

FERAYE ESEN GÜRSEL

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

DOKTORA TEZİ

İSTANBUL-2007

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

DOKTORA TEZİ

**ÇİNKO VE KROM DÜZEYLERİ FARKLI YEMLERLE
BESLEMENİN SIÇANLARDA PLAZMA TBARS, SOD, GSH-PX,
KATALAZ, AST, İNSÜLİN VE GLUKOZ DÜZEYLERİNE
ETKİSİ**

FERAYE ESEN GÜRSEL

**DANIŞMAN
PROF. DR. SÜLEYMAN KORKUT TEKELİ**

**İ.Ü. VETERİNER FAKÜLTESİ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

İSTANBUL-2007

TEZ ONAYI

Aşağıda tanıtımı yapılan tez, jüri tarafından başarılı bulunarak Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

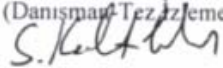
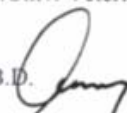
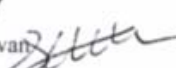

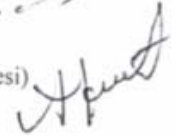
23 / 10 / 2007


Prof. Dr. Emine Kökoğlu
Enstitü Müdürü

Kurum : İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Program Adı : Veteriner Biyokimya
Programın seviyesi : Yüksek Lisans Doktora
Anabilim Dalı : Biyokimya
Tez Sahibi : Arş. Gör. Feraye Esen Gürsel
Tez Başlığı : Çinko ve krom düzeyleri farklı yemlerle beslemenin sığırcılarda plazma TBARS, SOD, GSH-Px, Katalaz, AST, İnsülin ve Glikoz düzeylerine etkisi
Sınav Yeri : İ.Ü. Veteriner Fakültesi Biyokimya A.B.D.
Sınav Tarihi : 10 / 10 / 2007

Tez Sınav Jürisi

Ünvanı Adı Soyadı Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı

1. Prof. Dr. Süleyman Korkut Tekeli (Danışman Tez İzleme Komitesi Üyesi) İst. Üniv. Veteriner Fakültesi Biyokimya A.B.D. 
2. Prof. Dr. Gülhan Türkay Hoşturk İst. Üniv. Veteriner Fakültesi Biyokimya A.B.D. 
3. Doç. Dr. Tanay Bilal İst. Üniv. (Tez İzleme Komitesi Üyesi) Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme Beslenme Hastalıkları A.B.D. 
4. Doç. Dr. Fatma Uyanık Erciyes Üniv. Veteriner Fakültesi Biyokimya A.B.D. 
5. Doç. Dr. Ayşen Altın İst. Üniv. (Prof. Dr. Ahmet Mengi'nin yerine yedek jüri üyesi) Veteriner Fakültesi Biyokimya A.B.D. 

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarımı ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Feraye ESEN GÜRSEL

İTHAF

Her zaman yanımda olan Aileme ithaf ediyorum

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam sırasında bilimsel destek ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen danışmanım Prof. Dr. Süleyman K. TEKELİ' ye,

Bilimsel katkılarından dolayı tez izleme komitesi üyelerim Prof. Dr. Ahmet MENGİ ve Doç. Dr. Tanay BİLAL' e,

Tezimin deneysel aşaması ve yazımı sırasında yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Kemal Ö. ÖZTABAK, Araş. Gör. Dr. Hasret DEMİRCAN YARDİBİ, Araş. Gör. Atila ATEŞ ve Araş. Gör. İraz AKIŞ'a ,

Anabilim Dalımızda bulunan diğer öğretim üyeleri Prof. Dr. Gülhan TÜRKAY HOŞTÜRK, Doç. Dr. Ayşen ALTINER, Doç. Dr. Nezir Y. TOKER ve çalışma arkadaşım Melahat BAKAN' a,

Hayatımın tüm aşamalarında olduğu gibi tezim süresince bana desteklerini ve sabırlarını esirgemeyen annem Fügen ESEN, babam Korkut ESEN, eşim Necmi GÜRSEL ve canım oğlum Deniz' e teşekkür ederim

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından T-460/25062004 no' lu proje olarak desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.
BEYAN.....	İİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	İX
ŞEKİLLER LİSTESİ	X
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİ
ÖZET	Xİİİ
ABSTRACT.....	XİV
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Çinko.....	2
2.1.1. Çinkonun Kimyasal Özellikleri ve Organizmadaki Dağılımı.....	2
2.1.2. Çinko Metabolizması	3
2.1.3. Çinkonun Fonksiyonları.....	5
2.1.3.1. Çinkonun Enzimler ile olan İlişkisi.....	5
2.1.3.2. Çinkonun İmmun Yanıt Üzerindeki Etkileri.....	7
2.1.3.3. Çinkonun Büyüme ve İskelet Gelişimi Üzerindeki Etkileri	7
2.1.3.4. Çinkonun Glukoz ve İnsülin ile İlişkisi	8
2.1.3.5. Çinkonun Antioksidan Etkisi	8
2.1.4. Çinko Eksikliği	9
2.1.5. Çinko Fazlalığı.....	11
2.2. Krom	12
2.2.1. Kromun Kimyasal Özellikleri ve Organizmadaki Dağılımı	12
2.2.2. Krom Metabolizması.....	13
2.2.3. Kromun Fonksiyonları	15
2.2.3.1. Krom ile İnsülin Arasındaki İlişki.....	15
2.2.3.2. Krom ve Lipid Metabolizması Arasındaki İlişki	16
2.2.3.3. Krom ile Karkas Kalitesi Arasındaki İlişki	17

2.2.3.4. Krom ile İmmun Sistem Arasındaki İlişki	18
2.2.3.5. Krom ile Protein, DNA ve RNA Arasındaki İlişki	18
2.2.4. Krom Eksikliği	19
2.2.5. Krom Fazlalığı	20
2.3. Serbest Radikaller	20
2.3.1. Canlı Organizmada Meydana Gelen Serbest Radikaller.....	21
2.3.2. Serbest Radikallere Karşı Savunma Sistemleri.....	22
2.3.2.1. Enzimatik Antioksidanlar.....	24
2.3.2.2. Enzim Olmayan Antioksidanlar.....	26
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	32
3.1. Hayvan Materyali.....	32
3.2. Kullanılan Cihazlar	32
3.3. Grupların Oluşturulması ve Beslenmesi	32
3.4. Örneklerin Toplanması	35
3.5. Biyokimyasal Analizler	35
3.5.1. Plazmada Malondialdehit (Tiyobarbitürik asit reaktif partikülleri= TBARS) Düzeyi Ölçümü	35
3.5.2. Plazmada Katalaz (CAT) Düzeyi Ölçümü.....	36
3.5.3. Plazmada Superoksit Dismutaz (SOD) Düzeyi Ölçümü.....	37
3.5.4. Plazmada Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px) Düzeyi Ölçümü.....	39
3.5.5. Plazmada Glukoz Düzeyi Ölçümü:.....	40
3.5.6. Serum İnsülin Ölçümü:.....	41
3.5.7. Plazmada Aspartat Aminotransferaz (AST) Düzeyi Ölçümü:.....	42
3.6. Sonuçların Değerlendirilmesinde Kullanılan İstatistiki Yöntem.....	43
4. BULGULAR.....	44
4.1. Plazma Malondialdehit Düzeyleri.....	44
4.2. Plazma Katalaz Düzeyleri.....	46
4.3. Plazma Süperoksit Dismutaz Düzeyleri.....	48
4.4. Plazma Glutatyon Peroksidaz Düzeyleri	50
4.5. Plazma Glukoz Düzeyleri	52
4.6. Serum İnsülin Düzeyleri	54
4.7. Plazmada Aspartat Aminotransferaz Düzeyleri.....	56
5. TARTIŞMA.....	58

5.1. Çinkonun Antioksidan Mekanizmayla İlişkisi.....	58
5.2. Çinkonun AST ile İlişkisi	60
5.3. Çinkonun Glukoz ve İnsülin ile ilişkisi	61
5.4. Kromun Antioksidan Mekanizmayla İlişkisi	62
5.5. Kromun AST ile İlişkisi.....	64
5.6. Kromun Glukoz ve İnsülin ile İlişkisi.....	64
KAYNAKLAR	67
ETİK KURUL KARARI	76
ÖZGEÇMİŞ	77

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Yapısında çinko bulunduran metalloenzimler ve yer aldıkları reaksiyonlar ..6	
Tablo 3-1: Temel yemin bileşimi, besin maddeleri ve enerji içeriği	33
Tablo 3-2: Araştırmada oluşturulan gruplar ve yemlerde bulunan çinko ve krom miktarları.....	34
Tablo 3-3: TBARS ölçümünde uygulanan işlem.....	36
Tablo 3-4: CAT ölçümünde uygulanan işlem.....	37
Tablo 3-5: SOD ölçümünde uygulanan işlem.....	39
Tablo 3-6: GSH-Px ölçümünde uygulanan işlem.....	40
Tablo 3-7: Glukoz ölçümünde uygulanan işlem.....	40
Tablo 3-8: AST ölçümünde uygulanan işlem.....	43
Tablo 4-1: Araştırma süresince kontrol ve deneme gruplarının TBARS(N mol/ml) değerlerinin karşılaştırılması (ort ± SH)	45
Tablo 4-2: Araştırma süresince kontrol ve deneme gruplarının Katalaz (U/ml) değerlerinin karşılaştırılması (ort ± SH)	47
Tablo 4-3: Araştırma süresince kontrol ve deneme gruplarının SOD (U/ml) değerlerinin karşılaştırılması (ort ± SH)	49
Tablo 4-4: Araştırma süresince kontrol ve deneme gruplarının GSH-Px (U/ l) değerlerinin karşılaştırılması (ort ± SH)	51
Tablo 4-5: Araştırma süresince kontrol ve deneme gruplarının Glukoz (mg/ dl) değerlerinin karşılaştırılması (ort ± SH)	53
Tablo 4-6: Araştırma süresince kontrol ve deneme gruplarının İnsülin (μ U / ml) değerlerinin karşılaştırılması (ort ± SH)	55
Tablo 4-7: Araştırma süresince kontrol ve deneme gruplarının AST (U/ l) değerlerinin karşılaştırılması (ort ± SH)	57

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Çinko metabolizması	5
Şekil 2-2: İnsülinin hekzamer yapısının merkezinde bulunan çinko iyonları	8
Şekil 2-3: Canlı organizmada Cr metabolizması	14
Şekil 2-4: Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanların canlı hücrelerinde buldukları yerler	23
Şekil 2-5: Askorbik asitin sentezi	27

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

ALA	:	α -Lipoik asit
AST	:	Aspartat aminotransferaz
ATP	:	Adenozin trifosfat
Ca	:	Kalsiyum
CAR	:	Karetonoid
CAT	:	Katalaz
Cr	:	Krom
Cu	:	Bakır
Da	:	Dalton
DNA	:	Deoksiribonükleik asit
FAD	:	Flavin adenin dinukleotid
g	:	Gram
GSH-Px:		Glutasyon peroksidaz
GTF	:	Glukoz tolerans faktör
H ₂ O ₂	:	Hidrojen peroksit
HOCl	:	Hipoklorik asit
Ig	:	İmmunoglobulin
LO [•]	:	Alkoksil radikali
LOO [•]	:	Peroksit radikali
LOOH	:	Lipid hidroperoksit
MDA	:	Malondialdehit
MEL	:	Melatonin
nm	:	Nanometre
NRC	:	Amerikan Ulusal Araştırma Konseyi
O ₂ ^{•-}	:	Süperoksit radikali
¹ O ₂	:	Singlet oksijen
OH [•]	:	Hidroksil radikali
ppb	:	Milyarda bir birim (parts per billion)
ppm	:	Milyonda bir birim (parts per million)
RIA	:	Radioimmunoassay
RNA	:	Ribonükleik asit

ROS	:	Reaktif oksijen partikülleri
SOD	:	Süperoksit dismutaz
TRX	:	Tiyoredoksin
Zn	:	Çinko
ZnCl ₂	:	Çinko klorür
ZnSO ₃	:	Çinko sülfid
ZnSO ₄	:	Çinko sülfat

ÖZET

Gürsel Esen F. Çinko ve krom düzeyleri farklı yemlerle beslemenin sıçanlarda plazma TBARS, Katalaz, SOD, GSH-Px, AST, İnsülin ve Glukoz düzeylerine etkisi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya ABD. Doktora Tezi. İstanbul, 2007

