığı ve ALA'nın yemekten en az iki saat sonra veya daha

önce alınması şeklinde tüketilmesi önerilmiştir. Bununla birlikte, ALA uygulamasından en az 30 dakika sonra yemek yemenin tavsiye edildiği belirtilmiştir (48).

Diyetteki ALA kaynakları et ile birlikte daha az miktarlarda meyve ve sebzelerdir. ALA, hayvanlarda kırmızı et, böbrek, karaciğer ve kalpte bulunurken bitkilerde ıspanak, domates, brokoli, brüksel lahanası, bezelye, patates ve pirinç kepeğinde bol miktarda bulunmaktadır (Şekil 6). Ispanağın en yüksek proteine bağlı ALA içeriğine sahip olduğu ve brokolinin ALA konsantrasyonu bakımından hayvan dokularındaki kadar yoğun olduğu bulunmuştur (45).

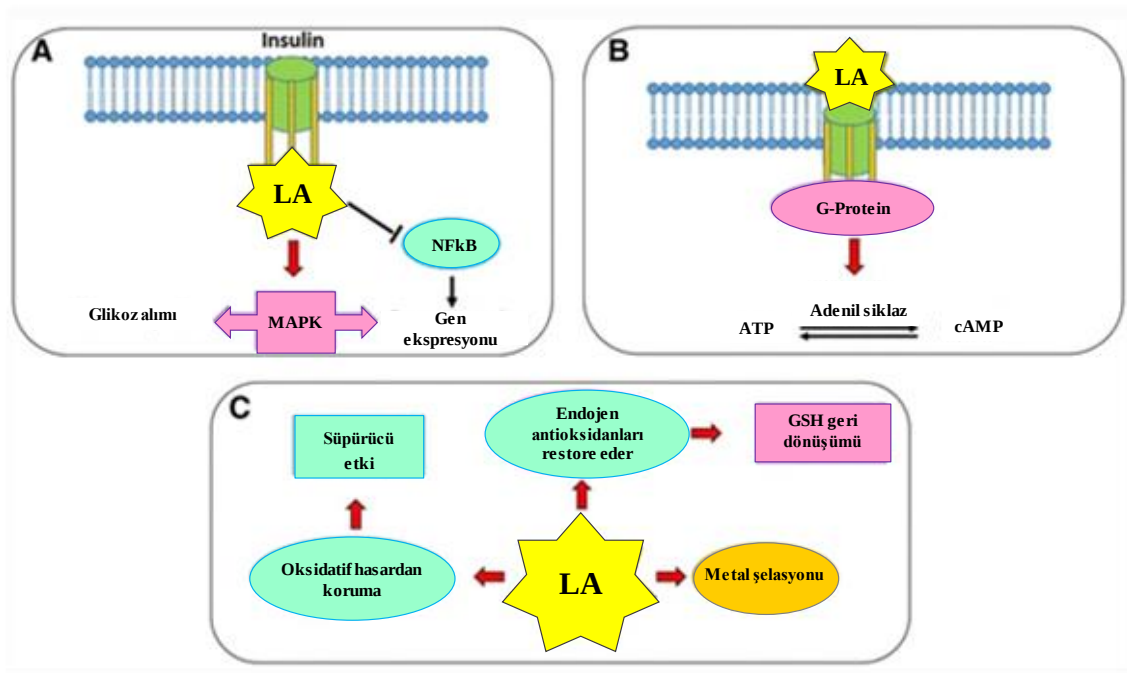
Diyetle birlikte alınan ALA'nın %93 ve daha fazlası ince bağırsaktan hızla emilerek karaciğere ulaşmaktadır. Karaciğerde ALA, hücre içinde DHLA formuna indirgenmektedir. ALA ve DHLA karaciğerde mitokondriyal β -oksidasyon yoluyla metabolize edilmektedir. Sıçanlarda ve insanlarda ALA esas olarak metabolitler halinde idrarla atılmaktadır ve bu atılımın baskın formu 4,6 bismetilmerkaptotoksanoik asittir. Sıçanlarda, oral yolla uygulanan radyoaktif işaretli ALA'nın yaklaşık olarak %80'i idrarda bulunmuştur (49).

2.2.2.3. Alfa-Lipoik Asitin Antioksidan Özellikleri

ALA doğal antioksidanlar arasında pek çok gereksinimi karşılama kabiliyeti açısından benzersizdir. Bu özelliği ALA'yı oksidatif hasarla ilişkili bir dizi patolojik durum için potansiyel olarak oldukça etkili bir terapötik ajan haline getirmektedir. Hücreler, ROS üretimi ve uzaklaştırılması arasındaki denge bozulduğunda oksidatif strese maruz kalmaktadır. Oksidatif stres durumunda, hücreler oksidan etkileri nötralize etmek ve kritik homeostatik parametreleri sıfırlayarak redoks dengesini yeniden sağlamak için yanıt vermektedir. Hücreler oksidatif hasardan korunmak için serbest radikallerle savaşabilen, sonuçlarını etkisiz hale getiren ve hücrel modifikasyon süreçlerini yavaşlatabilen mekanizmalara sahiptir. Bu alanda son nesil antioksidanlar arasında ALA ve DHLA hidroksil radikalleri, hipokloröz asit, singlet oksijen ve peroksil radikalleri gibi ROS ve nitrojen türlerini temizleyici işleve sahiptir. Ayrıca her ikisi de birçok maddenin oksidasyonundan sorumlu demir, bakır ve diğer geçiş metallerini şelatlamaktadır (Şekil 7). ALA ağır metal detoksifikasyonunda da rol almaktadır. ALA kararlı kompleksler oluşturmak için bu metalleri bağlamaktadır. Ayrıca bakır tarafından katalize edilen askorbik asidin oksidasyonunu önleyebilmekte ve bakır tarafından katalize edilen lipid peroksidasyonunu inhibe edebilmektedir. Aynı zamanda E vitamini ve askorbik asit gibi

antioksidanları radikal formlarıyla yeniden üretimini sağlayarak hücrenin antioksidan kapasitesini korumaktadır (50).

Glutasyon (GSH), serbest radikaller, ağır metaller ve lipid peroksitler gibi ROS türlerinin neden olduğu çeşitli hücresel bileşenlerdeki yaralanmaları ve hasarları önleyebilen bir antioksidandır. ALA'nın temel özelliklerinden biri de GSH ile etkileşimi ve endojen GSH'ı geri dönüştürme kabiliyetidir. GSH seviyelerinin azaldığı yaşlı sıçanlarda damardan ALA (40 mg/kg) verilmesi hem kalp hem de beyindeki doku GSH seviyelerini geri kazandırdığı sonucuna ulaşmışlardır (Şekil 7) (51).



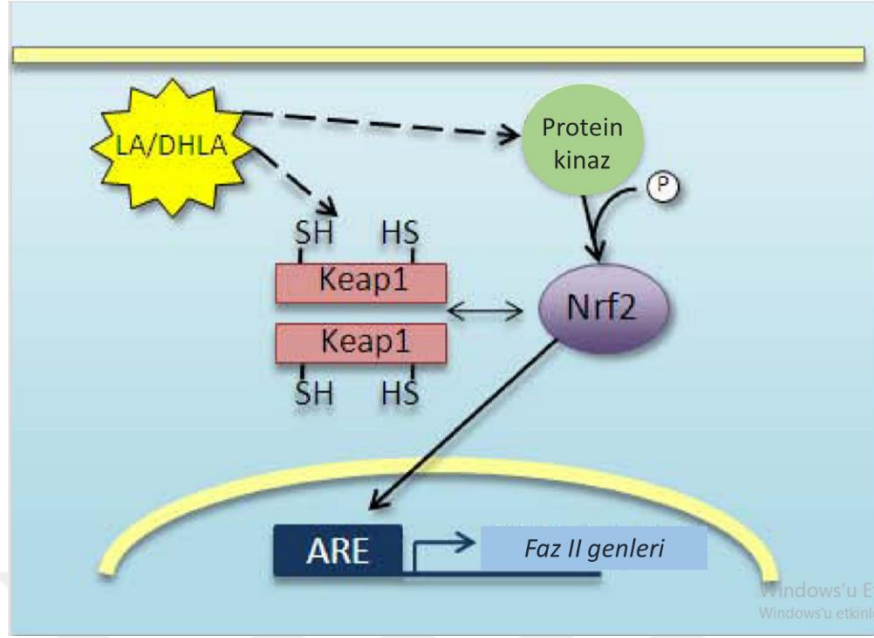
Şekil 7. ALA'nın biyolojik özellikleri (Tibullo'dan, 51) A) ALA, glukoz alımını uyaran insülini taklit eder. ALA, hücre içindeki tirozin kinazı bağlar. ALA ayrıca reseptör tirozin kinazların aktivasyonundan bağımsız olabilen MAPK (mitogenle aktive olan protein kinaz) ve NF-kB (nükleer faktör kappa B) aktivitelerini modüle edebilir. B) ALA, G protein reseptörlerine bağlanır ve bu da ATP'den cAMP üretebilen Adenilat siklazın (AC) aktivasyonuna yol açar. C) ALA pek çok antioksidan özellik gösterir: endojen antioksidanları eski haline getirmek (GSH'yi geri dönüştürmek); oksidatif hasardan korumak için (ROS ve NOS'un süpürücü aktivitesi); ve metal şelasyonu

Nrf2/Keap1 yolu, hem normal hem de oksidatif stres koşullarında hücresel homeostazı düzenleyen ana yollardan birisidir. Nrf2 (Nuclear factor erythroid 2-related factor 2) antioksidan tepkisinin “ana düzenleyicisi” olarak bilinmekte ve yaklaşık 100 genin işleyişini kontrol ederek hücrenin sağlığını korumaya yardımcı olmaktadır. Nrf2 proteinini

serbest radikallerin metabolizmasından, transkripsiyonel düzenlemeye, büyüme faktörlerinden, proteazom işlevine, toksik madde taşınmasından, DNA hasarının tanınmasına kadar pek çok hücrel süreçte önemli rol oynamaktadır (52).

Nrf2 normal fizyolojik koşullar altında genellikle aktin bağlı inhibitör protein olan Keap1 (Kelch-like ECH-associated protein 1) ile birlikte sitozolde bağlı halde bulunmaktadır. Keap1 Nrf2'nin sitoplazmada kalmasını sağlayan bir protein olup, Nrf2'nin çekirdek içine geçişini ve antioksidan ile detoksifikasyon genlerinin ekspresyonunu düzenlemesini engellemektedir. Oksidatif stres koşullarında Keap1'in yapısı bozulmakta ve Nrf2 serbest kalmaktadır. Serbest kalan Nrf2, çekirdeğe taşınmakta ve Maf proteini (muskuloaponevrotik fibrosarkom onkogen familyası) ile heterodimerize bir yapı oluşturmaktadır. Nrf2-Maf heterodimeri antioksidan genlerin promotör bölgesinde yer alan ARE (Antioxidant Response Element) adı verilen özel DNA dizisine bağlanmaktadır. ARE dizisi, antioksidan enzimleri ve detoksifikasyon enzimlerinin gen ifadesini tetiklemektedir. Bu genler, oksidatif stres sonucu oluşan zararlı maddeleri nötralize ederek hücreyi korumaktadır (53).

ALA, Nrf2 bozunmasını durdurmak ve Keap1'in yeni sentezlenen Nrf2'ye bağlanmasını önlemek için Keap1 dimerindeki kritik tiyolleri oksitleyebilmektedir. ALA Nrf2'nin fosforilasyonuna neden olan protein kinaz sinyal yollarını aktive ederek Nrf2'nin Keap1'den ayrılmasına neden olmaktadır. Nrf2 daha sonra çekirdeğe yerleşip ARE'ye bağlanarak Faz II detoksifikasyon yanıtı için genlerin transkripsiyonunu teşvik edebilmektedir (Şekil 8). ALA Nrf2 yolağını aktive ederek antioksidan ve hücrel koruma sağlayan genlerin ifadesini artırmaktadır. Bu yolak, ALA'nın oksidatif stresin neden olduğu hasarları önlemede ve metabolik hastalıklar, diyabet ve nörodejeneratif hastalıklarda koruyucu etkiler göstermesinin temel mekanizmalardan biri olarak kabul edilmektedir (54).



Şekil 8. ALA'nın Nrf2 aracılı transkripsiyon yoluyla Faz II genlerinin indüksiyonu için önerilen etki mekanizması (Shay'dan, 55)

2.2.3. Kuersetin

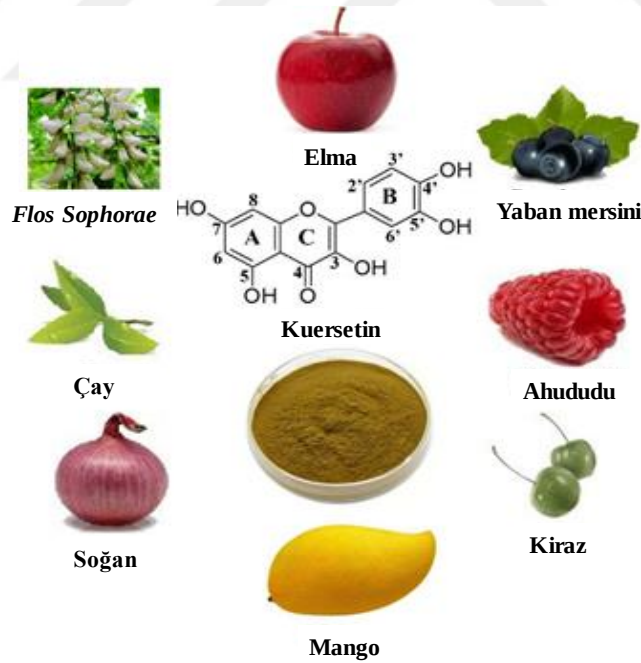
Kuersetin (3,3',4',5,7-pentahidroksiflavyon), Meşe Ormanı anlamına gelen Latince “Quercetum” kelimesinden türeyen ve insan vücudunda üretilmeyen bir flavonol türüdür (55). Bioflavonoidler ilk olarak 1938 yılında Albert Szent Gyorgyi tarafından keşfedilmiştir. Flavonol, flavon, flavanon, izoflavon ve antosiyanin olarak sınıflandırılan flavonoidler serbest radikalleri yok eden doğal antioksidanlardır. Çiçeklerin, meyvelerin ve yaprakların renklerinden başlıca sorumlu olan 5000'den fazla flavonoid çeşidi tanımlanmıştır (29).

Kuersetin, turuncgiller, yeşil yapraklı sebzeler, tohumlar, çiçekler, karabuğday, ağaç kabukları, brokoli, fındık, zeytin, soğan, elma, yeşil çay, kırmızı üzüm ve meyvelerde en bol bulunan ve kapsamlı olarak araştırılan diyet flavonollerinden birisidir (Şekil 8). Bir aglikon olan kuersetin tipik olarak meyve ve sebzelerde kuersetin glukozit, kuersetin glukuronid, kuersetin rutinozit gibi glikokonjugatlar şeklinde bulunmaktadır. Sarı renklidir ve soğuk suda çözünmez, sıcak suda zayıf, alkol ve yağda ise iyi çözünürlüğe sahiptir (29). Kuersetin'in stabilitesi sıcaklık, pH değeri, oksijen konsantrasyonu, diğer antioksidanların konsantrasyonu ve metal iyonlarının varlığından etkilenmektedir. Bu nedenle gıdanın işlenmesi ve depolanması sırasında kimyasal değişikliklere uğramaktadır (56).

Kuersetinin obezite önleyici, antidiyabetik, antibakteriyel, anti-inflamatuar ve Şiddetli Akut Solunum Yolu Sendromu Coronavirüs-2 (SARS-CoV-2) ve İnfluenza virüsüne karşı antiviral özelliklere sahip olduğunu iddia eden çalışmalar mevcuttur (29, 57). Bu özelliklerin çoğu, glikasyonun türü, sayısı ve konumuna göre değişen iyi bilinen antioksidan potansiyeli ile güçlü bir şekilde ilişkilidir. Güçlü bir antioksidan olan kuersetin, ya ROS'u temizleyerek ya da endojen antioksidan savunmalarını artırarak aktivite göstermektedir (29).

2.2.3.1. Kuersetinin Yapısı

Geniş bir bitki bileşikleri ailesi olan flavonoidler, üç halkalı bir moleküle bağlı hidroksil [OH] gruplarından oluşan benzer bir flavon omurgasına sahiptir. Temel yapıları A ve B adı verilen iki aromatik halka ve bu iki halkayı birleştiren C adı verilen heterosiklik halkadan oluşmaktadır (Şekil 9). Kapalı formülü $C_{15}H_{10}O_7$ olan kuersetin 3,5,7,3' ve 4' pozisyonlarında -OH grubuna sahip olduğu için 3,3',4',5,7-pentahidroksiflavon olarakta bilinmektedir (58).



Şekil 9. Kuersetinin kimyasal yapısı ve doğal kaynakları (Shi'den, 61)

2.2.3.2. Kuersetinin Metabolizması

Flavonoidlerin emilimi için bağırsak mikrobiyotasının önemli olduğu belirtilmektedir (58). Bağırsak mikrobiyotasında kuersetinin pek çok bakteri (*Eubacterium ramulus*, *Clostridium orbiscindens*, *Eubacterium oxidoreducens*, *Butyrovibrio spp.*) tarafından parçalandığı bildirilmiştir (60, 61). Kuersetin, 3,4-dihidroksifenilasetik asit, 3-(3-hidroksifenil) propiyonik asit, 3,4-dihidroksibenzoik asit ve 4-hidroksibenzoik asit gibi kolayca emilebilen düşük moleküler ağırlıklı fenolik bileşiklere dönüşmektedir (61).

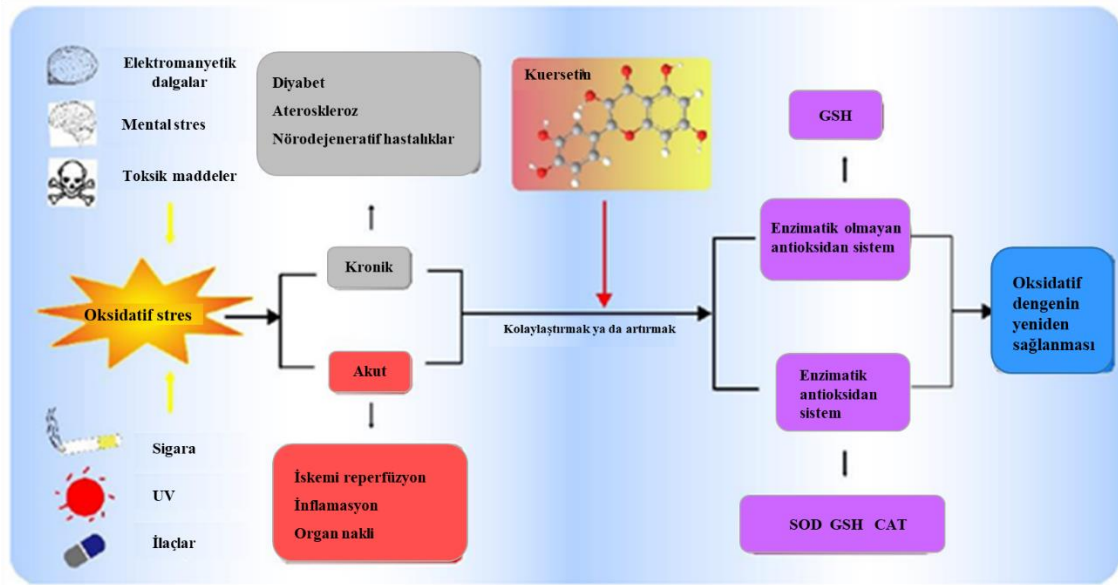
Kuersetin tüketildikten sonra bağırsakta emilmekte ve ardından ince bağırsak, kolon, karaciğer ve böbrek dahil olmak üzere çeşitli organlarda metabolize edilmektedir. Kuersetin metabolitleri dolaşım sisteminde metillenmiş, sülfatlanmış ve glukuronlanmış türevlere konjuge olmakta ve sonunda safra, idrar ve feçes yoluyla atılmaktadır (62).

2.2.3.4. Kuersetinin Antioksidan Özellikleri

Oksidatif stres, oksidatif hasarda bir artışa yol açabilir ve bu durum aşırı serbest radikal üretimine ve endojen antioksidan savunma sisteminin bozulmasına neden olmaktadır (62). Serbest radikalleri ve reaktif türevleri ortadan kaldırma ve dolayısıyla oksidatif stresi ve buna bağlı hasarı azaltabilmelerinden ötürü, ekzojen antioksidanlar önerilmektedir (58). Kuersetin, diyetle alınan önemli ekzojen antioksidanlardan birisidir (62). Kuersetinin antioksidan aktivitesi esas olarak çevresel ve toksikolojik faktörlerin neden olduğu GSH, enzimatik aktivite, sinyal iletim yolları ve ROS üzerindeki etkisi ile kendini göstermektedir. Kuersetin, oksidatif dengeyi koruyarak güçlü bir antioksidan aktivite göstermektedir. Çevresel faktörler ROS üretimini artırmaktadır. Mitokondriyal elektron taşıma zinciri (mito ETC), hücre içi ROS üretiminin bir başka sağlam kaynağıdır. Kuersetin, enzim aracılı ve enzime bağımlı olmayan antioksidan savunma sistemini düzenleyebilmektedir. Ayrıca ROS'un neden olduğu NRFB, AMPK (AMP ile aktive edilen protein kinaz) ve MAPK gibi sinyal yollarını antioksidan savunma sistemini teşvik etmek ve oksidatif dengeyi korumak için düzenlemektedir (63).

Kuersetin, GSH seviyelerini düzenleyerek vücudun antioksidan kapasitesini artırmaktadır. Bunun nedeni, vücutta serbest oksijen radikalleri üretildiğinde, SOD hızla O₂-yakalayıp onu H₂O₂'ye dönüştürmesidir. Bu enzim ayrıca H₂O₂'nin toksik olmayan H₂O'ya ayrışmasını da katalize etmektedir. Bu reaksiyon, bir hidrojen donörü olarak GSH'yi gerektirmektedir. Hayvan ve hücre çalışmaları, kuersetinin GSH sentezini indüklediğini bulmuştur (Şekil 10) (64).

Kuersetinin yan fenil halkasındaki –OH grupları, iki enzimin aktif bölgesindeki önemli amino asit kalıntılarına bağlanmaktadır. Bu şekilde, oksidatif özelliklerle ilişkili anahtar enzimler olan asetilkolinesteraz (AChE) ve butirilkolinesteraz (BChE)’ye karşı daha güçlü bir inhibitör etkiye sahiptir (65, 66).



Şekil 10. Kuersetinin antioksidan aktivitesinin temel prensibi (Xu'dan, 65)

2.3. Diyafram

Solunum fizyolojisi ve diyafram üzerine yapılan ilk araştırmalar antik çağ dönemine dayanmaktadır. Eski Yunan döneminde diyafram bir anatomik yapı olarak tanımlanmıştır. Bu dönemde yaşamış filozoflardan Herophilus ve Erasistratus (MÖ 340), ilk defa diyaframın bir solunum kası olduğunu belirtmişlerdir. Bu teori pek çok bilim insanı tarafından incelenmiş ve Galen'in (MS 131-120) çalışmaları sayesinde evrensel olarak kabul edilmiştir (6). Diyafram, Yunancada dia- "arada", -phragma "çit" anlamına gelen karın ile göğüs boşlukları arasında ayırıcı yapı olarak görev yapan musküloaponörotik bir yapıdır (67). Yetişkinlerde diyafram vücut ağırlığının %0.5'inden daha azını temsil etmektedir ancak kalpten sonra insan vücudundaki en önemli kas olarak nitelendirilmektedir (68).

2.3.1. Diyafram Anatomisi

Diyafram (diyafragma), göğüs boşluğu ile karın boşluğunu birbirinden ayıran, 250 cm² yüzey alanına sahip bir kubbe ile örtülmüş eliptik silindirik bir yapıdadır. İnspirasyon

sırasında göğüs hacmini artıran en önemli çizgili kastır. Diyafram, merkezi kontraktıl olmayan bir tendonla bağlı kostal ve krural diyafram olmak üzere iki ana kas kısmından oluşmaktadır. Ayrıca, sternal kısmında küçük bir kas yapısı bulunmaktadır (69). Sağ hemidiyafram, soldan daha yüksek olacak şekilde karın üzerinde kavis yapmaktadır. Kubbe şeklindeki içbükey kısım, diyaframın altında bulunan karaciğer ve dalağın alt kaburgalar ve göğüs duvarı tarafından korunmasını sağlamaktadır. Çeşitli anatomik yapılara sahip diyaframın kaudal ve kraniyal görünümüleri Şekil 11 ve 12’de gösterilmiştir. Diyaframın kostal ve krural kısımları farklı embriyolojik kökenlere, segmental innervasyona ve işlevsel özelliklere sahiptir. Diyaframın krural (lumbar) kısmı omurga boyunca sağ ve sol krurayı oluşturur ve diyaframın en güçlü kısmıdır (67).

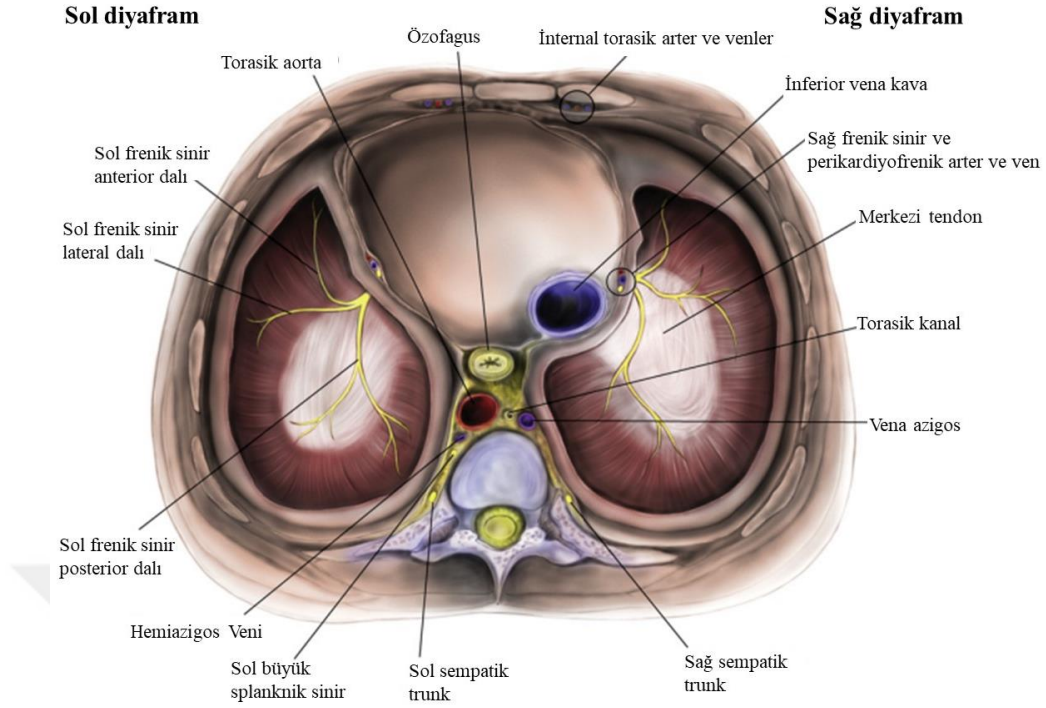
Diyafram oldukça zengin bir kan kaynağına sahiptir. Ana kan akımı perikardio-frenik, muskulofrenik, superior ve inferior frenik ve interkostal arterlerden sağlanmaktadır. Diyaframın torasik ve abdominal yüzeyleri, kan damarlarına eşlik eden zengin bir lenfatik sisteme sahiptir. Diyaframın karın tarafındaki lenfatik damarlar kan damarlarına paralel olarak dağılmaktadır. Sağ ve sol lateral lenfatik sistemler frenik sinirler boyunca uzanmaktadır (67).

Motor ve duyuşal innervasyonlar, frenik sinir ve altıncı veya yedinci interkostal sinirler tarafından sağlanmaktadır. Diyaframın kaslı kısmı ana motor innervasyonunu frenik sinir yoluyla almaktadır. Sağ ve sol frenik sinirler servikal pleksustan kaynaklanmakta ve diyafram boyunca kraniokaudal bir yol izleyip akciğerlerin hilusunun önünden geçerek perikardiyal dallar sağladıkları perikardiyofrenik arter ve venler ile birlikte perikarda bağlanmaktadır. Frenik sinirler diyaframın torasik tarafında dallar vermektedir. Sağ ve sol frenik sinirler diyaframı geçtikten sonra anteromedial olarak sternuma, anterolateral olarak kostal diyafragma ve posteromedial olarak krural diyafragma dallanmaktadır. Sol frenik sinir ayrıca özofagus hiatusundan peritona ve birkaç üst abdominal organa geçmektedir. Bu diyafragmatik dallar, diyafragmatik plevranın çıkarılmasından sonra bile her zaman doğrudan görülemez çünkü dallar diyafragma kasının içine uzanmaktadır (67).

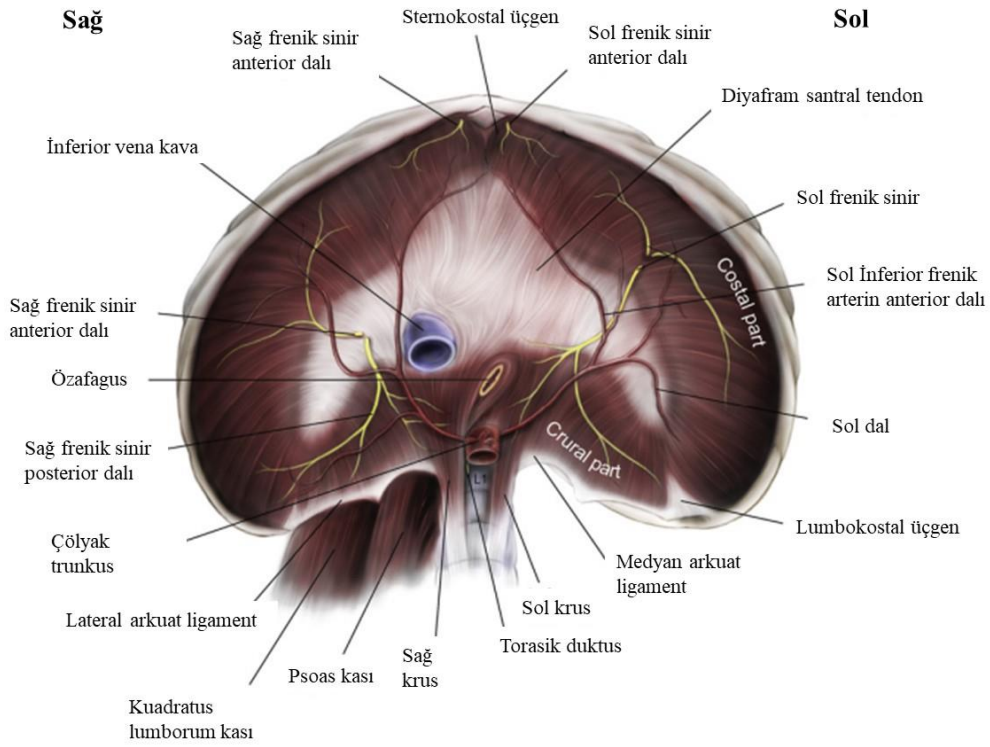
2.3.2. Diyafram Fizyolojisi ve Diyaframın Solunumdaki Rolü

Diyaframın iki temel fizyolojik işlevi vardır:

1. Solunumu desteklemek,
2. Özofagus boşalması, antireflü bariyer ve emezis dahil olmak üzere gastroözofageal işlevleri desteklemektir (67).



