



T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI YÜKSEK LİSANS TEZİ

AKRİLAMİD VERİLEN SIÇANLARDA YÜZME EGZERSİZİNİN KORUYUCU ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Damla GÜNDÜZ

Kasım 2021
DENİZLİ

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**AKRİLAMİD VERİLEN SIÇANLARDA YÜZME EGZERSİZİNİN
KORUYUCU ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

Damla GÜNDÜZ

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Hülya ÇETİN

Denizli, 2021

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğini beyan ederim.

Öğrenci Adı Soyadı: Damla GÜNDÜZ

İmza:

ÖZET

AKRİLAMİD VERİLEN SIÇANLARDA YÜZME EGZERSİZİNİN KORUYUCU ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Damla GÜNDÜZ

Yüksek Lisans Tezi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Tez Yöneticisi: Prof. Dr. Hülya ÇETİN

Kasım 2021, 85 Sayfa

Akrilamid bir çoklu organ toksinidir. Endüstriyel ve laboratuvar işlemlerde kullanılmasının dışında karbonhidrattan zengin maddelerin ısı işlemlere maruz kalması sırasında oluşmaktadır. Egzersiz eğitimi birçok hastalığın tedavisinde farmakoterapiye destekleyici olarak tavsiye edilmektedir. Literatürde fiziksel egzersizin endokrin pankreas üzerinde düzenleyici etkilerinin olduğu belirtilmiştir. Mevcut çalışma akrilamidin olası pankreas hasarı üzerindeki etkisini değerlendirme ve yüzme egzersizinin koruyucu etkisinin olup olmadığının belirlenmesi açısından sonraki çalışmalara basamak teşkil edebilir. Çalışmada 32 adet yetişkin Sprague-Dawley cinsi erkek sıçan grup K, grup A, grup E, grup A+E olmak üzere 4 gruba ayrılmıştır. Grup K'ye 4 hafta boyunca gavaj yöntemiyle 0.2 ml serum fizyolojik uygulanmıştır. Grup A'ya serum fizyolojikte çözdürülmüş 50 mg/kg/günlük akrilamid 4 hafta boyunca gavaj yöntemiyle verilmiştir. Grup E'ye 4 hafta boyunca yüzme egzersizi uygulanmıştır. Grup A+E'ye 4 hafta boyunca serum fizyolojikte çözdürülmüş 50 mg/kg/günlük akrilamid gavaj yöntemiyle verilmiş ve aynı zamanda 4 hafta boyunca yüzme egzersizi uygulanmıştır. Deneysel süreç tamamlandıktan sonra hayvanlar 12 saat aç bırakılmış ve ardından açlık kan glikozu ölçümü, oral glikoz tolerans testi uygulanmıştır. Daha sonra hayvanlar intraperitoneal olarak 90 mg/kg ketamin + 10 mg/kg ksilazin verilerek anestezi altına alınmıştır. Serum insülin, total oksidatif, total antioksidatif seviye değerleri için kan örnekleri ve histolojik analizler için pankreas örnekleri alınarak deney sonlandırılmıştır. Sonuç olarak grup A'da akrilamid uygulaması açlık kan şekeri ve oral glikoz tolerans testi değerlerinde yükselmeye, insülin seviyesinde düşmeye ve oksidatif strese neden olmuştur. Grup E'de ise bu değerler grup K ile benzerdi. Ayrıca grup A+E'de total oksidatif ve total antioksidatif değerler bakımından anlamlı derecede değişim gözlenmemiştir. Mevcut çalışmada akrilamid uygulaması Langerhans adacığında değişimler meydana getirmiştir. Diğer gruplara kıyasla grup A'da alfa hücre sayısında anlamlı derecede artış gözlenmiştir. Ayrıca grup K'ye kıyasla grup A'da beta hücre sayısında anlamlı derecede azalma gözlenmiştir. Burada akrilamid kaynaklı oksidatif stresin beta ve alfa hücre kütlelerinde meydana getirdiği değişimler üzerinde yüzme egzersizinin koruyucu etkisi anlamlı derecede bulunamamıştır.

Anahtar Kelimeler: Akrilamid, yüzme egzersizi, glikoz homeostazi, oksidatif stres, pankreas

Bu çalışma, PAÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: 2020SABE033).

ABSTRACT**INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF SWIMMING EXERCISES IN RATS GIVEN
ACRYLAMIDE**

GUNDUZ, Damla

Master Thesis, Department of Histology and Embryology

Thesis Advisor: Prof. Hülya ÇETİN (PhD)

November 2021, 85 Pages

Acrylamide is a multi-organ toxin. Apart from being used in industrial and laboratory processes, it is formed during the exposure of carbohydrate-rich materials to heat treatment. Exercise training is recommended as a supplement to pharmacotherapy in the treatment of many diseases. It has been stated in the literature that physical exercise has regulatory effects on the endocrine pancreas. The current study may serve as a stepping stone to further studies in terms of evaluating the effect of acrylamide on possible pancreatic damage and determining whether swimming exercise has a protective effect. In the study, 32 adult male Sprague-Dawley rats were divided into 4 groups as group K, group A, group E, group A+E. Group K was administered 0.2 ml of saline by gavage method for 4 weeks. 50 mg/kg/day acrylamide dissolved in physiological saline was given to Group A by gavage method for 4 weeks. Swimming exercise was applied to Group E for 4 weeks. Group A+E was given 50 mg/kg/day acrylamide dissolved in saline for 4 weeks by gavage method and swimming exercise was applied for 4 weeks at the same time. After the experimental process was completed, the animals were fasted for 12 hours and then fasting blood glucose measurement and oral glucose tolerance test were applied. The animals were then anesthetized by intraperitoneally administering 90 mg/kg of ketamine + 10 mg/kg of xylazine. The experiment was ended by taking blood samples for serum insulin, total oxidative and total antioxidative level values and pancreas samples for histological analysis. As a result, acrylamide administration caused an increase in fasting blood glucose and oral glucose tolerance test values, a decrease in insulin levels and oxidative stress in group A. In group E, these values were similar to group K. In addition, no significant change was observed in terms of total oxidative and total antioxidative values in group A+E. In the current study, the application of acrylamide caused changes in the islet of Langerhans. Compared to the other groups, a significant increase in the number of alpha cells was observed in group A. In addition, a significant decrease in the number of beta cells was observed in group A compared to group K. Here, the protective effect of swimming exercise on the changes in beta and alpha cell mass caused by acrylamide-induced oxidative stress was not found to be significant.

Key Words: Acrylamide, swimming exercise, glucose homeostasis, oxidative stress, pancreas

**This study was supported by Pamukkale University Scientific Research Projects
Coordination Unit through Project number 2020SABE033.**

TEŞEKKÜRLER

Başta yüksek lisans eğitimim ve tez aşaması boyunca, bilgi birikimi ve deneyimleriyle bana yol gösteren, yalnızca tez danışmanım olarak değil her konuda fazlasıyla yardımcı olan, bana inanan, ilgi, sevgi ve güler yüzünü hiçbir zaman eksik etmeyen örnek aldığım değerli hocam Sayın Prof. Dr. Hülya ÇETİN' e,

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana emeği geçen ve desteğini esirgemeyen Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Gülçin ABBAN METE' ye,

Yüksek lisans eğitimim boyunca her türlü bilgiyi esirgemeyen değerli öğretim üyeleri hocalarım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Murat Serkant ÜNAL, Sayın Dr. Öğr. Üyesi Nazlı ÇİL, Sayın Doç. Dr. Nazan KESKİN ve klinik tecrübelerinden yararlandığım, tez çalışmamı gerçekleştirebilmem için yardımlarını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Saim ÖZDAMAR' a,

Laboratuvarlarının olanaklarından yararlandığım Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Ayşegül Çört Dönmez'e,

Tez çalışmam boyunca yanımda olan, her türlü bilgiyi ve desteği esirgemeyen Malatya Turgut Özal Üniversitesi Tıp Fakültesi ailesine,

Yüksek lisans öğrenimim ve deneylerim sırasında yardımlarını esirgemeyen Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı ailesine ve Veteriner Hekim Mehmet BAŞEĞMEZ 'e,

Ve beni bugünlere getiren, tüm hayatım boyunca karşılıksız sevgileriyle her koşulda yanımda olan canım aileme ve en büyük ilham kaynağım canım yeğenim Umay'ıma en yürekten teşekkürlerimi sunarım.

Saygılarımla

Kasım-2021

Damla GÜNDÜZ

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xi
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
1.1. Amaç.....	5
2. KURAMSAL BİLGİLER VE LİTERATÜR TARAMASI	6
2.1. Pankreas Histolojisi.....	6
2.1.1. Ekzokrin Pankreas.....	8
2.1.2. Endokrin Pankreas.....	10
2.2. Pankreasın Embriyolojisi.....	13
2.2.1. Pankreasın Konjenital Anomalileri ve Anatomik Varyantları.....	16
2.3. Akrilamid.....	17
2.3.1. Maillard Reaksiyonu.....	20
2.3.2. Akrilamidin Sistemik Etkileri.....	21
2.4. Fiziksel Aktivite ve Egzersizin Etkileri.....	25
2.4.1. Yüzme Egzersizi.....	30
2.5. Hipotezler.....	30
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	32
3.1. Deney Hayvanlarının Seçimi ve Gruplandırılması.....	32
3.2. Madde Uygulamaları	34

3.3. Yüzme Egzersizi Protokolü.....	35
3.4. Vücut Ağırlığı Ölçümü	36
3.5. AKŞ ve OGTT Ölçümü	36
3.6. Deneyin Sonlandırılması, Kan ve Pankreas Örneklerinin Alınması	37
3.7. Serum İnsülin, TOS, TAS ve OSİ Değerlerinin Belirlenmesi	37
3.8. Doku Takibi	39
3.8.1. Tespit İşlemi (Fiksasyon).....	39
3.8.2. Dehidratasyon İşlemi.....	39
3.8.3. Şeffaflaştırma ve Parafinizasyon İşlemi	40
3.8.4. Bloklama İşlemi	40
3.8.5. Kesit Alma ve Lama Aktarma İşlemi	41
3.8.6. Deparafinizasyon İşlemi	41
3.9. H&E Boyama.....	42
3.10. İmmünohistokimyasal Boyama	43
3.11. İstatistiksel Analiz	45
4. BULGULAR	46
4.1. Vücut Ağırlığı Değerleri	46
4.2. Nörotoksik Bulgular	48
4.3. AKŞ ve OGTT Sonuçları	49
4.4. Serum İnsülin, TOS, TAS ve OSİ Sonuçları	52
4.5. H&E Boyama Sonuçları	56
4.6. İmmünohistokimyasal Boyama Sonuçları	59
5. TARTIŞMA.....	66
6. SONUÇ	74
7. KAYNAKLAR.....	76
8. ÖZGEÇMİŞ	83
9. EKLER	84

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1 Pankreas ve safra kesesi kanallarının duodenumla ilişkisi	7
Şekil 2.2 Pankreatik asinüs ve sindirim enzimlerinin boşaldığı pankreatik kanallar	9
Şekil 2.3 Özel boyalarla boyanmış Langerhans adacığının gösterimi	13
Şekil 2.4 Pankreatik tomurcukların gelişimi ve pankreasın konumlanması.	14
Şekil 2.5 Pankreatik tomurcukların birleşmesi ve kanal yapılarının oluşumu.	15
Şekil 2.6 Pankreatik divisum ve anüler pankreasın gösterimi	16
Şekil 2.7 Akrilamidin kimyasal formülü.	18
Şekil 3.1 Deney hayvanlarının gösterimi.....	33
Şekil 3.2 Gavaj uygulaması.....	34
Şekil 3.3 Morris su tankı ve yüzme egzersizi.....	35
Şekil 3.4 Sıçanların ağırlıklarının ölçümü.....	36
Şekil 4.1 Sıçanların ortalama vücut ağırlıkları.....	48
Şekil 4.2 Grup A ve grup A+E'ye ait nörotoksik bulgular.....	49
Şekil 4.3 Sıçanların ortalama AKŞ değerleri	50
Şekil 4.4 Sıçanların ortalama OGTT değerleri	52
Şekil 4.5 Sıçanların ortalama serum insülin değerleri.....	53
Şekil 4.6 Sıçanların ortalama TOS değerleri.....	54
Şekil 4.7 Sıçanların ortalama TAS değerleri.....	55
Şekil 4.8 Sıçanların ortalama TOS ve TAS değerleri kullanılarak elde edilen OSI değerleri.....	56
Şekil 4.9 Grupların H&E boyamaları, X4.....	57
Şekil 4.10 Grupların H&E boyamaları, X40.....	58
Şekil 4.11 Ortalama insülin immün pozitif hücre sayısı.....	60
Şekil 4.12 Ortalama glukagon immün pozitif hücre sayısı.....	61
Şekil 4.13 Grupların anti-insülin immünohistokimyasal boyamaları, X20..	62
Şekil 4.14 Grupların anti-insülin immünohistokimyasal boyamaları, X40.....	63
Şekil 4.15 Grupların anti-glukagon immünohistokimyasal boyamaları, X20.....	64
Şekil 4.16 Grupların anti-glukagon immünohistokimyasal boyamaları, X40.....	65

TABLULAR DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 2.1 Isıl işlem sonrası besinlerde oluşan akrilamid değerleri	20
Tablo 2.2 Tip1 diyabette egzersizin faydaları.	27
Tablo 2.3 Tip2 diyabette egzersizin faydaları	27
Tablo 4.1 Sıçanların 1. ve 4. haftada ölçülen ortalama vücut ağırlığı değerleri	47
Tablo 4.2 Sıçanların 4 hafta boyunca ölçülen vücut ağırlıklarının analizi	47
Tablo 4.3 Sıçanlara ait AKŞ değerlerinin analizi	49
Tablo 4.4 Sıçanlara ait OGTT değerlerinin analizi	51
Tablo 4.5 Sıçanlara ait serum insülin değerlerinin analizi	53
Tablo 4.6 Sıçanlara ait serum TOS değerlerinin analizi	54
Tablo 4.7 Sıçanlara ait serum TAS değerlerinin analizi	55
Tablo 4.8 Sıçanlara ait OSİ değerlerinin analizi	56
Tablo 4.9 İnsülin immün pozitif (beta) hücre sayısının analizi	60
Tablo 4.10 Glukagon immün pozitif (alfa) hücre sayısının analizi	61

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABTS.....	3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit
ACP.....	Asit fosfataz
AKŞ.....	Açlık kan şekeri
AKT.....	Protein kinaz b
ALP.....	Alkalen fosfataz
ALT.....	Alanin aminotransferaz
AST.....	Aspartat transaminaz
CAT.....	Katalaz
CCK.....	Kolesistokinin
CM.....	Santimetre
DAP.....	3,3' diaminobenzidine
DEHAB.....	Deney hayvanları araştırma birimi
DK.....	Dakika
DL.....	Desilitre
DNA.....	Deoksiribo nükleik asit
DNAaz.....	Deoksiribonükleaz
EDTA.....	Etilendiamin tetraasetik asit
EFSA.....	Avrupa gıda güvenliği otoritesi
ELISA.....	Enzim bağlı immünosorbent deneyi
ERK1/2.....	Hücre dışı düzenlenmiş kinaz1/2
GER.....	Granüllü endoplazmik retikulum
GLUT4.....	Glikoz taşıyıcı tip4 protein
GPx.....	Glutatyon peroksidaz
GR.....	Gram
GSH.....	Glutatyon
GST.....	Glutatyon S-transferaz
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
HCl.....	Hidroklorik asit
H&E.....	Hematoksilen & eozin
IARC.....	Uluslararası kanser araştırmaları ajansı
IGF1.....	İnsülin benzeri büyüme faktörü-1
IL-10.....	İnterlökin 10
IL-6.....	İnterlökin 6
IRS2.....	İnsülin reseptörü substrat-2
İNOS.....	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
İRS.....	İmmünoreaktivite skorlaması
KG.....	Kilogram
LT.....	Litre
M.....	Metre
MAPK.....	Mitojenle aktifleştirilen protein kinaz
MDA.....	Malondialdehit
MG.....	Miligram
ML.....	Mililitre
MMHG.....	Milimetre cıva
M-TOR.....	Rapamisin protein kompleksinin memeli hedefi
NaCl.....	Sodyum klorür
NADPH.....	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NH ₂	Amin grubu

NM.....	Nanometre
OGTT.....	Oral glikoz tolerans testi
OH.....	Hidroksit
OLETF.....	Otsuka long-evans tolushima yağlı sıçan
OSI.....	Oksidatif stres indeksi
P70S6K.....	Ribozomal protein S6 kinaz beta-1
PAP PEN.....	Hidrofobik doku sınırlama kalemi
PAÜHADYEK.....	Pamukkale Üniversitesi hayvan deneyleri etik kurulu
PBS.....	Fosfat tamponu
PH.....	Hidrojenin gücü
RNAaz.....	Ribonükleaz
RNT.....	Reaktif azot türleri
ROT.....	Reaktif oksijen türleri
RPM.....	Dakikadaki devir sayısı
SH.....	Sülfidril grubu
SNARE.....	Çözünür N-etilmaleimide duyarlı protein reseptörü
SNFA.....	İsveç ulusal gıda yönetimi
SOD.....	Süperoksit dismutaz
SS.....	Standart sapma
STZ.....	Streptozotosin
TAS.....	Total antioksidan seviye
TNF- α	Tümör nekroz faktörü alfa
TOS.....	Total oksidan seviye
WHO.....	Dünya sağlık örgütü
μ g.....	Mikrogram
μ m.....	Mikrometre
μ l.....	Mikrolitre
μ mol.....	Mikromol
$^{\circ}$ C.....	Santigrat derece

1. GİRİŞ

Pankreas, insan sağlığı açısından önemli bir organdır. Sindirim sistemine salgıladığı enzimler ile ekzokrin fonksiyonunu ve kan dolaşımına salgıladığı hormonlar ile endokrin fonksiyonunu yerine getirmektedir. Dünya geneline bakıldığında pankreasın etkilendiği iki önemli hastalıktan biri diyabet ve diğeri de pankreas kanseridir. Diyabet her yıl dünya çapında en az 30 milyon insanı etkilemektedir. Pankreas kanseri ise her yıl yaklaşık 6.500 ölüme neden olmaktadır (Slack 1995).

Whiting vd (2011)'nin yaptığı, 110 ülkenin içerisinde bulunduğu ve toplam 565 veri kaynağının incelendiği bir çalışmada 2011 yılında 366 milyon diyabetli insan varken bunun 2030 yılına kadar 552 milyona çıkması beklendiği bildirilmektedir. Bu artışın önlenmesi için fiziksel olarak daha aktif yaşam tarzı değişikliklerine gidilmesi ve sağlıklı bir beslenme alışkanlığının kazanılması gerektiği çalışmada belirtilmiştir (Whiting vd 2011).

Diyabet, birden fazla etiyolojiye sahip metabolik ve endokrin bir bozukluktur. İnsülin sekresyonu, insülin etkisi veya her ikisindeki bozukluklardan kaynaklanan karbonhidrat, yağ, protein metabolizmasının bozulduğu ve kronik hipergliseminin eşlik ettiği bir durumdur. Çocuklarda ve gençlerde en sık bulunan tip 1 veya insüline bağımlı diyabette, beta hücreleri otoimmün bir reaksiyon ile yok edilir ve kalıcı insülin eksikliği ortaya çıkmaktadır. Tip 2 veya insüline bağımlı olmayan diyabet ise daha çok yaşlılarda görölmektedir. Genellikle hedef dokularda insüline yanıt vermemeyi içeren karmaşık bir durumdur. Bu süreçlerin daha iyi anlaşılması ve diyabette yeni stratejilerin geliştirilebilmesi için beta hücre yenilenmesi ya da kayıp süreçlerinin araştırılması gerekmektedir (Holt vd 2010).

Akrilamidin endüstriyel ve laboratuvar işlemlerde kullanılan toksik bir madde olduğu belirtilmektedir. Çalışmalarda içme suyu, deri yoluyla emilim, soluma ve mesleki maruziyet gibi çeşitli nedenlerle maruz kalındığı bulunmuştur. Ayrıca akrilamidin karbonhidrat zengini gıdaların yüksek sıcaklıkta hazırlanması sırasında oluştuğu da bildirilmektedir. Bu durum, aminoasitler (asparaginler) ile indirgen şekerler (glikoz, fruktoz gibi) arasında ısıl işlem sırasında meydana gelen reaksiyondan (Maillard reaksiyonu) kaynaklanmaktadır. Akrilamidin ekmek, fırınlanmış patates, kahve, tahıl ve çeşitli şekerleme ürünleri gibi gıdaların işlenmesi sırasında oluşumu, bu maddenin günlük olarak vücuda alındığı anlamına geldiği çalışmalarda belirtilmiştir. Bireylerin ortalama akrilamid alımının günde 1 ile 4 mg/kg olduğu tahmin edilmektedir. Daha da önemlisi, çocukların yetişkinlerden 2-3 kat daha fazla akrilamide maruz kaldığı bulunmuştur. Hatta bebek mamaları da dahil olmak üzere çeşitli gıdalarda kontaminant olarak tespit edilmiştir. Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda akrilamidin nörotoksisite, üreme ve gelişimsel toksisite, genotoksisite, klastojenite (kromozoma zarar veren etkiler), kanserojenik ve endokrin bozulma dahil olmak üzere olumsuz etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Ayrıca akrilamidin neden olduğu sitotoksisitenin oksidatif stres ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (Erkekoğlu ve Baydar 2010, Al-Serwi ve Ghoneim 2015, Kovac vd 2015).

Oksidatif stres, reaktif oksijen türlerinin (ROT) veya reaktif azot türlerinin (RNT) üretimi ve antioksidan savunma sisteminin yetersizliği olarak tanımlanmaktadır. Bu durum pro-oksidanlar ve antioksidanlar arasında dengesizliğe yol açmaktadır. Antioksidan savunma sistemindeki yetersizlik sonucu oluşan oksidatif stres, biyolojik makromoleküllerin zarar görmesine neden olmaktadır. Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda akrilamid maruziyetinin testisler, böbrekler, pankreas, karaciğer, beyinde oksidan ve antioksidan parametreler üzerinde değişime neden olduğu gösterilmiştir (Marković vd 2018). Ayrıca tip 1 diyabette ROT ve RNT'nin beta hücre disfonksiyonuna neden olduğu, otoimmün reaksiyonlar ve inflamatuvar sitokinler tarafından başlatılan yıkıma katıldığı gösterilmiştir. Beta hücre fonksiyonu ve kütle kaybının görüldüğü tip 2 diyabet patogenezinde ise ROT ve RNT'nin önemi yavaş yavaş ortaya çıkmaktadır. Deneysel tip 2 diyabet modellerinde oksidatif stres belirteçlerindeki yüksekliğin Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) oksidaz ekspresyonuyla ilişkili olduğu bulunmuştur. Tip 1 ve tip 2 diyabette azalmış insülin sekresyonu ile beta hücre apoptozundaki artış her iki durumun patogenezinde anahtar rol oynamaktadır. Düşük antioksidan kapasiteleri nedeniyle, beta hücrelerinin oksidatif strese karşı son derece duyarlı olduğu çalışmalarda belirtilmiştir. Diyabet gelişimi sırasında ROT ve RNT üretimi beta hücre fonksiyonun bozulmasına neden olmaktadır. Ayrıca ROT'un mitokondri ile

etkileşimi sonucu, apoptozda önemli roller üstlendiği gösterilmiştir. Sonuç olarak antioksidan kapasiteyi arttıran yaklaşımlar, beta hücre kütleindeki azalmayı önleyerek diyabet gelişme riskini azalttığı belirtilmektedir (Drews vd 2010).

Elgarawany vd (2019)'nin yaptığı akrilamidin diyafragma kası üzerindeki etkisini değerlendiren bir çalışmada, maruziyet sonrası dokuda oksidatif stresin meydana geldiği belirtilmiştir. Ayrıca kas distrofisi, dokuda glikojen içeriğinin azalması ve diyafragmatik kas kasılmasının azalması ile akrilamidin kas miyopatisine neden olduğu gösterilmiştir (Elgarawany vd 2019).

Glikoz homeostazi, organizmada birçok hormon tarafından kontrol edilmektedir. Hiperglisemi meydana geldiğinde pankreatik adacıktaki beta hücreleri tarafından salgılanan insülin, normal koşullarda hedef hücrelerin yüzeylerindeki insülin reseptörlerine bağlanmaktadır. Burada insülin seviyesinde veya hedef hücre yüzeyine bağlanmada meydana gelen olası anormalliklerin, glikoz metabolizması ve homeostazını olumsuz etkilediği bildirilmiştir. Bir gıda kirletici olarak bilinen akrilamidin glikoz metabolizmasını etkileyerek ve insülinin fizyolojik etkisini bozarak açlık kan şekeri (AKŞ) seviyesinin yükselmesine, glikoz homeostazının bozulmasına neden olduğu gösterilmiştir (Yue vd 2020).

Lin vd (2009)'nin yaptığı 1.356 katılımcıyı içeren bir çalışmada yetişkin bireylerde kronik olarak akrilamide maruziyetin serum insülin seviyesinde azalmaya neden olduğu bulunmuştur (Lin vd 2009). Stošić vd (2018)'nin yaptığı çalışmada ise yetişkin erkek Wistar sıçanların 3 hafta boyunca subkronik olarak akrilamide maruziyeti sonucunda Langerhans adacıklarında alfa hücrelerinde artma ve beta hücrelerinde azalma gözlemlendiği bildirilmiştir. Burada beta hücre kütleindeki azalma, normoglisemiyi sürdürmek için kalan fonksiyonel beta hücrelerinin iş yükünün artmasına yol açmış ve aşırı çalışmasına neden olmuştur. Alfa ve beta hücre oranındaki dengesizlik diyabeti tetikleyeceğinden subkronik akrilamid maruziyetinin artan diyabet insidansına katkıda bulunduğu belirtilmektedir (Stošić vd 2018).

Egzersiz eğitimi uzun zamandır diyabet yönetiminde farmakoterapiye ek olarak kullanılmaktadır. İnsanlarda ve hayvanlarda yapılan deneyler sonucunda, egzersizin insülin direncini iyileştirdiği, insülin duyarlılığını arttırdığı, beta hücre kütleini arttırdığı ve genellikle tip 2 diyabette beta hücre fonksiyonunu ve insülinotropik etkiyi arttırdığı bulunmuştur (Dela vd 2004, Howarth vd 2009).

Park vd (2007) yaptıkları çalışmada %90 pankreatektomi uygulanmış erkek sıçanlarda yüksek yağlı diyet ve egzersizin beta hücre fonksiyonu, beta hücre kütlei

üzerindeki etkisini ve moleküler mekanizmasını araştırmışlardır. Araştırma sonucunda aşırı glikoz yüklenmesi insülin salgılanmasını düşürürken egzersiz eğitiminin bu azalmayı tersine çevirdiği bulunmuştur. Ayrıca egzersizin pankreas beta hücre kütlelerini arttırdığı da gösterilmiştir. Bu uyarılmış hücre çoğalmasının, insülin reseptörü substrat-2 (IRS2) indüksiyonu yoluyla insülin etkisinin güçlendirilmesi veya insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF1) ile ilişkili azalmış apoptozdan kaynaklandığı bildirilmiştir (Park vd 2007).

Kira'ly vd (2008)'nin yaptığı çalışmada egzersizle sıçanlarda hipertrofi ve replikasyonun beta hücre kütlelerinin artmasına katkıda bulunduğu, egzersiz yaptırılan hayvanların kontrollere kıyasla artmış beta hücre boyutuna sahip olduğu gösterilmiştir (Kira'ly vd 2008). Calegari vd (2012)'nin yaptığı çalışmada ise erkek Wistar sıçanlar 8 haftalık endurans eğitimine maruz bırakılmış ve egzersizin pankreasta meydana getirdiği değişiklikler incelenmiştir. Değerlendirmelerde egzersiz grubundaki pankreatik adacıklar ile kontrol grubundaki pankreatik adacıklar karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak protein kinaz b (AKT) (%75), AKT substratı (AS160; %100), rapamisin protein kompleksinin memeli hedefi (M-TOR) (%60), ribozomal protein S6 kinaz beta-1 (p70s6k) (%90) ve hücre dışı düzenlenmiş kinaz1/2 (ERK1/2) (%50) seviyelerinin kontrol grubuna kıyasla egzersiz grubunda daha yüksek olduğu bulunmuştur. Egzersizin AKT ve ERK1/2 yollarını aktive ederek, antioksidan kapasiteyi artırarak, ROT üretimini ve apoptotik protein içeriğini azaltarak beta hücre büyümesini desteklediği gösterilmiştir (Calegari vd 2012).

İnsanların yaşam döngüsü içerisinde vazgeçilmez bir olgu olan beslenme sağlığın korunması, vücut dokularının onarımı ve yaşamın sürdürülmesi için gereklidir. Buna dayanarak sürekli olarak tükettiğimiz besinlerin içeriği hipertansiyon, diyabet, obezite, metabolik sendrom gibi çeşitli kronik hastalıkların gelişimini önlemek için önem kazanmaktadır. Ekmek, patates, kahve, tahıl ve çeşitli şekerleme ürünleri gibi sürekli tüketilen gıdaların işlenmesi sırasında oluşan akrilamidin endokrin pankreasta yarattığı etkiler artan nüfusla beraber küresel diyabet gelişme riskini de arttırmaktadır. Akrilamidin böbrek, testis, ovaryum, karaciğer, pankreas gibi dokular üzerinde oksidatif stresi artırarak toksisite yarattığı, endokrin bozulma ve kanserojenik etkilerinin olduğunu gösteren birçok deneysel çalışma bulunmaktadır. Maruziyet sonucu pankreastaki alfa ve beta hücrelerinde meydana gelen değişimlerin daha iyi anlaşılması ve bu değişimlere karşı koruyucu stratejilerin geliştirilmesi gerekmektedir. Egzersizin diyabete bağlı şekillenen patolojilerin önlenmesinde ya da azaltılmasında olumlu etkilere sahip olduğu bilinmektedir. Deneysel diyabet modellerinde egzersizin glikoz metabolizmasını iyileştirdiği, oksidatif stresi azalttığı, pankreas beta hücrelerinin bütünlüğünü koruduğu ve insülin duyarlılığını arttırdığı gösterilmiştir. Bu açıdan akrilamidin endokrin pankreasta yarattığı olumsuz etkilere karşı egzersizin olası korucu etkisinin biyokimyasal ve histolojik

açıdan daha detaylı araştırılması gerekmektedir. Diyabet gelişim sürecini önlemeye yönelik kullanılan tedavilere ek olarak endokrin pankreası olumsuz etkilediği ve glikoz metabolizmasını bozduğu böylece diyabet gelişme riskini arttırdığı düşünülen akrilamidin etkilerini önleyen ya da azaltan yöntemlerin oluşturulması hedeflenmektedir.

1.1. Amaç

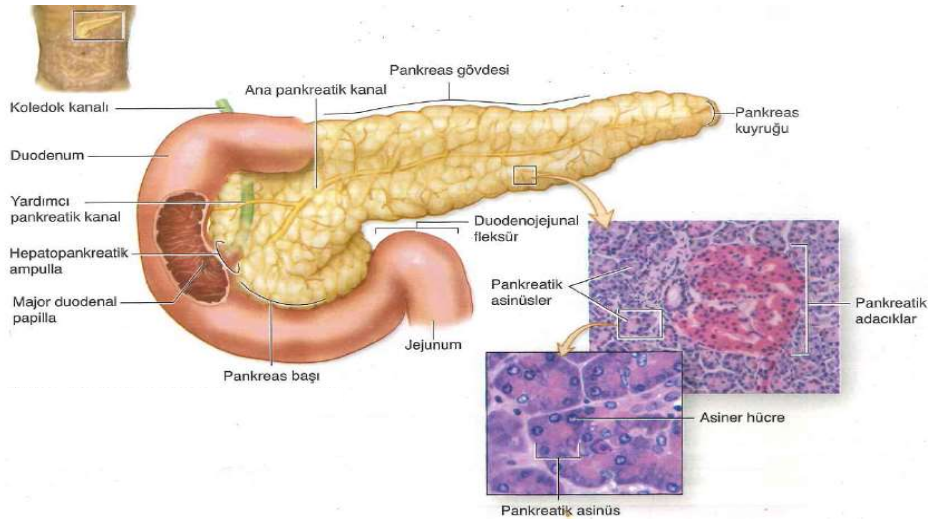
Yukarıda özetlenen bilgiler ışığında bu çalışma kapsamında akrilamidin endokrin pankreasta oluşturduğu toksisiteye karşı korunmada yüzme egzersizinin rolünün incelenmesi amaçlanmıştır.