Bu çalışmada, çinko ve krom elementlerinin tek tek ve kombine olarak yetersiz ve yüksek dozlarda süreğen olarak alımı durumlarında organizmada karbonhidrat metabolizması, lipid peroksidasyon ve antioksidan enzimlerin düzeyleri üzerine etkileri incelenmiştir. Araştırma 84 gün sürmüş ve 84 adet Wistar albino sıçan kullanılmıştır. Çalışmada, yemlerine 100 ppm krom ve 80 ppm çinko düzeyleri ilave edilen veya yemlerinden krom veya çinkonun katılmadığı 6 adet deneme ve 1 adet kontrol grupları oluşturulmuştur. Deneme süresince 14 gün aralıklarla toplam 7 defa kan alınmıştır. Plazma Tiyobarbitürik asit reaktif partikülleri (TBARS), Süperoksit dismutaz (SOD), Glutasyon peroksidaz (GSH-Px), Aspartat aminotransferaz (AST) ve glukoz düzeyleri spektrofotometrik yöntemlerle, insülin düzeyi ise radioimmunoassay (RIA) yöntemiyle belirlenmiştir. Deneme sonunda, içeriğinde çinko katılmamış yemle beslenen hayvanların CAT, MDA, SOD, GSH-Px ve glukoz düzeyleri kontrol grubuna kıyasla yüksek, yemlerine 80 ppm çinko ilave edilen sıçanların MDA SOD düzeyleri ise kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur ($p \leq 0,05$). Yemlerine krom katılan hayvanların CAT, MDA, SOD, GSH-Px ve insülin düzeyleri kontrol grubuna kıyasla yüksek bulunmuştur ($p \leq 0,05$). Yemine çinko ve krom birlikte katılan hayvanların CAT düzeylerinde istatistiki açıdan anlamlı bir farklılık saptanmamasına karşın, MDA, SOD ve GSH-Px düzeyleri kontrol grubuna kıyasla yüksek bulunmuştur ($p \leq 0,05$). Sonuç olarak yapılan bu çalışmada, krom ile çinkonun hem insülin hem de buna bağlı olarak kan glukoz düzeyinin düzenlenmesinde önemli rolleri oldukları, krom fazlalığının lipid peroksidasyonunu tetiklediği, çinkonun ise bu konuda önemli bir rolünün olmadığı gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler : Çinko, krom, antioksidan enzim, lipid peroksidasyonu, glukoz

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından T-460/25062004 no'lu proje olarak desteklenmiştir.

ABSTRACT

Gürsel Esen F. The Effects of Feeding with Different Levels of Zinc and Chromium on Plasma TBARS, Catalase, SOD, GSH-Px, AST, Insulin and Glucose in rats. İstanbul University, Institute of Health Science, Biochemistry Department. Doctorate Thesis. İstanbul. 2007.

In this study, the effects of dietary chromium and/or zinc supplementation and deficiency on carbohydrate metabolism, lipid peroxidation and antioxidant enzymes were examined. Eighty four Wistar albino rats were used in this study. Rats were fed diets containing different levels of zinc (80 ppm) and chromium (100 ppm) for eighty four days. Blood samples were taken at the beginning of the study, following this every 14 days on 7 successive occasions. Plasma MDA, CAT, SOD, GSH-Px, glucose and AST were analysed by spectrophotometric methods and serum insulin were analysed by RIA method. At the end of the study, rats, which were fed a diet not supplemented with zinc, had higher levels of plasma MDA, CAT, SOD, GSH-Px and glucose level than the control group. The rats, fed a diet supplemented with zinc, had lower plasma MDA and SOD levels than the control group ($p \leq 0,05$). Supplementation with chromium resulted in an increase in plasma MDA, CAT, SOD, GSH-Px and serum insulin levels as compared with the control group ($p \leq 0,05$). Rats that were fed a diet supplemented with both chromium and zinc, had higher MDA, SOD and GSH-Px levels but CAT levels of the same group were not found statistically important. Results of this study indicated that in spite of the effects of zinc and chromium on regulating the insulin and glucose levels, chromium supplementation stimulates lipid peroxidation and zinc didn't have any major effects.

Key Words: Zinc, chromium, antioxidant enzymes, lipid peroxidation, glucose

This study was supported by The Research Support Unit of İstanbul University as the project no T-460/25062004

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Mikro elementlerin günlük olarak çok az miktarlarda tüketimleri olsa da, canlıların enerji metabolizması ve çalışma performansının optimum düzeyde olması için gerekli oldukları bilinmektedir (22).

Hayvan ve insanlar için esansiyel bir iz element olan çinko (Zn^{+2}), bir çok enzimin yapısına katılarak veya aktivatörü olmak suretiyle, kemik ve diş mineralizasyonu, normal bağışıklık gelişimi, yara iyileşmesi, insülinin etkinliği ve kan glukoz konsantrasyonunun normal düzeyde tutulması, seksüel olgunluk, üreme ve büyüme gibi pek çok fizyolojik fonksiyonda rol oynamaktadır (19).

Üç değerlikli krom (Cr^{+3}), düşük miktarlarda olmak koşuluyla, rasyonla beraber alınması gereken esansiyel iz elementlerdendir. Bu elementin karbonhidrat, protein, lipid metabolizmalarını etkilediği bildirilmiştir. Ayrıca, insülinin etkisini kuvvetlendirmek ve normal glukoz metabolizması için de gereklidir (19, 22). Kromun çeşitli hayvan türlerinde performansı, karkas özelliklerini ve immunitiyi olumlu etkilediği çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (36, 39) .

Bu çalışmada, çinko ve krom elementlerinin hem tek tek hem de kombine yetersiz ve yüksek dozlarda süregelen olarak alımı durumlarında organizmada karbonhidrat metabolizması, lipid peroksidasyonu ve antioksidan enzimlerin düzeyleri üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca incelenmiş olan bu iki iz elementin yetersiz veya yüksek tutarlarda alımlarının karbonhidrat metabolizması ve antioksidan enzimler üzerlerine etkilerini gösteren temel bir kaynak olacağı tahmin edilmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

Yüksek miktarlarda ihtiyaç duyulan ve canlı organizmalarda aynı oranlarda tüketilen makro elementlerin tersine çinko (Zn) ve krom (Cr) gibi mikro elementler canlılarda çok az miktarlarda (günde μg veya mg düzeylerinde) sindirilmektedirler. Makro elementler gün içinde canlılar için gerekli olan enerji kaynağını, suyu ve yapısal proteini sağlarlar. Çinko ve krom ise rasyonda ve canlı organizmasında çok az miktarlarda bulunmalarına karşın, tüm vücut metabolizmasını düzenlemek için önemli rollere sahiptirler (81).

Canlı organizması için gerekli olan çinko ve krom fazlalığında, zehirlenmeler ve metabolik bozukluklara neden olabilmektedirler. Bu elementlerin neden oldukları bozuklukların sebepleri şu şekilde sıralanabilir (122):

- a) Endüstriyel atıkların sulara karışması
- b) Maden ocakları ve yataklarının çevresindeki toprak, su ve bitkilerin ağır metallere kontamine olması,
- c) Tedavide yüksek dozda çinko tuzlarının kullanımı, bu metallere yapılmış kaplardan beslenme veya kafeslerde barınma ile yüksek dozların organizmaya alınması.

2.1. Çinko

2.1.1. Çinkonun Kimyasal Özellikleri ve Organizmadaki Dağılımı

Periyodik tablonun 30. elementi olan çinkonun kütlesi $65,409 \text{ g/mol}$ ' dir. Çinko organizmada demirden sonra en çok bulunan iz elementtir (146).

Çinko atomu, tamamlanmamış bir d alt tabakasına ve iki ilave s elektronuna sahiptir. Kimyasal olarak +2 oksidasyon durumundadır ve biyolojik reaksiyonlarda okside veya redükte olmamaktadır (134, 146).

Çinkonun sıçanlarda normal büyüme ve sağlık için gerekli olduğu 1934 senesinde kesin olarak kanıtlanmıştır (19). 1955 senesinde domuz rasyonlarında çinko yetersizliğinin saptanmasıyla bu elemente olan ilgi artmıştır (142, Kaynak:64 p.101). Daha sonra 1958 senesinde kanatlılarda, 1960'da sığır ve 1961'de insanlarda gıdasal yetersizliklerin saptanması, bu hayati öneme sahip elementle ilgili araştırmalara hız kazandırmıştır (68).

Hayvanların bakım koşullarına bağlı olarak, çinkoya olan ihtiyaç miktarları da değişebilir. Buna ilaveten rasyonda bulunabilecek yüksek miktardaki kadmiyum (Cd), demir (Fe), fosfor (P) ve kalay (Sn), çinkoya olan ihtiyacı arttırmaktadır (95).

Çevresel strese maruz kalan canlılarda serbest radikal üretimi artarken, serumdaki çinko ve krom gibi mineraller ile vitamin A, C ve E gibi antioksidanların düzeyleri düşmektedir. Yeme çinko ilave ederek çinko eksikliğinden ileri gelen lipid peroksidasyonunun inhibe edildiği saptanmıştır (136).

Biyokimya açısından çinkonun belki de en önemli özelliği, kompleks bileşikler oluşturmalarıdır. Çinko özellikle kurşun, bakır, kadmiyum ve demir gibi diğer metallerin sülfürleri ile ilişkilidir ve genellikle çinko sülfür ($ZnSO_3$) olarak bulunmaktadır (111).

Eritrositlerdeki çinko miktarı, plazmanın yaklaşık 10 katıdır. Çünkü eritrositler, çinko içeren karbonik anhidraz yönünden zengindirler (146).

2.1.2. Çinko Metabolizması

Tek mideli hayvanlarda çinko, ince barsaktan, özellikle duodenumdan emilmesine karşılık, ratların midesinden ve tavukların proventrikulusundan da sınırlı ölçüde emilim söz konusudur (85). Koyunlardaki çinko emilimi daha çok rumende gerçekleşir. Sığırlarda ise çinko, ince barsak ve abomasumdan emilmektedir (143).

Çinko emilimindeki ilk basamak, çinkonun barsak lumeninden mukoza hücrelerine transferidir. Çinkonun lümeninden geçişi muhtemelen şelat formunda olmaktadır (144).

Çinkonun emilim hızı, diyet bileşenlerine bağlıdır. Proteinden fakir diyet, fitat, $Ca+fitat$, selüloz, fosfor, demir, bakır, kadmiyum, krom içeren besinler çinkonun emilimini azaltmaktadır (146).

Özellikle yağlı bitki tohumları ve tahıllarda fitat+ inositol+ hekzafosfattan oluşan bir kompleks yüksek oranda bulunur. Bu kompleksin tek mideli hayvanlarda çinkonun emilim ve yararlılığını azalttığı öncelikle tavuklarda kanıtlanmış ve sonra ratlarla yapılan çalışmayla doğrulanmıştır. Tavuklar ve ratlarda gözlemlendiği üzere, diyetteki kalsiyum fazlalığı fitatın zararlı etkilerini arttırmaktadır. Fitatın etkisi, kendi düzeyine ve bunun sonucunda diyetteki fitat/çinko oranına bağlıdır. Çinko gerekli oranda alındığı halde molar fitat/çinko oranı 12/15'in üzerinde ise zararlıdır. Bu oran diyetteki kalsiyum tarafından etkilendiği için, çinko biyoyararlılığının saptanabilmesi

amacıyla, basit fitat/çinko oranı yerine (fitat x kalsiyum)/çinko oranı daha iyi sonuç vermektedir (19).

Tek mideli hayvanlarda, diyetle bulunan fitat, çinko ile kompleksler oluşturarak çinkonun biyolojik değerini azaltmaktadır. Ruminantlarda ise fitat+ çinko kompleksleri rumen mikroflorasının salgıladığı *fitaz* enzimi ile parçalanmakta ve çinko serbest kaldığı için kolayca emilmektedir (144)

En çok çalışılan ve belki de en güçlü antagonizm bakır ve çinko arasındadır. Barsak bölümlerindeki Cu/Zn oranı 50/1 e yükseldiği zaman çinko alımı azalmaktadır (19).

Kalsiyum, fosfor, demir ve kobalt barsaktan çinko alımını azaltmaktadırlar (60). Toksik elementler olan kadmiyum ve kurşun, çinkonun biyoyararlılığını azaltmak için beraber etkileşim içindedirler. Hindi ve tavuklarda da, diyetle alınan kadmiyumun çinko emilimini engellediği bildirilmiştir (19).

Çok sayıda düşük moleküler ağırlıklı bağlayıcı ligant, mukozal çinko alımını arttırmaktadır. Proteinden zengin diyet, sitrat, pikolinat, EDTA gibi şelat yapıcı maddelerin, sistein, histidin ve glutamik asit gibi amino asitlerin ve D vitamininin varlığında çinko emilimi artar (19, 146). Bunların yanısıra, çinko emilimdeki artış hayvanların çinkoya olan gereksinimi ile doğru orantılıdır (28).

