

## DIYABETİK SIÇANLARDA SICAK STRESİ VE KAS ATROFİSİ

Ş. Nazan KOŞAR<sup>1</sup>, Hisashi NAITO<sup>2</sup>, Haydar A. DEMİREL<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Hacettepe Üniversitesi Spor Bilimleri ve Teknolojisi Yüksekokulu

<sup>2</sup> Juntendo Üniversitesi Egzersiz Fizyolojisi Bölümü, Sağlık ve Egzersiz Bilimleri Okulu

<sup>3</sup> Hacettepe Üniversitesi Spor Hekimliği Anabilim Dalı

### ÖZET

Bu çalışmanın amacı, sıcak şoku proteini 72'nin (HSP72) diyabetik sıçanlarda kas atrofi-si üzerine etkisini araştırmaktır. Kırkiki erkek Sprague-Dawley sıçan (Yaş = 4 hafta;  $\bar{X}_{\text{vücut küt-lesi}}=147\pm 4g$ ) rastgele yöntemle 5 deney grubuna ayrılmıştır. Gruplardan dördü kas atrofisinin araştırılması için oluşturulan; Kontrol (KONT, n=6), Sıcak Stresi (SS, n=6), Diyabetik (D, n=12) ve Sıcak Stresi-Diyabetik (SS-D, n=13) grupları olup, beşinci grup olan Sıcak Stresi-1 (SS1, n=5) sıcak stresi uygulamasından 24 saat sonra HSP72 indüklenme düzeyinin belirlenmesi amacıyla oluşturulmuştur. HSP72, sıcak su banyosu yöntemi kullanılarak indüklenmiştir. Sıcak su banyosu sırasında, hayvanların rektal vücut sıcaklığı 15dk süresince 42°C'de sabit tutulmuştur. Sıcak stresi uygulamasından 24 saat sonra SS-D ve D gruplarındaki hayvanlara tek doz streptozotosin (125mg kg<sup>-1</sup>) intraperitoneal olarak enjekte edilerek diyabet oluşturulmuştur. Streptozotosin enjeksiyonundan 5 gün sonra tüm hayvanlara anestezi uygulanarak, soleus (SOL) ve ekstansör digitorum longus kasları izole edilmiş, tartılmış ve HSP72 analizi yapılmaya kadar -80°C derin dondurucuda saklanmıştır. HSP72 analizinde tek boyutlu poliakrilamid jel elektroforezi ve immüno blot teknikleri kullanılmıştır. Diyabetik olmayan gruplarla karşılaştırıldığında diyabetik grupların kan glikoz düzeyi daha yüksek (P<0.05), vücut kütlesi ve mutlak kas kütlesi daha düşük (P<0.05) bulunmuştur. Kas dokularındaki relatif HSP72 düzeyleri tüm deney gruplarında kontrol grubu değerlerinden yüksek bulunmuştur. SS-D ve D grupları arasında kas atrofisi yönünden anlamlı fark bulunmamıştır (P>0.05). Sıcak stresi proteini indüklenmesi diyabetik sıçanlarda kas atrofisinin azaltılmasında etkili bulunmamıştır.

**Anahtar Sözcükler:** Sıcak stresi proteini 72, sıcak stresi, kas atrofisi, tip 1 diyabet

Geliş tarihi : 15.04.2006

Yayına kabul tarihi : 31.05.2006

**HEAT STRESS AND MUSCLE ATROPHY IN DIABETIC RATS**

**ABSTRACT**

The purpose of this study was to investigate the effects of heat shock protein 72 (HSP72) on muscle atrophy in diabetic rats. Forty-two male Sprague-Dawley rats (Age = 4 weeks;  $\bar{X}_{body\ mass}=147\pm 4g$ ) were randomly assigned to one of 5 experimental groups. Four groups were formed to study muscle atrophy: Control (CONT, n=6), Heat Stress (HS, n=6), Diabetic (D, n=12) and Heats Stress-Diabetic (HS-D, n=13). The fifth group, Heat Stress-1 (HS1, n=5), served to determine the degree of HSP72 induction 24 hours following heat stress. HSP72 was induced by placing the rats in a hot water bath. During the bath rats' rectal temperature was constant at 42°C for 15 minutes. Twenty-four hours after heat stress, a single dose of (125mg kg<sup>-1</sup>) of streptozotocin was injected intraperitoneally to the rats in HS-D group and D group to induce diabetes. Five days after streptozotocin injection all animals were anesthetized, muscle tissues (SOL, EDL) were removed, weighed and analyzed for HSP72 levels. One dimensional electrophoresis and immunoblotting techniques were used to analyze HSP72. Compared to those of non-diabetic groups, blood glucose levels were significantly higher ( $P<0.05$ ), and both body masses and absolute muscle masses were significantly lower in diabetic groups ( $P<0.05$ ). Relative muscle HSP72 levels were higher in all experimental groups compared with the corresponding control values. There was no significant difference in muscle atrophy between HS-D and D groups ( $P>0.05$ ). Induction of stress proteins was not effective in reducing diabetic muscle atrophy.

**Key Words:** Heat shock protein 72, heat stress, muscle atrophy, preconditioning, type 1 diabetes

**GİRİŞ**

Kas kaybı veya atrofi tip 1 diyabetik hastalarda ciddi bir komplikasyondur. Bu komplikasyonun başlıca nedenleri protein sentezinde düşüş (Fagan, Satarug, Cook ve Tischler, 1987; Price ve ark., 1996) ve protein yıkımında artıştır (Mitch ve ark., 1999; Price ve ark., 1996; Smith, Wong ve Gelfan, 1989).

Vücut kütlelerinin %40-45'ini oluşturan iskelet kasları kan glikozunu düzenleyen başlıca dokudur. Gerçektende, insülin bağımlı kan glikozu eliminasyonunun çoğu iskelet kaslarında gerçekleşir

(DeFronzo ve ark., 1981). Keza iskelet kası hücrelerinin egzersiz sırasında insülininden bağımsız olarak glikoz alımını sağladığı göz önüne alınırsa, kan glikoz düzeyinin düşürülmesinde iskelet kasının önemi daha bir anlam kazanmaktadır. Bu nedenle, kas kütlelerinde oluşabilecek atrofi, bir yandan bireyin fiziksel çalışma kapasitesinde azalmaya ve aşırı yorgunluğa neden olurken, diğer yandan diyabetik hastanın kan glikozunu elimine etme kapasitesinin düşmesine neden olacaktır. Sonuç olarak, tip 1 diyabette gözlenen kas atrofisinin engellenmesi, gerek diyabetik hastanın glikozu elimine

etme kapasitesindeki düşmenin engellenmesi ve gerekse atrofinin yol açacağı kas gücü ve dayanıklılığının azalması gibi komplikasyonların önlenmesi açısından büyük önem taşımaktadır.

Protein yıkımındaki artış, tip 1 diyabetlerdeki kas atrofisinden sorumlu temel mekanizmadır. Streptozotosin diyabetlerde iskelet kası protein yıkımından sorumlu temel mekanizma ise ATP-bağımlı *ubiquitin proteolitik* yoludur (Mitch ve ark., 1999; Price ve ark., 1996). Diyabetik sıçanlarda, *ubiquitin proteasome* yolunun hem düşük kan insülin seviyesi hem de yüksek glucokortikoid seviyesi nedeniyle aktive olduğu belirlenmiştir (Mitch ve ark., 1999).