Şekil 11. Diyaframın göğüsten görünüşü (Anraku'dan, 69)



Şekil 12. Diyaframın karından görünüşü (Anraku'dan, 69)

Diyaframın kostal kısmı esas olarak solunumu (özellikle inspirasyon sırasında) desteklerken, diyaframın krural kısmı gastrointestinal fonksiyonlar için önemli bir role sahiptir. Hapşırma, öksürme, gülme, ağlama ve idrar ya da dışkının dışarı atılması gibi herhangi bir boşaltım eyleminden önce derin bir inspirasyon yapılarak diyaframdan ek güç sağlanmaktadır. Diyafram ayrıca torasik ve abdominal organlara anatomik stabilize sağlamaktadır (67).

Sağlıklı bireylerde, diyafram solunum işlevinden birincil derecede görev alan, toplam işlevin %70'inden ve istirahat halindeki tidal hacmin %40'ından sorumlu solunum kasıdır (6). Diyafram, normal ve akciğer hastalığı olan bireylerde solunum işinin çoğundan sorumludur. Diyafram dışındaki tüm solunum kaslarının felci genellikle solunum yetmezliği ile sonuçlanmazken, bilateral diyafram felci genellikle karbondioksit retansiyonuna ve solunum yetmezliğine neden olmaktadır (69).

Diyafram inspirasyon mekanizması üç ana şekilde çalışarak göğüs kafesini genişletmekte ve akciğerlere hava girmesine yardımcı olmaktadır. İlk olarak, diyafram kas lifleri kasıldıkça aşağı doğru kısalmakta ve diyaframın kubbesini düzleştirerek göğüs boşluğunu genişletmektedir. Böylece bir piston gibi hareket ederek hava girişi sağlanmaktadır. İkinci olarak, inspirasyon sırasında diyafram kasları, karın organlarını aşağı doğru iterek karın içi basıncını artırmaktadır. Bu yüksek basınç, diyaframın alt kısmında bulunan kaburgaları dışarı doğru iterek göğüs kafesinin genişlemesine neden olmaktadır. Son olarak, diyaframın kasılması ve karın organlarının aşağı doğru hareketi, bir dayanak noktası oluşturmaktadır. Bu dayanak noktası, alt kaburgalara yukarı ve dışarı doğru kuvvet uygulanarak göğüs kafesinin daha da genişlemesine katkı sağlamaktadır. Bu üç mekanizma birlikte çalışarak diyaframın inspirasyon işlevini yerine getirmesini sağlamaktadır (67, 70).

Diyaframın kostal kısmı solunum eyleminin, özellikle de inspirasyon fazının ana kas sistemidir. Nefes almak, tıpkı kalp atışı gibi bir dayanıklılık işidir bu nedenle diyafram ömür boyu tekrarlayan bir şekilde kasılmaktadır. Diyaframın kas lifleri, bu yorucu göreve ideal bir şekilde uyum sağlayacak şekildedir. Yetişkin insan diyaframındaki kas liflerinin %55'i yorgunluğa karşı oldukça dirençli olan tip I, yavaş kasılan liflerden oluşmaktadır. Bu lifler, normal solunum sırasında temel iş yükünü taşımaktadır (67). Geriye kalan kas lifleri ise tip II, hızlı kasılan ve yorgunluğa karşı hassas olan liflerdir. Tip II liflerin %21'i IIA, hızlı oksidatif lifler ve %24'ü IIB, hızlı glikolitik liflerdir (71). Hızlı kasılan tip II kas lifleri, solunum hızı arttığında devreye girerek daha yüksek güç üretimine katkıda bulunmaktadır.

Diyaframın kas lifleri, tip I liflerin yüksek dayanıklılığı ve tip II liflerin ani güç üretme yeteneği sayesinde, solunum fonksiyonunun her iki gereksinimini de karşılamaktadır. Böylece diyafram ömür boyu görevini sorunsuz bir şekilde yerine getirebilmektedir. (72).

Diyafram kubbe şeklindeki kas lifleri ile çevrili eliptik bir silindir şeklindedir. Bu özel yapı, akciğerleri şişirmek için göğüs boşluğunun hacmini genişletme yeteneği kazandırmaktadır. Dinlenme durumunda diyafram karın boşluğuna doğru kıvrılarak kubbe şeklini almaktadır. Diyafram kası inspirasyon sırasında aktif hale gelmekte ve kasılmasıyla birlikte karın duvarını dışa doğru iterek diyaframın aşağı doğru hareket etmesine neden olmaktadır (69). Derin inspirasyon sırasında diyaframın kubbesi her iki taraftan da aşağı doğru hareket ederek neredeyse düz bir hale gelmektedir. Bu hareket, merkezi tendon üzerinde kaudale doğru ve 7 ila 12. kostalar ve omurga (krural kısım) üzerinde sefalik bir kuvvet oluşturmaktadır (67).

Diyafram kasları, istemli ve otonom sinirler tarafından frenik sinirler aracılığıyla kontrol edilmektedir. Diyafram, elastik dirençli kuvvetlere karşı kasılmakta ve akciğerler ile göğüs duvarının geri tepme kuvvetlerine karşı denge sağlayarak her gevşeme sonrasında sabit bir dinlenme pozisyonuna geri dönmektedir. Dolayısıyla ekspirasyon iki şekilde gerçekleşmektedir. Birincisi göğüs duvarlarının elastik geri tepmesi: Diyafram gevşediğinde göğüs duvarı, doğal elastikiyeti sayesinde geri çekilerek akciğerlerden havayı dışarı doğru itmektedir. İkincisi karın kaslarının hareketi: Diyafram gevşerken karın kasları kasılarak karın iç organlarını yukarı doğru itmektedir. Bu da akciğerleri sıkıştırarak havanın dışarı atılmasını sağlamaktadır (67).

2.4. Sinir-Kas Kavşağı

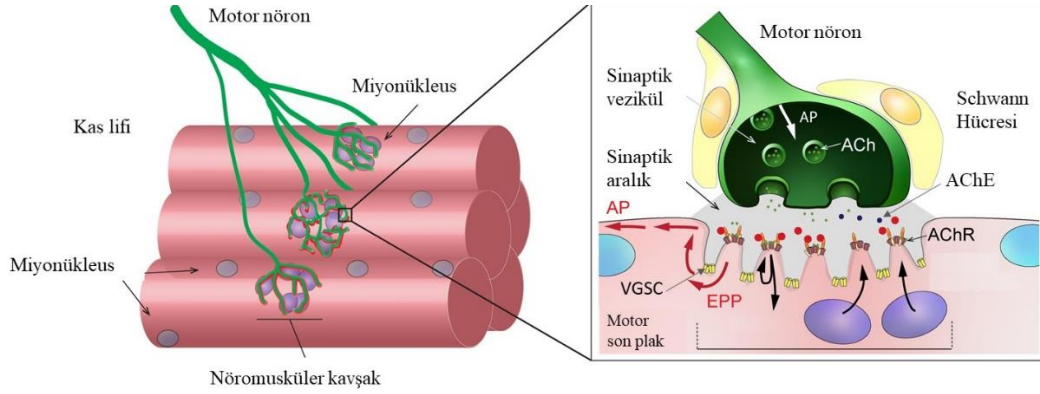
Sinirler ve kaslar arasındaki iletişimi sağlayan özel bir bağlantı noktası olan sinir-kas kavşağı, elektrik sinyallerinin kas liflerine iletilmesinden sorumlu kimyasal sinaptıdır. Tüm kimyasal sinapslarda olduğu gibi sinir kas kavşağı presinaptik membran, sinaptik aralık ve postsinaptik membran olmak üzere üç bölgeden oluşmaktadır (73).

Presinaptik membranda bir nörotransmitter olan asetilkolini (ACh) depolamak, serbest bırakmak ve almak için çok sayıda sinaptik veziküller (yaklaşık 300.000) bulunmaktadır (74). Veziküller, nöromüsküler iletimin başladığı ve elektron mikroskopunda daha kalın ve koyu görünmekte olup aktif zonda ekzositoza hazır şekilde bulunmaktadır. Çizgili kası innerve eden motor nöronun uyarılması ile akson terminaline ulaşan aksiyon potansiyeli membrandaki P/Q tipi voltaj kapılı kalsiyum kanallarının (VGCC) açılmasını ve

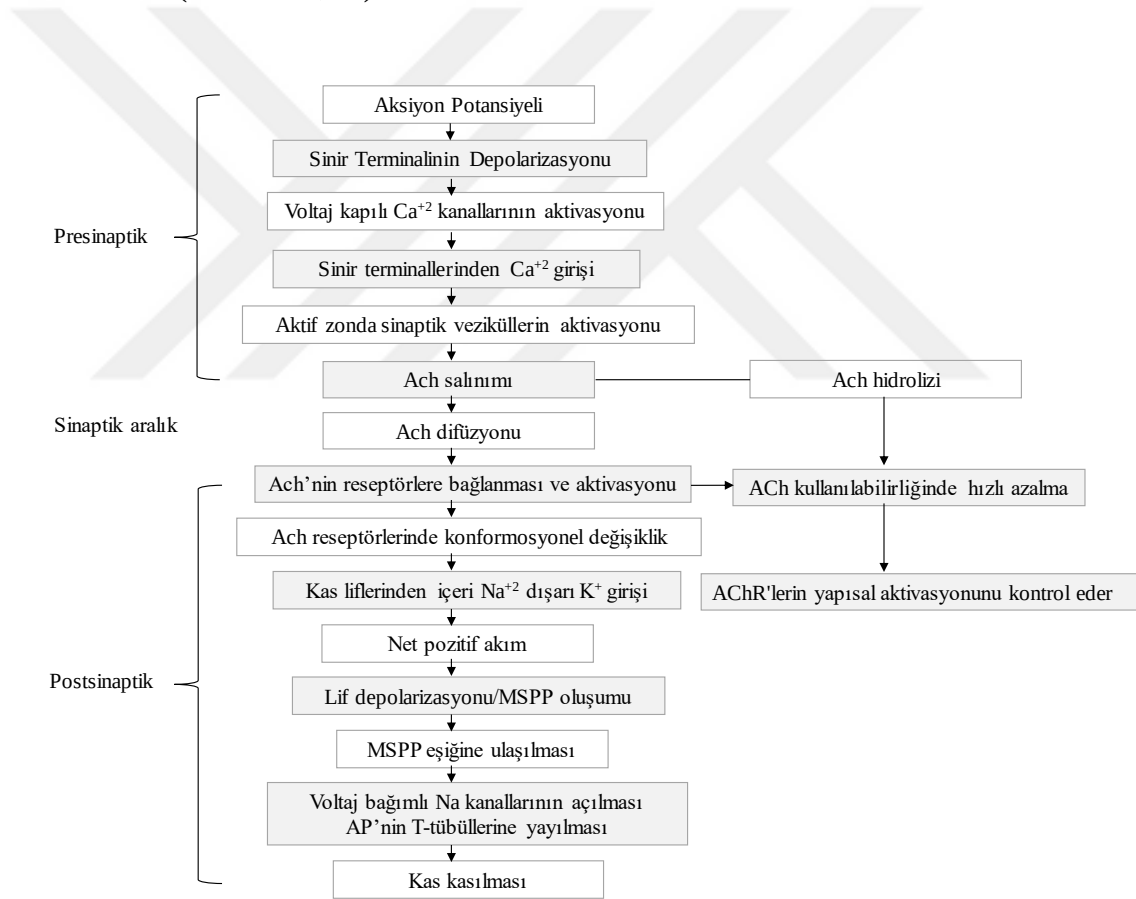
Ca^{+2} 'un sinaptik aralıktan presinaptik bölgeye girişini sağlamaktadır (75). Bu enzimlerin fosforilasyonu veziküllerin hücre iskeletinden ayrılmasını ve aktif zonlara yaklaşmasını sağlamaktadır. Sonunda, veziküller ekzositoz ile yaklaşık 10.000 ACh molekülünü sinaptik aralığa boşaltmaktadır. Bu moleküller, postsinaptik membranda bulunan nikotinik asetilkolin reseptörlerine (nAChR) bağlanarak kasın kasılmasını tetiklemektedir (76).

ACh moleküllerinin yayıldığı pre- ve postsinaptik membranlar arasında bulunan sinaptik aralık kollajen ve glikoproteinlerden zengin bir hücre dışı sıvı ile doludur. ACh molekülleri sinaptik aralığa salındığında bu mesafeyi difüzyonla geçerek postsinaptik membranda bulunan reseptörlerine bağlanmaktadır. Ancak sinaptik aralık sadece bir geçiş noktası değildir. Hem normal hem de patolojik durumlarda pre- ve postsinaptik membranların mimarisini ve fizyolojik rollerini belirleyerek sinir kas kavşağının innervasyonunda, gelişiminde ve rejenerasyonunda kritik bir rol oynamaktadır (77).

Postsinaptik bölge bağlantı kıvrımları adı verilen özel yapılardan oluşmaktadır. Bu kıvrımlar, postsinaptik zar alanını ve sinaptik boşluğun hacmini genişleterek ACh'nin reseptörlere ulaşmasını kolaylaştırmaktadır (Şekil 13). Kavşak sarkoplazması, sinaptik boşluğu doldurarak postsinaptik bölgenin metabolik ve yapısal ihtiyaçlarını karşılamak için gerekli olan mitokondri, golgi aygıtı ve ara filamentler gibi gerekli hücresel yapıları barındırmaktadır. Bağlantı kıvrımlarının terminal genişlemeleri (tepeleri) α , β , γ , δ ve ϵ alt birimlerine sahip pentamerik iyon kanalları olan nAChR'i ile doludur. Postsinaptik zara ulaşan ACh, nAChR'leri aktive ederek lokal bir depolarizasyon potansiyeli meydana getirmektedir. Normal fizyolojik koşullar altında nAChR, Cl^- iyonlarına karşı geçirimsizdir ancak Na^{+2} ve K^+ iyonlarına ve daha az ölçüde Ca^{+2} ve Mg^{+2} iyonların geçişine izin vermektedir. Bununla birlikte, nAChR'lerden geçen akımın büyüklüğü ve yönü, zar potansiyeline bağlıdır. Bu akım, nöral hücre adezyon molekülü ile birlikte bağlantı kıvrımlarının oluklarında yoğunlaşan voltaj kapılı sodyum kanallarını (VGSC) aktive etmektedir (Şekil 14) (73).



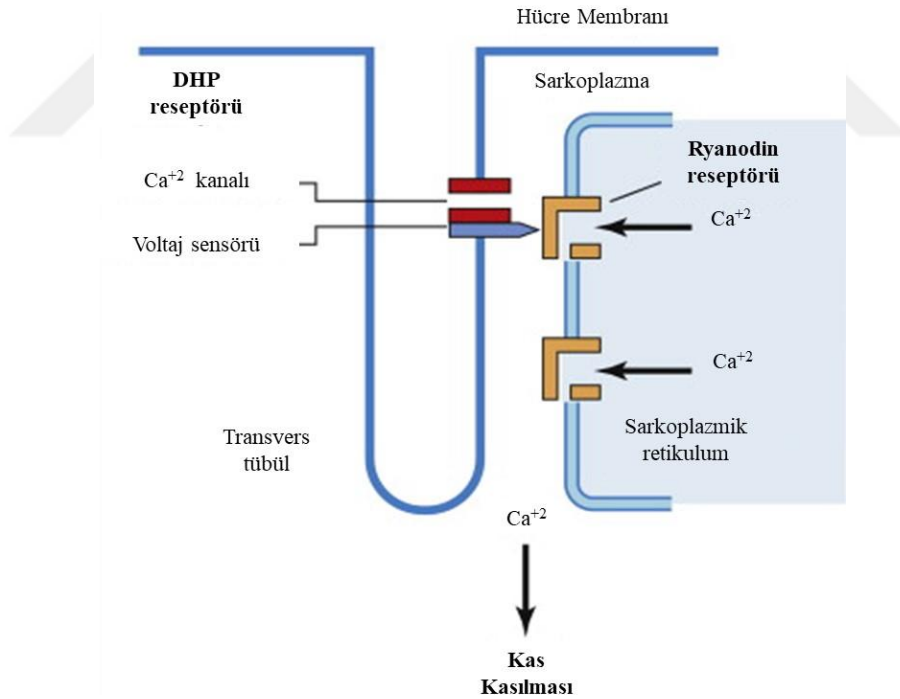
Şekil 13. Bir nöromusküler kavşağın genel organizasyonu ve işlevi (ACh asetilkolin; AChE, asetilkolinesteraz; AChR, asetilkolin reseptörü; AP, aksiyon potansiyeli; EPP, motor son plak potansiyeli; LRP4, LDL reseptörüyle ilgili protein 4; VGSC, voltaj kapılı sodyum kanalı (Castets'den, 80))



Şekil 14. Kas kasılmasına doğru aşağı yöndeki olaylar dizisini aktive eden sinaptik sinyalleşmeyle ilişkili hücresel olaylar dizisi (Mukund'dan, 75)

2.4.1. Çizgili Kasta Uyarılma-Kasılma Bağlantısı

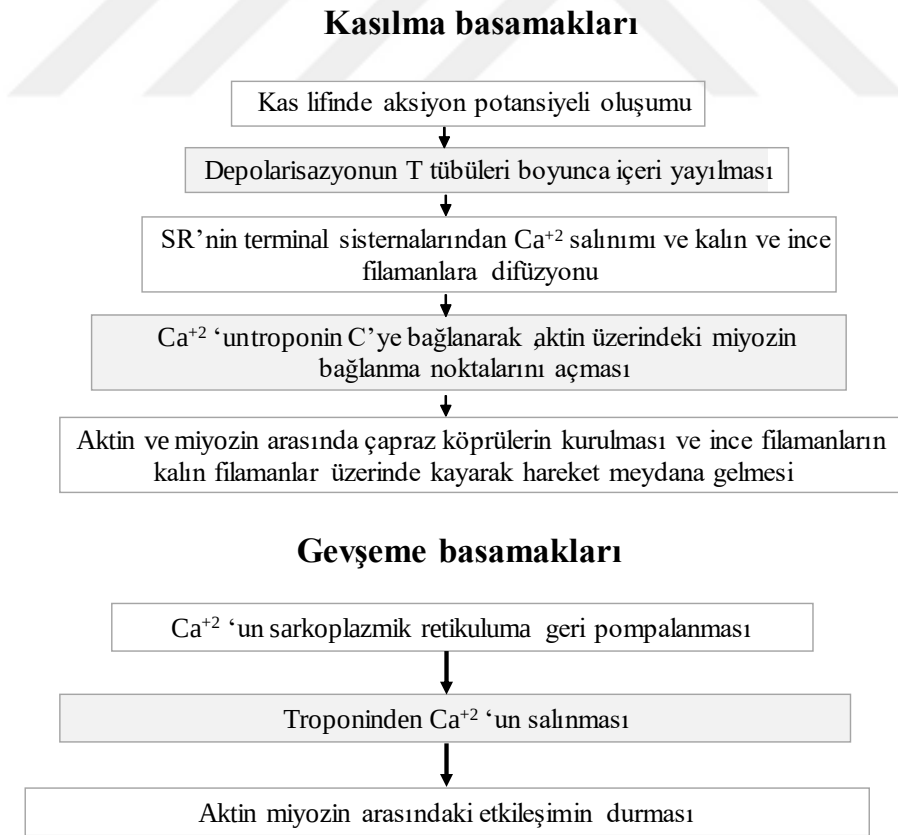
Kas kasılması, hızlı sodyum kanallarının (postsinaptik voltaj kanalları, SCN4A) aktivasyonu ile başlar ve kas lifine iletilen bir aksiyon potansiyeli oluşturarak kasılma mekanizmasını tetiklemektedir. Bu süreç, T-tübüller ve sarkoplazmik retiküller olmak üzere iki membranöz yapı arasındaki üçlü kavşak (triad) olarak adlandırılan bağlantı noktasında gerçekleşmektedir (Şekil 15). İletilen sinir aksiyon potansiyeli, T-tübüllerindeki voltaj kapılı bir Ca^{+2} kanalı (VGCC L-Tipi) olan dihidropiridin reseptörünü (DHPR) depolarize etmektedir. Ardından ryanodin reseptörleri (RYR, kalsiyum salınım kanalları) aracılığıyla sarkoplazmik retikulum terminal sisternalarından büyük miktarda Ca^{+2} iyonlarının hücre içine salınmasını tetiklemektedir. DHPR'nin iskelet kasında voltaj sensörü görevi gördüğü ve RYR'leri doğrudan açarak Ca^{+2} salınımını kontrol ettiği öne sürülmektedir. Sitozolik Ca^{+2} 'un yükselmesi troponinde konformosyonel bir değişikliğe yol açarak kas kasılmasına giden kaskadı başlatmaktadır (73).



Şekil 15. Triad kavşağında uyarılma kasılma bağlantısı (Mukund'dan, 75)

Moleküler düzeyde, sarkomerik kasılma, miyozin başlarının aktin filamentleri üzerinde hareket etmesiyle gerçekleşen çapraz köprü döngüsü adı verilen bir süreçtir. Çapraz köprü döngüsü, miyozin başlarının aktin filamentleri üzerindeki hareketinden sorumlu olan,

her bir miyofibril içinde kuvvet üreten ve kas tarafından toplu olarak deneyimlenen bir dizi enzimatik reaksiyondur. Kısaca kuvvet üretimi altı adımda gerçekleşmektedir ve şu şekilde özetlenmektedir (79) (Şekil 16). Kasılmanın başlangıcında, serbest sitozolik Ca^{+2} troponinde konformasyonel bir değişiklik meydana getirerek aktin filamentleri üzerindeki miyozin bağlama bölgelerini ortaya çıkarmaktadır. Miyozin başı aktin filamentine doğru 45° açıyla dışarı doğru sallanır ve rigor (sert) durumdadır. Mevcut ATP miyozine bağlanarak miyozini aktinden kısa süreliğine ayırmaktadır. Miyozinin ATPaz aktivitesi ATP'yi ADP ve Pi 'ye (serbest fosfat) (hala miyozine bağlı) hidrolize ederek miyozin filamentinin aktin filamentine göre 90° açıyla (çapraz köprü) zayıf bir şekilde yeniden bağlamasına neden olmaktadır. Pi 'nin serbest bırakılması güç vuruşunu başlatmaktadır. Miyozin başı menteşesi üzerinde dönerek aktin filamentini M-bandına doğru itmektedir. Güç vuruşunun sonunda miyozin başı ADP'yi serbest bırakarak rigor durumuna geri dönmektedir. Bunun aksine, kas gevşemesi sitozolik Ca^{+2} 'un uzaklaştırılmasıyla gerçekleşmekte ve yüksek kimyasal enerji gerektirmektedir (73).



Şekil 16. Kuvvet oluşumunun altında yatan hücresel olaylar (Mukund'dan, 75)

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Deney Hayvanları

KTÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı'ndan uygulamalar için etik kurul onayı alınarak deneylere başlandı (Onay kodu: 2020/13). Bu çalışmada Karadeniz Teknik Üniversitesi (KTÜ) Cerrahi Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen 83 adet 8-10 haftalık Sprague Dawley cinsi erkek sıçanlar kullanıldı. Deneylerin başlangıcında ortalama ağırlıkları 302.98 ± 3.71 g hayvanlar randomize olarak eşleştirildi ve gruplandırıldı. Deney hayvanları üretim sonrası standart yem ve *ad libitum* su temini ile 22 ± 3 °C sıcaklık ve %65-70 nem koşullarında 12 saat aydınlık/12 saat karanlık döngüsü altında yetiştirilme ve bakımları sağlandı. Deney hayvanlarının tüm enjeksiyonları KTÜ Cerrahi Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde yapıldı. İzometrik kayıtlar KTÜ Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı ve biyokimyasal analizler, KTÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarlarında gerçekleştirildi.

3.1.2. Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler

Deneyisel çalışmalarda kullanılan cihaz ve malzemeler üretim firmaları ile Tablo 2'de listelenmiştir:

Tablo 2. Kullanılan cihaz ve malzemeler

Kullanılan Cihaz ve Malzemeler	Üretici Firma
Buzdolabı	Sharp, Almanya
Cerrahi ipek iplik	Medipac, Yunanistan
Derin dondurucu (-80°C)	Thermo Scientific, ABD
Elektriksel alan stimülatörü	MAY, Türkiye
Hassas terazi	Shimadzu, Japonya
İzole organ banyo sistemi	MAY, Türkiye
Kaba terazi	KERN, Almanya
Kan ölçüm cihazı (Glukometre)	Vivachek, Türkiye
pH metre	HANNA Instruments, ABD
Spektrofotometre	Shimadzu, UV-1601
Veri kayıt sistemi	BIOPAC MP150, ABD

3.1.3. Kullanılan Kit ve Kimyasal Maddeler

Deneysel çalışmalarda kullanılan kit ve kimyasal maddeler, üretici firmaları ile birlikte Tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 3. Kullanılan kit ve kimyasal maddeler

Kullanılan Kit ve Kimyasal Maddeler	Üretici Firma
Alfa-lipoik asit	İlko İlaç
Amonyum Sülfat ((NH ₄) ₂ SO ₄)	Merck, A4418
Asetonitril	Merck, UN 1648
Bakır (II) Klorür (CuCl ₂)	Lancaster,13167
Coomassie Brilliant Blue G250	Sigma, 1.15444
1,4-Dithiothreitol (DTT)	Sigma, 43817
Fosforik Asit (H ₃ PO ₄)	Merck, Art 563
Etanol	Sigma, 34870
Etilendiamin Tetra Asetik Asit (EDTA)	Sigma, 101493215
Glukoz	Merck, 108337
Glutasyon peroksidaz kiti	Cayman Chemical, 703002
Hidroklorik Asit (HCl)	Merck, 1.00317
Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂)	Sigma, A6011
İnsülin	NovoRapid Flexpen
Kalsiyum klorür (CaCl ₂)	Sigma, C1016
Kloroform	Merck, 1.02431
Ksantin	Sigma, X-0626
Ksantin Oksidaz	Sigma, X4875-40UN
Kuersetin	Sigma, Q4951
Magnezyum klorür (MgCl ₂)	Sigma, M8266
Metanol (CH ₃ OH)	Merck, 65541
Monopotasyum fosfat (KH ₂ PO ₄)	Sigma, P0662
N metil-2-fenilindol	Sigma, 404888
Nitroblue Tetrazolium (NBT)	Sigma, 97596L5
Potasyum klorür (KCl)	Sigma, P9333
Sitrik asit	Sigma, 27109
Sığır Serum Albümin (BSA)	Sigma, 058K0726
Sodyum bikarbonat (NaHCO ₃)	Sigma, S6297
Sodyum Hidrojen Fosfat Dihidrat (NaHPO ₄ .2H ₂ O)	Merck, 13472-35-0

Tablo 3. (Devam)

Kullanılan Kit ve Kimyasal Maddeler	Üretici Firma
Sodyum klorür (NaCl)	Sigma, S7653
Streptozotosin	Sigma, S0130
Süperoksit Dismutaz (SOD) Standartı	Sigma, S5395-30KU
Tri-Sodyum Sitrat Dihidrat ($\text{NH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})_3$)	Merck, 106448
Tris (hidroksimetil) aminometan	Sigma, T1503
Triton X-100	Sigma, 9036-19-5
1,1,3,3-tetrametoksipropan (TMP)	Sigma, 76H3424

3.2. Yöntem

3.2.1. Streptozotosin ile Kimyasal Diyabet İndüksiyonu

Diyabet oluşturmak için 16-18 saat aç bırakılan sıçanlara sitrat tamponunda hazırlanan 60 mg/kg dozda STZ intraperitoneal (i.p.) olarak tek doz uygulandı. STZ her uygulama öncesi sitrat tamponu (0.1 M, pH 4.5) içerisinde çözündürüldü ve bekletilmeden sıçanlara enjekte edildi. İntraperitoneal uygulanan STZ 3-5 gün içerisinde beta hücrelerini harabiyete uğratarak hayvanlarda diyabet gelişimine neden oldu. STZ uygulamasından beş gün sonra bir gece önceden aç bırakılmış sıçanların kuyruk veninden alınan kanda glukometre ile kan glukoz düzeyleri ölçüldü. Açlık glukoz konsantrasyonu ≥ 250 mg/dL olan sıçanlar diyabetik olarak kabul edildi ve randomize olarak deney grupları oluşturuldu. Son kan glukoz ölçümü sekizinci haftanın sonunda in vitro deneyler öncesinde gerçekleştirildi.

3.2.2. Deney Gruplarının Dizaynı

Deney gruplarından kontrol grubu hariç diğer gruplara 60 mg/kg dozda STZ i.p. olarak uygulandı ve açlık glukoz konsantrasyonu ≥ 250 mg/dL olan sıçanlar gruba dahil edilerek ilave enjeksiyonlara başlandı (Şekil 17).

1) Kontrol Grubu (n=7): Kontrol grubuna sekiz hafta boyunca i.p. olarak günlük 5 ml/kg hacimde serum fizyolojik (SF, %0.9 NaCl) uygulandı.

2) DM+Kontrol Grubu (n=7): 60 mg/kg doz STZ indüksiyonu sonrası sekiz hafta boyunca i.p. olarak günlük 5 ml/kg hacimde SF uygulandı.

3) DM+Çözücü Grubu (n=7): 60 mg/kg doz STZ indüksiyonu sonrası günlük 5 ml/kg hacimde %5'lik NaHCO₃ uygulandı.

4) DM+INS Grubu (n=7): 60 mg/kg doz STZ indüksiyonu sonrası günlük 8 IU/kg insülin (INS) sekiz hafta boyunca subkutan (deri altından) olarak uygulandı.

5) DM+30 ALA Grubu (n=6): 60 mg/kg doz STZ indüksiyonu sonrası 30 mg/kg ALA sekiz hafta boyunca i.p. olarak günlük 5 ml/kg hacimde uygulandı.

6) DM+60 ALA Grubu (n=6): 60 mg/kg doz STZ indüksiyonu sonrası 60 mg/kg ALA sekiz hafta boyunca i.p. olarak günlük 5 ml/kg hacimde uygulandı.

7) DM+120 ALA Grubu (n=6): 60 mg/kg doz STZ indüksiyonu sonrası 120 mg/kg ALA sekiz hafta boyunca i.p. olarak günlük 5 ml/kg hacimde uygulandı.

8) DM+INS+30 ALA Grubu (n=6): 60 mg/kg doz STZ indüksiyonu sonrası 8 IU/kg insülin (subkutan) ve 5 ml/kg hacimde 30 mg/kg α -lipoik asit (subkutan) kombinasyon şeklinde sekiz hafta boyunca her gün uygulandı.

9) DM+INS+60 ALA Grubu (n=6): 60 mg/kg doz STZ indüksiyonu sonrası 8 IU/kg insülin (subkutan) ve 5 ml/kg hacimde 60 mg/kg α -lipoik asit (subkutan) kombinasyon şeklinde sekiz hafta boyunca her gün uygulandı.

10) DM+INS+120 ALA Grubu (n=7): 60 mg/kg doz STZ indüksiyonu sonrası 8 IU/kg insülin (subkutan) ve 5 ml/kg hacimde 120 mg/kg α -lipoik asit (subkutan) kombinasyon şeklinde sekiz hafta boyunca her gün uygulandı.

11) DM+30 KUE Grubu (n=6): 60 mg/kg doz STZ indüksiyonu sonrası 30 mg/kg kuersetin sekiz hafta boyunca i.p. olarak günlük 5 ml/kg hacimde uygulandı.