Emilimi takiben plazmadaki çinko iki major fraksiyon arasında dağılır. Plazma çinkosunun yaklaşık 2/3'si gevşek bir şekilde albumine bağlanmakta, geri kalanın büyük bir bölümü ise sıkı bir şekilde α -2 makroglobuline bağlanmaktadır. Albumine bağlanan çinko kolayca dokulara geçebilmektedir (85). Ayrıca sistein ve histidin gibi plazmanın diğer komponentleri de bu taşıma işlemine katılmaktadır (113).

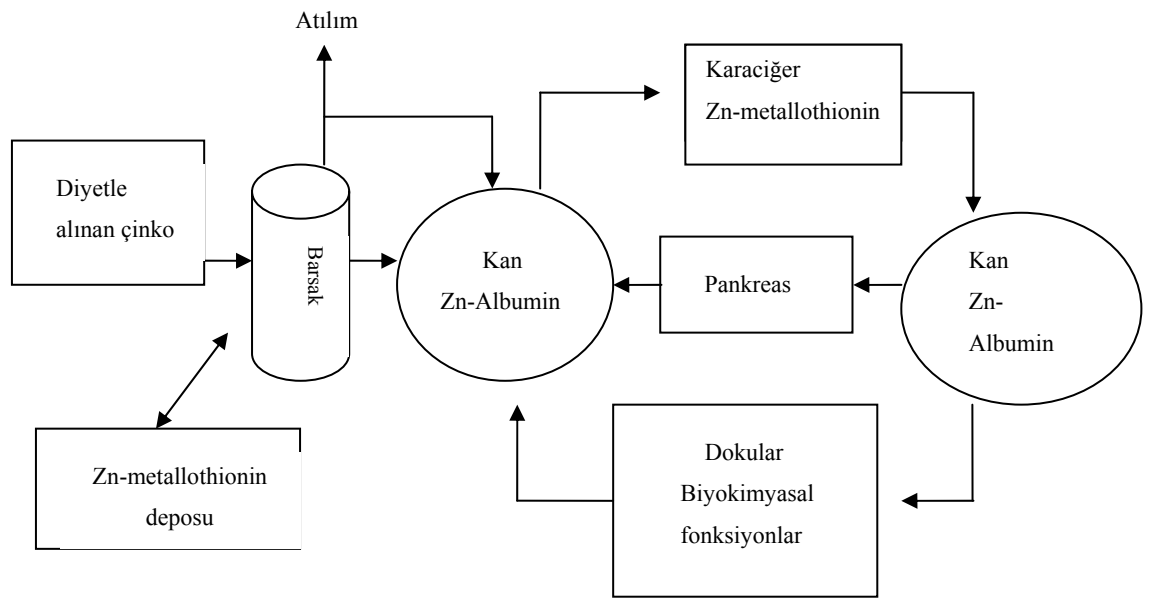
Mukoza hücrelerinde çinko transferi, karaciğer tarafından üretilen metal bağlayıcı bir protein olan metallothionein tarafından düzenlenir (66).

Düşük molekül ağırlığa sahip ve yüksek oranda metal ve sistein içeren ancak aromatik aminoasit içermeyen Metallothioneinler, hayvanlar, bitkiler, mantar ve siyanobakterilerde bulunan proteinlerdir (138). Metallothionein sentezini ise rasyon ve plazmadaki çinko miktarı belirlemektedir (38).

Plazmada bulunan çinkonun büyük bölümü karaciğere geçmekte (şekil 2.1) ve hepatik metallothioneine bağlanarak karaciğerde bir havuz oluşturmaktadır veya

biyolojik ve biyokimyasal fonksiyonları yapmak üzere canlı organizmaya dağılmaktadır (103).

Genel olarak saç, yün, kemik, kas, erkek cinsiyet organları, tükürük bezleri, karaciğer, dalak, böbrek, pankreas ve timus çinko yönünden zengindir (143). Ratlarda ise çinko en hızlı şekilde pankreas ve prostatın dorsolateralinde birikmektedir. Bu dokular ile daha yavaş metabolize olan kas ve eritrositlerdeki çinko, farklı değişim oranlarında kompartmanların bulunduğu bir “yumuşak doku çinko-havuzu” oluşturmaktadır (146).



Şekil 2-1: Çinko metabolizması (113).

Barsak lümenine endojen çinko sekresyonu da mevcuttur. Endojen çinkonun kaynağı, deskuamoz hücreler ile pankreas, karaciğer ve barsak salgılarıdır. Barsakta bulunan çinko ister besinlerle gelsin isterse endojen kaynaklı olsun, aynı homeostatik denge içinde bulunmaktadır. Çinko barsağın alt bölümünden tekrar geri emilebilmekte ya da dışkı ile atılmaktadır. Başlıca atılım yolu dışkı olan çinko, daha az miktarda idrarla da atılmaktadır. Dışkıdaki çinko miktarı, çinko alımındaki artışa bağlı olarak artarken, idrarla atılan çinko miktarında değişiklik şekillenmemektedir (144).

2.1.3. Çinkonun Fonksiyonları

2.1.3.1. Çinkonun Enzimler ile olan İlişkisi

Bugün 300’ den fazla çinko içeren protein molekülü bilinmektedir. Çinko hem enzim moleküllerinin bir parçası, hem de aktivatörü olarak enzimlerle ilişkilidir (11,

113, 146). Yapısında çinko bulunduran bazı metalloenzimler ve yer aldıkları reaksiyonlar tablo 2.1 de gösterilmiştir (19).

Tablo 2-1: Yapısında çinko bulunduran metalloenzimler ve yer aldıkları reaksiyonlar (118).

Enzim İsmi	Görev Aldığı Reaksiyon
Karbonik anhidraz	CO ₂ ve HCO ₃ metabolizması
Timidin kinaz	Nükleik asit ve protein sentezi
DNA polimeraz	Nükleik asit ve protein sentezi
RNA polimeraz	Nükleik asit ve protein sentezi
Delta amino levunilikasit dehidrataz	Porfirin sentezi
Glutamat dehidrojenaz	Amino asit deaminasyonu ve üre siklusu
Ornitin transkarbamilaz	Amino asit deaminasyonu ve üre siklusu
Gliseraldehit-3-fosfat dehidrojenaz	Glikoliz ve glukoneogenez
Laktat dehidrojenaz	Glikoliz
Alkol ve retinol dehidrojenaz	Alkol-retinaldehit dönüşümü
Karboksipeptidaz	Protein sindirimi, folat absorpsiyonu
Aminopeptidaz	Protein sindirimi, folat absorpsiyonu
Süperoksit dismutaz	Süperoksitlerin O ₂ ve H ₂ O ₂ 'e dönüşümü

Çinkonun katalitik fonksiyonu karbonik anhidraz enzimi ile kanıtlanmıştır. Karbonik anhidraz, karbondioksitin dönüşümlü hidrasyonunu katalizler. Karbonik anhidrazdaki çinko iyonu katalitik reaksiyonun ilk basamağında görev almaktadır. Temel olarak, çinko elektron alıcı olarak görev yapar ve H₂O molekülüne bağlanır. Enzimin nötral imidazol ligandları pH 7'de H₂O' nun OH⁻ e iyonizasyonunu sağlayarak, Zn(H₂O) kompleksi maksimum asiditeye ulaşır. Sonuç olarak, son ürün HCO₃⁻ şekillenir. Çinko taşıyan diğer metalloenzimlerde de bu olay aynı şekilde gerçekleşmektedir (28, 66).

Çinko, karbonhidrat ve protein metabolizmaları, DNA ve RNA sentezleri, hücre bölünmesi ve gen ekspresyonu gibi birçok metabolik faaliyette de gereklidir . Sıkı

bağlanmış durumdaki çinko, DNA, RNA ve ribozomların yapılarını kararlı hale getirmektedir (145).

Çinko-ATP kompleksi, pridoksal-5-fosfat, FAD, biyolojik amin sentezleri ve monoamin oksidaz metabolizması için gerekli olan koenzimler için gereklidir (138).

2.1.3.2. Çinkonun İmmun Yanıt Üzerindeki Etkileri

Çinko, bağışıklığı bir çok yönden etkilemektedir. Spesifik antikorların şekillenmesi için gereklidir. Bu nedenle çinko immün yeteneğin gelişmesinde, immün sistemin düzenlenmesinde ve mikroorganizmalara karşı dirençte çok önemli rol oynamaktadır (38, 145).

Çinko, hücrelere taşınırken bağlandığı protein çeşitlerinden biri olan α -2 makroglobulinin yapısını değiştirip sitokinler ve proteazlar ile etkileşimlerini arttırabilmektedir. Bu özelliği ile bağışıklık sistemini dolaylı olarak etkilemiş olur (130).

Çinko, hücrel immün sistemin normal fonksiyonları için gerekli bir hormon olan ve timustan salgılanan timulinin aktivitesi için de gereklidir (130, 146).

2.1.3.3. Çinkonun Büyüme ve İskelet Gelişimi Üzerindeki Etkileri

Çinko, somatomedin-c, osteokalsin, testosteron, tiroid hormonları ve insülin gibi kemiklerin büyümesi ile ilişkili önemli hormonlarla etkileşim içindedir (22, 113).

DNA sentezinde rol oynayan çinko, normal büyüme ve gelişim için esansiyeldir (22, 112). Bu element hücre replikasyonu ile kıkırdak ve kemik gelişimi için de gereklidir (14).

Çinko, insülin-benzeri büyüme faktörü-I' in aktivitesini etkileyerek büyüme olayına aracılık yapmaktadır (113).

Hipofiz bezi diğer organlara göre daha yüksek konsantrasyonda çinko içermektedir ve çinko hipofiz bezinin hormonal fonksiyonları için gereklidir. Çinko eksikliğinde büyüme hormonunun hipofiz bezinden salgılanması ve dolaşımdaki miktarı azalmaktadır (146).

Çinko, kemik hücrelerindeki DNA sentezini uyararak vitamin D' nin etkisini arttırmaktadır (26). Salgueiro ve ark.'nın (113) yaptığı çalışmada büyümekte olan hayvanlarda, diğer organlara oranla kemiklerin daha fazla çinko içerdikleri

bulunmuştur. Favier'in (47) yaptığı çalışmada ise erişkin hayvanların kemiklerinde gençlerinkine oranla daha az çinko saptanmıştır. Bu araştırmalar göstermektedir ki, hayvanların hızlı büyüme ve gelişme devrelerinde kemiklerin gelişimi için çinkonun önemi çok büyüktür (47, 113) .

2.1.3.4. Çinkonun Glukoz ve İnsülin ile İlişkisi

Çinko ve glukoz metabolizması arasında bir ilişki olduğu bilinmektedir. Çinko insülinin hekzamer yapısının merkezinde bulunmaktadır (şekil 2.2) ve insülin sentezinde de rol oynamaktadır (34, 71).

Chausmer (34) insülinin sentezi, saklanması ve sekresyonunda çinkonun çok önemli rol oynadığını ve aynı zamanda hekzamerik yapısının bütünlüğü için de gerekli olduğunu bildirmiştir.



Şekil 2-2: İnsülinin hekzamer yapısının merkezinde bulunan çinko iyonları (63)

Tüm bu özelliklerinden dolayı çinko hücreyi insülinle beraber terketmektedir. Hücre insülini tekrar üretebilir fakat idrarla çok yüksek miktarda çinko atılımı olduğu için hücreden çıkan çinko miktarının geri dönüşümü olmamaktadır. Çinko miktarındaki bu azalmadan dolayı insülin sentezi azalmakta ve sonuçta diyabet hastalığı ve komplikasyonları gelişmektedir (34).

2.1.3.5. Çinkonun Antioksidan Etkisi

Çinkonun, biyolojik yapıların serbest radikaller tarafından zarar görmesini engellemek için önemli rolleri bulunmaktadır (22, 69, 138, 148):

a) Serbest radikallerin ortadan kaldırılmasında görev yapan sülfidrillerden zengin metallothioninlerin sentezini indükler.

b) Önemli antioksidan enzimlerden birisi olan Süperoksid dismutazın (SOD) bir bileşenidir.

c) Tiyoller için koruyucu bir ajandır.

d) Demir, hidrojen peroksitten yüksek reaktiviteye sahip OH⁻ radikallerinin oluşumu ve lipid peroksidlerin peroksil ile alkoksil radikallerine dekompoze olmasını katalizleyen redoks-aktif bir metaldir. Redoks-stabil olan çinko, lipidler, proteinler ve DNA üzerindeki demir ile bakır bağlanma bölgelerini işgal ederek serbest radikallerin oluşumunda demir ve bakır ile kimyasal gruplar arasındaki etkileşimi engellemektedir. Çinko bu özelliği ile direkt antioksidan etki yapmaktadır.

Çinkonun en önemli fonksiyonlarından biri de, antioksidan savunma sisteminin bir parçası olmasıdır. Çinko eksikliği sırasında, serbest radikaller hücre membranında oksidatif hasar meydana getirmektedirler. Böylece antioksidan maddeler ve enzimlerin miktarları azalmaktadır (69,107).