Kas kitlesi kaybı tip 1 diyabetin yanı sıra, sepsis, kanser, kronik böbrek hastalıkları gibi patolojik durumlarda ve mekanik yükün ortadan kalkması ya da mikro yerçekimi gibi koşullarda da görülmektedir. Tip 1 diyabette olduğu gibi yukarıda sözü edilen durumlarda gözlenen kas protein yıkımından sorumlu yolun da ATP-bağımlı *ubiquitin proteasome* yoludur (Lecker, Solomon, Mitch ve Goldberg, 1999). Dolayısıyla, diyabet dışında ATP-bağımlı *ubiquitin proteasome* yolunun devreye girdiği durumlarda (mekanik yükün ortadan kalkması ya da mikro yerçekimi gibi) oluşan iskelet kası atrofilerini önleyebilen yöntemler, tip 1 diyabette gözlenen kas atrofisinin engellenmesi için de bir çıkış noktası oluşturabilir. Son yıllarda, sıcak şoku proteinlerinin (HSP) protein sentezi ve yıkımında-

ki rolü önem kazanmıştır. Translasyon sırasında 70kDa ailesinden HSP72'nin yeni sentezlenen peptidlere eşlik ederek onları hücredeki protein yıkıcı enzimlerin etkisinden koruduğu ve fonksiyon gördükleri yere güvenle ulaşmalarını sağladığı belirlenmiştir (Fink, 1999; Welch, 1992). Ayrıca, stres koşullarında HSP72 proteinlere bağlanarak strese bağlı protein hasarını önler (Fink, 1999). Bu bağlamda, yüksek HSP72 düzeyinin kalpte iskemi-reperfüzyon hasarı da dahil çeşitli streslere karşı dokuları koruduğu ortaya konmuştur (Demirel ve ark., 2001; Naito ve ark., 2000; Powers ve ark., 1998). HSP72'nin bu fonksiyonu deneysel olarak oluşturulan iskelet kası atrofisini azaltıp azaltamayacağı sorusunu gündeme getirmiştir. Gerçekten de, sıcak stresi uygulaması ile HSP72 seviyesinin artırılması, sıçanlarda kuyruğun askıya alınarak arka bacaklarda mikro yer çekiminin mimik edilmesiyle oluşan soleus kası atrofisini % 32 oranında azaltmıştır (Naito ve ark., 2000).

Tip 1 diyabette ve kuyruğun askıya alındığı yüksüzleştirme modelinde kas protein yıkımına neden olan mekanizmanın ATP-bağımlı *ubiquitin proteasome* yolu olduğu tekrar anımsanırsa, artırılmış HSP72 düzeyinin tip 1 diyabette; doğrudan zarara uğramış iskelet kas proteinlerini onararak ve/veya yeni protein hasarını önleyerek kas kaybını azaltması söz konusu olabilir. Bu nedenle, bu çalışmanın amacı, sıcak stresi uygulamasıyla iskelet kası HSP72 düzeyinin

artırılmasının streptozotosin diyabetik sıçanlarda kas atrofisi üzerine etkisini incelemektir.

## **YÖNTEM**

**Hayvanlar:** Bu çalışma, Hacettepe Üniversitesi Deneysel Hayvanları Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır. Çalışmada, lisanslı bir hayvan laboratuvarından (SLC, Shizuoka, Japonya) sağlanan toplam 42 genç erkek Sprague Dawley sıçan (yaş = 4 hafta, vücut kütlesi=147±4g) kullanılmıştır. Hayvanlar kendi istedikleri miktarda su ve sıçan yemi (Lab Diet) ile beslenmişler ve 12:12 saat aydınlık ve karanlığa maruz bırakılmışlardır. 22±1°C sıcaklık ve % 50±5 nem içeren ortamda 3 veya 4 sıçandan oluşan gruplar halinde standart kafeslerde barındırılmışlardır. İki günlük ortama alışma döneminden sonra, hayvanlar rasgele yöntemle beş gruba ayrılmıştır. Gruplardan dördü kas atrofisini belirlemek amacıyla oluşturulan Kontrol (KONT; VK = 146±2g, n = 6), Sıcak Stresi (SS; VK = 146±3 g, n = 6), Diyabetik (D; VK = 145±3 g, n = 12) ve Sıcak Stresi-Diyabetik (SS-D; VK = 146±5 g, n = 13) grupları olup, beşinci grup olan Sıcak Stresi-1gün (SS1; VK = 157±5 g n= 5) sıcak stresi uygulamasından 24 saat sonra HSP72 indüklenme düzeyinin belirlenmesi amacıyla oluşturulmuştur.

Deneklerin vücut ağırlıkları (Shimadzu Corp., BL-2200H tipi hassas tartı, Japonya) ve yem tüketimleri günlük, su tük-

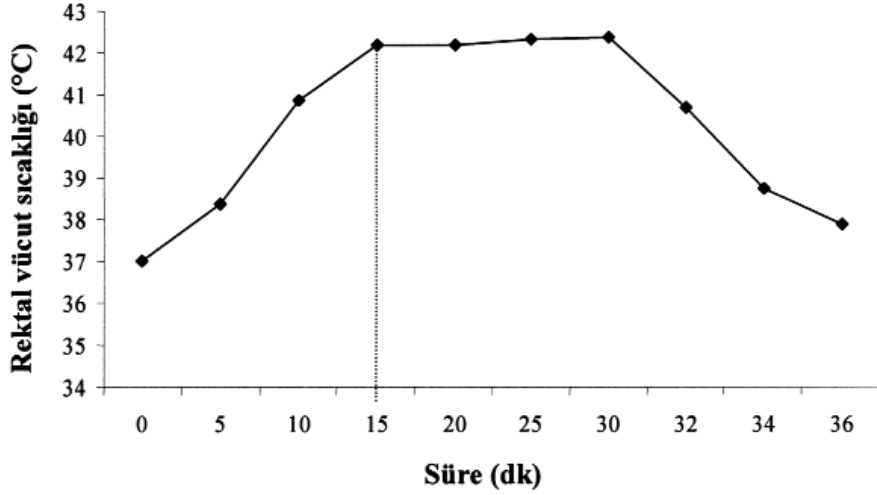
etimleri ise deney süresince tüketilen toplam su miktarı olarak belirlenmiştir.

## **Deney Protokolü**

**Sıcak Stresi:** SS ve SS-D grubundaki hayvanlara, hafif anestezi altında (25mg kg<sup>-1</sup> sodyum pentobarbitürat), sıcak su (su sıcaklığı: 42.5°C) banyosu yöntemiyle toplam 30dk sıcak stresi uygulanmıştır. Sıçanlar 42.5°C sıcaklıktaki su içine konarak ilk15 dk içinde rektal vücut sıcaklıklarının yavaş yavaş 42°C'ye çıkması, daha sonra da rektal sıcaklık probu (EYELA Thermistor Tempet, T-80, Rikakikai CO Ltd., Tokyo) aracılığıyla denetlenerek son 15 dk süresince 42°C'de sabit kalması sağlanmıştır (Şekil 1). Sıcak stresi uygulamasından hemen sonra hayvanlara oral yolla 2 ml izotonik sodyum klorür (% 0.9 NaCl) solüsyonu verilerek, 22°C oda sıcaklığında bulunan kafeslerine alınmıştır. Sıcak su banyosundan çıkarılan deneklerin rektal vücut sıcaklıklarının ortalama 5 dk içinde 37-38°C'ye düştüğü belirlenmiştir. KONT ve D grubundaki hayvanlara sadece anestezi uygulanmıştır.

## **Streptozotosin (STZ) Enjeksiyonu:**

Sıcak stresi uygulamasından 24 saat sonra, D ve SS-D grubundaki hayvanlara tek doz (125mg kg<sup>-1</sup> i.p.) STZ enjekte edilmiştir. Diyabetik koşulların oluşup oluşmadığı, streptozotosin uygulamasından 24 saat sonra kan glikoz düzeyi (BIOSN 5030 Blood Glucose and Lactate Analyser) ölçülerek belirlenmiştir. Ayrıca, idrarda glikoz ve idrar pH'ı strip



Şekil 1. Sıcak stresi uygulaması sırasında sıçanların rektal vücut sıcaklığı değişimine tipik bir örnek.

