

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HAYVAN BESLEME VE BESLENME
HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**



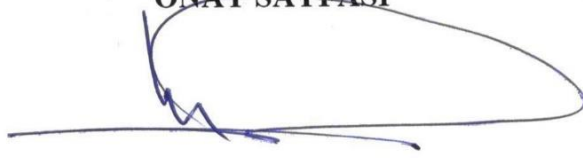
**EGZERSİZ ÖNCESİ RATLARA VERİLEN
AMİLOPEKTİN KROM
KOMBİNASYONUNUN METABOLİK
PROFİL ÜZERİNE ETKİSİ**

DOKTORA TEZİ

Mehmet IRMAK

2019

ONAY SAYFASI



Prof. Dr. Mustafa KAPLAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Doktora Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.



Prof. Dr. Talat GÜLER

Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Nurhan ŞAHİN



Danışman

Doktora Sınavı Jüri Üyeleri

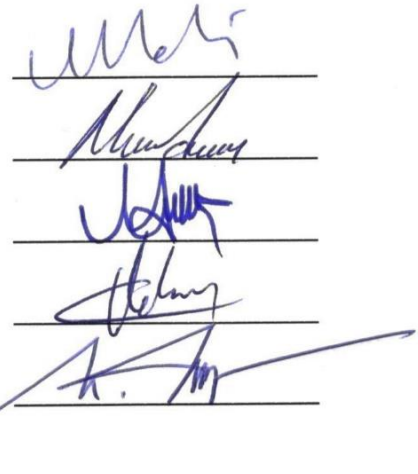
Prof. Dr. Nurhan ŞAHİN

Prof. Dr. Mehmet AVCI

Prof. Dr. Murat Sedat BARAN

Doç. Dr. Cemal ORHAN

Doç. Dr. Mehmet TUZCU





ETİK BEYAN

Kendime ait çalışmalar ile bu tez çalışmasını gerçekleştirdiğimi, çalışmaların planlanmasından, bulgularının elde edilmesine ve yazım aşamasına kadar tüm aşamalarında etiğe aykırı davranışım olmadığını, bu tezdeki tüm bilgileri ve verileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışması içinde yer alan ancak bu tez çalışmasının bulguları arasında yer almayan verilere, bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi beyan ederim.

Mehmet IRMAK

02/05/2019

Danışman: Prof. Dr. Nurhan ŞAHİN

Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı

ELAZIĞ

Sevgili annem, babam ve desteğini benden esirgemeyen abim ve yengeme....

TEŞEKKÜR

Öncelikle doktora öğrenimim süresince danışmanlığımı üstlenen ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Nurhan ŞAHİN ve her konuda yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Kazım ŞAHİN hocama teşekkürü bir borç bilirim. Bu çalışmadaki yardımlarından dolayı hocalarım; Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi öğretim üyesi Doç. Dr. Cemal ORHAN, Fırat Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Doç. Dr. Mehmet TUZCU, Dr. Füsün ERTEN, doktorant Beşir ER, Hafize TELÇEKEN, Veysi KAYRI ve James R. Komorowski ile FÜBAP- VF.16.21 nolu proje ile sağladığı maddi destekten dolayı Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Projeler Birimi ve çalışanlarına teşekkür ederim. Eğitimim süresince her türlü maddi ve manevi destekleriyle bana güç veren başta eşim Özlem IRMAK ve çocuklarım Duru, Cemre ve Emir olmak üzere tüm sevdiklerime teşekkürlerimi sunarım.

Mehmet IRMAK

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLO LİSTESİ	viii
ŞEKİL LİSTESİ	ix
KISALTMALAR LİSTESİ	x
1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	2
3. GİRİŞ	3
3.1. Amilopektin	7
3.2. Krom	9
3.2.1. Kromun Emilimi	11
3.2.2. Kromun Metabolizması	12
3.2.2.1. Kromun Karbonhidrat Metabolizması Üzerine Etkisi	13
3.2.2.2. Kromun Lipit Metabolizması Üzerine Etkisi	14
3.2.2.3. Kromun Protein Metabolizması Üzerine Etkisi	15
3.2.3. Kromun Toksik Etkisi	16
3.3. Egzersiz	16
3.3.1. Laktat	18
3.3.2. Glikojen ve Kas Glikojeninin Egzersiz Süresince Kullanımı	20
3.3.3. Egzersiz Süresince Kas Glikozunun Kullanımı	22
3.4. Karaciğer Enzimleri	23
3.4.1. Alanin Aminotransferaz	23
3.4.2. Aspartat Aminotransferaz	24
3.5. Trigliseritler	24
3.6. Kolesterol	25
3.7. Plazma Lipoproteinleri	26
3.7.1. Düşük Yoğunluklu Lipoproteinler	26
3.7.2. Yüksek Yoğunluklu Lipoproteinler	27
3.8. İnsülin	27
3.9. Glikoz Transporterleri	28
3.9.1. Glikoz Transporter-2	29

3.9.2. Glikoz Transporter-4	30
3.10. Peroksisom Proliferatör Aktive Reseptörleri	31
4. GEREÇ VE YÖNTEM	34
4.1. Gereç	34
4.1.1. Hayvan Materyali	34
4.2. Yöntem	36
4.2.1. Deneme Düzeni	36
4.2.2. Laboratuvar Analizleri	38
4.2.3. SDS-Poliakrilamid Jel Elektroforezi (SDS-PAGE) ve Western Blot Analizleri İçin Örneklerin Hazırlanması	40
4.2.4. SDS-Poliakrilamid Jel Elektroforezi (SDS-PAGE) Analizleri	40
4.2.5. Western Blot Analizleri	43
4.2.6. İstatistiksel Analizler	43
5. BULGULAR	44
5.1. Hematolojik Bulgular	44
5.2. Performans ve Serum Parametreleri	47
6. TARTIŞMA	54
7. KAYNAKLAR	69
8. ÖZGEÇMİŞ	78

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.	Ratlara verilen rasyonun bileşimi ve besin maddesi değerleri.	35
Tablo 2.	Egzersiz yaptırılan ratlarda amilopektin ve krom formlarının kan parametreleri üzerine etkileri.	45
Tablo 3.	Egzersiz yaptırılan ratlarda amilopektin ve krom formlarının performans ve kan parametreleri üzerindeki etkileri	50



ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	Nişasta örneklerinin morfolojik görüntüleri	6
Şekil 2.	Amilopektin ve Amiloz α (1-4) glikozidik, α (1-6) glikozidik bağlantı noktaları	7
Şekil 3.	A. Amilopektinin şematik modeli B. Amilopektin ve amiloz şematik görünüm	8
Şekil 4.	Glikojen sentezinin şematik görünümü	21
Şekil 5.	Metabolik olayların insülin tarafından düzenlenmesi	28
Şekil 6.	GLUT-2'ye bağlı glikoz taşınım alanları ve GLUT-2 ye duyarlı organlar arasındaki iletişim	30
Şekil 7.	PPAR- γ 'nın fonksiyonları	33
Şekil 8.	Bir ratın tükenme egzersizi sonunda yorgun düşmesi.	38
Şekil 9.	Egzersiz yaptırılan ratlarda amilopektin ve kromun karaciğer GLUT-2 ve karaciğer PPAR- γ üzerine etkileri	52
Şekil 10.	Egzersiz yaptırılan ratlarda amilopektin ve kromun kas GLUT-4 ve kas PPAR- γ üzerine etkileri	53

KISALTMALAR LİSTESİ

ADP	: Adenozin Difosfat
ALT	: Alanin Aminotransferaz
AMP	: Adenozin Monofosfat
AST	: Aspartat Aminotransferaz
ATP	: Adenozin Trifosfat
ATP-PCr	: Adenozin Trifosfat – Fosfokreatin
cAMP	: Siklik Adenozin Monofosfat
Cr	: Krom
Cr₂O₃	: Krom Oksit
CrCl₃	: Krom Klorür
CrNic	: Krom Nikotinat
CrPik	: Krom Pikolinat
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
EDTA	: Etilendiamin Tetraasetik Asit
ELISA	: Enzim Bağlantılı Bağışıklık Testi
FÜDAM	: Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi
FÜHADEK	: Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
Glu	: Glikoz
GLUT	: Glikoz transporter
GRAN#	: Granülosit Total Sayı
GRAN%	: Granülosit
GTF	: Glikoz Tolerans Faktör
HCT	: Hematokrit
HDL	: Yüksek Dansiteli Lipoprotein
HGB	: Hemoglobin
K₂Cr₂O	: Potasyum Dikromat
K₂CrO₄	: Potasyum Kromat
LDL	: Düşük Dansiteli Lipoprotein
LYM#	: Lenfosit Total Sayı
LYM%	: Lenfosit Yüzde

MCH	: Ortalama Alyuvar Hemoglobin Miktarı
MCHC	: Ortalama Alyuvar Hemoglobin Konsantrasyonu
MCV	: Ortalama Alyuvar Hacmi
MID#	: Monosit Total Sayısı
MID%	: Monosit Total Yüzde
MPV	: Ortalama Trombosit Hacmi
Na₂CrO₄	: Sodyum Kromat
NRC	: Ulusal Araştırma Konseyi
PBS	: Fosfat Tamponlu Tuz
PCT %	: Prokalsitonin Yüzde
PDW %	: Trombosit Dağılım Genişliği
P-LCR %	: Büyük Trombosit Hücresi Oranı
PLT	: Trombosit
PPAR-γ	: Peroksizom Proliferatör Aktive Reseptörleri -Gamma
RBC	: Alyuvar
RDW-CV	: Kırmızı Kan Hücresi Dağılım Genişliği(Gerçek Ölçüm)
RDW-SD	: Kırmızı Kan Hücresi Dağılım Genişliği(Sapma)
SGOT	: Serum Glutamik-Oksaloasetik Transaminaz
SGPT	: Serum Gulutamat Piruvat Transaminaz
STZ	: Streptozotosin
TC	: Total Kolesterol
TG	: Trigliserit
VLDL	: Çok Düşük Dansiteli Lipoprotein
WBC	: Akyuvar

1. ÖZET

Bu çalışmada, yoğun egzersiz uygulanan ratlarda amilopektin (A) ve krom (Cr) takviyesinin tek başına veya kombine kullanımlarının, enerji deposu, kas yorgunluğu ile alakalı biyokimyasal belirteçler, Peroksizom Proliferatör Aktive Reseptörü-gamma (PPAR- γ) Glikoz Transporter-2 (GLUT-2) ve 4 (GLUT-4) düzeyleri üzerine etkileri araştırıldı. Otuz beş adet albino Wistar rat 5 gruba ayrıldı (n=7): (i) Yoğun egzersiz (E); (ii) E+Amilopektin (A); (iii) E+A+Krom pikolinat (CrPik); (iv) E+A+ Krom histidinat (CrHis); (v): E+A+CrPik+CrHis. Ratlara günlük olarak 0.0316 g amilopektin ve 11.06 μ g elementel Cr/kg CA CrPik ve CrHis verildi. Gruplar arasında ortalama koşu süresi (55 ± 1.15 vs 76 ± 1.91) farklılık gösterdi ($P < 0.05$). E grubuyla kıyaslandığında, E+A+CrPik+CrHis grubunda kan glikoz düzeyi önemli düzeyde azaldı ($P < 0.05$). Kas ve karaciğer glikojen içeriği ile kan insülin konsantrasyonunun artması ve serum laktat konsantrasyonunun azalması bakımından en iyi etki E+A+CrPik+CrHis grubunda tespit edildi ($P < 0.05$). Ancak, A ve Cr kaynaklarının takviyesi, GLUT-2, GLUT-4 ve PPAR- γ ekspresyonlarında değişikliğe neden olmadı. Sonuç olarak, egzersiz uygulanan ratlarda amilopektinin ile Cr'un kombine kullanımı, enerji veren besin maddelerinin tasarrufunu ve kas yorgunluğunu azaltmıştır. Bu durum yarış atı performansının arttırılmasına ve engellilik problemlerinin önlenmesine de katkı sağlayabilir.

Anahtar kelimeler: Amilopektin, krom pikolinat, krom histidinat, egzersiz, kas yorgunluğu

2. ABSTRACT

The effect of amylopectin/chromium combination on metabolic profile in endurance training rats

This study evaluated the effects of amylopectin (A) and chromium (Cr) forms alone or in combination on energy storage, muscle fatigue-related biochemical markers and expression of peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR- γ), glucose transporter-2 and 4 (GLUT-2 and GLUT-4) in rats during exhaustive exercise. Thirty-five male Wistar rats were divided into 5 groups (n=7): (i) exhaustive exercise (E); (ii) E+A; (iii) E+A+chromium picolinate (CrPic); (iv) E+A+chromium histidinate (CrHis), (v) E+A+CrPic+CrHis. Rats received 0.0316 g of amylopectin and 11.06 μg of elemental Cr kg^{-1} body weight given as CrPic and CrHis per day. The mean duration of exercise differed (55 ± 1.15 vs 76 ± 1.91) between groups ($P < 0.05$). Blood glucose level was significantly reduced in E+A+CrPic+CrHis group compared to the E group. The E+A+CrPic+CrHis group was superior in terms of increasing muscle and liver glycogen contents and blood insulin concentration and of decreasing serum lactate concentration ($P < 0.05$). However, A and Cr supplementation did not alter GLUT-2, GLUT-4, and PPAR- γ expressions. In conclusion, amylopectin in combination with supplemental Cr enhanced energy-yielding nutrient conservation and reduced muscle fatigue in exercised rats. They can also help prevent racehorse performance and disability problems.

Keywords: Amylopectin, chromium picolinate, chromium histidinate, exercise, muscle fatigue

3. GİRİŞ

Hücrelerin yaşamını sürdürebilmeleri için gerekli olan kimyasal tepkimelerin tümüne metabolizma denilmektedir. Her organizma, fizyolojik sistemlerin işlevlerini sürdürebilmek için gerekli enerjiyi besinlerden sağlamak zorundadır. Enerji veren besinler protein, yağ ve karbonhidratlardır. Bunlar hücrelerde okside olmakta ve sonuçta büyük miktarlarda enerji açığa çıkmaktadır. Metabolik profil ise canlılarda klinik olarak anormallik olsun veya olmasın, canlının beslenme durumu hakkında bilgiler veren ve dolaşımda bulunan belirli bileşenlerin laboratuvar ölçümü ile tespit edilen bulgulara dayanmaktadır. Metabolik profilden elde edilen bilgilerin değerlendirilmesi, veteriner hekimlerin, bilim insanlarının, besin ve verim ilişkilerini değerlendirmek için güvenilir ve önemli bir araç olarak düşünülmektedir (1). Günümüzde beslenme yönetimi yapan işletmeler, subklinik hastalıkların tespitinde ve sürülerini hastalıklardan korumak amacıyla metabolik profil verilerinden yararlanmaktadır. Metabolik profil, canlının bulunduğu bölge, canlının türü, süt verimi ve benzeri birçok parametreden etkilenebilmektedir (2). Son yıllarda beslenme ile ilgili birçok çalışma yapılmakta ve yapılan beslenmede besin kaynaklarının organizmada meydana getirdiği değişimler incelenmektedir. Bundan yüzyıl önce atletler için en önemli gıdanın et kaynaklı protein olduğu düşünülürken bugünlerde bunun yerini karbonhidratların aldığı görülmektedir. Spor yapan kişilere yüksek karbonhidratlı diyetle beslenmeleri, egzersizlerden önce karbonhidrat tüketmeleri ve egzersizlerden hemen sonra da en kısa sürede karbonhidrat depolarını yenilemeleri tavsiye edilmektedir. Uluslararası olimpiyat komitesi sporculara yönelik sunduğu bildirgesinde, 60 dakikadan fazla sürecek yarışmalarda,

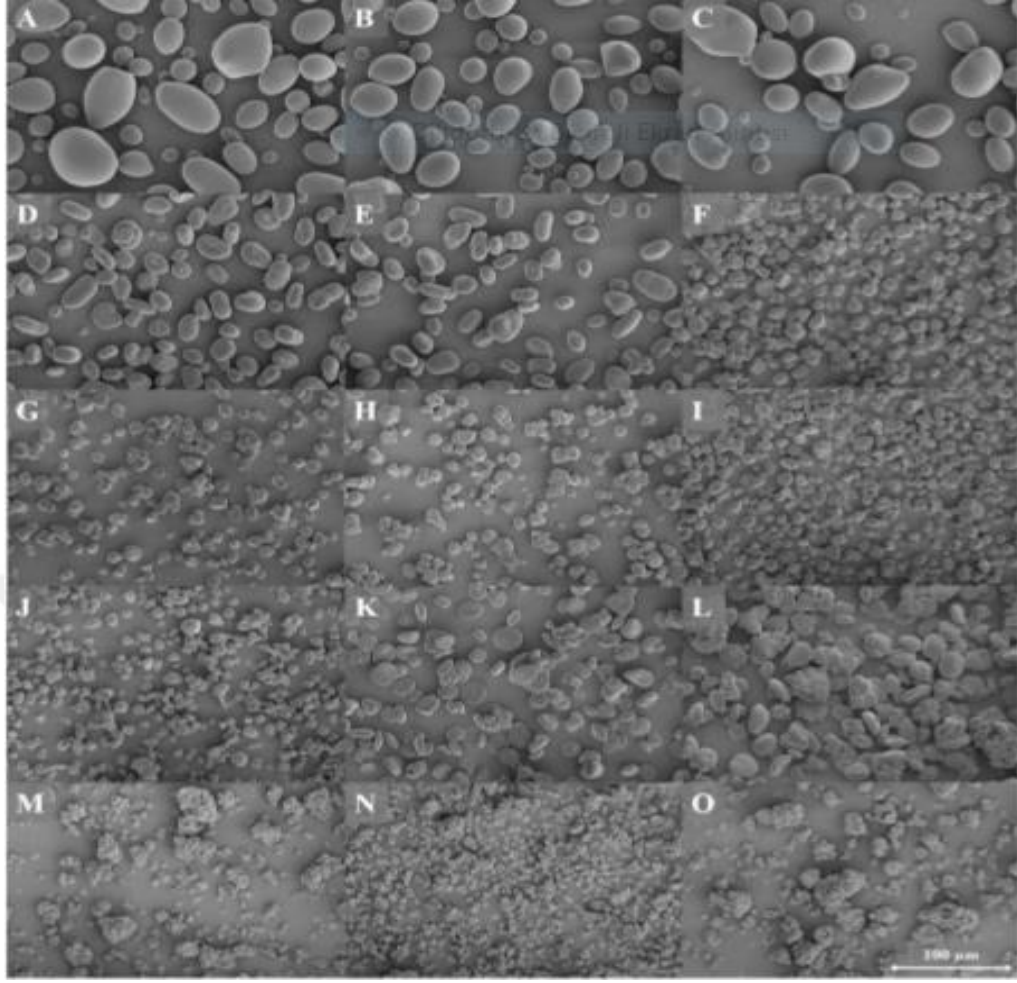
yarışmadan bir önceki gün yüksek karbonhidratlı yiyecekleri tüketmeleri durumunda daha başarılı sonuçlar alınabileceğini bildirmektedir. Egzersizlerden önce ve egzersiz sırasında karbonhidratların beslenme üzerindeki etkilerini araştıran çalışmaların 20. yüzyılda başladığı görölmektedir. Krogh ve Lindhard egzersiz sırasında karbonhidratların önemini bildiren ilk kişiler olarak bilinmektedir (3). Karbonhidrat denince ilk akla gelen nişasta, bitkilerde en fazla bulunan karbonhidrat olup bitkilerin yapraklarında, çiçeklerinde, meyvelerinde, farklı tip gövdelerde ve köklerinde bulunmaktadır. Nişasta, bitkiler tarafından karbon ve enerji kaynağı olarak kullanılmaktadır. Glikoz moleküllerinin de dahil olduğı nişasta sentezinden sorumlu biyokimyasal zincir, bitki hücrelerinde fotosentez yoluyla meydana gelmektedir. Kloroplasttaki nişasta üretimi, gün ışığında meydana gelmekte olup bitki tarafından hızlı bir şekilde gerçekleşmektedir. En büyük nişasta kaynakları, % 40-90 ile tahıllar, % 30-70 ile kökler, % 65-85 ile yumrular, % 70'i kuru madde olan muz ve mango gibi olgunlaşmamış meyvelerde ise % 25-50 oranında nişasta bulunmaktadır (4-6). Nişasta, amiloz ve amilopektin denilen iki bileşenden oluşmaktadır (7).

Ağıza alınan besin maddelerinin sindirim ile başlayıp bağırsaklarda emilimin olmasıyla devam eden süreç karbonhidrat metabolizması olarak ifade edilmektedir. Bu süreçlerin devamında en son ürün olarak CO₂ ve H₂O meydana gelmekte ve bu sürecin sonunda organizmanın gereksinim duyduğu enerjinin büyük çoğunluğu temin edilmiş olmaktadır. Nişasta, günlük diyetle, memelilerin beslenmesi için en büyük enerji kaynağı olarak bilinen temel karbonhidrattır (4, 7). Bununla birlikte nişastanın besinsel değeri kaynağına ve sindirim sisteminin hangi bölümünde sindirildiğı ile alakalı olarak değişmektedir. Bu fizyolojik ve

metabolik tepkimeler daha önce yapılan hem insan hem de diğer memeli hayvan çalışmalarında gözlenmekte ancak tepkimelerin arkasındaki mekanizmalar hakkında daha cevap bulması gereken birçok soru bulunmaktadır (4- 6). Beslenme kaynağına bağlı olarak, kan glikoz seviyesinde değişimler meydana gelmektedir. Kan glikoz seviyesi glikoliz, glikojenoliz, glikojenez, glikoneogenez, pentoz fosfat yolu gibi glikoz metabolizması ile alakalı tüm metabolik yolların dengeli bir şekilde çalışması ve kontrolü ile ayarlanmaktadır (8). Kan glikoz seviyesinin dengede tutulmasında karaciğer ve hormonlar önemli rol oynamaktadır, alınan gıdalardan sonra kanda kan şekeri yükselmekte, bu durumda pankreastan salınan insülin devreye girerek karaciğerde glikojen şeklinde depolanmasına katkıda bulunmaktadır. Glikozun depo şekli olan glikojen başlıca karaciğer ve kaslarda depo edilmektedir (8).

Memelilerde, vücuda alınan gıda maddelerinin yaklaşık % 60 nı oluşturan karbonhidratların büyük çoğunluğu polisakkarit yapısındadır (8, 9). Karbonhidratlar, insan diyetlerindeki toplam enerjinin % 40 ile % 80'ni oluşturmaktadır (4, 10).

Karbonhidratların büyük çoğunluğunu oluşturan polisakkaritler, doğada en yaygın olarak nişasta şeklinde bulunmaktadır. Besinlerde bulunan nişastaların 1000 kez büyütülmüş görüntüleri Şekil 1'de gösterilmektedir. Nişastanın fiziksel yapısını retrogradasyon yoluyla modifiye etmek mümkündür. Böylece enzimatik reaksiyonlara karşı kısmen ulaşılmaz hale gelebilmektedir. Nişastanın bu formu dirençli nişasta olarak adlandırılmaktadır. Bu dirençli nişasta, pullulanaz ve amilaz enzimleri ile hidrolize karşı direnç gösteren nişasta olarak ifade edilmektedir (4, 11).