Çinko eksikliği görülen hayvanlarda, E vitamini düzeyinin azalması da, çinko ile E vitaminin etkileşim içinde olduğunu göstermektedir. Buradan yola çıkılarak çinkonun da E vitamini gibi antioksidan özelliğe sahip olduğu düşünülmektedir (69).

2.1.4. Çinko Eksikliği

Birçok hayvan yeminde çinkonun biyoyararlılığını azaltan faktörlerin bulunması veya besinde düşük miktarda çinko bulunmasından dolayı çoğu hayvan yemine çinko ilavesine gerek duyulmaktadır. Evcil hayvanlar için diyetle ilave edilen çinkonun kritik önemi, 1955 senesinde yetersiz düzeyde çinko alan domuzlarda parakeratosis görülmesi ile anlaşılmıştır (142, Kaynak:64 p.101). Fitat içeren bitki proteinleri ile beraber yüksek kalsiyum düzeyi ile beslemenin besinsel çinko biyoyararlılığını azalttığı ve bu elementin eksikliğinin şekillenmesine neden olduğu görülmüştür. Sonrasında çinkonun tavuklarda normal büyüme ve gelişim için gerekli olduğu kanıtlanmıştır (19).

Hafif çinko yetersizliğinin erken belirtileri; yem alımı, yemden yararlanma, büyüme, üreme ve süt üretiminde azalma ile enfeksiyon ve strese karşı direncin azalmasıdır (15).

Hayvanlar ve insanlarda çinko eksikliğinin genel belirtileri büyümede yavaşlama, iskelet yapısında bozulma, seksüel gelişimin gecikmesi, alopesi, dermatit,

anormal tüylenme ve hem dişi hem de erkeklerde üreme performansının zayıflamasıdır (19).

Çinko eksikliğinin patolojik semptomları, eksikliğin şiddeti ve süresi ile birlikte hayvanın yaşı, cinsiyeti ve çevre şartlarına bağlıdır (95).

Çinko gen ekspresyonu, protein ve nükleik asit sentezinde önemli rol oynamaktadır. Tüm bu etkilerinden dolayı, büyüme döneminde çinko yetersizliği son derece teratojenik etki göstermektedir (144).

Çinko yetersizliğinde, çinko içeren enzim aktivitelerinde düşme görülmektedir. Bu nedenle alkalin fosfataz (E.C.3.1.3.1.), karbonik anhidraz (E.C.4.2.1.1.), laktat dehidrojenaz (E.C.1.1.1.27) ve ribonükleaz (E.C.3.1.) gibi enzimler tanıya yardımcı olarak kullanılmaktadır (14).

Çinko yetersizliği, rat ve sığırlarda glukoz metabolizmasının bozulmasına neden olmaktadır. Glukoz metabolizmasındaki bozulma, insülin salınımında azalma, glutatyonun insülin transhidrojenaz ile yıkımlanması ve periferik insülin direncinden ileri gelmektedir (68).

Meradaki koyunlarda hafif çinko yetersizliği büyüme geriliği ile karakterizedir. Erkeklerde çinko eksikliğine bağlı en önemli anormallik testiküler fonksiyon yetersizliğidir ki, bu hem spermatogenezi hem de leydig hücreleri tarafından yapılan testesteron sentezini etkilemektedir. Dişilerde, östrüsten doğum ve laktasyona kadar reproduktif olayların tüm aşamaları çinko yetersizliğinden etkilenmektedir (76).

Çinko yetersizliği olan kuzuların karaciğerinde alkol dehidrojenaz (E.C.1.1.1.1) aktivitesi azaldığı bildirilmektedir. Bu durumun bazı kuzularda görülen gece körlüğü ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (143).

Çinko yetersizliği tavuk, hindi ve diğer kanatlılarda yaygın olarak görülmektedir. Çinko eksik rasyonla beslenen tavukların yumurtalarından çıkan civcivlerde de adı geçen elementin noksanlığı daha sık görülmektedir. Tavuklarda çinko yetersizliği genellikle şiddetli seyretmemekle birlikte, hafif yetersizliklerinde dahi büyüme hızı, yemden yararlanma ve yumurta üretiminde düşüş olmakta ve bu hayvanlar yumurtlamaya daha geç başlamaktadırlar (28, Kaynak:144 p.63). Genç kanatlılarda uzun kemiklerde kısalma ve kalınlaşma, epifizel kıkırdaklar ve hücre bölünmesinde

azalma olmaktadır. Çinko yetersizliği kanatlı embriyosunun iskelet gelişiminde bozukluklara neden olduğu için kuluçka çıkım oranını düşürmektedir (19).

Atlarda çinko yetersizliği büyüme geriliği, ekstremitelerde deri lezyonları ve alopesiye neden olurken, kedilerde testis fonksiyonlarında bozulma, parakeratozis şekillenir ve köpeklerde ise karın boşluğu ve ekstremitelerde deri lezyonları, konjunktivitis, keratit ve büyüme geriliği görülmektedir (85).

Çinkonun hem hücre sel hem de sıvısal bağışıklıkta etkileri olduğu bildirilmiştir (31, 130). Farklı çinko bileşikleri ile yapılan çalışmalar göstermiştir ki, çinko eksikliği, hücre sel bağışıklık fonksiyonları, sitokin üretimi ve fagosit fonksiyonuna zarar vermektedir. Ayrıca aynı elementin eksikliği lenfosit çoğalması, lenfosit göçü, doğal öldürücü hücre (natural killer cell) aktivitesi ve interlökin-2 üretiminde de azalmalara neden olmaktadır (32, 145). Belirli antijenlere karşı oluşan primer ve sekonder yanıtlardaki azalmaya karşılık, hipogammaglobulinemi şekillenmektedir ve kan dolaşımında daha az miktarda Ig A, Ig G ve Ig M görülmektedir (32).

Çinko eksikliği olan bireylere çinko ilavesi, immun durumlarını pozitif duruma getirirse de, kalsiyum, demir, kadmiyum ve lityumun da çinko ile benzer bağlanma bölgeleri için yarıştıkları bilinmektedir (131, 145).

2.1.5. Çinko Fazlalığı

Çinko yer kabuğunda yaklaşık 70-130 ppm arasında bulunmaktadır. Normal toprak 10-300 ppm, ortalama 50 ppm çinko içermektedir. Çinko değerleri, kuru madde bazında kaba yem maddelerinde 17-60 ppm, yağlı tohum küspelerinde 50-70 ppm ve hayvansal protein kaynaklarında 90-100 ppm arasındadır. İçme suyu 5 ppm çinko içermekle birlikte, endüstriyel kirlilik hem su, hem de bitkilerdeki çinko miktarını arttırabilmektedir (85).

Çinko geniş bir güvenilirlik sınırına sahip olduğu için kısmen nontoksik bir element kabul edilmektedir (144). Çeşitli türlerin yemlerine 600 ppm'den daha az miktarda ilave edilen çinkonun, o hayvanların fizyolojisi üzerine ters bir etki yapmadığı saptanmıştır. Ayrıca tavukların yemlerinde 1200-1400 ppm'e kadar bulunan çinkoya yüksek tolerans gösterdikleri saptanmıştır (85, 145).

Otoyolların yakınlarındaki topraklar, çinko oksit içeren lastikler ve çinko ditiyofosfitli motor yağları ile kontamine olabilmektedir. Ayrıca rutubetli yemlerin

çinko içeren kaplarda bekletilmesi veya yeme fazla miktarda çinko içeren premikslerin katılması sonucu toksisite şekillenebilmektedir (52).

Ruminantlarda karakteristik çinko toksisite bulguları esas olarak epitelyal organlarda görülmektedir. Mide-barsak kanalı, böbrekler, karaciğer, pankreas ve akciğerler şiddetli olarak etkilenmektedirler (68).

Bir araştırmada, nikel verilerek hepatotoksitite oluşturulan sıçanlara suyla birlikte çinko verilmesi halinde, toksisiteden dolayı yükselmiş olan serum Aspartat aminotransferaz (AST) düzeylerinin düştüğü saptanmıştır (125). Buna karşılık Tekeli ve ark. (140), gavaj yolu ile 100, 500, 1000 ve 2000 ppm dozlarında çinko uygulanan sıçanlarda serum AST düzeylerini incelemiş ve uygulanan çinko düzeylerinin yükselmesine paralel olarak serum AST seviyelerinin de yükseldiğini ileri sürmüşlerdir. Bu çalışmaya paralel olarak, Bag ve ark. (17) da sıçanlarla yaptıkları çalışmada yeme çinko ilave edilmesine bağlı olarak serum AST düzeylerinin arttığını bildirmişlerdir.

Broylerde fazla çinko alımının, serum tiroksin (T₄), triiodotironin (T₃), total kolesterol ve yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) kolesterol düzeylerini düşürdüğü bildirilmiştir (85).

Yemle yüksek miktarda çinko alımının, *Cyprinion watsoni* ırkı balıklarda, plazma glukoz düzeyini düşürdüğü öne sürülmüştür (119).

Ratlarda ise yeme çinko ilavesinin glukoz toleransını geliştirerek serum glukoz düzeyini düşürdüğü saptanmıştır (141).

2.2. Krom

2.2.1. Kromun Kimyasal Özellikleri ve Organizmadaki Dağılımı

Periyodik tablonun 24. elementi olan kromun kütlesi 52.01 g / mol'dür. Krom -2 ile +6 arasında değişen oksidasyon durumlarında bulunabilmekle birlikte, en önemli stabil halleri 0 (elementel metal), +3 (trivalan) ve +6 (heksavalan)'dır. Bunların arasından da trivalan ve heksavalan bileşiklerin biyolojik açıdan önemli oldukları bilinmektedir (87, 148).

Altı değerlikli krom (Cr⁺⁶), güçlü bir oksitleyicidir. En önemli altı değerlikli krom iyonları, kromatlar (CrO₄⁻²) ve dikromatlar (CrO₇⁻²)'dir (87).

En stabil oksidasyon durumuna sahip olan üç değerlikli kromun, kimyasal özellikleri biyolojik sistemlerdeki fonksiyonlarının temelini oluşturmaktadır. Cr^{+2} ile Cr^{+3} ve Cr^{+3} ile Cr^{+6} arasındaki oksidasyon potansiyeli farkının çok büyük olması ve biyolojik sistemlerdeki oksidasyon basamağı arasında geçiş olmaması nedeniyle organizmada sadece Cr^{+3} fonksiyon göstermektedir (20, 87).

Trivalan krom, en yüksek oranda taze yemde ve içme suyunda bulunmaktadır. Ayrıca tahıllar, baharatlar, taze sebzeler, et, balık, bira ve bira mayası krom yönünden zengin olan diğer gıda maddeleridir (148).

Krom, nehir ve kuyu sularına göre deniz sularında daha düşük konsantrasyondadır (1 ppb' nin altında). Havadaki krom konsantrasyonunun $0.002 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ile $0.12 \mu\text{g}/\text{m}^3$ arasında değiştiği, ancak endüstriyel gelişmeye bağlı olarak havadaki krom oranının arttığı tespit edilmiştir (87).

Amerikan Ulusal Araştırma Konseyi (NRC), sığır, domuz ve kanatlılar için günlük alınması gereken krom miktarı konusunda kesin bilgilerin bulunmadığını ancak, hayvanların yemlerine krom ilavesinin, hayvanda mevcut bulunan krom miktarı, yem maddelerindeki kromun kullanılabilirliği ve çevresel stres faktörleri dikkate alınarak yapılması gerektiğini bildirmiştir (21) .

2.2.2. Krom Metabolizması

İnsanlarda ve hayvanlarda kromun emilim oranı % 1 ile % 2 arasında değişim göstermektedir. Diğer iz elementlerde olduğu gibi ince barsakta kromun emilimi, gıdayla alınan (ekzojen) faktörlerle intestinal (endojen) faktörlerin kimyasal etkileşimlerine bağlıdır. Amino asitler gibi bazı maddeler ince barsakta krom ile şelat oluşturarak, bu elementin barsağın alkali pH sında çökmesini engellemekte ve emilimini arttırmaktadırlar (96). Diğer küçük şelatör ajanlar da krom kompleksleri oluşturarak emilim sırasında değişik etkiler yapmaktadırlar. Fitatlar ve çinko, krom emilimini sıçanların barsaklarında önemli derecede azaltmaktadırlar. Fakat buna karşılık bitkiler, sebzeler ve yemlerde bol miktarda bulunan oksalatlar krom transportunu arttırmaktadırlar (24, 36, 96).