12) DM+60 KUE Grubu (n=6): 60 mg/kg doz STZ indüksiyonu sonrası 60 mg/kg kuersetin sekiz hafta boyunca i.p. olarak günlük 5 ml/kg hacimde uygulandı.

13) DM+120 KUE Grubu (n=6): 60 mg/kg doz STZ indüksiyonu sonrası 120 mg/kg kuersetin sekiz hafta boyunca i.p. olarak günlük 5 ml/kg hacimde uygulandı.

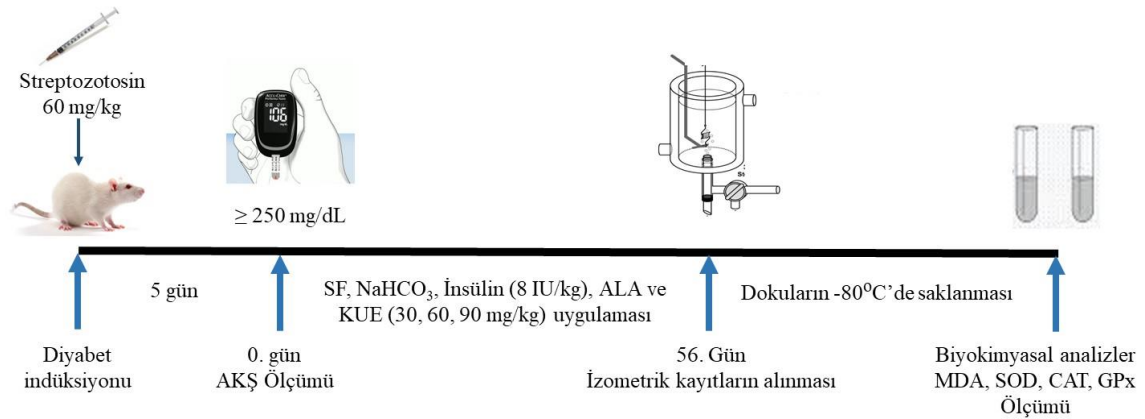
3.2.3. Diyafram İzolasyonu ve Sıçan Diyafram Kas Preparatının Hazırlanması

Deneylere başlamadan önce diyafram dokusunun kasılabilir özelliğini korumak için hücrelerarası sıvı ile aynı özelliklere ve iyon konsantrasyonlarına sahip Krebs çözeltisi hazırlandı. Krebs çözeltisi: 137 mM/ml NaCl, 4 mM/ml KCl, 1 mM/ml MgCl₂, 2 mM/ml

CaCl₂, 1 mM/ml KH₂PO₄, 24 mM/ml NaHCO₃ ve 7mM/ml Glukoz. Hazırlanan çözelti pH metre ile pH 7.4 olacak şekilde ölçüldü.

Tablo 4. Deney gruplarının dizaynı

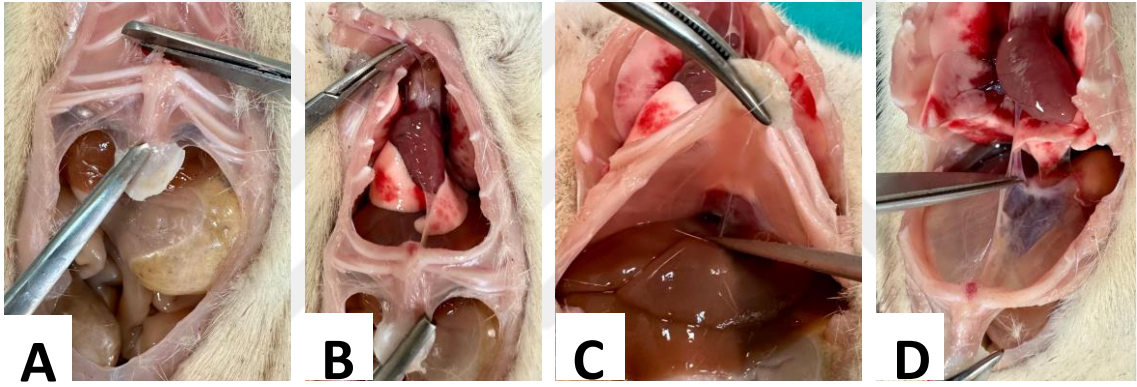
Deney Grupları	Hayvan sayısı (n)	Uygulama süresi	Uygulama dozu	Uygulama yeri
Kontrol	7	8 hafta	%0.9 NaCl	i.p.
DM+Kontrol	7	8 hafta	%0.9 NaCl	i.p.
DM+Çözücü	7	8 hafta	%5 NaHCO ₃	i.p.
DM+İnsülin	7	8 hafta	8 IU/kg	subkutan
DM+30 ALA	6	8 hafta	30 mg/kg	i.p.
DM+60 ALA	6	8 hafta	60 mg/kg	i.p.
DM+120 ALA	6	8 hafta	120 mg/kg	i.p.
DM+INS+30 ALA	6	8 hafta	8 IU/kg+30 mg/kg	subkutan
DM+INS+60 ALA	6	8 hafta	8 IU/kg+60 mg/kg	subkutan
DM+INS+120 ALA	7	8 hafta	8 IU/kg+120 mg/kg	subkutan
DM+30 KUE	6	8 hafta	30 mg/kg	i.p.
DM+60 KUE	6	8 hafta	60 mg/kg	i.p.
DM+120 KUE	6	8 hafta	1200 mg/kg	i.p.
Toplam	83			



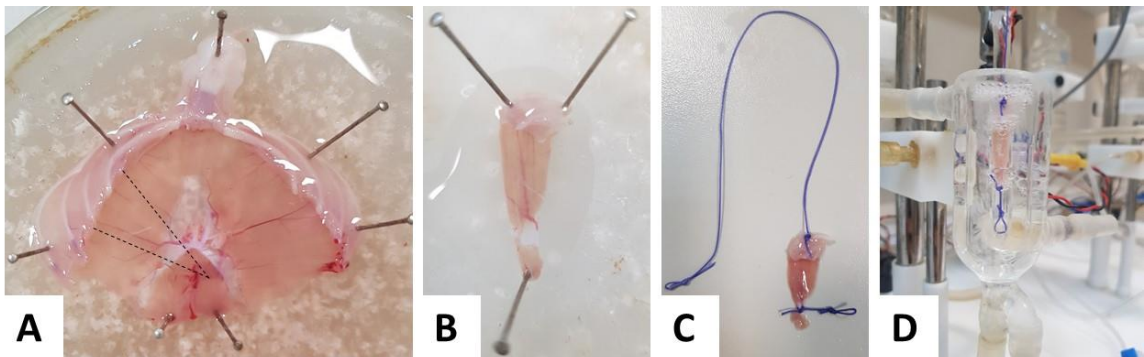
Şekil 17. Deney gruplarındaki her bir hayvana uygulanan işlem ve testleri gösteren deney akış diyagramı

Diyafram eksplantasyonu ve diyafram kas preparatının hazırlanması literatürde tarif edilen yöntem takip edilerek gerçekleştirilmiştir (80). Sıçan kafası gövdesinden giyotinle

ayrıldı ve sırtüstü pozisyonda bir desteğe sabitlendi. Göğüs ve karın üzerindeki tüylü deri çıkarıldı ve göğüs kafesinin altındaki periton açıldı. Sternumun alt ucu bir klemp ile sıkıca tutulup yaklaşık olarak ikinci kaburga hizasında bir kesi yapıldı (Resim 1A) ve göğüs kafesinin üst kısmı tamamen çıkarıldı (Resim 1B). Kalp ve pulmoner loblar bağlantıları ile uzaklaştırılıp sol frenik sinir görünür hale getirildi. Ardından kas liflerinin zarar görmesini önlemek için sternumun alt kısmı tutulup diyafram ile karaciğer arasındaki bağlar kesildi (Resim 1C) ve diyafram tendon hizasından kesilip çıkarıldı (Resim 1D). Preparat içi krebs çözeltisi ile dolu petri kabına alındı, kosta ve tendonlardan sabitlenip üçgen şekilde kesildi (Resim 2A ve 2B). Preparatı dönüştürücüye asmak için kosta ve tendon kısımlarından ipek dikiş iplik ile tutturuldu (Resim 2C).



Resim 1. Diyafram eksplantasyonu



Resim 2. Diyafram kas preparatının hazırlanması

3.2.4. Elektriksel Alan Stimülasyonu ve İzometrik Kasılmaların Kaydedilmesi

Elde edilen diyafram kas preparatı hızlı bir şekilde sıcaklığı 25°C olan ve sürekli olarak %95 O₂ ve %5 CO₂ gaz karışımı ile gazlandırılan içi Krebs çözeltisi ile dolu 20 ml'lik

organ banyosu içerisine alındı (Resim 2D, Resim 3). Diyafram şeridinin tendon ile biten ucu doku kuvvet çevirgecine, kostalara bağlı olan ucu ise manuel mikromanipülatöre bağlandı (Resim 2D). İzometrik kas yanıtları alınmadan önce bir saat süre ile yaklaşık 2 g gerim altında her 15 dakikada bir krebs çözeltisi ile yıkanarak dokunun dengeye ulaşması sağlandı. Denge döneminin ardından her gruptaki diyafram stripleri 1, 2, 3, ... 10, 20, 30, ... 100 V genliğinde 0.1 ms süreli (duration) 1 Hz frekansta uyarılar verilerek izometrik kasılma yanıtları kaydedildi. Bu yanıtlar arasından eşik uyaran belirlendi. Kayıt edilen tekli sarsı eğrilerinden maksimum kasılma, kasılma süresi (KS) ve tek sarsı AUC (Area Under Curve) parametreleri belirlendi (Şekil 18). Beş dakikalık dinlenme periyodundan sonra 30 sn boyunca frekansı 200 Hz olan 5 V'ta uyarılar verilerek tetanik kasılma yanıtı elde edildi ve bu yanıttan tetanik AUC parametresi analiz edildi. Veriler daha sonra analiz edilmek üzere bilgisayarın sabit belleğine kaydedildi. İzometrik kasılma kayıtları tamamlandıktan sonra diyafram şeritlerinin ağırlıkları hassas bir terazide, boyları ise bir cetvelle ölçülerek not edildi. Daha sonra biyokimyasal analizler çalışılmak üzere tüm diyafram şeritleri ependorflara koyularak -80°C'de saklandı.

3.2.5. Diyafram Kas Dokusunda Süperoksit Dismutaz ve Katalaz Aktiviteleri ile Malondealdehit Düzeyinin Ölçümü

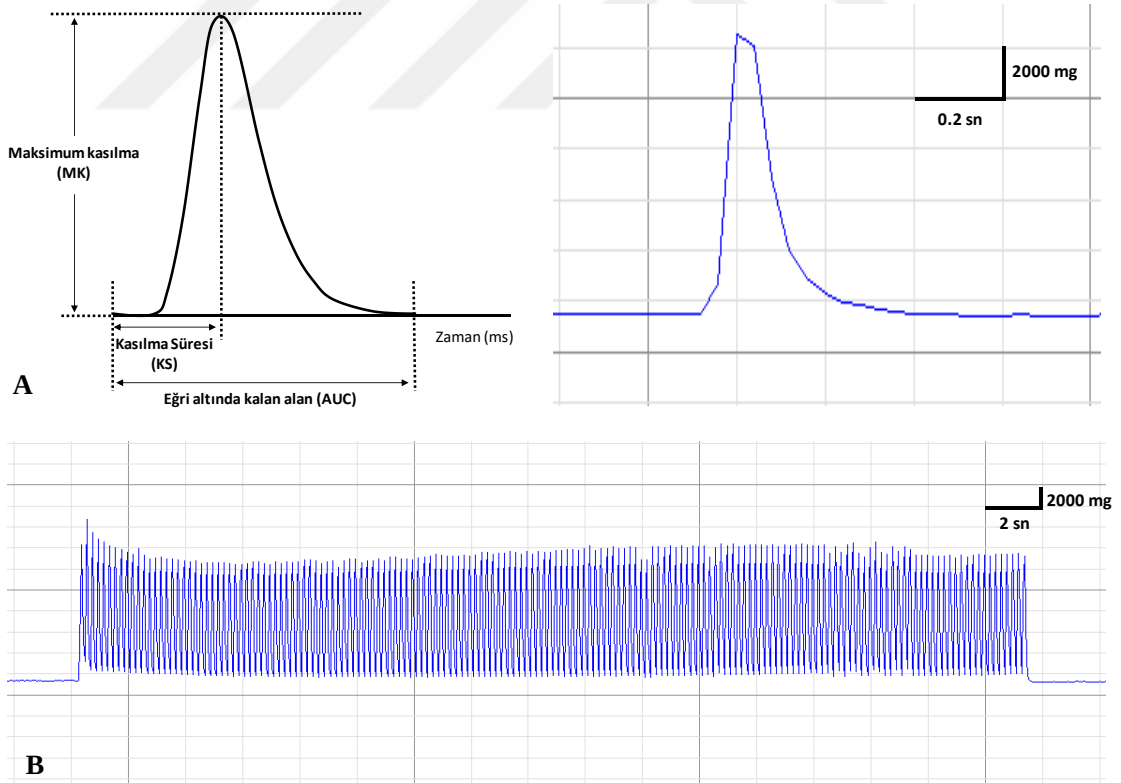
Diyafram Kası Homojenizasyonu: Yaklaşık 30 mg diyafram kas dokusu 500 µL soğuk homojenizasyon tamponu ile 2 mL'lik ependorfta dokular tamamen parçalanıncaya kadar (yaklaşık 1 dk) homojenize edildi. Homojenizasyon işlemi buz içerisinde yapıldı. Homojenat daha sonra 3000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. MDA tayini için elde edilen süpernatandan 200 µL temiz bir kapaklı ependorf tüpüne alındı. Kalan 300 µL süpernatanda başka bir temiz ependorf tüpe alındı ve üzerine 240 µL etanol-kloroform (2:3) olan karışımdan ilave edildi. +4 °C'de 10000 g'de 30 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında süpernatant protein tayini, SOD enzim seviyesi ve CAT aktivitesi tayinlerinde kullanıldı. Kullanılan homojenizasyon tamponunun hazırlanışı aşağıda verilmiştir.

SOD, CAT ve MDA için Homojenizasyon Tamponu (50 mM Tris/HCl, pH:7.4): 1.514 g Tris tartılarak 225 mL saf suda çözülür ve karışımın pH'sı 2 M HCl ile 7.4'e ayarlandı. Bu karışıma son olarak 125 µL Triton X-100 ilave edilerek son hacim 250 mL'ye tamamlandı. Homojenizasyon işleminden önce taze hazırlandı.

SOD aktivitesi Sun-Oberley yöntemi ile (81), CAT aktivitesi Aebi yöntemi ile (82) ölçüldü. Doku MDA konsantrasyonu ise N metil-2-fenilindolün MDA (83, 84) reaksiyonundan belirlendi.



Resim 3. İzole organ banyo sistemi ve elektriksel alan stimülasyonu



Şekil 18. İzometrik kasılma yanıtlarının analizinden elde edilen parametreler (A. Tek sarsı ve elde edilen parametreleri B. Tetani yanıtını göstermektedir.)

3.2.5.1. Doku Süperoksit Dismutaz Aktivitesi Tayini

SOD enzim aktivitesi Sun ve Oberley'in geliştirdiği yöntem modifiye edilerek belirlendi (81). Bu yöntem, ksantin-ksantin oksidaz sistemiyle oluşturulan $O_2^{\cdot-}$ 'lerinin nitroblue tetrazoliumu indirgemesi sonucu oluşan mor renkli formazan molekülünün 560 nm'de verdiği absorbansın ölçülmesi esasına dayanan bir yöntemdir. SOD enzim aktivitesi ölçümünde kullanılan çözeltiler aşağıda verilmiştir.

Kullanılan Çözeltiler:

- 1) SOD Reaktif Karışımı:** 3.65 mg ksantin, 8.93 mg etilendiamintetraasetik asit, 1.01 g Na_2CO_3 , 12 mg BSA tartıldı ve hacmi 156 mL'ye tamamlandı.
- 2) 2 M $(NH_4)_2SO_4$ Çözeltisi:** 2.64 g $(NH_4)_2SO_4$ 10 mL saf suda çözüldü. Ksantin oksidaz enziminin hazırlanmasında kullanıldı.
- 3) 0.8 mM $CuCl_2$ Çözeltisi:** 6.82 mg $CuCl_2$ alındı ve 50 mL deiyonize suda çözüldü. Spektrofotometrik ölçümden hemen önce oluşan reaksiyonu durdurmak için kullanıldı.
- 4) 167 U/L Ksantin Oksidaz Çözeltisi:** 4.59 U/ mL'lik orijinal şişeden 72,6 μ L alınıp 2 mL' ye $(NH_4)_2SO_4$ çözeltisi ile tamamlandı. Ksantin oksidaz çözeltisi günlük hazırlandı.
- 5) 150 μ M Nitroblue Tetrazolium Çözeltisi:** 4.9 mg nitroblue tetrazolium 40 mL deiyonize suda çözülerek elde edildi. Nitroblue tetrazolium çözeltisi ışıktan korundu.
- 6) SOD standart çözeltileri:** 100 U/mL'lik stok SOD standardından 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 U/mL' lik SOD standartları homojenizasyon tamponu kullanılarak hazırlandı. Diyafram dokusunda 3 kat seyreltme yapıldı.

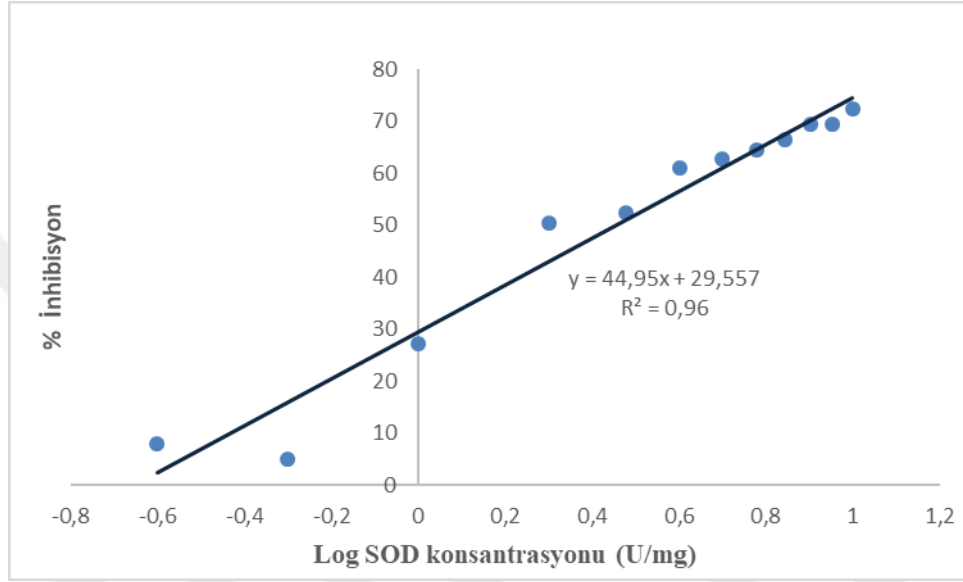
SOD aktivitesi ölçümü aşağıdaki gibi gerçekleştirildi.

Deneyin yapılışı: 200 μ L Süpernatant, 796 μ L Reaksiyon karışımı, 204 μ L NBT (150 μ M), 20 μ L Ksantin oksidaz (167 U/L) ile 25°C'da 20 dakika inkübasyona karanlıkta bırakıldı. 400 μ L bakır klorür eklendi. 560 nm'de absorbans ölçüldü. Hesaplamalarda %50 inhibisyona karşılık gelen SOD aktivitesi bir enzim ünitesi olarak alındı. SOD aktivitesi hesabında kullanılan % inhibisyonu belirlemek için Eş. 1'deki formül kullanıldı.

$$\% \text{ inhibisyon} = (Abs \text{ Kör} - Abs \text{ Numune}) \div (Abs \text{ Kör}) \times 100 \quad (1)$$

Standart grafiği, % inhibisyona karşılık gelen konsantrasyonların logaritması belirlenerek Şekil 19'de gösterildiği gibi çizildi. Standart grafiğinde belirlenen denklem

kullanılarak numunelerin % inhibisyonlarına karşılık gelen SOD konsantrasyonlarının logaritmik değeri hesaplandıktan sonra bunların anti logaritmaları alınarak numunelerin SOD konsantrasyonu hesaplandı. Seyreltme faktörü ile çarpıldı. Belirlenen SOD konsantrasyonu, toplam protein miktarına bölünerek SOD aktivitesi belirlendi. Sonuçlar U/mg protein olarak hesaplandı.



Şekil 19. Diyafram kas dokusunda SOD aktivitesini hesaplamak için kullanılan standart grafiği

3.2.5.2. Doku Katalaz Aktivitesi Tayini

Diyafram kas dokusunda CAT enzim aktivitesinin belirlenmesinde Aebi yöntemi kullanıldı (82). Bu yöntemin temeli H_2O_2 'nin enzimatik bozulması sonucunda 240 nm'de absorbanstaki düşüşün takip edilmesine dayanmaktadır.

Kullanılan çözeltiler:

1) Fosfat Tamponu (50 mM, pH:7.0): 6.81 mg KH_2PO_4 deiyonize suda çözüldükten sonra hacmi 1L'ye tamamlandı. 8,9 g $NaHPO_4 \cdot 2H_2O$ deiyonize suda çözüldükten son hacmi 1L'ye tamamlandı. Bu çözeltiler sırasıyla 1:1,5 oranında karıştırıldı ve pH:7'ye ayarlandı.

2) H_2O_2 : 240 μL %30'luk H_2O_2 'den alınarak son hacim fosfat tamponu ile 50 mL' ye tamamlandı (günlük hazırlandı ve karanlıkta tutuldu).

Doku homojenatları fosfat tamponu ile 20 kat seyreltildikten sonra numunelerde ölçümler yapıldı. Kuartz küvetlere aşağıda yazıldığı gibi pipetlemeler kör ve numune karışımları için ayrı ayrı yapıldı.

Deneyin yapılışı: Numuneler için; 1500 µL Numune, 750 µL H₂O₂'li tampon. Kör için; 750 µL numune ve 750µL Tampon [Sodyum Potasyum Fosfat Tamponu (pH 7.0)] ilave edildi. H₂O₂ eklenir eklenmez kuartz küvetler altüst edildi ve 240 nm'de 30 s süreyle her 10 s'de bir absorbanslar kaydedilerek meydana gelen düşüşler izlendi. Absorbanslardaki düşüşün dakikada 0.015 ile 0.100 arasında olmasına dikkat edildi. Eğer bu aralıkta düşüş olmazsa numune dilüsyonları yeniden ayarlandı.

CAT aktivite tayininde birinci mertebede reaksiyon hız sabiti (k) kullanıldı. Absorbanslardaki 10 s'lik düşüş için aşağıdaki formüle göre hesaplamalar yapıldı.

$$k = (2.3/10) \times \log(A_1/A_2) \text{ s}^{-1} \quad (2)$$

Burada;

A₁= Başlangıç absorbansı

A₂= 10 s sonraki absorbanstır.

Eş. 2'ye göre bulunan k değeri seyreltme faktörü ile çarpıldı. Ardından diyafram kası dokularında g protein başına CAT aktivitesi hesaplandı. Sonuçlar k/g protein olarak verildi.

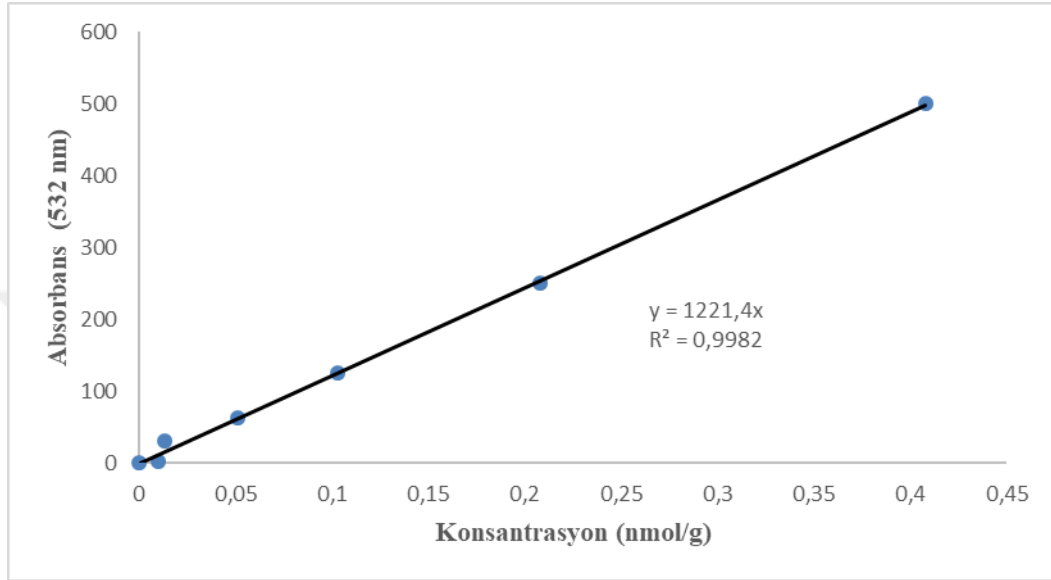
3.2.5.3. Doku Malondealdehit Düzeyi Ölçümü

Diyafram kası dokularından elde edilen protein fazlarda MDA seviyelerinin belirlenmesi, MDA konsantrasyonu, N metil-2-fenilindolün MDA ile reaksiyonundan oluşturduğu kompleksin renginin 586 nm'deki absorbansının ölçülmesi esasına dayanan metod modifiye edilerek yapıldı. MDA seviyelerinin belirlenmesinde kullanılan çözeltiler aşağıda verilmiştir:

1) 3,4 mM'lık 1-metil-2-fenilindol Çözeltisi: 70,47 mg 1-metil-2-fenilindol tartıldı ve 25 mL metanol ile 75 mL asetonitrilden oluşan 100 mL'lik karışım içerisinde çözülerek hazırlandı.

Deneyin yapılışı: Numune ve standartlar için ayrı ayrı deney tüpleri hazırlandı. Numune tüpüne 200 µL doku numunesi süpernatanı alındı. Standartın hazırlandığı tüplere numune konulmadı. MDA standartı olarak tetrametoksipropan kullanıldı. Numune ve standart tüplerine 650 µL, 3,4 mM'lık 1-metil-2-fenilindol (%25 metanol / %75 asetonitrilde

çözünmüş) ve 150 µL %37'lik HCl ilave edildi. Tüpler vortekslendi ve ardından 45°C' de 60 dakika inkübasyona bırakıldı. 15000 g'de 10 dk santrifüj işleminin ardından süpernatantlardan 300 µL mikropalakalara yüklendi ve 586 nm'de mikropalaka okuyucuda okundu. MDA seviyesi nmol/g doku ile verildi (Şekil 20).



Şekil 20. Diyafram kası MDA standart grafiği

3.2.6. Doku Glutasyon Peroksidaz Aktivitesi Tayini

GPX aktivitesi için Homojenizasyon Aşaması: Yaklaşık 20 mg diyafram kası dokusu 200 µL soğuk homojenizasyon tamponu ile 2 mL'lik ependorfta dokular tamamen parçalanıncaya kadar (yaklaşık 1 dk) buz içerisinde homojenize edildikten sonra +4° C'de 10000 g'de 15 dk santrifüj edildi. Süpernatant alınarak GPX aktivitesi tayini kit prosedürüne göre yapıldı. Kullanılan homojenizasyon tamponunun aşağıda anlatıldığı gibi hazırlandı.

GPX aktivitesi için Homojenizasyon Tamponu (5 mM EDTA ve 1 mM DTT içeren 50 mM Tris/HCl Tamponu, pH:7.5): 0,605 mg Tris, 15.42 mg DTT ve 146.12 mg EDTA tartıldı ve yaklaşık 80 mL saf suda çözdükten sonra 1M'lık HCl çözeltisi ile pH 7.5'e ayarlandı ve hacim 100 mL'ye tamamlandı.

3.2.7. Protein Miktar Tayini

Protein miktarları modifiye Bradford metodu (Coomassie Brilliant Blue yöntemi) ile belirlendi (85). Bu yöntem fosforik asitli ortamda Coomassie Brilliant Blue G250'nin

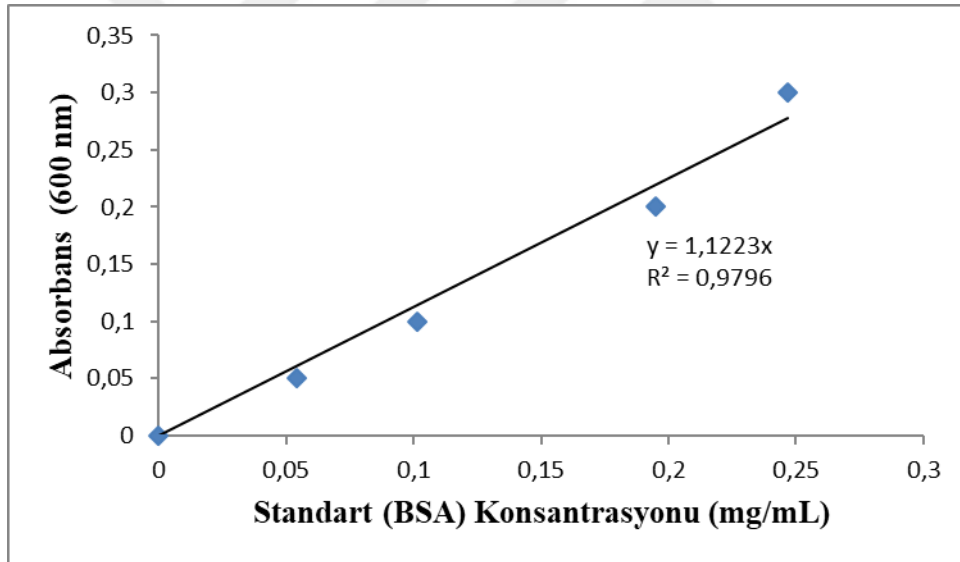
proteinlere bağlanması ve oluşan mavi renkli kompleksin 600 nm’de maksimum absorbands vermesi esasına dayanmaktadır.

Kullanılan Çözeltiler:

1) Bradford Reaktifi: 10 mg Coomassie Brilliant Blue G-250, 5 mL %95’lik etanolde çözüldü, üzerine 10 mL %85’lik H₃PO₄ eklendi. Son hacim 100 mL’ye tamamlandı.

2) Standart Çözeltileri: Standartlar BSA’dan 1, 0.9, 0.8, 0.7, 0.6, 0.5, 0.4, 0.3, 0.2, 0.1, 0.05 mg/mL’lik konsantrasyonlarda hazırlandı.

Deneyin Yapılışı: Protein konsantrasyonlarını belirlemek için, 100 µL Bradford Reaktifi ve 10 µL numune alındı. Bu miktarlar pleyte yüklendikten sonra pipetaj yapılarak karıştırıldı. Mikropleyt okuyucu ile 600 nm’de absorbandslar okundu. Şekil 21’deki standart grafiğinden yararlanılarak konsantrasyonlar hesaplandı. Sonuçlar mg/mL cinsinden ifade edildi.