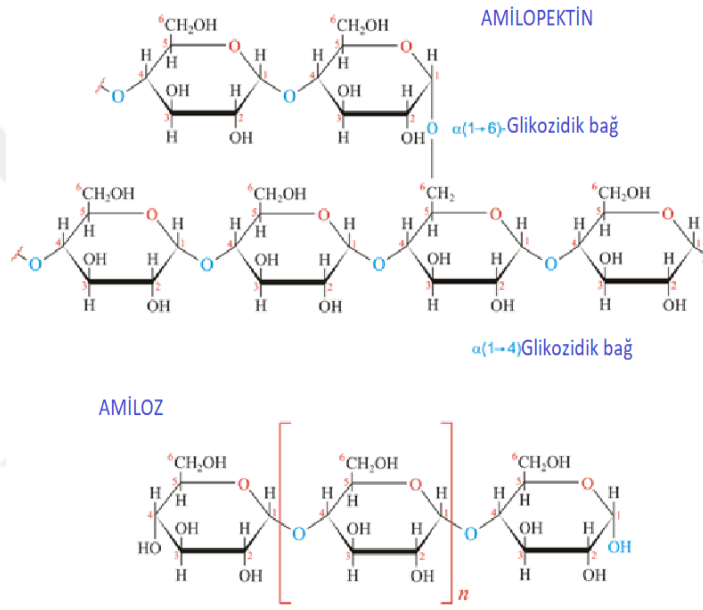
Şekil 1: Nişasta örneklerinin morfolojik görüntüleri (11)

A. Normal patates, B. Waxy patates, C. HMT patates, D. Bezelye I, E. Bezelye II, F. Waxy mısır, G. Mısır, H. Yüksek amilozlu mısır, K. Arpa, L. Buğday, M. Waxy pirinç, N. Pirinç, O. Pirinç

Nişasta, **amiloz** ve **amilopektin** olmak üzere iki farklı yapıdaki polimerden oluşmaktadır. Nişastanın sahip olduğu fonksiyonlar, bu iki makromolekül sayesinde meydana gelmektedir (4, 7, 12,). Nişasta granüllerinin boyutları 1µm ile 100 µm aralığında değişmektedir. Bu boyutlar bitkinin yetiştiği bölge ve cinsine göre değişkenlik göstermektedir (13).

3.1. Amilopektin

Düz zincir yapısında olan amiloz, birbiriyle α -(1,4) bağlarıyla bağlanan 500 ile 2000 civarında glikoz ünitelerinin birleşiminden meydana gelmektedir. Amilopektin ise, dallı bir yapı göstermekte, her bir dal 20-30 glikoz ünitesi kapsamaktadır (Şekil 2). Bu yapının dallı bölgeleri α -(1,6), düz bölgeleri ise, α -(1,4) glikozidik bağları ile birbirine bağlanmaktadır (4, 9, 10, 14).

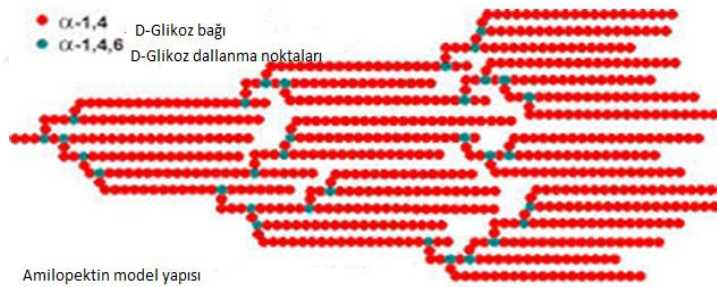


Şekil 2: Amilopektin ve Amiloz α (1-4) glikozidik, α (1-6) glikozidik bağlantı noktaları (13)

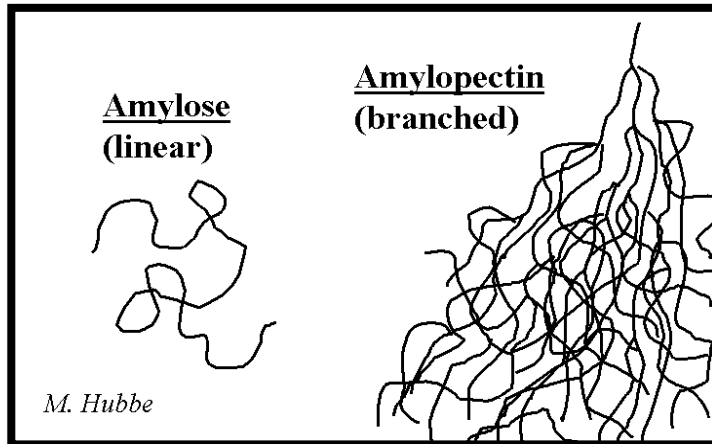
Amilopektin, doğada bulunan çoğu nişastaların en büyük temel bileşenidir ve belki de fonksiyonel özellikleri bakımından en önemlisi kabul edilmektedir (15). Amilopektinin zincir dağılım uzunluğu, amilopektin molekül yapısının karakteri için en önemli özelliktir. Amilopektin yapısının araştırmalarındaki gelişmeler yüksek oranda saflaştırılmış amilolitik enzimlerin kullanılmasıyla mümkün olmuştur (16). Gıda kaynaklı nişastaya glisemik ve insülinin verdiği cevaplar doğrudan nişastanın sindirim oranı ile alakalı bulunmaktadır (17).

Amilopektin oranı fazla olan nişastalar nispeten daha kolay sindirime uğrayabilir bunun sonucu olarak sert ve hızlı insülinemik ve glisemik yanıtların ortaya çıkmasına yol açabilir (7, 17). Bu sindirim oranındaki farklılıklardan biri, nişasta fraksiyonlarındaki amilopektin ve amiloz miktarı ile ilgilidir. Amilozun sindirim oranı amilopektinden daha azdır (17). Amilozun daha az sindirim oranı ile ilgili birçok açıklama yapılmaktadır: birincisi, amiloz yapısında amilopektine göre daha fazla hidrojen bağı bulunmaktadır, bu da onları enzimatik ataklara karşı daha ulaşılabilir yapmaktadır. İkincisi, amilopektin, amilozdan daha geniş bir moleküldür böylece enzimatik ataklar için daha geniş bir yüzey alanı mevcuttur (Şekil 3). Üçüncüsü amiloz-lipit kompleksinin varlığı, amiloz sindirim oranını düşürebilmektedir (17).

A.



B.



Şekil 3: A. Amilopektinin şematik modeli (18) B. Amilopektin ve amiloz şematik görünüm (19)

Amilopektinin sindirimi, insülin konsantrasyonunun ve kan glikozunun hızlı artışına sebep olmaktadır (7). Çoğu nişastada, toplam nişastanın % 70-80'nin amilopektinden, geriye kalan % 20-30'luk kısmı ise amilozdan oluşmaktadır (10). Gıdalarda bulunan nişastaların yapısı, amiloz ve amilopektin içeriği bakımından çok farklılıklar gösterebilmektedir. Örneğin; pirinç ve waxy arpa çeşidinde neredeyse saf amilopektin iken, wrinkled pea denilen bir bezelye türünde % 70' den fazla amiloz bulunmaktadır (10).

3.2. Krom

Krom (Cr), doğada en çok bulunan 21'inci elementtir. Molekül ağırlığı 51.996 gr olup teorik olarak -2 den +6 ya kadar değerler alabilmesine rağmen sıklıkla 0, +2, +3, +6 şeklinde bulunmaktadır. Elementel krom (0), yer kürede doğal olarak bulunmaz ve biyolojik olarak aktif değildir. Hemen hemen doğal kromun tamamı trivalent (+3) formda iken heksavalent (+6) formlar endüstriyel kaynaklıdır (20).

Krom, karbonhidrat, protein, lipit ve nükleik asit metabolizmalarına katılan, insülinin fonksiyonlarını yerine getirebilmesi ve insülin hassasiyeti olan hücrelere glikoz alımının gerçekleşmesinden dolayı kan şekerinin düzenlenmesinden sorumlu olan bir iz elementtir (21, 22). Ayrıca nükleik asit ile proteinlerin stabilitesinin devamlılığı ve enzimlerin aktivitesinin ayrılmaz bir parçasıdır (23). Yapılan *in vivo* çalışma koşullarında kromun antioksidan özellik gösterdiği bildirilmektedir (24-26).

Schwarz ve Mertz 1957'de Cr^{+3} 'ü içeren bir bileşik buldular, 1959'da ise bu bileşiği '**glikoz tolerans faktör**' (GTF) olarak tanımladılar. O dönemden bu zamana kadar yüzlerce araştırmacı tarafından Cr^{+3} ün çeşitli deney modellerinde

ve insanlarda glikoz metabolizmasının üzerindeki etkilerini araştıran çok sayıda makale yayınlanmaktadır. Bundan sonra krom içeren birçok bileşik keşfedildi ve üzerinde çalışıldı; bunlar içinde krom niasin, krom yeast, krom pikolinat sıralanabilir (27).

Kromun diyetlerde eksikliği durumlarında, kan glikozu, kolestrol, insülin ve trigliseritin yükseldiği görülürken, yüksek dansiteli lipoprotein olarak bilinen (HDL)'nin düşmesine neden olduğu bilinmektedir (28). Evans 1989 yılında yaptığı çalışmada, diyabetli ve diyabet olmayan yetişkin hastalarda krom pikolinat takviyesinin kolesterol ve glikoz seviyesinde iyileştirmeler meydana getirdiğini, bununla ilişkili olarak yağ kitlesini azalttığını ve yağsız kütleyi artırdığını bildirmektedir (29, 30).

Kromun canlı dokusunda Cr^{+3} şeklinde, nikotirik asit, glutamik asit, glisin ve sisteinden oluştuğu düşünülmektedir. Krom, GTF olarak bilinen organometalik bir molekülün yapısına girerek insülinin aktivasyonunu sağlamakta, çekirdeğinde Cr^{+3} barındırmayan GTF, aktif olarak kabul edilmemektedir (31, 32). Hayvan dokularında bulunan kromun büyük çoğunluğu GTF'nin içinde bulunmaktadır (31, 32).

Glikoz tolerans faktörü, insülini dengede tutar veya insülinin dokulardaki mevcut reseptörlerle etkileşimini kolaylaştırarak insülinin dokulara etki etmesini sağlamaktadır. Krom insanlarda dışarıdan besinle alınması gereken ve glikoz metabolizması için gerekli bir elementtir. İnsanlar için günlük krom ihtiyaı 50 ile 200 μg arasında tespit edilirken, hayvanlar içinse bu miktar tam olarak bilinmemektedir (33, 34).

3.2.1. Kromun Emilimi

Diyette organik veya inorganik formda bulunan kromun emilimi, ince bağırsaklardan gerçekleşmekte, ancak elementel krom emilememektedir ve besinsel bir değeri yoktur (35). Ratlarda yapılan çalışmalarda emilimin yoğun olarak yapıldığı bölge jejunum olmakla birlikte, ileum ve duodenumda da az miktarda emilim olmaktadır (36). Kromun inorganik formlarının (CrCl_3 , Cr_2O_3 gibi) emilimi oldukça zayıftır, Cr^{+3} ün ortalama emilim oranı yaklaşık % 0.5 olarak kabul edilmektedir. Bununla birlikte emilimin etkinliği, günlük tüketim ile ters orantılıdır (37). Yapılan bir çalışmada, 40 $\mu\text{g/gün}$ den fazla krom tüketildiğinde emilim oranını % 0.5, günlük 10 μg olarak tüketildiğinde ise emilim oranını % 2 olarak rapor edilmektedir (37). Anormal emilim, insülin ihtiyacı olan diyabetik hastalarda da tespit edilmiştir. İnsülin ihtiyacı olan diyabetik hastalarda, normal bireylere göre 2 ila 4 kat daha fazla krom emilimi tespit edilmekte, buna göre, krom eksikliğinde ve krom ihtiyacı olan diyabetik hastalarda, krom ihtiyacını karşılamak için emilim oranı artmaktadır (38). Rasyonun içinde bulunan diğer bileşenler de kromun emilimini pozitif veya negatif yönde etkilemektedir (39). Doğada bulunan doğal krom kaynaklarının hemen hemen hepsi trivalent form yapısındadır. Ayrıca sentetik olarak üretilen $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, K_2CrO_4 ve Na_2CrO_4 gibi heksavalent (Cr^{+6}) formları da bulunmaktadır. Bu formlar trivalent forma göre daha fazla çözünebilir ve doğrudan bağırsaklara verildiği zaman Cr^{+3} göre 3 ile 5 kata kadar daha fazla emilebilmektedir (37). Bununla birlikte ağız yoluyla alındığı zaman, Cr^{+6} nin ince bağırsaklardaki emilim bölgesine varmadan önce Cr^{+3} 'e indirgendiği düşünülmektedir (38). İnorganik Cr^{+3} kaynaklarından düşük yararlanma sebepleri: suda çözünmez haldeki kromik

oksit ile ilişkili olması; yemlerde bulunan doğal ajanlarla fitatlar gibi şelat oluşturması; çinko, demir ve vanadium gibi iyonik formdaki elementlerle temas halinde olması sıralanabilir (23). Kromun organik moleküllerle kompleks oluşturması da yararlanabilirliğini etkileyebilmektedir. Örneğin, okzalat, ratlarda yapılan çalışmalarda kromun emilebilirliğini artırırken, EDTA ve sitrat etkilememektedir (36). Krom emilimi diyetinde bulunan amino asit, askorbik asit, yüksek karbonhidrat ve aspirin varlığında artmakta iken fitaz ve antiasit (sodyum, hidrojen, karbonat ve magnezyum klorit) varlığında azalmaktadır ve buna bağlı olarak kandaki ve dokulardaki konsantrasyonları değişmektedir (40).

Kromun diğer organik formları, krom nikotinat (CrNik) ve krom pikolinat (CrPik) hazır krom kaynakları olarak kullanılabilir. Olin ve arkadaşları ratlara oral yolla verilen kromun ilk 12 saatte emilebilirliğini CrNik için en iyi, CrPik için orta düzeyde ve CrCl_3 için en az olarak belirtmektedirler (41).

3.2.2. Kromun Metabolizması

Emilen krom, kanda beta-globulin plazma fraksiyonuna bağlı olarak dolaşır ve transferrin vasıtasıyla dokulara taşınmaktadır. Transferin reseptörleri insüline duyarlıdır, kanda insülinin artışı transferin reseptörlerinin hücre içi keseciklerden plazma membranına hareket etmesine neden olmaktadır (42). Hücrenin yüzeyinde bulunan kroma doymuş transferin reseptörleri, kısmen endositoza maruz kalarak yeni oluşan kesecik pH'sından dolayı kromun kesecik içerisine salınımına eşlik eder, kromun çoklu transferin moleküllerinden, Apokromodulinden krom yüklü kromodulin elde etmek için ayrılır (43). Kandan hızlı bir şekilde, kemikler tarafından emilir, ayrıca böbreklerde, karaciğerde ve dalakta da birikmektedir (43, 44).

Emilen krom, temel olarak idrar ile glomerular filtrasyonla veya düşük molekül   organik transport  rlere bağlanarak vücuttan atılmakla birlikte k     miktarlarda sa , safra, terleme ve süt ile de atılmaktadır (35). Sağlıklı insanlarda 24 saatte idrar ile uzaklaştırılan krom miktarı 0.22  g/gün olarak rapor edilmektedir (20, 23). Yüksek karbonhidratlı diyetlerde ve aşırı strese maruz kalındığında idrar ile atılan krom miktarı 10 ile 300 kat artabilmektedir. Diyetle alınan kromun hangi formda alındığı da atılma miktarını etkilemektedir.

3.2.2.1. Kromun Karbonhidrat Metabolizması  zerine Etkisi

Kromun karbonhidrat metabolizmasına katıldığını ilk rapor edenler 1957 yılında Schwarz ve Mertz'tir. Biyolojik olarak aktif halde bulunan kromun, dolaşımda bulunan insülinin etkisini, buna bağlı olarak glikozun kullanımını arttırmak suretiyle karbonhidrat, protein ve lipid metabolizmalarını etkileyerek değişimler yaptığı rapor edilmektedir (45). Glikoz Tolerans Faktör yapısında bulunan kromun, insülinle etkileşime girerek sindirilen karbonhidratların dokularda dağılmasına yardım ederek görev yaptığı ve GTF'nin sadece kromun varlığında görevini yapabildiği bildirilmektedir (31). Schwarz ve Mertz GTF'nin eksikliğinde glikoz toleransının bozulduğunu, kromun diyetle eklenmesiyle glikoz toleransında iyileşme gözlenmektedir. Glikoz Tolerans Faktörde bulunan krom, sistein amino asidinin yapısındaki kükürt ve hidrojen atomlarını birbirine bağlayan sülfidril bağlarının kurulmasını tetikleyerek, insülinin dokularda bulunan reseptörlere bağlamasını sağlamaktadır (31). Kromun yetersiz olduğu durumlarda pankreasta bulunan Langerhans adacıklarının beta hücrelerinden insülin salınımı azalmakta, dokularda insülin direnci artmakta ve bu şekilde gelişen durumda siklik adenozin monofosfat (cAMP) bağımlı fosfodiesteraz enziminin

faaliyetlerindeki azalmadan kaynaklandığı bildirilmektedir. Kromun, nükleosit trifosfat molekülünde bulunan pirofosfatın ayrılmasına sebep olarak AMP'nin oluşumunu artırdığı düşünülmektedir (46). İnsülin reseptörlerinde bulunan kinaz, krom vasıtasıyla etkisini artırarak insüline olan duyarlılığı artırmaktadır (47). *In vitro* deneysel çalışmalarda krom ve insülinin dokuya eklenmesiyle, glikozun oksidasyonuna yol açarak CO_2+H_2O oluşumunu sağlar, bu olaylar glikogenezisi artırmakta, bunun sonucunda glikoz lipitlere dönüşmekte ve tüm bu kombinasyonlarda glikoz kullanımını artırmaktadır (48).

3.2.2.2. Kromun Lipit Metabolizması Üzerine Etkisi

Yapılan birçok çalışma, lipit metabolizması ve düşük oranda aterogenezis için kromun gerekli olduğunu göstermektedir. Örneğin düşük krom dozlarında beslenen rat ve tavşanlarda çok yüksek konsantrasyonlarda serum kolesterol, arterlerde lipit birikmesi ve plak oluşumu görülmektedir (49, 50). Diyetle krom eklenmesiyle total kolesterol konsantrasyonlarında düşüşler tespit edilmektedir. Newman ve arkadaşları 1978 yılında yaptıkları çalışmada, koroner arter hastalığından ölen kişilerin arterlerinde düşük krom konsantrasyonları tespit ettiler fakat dokularda bu durumu gözlemlemediler. Diyetle krom eklenmesiyle yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) de artış gözlenirken, total kolesterol, LDL ve trigliseritlerde düşüş tespit edilmektedir (47, 51). Kromun kan lipitleri üzerindeki etkisi sürekli aynı istikrarı göstermezken, kromun lipit metabolizması üzerindeki etkisi glikoz metabolizmasından bağımsız değildir (37).

3.2.2.3. Kromun Protein Metabolizması Üzerine Etkisi

Dünya sağlık örgütü, kromun RNA'nın sentezini artırmak süretiyle, gen ekspresyonunu çinko gibi etki yaparak düzenlediğini ifade etmektedir (52). Kromun amino asitlerin kullanımında artış meydana getirdiği ve DNA'nın bütünlüğünü sağlamada önemli görevler üstlendiği bildirilmektedir.

Evans ve Bowman (53), çalışmalarında ratların iskelet kaslarındaki amino asit ve glikoz kullanımındaki artışın sebebini, çalışmada kullanılan krom pikolinatın, insülin üzerindeki etkisinden kaynaklandığını belirtmektedirler. Kas hücreleri tarafından kullanılan amino asitlerin kullanımındaki bu artış, toplam protein birikimi açısından faydalıdır (53). Roginski ve Mertz, rat diyetine eklenen Cr'nin, amino asitlerin kalp proteinleri ile bağlanmasını ve dokular tarafından amino asit kullanımını artırdığını bildirmektedirler (54).

Kromun hayvanlarda gösterdiği tepkiler fizyolojik, patolojik ve beslenmedeki stres durumlarından etkilenmektedir. Örneğin, egzersiz ve travma durumlarında idrar ile krom atılımı artarak krom yetersizliğine neden olabilmektedir (23, 55, 56). Krom yetersizliğine bağlı semptomlar, düşük proteinli beslenme, egzersiz, kan kayıpları ve enfeksiyon durumlarında daha da kötüye gitmektedir (54). Rasyona eklenen krom, nakil yapılan besi danalarında yol stresine karşı olumlu olduğunu, süt ineklerinde doğum öncesi hazırlıkta ve erken laktasyondaki ineklerde süt veriminde artışa neden olduğunu, immun sistemi güçlendirdiğini ve hayvan sağlığını olumlu yönde etkilediğini ortaya koymaktadırlar (57-59)

3.2.3. Kromun Toksik Etkisi

Krom tuzları güçlü oksitleyici ajanlardır, alaşım malzemelerinde paslanma ve korozyona dayanıklı boyaların yapımında kullanılmaktadır. Bu maddeye yüksek miktarlarda maruz kalan işçilerde dermatitis, deri ülserleri, akciğer kanseri, gastroenteritis, böbrek hasarları ve hepatitis görülebilmektedir. Krom zehirlenmesi, en fazla heksavalent (Cr^{+6}) forma maruz kalanlarda görülmekte iken nispeten daha az toksik olan Cr^{+3} az da olsa zehirlenmeler meydana getirebilmektedir. Bu iki form arasındaki toksisite farkının fazla olması, Cr^{+6} formunun hücreler tarafından daha kolay emilebilmesinden kaynaklanmaktadır. Çünkü, Cr^{+3} 'ün aksine, Cr^{+6} hücre içine daha kolay alınmaktadır. Bunun iyon transport sistemi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bu yüzden, Cr^{+6} 'nın ekstraselüler olarak Cr^{+3} 'e indirgenmesi organizmayı koruyucu bir eylem olarak görülmektedir. Hücre içinde Cr^{+6} 'nın Cr^{+3} 'e indirgenmesi detoksifikasyon için olabileceği kadar aktifleştirme için de olabilmektedir. Bazı krom türleri sitoplazmadan çekirdeğe hareket ederek DNA'da hasar meydana getirebilmektedir (60). Ayrıca Cr^{+6} hücre içinde birçok noktada etkileşebilir, böylece o bölgeye özgü etkiler görülebilir. Aşırı miktardaki Cr^{+6} mitokondrideki oksijeni tüketmektedir. NRC, çiftlik hayvanları için maksimum tolare edilebilir krom miktarını, oksit form için 3000 ppm, klorid formu için 1000 ppm olarak tespit etmektedir (60).

3.3. Egzersiz

Egzersiz, solunum sistemi, kardiovasküler sistem, iskelet sistemi ve kas sisteminin beraber katıldığı bir fiziksel aktivitedir (61). Thompson ve arkadaşları

(62), egzersizi fiziksel gücün bir veya birden fazla parametrelerini korumak ve geliştirmek amacıyla bir plan eşliğinde yapılan fiziksel aktiviteler, şeklinde tanımlanmaktadır. Egzersiz sırasında iskelet kaslarında oluşan hareketler, bazal düzeyden daha fazla enerji harcamasına neden olmakta, bu da organizmada egzersizin yoğunluğu ile paralel olarak yorgunluk oluşturmaktadır (62). Yoğun egzersiz ise, mevcut oksijen depolarının % 60'ından fazla tüketim olduğu ve kalbin atım hızının % 70'ten daha fazla zorlamasıyla gerçekleşen fiziksel hareketler olarak ifade edilmektedir (62, 63). Egzersiz aerobik ve anaerobik olarak sınıflandırılabilir. Aerobik egzersiz, büyük kas gruplarının kullanıldığı, devamlı olarak maksimum oksijen gerektiren bir süreçtir (64). Anaerobik egzersiz sırasında kas lifleri, glikojen, adenosintrifosfat, kreatin fosfat gibi depo maddelerden enerji üretmek zorundadır. Bu iki egzersiz türü arasındaki ayırım, kan glikoz miktarı üzerindeki farklı olan etkileridir. Egzersizden dolayı iskelet kaslarına gelen kan miktarında artış meydana gelmektedir. Bunun sonucu olarak vücut ısısında da artış olmaktadır. Böylece vücut glikojen depolarını yenilemek için insülin emilim hızı artmaktadır. Yüksek yoğunluktaki anaerobik egzersiz, keton cisimcikleri, katoşelaminler ve esterleşmemiş yağ asitlerinin seviyelerinin aşırı yükselmesine neden olduğu için iskelet kaslarında glikoz kullanımını geçici olarak durdurmakta ve 30-60 dakikalık geçici bir hiperglisemi meydana gelmektedir. Bunun sebebi olarak da karşı hormon üretiminin gelişmesi olarak düşünülmektedir (65). Egzersiz sırasında, iskelet kaslarında kontraksiyonlar meydana gelmektedir ve kontraksiyonlar için enerjiye gereksinim duyulmaktadır. Bu sırada gerekli olan ATP enerjisi çeşitli yollarla temin edilmektedir. Hangi tür enerjinin kullanılacağı egzersizin zorluğu ve süresi ile belirlenmektedir.