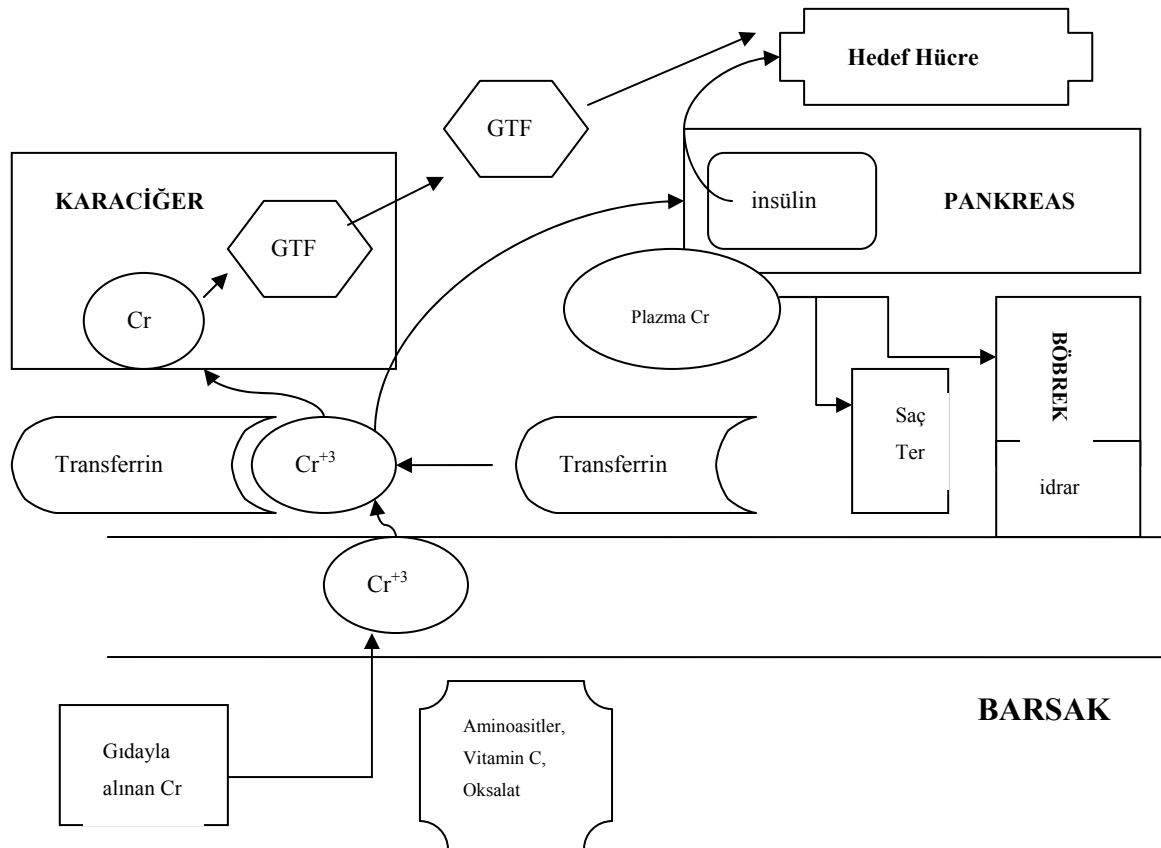
Emilen Cr^{+3} serbest halde veya transferrin ya da diğer plazma proteinlerine bağlı olarak veya Glukoz Tolerans Faktör (GTF) gibi kompleksler halinde dolaşıma katılmaktadırlar. Dolaşımdaki kromun en fazla kromoduline duyarlılık gösterdiği ve

bunu transferrin ve albuminin izlediği bildirilmiştir (74). Kromun kromodulinden transferrine veya transferrinden kromoduline nakil olabildiği bilinmektedir (153).

Kaynağı ne olursa olsun, metabolizmada mevcut olan Cr^{+3} , canlı organizmada geniş olarak dağılım göstermektedir. Cr^{+3} -protein kompleksi kemik iliği, akciğerler, lenf nodülleri, dalak, böbrek ve karaciğer tarafından alınmaktadır. En yüksek miktarda akciğerde bulunmaktadır (18).

Krom, GTF'nin yapısına katılarak insülinin hedef hücrelerdeki etkisini arttırmakta ve Cr'un pankreas üzerinde direk etkileri bulunmaktadır (şekil 2.3.). Bu özelliklerinden dolayı Cr, karbonhidrat metabolizması üzerine direk etki göstermektedir (24).

Kromun tüm kimyasal formları, kromatlar hariç, kandan hızla uzaklaştırılabilmektedir (89). Krom atılımı başlıca idrarla olmaktadır. Emilen miktarın yaklaşık % 10' u safra ile, daha az miktarları da saç, tırnak, süt ve tükürük ile atılmaktadır (148).



Şekil 2-3: Canlı organizmada Cr metabolizması (24)

2.2.3. Kromun Fonksiyonları

2.2.3.1. Krom ile İnsülin Arasındaki İlişki

Glaser ve ark. 1929 senesinde bira mayasının, insülinin hipoglisemik etkisini kuvvetlendiren bir etkiye sahip olduğunu saptamışlardır (54, Kaynak:78 p:219). 1958 senesinde yapılan başka bir çalışmada ise, Torula-mayasına dayalı bir rasyonla beslenen sıçanlarda glukoz intoleransına bağlı semptomlar görülmüş ve bu etkilerin bira-mayası bulunan rasyon verildiği zaman yok olması ile bira-mayasının destekleyici etkisi bir kez daha belirlenmiştir. Bu saptama GTF' nin izolasyonuna önderlik etmiştir (90, Kaynak:40 p: 675).

Memeliler için esansiyel olan Cr^{+3} , GTF' nin yapısına katılarak onun aktif bileşenini oluşturmaktadır. GTF' nin yapısında bulunan Cr insülinle etkileşime girerek sindirime uğrayan karbonhidratların organizmadaki dağılımını sağlamaktadır (89, 156). GTF' nin yapısı tam olarak belirlenememiş olmakla beraber, maksimum UV absorpsiyonunun 260 nm olduğu ve her krom atomu için 2 nikotinic asit molekülü ile sistein, glisin ve glutamik asit kalıntıları taşıyan bir bileşik olduğu kabul edilmiştir (89, 87, 149). GTF' nin biyolojik aktivitesinin krom ile nikotinic asidin oluşturduğu koordinasyon bileşiminden ileri geldiği ve yapısında bulunan diğer amino asitlerin bu kompleksin suda çözünürlüğünü sağladığı öne sürülmektedir (89).

Yamamoto ve ark. (153), “düşük molekül ağırlıklı krom bağlayan madde (LMWCr)” veya “kromodulin” olarak adlandırdıkları maddeyi izole etmişlerdir. Kromodulinin moleküler ağırlığı 1500 Da'dır ve GTF ile aynı maksimum UV absorpsiyon değerine (260 nm) sahiptir. Kromodulin oligopeptidi, glisin, sistein, glutamik asit ve aspartik asit olmak üzere 4 amino asit kalıntısından oluşmaktadır. Kromodulin' nin GTF' den farkı, içerdiği amino asitlerin kombinasyonu ve nikotinic asit içermemesidir (78). Bu oligopeptid GTF'ye çok benzeyen bir mekanizmayla glukoz oksidasyonunu etkilediğinden biyolojik fonksiyonunun da olduğu bildirilmiştir (33). Kromodulin, insülinin glukozu lipid ve CO_2 'e dönüştüren etkisini kuvvetlendirir ve bu etki kromodulinin içerdiği Cr' dan kaynaklanmaktadır (40).

Krom iyonları bağlanmadan önce Apo-kromodulin formunda bulunan kromodulin, insülin-duyarlı hücrelerin sitozolünde depo edilmektedir. Apo-

kromodulin'nin krom bağlama sabiti yüksek olduğu için, kanda krom taşıyıcı ajanı olarak bilinen Cr-transferrin kompleksinden kromu alabilmektedir (40). Apo-kromodulin'e, 4 adet krom iyonu bağlandığı zaman aktif form olan kromodulin şekillenmektedir. İnsülin reseptörüne bağlanan kromodulin, tirozin kinaz etkisini 8 kat artırdığı için insülinin etkisini arttırıcı etkiye sahiptir (78, 149).

Krom ve insülin arasındaki ilişkinin mekanizması tam olarak aydınlatılmamıştır. Ancak, biyolojik aktif form olan Cr^{+3} , insülinin dokulardaki reseptörlerine bağlanmasını, insülin reseptörlerinin sayısını ve insülin reseptör enzimlerinin aktivitesini artırarak insülinin hücre içine girişini sağladığı ve bu şekilde biyokimyasal fonksiyonlarını gösterdiği bildirilmektedir (104, 150).

Ayrıca krom, insülin reseptörünü inaktive etme özelliğine sahip olan fosfotirozin fosfataz enzimini inhibe ederek ve fosforilasyon için gerekli olan tirozin kinaz enziminin aktivitesini arttırarak, insülin reseptörlerinde fosforilasyonun ve dolayısıyla insülin duyarlılığının da artmasına yol açmaktadır. Dolaylı yolla da olsa, krom insülinin etkisini kuvvetlendirmektedir (9, 58).

Schachter ve ark. (115), doğal olarak diyabet şekillenmiş köpeklerle yaptıkları çalışmada ilk 3 ay sadece insülin vererek tedavi etmişler ve daha sonraki 3 ay insülin ile beraber giderek artan dozlarda krom da vermişlerdir. Çalışma sonucunda 20-60 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{gün}$ dozlarında krom verilmesinin insülinle tedavi edilen diyabetik köpeklere iyi veya kötü bir etki göstermediğini bildirmişlerdir.

2.2.3.2. Krom ve Lipid Metabolizması Arasındaki İlişki

Normal lipid metabolizmasının sağlanması için Cr gereklidir. Cr dokulardaki yağ oranının ve kan lipid düzeyinin regülasyonunu sağlamaktadır (88, 89, 96).

Schroeder ve ark. (117, Kaynak:96 p:547), çeşitli sebeplerden şekillenen kardiyovasküler hastalıklardan ölen insanların aortalarındaki krom miktarının az, fakat bunun yanı sıra sağlıklı ama kaza sonucu ölen insanların aortalarında daha fazla miktarda krom olduğunu saptayarak, dokularda düşük miktarda krom bulunmasının hiperlipidemi ve aterosklerotik hastalıklarla ilişkili olabileceğini öne sürmektedirler.

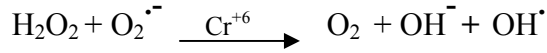
Bu çalışmaya paralel olarak Abraham ve ark. (1)'nin tavşanların yemlerine 10 g/kg kolesterol ilave ederek yaptıkları çalışmada, kolesterol ilaveli yemle beslenmiş olan tavşanların bir bölümünü uyutularak aortaları incelenmişlerdir. Uyutulmayan

tavşanlara ise kolesterol içermeyen standart yem verilmeye başlanmış ve günlük olarak çeşitli dozlarda (1, 5, 10 ve 20 µg) krom klorür (CrCl₃) enjeksiyonu yapılmıştır. Çalışmanın sonunda hayvanların aorta ağırlıkları, aortik kolesterol oranları ve aortadaki plaklı bölge yüzdesini enjeksiyon yapılmayan gruba oranla daha düşük bularak, aterosklerozun günlük krom enjeksiyonları ile sağaltılabileceğini bildirmişlerdir.

Yeme krom ilavesinin, domuzlarda ve tavşanlarda serum kolesterol ve trigliserit düzeylerini etkilememesine karşın, rat, koyun ve tavşanlarda serum trigliserit ve kolesterol düzeyini düşürdüğü belirtilmiştir (75).

Aguilar ve ark.'nın (4) yaptığı çalışmada Wistar albino sıçanlara 5 mcg/g yem oranında Cr⁺³ verilmesi ile kolesterol düzeylerinde belirgin oranda düşüş görülmüştür.

Cr'un kolesterol düşürücü etkisinin yanında, lipid peroksidasyonuna da yol açtığı bilinmektedir. Cr⁺⁶, un biyolojik sistemlerde Cr⁺⁵ ve Cr⁺⁴, e indirgenmesi sırasında, moleküler oksijenin süperoksit anyonu meydana getirdiği; dismutasyon reaksiyonu sonucu oluşan hidrojen peroksitin (H₂O₂) Haber-Weiss reaksiyonuyla hidroksil radikali oluşumuna yol açtığı gösterilmiştir (124, Kaynak: 25 p:64).



Bu şekilde oluşan hidroksil radikali tıpkı diğer radikaller gibi biyomembranlardaki çoklu doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girerek metilen grubundan (-CH₂-) bir hidrojen atomu kopmasına ve lipid peroksidasyonunun başlamasına neden olmaktadır (59).

Oluşan hidroksil radikali baz modifikasyonuna neden olmaktadır. Baz modifikasyonu guanin'nin 7,8-dihidro-8-hidroksil guanin'e dönüşümü demektir ve oluşan bu bileşik kanda tespit edilebildiğinden meydana gelen oksidatif hasarın derecesini saptamak için kullanılmaktadır (24).