2. KURAMSAL BİLGİLER VE LİTERATÜR TARAMALARI

2.1. Pankreasın Histolojisi

Pankreas insanlarda 15-25 cm uzunluğunda, 70-150 gr ağırlığında, duodenum ile dalağın arasında uzanan bir organdır ve yetişkin vücut ağırlığının yaklaşık %0.1'ini oluşturmaktadır. 2. ve 3. lumbal vertebralar seviyesinde, üst abdomende retroperitoneal olarak yerleşim gösteren pankreas, gastrointestinal sistemin bir parçasıdır. Temel olarak endokrin ve ekzokrin pankreas şeklinde 2 bölüme ayrılmaktadır. Ekzokrin pankreas, pankreas asiner hücrelerin oluşturduğu ve organ boyunca yayılan pankreatik asinuslar ile bu hücrelerin açıldığı kanal sistemlerinden meydana gelmektedir. Ekzokrin pankrestaki kanal sistemi pankreas kütlelerinin yaklaşık %2-4'ünü oluşturmaktadır. Ekzokrin pankreasta içerisinde dağınık halde bulunan ve endokrin hücre gruplarının oluşturduğu Langerhans adacıkları ise endokrin pankreası meydana getirmektedir. Pankreasın yaklaşık %95'i, kanallar vasıtasıyla ürettiği sindirim enzimlerini bağırsağa salgılayan ve bileşik tübüloalveolar ekzokrin bezi oluşturan pankreas asiner hücrelerinden meydana gelmektedir. Geriye kalan %5'lik ya da daha az olan bölümü ise ürettiği hormonları kan dolaşımına salgılayan ve vücudun karbonhidrat metabolizmasını düzenleyen endokrin hücrelerden oluşmaktadır. Yetişkin pankreas kütlelerinin çok az bir bölümünü oluşturan endokrin pankreas hücreleri glukagon, insülin, somatostatin, pankreatik polipeptid ve ghlerin gibi önemli hormonların üretimini yerine getirmektedir. Bu hormonlar Langerhans adacığında bir ağ oluşturan kılcal damarlar tarafından kan dolaşımına verilmektedir. Pankreas, vücut için gerekli sindirim enzimleri ve hormonları salgılayanın yanında enerji substratlarının kullanımı ve depolanmasında da merkezi bir rol üstlenmektedir (Longnecker ve Wilson 2002). Baş, boyun, gövde ve kuyruk olmak üzere dört anatomik

bölüme ayrılan pankreasın baş kısmı duodenumun inen parçasının (C şeklinde) içine yerleşmiştir; gövdesi ve kuyruğu midenin arkasında, abdominal duvar boyunca dalağa doğru uzanmaktadır. Sindirim enzimleri ve bikarbonatlar ekzokrin parankimadaki asiner hücreler tarafından salgılanmaktadır. Bu salgılar pankreasın küçük tübüler ağlarına drene olmaktadır ve bu kanal ağları sonrasında ana pankreatik kanalları (Wirsung ve Santorini kanalları) oluşturmaktadır. Burada Wirsung kanalı ile ortak safra kanalı birleşerek ampulla Vater'e açılmaktadır. Ampulla Vater majör duodenal papilla vasıtasıyla pankreas ve safra kesesine ait salgıları ince bağırsağa ulaştırmaktadır. Burada Oddi sfinkter salgıların iletilmesini düzenlemektedir. Oddi sfinkter, ampulla Vater'i çevreleyen düz kastan oluşan önemli bir yapıdır. Sfinkter hem safranin hem de pankreatik sıvının duodenuma akışını düzenlemektedir ve bağırsak içeriğinin pankreatik kanala reflüsünü engellemektedir (Fusco vd 2019).



Şekil 2.1 Pankreas ve safra kesesi kanallarının duodenumla ilişkisi (Işıldar ve Hürdoğan 2015).

Pankreas, bağ doku içerisinde bulunan kan damarlarıyla zengin bir şekilde beslenmektedir. Pankreasın kan desteği Langerhans adacıklarının ve pankreatik asinüslerin kademeli olarak perfüzyonu ile sağlanmaktadır. Yoğun şekilde vaskülarize olan Langerhans adacıkları küçük hücre popülasyonlarına rağmen toplam pankreas kan akışının yaklaşık %10-15'ini almaktadır. Adacık içerisindeki kan akımı periferden merkeze doğru olmaktadır. Adacıkların periferinden giren arteriyoller pencereci kapillerlere dallanmaktadır. Adacıkta, öncelikle kortekste bulunan alfa ve delta hücreleri

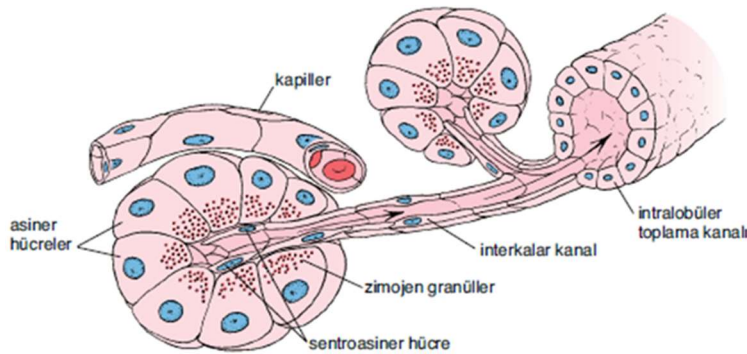
sonra da medullada bulunan beta hücreleri kanlanmaktadır. Adacığı büyük efferent kapillerler terk etmektedir. Bu kapillerler de dallanarak ekzokrin pankreasın asinüslerini çevrelemektedir. Ayrıca pankreasın bağ dokusunda hem miyelinli hem de miyelinsiz sinir lifleri ve nöron grupları bulunmaktadır. Pankreasın adacıkları otonom sinirler tarafından zengin bir şekilde innerve edilmektedir. Sinir uçlarından salınan noradrenalin ve asetilkolin adacık hücrelerinin salgılama işlevini etkilemektedir (Özoğul 2014, Vasudeva ve Mishra 2014).

2.1.1. Ekzokrin Pankreas

Pankreas, ince bağ dokusundan oluşmuş bir kapsül ile çevrilidir. Bu kapsülden çıkan septumlar pankreasın içerisine doğru ilerleyerek organı belirgin olmayan lobüllere ayırmaktadır. Ekzokrin pankreasın salgı birimleri asiner ya da tübüloasiner şekillidir. Bu yapıların başlıca görevi sindirim enzimlerini üretmek, depolamak ve salgılamaktır. Ekzokrin pankreas seröz bir bezdir. Ekzokrin salgı (sindirim enzimi prekürsörleri) yapan seröz asiner hücreler tek sıralı piramidal şekilli epitel hücrelerinden oluşmuştur. Pankreatik asinuslar miyeloepitelyal hücrelerden yoksun ve küçük bir lümen ile çevrili seröz asiner hücrelerden oluşmaktadır. Asiner hücreler zengin kapiller ağ ve retiküler liflerden oluşan bir bazal lamina ile çevrilidir. Asiner hücrelerin çekirdekleri bazale yakın yerleşimlidir. Apikal yüzeye bakan kısımda ise asidofilik zimojen granüller ve mikrovilluslar bulunmaktadır. Zimojen granüller inaktif durumdaki çeşitli sindirim enzimlerini içermektedir ve bu granüller ekzositozla asinüs lümenine salgılanmaktadır. Pankreatik asinüslardan salgılanan sindirim enzimleri proteazlar, alfa-amilazlar, lipazlar, nükleazlardır ve bunlar pankreas suyu adı verilen izotonik sodyum klorür (NaCl) karışımıyla beraber salgılanmaktadır. Buradaki proenzimler yalnızca ince bağırsak lümenine ulaştıkları zaman aktifleşmektedir. Asiner hücreler salgıladıkları sindirim enzimlerinden dolayı içerisinde bol miktarda granüllü endoplazmik retikulum (gER), Golgi kompleksi, mitokondrionlar ve serbest ribozomlar bulundurmaktadır. Bu organel mimarisi, asiner hücrelerin apikal bölümünde bulunan zimojen granüllere ait salgı granüllerinin üretiminin sağladığını göstermektedir (Murakami vd 1992, Özoğul 2014).

Pankreatik asinüslerin salgıları tek katlı yassı epitelden oluşan kısa interkalar kanallara boşalmaktadır. Bu kanalların başlangıcı olan ve soluk boyanan sentroasiner hücreler asinüs lümenine doğru genişlemektedir. Tek katlı yassı epitelden oluşan sentroasiner hücreler salgı granülleri ve organeller bakımından fakirdir. İnterkalar

kanalların hücreleri sodyum ve bikarbonattan zengin bir sıvı salgılamaktadır. Bu salgı pankreatik asinüsten gelen protein açısından zengin sıvı ile karışmaktadır. Sıvının içeriğindeki bikarbonat, mideden duodenuma iletilen asidik kimusun pH'ını nötralize eder ve sindirim enzimleri için de optimum pH'ı sağlamaktadır. Bu görevlerine ek olarak bikarbonat iyonu, midedeki gastrik bezler tarafından salgılanan ve proteolitik enzim olan pepsinin salınım aktivitesini de durdurmaktadır. Pankreas duodenuma günde yaklaşık 2 lt olacak şekilde sindirim enzimleri, proenzimler ve bikarbonat içeren berrak, alkali, izotonik bir sıvı salgılamaktadır. İnterkalar kanallar pankreas boyunca ilerledikçe epiteli yassı epitelden prizmatik epitele dönüşür. Böylece intralobüler kanallar ve daha geniş olan interlobüler kanalları meydana getirmektedir. İnterlobüler kanalları oluşturan tek katlı prizmatik epitel içerisinde endokrin hücreler ve seyrek goblet hücreleri bulundurmaktadır. İnterlobüler kanallarda doğrudan ana pankreatik kanallara (Wirsung ve Santorini kanalları) açılmaktadır. Ekzokrin pankreasın geniş kanal sistemini oluşturan buradaki yapılar, asiner hücreler arasında hem kimyasal hem de elektriksel iletişimin gerçekleşmesine izin vermektedir. Ek olarak, pankreasın boşaltım kanallarındaki hücreler çizgilenme göstermemektedir (Işıldar ve Hürdoğan 2015).



Şekil 2.2 Pankreatik asinüs ve sindirim enzimlerinin boşaldığı pankreatik kanallar (Özoğul 2014).

Ekzokrin pankreas tarafından enzimlerin salgılanması hem hormonal (gastrointestinal peptid hormonlar) hem de vagal stimülasyon vasıtasıyla düzenlenmektedir. Duodenumun mukozasındaki enteroendokrin hücreler tarafından salgılan kolesistokinin (CCK) ve sekretin, pankreatik salgılamının 2 temel düzenleyici hormonudur. Asidik kimusun duodenuma girişi sodyum ve bikarbonattan zengin sıvı ile sindirim enzimlerinin salgılanmasını stimüle etmektedir. Burada sekretin pankreatik

kanal hücrelerini uyarırken kolesistokininin ise pankreatik asinusları uyarmaktadır. Kolesistokininin tarafından uyarılan asiner hücreler karbonhidratların sindirimi için alfa-amilaz, proteolitik enzimler olan tripsinojen ve kimotripsinojen, lipidlerin sindirimi için lipaz, nükleik asitlerin sindirimi için DNAaz ve RNAaz salgılamaktadır. Başlangıçta inaktif formda salgılanan bu hormonlar duodenuma ulaştığında bağırsak mukozası tarafından üretilen enterokinaz hormonunun etkisiyle yalnızca burada aktifleşmektedir. Salgılanan proenzimler böylece gastrointerstinal kanaldaki besinleri parçalayarak emilime hazır hale getirmektedir (Junqueira ve Carneiro 2006, Eroschenko 2016). Sekretin ve kolesistokininin hormonlarına ek olarak endokrin pankreastaki beta hücreleri tarafından salgılanan insülin gibi bazı salgı ürünleri Langerhans adacığının yakınında bulunun asiner hücreler ile doğrudan etkileşime girmektedir. Bu durum insülin hormonunun asiner hücrelerin fonksiyonunu düzenlemede önemli bir rol üstlendiğini göstermektedir. Ayrıca diyabetin pankreasın ekzokrin fonksiyonunu olumsuz etkilediği bildirilmiştir. Bu durumun pankreasın endokrin ve ekzokrin bileşenleri arasında yakın bir etkileşim olması halinde meydana geldiği belirtilmektedir. Ekzokrin ve endokrin pankreastaki bu etkileşim, insulo-asiner eksen etkileşimi olarak açıklanmaktadır. Glikozun sıçan pankreasında endojen insülin salımını indüklediği ve böylece peptid bir hormon olan kolesistokine yanıt olarak pankreasın ekzokrin salgılanmasını arttırdığı gösterilmiştir (Murakami vd 1992). Somatostatin, glukagon, pankreatik polipeptid ve ghlerin gibi pankreasın Langerhans adacıkları tarafından üretilen diğer peptid hormonlar ekzokrin pankreas tarafından üretilen sindirim enzimlerinin sentezine, taşınmasına ve salgılanmasına katkıda bulunmaktadır. Ayrıca bu hormonlar asiner hücrelerin büyümesinin düzenlenmesinde de etkilidir. Endokrin pankreasta delta hücreleri tarafından salgılanan somatostatinin, sekretin ve kolesistokininin salınımını etkileyerek pankreasın ekzokrin salgılanmasını engellediği gösterilmiştir. Somatostatin ve pankreatik polipeptid hormonun aynı zamanda insulo-asiner eksen etkileşiminde baskılayıcı rollere sahip olduğu bildirilmektedir (Saito vd 1980).

2.1.2. Endokrin Pankreas

Endokrin pankreası oluşturan Langerhans adacıkları ekzokrin parankima içerisine dağılmış yuvarlak veya oval şekilli endokrin hücre kümelerinden oluşmaktadır ve adacıklar en fazla pankreasın kuyruk bölümünde bulunmaktadır. Normal yetişkin bir sıçanda Langerhans adacıklarının çapları 100 ile 200 µm arasında değişmektedir ve

toplam pankreas kütlesinin yaklaşık %1-2'sini oluşturmaktadır. Bu oran insan pankreasında da benzerlik göstermektedir. Bu yönüyle sıçanlar, kimyasal olarak indüklenen adacık hücresi hasarından kaynaklanan diyabet gibi hastalıkların patogenezi için önemli bir model oluşturmaktadır. İnsan pankreasında çapları 300 µm veya daha az olan yaklaşık 1-3 milyon kadar adacık bulunmaktadır. Adacıklar kapsülsüzdür ancak çevre ekzokrin dokudan ince bir retiküler lif tabakasıyla ayrılmaktadır. Çevresinde bulunan pencereci kapiller ağ vasıtasıyla kan dolaşımına ürettiği hormonları boşaltmaktadır. Bu sayede vücut homeostazının korunmasında önemli görevler üstlenmektedir (Özoğul 2014, Mense ve Rosol 2018).

Langerhans adacıkları, beta hücreleri, alfa hücreleri, delta hücreleri, pankreatik polipeptid hücreleri, enterokromaffin hücreler ve epsilon hücrelerinden oluşmaktadır. H&E ile boyanan preparatlarda Langerhans adacıkları, soluk boyanmış kümeler halinde görülmektedir ve tüm hücreler birbirine benzerdir. Ancak özel immünohistokimyasal teknikler ve Mallory-Azan, alhedid fuksin, Gomori krom alum hematoksilen & floksin gibi boyalarla hücreler belirgin hale getirilmektedir. Hücrelerin genel olarak adacık içerisindeki yerleşimine baktığımızda alfa hücreleri adacığın korteksinde, beta hücreleri adacığın medullasında, delta hücreleri adacığın korteksinde yoğun olarak bulunmaktadır. Pankreatik polipeptid, enterokromaffin ve epsilon hücreleri ise adacık boyunca yayılmıştır. Beta hücreleri toplam adacık popülasyonunun %70'ni, alfa hücreleri %15-20'sini, delta hücreleri %5-10'unu oluşturmaktadır. Geriye kalan %5'lik bölüm ise pankreatik polipeptid, enterokromaffin ve epsilon hücrelerinin karışımını oluşturmaktadır (Özoğul 2014, Vasudeva ve Mishra 2014).

Beta hücreleri, adacığın insülin salgılama görevini yerine getirmektedir. Beta hücre sitoplazması belirgin bir Golgi kompleksi, gER, dağınık halde bulunan serbest ribozomlar ve birkaç mitokondri içermektedir. Hücrelerin içerisinde yaklaşık 300 nm çapında olan yoğun soluk matriksli ve insülin içeren çok sayıda salgı granülleri bulunmaktadır. İnsülin insanlarda 11. kromozomun kısa kolundaki bir gen tarafından kodlanmaktadır. Öncü molekül olan pre-proinsülin, önce proinsüline daha sonra C-peptidin ayrılması ile insüline dönüşmektedir. Bu hormon temel olarak karaciğer, iskelet kası ve adipoz doku üzerinde etkili olmaktadır. İnsülin kandaki glikozun belirli sınırlar içerisinde kalmasını sağlamaktadır ve böylece hiperglisemi gibi durumların oluşumunu önlemektedir. İnsülin hormonu dolaşımdaki kan glikozunun hücrelere girişinde etkili olmaktadır ve bunu takiben hücrelerde glikojen sentezlenmesiyle glikozun depolanmasına katkıda bulunmaktadır. Bu görevlerine ek olarak insülin, adipositlerde trigliserid, gliserol sentezlenmesini stimüle ederek ve lipaz aktivitesini inhibe ederek yağ metabolizmasının düzenlenmesini de sağlamaktadır. Ayrıca hücreler tarafından

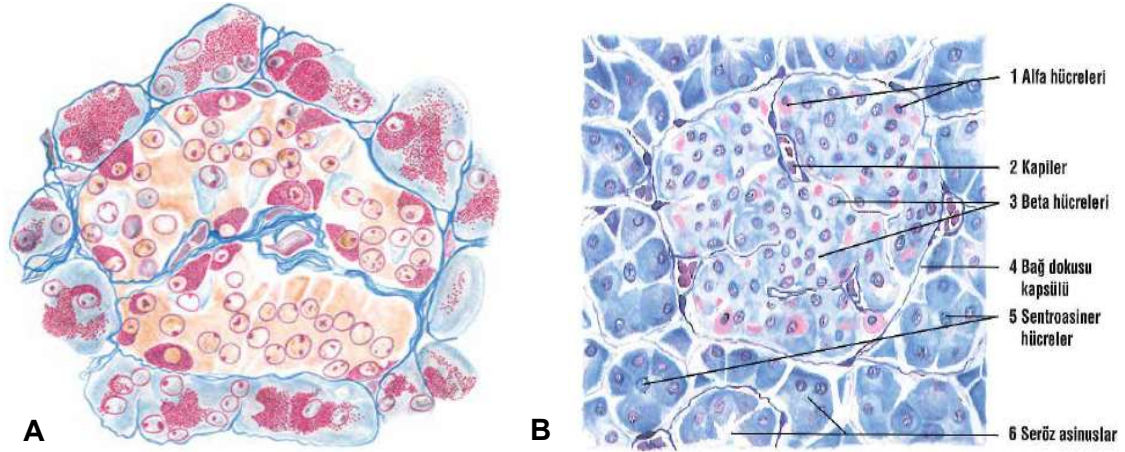
aminoasit alımını arttırarak ve protein katabolizmasını inhibe ederek de protein metabolizmasının düzenlenmesinde görev almaktadır (Ovalle ve Nahirney 2007, Özoğul 2014).

Alfa hücreleri, adacığın glukagon salgılama görevini yerine getirmektedir. Bu hücrelerde yaklaşık 250 nm çapında olan içerisinde glukagon bulunan ve beta hücrelerine kıyasla daha yoğun paketlenmiş salgı granülleri bulunmaktadır. Alfa hücrelerinden salgılanan glukagon glikozun karaciğerden kana verilmesinde etkili olmaktadır. İnsülinin kanda artışı ile azalan kan glikozu glukagon salınımının artması ile yükseltilmektedir. Glukagon hormonu karaciğerde glukoneogenezisi (aminoasit metabolitlerinden glikoz sentezlenmesi), glikojenolizisi (glikojenin parçalanması) ve yağların yıkımını stimüle etmektedir. Böylece insülin gibi glukagon hormonu da protein ve yağ metabolizmasının düzenlenmesinde görev almaktadır. Glukagon insüline karşı gibi görülen etkisi ile hipogliseminin tehlikeli sınırlara ulaştığı durumlarda kan glikozunun azalmasına karşı karaciğerdeki glikojen deposunu harekete geçirerek homeostazın korunmasına yardım etmektedir. Ayrıca bu görevlerine ek olarak glukagon hormonu pankreatik polipeptid ve somatostatin hormonlarının ekzokrin sekresyonunu da inhibe etmektedir (Ovalle ve Nahirney 2007, Özoğul 2014).

Delta hücrelerinde, alfa ve beta hücrelerinin salgı granüllerinden daha büyük yaklaşık 300-350 nm çapında olan ve somatostatin içeren salgı granülleri bulunmaktadır. Delta hücrelerinin görevi, somatostatin salgılayarak alfa ve beta hücrelerinin faaliyetlerini azaltmaktır. Böylece insülin ve glukagon salgılanmasını inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu görevlerine ek olarak somatostatin hormonu pankreasın ekzokrin işlevlerini, glikozun gastrointestinal emilimini, gastrin ve sekretin salgılanmasını baskılamaktadır. Ayrıca safra kesesi kontraksiyonunu azalttığı, duodenal motiliteyi ve gastrik boşalmayı yavaşlattığı bildirilmiştir (Vasudeva ve Mishra 2014, Özoğul 2014, Eroschenko 2016).

Pankreatik polipeptid hücreler, pankreatik polipeptid hormonunu salgılamaktadır. Bu hormon mide esas hücrelerini uyarmaktadır. Böylece bağırsak motilitesi, safra salgılanması, pankreatik sindirim enzimleri ve bikarbonat iyonlarının salgılanması inhibe edilmektedir. Enterokromaffin hücreleri, Langerhans adacığı dışında ekzokrin pankreasın asinüsü ve kanal epitelinde bulunmaktadır. Bu hücrelerin salgıladığı sekretin pankreastan sindirim enzimi ve bikarbonat iyonlarının salgılanmasını uyarmaktadır. Motilin mide ve bağırsak motilitesini arttırmaktadır. Ayrıca substans P ise bir nörotransmitter olarak görev üstlenmektedir. Epsilon hücreleri adacıқта iştahı uyaran ghlerin hormonunu salgılamaktadır. Bu hücreler Langerhans adacığı dışında midenin fundusunu döşeyen epitelde de bulunmaktadır. Ghlerin seviyelerinin yemeklerden önce

yükseldiği ve yemekten sonra ise düştüğü gösterilmiştir. Bu hormon yağ dokusundan salınan ve doyumluk hissini oluşturan leptin hormonunun karşıtı olarak kabul edilmektedir. (Ovalle ve Nahirney 2007, Özoğul 2014, Mense ve Rosol 2018).

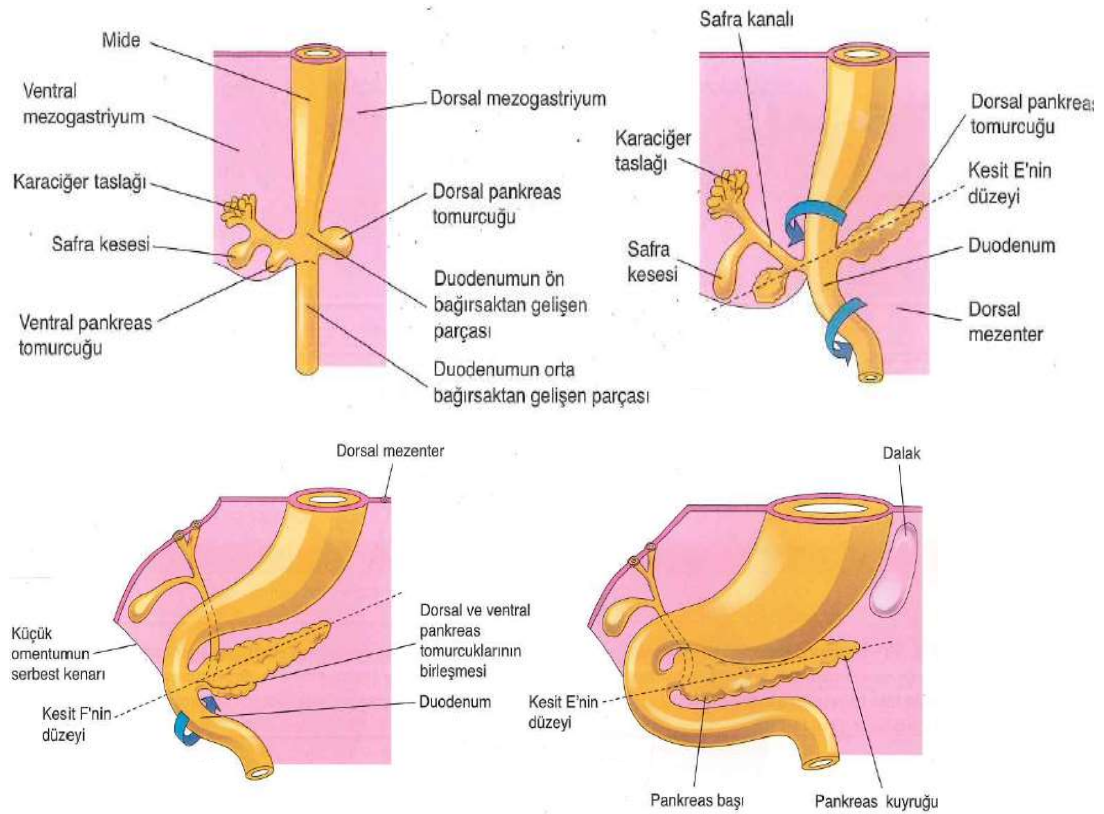


Şekil 2.3 A. Mallory-Azan yöntemi ile boyanmış bir Langerhans adacığı. Alfa hücrelerinin sitoplazmaları kırmızıya boyanmıştır. Beta hücreleri kahverengi-turuncu, delta hücreleri ise mavi sitoplazmik boyanma sergilemektedir (Özoğul 2014). B. Gomori krom alum hematoksilen & floksin ile boyanmış bir Langerhans adacığı (Eroschenko 2016).

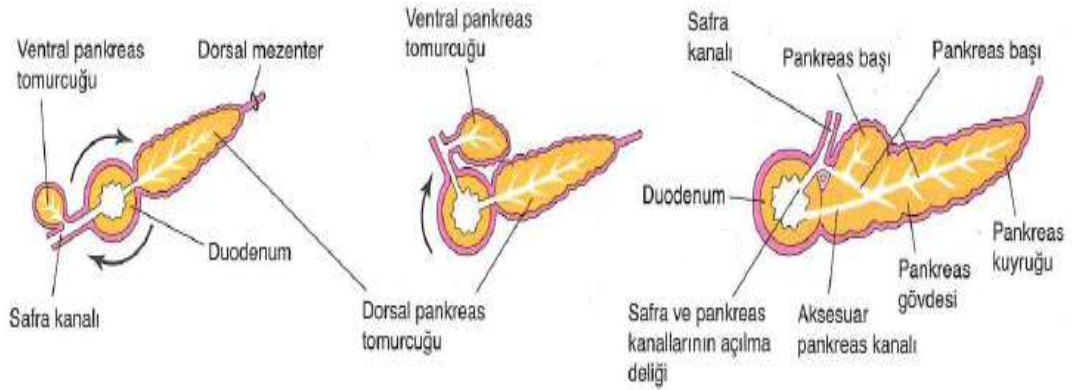
2.2. Pankreasın Embriyolojisi

Pankreas, embriyonal dönemin 5. ve 8. haftaları arasında gelişmeye başlamaktadır. Ön bağırsağın kaudal bölümünün endodermal hücrelerinden köken alan pankreas, dorsal ve ventral pankreatik tomurcuklar şeklinde gelişmektedir. İlk olarak dorsal pankreatik tomurcuk belirlemektedir ve dorsal mezenter yaprakların arasında hızla büyümektedir. Pankreasın büyük bir bölümü dorsal pankreatik tomurcuktan gelişmektedir. Ventral pankreatik tomurcuk, safra kanalının duodenuma giriş yaptığı bölüme yakın yerde belirlemektedir ve ventral mezenter yaprakların arasında hızla büyümektedir. Duodenum sağa dönerek 'C' şeklini aldığı anda ventral pankreatik tomurcuk safra kanalıyla beraber dorsale doğru taşınmaktadır. Böylece ventral pankreatik tomurcuk dorsal pankreatik tomurcuğun posterioruna yerleşmektedir. Ayrıca ventral pankreatik tomurcuk yaklaşık olarak fetal dönemin 14. haftasında dorsal pankreatik tomurcukla birleşmektedir. Ventral pankreatik tomurcuk esas olarak pankreas başının

büyük bir bölümünü oluşturmaktadır. Ventral ve dorsal pankreatik tomurcuklar birleşirken kanal yapıları da birleşim göstermektedir. Wirsung kanalı, ventral tomurcuk kanalının tamamı ve dorsal tomurcuk kanalının distal bölümünün birleşmesiyle oluşmaktadır. Dorsal tomurcuk kanalının proksimal bölümü minör duodenal papillaya açılan Santorini kanalını (aksesuar pankreatik kanal) oluşturmaktadır. Ana pankreatik kanallar genellikle birbirleriyle bağlantılıdır ancak popülasyonun %9'unda birleşme yoktur ve iki ayrı kanal halinde görülmektedir (Moore vd 2016).



Şekil 2.4 Ventral ve dorsal pankreatik tomurcukların gelişimi, duodenumun sağa dönüşü ile tomurcukların birleşimi ve pankreasın konumlanması (Moore vd 2016).



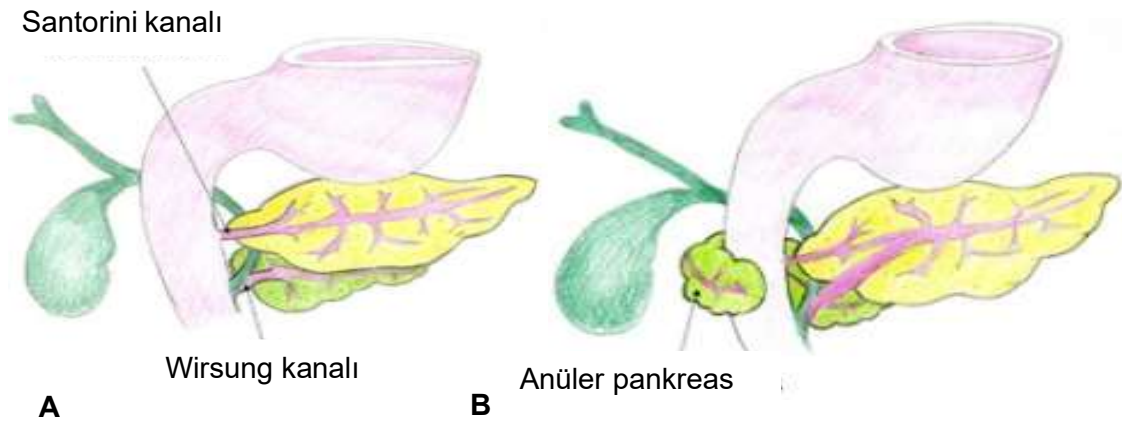
Şekil 2.5 Duodenumun sağı dönüşü ile gelişen pankreasta tomurcukların birleşmesi ve kanal yapılarının oluşumu. Ventral tomurcuk pankreas başının inferiorunu oluştururken dorsal tomurcuk pankreasın kuyruğu, gövdesi ve kalan baş bölgesini oluşturmaktadır (Moore vd 2016).

Pankreasın parankimi ventral ve dorsal tomurcukların endodermal hücrelerinden oluşan tübüler bir ağdan gelişmektedir. Erken fetal dönemde pankreatik kanalların taslağını oluşturan bu tübüllerin uçlarındaki hücre kümelerinden pankreatik asinuslar meydana gelmektedir. Fetal dönemin 3. ayında buradaki tübüllerden ayrılan bir grup hücre tarafından Langerhans adacıkları oluşturulmaktadır. Adacıklar asinuslar arasına yerleşmiştir ve pankreas boyunca yayılma göstermektedir. Glukagon ve somatostatin salgılayan alfa ve delta hücreleri, pankreasın parankimini oluşturan endodermal hücrelerden meydana gelmektedir. Alfa ve delta hücreleri, beta hücrelerinden önce gelişmektedir. Glukagon hormonu 15. haftada fetal plazmada saptanmıştır. Fetal dönemin 5. ayında adacıktaki beta hücreleri insülin salgılamaya başlamaktadır. Ayrıca artan fetal yaşla beraber insülin ve glukagon miktarı da artış göstermektedir. Maternal diyabette fetal pankreastaki insülin salgılayan beta hücreleri yüksek seviyede glikoza maruz kaldığı için beta hücrelerinde hipertrofi gözlenir ve insülin salgılanması artış göstermektedir (Sadler 2012).

2.2.1. Pankreasın Konjenital Anomalileri ve Anatomik Varyantları

Pankreasın konjenital anomalileri halk arasında yaygın görülmemektedir ancak gelişim sürecinde çeşitli şekillerde ortaya çıkmaktadır. Pankreatik divisum, pankreasın en sık karşılaşılan konjenital anomalilerinden biridir. Görülme sıklığının normal popülasyonda yaklaşık %1 ile %10 arasında değiştiği belirtilmektedir. Pankreatik divisumda ventral ve dorsal tomurcuk kanalları birleşmez. Böylece duodenuma ayrı ayrı açılırlar. Burada dorsal tomurcuk kanalı minör papilla vasıtasıyla duodenuma açılmaktadır. Koledok kanalı (ana safra kanalı) ve Wirsung kanalı çaprazlaşarak geçiş kanalını oluşturur. Pankreasın ekzokrin salgılarının çoğu Santorini kanalı vasıtasıyla duodenuma iletilmektedir. Bu nedenle hastalarda pankreatit (pankreasın iltihabı) sık görülmektedir (Kim vd 2019).