Bunlardan ilki hazır enerji olarak bilinen ATP-PCr mekanizması, ikincisi kısa süren enerji; glikolitik enerji mekanizması ve son olarak da uzun süreli enerji; aerobik enerji mekanizmasıdır:

-ATP-PCr mekanizması, kısa süren fakat yoğun egzersizlerde kullanılır. Bu tür enerji, kas dokusunda depo halinde bulunan ATP ve fosfokreatinden temin edilmektedir (66).

-Kısa süren enerji kaynağı olarak bilinen glikolitik enerji mekanizmasında yüksek enerjili fosfatın yeniden sentezlenmesi gerekmektedir. ADP'nin yeniden fosforilize edilmesi, kas dokusunda mevcut olan glikojenin, pürivik asitten laktik asite kadar yıkılımını gerektiren anaerobik glikolizis yolu sayesinde meydana gelmektedir. Oksijenin yeterince temin edilemediği durumlarda enerjiye olan talep bu şekilde sağlanmaktadır (66).

-Üçüncü olarak uzun süreli enerji olarak bilinen aerobik enerji mekanizması; bu aerobik enerji metabolizması aracılığıyla ATP'nin tekrar sentezlenmesi için pürivik asitin doğrudan krebs çemberine girmesi, yağların beta oksidasyona uğraması ve oksijen transferinin mitokondride devreye girerek döngünün tamamlanması gerekmektedir (66).

3.3.1. Laktat

Laktik asit, insan ve hayvanların vücudunda oluşan organik bir bileşiktir. İskelet kası, beyin, eritrositler, böbrekler gibi değişik organlarda bulunur. Laktat ile aynı anlamda kullanılır. Laktat, laktik asidin sodyum (Na) ve potasyum (K) tuzudur. Laktik asidin temel kaynağı, glikojen olarak adlandırılan, karbonhidratların yıkımı sonucu oluşan bir yan üründür (67, 68).

Kan laktat konsantrasyonu, klinik egzersiz testleri ve aynı zamanda atletlerin performanslarının test edilmesi sırasında en fazla ölçülen parametredir. Çünkü artmış olan laktatın ölçülmesi, sürekli yapılan stres testleri esnasında altta yatan nedenleri değerlendirmek ve başka hastalar için uygun olan egzersiz şiddetini önermek için kullanılabilir (67). Kanda laktat seviyesinin yükselmesi, dokulara yetersiz oksijen gitmesi, dokuların oksijen ihtiyacının artması ve dokuların oksijen kullanımının yetersizliği gibi durumlara bağlı olmaktadır (67).

Tempolu antrenmanlar esnasında ve sonrasında kan ile kaslarda laktik asit birikimi meydana gelmektedir. Bu biriken laktik asitin bir kısmı karaciğere taşınarak yok edilirken, bir kısmı da laktik asitin üretildiği yakın ve uzak dokulara taşınarak enerji kaynağı olarak kullanılmaktadır (67).

Laktik asit, vücutta 1-2 saat gibi kısa bir zaman dilimi içerisinde ortadan kaldırılmaktadır (67). Egzersiz testleri en fazla çalışma hızının belirli aralıklarla artırıldığı ve egzersiz yapanın yorulma seviyesine ulaşana kadar olan dönemde incelenmektedir. Bu şekildeki egzersizlerde laktat seviyesi başlangıçta yavaş yavaş artarken egzersizin daha yorucu bir hal almasıyla birden artmaktadır (67).

Ratlarda egzersiz çalışmaları, genel olarak çeşitli zorlama yöntemleri kullanılarak yapılmaktadır. Rat çalışmalarında, egzersizin türü, yoğunluğu ve zamanı, kontrol gerektiren önemli kriterlerdir. Dolayısıyla gönüllü ve zorlamalı egzersizler arasında farklılıklar bulunabilmektedir. Yapılan çalışmalarda zorunlu ve gönüllü egzersiz sonuçları karşılaştırıldığında stres faktörü ortaya çıkmaktadır. Hayvanın fiziksel egzersizler sırasında, kanın laktat düzeyindeki değişimlerin

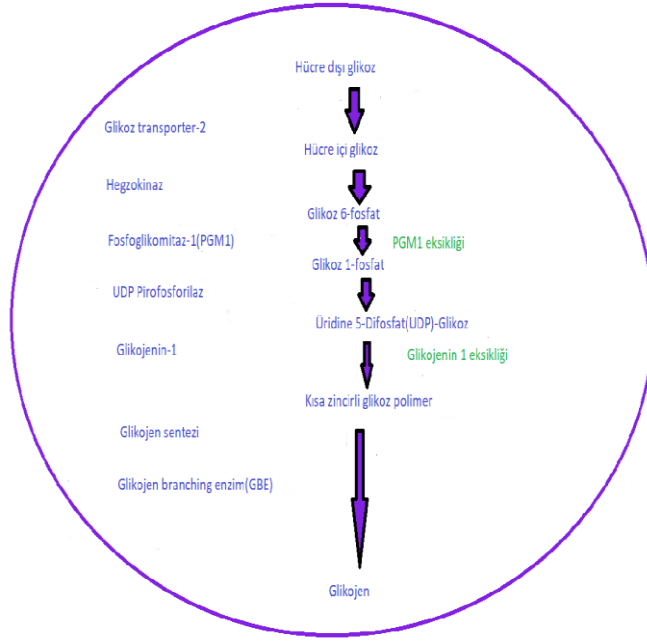
dışındaki diğer parametrelerde meydana gelen değişimler, homeostazın korunmasına yönelik tepkiler olarak değerlendirilmektedir (64).

3.3.2. Glikojen ve Kas Glikojeninin Egzersiz Süresince Kullanımı

Karbonhidratlar kas ve karaciğerde glikojen şeklinde depolamaktadır. Bu nedenle, egzersizden önce karbonhidratları tüketmek, kaslarda depolanacak olan glikojen miktarını, egzersizde dayanıklılık süresini ve egzersiz yeteneğini etkilemektedir (69).

Glikojen, glikozun küçük miktarlarda fosfat ve glikozamin içeren dallanmış polimeridir. Lineer zincirler glikoz kalıntıları α -(1-4) glikozidik bağ ile bağlanırken α -(1-6) glikozidik bağlantı noktaları dallanma noktalarını oluşturmaktadır. Glikojen partikülü yaklaşık olarak 55.000 adet glikozdan oluşmaktadır (69). Glikojen partiküllerinin büyüklüğü iskelet kaslarında 10-44 nm yarıçapında iken, karaciğerde yaklaşık olarak 110-290 nm'dir. Glikojen, hücre içerisinde elektron mikroskobu ile belirlenebilmektedir.

Glikojen sentezi çeşitli enzimlerin farklı şekillerde koordinesini gerektirmektedir. Glikoz, hücre içerisine glikoz transporterleri vasıtasıyla girmektedir ve hegzokinaz enzimi vasıtasıyla glikoz 6-fosfata fosforilize edilmektedir (Şekil 4, 70).



Şekil 4: Glikojen sentezinin şematik görünümü (70).

Bilindiği gibi insan ve hayvanlarda yaşamın devamı için, kan glikoz düzeyinin belli sınırlar içinde sabit tutulması gerekmektedir. Anaerobik glikolizin temel bileşeni olan glikoz, egzersiz sırasında esansiyel enerji kaynağını oluşturmaktadır. Vücuda alınan gıda maddeleri, devamlı olarak kanın glikoz seviyesini normal sınırlar içinde tutamayabilmektedir. Canlı organizmalar bu olumsuz durumdan etkilenmemek için vücutta çabuk harekete geçebilecek olan glikozun depo şekli olan glikojeni meydana getirmektedir. α -D-glikoz birimlerinden oluşan glikojen dallı ve zincirli yapıya sahip olan homopolisakkarit yapıya sahiptir (69, 71).

Vücuttaki hücrelerin büyük bir çoğunluğu, kendi ihtiyaçları için küçük glikojen depoları oluşturmaya karşın, ana glikojen kaynakları iskelet kasları ve karaciğerdir. Besinlerle vücuda yeterince glikoz alınamadığı durumlarda karaciğer kendi depolarından kana hızlı bir şekilde glikoz göndermektedir. Egzersizlerde kaslarda kasılma meydana gelmektedir. Bu kasılmalar sırasında kas glikojeni

ATP'nin sentezlenmesi için gereken yakıt kaynağı olmaktadır. Karaciğer kaynaklı glikojen ise açlık dönemlerinde kan glikoz düzeyinin dengede tutulabilmesi için görev almaktadır (8, 71)

Egzersiz sırasında, iskelet kaslarının kasılması sonucu kas glikojeni depoları azalmakta, egzersiz sırasında alınan yüksek karbonhidratlı diyetler egzersiz sonrası kas glikojen restorasyonunu düzenlemede yardımcı olmaktadır (72, 73, 74). Kas glikojeninin kullanımı hem egzersizin yoğunluğu hem de süresi ile ilgilidir. Glikojenin kullanımı ile egzersizin süresi arasında katlamalı bir ilişki vardır. Ayrıca, egzersiz dayanıklılık kapasitesi ve egzersiz öncesi kullanılabilir kas glikojeni arasında doğrusal bir ilişki vardır (72, 74, 75).

3.3.3. Egzersiz Süresince Kas Glikozunun Kullanımı

Kan glikozu, sindirim sisteminde karbonhidrat sindirildiğinde ve karaciğerdeki glikojenoliz ve glikoneogenezis ile elde edilmektedir. Bu karbonhidrat kaynakları, iskelet kaslarının kasılması için çok önemlidir. Kas glikoz kullanımı, yoğun egzersiz süresinin tarzına bağlı olarak artar (74, 75).

Egzersiz sırasında glikoz kullanımı, glikoz teslimatının olduğu anahtar bölgeler vasıtasıyla kas zarından glikoz transferi ve hücre içi glikoz kullanımıyla devam eden süreç, kolaylaştırılmış difüzyon ile kontrol edilmektedir. İskelet kaslarında oluşan hiperemi glikoz taşınımını artırırken, iskelet kaslarının kasılması ile glikoz kullanımı artmaktadır. Karbonhidrat sindirimini plazma glikoz seviyelerindeki artış takip eder (74, 75). Hücre içerisinde glikoz taşınması glikoz transporterler (GLUT) vasıtasıyla kolaylaştırılmış difüzyon ile meydana gelmektedir. Her bir dokuda farklı adlar altında farklı GLUT modellerinin olması onların farklı dokularda farklı görevler üstlenmesinden kaynaklanmaktadır (74,

76). GLUT-4 glikoz taşıyıcılarının, hücreler arası bölgeden sarkolemmaya hızlı yer değiştirmesi ve t-tubules kas glikoz transferini belirgin bir şekilde artırır ve egzersiz boyunca kas glikoz kullanımı için sınırlayıcı faktör olarak etkili bir şekilde ortadan kaldırmaktadır. Kas zarında GLUT-4 artışı egzersiz süresince kas glikoz alımını artırmada zaman içerisinde katkıda bulunmaktadır (74, 77).

3.4. Karaciğer Enzimleri

3.4.1. Alanin Aminotransferaz

Alanin aminotransferaz (ALT), karaciğer hücre hasarının göstergesi olan en yararlı enzimdir. Birçok dokuda bulunmasına rağmen en büyük aktivitesini karaciğerde yapmaktadır. ALT'nin birincil görevi glikoneogenezis ve amino asit metabolizmasında rol almaktır. ALT, amino asit metabolizması ve glukoneojenezinin bir parçası olarak glutamat ve pirüvat üretmek amacıyla alaninden alfa-ketoglütata bir amino grubunun transferini katalize etmektedir. ALT enzimi, serum ve dokularda, özellikle, karaciğerde bulunmasına rağmen önemli oranda böbrek, iskelet kası ve mitokondride de yer almaktadır. ALT, pankreas, dalak ve akciğerlerde de düşük miktarlarda bulunmaktadır. ALT seviyesi, hepatit, konjesif kalp yetmezliği, karaciğer ve safra kanalı hasarı durumlarında yükselmektedir. Rodentlerde, rasyon dengesizliği, kısıtlama ve ilaç uygulamaları plazma ALT seviyelerini etkileyebilmektedir (78). Akut hepatotoksik durumlarda hasarın şiddetine göre ALT seviyesi 6 ila 12 saat içerisinde yükselmekte ve 1- 2 gün arasında pik seviyeye ulaşmakta daha sonra düşmektedir. ALT'nin plazma yarılanma ömrü tahmini olarak ratlarda 3 - 10 saat, insan ve köpeklerde ise 50 saattir (79).

3.4.2. Aspartat Aminotransferaz

Aspartat aminotransferaz (AST), organizmada en bol miktarlarda karaciğer ve kalpte bulunmakta, bunlara nazaran daha az miktarlarda da kas ve böbreklerde bulunan bir enzimdir. Aspartat transaminaz, aspartat ve glutamat arasında geri dönüşümlü olarak amino grubunun transferini katalize etmektedir. ALT gibi AST'de hepatositlerin stoplazmasında, iskelet kasları dahil diğer dokularda da bulunmaktadır. Hepatosit, iskelet kası hasarlarında, AST hücreler arası alana sızmakta ve serum AST seviyesi yükselmektedir (78).

Karaciğer hasarında, ALT ve AST seviyeleri yükselmekte, ancak AST'nin büyük bir kısmının mitokondriye bağlı olmasından dolayı, ALT'nin miktarı AST'den daha fazla olmaktadır. AST/ALT oranının yüksek olması daha çok iskelet kası hasarlarında olmaktadır. Bu oran iskelet kası ile karaciğer hasarını ayırmada önemli bir kriterdir (78).

3.5. Trigliseritler

Günlük tüketilen yağların büyük çoğunluğu trigliseritten, az miktarlarda ise fosfolipit, kolesterol ve kolesterol esterlerinden meydana gelmektedir. Yağ depolarının % 95'ni ve plazmada mevcut olan gliserol esterlerinin büyük çoğunluğunu da trigliseritler oluşturmaktadır. Trigliseritler duodenum ve ileumun proksimal kısmında, safra asitleri ve lipaz etkisiyle gliserol ve yağ asitlerine hidrolize olmaktadır. Trigliseridler, emildikten sonra tekrar sentezlenmektedirler. Bunlar kolesterol ve apolipoproteinler ile birleşmek suretiyle şilomikronları oluşturmaktadırlar (80, 81). Dolaşımda bulunan eksojen kaynaklı trigliseritlerin karaciğere taşınmasından şilomikronlar sorumlu iken, endojen kaynaklı trigliserit

taşıyıcısı VLDL (çok düşük dansiteli lipoproteinler) ise, trigliseritleri adipoz doku ve kaslara taşımaktadır. Trigliseritlerin sentezi adipoz doku ve karaciğer hücrelerinde meydana gelmektedir. Trigliseritler, enerji kaynağı olarak adipoz dokuda depolanmakta, enerji elde etmek amacıyla kas ve diğer dokularda yakılabilmektedir. Karbonhidrat bakımından zengin bir beslenme trigliseritlerin seviyesinin yükselmesine neden olmaktadır (82, 83).

3.6. Kolesterol

Kolesterol, hayvansal dokuların karakteristik steroid alkolüdür ve vücutta çeşitli temel fonksiyonları vardır. Hücre membran yapısının temel elemanı, D vitamini, steroid hormonların ve safra asidinin öncül maddesidir. Bu yüzden, vücut hücrelerine yeterli ve uygun miktarda kolesterol temin edilmesi önemlidir. Karaciğer vücudun kolesterol homeostazının düzenlenmesinde kilit rol oynamaktadır. Kolesterol, safranin içinde değiştirilmemiş şekilde safra tuzlarına dönüştürülerek barsak lümenine geçmektedirler. Kolesterol, periferik dokulara gönderilerek plazma lipoproteinlerinin bileşeni olarak da işlev görebilmektedir. İnsanlarda, özellikle endotelial kan damarlarında dokulardaki kolesterolün dereceli bir şekilde tortu birikmesiyle sonuçlandığından, kolesterolün alımı ve atılımı arasındaki denge kesin değildir. Bu tortu birikmesi, plak oluşumuna sebep olursa damar daralması, kardiyovasküler, serebral ve periferik damar hastalıkları riskini artırmaktadır (8, 83).

3.7. Plazma Lipoproteinleri

Plazma lipoproteinleri, apolipoproteinler ve apoproteinler gibi özel proteinler ve lipidlerin küresel makromoleküler kompleksleridirler. Lipoproteinler şilomikronlar, çok düşük dansiteli lipoproteinler (VLDL), düşük dansiteli lipoproteinler (LDL) ve yüksek dansiteli lipoproteinler (HDL) olmak üzere dört çeşittir. Lipoproteinler, lipid ve protein içerikleri, büyüklükleri, yoğunlukları ve köken aldıkları yere göre farklılık gösterirler. Şilomikron ve VLDL, trigliserit bakımından zenginken, LDL ve HDL kolesterol bakımından zengindir. Lipoproteinlerin fonksiyonu, hem kendi bünyelerindeki proteinleri plazmada çözünür halde tutmak hem de bünyelerinde var olan lipidleri dokulara taşımak ve dokulardan geri almaktır. Hayvanlarda bu transport sistemi insanlarınkinden daha fazla gelişmiştir. Çünkü insan dokularında lipid birikmesi daha fazla olmakta buda damar sertliği olarak bilinen hastalıklara yol açmaktadır. VLDL'nin görevi trigliseritlerle birlikte kolesterolü depo edilecek ve kullanılacak periferel bölgelere taşımaktır. VLDL karaciğer tarafından doğrudan kana salınmaktadır (8, 83).

3.7.1. Düşük Yoğunluklu Lipoproteinler

Düşük yoğunluklu lipoproteinler (LDL), yapı olarak % 75'i lipidlerden ve % 25'i proteinlerden meydana gelmektedir. Kolesterolü perifer dokulara taşıırken tekrar perifer dokulardan karaciğere geri getirmekle sorumludur (8). LDL uzun ömürlü bir partikül olduğundan dolayı, dokular tarafından kolesterol kaynağı olarak kullanılmaktadır (84).

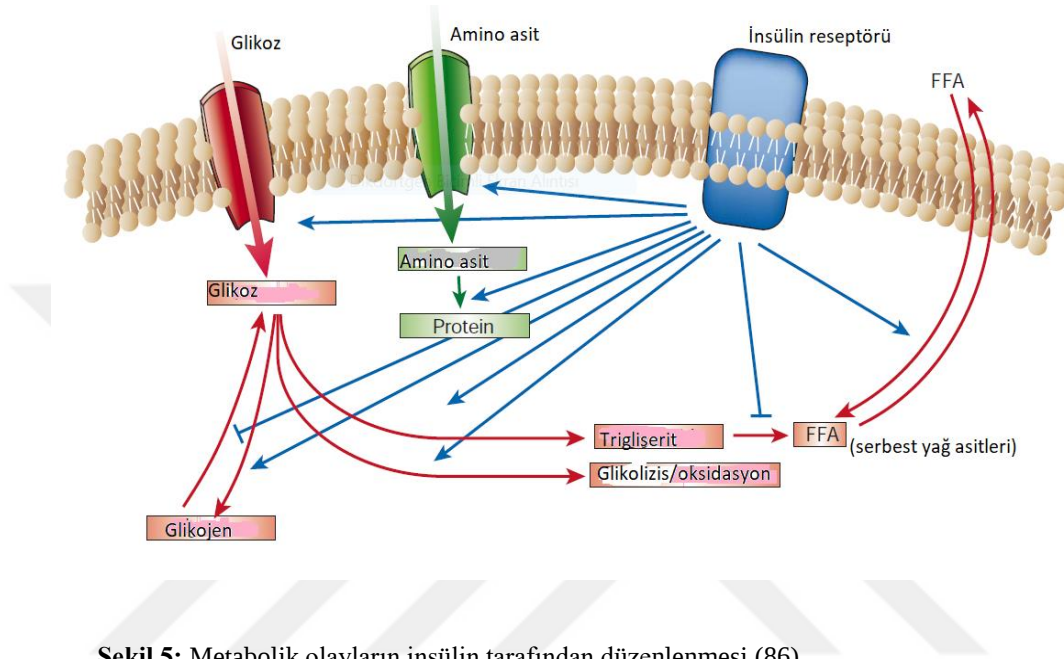
3.7.2. Yüksek Yoğunluklu Lipoproteinler

Yüksek yoğunluklu lipoproteinler (HDL), karaciğer ve ince bağırsak duvarından sentezlenen HDL, en küçük molekül ağırlığına sahip olan lipoprotein olup yapısında lipit ve proteini eşit miktarlarda taşımaktadır. HDL, kolesterol ve trigliseritleri plazmadan temizlemekte ve dokulardaki kolesterolü de karaciğere geri getirmektedirler. İnsülinin yetersiz olduğu durumlarda serumdaki HDL miktarı azalırken, çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL) artış göstermektedir. Obezite, diyabet ve sedanter yaşam HDL'nin düzeyini azaltmaktadır. HDL, kardiovasküler risk bakımından belirgin bir göstergedir (8, 85).

3.8. İnsülin

İnsülin, pankreasın langerhans adacıklarının beta (β) hücreleri (toplam pankreas hücrelerinin sadece % 1-2'sini oluşturur)'nden sentezlenen polipeptit yapılı bir hormondur. İnsülin, iki disülfid bağıyla birbirine bağlanmış olan, 51 amino asit içeren A ve B şeklindeki iki polipeptit zincirden oluşmaktadır. İnsülinin birincil görevi, kas ve yağ dokuda glikoz alımını artırmak ve karaciğer kaynaklı glikoz üretimini inhibe ederek kan glikoz seviyesini kontrol altına almaktadır. Aynı zamanda hücre büyümesi ve farklılaşması süreçlerinde de görev almaktadır (86). İnsülinin metabolik etkileri, glikojen, trigliseroller ve proteinlerin sentezi gibi anabolik olayları desteklemektir. Pankreastan salgılanan insülin, pankreastaki alfa (α) hücrelerinden salınan glukagon tarafından koordine edilmekte ve periferik dokular tarafından kullanılan glikozu, hepatik glikoz üretim oranını düzenleyerek eşit seviyelerde tutmaktadır. Beta hücreleri, vücuttaki glikoz hassasiyeti olan en önemli hücrelerdir. Karbonhidrat bakımından zengin bir diyet

tüketimi kanda glikoz seviyesinin artışına neden olmakta, bu durumda insülin salınımı artmakta ve glukagon salınımı azalmaktadır (8, 86). Glikoz, insülin salınımı için en önemli uyarıcı maddedir.



Şekil 5: Metabolik olayların insülin tarafından düzenlenmesi (86).