(Arkray, Japonya) kullanılarak değerlendirilmiştir. Sonuçlara göre, D grubunda 12 hayvandan 2'sinde, SS-D grubunda ise 12 hayvandan 4'ünde diyabetik koşulların oluşmadığı belirlenmiş ve bu hayvanlar çalışmadan çıkarılmıştır. Sıcak stresi uygulamasına bağlı olarak, SS-D grubunda 1 hayvan kaybı gerçekleşmiştir.

**Kas Dokusunun Hazırlanması:** Strep-tozototin uygulamasını takibeden beşinci günün sonunda hayvanlar intraperitoneal yolla enjekte edilen sodyum pentobarbitürat ( $50 \text{ mg kg}^{-1}$ ) ile anestezi edilmişlerdir. Cerrahi düzeyde anestezi oluştuktan sonra, arka bacaklara ait soleus (SOL) ve ekstansör digitorum longus (EDL) kasları hızlı bir şekilde çıkartılmış, tartılmış ve likit nitrojen içinde don-

durulmuştur. Kaslar, HSP72 düzeyi analiz edilinceye kadar  $-80^\circ\text{C}$  derin dondurucuda saklanmıştır.

**HSP72 Analizi:** HSP72 analizi için, her deney grubundaki EDL ve SOL kasları ayrı ayrı havuzlanmıştır. İskelet kaslarındaki HSP72 düzeylerinin belirlenmesi için Locke, Tanguay, Klabunde ve lanuzzo (1995) tarafından tanımlanan poliakrilamid jel elektroforezi ve immü-noblot teknikleri kullanılmıştır. Kısaca, kas örnekleri çok küçük parçalara ayrıldıktan sonra soğuk homojenizasyon tamponunda (10mM Tris baz, 10mM NaCl, 0.1mM EDTA ve 15 mM 2-merkapto-etanol, pH 7.6) homojenize (Omni International TH Homojenizator) edilmiştir. Daha sonra,  $12.000\text{g}^{\prime}$ de 15 dk santrifüj (Kubota 6930) edilmiş ve super-

natantların toplam protein konsantrasyonu Bradford (1976) tekniğine göre belirlenmiştir. Tek boyutlu sodyum dodesil sülfat (%12 SDS) poliakrilamid jel elektroforezine proteinler yüklenerek (20mg toplam protein) 1 saat süreyle Bio-Rad elektroforez sistemi (10x10cm) yardımıyla proteinlerin moleküler ağırlıklarına göre ayrılması sağlanmıştır. Daha sonra, proteinler 0.45mm kalınlığında nitroselülöz membranlara yarı-kuru transfer sistemi (Mini Bio-Rad, Hercules, CA) aracılığıyla 100V elektrik uygulanarak 20dk süresince transfer edilmiştir. Protein transferinden sonra nitroselülöz membranlar 1 saat süreyle fosfat tampionu içerisinde % 3'lük bovin serum albümin kullanılarak bloke edilmiştir. Membranlar, alkalen fosfataz ile konjuge HSP72 için özel monoklonal antikor (StressGen SPA-810AP, Victoria, BC) ile inkübe edilmiştir (1:500 sulandırma). Daha sonra, membranlar önce ikinci bir antikor ile (goat anti-mouse immunoglobulin G conjugated to alkaline phosphatase; Bio-Rad), sonra da *bromocloroindoly phosphate-nitro blue tetrazolium* substratı ile reaksiyona sokulmuştur. İmmüno-blot bantları, tarayıcı aracılığı ile veri analiz sistemine transfer edilmiş ve relatif HSP72 artışları kompüterize densitometre ve NIH analiz programı (Scion Image) kullanılarak belirlenmiştir.

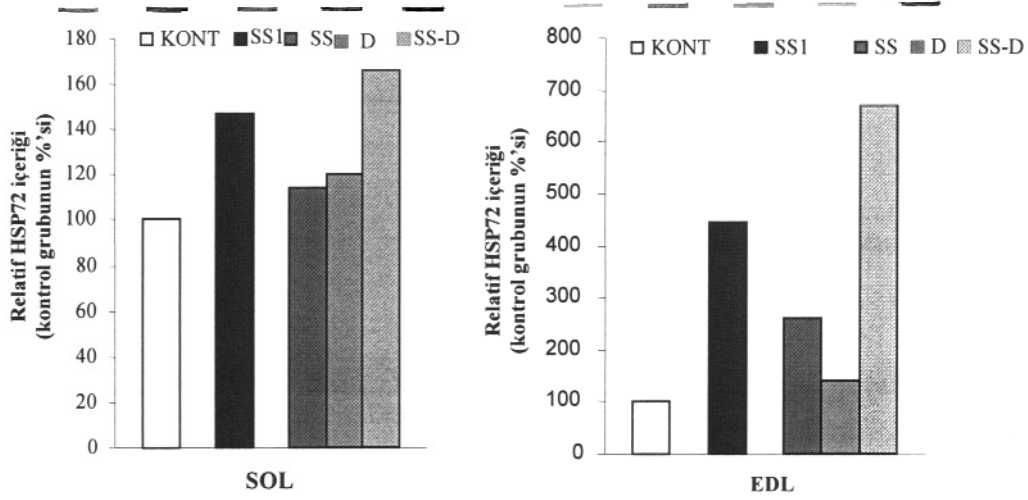
**Verilerin Analizi:** Deneysel gruplar arasında kas atrofisi yönünden farklılık olup olmadığı Kruskal Wallis Varyans

analizi kullanılarak belirlenmiştir. Gruplar arasındaki farkın hangi gruptan kaynaklandığını belirlemek için Bonferroni düzeltmesi kullanılmıştır. Grup içi ve gruplar arası farklılıkların değerlendirilmesinde sırasıyla Wilcoxon Eşleştirilmiş İki Örnek Testi, Bağımsız Gruplarda t-Test ve Fisher Exact Testi kullanılmıştır. Tüm istatistiksel işlemler Windows altında çalışan SPSS 10.0 paket programında yapılmış ve yanılma düzeyi 0.05 olarak alınmıştır.

## **BULGULAR**

**Sıcak Stresi ve Streptozotosin Enjeksiyonunun HSP72 Düzeyine Etkisi:** 30 dk'lık sıcak stresi uygulaması sonrası SOL ve EDL kasından elde edilen HSP72 immüno-blotu ve relatif HSP72 değerleri Şekil 2'de sunulmuştur. Deney gruplarındaki tüm kas örnekleri HSP72 analizi için havuzlama yöntemiyle birleştirilmiştir. Değerler kontrol grubunun kaslarında belirlenen HSP72 değerleri 100 birim olarak kabul edilerek hesaplanan HSP72 miktarını yansıtmaktadır.

Sıcak stresi uygulamasından 24 saat sonra belirlenen HSP72 değerleri hem SOL (47%) hem de EDL (344%) kaslarında kontrol değerlerinden daha yüksek bulunmuştur (Şekil 2). Bu bulgu, sıcak stresi uygulamasının HSP72 indüklenmesinde başarılı olduğunu göstermektedir. Beş gün sonra HSP72 düzeyleri ilk gün değerleri ile karşılaştırıldığında düşüş göstermekle beraber yine hem SOL



**Şekil 2.** SOL ve EDL kaslarının HSP72 immünoblotu (üstte) ve relatif HSP değerleri (çubuk grafikler). Şekilde soldan sağa doğru her çubuk sırasıyla kendisine karşılık gelen immünoblotu yansıtmaktadır. Kontrol grubu (KONT, n=6), Sıcak Stresi-1 grubu (SS1, n=5, sıcak stresinden 24 saat sonra HSP72 düzeyini belirlemek için oluşturulmuştur), Sıcak Stresi grubu (SS, n=6), Diyabetik grup (D, n=10), Sıcak Stresi-Diyabetik grup (SS-D, n=7). HSP72 değerleri 100 birim olarak kabul edilen kontrol grubu değerlerine göre hesaplanan relatif HSP72 miktarını yansıtmaktadır.