Şekil 21. Protein tayininde kullanılan standart grafiği

3.2.8. İstatistiksel Yöntem

Tüm veriler, SPSS yazılımı (The Statistical Program for the Social Sciences v20, Chicago, IL, ABD) kullanılarak istatistiksel olarak analiz edildi. Grafiklerin hazırlanmasında Microcal Origin sürüm 5.00 (Microcal Software, Northampton, MA, ABD) programı kullanıldı. Elde edilen verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile

değerlendirildi. Gruplar arası karşılaştırmalarda tek yönlü varyans analizi (ANOVA) sonrası post hoc Fisher'in LSD (Fisher's Least Significant Difference) testi kullanıldı.

Bütün sonuçlar “ortalama $\pm$ ortalamanın standart hatası (SEM)” olarak ifade edildi. Analiz sonucunda elde edilen $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



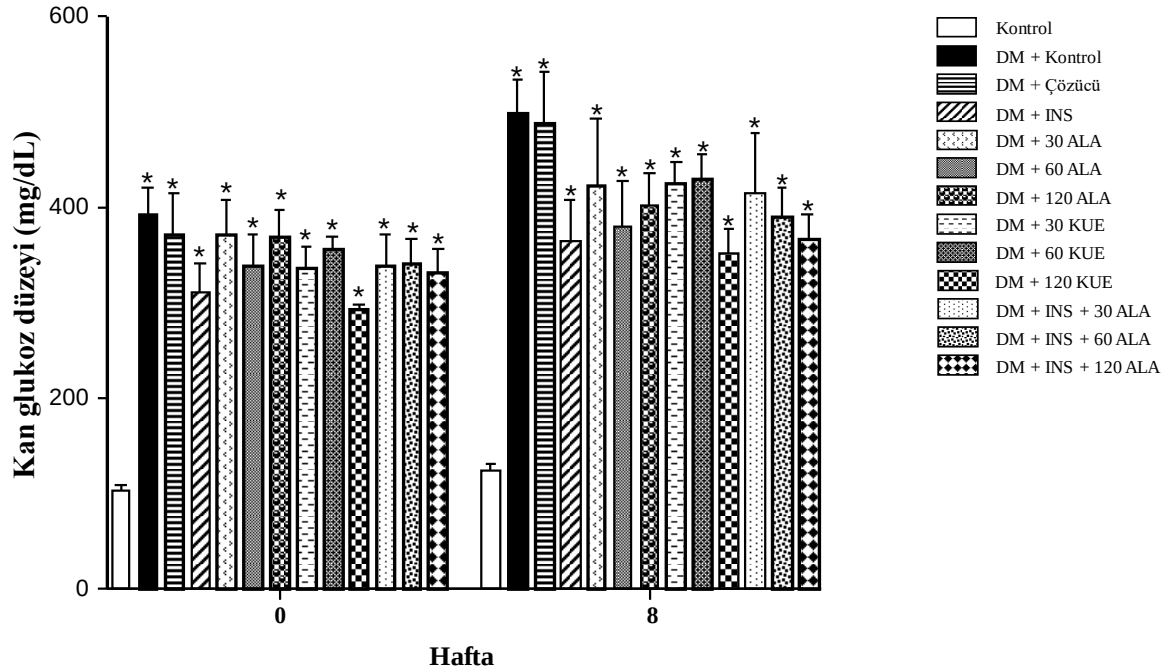
4. BULGULAR

4.1. Deney Hayvanlarının Vücut Ağırlıkları ve Açlık Kan Glukoz Düzeyleri

Deney hayvanlarının her enjeksiyon öncesi genel sağlık durumları değerlendirildi ve diyabetik hayvanların günlük su tüketimlerinin kontrol grubuna kıyasla daha fazla olduğu gözlemlendi. Deney süresince diyabetik sıçanlarda özellikle dördüncü ve altıncı haftalarda ölümler gerçekleşti. Gruplarda yeterli (n) sayısını elde etmek için yeni hayvanlar eklendi ve eklenen hayvanlar için deney protokolüne baştan başlandı.

Deney süresi boyunca hayvanlar haftada bir kez tartıldı ve vücut ağırlıkları kaydedildi. Deney gruplarından her hafta alınan ölçümlerden deney başlangıcında 302.97 ± 3.71 deney sonundaki ortalama ağırlıkları ise 288.44 ± 4.52 olarak bulundu.

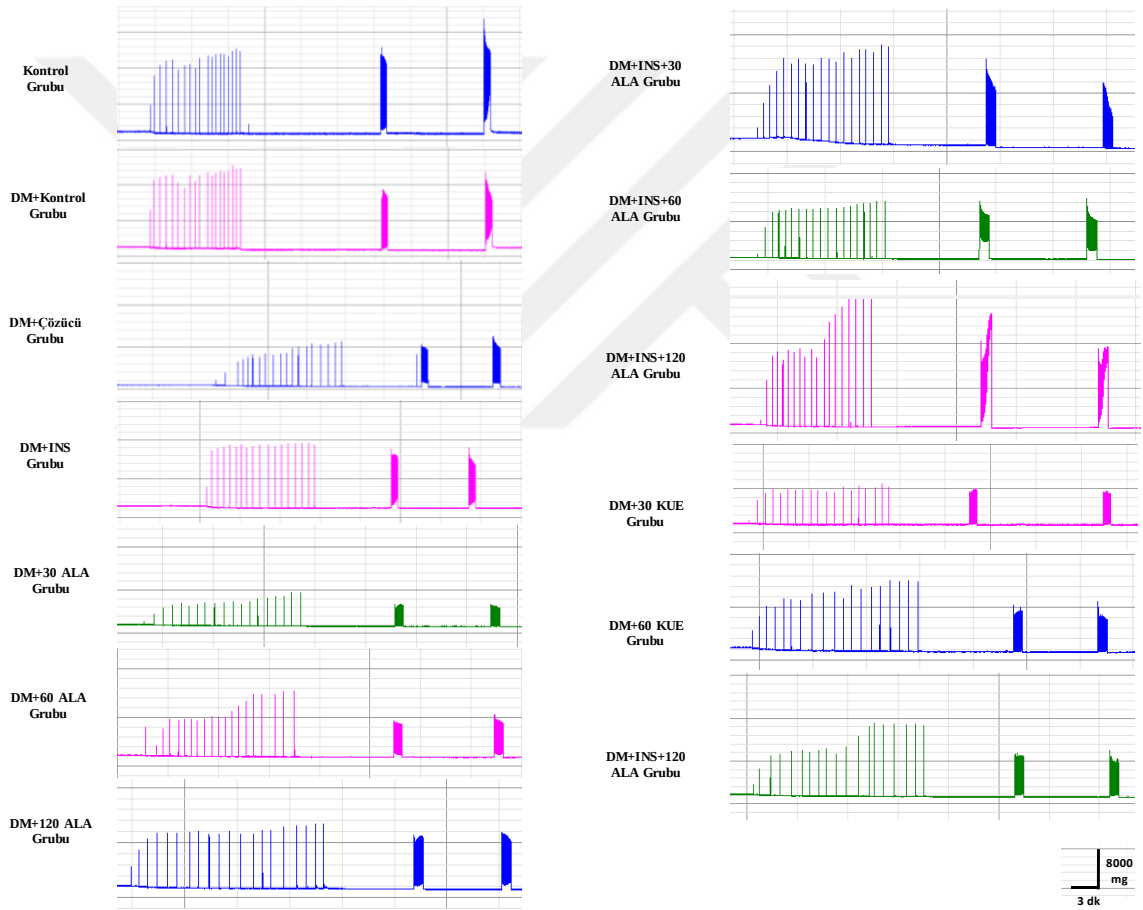
Deney hayvanlarından deneylerin başlangıcında ve sonunda olmak üzere iki kez açlık kan glukoz düzeyleri ölçüldü ve kaydedildi. STZ ile diyabet oluşturulan grupların (1. hafta) kan glukoz düzeyinde anlamlı artış gözlemlendi ($p < 0.05$). Deneyin son gününde (8. hafta) tüm deney grupları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında diyabetik sıçanların kan glukoz düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu ($p < 0.05$) (Şekil 22).



Şekil 22. Deney gruplarına ait açlık kan glukoz düzeyi değişimleri *: Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$).

4.2. Diyafram Kası Biyomekanik Bulguları

Çalışma kapsamında frekansı 1 Hz, genliği 3 V ve süresi 0.1 ms olan tekli uyarıya yanıt olarak kaydedilen sarsı eğrisinden elde edilen maksimum kasılma cevabı, kasılma süresi ve % AUC değerleri rakamsal verilere dönüştürüldü ve istatistiksel olarak analiz edildi. Bununla birlikte tüm gruplardan izole edilen diyafram kas şeridine 30 sn boyunca frekansı 200 Hz ve genliği 5 V uyarı verildiğinde tetanik kuvvet elde edildi. Tetanik kuvvet parametresinden AUC hesaplandı ve yüzdeye dönüştürülerek istatistiksel analize tabi tutuldu. Gruplara ait trase örnekleri Şekil 23'te verilmiştir.



Şekil 23. Gruplara ait trase örnekleri

4.2.1. Alfa-Lipoik Asitin Diyabetik Diyafram Kası Biyomekanik Parametreleri Üzerine Etkisi

Diyafram kas preparatının elektriksel olarak uyarılmasıyla elde edilen izometrik yanıtlar kaydedildi. 30, 60 ve 120 mg/kg dozlarında 8 hafta boyunca i.p. olarak uygulanan ALA'nın kasılma yanıtlarına olan etkisi incelendi.

4.2.1.1. Alfa-Lipoik Asitin Maksimum Kasılma Cevabına Etkisi

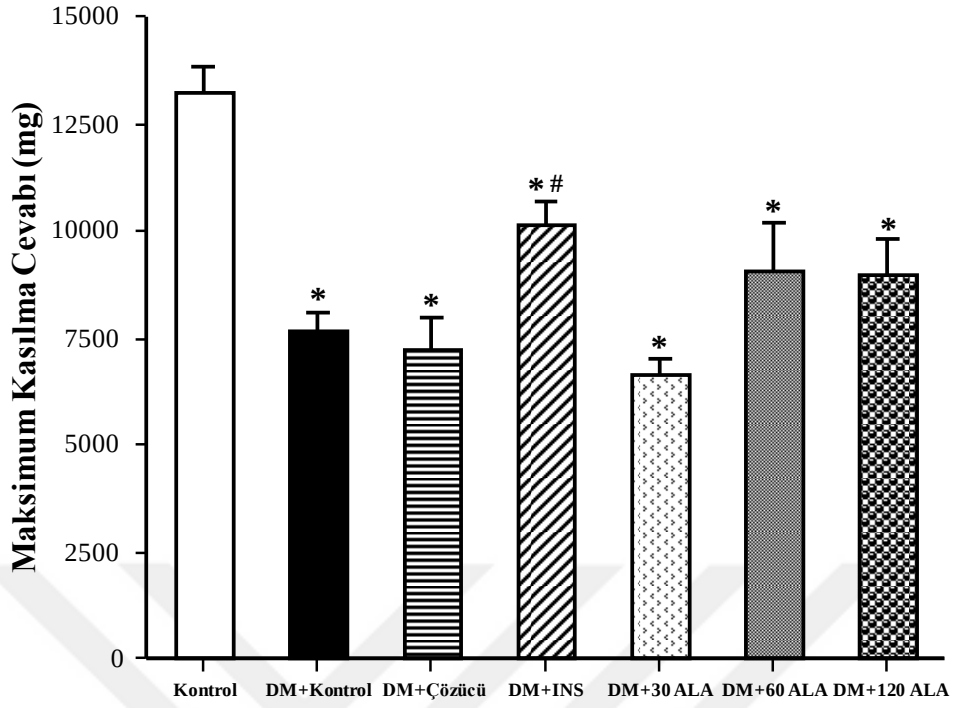
Kontrol grubunda ortalama ($\pm$ SEM) maksimum kasılma cevabı 13243.92 ± 621.92 mg, DM+kontrol grubunda 7689.33 ± 454.14 mg, DM+çözücü grubunda 7225.06 ± 759.28 mg, DM+INS grubunda 10144.65 ± 556.67 mg olarak tespit edildi. ALA doz gruplarında (DM+30 ALA, DM+60 ALA ve DM+120 ALA) ortalama ($\pm$ SEM) maksimum kasılma cevapları sırasıyla 6685.53 ± 387.26 , 9050.90 ± 1143.16 ve 9023.60 ± 797.46 mg olarak belirlendi. Maksimum kasılma cevabına ait sonuçlar Tablo 5'te sunulmuştur.

Bütün gruplar kontrol grubu ile maksimum kasılma cevabı açısı yönünden karşılaştırıldığında DM+kontrol, DM+çözücü, DM+INS, DM+30 ALA, DM+60 ALA ve DM+120 ALA grubunda maksimum kasılma cevabının kontrol grubuna göre (sırasıyla $p=0.0001$, $p=0.0001$, $p=0.002$, $p=0.0001$, $p=0.0001$ ve $p=0.0001$) anlamlı şekilde azaldığı saptandı. Tüm gruplar DM+kontrol grubu ile karşılaştırıldığında DM+INS grubunda maksimum kasılma cevabının DM+kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde arttığı görüldü ($p=0.014$) (Şekil 24).

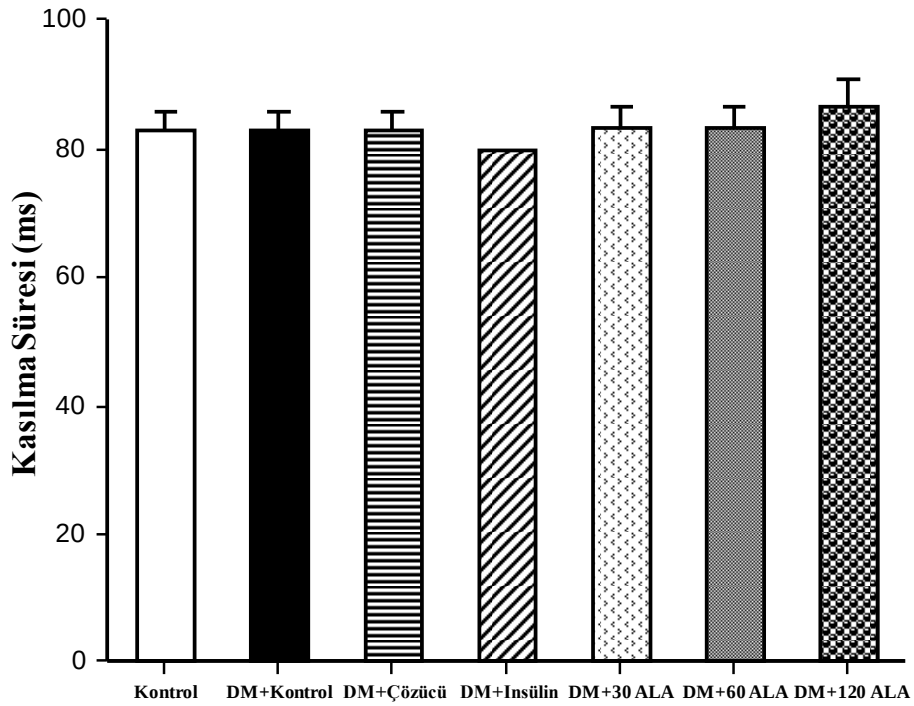
4.2.1.2. Alfa-Lipoik Asitin Kasılma Süresine Etkisi

Kontrol grubunda ortalama ($\pm$ SEM) kasılma süresi 82.86 ± 2.86 sn, DM+kontrol grubunda 82.86 ± 2.86 sn, DM+çözücü grubunda 82.86 ± 2.86 sn, DM+INS grubunda 80 ± 0 sn olarak tespit edildi. ALA doz gruplarında (DM+30 ALA, DM+60 ALA ve DM+120 ALA) ortalama ($\pm$ SEM) kasılma süresi sırasıyla 83.33 ± 3.33 , 83.33 ± 3.33 ve 86.67 ± 4.22 sn olarak belirlendi. Kasılma süresine ait sonuçlar Tablo 5'te sunulmuştur.

Bütün gruplar kontrol grubu ile kasılma süresi açısı yönünden karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark bulunmadı ($p>0.05$). Tüm gruplar DM+kontrol grubu ile karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel açıdan fark görülmedi ($p>0.05$) (Şekil 25).



Şekil 24. STZ ile oluşturulan diyabette ALA dozlarının diyafram kasında maksimum kasılma cevabına etkisi *: Kontrol; #: DM+Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$).



Şekil 25. STZ ile oluşturulan diyabette ALA dozlarının diyafram kasında kasılma süresine etkisi. Gruplar arasında anlam bulunmadı ($p > 0.05$).

4.2.1.3. Alfa-Lipoik Asitin Sarsı Kuvvetine Etkisi

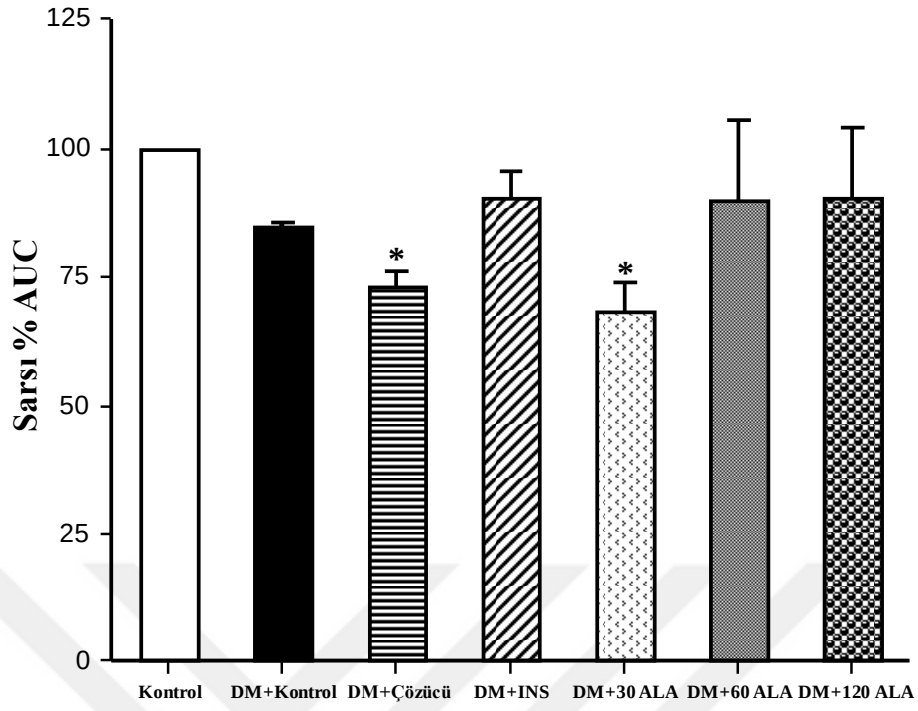
Tek bir sarsıdan elde edilen AUC değeri kontrol grubu ortalamasına göre yüzdelikleri hesaplandı ve % olarak ifade edildi. Kontrol grubunda ortalama ($\pm$ SEM) sarsı AUC değeri 100 ± 0 , DM+kontrol grubunda 84.3 ± 1.44 , DM+çözücü grubunda 72.71 ± 3.39 , DM+INS grubunda 90.26 ± 5.50 olarak tespit edildi. ALA doz gruplarında (DM+30 ALA, DM+60 ALA ve DM+120 ALA) ortalama ($\pm$ SEM) sarsı AUC değerleri sırasıyla 68.34 ± 5.85 , 89.94 ± 15.74 ve 90.6 ± 13.26 olarak belirlendi. Sarsı % AUC cevabına ait sonuçlar Tablo 5'te sunulmuştur.

Bütün gruplar kontrol grubu ile sarsı % AUC yönünden karşılaştırıldığında DM+çözücü ve DM+30 ALA grubunda kontrol grubuna göre (sırasıyla $p=0.02$ ve $p=0.01$) istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı saptandı (Şekil 26). Tüm gruplar DM+kontrol grubu ile karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel açıdan fark görülmedi ($p>0.05$).

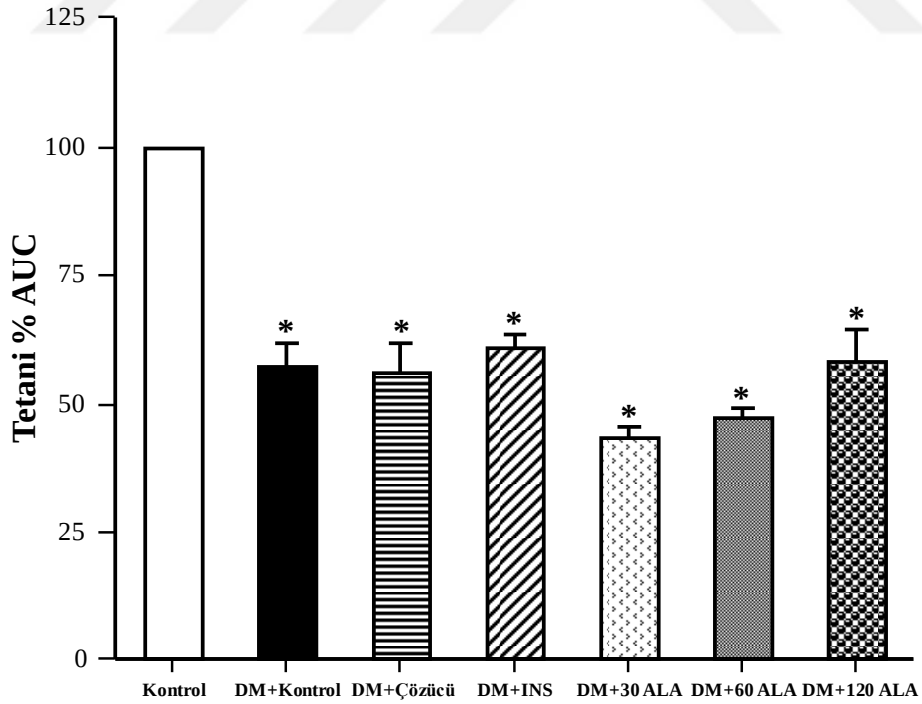
4.2.1.4. Alfa-Lipoik Asitin Tetaniye Etkisi

Tetanik kasılmalarından elde edilen AUC değerinin kontrol grubunun ortalamasına göre yüzdelikleri hesaplandı ve % olarak ifade edildi. Kontrol grubunda ortalama ($\pm$ SEM) tetanik kuvvet AUC değeri 100 ± 0 , DM+kontrol grubunda 56.96 ± 4.75 , DM+çözücü grubunda 56.33 ± 5.35 , DM+INS grubunda 61.08 ± 2.27 olarak tespit edildi. ALA doz gruplarında (DM+30 ALA, DM+60 ALA ve DM+120 ALA) ortalama ($\pm$ SEM) tetanik kuvvet AUC değerleri sırasıyla 43.31 ± 2.11 , 46.92 ± 2.41 ve 58.01 ± 6.35 olarak belirlendi. Tetanik kuvvet % AUC'ye ait sonuçlar Tablo 5'te sunulmuştur.

Bütün gruplar kontrol grubu ile tetanik kuvvet % AUC yönünden karşılaştırıldığında DM+kontrol, DM+çözücü, DM+INS, DM+30 ALA, DM+60 ALA ve DM+120 ALA grubunda tetanik kuvvet % AUC değeri kontrol grubuna göre ($p=0.0001$) istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı saptandı. Tüm gruplar DM+kontrol grubu ile karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel açıdan fark görülmedi ($p>0.05$) (Şekil 27).



Şekil 26. STZ ile oluşturulan diyabette ALA dozlarının diyafram kasında sarsı % AUC'ye etkisi *: Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).



Şekil 27. STZ ile oluşturulan diyabette ALA dozlarının diyafram kasında tetani % AUC'ye etkisi *: Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).

4.2.2. İnsülin ile Kombinasyon Şeklinde Uygulanan Alfa-Lipoik Asitin Diyabetik Diyafram Kası Biyomekanik Parametreleri Üzerine Etkisi

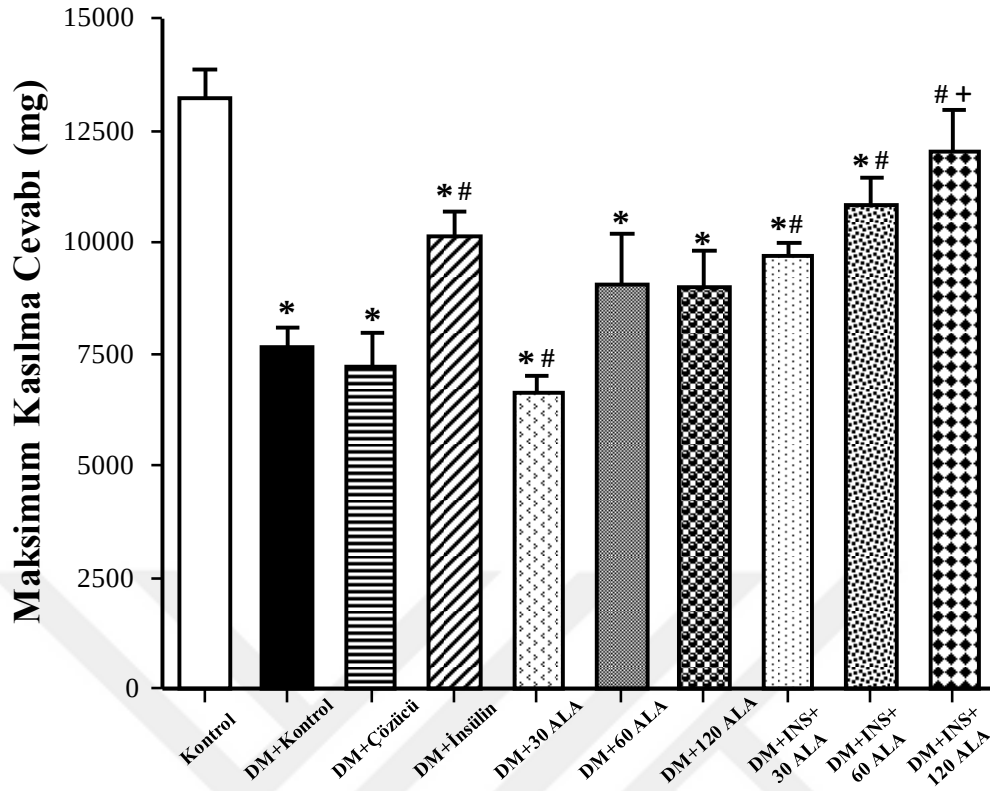
Diyafram kas preparatının elektriksel olarak uyarılmasıyla elde edilen izometrik yanıtlar kaydedildi. 30, 60 ve 120 mg/kg dozlarında sekiz hafta boyunca subkutan olarak uygulanan ALA'nın kasılma yanıtlarına olan etkileri incelendi.

4.2.2.1. İnsülin ile Kombinasyon Şeklinde Uygulanan Alfa-Lipoik Asitin Maksimum Kasılma Cevabına Etkisi

Kontrol grubunda ortalama ($\pm$ SEM) maksimum kasılma cevabı 13243.92 ± 621.92 mg, DM+kontrol grubunda 7689.33 ± 454.14 mg, DM+çözücü grubunda 7225.06 ± 759.28 mg, DM+İnsülin grubunda 10144.65 ± 556.67 mg olarak tespit edildi. Ek olarak insülin uygulanan ALA doz gruplarında (DM+INS+30 ALA, DM+INS+60 ALA ve DM+INS+120 ALA) ortalama ($\pm$ SEM) maksimum kasılma cevapları sırasıyla 9727.64 ± 294.03 , 10828.29 ± 533.93 ve 12064.09 ± 909.95 mg olarak belirlendi. Maksimum kasılma cevabına ait sonuçlar Tablo 5'te sunulmuştur.

Bütün gruplar kontrol grubu ile maksimum kasılma cevabı açısı yönünden karşılaştırıldığında DM+kontrol, DM+çözücü, DM+INS, DM+INS+30ALA ve DM+INS+60 ALA grubunda maksimum kasılma cevabının kontrol grubuna göre (sırasıyla $p=0.0001$, $p=0.0001$, $p=0.001$, $p=0.0001$ ve $p=0.012$) istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı saptandı.

Tüm gruplar DM+kontrol grubu ile karşılaştırıldığında DM+INS, DM+INS+30 ALA ve DM+INS+60 ALA ve DM+INS+120 ALA grubunda maksimum kasılma cevabının DM+kontrol grubuna göre (sırasıyla $p=0.008$, $p=0.031$ $p=0.001$ ve $p=0.0001$) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığı görüldü (Şekil 22). DM+INS+30 ALA, DM+INS+60 ALA ve DM+INS+120 ALA grupları DM+INS grubu ile karşılaştırıldığında DM+INS+120 ALA grubu DM+INS grubuna göre anlamlı düzeyde arttığı tespit edildi ($p=0.035$) (Şekil 28).

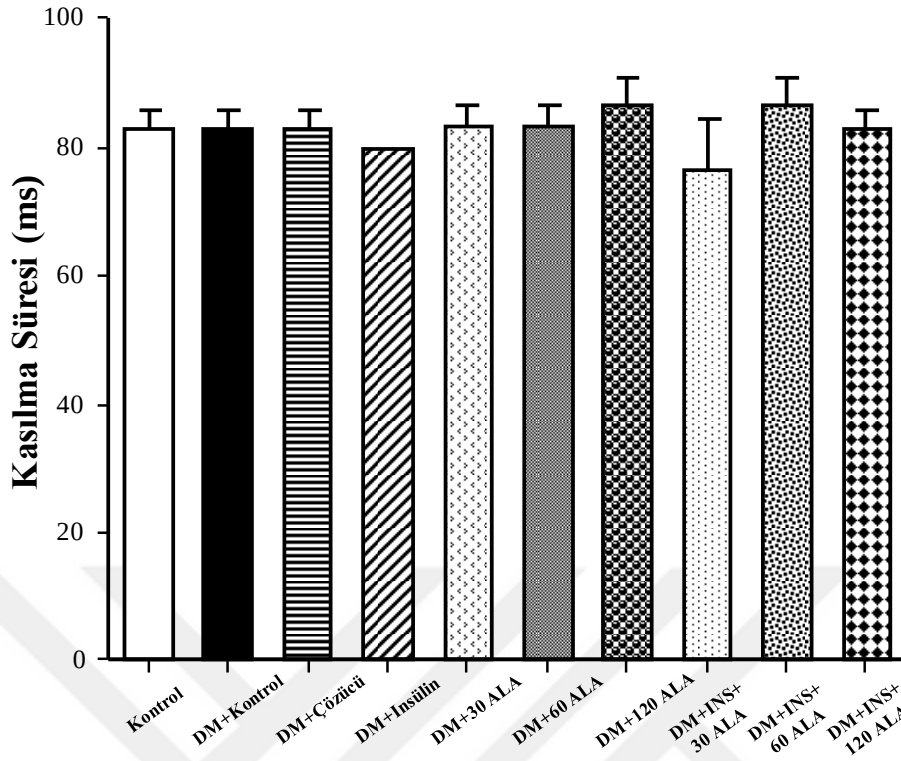


Şekil 28. STZ ile oluşturulan diyabette insülin ile kombinasyon şeklinde uygulanan ALA dozlarının diyafram kasında maksimum kasılma cevabına etkisi *: Kontrol; #:DM+Kontrol; +: DM+İns grubuna göre istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).

4.2.2.2. İnsülin ile Kombinasyon Şeklinde Uygulanan Alfa-Lipoik Asitin Kasılma Süresine Etkisi

Kontrol grubunda ortalama ($\pm$ SEM) kasılma süresi 82.86 ± 2.86 sn, DM+kontrol grubunda 82.86 ± 2.86 sn, DM+çözücü grubunda 82.86 ± 2.86 sn, DM+İNS grubunda 80 ± 0 sn olarak tespit edildi. Ek olarak insülin uygulanan ALA doz gruplarında (DM+İNS+30 ALA, DM+İNS+60 ALA ve DM+İNS+120 ALA) ortalama ($\pm$ SEM) kasılma süresi sırasıyla 76.67 ± 8.03 , 86.67 ± 4.22 ve 82.86 ± 2.86 sn olarak belirlendi. Kasılma süresine ait sonuçlar Tablo 5’te sunulmuştur.