Protein sindirimi, plazmadaki amino asit seviyesinde geçici bir yükselişe neden olmakta, buda insülin salınımını bir anda artırmaktadır. İnsülinin sentezi ve salınımı, stres, travma ve aşırı egzersiz durumlarında adrenal medulla tarafından sentezlenen epinefrine bağlı olarak azalmaktadır.

İnsülin karaciğerde, glikoneogenesis ve glikojenolizi inhibe ederek glikoz üretimini azaltmaktadır. Birçok dokuda insülin, protein sentezi ve amino asitin hücre içine girmesini teşvik etmektedir (8, 86).

3.9. Glikoz Transporterleri

Glikoz transferi, enerji metabolizmasının temelini oluşturmaktadır. Hücre membranları, glikozun geçişini etkili bir şekilde engellemekte bu yüzden glikozun

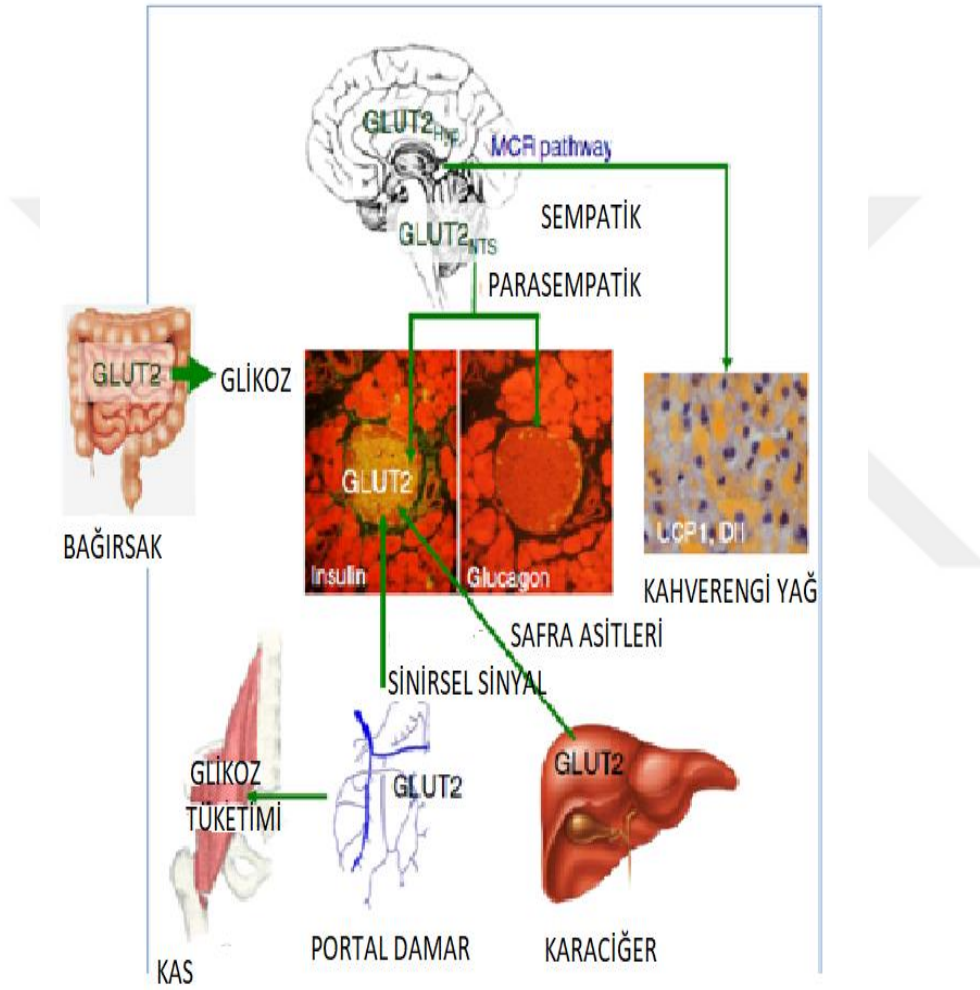
hücre içine girişı ve çıkışına protein transporterler aracılık etmektedir. Hücre membranı boyunca, glikoz taşınımı için iki tür mekanizma vardır. Barsaklarda ve böbrek tubüllerinde sodyumun aracılık ettiğı aktif transport, diğeri ise hemen hemen tüm hücrelerde görülen GLUT (glikoz taşıyıcıları) aracılığıyla kolaylaştırılmış difüzyonla meydana gelmektedir. Farklı dokularda farklı GLUT modellerinin olması, farklı dokularda glikoz metabolizmasının farklı roller almasıyla ilişkilidir (76).

3.9.1. Glikoz Transporter-2

GLUT ailesi 14 adet izoformdan oluşmaktadır. GLUT'ların birbirinden farklı amino asit dizilimleri, kendilerine özgü alt maddeleri, doku ve hücrelerde özel yerleşim yerleri ve yine kendilerine özgü kinetik özellikleri mevcuttur. GLUT-2, glikoz için benzersiz bir afiniteye sahiptir ($K_m \sim 17$ mmol/l), ayrıca düşük afiniteli maddeler olan fruktoz, galaktoz ve mannoz gibi maddeleri de kullanabilir (87, 88).

GLUT-2, enterositlerin bazolateral zarında ve böbreklerin epitelyum hücrelerinde bulunmaktadır. GLUT-2, aynı zamanda hepatositlerin plazma membranındaki en büyük glikoz taşıyıcılarıdır. GLUT-2, null farelerinde yapılan çalışmalarda glikoz tüketimi için gerekirken, glikoz üretimi için olmazsa olmazlardan değildir. Rodentlerin pankreas beta hücrelerinde, en büyük glikoz taşıyıcısı GLUT-2'dir. GLUT-2'nin genetik olarak elimine edilmesi glikoz tüketimini ve glikoz uyarımlı insülin sekresyonunu ortadan kaldırmaktadır (88). Ratlarda yapılan çalışmalar, birçok düzenleyici mekanizmada GLUT-2'nin rolü olduğunu ortaya koymaktadır (87). GLUT-2, aynı zamanda MSS'de de ifade edilmektedir. GLUT-2, birçok düzenleyici mekanizmada rol aldığı

belirlenmektedir. Pankreatik beta hücrelerinde, glikozun uyardığı insülin sekresyonu için GLUT-2 gereklidir. Gıda maddeleri vücuda alınıp emildikten sonra portal dolaşıma geçen glikoz, GLUT-2 vasıtasıyla karaciğer ve pankreasa geçer (Şekil 6). Glikozun pankreas ve karaciğere girişi için insüline ihtiyaç duyulmamaktadır. Glikozun pankreasa girişi insülin salınımını tetikler (87).



Şekil 6: GLUT-2'ye bağlı glikoz taşınım alanları ve GLUT-2 ye duyarlı organlar arasındaki iletişim (87).

3.9.2. Glikoz Transporter-4

GLUT-4, iskelet, kalp kası ve yağ hücrelerinin insüline cevap veren glikoz taşıyıcı proteinleri olarak ifade edilmektedir. Dışarıdan alınan glikozu ortadan

kaldırmanın en iyi hücresel mekanizması, insülinle uyarılmış glikozun iskelet kasına taşınmasıdır. GLUT-4, dolaşımdaki glikozu ortadan kaldırmada ve tüm vücuttaki glikoz homeostazisini sağlamada anahtar role sahip en büyük araçlardan biridir (89). GLUT-4, daha çok iskelet kası ve adipoz dokuda ifade edilmektedir (90). İskelet kaslarında glikoz tüketiminde GLUT-4'e ek olarak GLUT-1, GLUT-5 ve GLUT-12'de katkıda bulunurken adipoz dokuda ise GLUT-8, GLUT-12 ve HMIT (H^+ ile bağlanmış miyo-inositol taşıyıcı) ifade edilmektedir (89). İskelet kasları ve yağ hücreleri insüline hassastır. Artmış olan kan insülin düzeyi glikoz taşınımında çok hızlı ve aynı zamanda geriye dönüşümlü olarak 20-30 kat artış göstererek buna cevap verirler (91).

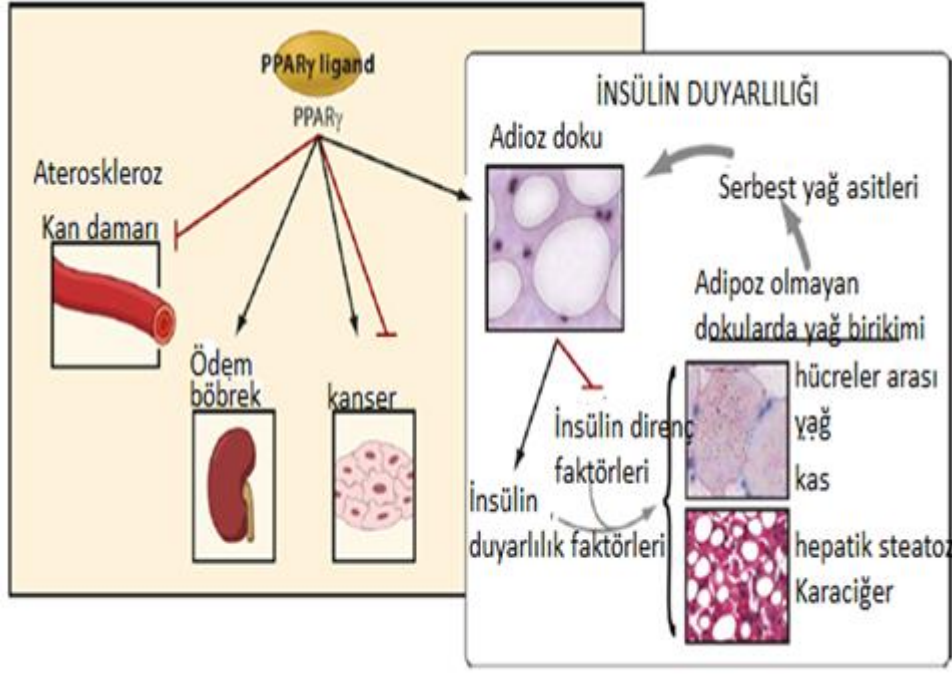
3.10. Peroksizom Proliferatör Aktive Reseptörleri

Peroksizom Proliferatör Aktive Reseptörleri (PPAR), nükleer hormon reseptör süperfamilyasına bağlı transkripsiyon faktörlerinden biridir (92-99). Doymuş ve çoklu doymamış yağ asitleri, bazı eikozanoitler, PPAR'ın ligantı olarak bilinmektedir.

PPAR ailesi, PPAR- α , PPAR- β/δ ve PPAR- γ olarak üç izoformdan oluşmaktadır (93). Bu üç izotop, dokulardaki dağılımları, bağlanma özellikleri ve fizyolojik görevleri bakımından birbirinden farklılıklar göstermektedir. PPAR- γ , hem steroid hem de tiroit hormonlarının, vitaminlerin ve lipid metabolitlerinin, doğrudan bağlanmasını düzenleyen 48 tane insan transkripsiyon faktörünü bünyesinde bulunduran nükleer reseptör ailesinin bir üyesidir. PPAR- γ , beyaz ve kahverengi yağ dokusu, kalın bağırsak ve dalakta bulunmaktadır (94, 95). Bununla birlikte yağ hücrelerinde yüksek oranlarda bulunur ve lipid biyosentezinde, enerji dengesini sağlamada ve adipogenesizin düzenlenmesinde

anahtar rol göstermektedir (92). Bu reseptör insülin hassasiyetine ve lipoprotein metabolizmasına katılmaktadır. PPAR- γ kendi içinde de 3 ayrı form bulundurmaktadır (99). Tüm PPAR- γ izoformları yağ hücrelerinde ve glikoz metabolizmasında önemli rolleri bulunmakla beraber farklı şekillerde görev yapmaktadırlar. PPAR- γ -1 izoformu hemen hemen tüm hücrelerde ifade edilirken, PPAR- γ -2 temel olarak adipoz dokuda sınırlı olmakla birlikte daha güçlü bir transkripsiyon aktivatörüdür (92, 93, 96, 97). Hem PPAR- γ -1, hem de PPAR- γ -2 insülin hassasiyetinin kontrolünü ve adipoz dokunun gelişim temelini oluşturmaktadırlar. Bununla birlikte PPAR- γ -2, obezite ve gıda alımına cevap olarak ortaya çıkan bir izoformdur. PPAR- γ -1 ve PPAR- γ -3 mRNA'larından üretilen proteinler aynıken PPAR- γ -2'ten üretilen protein 30 amino asitten oluşan ek bir NH₂ terminal bölge içermektedir. PPAR- γ -3 ile PPAR- γ -1 aynı proteini kodlamasına rağmen aynı bölgedeki başka bir düzenleyici tarafından kontrol edilmektedir (97, 99). Adipoz doku kaynaklı PPAR- γ , karaciğer ve iskelet kasları gibi adipoz olmayan dokularda, aşırı yağ birikimine engel olarak organların normal çalışma fonksiyonlarını düzenler. Aktif PPAR- γ , yağ hücrelerinde yeterli ve dengeli adiponektin ve leptin salgılanmasını garanti altına almakta, bu adiponektin ve leptin periferik dokulardaki insülinin salınımına aracılık etmektedir (92, 96, 98). Bunun sonucu olarak insülin hassasiyeti tüm vücutta sürdürülmektedir. PPAR- γ , adipogenetik faaliyetleri dışında lipid metabolizması, yağ asitlerinin taşınımı ve depolanmasında da görev alarak lipid alımını ve tüketimini artırmakta bunun yanı sıra yangı giderici etkileri de bulunmaktadır. PPAR- γ endotelial hücrelerde ve düz kas hücrelerinde de bulunurlar (92). Genel olarak antiproliferatif etkili olmakla birlikte bazı tümör

türlerinin büyümesini şiddetlendirdiği de ileri sürülmektedir. Bundan dolayı, bu reseptörün tedavi amaçlı kullanılırken yan etkileri en aza düşürmekte zorluklar çekilmektedir (92, 99).



Şekil 7: PPAR-γ'nın fonksiyonları (92).

PPAR-γ, insülin faaliyetleri, kardiyovasküler hastalıklar, inflamasyon, böbrek fonksiyonu ve tümör biyolojisi gibi adiposit biyolojisi üzerinde karmaşık ve hatta paradoksal etkilere yol açan birçok aktiviteye sahiptir. Şekil 7'de, PPAR'ın etkilediği çeşitli doku ve görevlerden bazıları görülmektedir (92).

Bu çalışmanın amacı, ratlara egzersiz öncesi amilopektin gibi hazır enerji kaynağı olan depo karbonhidratın, insülin hormonunu aktif hale getirecek krom ile birlikte verilmesinin, egzersiz sonrası hematolojik parametreler, serum parametreleri (AST, ALT, TC, TG, HDL-C, LDL-C, Glikoz, Laktat, İnsülin), dokuda karaciğer ve kas glikojen, karaciğer trigliserit konsantrasyonları ile GLUT-2, GLUT-4 ve PPAR-γ düzeyleri üzerine etkilerinin araştırılmasıdır.

4. GEREÇ VE YÖNTEM

4.1. Gereç

4.1.1. Hayvan Materyali

Bu çalışma, Fırat Üniversitesi bünyesinde bulunan Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun (FÜHADEK) onayı alındıktan sonra (Tarih: 12.10.2016, Toplantı: 2016/18, Karar No:180, Protokol No:2016/120), etik ilkelerine riayet edilerek ve hayvan refahı göz önünde bulundurularak yapıldı. Çalışma, Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi (FÜDAM)’den temin edilen, 8 haftalık yaşta, 200-250 g canlı ağırlığa sahip 35 adet Wistar albino erkek ratlar kullanılarak yürütüldü. Ratlar ortam sıcaklığı 22 ± 2 °C, nisbi nemi % 55 ± 5 ve 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık olarak ayarlanan, altlıkların günlük olarak değiştirildiği, havalandırma sistemine sahip bir ortamda, özel olarak üretilen kafeslerde barındırıldı. Hayvanlara yem ve su *ad libitum* olarak verildi. Ratlara verilen rasyonun bileşimi Tablo 1’de verilmektedir.

Tablo 1: Ratlara verilen rasyonun bileşimi ve besin maddesi değerleri.

Besin maddeleri	%
Mısır	30.22
Arpa	10.07
Soya Fasulyesi Küspesi	38.28
Ayçiçeği Tohumu Küspesi	6.04
Buğday kepeği	10.08
Melas	3.02
Kireç taşı	1.51
Tuz	0.08
DL-Metionin	0.30
Dikalsiyum fosfat	0.20
Vitamin-Mineral Premiksi*	0.20
Kimyasal Kompozisyon	
Ham protein, %	24.00
Metabolik enerji (kcal/kg**)	3100
Ham Yağ, %	3.40
Ham selüloz, %	6.90
Kül, %	8.10
Kalsiyum, %	1.30
Fosfor, %	0.90

*Vitamin-mineral karışımının kilogramı; 1.8 mg tüm-*trans* retinil asetat (A vitamini), 0.025 mg kolekalsiferol (D Vitamini), 12.5 mg tüm *rac*-alfa-tokoferol asetat (E vitamini), 1.1 mg menadion sodyum bisulfit (K3 Vitamini), 1.1 mg tiyamin (Vitamin B1), 4.4 mg ribolavin (Vitamin B2), 35 mg niasin (Vitamin B3), 10 mg kalsiyum pantotenat (B5 vitamini), 2.2 mg Vitamin B6, 0.02 Vitamin B12, 0.55 mg folik asit, 0.1 mg d-biyotin, 40 mg Mn (MnO), 12.5 mg Fe (FeSO₄), 25 mg Zn (ZnO), 3.5 mg Cu (CuSO₄), 0.3 mg I (KI), 0.15 mg Se (Na₂SeO₃), 175 mg kolin klorit (C₅H₁₄ClNO).

**Metabolik enerji National Research Council göre hesaplandı (NRC, 1995).

4.2. Yöntem

4.2.1. Deneme Düzeni

Çalışmada kullanılan ratlar rastgele her grupta 7 adet olmak üzere aşağıdaki gibi 5 gruba ayrıldı.

1-Egzersiz (**E**): Standart rasyon ile beslenen ratlara egzersiz uygulandı.

2-Egzersiz+Amilopektin (**E+A**): Standart rasyon ile beslenen ratlara, egzersiz öncesi 0.0316 g /hayvan/gün amilopektin gavaj yolu verildi ve egzersiz uygulandı.

3-Egzersiz+Amilopektin+ CrPik (**E+A+CrPik**): Standart rasyon ile beslenen ratlara, egzersiz öncesi 0.0316 g/hayvan/gün amilopektin ve 11.06 µg/kg/gün elementel Cr olacak şekilde CrPik (100 µg CrPik, MA: 418, % 11.06 Cr) gavaj yolu verildi ve egzersiz uygulandı.

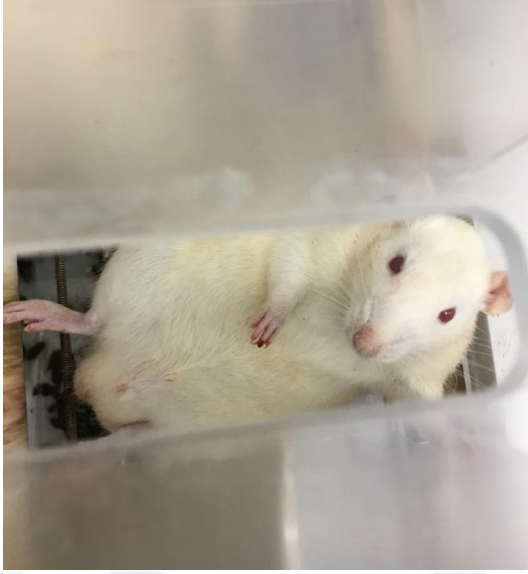
4- Egzersiz+Amilopektin+CrHis (**E+A+CrHis**): Standart rasyon ile beslenen ratlara, egzersiz öncesi 0.0316 g/hayvan/gün amilopektin ve 11.06 µg/kg/gün elementel Cr olacak şekilde CrHis (55.09 µg CrHis; MA: 207 µg CrHis, %20.07 Cr) verildi ve egzersiz uygulandı.

5- Egzersiz+Amilopektin+ CrPik+CrHis (**E+A+CrPik+CrHis**): Standart rasyon ile beslenen ratlara, egzersiz öncesi 0.0316 g/hayvan/gün amilopektin ve 11.06 µg/kg/gün elementel Cr, yarısı CrPik, diğer yarısı CrHis'den olacak şekilde verildi ve egzersiz uygulandı.

Amilopektin ve krom dozları daha önce yapılan çalışmalar esas alınarak belirlendi (100, 101). Çalışmada kullanılan amilopektin ve Cr Nutrition 21 tarafından temin edildi (Purchase, NY, USA).

Denemede kullanılan ratlar, adaptasyonu sağlamak için, çalışmadan bir hafta önce, % 15 meyilli koşu bandında 10m/dk hızda 10'ar dakika, rodentler için kullanılan koşu bandında (Treadmill, MAY-TME 0804, Commat Limited, Ankara) koşturuldu. Yoğun egzersiz öncesi hayvanlar amilopektin ve Cr bileşiklerini gavaj yoluyla alarak grup sırasına göre koşu bandında tükeninceye kadar koşturuldu. Koşturma işlemi, bazal glukokortikoid etkinliğini göz ardı etmek amacıyla sabah 8:00-10:00 saatleri arasında uygulandı. Eğimi % 15 olan koşu bandının hızı, ilk beş dakika için 5m/dk, sonraki 5 dakika için 15m/dk ve devamında 30m/dk şeklinde ayarlandı ve bu hızda hayvanlar tükeninceye kadar koşturuldu (Şekil 8). Daha sonra hayvanlar vakit kaybetmeden anesteziye alınıp servikal dislokasyonla dekapite edildi. Dekapite edilen hayvanlardan, kan, karaciğer, kas örnekleri alındı. Kan örnekleri, tam kan sayımı için EDTA'lı tüplere alınırken, kan serumu için jelli biyokimya tüpleri (Standardplus& Medical Co., Ltd., Germany) kullanıldı.

Biyokimya analizleri için alınan kan örnekleri + 4 °C lik ortamda 5000 rpm devir ve 10 dakika santrifüj edilerek serumları çıkarıldı ve daha sonra çalışılmak üzere uygun soğutucuda muhafaza edildi. Elde edilen serum örnekleri -20°C ve alınan doku örnekleri analiz aşamasına kadar -80°C de muhafaza (Universal 320R, Hettich, Germany) altına alındı.



Şekil 8: Bir ratın tükenme egzersizi sonunda yorgun düşmesi.

4.2.2. Laboratuvar Analizleri

Kan ve Biyokimyasal Parametreler

Tam kan sayımı Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalında bulunan kan sayım cihazında (EXIGO-EOS, Spanga, Sweden) zaman kaybetmeden ölçüldü.

Elde edilen serumlardan aspartat aminotransferaz (AST) ve alanin aminotransferaz (ALT), total kolesterol (TC), trigliserit (TG), yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol (HDL-C), düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (LDL-C) ve glikoz parametrelerinin ölçümleri, Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim dalında bulunan otomatik biyokimyasal analizör (Samsung Labgeo PT10, Samsung Electronics Co., Suwon, Güney Kore) cihazında yapıldı.