2.2.3.3. Krom ile Karkas Kalitesi Arasındaki İlişki

Domuz, at ve kanatlılarla yapılan çalışmalar göstermiştir ki krom, et yapısını olumlu yönde etkileyerek ve yağ içeriğini azaltarak karkas kalitesini ve yemden yararlanmayı arttırmaktadır (80, 101, 103).

Lindemann ve ark. (80), yemlerine 100, 200, 500 ve 1000 ppb oranlarında krom ilave edilen domuzlarda, longissimus kas alanı ve karkas boyutunun arttığını ileri

sürmüşlerdir. Yine bu sonuçlara paralel olarak Page ve ark. (101)'nin domuzlarda yaptığı araştırma sonucunda, 100, 200, 400 ve 800 ppb oranında yeme ilave edilen kromun longissimus kas alanı ve kaslanma yüzdesinde artışa neden olduğu tespit edilmiştir.

2.2.3.4. Krom ile İmmun Sistem Arasındaki İlişki

Farklı kaynaklardan organizmaya alınan Cr'un hücrel ve sıvısal immün yanıtı arttırdığı bildirilmiştir (91).

Hayvanların süttten kesilmesi, satış, nakil, besiye adaptasyon, enfeksiyonlar, yorucu egzersiz ve travma gibi stres faktörleri, canlı performansına olduğu kadar immün sistemine de zarar vermektedir. Stres altındaki canlılarda bakır, potasyum, kalsiyum, magnezyum, fosfor, krom ve çinko gibi minerallerin mobilizasyonu ve atılımları artar Bu mineral maddelerin eksiklikleri ise hastalıklara karşı direncin düşmesine neden olmaktadır (91).

Hem doğuştan varolan hem de sonradan edinilen bağışıklık Cr⁺³ tarafından etkilenmektedir Üretim stresi bulunan hayvanlara Cr⁺³ verilmesi, bağışıklığın düzenlenmesini sağlamaktadır (65).

Wright ve ark. (151) yaptıkları bir çalışmada, nakil işlemini takiben 72 adet boğaya 0,1 ppm Cr⁺³ şelat verilerek serum haptoglobulin düzeylerini incelemişlerdir. Nakilden sonraki 7. günde yemine krom ilave edilen hayvanların haptoglobulin düzeylerinin, kontrol grubundaki hayvanlara göre daha düşük olduğu saptanmıştır.

2.2.3.5. Krom ile Protein, DNA ve RNA Arasındaki İlişki

Krom, canlı vücuduna daha fazla miktarda protein alımını sağlamak ve böylece protein sentezini artırarak protein metabolizmasında etkinlik göstermektedir (55).

Kromun protein sentezi ile ilişkili olduğu ve bu element ile Deoksiribonükleik asit (DNA) kalıpları arasındaki etkileşimin sonucunda Ribonükleik asit (RNA) sentezinin uyarıldığı bilinmektedir (156). Şahin ve ark. (137), bıldırcınların yemine krom ilavesi ile serum total protein miktarının arttığını saptamışlardır.

Yapılan bir çalışmada, farelere 0.005 ile 5 mg/kg arasındaki dozlarda CrCl_3 verilmiş ve bu miktarın % 20'lik kısmının karaciğer hücre çekirdeği tarafından tutulduğu ve RNA sentezini arttırdığı öne sürülmüştür (97, Kaynak:96 p:557).

Biyolojik sistemlerde kromun başlattığı Haber-Weiss reaksiyonu sonucu oluşan hidroksil radikalleri, iplikciklerin kırılması, baz modifikasyonları veya deoksiribozun fragmentlerine ayrılması gibi hasarlara sebep olmaktadır (24).

2.2.4. Krom Eksikliği

Canlı metabolizmalarda beslenme bozuklukları, gebelik, yaşlanma, diyabet ve diğer metabolik stres durumlarına bağlı olarak krom eksikliği şekillenebilmektedir (96).

Fazla karbonhidrat tüketimi veya yorucu egzersiz gibi stres faktörleri, idrarla Cr atılımının artmasına neden olmaktadır. Bu durumda vücut depolarındaki krom miktarının azalmasından dolayı Cr yetersizliğine predispozisyon şekillenmektedir (7, 33).

Hemokromatoz gibi metabolik rahatsızlıklarda da krom eksikliği görülebilmektedir. Normal şartlarda krom ve demir, transport proteini olan transferrine bağlanabilmek için birbirleri ile yarış halindedirler. Fakat hemokromatoz gibi metabolik bir rahatsızlık durumunda, transferrin demir ile doymuş olacağından krom transferrine bağlanamamaktadır ve buna bağlı olarak da organizmadan krom atılımı artarak krom noksanlığı şekillenmektedir (96).

Hayvanlarda Cr eksikliğine bağlı olarak,

- a) Açlık hiperglisemisi,
- b) Glukoz toleransının bozulması,
- c) Dolaşımdaki insülin konsantrasyonunun artması,
- d) Glukozüri,
- e) Kan serumundaki kolesterol ve triasilgliserol düzeylerinin yükselmesi,
- f) İnsülin reseptör sayılarında azalma,
- g) Bağlı insülin konsantrasyonunda azalma gibi semptomlar görülmektedir (85):

2.2.5. Krom Fazlalığı

Besin maddelerinde bulunan krom miktarı toksikasyona neden olmayacak düzeydedir. Besinle alınan miktara ilaveten günde 125-200 µg krom alımının, hipoglisemi sonucunda bozulan glukoz düzeyini düzelttiği ve dolaşımdaki insülin seviyesi ile lipid profilini iyileştirdiği için bir toplumun ortalama güvenli krom alımı üst limitinin 250 µg/ gün'ün üzerinde olduğu bildirilmektedir (74).

Cr⁺⁶ hücre membranından çok hızlı geçebilmektedir. Cr⁺⁶, Cr⁺³, e göre çok güçlü oksidan ve irritandır ve bu özelliklerinden dolayı kromat iyonları karsinojenik etki göstererek, DNA hasarı ve mutasyonlara sebep olmaktadır (89).

Canlıların arsenik, krom gibi ağır metallere maruz kalması süperoksit radikalinin oluşumuna ve bu radikal de daha sonra hidroksil radikaline dönüşerek oksidatif strese neden olmaktadır (123).

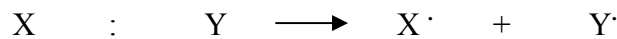
2.3. Serbest Radikaller

Elektronlar atomlarda orbital adı verilen uzaysal bölgede çiftler halinde bulunmaktadır. Atomlar arasında etkileşim ile bağlar meydana gelmekte ve moleküler yapı oluşmaktadır (61).

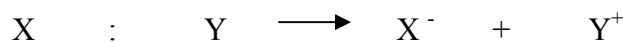
Dış orbitallerinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok etkin moleküllere serbest radikaller adı verilir (86). Başka moleküllerle çok kolayca elektron alışverişine giren bu moleküllere “oksidan moleküller” veya “reaktif oksijen partikülleri (ROS)” de denmektedir (39).

Serbest radikaller üç temel mekanizma ile oluşmaktadır (5, 72):

1-Kovalent bağların homolitik kırılması ile serbest radikal oluşumu: Yüksek enerjili elektromanyetik dalgalar ve yüksek sıcaklık (500-600 °C) kimyasal bağların kırılmasına neden olmaktadır. Kırılma sırasında bağ yapısındaki iki elektronun her biri ayrı ayrı atomlar üzerinde kalıyorsa, bu tür kırılmaya **homolitik kırılma** denir ve her iki atom üzerinde de paylaşılmamış elektron kalmaktadır.

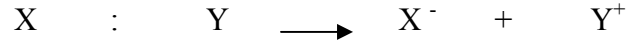


Organik moleküllerdeki bağların heterolitik kırılması durumunda zıt yüklü iyon çiftleri oluşur ve bu türler de reaktiftirler.



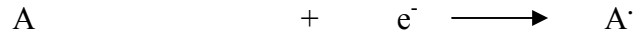
2-Normal bir molekülün elektron kaybetmesi ile serbest radikal oluşumu:

Radikal özelliği bulunmayan bir molekülden elektron kaybı sırasında dış orbitalinde paylaşılmamış elektron kalıyorsa, radikal formu oluşmaktadır. Örneğin askorbik asit, glutasyon ve tokoferoller gibi hücresele antioksidanlar radikal türlere tek elektron verip indirgerken, kendilerinin radikal formları oluşmaktadır.



3-Normal moleküle elektron transferi ile serbest radikal oluşumu:

Radikal özeliği taşımayan bir moleküle tek elektron transferi ile dış orbitalinde paylaşılmamış elektron oluşturuluyorsa, bu reaksiyon radikal oluşumuna neden olabilmektedir .



2.3.1. Canlı Organizmada Meydana Gelen Serbest Radikaller

Canlı organizmalarda serbest radikaller,

- a) UV, X-ray ve gamma-ray ışınlarının radyasyonu sırasında,
- b) metal-katalizörlü reaksiyonların ürünü olarak,
- c) atmosferde mevcut olan kirletici maddeler olarak,
- d) enfeksiyon sırasında nötrofiller ve makrofajlar tarafından üretilerek ve
- e) mitokondri-katalizli elektron transport zinciri reaksiyonları veya diğer mekanizmaların ürünleri olarak şekillenmektedirler (39).

Organizmada oluşabilen çeşitli reaktif oksijen partikülleri şu şekildedir:

1-Radikaller:

a-Süperoksit radikali (O₂⁻): Üç değerlikli oksijen molekülünün bir elektron alması sonucunda oluşmaktadır. Bu reaksiyonu NAD(P)H oksidazlar ve ksantin oksidaz gibi enzimler veya mitokondrial elektron transport zincirinin enzim olmayan redoks-reaktif bileşikleri katalize etmektedir (53).

b-Hidroksil radikali (OH⁻): Hidrojen peroksidin radyasyon enerjisi ile homolitik olarak bölünmesi ile veya demir (Fe⁺²) ya da bakır iyonları gibi indirgeyici geçiş metallerinin varlığında hidrojen peroksit, yüksek reaktif hidroksil radikallerine dönüşmektedir (42, 139).

c-Alkoksil radikali (LO[•]): Peroksit radikalinden bir oksijen atomu çıkması sonucu oluşmaktadır (53, 84).

d-Peroksit radikali (LOO[•]): Lipid radikallerinin moleküler oksijen ile reaksiyona girmesi sonucu lipid peroksit radikali meydana gelmektedir (139).

2-Radikal Olmayanlar

a-Hidrojen peroksit (H₂O₂): Süperoksit radikali süperoksit dismutaz ile enzimatik olarak hidrojen peroksit veya enzimatik olmayan yollardan hidrojen peroksit ve singlet oksijene dönüşmektedir (42).