Bütün gruplar kontrol grubu ile kasılma süresi açısı yönünden karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark bulunmadı ($p>0.05$). Tüm gruplar DM+kontrol grubu ile karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel açıdan fark görülmedi ($p>0.05$). DM+İNS+30 ALA, DM+İNS+60 ALA ve DM+İNS+120 ALA grupları DM+İNS grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark gözlenmedi ($p>0.05$) (Şekil 29).



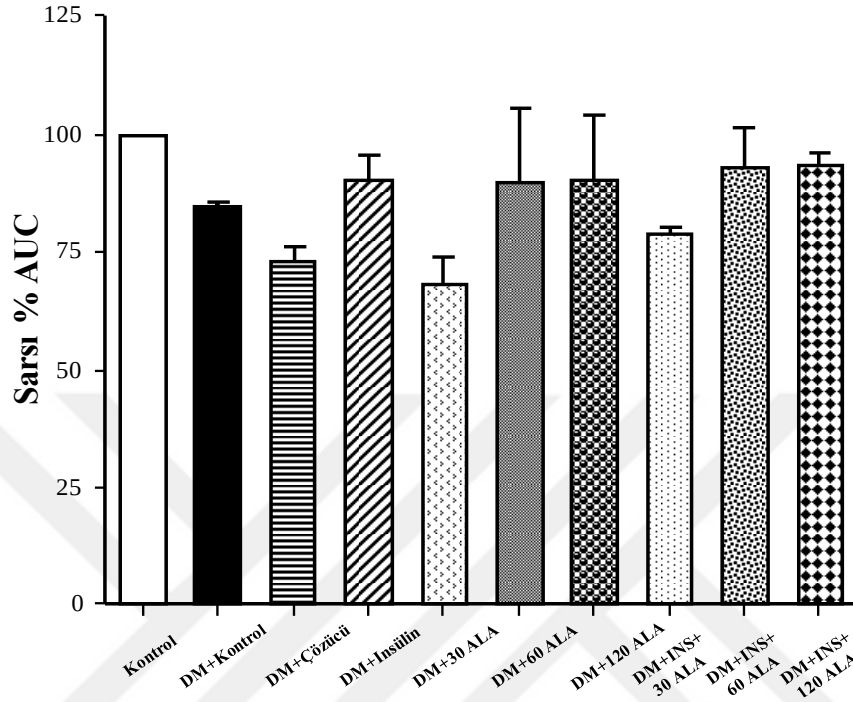
Şekil 29. STZ ile oluşturulan diyabette insülin ile kombinasyon şeklinde uygulanan ALA dozlarının diyafram kasında kasılma süresine etkisi. Gruplar arasında anlam bulunmadı ($p>0.05$).

4.2.2.3. İnsülin ile Kombinasyon Şeklinde Uygulanan Alfa-Lipoik Asitin Sarsı Kuvvetine Etkisi

Tek bir sarsıdan elde edilen AUC değeri kontrol grubu ortalamasına göre yüzdelikleri hesaplandı ve % olarak ifade edildi. Kontrol grubunda ortalama ($\pm$ SEM) sarsı AUC değeri $\%100\pm0$, DM+kontrol grubunda $\%84.3\pm1.44$, DM+çözücü grubunda $\%72.71\pm3.39$, DM+İnsülin grubunda $\%90.26\pm5.50$ olarak tespit edildi. Ek olarak insülin uygulanan ALA doz gruplarında (DM+INS+30 ALA, DM+INS+60 ALA ve DM+INS+120 ALA) ortalama ($\pm$ SEM) sarsı AUC değerleri sırasıyla $\%78.68\pm1.9$, 93.09 ± 8.21 ve 93.66 ± 2.39 olarak belirlendi. Sarsı % AUC cevabına ait sonuçlar Tablo 5'te sunulmuştur.

Bütün gruplar kontrol grubu ile sarsı % AUC yönünden karşılaştırıldığında DM+kontrol, DM+çözücü, ve DM+INS+30 ALA grubunda maksimum kasılma cevabının kontrol grubuna göre (sırasıyla $p=0.019$, $p=0.0001$ ve $p=0.003$) istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı saptandı. Tüm gruplar DM+kontrol grubu ile karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel açıdan fark görülmedi ($p>0.05$). DM+INS+30 ALA, DM+INS+60

ALA ve DM+INS+120 ALA grupları DM+INS grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark gözlenmedi ($p>0.05$) (Şekil 30).



Şekil 30. STZ ile oluşturulan diyabette insülin ile kombinasyon şeklinde uygulanan ALA dozlarının diyafram kasında sarsı % AUC'ye etkisi. Gruplar arasında anlam bulunmadı ($p>0.05$).

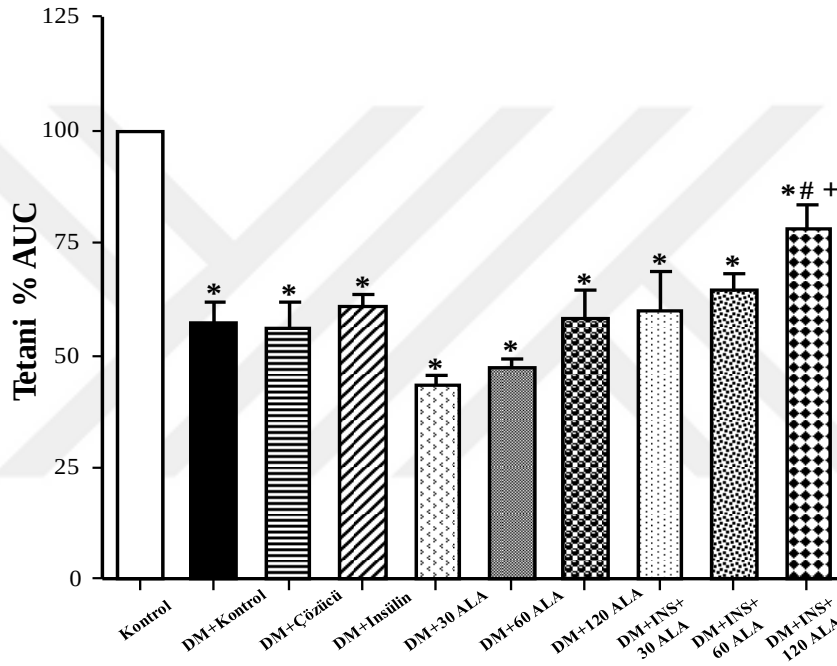
4.2.2.4. İnsülin ile Kombinasyon Şeklinde Uygulanan Dozlarının Tetaniye Etkisi

Tetanik kasılmalardan elde edilen AUC değerinin kontrol grubunun ortalamasına göre yüzdelikleri hesaplandı ve % olarak ifade edildi. Kontrol grubunda ortalama ($\pm$ SEM) tetanik kuvvet AUC değeri $\%100\pm0$, DM+kontrol grubunda $\%56.96\pm4.75$, DM+çözücü grubunda $\%56.33\pm5.35$, DM+İnsülin grubunda $\%61.08\pm2.27$ olarak tespit edildi. Ek olarak INS uygulanan ALA doz gruplarında (DM+INS+30 ALA, DM+INS+60 ALA ve DM+INS+120 ALA) ortalama ($\pm$ SEM) tetanik kuvvet AUC değerleri sırasıyla $\%59.88\pm8.76$, 64.56 ± 3.78 ve 78.15 ± 5.46 olarak belirlendi. Tetanik kuvvet % AUC'ye ait sonuçlar Tablo 5'te sunulmuştur.

Bütün gruplar kontrol grubu ile tetanik kuvvet % AUC yönünden karşılaştırıldığında DM+kontrol, DM+çözücü, DM+INS, DM+INS+30 ALA, DM+INS+60 ALA ve

DM+INS+120 grubunda tetanik kuvvet % AUC değeri kontrol grubuna göre ($p=0.0001$ ve $p=0.001$) istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı saptandı.

Tüm gruplar DM+kontrol grubu ile karşılaştırıldığında DM+INS+120 ALA grubunda DM+kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde artış gözlemlendi ($p=0.012$). DM+INS+30 ALA ve DM+INS+60 ALA ve DM+INS+120 ALA grupları DM+INS grubu ile karşılaştırıldığında DM+INS+120 ALA grubu DM+INS grubuna göre anlamlı düzeyde arttığı tespit edildi ($p=0.041$) (Şekil 31).



Şekil 31. STZ ile oluşturulan diyabette INS+ALA dozlarının diyafram kasında tetanik kuvvet AUC'ye etkisi. *: Kontrol; #:DM+Kontrol; +: DM+Ins grubuna göre istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).

4.2.3. Kuersetinin Diyabetik Diyafram Kası Biyomekanik Parametreleri Üzerine Etkisi

Diyafram kas preparatının elektriksel olarak uyarılmasıyla elde edilen izometrik yanıtlar kaydedildi. 30, 60 ve 120 mg/kg dozlarında 8 hafta boyunca i.p. olarak uygulanan KUE'nin kasılma yanıtlarına olan etkileri incelendi.

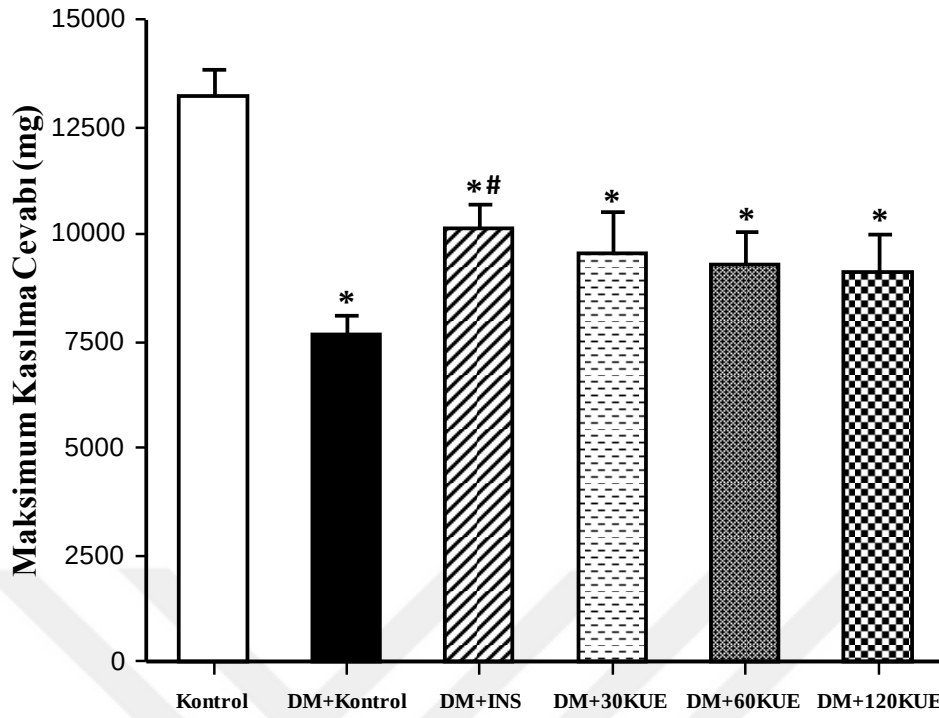
4.2.3.1. Kuersetinin Maksimum Kasılma Cevabına Etkisi

Kontrol grubunda ortalama ($\pm$ SEM) maksimum kasılma cevabı 13243.92 ± 621.92 mg, DM+kontrol grubunda 7689.33 ± 454.14 mg, DM+çözücü grubunda 7225.06 ± 759.28 mg, DM+INS grubunda 10144.65 ± 556.67 mg olarak tespit edildi. KUE doz gruplarında (DM+30 KUE, DM+60 KUE ve DM+120 KUE) ortalama ($\pm$ SEM) maksimum kasılma cevapları sırasıyla 9591.63 ± 926.80 , 9334.47 ± 746.51 ve 9109.55 ± 908.80 mg olarak belirlendi. Maksimum kasılma cevabına ait sonuçlar Tablo 5'te sunulmuştur.

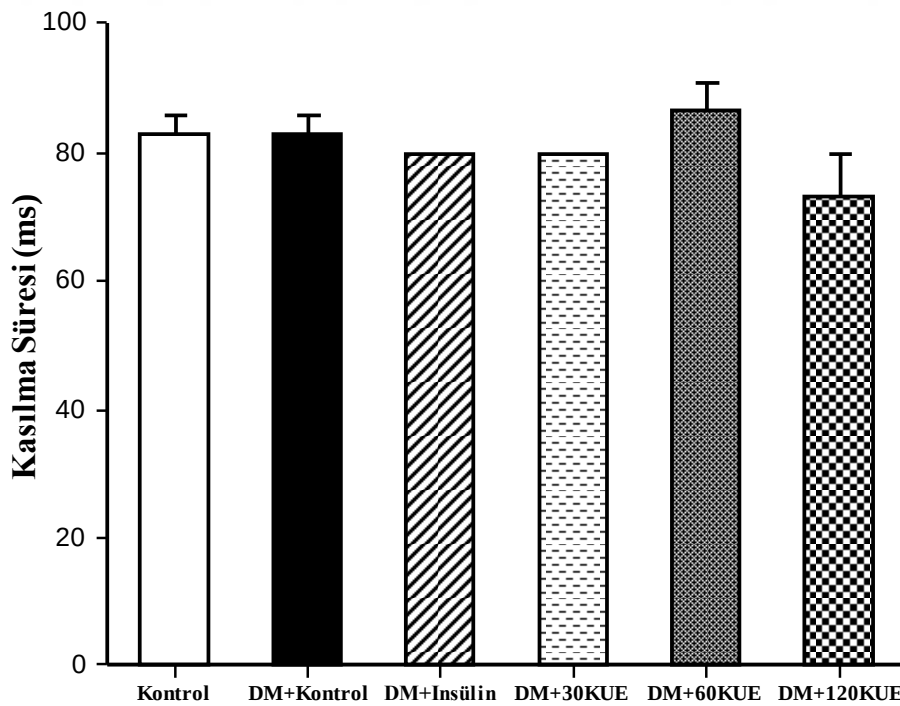
Bütün gruplar kontrol grubu ile maksimum kasılma cevabı açısı yönünden karşılaştırıldığında DM+kontrol, DM+çözücü, DM+INS, DM+30 KUE, DM+60 KUE ve DM+120 KUE grubunda maksimum kasılma cevabının kontrol grubuna göre (sırasıyla $p=0.0001$, $p=0.003$, $p=0.001$, $p=0.0001$, $p=0.0001$ ve $p=0.0001$) istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı saptandı. Tüm gruplar DM+kontrol grubu ile karşılaştırıldığında DM+INS grubunda maksimum kasılma cevabının DM+kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde arttığı görüldü ($p=0.015$) (Şekil 32).

4.2.3.2. Kuersetinin Kasılma Süresine Etkisi

Kontrol grubunda ortalama ($\pm$ SEM) kasılma süresi 82.86 ± 2.86 sn, DM+kontrol grubunda 82.86 ± 2.86 sn, DM+INS grubunda 80 ± 0 sn olarak tespit edildi. KUE doz gruplarında (DM+30 KUE, DM+60 KUE ve DM+120 KUE) ortalama ($\pm$ SEM) kasılma süresi sırasıyla 80 ± 0 , 86.67 ± 4.22 ve 73.33 ± 6.67 sn olarak belirlendi. Kasılma süresine ait sonuçlar Tablo 8'de sunulmuştur. Tüm gruplar kontrol grubu ile kasılma süresi açısı yönünden karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark bulunmadı ($p>0.05$). Tüm gruplar DM+kontrol grubu ile karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel açıdan fark görülmedi ($p>0.05$) (Şekil 33).



Şekil 32. STZ ile oluşturulan diyabette KUE dozlarının diyafram kasında maksimum kasılma cevabına etkileri *: Kontrol; #:DM+Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).



Şekil 33. STZ ile oluşturulan diyabette KUE dozlarının diyafram kasında kasılma süresine etkisi. Gruplar arasında anlam bulunmadı ($p>0.05$).

4.2.3.3. Kuersetinin Sarsı Kuvvetine Etkisi

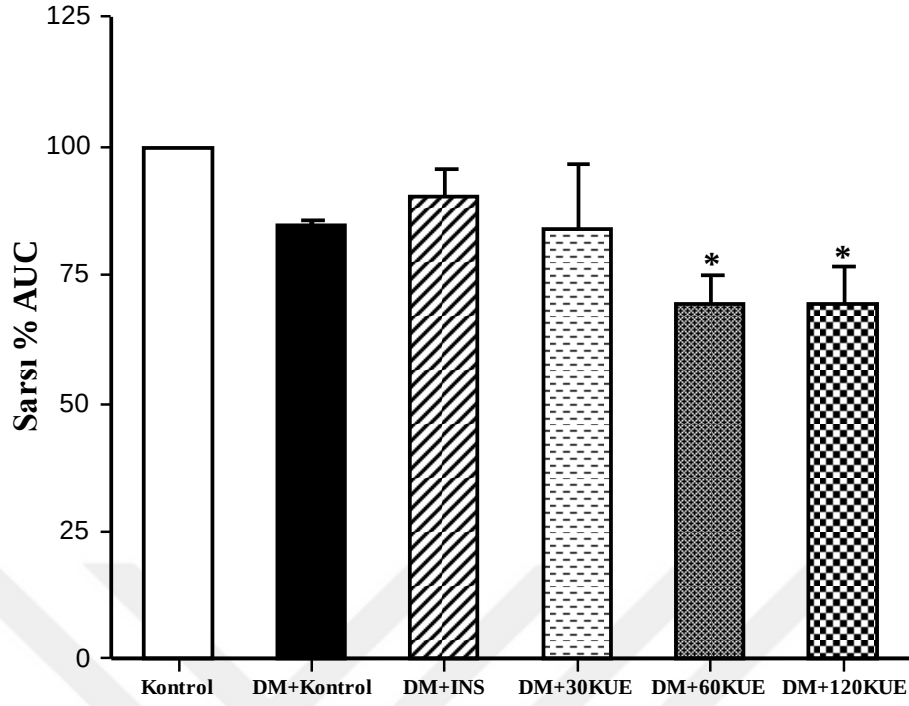
Tek bir sarsıdan elde edilen AUC değeri kontrol grubu ortalamasına göre yüzdelikleri hesaplandı ve % olarak ifade edildi. Kontrol grubunda ortalama ($\pm$ SEM) sarsı AUC değeri 100 ± 0 , DM+kontrol grubunda 84.3 ± 1.44 , DM+çözücü grubunda 72.71 ± 3.39 , DM+INS grubunda 90.26 ± 5.50 olarak tespit edildi. KUE doz gruplarında (DM+30 KUE, DM+60 KUE ve DM+120 KUE) ortalama ($\pm$ SEM) sarsı AUC değerleri sırasıyla 84.22 ± 12.57 , 69.54 ± 5.55 ve 69.38 ± 7.14 olarak belirlendi. Sarsı % AUC cevabına ait sonuçlar Tablo 5’te sunulmuştur.

Bütün gruplar kontrol grubu ile sarsı % AUC yönünden karşılaştırıldığında DM+60 KUE ve DM+120 KUE grubunda sarsı % AUC değeri kontrol grubuna göre (sırasıyla $p=0.004$ ve $p=0.004$) istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı saptandı. Tüm gruplar DM+kontrol grubu ile karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel açıdan fark görülmedi ($p>0.05$) (Şekil 34).

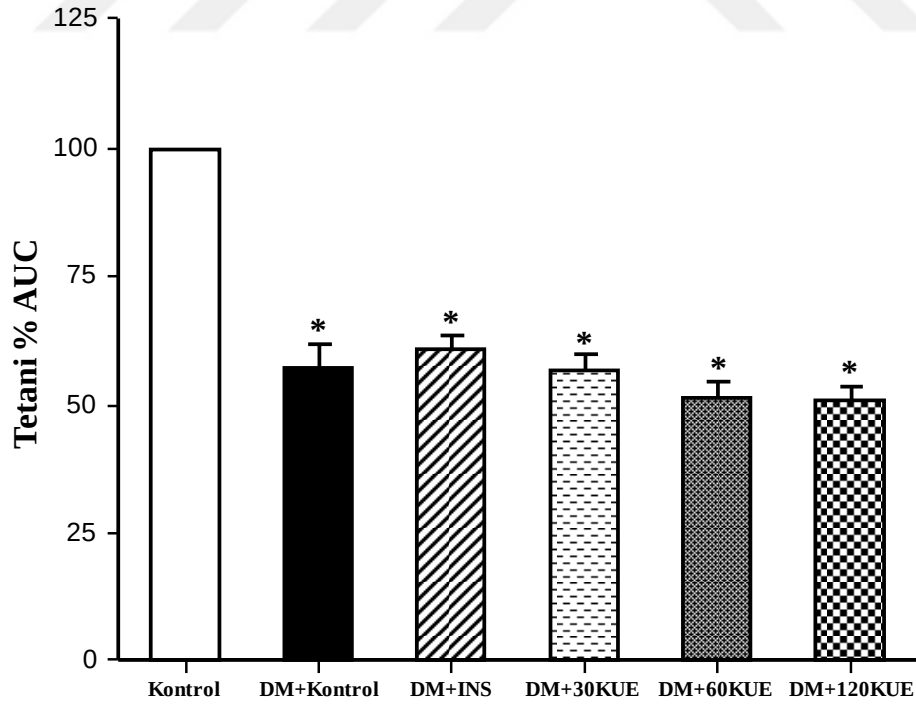
4.2.3.4. Kuersetinin Tetaniye Etkisi

Tetanik kasılmalardan elde edilen AUC değerinin kontrol grubunun ortalamasına göre yüzdelikleri hesaplandı ve % olarak ifade edildi. Kontrol grubunda ortalama ($\pm$ SEM) tetanik kuvvet AUC değeri 100 ± 0 , DM+kontrol grubunda 56.96 ± 4.75 , DM+çözücü grubunda 56.33 ± 5.35 , DM+INS grubunda 61.08 ± 2.27 olarak tespit edildi. KUE doz gruplarında (DM+30 KUE, DM+60 KUE ve DM+120 KUE) ortalama ($\pm$ SEM) tetanik kuvvet AUC değerleri sırasıyla 51.25 ± 3.38 , 50.58 ± 2.68 ve 78.15 ± 5.46 olarak belirlendi. Tetanik kuvvet % AUC’ye ait sonuçlar Tablo 5’te sunulmuştur.

Bütün gruplar kontrol grubu ile tetanik kuvvet % AUC yönünden karşılaştırıldığında DM+kontrol, DM+çözücü, DM+INS, DM+30 KUE, DM+60 KUE ve DM+120 KUE grubunda tetanik kuvvet % AUC değeri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı saptandı ($p=0.0001$). Tüm gruplar DM+kontrol grubu ile karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel açıdan fark görülmedi ($p>0.05$) (Şekil 35).



Şekil 34. STZ ile oluşturulan diyabette KUE dozlarının diyafram kasında sarsı % AUC'ye etkisi *: Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).



Şekil 35. STZ ile oluşturulan diyabette KUE dozlarının diyafram kasında tetanik kuvvet % AUC'ye etkisi. *: Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).

Tablo 5. Bütün gruplara ait biyomekanik parametrelerin ortalama($\pm$ SEM) değerleri

Gruplar	Maksimum Kasılma (mg)	Kasılma Süresi(sn)	Sarsı %AUC	Tetani %AUC
Kontrol	13243.92 $\pm$ 621.92*	82.86 $\pm$ 2.86	100 $\pm$ 0	100 $\pm$ 0
DM+Kontrol	7689.33 $\pm$ 454.14*	82.86 $\pm$ 2.86	84.30 $\pm$ 1.44*	56.96 $\pm$ 4.75*
DM+Çözücü	7225.06 $\pm$ 759.28*	82.86 $\pm$ 2.86	72.71 $\pm$ 3.39*	56.33 $\pm$ 5.35*
DM+INS	10144.65 $\pm$ 556.67*	80 $\pm$ 0	90.26 $\pm$ 5.50	61.08 $\pm$ 2.27*
DM+30 ALA	6685.53 $\pm$ 387.26*	83.33 $\pm$ 3.33	68.34 $\pm$ 5.85*	43.31 $\pm$ 2.11*
DM+60 ALA	9050.90 $\pm$ 1143.16*	83.33 $\pm$ 3.33	89.94 $\pm$ 15.74	46.92 $\pm$ 2.41*
DM+120 ALA	9023.60 $\pm$ 797.46*	86.67 $\pm$ 4.22	90.60 $\pm$ 13.26	58.01 $\pm$ 6.35*
DM+INS+30 ALA	9727.64 $\pm$ 294.03 [#]	76.67 $\pm$ 8.03	78.68 $\pm$ 1.90*	59.88 $\pm$ 8.76*
DM+INS+60 ALA	10828.29 $\pm$ 533.93 [#]	86.67 $\pm$ 4.22	93.09 $\pm$ 8.21	64.56 $\pm$ 3.78*
DM+INS+120ALA	12064.09 $\pm$ 909.95 ^{#,+}	82.86 $\pm$ 2.86	93.66 $\pm$ 2.39	78.15 $\pm$ 5.46 ^{*,#,+}
DM+30 KUE	9591.63 $\pm$ 926.80	80 $\pm$ 0	69.54 $\pm$ 5.55*	51.25 $\pm$ 3.38*
DM+60 KUE	9334.47 $\pm$ 746.51	86.67 $\pm$ 4.22	69.38 $\pm$ 7.14*	50.58 $\pm$ 2.68*
DM+120 KUE	9109.55 $\pm$ 908.80	73.33 $\pm$ 6.67	93.66 $\pm$ 2.39*	78.15 $\pm$ 5.46*

Değerler ortalama $\pm$ ortalamanın standart hatası şeklinde verildi.

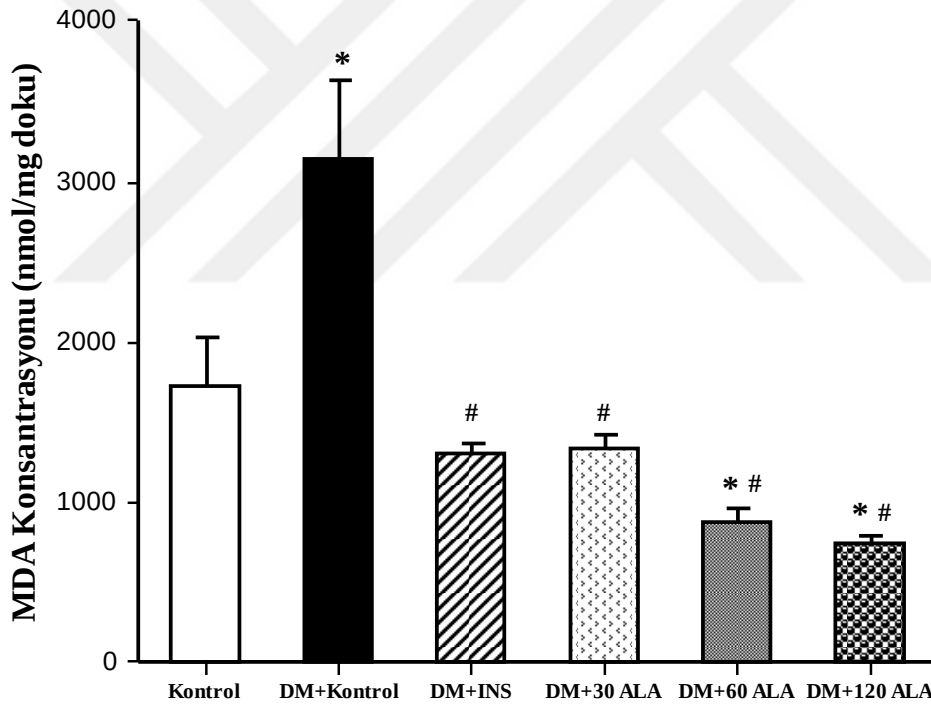
*: Kontrol; #:DM+Kontrol; +: DM+Ins grubuna göre istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05).

4.3. Diyabetik Diyafram Dokusunda Alfa-Lipoik Asitin Malondealdehit Düzeyi ile Süperoksit Dismutaz, Katalaz ve Glutasyon Peroksidaz Aktivitelerine Etkisi

4.3.1. Alfa-Lipoik Asitin Malondealdehit Düzeyine Etkisi

Diyafram kas dokusundan elde edilen MDA seviyesi ölçüm sonucunda ortalama MDA düzeyleri kontrol grubunda 1727.49 $\pm$ 300.97 nmol/mg doku, DM+kontrol grubunda 3153.18 $\pm$ 477.48 nmol/mg doku, DM+INS grubunda 1302.53 $\pm$ 74.52 nmol/mg doku, DM+30 ALA grubunda 1337.28 $\pm$ 84.69 nmol/mg doku, DM+60 ALA grubunda 891.28 $\pm$ 75.02 nmol/mg doku ve DM+120 ALA grubunda 753.03 $\pm$ 53.24 nmol/mg doku olarak bulundu (Tablo 6).

Kontrol grubu ile DM+kontrol grubu MDA aktivitesi yönünden karşılaştırıldığında MDA konsantrasyonunun kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığı tespit edildi ($p=0.0001$). Kontrol grubu ile DM+60 ALA ve DM+120 ALA grubu MDA aktivitesi yönünden karşılaştırıldığında MDA konsantrasyonunun kontrol grubuna göre (sırasıyla $p=0.019$ ve $p=0.007$) anlamlı düzeyde azaldığı saptandı. Kontrol grubu ile DM+INS ve DM+30 ALA dozlarının uygulandığı gruplar MDA aktivitesi yönünden karşılaştırıldığında kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı bir farkın olmadığı belirlendi ($p>0.05$). DM+kontrol grubu ile DM+INS, DM+30 ALA, DM+60 ALA ve DM+120 ALA grupları MDA düzeyleri açısından karşılaştırıldığında DM+kontrol grubuna göre anlamlı şekilde azaldığı tespit edildi ($p=0.0001$) (Şekil 36).



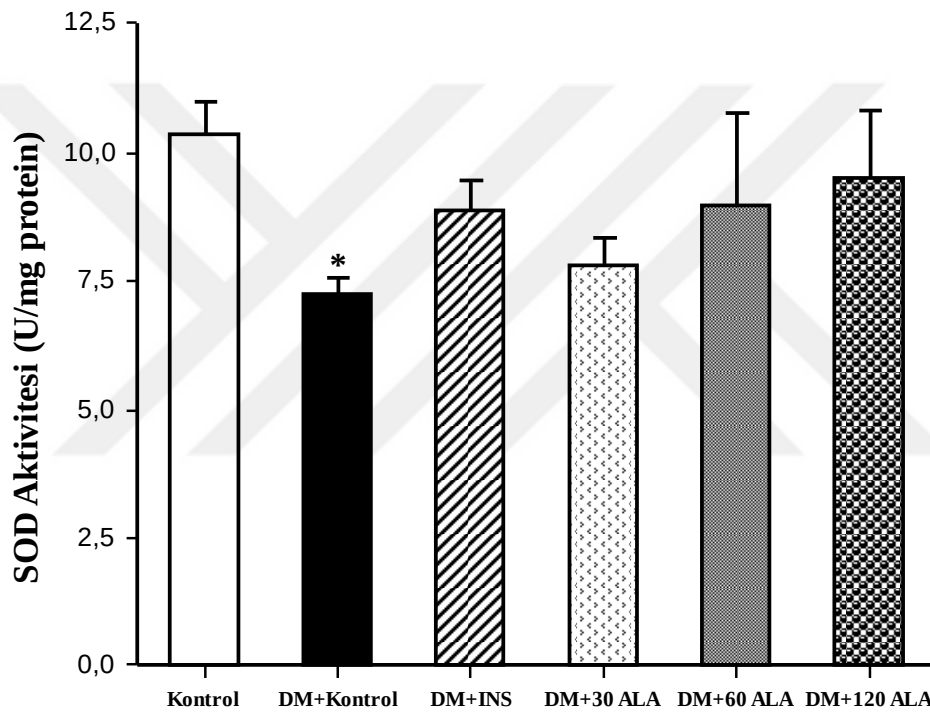
Şekil 36. ALA dozlarının diyabetik diyafram kas dokusunda MDA düzeyine etkileri.
*: Kontrol; #:DM+Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).