(14%) hem de EDL (160%) kaslarında KONT değerlerinden daha yüksektir.

Diğer önemli bir bulgu ise, sıcak stre-si uygulanmamış olmasına karşın D grubunda SOL (20%) ve EDL (41%) kaslarının her ikisinde de HSP72 düzeylerinin KONT değerlerinden daha yüksek bulunmasıdır. Kontrol değerleri ile karşılaştırıldığında SS-D grubunun SOL ve EDL kaslarının HSP72 düzeyleri sırasıyla %66 ve %571 oranında yüksek bulunmuştur. Ayrıca, SS-D grubunun SOL ve EDL kasları HSP72 düzeyleri SS1 grubunkinden sırasıyla %13 ve %51 oranında daha yüksektir.

**Diyabetik Koşullar:** Streptozotosin

enjeksiyonu ile diyabetik koşulların oluşup oluşmadığı kan glikoz düzeyleri, glikozüri ve idrar pH düzeyi ölçülerek kontrol edilmiştir. Ayrıca, streptozotosin enjekte edilen hayvanlarda poliüri ve polidipsi gibi diyabetin diğer belirtileri gözlenmiştir. İdrar miktarı ölçülmemiş olmakla beraber diyabetik (D ve SS-D) hayvanların kafeslerindeki samanların diyabetik olmayanlardan (KONT ve SS) daha sık ıslanması poliürinin göstergesi olarak değerlendirilmiştir. Polidipsi yönünden ise, çalışma süresince hayvanların su tüketimleri ölçülmüş ve diyabetik hayvanların su tüketiminin (452 ml/sıçan) diyabetik olmayanlardan (230

ml/sıçan) yüksek olduğu belirlenmiştir. Kan glikoz düzeyi, idrar pH ve glikoz düzeylerine ilişkin ayrıntılar aşağıda sunulmuştur.

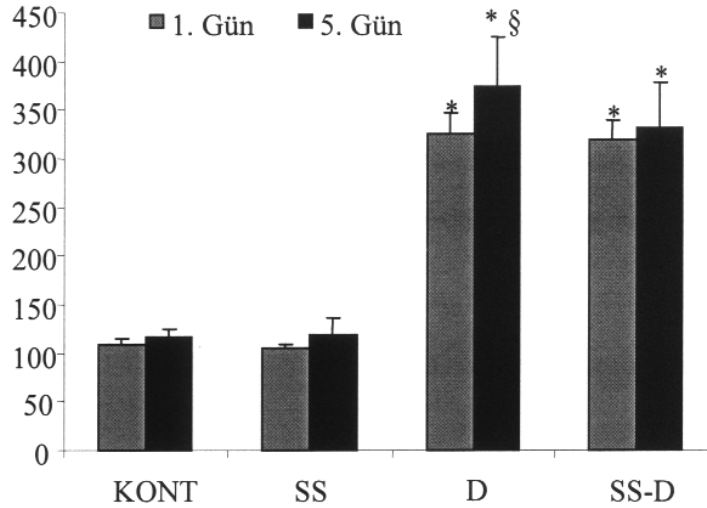
**Kan Glikoz Düzeyi:** STZ enjeksiyonunu takiben 1. ve 5. günlerde ölçülen kan glikoz düzeyleri Şekil 3'de sunulmuştur.

Şekil 3'den anlaşılacağı gibi, STZ enjeksiyonundan 24 saat ve 5 gün sonra ölçülen kan glikoz değerleri diyabetik gruplarda diyabetik olmayanlardan yaklaşık 3 kat daha yüksektir ( $P < 0.05$ ). Bu bulgu STZ enjeksiyonunun diyabet oluşturulmasında başarılı olduğunu göstermektedir. Ayrıca, D grubunun beşinci gün ölçülen kan glikoz düzeyi birinci gün

ölçülenden daha yüksek bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). Ancak, SS-D grubunun birinci ve beşinci gün ölçülen kan glikoz düzeyleri arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır ( $P > 0.05$ ).

**İdrar Glikoz ve pH Düzeyi:** Diyabetik hayvanların idrar pH düzeyi ( $5.78 \pm 0.25$ ) diyabetik olmayanlarınkinden ( $6.44 \pm 0.68$ ) düşük bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). Yanı sıra, sadece diyabetik hayvanların idrarında glikoz tespit edilebilmiştir.

**Vücut Kütlesi:** Streptozotosin enjeksiyonundan 5 gün sonra belirlenen vücut kütlesi diyabetik gruplarda (D ve SS-D) diyabetik olmayanlardan (KONT ve



**Şekil 3.** STZ enjeksiyonundan 1 ve 5 gün sonra belirlenen kan glikoz düzeyleri. Kontrol grubu (KONT, n=6), Sıcak Stresi grubu (SS, n=6), Diyabetik grup (D, n=10), Sıcak Stresi-Diyabetik grup (SS-D, n=7). Şekilde, ortalama  $\pm$  standart sapma değerleri sunulmuştur. \*KONT ve SS gruplarından farklı, §Birinci gün değerlerinden farklı ( $*P < 0.05$ ).

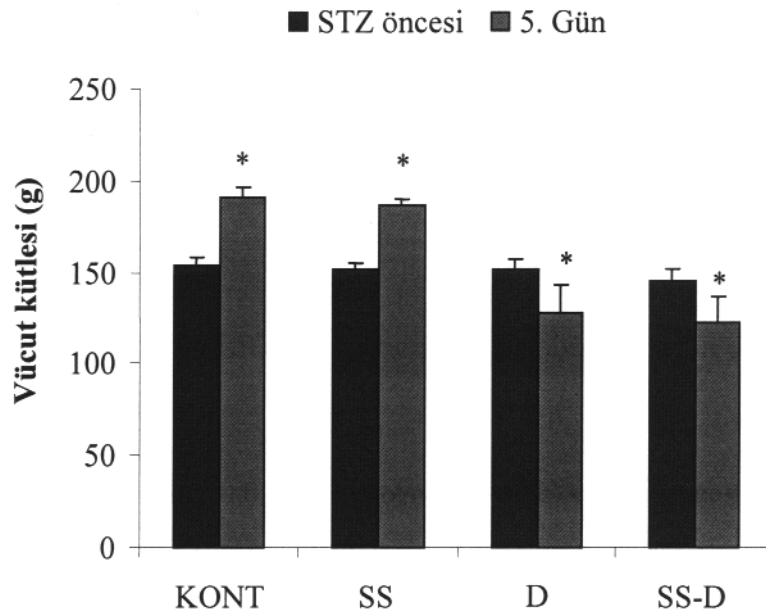


SS) daha düşük bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). Streptozotosin enjeksiyonu öncesi ve araştırmanın sonunda (5. gün) ölçülen vücut kütlelerinin grup içi ve gruplar arası karşılaştırma sonuçları Şekil 4'te sunulmuştur.