Anüler pankreas, ventral pankreatik tomurcuğun anormal şekilde duodenumun inen parçasını sarması sonucu oluşan bir anomalidir. Pankreatik doku duodenumu sardıktan sonra pankreasın başı ile devamlılık göstererek bir halka oluşturmaktadır. Böylece pankreatik doku duodenumda atrezi ya da stenoza neden olmaktadır. Anüler pankreas sık karşılaşılan bir durum değildir. Bu konjenital defekt ile doğan bebeklerde tam ya da kısmi bağırsak tıkanıklığı semptomları görülmektedir (Sadler 2012).



Şekil 2.6 A. Ventral ve dorsal tomurcuk kanallarının kaynaşma hatası. B. Ventral pankreatik tomurcuğun duodenumun inen parçasını sarması (Kim vd 2019).

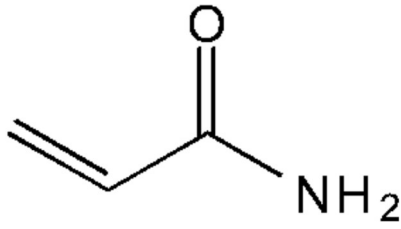
Dorsal pankreas agenezisi, pankreasın gövde ve kuyruğunun embriyonik gelişim sürecinde bir kusur sonucu doğuştan bulunmayışıdır. Bu konjenital anomali dorsal pankreatik tomurcuğun olmayışından kaynaklanmaktadır. Langerhans adacıklarının çoğu dorsal pankreasta bulunduğu için dorsal pankreas agenezisi sonucu diyabet gelişmektedir (Kim vd 2019).

Ektopik pankreas, normal pankreastan ayrılan ektopik pankreas dokusu olarak tanımlanmaktadır. Ektopik pankreas dokusu mide mukozasında, pilorik antrumda ve ileal divertikülde yerleşim göstermektedir. Gelişim esnasında herhangi bir nedenden dolayı oluşan bu durum semptom göstermediği için genellikle fark edilmez. Ancak gastrointestinal semptomlar, kanser, kanama, tıkanma gibi ciddi durumlarla birlikte görülen vakalar da bulunmaktadır (Moore vd 2016).

İntrapankreatik aksesuar dalak, embriyonal dönemin beşinci haftasında dorsal mezogastriyumdaki dalak öncüllerinin hatalı kaynamasından kaynaklanan bir durumdur. Bu anomali yaklaşık olarak popülasyonun %10'unda görülmektedir. Aksesuar dalakların çoğu dalak hilusu etrafında yerleşim göstermesine rağmen yaklaşık %16'sı pankreas içinde ya da çevresinde bulunmaktadır (Kim vd 2019).

2.3. Akrilamid

Akrilamid ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}_2$; 2-propenamid; CAS numarası 79-06-1), 25 °C'de 0.007 mmHg düşük buhar basıncına sahip ve 136 °C'de 3.3 kPa / 25 mmHg'lik bir kaynama noktasına sahip, moleküler ağırlığı 71.08, erime noktası 84.5 °C olan renksiz, kokusuz beyaz bir kristal katıdır. Akrlamid su, aseton, eter, kloroform ve etanolde çözünen bir maddedir ancak polar olmayan çözücülerde çözünmemektedir. 1950'lerden beri endüstriyel bir kimyasal olarak kullanılan akrilamid genellikle biyomedikal, genetik mühendisliği gibi araştırma alanlarında yararlanılan poliakrilamidlerin üretimi için ara madde olarak kullanılmaktadır. Poliakrilamidlerin losyonlar, kozmetikler, deodorantlar, sabunlar ve şampuanlar gibi çeşitli kişisel bakım ürünlerinin formülasyonlarında ve tekstil ürünlerinin yapısında kullanıldığı bilinmektedir. Ayrıca kâğıt, plastik, petrolün yapısında ve boyaların sentezlenmesinde kıvam arttırıcı olarak da kullanılmaktadır (Lorenzo ve Morales 2012, Mojska vd 2016).



Şekil 2.7 Akrilamidin (C₃H₅NO) kimyasal formülü. Eş anlamlılar: 2-propenamide, ethylene carboxamide, akrilik asit amid, vinil amid, propenoik asit amid; CAS numarası: 79-06-1. Moleküler kütle: 71.09 (Lingnert vd 2002).

Akrilamid reaktif bir elektrofildir ve gıdalardaki çeşitli diğer bileşenlerle kolayca reaksiyona girmektedir. Doymamış yapısı nedeniyle DNA gibi biyolojik moleküllerde bulunan aminler, karboksilatlar ve tiyoller gibi nükleofillerle reaksiyona girerek oluşturduğu toksik etkiler vücuttaki biyolojik moleküllerde hasar meydana getirmektedir. Böylece DNA'nın yapısının bozulmasına, kromozom anormalliklerine ve gen mutasyonlarına neden olmaktadır. Akrilamid, birçok endüstriyel ve laboratuvar işlemlerde kullanılan toksik bir madde olmasının dışında karbonhidrattan zengin maddelerin ısı işlemlere (pişirme, kavurma, kızartma, mikrodalgada ısıtma) maruz kalması sırasında doğal olarak da meydana gelmektedir. Karbonhidrat, yağ ve proteinden zengin besinlerin maruz kaldığı ısı (120 °C veya üzeri) sonucunda indirgen şekerler ve aminoasitler arasında oluşan kimyasal reaksiyon (Maillard reaksiyonu) akrilamidin mutajenik, sitotoksik ve kanserojenik etkilerinin ortaya çıkmasını sağlamaktadır. Akrilamid oluşumu için önemli bir yol olan Maillard reaksiyonuna ek olarak akrolein oluşumuna yönelik lipid degradasyon (bozunma) yolları da dikkate alınmalıdır. Akrolein (2-propenal, $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CHO}$) üç karbonlu bir aldehittir ve bu nedenle akrilamidin yapısına benzemektedir. Besinlerin işlenmesi sırasında oluşan akrolein lipitlerin dönüşümü ile aminoasitler, proteinler ve karbonhidratlar arasındaki kimyasal reaksiyon vasıtasıyla meydana gelmektedir. Çok aşamalı kimyasal reaksiyonlar (akroleinin amonyak ile reaksiyonu) sırasında akroleinin veya türevlerinin akrilamide dönüşebildiği çalışmalarda belirtilmiştir. Günlük olarak tüketilen birçok gıdanın evde pişirilmesi sırasında oluşan ve kirlenici bir madde olan akrilamidin vücut üzerinde birçok yan etkisi bulunmaktadır. Şimdiye kadar yapılan çalışmalar bu maddeye maruziyetin hem insanlar hem de hayvanlarda endokrin bozulma, üreme ve gelişimsel toksisite, nörotoksisite, genotoksisite ve kanserojenik etkilere neden olduğunu bildirmektedir. Böylece akrilamidin tiroid bezinde, böbrekte, testislerde, ovaryumda,

memedede, karaciğerde, akciğerlerde, klitoral bezde, beyinde (tümör oluşumunda) olumsuz etkilere neden olduğu ve kanserde mutasyon riskini arttırdığı gösterilmiştir (Lingnert vd 2002, Lorenzo ve Morales 2012, Papoušek vd 2014, Michalak vd 2020).

Akrilamidin fırınlanmış ya da kızartılmış patates, ekmek, kurabiye, çeşitli şekerlemeler ve tahıllar, bebek maması, kahve gibi işlenmiş ürünlerin içeriğinde bulunduğu çalışmalarda belirtilmektedir. Turp, havuç, marul, maydanoz, soğan ve ıspanak gibi çeşitli bitkisel besinlerin içeriğinde de bulunduğu rapor edilmiştir. Bunlara ek olarak akrilamidin suda bulunduğu ve sigara dumanının bir bileşeni olduğuna dair çalışmalar da bulunmaktadır. Gıda güvenliği açısından uluslararası kuruluşlar kavurma, fırınlama ve kızartma işlemleri sırasında oluşan bu maddenin etkisini azaltacak koruyucu yaklaşımlar (pişirme süresini ya da pişirme ısısını azaltma gibi) geliştirmektedir. Sık tüketilen besinlerdeki oluşum mekanizması göz önüne alındığında akrilamidin genel bir halk sağlığı sorunu olduğu çalışmalarda belirtilmiştir. Ancak bugüne kadar gıdalardaki akrilamid oranı için izin verilen bir seviye henüz belirlenmemiştir. Kurumlar tarafından gıdalarda oluşan bu maddenin seviyesinin olabildiğince düşük olması gerektiği kabul edilmektedir. Buna dayanarak akrilamide maruziyet sonucu uzun vadede oluşabilecek yan etkileri azaltmaya yönelik stratejilerin geliştirilmesine ihtiyaç vardır. Gıdalarda bulunabilecek en yüksek akrilamid seviyesi belirlenmemiş olmasına rağmen Dünya Sağlık Örgütü (WHO) içme suyunda akrilamidin standart seviyesini 0.5 mg/L olarak belirlemiştir. İsveç Ulusal Gıda Yönetimi (SNFA) ve Stockholm Üniversitesi araştırmacıları ise ısıtılmış protein ve karbonhidrat bakımından zengin yiyeceklerde sırasıyla orta seviyede (5-50 mg/kg) ve yüksek seviyede (150-4.000 mg/kg) akrilamid bulunduğunu bildirmişlerdir (Barutçu vd 2009, Das ve Srivastav 2011, Lorenzo ve Morales 2012, Mojska vd 2016, Papoušek vd 2014, Başaran ve Aydın 2019, Başaran ve Aydın 2020).

Tablo 2.1 Isıl işlem sonrası oluşan akrilamid değerleri. Çalışmada aşırı pişirilen numuneler için 12.800 mg/kg gibi yüksek değerler rapor edilmiştir (Das ve Srivastav 2011).

Ürünler	Tipik oran (mg/kg)
Patates cipsi	600-2000
Mısır cipsi, bisküviler ve krakerler	100-600
Patlamış mısır	400
Kızarmış ekmek	50-400
Kahve (toz)	200
Kahvaltı gevreği	50-250
Makarna, kurutulmuş meyve	<30
Et ve balık ürünleri	<30-50

Akrilamide kronik maruziyetin çocuklarda ortalama olarak günlük 0.5 ve 1.9 µg/kg olduğu; ergenlerde, yetişkinlerde ve yaşlılarda ise ortalama olarak günlük 0.4 ve 0.9 µg/kg olduğu yapılan çalışmalarda belirtilmektedir. Böylece akrilamide kronik maruziyetin yetişkinlere kıyasla küçük çocuklarda daha fazla olduğu gösterilmektedir (Petersen 2015). Üstelik bu toksik maddeye bebeklerin de maruz kaldığı bildirilmiştir. Annenin gebelik sırasında akrilamide maruz kalması sonucu maddenin plasentadan fetüse geçtiği ve bu durumun artan akrilamid alımıyla beraber fetal büyümenin kısıtlanmasına neden olduğu belirtilmektedir (Pedersen vd 2012, Duarte-Salles vd 2013). Bu toksik maddeye maruziyetin hücrede glutasyon stoklarını bitirdiği ve burada oksidatif strese yol açarak hücresel yapılara zarar verdiği gösterilmiştir. Ayrıca proteinlerdeki sistein kısımlarıyla reaksiyona girerek de hasar oluşturduğu bildirilmiştir (Kaçar ve Şahintürk 2018).

2.3.1 Maillard Reaksiyonu

Kızartma, kavurma ve fırınlama gibi ısı işlemler sırasında genellikle indirgen şekerler (glikoz, fruktoz) ve aminoasitler arasında oluşan bu kimyasal reaksiyon besinin kalitesini önemli ölçüde düşürmektedir. Buna dayanarak Maillard reaksiyonunun olumlu ve olumsuz etkilerinin arasında bir dengenin sağlanması gerektiği çalışmalarda bildirilmiştir. Maillard reaksiyonu reaktanların konsantrasyonlarına ve tipine, reaksiyon

ortamının pH'ına, pişirme süresi ve sıcaklığına bağlıdır. Ayrıca reaksiyonda serbest radikallerin oluşumu ve antioksidanların rolü de bulunmaktadır. Reaksiyon temel olarak 3 aşamada gerçekleşmektedir. 1. aşamada serbest aminoasitler ve proteinler indirgen şekerler ile etkileşime geçerek önce glisamit daha sonrasında Amadori/Heyns ürünlerini oluşturmaktadır. 2. aşamada çeşitli kimyasal reaksiyonlar (dehidratasyon, eliminasyon, siklizasyon (aromatik hale dönüşme), fisyon (bölünme) ve fragmantasyon) ile Amadori/Heyns ürünlerinde degradasyon (bozulma) meydana gelmektedir. Bu aşamada aminoasitlerin reaksiyon tarafından üretilen dikarboniller ile etkileşime geçmesi sonucunda çok sayıda reaktif ara madde oluşmaktadır (Strecker degradasyonu). Ayrıca bozulma esnasında aminoasitlerin aldehitlere (formaldehit, asetaldehit, akrolein), amonyağa ve karbondioksite indirgenmesi sonucunda gıdalarda yüksek derecede serbest aminoasit konsantrasyonları görülmektedir. Reaksiyonun 3. aşamasında ise kahverengi azotlu polimerlerin ve ko-polimerlerin oluşumu gerçekleşmektedir. Bu aşamanın karakteristik özelliği renk değişimidir. Renk değişimi gösteren bileşikler düşük moleküler ağırlıklı ve yüksek moleküler ağırlıklı bileşikler (melanoidinler) şeklinde 2'ye ayrılmaktadır. Isıl işlem sırasında meydana gelen Maillard reaksiyonu karmaşık bir reaksiyonlar dizisinden oluşmaktadır. Böylece tüm aşamaların sonucunda yiyeceğin kahverengi rengi ve karakteristik lezzetli tadı meydana gelmektedir. Akrlamidin oluşum mekanizmasında ısı ve karbonhidrat miktarındaki fazlalık ile protein miktarındaki azlık önemli bir yer tutmaktadır. Buradaki mekanizmanın karbonhidrat ve protein miktarları dışında daha birçok faktörden (süre, su içeriği, pH vb.) etkilendiği de bildirilmiştir (Lingnert vd 2002).

2.3.2. Akrlamidin Sistemik Etkileri

Çoklu organ toksini olarak bilinen akrilamidin, sistemler üzerinde birçok yan etkisi bulunmaktadır. 1958'den beri akrilamidin nörotoksik etkilerini araştırmak için birçok çalışma gerçekleştirilmiştir. Yapılan çalışmalarda akrilamidin aksonların distaline bağlanarak santral ve periferik sinir sisteminde hasar yarattığı, aksonal atrofiyi ve miyelin bozulmasını indüklediği gösterilmektedir. Ayrıca beyinde korteks, serebellum, talamus, hipokampüste olumsuz etkilere neden olduğu da bulunmuştur. Deneysel hayvan modelleri kullanılarak yapılan çalışmalarda akrilamidin hayvanın iskelet kaslarında (özellikle arka bacaklarında) ve kavrama kuvvetinde zayıflamaya neden olduğu; hatta purkinje nöronlarına etki ederek motor işlev bozukluklarında rol aldığı böylece ataksi ve

duruş bozukluklarının gelişmesine neden olduğu gösterilmiştir. Ayrıca akrilamide maruziyet sonrası sıçan primer astrositlerinde indüklenen apoptozun BV-2 mikrogial hücrelerde mitokondriyal disfonksiyon ve apoptoza yol açtığı da gösterilmektedir. Omega-3 yağ asitlerinin akrilamid ile indüklenen nörotoksositeye karşı potansiyel iyileştirici etkilerinin araştırılması amaçlanan bir çalışmada akrilamidin sıçanlarda interlekin-6 (IL-6) ve tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α) gibi proinflamatuvar sitokinlerin serum seviyelerinin yükselmesine; beyin ve omurilik malondialdehit (MDA) ve glutatyon (GSH) seviyelerinin düşmesine neden olduğu bulunmuştur. Bunlara ek olarak akrilamidin sıçanlarda anormal yürüyüşe neden olduğu, nörotransmitterleri (asetilkolin, GABA, serotonin ve noradrenalin seviyeleri) düşürdüğü ve beyin dokularında AChE aktivitesini arttırdığı da belirtilmektedir (Fullerton ve Barnes 1966, Elblehi vd 2020, Ghamdi vd 2020).

İnsanlar üzerinde yapılan çalışmalarda ise akrilamidin bacaklarda zayıflık, ayak parmaklarında titreşim hissi bozukluğuna neden olduğu, kişilerin ayak bileği refleksi ve duyu alımında kaybolmayla beraber ellerde uyuşmanın meydana geldiği bildirilmiştir. Ek olarak maruziyet sonrası sinir sisteminin farklı bölümlerinde yaygın hasarla beraber konvülsiyona (havale) neden olduğu, serebellum işlevlerinde bozulma ve periferik nöropatiye yol açtığı da belirtilmektedir. Çalışmalarda akrilamidin sinir sisteminde oluşturduğu nörotoksik etkiler için ileri sürülen üç adet mekanizma bulunmaktadır. Bunlardan birincisi distal aksinopatidir. Burada aksonun distal ucundan başlayarak nöronun merkezine doğru ilerleyen dejenerasyon görülmektedir. İkinci mekanizma, sinapslarda vezikül oluşumunda görev alan proteinlere (SNARE proteinleri) akrilamidin bağlanmasıyla meydana gelen inhibisyon mekanizmasıdır. Burada inhibisyon mekanizmasıyla beraber nörotransmitter salınımının engellendiği de belirtilmiştir. Üçüncü mekanizma ise akrilamidin aksonun nörofilamanlarına zarar vererek sinir sisteminde oluşturduğu hasarlanmadır. Buradaki 3 mekanizmaya ek olarak akrilamidin, oksidatif stresi artırarak serbest radikaller vasıtasıyla hasar oluşturduğu da bildirilmiştir. Böylece nöronlarda glutatyon miktarında azalma meydana gelmektedir (Park vd 2010, Erkekoğlu ve Baydar 2014, Liu vd 2015, Maddu ve Begum 2018, Ghamdi vd 2020).

Akrilamidin nörotoksik etkilerinin dışında akciğer, testis, ovaryum, plasenta, yemek borusu, karaciğer, böbrek, pankreas, kalınbağırsak, deri ve birçok farklı bezde kanserojen etki yarattığı bildirilmiştir. DNA'ya afinite göstererek mutajenik ve genotoksik etkilere neden olduğu belirtilmektedir. Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC) tarafından insanlarda kanserojen etkisi ispatlanmamış ama kanser yapma olasılığı olan 2A grubu maddeler arasına eklenmiştir. İnsanlar ve hayvanlar ile yapılan çalışmalarda

akrilamidin kanserojenik etkisinin farklılıklar gösterdiği bildirilmiştir. Bu durumun akrilamidin insanlarda hayvanlara kıyasla daha uzun sürede oluşmasından dolayı meydana geldiği belirtilmektedir. Çalışmalarda menopoz sonrası kadınlarda akrilamide maruziyetin böbrek ve meme kanserleri ile ilişkili tümörlerin oluşumunu artırarak katkıda bulunduğu bildirilmiştir. Ayrıca akrilamid alımı ile renal hücre kanseri arasında pozitif bir ilişki olduğu gösterilirken mesane ve prostat kanseri riski arasında pozitif bir ilişki olmadığını gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (Rice 2005, Shipp vd 2006, Pelucchi vd 2006, Hogervorst vd 2008). Akrilamidin kanserojenik etkilerine ek olarak testis ile yumurtalıkları etkileyerek üreme ve gelişimsel toksisiteye neden olduğu belirtilmektedir. Deneysel hayvan modelleri kullanılarak yapılan çalışmalarda testislerde spermatojenik hücrelerde vakuolleşmeyle beraber akrilamidin hücrelerde bozulmalara (DNA'ya konjuge olarak hasara yol açması gibi) neden olduğu gösterilmiştir. Hayvanlarda anormal sperm morfolojisinde artış gözlemlendiği ve sperm miktarında azalma meydana geldiği bildirilmiştir. Ayrıca oksidatif stresle beraber Leydig ve Sertoli hücrelerini apoptoza götürdüğü, Leydig hücrelerine zarar vermesi sonucunda testosteron miktarında azalmaya yol açtığı gösterilmiştir. Tüm bunların sonucunda hayvanlarda çiftleşmede, gebe kalmada, verimlilikte ve hatta uterus içerisinde sperm transportunda önemli oranda azalmalar görüldüğü bildirilmiştir. Akrilamidin erkek üreme sisteminde yarattığı değişikliklere benzer şekilde dişi üreme sisteminde olumsuz etkilere neden olduğunu gösteren çalışmalar da bulunmaktadır. Akrilamidin ovaryumlarda dozla orantısız olarak küçülmelere yol açtığı ve foliküler hücrelerin sayısında azalmayla beraber atretik foliküllerin sayısında artışa neden olduğu belirtilmektedir. Çalışmalarda akrilamide maruziyet sonucunda hayvanlarda korpus luteum sayısında azalma, granülosa hücre canlılığında azalma ve progesteron hormonunda azalma gözlemlendiği bildirilmiştir. Oositlerin apoptozunda artış ve hücrelerde serbest oksijen radikallerinde artış meydana geldiği belirtilmiştir. Ek olarak akrilamidin kumulus hücrelerinde apoptozla beraber kaspaz-3 ekspresyonunu indüklediği de bildirilmektedir. Kumulus hücreleri oositin sinyalizasyonunda ve beslenmesinde önemli görevler üstlenmektedir. Kumulus hücreleri, miyotik durma ve yeniden başlama süreci de dahil olmak üzere oosit olgunlaşması için gereklidir (Sakamoto ve Hashimoto 1986, Tyl ve Friedman 2003, Exon 2006, Wang vd 2010, Nixon vd 2012, Wei vd 2014, Duan vd 2015, Liu vd 2015, Yılmaz vd 2017).

Karaciğer besinlerden aldığımız glikozu depo edip gerektiğinde bunun kullanılmasını sağlayarak glikoz homeostazının korunmasında önemli bir görev üstlenen sindirim sistemi organıdır. Akrilamidin karaciğerdeki özel enzim sistemleri (sitokrom P450 enzimi) ile etkileşime geçerek toksisite yarattığı bildirilmiştir. Sitokrom P450 enzimi ailesinden olan CYP2E1, glisamit oluşumunda önemli bir yer tutmaktadır. Bu enzim DNA

üzerinde eklentiler oluşturarak hasar meydana getirmektedir. Böylece hücrelerde oksidatif stresin başlatılmasında etkili olan serbest radikallerin salınımı meydana gelerek antioksidan kapasitede azalma görüldüğü bildirilmiştir. Çalışmalarda akrilamidin sıçan karaciğer dokusunda Kupffer hücre çoğalması, lökosit infiltrasyonu, hepatositlerde dejenerasyon, apoptoz ve vakuolleşmeler gibi histopatolojik değişikliklere neden olduğu bildirilmiştir (Rawi vd 2012). Karaciğerden sonra önemli ölçüde etkilenen bir diğer organ böbrektir. Yapılan çalışmalarda akrilamide maruziyet sonucu distal tübüllerde akut tübüler nekroz oluşumunun gözlemlendiği bildirilmiştir. Böylece akrilamide maruziyetin böbrekte Bowman kapsülünde genişleme, glomerüler kapillerlerde büzüşme, tübüllerde hyalin materyal birikimi, tübülleri oluşturan epitel hücrelerde mikrovillus kaybı, vakuolleşmeler ve dejeneratif değişikliklere neden olduğu bulunmuştur (Totani vd 2007, Rajeh ve Al-Dhaheeri 2017).

Çoklu organ toksini olan akrilamidin lenfatik dokularda, dalakta ve timusta immünotoksisite yaratarak lenfosit sayısını azalttığı, timus ve dalakta patolojik değişikliklere neden olduğu, T hücreleri ve doğal katil hücrelerde önemli ölçüde azalmaya yol açtığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Zamani vd 2017, Rifai ve Saleh 2020). Bunların dışında akrilamidin akciğer, kalp ve bağırsaklar üzerinde yarattığı etkilere bakıldığında oksidatif stresi arttırarak antioksidanlarda azalmaya neden olduğu da belirtilmektedir. Akrilamide maruziyet sonrası akciğerlerde bağ dokuda amfizem bulguları izlenmiş, damarlarda konjesyon gözlenmiş (kanın dönüşünün engellenmesi sonucunda organ veya dokuda birikimi), iltihabi hücrelerde artış görülmüş, doku homojenatlarında glutatyon, katalaz, süperoksit dismutaz gibi antioksidanların seviyelerinin azaldığı ve MDA seviyesinin arttığı bulunmuştur. Ayrıca doza bağlı olarak akciğerlerde toksik etkiler yarattığı, çekirdeklerde yoğunlaşmayla beraber parçalanmaya neden olduğu ve apoptotik bulgularda artışın görüldüğü bildirilmiştir. Akrilamide maruziyet sonrası kalpte miyokardiyal fibrillerde nekrotik ve dejeneratif bulgular gözlenmiş, kalp dokusundaki küçük damarlarda konjesyonla beraber iltihabi hücrelerde artış olduğu belirtilmiştir. Akrilamidin kalın ve ince bağırsaklar üzerinde ise oksidatif stresi arttırarak hasar meydana getirdiği bulunmuştur. Duodenum ve jejunumda villüslerin hasara uğradığı, epitelde kriptaların ve goblet hücrelerinin sayısında azalma görüldüğü belirtilmiştir (Ghorbel vd 2015, Altınöz vd 2015, Erdemli vd 2015, Ghorbel vd 2016, Kaçar vd 2018). Akrilamid, deneysel hayvanlarda ROT üretimiyle beraber oksidatif stresin oluşmasını sağlayarak oksidan ve antioksidan parametrelerde dengesizlik meydana getirmektedir. Burada serbest radikallerin olumsuz etkilerini önlemeye çalışan GSH gibi koruyucu proteinler ve antioksidan sistemler (süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon S-transferaz (GST), glutatyon peroksidaz (GPx), katalaz (CAT) gibi) yetersiz kalarak birçok

hastalığa öncülük etmektedir. Çalışmalarda akrilamid oluşumunda yer alan glisemidin oksidatif strese yol açarak hücrelerde apoptoza neden olduğu gösterilmiştir. Burada glisemid oksitlendikten sonra GSH ile konjuge edilmektedir. Böylece glisemidin hücrelerde bir grup nükleofille (sülfidril grubu (SH), amin grubu (NH₂) veya hidroksit (OH) gibi) etkileşime girebildiği belirtilmiştir. Akrilamid hücrelerde GSH ile doğrudan reaksiyona girmektedir. Burada akrilamid konsantrasyonu arttıkça GSH konsantrasyonunda azalma meydana gelmektedir. Akrilamid GSH depolarının tükenmesini sağlayarak hücrede ROT seviyelerini arttırmaktadır. ROT apoptoz gibi hücresel süreçleri kontrol etmede önemli bir rol oynayan mitojenle aktiveleştirilen protein kinaz (MAPK) sinyal yolağını aktiveleştirmektedir. Sonuç olarak düşük GSH oranlarının hücrelerde oksidatif strese neden olarak apoptozu indüklediği belirtilmiştir. Apoptoz hücrenin küçülmesi, çekirdekdeki kromatinin yoğunlaşması ve DNA'nın parçalanması ile karakterize bir durumdur. Burada inflamatuvar bir yanıtın oluşmaması, apoptozu nekrozdan ayırmaktadır. Apoptoz, akrilamid toksisitesi için önemlidir ve enerjiye bağımlı bir süreçtir. Bu süreçte kaspazlar ile iş birliği yapılmaktadır. Apoptoz gelişim ve yaşlanma süreçlerinde görüldüğü gibi zararlı maddelere karşı vücudun bağışıklık reaksiyonlarında savunma mekanizması olarak da görev yapmaktadır. (Yousef ve El-Demerdash 2006, Zamani vd 2017).

2.4. Fiziksel Aktivite ve Egzersizin Etkileri

Fiziksel aktivite, iskelet kaslarının kasılmasıyla bazal metabolizmanın üzerinde enerji harcanarak gün içerisinde yapılan bütün faaliyetler olarak tanımlanmaktadır. Egzersiz ise belirli bir süre ve tekrara dayalı olarak planlı şekilde uygulanan fiziksel aktivitelerdir. Egzersizin zindelik, kilo kontrolü, vücut kompozisyonu ve fiziksel performansta iyileşmeyle beraber kronik hastalıklardan (diyabet, obezite, metabolik sendrom gibi) korunmak için önemli olduğu çalışmalarda belirtilmektedir. Egzersiz tipleri temelde kullanılan enerji kaynaklarına göre aerobik (endurans), anaerobik (dirençli) ve kombine (aerobik ve anaerobik egzersizlerin karışımı) egzersizler olarak 3'e ayrılmaktadır. Aerobik tip egzersizler, geniş kas grupları kullanılarak hafif veya orta şiddette uzun süreli yapılan fiziksel aktivitelerdir. Anaerobik tip egzersizler ise aşırı kuvvet harcanmasını gerektiren küçük kas grupları kullanılarak yüksek şiddette, kısa süreli, patlayıcı tarzda yapılan fiziksel aktivitelerdir. Aerobik tip egzersizlere yüzme

egzersizi, aerobik danslar, tempolu yürüyüş ve uzun mesafe koşuları örnek verilirken anaerobik tip egzersizlere sürat koşuları, futbol, tenis, basketbol, ağırlık kaldırma (vücut geliştirme) gibi örnekler verilmektedir. Egzersiz, modern diyabet tedavisinde farmakoterapiye ek olarak kullanılan önemli bir stratejidir. Diyabetik hastalara en çok önerilen egzersiz tipi aerobik tip egzersizlerdir. Burada kasta depolanmış enerji kaynaklarıyla beraber yağ dokusunda ve karaciğerde depolanan glikojen de kullanılmaktadır. Çalışmalarda aerobik ve anaerobik tip egzersizlerin insanlarda glisemik kontrolü iyileştirdiği, insülin duyarlılığını arttırdığı ve kardiyovasküler zindeliği korumada etkili olduğu bildirilmektedir (Warburton vd 2006, Adamu vd 2006, İmamoğlu ve Özyardımcı Ersoy 2009). Düzenli yapılan egzersiz, vücutta birçok sistemi olumlu yönde etkilemektedir. Fiziksel olarak inaktif bireylerin aktif bireylere kıyasla kardiyovasküler hastalıklara yakalanma olasılığının %50 daha fazla olduğu belirtilmektedir. Egzersiz kalp atım volümünü, kan volümünü, hemoglobin miktarını artırırken dinlenme kalp atım frekansını, kan basıncını düşürerek ve endotel fonksiyonunu iyileştirerek kardiyovasküler hastalıkların gelişme riskini azaltmaktadır. Ayrıca egzersizin renin-anjiyotensin-aldosteron sistemin aktivasyonunu artırarak olumlu yönde etkilerinin bulunduğu belirtilmiştir. Egzersiz hayvanda insülin direncinin gelişmesini önlemektedir ve glikoz, lipid, protein metabolizmasıyla beraber oksidan/antioksidan parametrelerdeki dengeyi sağlayarak vücut homeostazının sürdürülmesinde etkilidir. Egzersiz, tip 1 ve tip 2 diyabetin önlenmesi ve tedavisinde önemli bir yer tutmaktadır. Bozulmuş glikoz toleransı olan hastalarda uygun diyet ve egzersiz seçiminin diyabet gelişme riskini %60'a kadar azalttığı çalışmalarda belirtilmiştir (Atsak 2006, Golbidi ve Laher 2013, Teixeira de Lemos vd 2012).

Tip 1 diyabet, herhangi bir nedenden dolayı vücudun kendi insülin kaynağını üretememesi ile karakterize bir durumdur. Tip 1 diyabet genellikle çocuklarda ve genç yetişkinlerde görülmektedir. Bağışıklık sisteminin insülin üreten pankreas beta hücrelerine saldırarak hasar meydana getirdiği böylece otoimmün bir bozukluğa neden olduğu belirtilmektedir. Melling vd (2013) yaptıkları çalışmada sıçanlarda streptozotosin (STZ) ile indüklenen zayıf kontrollü tip 1 diyabetik model oluşturmuşlardır. Burada STZ'nin neden olduğu olumsuz etkilere karşı kardiyovasküler fonksiyon ve kemik sağlığı için on haftalık aerobik (koşu bandı) egzersiz eğitimiyle birlikte insülin tedavisinin olumlu etkilerinin olup olmadığı araştırılmıştır. Sonuç olarak aerobik egzersiz eğitimiyle beraber insülin tedavisinin, STZ'nin neden olduğu olumsuz etkilerin çoğunu ve diyabetin ilerlemesiyle ilişkili görülen bir çok komplikasyonun hafifletilebileceği çalışmada belirtilmektedir (Melling vd 2013). Tip 2 diyabet, bozulmuş insülin etkisi veya sekresyonu nedeniyle kan glikoz seviyelerinde artış ile karakterize olan karmaşık metabolik bir

durumdur. Kan glikoz seviyesindeki artış insülin direncinin gelişmesini tetiklemektedir. Burada insüline karşı baskılanmış ya da gecikmiş bir yanıt meydana gelmektedir. Böylece insülin üretiminden ziyade insüline yanıt veren hücrelerde hasar oluşmaktadır. Karaciğer, kas gibi dokularda gerçekleşen insülin direnci beta hücre yetmezliğiyle birlikte tip 2 diyabetin temelini oluşturmaktadır. Zucker diyabetik (tip 2) fareler kullanılarak yapılan çalışmalarda düzenli ve orta yoğunlukta yapılan yüzme egzersiz eğitiminin pankreas lezyonlarını önlediğini ve diyabetik metabolizmanın iyileştirilmesinde etkili olduğu bildirilmiştir (Teixeira de Lemos vd 2007, Teixeira de Lemos vd 2009).