4.3.2. Alfa-Lipoik Asitin Süperoksit Dismutaz Aktivitesine Etkisi

Diyafram kas dokusundan elde edilen SOD aktivitesi ölçüm sonucunda ortalama SOD düzeyleri kontrol grubunda $10,34\pm0,68$ U/mg protein, DM+kontrol grubunda $7,23\pm0,31$ U/mg protein, DM+INS grubunda $8,88\pm0,58$ U/mg protein, DM+30 ALA

grubunda $7,84 \pm 0,53$ U/mg protein, DM+60 ALA grubunda $9,01 \pm 1,77$ U/mg protein ve DM+120 ALA grubunda $9,49 \pm 1,37$ U/mg protein olarak bulundu (Tablo 6).

Kontrol grubu ile DM+kontrol grubu SOD aktivitesi yönünden karşılaştırıldığında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı tespit edildi ($p=0.038$). Diyafram dokusundan ölçülen SOD aktivitesi bakımından kontrol ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark görülmedi ($p>0.05$). Tüm gruplar DM+kontrol grubu ile karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel açıdan fark görülmedi ($p>0.05$) (Şekil 37).

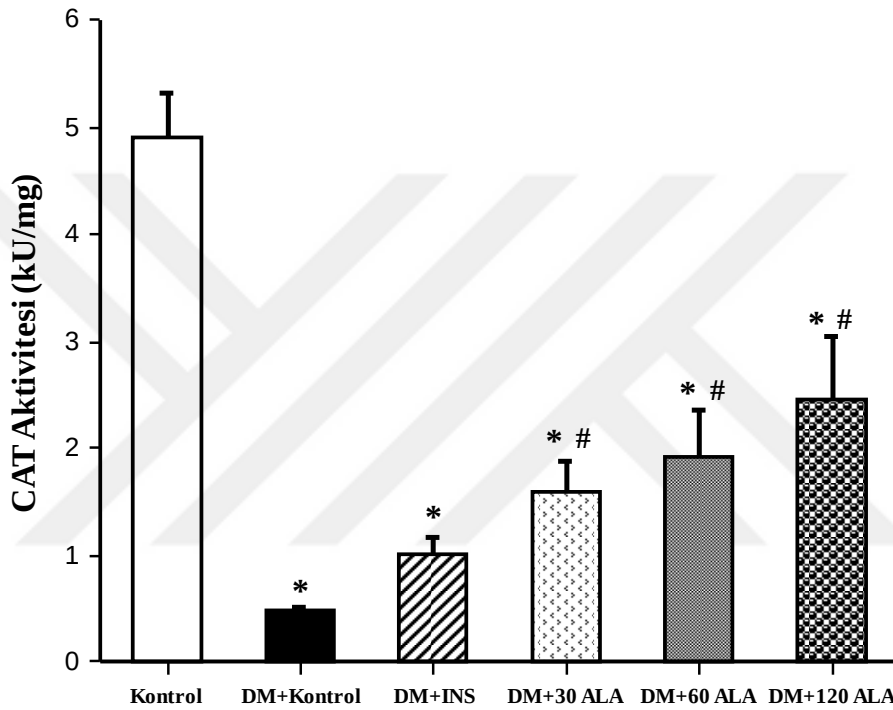


Şekil 37. ALA dozlarının diyabetik diyafram kas dokusunda SOD aktivitesine etkileri.
*: Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).

4.3.3. Alfa-Lipoik Asitin Katalaz Aktivitesine Etkisi

Diyafram kas dokusundan elde edilen CAT seviyesi ölçüm sonucunda ortalama CAT düzeyleri kontrol grubunda $4,93 \pm 0,40$ k/mg protein, DM+kontrol grubunda $0,48 \pm 0,04$ k/mg protein, DM+INS grubunda $1,02 \pm 0,16$ k/mg protein, DM+30 ALA grubunda $1,60 \pm 0,27$ k/mg protein, DM+60 ALA grubunda $1,94 \pm 0,43$ k/mg protein ve DM+120 ALA grubunda $2,47 \pm 0,57$ k/mg protein olarak bulundu (Tablo 6).

Kontrol grubu ile DM+kontrol, DM+INS, DM+30 ALA, DM+60 ALA ve DM+120 ALA grupları CAT aktivitesi yönünden karşılaştırıldığında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı tespit edildi ($p=0.0001$). DM+kontrol grubu ile DM+30 ALA, DM+60 ALA ve DM+120 ALA grupları GPx aktivitesi yönünden karşılaştırıldığında kontrol grubuna göre (sırasıyla $p=0.034$, $p=0.007$ ve $p=0.0001$) istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı saptandı (Şekil 38).



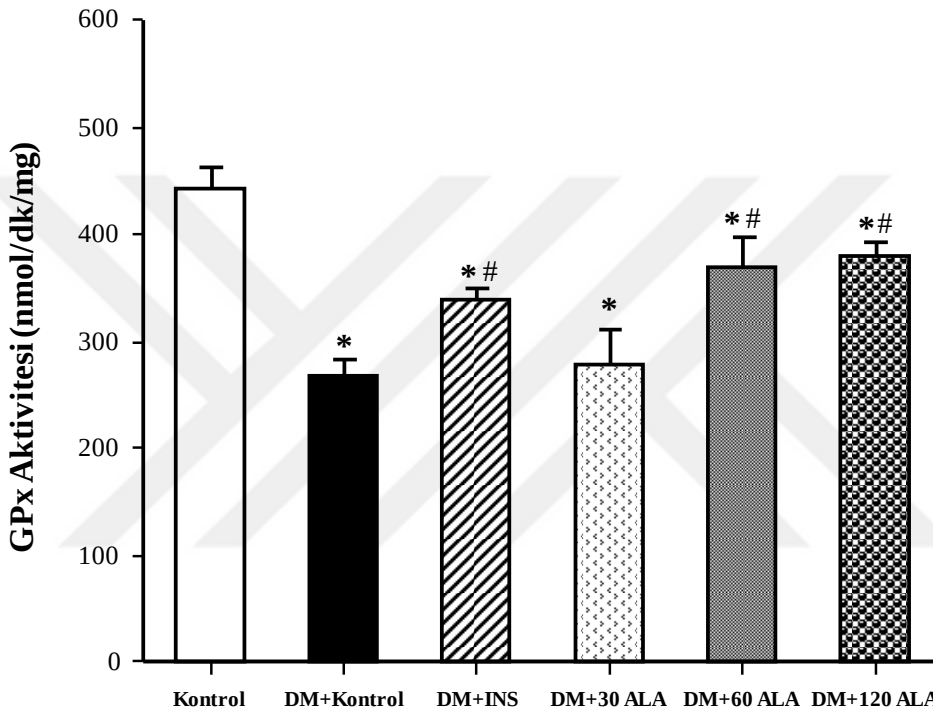
Şekil 38. ALA dozlarının diyabetik diyafram kas dokusunda CAT aktivitesine etkileri.
*: Kontrol; #: DM+Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).

4.3.4. Alfa-Lipoik Asitin Glutasyon Peroksidaz Aktivitesine Etkisi

Diyafram kas dokusundan elde edilen GPx seviyesi ölçüm sonucunda ortalama GPx düzeyleri kontrol grubunda $443,39 \pm 19,87$ nmol/dk/mg protein, DM+kontrol grubunda $268,26 \pm 15,69$ nmol/dk/mg protein, DM+INS grubunda $339,03 \pm 11,33$ nmol/dk/mg protein, DM+30 ALA grubunda $279,84 \pm 33,46$ nmol/dk/mg protein, DM+60 ALA grubunda $371,54 \pm 27,05$ nmol/dk/mg protein ve DM+120 ALA grubunda $381,55 \pm 12,34$ nmol/dk/mg protein olarak bulundu (Tablo 6).

Kontrol grubu ile DM+kontrol, DM+INS, DM+30 ALA ve DM+60 ALA grupları GPx aktivitesi yönünden karşılaştırıldığında kontrol grubuna göre (sırasıyla $p=0.0001$,

p=0.002, p=0.0001 ve p=0.025) istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı tespit edildi (p<0.05). DM+kontrol grubu ile DM+INS, DM+60 ALA ve DM+120 ALA tedavisi yapılan gruplar GPx aktivitesi yönünden karşılaştırıldığında DM+kontrol grubuna göre (sırasıyla p=0.027, p=0.002 ve p=0.001) istatistiksel olarak arttığı saptandı. DM+kontrol grubu ile DM+30 ALA grubu arasında GPx aktivitesi yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir farkın bulunmadığı belirlendi (p>0.05) (Şekil 39).



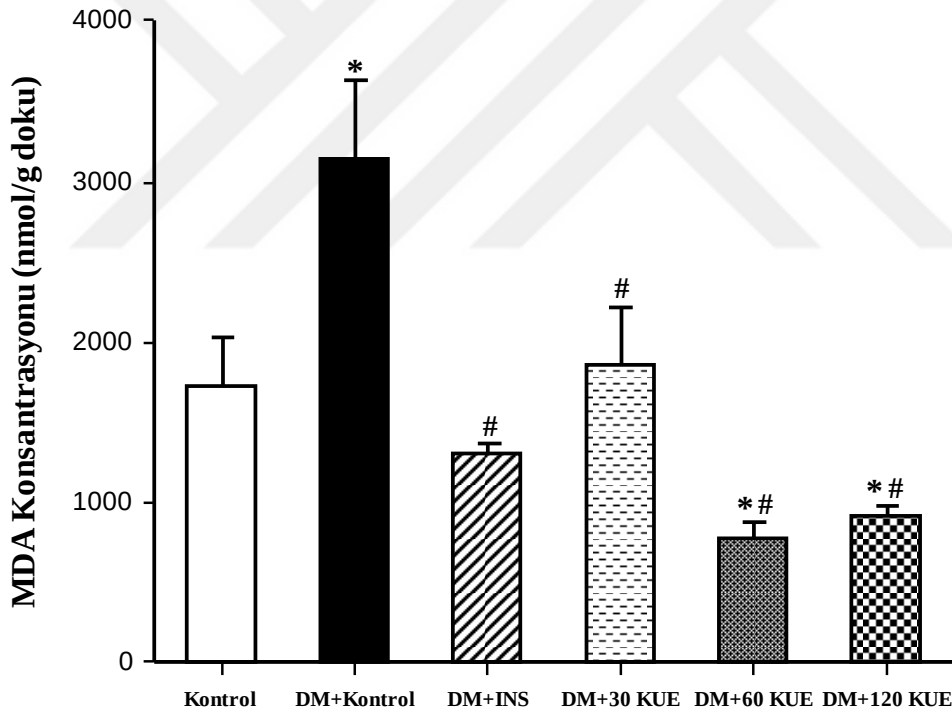
Şekil 39. ALA dozlarının diyabetik diyafram kas dokusunda GPx aktivitesine etkileri.
*: Kontrol; #: DM+Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05).

4.4. Diyabetik Diyafram Dokusunda Kuersetinin Malondealdehit düzeyi ile Süperoksit Dismutaz, Katalaz ve Glutasyon Peroksidaz Aktivitelerine Etkisi

4.4.1. Kuersetinin Malondealdehit Düzeyine Etkisi

Diyafram kas dokusundan elde edilen MDA seviyesi ölçüm sonucunda ortalama MDA düzeyleri kontrol grubunda 1727,49±300,97 nmol/g doku, DM+kontrol grubunda 3153,18±477,48 nmol/g doku, DM+INS grubunda 1302,53±74,52 nmol/g doku, DM+30 KUE grubunda 1865,61±355,82 nmol/g doku, DM+60 KUE grubunda 788,76±86,35 nmol/g doku ve DM+120 KUE grubunda 919,71±71,64 nmol/g doku olarak bulundu (Tablo 6).

Kontrol grubu ile DM+kontrol grubu MDA aktivitesi yönünden karşılaştırıldığında MDA konsantrasyonunun kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığı tespit edildi ($p=0.001$). Kontrol grubu ile DM+60 KUE ve DM+120 KUE grubu MDA aktivitesi yönünden karşılaştırıldığında MDA konsantrasyonunun kontrol grubuna göre (sırasıyla $p=0.023$ ve $p=0.049$) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı saptandı ($p<0.05$). Kontrol grubu ile DM+INS ve DM+30 KUE grupları MDA aktivitesi yönünden karşılaştırıldığında kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı bir farkın olmadığı belirlendi ($p>0.05$). DM+kontrol grubu ile DM+INS, DM+30 KUE, DM+60 KUE ve DM+120 KUE uygulanan gruplar MDA düzeyleri açısından karşılaştırıldığında MDA konsantrasyonunun DM+kontrol grubuna göre (sırasıyla $p=0.0001$, $p=0.003$, $p=0.0001$ ve $p=0.0001$) istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı tespit edildi (Şekil 40).



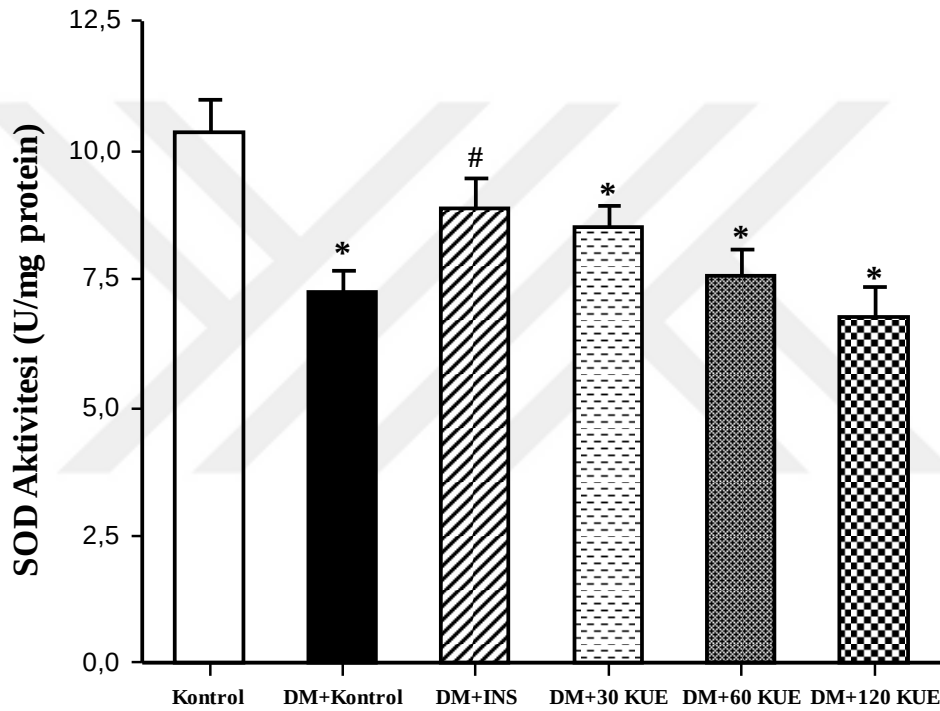
Şekil 40. KUE dozlarının diyafram kası dokusunda MDA düzeyine etkisi. *: Kontrol; #: DM+Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).

4.4.2. Kuersetinin Süperoksit Dismutaz Aktivitesine Etkisi

Diyafram kas dokusundan elde edilen SOD seviyesi ölçüm sonucunda ortalama SOD düzeyleri kontrol grubunda $10,34 \pm 0,68$ U/mg protein, DM+kontrol grubunda $7,23 \pm 0,31$ U/mg protein, DM+INS grubunda $8,88 \pm 0,58$ U/mg protein, DM+30 KUE grubunda

8,51±0,41 U/mg protein, DM+60 KUE grubunda 7,56±0,54 U/mg protein ve DM+120 KUE grubunda 6,77±0,56 U/mg protein olarak bulundu (Tablo 6).

Kontrol grubu ile DM+kontrol, DM+30 KUE, DM+60 KUE ve DM+120 KUE grupları SOD aktivitesi yönünden karşılaştırıldığında kontrol grubuna göre (sırasıyla $p=0.0001$, $p=0.020$, $p=0.001$ ve $p=0.0001$) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı tespit edildi. DM+INS grubu SOD aktivitesi yönünden DM+kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı saptandı ($p=0.034$) (Şekil 41).

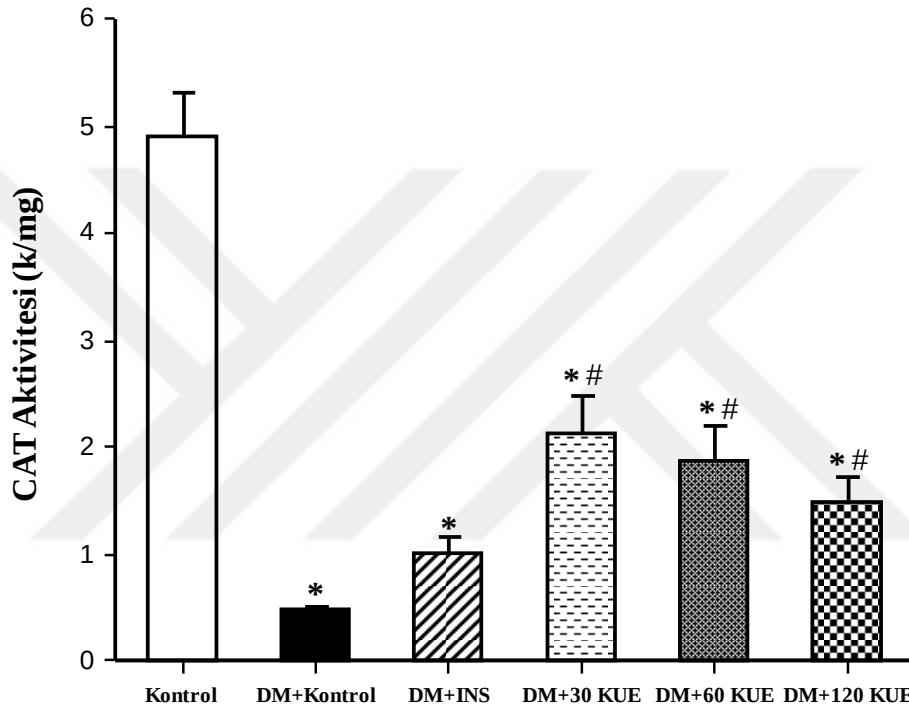


Şekil 41. KUE dozlarının diyafram kas dokusunda SOD aktivitesine etkisi. *: Kontrol; #: DM+Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).

4.4.3. Kuersetinin Katalaz Aktivitesine Etkisi

Diyafram kas dokusundan elde edilen CAT aktivitesi ölçüm sonucunda ortalama CAT düzeyleri kontrol grubunda 4,93±0,40 k/mg protein, DM+kontrol grubunda 0,48±0,04 k/mg protein, DM+INS grubunda 1,02±0,16 k/mg protein, DM+30 KUE grubunda 2,13±0,36 k/mg protein, DM+60 KUE grubunda 1,89±0,33 k/mg protein ve DM+120 KUE grubunda 1,49±0,13 k/mg protein olarak bulundu (Tablo 6).

Kontrol grubu ile DM+kontrol, DM+INS, DM+30 KUE, DM+60 KUE ve DM+120 KUE grupları CAT aktivitesi yönünden karşılaştırıldığında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı tespit edildi ($p=0.0001$). DM+kontrol grubu ile DM+30 KUE, DM+60 KUE ve DM+120 KUE grupları GPx aktivitesi yönünden karşılaştırıldığında kontrol grubuna göre (sırasıyla $p=0.0001$, $p=0.001$ ve $p=0.013$) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığı saptandı (Şekil 42).



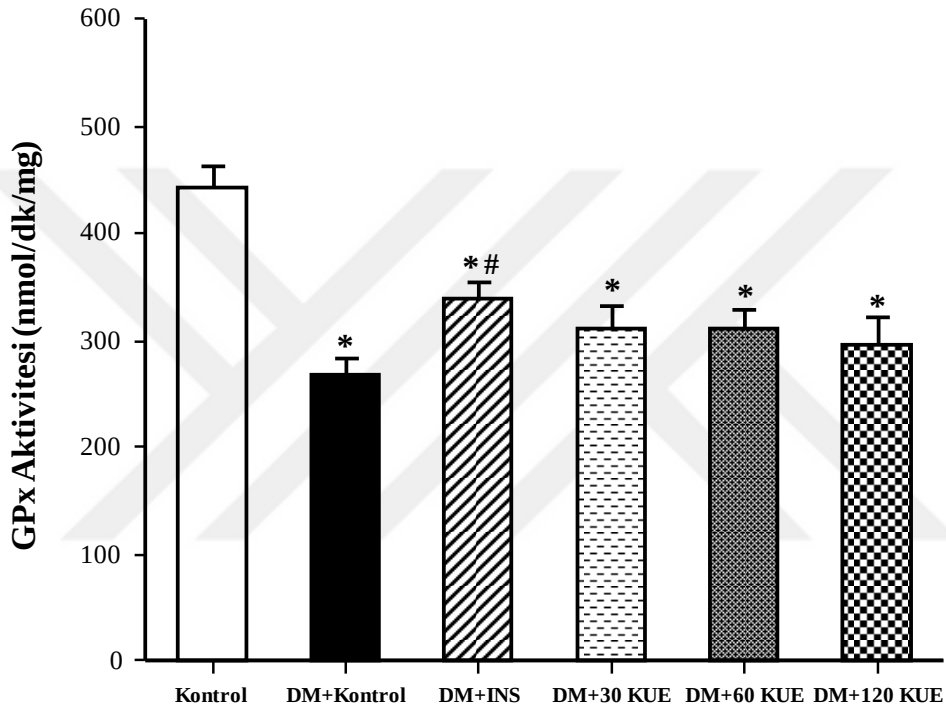
Şekil 42. KUE dozlarının diyafram kası dokusunda CAT aktivitesine etkisi. *: Kontrol; #: DM+Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).

4.4.4. Kuersetinin Glutasyon Peroksidaz Aktivitesine Etkisi

Diyafram kas dokusundan elde edilen GPx aktivitesi ölçüm sonucunda ortalama GPx düzeyleri kontrol grubunda $443,39 \pm 19,87$ nmol/dk/mg protein, DM+kontrol grubunda $268,26 \pm 15,69$ nmol/dk/mg protein, DM+INS grubunda $339,03 \pm 11,33$ nmol/dk/mg protein, DM+30 KUE grubunda $311,20 \pm 20,66$ nmol/dk/mg protein, DM+60 KUE grubunda $313,34 \pm 15,84$ nmol/dk/mg protein ve DM+120 KUE grubunda $297,16 \pm 24,29$ nmol/dk/mg protein olarak bulundu (Tablo 6).

Kontrol grubu ile DM+kontrol, DM+INS, DM+30 KUE, DM+60 KUE ve DM+120 KUE grupları GPx aktivitesi yönünden karşılaştırıldığında kontrol grubuna göre istatistiksel

olarak anlamlı düzeyde azaldığı tespit edildi ($p=0.0001$) . DM+kontrol grubu ile DM+INS grubu GPx aktivitesi yönünden karşılaştırıldığında DM+kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığı saptandı ($p=0.011$). DM+kontrol grubu ile DM+INS, DM+30 KUE, DM+60 KUE ve DM+120 KUE uygulanan gruplar GPx aktivitesi yönünden karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın bulunmadığı belirlendi ($p>0.05$) (Şekil 43).



Şekil 43. KUE dozlarının diyafram kası dokusunda GPx aktivitesine etkisi. *: Kontrol; #: DM+Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).

Tablo 6. ALA ve KUE dozlarının diyabetik diyafram kas dokusunda MDA düzeyi ile SOD, CAT ve GPx aktivitelerine ait ortalama($\pm$ SEM) değerleri

Gruplar	MDA (nmol/g doku)	SOD (U/mg protein)	CAT (k/mg protein)	GPx (nmol/dk/mg protein)
Kontrol	1727.49 $\pm$ 300.97	10.34 $\pm$ 0.68	4.93 $\pm$ 0.40	443.39 $\pm$ 19.87
DM+Kontrol	3153.18 $\pm$ 477.48*	7.23 $\pm$ 0.31*	0.48 $\pm$ 0.04*	268.26 $\pm$ 15.69
DM+İNS	1302.53 $\pm$ 74.52*	8.88 $\pm$ 0.58#	1.02 $\pm$ 0.16*	339.03 $\pm$ 11.33*,#
DM+30 ALA	1337.28 $\pm$ 84.69#	7.84 $\pm$ 0.53	1.60 $\pm$ 0.27*,#	279.84 $\pm$ 33.46*
DM+60 ALA	891.28 $\pm$ 75.02*,#	9.01 $\pm$ 1.77	1.94 $\pm$ 0.43*,#	371.54 $\pm$ 27.05*,#
DM+120 ALA	753.03 $\pm$ 53.24*,#	9.49 $\pm$ 1.37	2.47 $\pm$ 0.57*,#	381.55 $\pm$ 12.34*,#
DM+30 KUE	1865.61 $\pm$ 355.82#	8.51 $\pm$ 0.41*	2.13 $\pm$ 0.36*,#	311.20 $\pm$ 20.66*
DM+60 KUE	788.76 $\pm$ 86.35*,#	7.56 $\pm$ 0.54*	1.89 $\pm$ 0.33*,#	313.34 $\pm$ 15.84*
DM+120 KUE	919.71 $\pm$ 71.64*,#	6.77 $\pm$ 0.56*	1.49 $\pm$ 0.13*,#	297.16 $\pm$ 24.29*

Değerler ortalama $\pm$ ortalamanın standart hatası şeklinde verildi.

*: Kontrol; #: DM+Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05).

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Diyabet pankreasın yeterli miktarda insülin üretmemesi veya üretilen insüline karşı reseptörlerin direnç geliştirmesi sonucu ortaya çıkan glukoz, lipid ve amino asit metabolizmalarını etkileyen ve kronik komplikasyonlara yol açan ilerleyici bir metabolik hastalıktır. Son yıllarda hızla artan insidansı ile öne çıkan bu kronik hastalık, dünya genelinde önemli bir sağlık sorunu olarak kabul edilmektedir (27). Morbidite, mortalite oranlarını artırması, hastaların yaşam kalitesini düşürmesi ve sağlık harcamalarında ciddi maliyetlere yol açması nedeniyle diyabet, sağlık sistemleri için büyük yük oluşturmaktadır (22).

Sunulan tez çalışmasında, STZ ile indüklenmiş diyabetik sıçanların açlık kan şekeri düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde arttığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, daha önce yapılan çalışmalarla uyumludur. STZ ile indüklenen sıçan diyabet modellerinde açlık kan şekeri düzeylerinin kontrol grubuna göre yükseldiği bildirilmiştir (4). Mevcut bulgularımız, kullandığımız STZ modeli ile diyabetin başarıyla indüklendiğini doğrulamaktadır. Çalışma kapsamında 30, 60 ve 120 mg/kg dozlarda uygulanan ALA ve KUE tedavisinin diyabetle ilişkili olarak azalan vücut ağırlığı üzerinde herhangi belirgin bir etkisi olmadığı saptanmıştır. ALA ve KUE dozlarının kullanıldığı doz ve süre boyunca anlamlı bir kilo artışına veya azalışına yol açmadığı gözlemlendi.

Diyabet pek çok vücut sistemini etkileyen bir hastalıktır ve bu etkiler solunum sistemini de kapsamaktadır. Diyabetin yol açtığı mikrovasküler hasar, böbrekler ve retina gibi organlarda olduğu gibi, akciğerlerde de komplikasyonlara neden olmaktadır (86). Diyabetli hastalarda akciğer fonksiyonlarında azalmalar olduğu son yıllarda rapor edilmiştir. Akciğerin diyabetin hedef organı olabileceğine dair ilk bulgular, Schuyler ve ark. (87) tarafından ortaya koyulmuştur. T1DM'li genç hastalarda yapılan akciğer fonksiyon testlerinde akciğer kompliyansı, CO transfer kapasitesi, torasik gaz hacimleri, hava akımı direnci ve maksimal zorlu spirometrik fonksiyon testleri dahil olmak üzere diyabetik bireylerin akciğer işlevlerinin azaldığı bulunmuştur. Akciğerin elastik yapısının intratorasik hava yollarını desteklediği ve açık tuttuğu göz önüne alındığında, diyabetli hastaların kronik hava akımı tıkanıklığı riski taşıdığı belirtilmiştir. Sandler ve ark. (88) benzer şekilde akciğer elastikiyetinde azalma ve azalmış CO transfer kapasitesi saptamışlardır. Schnack ve ark. (89) diyabetik bireylerde spirometrik akciğer fonksiyon testlerinde azalma gözlemlemiş ve bu testler ile uzun vadeli metabolik kontrol arasında net bir ilişki olduğunu vurgulamışlardır.

Başka bir çalışma, DM'nin solunum kas dayanıklılığı ve vital kapasiteyi azaltarak solunum fonksiyon bozukluğuna yol açabileceğini göstermiştir (90). Shah ve ark. (91) T2DM hastalarını sağlıklı bireylerle karşılaştırmış ve solunum fonksiyonlarında (FEV1/FVC hariç) azalma tespit etmişlerdir. Bu değişikliklerin, diyabetin bağ dokularının glukozilasyonu ve akciğerlerde inflamatuvar değişikliklerle ilişkili olabileceğini belirtmişlerdir. Bu fonksiyonel değişikliklerin pratik sonuçları genellikle hafif olmakla birlikte, ilişkili akut veya kronik akciğer ve/veya kalp hastalığı varlığında diyabetik hastalarda ciddi solunum bozukluklarına yol açabileceği vurgulanmıştır (92). DM'nin süresi uzadıkça özellikle 10. yıldan sonra solunum fonksiyon bozukluklarının daha belirgin hale geldiği gözlemlenmiştir. T1DM hastalarının T2DM hastalarına kıyasla akciğer fonksiyon test parametrelerinin daha fazla etkilendiği belirtilmiştir (93). Diyabetin neden olduğu solunum kaslarındaki zayıflama veya nöropati, solunum fonksiyon testlerinde bozulmalara yol açmaktadır. DM hastalarında, solunum kaslarının gücünün azaldığı ve dayanıklılıklarının bozulduğu bildirilmiştir (94).