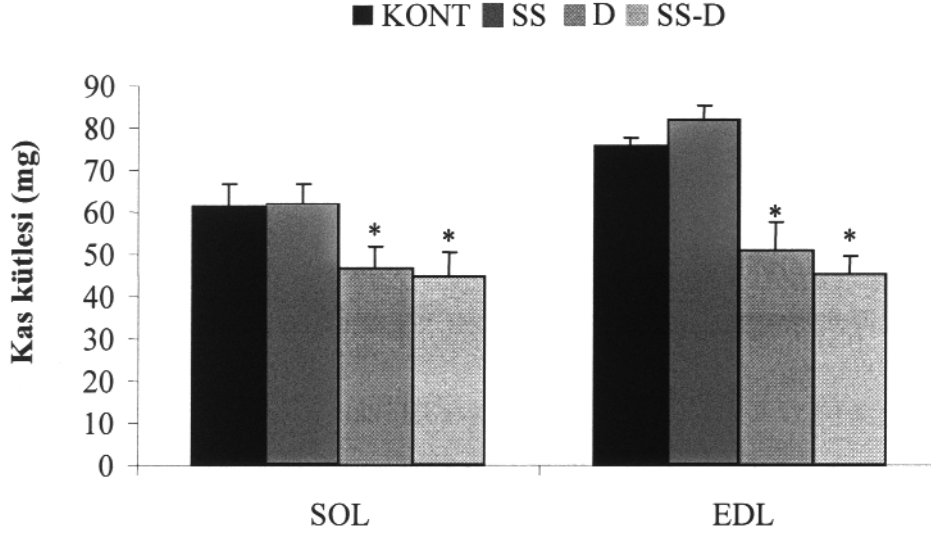
Deney grupları arasında streptozotosin enjeksiyonu ve sıcak stresi uygulaması öncesi ölçülen vücut kütleleri yönünden farklılık olmaması ( $P > 0.05$ ), gerek streptozotosin enjeksiyonu gerekse sıcak stresi uygulaması öncesi deney gruplarının vücut kütlelerinin benzer olduğunu göstermektedir. Öte yandan, D ve SS-D gruplarının beşinci gün ölçülen vücut kütleleri KONT ve SS gruplarının-

kinden yüksektir ( $P < 0.05$ ). D ve SS-D gruplarının beşinci gün ölçülen vücut kütleleri kontrol değerlerinden sırasıyla %33 ve %36 oranında düşüktür. KONT ve SS ile D ve SS-D grupları arasında ise, beşinci gün ölçülen vücut kütleleri yönünden anlamlı farklılık bulunmamıştır ( $P > 0.05$ ).

Beş günlük süre içerisinde, KONT ve SS gruplarının vücut kütleleri sırasıyla %24 ve %23 oranında artmıştır ( $P < 0.05$ ). Öte yandan, hem D hem de SS-D gruplarının vücut kütleleri %16 oranında düşmüştür ( $P < 0.05$ ).



**Şekil 4.** STZ enjeksiyonu öncesi ve 5. gün belirlenen vücut kütlesi değerlerinin grup içi karşılaştırılması. Şekilde, ortalama  $\pm$  standart sapma değerleri sunulmuştur. \*STZ enjeksiyonu öncesi değerlerden farklı ( $P < 0.05$ ).



**Şekil 5.** Mutlak kas kütleleri. Kontrol grubu (KONT, n=6), Sıcak Stresi grubu (SS, n=6), Diyabetik grup (D, n=10), Sıcak Stresi-Diyabetik grup (SS-D, n=7). Şekilde, ortalama  $\pm$  standart sapma değerleri sunulmuştur. \*KONT ve SS gruplarından farklı ( $P < 0.05$ ).

**Kas Atrofisi:** Deney gruplarının mutlak kas kütleleri Şekil 5'te verilmiştir. Diyabetik grupların SOL ve EDL kaslarının kütlesi diyabetik olmayanlarınkinden düşüktür ( $P < 0.05$ ). Diyabetik ve diyabetik olmayan hayvanların kas kütleleri arasındaki farklılık, EDL kasında SOL kası ile karşılaştırıldığında daha yüksektir. SOL ve EDL kaslarının mutlak kütleleri D (sırasıyla %24 ve %34) ve SS-D (sırasıyla %25 ve %41) gruplarında KONT değerlerinden daha düşüktür ( $P < 0.05$ ). KONT ve SS ile D ve SS-D grupları arasında mutlak kas kütleleri yönünden anlamlı farklılık bulunmamıştır ( $P > 0.05$ ).

#### TARTIŞMA

Bu çalışmanın ana bulguları şunlardır: 1) streptozotosin enjeksiyonu sıcak stresi uygulanmayan sıçanlarda HSP72 indüklenmesine neden olmuştur, 2) HSP72 ekspresyonunun en yüksek olduğu grup, hayvanlara önce sıcak stresi uygulanan daha sonra da streptozotosin enjekte edilen SS-D grubudur, 3) sıcak stresi yöntemiyle HSP72 indüklenmesi diyabetik sıçanlarda kas atrofisini azaltmamıştır. Bu çalışmanın diğer ilginç bulguları ise şunlardır: 4) streptozotosin enjeksiyonuna karşın diyabet oluşmama oranı sıcak stresi uygulanan (SS-D, 4/12) ve uygulanmayan (D, 2/12) gruplarda ortalama %25'tir, 5) sıcak stresi

uygulaması streptozotosin enjeksiyonunu takip eden 5 günlük süre içinde kan glikoz düzeyinin daha fazla artmasını önlemiştir.

**HSP72 İndüklenmesi:** Tam vücut hipertermisinin sıçan dokularında stress proteinlerini artırdığı bilinmektedir (Joyex ve ark., 1999; Kimoto ve ark., 2000; Naito ve ark., 2000). Bu çalışmada, HSP72 analizi havuzlanmış kas örnekleri üzerinde yapıldığı için HSP72 düzeylerine ilişkin istatistiksel bulgu sunulamamıştır. Bununla beraber, sıcak stresi SOL ve EDL kaslarında HSP72 düzeyini sırasıyla %47 ve %344 oranında artırmıştır (Şekil 2). Çalışmanın sonunda, HSP72 düzeyleri hem SOL hem de EDL kaslarında KONT değerlerinden sırasıyla %14 ve %160 oranında daha yüksektir. Bu nedenle, uygulanan sıcak stresi protokolünün HSP72 indüklenmesinde başarılı olduğu açıktır.

**Diyabetin Oluşturulması:** Yüksek kan glikoz düzeyi, düşük idrar pH'ı, glikozüri, poliüri ve polidipsi belirtilerine göre streptozotosin enjeksiyonu hayvanların %75'inde diyabet oluşturulmasında başarılı olmuştur (Şekil 3). Ayrıca, literatürle uyumlu olarak (Fagan ve ark., 1987; Price ve ark., 1996) diyabetik sıçanların vücut ve kas kütleleri diyabetik olmayanlardan daha düşüktür (Şekil 4 ve 5).

**Streptozotosin Enjeksiyonunun HSP72 İndüklenmesine Etkisi:** Sıcak stresi uygulanmayan diyabetik sıçanlarda hem SOL (%20) hem EDL (%41) kaslarında HSP72 düzeyi yüksek bulun-

muştur (Şekil 2). Ayrıca, Hem SOL hem EDL kaslarının HSP72 düzeyleri sıcak stresi uygulanan diyabetik sıçanlarda (SS-D) sıcak stresi uygulanan diyabetik olmayan (SS) sıçanlardan sırasıyla %19 ve %227 oranında yüksek bulunmuştur (Şekil 2). Bu bulgular, bir stres modeli olarak diyabetin HSP72 indüksiyonuna yol açtığını ve deney grupları arasında, en yüksek HSP72 indüklenmesinin iki farklı strese (sıcak ve diyabet) maruz kalan sıcak stresi-diyabetik grubunda (SS-D) gerçekleştiğini göstermektedir. Bu bağlamda, stres proteinlerinin sıcak stresinin yanı sıra, ağır metaller, toksinler, radyasyon, oksidatif stres, egzersiz, düşük pH düzeyi, ATP ve glikoz yetersizliğinde indüklendiği iyi bilinmektedir (Locke, 1997; Welch, 1992). Stres proteinlerinin düzeyindeki artış stres düzeyinin bir göstergesi olmasının (Peng, Jones ve Watson, 2000) yanı sıra stres koşullarına adaptasyon yanıtı olarak da kabul edilmektedir. Bu nedenle, sıcak stresi uygulanmayan diyabetik sıçanlarda HSP72 indüksiyonu artan fizyolojik stres ve bu strese adaptasyonun bir göstergesi olarak değerlendirilebilir.