Tablo 2.2 Tip1 diyabette egzersizin faydaları (İmamoğlu ve Özyardımcı Ersoy 2009).

İnsülin reseptör sayısını artırır.
 Çevre dokuların insüline duyarlılığını artırır.
 İnsülin reseptörlerinin duyarlılığını artırır.
 Total kolesterolü azaltır ve HDL kolesterolü artırır.
 Kan basıncını düşürür.
 Psikolojik olarak kendine güveni artırır.

Tablo 2.3 Tip 2 diyabette egzersizin faydaları (İmamoğlu ve Özyardımcı Ersoy 2009).

Vücut hücrelerinin insüline hassasiyetini artırır.
 Vücut yağını azaltır. Kas kültmesini ve esnekliğini artırır.
 Vücut ağırlığının kontrolünde diyeteye yardımcı olur.
 Vücut yağ dağılımında değişiklik yapar. Bel-kalça yağ oranını azaltır.
 Kolesterol ve trigliserid seviyelerini düşürür.
 Kan basıncını düşürür.
 Egzersiz insanda iskelet kaslarında GLUT 4 gibi glikoz taşıyıcı reseptörlerin seviyesini artırır.
 Kişinin motivasyonunun yüksek olmasını sağlar ve zindeliğini artırır.

Egzersiz, endokrin sistemdeki bezlerden salgılanan bazı hormonların kan değerlerinde azalma ya da artma şeklinde birtakım değişikliklere neden olmaktadır. Egzersiz, endokrin hormonların regülasyonunu düzenlemede merkezi sinir sistemiyle iş

birliği yapmaktadır. Burada çevresel faktörler ve metabolik gereksinimlere göre düzenleme gerçekleştirilmektedir. Egzersiz sürdürükçe hormonal adaptasyonlar negatif feedback mekanizmaları ile kontrol altında tutulmaktadır. Örneğin egzersiz ile insülin direncinin azalması ve glikoz taşıyıcı tip4 protein (GLUT4) gibi glikoz taşıyıcı proteinlerin artışı sağlanarak iskelet kasının glikoz alımı artırılırken egzersizi bırakma sürecinde (detraining) kan glikozunda azalma ve insülin salınımında artış meydana geldiği çalışmalarında belirtilmektedir (Koz vd 2016).

Pankreasın endokrin fonksiyonu Langerhans adacıklarından sentezlenen, depolanan ve salgılanan hormonlar vasıtasıyla yerine getirilmektedir. Egzersiz anında gerçekleşen en önemli olaylardan birisi kan glikozunun sabit oranlarda tutulmasıdır. Karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasında rol oynayan glukagon, insülin, somatostatin bu dengenin sağlanmasında önemli görevler üstlenmektedir (Koz vd 2016). Egzersiz, glikoz homeostazının sürdürülmesinde etkilidir ve insülin duyarlılığını artırarak diyabetik kontrolü iyileştirmektedir. Shima vd (1993) otuz erkek OLETF (Otsuka Long Evans Tokushima Fatty) sıçanı kullanarak yaptıkları çalışmada, diyabet gelişiminin önlenmesinde gönüllü koşu tekerleği egzersiz eğitiminin etkili olup olmadığını araştırmışlardır. Sonuç olarak diyabete eğilimli sıçanlarda artmış fiziksel aktivitenin insülin duyarlılığının artmasının bir sonucu olarak tip 2 diyabetin önlenmesinde etkili olduğu gösterilmiştir (Shima vd 1993).

Egzersiz eğitiminin ve yaşam boyu fiziksel aktivitenin yaşa bağlı olarak dejeneratif hastalıkların başlamasını önleyebileceği ya da geciktirebileceği çalışmalarda belirtilmiştir. Düzenli egzersizin akut egzersiz stresine karşı olumlu yönde bir adaptasyon geliştirerek homeostazı yeniden sağlayabildiği bildirilmiştir. Literatürde akut egzersizin oksidatif stresi arttırdığı ve kronik egzersizin ise oksidatif stresi azaltarak antioksidanlarda artışı sağladığı belirtilmektedir. Alessio ve Blasi (1997)'nin yaptığı çalışmada fiziksel aktivitenin doğal bir antioksidan güçlendirici olduğu belirtilmiştir. Orta şiddette yapılan egzersiz antioksidan parametreleri artırırken fiziksel aktivitenin kısıtlandığı durumlarda ise antioksidan parametrelerin azaldığı bildirilmiştir. Antioksidanlar lipidlerin, karbonhidratların, proteinlerin, DNA'nın ve diğer oksitlenebilir substratların oksidasyonunu önleyen maddelerdir. Böylece antioksidanlar serbest radikallerin oluşumunu önleyerek lipitleri, karbonhidratları, proteinleri ve DNA'yı korumaktadır. Ayrıca antioksidanlar enzimatik (örneğin, SOD, CAT, GPx, GST) ve enzimatik olmayan (örneğin E, A ve C vitamini, melatonin, beta-karoten, GSH, ubikinol-10) antioksidanlar şeklinde 2'ye ayrılmaktadır (Alessio ve Blasi 1997).

ROT'un aşırı üretimi ve ROT'a karşı hücre içi savunmadaki bir başarısızlık diyabet dahil olmak üzere birçok hastalığın patogeneğinde rol oynamaktadır. ROT oluşumunda mitokondri önemli bir yer tutmaktadır. Enerji üretimi için organel içerisinde oksidatif fosforilasyon gerçekleştiğinden dolayı kimyasal reaksiyon sırasında önemli ölçüde ROT ve RNT'nin açığa çıktığı bildirilmiştir. Buna dayanarak hücreler ROT'u nötralize etmek için antioksidan sistemlere ihtiyaç duymaktadır. Hem mitokondri hem de çekirdek oksidan kaynaklı modifikasyonları düzeltmek için çeşitli DNA onarım enzimlerini içermektedir. Burada hasarın endojen antioksidan ağ ve onarım sistemlerine aşırı yük binmesinden dolayı meydana geldiği bildirilmiştir. Glikoz ve yağ asidine yüksek konsantrasyonlarda kronik olarak maruz kalmak glikolipotoksisite sonucu farklı hücre tiplerinde hasara neden olmaktadır ancak oksidatif stres temel olarak hücre disfonksiyonunda önemli bir yer tutmaktadır. Beta hücrelerinde glikoz konsantrasyonunun artması glikolitik akışta hızlı ve orantılı bir artışı uyarmaktadır. Böylece ROT üretiminde artış meydana gelmekte ve hücrelerde oksidatif stresle beraber apoptozun indüklendiği bildirilmiştir (Newsholme vd 2007).

Ünsal ve Ünsal (2016) yaptıkları çalışmada 36 adet erkek erişkin Wistar Albino cinsi sıçanı kontrol, diyabet, egzersiz, diyabet + egzersiz şeklinde 4 gruba ayırmıştır. Burada STZ kullanılarak diyabetik model oluşturulmuştur. STZ'nin yarattığı olumsuz etkilere karşı yüzme egzersizinin plazma lipid profili, TOS (total oksidan seviye) ve TAS (total antioksidan seviye) üzerinde koruyucu etkilerinin olup olmadığı araştırılmıştır. Sonuç olarak diyabet grubundaki sıçanlarda TOS değerlerinde artış ve oksidatif stres görülürken diyabet + egzersiz grubundaki sıçanlarda TAS değerlerinde artış görülmüştür. Böylece egzersizin tip 1 diyabette oksidatif stresi azaltabilecek bir özelliğe sahip olduğu ancak glisemik kontrol ve lipid profili üzerinde yetersiz kaldığı belirtilmektedir (Ünsal ve Ünsal 2016). Elbassuoni ve Hafez (2019) yaptıkları çalışmada kronik aerobik egzersizin endokrin ve ekzokrin pankreas morfolojisi üzerinde olumlu etkilerinin olup olmadığını araştırmışlardır. Çalışmada 40 adet yetişkin erkek Wistar Albino cinsi sıçan kontrol, egzersiz (3 hafta yüzme egzersizi), stresli (immobilizasyon stresi), egzersiz + stresli grup şeklinde 4'e ayrılmıştır. Sonuç olarak kronik immobilizasyon stresi hiperglisemi ve hiperinsülinemide artışa neden olmaktadır. Burada immobilizasyon stresinin pankreas dokusunda oksidatif ve inflamatuvar belirteçleri arttırarak homeostazi olumsuz yönde etkilediği bildirilmiştir. Yüzme egzersizi pankreasta meydana gelen histolojik değişikliklerin çoğunu iyileştirerek interlökin 10 (IL-10) ve TOS'u azaltmış, TAS'ı arttırmış, TNF- α ve MDA'yı azaltarak antienflamatuvar etkileriyle pankreası olumlu yönde etkilediği belirtilmiştir (Elbassuoni ve Hafez 2019).

2. 4. 1. Yüzme Egzersizi

Kemirgenlerde yüzme yeteneği doğuştandır. Bu bakımdan sıçanların kullanımı sadece hastalıkların incelenmesi için uygun bir model sağlamakla kalmaz aynı zamanda kronik hastalıklardan korunma ve ilerleyişini önlemede kullanılan egzersiz eğitiminin moleküler mekanizmasını keşfetmeye olanak sağlamaktadır. Yüzme egzersizi, geniş kas kütlelerini kullanarak tüm vücudu çalıştıran bir aerobik egzersiz türüdür. Diğer egzersiz tipleri (koşu bandı, koşu tekerleği) ile karşılaştırıldığında daha basittir, pahalı değildir ve kolay kontrol edilebilmektedir. Ayrıca burada çok sayıda hayvan aynı anda egzersiz yapabilmektedir ve diğer egzersiz tiplerinde görülen koşmaya karşı direnç, tırnakların kopması, ayakların yaralanması gibi olumsuz durumlar yerçekimi kuvveti sıfıra indiği için daha az görülmektedir. Yüzme egzersizinde hayvanda stres yaratmamak için egzersiz kısa bir alışma periyodu sonrası uygulanmalıdır. Bunun için deneyden önce genellikle bir haftalık, süresi kademeli olarak arttırılan bir eğitim gereklidir. Yüzme egzersizini düşük şiddette çalışmak için 20-59 dk/gün, orta şiddette çalışmak için 60-89 dk/gün, yüksek şiddette çalışmak için ≥ 90 dk/gün olacak şekilde egzersiz eğitimi uygulanmalıdır (Wang vd 2020).

2.5. Hipotezler

İnsanların beslenme alışkanlıkları, birçok kronik hastalıktan korunmak için önemli bir yer tutmaktadır. Karbonhidrat ağırlıklı beslenme şekillerinin yüksek olduğu bazı ülkelerde ilerleyen süreçte insanların kronik hastalıklara yakalanma olasılığı artmaktadır. Akrlamid, IARC tarafından insanlarda kanserojen etkisi ispatlanmamış ama kanser yapma olasılığı olan 2A grubu maddeler arasına eklenmiş bir kimyasaldır. Çeşitli endüstriyel ve laboratuvar işlemlerde kullanılmasına ek olarak kahve, ekme, patates, tahıl gibi sürekli tüketilen karbonhidrat zengini gıdaların işlenmesi sırasında da meydana geldiği belirtilmiştir. Çoklu organ toksini olan bu maddeye kronik şekilde maruz kalmanın vücuttaki sistemler üzerinde birçok yan etkisi bulunmaktadır. Akrlamidin endokrin pankreasta yarattığı etkiler büyüyen nüfusla beraber küresel diyabet gelişme riskini de arttırmaktadır. Buna dayanarak akrlamide maruziyetin pankreastaki alfa ve beta hücreleri üzerinde neden olduğu değişimlerin daha iyi anlaşılması ve bu değişimlere

karşı koruyucu stratejilerin geliştirilmesi gerekmektedir. Aerobik egzersiz eğitiminin ise kardiyovasküler hastalıkların gelişme riskini azalttığı, endotel fonksiyonunu iyileştirdiği, renin-anjiyotensin-aldosteron sistemin aktivasyonunu ve insülin duyarlılığını arttırdığı, glisemik kontrolü ve beta hücre fonksiyonunu iyileştirdiği belirtilmiştir. Buna dayanarak akrilamide karşı aerobik egzersizin koruyucu etkisinin olup olmadığının histolojik ve biyokimyasal olarak araştırılması gerekmektedir.

Literatürde akrilamide karşı yüzme egzersizinin olumlu etkileri akciğer ve kas gibi birçok dokuda incelenmiştir. Fakat endokrin pankreas üzerinde yapılan bir çalışma bulunmamaktadır. Buna dayanarak alfa, beta hücreleri üzerinde akrilamidin olası olumsuz etkilerine karşı aerobik egzersizin korucu etkisinin olup olmadığı belirsizdir. Mevcut tez kapsamında, literatürde bahsedilen bu bilgi açıklıklarının kapatılması amacıyla aşağıdaki hipotezler geliştirilmiştir;

1. 4 hafta boyunca haftada 5 gün 50 mg/kg/günlük akrilamid verilen sıçanlarda, orta şiddette 4 hafta uygulanan aerobik egzersiz protokolü histolojik ve biyokimyasal parametreler üzerinde olumlu etkilere sahiptir.
2. Akrilamide maruz kalan sıçanların yüzme egzersizine adaptasyonu sonucu oksidatif stres azalır, antioksidan kapasite artar.
3. Akrilamidin glikoz homeostazında neden olduğu değişiklikler üzerinde yüzme egzersizinin olumlu etkileri bulunmaktadır.

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Mevcut çalışma için Pamukkale Üniversitesi Hayvan Deneyleti Etik Kurulundan 13.08.2020 tarihli/60758568-020/48554 sayı numarası ile etik onay alınmıştır (PAÜHADYEK-2020/25). Çalışma kapsamında hayvanların bakımı, tartımı, egzersiz programlarının uygulanması ve örnek alma işlemleri Pamukkale Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma biriminde (DEHAB) gerçekleştirilmiştir. Biyokimyasal değerlendirmeler Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Ana bilim dalı laboratuvarında; doku takipleri, histokimyasal ve immünohistokimyasal analizler Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Ana bilim dalı laboratuvarlarında yapılmıştır. Araştırmanın tüm aşamaları Pamukkale Üniversitesi Hayvan Deneyleti Etik Kurulu (PAÜHADYEK) yönetmeliğine uygun olarak yapılmıştır.

3.1. Deney Hayvanlarının Seçimi ve Gruplandırılması

Literatürde yapılan araştırmalar temel alınarak ve bilimsel verinin güvenilirliği için deneylerde 10 haftalık, yetişkin, erkek, 250-300 gr ağırlığında olan 32 adet Sprague-Dawley cinsi sıçan kullanılmıştır. Hayvanlar Pamukkale Üniversitesi DEHAB'dan sağlanmış ve çalışma boyunca standart şartlar altında havalandırılmalı, sabit ısı odalarda, %50 ± 5 nem ortamında, 12 saatlik aydınlık-karanlık siklusu bulunan laboratuvar koşullarında barındırılarak, özel hazırlanmış kafeslerde tutulmuş, veteriner hekim kontrolü altında bakılmıştır. Sıçanların beslenmesinde 8 mm'lik standart sıçan pellet yemi kullanılmıştır. İçme suyu olarak musluk suyu verilmiştir. Hayvanların

istedikleri kadar yem ve su tüketmelerine izin verilmiştir. Mevcut çalışmada kontrol grubu (grup K, n=8), akrilamid grubu (grup A, n=8), egzersiz grubu (grup E, n=8), akrilamid + egzersiz grubu (grup A+E, n=8) olmak üzere 4 grup oluşturulmuştur. Deneysel süreçte grup K'ye 4 hafta boyunca yalnızca %0.9'luk serum fizyolojik (0.2 ml) oral gavaj yöntemiyle verilmiştir. Akrilamidin pankreastaki toksik etkilerini değerlendirmek için grup A'ya 4 hafta boyunca haftada 5 gün hayvanın kilosuna uygun olacak şekilde %0.9'luk serum fizyolojikte çözdürülmüş 50 mg/kg/günlük akrilamid oral gavaj yöntemiyle uygulanmıştır. Madde uygulamalarında hayvanların kilosuna dikkat edilmiştir ve her hafta hayvanların kilosu ölçülüp uygulama yapılmıştır (Stošić vd 2018, Elgarawany vd 2019). Aerobik egzersizin pankreastaki etkilerini değerlendirmek için grup E'ye 4 hafta boyunca haftada 5 gün, günde 1 saat olacak şekilde orta yoğunlukta yüzme egzersizi uygulanmıştır (Ünsal ve Ünsal 2016, Elgarawany vd 2019). Akrilamide karşı aerobik egzersizin koruyucu etkilerinin olup olmadığını değerlendirmek için grup A+E'ye 4 hafta boyunca haftada 5 gün hayvanın kilosuna uygun olacak şekilde %0.9'luk serum fizyolojikte çözdürülmüş 50 mg/kg/günlük akrilamidle beraber 4 hafta boyunca haftada 5 gün, günde 1 saat olacak şekilde orta yoğunlukta yüzme egzersizi uygulanmıştır (Stošić vd 2018, Elgarawany vd 2019).



Şekil 3.1 Deney hayvanlarının gösterimi

3.2. Madde Uygulamaları

Katalog numarası ACR001.100, CAS numarası 79-06-1, linear formülü $\text{CH}_2=\text{CHCONH}_2$ ve moleküler ağırlığı 71.08 olan akrilamid tozu, Medsantek Laboratuar Malzemeleri Sanayi ve Ticaret Şirketi tarafından ($\geq 99.5\%$ saflıkta, BioShop, Canada Marka ürün) temin edilmiştir. Akrilamid uygulanacak gruplara (grup A, grup A+E) hayvanın kilosuna uygun olacak şekilde 4 hafta boyunca haftada 5 gün %0.9'luk serum fizyolojikte çözdürülmüş 50 mg/kg/günlük akrilamid oral gavaj yöntemiyle uygulanmıştır (Al-Serwi ve Ghoneim 2015, Stošić vd 2018, Elgarawany vd 2019). Bu süreçte akrilamid uygulanmayacak grup K'ye de yalnızca %0.9 serum fizyolojik gavaj yöntemiyle verilmiştir.



Şekil 3.2 Gavaj uygulaması

3.3. Yüzme Egzersizi Protokolü

Egzersiz gruplarına (grup E, grup A+E) Pamukkale Üniversitesi DEHAB'da bulunan Morris su tankında yüzme egzersizi yaptırılmıştır. Bunun için; 150 cm çapında ve 60 cm yüksekliğinde olan dairesel su tankı üstte 15 cm boşluk kalacak şekilde 45 cm derinliğinde su ile doldurulmuştur. Su ısısı tankın dibinde bulunan bir termostat sistemi ile 31.0 ± 2.0 °C'de sabit tutulmuştur (Fabri vd 2010). Egzersiz protokolü 4 hafta boyunca haftada 5 gün ve günde 1 saat olacak şekilde orta yoğunlukta uygulanmıştır. Hayvanda stres yaratmamak ve adaptasyonunu sağlamak için yüzme egzersizi 5 günlük kısa bir alıştırma periyodu sonrası yapılmıştır. Alıştırma periyodunda sıçanlara 1. gün 10 dk ile başlanarak ve 5. gün 1 saate çıkacak şekilde yüzme egzersizi uygulanmıştır. Böylece sıçanların Morris su tankına alışmaları sağlanmıştır. İki gün dinlenmenin ardından 4 haftalık aerobik egzersiz eğitimine başlanmıştır (Ünsal ve Ünsal 2016, Elgarawany vd 2019). Sırasıyla grup A+E ve grup E en az 31 ± 2 °C'de 4 hafta boyunca şekildeki Morris su tankında yüzdürülmüştür (Şekil 3.3). Egzersiz uygulanacak gruplardaki her 8 hayvana aynı anda yüzdürme işlemi uygulanmıştır. Ayrıca grup A+E'de madde uygulamasından 30 dk sonra egzersize başlanmıştır. Her uygulamadan sonra sıçanlar Morris su tankından çıkarılıp ve havlu ile kurulama sonrasında kafeslerine alınmıştır.



Şekil 3.3 Morris su tankı ve yüzme egzersizi

3.4. Vücut Ağırlığı Ölçümü

Deney boyunca (her hafta en az 3 gün) tüm sıçanların vücut ağırlıkları ölçülmüştür. Böylece akrilamidin yetişkin erkek sıçanların vücut ağırlığını ve besin tüketimini etkileyip etkilemediği değerlendirilmiştir (Stošić vd 2018).



Şekil 3.4 Sıçanların ağırlıklarının ölçümü

3.5. AKŞ (Açlık Kan Şekeri) ve OGTT (Oral Glikoz Tolerans Testi) Ölçümü

Hayvanlar 12 saat aç bırakıldıktan sonra sıçanların lateral kuyruk veninden alınan kan örneklerinden AKŞ değerlerine bakılmıştır. AKŞ seviyelerinin ölçümü ticari bir glikometre kullanılarak yapılmıştır. AKŞ ölçümünden sonra hayvanlar tekli uygun kafeslere alınmış ve vücut ağırlığı başına 2 gr/kg dozda glikozun gavaj yoluyla verilmesini takiben 30. dk, 45. dk, 60. dk, 120. dk'de lateral kuyruk veninden kan örnekleri alınarak OGTT uygulanmıştır. Ölçüm ticari bir glikometre kullanılarak yapılmıştır (Yue vd 2020).

3.6. Deneyin Sonlandırılması, Kan ve Pankreas Örneklerinin Alınması

Tüm gruplara ait sıçanlar 5. hafta sonunda deney sürelerinin tamamlanmasıyla beraber 1 gece (12 saat boyunca) aç bırakılmıştır. Biyokimyasal değerlendirmeler için kan örneklerinin alınmasından sonra her bir gruptan 8 sıçan rastgele seçilerek 90 mg/kg ketamin+10 mg/kg ksilazin intraperitoneal olarak verilir anestezi uygulanarak hayvan uyutulduktan sonra batin ön duvarı insizyonla açılıp diyafragmadan kalbe ulaşılmış ve 5 ml'lik steril enjektörle hayvanların intrakardiyak kanları antikoagülanlı (EDTA ile muamele edilmiş) tüplere alınmıştır. Hayvanlar kan almak suretiyle kansızlaştırılarak öldürülmüşlerdir. Sıçanların batin ön duvarı açılıp kan örnekleri alındıktan sonra pankreasları da alınmış ve histokimyasal, immünohistokimyasal çalışmalar için %10'luk fosfat tamponlu formalinde tespiti gerçekleştirilmiştir. Deney böylece sonlandırılmıştır. Her hayvandan 3 ml olacak şekilde temin edilen kan örneklerinden plazmayı ayırmak için tüpler santrifüj (3000 rpm, 10 dk) edilmiş ve ayrılan serumlar 1.5 ml'lik ependorf tüplerine konulmuştur. Elde edilen serumlar insülin, TAS, TOS ve OSİ seviyelerinin ölçümü için -80 °C'de saklanmıştır.

3.7. Serum İnsülin, TOS (Total Oksidan Seviye), TAS (Total Antioksidan Seviye) ve OSİ (Oksidatif Stres İndeksi) Değerlerinin Belirlenmesi

İnsülin, TAS, TOS ve OSİ seviyeleri için hayvanlardan alınan kan örnekleri EDTA'lı tüplere aktarılmıştır ve elde edilen serumdan üreticinin talimatı doğrultusunda ELISA kiti (Bioassay Technology Laboratory, Rat Insulin ELISA Kit, katalog numarası E0707Ra) kullanılarak ölçüm yapılmıştır. Kite kullanılan plaka, insülin antikoru ile önceden kaplanmıştır. Hayvanlardan elde edilen serumlar plakadaki oyuklara eklendiğinde örnekteki insülin antikoru ile kaplanmış alanlara bağlanır. Daha sonra örnekteki insüline bağlanması için biyotinlenmiş sıçan insülin antikoru eklenmiştir. Takibinde biyotinlenmiş insülin antikoruna bağlanması için Streptavin-HRP eklenmiştir. 37 °C'de 60 dk inkübasyondan sonra bir yıkama adımı vardır. Yıkamadan sonra substrat solüsyonu eklenmiş ve sıçan insülin miktarı ile orantılı olarak renk değişimi gözlenmiştir. Reaksiyon asidik durdurma çözeltisinin eklenmesiyle sona erdirilmiş ve absorbans

değerleri 450 nm'de ölçülmüştür (Choi vd 2005, Flores vd 2006, Totani vd 2007, Yue vd 2020).

TOS ölçümünün prensibi örneğin içindeki oksidanların ferröz iyon şelatör kompleksinin ferrik iyon dönüşümünün sağlanması ve bunun da asidik bir ortamda kromojen ile reaksiyona girerek absorbans artışına neden olmasına dayanmaktadır. Spektrofotometrik olarak izlenen absorbans artışı örnekteki oksidan molekülleri ile doğru orantılıdır. TOS elde edilen serumlardan ticari bir kit aracılığıyla (Rel Assay Diagnostic, KM20122O) çalışılmıştır. Örnekte bulunan oksidanların (lipitler, proteinler vb.) miktarıyla ilişkili olan rengin şiddeti ELISA okuyucu ile spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Sonuçlar $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv/L başına ifade edilmiştir. TOS ölçümünde izlenen adımlar aşağıda belirtilmektedir (Yousef ve El-Demerdash 2006, Totani vd 2007, Martinez-Campos vd 2012, Ünsal ve Ünsal 2016).

1. İlk iki kuyucuğa distile su, ikinci iki kuyucuğa standart (TOS Standart) ve diğer kuyucuklara duplike olacak şekilde çalışılacak örnekler konarak kitteki plaka düzenlenir. Distile su, TOS standart ve örnekler 30 μl olacak şekilde konur.
2. Daha sonra çalışılan her kuyucuğa 200 μL Reagent 1 konur.
3. Plaka güzelce ve kibarca çalkalanır.
4. 'Absorbans 1' değerini elde etmek için 530 nm dalga boyunda okunur.
5. Daha sonra çalışılan her kuyuya 10 μL Reagent 2 konur.
6. Plaka güzelce ve kibarca çalkalanır.
7. 'Absorbans 2' değerini elde etmek için 37 °C'de 5 dk belettikten sonra 530 nm dalga boyunda okunur.

TAS ölçümünün prensibi örneğin içindeki tüm antioksidanların mavi- yeşil 2,2'-azino-bis ABTS (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) radikalini renksiz redükte ABTS haline getirmesi esasına dayanmaktadır. Örneğin absorbansındaki değişiklik, onun antioksidan seviyesi ile orantılıdır. TAS ölçümü ticari bir kit aracılığıyla (Rel Assay Diagnostic, KM20112A) yapılmış, ELISA okuyucu ile spektrofotometrik olarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar $\mu\text{mol Trolox Equiv/L}$ başına ifade edilmiştir. TAS ölçümünde izlenen adımlar aşağıda belirtilmektedir (Yousef ve El-Demerdash 2006, Totani vd 2007, Martinez-Campos vd 2012, Ünsal ve Ünsal 2016).

1. İlk iki kuyucuğa distile su, ikinci iki kuyucuğa standart (TAS Standart) ve diğer kuyucuklara duplike olacak şekilde çalışılacak örnekler konarak kitteki plaka düzenlenir. Distile su, TAS standart ve örnekler 10 μl olacak şekilde konur.
2. Daha sonra çalışılan her kuyucuğa 165 μL Reagent 1 konur.

3. Plaka güzelce ve kibarca çalkalanır.
4. 'Absorbans 1' değerini elde etmek için 660 nm dalga boyunda okunur.
5. Daha sonra çalışılan her kuyuya 25 µL Reagent 2 konur.
6. Plaka güzelce ve kibarca çalkalanır.
7. 'Absorbans 2' değerini elde etmek için 37 °C'de 5 dk belettikten sonra 660 nm dalga boyunda okunur.

OSİ, oksidatif stres seviyesinin bir diğer göstergesi olarak elde edilen değerdir. Bu indeks TAS ve TOS değerleri kullanılarak aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır:

$$OSİ = TOS (\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eqv/L}) / TAS (\mu\text{mol Trolox Eqv/L}) \times 100$$

3.8. Doku Takibi

3.8.1. Tespit İşlemi (Fiksasyon)

Hayvanlardan alınan taze pankreas dokuları hemen %10'luk formaldehitin içine alınmıştır. Yapısal ve moleküler olarak bileşimin kalıcı bir şekilde korunması için küçük parçalara ayrılan dokular formaldehitte 72 saat bekletilmiştir. Burada incelenmek istenilen alan ve kesit şekli belirlenerek pankreaslar küçük dokular halinde kesilmiştir. Daha sonrasında alınan dokular doku kasetlerine etiketleriyle beraber yerleştirilmiş ve kasetlerin kapakları sıkıca kapatılmıştır. Dehidratasyon işleminden önce kasetler 30 dk akan musluk suyunda yıkanmıştır.

3.8.2. Dehidratasyon İşlemi

Pankreas dokuları formaldehitte bekleyip sertleştikten sonra aşağıda belirtildiği gibi artan alkol serilerinden geçirilmiştir. Böylece tespitten sonra dokudan su ve bazı lipid içeren doku sıvıları uzaklaştırılmıştır. Dehidratasyon işlemi, dokulardan suyun çıkarılması ve ileri işlemlerde erimiş parafinin doku parçalarına tamamıyla nüfus etmesini sağlamaktadır.

- a) %50'lik etil alkolde 1 saat bekletilmiştir.
- b) %70'lik etil alkolde 1 saat bekletilmiştir.
- c) %80'lik etil alkolde 1 saat bekletilmiştir.
- d) %90'lık etil alkolde 1 saat bekletilmiştir.
- e) %95'lik etil alkolde 1 saat bekletilmiştir.
- f) %100'lük etil alkolde 1 saat bekletilmiştir.
- g) %100'lük etil alkolde 1 saat bekletilmiştir.

3.8.3. Şeffaflaştırma ve Parafinizasyon İşlemi

Pankreas dokularından su uzaklaştırıldıktan sonra parafin serisine geçmeden önce dokular hem alkol hem de parafinle karışabilen ksilen serisinden geçirilmiştir. Böylece pankreas dokuları şeffaflaştırma işlemiyle alkolden temizlenmiştir.

- a) Ksilen 1'de 1 saat bekletilmiştir.
- b) Ksilen 2'de 1 saat bekletilmiştir.
- c) Ksilen 3'te 1 saat ekletilmiştir.

Dokular alkolden temizlendikten sonra sertleştirip kesit alma amaçlı parafin serisinden geçirilmiştir.

- a) 58-60 °C etüvde parafin 1'de 1 saat bekletilmiştir.
- b) 58-60 °C etüvde parafin 2'de 1 saat bekletilmiştir.
- c) 58-60 °C etüvde parafin 3'te 1 gece etüv de bekletilmiştir.

3.8.4. Bloklama İşlemi

Parafin 3'te 1 gece bekleyen dokular çıkarılıp demir 'L' bloklar vasıtasıyla temiz eriyik parafin içerisine kesit alınmak istenen yüz tabana gelecek şekilde yerleştirilerek gömme işlemi gerçekleştirilmiştir. Daha sonra kasetin içindeki etiket kağıdı da parafinlenerek blok içerisine konulmuştur. Demir 'L' bloklar içerisinde bulunan parafin bloklar soğumaya bırakılmış ve soğuduktan sonra da 'L' bloklardan çıkarılmıştır. Mikrotomda kesit almadan önce parafin bloklar 30 dk buzlukta bekletilmiştir.

3.8.5. Kesit Alma ve Lama Aktarma İşlemi

Mikrotomdan histokimyasal ve immünohistokimyasal boyama için 4-5 µm kalınlığında doku kesitleri alınmıştır. Bu parafin kesitler 45-50 °C olan sıcak su havuzuna alınarak immünohistokimyasal boyama için pozitif yüklü lama, histokimyasal boyama için ekonomik kalite lama aktarılmıştır.

3.8.6. Deparafinizasyon İşlemi

İmmünohistokimyasal ve histokimyasal boyama prosedürlerinden önce lama aktarılan doku kesitleri 58-60 °C'deki etüvde 2-3 saat bekletilmiştir. Böylece kesitlerin lama yapışması ve fazla parafinin preparatlardan uzaklaştırılması sağlanmıştır. Sonrasında dokunun içerisindeki parafini çıkartmak için preparatlar ksilen serilerinden geçirilmiştir.

1. Giriş ksilen 1'de 30 dk bekletilmiştir.
2. Giriş ksilen 2'de 30 dk bekletilmiştir.

Dokudan parafin uzaklaştırıldıktan sonra preparatlar aşağıda belirtildiği gibi azalan alkol serilerinden geçirilmiştir. Böylece hidrasyon işleminden önce dokudaki ksilen giderilmiştir.

- a) %100'lük giriş alkolünde 5 dk bekletilmiştir.
- b) %95'lik giriş alkolünde 5 dk bekletilmiştir.
- c) %90'lık giriş alkolünde 5 dk bekletilmiştir.
- d) %80'lik giriş alkolünde 5 dk bekletilmiştir.
- e) %70'lik giriş alkolünde 5 dk bekletilmiştir.
- f) %50'lik giriş alkolünde 5 dk bekletilmiştir.