Serum İnsülin, Serum Laktat, Kas ve Karaciğer Glikojen, Karaciğer Triglicerit Analizleri

Serum laktat seviyeleri, rat spesifik ticari kitler kullanılarak (Cayman Chemical Co., Ann Arbor, MI, USA) enzim bağlantılı bağışıklık testi (ELISA-Elx-800, Bio-Tek Instruments Inc, Vermont, USA) ile belirlendi. İnterval ve intra-assay varyasyon katsayıları laktat için % 3.1 ve % 6.5 kabul edildi. Serum insulin ölçümleri rata özgü ELISA kitleri (Linco Research Inc, St. Charles, MO, USA) kullanılarak yapıldı. İnter ve intra analiz sabitleri % 3.2 ve % 5.7 kabul edildi. Doku örneklerindeki glikojen içerikleri ticari glikojen analiz kiti (Cayman Chemicals; Ann Arbor, MI, USA) kullanılarak analiz edildi. İnter ve intra-assay sabitleri % 3.8 ve % 7.1 kabul edildi. Karaciğer trigliserit düzeyi, üretici firmanın (Cayman Chemicals; Ann Arbor, MI, USA) talimatlarına uygun şekilde karaciğer elisa kiti kullanılarak tespit edildi. Bu amaçla, karaciğer örnekleri tartıldı ve daha sonra 1x PBS solusyonunda 10 hacim olarak homojenize edildi (102). Homojenat örneği 120 µl alındı 0.8 ml 2:1 (h:h) oranında kloroform-metanol ile vortekslenerek ekstrakte edildi. Ekstrakttan 100 µl alınıp, 1x PBS solusyonu eklenerek örnekler 4200 g'de 4°C'de 10 dakika santrifüj edildi. Organik fazdan yeni bir tüpe 200 µl alınıp içerisine 100 µl etanol ve % 1'lik Triton x-100 eklenerek yeniden süspanse edildi. Bu karışım sonrasında havayla kurutularak en son ekstraktı hazırlamak için 500 µl 1x PBS ilave edildi. Bu ekstrakt 50'şer µl'lik porsiyonlara ayrılarak trigliserit ölçümlerinde kullanıldı (Cayman Chemicals; Ann Arbor, MI, USA) (102).

4.2.3. SDS-Poliakrilamid Jel Elektroforezi (SDS-PAGE) ve Western Blot Analizleri İçin Örneklerin Hazırlanması

Karaciğer ve kas örneklerinin homojenizasyon işlemi Şahin ve arkadaşlarının çalışması baz alınarak yapıldı (103). Hazırlanan homojenatlar +4 °C de 60 dakika süre zarfında 15.000 x g'de santrifüj işlemine tabi tutuldu. Elde edilen bu ilk süpernatantlar eppendorf tüplerine alındı. Pelletler, aynı hacimde eklenen homojenizasyon solusyonunda [25 mM Tris-HCl (pH= 7.4), 0.1mM PMSF, % 2'lik TritonX –100 ve % 1'lik SDS] tekrar süspanse edildi. Yapılan bu işlemden sonra +4 °C'de 2 saat inkübasyon için bekletildi ve homojenatlar soğutmalı santrifüjde 4 °C'de 60 dakika süreyle 15.000 x g'de santrifüj işlemine tabi tutularak bu süpernatantlar, mikrosantrifüj tüplerine alındı.

4.2.4. SDS-Poliakrilamid Jel Elektroforezi (SDS-PAGE) Analizleri

SDS-PAGE elektroforez jel çalışma sisteminde akrilamid monomerlerinden faydalanılmaktadır. Jel sistemde kullanılan güç kaynağından gelen elektrik akımından dolayı protein molekülleri negatif (-) kutuptan pozitif (+) kutuba doğru hareket ederler. Çalışmada kullanılan protein molekülleri, 0-43 kDa arasında ise akrilamidin konsantrasyonu % 15, protein molekülleri 40 kDa'dan daha fazla ise akrilamidin konsantrasyonu % 10'na ya da daha aşağıya çekilmektedir. Protein molekülünün ağırlığı ile akrilamidin konsantrasyonu ters orantılıdır, ağırlık artıkça, konsantrasyon düşmektedir. Akrilamid konsantrasyonundaki artış jelin içerisinde var olan boşlukların daha fazla sıklaşmasına neden olmaktadır. Bu nedenden dolayı protein molekülleri daha yavaş hareket ederler.

Kullanılan Çözeltiler

- 1- 1.5 M Tris-HCl (pH 8.8)
- 2- 0,5 M Tris-HCl (pH 6.8)
- 3- % 10 Sodyum dodesilsülfat çözeltisi (SDS)
- 4- % 30 Akrilamid/Bisakrilamid çözeltisi
- 5- % 10 Amonyum persülfat çözeltisi (APS)
- 6- N, N, N, N, -tetrametil-ethilendiamin (TEMED)
- 7- Gliserin
- 8- 2- β -merkapttoethanol
- 9- % 0,05 Bromofenol blue çözeltisi
- 10- Boyama çözeltisi (Stain solusyon/100 ml):
- 11- % 0,1 Coomassie blue R-250
- 12- % 45 Metanol
- 13- % 10 Glasiyal asetik asit
- 14- % 45 Distile su
- 15- Boya çıkarma çözeltisi (Destain solusyon/100ml):
- 16- % 45 Metanol
- 17- % 10 Glasiyal asetik asit
- 18- % 45 Distile su
- 19- Tank solusyonu (Running buffer, pH 8.3):
- 20- Tris base 9,0 gr
- 21- Glisin 43,0 gr
- 22- Distile su 600 ml

SDS-PAGE için Jellerin Hazırlanması

<u>Ayırma jelinin hazırlanması (% 12)</u>	<u>Miktar</u>
Distile su	3.35 ml
1,5 M Tris-HCl (pH 8,8)	2.5 ml
% 10 SDS	100 µl
Akrilamid /Bis (% 30)	4.0 ml
Amonyum persülfat (% 10)	50 µl
TEMED	5 µl
Toplam	10.0 ml

<u>Yükleme jelinin hazırlanması (%4)</u>	<u>Miktar</u>
Distile su	6.1 ml
0.5 M Tris-HCl (pH 6.8)	2.5 ml
SDS (% 10)	100 µl
Akrilamid-Bis (% 30)	1.3 ml
Amonyum persülfat (% 10)	50 µl
TEMED	10 µl
Toplam	10.0 ml

<u>Örnek solusyonların hazırlanması</u>	<u>Miktar</u>	<u>Son konsantrasyon</u>
1 M Tris-HCl (pH 6.8)	1.25 ml	0.125M
% 10 SDS	1.6 ml	% 4
% 0.05 bromofenol blue	0.2 ml	% 0.002
Gliserol	0.8 ml	% 20
2-β-merkaptoethanol	0.4 ml	% 10
Distile su	3.75 ml	-
Toplam	8.0 ml	-

4.2.5. Western Blot Analizleri

Kas ve karaciğer dokularına ait ekstraktlar, proteaz inhibitörü kokteyli eklenmiş fosfat tamponu tuzu (PBS) içerisinde homojenize edildi ve nano ölçek cihaz ile toplam protein oranları belirlendi (MaestroGen, Las Vegas, NV, USA). Spesifik proteinlerin aktarılacağı nitrosellüloz membranlar (Schleicher and Schuell Inc., Keene, NH, USA), PBS solüsyonu ile yıkanarak, primer antikorların uygulanmasından 1 saat öncesine kadar % 1'lik sığır serum albumini (BSA) içeren kaplarda bekletildi. Membranlar bir gece boyunca anti-PPAR- γ , anti-GLUT-2 ve anti-GLUT-4 primer antikorları (Abcam, Cambridge, UK) ile buzdolabında +4°C'de inkübe edildi. Sonraki gün, membranlar uygun oranda seyreltilmiş olan (1:1000) konjuge sekonder antikor ile laboratuvar ortamında 1'er saat muamele edildi. Proteinlerin yüklenme oranları β -aktin'espesifik bir monoklonal antikor ile kontrol edildi (A5316; Sigma-Aldrich, St Louis, MO). Spesifik bağlanma düzeyleri, di-amino-benzidin (DAB) ve H₂O₂ substratları kullanılarak daha önceden bildirilen yöntemdeki gibi saptandı (104). Nitroselüloz membranların kuruması beklendikten sonra, bantların rölatif yoğunlukları analiz edilmek üzere alındı. Bantların göreceli yoğunlukları Image Analyses System (Image J; National Institute of Health, Bethesda, USA) yazılım programı kullanılarak analiz edildi.

4.2.6. İstatistiksel Analizler

Değerler, SAS yazılımının PROC GLM prosedürü kullanılarak tek yönlü varyans (ANOVA) analizi yöntemiyle elde edildi (Versiyon 9). Grupların ortalama farkları ise Tukey post-testi ile elde edildi. Veriler, ortalama $\pm$ standart hata olarak sunulmuştur. 0.05'ten küçük olarak tespit edilen **P** değerleri istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edildi.

5. BULGULAR

5.1. Hematolojik Bulgular

Amilopektin ve Cr formlarının tek başına veya kombine tüketimi, WBC (Akyuvar), LYM (Lenfosit), ve MID (Monosit Total) sayılarını ve LYM %'sini artırırken, GR % (Granülosit) ve P-LCR % (Büyük Trombosit Hücresi) değerlerini ise düşürmüştür ($P<0.05$; Tablo 2). En yüksek WBC ve MID# değerleri bu maddelerin birlikte tüketildiği E+A+CrPik+CrHis grubunda elde edildi. Ayrıca LYM%, GR%, ve LYM# değerlerinde en önemli değişim, amilopektin ve CrPik alan grupta tespit edildi. Aynı zamanda, P-LCR % seviyesinde en belirgin düşüş, eş zamanlı olarak amilopektin ve CrHis alan ratlarda tespit edildi. MCH (Ortalama Eritrosit Hemoglobin Miktarı) ve MCHC (Ortalama Alyuvar Hemoglobin Konsantrasyonu) değerleri E grubunda, E+A+CrHis ve E+A+CrPik+CrHis gruplarından daha yüksek bulundu ($P<0.05$; Tablo 2). Diğer hematolojik parametlerde herhangi bir istatistiksel olarak değişim tespit edilmedi ($P>0.05$; Tablo 2).

Tablo 2. Egzersiz yaptırılan ratlarda amilopektin ve krom formlarının kan parametreleri üzerine etkileri.

Parametre	Grup				
	E	E+A	E+A+ CrPik	E+A+CrHis	E+A+ CrPik+CrHis
WBC, µL	8.12±2.48 ^c	12±1.66 ^{ab}	12.31±3.32 ^{ab}	9.99±2.25 ^{ab}	13.54±3.37 ^a
LYM, %	53.17±7.39 ^c	63.99±6.05 ^{ab}	71.03±5.44 ^a	61.69±11.07 ^{ab}	64.37±6.14 ^{ab}
MID, %	9.25±7.96	15.34±5.06	15.60±4.63	8.79±4.96	18.41±7.46
GR, %	37.58±6.35 ^a	20.67±8.23 ^{bc}	13.37±1.92 ^c	29.53±12.68 ^{ab}	17.21±4.40 ^c
LYM, #	4.33±1.58 ^c	7.69±1.31 ^{ab}	8.89±2.97 ^a	6.19±1.87 ^{ab}	8.8±2.62 ^a
MID, #	0.75±0.55 ^c	1.84±0.60 ^a	1.81±0.33 ^{ab}	0.83±0.42 ^{bc}	2.51±1.01 ^a
GR, #	3.03±1.04	2.47±1.16	1.61±0.35	2.97±1.64	2.23±0.35
RBC, µL	7.81±0.11	7.64±0.53	7.85±0.31	7.82±0.58	7.97±0.36
Hgb, g/dL	16.98±0.28	16.53±1.15	16.97±0.79	16.26±0.93	16.59±0.93
HCT, %	71.08±1.23	68.76±4.13	71.94±3.17	70.64±3.95	72.17±3.16
MCV, fL	91.22±0.73	90.13±2.28	91.76±1.75	90.54±2.86	90.59±2.56
MCH, pg	21.72±0.30 ^a	21.59±0.50 ^{ab}	21.57±0.52 ^{ab}	20.79±0.69 ^b	20.76±0.70 ^b
MCHC, g/dL	23.85±0.23 ^a	23.99±0.37 ^a	23.54±0.14 ^a	22.96±0.46 ^b	22.94±0.44 ^b
RDW-SD, fL	41.8±0.99	41.67±2.81	41.66±2.11	43.27±4.40	41.94±2.11
RDW-CV, %	15.97±0.52	16.14±1.18	15.83±1.02	16.63±1.32	16.13±0.80
PLT, µL	1016.33±251.55	1113.43±160.38	1049.14±204.84	1065.57±82.69	1081.43±169.04
MPV, fL	11.82±0.33	11.51±0.28	11.43±0.55	10.77±1.43	11.46±0.28
PDW, %	17.4±0.53	17.59±0.95	16.63±1.47	15.61±3.37	17.19±1.35
PCT, %	1.20±0.31	1.23±0.21	1.12±0.35	1.24±0.11	1.16±0.17
P-LCR, %	32.67±1.33 ^a	30.04±1.50 ^{ab}	30.43±2.02 ^{ab}	24.90±9.96 ^b	29.23±1.91 ^{ab}

E: Egzersiz; A: Amilopektin; CrPik: Krom pikolinat; CrHis: Krom histidinat. Veriler ortalama ve standart hata olarak sunulmuştur. a-e Aynı satır içindeki ortalama değerler istatistiksel olarak farklıdır (P<0.05).

WBC: Akyuvar, LYM: Lenfosit, MID: Monosit Total, GRAN: Granülosit, RBC: Alyuvar, HGB: Hemogloblin, HCT: Hematokrit, MCV: Ortalama Alyuvar Hacmi, MCH: Ortalama Alyuvar Hemogloblin Miktarı, MCHC: Ortalama Alyuvar Hemogloblin Konsantrasyonu, RDW-CV: Kırmızı Kan Hücresi Dağılım

Genişliği, PLT: Trombosit, MPV: Ortalama Trombosit Hacmi, PDW: Trombosit Dağılım Genişliği, PCT: Prokalsitonin, P-LCR : Büyük Trombosit Hcrei Oranı
% yüzdeyi ifade eder, # sayısal miktarı ifade etmektedir.

5.2. Performans ve Serum Parametreleri

Canlı ağırlık bakımından gruplar arasında önemli farklılıklar tespit edilmemiştir ($P>0.05$; Tablo 3). Egzersiz uygulanan ratlarda, A ve Cr fomlarının takviyesi ile dayanıklılık süresi artmıştır ($P<0.05$). E, E+A, E+A+CrPik, E+A+CrHis ve E+A+CrPik+CrHis gruplarının ortalama dayanıklılık süreleri sırasıyla, 55 ± 1.15 , 61 ± 1.53 , 67 ± 1.73 , 74 ± 1.41 ve 76 ± 1.91 dakika olarak tespit edildi. En yüksek dayanıklılık süresi E+A+CrHis ve E+A+CrPik+CrHis gruplarında tespit edilirken, en düşük dayanıklılık süresi E grubunda elde edildi ($P<0.05$; Tablo 3). E+A+CrHis ve E+A+CrPik+CrHis gruplarının dayanıklılık süreleri E, E+A, E+A+CrPik den önemli derecede yüksek bulundu ($P<0.05$; Tablo 3). En yüksek dayanıklılık süresi E+A+CrPik+CrHis grubunda tespit edildi ($P<0.05$; Tablo 3).

Serum AST ve ALT aktiviteleri ile TC, TG, HDL-C ve LDL-C düzeyleri bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($P > 0.05$; Tablo 3). En yüksek ALT aktivitesi, E grubunda, en düşük aktivite ise E+A+CrPik+CrHis grubunda bulundu. En yüksek AST aktivitesi, E+A+CrPik+CrHis grubunda görülürken, en düşük AST aktivitesi ise E+A grubunda bulundu. ALT ve AST değerleri açısından gruplar arasında, istatistiksel açıdan önemli bir farklılık tespit edilmedi ($P>0.05$; Tablo 3). Serum total kolesterol, HDL-C, LDL-C ve trigliserit düzeyleri bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark tespit edilmedi ($P>0.05$; Tablo 3). Serum glikoz düzeyi bakımından E+A+CrPik+CrHis grubu ile E grubu karşılaştırıldığında, E+A+CrPik+CrHis grubunda düşük tespit edildi ($P<0.05$; Tablo 3). En düşük

glikoz düzeyi E+A+CrPik+CrHis grubunda tespit edilirken, en yüksek düzey E grubunda tespit edildi.

Laktat konsantrasyonu bakımından gruplar arasında farklılık tespit edildi ($P < 0.05$; Tablo 3). En yüksek laktat düzeyi E grubunda, en düşük düzey ise E+A+CrPik+CrHis grubunda belirlendi. E+A+CrPik+CrHis grubu E grubuna göre % 35.4 daha düşük laktat düzeyi göstererek istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık oluşturdu ($P < 0.05$; Tablo 3). E+A, E+A+CrPik ve E+A+CrHis gruplarında farklı düzeylerde laktat belirlenmesine rağmen aralarındaki bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamsızdır ($P > 0.05$; Tablo 3).

En düşük serum insülin düzeyi E grubunda görülürken en yüksek serum insülin düzeyi E+A+CrPik+CrHis grubunda belirlendi. E+A+CrPik+CrHis grubunda E grubundan 1.69 kat daha yüksek serum insülin düzeyi tespit edildi ve bu iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi ($P < 0.05$; Tablo 3). E grubu ve E+A+CrPik+CrHis grubu hem birbirlerinden hem de diğer gruplardan içerdikleri serum insülin düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermektedir ($P < 0.05$; Tablo 3). E+A, E+A+CrPik ve E+A+CrHis gruplarında saptanan serum insülin miktarları farklı olmasına rağmen belirlenen bu farklılıklar istatistiksel olarak önemsiz bulundu ($P > 0.05$; Tablo 3).

Kas glikojen düzeyi E, E+A, E+A+CrPik, E+A+CrHis ve E+A+CrPik+CrHis gruplarında sırası ile 2.49, 3.67, 3.08, 3.37, 4.23 mg/g olarak bulundu ve gruplar arasındaki fark önemli bulundu ($P < 0.05$; Tablo 3). Kas glikojen düzeyi E+A+CrPik+CrHis grubunda E grubundan 1.69 kat daha yüksek tespit edildi. Kas glikojen düzeyi E+A grubunda E grubundan % 47.3 daha yüksek belirlendi ($P < 0.05$; Tablo 3). Karaciğer glikojen konsantrasyonu en düşük E, en

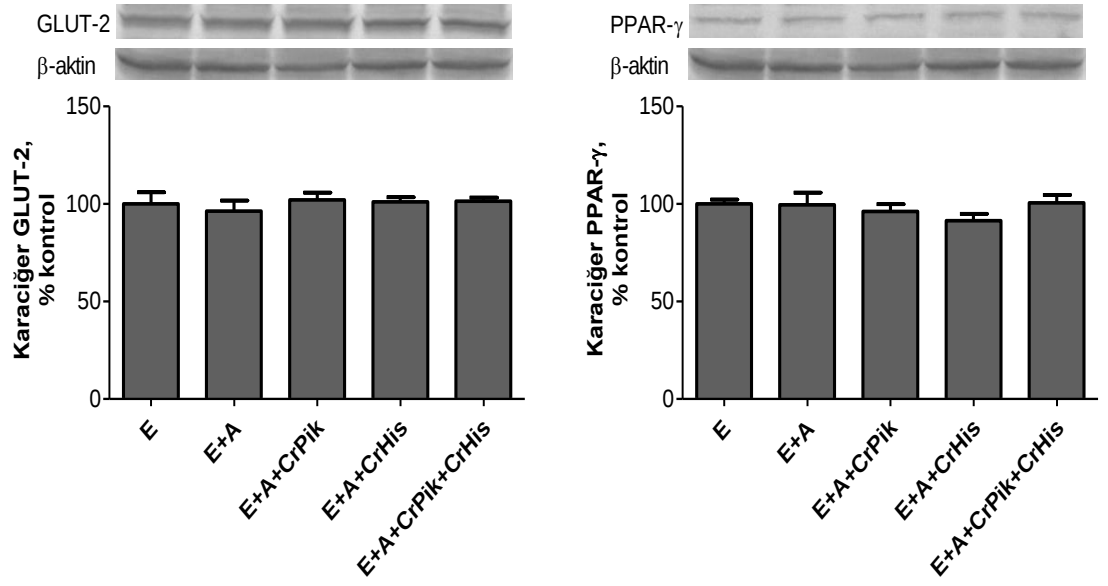
yüksek ise E+A+CrPik+CrHis gruplarında tespit edildi. E+A+CrPik+CrHis grubunda E grubundan 1.4 kat daha yüksek karaciğer glikojen düzeyi tespit edilirken bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edildi ($P<0.05$; Tablo 3). Karaciğer glikojen seviyeleri bakımından E+A, E+A+CrPik ve E+A+CrHis grupları arasında bir farklılık bulunmadı ($P>0.05$; Tablo 3). E+A+CrPik+CrHis grubu ile E+A grubu arasında da istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır ($P>0.05$; Tablo 3). Ayrıca, karaciğer trigliserit değerleri bakımından gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmadı ($P>0.05$; Tablo 3).

Tablo 3: Egzersiz yaptırılan ratlarda amilopektin ve krom formlarının performans ve kan parametreleri üzerindeki etkileri

Parametereler	Group				
	E	E+A	E+A+ CrPik	E+A+CrHis	E+A+ CrPik+CrHis
Canlı ağırlık, g	249.86±11.10	251.29±14.20	255.71±6.24	252.14±5.33	244.00±7.52
Dayanıklılık süresi, dk	55.00±1.15 ^d	61.00±1.53 ^c	67.00±1.73 ^b	74.00±1.41 ^a	76.00±1.91 ^a
AST, U/L	364.23±10.54	350.52±3.50	355.61±60.48	365.13±23.47	367.29±11.98
ALT, U/L	99.33±10.09	94.43±14.33	96.86±4.17	94.86±3.71	89.43±3.54
TC, mg/dL	96.67±4.72	90.43±5.07	90.57±5.94	91.57±5.52	90.71±3.48
TG, mg/dL	137.50±3.69	138.57±2.76	132.86±4.92	139.43±14.13	130.43±6.19
HDL-C, mg/dL	24.83±0.60	22.71±0.78	23.43±0.78	23.43±0.48	23.57±0.53
LDL-C, mg/dL	42.33±2.99	38.57±5.53	38.29±4.24	40.43±3.18	34.14±4.26
Glikoz, mg/dL	129.50±9.00 ^a	127.40±2.57 ^a	126.29±12.34 ^{ab}	123.29±3.87 ^{ab}	96.57±8.45 ^b
Laktat, mmol/l	4.10±0.12 ^a	3.21±0.06 ^b	3.64±0.11 ^b	3.51±0.12 ^b	2.65±0.08 ^c
İnsülin, ng/ml	7.93±0.21 ^c	10.23±0.36 ^b	11.34±0.52 ^b	11.63±0.55 ^{ab}	13.47±0.54 ^a
Kas glikojen, mg/g	2.49±0.12 ^c	3.67±0.10 ^{ab}	3.08±0.32 ^{bc}	3.37±0.41 ^{abc}	4.23±0.26 ^a
Karaciğer glikojen, mg/g	43.55±2.49 ^c	53.31±1.93 ^{ab}	51.78±2.47 ^{bc}	52.54±1.89 ^{ab}	61.22±1.88 ^a
Karaciğer trigliserit, µmol/g	34.86±1.78	33.29±1.82	34.57±2.15	33.71±1.43	33.29±2.22

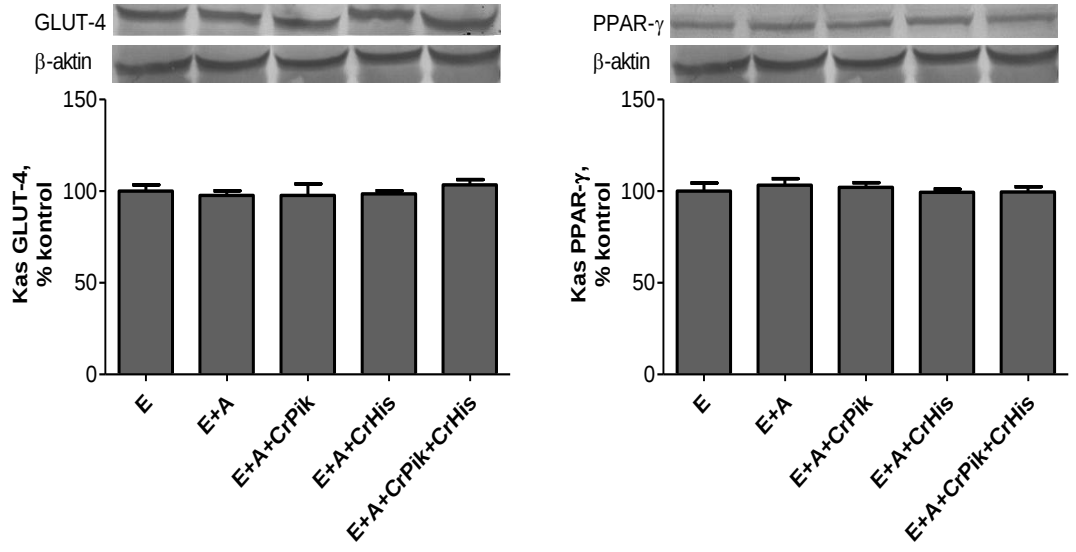
n= 7. E: Egzersiz; A: Amilopektin; CrPik: Krom pikolinat; CrHis: Krom histidinat. Aynı satırlardaki farklı üst simgeler ile ortalama değerler farklıdır (P<0.05). ALT: Alanin aminotransferaz; AST: Aspartat aminotransferaz; TC: Toplam kolesterol; TG: Trigliserit; HDL-C: yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol; LDL-C: Düşük dansiteli lipoprotein kolesterol

Gruplardaki karaciğer GLUT-2 ve PPAR- γ düzeyleri Şekil 9'de verilmiştir. Egzersiz uygulanan ratlarda, amilopektin ve Cr formlarının tek başına veya birlikte tüketimi, karaciğer GLUT-2 ve PPAR- γ düzeylerinde bir farklılığa neden olmamıştır ($P>0.05$). E+A grubundaki karaciğer GLUT-2 değeri E grubuna kıyasla % 3.6 oranında bir düşüş, E+A grubuna göre, E+ A+ CrPik grubunda % 5.8 oranında artış göstermiş olmasına rağmen, bu değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($P>0.05$). Karaciğer PPAR- γ düzeyi, E+A+CrPik+CrHis grubunda, E+A+CrHis grubundan % 10.08 oranında daha yüksek olan belirlendi. Ancak bu fark istatistiksel olarak önemli bulunmadı ($P>0.05$). E+A+CrHis grubunda E grubuna göre % 8.57 daha düşük karaciğer PPAR- γ düzeyi belirlenmiş olsa da bu fark anlamlı değildir ($P>0.05$).