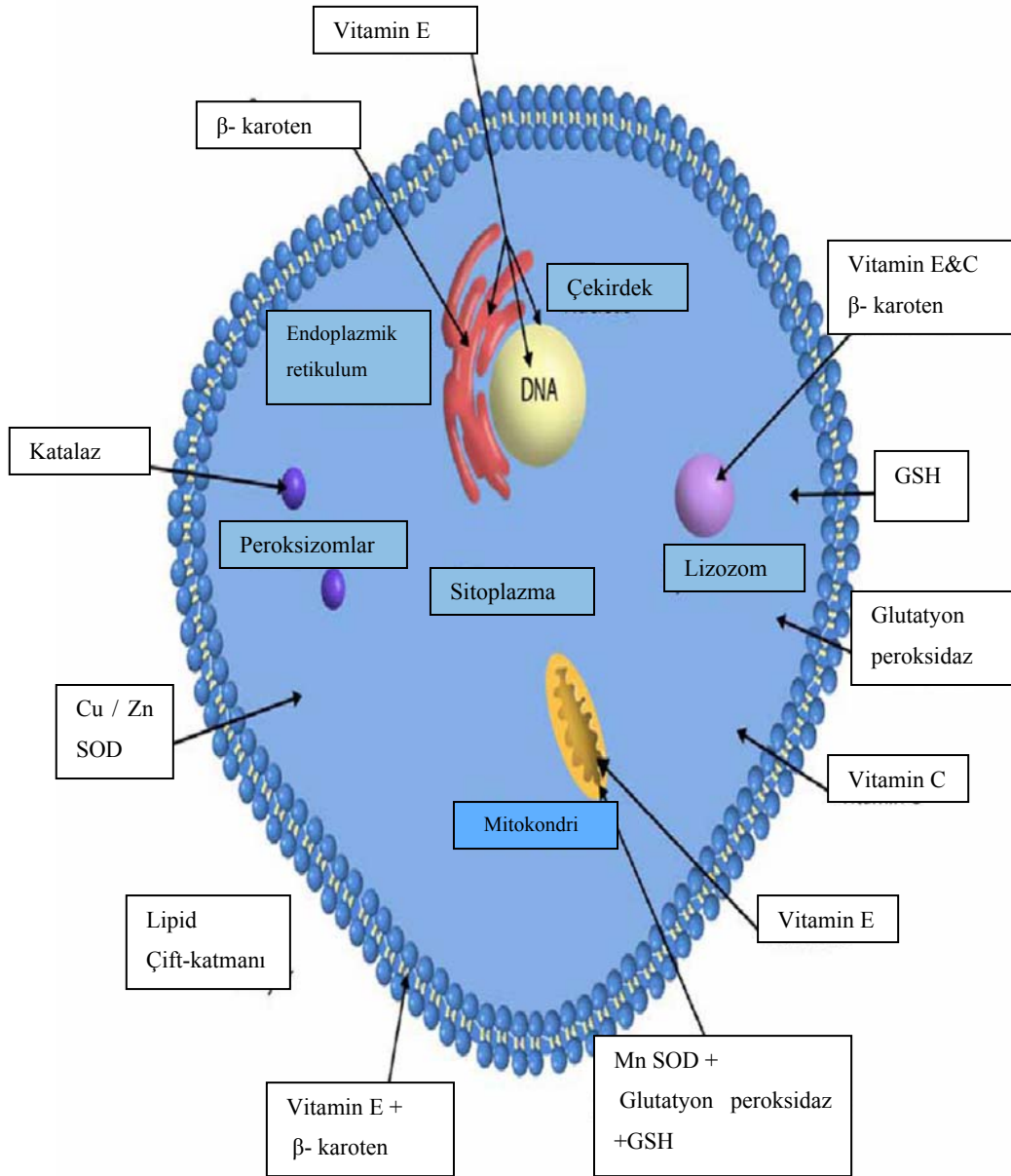
b-Lipid hidroperoksit (LOOH): Doymamış yağ asitlerinin alil grubundan bir hidrojen çıkması ile oluşan lipid radikali, oksijenle reaksiyona girerek lipid peroksit radikalini oluşturmaktadır. Oluşan bu radikal de diğer lipidlerle zincir reaksiyonu oluşturarak lipid hidroperoksitleri oluşturmaktadır (39).

c-Hipoklorik asit (HOCl): Özellikle nötrofiller içerdikleri myeloperoksidaz aracılığıyla, O₂⁻'in dismutasyonu ile oluşan hidrojen peroksiti, klorür iyonu ile birleştirerek, güçlü bir antibakteriyel ajan olan HOCl' e dönüştürürler (53).

3-Singlet Oksijen (¹O₂) : Yapısında iki adet çiftleşmemiş elektron taşımaktadır. Singlet oksijeni hücre membranındaki çoklu doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girerek lipid peroksitlerin oluşumuna yol açmaktadır (39).

2.3.2. Serbest Radikallere Karşı Savunma Sistemleri

Reaktif oksijen ve nitrojen partiküllerinin zararlı etkileri, antioksidan enzimler ve enzimatik olmayan antioksidanların, oksidasyonu engelleyici etkileri ile dengelenmektedir (147). Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanların hücre içinde buldukları yerler Şekil 2-4' de gösterilmektedir (6).



Şekil 2-4: Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanların canlı hücrelerinde buldukları yerler (6).

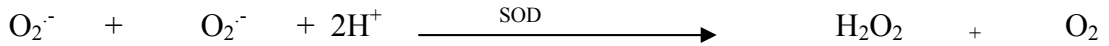
Antioksidan savunma mekanizmaları şu şekilde sınıflandırılabilir (147):

2.3.2.1. Enzimatik Antioksidanlar

1-Süperoksit dismutaz

Hücre içi enzimatik antioksidanların en etkililerinden olan süperoksit dismutaz (SOD) (E.C. 1.15.1.1), 1939 senesinde izole edilmiş olmasına rağmen, antioksidan aktivitesi McCord ve Fridovich tarafından 1969 senesinde ispatlanmıştır (147).

SOD, $O_2^{\cdot-}$ 'nin O_2 ve daha az reaktif tür olan H_2O_2 'e dismutasyon reaksiyonunu katalize etmektedir (49). Bu dismutasyon reaksiyonu sırasında süperoksit radikali, ekstra elektron alabilmek veya verebilmek için hem oksidan hem de redüktan olarak rol oynamaktadır. SOD, bir süperoksiti diğer süperoksit radikalini okside edebilmek için kullanılmaktadır (84).



Memelilerde buldukları yer ve fonksiyonlarını yapmak için gerek duydukları metal iyonları çeşidine göre birkaç tip SOD mevcuttur (82, 114, 147, 152):

1- Sitoplazmik SOD (Bakır-Çinko SOD): 32 kDa moleküler ağırlığa sahip olup, birbirinin aynısı 2 alt üniteden (homodimer) oluşmaktadır. Her bir alt ünite bakır ve çinko iyonlarından oluşan aktif bölge içermektedir. Hücrelerin sıvı dolu kısımları (örneğin sitozol) ve mitokondriyi çevreleyen iki membran arasındaki bölgede bulunmaktadır.

2- Mitokondrial SOD (Mangan SOD): Homotetramer yapıda olup, her alt ünite için bir mangan atomu içermektedir. 96 kDa moleküler ağırlığa sahiptir ve en güçlü anti-tümör etkiye sahip olan antioksidan enzimdir. Süperoksitin 2 basamaklı dismutasyonu sırasında Mn^{+3} 'ü Mn^{+2} 'ye ve sonra tekrar Mn^{+3} 'e dönüştürmektedir. Mitokondrinin interior bölgelerinde (örneğin matriks) bulunmaktadır.

3- Ekstrasellüler SOD: Tetramerik yapıda, heparin ve heparin sülfat gibi bazı glikoaminoglikanlara eğilim gösteren SOD tipidir. Aktivitesi için bakıra, stabilitesi için çinkoya ihtiyaç duymaktadır. Memeli dokularındaki regülasyonu, oksidanlara karşı farklı hücrelerin yanıtı yerine daha çok sitokinler tarafından koordine edilmektedir.

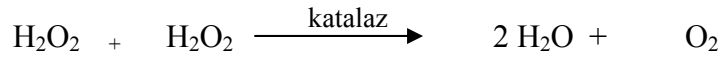
4- Nikel SOD: Diğer SOD sınıflarından çok farklı bir sekansa sahip olan ve 117 aminoasitten oluşan bir SOD tipidir. Streptomyces ve siyanobakterilerde bulunmaktadır.

2-Katalaz (CAT)

Katalaz (E.C. 1.11.1.6), bitki, hayvan ve aerobik bakterilerde bulunmaktadır ve glutatyon peroksidaz sisteminin yaptığı gibi hidrojen peroksidin detoksifikasyonunda görev almaktadır. Demir içeren bu enzim, şekil 3-1’de gösterildiği gibi esas olarak peroksizom adı verilen hücre organellerinde bulunmaktadır (147).

Enzimler içinde en yüksek dönüşüm oranına (ürüne dönüşebilen substrat oranı) katalaz sahiptir. Bir molekül katalaz dakikada 6 milyon molekül hidrojen peroksitin su ve oksijene dönüşümünü sağlamaktadır (147).

Katalazın, hidrojen peroksiti eliminasyon yollarından bir tanesi su ve oksijen oluşumu ile sonuçlanan iki hidrojen peroksit molekülünün reaksiyonunu katalizlemesidir (152).

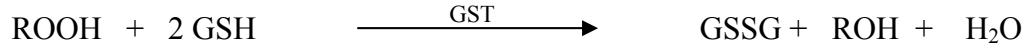


Ayrıca katalaz, hidrojen vermeye gönüllü olan bileşikler ile hidrojen peroksit arasındaki etkileşimi sağlayarak da hidrojen peroksidin suya dönüşümünü ve indirgenmiş olan gönüllü bileşiğin böylece okside olmasını sağlamaktadır (152).

3-Glutatyon Peroksidaz Sistemi

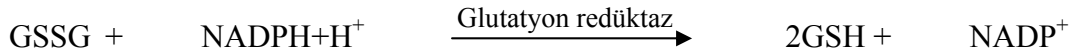
Glutatyon peroksidazın biri selenyum-bağımsız (glutatyon-S-transferaz, GST, E.C.2.5.1.18), diğeri ise selenyum-bağımlı (GPx, E.C. 1.11.1.19) olmak üzere 2 izoformu mevcuttur. Bu iki enzim, alt ünitelerinin sayıları, aktif bölgelerinde selenyuma bağlanma şekilleri ve katalitik mekanizmaları ile farklılık göstermektedir (147).

Glutatyon-S-transferazlar iki protein alt biriminden oluşan bir enzim ailesidir. Genel olarak üç sitozolik ve bir mikrozomal olmak üzere dört ana gruba ayrılmaktadırlar. Bu enzimler organizmaya giren ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunda önemli rol oynamaktadırlar. Başta araşidonik asit ve linoleat hidroperoksitleri olmak üzere, lipid hidroperoksitlere karşı GST’ler Se-bağımsız glutatyon peroksidaz aktivitesi göstermektedirler (57).

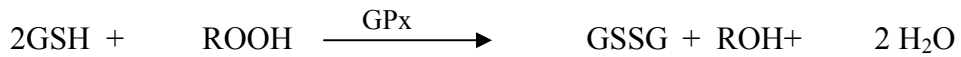
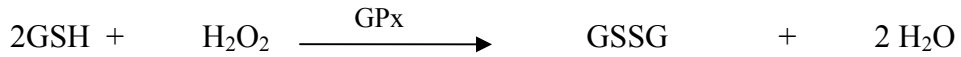


Tüm GPx enzimler, peroksitleri azaltmak için iki adet elektron vermekte ve selenollerini oluşturmaktadırlar (Se-OH). Seleno-enzimlerin antioksidan özellikleri, Fenton reaksiyonlarına potansiyel substratları oluşturan peroksitlerin eliminasyonlarını sağlamaktadır (147).

Okside glutatyon (GSSG), iki glutatyonun disülfid bağı ile birleşmesi sonucunda oluşmaktadır. Daha sonra bu molekül pentoz fosfat yolunda sentezlenen $\text{NADPH}+\text{H}^+$ ile glutatyon redüktazın katalizlediği reaksiyona girerek redükte (GSH) hale geçmektedir (56).



GPx, hücrelerde yüksek konsantrasyonlarda bulunan tripeptid yapıdaki glutatyon ile beraber görev yapmaktadır. GPx'in katalitik reaksiyonlardaki substratı hidrojen peroksit veya organik peroksittir (ROOH). GPx, GSH'ı okside ederek peroksitlerin suya (veya alkol) dekompoze olmasını sağlamaktadır (147).



Bu reaksiyon sonucu oluşan GSSG, tekrar glutatyon redüktaz ile redüklenmektedir (56).

2.3.2.2. Enzim Olmayan Antioksidanlar

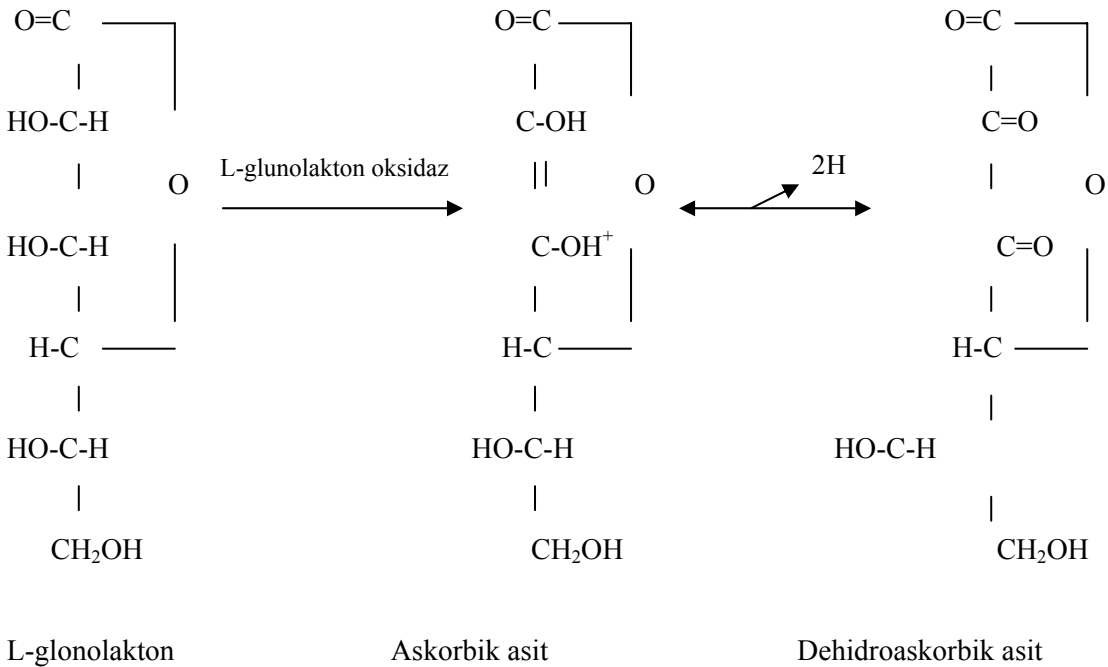
1-Vitamin C (L-Askorbik Asit)

Bir çok memeli türün karaciğerinde sentezlenen vitamin C, 6 karbonlu bir laktondur (71). UDP-glukuronatın hidroliziyle meydana gelen D-glukuronat, L-askorbik asidin öncüsüdür. Bir takım reaksiyonlar zinciri sonunda oluşan L-glukonolakton, bir flavoprotein olan glukonolakton oksidaz enzimi ile L-askorbik aside (C vitamini) dönüştürülmektedir. İnsan, kobay, maymun, bazı kanatlı ve balık türleri glukonolakton

oksidaz enzimine sahip olmadıkları için askorbik asit sentezi yapamamakta ve diyetle C vitamini alımına ihtiyaç duymaktadırlar (69).