Azalan alkol serilerinden sonra hidrasyon işlemine geçilmiştir. Preparatlar distile suda 10 dk bekletilerek dokunun kaybettiği su tekrar kazandırılmıştır. Dokunun su tutmasıyla beraber boyama işlemine geçilip deparafinizasyon işlemi sonlandırılmıştır. Doku takibindeki işlemlerin her biri histokimyasal ve immünohistokimyasal boyamalar için aynı şekilde uygulanmıştır.

3.9. Hematoksilen & Eozin (H&E) Boyama

Doku takibinden sonra boyama işlemine geçilmiştir. H&E boyama prosedürü ve kapatma işlemi aşağıda belirtildiği gibidir.

- a) Hidratasyon işleminden sonra preparatlar hematoksilen (Merk Harris' hematoksilen) boyasında 5-10 dk kadar bekletilmiştir.
- b) Preparatlar hematoksilen boyasından alınıp hemen akan suya batırılıp çıkarılmış ve ışık mikroskopunda kesitlerin boyanma durumuna bakılmıştır.
- c) Preparatlar akan sudan alınıp asit-alkol çözeltisinde 10 saniye kadar bekletilmiştir. Böylece fazla boya kesitten uzaklaştırılmıştır.
- d) Preparatlar asit-alkol çözeltisinden alınıp akan suya batırılıp çıkarılmıştır. Daha sonra amonyaklı suya alınıp 10 saniye kadar bekletilmiştir. Böylece bazik ortamda mavileşme sağlanmıştır.
- e) Preparatlar amonyaklı sudan alınıp akan suya batırılıp çıkarılmıştır. Daha sonra eozin (Merk Eozin Y-solüsyonu) boyasına alınarak 4 dk bekletilmiştir.
- f) Preparatlar eozin boyasından alınıp akan suya batırılıp çıkarılmıştır. Daha sonra kapatma işlemine geçilmiş ve %50, %70, %80, %90, %95'lik çıkış alkol serilerinde 1 dk, %100'lük çıkış alkolünde 10 dk kadar bekletilmiştir.
- g) Preparatlar %100'lük çıkış alkolünden alınıp çıkış ksilen 1 ve çıkış ksilen 2'de 5'er dk bekletilmiştir.
- h) Preparatlar çıkış ksilen 2'den alındıktan sonra doku üzerine 1 damla entellan damlatılmıştır. Entellan doku üzerinde ince bir tabaka olacak şekilde lamelle kapatılmıştır. Burada hava kabarcığı oluşturmamaya dikkat edilmiş ve preparatlar kurumaya bırakılmıştır.

Kesitler Olympus BX51 ve Olympus DP72 marka/model cihazlarla incelenip, fotoğraflanmıştır. Grupların H&E boyamalarında pankreasın endokrin ve ekzokrin yapıları incelenmiştir. Burada Langerhans adacıklarında düzensiz ve piknotik çekirdeklenme, vakuolleşme, bozulmuş adacık sınırı gibi patolojik bulguların var olup olmadığı gözlenmiştir (Yue vd 2020).

3.10. İmmünohistokimyasal Boyama

Doku takibinden sonra boyama işlemine geçilmiştir. İmmünohistokimyasal boyama prosedürü ve kapatma işlemi aşağıda belirtildiği gibidir. Buradaki boyama prosedüründe immünoenzim protokolü kullanılmıştır.

- a) Hidratasyon işlemi burada çok önemlidir. Dokular distile sudan çıkarıldıktan sonra kurutulmamalıdır. Daha sonra preparatlar sodyum sitrat tamponuna alınıp antijen geri kazanımı (antijen retrieval) aşamasına geçilmiştir.
- b) 2.94 gr trisodyum sitrat ve 1 lt distile su beher içerisinde karıştırılmıştır. Daha sonra hidroklorik asit (HCl) eklenerek pH 6.0'a getirilmiştir. Solüsyona 0.5 ml tween 20 eklenerek sodyum sitrat tamponu hazırlandıktan sonra zembil içerisindeki preparatlar beher içerisine konulmuştur. Ev tipi mikrodalga ile uyumlu beher içerisine konulmuş preparatlar 10 dk kadar kaynatılmıştır. Daha sonra sıcak beher dışarı alınıp oda sıcaklığında soğutulmuştur.
- c) Antijen geri kazanımı aşamasından sonra preparatlar PAP pen (Hidrofobik doku sınırlama kalem) ile sınırlandırılmıştır.
- d) Preparatlar 3 kez 5 dk 1x fosfat tamponu (PBS) ile yıkanmıştır. Daha sonra 1 birim %30'luk H₂O₂ ve 9 birim absolu metanol ile hidrojen peroksit solüsyonu hazırlanmıştır. Preparatlar hidrojen peroksit solüsyonunda 15 dk kadar bekletilmiştir. Böylece endojen peroksidaz aktivitesi sıfırlanmış ve preparatlarda DAP (3,3' diaminobenzidine) ile yalancı pozitif boyanma önlenmiştir.
- e) Preparatlar 3 kez 5 dk 1x PBS ile yıkanmıştır. Daha sonra immün bloklama işlemine geçilmiştir.
- f) Evrensel sekonder kitte (Thermo Scientific) bulunan A solüsyonu immün blok solüsyonudur. Solüsyon PAP pen ile sınırlandırılmış dokular üzerine damlatılıp 10 dk kadar bekletilmiştir.
- g) Anti-glukagon (Novus Bio, NB600-1506) ve anti-insülin (Cell Signaling, 3014S) antikoları datasheette yazıldığı şekilde dilüe edilmiştir ve preparatlar antikolarla 1 gece (12 saat) buzdolabında (+4 °C'de) inkübasyona bırakılmıştır.
- h) Preparatlar 3 kez 5 dk 1x PBS ile yıkanmıştır. Daha sonra sekonder antikorla inkübasyon işlemine geçilmiştir.
- i) Sekonder kitteki B solüsyonu sekonder antikordur. Antikolar PAP pen ile sınırlandırılmış dokular üzerine damlatılıp 10 dk kadar inkübe edilmiştir.
- j) Preparatlar 3 kez 5 dk 1x PBS ile yıkanmıştır. Daha sonra enzim ile inkübasyon işlemine geçilmiştir.

- k) Sekonder kitteki C solüsyonu sekonder antikorları inkübe edecek enzimi içermektedir. Solüsyon PAP pen ile sınırlandırılmış dokular üzerine damlatılıp 10 dk kadar bekletilmiştir.
- l) Preparatlar 3 kez 5 dk 1x PBS ile yıkanmıştır. Daha sonra DAP kromojen kiti (Thermo Scientific) aşamasına geçilip enzimatik boyama yapılmıştır.
- m) DAP kromojen kitte bulunan DAP solüsyonundan pipetle 1 ml alınıp falkon tüpüne boşaltılmıştır. Sonrasında 1-2 damla DAP boya damlatılarak solüsyon iyice karıştırılmış ve tüp ışık almayacak şekilde çekmeceye kaldırılmıştır.
- n) DAP kromojen solüsyonu PAP pen ile sınırlandırılmış dokular üzerine damlatılıp karanlık ortamda 10-15 dk kadar bekletilmiştir. Daha sonra preparatlar 3 kez 5 dk 1x distile su ile yıkanmıştır.
- o) DAP kromojen kiti ile enzimatik boyama aşamasından sonra zemin boyama işlemine geçilmiştir.
- p) Zemin boyama için preparatlar hematoksilin (Merk Harris' hematoksilen) boyasında 1-2 dk kadar bekletilmiştir. Daha sonra preparatlar akan suda yıkanmıştır.
- q) Kapatma işleminde preparatlar %50, %70, %80, %90, %95'lik çıkış alkol serilerinde 1 dk, %100'lük çıkış alkolünde 10 dk kadar bekletilmiştir.
- r) Preparatlar %100'lük çıkış alkolünden alınıp çıkış ksilen 1 ve çıkış ksilen 2'de 5'er dk bekletilmiştir.
- s) Preparatlar çıkış ksilen 2'den alındıktan sonra doku üzerine 1 damla entellan damlatılmıştır. Entellan doku üzerinde ince bir tabaka olacak şekilde lamelle kapatılmıştır. Burada hava kabarcığı oluşturmamaya dikkat edilmiş ve preparatlar kurumaya bırakılmıştır.

Kesitler Olympus BX51 ve Olympus DP72 marka/model cihazlarla incelenip, fotoğraflanmıştır. Langerhans adacığındaki beta ve alfa hücrelerinin analizleri için her pankreastan X10 (200 μ m) büyütmede rastgele seçilmiş 10 farklı görüş alanı değerlendirilmiştir. Buna ek olarak her bir preparattan X40 (50 μ m) büyütmede görüntü alınarak ImageJ programında çekirdek sayımı yapılmıştır. Burada pankreas başına 40 dijital görüntü çekilmiştir. Çekirdek sayımıyla gruplara ait adacıkların toplam alfa ve beta hücre sayıları karşılaştırılarak hücre sayısı artmış ve azalmış şeklinde yorumlanmıştır (Stošić vd 2018).

3.11. İstatistiksel Analiz

Veriler SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 28.0 paket programıyla analiz edilmiştir. Sürekli değişkenler ortalama \pm standart sapma (ss) olarak verilmiştir. Ölçümler arasındaki bağımsız grup karşılaştırmalarında Kruskal-Wallis H testi ve takiben Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Bağımlı grup karşılaştırmalarında Friedman testi kullanılmıştır. Takibinde anlamlı bulunan sonuçlara Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi uygulanmıştır. İstatistiksel olarak $p < 0.05$ değerleri önemli kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Vücut Ağırlığı Değerleri

Mevcut çalışmada 4 hafta boyunca tüm grupların vücut ağırlıkları düzenli olarak ölçülmüştür (Tablo 4.2). Elde edilen sonuçlara göre grup K ve grup E'ye ait sıçanların vücut ağırlığı ortalamalarında 1. haftadan 4. haftaya kadar artış gözlenmiştir. Ayrıca grup E'de ilk 3 haftada görülen ortalama vücut ağırlığındaki artış, istatistiksel olarak anlamlı derecede artış gösterirken son haftadaki ağırlık artışı istatistiksel olarak anlamlılık göstermemiştir. Grup A'ya ait sıçanların vücut ağırlığı ortalamalarına bakıldığında 1. haftaya göre azalma gözlenmiştir (Tablo 4.1). Ancak haftalar karşılaştırıldığında yalnızca son üç hafta arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p < 0.05$). Grup A+E'ye ait sıçanların vücut ağırlığı ortalamalarının değişimi haftalık olarak karşılaştırıldığında tüm haftalar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamamıştır ($p > 0.05$). Ancak haftalar arasında anlamlı farklılık bulunmasa da vücut ağırlığı ortalamalarına bakıldığında 1. haftaya göre azalma gözlenmiştir (Tablo 4.1, Şekil 4.1).

Tablo 4.1 Sıçanların 1. ve 4. haftada ölçülen ortalama vücut ağırlığı değerleri

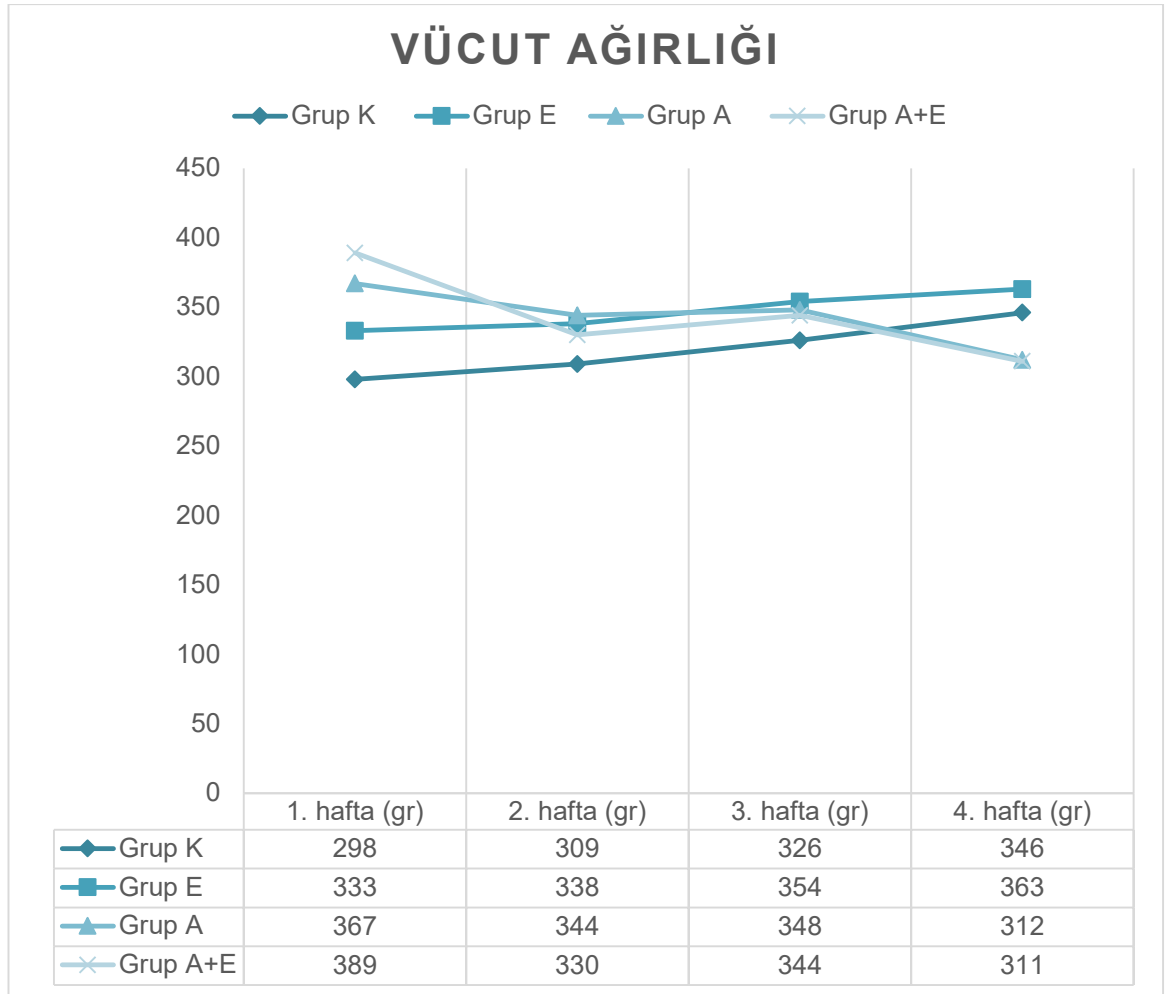
Gruplar	Vücut Ağırlığı (gr) (1. Hafta)	Vücut Ağırlığı (gr) (4. Hafta)
Grup K	298	346
Grup E	333	363
Grup A	367	312
Grup A+E	389	311

Grup K: kontrol, Grup E: egzersiz, Grup A: akrilamid, Grup A+E: akrilamid + egzersiz

Tablo 4.2 Sıçanların 4 hafta boyunca ölçülen vücut ağırlıklarının analizi

Ölçüm	Gruplar	Ortalama \pm ss	Medyan	Q ₁	Q ₃	Test ^a	p Değeri
1. Hafta	Grup K	298 \pm 14	297	386	310	12,542	0.006**
	Grup E	333 \pm 28	328	309	353		
	Grup A	367 \pm 70	391	335	396		
	Grup A+E	389 \pm 68	373	333	460		
2. Hafta	Grup K	309 \pm 13	306	297	320	5,174	0.159
	Grup E	338 \pm 27	336	317	352		
	Grup A	344 \pm 45	335	309	356		
	Grup A+E	330 \pm 62	319	278	393		
3. Hafta	Grup K	326 \pm 11	323	319	334	3,835	0.280
	Grup E	354 \pm 27	351	331	381		
	Grup A	348 \pm 45	332	321	363		
	Grup A+E	344 \pm 66	328	291	412		
4. Hafta	Grup K	346 \pm 14	344	334	361	7,662	0.054
	Grup E	363 \pm 31	359	338	388		
	Grup A	312 \pm 31	309	296	337		
	Grup A+E	311 \pm 69	301	251	381		

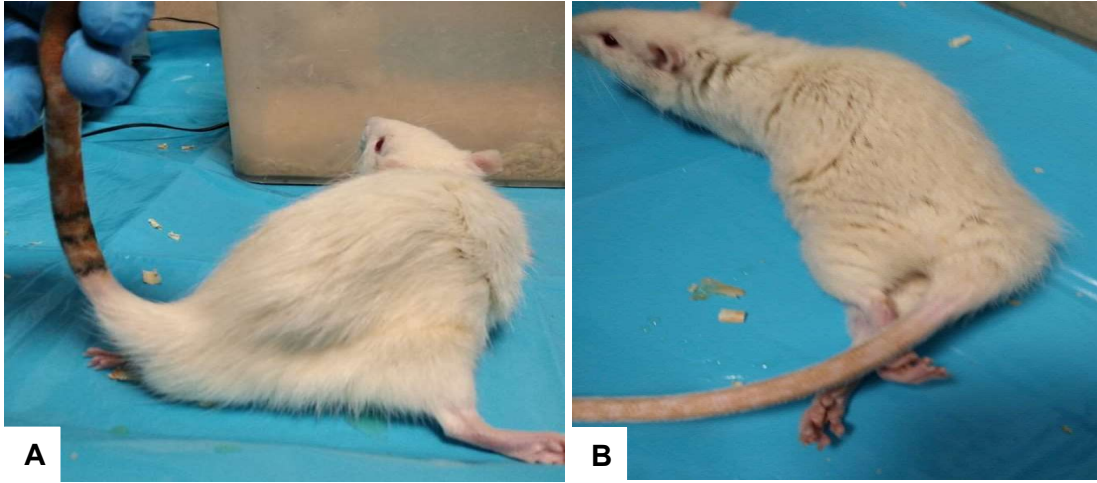
Q₁: %25'lik çeyrek ayrılış, Q₃: %75'lik çeyrek ayrılış, ss: standart sapma, a: Kruskal-Wallis test değeri, *p<0.05 gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır. Grup K: kontrol, Grup E: egzersiz, Grup A: akrilamid, Grup A+E: akrilamid + egzersiz



Şekil 4.1 Gruplara ait ortalama vücut ağırlığı değerleri. Grup K: kontrol, Grup E: egzersiz, Grup A: akrilamid, Grup A+E: akrilamid + egzersiz

4.2. Nörotoksik Bulgular

Mevcut çalışmada 2. haftadan itibaren akrilamid uygulanan (grup A ve grup A+E) gruplardaki hayvanların arka bacaklarında hareket bozuklukları gözlenmiştir. Bu hareket bozukluğu 3. ve 4. haftalarda artış göstermiş ve sıçanlar 4. haftada arka bacaklarını kontrol edemez duruma gelmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2 A. Grup A+E'ye ait sıçan, B. Grup A'ya ait sıçan.

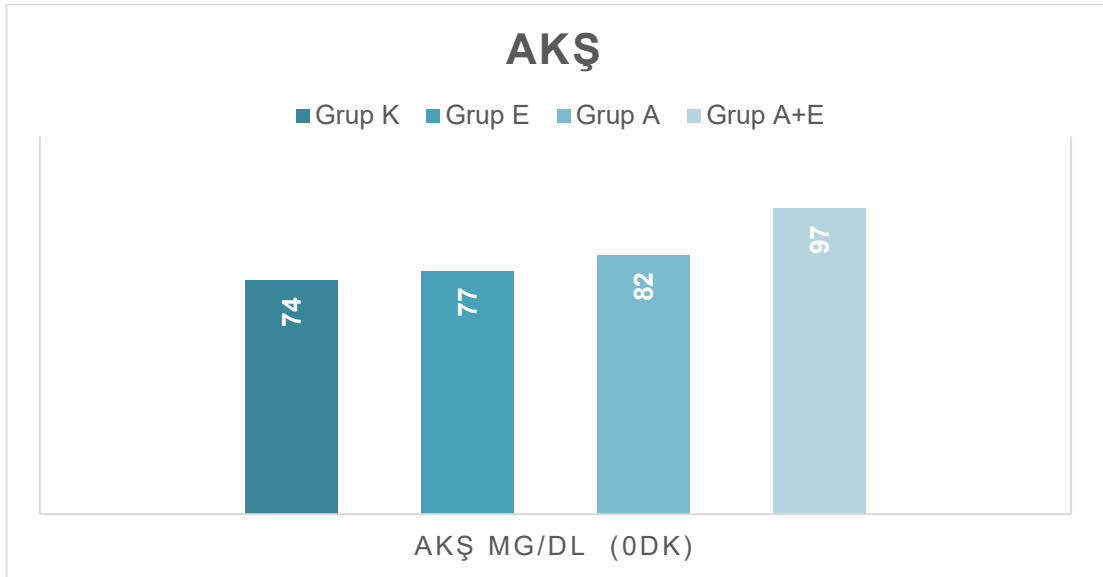
4.3. AKŞ (Açlık Kan Şekeri) ve OGTT (Oral Glikoz Tolerans Testi) Sonuçları

Sıçanların ortalama AKŞ değerlerinin analizine bakıldığında 4 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur (Tablo 4.3). Gruplar arası ikili karşılaştırmalarda grup K ile grup A+E arasında ortalama AKŞ değeri istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir ($p < 0.008$). Grup A+E'ye ait ortalama AKŞ değerinin grup K'den daha yüksek olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.3).

Tablo 4.3 Sıçanların AKŞ değerlerinin analizi

Gruplar	Ortalama \pm ss	Medyan	Q ₁	Q ₃	Test ^a	p Değeri
Grup K	74 \pm 4	75	74	77		
Grup E	77 \pm 6	76	70	84		
Grup A	82 \pm 9	80	77	88	11,77	0.008**
Grup A+E	97 \pm 10	99	87	106		

Q₁: %25'lik çeyrek ayrılış, Q₃: %75'lik çeyrek ayrılış, ss: standart sapma, a: Kruskal-Wallis test değeri, p değeri: istatistiksel anlamlılık, * $p < 0.05$ gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır. Grup K: kontrol, Grup E: egzersiz, Grup A: akrilamid, Grup A+E: akrilamid + egzersiz



Şekil 4.3 Gruplara ait ortalama AKŞ değerleri. Grup K: kontrol, Grup E: egzersiz, Grup A: akrilamid, Grup A+E: akrilamid + egzersiz

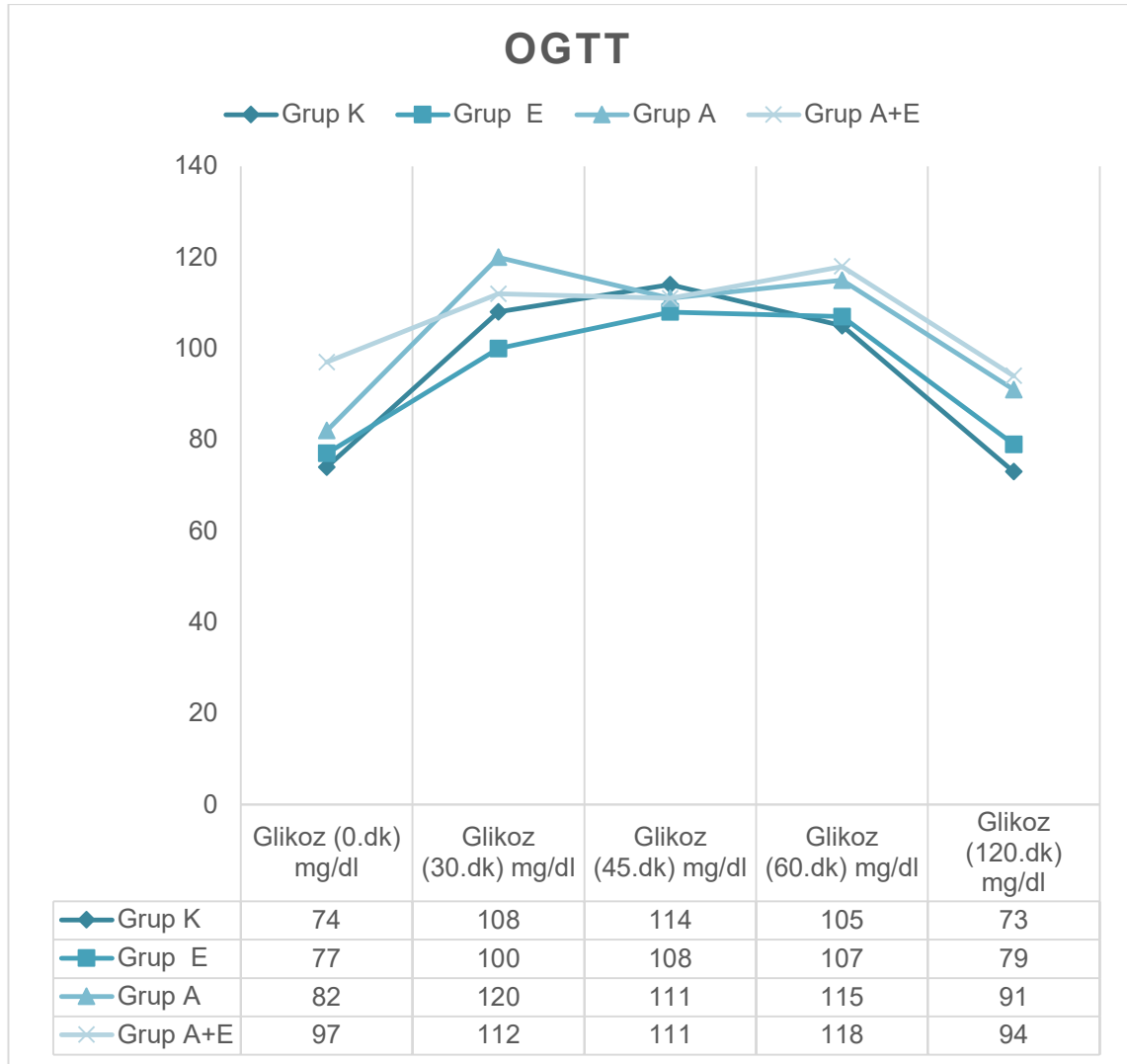
Sıçanların zamana göre ortalama OGTT seviyelerine bakıldığında 120. dk'deki ortalama OGTT seviyesinde istatistiksel olarak anlamlılık bulunmuştur (Tablo 4.4). Buna dayanarak grupların 120. dk'deki ortalama OGTT değerleri birbirleriyle karşılaştırıldığında grup K, grup A ve grup A+E arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttur. ($p < 0.008$). Hem grup A hem de grup A+E'ye ait ortalama OGTT değerlerinin grup K'ye göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Ayrıca grup A+E'ye ait ortalama OGTT değerinin grup E'ye göre de istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Bağımlı grup karşılaştırmalarının sonuçlarına bakıldığında tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p < 0.05$). Grup K ve grup E'ye ait ortalama OGTT değerleri 45. dk'ye kadar artış, 60. dk'de azalma göstermiştir. 120. dk'deki ortalama OGTT değerleri ise yaklaşık olarak 0. dk'deki ortalama OGTT seviyesine geri dönmüştür ($p < 0.05$). Grup A'da zamana göre belirgin değişim gözlenmiştir ($p < 0.05$). Grup A'nın ortalama OGTT değeri 30. dk'de en yüksek seviyesine ulaşmıştır. Ayrıca ortalama OGTT 45. dk'de azalma ve 60. dk'de artış göstermiştir. Grup A'nın 120. dk'deki ortalama OGTT değerinin 0. dk'deki ortalama OGTT değerinden daha yüksek seviyeye sahip olduğu gözlenmiştir. Grup A+E'nin ortalama OGTT değeri istatistiksel olarak anlamlı bulunmasa da 30. dk ve 60. dk'lerde artış, 45. dk'de azalma göstermiştir. 120. dk'de ise 0. dk'deki ortalama OGTT seviyesinden daha düşük değere sahip olduğu gözlenmiştir ($p > 0.05$) (Şekil 4.4).

Tablo 4.4 Sıçanların OGTT değerlerinin analizi

Ölçüm	Gruplar	Ortalama \pm ss	Medyan	Q ₁	Q ₃	Test ^a	p Değeri
30. dk	Grup K	108 \pm 7	109	102	113	6,906	0.075
	Grup E	100 \pm 14	102	91	113		
	Grup A	120 \pm 13	116	107	133		
	Grup A+E	112 \pm 8	110	106	121		
45. dk	Grup K	114 \pm 10	118	103	121	1,097	0.778
	Grup E	108 \pm 9	108	103	114		
	Grup A	111 \pm 13	111	106	118		
	Grup A+E	111 \pm 9	110	104	121		
60. dk	Grup K	105 \pm 12	108	101	112	5,823	0.121
	Grup E	107 \pm 8	108	98	115		
	Grup A	115 \pm 7	111	109	124		
	Grup A+E	118 \pm 11	121	107	127		
120. dk	Grup K	73 \pm 8	74	70	80	16,244	0.001**
	Grup E	79 \pm 3	79	77	81		
	Grup A	91 \pm 11	89	83	105		
	Grup A+E	94 \pm 6	96	88	99		

Q₁: %25'lik çeyrek ayrılış, Q₃: %75'lik çeyrek ayrılış, ss: standart sapma, a: Kruskal-Wallis test değeri, *p<0.05 gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır. Grup K: kontrol, Grup E: egzersiz, Grup A: akrilamid, Grup A+E: akrilamid + egzersiz



Şekil 4.4 Gruplara ait ortalama OGTT değerleri. Grup K: kontrol, Grup A: akrilamid, Grup E: egzersiz, Grup A+E: akrilamid + egzersiz

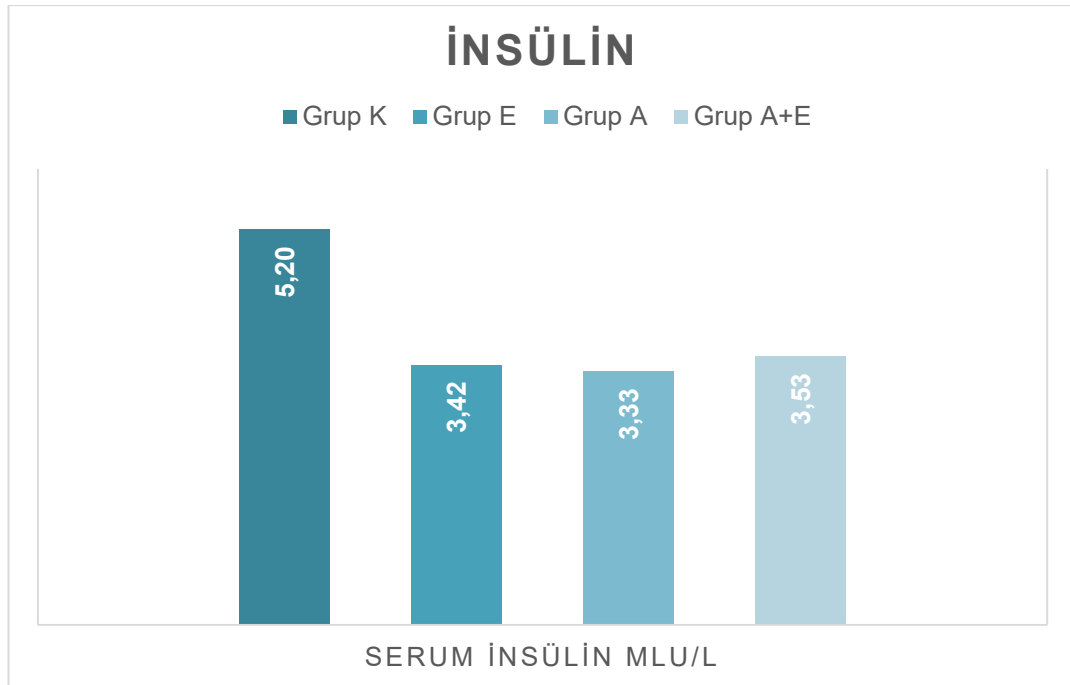
4.4. Serum İnsülin, TOS (Total Oksidan Seviye), TAS (Total Antioksidan Seviye) ve OSİ (Oksidatif Stres İndeksi) Sonuçları

Serumlardan elde edilen ortalama insülin değerlerinin analizi yapıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlılık mevcuttur (Tablo 4.5). Gruplar arası ikili karşılaştırmalarda grup K ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p < 0.008$). Burada grup E, grup A, grup A+E'ye ait ortalama insülin seviyelerinin grup K'den anlamlı derecede düşük olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.5).