Diyabetiklerde HSP indüklenmesi yönünden, bu çalışmanın bulguları ile diğer çalışmaların (Atalay ve ark., 2004; Bitar, Farook, John ve Francis, 1999; Joyex ve ark., 1999; Yamagashi, Nakayama, Wakatsuki ve Hatayama, 2001) bulguları arasındaki farklılıkların olası nedenleri, HSP ekspresyonunun doku ve HSP'ye özgü olması (Oishi, Taniguchi,

Matsumoto, Ohira ve Roy, 2002; Yamagishi ve ark., 2001), diyabetin şiddeti ve süresi ile ilişkili olması şeklinde sıralanabilir. Sonuç olarak, konuya ilişkin sınırlı literatürdeki çalışmaların yöntem, çalışılan spesifik HSP'ler ve analiz edildikleri dokuların çeşitliliği dikkate alındığında, diyabet ve stres proteini ekspresyonu ve fonksiyonları arasındaki ilişkiler konusunda kesin bir sonuca varmak oldukça güçtür.

#### **HSP72 İndüklenmesi ve Kas Atrofisi:**

Bu çalışmanın ana bulgusu, sıcak stresi yoluyla HSP72 indüksiyonunun diyabetik sıçanlarda kas atrofisini azaltmamış olmasıdır. Sıcak stresi uygulanan ve uygulanmayan diyabetik sıçanların kas kütleleri arasında fark olmaması ( $P>0.05$ ) HSP72 indüksiyonunun diyabetik sıçanlarda kas atrofisini azaltmakta başarısız olduğunu göstermektedir. Bu bulgu, sıcak stresi yoluyla HSP72 indüklenmesinin, kuyruğun askıya alınmasıyla oluşturulan soleus kası atrofisini %32 oranında azalttığını gösteren çalışmanın (Naito ve ark., 2000) sonucu ile karşıtlık göstermektedir. Bu iki çalışmanın bulguları arasındaki farklılık, kullanılan deneysel atrofi modellerinin yol açtığı protein yıkım hızı ve sentez hızı arasındaki farklılıkların yanı sıra patolojik ve patolojik olmayan koşullarda HSP'lerin ekspresyonu ve fonksiyonlarındaki farklılıklardan kaynaklanıyor olabilir.

Akut diyabette, insülin düzeyindeki düşüş ve glukokortikoid düzeyindeki relatif artış *ubiquitin proteolitik* yolunun

aktivasyonu ile kas atrofisi üzerinde doğrudan ve şiddetli bir etkiye sahip olabilir (Mitch ve ark., 1999). Diyabette kas protein kaybının temel nedeni protein yıkım hızındaki artıştır (Pepato, Migliorini, Goldberg ve Kettelhut, 1996; Smith, Wong ve Gelfan, 1989). Kuyruğun askıya alınması modelinde ise, protein yıkım hızı 48 saat sonra artmakta ve 15. gün zirve yapmaktadır (Thomason, Biggs ve Booth, 1989). Kas proteini kaybının temel nedeni ise protein sentez hızındaki düşüştür (Thomason ve Booth, 1990). Kuyruğun askıya alınmasından 5 saat sonra protein sentezi düşmeye başlar ve en yüksek düzeyine (%59) 7. günde ulaşır (Thomason ve ark., 1989). HSP72 düzeylerinin yüksüzleştirme ile düştüğü (Ku, Yang, Memon ve Thomason, 1995; Naito ve ark., 2000) ve bu düşüşün protein sentez hızının düşmesine katkıda bulunduğu bilinmektedir (Ku ve ark., 1995). Bu nedenle, önceden HSP72 indüklenmesinin kuyruğun askıya alındığı atrofi modelinde kas atrofisini azaltması şaşırtıcı değildir (Naito ve ark., 2000). Bununla beraber, diyabette insülin yetersizliği ve HSP72 fonksiyonunda önemli rol oynayan diğer değişiklikler de kas atrofisinin azaltılmasında başarısızlığa yol açmış olabilir. Kuyruğun askıya alınmasında protein yıkım hızının oksidatif stresle ilişkili olduğu bildirilmiştir (Zarzhevsky, Menashe, Carmeli, Stein ve Reznick, 2001). İnsan ve hayvan çalışmalarına ait son bulgular, diyabette artan oksidatif stresin (Aragno ve ark.,

2004; Atalay ve ark., 1997; Marra ve ark., 2002; Ohkuwa, Sato ve Naoi, 1995) protein, hücre ve DNA hasarı (Telci, Çakataş, Salman, Satman ve Sivas, 2000) ve diyabette gözlenen kas iyileşmesindeki yavaşlamada (Aragno ve ark., 2004) önemli rol oynadığını göstermektedir. Bu çalışmada, oksidatif stres ölçülmemiştir. Bu nedenle, oksidatif stresin protein yıkımı üzerine etkisi konusunda yorumda bulunmak mümkün değildir. Ancak, diyabetik koşullarda oluşan insulin yetersizliği ve glukokortikoid düzeyindeki relatif artışın protein yıkım hızını doğrudan etkilediği anlaşılmaktadır. Ayrıca, artan oksidatif stres nedeniyle oluşan kas protein hasarı protein yıkım hızındaki artışa da katkıda bulunabilir.

HSP72 indüksiyonunun koruyucu etkisinin gözlenmemesinin diğer bir nedeni de HSP'lerin patolojik ve patolojik olmayan koşullardaki ekspresyonu ve fonksiyonlarındaki farklılıklar olabilir. Sıcak stresi yoluyla HSP72 indüksiyonunun iskelet kası iskemi-reperfüzyon hasarını (Garramone, Winters, Das ve Deckers, 1994; Lepore, Hurley, Stewart, Morrison ve Anderson, 2000), oksidatif stres hasarı (Naito, Hartung, Schramm ve Inselmann, 1999) ve kuyruğun askıya alınması modelinde kas atrofisini (Naito ve ark., 2000) azalttığı bildirilmiştir. Bu çalışmaların tamamı patolojik olmayan koşullarda gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, HSP72'nin iskemi-reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkisi karaciğer (Kimoto

ve ark., 2000) ve kalp (Demirel ve ark., 2001; Powers ve ark., 1998) dokularında da gösterilmiştir. Ancak, HSP72 indüksiyonu hem insülin enjekte edilen hem de edilmeyen streptozotosin diyabetik sıçanlarda kalp dokusunda iskemi-reperfüzyon hasarına (Joyeux ve ark., 1999) ve iskelet kasında şiddetli iskemi-reperfüzyon hasarına (Lille ve ark., 1999) karşı korumakta başarılı olmamıştır. Joyeux ve arkadaşları (1999), koruyucu etki gözlenmemesinde, sıcak stresi ile oluşturulan koruyucu etkide önemli rol oynayan bazı fonksiyonlarda (protein kinaz C (PKC) aktivitesi, ATP duyarlı potasyum kanalları ( $K_{ATP}$ ), antioksidan savunma mekanizmaları ve sarkoplazmik retikulum  $Ca^{2+}$  pompası gibi) diyabetik kalpte oluşan değişikliklerin etkili olmuş olabileceği sonucuna varmışlardır. İskelet kasında oluşan benzer değişiklikler, HSP72'nin diyabetik sıçanlarda kas atrofisini azaltmasını engellemiş olabilir.