Diyabetik hastalardaki spesifik anormallikler dikkate alındığında, akciğerin diyabetin bir hedef organı olarak kabul edilmesi mümkündür. Literatürde, diyabetli hastalarda genellikle akciğer hacmi ve kapasitelerinde azalma eğilimi olduğu görülmektedir. Bu durum, solunum kaslarının zayıflaması veya diyabetin neden olduğu inflamatuvar değişikliklerle ilişkilendirilmektedir. Diyabetin solunum fonksiyon testleri üzerindeki etkileri, genellikle solunum kaslarının özellikle diyafram işlevselliğini etkilemesiyle bağlantılıdır (95). Bu tez çalışmasında diyabetin, solunum işlevinden %70 sorumlu olan diyaframın kasılma performansını ne ölçüde etkilediği araştırılmıştır. Diyaframın kontraktıl parametreleri üzerine STZ ile oluşturulan diyabetin uzun vadeli etkileri üzerine sınırlı çalışmalar yapıldığı için yeterince aydınlatılmamıştır. Araştırmamız STZ ile oluşturulan diyabet modelinde ALA ve KUE'nin diyafram kontraksiyonu üzerindeki etkilerini inceleyen ilk çalışma olması açısından kıymetlidir. Çalışmada diyabetik sıçanların diyafram kasılabilirliği üzerinde değişiklik olup olmadığı ve sekiz hafta boyunca 30, 60 ve 120 mg/kg dozlarda i.p. olarak uygulanan ALA ve KUE'nin bu değişikliği hangi yönde etkileyeceğini incelemek amaç edinilmiştir. Bununla birlikte aynı protokol uygulanmak üzere STZ ile oluşturulan diyabetik sıçanlara 8 IU/kg insülin ile kombinasyon şeklinde 30, 60 ve 120 mg/kg ALA sekiz hafta boyunca subkutan enjekte edilerek diyafram kontraksiyonu üzerine etkinliği araştırılmıştır. Elektriksel alan stimülasyonu kasların kasılma özelliklerini araştırmak için yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Diyabet tedavisinde sıkça kullanılan antioksidanlardan ALA ve KUE'nin diyaframın kasılma performansına etkisini

değerlendirmek amacıyla diyafram kas preparatına elektriksel alan stimülasyonu uygulandı. Diyafram kas preparatına uygulanan elektriksel stimülasyonlar sonucu elde ettiğimiz verilere göre diyafram kasının kasılma derecesinin kontrol grubuna kıyasla DM+kontrol grubunda anlamlı şekilde azaldığı maksimum kasılma cevabı ve tetanik kasılma parametrelerindeki düşüşle gösterilmiştir.

Diyabetle birlikte değişen karbonhidrat ve lipid metabolizması ile oksidatif stres ve membrandaki elektrofizyolojik değişiklikler solunum kaslarının kasılma performansını olumsuz etkilemektedir. Diyabetik koşullar altında artan kas yorgunluğundan sorumlu hücrel mekanizmalar hakkında bilğimiz sınırlıdır. Bu alanda yapılan çalışmalar diyafram kası üzerinde yapılmamış daha çok bacak çizgili kaslarında ve de kalp dokusunda gerçekleştirilmiştir (96). Diyafram kaslarında yapılan çalışmalarda, Hida ve ark. (97) STZ uygulamasından üç ve yedi gün sonra diyafram kontraktıl fonksiyonunun kötüleştiğini bildirirken, McGuire ve MacDermott (98) yaklaşık üç ayda diyabetik diyafram kaslarında kontraktılitenin bozulduğunu bildirmişlerdir. Bu tez çalışmasında, sekiz hafta sonunda DM+kontrol grubunda diyaframın maksimum kasılma ve tetanik kasılma kuvvetinin kontrol grubuna kıyasla azaldığı bulunmuştur. Böylece sekiz hafta sonra diyabetin diyafram kasılma fonksiyonunu bozduğu sonucuna ulaşılmıştır. Literatürde yapılan çalışmalara bakıldığında diyabetik sıçanların diyafram kasında diyabete bağlı diyafram kas fonksiyonunun bozulduğu bildirilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar literatürle uyumludur (97, 98).

Morfometrik bir çalışmada, STZ ile indüklenen diyabetten 12 ay sonra sıçan diyaframında fonksiyonel olarak ilişkili sinir ve kaslarda hem nöropati ve hem de miyopati geliştiği rapor edilmiştir. Bu kas değişikliklerinin dismetabolik durum ve/veya sinir lezyonlarından kaynaklanabileceği belirtilmiştir (99). Solunumla ilgili kritik bir kas olan diyafram üzerinde yapılan çalışmada, STZ ile indüklenen diyabetik sıçanlarda diyafram kontraktıl fonksiyonunun önemli ölçüde azaldığı ve bu durumun aşırı oksidatif stres ve inflamasyonla ilişkili olduğu rapor edilmiştir (4). Diyabetteki aşırı inflamatuvar reaksiyonun sıklıkla kollajen birikimi ve kas fibrozisine yol açtığı belirtilmiştir. Yapılan araştırmalar, diyabetik hayvanların kaslarında kollajen birikiminin diyabetik olmayan hayvanlardan daha fazla olduğunu göstermiştir. Diyafram fibrozisinin şiddetlenmesi, kasın sertliğini artırarak diyaframın kasılma fonksiyonunu olumsuz etkilemektedir. Bu nedenle, diyabetin neden olduğu diyafram hasarında inflamasyonu hedeflemek terapötik stratejilerden biri olabilir. Bu bulgular, diyabetin diyafram kasında patolojik değişikliklere neden olarak hasara yol açtığını

doğrulamaktadır (4). İnflamasyon, DM’de diyafram hasarının en önemli nedenlerinden biridir. Yang ve ark. (4) H₂S’nin, STZ kaynaklı diyafram kası fibrozunu (NLRP3 inflamatuvar aracılı fibroz) azalttığı ve DM’de diyaframın biyomekanik özelliklerini güçlendirdiği bildirilmiştir. Diyabetik hastalarda solunum kaslarında görülen zayıflığın nedeni, motor ve duysal nöropatiye de atfedilmiştir (100). Ancak bu hastalarda sinir fonksiyonu ve iletkenlikteki değişikliklerin tespiti ilk evrede oldukça zordur ve ortaya çıktıklarında, genellikle hastalığın daha ileri aşamasında gözlenmektedir. Dolayısıyla diyabetik nöropatinin kas fonksiyon bozukluğunun farklı nedenleri olabileceğini düşündürmektedir (101).

Diyabetin diyafram kasında dinlenim membran potansiyeli ve aksiyon potansiyeli gibi kas elektrofizyolojik özelliklerini bozduğu ve oksidatif stresin arttığı bildirilmiştir (6). Oksidatif stres, kas stresine karşı hücrel tepkilere aracılık etmede önemli bir rol oynamaktadır (102). Çizgili kasın hipoksi veya şiddetli ısı stresine maruz kalması, ROS seviyelerinin artmasına neden olarak hücre işlev bozukluğuna ve/veya yaralanmasına yol açmaktadır. Diyafram stres altında aşırı düzeyde ROS üretmektedir. Örneğin, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) olan hastalarda, şiddetli doku hipoksisinin neden olduğu stres, oksidatif stres ve çizgili kas hasarının artmasına neden olmaktadır. ROS’un çizgili kaslardaki rolünü araştıran pek çok çalışma olmasına rağmen, diyafragmatik çizgili kaslardaki ROS oluşum mekanizmasına odaklanan kapsamlı literatür sınırlıdır. Diyafram kası diğer çizgili kaslardan farklı olarak benzersiz lif bileşimiyle sürekli olarak kasılmaktadır. Ancak astım, KOAH, pulmoner fibroz ve bazen kalp yetmezliği gibi kronik kardiyopulmoner hastalıklarda diyafram aşırı çalışmakta ve kontraktıl fonksiyonu önemli ölçüde azalmaktadır. Normal kas işleyişi sırasında düşük seviyelerde oksijen radikalleri üretilmesine rağmen, tekrarlayan kasılmalar esnasında oluşum önemli derecede artmaktadır. Aşırı ROS birikimi hücre ve doku hasarına neden olmaktadır. ROS’un diyaframdaki çizgili kasa zarar verdiği ve böylece kas fonksiyon bozukluğuna yol açtığı rapor edilmiştir (103).

Antioksidan savunma sistemi, ROS’un zararlı etkilerini sınırlayarak biyolojik sistem için kritik bir koruma sağlamaktadır. SOD, CAT, GPx, glutatyon redüktaz vb. dahil olmak üzere birçok antioksidan enzim bulunmaktadır (104). Bunların yanı sıra, enzimatik olmayan antioksidanlar da (askorbat, tokoferoller, retinol, karotenoidler, melatonin, polifenoller, seruloplazmin, karnosin vb.) normal ROS seviyelerinin korunmasında önemli bir rol oynamaktadır (38). Antioksidan içeren besinler, hastalıkların önlenmesi ve gelişimini

engelleme açısından önemlidir. ALA pek çok biyokimyasal süreçte temel bir antioksidan olarak görev yaparak diyabetin patolojisinde potansiyel bir uygulamaya sahip bir besindir. ALA diyabet komplikasyonlarını (nöropati, nefropati, erektil disfonksiyon, miyopati ve retinopati gibi) önlemede tedaviye eklenmiştir (105).

Sunulan tez çalışmasında STZ ile oluşturan diyabet modelinde 60 ve 120 mg/kg ALA'nın diyafram preparatında maksimum kas kasılması ve sarsı % AUC değerini DM+kontrol grubuna göre artırdığı gözlenmiştir. Pozitif kontrol olan DM+INS grubu DM+kontrol grubuna kıyasla maksimum kasılma cevabını anlamlı derecede artırmıştır. Elde edilen bulgular, ALA uygulamasının tek başına diyabetin diyaframın kasılması üzerindeki inhibitör etkilerini tersine çeviremediğini göstermektedir. Bu nedenle çalışmada aynı protokol uygulanmak üzere üç ayrı grup daha oluşturularak STZ ile oluşturulan diyabetik sıçanlara kombinasyon şeklinde 8 IU/kg insülin ile 30, 60 ve 120 mg/kg ALA sekiz hafta boyunca subkutan enjekte edilmiştir. Elde edilen bulgulara göre DM+kontrol grubu ile karşılaştırıldığında DM+INS+30 ALA, DM+INS+60 ALA ve DM+INS+120 ALA gruplarında maksimum kasılma cevabının anlamlı şekilde arttığı bulunmuştur. Kombinasyon grupları DM+INS grubu ile karşılaştırıldığında DM+INS+120 ALA grubunda maksimum kasılma cevabı ve tetani % AUC değerinin anlamlı düzeyde arttığı tespit edilmiştir.

Literatürde farklı yöntemler ile yapılan deneysel çalışmalarda ALA'nın diyabetik diyafram üzerinde olumlu etkileri olduğunu iddia eden çalışmalar vardır. Obez/diyabetik farelerle yapılan bir çalışmada ALA'nın diyaframda glukoz alımını artırabildiği ve bu farelerin insüline dirençli çizgili kaslarında insüline verdiği yanıtı iyileştirebildiği gösterilmiştir (106). Diyabetik ve insüline dirençli hayvan modelleri ile yapılan pek çok çalışmada ALA tedavisinin insülinle uyarılan glukoz metabolizmasını iyileştirdiği rapor edilmiştir (107, 108). Kültürlenmiş L6 kas hücrelerinde de ALA'nın glukoz alımını artırabildiği bildirilmiştir (109). Tioktik asitin olumlu metabolik etkilerini bildiren in vitro çalışmaların aksine bir çalışmada kısa süreli oral tedaviden sonra, insülin direnci ve insülin eksikliğini içeren kemirgen modellerinde glukoz toleransında anlamlı bir iyileşme olmadığı rapor edilmiştir (110).

Çalışmanın verileri ışığında insülin ile kombinasyon şeklinde uygulanan 120 mg/kg ALA Nrf2 yolağı üzerinden diyafram kasında koruyucu etki gösterdiğini düşünmekteyiz. Antioksidanlar etki şekilleri bakımından direkt ve indirekt etkili olmak üzere iki grupta

incelenmektedir. Direkt etkili antioksidanlar (glutasyon, tokoferoller, askorbik asit ve karetenoidler gibi) serbest radikalleri inaktive eden veya serbest radikal oluşturan kimyasal reaksiyonları engelleyen biyokimyasal, fizyolojik veya hücrel proseslere katılabilen maddelerdir. İndirekt etkili antioksidanlar direkt etkililer gibi radikal veya redoks reaksiyonlarına katılmazlar, hücrelerin antioksidan kapasitesini artırmak suretiyle oksidatif strese karşı koruma sağlamaktadır (111). İndirekt etkili antioksidan ajanlar nukleusta Keap1–Nrf2 yolağı üzerinden etkilidirler ve ARE'nin transkripsiyonuna neden olmaktadır (112). ALA direkt ve indirekt etkili bir antioksidan ajandır. Direkt etkisi ile sitoprotektif işlev görerek serbest radikaller ve reaktif oksijen ürünlerinin uzaklaştırılmasında etki göstermektedir (111, 113). ALA indirekt etkisi ile nukleus Keap1–Nrf2 yolağı üzerinden etkisini göstermektedir. ALA Keap1 dimerindeki kritik tiyollerini oksitleyerek Nrf2'nin bozunmasını durdurabilir ve yeni sentezlenen Nrf2'nin Keap1'e bağlanmasını engelleyebilir. ALA ayrıca Ser40 üzerinde Nrf2'nin fosforilasyonuna neden olan protein kinaz sinyal yollarını aktive edebilmektedir. Bu Keap1'den ayrılmasına izin veren olaydır. Nrf2 daha sonra çekirdeğe yerleşip ARE'ye bağlanarak Faz II detoksifikasyon yanıtı için genlerin transkripsiyonunu teşvik etmektedir (54). Sonuç olarak ALA, Nrf2 yoluyla antioksidan savunma sistemlerini artırarak ve oksidatif stres ile inflamasyonu azaltarak yararlı terapötik ajan olarak kabul edilebilir.

Biyoflavonoidlerin diyabet ve komplikasyonlarının tedavisinde potansiyel terapötik ajanlar olarak değerlendirildiğini ifade eden pek çok makale bulunmaktadır. KUE diyabetin pek çok hedefine etki eden ve temel sinyal yollarını düzenleyen doğal bir bileşiktir. Şu anda kullanılan terapötiklerin aksine, hem hiperglisemiye hem de ilişkili makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonlarına destek olabileceğini ifade eden çalışmalar mevcuttur (29). Kuersetin ve diyafram aramalarında oldukça sınırlı bir içerik göze çarpmakta ve eldeki veriler farklı iddialar sunmaktadır. T2DM'li sıçanlarda yapılan bir çalışmada dört hafta boyunca 50 mg/kg oral olarak verilen kuersetinin insülin direncini azalttığı ve kas gücünü artırdığı bildirilmiştir (16). DM+kontrol grubu ile karşılaştırıldığında DM+30 KUE, DM+60 KUE ve DM+120 KUE grubunda maksimum kasılma cevabını artırmıştır ancak istatistiksel olarak anlamlı değildir. Bununla birlikte diyaframın biyomekanik özellikleri üzerine kuersetin ile çok az sayıda çalışma vardır. Kuersetinin diyafram üzerine etkilerini değerlendirmek için daha fazla deneysel çalışma yapılmasına ihtiyaç var görülmektedir.

Mevcut literatüre göre kuersetinin kaslarda kalsiyum kanalları üzerine yapılmış az sayıdaki çalışmada L-tipi Ca^{+2} kanal (LTCC) aktivatörü olarak bildirilirken çizgili kaslarda genellikle LTCC inhibitör etkisinden bahsedilmektedir. Bir çalışmada kuersetinin LTCC'lerin bir aktivatörü olarak, sıçan kuyruk arterlerinin düz kas hücrelerinde (114) ve fare kalp kasında (115) Ca^{+2} girişini artırdığı bildirilmiştir. Bir diğer çalışmada ise Liang ve arkadaşları (116) kuersetinin bir LTCC inhibitörü olarak işlev gördüğünü ve sıçanlarda Ca^{+2} girişini ve kasılmayı engelleyerek kardiyoprotektif bir etki sağladığını ortaya koymuştur. Çizgili kaslarda, kuersetinin L-tipi kalsiyum kanalı inhibitörü olarak spesifik rolü, kalp dokusuna kıyasla daha az belgelenmiştir. Kuersetinin inhibitör etkisi kalsiyum girişini azaltarak kas kasılmalarını baskılamakta özellikle aşırı kalsiyum yüklenmesi ile ilişkili durumlarda (örneğin; oksidatif stres veya iskemik koşullarda) kuersetinin kalsiyum akışını azaltarak hücreyi koruyucu etkiler gösterebildiği düşünülmektedir (117). Bununla birlikte, çizgili kaslarda kuersetin kalsiyum sinyal yollarını etkilediği ve kalsiyum-kalmodulin-bağımlı kinaz ile bağlantılı olan AMPK yolunu aktive ederek kas hücrelerinde glukoz alımını artırdığı rapor edilmiştir (118, 119). Bu da kuersetinin kas dokularında kalsiyum düzenlemesine daha geniş bir şekilde dahil olduğunu düşündürmektedir. Bu nedenle kuersetin kas ve kalp hücrelerinde esas olarak LTCC inhibitörü olarak görev yaptığı anlaşılmaktadır. Böylece kuersetin kasların gevşemesine ve hücrel strese karşı koruma sağlamaktadır.

Çalışma kapsamında oluşturulan deneysel diyabetik sıçanlarda diyaframın kasılma fonksiyonuna oksidatif stresin etkisi de araştırılmıştır. Bu amaçla sekiz hafta boyunca i.p. olarak 30, 60, 120 mg/kg dozlarda ALA ve 30, 60, 120 mg/kg dozlarda KUE uygulaması yapılan diyabetik sıçanların diyafram kas dokusu çıkarılmıştır. Oksidatif parametreleri değerlendirmek için MDA düzeyi ile GPx, CAT ve SOD enzimlerinin aktivitesi ölçülerek kontrol grupları ile karşılaştırılmıştır. Literatür incelendiğinde, ALA ve KUE'nin diyabetik sıçanların diyafram kas dokusunda MDA düzeyi ile SOD, CAT ve GPx aktivitelerine etkisini araştırmayı hedefleyen yeterli çalışma bulunmamaktadır.

MDA, lipid peroksidasyonunun son ürünü olarak oksidatif stresi değerlendirmek için en yaygın kullanılan biyobelirteçlerden biridir. MDA seviyesindeki istatistiksel olarak anlamlı artış ve antioksidan enzimlerdeki azalma insülin direncinin gelişiminde önemli rol oynamaktadır (16). Çalışmadan elde edilen bulgulara göre kontrol grubu ile karşılaştırıldığında DM+kontrol grubunda MDA düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir

artış gözlenmiştir. Diyafram kas dokusunda yapılan MDA ölçümlerinde 60 ile 120 mg/kg ALA ve 60 ile 120 mg/kg KUE dozlarında oksidatif sürecin baskılandığı yönünde bulgular elde edilmiştir. STZ diyafram dokusunda oksidatif hasar oluşturmuştur ve MDA verilerimiz bu sonucu desteklemektedir. STZ ile oluşturan diyabet modelinde ALA ve KUE antioksidan takviyesi alan hayvanların diyafram kas dokusunda MDA düzeyinin ölçüldüğü az sayıda çalışma bulunmaktadır. Ancak farklı dozlarda ALA ve KUE antioksidan takviyesi alan hayvanların kalp, karaciğer gibi organlarından elde edilen homojenatlarda veya kanda (serum ya da plazma) MDA düzeylerinin ölçüldüğü çalışmalar mevcuttur (120-132).

Diyafram kas dokusunda oksidatif stresi değerlendirmek için yapılan bir çalışmada STZ ile diyabet oluşturulduktan 30 gün sonra diyabetik sıçanların ROS ve LPO seviyeleri ölçülmüş ancak çalışmada bu parametreler açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır (120). Sunulan tez çalışmasında ise oksidatif stresin varlığını tespit etmek için MDA parametresi kullanılmış ve diyabetik sıçanların diyafram kasında kontrol grubuna kıyasla MDA düzeyi yüksek bulunmuştur. Diyafram dokusu açısından bu çalışma öncül kabul edilebilir. Tanbek ve ark. (121) ise diyabetik sıçanlarda kanda MDA düzeylerinin arttığını ve altı hafta boyunca 100 mg/kg ALA takviyesi ile MDA düzeylerinin azaldığını rapor etmişlerdir. Başka bir çalışmada diyabetik sıçanlarda artan serum MDA düzeyinin 12 haftalık 60 mg/kg ALA enjeksiyonu sonucunda azaldığı rapor edilmiştir (122). ALA'nın Goto-Kakisaki (GK) diyabetik sıçanlarının böbrekleri üzerindeki koruyucu etkilerini değerlendirmek için yapılan bir çalışmada diyabetik sıçanların doku homojenatında MDA düzeylerinde anlamlı bir artış olduğu bildirilmiştir. Çalışma bulgularına göre 12 hafta boyunca 35 mg/kg ALA enjeksiyonu ile MDA düzeyinde anlamlı bir düşüş meydana geldiği saptanmıştır (123). Farklı dokulardan elde edilen bulgular değerlendirildiğinde STZ ile oluşturulan diyabet modelinde diyafram dokusunda da oksidatif stresin geliştiği görülmektedir ancak bu dokuda yapılan çalışmalar yetersizdir. Literatürde diyabetik sıçanlarda diyafram kas dokusuna ALA'nın etkisini inceleyen çalışma bulamadık. Bu nedenle sunulan tez çalışmasından elde edilen bulgulara göre yüksek dozlarda ALA (60 ve 120 mg/kg) diyafram kasını oksidatif hasara karşı antioksidan enzim seviyelerini artırarak koruma sağladığı sonucuna ulaşılmıştır.

Diyafram dokusunda miyopatinin değerlendirildiği bir çalışmada diyabetik sıçanlarda serum MDA düzeyinin sağlıklı gruba göre arttığı, dört hafta boyunca oral olarak 50 mg/kg KUE uygulamasından sonra ise MDA düzeyinde anlamlı bir azalma olduğu bildirilmiştir (16). Bir başka çalışmada diyabetik sıçanların böbrek dokusunda MDA seviyesinin önemli ölçüde

arttığı ancak sekiz hafta süreyle oral yoldan 50 mg/kg KUE tedavisi ile MDA seviyesinde önemli derecede azalma olduğu bildirilmiştir (124). Başka bir çalışmada sekiz hafta boyunca 50 mg/kg KUE takviyesi diyabetik sıçanlarda serum ve böbrek dokusunda MDA düzeyinde azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (125). Şenyiğit ve ark.'nın (126) yaptığı bir çalışmada 30 gün boyunca i.p. olarak 20 mg/kg KUE takviyesi diyabetik sıçanların karaciğer dokusundaki MDA düzeylerini önemli ölçüde azalttığı ve KUE'nin diyabetik sıçanlarda oksidatif hasarı azaltmada etkili olabileceği bildirilmiştir. Literatürdeki çalışmalarla uyumlu olarak yüksek dozlarda (60 ve 120 mg/kg) KUE'nin diyafram dokusunda da antioksidan enzim düzeylerinde artış yoluyla oksidatif durumu önemli ölçüde iyileştirdiği sonucuna ulaştık. Diyabetik sıçanlarda farklı dokulardan elde edilen sonuçlarla sunulan tez çalışmasından elde edilen bulgular MDA düzeyi açısından uyumludur ve artan MDA düzeyi diyabetik sıçanlarda oksidatif stres varlığına işaret etmektedir. Bu çalışma bulguları DM'nin diyafram dokusunda oksidatif stresi artırarak ve antioksidan savunmayı azaltarak oksidan-antioksidan dengenin bozulmasına neden olduğunu göstermektedir. ALA ve KUE, Keap Nrf yoluyla üzerinden diyabetle bozulan dengenin tedavisinde enzimatik antioksidan aktivitesini artırarak diyafram dokusunda koruyucu etki sağladığını düşünmekteyiz.

SOD hücredeki ilk detoksifikasyon enzimi ve en güçlü antioksidandır. Reaktif oksijen türlerine karşı birinci basamak savunma sisteminin bir bileşeni olarak görev yapan önemli bir endojen antioksidan enzimdir (40). Tez çalışmasından elde edilen bulgulara göre SOD aktivitesi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında diyabetik kontrol grubunda düşük bulunmuştur. ALA dozları SOD aktivitesi açısından herhangi bir olumsuz etki göstermemiştir. KUE dozları uygulanan gruplarda ise SOD aktivitesi diyabetik kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Peixoto ve ark. (120) STZ ile diyabet oluşturduktan 30 gün sonra diyabetik sıçanların diyafram kas dokusunda SOD aktivitesi açısından gruplar arasında fark bulunmadığını rapor etmişlerdir. Diyabetik sıçanların miyokard dokusu ile yapılan çalışmada SOD aktivitesinin azaldığı ancak 14 gün boyunca 10 mg/kg ALA takviyesinden sonra normale döndüğü bildirilmiştir. Aynı çalışmada ALA uygulamasından sonra SOD aktivitesinin karaciğer dokusunda ise azaldığı rapor edilmiştir (127). Başka bir çalışmada dört hafta boyunca 50 mg/kg ALA enjekte edilen diyabetik sıçanların karaciğer dokusunda SOD aktivitesinin arttığı bildirilmiştir (128). Bir çalışmada sekiz hafta boyunca oral olarak uygulanan 100 mg/kg ALA takviyesi diyabetik sıçanlarda hem plazmada hem de aortta SOD aktivitesini önemli ölçüde artırdığı rapor edilmiştir (129). Bu çalışmalara dayanarak ALA'nın diyabetik sıçanlarda

diyafram dokusundan ziyade, karaciğer ve kalp dokusu gibi diğer dokularda SOD aktivitesi üzerinde olumlu bir etkiye sahip olduğu sonucuna varılabilir.

Diyabetik sıçanların kullanıldığı bir çalışmada sekiz hafta boyunca 50 mg/kg KUE takviyesi serum ve böbrek dokusunda SOD aktivitesini artırdığı rapor edilmiştir (125). Bir çalışmada, sekiz hafta boyunca 10 mg/kg ve 50 mg/kg dozlarda KUE'nin diyabetik sıçanlarda kardiyomiyositlerde SOD aktivitesini artırarak oksidatif stresin gelişmesinden koruyabildiği gösterilmiştir (130). Benzer şekilde sekiz hafta süreyle oral yoldan 50 mg/kg KUE ile tedavi sonucunda SOD aktivitesinde anlamlı düzeyde artış meydana geldiği ve KUE'nin böbrek fonksiyonunda belirgin bir koruyucu etki gösterdiği rapor edilmiştir (124). Tez çalışması bulgularına göre diyabetin neden olduğu oksidatif hasara karşı KUE dozlarının SOD aktivitesi açısından diyafram kasında koruyucu etki gösterdiği söylenebilir.

CAT, oksijeni kullanan hemen hemen tüm canlı dokularda bulunan yaygın bir antioksidan enzimdir. SOD tarafından başlatılan detoksifikasyon sürecinin tamamlanmasını sağlamaktadır (40). Çalışmadan elde edilen bulgulara göre CAT aktivitesi kontrol grubuna kıyasla diyabetik kontrol grubunda anlamlı düşük bulunmuştur. Artan dozlarda ALA ve KUE enjekte edilen deney gruplarında GPx aktivitesinin diyabetik kontrol grubuna göre arttığı tespit edilmiştir. Peixoto ve ark. (120) STZ ile diyabet oluşturduktan 30 gün sonra diyabetik sıçanların diyafram kas dokusunda CAT aktivitesinin arttığını rapor etmişlerdir. Tanbek ve ark.'nın yaptığı çalışmada (121) diyabetik sıçanlarda kontrol grubuna göre azalan SOD, CAT aktiviteleri altı hafta boyunca 100 mg/kg ALA takviyesi alan gruptaki sıçanlarda artış gösterdiği rapor edilmiştir. Bir çalışmada dört hafta boyunca 50 mg/kg ALA enjekte edilen diyabetik sıçanların karaciğer dokularında CAT aktivitesinin arttığı bildirilmiştir (128). KUE'nin diyabetik sıçanlarda böbrek dokularının CAT aktivitelerinde önemli bir artışa neden olduğu rapor edilmiştir (131). Benzer şekilde sekiz hafta süreyle oral yoldan 50 mg/kg KUE ile tedavi sonucunda CAT aktivitesinde anlamlı düzeyde artış meydana geldiği ve KUE'nin böbrek fonksiyonunda belirgin bir koruyucu etki gösterdiği bulunmuştur (124). Literatürle uyumlu şekilde ALA ve KUE dozları diyafram dokusunda da oksidatif hasara karşı CAT aktivitesinde artışa bağlı olarak koruyucu etki göstermiştir.

GPx, hücre içindeki hidrojen peroksidin zararsız ürünlere dönüşümünü katalize eder, böylece lipid peroksidasyon yan ürünlerinin neden olduğu hücresel yıkımı azaltarak hücreleri oksidatif hasardan korumaktadır. Çalışmadan elde edilen bulgulara göre CAT aktivitesine benzer şekilde GPx aktivitesi kontrol grubuna kıyasla diyabetik kontrol grubunda düşük

bulunmuştur. Artan dozlarda ALA ve KUE enjekte edilen deney gruplarında GPx aktivitesinin diyabetik kontrol grubuna göre arttığı belirlenmiştir. Bir çalışmada STZ ile indüklenen diyabetik sıçanlarda 14 gün boyunca 10 mg/kg ALA takviyesinden sonra GPx aktivitesinin karaciğerde azaldığı, böbrekte ise arttığı bildirilmiştir (127). Başka bir çalışmada diyabetik sıçanların karaciğer, böbrek, beyin ve kalp dokularında GPx aktivitesinde normal sıçanlara göre artış olduğu belirtilmiştir. Hem karaciğerde hem de beyinde artan GPx aktivitesi, 14 günlük 10 mg/kg KUE tedavisinden sonra normal seviyelere geri döndüğü bildirilmiştir (132). Bir çalışmada, sekiz hafta boyunca 10 mg/kg ve 50 mg/kg dozlarda KUE'nin diyabetik sıçanlarda kardiyomiyositlerde GPx aktivitesini artırarak oksidatif stresin gelişmesinden koruyabildiğini göstermektedir (130). Hem ALA hem de KUE diyafram dokusunda GPx aktivitesini artırarak oksidatif hasara karşı koruma sağlamıştır.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre STZ ile oluşturulan diyabetten sekiz hafta sonra diyafram kas fonksiyonunun bozulduğu ortaya koyulmuştur. Bu da STZ kaynaklı diyabetin diyafram kas fonksiyonları üzerinde olumsuz etkilerini göstermektedir. DM+İnsülin grubu, maksimum kasılma gücünde anlamlı bir iyileşme göstermiş ve tetani yüzdesi de DM+Kontrol grubuna kıyasla artmıştır. Bu durum insülin tedavisinin kas performansını iyileştirdiğini göstermektedir. ALA gruplarında özellikle 60 mg ve 120 mg ALA dozları uygulanan gruplarda, maksimum kasılma gücü ve tetani yüzdesinde iyileşme gözlenmiş ancak istatistiksel olarak anlamlı bulgu elde edilmemiştir. KUE gruplarında, maksimum kasılma gücü DM+Kontrol grubuna kıyasla arttığı gözlenmiştir. Bu veriler ALA ve KUE'nin doz bağımlı olarak kas fonksiyonları üzerinde olumlu etkiler sağladığı söylenebilir. DM+INS+ALA kombine tedavisinde özellikle 120 mg ALA ile kombine edilen grupta maksimum kasılma gücü ve tetani yüzdesinde istatistiksel açıdan anlamlı iyileşmeler gözlenmiş ve kombine tedavinin diyabetik kas fonksiyonlarında iyileşme sağladığı sonucuna varılmıştır.