Tablo 4.5 Sıçanların serum insülin değerlerinin analizi

Gruplar	Ortalama \pm ss	Medyan	Q ₁	Q ₃	Test ^a	p Değeri
Grup K	5,20 \pm 0,47	4,99	4,82	5,76		
Grup E	3,42 \pm 0,29	3,48	3,27	3,60		
Grup A	3,33 \pm 0,27	3,40	3,07	3,46	16,898	0.001**
Grup A+E	3,53 \pm 0,41	3,60	3,11	3,88		

Q₁: %25'lik çeyrek ayrılış, Q₃: %75'lik çeyrek ayrılış, ss: standart sapma, a: Kruskal-Wallis test değeri, p değeri: istatistiksel anlamlılık, *p<0.05 gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır. Grup K: kontrol, Grup E: egzersiz, Grup A: akrilamid, Grup A+E: akrilamid + egzersiz

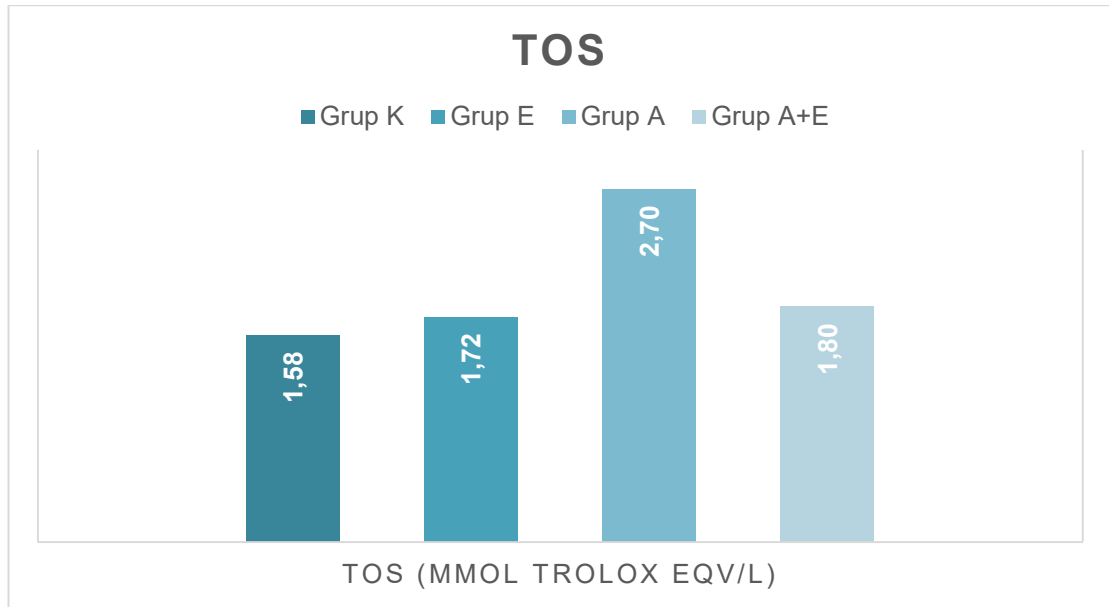
**Şekil 4.5** Gruplara ait ortalama serum insülin değerleri. Grup K: kontrol, Grup E: egzersiz, Grup A: akrilamid, Grup A+E: akrilamid + egzersiz

Serumlardan elde edilen ortalama TOS değerlerinin analizine bakıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlılık bulunamamıştır (Tablo 4.6). Gruplar arası ikili karşılaştırmalarda da anlamlı farklılık görülememiştir ($p>0.008$). Ancak grup A'ya ait ortalama TOS değerinin grup K, grup E, grup A+E ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmasa da daha yüksek seviyeye sahip olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.6).

Tablo 4.6 Sıçanların TOS değerlerinin analizi

Gruplar	Ortalama \pm ss	Medyan	Q ₁	Q ₃	Test ^a	p Değeri
Grup K	1,58 \pm 0,24	1,60	1,45	1,80		
Grup E	1,72 \pm 0,43	1,82	1,46	2,03		
Grup A	2,70 \pm 1,59	2,46	1,29	4,69	2,269	0.519
Grup A+E	1,80 \pm 0,60	1,62	1,33	2,44		

Q₁: %25'lik çeyrek ayrılış, Q₃: %75'lik çeyrek ayrılış, ss: standart sapma, a: Kruskal-Wallis test değeri, p değeri: istatistiksel anlamlılık, *p<0.05 gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır. Grup K: kontrol, Grup E: egzersiz, Grup A: akrilamid, Grup A+E: akrilamid + egzersiz

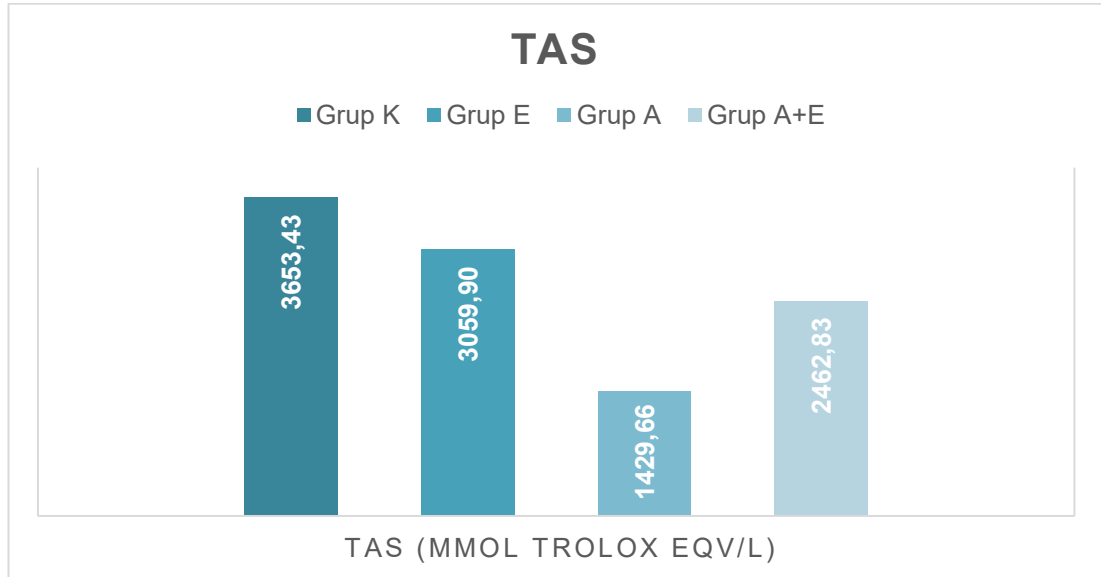
**Şekil 4.6** Gruplara ait ortalama TOS değerleri. Grup K: kontrol, Grup E: egzersiz, Grup A: akrilamid, Grup A+E: akrilamid + egzersiz

Serumlardan elde edilen ortalama TAS değerlerinin analizi sonucu yapılan (Tablo 4.7) gruplar arası ikili karşılaştırmalarda grup K ve grup A arasında istatistiksel fark anlamlı bulunmuştur (p<0.008). Burada grup A'ya ait ortalama TAS değerinin grup K'den anlamlı derecede düşük olduğu gözlenmiştir. Ayrıca grup A+E'ye ait ortalama TAS değerinin grup A ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmasa da daha yüksek seviyeye sahip olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.7).

Tablo 4.7 Sıçanların TAS değerlerinin analizi

Gruplar	Ortalama \pm ss	Medyan	Q ₁	Q ₃	Test ^a	p Değeri
Grup K	3653,43 \pm 709,99	3560,81	2969,59	4284,34		
Grup E	3059,90 \pm 920,95	2775,90	2432,99	3440,54		
Grup A	1429,66 \pm 844,49	1013,96	816,89	2408,78	15,806	0.001**
Grup A+E	2462,83 \pm 414,89	2440,31	2077,13	2871,05		

Q₁: %25'lik çeyrek ayrılış, Q₃: %75'lik çeyrek ayrılış, ss: standart sapma, a: Kruskal-Wallis test değeri, p değeri: istatistiksel anlamlılık, *p<0.05 gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır. Grup K: kontrol, Grup E: egzersiz, Grup A: akrilamid, Grup A+E: akrilamid + egzersiz



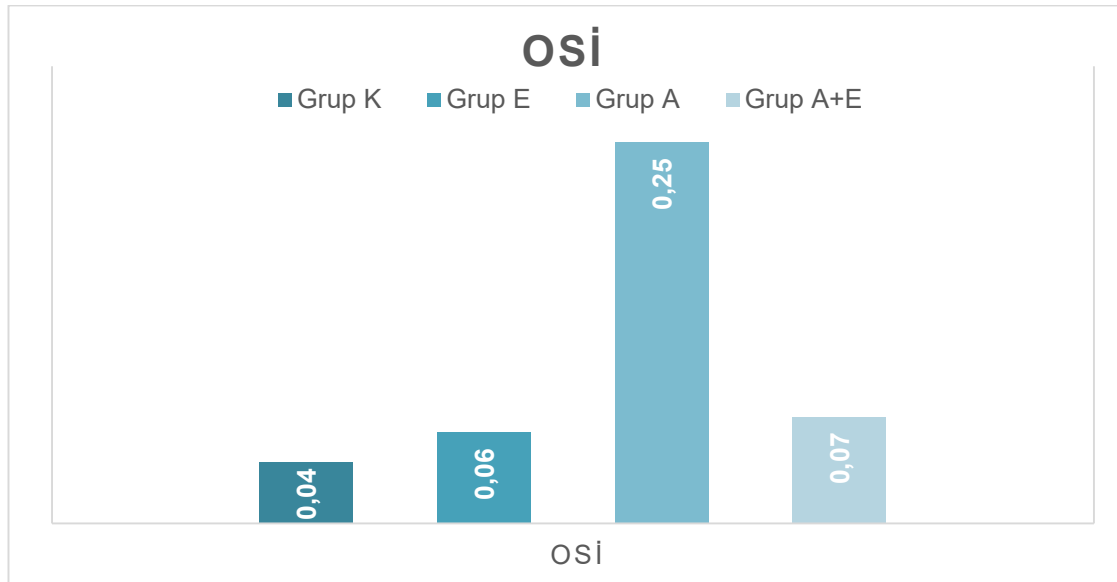
Şekil 4.7 Gruplara ait ortalama TAS değerleri. Grup K: kontrol, Grup E: egzersiz, Grup A: akrilamid, Grup A+E: akrilamid + egzersiz

Ortalama TOS ve TAS sonuçları kullanılarak elde edilen OSİ değerlerinin analizine bakıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlılık bulunmuştur (Tablo 4.8). Gruplar arası ikili karşılaştırmalarda grup A'ya ait OSİ seviyesinin hem grup K hem de grup E ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu gözlenmiştir ($p < 0.008$). Bunun sonucunda akrilamidin oksidatif strese neden olduğu söylenebilir. Ayrıca grup A+E'ye ait OSİ değerinin grup A'dan istatistiksel olarak anlamlı bulunmasa da düşük seviyeye sahip olduğu bulunmuştur (Şekil 4.8).

Tablo 4.8 Sıçanların OSİ değerlerinin analizi

Gruplar	Ortalama \pm ss	Medyan	Q ₁	Q ₃	Test ^a	p Değeri
Grup K	0,04 \pm 0,01	0,04	0,03	0,05		
Grup E	0,06 \pm 0,02	0,06	0,04	0,07		
Grup A	0,25 \pm 0,16	0,21	0,10	0,40	16,645	0.001**
Grup A+E	0,07 \pm 0,03	0,07	0,04	0,10		

Q₁: %25'lik çeyrek ayrılış, Q₃: %75'lik çeyrek ayrılış, ss: standart sapma, a: Kruskal-Wallis test değeri, *p<0.05 gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır. Grup K: kontrol, Grup E: egzersiz, Grup A: akrilamid, Grup A+E: akrilamid + egzersiz

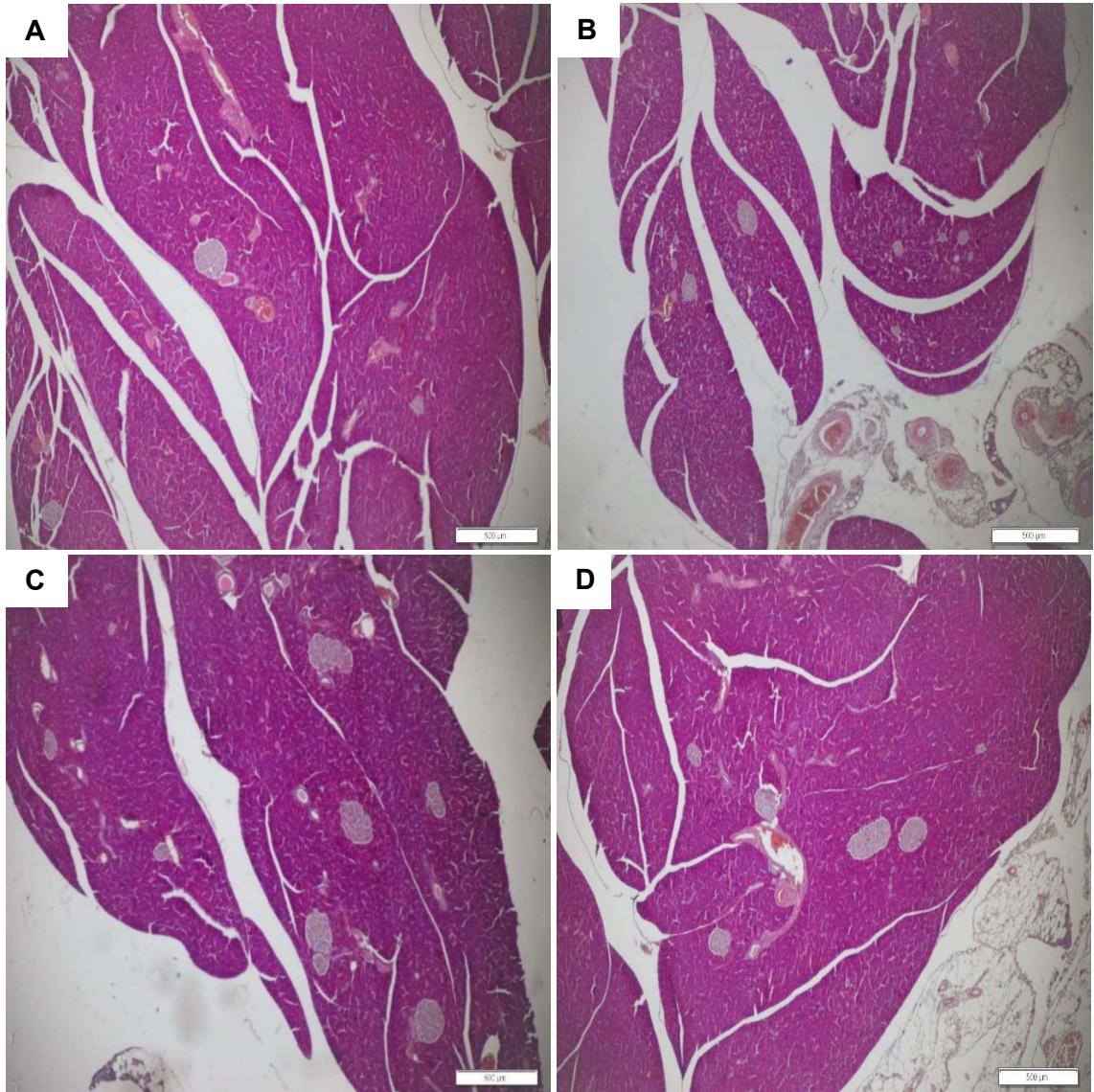


Şekil 4.8 Gruplara ait ortalama TOS ve TAS değerleri kullanılarak elde edilen OSİ değerleri. Grup K: kontrol, Grup E: egzersiz, Grup A: akrilamid, Grup A+E: akrilamid + egzersiz

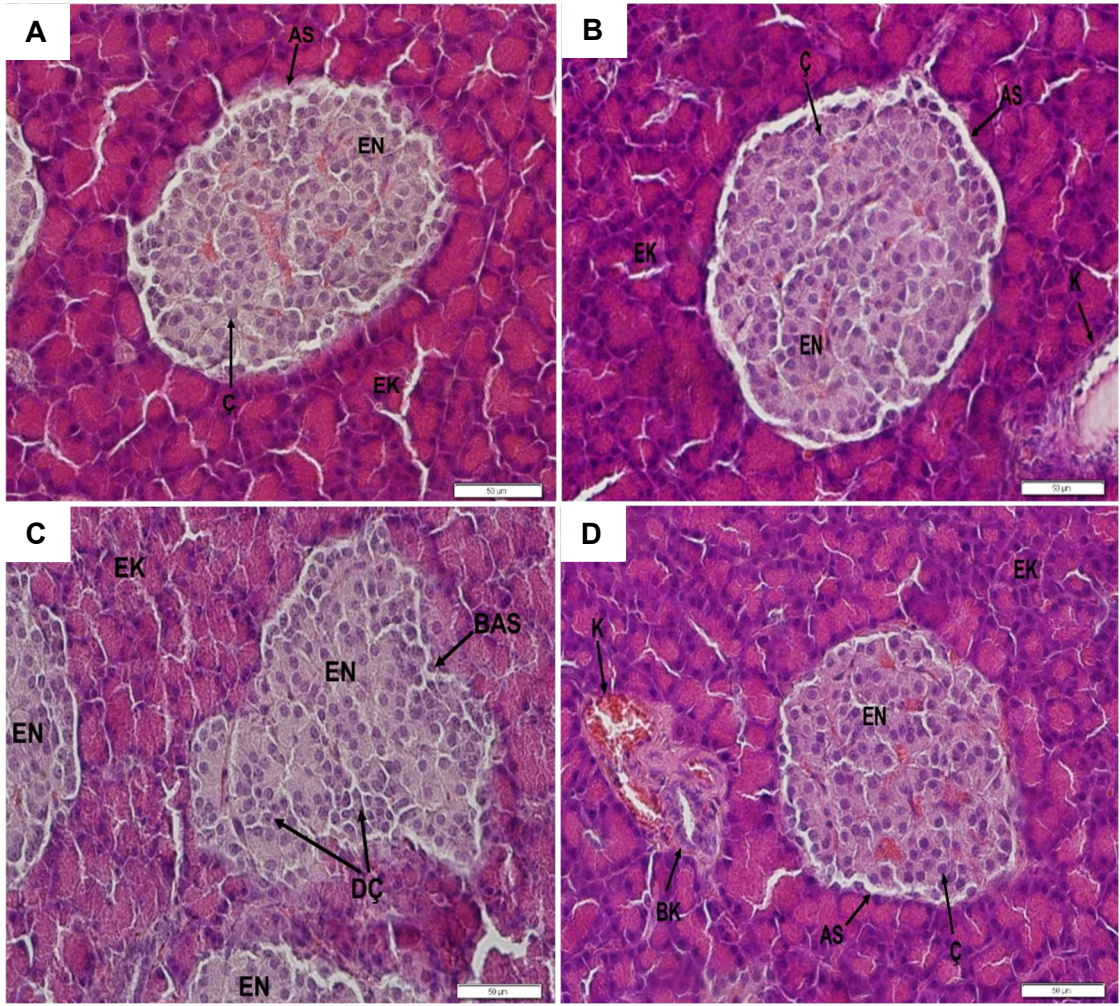
4.5. Hematoksilen & Eozin (H&E) Boyama Sonuçları

Gruplara ait H&E ile boyanmış kesitlerde pankreasın ekzokrin ve endokrin yapıları incelenmiştir (Şekil 4.9). Langerhans adacıklarında düzensiz ve piknotik çekirdeklenme, vakuolleşme, bozulmuş adacık sınırı gibi patolojik bulgular değerlendirilmiştir.

Grup K'ye ait H&E ile boyanmış pankreas kesitleri incelendiğinde ekzokrin ve endokrin yapıların normal görünümde olduğu izlenmiştir. Langerhans adacıklarında patolojik bulgular gözlenmemiştir. Grup K ile karşılaştırıldığında Grup A'ya ait H&E ile boyanmış pankreas kesitlerinin bazılarında adacık sınırının düzensizleştiği ve hücre çekirdeklerinin kümelenme tarzında düzensiz bir görünüme sahip olduğu tespit edilmiştir. Ancak burada adacık hücrelerinde piknotik çekirdeklenme ve vakuolleşme gözlenmemiştir. Grup E ve Grup A+E'nin H&E ile boyanmış pankreas kesitleri incelendiğinde grup K ile benzer şekilde pankreasın ekzokrin ve endokrin yapılarında normal görünüm izlenmiş ve patolojik bulgulara rastlanamamıştır (Şekil 4.10).



Şekil 4.9 A grup K'ye ait, B grup E'ye ait, C grup A'ya ait, D grup A+E'ye ait pankreas dokusu, genel görünüm (H&E, AX4, BX4, CX4, DX4).



Şekil 4.10 A grup K'ye ait, B grup E'ye ait, C grup A'ya ait, D grup A+E'ye ait pankreas dokusu, ekzokrin (EK) ve endokrin (EN) pankreas, kan damarı (K), boşaltım kanalı (BK), adacık sınırı (AS), bozulmuş adacık sınırı (BAS), adacık çekirdeği (Ç), düzensiz çekirdeklenme (DÇ) (H&E, AX40, BX40, CX40, DX40).

4.6. İmmünohistokimyasal Boyama Sonuçları

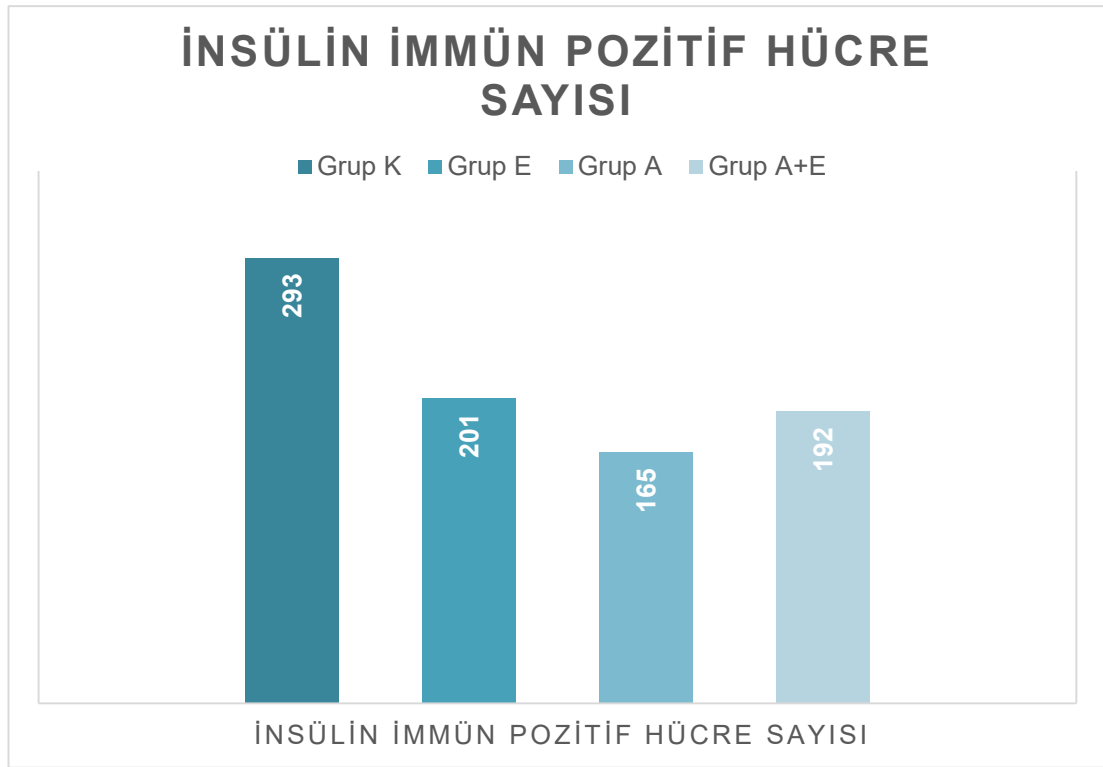
İnsülin antikoru ile immünohistokimyasal yöntemle boyanan tüm pankreas kesitlerinde beta hücrelerinin Langerhans adacığının orta kısmında yer aldığı izlenmiştir. Pozitif insülin ekspresyonu beta hücrelerinin sitoplazmasında koyu kahverengi granüller şeklinde gözlenmiştir. Beta hücrelerine ait insülin immün pozitif hücre sayısı ortalamaları gruplar arasında karşılaştırıldığında (Tablo 4.9) ($p<0.05$) grup K ve grup A arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.008$). Burada grup K'ye kıyasla grup A'da beta hücre sayısı bakımından anlamlı derecede azalma gözlenmiştir. Ayrıca grup A+E'nin istatistiksel olarak anlamlı bulunmasa da grup A ile karşılaştırıldığında beta hücre sayısı bakımından daha yüksek seviyeye sahip olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.11). Gruplara ait Langerhans adacıklarının immünohistokimyasal boyamalarına bakıldığında grup A'ya ait beta hücrelerinin diğer gruplara kıyasla daha az yoğun boyandığı gözlenmiştir (Şekil 4.13, Şekil 4.14).

Glukagon antikoru ile immünohistokimyasal yöntemle boyanan alfa hücrelerinin tüm pankreas kesitlerinde Langerhans adacığının periferinde yer aldığı izlenmiştir. Alfa hücrelerinin sitoplazmasında koyu kahverengi granüller şeklinde pozitif glukagon ekspresyonu gözlenmiştir. Alfa hücrelerine ait glukagon immün pozitif hücre sayısı ortalamalarına bakıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlılık mevcuttur (Tablo 4.10) ($p<0.05$). Gruplar arası ikili karşılaştırmalarda da 4 grup arasında anlamlı farklılıklar bulunmuştur ($p<0.008$). Grup A'nın alfa hücre sayısı bakımından diğer gruplar ile karşılaştırılması sonucunda istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek seviyeye sahip olduğu görülmüştür (Şekil 4.12). Ek olarak tüm grupların pankreas kesitlerinde alfa hücrelerinin glukagon antikoru ile immünohistokimyasal boyama yoğunlukları karşılaştırıldığında grup A'ya ait alfa hücrelerinin diğer gruplara kıyasla daha yoğun boyandığı gözlenmiştir (Şekil 4.15, Şekil 4.16).

Tablo 4.9 İnsülin immün pozitif (beta) hücre sayısının analizi

Gruplar	Ortalama \pm ss	Medyan	Q ₁	Q ₃	Test ^a	p Değeri
Grup K	293 \pm 77	308	216	333		
Grup E	201 \pm 35	202	167	227		
Grup A	165 \pm 54	161	139	186	11,441	0.010**
Grup A+E	192 \pm 50	209	139	227		

Q1: %25'lik çeyrek ayrılış, Q3: %75'lik çeyrek ayrılış, ss: standart sapma, a: Kruskal-Wallis test değeri, *p<0.05 gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır. Grup K: kontrol, Grup E: egzersiz, Grup A: akrilamid, Grup A+E: akrilamid + egzersiz

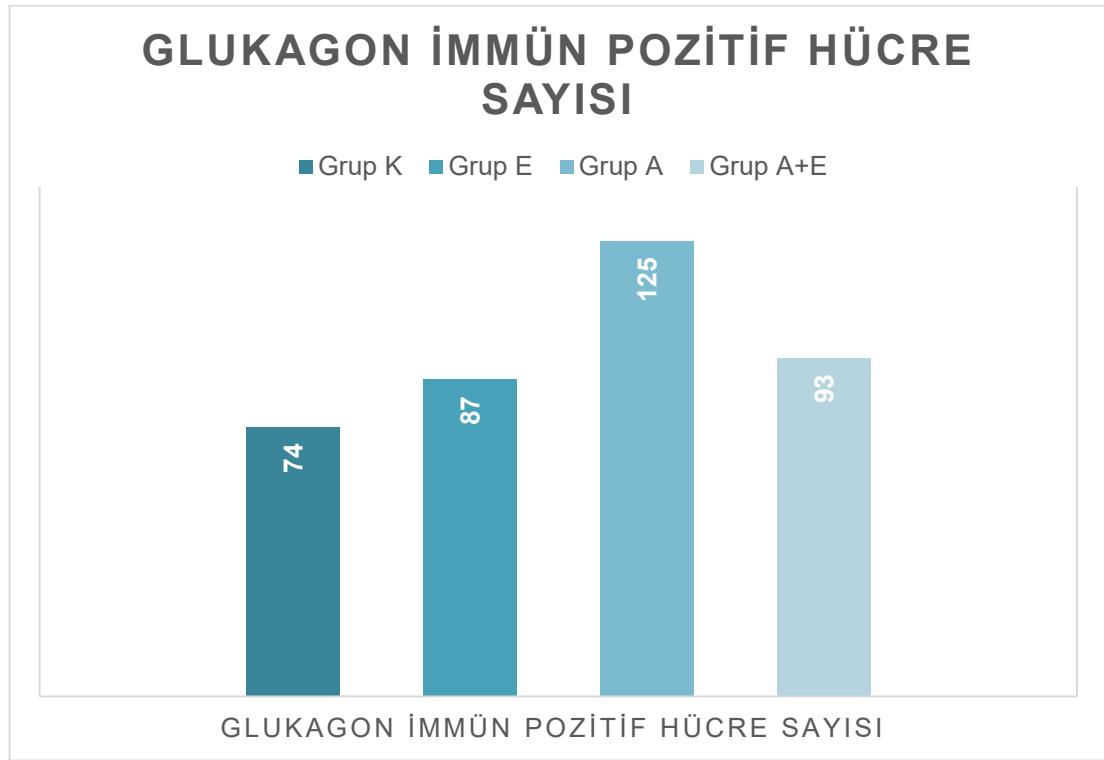


Şekil 4.11 Gruplara ait ortalama insülin immün pozitif hücre sayısı. Grup K: kontrol, Grup E: egzersiz, Grup A: akrilamid, Grup A+E: akrilamid + egzersiz

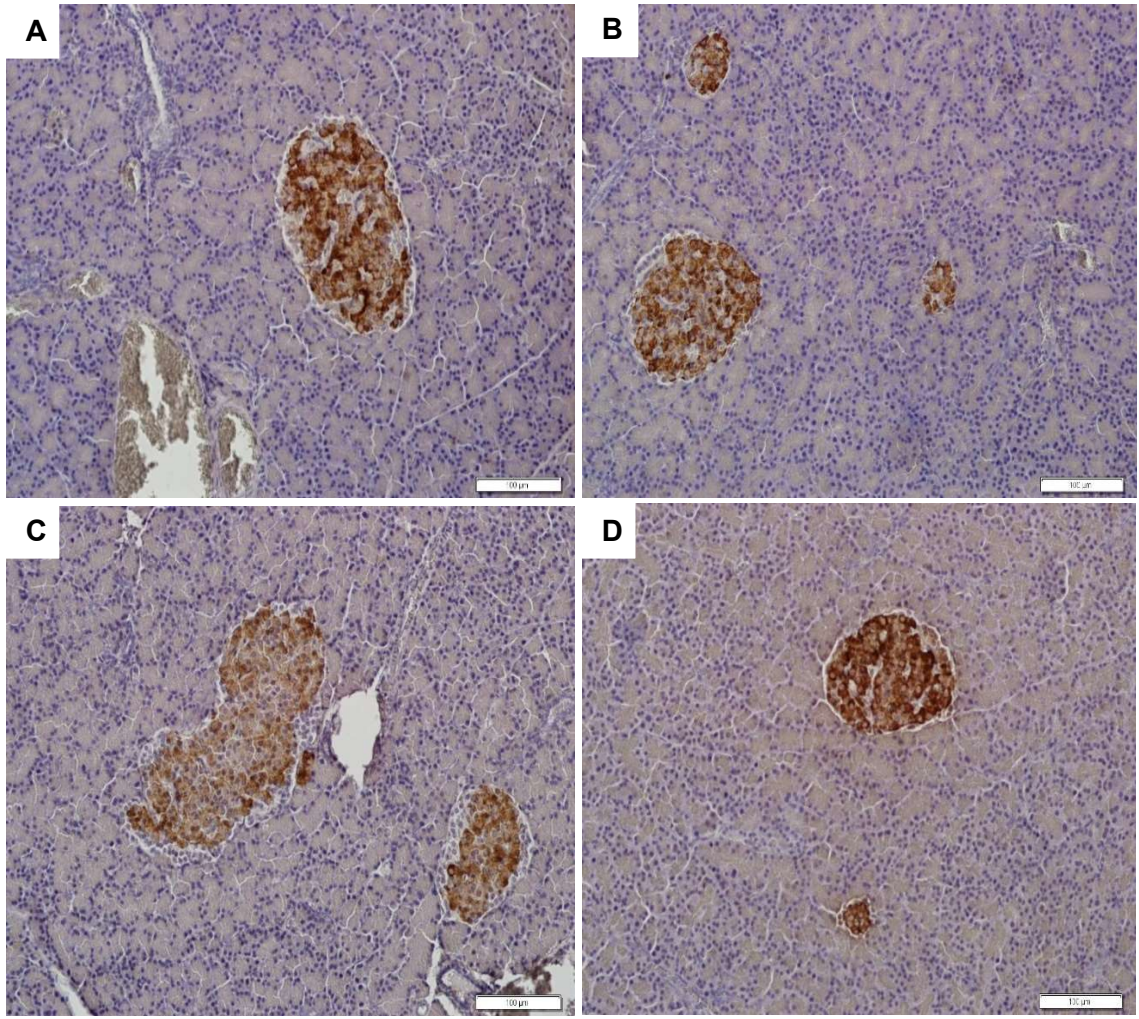
Tablo 4.10 Glukagon immün pozitif (alfa) hücre sayısının analizi

Gruplar	Ortalama \pm ss	Medyan	Q ₁	Q ₃	Test ^a	p Değeri
Grup K	74 \pm 13	74	61	87		
Grup E	87 \pm 17	93	80	99		
Grup A	125 \pm 9	125	122	132	17,982	0.000**
Grup A+E	93 \pm 10	90	83	103		