Şekil 9: Egzersiz yaptırılan ratlarda amilopeptin ve kromun karaciğer GLUT-2 ve karaciğer PPAR-γ üzerine etkileri

Western blot sonuçlarına bakıldığında (Şekil 10), kas GLUT-4 ve PPAR-γ düzeyleri E, E+A, E+A+CrPik, E+A+CrHis ve E+A+CrPik+CrHis gruplarında sırası ile 100, 97.65, 97.79, 98.63, 103.44 ve 100, 103.4, 102.05, 99.39, 99.58 olarak tespit edildi (kontrolün yüzdesi). Kas GLUT-4 ve PPAR-γ bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmamıştır ($P>0.05$).



Şekil 10: Egzersiz yaptırılan ratlarda amilopektin ve kromun kas GLUT-4 ve kas PPAR- γ üzerine etkileri

6. TARTIŞMA

Bu çalışmada, tükenme egzersizi uygulanan ratlara amilopektin ve Cr'un tek başına veya kombine olarak verilmesinin hemogram, serum AST, ALT, TC, TG, HDL-C, LDL-C, glikoz, insülin, laktat düzeyleri, karaciğer ve kas glikojen konsantrasyonları, karaciğer trigliserit düzeyi, GLUT-2, GLUT-4 ve PPAR- γ düzeyleri üzerine etkileri araştırıldı. Amilopektin, Cr ve bunların kombinasyonlarının tüketimi WBC, LYM ve MID sayılarında ve LYM %'sinde artışa yol açarken, GR % ve P-LCR % yüzdelerinde azalmaya neden olmuştur. Hematolojik parametrelerde gözlemlenen iyileşme amilopektin ve Cr tüketimi sonrasında meydana gelen glikojen depolanmasından kaynaklanmış olabilir. Örneğin, artan lenfosit seviyesinin, yüksek glikoz konsantrasyonu varlığında, glikojen depolamasını uyardığı daha önce yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (105, 106). Bu çalışmada da, bu maddelerin tüketimine bağlı olarak glikojen düzeyinin artması bu verileri desteklemektedir. Amilopektin ve Cr kombinasyonlarının tüketiminin egzersiz uygulanan ratlarda kan parametreleri üzerine etkileri ile ilgili literatürlere rastlanılmadığından, bu veriler herhangi bir literatür ile karşılaştırılamamıştır. Ancak, Toghyani ve arkadaşları (107) yaptığı benzer bir çalışmada, CrPik takviyesinin hemoglobin, MCH ve MCHC seviyelerinde artışa; WBC, RBC, PCV, MCV ve trombosit seviyelerinde ise önemli bir değişime neden olmadığını bildirmişlerdir.

Ratlara yaptırılan egzersiz uygulamasında, en kısa süre koşabilen grup 55 dakika ile E grubu olarak tespit edilirken, en uzun süre koşabilen grup ise 76 dakika ile EA+CrPik+CrHis grubu olarak belirlenmiştir. Buradan hareketle,

yapılan takviyelerin egzersiz süresini uzattığı ve dayanıklılığı arttırdığı söylenebilir.

AST ve ALT enzimlerinin kandaki seviyelerinin yükselmesi karaciğer ve kas dokularındaki hasar sonucu şekillenmektedir (108). Agrawal ve Gupta (109) ısı stresine maruz kalan ratlarda yaptıkları bir çalışmada, stresin ALT, AST ve ALP enzimlerinin seviyelerinde artışa neden olduğunu tespit etmişlerdir. Yürütülen bu çalışmada, amilopektin ve Cr formlarının yalnız veya birlikte tüketimi, AST ve ALT aktivitelerinde bir farklılığa neden olmamıştır (Tablo 3). Volpe ve Huang (110) yaptıkları çalışmada, benzer sonuçlar elde edilmiştir. Bu çalışmada, deneme grupları arasında en düşük ALT seviyesi, E+A+ CrPik+CrHis grubunda bulunmuştur. Machalinski (27) ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, Cr 454 ve CrPik verilen gruplarda AST (1100 vs 413; 1100 vs 356) ve ALT (533 vs 219; 533 vs 189) aktivitelerinde önemli düşüşler tespit etmiştir.

Bu çalışmada, amilopektin ve Cr formlarının yalnız veya birlikte tüketimi TC düzeylerinde bir farklılığa neden olmamıştır (Tablo 3). Cefalu ve arkadaşları (111) obez ratlarla yaptıkları çalışmada, CrPik verilen obez ratlarda kontrol grubuna göre daha düşük TC değerlerine sahip olduğunu ve CrPik ilave edilen grupta, HDL'nin çalışma sonunda kontrol grubuna göre yükseldiğini bildirmişlerdir. Mevcut çalışmada, CrPik, CrHis ve bunların kombinasyonlarının verildiği Cefalu'nun (111) çalışması kadar olmasa da düşüşler tespit edilmiştir. Bunun sebebinin, çalışmanın süresi ile alakalı olduğu düşünülmektedir. Çünkü Cefalu (111) kolesterol düzeyinin haftalara göre incelemesi yapıldığında haftalar arasında fark olduğu görülmektedir. HDL seviyelerine bakıldığında da benzer tablo karşımıza çıkmaktadır. Mevcut çalışmada elde edilen veriler kısa süreli

deneme sonuçları olduğundan istatistiki olarak farklar tespit edilmemiştir. TC değerleri sadece egzersiz yaptırılan grupta en yüksek bulunurken diğer gruplarda birbirine yakın değerler saptanmıştır. TC'nin ratlara verilen takviyelerden etkilenmediği görülmektedir. Yapılan bir çalışmada, elementel veya bira mayası şeklinde günlük 200 µg Cr'un ilave edilmesiyle toplam kolesterolü % 5 ile 12 oranlarında düşürdüğü ve HDL kolesterolünü % 8 ile % 36 arasında artırdığı bildirilmiştir (112). Mevcut çalışmada ise, E grubunda total kolesterol değeri diğer gruplara göre yüksek bulunmuştur. Birçok çalışma HDL ve aerobik egzersiz arasındaki ilişkiye odaklanmış ve bu çalışmalarda, HDL'nin LDL ve TG'e göre, aerobik egzersizden daha fazla etkilendiği bildirilmektedir (113). İnsan veya ratlarda yapılan çalışmalarda, HDL seviyesinin egzersize bağlı olarak değişiminde farklılık tespit edilmemiştir (113). Bu çalışmada, amilopektin ve Cr formlarının yalnız veya birlikte tüketimi TG, HDL ve LDL seviyelerinde bir değişime neden olmamıştır. Organizmada Cr'un, yağ dokusu ve kan plazmasında kolesterolü dengede tutmada önemli roller üstlendiği bilinmektedir (114). Lai ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada (114), diyabet oluşturulan ratlara 6 hafta boyunca gavaj yoluyla 600 µg Cr/kg/gün şeklinde Cr içeren bira mayası verilmiş, diyabet grubuyla, diyabet+krom grubu kıyaslandığında, serum LDL ile kolesterol seviyelerinde düşme tespit edilmiştir (114).

Amilopektin ve Cr gibi mikro besinler, glikoz ve insülin metabolizmasını düzenlemede etkilidir (101, 115, 116). Bu çalışmada, A+CrHis takviyesi kan glikoz düzeyini A+CrPik grubundan daha fazla düşürmekte, yalnız aradaki bu fark istatistiksel açıdan önemsizdir (Tablo 3). A+CrHis tüketen ratlarda kan glikoz seviyesindeki azalma daha önceleri Volpe (110) ve Feng ile arkadaşları (117)

tarafından belirtildiği gibi CrHis'in yüksek düzeydeki düzenleyici ve emici özelliğinden kaynaklanmış olabilir. Bununla birlikte literatürde, ratlarda amilopektin ve Cr'un kombine etkilerine ilişkin herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Tablo 3'te görüldüğü üzere, deneme grupları arasında kan glikoz seviyesi bakımından E, E+A+CrPik+CrHis ve E+A, E+A+CrPik+CrHis grupları arasında fark bulunurken, diğer gruplar arasında bir fark bulunmamıştır (Tablo 3). Daha önce yapılan bazı çalışmalarda, CrPik'in glikoz konsantrasyonunu önemli derecede düşürdüğü rapor edilmiştir (48, 118). Rabinovitz ve arkadaşlarının (119), diyabet oluşturulan ratlarda krom pikolinat takviyesinin, glikoz seviyesini düşürdüğü tespit edilirken, Liu ve arkadaşlarının (120) yaptıkları çalışmada rasyona ilave ettikleri CrPik'in serum glikoz seviyesi açısından gruplar arasında herhangi değişim meydana getirmediğini bildirmişlerdir. Ayrıca, Brooks (121) kanatlı diyetlerine Cr ilave edilmesiyle plazma glikoz konsantrasyonunun değişmediğini bildirmişlerdir. Bu sonuç, daha önce yapılan çalışmalar ile uyumludur (122, 123). Ancak, glikoz metabolizması, kanatlılarda memelilerden farklıdır (121). Kanatlılarda kan glikoz konsantrasyonu çok yüksek iken, insülin seviyeleri daha düşüktür. Ayrıca kanatlıların insülin hassasiyeti memelilerden daha düşük olduğu düşünülmektedir (121). Bu çalışmada kan glikoz düzeyi en düşük E+A+CrPik+CrHis grubunda saptanmıştır. Bu çalışmada CrHis kan glikozu seviyesini düşürdüğü, bu sonucun Tuzcu ve arkadaşlarının (124) daha önce yaptıkları yüksek yağlı diyetle beslenen ratlarda elde ettikleri sonuçla uyumlu olduğu görülmektedir. Yürütülen bu çalışmada E+A+CrHis ve E+A+CrPik+CrHis gruplarında yer alan CrHis'in diğer gruplardan daha fazla glikoz seviyesini düşürdüğü görülmektedir. Diyetle ilave edilen Cr'un,

kan serum glikoz konsantrasyonunda azalmaya neden olması, mevcut dokularda glikozun hücre içine alınmasının artışına bağlı olarak adipoz doku ve kaslar üzerinde insülinin etkisinin arttığını göstermektedir (125). Cefalu ve Hu (118) yaptıkları çalışmada, CrPik alımının tip 2 diyabetli ratlarda glikoz ve insülin metabolizmasını düzenlediğini rapor etmişlerdir. Mevcut çalışmada elde edilen bulgular, Amilopektin ve Cr kombinasyonun yorgunluk geciktirici etkisinin egzersiz ve enerji metabolizmasının metabolik kontrolündeki iyileşmeyle ilişkili olabileceğini göstermektedir.

Egzersiz sırasındaki kas yorgunluğu, laktat ve glikoz seviyeleri gibi çoklu biyokimyasal göstergelerle değerlendirilebilir (126, 127). İskelet kasında bulunan laktat, kaslarda glukoneogenezisin öncüsü olarak görev yaparken, karaciğerde ise egzersizden sonra bu görevi yapmaktadır. Akut egzersizden sonra, kaslarda biriken toplam laktat miktarının % 75'i, egzersiz sırasında enerji üretimi için kullanılmaktadır (128, 129). Egzersiz boyunca laktat birikimi, merkezi sinir sistemini olumsuz etkilemekte ve kas yorgunluğuna neden olmaktadır (130). Öte yandan, egzersiz boyunca kan glikoz seviyesinin sürdürülmesi, egzersiz süresini uzatabilmekte ve performansı artırabilmektedir (131). Bu çalışmada, sadece egzersiz uygulanan grupta, laktat düzeyi yüksek iken, amilopektin ve Cr takviyesi alan gruplarda laktat seviyesi, bu gruba göre daha düşük bulunmuştur (Tablo 3). Zhang ve arkadaşlarının (132) yaptıkları çalışma, elde etmiş olduğumuz bulguları destekler niteliktedir. Yoğun egzersizlerde, sürekli artış gösteren laktat seviyesi kasların fonksiyonlarının bozulmasına yol açmaktadır. Yoğun egzersiz sonrasında kaslarda toplanan laktik asit, kaslarda güçsüzlüğe ve kasların morfolojisinde bozulmalara neden olmaktadır (133, 134). Egzersiz sırasında hızlı bir şekilde

kasılmış olan kaslarda meydana gelen metabolik değişimlerin sonucunda oksijenin kullanımı azalmakta ve anaerobik koşullarda meydana gelen piruvat, sitrik asit siklusuna girememekte ve laktata indirgenememektedir. Ağır egzersizlerde yetersiz oksijen sonucu şekillenen oksidatif stresin, kaslarda krampların oluşmasına neden olduğu bilinmektedir (135). Yapılan çalışmalarda, egzersiz uygulanan ratların bacak kaslarında laktat düzeyinin arttığı ve bu durumun, kas güçsüzlüğünün temel nedeni olduğu rapor edilmiştir (133, 136). Özellikle, sedanter yaşayan ratlara aniden yoğun egzersiz yaptırılması durumunda, aerobik metabolizmanın zorlaması sonucu, glikolizis artmakta ve dokularda laktat oluşmaktadır (137). Bu çalışmada sadece egzersiz (E) uygulanan grupta laktat düzeyi, diğer gruplardan daha yüksek bulunmuş ve koşu bandında 55 dakika ile en kısa süre koşabilen grup olarak tespit edilmiştir (Tablo 3). Yoğun egzersizlerde kas laktat seviyesinin artmasından sonra kan laktat seviyeside artmaktadır. Bu egzersizlerde, kaslardaki aerobik ortam, anaerobik ortama evrileceğinden, kaslardaki enerji üretimi, anaerobik glikoliz yolunun açılmasına neden olmaktadır. Böylece kasların laktat kapasitesi artacak ve plazma laktat seviyesinin artışına neden olacaktır (133). Mevcut çalışmada, en düşük laktat birikimi E+A+CrPik+CrHis grubunda bulunmuş ve 76 dakika ile en uzun süre koşan grup olarak tespit edilmiştir. Bu da bize daha iyi bir egzersiz ve sonrasında daha hızlı bir toparlanma süreci sağladığını göstermektedir. E+A, E+A+CrPik ve E+A+CrHis gruplarında da laktat seviyesi, E grubuna göre daha düşük bulunmuştur. Buradan hareketle, egzersiz öncesi alınan amilopektin ve Cr takviyesinin egzersizde dayanıklılığı artırdığı ve sonrasındaki süreçte yorgunluğun daha az şekillenmesine sebep olacağı düşünülmektedir. Bu çalışma sonuçlarına benzer olarak, Ivy ve

arkadaşları (138) 9 adet bisikletçi ile yaptıkları çalışmada, karbonhidrat ve karbondidrat+protein katkısının, plasebo ile karşılaştırıldığında dayanıklılığın arttığını belirlemişlerdir (138). Bu çalışmada, amilopektinin ve Cr'un kombinasyonları takviyesi, laktat birikimini azaltırken, Vervuert ve arkadaşlarının (139) atlardaki çalışmalarında Cr takviye ettikleri, antrenmana alışık, sağlıklı atlarda antrenman esnasında ve sonrasındaki dinlenmede insülin ile glikoz metabolizması üzerinde herhangi bir olumlu etki görmediklerini bildirmişlerdir. Amilopektin ve Cr takviyesi alan ratların kan plazmalarında tespit edilen düşük laktat konsantrasyonunun nedeni, laktatın hızlı bir şekilde glikojene dönüşümü ve kastan gelen düşük miktardaki laktat akışından olabileceği düşünülmektedir.

Yapılan bir çalışmanın sonucuna göre Cr takviyesinin kilolu atlarda olumlu etkilerinin olabileceği ve bunun için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulduğu rapor edilmiştir (139). Pagan ve arkadaşları (140) altı adet safkan atla yaptıkları çalışmada, Cr takviyesi yapıp koşu bandında koşturdukları atlarda, laktat seviyesinin, kontrol grubundan daha düşük olduğunu tespit etmişlerdir. Yine aynı çalışmada, sedanter atlarda kromun daha etkili olabileceği ifade edilmekte ve sürekli antrenman yapan atlarda çok etkili olamadığı bildirilmektedir (140).

Schwarz ve Mertz (31) tarafından kromun karbonhidrat metabolizmasına katıldığıının belirtilmesinden sonra, birçok bilim insanı dikkatini bu konulara yöneltmişlerdir. Krom, enerji, yağ ve protein sentezi mekanizmalarında çeşitli görevler yapmakta, diyabet ve hipoglisemi vakalarında insülini ayarlayarak kan şekerini dengeleyen bir element konumundadır (119, 141). Krom, insülinin hücre yüzeyinde bulunan reseptörlere bağlanmasını artırmakta ve aynı zamanda insülin

reseptörlerinin sayısında artışa neden olduğu düşünülmektedir (124). Başka bir çalışmada da, Cr'un insülinin kofaktörü olarak ifade edilmekte ve organizmada Cr'un aktiviteleri, insülinin aktiviteleri ile paralellik gösterebileceği ifade edilmektedir (142). Yapılan çalışmalarda CrPik'in, TC, kan şekeri ve serbest yağ asidi konsantrasyonunu düşürdüğü ve serum insülin ile insülin duyarlılık indeksini artırdığı rapor edilmektedir (45, 143-145). Orta derece yoğunluktaki bir egzersizde, karbonhidrat takviyesi insülinin plazmadaki konsantrasyonu üzerinde sınırlı bir etki göstermektedir. Bunun aksine düşük yoğunluklu, belirli aralıklarla yapılan ve değişken yoğunluklu egzersizlerde karbonhidrat takviyesi plazma insülin konsantrasyonunu artırmaktadır (138). Krom, insülinin etkisini artırarak glikoz metabolizmasını etkilemekte, (45, 146) normal karbonhidrat ve lipid metabolizmalarında en uygun insülin aktivitesi için gerekli bir mineraldir (45). Elde etmiş olduğumuz bulgulara göre, en yüksek insülin düzeyi E+A+CrPik+CrHis grubunda elde edilirken, en düşük insülin düzeyi E grubunda tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, daha önce yapılan çalışmaların sonuçlarıyla paralellik göstermektedir (45, 143-145). Buradan hareketle, egzersiz öncesi amilopektin ve Cr takviyesinin insülin seviyesi üzerine olumlu bir etki oluşturduğu görülmektedir.

Organizmanın, karbonhidratları depolama kabiliyeti sınırsız değildir bu nedenden dolayı yoğun ve uzun süreli egzersiz sırasında karbonhidrat rezervlerinin üst düzeyde olması hayati önem taşımaktadır (147). Egzersiz anında oluşan ve uzun süre devam eden yorgunlukların nedeni, kaslarda yeteri miktarda glikojenin mevcut olmamasıdır. Spor yapan bir bireyin kaslarında yeteri miktarda glikojen mevcut değilse, hızlıca yorulması kaçınılmaz bir durumdur. Kanda glikoz

seviyesini düzenleyen ve kullanımını sağlayan insülin, besin alımı ile artış göstermektedir. Dokularda artış gösteren insülin kısa bir sürede kan glikozunun düşmesine neden olarak vücutta dengeyi sağlamış olmaktadır (147). Hawley ve arkadaşları (147), dayanıklılık gerektiren sporlarla uğraşanların diyetlerinin karbonhidratça zengin olmasının daha iyi antrenman yapma imkânı verdiğini ifade etmektedirler.

Glikojen depolarınının büyük bir çoğunluğu, karaciğer ve kas dokusu tarafından meydana getirilmekte ve bu dokulardaki glikojen miktarları egzersiz ve diyetten etkilenmektedir (148). Kan glikoz seviyesinin belli bir düzeyde korunması, büyük oranda karaciğerdeki glikojen depolarına bağlıdır. Bu da büyük oranda diyetle alınan karbonhidrat ile ilişkilidir. Kas dokusu, vücutta bulunan glikojenin % 80'nini ihtiva etmektedir. Dinlenme halinde kas glikojen miktarı çok fazla değişmemekte ve diyetle alınan karbonhidratın bir etkisi olmamaktadır (149). Fazla miktarda karbonhidrat tüketiminde başlangıçta kas ve karaciğer tepki vermekte devamında ise kas dokusu insüline duyarsız hale gelince adipoz doku devreye girmektedir (150). Yoğun egzersizler süresince, ATP kas dokusu hücreleri tarafından devamlı olarak tüketilmekte ve bu ATP, kaslarda oksidatif fosforilasyon yoluyla üretilmektedir (150). Bu koşullar altında glikojen, ATP üretmek için glikoza dönüşmektedir (151). Mevcut çalışmada, Amilopektin ve Cr ile takviye edilmiş egzersiz yapan ratlarda, karaciğer ve kaslardaki glikojen depolarındaki artış, ATP'nin artmasına yol açıp, enerji stoklarının artışına neden olabilir. E+A+CrPik+CrHis takviyesi, ratlarda karaciğer ve kas glikojen depolarının seviyesini koruduğundan (Tablo 3), egzersiz öncesi alınan amilopektin ve Cr formlarının glikojen depolarının seviyesini yükselttiği için

dayanıklılığı artırdığı düşünülebilir. Volek ve arkadaşları (152) yaptıkları çalışmada, Cr takviyesinin yüksek yoğunluklu egzersizden sonra kas glikojen sentezinde nedeni anlaşılmayan bir değişiklik başlattığı bildirilmektedirler. Yapılan bu çalışmada, amilopektin ve Cr verilen grupların kas ve karaciğer glikojen seviyelerinin, E grubundan daha iyi bir şekilde korunduğu görülmektedir. Bu da, bu konuda öne sürdüğümüz tezi doğrular niteliktedir. Hem karaciğer hem de kas glikojen seviyeleri, E+A+CrPik+CrHis grubunda diğer gruplardan yüksek olarak gözlenmektedir. Bu durum, Cr kombinasyonu ve hazır karbonhidrat kaynağının egzersiz öncesi alınmasının egzersizde dayanıklılığı artırdığını göstermektedir. Shiau ve Lin yaptıkları çalışmada (153), glikoz temelli besleme programındaki balık yemlerine ilave ettikleri Cr'un karaciğer glikojen seviyesini artırdığını bildirmektedirler. Mevcut çalışmada, E grubunda kas ve karaciğer glikojen seviyeleri, diğer gruplardan daha düşük tespit edilmiştir. Buradan hareketle amilopektin ve Cr kombinasyonunun egzersizde dayanıklılığı artırdığı düşünülmektedir. Burada asıl önemli olan mevcut çalışmadaki gibi sedanter yaşamdan ani olarak egzersize geçenlerin karşılaştıkları kas yorgunluğunun daha az oluştuğu sonucuna varılabilmektedir.