Streptozotosin diyabetiklerde HSP'lerin ekspresyonu ve fonksiyonlarının azaldığını gösteren başka çalışmalar da mevcuttur (Atalay ve ark., 2004; Bitar ve ark., 1999; Chen, Carlson, Pellet, Moritz ve Epstein, 2005; Qi, Kam, Chen, Wu ve Wong, 2004). Bu bağlamda, Qi ve arkadaşları (2004), streptozotosin-diyabetik sıçanlarda kalpte iskemi ve reperfüzyon hasarına karşı HSP'lerin koruyucu etkisini veya k-opioid reseptör agonistle prekondisyonlama sonucu HSP70 ekspresyonunda artış sağlayamamışlardır. Ancak, insülin enjeksiyonu sonrasında

da k-opioid reseptör agonisti HSP70 ekspresyonunu sağlamıştır. Bu bulgular, insülinin HSP'lerin ekspresyonu ve fonksiyonunda önemli rol oynadığına işaret etmektedir. Bu bağlamda, Chen ve arkadaşları (2005) insülin yetersizliğinin, diyabetin oluşturulmasından 4 gün sonra myokardda HSP60 düzeyi ve IGF-1 reseptör sinyallerinin azalmasına yol açtığını göstermişlerdir. Aynı çalışmada (Chen ve ark., 2005), hayvanlara insülin verilmesi myokardiyal HSP60 ekspresyonunun normale dönmesini sağlamıştır. Ayrıca, Atalay ve arkadaşları (2004) diyabetik sıçanlarda HSP72 indüksiyonunun ve HSF-1 transkripsiyon aktivitesinin diyabetik olmayanlara göre düşük olduğunu belirlemişlerdir. Yukarıda sıralanan çalışmaların bulguları birlikte değerlendirildiğinde, streptozotosin diyabetik sıçanlarda HSP ekspresyonu ve fonksiyonunun bozulduğu anlaşılmaktadır. İnsülin tedavisi alan ve almayan diyabetiklerde kas hasarı ve stres proteinlerinin etkileri konusunda daha fazla araştırmaya gereksinim vardır.

Bu çalışmanın diğer ilginç bulguları, sıcak stresi uygulamasının streptozotosin enjeksiyonuna karşın diyabet oluşmama eğilimini artırmış olması ve 5 günlük araştırma süresi içinde kan glikoz düzeyinde daha fazla artışı önlemiş olmasıdır (Şekil 3). Bu bulgular, kas atrofisinin azaltılmasında etkili olmayan HSP72 indüksiyonunun pankreasın  $\beta$  hücrelerini streptozotosinin toksik etki-

lerinden korumuş olabileceğini akla getirmektedir. Streptozotosin enjeksiyonunun HSP70 düzeyi düşük sıçan islet hücrelerinde apoptozis oluştururken, HSP70 düzeyi yüksek insan islet hücrelerinde oluşturulmaması (Welsh ve ark., 1995) bu yorumu desteklemektedir. Ayrıca, HSP70 indüksiyonunun pankreas islet hücrelerini streptozotosinin toksik etkileri, oksijen radikalleri, IL-1 ve NO'ya karşı koruduğu bildirilmiştir (Bellman ve ark., 1995; Rakonczay, Takács, Boros ve Lonovics, 2003; Welsh ve ark., 1995). Bu nedenle, yukarıda sunulan iki bulgu, HSP72 indüklenmesi sonucu  $\beta$  hücrelerinde streptozotosin toksitesine karşı artan direnç ve/veya daha fazla korunmuş fonksiyon ile açıklanabilir.

Sonuç olarak, bu çalışma HSP72 indüklenmesinin streptozotosin diyabetik sıçanlarda kas atrofisini azaltmadığını göstermiştir. HSP72'nin koruyucu etkisinin bulunmamasının nedenlerinden biri bu çalışmada oluşturulan diyabetin şiddeti olabilir. Bununla beraber, sıcak stresi uygulamasının streptozotosinin toksik etkilerini azalttığına dair bulgular da elde edilmiştir.

**Yazar Notu:** Bu yayın, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin Spor Bilimleri ve Teknolojisi Programı için öngördüğü doktora tezi olarak hazırlanan çalışmadan üretilmiş olup, Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi

(Proje No: 02 G 069) ve kısmen Japonya Eğitim, Kültür, Spor, Bilim ve Teknoloji Bakanlığı tarafından (Proje No: 12480011 ve 16300212) desteklenmiştir.

***Yazışma Adresi (Corresponding Address)***

Dr. Ş. Nazan KOŞAR  
Hacettepe Üniversitesi  
Spor Bilimleri ve Teknolojisi Yüksekokulu  
06800 Beytepe / ANKARA  
e-posta: nazank@hacettepe.edu.tr

**KAYNAKLAR**

- Aragno, M., Mastrocola, R., Catalano, M.G., Brignardello, E., Danni, O. & Boccuzzi, G. (2004). Oxidative stress impairs skeletal muscle repair in diabetic rats. **Diabetes**, 53(4), 1082-8.
- Atalay, M., Laaksonen, D., Niskanen, L., Usitupa, M., Hanninen, O. & Sen, C.K. (1997). Altered antioxidant enzyme defenses in insulin-dependent diabetic men with increased resting and exercise-induced oxidative stress. **Acta Physiol Scand**, 161, 195-201.
- Atalay, M., Oksala, N.K.J., Laaksonen, D., Khanna, S., Nakao, C., Lappalainen, J., Roy, S., Hanninen, O. & Sen, C.K. (2004). Exercise training modulates heat shock protein response in diabetic rats. **J Appl Physiol**, 97(2), 605-11.
- Bellman, K., Wenz, A., Radons, J., Burkart, V., Kleemann, R. & Kolb, H. (1995). Heat shock induces resistance in rat pancreatic islet cells against nitric oxide, oxygen radicals and streptozotocin toxicity in vitro. **J Clin Invest**, 95(6), 2840-2845.
- Bitar, M.S., Farook, T., John, B. & Francis, I.M. 1999. Heat-shock protein 72/73 and impaired wound healing in diabetic and hypercortisolemic states. **Surgery**, 125(6), 594-601.
- Bradford, M. (1976). A refined sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. **Anal. Biochem**, 72, 248-254.
- Chen, H.S., Shan, Y.X., Yang, T.L., Lin, H.D., Chen, J.W., Lin, S.J. & Wang, P.H. (2005). Insulin deficiency downregulated heat shock protein 60 and IGF-1 receptor signaling in diabetic myocardium. **Diabetes**, 54(1), 175-81.
- DeFronzo, R.A., Jacot, E., Jequier, E., Maeder, E., Wahren, J. & Felber, J.P. (1981). The effect of insulin on the disposal of intravenous glucose. Results from indirect calorimetry and hepatic and femoral venous catheterization. **Diabetes**, 30(12), 1000-1007.
- Demirel, H.A., Powers, S.K., Zergeroglu, M.A., Shanely, R.A., Hamilton, K., Coombes, J. & Naito, H. (2001). Short-term exercise improves myocardial tolerance to in vivo ischemia-reperfusion in the rat. **J Appl Physiol**, 91(5), 2205-2212.
- Fagan, J.M., Satarug, S., Cook, P. & Tischler, M.E. (1987). Rat muscle protein turnover and redox state in progressive diabetes. **Life Sci**, 40, 783-790.
- Fink, A.L. (1999). Chaperone-mediated protein folding. **Physiol Rev**, 79(2), 425-449.
- Garramone, R.R., Winters, R.M., Das, D.K. & Deckers, P.J. (1994). Reduction of skeletal muscle injury through stress