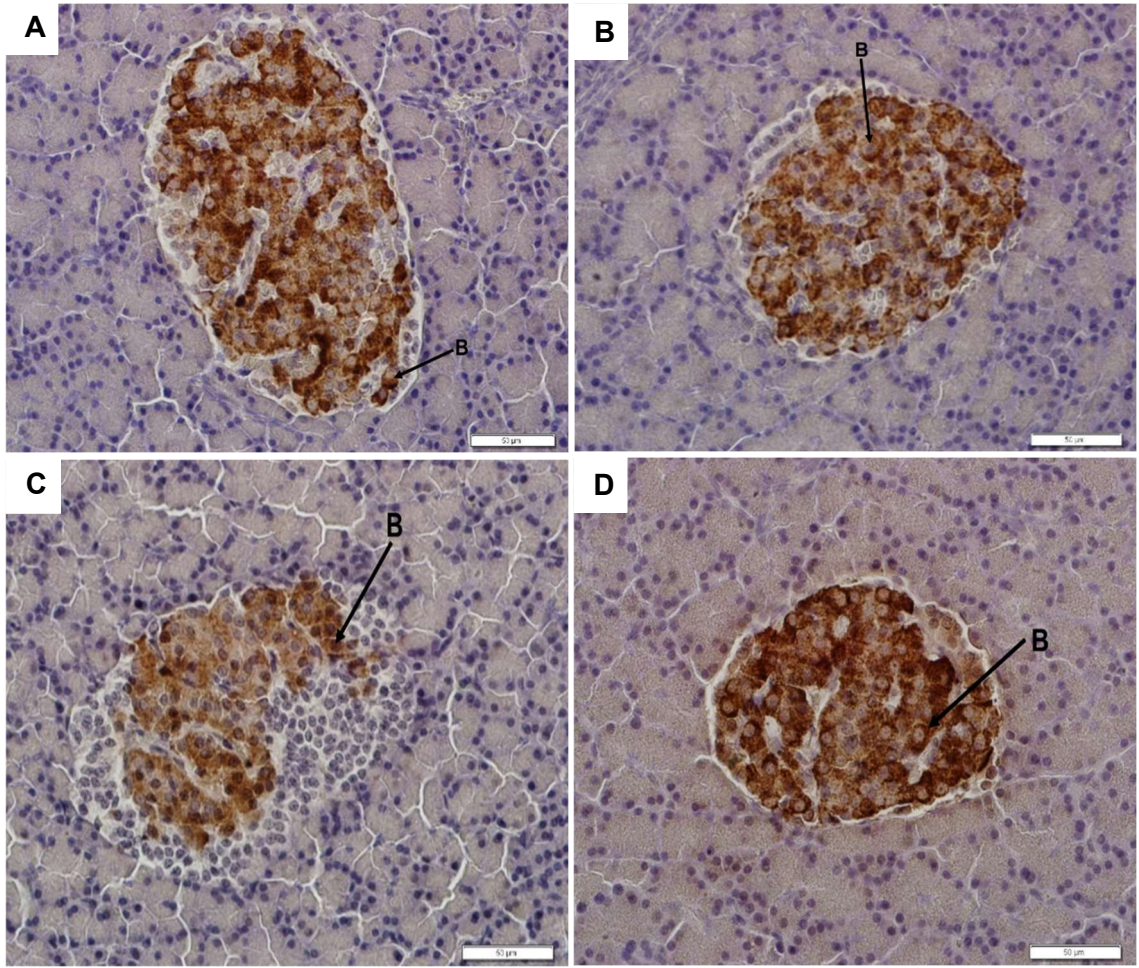
Q₁: %25'lik çeyrek ayrılış, Q₃: %75'lik çeyrek ayrılış, ss: standart sapma, a: Kruskal-Wallis test değeri, *p<0.05 gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır. Grup K: kontrol, Grup E: egzersiz, Grup A: akrilamid, Grup A+E: akrilamid + egzersiz



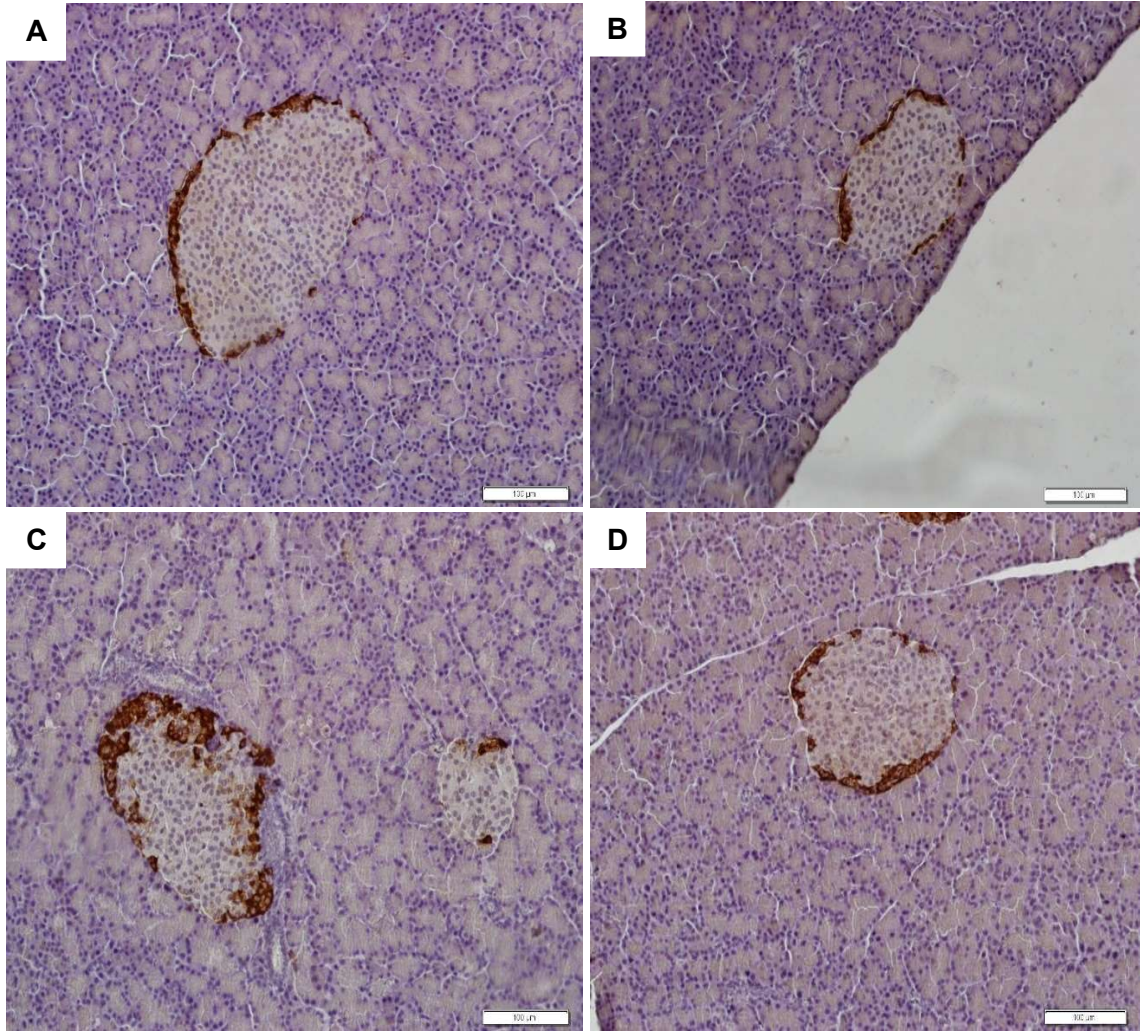
Şekil 4.12 Gruplara ait ortalama glukagon immün pozitif hücre sayısı. Grup K: kontrol, Grup E: egzersiz, Grup A: akrilamid, Grup A+E: akrilamid + egzersiz



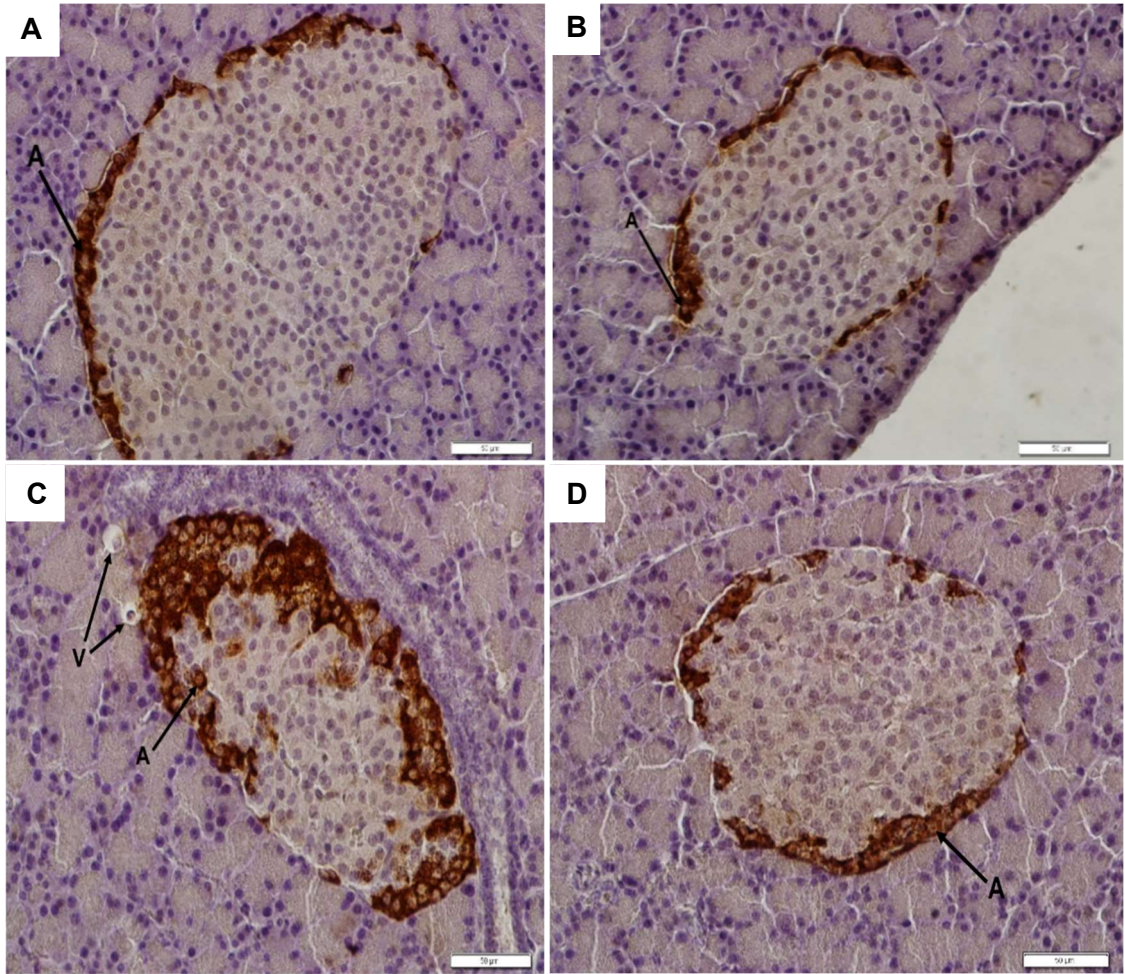
Şekil 4.13 A grup K'ye ait, B grup E'ye ait, C grup A'ya ait, D grup A+E'ye ait pankreas dokusu, genel görünüm (Anti-insülin monoklonal antikoru immünohistokimyasal boyama, AX20, BX20, CX20, DX20).



Şekil 4.14 A grup K'ye ait, B grup E'ye ait, C grup A'ya ait, D grup A+E'ye ait pankreas dokusu, pankreasın beta hücreleri (B) (Anti-insülin monoklonal antikoru immünohistokimyasal boyama, AX40, BX40, CX40, DX40).



Şekil 4.15 A grup K'ye ait, B grup E'ye ait, C grup A'ya ait, D grup A+E'ye ait pankreas dokusu, genel görünüm (Anti-glukagon monoklonal antikorunu immünohistokimyasal boyama, AX20, BX20, CX20, DX20).



Şekil 4.16 A grup K'ye ait, B grup E'ye ait, C grup A'ya ait, D grup A+E'ye ait pankreas dokusu, pankreasın alfa hücreleri (A), vakuolleşme (V) (Anti-glukagon monoklonal antikoru immünohistokimyasal boyama, AX40, BX40, CX40, DX40).

5. TARTIŞMA

Yüksek seviyede kimyasal aktiviteye sahip bir α , β doymamış karbonil bileşiği olarak bilinen akrilamid, endüstriyel ve laboratuvar işlemlerde kullanılmasının dışında karbonhidrat açısından zengin yiyeceklerin yüksek sıcaklıkta ve susuz ortamda pişirilerek hazırlanması sırasında (kızartma, kavurma, fırınlama gibi) meydana gelmektedir. İçme suyu, ekmeek, patates, kahve, tahıl ve çeşitli şekerlemeler gibi sık tüketilen yiyeceklerin işlenmesi sırasında oluşması, bu toksik maddenin günlük olarak alındığına işaret etmektedir. Akrilamidin endokrin bozulma, nörotoksisite, nefrotoksisite, üreme toksisitesi, genotoksisite, klastojenite (kromozoma zarar veren etkiler) ve kanserojenik etkilerinin olması insan sağlığını olumsuz yönde etkilemektedir (El Fakahany vd 2021). Ayrıca akrilamid bu etkilerinin dışında ROT üretimiyle beraber oksidatif stresin oluşmasını sağlayarak oksidan ve antioksidan parametrelerde dengesizlik meydana getirmektedir. Burada serbest radikallerin olumsuz etkilerini önlemeye çalışan antioksidan sistemler yetersiz kalarak birçok hastalığa öncülük etmektedir. Buna dayanarak biyolojik yapıların faaliyetlerini sürdürebilmeleri, oksidan ve antioksidan parametreler arasındaki hassas dengenin sağlanması için yeni stratejilere ihtiyaç vardır (Alturfan vd 2012).

Stošić vd (2018)'nin yaptığı çalışmada akrilamid uygulamasının yetişkin erkek sıçanlarda vücut ağırlığını ve besin tüketimini etkilemediği belirtilmektedir (Stošić vd 2018). Stošić vd (2018)'nin yaptığı çalışmadan farklı olarak mevcut çalışmada akrilamid uygulamasının yetişkin sıçanlarda vücut ağırlığı ve besin tüketimini etkilediği söylenebilir. Ayrıca Kovac vd (2015) yaptıkları çalışmada akrilamid uygulamasının olgunlaşmamış sıçanların vücut ağırlığı ve besin tüketiminde önemli derecede azalmaya neden

olduğunu belirtmektedir (Kovac vd 2015). Bu yönüyle Kovac vd (2015)'nin yaptığı çalışma bizim çalışmamızla paralellik göstermektedir.

Elblehi vd (2020)'nin yaptığı Omega-3 yağ asitlerinin akrilamid ile indüklenen nörotoksisiteye karşı potansiyel iyileştirici etkilerini araştıran bir çalışmada, akrilamidin proinflamatuvar sitokinleri arttırdığı, beyin dokusunda nörotransmitterleri azalttığı ve beyin, beyincik, hipokampus, omurilik dokularında çeşitli dejeneratif değişikliklerin gözlemlendiği belirtilmiştir. Ayrıca çalışmada akrilamidin sıçanlarda anormal yürüyüşe neden olduğu bildirilmiştir. Burada Omega-3 yağ asitlerinin ise akrilamidin neden olduğu nörotoksik etkileri hafifletebildiği gösterilmiştir (Elblehi vd 2020). Bizim çalışmamızda da Elblehi vd (2020)'nin yaptığı çalışmadaki ile paralellik gösterecek şekilde akrilamidin sıçanlarda nörotoksik etkilere neden olduğu söylenebilir. Burada akrilamid uygulanan gruplarda (grup A, grup A+E) deneyin sonuna doğru hayvanların arka bacaklarında hareket bozuklukları ve kontrol kaybı gözlenmiştir. Çalışmamızda akrilamidin neden olduğu nörotoksik etkiler ayrıntılı olarak araştırılmamıştır. Ancak gelecek çalışmalarda akrilamid ve egzersiz ilişkisinin nörotoksik boyutu değerlendirilebilir.

Al-Serwi ve Ghoneim (2015)'in yaptığı akrilamidin toksik etkilerini değerlendiren bir çalışmada 30 yetişkin Sprague-Dawley cinsi erkek sıçan kullanılmış ve sıçanlar 3 gruba (kontrol grubu, grup 2, grup 3) ayrılmıştır. Bu çalışmada akrilamidin dildeki iskelet kası lifleri üzerindeki etkisi ışık ve elektron mikroskobu ile incelenmiş, bununla birlikte E vitamininin olası koruyucu etkileri araştırılmıştır. Burada grup 2 ve grup 3, 20 ve 40 günlük uygulama grupları olmak üzere 2'şer alt gruba ayrılmıştır. Grup 2'ye yalnızca akrilamid (15 mg/kg/günlük), grup 3'e akrilamid ile (15 mg/kg/günlük) birlikte E vitamini (100 mg/kg/günlük) takviyesi oral gavaj yöntemiyle uygulanmıştır. Böylece akrilamid maruziyetinin, sıçan dil dokusunda oksidatif stres kaynaklı iskelet kası hasarına yol açabileceği ve bu hasarın uzun süreli uygulamada artış gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca akrilamidin neden olduğu toksik etkinin antioksidan E vitamini takviyesiyle azaltılabileceği belirtilmektedir (Al-Serwi ve Ghoneim 2015). Bizim çalışmamızda da akrilamidin oksidatif stres yaratma ihtimaline karşı yüzme egzersizinin olası koruyucu etkileri incelenmiştir. Burada egzersizin antioksidan takviyesine benzer şekilde bir etkisinin olup olmadığı düşünülmüştür. Bunun için mevcut çalışma kapsamında 32 adet yetişkin Sprague-Dawley cinsi erkek sıçan kullanılmış olup hayvanlar grup K, grup E, grup A ve grup A+E olmak üzere 4 gruba ayrılmıştır. Çalışma sonunda 4 grup birbiriyle karşılaştırılmış ve egzersizin, akrilamid uygulanan sıçanlardaki etkisi değerlendirilmiştir.

Marković vd (2018)'nin yaptığı çalışmada subkronik akrilamid maruziyetinin Langerhans adacığındaki endokrin hücrelerde oksidan, antioksidan parametreler ve

CYP2E1 ekspresyonu üzerindeki olası etkileri araştırılmıştır. Çalışmada 30 genç Wistar Albino cinsi erkek sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar, kontrol grubu ve farklı dozlarda akrilamid uygulanan 2 grup olacak şekilde 3 gruba ayrılmıştır. 3 hafta boyunca haftada 5 gün 1. grup 25 mg/kg/günlük ve 2. grup 50 mg/kg/günlük distile suda çözdürülmüş akrilamid verilecek şekilde oral yoldan uygulama yapılmıştır. Histolojik inceleme için, Mallory-Azan yöntemi kullanılarak pankreas kesitleri boyanırken indüklenbilir nitrik oksit sentaz (İNOS), SOD1, SOD2, CAT ve CYP2E1 ekspresyon analizleri için immünohistokimyasal boyama yöntemi kullanılmıştır. Sonuç olarak akrilamide maruziyetin beta hücrelerinin redoks durumunu etkilediği ve enzim aktivitelerinde bozulmaya neden olduğu belirtilmektedir. Beta hücrelerinde GST aktivitesinde, lipid peroksidasyonunda, nitrit seviyesinde artış ve GSH, CAT, SOD aktivitelerinde azalma gözlenmiştir. Ek olarak akrilamid verilen sıçanların Langerhans adacıklarında İNOS'ta artış ve CYP2E1 ekspresyonunda azalma gözlenirken akrilamidin antioksidan enzimlerin ekspresyonunu önemli ölçüde etkilemediği tespit edilmiştir (Marković vd 2018). Bizim çalışmamızda da Marković vd (2018)'nin yaptığı çalışmadaki gibi 50 mg/kg/günlük akrilamid uygulama dozu olarak belirlenmiştir. Burada sıçanların vücut ağırlığına uygun olacak şekilde 4 hafta boyunca haftada 5 gün oral gavaj yöntemiyle 50 mg/kg/günlük akrilamid verilmiş ve endokrin pankreas üzerinde toksisite oluşturulmuştur. Ayrıca akrilamidin endokrin pankreas üzerindeki olası etkilerinin değerlendirilmesi için beta ve alfa hücrelerinin gösterilmesinde immünohistokimyasal boyama yönteminden yararlanılmıştır. Burada histolojik boyama yöntemi olarak H&E boyama prosedüründen faydalanılmış ve pankreastaki endokrin ve ekzokrin yapılar incelenmiş, patolojik bulguların var olup olmadığı değerlendirilmiştir.

Yousef ve El-Demerdash (2006)'ın yaptığı çalışmada 56 yetişkin Sprague-Dawley cinsi erkek sıçan kullanılmış ve sıçanlar 7 gruba ayrılmıştır. 1. grup kontrol, 2., 3., 4., 5., 6. ve 7. gruplar sırasıyla 0.5, 5, 25, 50, 250 ve 500 mg/kg/günlük akrilamid verilecek şekilde 10 hafta boyunca uygulama yapılmıştır. Böylece farklı dozlardaki akrilamidin erkek sıçanlarda lipid peroksidasyonu ve enzim aktiviteleri üzerindeki toksisitesini araştırmayı amaçlamışlardır. Uygulanan akrilamid konsantrasyonlarının çoğu, farklı organlarda -SH grupları ve protein içeriğinde önemli bir azalmaya neden olmuştur. 25, 50, 250 veya 500 mg/kg/günlük akrilamid verilen sıçanların karaciğer ve testislerinde aspartat transaminaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), alkalin fosfataz (ALP), asit fosfataz (ACP) aktiviteleri önemli oranda azalma göstermiştir. Ayrıca dozla doğru orantılı olarak akrilamide maruz kalmanın organ hasarı riskini arttırdığı, hayvanların vücut ağırlığında azalmaya neden olduğu gösterilmektedir. Sonuç olarak

akrilamidin oksidatif durum ve enzim aktivitelerinde bozulmalara neden olduğu ve toksik etkinin yüksek dozlarda belirginleştiği bildirilmiştir (Yousef ve El-Demerdash 2006).

Deneysel çalışmalarda, akrilamid kaynaklı toksisitede oksidatif stres önemli bir belirteçtir. Burada hücreler tarafından üretilen antioksidanlar plazma ya da seruma verilerek toksik etkiler azaltılmaya çalışılır. Ancak antioksidanların yetersizliği dokularda oksidatif stres kaynaklı hasar meydana getirebilmektedir. Mevcut çalışma kapsamında da ortalama TOS, ortalama TAS seviyeleri ölçülmüş ve oksidatif stres seviyesinin bir göstergesi olan OSİ hesaplanmıştır. Çalışmada serumlardan ölçülen ortalama TOS değerinin diğer gruplar ile karşılaştırıldığında 50 mg/kg/günlük akrilamid uygulanan grup A'da istatistiksel olarak anlamlı bulunmasa da daha yüksek seviyede olduğu gözlenmiştir. Bununla beraber grup A ortalama TAS değeri bakımından grup K ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük seviyeye sahip olduğu bulunmuştur. Grup A'ya ait OSİ değerinin ise grup K ve grup E ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek seviyeye sahip olduğu gözlenmiştir. Ayrıca grup A'ya ait OSİ değerinin grup A+E ile karşılaştırıldığında anlamlı bulunmasa da daha yüksek seviyeye sahip olduğu bulunmuştur. Sonuç olarak mevcut çalışmada literatürdeki bilgiler ile paralellik gösterecek şekilde 4 hafta boyunca haftada 5 gün uygulanan 50 mg/kg/günlük akrilamidin hayvanda oksidatif stresi artırarak antioksidanlarda azalmaya neden olduğu söylenebilir. Burada grup A+E'de görülen değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır. Ancak anlamlı bulunmasa da grup A+E grup A ile karşılaştırıldığında ortalama TOS seviyesi bakımından düşük, ortalama TAS seviyesi bakımından yüksek ve OSİ seviyesi bakımından düşük değerlere sahipti. Bu durum akrilamid toksisitesine karşı egzersizin kısmen de olsa oksidatif stres üzerinde olumlu bir etkisinin bulunabileceğini gösterebilir.

Glikoz homeostazı organizmaların yaşamsal faaliyetlerini sürdürebilmeleri için önemlidir. Çevresel kirlenmeler de dahil olmak üzere birçok faktörün diyabetle ilişkili hiperglisemiye katkıda bulunan glikoz metabolizması bozukluklarına neden olabileceği belirtilmektedir. Bir gıda kirlenici olarak bilinen akrilamidin glikoz metabolizmasına müdahale ederek, insülinin fizyolojik etkisini bozarak glikoz homeostazını bozduğu ve AKŞ seviyesini yükselttiği bildirilmiştir. Bu nedenle Yue vd (2020) yaptıkları çalışmada dişi Sprague-Dawley cinsi sıçanlarda akrilamidin AKŞ seviyesi, plazma insülin seviyesi, hepatic glikojen içeriği, pankreas histolojisi ve ilgili genlerin transkripsiyonu üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Burada 48 yetişkin dişi sıçan, kontrol grubu ve farklı dozlarda akrilamid uygulanan 2 grup olacak şekilde 3 gruba ayrılmıştır. Akrilamid uygulanan 2 gruba sırasıyla 3 hafta süreyle oral yoldan 15 ve 30 mg/kg/günlük madde distile suda

çözdürülerek verilmiştir. Sonuç olarak kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 30 mg/kg/günlük akrilamide maruz kalma AKŞ seviyesini önemli ölçüde arttırmış, hepatik glikojen içeriğini azaltmış ve glikoz toleransını bozduğu gösterilmiştir. Ayrıca 15 ve 30 mg/kg/günlük akrilamide maruz kalan gruplarda plazma insülin seviyelerinde önemli oranda azalma ve hasarlı pankreatik adacıklar gözlemlendiği bildirilmiştir. Bu süreçteki değişikliklerin plazma insülin seviyesinin azalmasıyla ve akrilamid maruziyeti altında insülinle ilişkili genlerin (IRS/PI3K/Akt/Foxo1) transkripsiyonunun engellenmesiyle ilgili olabileceği belirtilmektedir (Yue vd 2020). Mevcut çalışma kapsamında da Yue vd (2020)'nin yaptığı çalışma ile paralellik gösterecek şekilde akrilamidin glikoz homeostazı üzerinde neden olabileceği etkiler değerlendirilmiştir. Burada egzersizin düzenleyici bir etkisinin olma ihtimali düşünülmüş ve buna uygun olarak gruplar arasında karşılaştırmalar yapılmıştır.

Egzersiz eğitimi birçok hastalığın tedavisinde farmakoterapiye destekleyici olarak tavsiye edilmektedir. Literatürde fiziksel egzersizin pankreasta beta hücreleri tarafından salgılanan insülin hormonu üzerinde düzenleyici bir etkisinin olduğu belirtilmektedir. Bu amaçla Almeida vd (2012) yaptıkları çalışmada Wistar Albino cinsi erkek sıçanlarda fiziksel egzersizin pankreas adacıklarının işlevselliği üzerinde (kronik adaptasyonlar ve akut yanıtlar) bir rolünün olup olmadığını incelemişlerdir. Sıçanlar sedanter kontrol ve egzersiz grubu olacak şekilde 2'ye ayrılmıştır. Burada sıçanlara koşu bandında 8 hafta boyunca kademeli olarak artan bir koşu protokolü uygulanmıştır. Daha sonra sıçanların retroperitoneal deri altı yağ dokuları alınmış ve pankreas adacıklarından glikoz, lösin, arginin, karbakol tarafından uyarılan toplam insülin içeriği analiz edilmiştir. Sonuç olarak vücut yağlanmasının ve glikoz homeostazının kronik fiziksel egzersizle düzenlendiği, egzersizin kronik adaptasyon ile pankreas adacıklarından insülin salgılanması üzerinde olası bir modüle edici etkisinin olduğu belirtilmektedir (Almeida vd 2012).

Egzersizin neden olduğu bu değişiklikler doğrultusunda mevcut çalışmada da 4 hafta boyunca uygulanan 50 mg/kg/günlük akrilamidin glikoz metabolizması üzerindeki olası etkileri incelenmiş ve burada 4 hafta boyunca günde 1 saat uygulanan yüzme egzersizinin koruyucu etkisinin olup olmadığı araştırılmıştır. Çalışmada sıçanlara OGTT uygulanmış, ortalama AKŞ ve ortalama serum insülin seviyesine bakılmıştır. Hayvanların ortalama AKŞ seviyelerine bakıldığında grup A+E'ye ait ortalama AKŞ'nin grup K'den istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca grup A'nın istatistiksel olarak anlamlı bulunmaması da grup K'ye kıyasla ortalama AKŞ seviyesi bakımından daha yüksek seviyeye sahip olduğu gözlemlenmiştir. Ortalama OGTT 30., 45., 60. ve 120. dk değerlerine bakıldığında grup A, grup A+E'nin genel olarak grup K ve grup

E'ye kıyasla yüksek ve birbirlerine yakın değerlere sahip olduğu gözlenmiştir. Ortalama insülin seviyelerine bakıldığında ise grup K ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur. Sonuç olarak grup E, grup A, grup A+E'ye ait insülin seviyelerinin grup K'den anlamlı derecede düşük olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlar Yue vd (2020)'nin yaptığı çalışmaya benzer şekilde akrilamid uygulamasının ortalama AKŞ, OGTT değerlerinde yükselmeye ve ortalama serum insülin seviyesinde düşmeye neden olduğu söylenebilir. Bununla beraber akrilamidin toksik etkilerine karşı egzersizin ortalama AKŞ, OGTT ve ortalama serum insülin seviyelerinde belirgin değişiklikler yaratmadığı gözlenmiştir. Burada literatürden farklı olarak akrilamid toksisitesine karşı 4 hafta boyunca uygulanan aerobik egzersizin glikoz homeostazı üzerinde anlamlı derecede değişikliğe neden olmadığı söylenebilir.

Stošić vd (2018)'nin yaptığı çalışmada akrilamidin beta hücrelerinde azalmaya ve alfa hücrelerinde artışa neden olduğu belirtilmektedir. Çalışmada 30 adet yetişkin erkek Wistar Albino cinsi sıçan kontrol grubu ve farklı dozlarda (25 ve 50 mg/kg/günlük) akrilamid uygulanan 2 grup olacak şekilde 3 gruba ayrılmıştır. Akrilamid grupları 3 hafta boyunca haftada 5 gün oral gavaj yöntemiyle subkronik olarak akrilamide maruz bırakılmıştır. Çalışmada glukagon ve insülin ekspresyonunun kalitatif, kantitatif immünohistokimyasal değerlendirmesi ve pankreas alfa, beta hücrelerinin stereolojik analizleri yapılmıştır. Değerlendirmeler sonucunda akrilamidin Langerhans adacığında alfa hücrelerinde artışa ve beta hücre kütlelerinde azalmaya yol açtığı bulunmuştur. Beta hücre kütlelerindeki azalma normoglisemiyi sürdürmek için kalan fonksiyonel beta hücrelerinin iş yükünün artmasına yol açtığı ve beta hücrelerinin aşırı çalışmasına neden olduğu belirtilmektedir. Alfa, beta hücre oranındaki dengesizlik diyabeti tetikleyeceğinden subkronik akrilamid maruziyetinin artan diyabet insidansına katkıda bulunduğu bildirilmiştir (Stošić vd 2018). Mevcut çalışmada da 4 hafta boyunca 50 mg/kg/günlük uygulanan akrilamidin beta, alfa hücrelerinde yarattığı etkiler immünohistokimyasal yöntemle değerlendirilmiş ve çekirdek sayımı yapılmıştır. Burada Stošić vd (2018)'nin yaptığı çalışmadaki gibi akrilamid uygulaması grup A'da alfa hücrelerinde artışa neden olmuştur. Ayrıca beta hücrelerinde grup K'ye kıyasla grup A'da anlamlı derecede azalma gözlenmiştir. Sonuç olarak Stošić vd (2018)'nin yaptığı çalışmadakine benzer şekilde 50 mg/kg/günlük akrilamid uygulamasının Langerhans adacığında değişimler meydana getirdiği söylenebilir. Ayrıca Langerhans adacıklarına bakıldığında diğer gruplarla karşılaştırıldığında grup A'nın immünohistokimyasal boyamalarında pankreasın beta hücreleri adacığın orta kısmında daha az yoğun şekilde boyanırken adacığın alfa hücrelerinin ise periferde yoğun şekilde boyandığı gözlenmiştir. İmmünohistokimyasal sonuçlara ek olarak grup A'nın H&E boyamalarına bakıldığında grup K, grup E, grup A+E

ile karşılaştırıldığında pankreasın endokrin yapılarında anormal görünümler izlenmiştir. Diğer gruplara kıyasla grup A'nın Langerhans adacıklarında düzensiz çekirdeklenme ve bozulmuş adacık sınırı gibi patolojik bulgular gözlenmiştir.