Trigliseritler canlı organizmada bulunan en önemli enerji kaynağı ve aynı zamanda en fazla bulunan lipittir. Sağlıklı bir yaşam sürebilmek için her canlıda kendine özgü sınırlar içerisinde trigliserit bulunması gerekmektedir (8, 81). Trigliserit miktarının belli sınırları aşması durumunda hipertrigliseridemi olarak adlandırılan trigliserit yüksekliği meydana gelmektedir. Bu durum organizmanın rutin işleyişini tehdit ettiğinden dolayı, bilim insanları diyetle çeşitli maddeler ekleyerek tedavi yolları denemektedirler. Trigliseritler, VLDL'den salgılanmakta

ve lipit damlacıklarının içinde depo edilmekte veya lipaz enziminin etkisiyle β -oksidasyon yoluyla katabolize edilmektedir (8, 81, 82). Mevcut çalışmamızda karaciğer trigliserit seviyesi bakımından incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak fark tespit edilmemiştir ($P>0.05$; Tablo 3). Şahin (45) ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarında STZ ile diyabet oluşturdukları ratlara verilen CrPik ile TC, TG ve serbest yağ asidinin düşürüldüğünü bildirmektedirler. Rabinovitz (119), Anderson (143) ve Cefalu ve Hu (118), benzer sonuçlar elde ettiklerini bildirmektedirler. Liu ve arkadaşlarının (120) sazan balıklarıyla yaptıkları çalışmada 0.8 mg/kg^{-1} dozunda verilen krom pikolinatın balıklarda büyüme performansı, serum insülin, trigliserit ve HDL'yi artırdığını ve LDL'yi düşürdüğünü bildirmişler ve kendi çalışma şartlarında daha yüksek dozdaki Cr takviyesinin tüm parametreler üzerinde olumsuz etkiler meydana getirdiğini tespit etmişlerdir.

Glikoz transporterlar (GLUT-2 ve GLUT-4) ve PPAR- γ çeşitli metabolik süreçlerde bulunan biyomarkırlardır. Egzersiz, kaslardaki GLUT-2 ve GLUT-4 ekspresyonunu ve insülin uyarımlı glikojen depolanmasını arttırmaktadır (154). Diğer taraftan, PPAR- γ lipit, karbonhidrat, glikoz ve insulin metabolizmasının düzenlenmesinde kilit rol oynamakta (155) ve PPAR- γ 'nın seviyesi atletik performansı yansıtabilmektedir (156, 157). Birçok çalışma, egzersizin iskelet kasında (158) ve karaciğerde (159, 160), PPAR- γ 'nın ekspresyonunu artırdığını göstermektedir. Mevcut çalışmada, hem karaciğer hem de kasta GLUT-2, GLUT-4 ve PPAR- γ ekspresyonunda önemli bir değişim görülmemekle birlikte, amilopektin ve Cr takviyesi almış olan grupta GLUT-4 seviyesinde artış eğilimi tespit edilmiştir.

Kromun, hem hayvan deneylerinde hem de *in vitro* çalışmalarda, dokulardaki glikoz taşınmasında sürekli olarak olumlu etkileri gözlemlenmiştir. Krom ile yapılan birçok çalışmada insülin reseptörlerinin sinyallerinde artış görülmüş ve buna bağlı olarak GLUT'ların aktivitelerinde artış sağlanmıştır. Ayrıca, Cr takviyeleri plazma membranının kolesterolünü azaltmak suretiyle membran akışkanlığını artırmakta ve GLUT'ların yer değişimine yardımcı olmaktadır (161). GLUT-2 hücrelerin membranları arasında glikozun pasif bir şekilde taşınmasını sağlayan, kanda bulunan glikozun hücreye alınması ve buradan da karaciğere alınıp tekrar salınımını sağlayan trans membran proteini olarak ifade edilmektedir (162). GLUT-2, insülinin uyarımına bağlı olarak hem içten hem de dıştan hepatositler boyunca glikozu taşıyan en önemli taşıyıcı proteindir. Karaciğer dokularındaki GLUT-2 ekspresyon aktiviteleri bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlenmemiştir. Tuzcu ve arkadaşları (124) yaptıkları çalışmada, yüksek yağlı diyetle beslenen ratlarda GLUT-2 düzeyi, yüksek yağlı diyet+CrHis ile beslenen ratlardan daha düşük bulduklarını rapor etmektedirler. Mevcut çalışmada gruplar arasında istatistiksel olarak fark olmamasının nedeni çalışmanın kısa süreli olmasından ve akut egzersizin uygulanmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ratlar tüm gruplarda 55 ile 76 dakika arası koşabildiler. Jain ve arkadaşlarının (163) yaptığı bir çalışmada, diyabet oluşturulan obez ratlara sekiz hafta boyunca krom dinikosisteyinat, krom dinikotinat, krom pikolinat ve kontrol grubuna serum fizyolojik, gavaj yoluyla vererek karaciğer GLUT-2 seviyelerinde artış sağlarken, insülin reseptör substrat-1 (IRS-1) aktivasyonunda azalma tespit ettiklerini bildirmektedirler. Kromun

kombinasyonlarının kendi aralarında karşılaştırılmasında da en iyi etkinin krom dinikosisteyinat alan grupta olduğunu bildirmişlerdir (163).

Daha öncede belirtildiği gibi GLUT-4, kalp, iskelet, yağ hücrelerinin ve bunların organellerinde, insüline yanıt oluşturan glikoz taşıyıcı proteinler olarak ifade edilmektedir (91). GLUT-4, kan dolaşımında bulunan glikozu dokulara taşıyarak ortadan kaldıran ana taşıyıcı olup, vücut glikoz dengesini ayarlama kilit rol oynamaktadır. Cefalu ve arkadaşları (111) yaptıkları çalışmada ratların günlük içme sularına ilave ettikleri krom pikolinatın kas dokusunda GLUT-4 seviyesini değiştirmede fakat insülinin salınmasından sonra iskelet kaslarında GLUT-4'ün yer değişiminde artış olduğunu bildirmektedirler (111). Mevcut çalışmada gruplar arasındaki GLUT-4 değişimleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($P > 0.05$; Şekil 10). Yapılan bu çalışmada, E+A+CrPik+CrHis grubunda GLUT-4 seviyesinin diğer gruplardan yüksek bulunması, Cr kombinasyonunun insülin salınımını daha iyi uyardığı ve bunun sonucunda da GLUT-4 seviyesinde daha fazla artışa sebep olduğu düşünülmektedir. Bu durumda, daha fazla glikoz ortadan kaldırılabilir. Mevcut çalışmanın kan glikoz seviyeleri incelendiğinde, en düşük kan glikoz seviyesi yine aynı şekilde E+A+CrPik+CrHis grubunda tespit edilmiştir. Mevcut çalışmada elde edilen bulgular ile daha önce yapılan çalışmalar birbirini desteklemektedirler (45, 56, 58). Qiao ve arkadaşları (164), krom klorit (CrCl), CrPik, Cr'un küçük peptitlerle oluşturduğu şelat (CrSP) ile yaptıkları çalışmalarında, en yüksek GLUT-4 seviyesine CrSP ile ulaşıldığı bunu CrPik'in takip ettiği, GLUT-4'ü en az etkileyenin ise CrCl olduğunu bildirmişlerdir.

Peroksizom proliferatör aktive reseptör- γ (PPAR- γ), nükleer reseptör süper ailesinin bir üyesi olup çeşitli fizyolojik süreçlerin kontrolünü sağlayan transkripsiyon faktörüdür (92). Son yıllarda PPAR- γ 'nın anti-anjiyogenez, antifibröz ve yangı giderici etkileri tespit edilmiş ve çeşitli organlarda oksidatif stresi kontrol ettiği bildirilmektedir (92). PPAR- γ obezite, diyabet ve ateroskleroz gibi birçok hastalığın patolojisinde bulunarak insülin direncini azaltma ve yangı gidermede görev almaktadır (92). Mevcut çalışmada, PPAR- γ , karaciğer ve kas dokusundaki seviyeleri istatistiksel olarak amilopektin, CrPik, CrHis, egzersiz ve bunların kombinasyonlarından oluşan tedavilerden etkilenmemiştir. Çalışma kısa süreli egzersiz çalışması olduğundan dolayı bu kısa sürede kas ve karaciğerde belirgin farkların oluşmadığı düşünülmektedir. Şahin ve arkadaşlarının (100) yaptığı çalışmada, diyabetli ve yüksek yağlı diyetle beslenen ratlarda adipoz dokuda PPAR- γ 'nın düştüğünü, aynı şekilde yüksek yağlı diyetle beslenip CrPik, biotin ve bunların kombinasyonları ile oluşturulan gruplarda adipoz dokulardaki PPAR- γ 'nın artış gösterdiğini rapor etmişlerdir (100). Shen (165) tip 2 diyabetli Goto-Kakizaki ratlarda yaptıkları çalışmada ise lipoik asit, asetil-L-karnitin, nikotinamid ve biyotin kombinasyonlarının, iskelet kaslarındaki PPAR- γ seviyelerinde önemli bir artışa neden olduğunu bildirmektedirler.

Sonuç olarak, amilopektin, Cr ve bunların kombinasyonlarının egzersiz sırasında enerji depolarını artırdığı, aynı zamanda hematolojik parametrelerde olumlu etkiler gösterdiği ve egzersiz sonrası kas yorgunluğunu azalttığını göstermektedir. Bununla birlikte, egzersiz yaptırılan ratlarda bu uygulamadan karaciğer transaminaz seviyeleri, kan lipid profili, kas ve karaciğer glikoz transporterleri ile PPAR- γ 'nın kas ve karaciğerdeki seviyeleri aynı şekilde

etkilenmemiştir. Bu maddelerin kullanımının yarış öncesi atlarda performansı arttırabileceği düşünülmektedir. Amilopektin ve Cr kombinasyonu, yorgunluğu azaltıcı etkileri olan farmakolojik bir ajan olabilir. Bundan dolayı daha detaylı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.



7. KAYNAKLAR

1. Ingraham RH, Kappel LC. Metabolic profile testing. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 1988; 4(2): 391-411.
2. Avcı C, Kızıl Ö. Enjektabl iz elementlerin geçiş dönemindeki ineklerde metabolik profil üzerine etkileri. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2013; 19: A73-A78.
3. Jeukendrup AE. Carbohydrate intake during exercise and performance. *Nutrition* 2004; 20: 669–677.
4. Alcázar-Alay SC, Meireles MAA. Physicochemical properties, modifications and applications of starches from different botanical sources. *Food Sci Technol Campinas* 2015; 35 (2): 215-236.
5. Smith AM. The biosynthesis of starch granules. *Biomacromolecules* 2001; 2 (2): 335-341.
6. Tester RF, Karkalas J, Qi X. Starch - Composition, fine structure and architecture. *J Cereal Sci* 2004; 39 (2): 151-165.
7. Jun H, Daiwen C, Bing Y. Metabolic and transcriptomic responses of weaned pigs induced by different dietary amylose and amylopectin ratio. *PLoS One* 2010; 5(11): e15110.
8. Harvey RA, Ferrier DR. Unit V Metabolic Effect of Insulin And Glucagon 5th Edition, Philadelphia: Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry 2011.
9. Cummings JH, Englyst HN. Gastrointestinal effects of food carbohydrates. *Am J Clin Nutr* 1995; 61(4): 938–945.
10. Zhou X, Kaplan ML. Soluble amylose cornstarch is more digestible than soluble amylopectin potato starch in rats. *J Nutr* 1997; 127: 1349–1356.
11. Bianca MJM, Walter JJG, Erik MAMB, Henk AS. Amylopectin structure and crystallinity explains variation in digestion kinetics of starches across botanic sources in an in vitro pig model. *J Anim Sci Biotechnol* 2018; 9: 91.
12. French D. Organization of starch granules. In *Starch: Chemistry and Technology*, eds R. L. Whistler, J. N. BeMiller & E. F. Paschall. Academic Press, New York, 1984: 183-247.
13. Korma SA, Alahmad K, Niazi S, et al. Chemically modified starch and utilization in food stuffs. *Int J Nutr Food Sci* 2016; 5(4): 264-272.
14. Sorndech W, Sagnelli D, Meier S, et al. Structure of branching enzyme- and amylomaltase modified starch produced from well-defined amylose to amylopectin substrates. *Carbohydr Polym* 2016; 152: 51–61.
15. Manners DJ. Recent developments in our understanding of amylopectin structure. *Carbohydr Polym* 1989; 11(2): 87-112.
16. Bello-Perez LA, Paredes-Lopez O, Roger P, Colonna P. Amylopectin properties and fine structure. *Food Chem* 1996; 56(2): 171 -176.
17. Murray SM, Patil AR, Fahey GC, et al. Apparent digestibility of a debranched amylopectin-lipid complex and resistant starch incorporated into enteral formulas fed to ileal-cannulated dogs *J Nutr* 1998; 128(11): 2032–2035.
18. Sources for starch. <http://www1.lsbu.ac.uk/water/starch.html#str> Erişim:01.03.2019.
19. Starch additives and ingredients, their composition, functions, strategies for use <https://projects.ncsu.edu/project/hubbepaperchem/STCH.htm> Erişim:02.01.2019.
20. Pechova A, Pavlat L. AChromium as an essential nutrient: a review. *Vet Med* 2007; 52(1): 1–18.
21. Sahin N, Akdemir F, Orhan C, et al. A novel nutritional supplement containing chromium picolinate, phosphatidylserine, docosahexaenoic acid, and boron activates the antioxidant pathway Nrf2/HO-1 and protects the brain against oxidative stress in high-fat-fed rats. *Nutr Neurosci* 2012; 15(5): 42-47.

22. Amoikon EK, Fernandez JML, Southern L, et al. Effect of chromium tripicolinate on growth, glucose tolerance, insulin sensitivity, plasma metabolites, and growth hormone in pigs. *J Anim Sci* 1995; 73: 1123-1130.
23. Borel JS, Anderson RA. Chromium in *Biochemistry of the Essential Ultratrace Elements*, E. Frieden, ed. New York: Plenum Press. 1984: 175–199.
24. Tezuka M, Momiyama K, Edano T, Okada S. Protective effect of chromium (III) on acute lethal toxicity of carbon tetrachloride in rats and mice. *J. Inorg Biochem* 1991; 42: 1–8.
25. Sahin N, Sahin K, Onderci M, et al. Chromium picolinate, rather than biotin, alleviates performance and metabolic parameters in heat-stressed quail. *Br Poult Sci* 2005; 46(4): 457-463.
26. Sahin N, Sahin K, Onderci M, Ozcelik M, Smith MO. In vivo antioxidant properties of vitamin E and chromium in cold-stressed Japanese quails. *Arch Tierernahr* 2003; 57(3): 207-215.
27. Machalinski B, Walczak M, Syrenicz A, et al. Hypoglycemic potency of novel trivalent chromium in hyperglycemic insulin-deficient rats. *J Trace Elem Med Biol* 2006; 20: 33–39.
28. Richard AA. Chromium, glucose intolerance and diabetes. *J Am Coll Nutr* 1998; 17 (6): 548-555.
29. Evans GW. The effect of chromium picolinate on insulin controlled parameters in humans. *Int J Biosocial Med Research* 1989; 11: 163–180.
30. Ziegenfuss TN, Lopez HL, Kedia A, et al. Effects of an amylopectin and chromium complex on the anabolic response to a suboptimal dose of whey protein. *J Int Soc Sports Nutr* 2017; 14: 6.
31. Schwarz K, Mertz WA. Glucose tolerance factor and its differentiation from factor 3. *Arch Biochem Biophys* 1957; 72: 515.
32. Schwarz K, Mertz W. Chromium (III) and the glucose tolerance factor. *Arch Biochem Biophys* 1959; 85: 292.
33. William O. REECE Dukes Veteriner Fizyoloji (onikinci baskı) 35.Bölüm Mineraller 2004; 578-579.
34. National Research Council. *Recommended Dietary Allowances*. 10th edition. Washington, D.C: National Academy of Sciences, National Academy Press. 1989.
35. Ducros V. Chromium metabolism. *Biol Trace Elem Res* 1992; 32: 65–77.
36. Chen NSC, Tsai A, Dyer IA. Effect of chelating agents on chromium absorption in rats. *J Nutr* 1973; 103: 1182–1186.
37. Anderson RA. Chromium in *Trace Elements in Human and Animal Nutrition*, 5th Edition W. Mertz, ed. New York: Academic Press, Inc. 1987; 1: 225–244.
38. Doisy RJ, Streeten DHP, Freiberg JM, Schneider AJ. Chromium metabolism in man and biological effects in *Trace Elements in Human Health and Disease*, Vol. II, A.S. Prasad, ed. New York: Plenum Medical Book Company. 1976: 79–104.
39. Craft NE, Polansky MM, Anderson RA. The effect of age, sex, diet and diabetes on chromium absorption. *Fed Proc* 1984; 43: 471.
40. Hunt CD, Stoecker BJ. Deliberations and evaluations of the approaches, endpoints and paradigms for boron, chromium and fluoride dietary recommendations. *J Nutr* 1996; 126: 2441–2451.
41. Olin KL, Stearns DM, Armstrong WH, Keen CL. Comparative retention/absorption of chromium (Cr) from Cr chloride, Cr nicotinate ve Cr picolinate in rat model. *Trace Elem Electroly* 1994; 11(4): 182-1861.
42. Kandror KV. Insulin regulation of protein traffic in rat adipocyte cells. *J Biol Chem* 1999; 274: 25210–25217.
43. Vincent JB. The biochemistry of chromium. *J Nutr* 2000; 130: 715–718.

44. Ngala RA, Awe MA, Nsiah P. The effects of plasma chromium on lipid profile, glucose metabolism and cardiovascular risk in type 2 diabetes mellitus. A case - control study. *Plone One* 2018; 5: 1-11.
45. Sahin K, Onderci M, Tuzcu M, et al. Effect of chromium on carbohydrate and lipid metabolism in a rat model of type 2 diabetes mellitus: the fat-fed, streptozotocin-treated rat. *Metab Clin Exp* 2007; 56(9): 1233–1240.
46. Mertz W, Roginski EE. Effect of chromium (III) supplementation on growth and survival under stress in rats fed low-protein diets. *J Nutr* 1969; 97: 531–536.
47. Anderson, RA. Chromium, glucose tolerance, and lipid metabolism. *J Adv Med* 1995; 8: 37.
48. Anderson RA. Nutritional factors influencing the glucose/insulin system: Chromium. *J Am Coll Nutr* 1997b; 16: 404–410.
49. Abraham AS, Sonnenblick M, Eini M. The action of chromium on serum lipids and on atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *Atherosclerosis* 1982a; 42: 185–195.
50. Abraham AS, Sonnenblick M, Eini M. The effect of chromium on cholesterol induced atherosclerosis in rabbits. *Atherosclerosis* 1982b; 41: 371–379.
51. Lefavi RG, Wilson GD, Keith RE, et al. Lipid-lowering effect of a dietary chromium (III) nicotinic acid complex in male athletes. *Nutr Res* 1993; 13: 239–249.
52. World Health Organisation, Chromium. Genova 1996; 155-159.
53. Evans GW, Bowman TD. Chromium picolinate increases membrane fluidity and rate of insulin internalization. *J Inorg Biochem* 1992; 48: 243–250.
54. Roginski EF, Mertz W. Effects of chromium (III) supplementation on glucose and amino acid metabolism in rats fed a low protein diet. *Journal of Nutrition*, 1969; 97: 525–530.
55. Anderson RA, Polansky MM, Bryden NA, et al. Urinary chromium excretion of human subjects: Effects of chromium supplementation and glucose loading. *Am J Clin Nutr* 1982; 36: 1184–1193.
56. Sahin N, Akdemir F, Orhan C, et al. A novel nutritional supplement containing chromium picolinate, phosphatidylserine, docosahexaenoic acid, and boron activates the antioxidant pathway Nrf2/HO-1 and protects the brain against oxidative stress in high-fat-fed rats. *Nutr Neurosci* 2012; 15(5): 42-47.
57. Burton JL. Supplemental chromium: Its benefits to the bovine immune system. *Anim Feed Sci Tech* 1995; 53: 117.
58. Sahin K, Küçük O, Sahin N. Effects of dietary chromium picolinate supplementation on performance and plasma concentrations of insulin and corticosterone in laying hens under low ambient temperature. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 2001; 85(5-6):142-147.
59. Sahin N, Hayirli A, Orhan C, et al. Effects of the supplemental chromium form on performance and oxidative stress in broilers exposed to heat stress. *Poult Sci* 2017; 96(12): 4317-4324.
60. The Role of Chromium in Animal Nutrition Committee on Animal Nutrition, National Research Council <http://www.nap.edu/catalog/5778.html> 1997.
61. Ardic F. Exercise prescription. *Turkish Journal of Physical Medicine and Rehabilitation* 2014; 60(2): 1-8.
62. Thompson WR, Gordon NF, Pescatello LS. ACSM'S guidelines for exercise testing and prescription. Baltimore, MD: Wolters Kluwer Lippincott Williams & Wilkins. 2009.
63. Thompson WR, Bushman BA, Desch J, et al. ACSM'S resources for the personal trainer. Baltimore, MD: Wolters Kluwer Lippincott Williams & Wilkins 2010.
64. Rezaei S, Agha-alinejad H, Shamsi MM, et al. Evaluation of efforts in untrained Wistar rats following exercise on forced running wheel at maximal lactate steady state. *J Exerc Nutrition Biochem* 2017; 21(1): 26-32.