- conditioning using the heat shock response. **Plast Reconstr Surg**, 93, 1242-1247.
- Joyex, M., Faure, P., Godin-Ribout, D., Halimi, S., Patel, A., Yellon, D.M., Demenge, P. & Ribout, C. (1999). Heat stress fails to protect myocardium of streptozotocin-induced diabetic rats against infarction. **Cardiovascular Research**, 43, 939-946.
- Kimoto, S., Yamamoto, Y., Yamagami, K., Ishikawa, Y., Kume, M., Yamamoto, H., Ozaki, N. & Yamaoka, Y. (2000). The augmentative effect of repeated heat shock preconditioning on the production of heat shock protein 72 and on ischemic tolerance in rat liver tissue. **Int J Hyperthermia**, 16(3), 247-261.
- Ku, Z., Yang, J., Memon, V. & Thomason, D.B. (1995). Decreased polysomal HSP-70 may slow polypeptide elongation during skeletal muscle atrophy. **Am J Physiol**, 268 (Cell Physiol. 37), C1369-C1374.
- Lecker, S.H., Solomon, V., Mitch, W.E. & Goldberg, A.L. (1999). Muscle protein breakdown and the critical role of the ubiquitin proteasome pathway in normal and disease states. **J Nutrition**, 29(1), 227S-237S.
- Lepore, D.A., Hurley, J.V., Stewart, A.G., Morrison, W.A. & Anderson, R.L. (2000). Prior heat stress improves survival of ischemia-reperfused skeletal muscle in vivo. **Muscle Nerve**, 23, 1847-1855.
- Lille, S., Su, C.Y., Schoeller, T., Suchy, H., Lyons, S., Russell, R.C., Neumeister, M. & Lai, C.C. (1999). Induction of heat-shock protein 72 in rat skeletal muscle does not increase tolerance to ischemia-reperfusion injury. **Muscle Nerve**, 22(3), 390-393.
- Locke, M., Tanguay, R. M., Klabunde, R.E. & Ianuzzo, C.D. (1995). Enhanced postischemic myocardial recovery following exercise induction of HSP 72. **Am J Physiol**, 269, H320-H325.
- Locke, M. (1997). The cellular stress response to exercise: role of stress proteins. **Exerc Sci Sports Rev**, 25, 105-136.
- Marra, G., Cotroneo, P., Pitocco, D., Manto, A., Di Leo, M.A.S., Ruotolo, V., Caputo, S., Giaardina, B., Ghirlanda, G. & Santini, S.A. (2002). Early increase of oxidative stress and reduced antioxidant defenses in patients with uncomplicated type 1 diabetes. **Diabetes Care**, 25, 370-375.
- Mitch, W.E., Bailey, J.L., Wang, X., Jurkowitz, C., Newby, D. & Price, S.R. (1999). Evaluation of signals activating ubiquitin-proteasome proteolysis in a model of muscle wasting. **Am J Physiol** 276 (Cell Physiol, 45), C1132-C1138.
- Naito, J., Hartung, E., Schramm, E. & Inselmann, G. (1999). Heat stress produces an early phase of protection against oxidative damage in human muscle. **Acta Anaesthesiol Scand**, 43, 77-81.
- Naito, H., Powers, S.K., Demirel, A.H., Sugiura, T., Dodd, S.L. & Aoki, J. (2000). Heat stress attenuates skeletal muscle atrophy in hindlimb-unweighted rats. **J Appl Physiol**, 88, 359-363.
- Oishi, Y., Taniguchi, K., Matsumoto, H., Ishihara, A., Ohira, Y. & Roy, R.R. (2002). Muscle type-specific response of HSP60, HSP72, and HSC73 during recovery after elevation of muscle



- temperature. **Am J Physiol**, 92(3), 1097–1103.
- Ohkuwa, T., Sato, Y. & Naoi, M. (1995). Hydroxyl radical formation in diabetic rats induced by streptozotocin. **Life Sci**, 56, 1789-1798.
- Peng, J., Jones, G.L. & Watson, K. (2000). Stress proteins as biomarkers of oxidative stress: effects of antioxidant supplements. **Free Radic Biol Med**, 28(11), 1598-606.
- Pepato, M.T., Migliorini, R.H., Goldberg, A.L. & Kettelhut, I.C. (1996). Role of different proteolytic pathways in degradation of muscle protein from streptozotocin-diabetic rats. **Am J Physiol**, 271(34), E340-E347.
- Powers, S.K., Demirel, H. A., Vincent, H.K., Coombes, J.S., Naito, H., Hamilton, K.L., Shanely, R.A. & Jessup, J. (1998). Exercise training improves myocardial tolerance to in vivo ischemia-reperfusion in the rat. **Am J Physiol**, 275, R1468-77.
- Price, S.R., England, B.K., Bailey, J.L., Wang, X., Jurkovitz, C., England, B.K., Phillips, L.S. & Mitch, W.E. (1996). Muscle wasting in insulinopenic rats results from activation of the ATP-dependent, ubiquitin-proteasome proteolytic pathway by a mechanism including gene transcription. **J Clin Invest**, 98(8), 1703-1708.
- Qi, J.S. Kam K.W.L., Chen, M., Wu, S. & Wong, T.M. (2004). Failure to confer cardioprotection and to increase the expression of heat-shock protein 70 by preconditioning with a  $\mu$ -opioid receptor agonist during ischaemia and reperfusion in streptozotocin-induced diabetic rats. **Diabetologia**, 47(2), 214–220.
- Rakonczay, Z., Takács, T., Boros, I. & Lonovics, J. (2003). Heat shock proteins and the pancreas. **J Cell Physiol**, 195, 383-391.
- Smith, O.L., Wong, C.Y. & Gelfand, R.A. (1989). Skeletal Muscle Proteolysis in Rats With Acute Streptozotocin-Induced Diabetes. **Diabetes**, 38(9), 1117-1122.
- Telci, A., Cakatay, U., Salman, S., Satman, I. & Sivas, A. (2000). Oxidative protein damage in early stage type 1 diabetic patients. **Diabetes Res Clin Prac**, 50, 213-223.
- Thomason, D.B. & Booth, F.W. (1990). Atrophy of the soleus muscle by hind-limb unweighting. **Am J Physiol**, 68, 1-12.
- Thomason, D.B., Biggs, R.B. & Booth, F.W. (1989). Protein metabolism and b-myosin heavy-chain mRNA in unweighted soleus muscle. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, 257, R300-R305.
- Welch, W.J. (1992). Mammalian stress response: cell physiology, structure/function of stress proteins, and implications for medicine and disease. **Physiol Rev**, 72(4), 1063-1081.
- Welsh, N., Margulis, B., Borg, L.A., Wiklund, H.J., Saldeen, J., Flodstrom, M., Mello, M.A., Andersson, A., Pipelleers, D.G. & Hellerstrom, C. (1995). Differences in the expression of heat-shock proteins and antioxidant enzymes between human and rodent pancreatic islets: implications for the pathogenesis of insulin-dependent diabetes mellitus. **Mol Med**, 1(7), 806-820.
- Yamagishi, N., Nakayama, K. Wakatsuki, T. & Hatayama, T. (2001). Characteristic

*Diyabetik Sıçanlarda Sıcak Stresi ve Kas Atrofisi*

---

changes of stress protein expression in streptozotocin-induced diabetic rats. **Life Sci**, 69, 2603-9.

Zarzhevsky, N., Menashe, O., Carmeli, E., Stein, H. & Reznick, A.Z. (2001).

Capacity for recovery and possible mechanisms in immobilization atrophy of young and old animals. **Ann N Y Acad Sci**, 928, 212-25.