Oksidatif stres parametrelerine göre; DM+Kontrol grubunda, STZ kaynaklı diyabetin sebep olduğu oksidatif stresin göstergesi olan MDA seviyeleri, kontrol grubuna göre önemli ölçüde artmıştır. Ayrıca SOD, CAT ve GPx antioksidan enzim aktiviteleri azalmıştır. DM+İnsülin grubunda insülin tedavisi MDA seviyelerini düşürmüş ve antioksidan enzim aktivitelerinde (SOD, CAT, GPx) kısmi iyileşmelere yol açmıştır. ALA gruplarında özellikle 120 mg ALA dozu uygulanan grupta, MDA seviyeleri önemli ölçüde azalmış ve SOD, CAT, GPx aktivitelerinde anlamlı artışlar görülmüştür. Bu durum, yüksek dozlarda ALA'nın

diyabetik koşullarda oksidatif stresin azaltılmasında etkili olduğunu göstermektedir. KUE gruplarında, 60 mg KUE ile tedavi edilen grupta MDA seviyelerinde belirgin bir azalma görülmüş ve antioksidan enzim aktiviteleri artmıştır. Bu da bu flavonoidin antioksidan etkisinin doz bağımlı olarak değişebileceğini göstermektedir. ALA ve KUE, diyabetik durumlarda oksidatif stresi azaltmakta ve antioksidan savunma enzimlerinin aktivitelerini artırmakta etkili olmuştur. Özellikle 120 mg ALA ve 60 mg KUE en g cl  koruyucu etkiyi göstermiştir. Diyabetik koşullar diyafram kas fonksiyonlarında belirgin azalmaya neden olurken ALA ve KUE gibi antioksidan tedaviler insülinle kombine edildiğinde kas performansını iyileştirmektedir. Özellikle yüksek doz ALA kas gücünü artırmada ve kas fonksiyonlarını korumada etkili olmuştur.

Sonuc olarak ALA'nın diyafram dokusunda Nrf2 yolunu aktive ederek antioksidan savunma sistemlerini artırdığı ve STZ kaynaklı diyabette oksidatif stresi azaltarak koruma sağladığı düşünülmektedir. Ancak diyabetin neden olduğu kas zayıflığının yalnızca oksidatif stresten kaynaklanmadığı, bu süreçte inflamatuvar yanıtlar ve çeşitli moleküler mekanizmaların da önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Bu bulgular diyabetik sıçanlarda diyafram kas fonksiyon bozukluğuna çok yönlü bir patofizyolojik sürecin eşlik ettiğini ve ALA'nın bu karmaşık süreçte potansiyel terapötik etkilerinin daha fazla araştırılması gerektiğini göstermektedir. ALA ve KUE'nin diyafram üzerindeki potansiyel etkilerini daha detaylı incelemek ve farklı dozların bu etkiler üzerindeki rolünü daha ayrıntılı araştırmak diyafram fonksiyonları üzerindeki mekanizmaları daha iyi anlamak açısından araştırmaya değer görülmektedir.

6. KAYNAKLAR

1. Wronka M, Krzemińska J, Młynarska E, Rysz J, Franczyk B (2022). The Influence of Lifestyle and Treatment on Oxidative Stress and Inflammation in Diabetes. *International Journal of Molecular Sciences* 23 (24).
2. Black HS (2022). A Synopsis of the Associations of Oxidative Stress, ROS, and Antioxidants with Diabetes Mellitus. *Antioxidants* 11.
3. Haidara, M. A., Ibrahim, I. M., Al-Tuwaijri, A. S., Awadalla, S. A. and Yaseen H (2003). Effect of α -tocopherol on glucose uptake and contractility in rat skeletal muscle. *Med Sci Monit* 9: 174–177.
4. Yang R, Jia Q, Li Y, Mehmood S (2020). Protective effect of exogenous hydrogen sulfide on diaphragm muscle fibrosis in streptozotocin-induced diabetic rats. *Experimental Biology and Medicine* 245: 1280–1289.
5. Wanke T, Paternostro-Sluga T, Grisold W, Formanek D, Auinger M, Zwick H, Irsigler K (1992). Phrenic nerve function in type 1 diabetic patients with diaphragm weakness and peripheral neuropathy. *Respiration* 59: 233–237.
6. Lessa TB, de Abreu DK, Bertassoli BM, Ambrósio CE (2016). Diaphragm: A vital respiratory muscle in mammals. *Annals of Anatomy* 205: 122–127.
7. Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM (2002). Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: A unifying hypothesis of type 2 diabetes. *Endocrine Reviews* 23: 599–622.
8. Rudich A, Tlrosh A, Potashnik R, Hemi R, Kanety H, Bashan N (1998). Prolonged oxidative stress impairs insulin-induced GLUT4 translocation in 3T3-L1 adipocytes. *Diabetes* 47: 1562–1569.
9. Ibrahim IM, Haidara MA MA and A-TA (1997). α -tocopherol attenuates ethanol-induced inhibition of the rat hemi-diaphragm contraction. *Med Sci Res* 25: 273–275.
10. John M. Lawler and Scott K. Powers (1998). Oxidative Stress, Antioxidant Status and Contranting Diaphragm. *Can J Appl Physiol* 23(1): 23–55.
11. Zhang P, Li T, Wu X, Nice EC, Huang C, Zhang Y (2020). Oxidative stress and diabetes: antioxidative strategies. *Frontiers of Medicine* 14: 583–600.

12. Baig MA, Gawali VB, Patil RR, Naik SR (2012). Protective effect of herbomineral formulation (Dolabi) on early diabetic nephropathy in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Natural Medicines* 66: 500–509.
13. Martinello F, Soares SM, Franco JJ, Santos AC, Sugohara A, Garcia SB, Curti C, Uyemura SA (2006). Hypolipemic and antioxidant activities from *Tamarindus indica* L. pulp fruit extract in hypercholesterolemic hamsters. *Food and Chemical Toxicology* 44: 810–818.
14. Golbidi, S., Alireza Ebadi, S., and Laher I (2011). Antioxidants in the treatment of diabetes. *Current Diabetes Reviews* 7: 106–125.
15. Rochette L, Ghibu S, Muresan A, Vergely C (2015). Alpha-lipoic acid: molecular mechanisms and therapeutic potential in diabetes. *Can J Physiol Pharmacol* 93: 1021–1027.
16. Hanafy, M., Soheir, A. S., Mohamed, A. Z., Ewida, S. F., & Suzan A (2018). Quercetin Supplementation Ameliorates Myopathy Associated with Induced Type 2 Diabetes Mellitus in Rats. *The Medical Journal of Cairo University* 86: 2341–2347.
17. Kim JH, Kang MJ, Choi HN, Jeong SM, Lee YM, Kim JI (2011). Quercetin attenuates fasting and postprandial hyperglycemia in animal models of diabetes mellitus. *Nutrition Research and Practice* 5: 107–111.
18. Coskun O, Kanter M, Korkmaz A, Oter S (2005). Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and β -cell damage in rat pancreas. *Pharmacological Research* 51: 117–123.
19. Bolzán AD, Bianchi MS (2002). Genotoxicity of Streptozotocin. *Mutation Research - Reviews in Mutation Research* 512: 121–134.
20. Lakhtakia R (2013). The history of diabetes mellitus. *Sultan Qaboos University Medical Journal* 13: 368–370.
21. Ramirez-Domínguez M (2016). Historical Background of Pancreatic Islet Isolation. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 938: 1–9.
22. Edward J Boyko DJM, Suvi Karuranga, Lorenzo Piemonte PR, Pouya Saeedi HS (2021). IDF Diabetes Atlas 10th edition. www.diabetesatlas.org.

23. Ulusal Diyabet Stratejisi 10. Yıl Sonuç Dökümanı (2023). Available at: www.turkdiab.org/admin/PICS/webfiles/TDV_UDS_2023_112454.pdf. [Accessed: 3 June 2024].
24. Diabetes DOF (2013). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 36: 67–74.
25. Care D, Suppl SS, Brown FM, Bruemmer D, Collins BS, Hilliard ME, Isaacs D, Johnson EL, Kahan S, Khunti K, et al. (2023). 2 . Classification and Diagnosis of Diabetes : Standards of Care in Diabetes — 2023 46: 19–40.
26. Knip M, Siljander H (2008). Autoimmune mechanisms in type 1 diabetes. *Autoimmunity Reviews* 7: 550–557.
27. Banday MZ, Sameer AS, Nissar S (2020). Pathophysiology of diabetes: An overview. *Avicenna Journal of Medicine* 10: 174–188.
28. Elliott TL, Pfothenhauer KM (2022). Classification and Diagnosis of Diabetes. *Primary Care - Clinics in Office Practice* 49: 191–200.
29. Dhanya R (2022). Quercetin for managing type 2 diabetes and its complications, an insight into multitarget therapy. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 146: 112560.
30. DiMeglio LA, Evans-Molina C, Oram RA (2018). Type 1 diabetes. *The Lancet* 391: 2449–2462.
31. Muoio DM, Newgard CB (2008). Mechanisms of disease: Molecular and metabolic mechanisms of insulin resistance and β -cell failure in type 2 diabetes. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 9: 193–205.
32. Fadini GP, Bonora BM, Avogaro A (2017). SGLT2 inhibitors and diabetic ketoacidosis: data from the FDA Adverse Event Reporting System. *Diabetologia* 60: 1385–1389.
33. Fujimoto WY (2000). The importance of insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *American Journal of Medicine* 108: 9–14.
34. Zaccardi F, Webb DR, Yates T, Davies MJ (2016). Pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus: A 90-year perspective. *Postgraduate Medical Journal* 92: 63–69.

35. Etuk E. (2010). Animals models for studying diabetes mellitus Department of Pharmacology , College of Health Sciences , Usmanu Danfodiyo University ,. Agriculture and Biology Journal of North America 1: 130–134.
36. Al-Awar A, Kupai K, Veszeka M, Szucs G, Attieh Z, Murlasits Z, Török S, Pósa A, Varga C (2016). Experimental Diabetes Mellitus in Different Animal Models. Journal of Diabetes Research 2016: 12.
37. Eleazu CO, Eleazu KC, Chukwuma S, Essien UN (2013). Review of the mechanism of cell death resulting from streptozotocin challenge in experimental animals, its practical use and potential risk to humans. Journal of Diabetes and Metabolic Disorders 12: 1–7.
38. Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. Pharmacognosy Reviews 4: 118–126.
39. Ali SS, Ahsan H, Zia MK, Siddiqui T, Khan FH (2020). Understanding oxidants and antioxidants: Classical team with new players. Journal of Food Biochemistry 44: 1–13.
40. Ighodaro OM, Akinloye OA (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. Alexandria Journal of Medicine 54: 287–293.
41. Reena RS, William Arputha Sundar AS, Sandhya SM, Gopal L (2018). A review on free radicals and antioxidants. Indo Am J P Sci 05: 11541–11548.
42. Banerjee M, Vats P (2014). Reactive metabolites and antioxidant gene polymorphisms in Type 2 diabetes mellitus. Redox Biology 2: 170–177.
43. Reed, L.J.; DeBusk, B.G.; Gunsalus, I.C.; Hornberger CS (1951). Crystalline α -lipoic acid: A catalytic agent associated with pyruvate dehydrogenase. Science 114: 94–95.
44. Salehi B, Berkay Yılmaz Y, Antika G, Boyunegmez Tumer T, Fawzi Mahomoodally M, Lobine D, Akram M, Riaz M, Capanoglu E, Sharopov F, et al. (2019). Insights on the use of α -lipoic acid for therapeutic purposes. Biomolecules 9: 1–25.

45. Theodosios-Nobelos P, Papagiouvannis G, Tziona P, Rekka EA (2021). Lipoic acid. Kinetics and pluripotent biological properties and derivatives. *Molecular Biology Reports* 48: 6539–6550.
46. Ghibu S, Richard C, Vergely C, Zeller M, Cottin Y, Rochette L (2009). Antioxidant properties of an endogenous thiol: Alpha-lipoic acid, useful in the prevention of cardiovascular diseases. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 54: 391–398.
47. Salehi B, Berkay Yılmaz Y, Antika G, Boyunegmez Tümer T, Fawzi Mahomoodally M, Lobine D, Akram M, Riaz M, Capanoglu E, Sharopov F, et al. (2019). Insights on the use of α -lipoic acid for therapeutic purposes. *Biomolecules* 9.
48. Gleiter CH, Schug BS, Hermann R, Elze M, Blume HH, Gundert-Remy U (1996). Influence of food intake on the bioavailability of thioctic acid enantiomers. *European Journal of Clinical Pharmacology* 50: 513–514.
49. Cremer DR, Rabeler R, Roberts A, Lynch B (2006). Safety evaluation of α -lipoic acid (ALA). *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 46: 29–41.
50. Tibullo D, Li Volti G, Giallongo C, Grasso S, Tomassoni D, Anfuso CD, Lupo G, Amenta F, Avola R, Bramanti V (2017, November 1). Biochemical and clinical relevance of alpha lipoic acid: antioxidant and anti-inflammatory activity, molecular pathways and therapeutic potential. *Inflammation Research* 66.
51. Suh JH, Moreau R, Heath SHD, Hagen TM (2005). Dietary supplementation with (R)- α -lipoic acid reverses the age-related accumulation of iron and depletion of antioxidants in the rat cerebral cortex. *Redox Report* 10: 52–60.
52. Liu M, Grigoryev DN, Crow MT, Haas M, Yamamoto M, Reddy SP, Rabb H (2009). Transcription factor Nrf2 is protective during ischemic and nephrotoxic acute kidney injury in mice. *Kidney International* 76: 277–285.
53. Yi M, Cruz Cisneros L, Cho EJ, Alexander M, Kimelman FA, Swentek L, Ferrey A, Tantisattamo E, Ichii H (2024). Nrf2 Pathway and Oxidative Stress as a Common Target for Treatment of Diabetes and Its Comorbidities. *International Journal of Molecular Sciences* 25.

54. Shay KP, Moreau RF, Smith EJ, Smith AR, Hagen TM (2009, October). Alpha-lipoic acid as a dietary supplement: Molecular mechanisms and therapeutic potential. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects* 1790.
55. Lakhanpal P, Rai DK (2007). Quercetin: A Versatile Flavonoid. *Internet Journal of Medical Update - Ejournal* 2: 22–37.
56. Cai K, Bennick A (2006). Effect of salivary proteins on the transport of tannin and quercetin across intestinal epithelial cells in culture. *Biochemical Pharmacology* 72: 974–980.
57. Colunga Biancatelli RML, Berrill M, Catravas JD, Marik PE (2020). Quercetin and Vitamin C: An Experimental, Synergistic Therapy for the Prevention and Treatment of SARS-CoV-2 Related Disease (COVID-19). *Frontiers in Immunology* 11: 1–11.
58. Ulusoy HG, Sanlier N (2020). A minireview of quercetin: from its metabolism to possible mechanisms of its biological activities. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 60: 3290–3303.
59. Shi GJ, Li Y, Cao QH, Wu HX, Tang XY, Gao XH, Yu JQ, Chen Z, Yang Y (2019). In vitro and in vivo evidence that quercetin protects against diabetes and its complications: A systematic review of the literature. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 109: 1085–1099.
60. Tamura M, Hoshi C, Kobori M, Takahashi S, Tomita J, Nishimura M, Nishihira J (2017). Quercetin metabolism by fecal microbiota from healthy elderly human subjects. *PLoS ONE* 12: 1–13.
61. Luca SV, Macovei I, Bujor A, Miron A, Skalicka-Woźniak K, Aprotosoiaie AC, Trifan A (2020). Bioactivity of dietary polyphenols: The role of metabolites. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 60: 626–659.
62. Boots AW, Haenen GRMM, Bast A (2008). Health effects of quercetin: From antioxidant to nutraceutical. *European Journal of Pharmacology* 585: 325–337.
63. Xu D, Hu MJ, Wang YQ, Cui YL (2019). Antioxidant activities of quercetin and its complexes for medicinal application. *Molecules* 24.

64. Kobori M, Takahashi Y, Akimoto Y, Sakurai M, Matsunaga I, Nishimuro H, Ippoushi K, Oike H, Ohnishi-Kameyama M (2015). Chronic high intake of quercetin reduces oxidative stress and induces expression of the antioxidant enzymes in the liver and visceral adipose tissues in mice. *Journal of Functional Foods* 15: 551–560.
65. Ademosun AO, Oboh G, Bello F, Ayeni PO (2016). Antioxidative Properties and Effect of Quercetin and Its Glycosylated Form (Rutin) on Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase Activities. *Journal of Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 21: 11-17.
66. Granado-Serrano AB, Martín MA, Bravo L, Goya L, Ramos S (2012). Quercetin modulates Nrf2 and glutathione-related defenses in HepG2 cells: Involvement of p38. *Chemico-Biological Interactions* 195: 154–164.
67. Anraku M, Shargall Y (2009). Surgical Conditions of the Diaphragm: Anatomy and Physiology. *Thoracic Surgery Clinics* 19: 419–429.
68. Arora NS, Rochester DF (1982). Effect of body weight and muscularity on human diaphragm muscle mass, thickness, and area. *Journal of Applied Physiology Respiratory Environmental and Exercise Physiology* 52: 64–70.
69. Schepens T, Fard S, Goligher EC (2020). Assessing diaphragmatic function. *Respiratory Care* 65: 807–819.
70. Ratnovsky A, Elad D, Halpern P (2008). Mechanics of respiratory muscles. *Respiratory Physiology and Neurobiology* 163: 82–89.
71. Lieberman DA, Faulkner JA, Craig AB, Maxwell LC (1973). Performance and histochemical composition of guinea pig and human diaphragm. *Journal of applied physiology* 34: 233–237.
72. Geiger PC, Cody MJ, Macken RL, Sieck GC (2000). Maximum specific force depends on myosin heavy chain content in rat diaphragm muscle fibers. *Journal of Applied Physiology* 89: 695–703.
73. Mukund K, Subramaniam S (2020). Skeletal muscle: A review of molecular structure and function, in health and disease. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Systems Biology and Medicine* 12: 1–46.

74. Denker A, Rizzoli SO (2010). Synaptic vesicle pools: An update. *Frontiers in Synaptic Neuroscience* 2: 1–12.
75. Cai Q, Sheng ZH (2009). Molecular motors and synaptic assembly. *Neuroscientist* 15: 78–89.
76. Nishimune H (2012). Molecular mechanism of active zone organization at vertebrate neuromuscular junctions. *Molecular Neurobiology* 45: 1–16.
77. Sanes JR (2003). The basement membrane/basal lamina of skeletal muscle. *Journal of Biological Chemistry* 278: 12601–12604.
78. Castets P, Ham DJ, Rüegg MA (2020). The TOR Pathway at the Neuromuscular Junction: More Than a Metabolic Player? *Frontiers in Molecular Neuroscience* 13: 1–19.
79. Fitts RH (2008). The cross-bridge cycle and skeletal muscle fatigue. *Journal of Applied Physiology* 104: 551–558.
80. Zanetti G, Negro S, Pirazzini M, Caccin P (2018). Mouse Phrenic Nerve Hemidiaphragm Assay (MPN). *Bio-Protocol* 8: 1–12.
81. Sun Y, Oberley LW LY (1988). A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical Chemistry* 34: 497–500.
82. Aebi H (1984). Catalase in vitro. *Methods Enzymol* 105: 121–126.
83. Fujimura N, Sumita S, Narimatsu E, Shichinohe Y, Iwasaki H, Watababe H, Namiki A (1999). Diaphragmatic contractility in septic peritonitis - Role of free radical scavengers. *Critical Care Medicine* 27: 2159–2165.
84. Danjo N, Fujimura N UY (2008). Effect of Free Radical Scavengers on Diaphragmatic Contractility in Septic Peritonitis. *Acta Med* 62: 101-.
85. Bradford MM (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248–254.
86. Goldman MD (2003). Lung dysfunction in diabetes. *Diabetes Care* 26: 1915–1918.
87. Schuyler MR, Niewoehner DE, Inkley SR, Kohn R (1976). Abnormal lung elasticity in juvenile diabetes mellitus. *American Review of Respiratory Disease* 113: 37–41.

88. Sandler M, Bunn AE, Stewart RI (1987). Cross-section study of pulmonary function in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *American Review of Respiratory Disease* 135: 223–229.
89. Schnack C, Festa A, Schwarzmaier-D’Assie A, Haber P SG (1996). Pulmonary dysfunction in type 1 diabetes in relation to metabolic long-term control and to incipient diabetic nephropathy. *Nephron* 74: 395–400.
90. Wanke T, Formanek D, Auinger M, Popp W, Zwick H, Irsigler K (1991). Inspiratory muscle performance and pulmonary function changes in insulin-dependent diabetes mellitus. *American Review of Respiratory Disease* 143: 97–100.
91. Shah SH, Sonawane P, Nahar P, Vaidya S, Salvi S (2013). Pulmonary function tests in type 2 diabetes mellitus and their association with glycemic control and duration of the disease. *Lung India* 30: 108–112.
92. Pitocco D, Fuso L, Conte EG, Zaccardi F, Condoluci C, Scavone G, Incalzi RA, Ghirlanda G (2012). The diabetic lung--a new target organ? The review of diabetic studies : *RDS* 9: 23–35.
93. Amal Abd El-Azeem I, Hamdy G, Amin M, Rashad A (2013). Pulmonary function changes in diabetic lung. *Egyptian Journal of Chest Diseases and Tuberculosis* 62: 513–517.
94. Fuso L, Pitocco D, Longobardi A, Zaccardi F, Contu C, Pozzuto C, Basso S, Varone F GG AIR (2012). Reduced respiratory muscle strength and endurance in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews* 28: 370–375.
95. Bassi-Dibai D, Santos-de-Araújo AD, Dibai-Filho AV, de Azevedo LFS, Goulart C da L, Luz GCP, Burke PR, Garcia-Araújo AS, Borghi-Silva A (2022). Rehabilitation of Individuals With Diabetes Mellitus: Focus on Diabetic Myopathy. *Frontiers in Endocrinology* 13: 1–8.
96. G. M. M. Stephenson, A. O’Callaghan and DGS (1994). Single-Fiber Study of Contractile and Biochemical Properties of Skeletal Muscles in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Diabetes* 43: 622–628.

97. Hida W, Shindoh C, Satoh J, Sagara M, Kikuchi Y, Toyota T SK (1996). N-acetylcysteine inhibits loss of diaphragm function in streptozotocin-treated rats. *Am J Respir Crit Care Med* 153: 1875–1879.
98. 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: 1051–1058.
99. Bestetti G, Zemp C, Probst D, Rossi GL (1981). Neuropathy and myopathy in the diaphragm of rats after 12 months of streptozotocin-induced diabetes mellitus - A light-, electron-microscopic, and morphometric study. *Acta Neuropathologica* 55: 11–20.
100. Andersen H (1999). Motor function in diabetic neuropathy. *Acta Neurol Scand* 100: 211–220.
101. Sander HW, Chokroverty S (1996). Diabetic amyotrophy: Current concepts. *Seminars in Neurology* 16: 173–178.
102. Barreiro E (2014). Protein carbonylation and muscle function in COPD and other conditions. *Mass Spectrom Rev* 33: 219–236.
103. Zuo L, Best TM, Roberts WJ, Diaz PT, Wagner PD (2015). Characterization of reactive oxygen species in diaphragm. *Acta Physiologica* 213: 700–710.
104. Ozougwu JC (2016). The Role of Reactive Oxygen Species and Antioxidants in Oxidative Stress. *International Journal of Research in Pharmacy and Biosciences* 3: 1–8.
105. Golbidi S, Badran M, Laher I (2011). Diabetes and alpha lipoic acid. *Frontiers in Pharmacology* 2 NOV.
106. Eason RC, Archer HE, Akhtar S, Bailey CJ (2002). Lipoic acid increases glucose uptake by skeletal muscles of obese-diabetic ob/ob mice. *Diabetes, Obesity and Metabolism* 4: 29–35.
107. Jacob S, Streeper RS, Fogt DL, Hokama JY, Tritschler HJ, Dietze GJ, Henriksen EJ (1996). The antioxidant α -lipoic acid enhances insulin-stimulated glucose metabolism in insulin-resistant rat skeletal muscle. *Diabetes* 45: 1024–1029.

108. Henriksen EJ, Jacob S, Streeper RS, Fogt DL, Hokama JY, Tritschler HJ (1997). Stimulation by α -lipoic acid of glucose transport activity in skeletal muscle of lean and obese Zucker rats. *Life Sciences* 61: 805–812.
109. Tsakiridis T, McDowell HE WT et al. (1995). Multiple roles of phosphatidylinositol 3-kinase in regulation of glucose transport, amino acid transport and glucose transporters in L6 skeletal muscle cells. *Endocrinology* 136: 4315–4322.
110. Haugaard N HE (1970). Stimulation of glucose utilization by thioctic acid in rat diaphragm incubated in vitro. *Biochem Biophys Acta* 222: 583–586.
111. Dinkova-Kostova AT, Talalay P (2008). Direct and indirect antioxidant properties of inducers of cytoprotective proteins. *Molecular Nutrition and Food Research* 52: 128–138.
112. Nguyen T, Nioi P, Pickett CB (2009). The Nrf2-antioxidant response element signaling pathway and its activation by oxidative stress. *Journal of Biological Chemistry* 284: 13291–13295.
113. Baird L, Dinkova-Kostova AT (2011). The cytoprotective role of the Keap1-Nrf2 pathway. *Archives of Toxicology* 85: 241–272.
114. Saponara S, Sgaragli G, Fusi F (2002). Quercetin as a novel activator of L-type Ca^{2+} channels in rat tail artery smooth muscle cells. *British Journal of Pharmacology* 135: 1819–1827.
115. Santos MS, Oliveira ED, Santos-Miranda A, Cruz JS, Gondim ANS, Menezes-Filho JER, Souza DS, Pinho-da-Silva L, Jesus ICG, Roman-Campos D, et al. (2017). Dissection of the Effects of Quercetin on Mouse Myocardium. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology* 120: 550–559.
116. Liang Y, Zhang Y, Liu M, Han X, Zhang J, Zhang X, Chu L (2020). Protective effect of quercetin against myocardial ischemia as a Ca^{2+} channel inhibitor: involvement of inhibiting contractility and Ca^{2+} influx via L-type Ca^{2+} channels. *Archives of Pharmacol Research* 43: 808–820.
117. Xu F, Cai W, Liu B, Qiu Z, Zhang X (2024). Natural L-type calcium channels antagonists from Chinese medicine. *Chinese Medicine (United Kingdom)* 19: 1–22.

118. Dhanya R, Arya AD, Nisha P, Jayamurthy P (2017). Quercetin, a lead compound against type 2 diabetes ameliorates glucose uptake via AMPK pathway in skeletal muscle cell line. *Frontiers in Pharmacology* 8: 1–9.
119. Chin ER (2005). Role of Ca²⁺/calmodulin-dependent kinases in skeletal muscle plasticity. *Journal of Applied Physiology* 99: 414–423.
120. Peixoto JVC, Santos ASR Jr, Corso CR, da Silva FS, Capote A, Ribeiro CD, Abreu BJDGA, Acco A, Fogaça RH DF (2020). Thirty-day experimental diabetes impairs contractility and increases fatigue resistance in rat diaphragm muscle associated with increased anti-oxidative activity. *Can J Physiol Pharmacol* 98: 490–497.
121. Tanbek K, Ozerol E, Yilmaz U, Yilmaz N, Gul M CC (2022). Alpha lipoic acid decreases neuronal damage on brain tissue of STZ-induced diabetic rats. *Physiol Behav* 248: 113727.
122. Zhang T, Zhang D, Zhang Z, Tian J, An J, Zhang W, Ben Y (2023). Alpha-lipoic acid activates AMPK to protect against oxidative stress and apoptosis in rats with diabetic peripheral neuropathy. *Hormones* 22: 95–105.
123. Feng B, Yan XF, Xue JL, Xu L, Wang H (2013). The protective effects of α -lipoic acid on kidneys in type 2 diabetic Goto-Kakisaki rats via reducing oxidative stress. *International Journal of Molecular Sciences* 14: 6746–6756.
124. Rahmani AH, Alsahli MA, Khan AA, Almatroodi SA (2023). Quercetin, a Plant Flavonol Attenuates Diabetic Complications, Renal Tissue Damage, Renal Oxidative Stress and Inflammation in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Metabolites* 13.
125. Tang L, Li K, Zhang Y, Li H, Li A, Xu Y, Wei B (2020). Quercetin liposomes ameliorate streptozotocin-induced diabetic nephropathy in diabetic rats. *Scientific Reports* 10: 1–8.
126. Senyigit A, Durmus S, Mirzatas EB, Ozsobacl NP, Gelisgen R, Tuncdemir M, Ozcelik D, Simsek G, Uzun H (2019). Effects of quercetin on lipid and protein damage in the liver of streptozotocin-induced experimental diabetic rats. *Journal of Medicinal Food* 22: 52–56.

127. Maritim AC, Sanders RA, Watkins JB (2003). Effects of α -lipoic acid on biomarkers of oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Nutritional Biochemistry* 14: 288–294.
128. Sadi G, Yılmaz Ö, Güray T (2008). Effect of vitamin C and lipoic acid on streptozotocin-induced diabetes gene expression: mRNA and protein expressions of Cu-Zn SOD and catalase. *Molecular and Cellular Biochemistry* 309: 109–116.
129. Budin SB, Othman F, Louis SR, Abu Bakar M, Radzi M, Osman K, Das S, Mohamed J (2008). Effect of alpha lipoic acid on oxidative stress and vascular wall of diabetic rats. *Romanian Journal of Morphology and Embryology* 50: 23–30.
130. Gorbenko NI, Borikov OY, Kiprych T V., Ivanova O V., Taran K V., Litvinova TS (2021). Quercetin improves myocardial redox status in rats with type 2 diabetes. *Endocrine Regulations* 55: 142–152.
131. Iskender H, Dokumacioglu E, Sen TM, Ince I, Kanbay Y, Saral S (2017). The effect of hesperidin and quercetin on oxidative stress, NF- κ B and SIRT1 levels in a STZ-induced experimental diabetes model. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 90: 500–508.
132. Sanders RA, Rauscher FM, Watkins JB (2001). Effects of Quercetin on antioxidant defense in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology* 15: 143–149.



EKLER

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Soyadı, Adı : Öztürk Esra
Uyruğu : T.C.
Doğum Tarihi ve Yeri :
E-Posta :
Yazışma Adresi (İş) :

EĞİTİM BİLGİLERİ

Derece	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora/Uzmanlık	Karadeniz Teknik Üniversitesi	202-
Yüksek Lisans	Karadeniz Teknik Üniversitesi	2016
Lisan	Recep Tayyip ERDOĞAN Üniversitesi	2012
Lise	Trabzon Fatih (Y.D.A) Lisesi	2007

AKADEMİK/MESLEKİ DENEYİMİ

Görevi	Kurum	Süre (Yıl -Yıl)
1. Araştırma Görevlisi	Karadeniz Teknik Üniversitesi	2015-Devam ediyor

YABANCI DİL

İngilizce

BİLDİRİLER

1. **Ozturk E**, Yildirim M (2019). The Effects of Ginkgo Biloba on Picrotoxin-induced Epileptiform Activity in Rats. Acta Physiologica (227): 101-101.
2. **Şekerci E**, Gedikli Ö, Yildirim M, Protective Role Of Ascorbicacid Against Spike-Wave Discharges In A Genetic Model Of Absence Epilepsy. 13th Turkish Neuroscience Congress, Konya, Türkiye, 30 Nisan - 3 Mayıs 2015, cilt.9, no.1, ss.65-65.