Calegari vd (2012) yaptıkları çalışmada erkek Wistar Albino cinsi sıçanların pankreatik adacıklarında beta hücre büyümesi ve redoks dengesi üzerinde endurans egzersiz eğitiminin olası etkilerini araştırmışlardır. Sıçanlar egzersiz ve sedanter kontrol grubu olacak şekilde 2'ye ayrılmıştır. Endurans egzersiz eğitimi 8 hafta boyunca haftada 5 gün, günde 1 saat olacak şekilde koşu bandında uygulanmıştır. Sonrasında pankreatik adacıklardaki beta hücre fonksiyonuna, gen ekspresyonuna, büyüme ve apoptotik yollarla ilgili proteinlerin içeriğine bakılmıştır. Ayrıca antioksidan enzimler sırasıyla gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu ve Western Blot analizi ile değerlendirilmiştir. Sonuç olarak endurans egzersiz eğitiminin AKT ve ERK1/2 yollarını aktive ederek, antioksidan kapasiteyi arttırarak, ROT üretimini ve apoptotik protein içeriğini azaltarak beta hücre büyüme ve hayatta kalma yollarını desteklediği gösterilmektedir (Calegari vd 2012). Literatürdeki çalışmalarda belirtildiği ve bizimde mevcut çalışmada bulduğumuz gibi akrilamid uygulaması Langerhans adacığını etkilemektedir. Calegari vd (2012) yaptıkları çalışmada egzersizin Langerhans adacığında modüle edici bir etkisinin olduğunu belirtmiştir. Mevcut çalışmada da akrilamid toksisitesine karşı egzersizin beta ve alfa hücre kütleleri üzerinde olumlu etkilerinin bulunabileceği düşünülmüştür.

ImageJ programındaki ölçüm sonucu insülin immün pozitif hücre sayısı bakımından grup K ve grup A arasında anlamlı farklılık bulunmuştur. Grup K ile karşılaştırıldığında grup A'da insülin immün pozitif hücre sayısı bakımından anlamlı derecede azalma gözlenmiştir. Beta hücre sayısı bakımından grup E, grup A+E ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamamıştır. Ancak grup A ile karşılaştırıldığında grup E ve grup A+E'nin anlamlı fark bulunmasa da insülin immün pozitif hücre sayısı bakımından daha yüksek değere sahip olduğu gözlenmiştir. Glukagon immün pozitif hücre sayısı bakımından grup A ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur. Grup K, grup E, grup A+E ile karşılaştırıldığında grup A'da alfa hücre sayısı bakımından anlamlı derecede artış gözlenmiştir. Sonuç olarak 50 mg/kg/günlük akrilamid uygulaması adacıkların alfa ve beta hücre sayılarını etkilemiştir. Burada grup A'ya kıyasla grup A+E'de görülen değişiklikler akrilamidin Langerhans adacığında yarattığı olumsuz etkilere karşı yüzme egzersizinin kısmen de olsa olumlu etkilerinin bulunabileceğini göstermektedir. Ayrıca literatürdeki çalışmalara benzer şekilde mevcut çalışmada da egzersizin antioksidanlarda artışa ve oksidatif strese azalmaya neden olduğu söylenebilir. Burada 4 hafta boyunca 50 mg/kg/günlük akrilamide maruziyet oksidatif strese neden olmuştur.

Akrilamid kaynaklı oksidatif stresin beta ve alfa hücre kütlelerinde meydana getirdiği değişimler üzerinde yüzme egzersizinin kısmen de olsa hafifletici etkileri bulunmaktadır.

İmmünohistokimyasal boyamalarda endokrin pankreas için elde edilen sonuçlara ek olarak Grup A'da ekzokrin pankreasta değişimler gözlenmiştir. Burada ekzokrin pankreasta vaukolleşmeler mevcuttu. Bu durum akrilamid uygulamasının ekzokrin pankreasta değişimlere neden olabileceğini göstermektedir.

Mevcut çalışma sonucunda akrilamidin zararlı etkilerine karşı yüzme egzersizinin kısmen de olsa hafifletici etkilerinin olduğu bulunmuştur. Çalışma akrilamidin pankreas hasarı üzerindeki etkisini değerlendirme ve yüzme egzersizinin koruyucu etkisinin olup olmadığının belirlenmesi açısından sonraki çalışmalara basamak teşkil edebilir. Burada akrilamide maruziyetin yüzme egzersiziyle beraber 4 haftadan (20 gün) daha uzun süre uygulanmamış olması çalışmanın eksik yönü olarak nitelendirilebilir. Gelecek çalışmalarda günlük olarak maruz kalınma olasılığı yüksek olan akrilamidin daha uzun uygulanmasının farklı organ ve sistemler üzerindeki etkisinin ayrıntılı olarak değerlendirilmesine ve egzersizin koruyucu rolünün araştırılmasına ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

6. SONUÇ

Mevcut çalışma kapsamında 4 hafta boyunca 50 mg/kg/günlük akrilamid uygulaması sıçanların vücut ağırlığında azalmaya neden olmuştur. Ayrıca 4 hafta boyunca 50 mg/kg/günlük akrilamid uygulanan gruplarda (grup A, grup A+E) deneyin sonuna doğru hayvanların arka bacaklarında hareket bozuklukları meydana gelmiştir.

Grupların ortalama AKŞ seviyelerine bakıldığında grup A+E en yüksek seviyeye sahipti. Ortalama OGTT seviyesi ise en düşük grup K ve grup E'deydi. Grup A'da ortalama OGTT seviyesi bakımından zamana göre değişim belirgin olarak gözlenmiştir. Bu durum akrilamid uygulamasının glikoz homeostazında değişikliklere neden olduğunu göstermektedir. Ancak akrilamid uygulamasıyla beraber egzersizin anlamlı derecede olumlu etkilerinin bulunduğu gözlenmemiştir.

Ortalama serum insülin seviyesine bakıldığında grup K en yüksek seviyeye sahipti. Grup A, grup E, grup A+E'nin ortalama serum insülin seviyelerinin birbirine yakın değerlere sahip olduğu gözlemlendi. Bu durum grup K dışındaki grupların enerji ihtiyacındaki artışı ve kandaki glikozu yüksek seviyede tutmak için serum insülin seviyesindeki azalmayı açıklayabilir.

4 hafta boyunca 50 mg/kg/günlük akrilamid uygulaması grup A'da istatistiksel olarak anlamlı bulunmasa da ortalama TOS'u arttırmış ve ortalama TAS'ı azaltmıştır. Sonuç olarak akrilamid uygulaması sıçanlarda oksidatif strese neden olmuştur. Ayrıca grup A ile karşılaştırıldığında grup A+E'nin istatistiksel olarak anlamlı bulunmasa da ortalama TAS seviyesi yüksek, ortalama TOS ve OSİ seviyesi ise düşüktü. Bu değerler grup K ve grup E'de diğer gruplara kıyasla birbirine yakın değerlere sahipti. Sonuç olarak akrilamidin neden olduğu oksidatif stres üzerinde egzersizin istatistiksel olarak anlamlı

derecede bulunmasa da ortalama TOS ve OSİ seviyesini düşürdüğü, ortalama TAS seviyesini yükselttiği söylenebilir.

4 hafta boyunca 50 mg/kg/günlük akrilamid uygulaması histopatolojik (bozulmuş adacık sınırı ya da düzensiz çekirdeklenme) olarak Langerhans adacıklarında değişim meydana getirmiştir. Ayrıca grup A'nın immünohistokimyasal boyama sonuçları grup K ile karşılaştırıldığında beta hücre sayısında azalma meydana geldiğini göstermiştir. Burada alfa hücre sayısı bakımından da grup A'da diğer gruplarla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede artış olduğu gözlenmiştir.

Grup A+E'nin beta hücre sayısı grup A ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olmasa da daha fazla sayıda olduğu gözlenmiştir. Grup A+E'nin alfa hücre sayısının grup A'ya göre daha az olduğu tespit edilmiştir. Bu durum egzersizin akrilamid toksisitesi üzerinde olası olumlu etkilerinin bulunabileceğini gösterebilir. Ayrıca hücrelerin immünohistokimyasal olarak boyanma yoğunluklarına bakıldığında diğer gruplara göre grup A'ya ait beta hücrelerinin daha az yoğun boyandığı ve alfa hücrelerinin ise daha yoğun boyandığı gözlenmiştir.

Sonuç olarak 4 hafta boyunca 50 mg/kg/günlük akrilamid uygulaması Langerhans adacığında değişimler meydana getirmiştir. Akrilamid kaynaklı oksidatif stresin beta ve alfa hücre kütlelerinde meydana getirdiği değişimler üzerinde yüzme egzersizinin koruyucu etkisi kısmen de olsa bulunmaktadır.

Mevcut çalışmanın sonuçları 4 haftalık yüzme egzersizinin akrilamid uygulamasına karşı istatistiksel olarak anlamlı olmasa da hafifletici etkilerinin olduğunu göstermiştir. Akrilamidin endokrin pankreasta meydana getirdiği değişikliklere karşı koruyucu stratejiler geliştirilmelidir. Burada yüzme egzersizi kısmen de olsa tavsiye edilebilir. Verilerimiz akrilamidin zararlı etkilerine karşı aerobik egzersizin önemini vurgulamaktadır.

7. KAYNAKLAR

Adamu B, Sani MU, Abdu A. Physical exercise and health: A review. ***Nigerian Journal of Medicine*** 2006; 15 (3): 190-196.

Alessio HM, Blasi ER. Physical Activity as a Natural Antioxidant Booster and its Effect on a Healthy Life Span. ***Research Quarterly for Exercise and Sport*** 1997; 68 (4): 292-302.

Almeida FN, Proença ARG, Chimin P, Marçal AC, Bessa-Lima F, Carvalho CRO. Physical exercise and pancreatic islets: Acute and chronic actions on insulin secretion. ***Islets*** 2012; 4 (4): 296-301.

Altınöz E, Turkoz Y, Vardı N. The protective effect of N-acetylcysteine against acrylamide toxicity in liver and small and large intestine tissues. ***Bratislava Medical Journal*** 2015; 116 (4): 252 – 258.

Alturfan EI, Beceren A, Şehirli AÖ, Demiralp ZE, Şener G, Omurtag GZ. Protective effect of N-acetyl-L-cysteine against acrylamide-induced oxidative stress in rats. ***Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*** 2012; 36 (4): 438-445.

Al-Serwi RH, Ghoneim FM. The impact of vitamin E against acrylamide induced toxicity on skeletal muscles of adult male albino rat tongue: Light and electron microscopic study. ***Journal of Microscopy and Ultrastructure*** 2015; 3 (3): 137–147.

Atsak P. Egzersiz Yapan Sıçanlarda Kadmiyumun Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, ***Pamukkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü***, Denizli, 2006, s. 66.

Barutçu I, Şahin S, Sumnu G. Acrylamide formation in different batter formulations during microwave frying. ***LWT-Food Science and Technology*** 2009; 42 (1): 17-22.

Başaran B, Aydın F. Acrylamide: A Hidden Danger. ***Health, Food & Biotechnology*** 2019; 1 (1): 113-117.

Başaran B, Aydın F. Estimating the acrylamide exposure of adult individuals from coffee: Turkey. ***Food Additives & Contaminants: Part A*** 2020; 37 (12): 2051-2060.

Calegari VC, Abrantes JL, Silveira LR, Paula FM, Costa JM Jr, Rafacho A, Velloso LA, Carneiro EM, Bosqueiro JR, Boschero AC, Zoppi CC. Endurance training stimulates

growth and survival pathways and the redox balance in rat pancreatic islets. **Journal of Applied Physiology** 2012; 112: 711–718.

Choi SB, Jang JS, Park SM. Estrogen and Exercise May Enhance β -Cell Function and Mass via Insulin Receptor Substrate 2 Induction in Ovariectomized Diabetic Rats. **Endocrinology** 2005; 146 (11): 4786–4794.

Das AB, Srivastav PP. Acrylamide in snack foods. **Toxicology Mechanisms and Methods** 2011; 22 (3): 163-169.

Dela F, Linstow ME, Mikines KJ, Galbo H. Physical training may enhance beta-cell function in type 2 diabetes. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism** 2004; 287 (5): 1024-1031.

Drews G, Drews, KP, Düfer M. Oxidative stress and beta-cell dysfunction. **Pflugers Arch- Eur J Physiol** 2010; 460: 703–718.

Duan X, Wang QC, Chen KL, Zhu CC, Liu J, Sun SC. Acrylamide toxic effects on mouse oocyte quality and fertility in vivo. **Scientific Reports** 2015; 5: 1-11.

Duarte-Salles T, Von Stedingk H, Granum B, Gützkow KB, Rydberg P, Törnqvist M, Mendez MA, Brunborg G, Brantsæter AL, Meltzer HM, Alexander J, Haugen M. Dietary Acrylamide Intake during Pregnancy and Fetal Growth—Results from the Norwegian Mother and Child Cohort Study (MoBa). **Environ Health Perspect** 2013; 121 (3): 374–379.

Elbassuoni EA, Abdel Hafez SM. Impact of chronic exercise on counteracting chronic stress-induced functional and morphological pancreatic changes in male albino rats. **Cell Stress and Chaperones** 2019; 24: 567–580.

Elblehi SS, El Euony OI, El-Sayed YS. Apoptosis and astrogliosis perturbations and expression of regulatory inflammatory factors and neurotransmitters in acrylamide-induced neurotoxicity under ω 3 fatty acids protection in rats. **NeuroToxicology** 2020; 76: 44-57.

Elgarawany GE, Al-Gholam M, Metawae SA. Protective effect of swimming exercise on acrylamide induced diaphragmatic myopathy in male albino rats. **Al-Azhar Medical Journal** 2019; 48 (1): 57-74.

El Fakahany GA, El-Azeem Nassar SA, El-Sayed Elballat S. Alterations in Kidney of Albino Rat due to Acrylamide Exposure and the Possible Protective Role of L-arginine (Biochemical, Histological, Immunohistochemical and Molecular Study). **Systematic Reviews in Pharmacy** 2021; 12 (3): 744-752.

Erdemli ME, Doğan Z, Çiğremiş Y, Akgöz M, Altınöz E, Geçer M, Türköz Y. Amelioration of subchronic acrylamide toxicity in large intestine of rats by organic dried apricot intake. **Turkish Journal of Biology** 2015; 39: 872-878.

Erkekoğlu P, Baydar T. Toxicity of acrylamide and evaluation of its exposure in baby foods. **Nutrition Research Reviews** 2010; 23 (2): 323-333.

Erkekoğlu P, Baydar T. Acrylamide neurotoxicity. **Nutritional Neuroscience** 2014; 17 (2): 49-57.

Eroschenko VP. Di Fiore'nin Histoloji Atlası: Fonksiyonel İlişkileriyle, Eds. Demir R, **Palme Yayınevi**, Ankara, 2016, s.600.

Exon JH. A Review of the Toxicology of Acrylamide. **Journal of Toxicology and Environmental Health** 2006; 9 (5): 397-412.

Fabri T, Machado KB, Rezende RS, Mercedes L, Vieira MAR, Campagnole-Santos, MJ, Rocha-Vieira E, Becker LK. Aquatic And Land Exercise Training Affects Renal Function In Rats Under Isosmotic Volume Expansion. **JEPonline** 2010; 13(2): 42-51.

Flores MBS, Fernandes MFA, Ropelle ER, Faria MC, Ueno M, Velloso LA, Saad MJA, Carneiro JBC. Exercise Improves Insulin and Leptin Sensitivity in Hypothalamus of Wistar Rats **Diabetes** 2006; 55 (9): 2554-2561.

Fullerton PM, Barnes JM. Peripheral Neuropathy in Rats Produced by Acrylamide. **Occupational & Environmental Medicine** 1966; 23 (3): 210-221.

Fusco J, El-Gohary Y, Gittes GK. "Anatomy, Physiology, and Embryology of the Pancreas", Shackelford's Surgery of the Alimentary Tract, 2, Eds. Yeo CJ, **Elsevier**, Amsterdam, Hollanda, 2019, s.1062-1075.

Ghamdi A, Alenezi F, Algoferi M, Alhawas M, Farga AA, Afifi M. A Review on the New Trends of Acrylamide Toxicity. **Biomedical Journal of Scientific & Technical Research** 2020; 27 (2): 20638-20644.

Ghorbel I, Khemakhem M, Boudawara O, Marrekchi R, Jamoussi K, Amar RB, Boudawara T, Zeghal N, Kamoun NG. Effects of dietary extra virgin olive oil and its fractions on antioxidant status and DNA damage in the heart of rats co-exposed to aluminum and acrylamide. **Food & Function** 2015; 6: 3098-3108.

Ghorbel I, Chaâbane M, Boudawara O, Kamoun NG, Boudawara T, Zeghal N. Dietary unsaponifiable fraction of extra virgin olive oil supplementation attenuates lung injury and DNA damage of rats co-exposed to aluminum and acrylamide. **Environmental Science and Pollution Research** 2016; 23 :19397–19408.

Golbidi S, Laher I. Exercise and the Aging Endothelium. **Journal of Diabetes Research** 2013; 2013: 1-12.

Hogervorst JG, Schouten LJ, Konings EJ, Goldbohm RA, Brandt PAVD. Dietary acrylamide intake and the risk of renal cell, bladder, and prostate cancer. **The American Journal of Clinical Nutrition** 2008; 87 (5): 1428–1438.

Holt RIG, Cockram CS, Flyvbjerg A, Goldstein BJ. Textbook of diabetes, **Wiley-Blackwell**, Hoboken New Jersey, 2010, s.1104.

Howarth FC, Marzouqi FMA, Al Saeedi AMS, Hameed RS, Adeghate E. The effect of a heavy exercise program on the distribution of pancreatic hormones in the streptozotocin induced diabetic rat. **Journal of the Pancreas** 2009; 10 (5):485-491.

Işıldar B, Hürdoğan Ö. "Sindirim Kanalı ile İlişkili Organlar", Junqueira Temel Histoloji Konu ve Atlas, Eds. Solakoğlu S, Erdoğan A, Mutlu HS, **Nobel Tıp Kitabevleri**, Ankara, 2015, s.323-340.

İmamoğlu Ş, Özyardımcı Ersoy C. Diabetes Mellitus: Multidisipliner Yaklaşımla Tanı, Tedavi ve İzlem, **Deomed Yayıncılık**, İstanbul, 2009, s.576.

Junqueira LC, Carneiro J. Temel Histoloji, Eds. Aytakin Y, Solakoğlu S, **Nobel Tıp Kitabevleri**, Ankara, 2006, s.528.

Kaçar S, Şahintürk V. A Multiple Organ Toxicant: Acrylamide. **Osmangazi Journal of Medicine** 2018; 40 (1): 94-100.

Kaçar S, Vejselova D, Kutlu HM, Şahintürk V. Acrylamide-derived cytotoxic, anti-proliferative, and apoptotic effects on A549 cells. **Human & Experimental Toxicology** 2018; 37 (5): 1–7.

Kim SS, Shin HC, Hwang JA. Various Congenital Abnormalities and Anatomic Variants of the Pancreas: A Pictorial Review. **Journal of the Belgian Society of Radiology** 2019; 103 (1): 39, 1–9.

Király MA, Bates HE, Kaniuk NA, Yue JT, Brumell JH, Matthews SG, Riddell MC, Vranic M. Swim training prevents hyperglycemia in ZDF rats: mechanisms involved in the partial maintenance of beta-cell function. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism** 2008; 294 (2): 271-283.

Kovac R, Rajkovic V, Koledin I, Matavulj M. Acrylamide alters glycogen content and enzyme activities in the liver of juvenile rat. **Acta Histochemica** 2015; 117 (8): 712-717.

Koz M, Akgül MŞ, Atıcı E. The Effects of Exercise on the Hormone Secretion and Regulation. **Turkey Clinics Physiotherapy and Rehabilitation-Special Topics** 2016; 2 (1): 48-56.

Lin CY, Lin YC, Kuo HK, Hwang JJ, Lin JL, Chen PC, Lin LY. Association Among Acrylamide, Blood Insulin, and Insulin Resistance in Adults. **Diabetes Care** 2009; 32 (12): 2206–2211.

Lingnert H, Grivas S, Jägerstad M, Skog K, Törnqvist M, Åman P. Acrylamide in food: mechanisms of formation and influencing factors during heating of foods. **Scandinavian Journal of Nutrition** 2002; 46 (4): 159–172.

Liu Z, Song G, Zou C, Liu G, Wu W, Yuan T, Liu X. Acrylamide induces mitochondrial dysfunction and apoptosis in BV-2 microglial cells. **Free Radical Biology and Medicine** 2015; 84: 42-53.

Liu S, Jiang L, Zhong T, Kong S, Zheng R, Kong F, Zhang C, Zhang L, An L. Effect of Acrylamide on Oocyte Nuclear Maturation and Cumulus Cells Apoptosis in Mouse In Vitro. **Plos One** 2015; 10 (8): 1-13.

Longnecker DS, Wilson GL. "Pancreas", Handbook of Toxicologic Pathology, 2, Eds. Haschek WM, Rousseaux CG, Wallig MA, **Academic Press**, Cambridge, Massachusetts, 2002, s.227- 254.

Lorenzo GA, Morales FJ. "Recent Insights in Acrylamide as Carcinogen in Foodstuffs", Advances in Molecular Toxicology, 6, Eds. Fishbein JC, **Institute of Food Science, Technology and Nutrition**, Madrid, 2012, s.163-193.

Maddu N, Begum SF. Review on Chronic Exposure to Acrylamide Causes a Neurotoxicity Risk. **INNOSC Theranostics and Pharmacological Sciences** 2018; 1 (1): 20-26.

Marković J, Stošić M, Kojić D, Matavulj M. Effects of acrylamide on oxidant/antioxidant parameters and CYP2E1 expression in rat pancreatic endocrine cells. **Acta Histochemica** 2018; 120 (2): 73-83.

Martinez-Campos C, Lara-Padilla E, Bobadilla-Lugo RA, Kross RD, Villanueva C. Effects of Exercise on Oxidative Stress in Rats Induced by Ozone. **The Scientific World Journal** 2012; (2012): 1-5 .

Melling CWJ, Gris  KN, Hasilo CP, Fier B, Milne KL, Karmazyn M, Noble EG. A model of poorly controlled type 1 diabetes mellitus and its treatment with aerobic exercise training. ***Diabetes & Metabolism*** 2013; 39 (3): 226–235.

Mense MG, Rosol TJ. “Endocrine Pancreas”, Boorman's Pathology of the Rat: Reference and Atlas, Eds. Suttie AW, Leininger JR, Bradley AE, ***Academic Press***, Cambridge, Massachusetts, 2018, 695-704.

Michalak J, Czarnowska-Kujawska M, Klepacka J, Gujska E. Effect of Microwave Heating on the Acrylamide Formation in Foods. ***Molecules*** 2020; 25 (18): 1-21.

Mojska H, Gielecińska I, Cendrowski A. Acrylamide content in cigarette mainstream smoke and estimation of exposure to acrylamide from tobacco smoke in Poland. ***Annals of Agricultural and Environmental Medicine*** 2016; 23 (3): 456–461.

Moore KL, Persaud TVN, Torchia MG. Klinik Y nleriyle İnsan Embriyolojisi, Eds. Dal ık H, ***Nobel Tıp Kitapevleri***, İstanbul, 2016, s.534.

Murakami T, Fujita T, Taguchi T, Nonaka Y, Orita K. The Blood Vascular Bed of the Human Pancreas, with Special Reference to the Insulo-Acinar Portal System. Scanning Electron Microscopy of Corrosion Casts. ***Archives of Histology and Cytology*** 1992; 55 (4): 381-395.

Newsholme P, Haber EP, Hirabara SP, Rebelato ELO, Procopio J, Morgan D, Oliveira-Emilio HC, Carpinelli AR, Curi R. Diabetes associated cell stress and dysfunction: role of mitochondrial and non-mitochondrial ROS production and activity. ***The Journal of Physiology*** 2007; 583 (1): 9-24.

Nixon BJ, Stanger SJ, Nixon B, Roman SD. Chronic Exposure to Acrylamide Induces DNA Damage in Male Germ Cells of Mice. ***Toxicological Sciences*** 2012; 129 (1): 135-145.

Nurdin SM, Nugraheni N, Wulan SMM. Moderate Intensity of Physical Exercise increased B (Beta) Cell and size of Langerhans Islets in Streptozotocin Induced Diabetes Mellitus Rats. ***Surabaya Physical Medicine and Rehabilitation Journal*** 2019; 1 (2): 52-58.

Ovalle WK, Nahirney PC. Netter's Essential Histology, ***Elsevier***, Amsterdam, Hollanda, 2007, s.517.

 zo ul C. “Sindirim Sistemi III: Karaci er, Safra Kesesi ve Pankreas”, Histoloji Konu Anlatımı ve Atlas İlişkili Hücre Biyolojisi ve Moleküler Biyoloji ile, Eds. Baykal B, ***Palme Yayınevi***, Ankara, 2014, s.628- 655.

Papoušek R, Pataj Z, Nov ková P. Determination of Acrylamide and Acrolein in Smoke from Tobacco and E-Cigarettes. ***Chromatographia*** 2014; 77: 1145-1151.

Park S, Hong SM, Lee JE, Sung SR. Exercise improves glucose homeostasis that has been impaired by a high-fat diet by potentiating pancreatic beta-cell function and mass through IRS2 in diabetic rats. ***Journal of Applied Physiology*** 2007; 103 (5): 1764-1771.

Park HR, Kim MS, Kim SJ, Park M, Kong KH, Kim HS, Kwack SJ, Kang TS, Kim SH, Kim HS, Lee J. Acrylamide induces cell death in neural progenitor cells and impairs hippocampal neurogenesis. ***Toxicology Letters*** 2010; 193 (1): 86-93.

Pedersen M, Stedingk HV, Botsivali M, Agramunt S, Alexander J, Brunborg G, Chatzi L, Fleming S, Fthenou E, Granum B, Gutzkow KB, Hardie LJ, Knudsen LE, Kyrtopoulos SA,

Mendez MA, Merlo DF, Nielsen JK, Rydberg P, Segerbäck D, Sunyer J, Wright J, Törnqvist M, Kleinjans JC, Kogevinas M, Consortium NG. Birth Weight, Head Circumference, and Prenatal Exposure to Acrylamide from Maternal Diet: The European Prospective Mother–Child Study (NewGeneris). *Environmental Health Perspectives* 2012; 120 (12): 1739–1745.

Pelucchi C, Galeone C, Levi F, Negri E, Franceschi S, Talamini R, Bosetti C, Giacosa A, La Vecchia C. Dietary acrylamide and human cancer. *International Journal of Cancer* 2006; 118 (2): 467-471.

Petersen A. Scientific Opinion on acrylamide in food. *EFSA Journal* 2015; 13 (6): 4104.

Rajeh NA, Al-Dhaheri NM. Antioxidant effect of vitamin E and 5-aminosalicylic acid on acrylamide induced kidney injury in rats. *Saudi Medical Journal* 2017; 38 (2): 132–137.

Rawi SM, Marie MAS, Fahmy SR, El-Abied SA. Hazardous effects of acrylamide on immature male and female rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* 2012; 6 (18): 1367-1386.

Rice JM. The carcinogenicity of acrylamide. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 2005; 580 (1-2): 3-20.

Rifai L, Saleh FA. A Review on Acrylamide in Food: Occurrence, Toxicity, and Mitigation Strategies. *International Journal of Toxicology* 2020; 39 (2): 93-102.

Sadler TW. Langman's Medical Embryology, *Lippincott Williams & Wilkins (Wolters Kluwer)*, Baltimore, MD, USA, 2012, s.400.

Saito A, Williams JA, Kanno T. Potentiation of Cholecystokinin-induced Exocrine Secretion by Both Exogenous and Endogenous Insulin in Isolated and Perfused Rat Pancreata. *The Journal of Clinical Investigation* 1980; 65 (4): 777–782.

Sakamoto J, Hashimoto K. Reproductive toxicity of acrylamide and related compounds in mice-effects on fertility and sperm morphology. *Archives of Toxicology* 1986; (59): 201-205.

Shima K, Shi K, Sano T, Iwami T, Mizuno A, Noma Y, Is Exercise Training Effective in Preventing Diabetes Mellitus in the Otsuka-Long-Evans-Tokushima Fatty Rat, a Model of Spontaneous Non-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus? *Metabolism* 1993; 42 (8): 971-977.

Shipp A, Lawrence G, Gentry R, McDonald T, Bartow H, Bounds J, Macdonald N, Clewell H, Allen B, Van Landingham C. Acrylamide: Review of Toxicity Data and Dose-Response Analyses for Cancer and Noncancer Effects. *Critical Reviews in Toxicology* 2006; 36 (6-7): 481-608.

Slack JMW. Developmental biology of the pancreas. *Development* 1995; 121 (6): 1569-1580.

Stošić M, Matavulj M, Marković J. Subchronic exposure to acrylamide leads to pancreatic islet remodeling determined by alpha cell expansion and beta cell mass reduction in adult rats. *Acta Histochemica* 2018; 120 (3): 228-235.

Teixeira de Lemos E, Reis, F, Baptista S, Pinto R, Sepodes B, Vala H, Rocha-Pereira P, Correia da Silva G, Teixeira N, Santos Silva A, Carvalho L, Teixeira F, Das UN. Exercise training decreases proinflammatory profile in Zucker diabetic (type 2) fatty rats. *Nutrition* 2009; 25 (3): 330-339.

Teixeira de Lemos E, Reis F, Baptista S, Pinto R, Sepodes B, Vala H, Rocha-Pereira P, Santos Silva A, Teixeira F. Exercise training is associated with improved levels of C-reactive protein and adiponectin in ZDF (type 2) diabetic rats. **Medical Science Monitor** 2007; 13 (8): 168-174.

Teixeira de Lemos E, Oliveira J, Pinheiro JP, Reis F. Regular Physical Exercise as a Strategy to Improve Antioxidant and Anti-Inflammatory Status: Benefits in Type 2 Diabetes Mellitus. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity** 2012; 2012: 1-15.

Totani N, Yawata M, Ojiri Y, Fujioka Y. Effects of Trace Acrylamide Intake in Wistar Rats. **Journal of Oleo Science** 2007; 56 (9): 501-506.

Tyl RW, Friedman MA. Effects of acrylamide on rodent reproductive performance. **Reproductive Toxicology** 2003; 17 (1): 1-13.

Ünsal C, Ünsal H. The Effects of Swimming Exercise on Lipid Profile and Oxidant-Antioxidant Status in Type I Diabetic Rats. **Firat University Medical Journal of Health Sciences** 2016; 30 (3): 119-123.

Vasudeva N, Mishra S. Inderbir Singh's Textbook of Human Histology: With Colour Atlas and Practical Guide, **Jaypee Brothers Medical Pub; Revised edition**, New Delhi, 2014, s.439.

Wang H, Huang P, Lie T, Li J, Hutz RJ, Li K, Shi F. Reproductive toxicity of acrylamide-treated male rats. **Reproductive Toxicology** 2010; 29 (2): 225–230.

Wang R, Tian H, Guo D, Tian Q, Yao T, Kong X. Impacts of exercise intervention on various diseases in rats. **Journal of Sport and Health Science** 2020; 9 (3): 211-227.

Wei Q, Li J, Li X, Zhang L, Shi F. Reproductive toxicity in acrylamide-treated female mice. **Reproductive Toxicology** 2014; 46: 121–128.

Warburton DER, Nicol CW, Bredin SSD. Health benefits of physical activity: the evidence Review. **CMAJ** 2006; 174 (6): 801-809.

Whiting DR, Guariguata L, Weil C, Shaw J. IDF Diabetes Atlas: Global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. **Diabetes Atlas** 2011; 94 (3): 311-321.

Yılmaz BO, Yıldızbayrak N, Aydın Y, Erkan M. Evidence of acrylamide- and glycidamide-induced oxidative stress and apoptosis in Leydig and Sertoli cells. **Human & Experimental Toxicology** 2017; 36 (12): 1–11.

Yousef MI, El-Demerdash FM. Acrylamide-induced oxidative stress and biochemical perturbations in rats. **Toxicology** 2006; 219 (1-3): 133-141.

Yue Z, Chen Y, Song Y, Zhang J, Yang X, Wang J, Lia L, Sun Z. Effect of acrylamide on glucose homeostasis in female rats and its mechanisms. **Food and Chemical** 2020; 135: 110894.

Zamani E, Shokrzadeh M, Fallah M, Shaki F. A review of acrylamide toxicity and its mechanism. **Pharmaceutical and Biomedical Research** 2017; 3 (1): 1-7.

9. EKLER

Ek-1. Etik Kurul Onay Sayfası

Evrak Tarih ve Sayısı: 18/08/2020-E.48554



T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Etik Kurulu

Sayı :60758568-020/48554
Konu :Başvurumuz hk.

18/08/2020

Sayın Prof. Dr. Hülya ÇETİN

İlgi :24/07/2020 tarihli dilekçeniz

10.20.1.127
374

"Akrilamid verilen sıçanlarda ~~13.08.2020~~ egzersizinin koruyucu etkisinin araştırılması" konulu (PAUHDEK-2020/25) no'lu çalışmamız 13.08.2020 tarih ve 2020/04 sayılı toplantımızda görüşülmüş olup,

Yapılan görüşmelerden sonra, söz konusu çalışmanın yapılmasının Hayvan Deneyleri Etiği açısından uygun olduğuna ve 32 adet yetişkin erkek sıçan (Wistar Albino) kullanılarak yapılmasına oy birliği ile karar verildi.

Gereğini bilgilerinize rica ederim.

Prof. Dr. Gülçin METE
Başkan