65. Lopes Souto D, Paes de Miranda M. Physical exercises on glycemic control in type 1 diabetes mellitus. *Nutr Hosp* 2011; 26(3): 425-429.
66. Scott M. Misconceptions about Aerobic and Anaerobic Energy Expenditure. *J Int Soc Sports Nutr* 2005; 2(2): 32-37.
67. Goodwin ML, Harris JE, Hernández A, Gladden LB. Blood lactate measurements and analysis during exercise: a guide for clinicians. *J Diabetes Sci Technol Review Article* 2007; 1(4).
68. Hazır T, Açıkada C. İskelet ve kalp kaslarında laktik asitin taşınımı: monokarboksil taşıyıcı proteinler. *Hacettepe Journal of Sport Sciences* 2005; 16 (2): 95-123.
69. Chikwana VM, Khanna M, Baskaran S, et al. Structural basis for 2'-phosphate incorporation into glycogen by glycogen synthase. *Proc Natl Acad Sci U. S. A.* 2013;110 (52): 20976–20981.
70. Adeva-Andany MM, González-Lucán M, Donapetry-García C, Fernández-Fernández C, Ameneiros-Rodríguez E. Glycogen metabolism in humans. *BBA Clinical* 2016; 5: 85–100.
71. McGarry JD, Kuwajima M, Newgard CB, Foster DW, From dietary glucose to liver glycogen: the full circle round *Ann Rev Nutr* 1987; 7: 51-73.
72. Bergström J, Hultman E. Muscle glycogen synthesis after exercise: an enhancing factor localized to the muscle cells in man. *Nature* 1966; 210: 309–310.
73. Bergström J, Hultman E. A study of the glycogen metabolism during exercise in man. *Scand J Clin Lab Invest* 1967; 19: 218–228.
74. Richter EA, Hargreaves M. Exercise, GLUT4, and skeletal muscle glucose uptake. *Physiol Rev* 2013; 93: 993–1017.
75. Hargreaves M, Exercise, muscle, and CHO metabolism. *Scand J Med Sci Sports* 2015; 25(4): 29–33.
76. Brown GK. Glucose transporters: structure, function and consequences of deficiency. *J Inherit Metab Dis.* 2000; 23 (3): 237-46.
77. Katz A, Sahlin K, Broberg S. Regulation of glucose utilization in human skeletal muscle during moderate dynamic exercise. *Am J Physiol* 1991; 260: 411–415.
78. Aulbach AD, Amuzie CJ, A Comprehensive Guide to Toxicology in Nonclinical Drug Development. (2nd Edition), 2017.
79. Washington IM, Gerald VH. Clinical Biochemistry and Hematology, A volume in American College of Laboratory Animal Medicine 2012; 57–116.
80. Berglund L, Brunzell JD, Goldberg AC, et al. Evaluation and treatment of hypertriglyceridemia: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97: 2969–89.
81. Alexopoulos AS, Qamar A, Hutchins K, et al. Triglycerides: emerging targets in diabetes care? review of moderate hypertriglyceridemia in diabetes. *Curr Diab Rep* 2019; 19: 13.
82. Miller M, Cannon CP, Murphy SA, et al. Impact of triglyceride levels beyond low-density lipoprotein cholesterol after acute coronary syndrome in the prove it-tıdı 22 trial. *J Am Coll Cardiol* 2008; 51: 7.
83. Cox RA, García-Palmieri MR. Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations. 3rd edition. Chapter 31 Cholesterol, Triglycerides, and Associated Lipoproteins 1990.
84. Bhagavan NV. Plasma Lipoproteins. Medical Biochemistry. 4th edition, Harcourt Academic Press, 2002; 429-452.
85. Smith S, M Lall A. A Study on Lipid Profile Levels of Diabetics and NonDiabetics Among Naini Region of Allahabad, India. *Turk J Biochem* 2008; 33(4); 138–141.
86. Saltiel AR, Kahn CR. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature* 2001; 414: 799-806.

87. Thorens B. GLUT2, glucose sensing and glucose homeostasis. *Diabetologia* 2015; 58: 221–232.
88. Mueckler M, Thorens B. The SLC2 (GLUT) family of membrane transporters. *Mol Asp Med* 2013; 34: 121–138.
89. Huang S, Czech MP. The GLUT4 Glucose Transporter. *Cell Metab* 2007; 5: 237–252.
90. Villanueva-Peñacarrillo ML, Puente J, Redondo A, Clemente F, Valverde I. Effect Of GLP-1 Treatment On GLUT2 And GLUT4 Expression In Type 1 And Type 2 Rat Diabetic Models. *Endocrine* 2001; 15(2): 241–248.
91. Bryant NJ, Govers R, James DE. Regulated transport of the glucose transporter GLUT4. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002; 3(4): 267–277.
92. Lehrke M, Lazar M. The Many Faces of PPAR γ . *Cell* 2005; 123: 993–999.
93. Berger J, Moller DE. The mechanisms of action of PPARs. *Annu Rev Med* 2002; 53: 409–435.
94. Mansén A, Guardiola-Diaz H, Rafter J, Branting C, Gustafsson JA. Expression of the Peroxisome Proliferator-Activated Receptor (PPAR) in the Mouse Colonic Mucosa. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 222: 844–851.
95. Ren D, Collingwood TN, Rebar EJ, Wolffe AP, Camp HS. PPAR gamma knockdown by engineered transcription factors: exogenous PPAR gamma 2 but not PPAR gamma 1 reactivates adipogenesis. *Genes Dev* 2002; 16(1): 27–32.
96. Medina-Gomez G, Gray SL, Yetukuri L, et al. PPAR gamma 2 prevents lipotoxicity by controlling adipose tissue expandability and peripheral lipid metabolism. *PLoS Genet* 2007; 3(4): e64.
97. Janani C, Ranjitha Kumari BD. PPAR gamma gene Diabetes&Mtabolic syndrome: Clinical Research&Review 9 2015; 46-50.
98. Chui PC, Guan HP, Lehrke M, Lazar MA. PPAR-gamma regulates adipocyte cholesterol metabolism via oxidized LDL receptor 1. *J Clin Invest* 2005; 115: 2244–2256.
99. Desvergne B, Wahli W. Peroxisome proliferator-activated receptors: nuclear control of metabolism. *Endocr Rev* 1999a; 20: 649–688.
100. Sahin K, Mehmet Tuzcu M, Orhan C, et al. Anti-diabetic activity of chromium picolinate and biotin in rats with type 2 diabetes induced by high-fat diet and streptozotocin. *Br J Nutr* 2013; 110: 197–205.
101. Ziegenfuss TN, Lopez HL, Kedia A, et al. Effects of an amylopectin and chromium complex on the anabolic response to a suboptimal dose of whey protein. *J Int Soc Sports Nutr* 2017; 14: 6.
102. Pitman JL, Bonnet DJ, Curtiss LK, Gekakis N. Reduced cholesterol and triglycerides in mice with a mutation in Mia2, a liver protein that localizes to ER exit sites. *J Lipid Res* 2011; 52: 1775–1786.
103. Sahin K, Orhan C, Tuzcu M, Sahin N, Erten F, Juturu V. Capsaicinoids improve consequences of physical activitt. *Toxicol Rep* 2018; 15: 598–607
104. Sahin K, Tuzcu M, Orhan C, et al. Chromium modulates expressions of neuronal plasticity markers and glial fibrillary acidic proteins in hypoglycemia-induced brain injury. *Life Sci* 2013; 93: 1039–1048.
105. Drazancić A, Janković D. PAS positive lymphocytes in the diagnosis of abnormal glucose tolerance during pregnancy. *Obstet Gynecol.* 1970; 36: 762–765.
106. Hagemans ML, Stigter RL, Van Capelle CI, et al. PAS-positive lymphocyte vacuoles can be used as diagnostic screening test for Pompe disease. *J Inherit Metab Dis* 2010; 33: 133–139.
107. Toghyani M, Shivazad M, Gheisari AA, Zarkesh SH. Performance, carcass traits and hematological parameters of heat-stressed broiler chicks in response to dietary levels of chromium picolinate. *Int J Poult Sci* 2006; 5: 65–69.

108. Guyton AC, Hall JE, Tıbbi Fizyoloji, Nobel Tıp Kitapevi, 12. Baskı, 937-942, 2013 İstanbul.
109. Agrawal S, Gupta D. Assessment of liver damage in male albino rats after repetitive heat stress of moderate level. NJPPP 2013a; 3: 147-152.
110. Volpe SL, Huang HW, Larpadisorn K, Lesser II. Effect of chromium supplementation and exercise on body composition, resting metabolic rate and selected biochemical parameters in moderately obese women following an exercise program. J Am Coll Nutr 2001; 20: 293-306.
111. Cefalu WT, Wang ZQ, Zhang XH, Baldor LC, Russel JC. Oral Chromium Picolinate Improves Carbohydrate and Lipid Metabolism and Enhances Skeletal Muscle Glut-4 Translocation in Obese, Hyperinsulinemic (JCR-LA Corpulent). Rats J Nutr 2002; 132: 1107–1114.
112. Yamamoto A, Wada O, Ono T. Isolation of a biologically active lowmolecular-mass chromium compound from rabbit liver. Eur J Biochem 1987; 165: 627-631.
113. Wang Y, Xu D. Effects of aerobic exercise on lipids and Lipoproteins. Lipids Health Dis 2017; 16: 132.
114. Lai M, Chen Y, Cheng H. Chromium yeast supplementation improves fasting plasma glucose and LDL-cholesterol in streptozotocin-induced diabetic rats. Int J Vitam Nutr Res 2006; 76 (6): 391-397.
115. Ali A, Ma Y, Reynolds J, et al. Chromium effects on glucose tolerance and insulin sensitivity in persons at risk for diabetes mellitus. Endocr Pract 2011; 17: 16–25.
116. Hua Y, Clark S, Ren J, Sreejayan N. Molecular mechanisms of chromium in alleviating insulin resistance. J Nutr Biochem 2012; 23: 313–319.
117. Feng W, Li Q, Wang W, et al. Influence of Chronic Toxicity, Lipid Metabolism, Learning and Memory Ability, and Related Enzyme in Sprague-Dawley Rats by Long-Term Chromium Malate Supplementation. Biol Trace Elem Res 2019; 187(1): 243-257.
118. Cefalu WT, Hu FB. Role of chromium in human health and in diabetes. Diabetes Care 2004; 27: 2741-2751.
119. Rabinovitz H, Friedensohn A, Leibovitz A, et al. Effect of chromium supplementation on blood glucose and lipid levels in type 2 diabetes mellitus elderly patients. Int J Vitam Nutr Res 2004; 74: 178-82.
120. Liu T, Wen H, Jiang M, et al. Effect of dietary chromium picolinate on growth performance and blood parameters in grass carp fingerling, *Ctenopharyngodon idellus*. Fish Physiol Biochem 2010; 36: 565–572.
121. Brooks MA, Grimes JL, Lloyd KE, et al. Spears Chromium propionate in broilers: effect on insulin sensitivity. Poultry Science 2016; 95: 1096 –1104.
122. Kim SW, Han IK, Choi YJ, et al. Effects of chromium picolinate on growth performance, carcass composition and serum traits of broilers fed dietary different levels of crude protein. Asian-Aust J Anim Sci 1995; 8: 463–470.
123. Lee D, Wu F, Cheng Y, Lin R, Wu P. Effects of dietary chromium picolinate supplementation on growth performance and immune responses of broilers. Asian-Aust J Anim Sci 2003; 16: 227–233.
124. Tuzcu M, Sahin N, Orhan C, et al. Impact of chromium histidinate on high fat diet induced obesity in rats. Nutr& Metab 2011; 8: 28.
125. Wang ZQ, Zhang XH, Russell JC, Hulver M, Cefalu WT. Chromium picolinate enhances skeletal muscle cellular insulin signaling in vivo in obese, insulin-resistant JCR: LA-cp rats. J Nutr 2006; 136: 415-420.
126. Strojnik V, Komi PV. Fatigue after submaximal intensive stretch-shortening cycle exercise. Med Sci Sports Exerc 2000; 32: 1314–1319.

127. Izquierdo M, González-Izal M, Navarro-Amezqueta I, et al. Effects of strength training on muscle fatigue mapping from surface EMG and blood metabolites. *Med Sci Sports Exerc* 2011; 43: 303–311.
128. Brooks GA. Lactate - Link between glycolytic and oxidative metabolism. *Sports Med* 2007; 37: 341-343.
129. Yangyang L, Changjiang L. Antifatigue and increasing exercise performance of *Actinidia arguta* crude alkaloids in mice. *J Food Drug Anal* 2016; 24: 738-745.
130. Brooks GA. Intra-and extra-cellular lactate shuttles. *Med Sci Sports Exerc* 2000; 32: 790–799.
131. Febbraio MA, Chiu A, Angus DJ, Arkinstall MJ, Hawley JA. Effects of carbohydrate ingestion before and during exercise on glucose kinetics and performance. *J Appl Physiol* (1985) 2000; 89: 2220-2226.
132. Zhang H, Liu Y, Zhou J, Wang J, Sun B. Amylopectin is the anti-fatigue ingredient in glutinous rice. *Int J Biol Macromol* 2014; 63: 240-243.
133. Hogan MC, Gladden CB, Kurdak SS, Poole DC. Increased (lactate) in working dog muscle reduces tension development independent of Ph. *Med Sci Sports Exerc* 1995; 27 (3): 371-377.
134. Gobatto CA, Rostom de Mello MA, Sibuya CY, et al. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. *Comp Biochem Physiol Part A* 2001; 130: 21-27
135. Coşkun Ö, Öter Ş, Korkmaz A, et al. Effect of carnitine on intensive exercise induced decreased glycogen, accumulated lactic acid and morphological changes in skeletal muscle. *T Klin J Med Sci* 2000; 20: 325-333
136. Hagg SA, Taylor SI, Ruderman NB. Glucose metabolism in perfused skeletal muscle pyruvate dehydrogenase activity in starvation, diabetes and exercise. *Biochem J* 1976; 158: 203-10.
137. Harbili, E, İnal AN, Gökbel H, Harbili S, Akkuş H. Yoğun egzersizden sonra aktif dinlenmenin kan laktat eliminasyonuna etkileri. *Genel Tıp Dergisi* 2007; 17 (4): 191-196.
138. Ivy JL, Res PT, Sprague RC, Widzer MO. Effect of a Carbohydrate-Protein Supplement on Endurance Performance During Exercise of Varying Intensity. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2003; 13: 382-395.
139. Vervuert I, Cuddeford D, Coenen M. Effects of chromium supplementation on selected metabolic responses in resting and exercising horses *Equine and Comparative Exercise Physiology* 2005; 3 (1): 19–27.
140. Pagan JD, Jackson SG, Duren SE. The Effect of Chromium Supplementetion on Metabolic Response to Exercises in Thoroughbred horses. Kentucky Equine Research, Inc. Versailles, Kentucky, USA. *Advances in Equine Nutrition* volume 1, Chapter 2: The Performance Horse <https://ker.com/library/advances-equine-nutrition/volume-i/>
141. Şahin K, Ertaş ON, Güler T, Çiftçi M. Düşük çevre sıcaklığında yetiştirilen yumurta tavuklarında rasyona katılan kromun verim ve ham besin maddelerinin sindirilme derecesi üzerine etkisi. *Türk J Vet Anim Sci* 2001; 25: 823-830.
142. Ulas M, Orhan C, Tuzcu M, et al. Anti-diabetic potential of chromium histidinate in diabetic retinopathy rats. *Bmc Complem Altern M* 2015; 15: 16.
143. Anderson RA. Chromium, glucose intolerance and diabetes. *J Am Coll Nutr* 1998; 17: 548-55.
144. Chen SH, Sun YP, Chen XS. Effect of jiangtangkan on blood glucose, sensitivity of insulin and blood viscosity in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi*. 1997; 17 (11): 666–668.
145. Ravina A, Slezak L, Rubal A, Mirsky N. Clinical use of the trace element chromium [III] in the treatment of diabetes mellitus. *J Trace Elem Exp Med* 1995; 8: 183–90.

146. Geyikli İ, Bayıl S. Chromium associates with insulin sensitivity. *Gaziantep tıp dergisi* 2008; 14: 59-63.
147. Hawley JA, Tipton KD, Millard-Stafford ML. Promoting training adaptations through nutritional interventions. *J Sports Sci* 2006; 24 (7), 709-721.
148. Graham TE, Adamo KB. Dietary carbohydrate and its effects on metabolism and substrate stores in sedentary and active individuals. *Can J Appl Physiol* 1999; 24 (5): 393-415.
149. Hultman, E, Bergström J, Roch-Norlund AE. Glycogen Storage in Human Skeletal Muscle. In: B. Pernow & B. Saltin (Eds.), *Muscle Metabolism During Exercise* 1971;11: 273-288.
150. Zhong L, Zhao L, Yang F, et al. Evaluation of anti-fatigue property of the extruded product of cereal grains mixed with *Cordyceps militaris* on mice. *J Int Soc Sports Nutr* 2017; 14: 15.
151. Westerblad H, Bruton JD, Katz A. Skeletal muscle: energy metabolism, fiber types, fatigue and adaptability. *Exp Cell Res* 2010; 316: 3093-3099.
152. Volek JS, Silvestre R, Kirwan JP, et al. Effects of chromium supplementation on glycogen synthesis after high-intensity exercise. *Med Sci Sports Exerc* 2006; 38: 2102-2109.
153. Shiau SY, Lin SF. Effect of supplemental dietary chromium and vanadium on the utilization of different carbohydrates in tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. *Aquaculture* 1993; 110: 321-330.
154. Ren JM, Semenkovich CF, Gulve EA, Gao J, Holloszfi JO. Exercise induces rapid increases in GLUT4 expression, glucose transport capacity, and insulin-stimulated glycogen storage in muscle. *J Biol Chem* 1994; 269: 14396-14401.
155. Sheng X, Zhang Y, Gong Z, Huang C, Zang YQ. Improved insulin resistance and lipid metabolism by cinnamon extract through activation of peroxisome proliferator-activated receptors. *PPAR Res* 2008; 2008: 581348.
156. Chen WC, Huang WC, Chiu CC, Chang YK, Huang CC. Whey protein improves exercise performance and biochemical profiles in trained mice. *Med Sci Sports Exerc* 2014; 46: 1517-1524.
157. Ahmetov II, Mozhayskaya IA, Flavell DM, et al. PPARalpha gene variation and physical performance in Russian athletes. *Eur J Appl Physiol* 2006; 97: 103-108.
158. Pala R, Genc E, Tuzcu M, et al. L-Carnitine supplementation increases expression of PPAR-γ and glucose transporters in skeletal muscle of chronically and acutely exercised rats. *Cell Mol Biol (Noisy le Grand)* 2018; 64: 1-6.
159. Grimaldi PA. Regulatory role of peroxisome proliferator-activated receptor delta (PPAR delta) in muscle metabolism. A new target for metabolic syndrome treatment? *Biochimie* 2005; 87: 5-8.
160. Tao L, Bei Y, Lin S, et al. Exercise training protects against acute myocardial infarction via improving myocardial energy metabolism and mitochondrial biogenesis. *Cell Physiol Biochem* 2015; 37: 162-175.
161. Chen G, Liu P, Pattar GR, et al. Chromium activates glucose transporter 4 trafficking and enhances insulin-stimulated glucose transport in 3T3-L1 adipocytes via a cholesterol-dependent mechanism. *Mol Endocrinol* 2006; 20 (4): 857-70.
162. Marty N, Dallaporta M, Thorens B. Brain glucose sensing, counterregulation, and energy homeostasis. *Physiology (Bethesda)* 2007; 22: 241-251.
163. Jain SK, Croad JL, Velusamy T, Rains JL, Bull R. Chromium dinicocysteinate supplementation can lower blood glucose, CRP, MCP-1, ICAM-1, creatinine, apparently mediated by elevated blood vitamin C and adiponectin and inhibition of NFκB, Akt, and Glut-2 in livers of Zucker diabetic fatty rats *Mol Nutr Food Res* 2010; 54 (9): 1371-1380.

164. Qiao W, Peng Z, Wang Z, Wei J, Zhou A. Chromium Improves Glucose Uptake and Metabolism Through Upregulating the mRNA Levels of IR, GLUT4, GS, and UCP3 in Skeletal Muscle Cells. *Biol Trace Elem Res* 2009; 131: 133–142.
165. Shen W, Hao J, Tian C, et al. A combination of nutriments improves mitochondrial biogenesis and function in skeletal muscle of type 2 diabetic Goto–Kakizaki rats. *PLoS One* 2008; 3(6): e2328



8. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Mehmet IRMAK

Doğum Yeri : SİVEREK

Doğum Tarihi : 1974

Yazışma Adresi : Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı 23119, Elazığ / Türkiye

Medeni Hali : Evli

Yabancı Dil : İngilizce

Telefon:

e-posta : mirmaksev@hotmail.com

EĞİTİM DURUMU

Mezuniyet Yılı	Derece	Kurum	Öğrenim Alanı
1995-2000	Y. Lisans	Harran Üniversitesi	Veteriner Hekimliği
2002-2005	Y. Lisans	Harran Üniversitesi	İç Hastalıkları
2014-2019	Doktora	Fırat Üniversitesi	Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları

DOKTORA

Doktora Tezi: Egzersiz Öncesi Ratlara Verilen Amilopektin Krom Kombinasyonunun Metabolik Profil Üzerine Etkisi

Doktora Danışmanı: Prof. Dr. Nurhan ŞAHİN

Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi

ULUSLARARASI HAKEMLİ DERGİLERDEKİ (SCI & SSCI) YAYINLAR

1-Irmak M, Şahin N, Orhan C, Tuzcu M, Defo Deeh P.B., Yardım M, Hayırlı A, Komorowski J, Şahin K. Combination of amylopectin and chromium form improves energy storage and reduces muscle fatigue in rats during exhaustive exercise Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences 2019; 43: 44-53 doi:10.3906/vet-1810-24

2-Kayri V, Orhan C, Tuzcu M, Deeh Defo PB, Telceken H, **Irmak M**, Sahin N, Tastan H, Komorowski JR, Sahin K. Combination of Soy Protein, Amylopectin, and Chromium Stimulates Muscle Protein Synthesis by Regulation of Ubiquitin-Proteasome Proteolysis Pathway after Exercise. Biol Trace Elem Res. 2018 Oct 6. doi: 10.1007/s12011-018-1539-z

BİLDİRİ, POSTER ve SUNULAR

1- Şahin T, Gürgöze S.Y., Çamkerten İ, Yüksel N, Irmak M. Besi Sığırlarında Transportun Eritrosit Glutasyon Peroksidaz aktivitesi, plazma lipid peroksidasyon konsantrasyonları ve Bazı mineral madde düzeyleri üzerine etkileri. VII. Ulusal Veteriner İç Hastalıkları Kongresi (Uluslararası Katılımlı). 01–04.Eylül. 2007, ANTALYA

KURSLAR VE SERTİFİKALAR

- 1- Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası, Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 2017.
- 2- TÜBA-Gıda, Beslenme ve Kanserin Önlenmesi Sempozyumu 23 Mayıs 2015
Elazığ
- 3- TÜBA-Gıda Gıda Güvenliği Sempozyumu 12-14 Ekim 2017 Malatya
- 4-Ulusal Kümes Hayvanları Kongresi (Uluslar Arası Katılımlı) 9-11 Ekim 2014
ELAZIĞ
- 5- Sığırlarda Recto-Vaginal Metod İle Suni Tohumlama Sertifikası 15-26 Eylül
2003 T.C. TARIM VE KÖYİŞLERİ BAKANLIĞI
- 6-Sığır ve Atlarda Reprodüktif Ultrasonografi Sertifikası 21-23 Aralık 2006
- 7-Brusellozis Uygulamalı Eğitim Toplantısı Katılım Belgesi 11-12 Kasım 2005
T.C. Sağlık Bakanlığı, Harran Üniversitesi, KLİMİK Derneği, Veteriner
Hekimleri Mikrobiyoloji Derneği
- 8-Sığırların Solunum Sistemi Hastalıkları Sempozyumu katılım belgesi 14-16
Nisan 2006 BURSA
- 9-Sığırlarda Topallık ve Ayak Hastalıkları Sempozyumu Katılım Belgesi 26-28
Nisan 2013 BURSA
- 10-100 duyarlı günde sürü sağlık yönetimi toplantısı (katılımcı) ANTALYA
- 11-Akredite Veteriner Hekim Sertifikası T.C. Tarım Ve Köyişleri Bakanlığı
- 12- Ruminant Sürü Sağlığı Eğitimi UTRECHT Üniversitesi&Vilsan Academy 29
Kasım-5 Aralık 2015 Utrecht HOLLANDA