Vitamin C (Asc), organizmada birçok hidroksilasyon olaylarında güçlü bir indirgeyici ajan olarak rol oynamaktadır (94). Askorbik asit 6-karbonlu molekülünün 2. ve 3. karbon atomları arasındaki çift bağdan 2 elektron vermektedir. Bir elektron vermesi ile semihidroksiaskorbik asit veya askorbil radikalleri ve 2. elektronun da verilmesi ile dehidroaskorbik asit adı verilen serbest radikaller oluşmaktadır.

Diğer serbest radikallerle karşılaştırıldığında zaman, askorbil radikalının 10^{-5} saniye yarı ömürle daha stabil ve daha az reaktif olduğu bilinmektedir. Dehidroaskorbik asit radikalının stabilitesi ise ısı ve pH gibi faktörlere bağlı olmasına rağmen, genellikle dakikalarla ifade edilmektedir. Bu radikaller şekillendikten sonra enzimatik yolla veya glutatyon gibi biyolojik sistemde bulunan indirgeyici bileşiklerin yardımı ile tekrar askorbik asite indirgenmektedirler. Eğer dehidroaskorbik asit radikalının askorbik asite dönüşümü şekillenmezse, geri dönüşümsüz olarak 2,3- diketoglukonik asite hidrolize olur ve daha sonra 2,3- diketoglukonik asit ksiloz, ksilonat ve oksalata metabolize olmaktadır (100).



Şekil 2-5: Askorbik asitin sentezi (60)

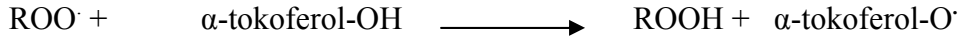
Vitamin C güçlü indirgeyici etkisinden dolayı aynı zamanda güçlü bir antioksidandır. Süperoksit anyon radikali ve hidroksil radikali ile kolayca reaksiyona girerek radikal etkilerini önlemektedir. Askorbik asidin, dehidroaskorbik aside (DHAsc) oksidasyonundaki ara ürün olan semihidroaskorbat radikali de (Asc) antioksidan etki gösterir ve α -tokoferole redükte olmasını sağlamaktadır (35).

2-Vitamin E

Vitamin E, yağda eriyen ve 8 ayrı formda bulunabilen bir vitamindir. Bu 8 formun arasında en aktif formu olanı α -tokoferol, aynı zamanda lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu bir fonksiyon üstlenerek güçlü bir antioksidan etki göstermektedir (67).

Vitamin E, lipid peroksil radikallerini yıkarak lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonlarını sonlandırdığı için, zincir kırıcı bir antioksidan olarak kabul edilmektedir. Yapısında bulunan fenolik hidroksil gruplu aromatik halka, vitaminin kimyasal olarak aktif kısmını oluşturur ve antioksidan özelliği bu gruptan kaynaklanmaktadır (29, 82).

Antioksidan reaksiyon sırasında α -tokoferol, lipid veya lipid peroksil radikaline bir hidrojen vererek α -tokoferol radikaline dönüşmektedir (147).



Daha sonra α -tokoferol radikali askorbik asit sayesinde tekrar orijinal α -tokoferole indirgenebilmektedir (147, 152) .

Vitamin C'nin akciğerler ve göz lensi gibi su içeriği yüksek olan organ ve dokularda güçlü bir antioksidan etkiye sahip olduğu zaten bilinmektedir. Fakat son yapılan çalışmalar sonucunda, bu mekanizmanın döngüsel tipinde vitamin C ile beraber vitamin E'nin de görev yaptığı anlaşılmıştır (73).

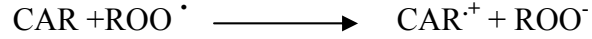
3-Karotenoidler

Bitki ve mikroorganizmalarda bulunan karotenoidlerin doğada 600'den fazla çeşidi bulunmaktadır (132).

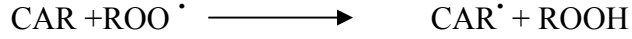
Karotenoidlerin antioksidan aktiviteleri çiftleşmemiş elektronların delokalizasyonları için konjuge olmuş çift-bağlı yapılarından ileri gelmektedir (92).

Karotenoidler ile serbest radikaller arasındaki reaksiyonlar genellikle 3 mekanizma ile şekillenir (43):

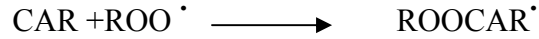
a) Radikal ilavesi :



b) Karotenoidden hidrojen çıkışı :



c) Elektron transfer reaksiyonu :



Karotenoidler (özellikle β -karoten) düşük oksijen basıncında, genellikle 150 Torr altında, antioksidan etki gösterirlerken, yüksek oksijen basınçlarında antioksidan etkilerini kaybedebilmekte veya pro-oksidan olabilmektedirler (147).

4-Tiyol antioksidanlar

a- Glutasyon:

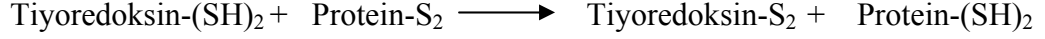
Doğada çok yaygın bulunan bu sülfürlü bileşik 1921 yılında Hopkins tarafından keşfedilmiştir. Önceleri glutamil-sisteinden oluşan bir dipeptid olarak bilinse de, 1929 yılında kristal halde elde edildikten sonra yapısının tripeptid olduğu anlaşılmıştır. 1935 yılında ise Harrington ve Mead tarafından L-glutamil-L-sistein-glisin halinde sentez edilmiştir (56).

Hücrelerde düşük moleküler ağırlığa sahip olan ve tiyol içeren en önemli madde glutatyonudur. Glutatyona antioksidan özelliğini, yapısındaki sistenin tiyol grubu kazandırmaktadır. Hücrenin protein yapısı dışındaki sülfidril grup, içeriğinin %90 kadarını içermektedir ve hidroksil ile singlet oksijen radikalleri gibi reaktif oksijen partiküllerini yok etmektedir. Hücreleri oksidatif hasara karşı korumasının yanında, proteinlerdeki -SH gruplarını redükte halde tutarak bu grupları oksidasyona karşı korumaktadır (46).

b-Tiyoredoksin

Tiyoredoksin (TRX), aktif bölgesinde 2 adet redoks-aktif sisteme sahip olan (cys-gly-pro-cys), küçük, multifonksiyonel ve disülfid-içeren redoks proteinidir (93).

Tiyoredoksinin indirgenmiş formunda birbirine bitişik 2 adet –SH grubu bulunmaktadır ve yapacağı redoks reaksiyonları sırasında, bu –SH grupları, okside tiyoredoksin formunda disülfid birimine dönüşmektedirler (93).



Disülfidin ditiol forma indirgenmesi reaksiyonunu, NADPH kaynaklı olan tioredoksin redüktaz katalizlemektedir (41).

c-Lipoik asit

α -Lipoik asit (ALA) oktanoik asitin disülfid türevi olup, tiotik asit olarak da isimlendirilir ve kimyasal olarak tam ismi 1, 2-ditiolan-3-pentanoik asittir ($\text{C}_8\text{H}_{14}\text{O}_2\text{S}_2$). Hem suda hem de yağda çözünebilen bir madde olduğu için, hem hücrel membranlar ve hem de sitozolde yaygın olarak bulunmaktadır. Yemle alınan α -lipoik asit emilimin ardından, çok hızlı bir şekilde dokularda indirgenmiş ditiol formu olan dihidrolipoik asite (DHHLA) dönüşmektedir (127).

ALA ve DHHLA' in her ikisi de güçlü antioksidanlardır. Antioksidan olarak şu fonksiyonlarda görev almaktadırlar (99);

- a) Reaktif oksijen türleri yok etmek.
- b) Vitamin C, vitamin E ve glutatyon gibi endojen ve ekzojen antioksidanların rejenerasyonunu sağlamak.
- c) Bakır ve demir gibi +2 değerlikli redoks aktif metallerin şelasyonuna katılmak.
- d) Okside olmuş proteinlerin onarımını yapmak.

DHHLA/ALA çifti -320 mV redoks potansiyeline sahip olduğundan dolayı, DHHLA biyolojik sistemlerde en yüksek antioksidan potansiyele sahip antioksidanlardan birisi olarak kabul edilmektedir (83).

5-Doğal flavonoidler

Flavonoidler, C6–C3–C6 karbon iskeleti ile karakterize olup 15 karbon atomundan meydana gelmektedirler. Flavonoidler, bitkilerde fenilalanin ve tirozin aromatik aminoasitleri ile malonattan oluşmaktadırlar. Flavon, flavonol, izoflavon, flavonon, çalkonlar gibi flavonoidler tüm bitki dokularında bulunmaktadır (105).

Flavonoidler, antioksidatif aktivitelerini ksantin oksidaz, lipoksijenaz ve siklooksijenaz gibi reaktif oksijen partiküllerinin oluşmaları ile ilgili enzimleri inhibe ederek göstermektedirler. Ayrıca metal iyonları ile şelat oluşturarak, diğer antioksidanlar ile etkileşime girerek ve süperoksit anyonları, lipid peroksil radikalleri ile hidroksil radikalleri gibi serbest radikalleri yakalayarak da antioksidatif etki göstermektedirler (27).

6-Melatonin

Karanlıkta pineal bezden salgılanan uyku, üreme, ritim ve immunité gibi pek çok biyolojik fonksiyonun düzenlenmesinde rol oynayan bir hormon olan melatonin'in (MEL) bir antioksidan olduğu ilk kez 1991 senesinde Ianas ve ark. (62) tarafından öne sürülmüş ve daha sonra yapılan in vivo ve in vitro çalışmalarla da desteklenmiştir. Melatoninin antioksidan özelliği, yapısında bulunan pirol halkasından kaynaklanmaktadır (155).

Melatoninin antioksidan özelliği üç ana başlık altında toplanabilmektedir (23, 51, 109, 155):

a) Direk antioksidan etki: MEL' in hidroksil, hidrojen peroksit, süperoksit radikali, hipoklorik asit, nitrik oksit gibi oksidatif strese yol açabilen serbest radikalleri detoksifiye ettiği ve böylece onların biyomoleküller üzerindeki zararlı etkilerini önleyebildiği bildirilmektedir.

b) Antioksidan enzim aracılı etki: SOD, GSH-Px gibi bazı antioksidan enzimlerin gen ekspresyonlarını ve aktivitelerini arttırdığı ve bu yolla oksidatif stresi baskıladığı ileri sürülmektedir,

c) Prooksidan enzim aracılı etki: Bazı prooksidan enzimleri inhibe ederek serbest radikal oluşumunu azalttığı ve bu şekilde antioksidan sistemi desteklediği belirtilmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hayvan Materyali

Bu araştırmada, kullanılan 84 adet 180-220 g ağırlıkta, *Wistar albino* ırkı, dişi sıçanlar İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsünden (DETAE) temin edilmiştir. 25.11.2004 ile 12.02.2005 tarihleri arasında devam eden çalışma süresince sıçanlar, İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalında bulunan Deneme Odasında polipropilen kafeslerde bakılmıştır.

3.2. Kullanılan Cihazlar

Hassas terazi : Precisa 125 ASCS

Santrifüj : Nüve 815

Otomatik pipet: 10 - 100 µl Isolab

100 - 1000 µl Exelpette

Sıcak su banyosu : Thermomix 1440

Vorteks : Elektromag M16

Fotometre : SEAC ch100

RIA analiz cihazı : Packard Riastar

3.3. Grupların Oluşturulması ve Beslenmesi

Hayvanlar kafeslerine yerleştirildiklerinden sonra bir hafta adaptasyon süresi uygulanmış ve sonrasında hayvanlar gruplandırılarak deneme periyodu başlatılmıştır.

Çalışmada farklı düzeylerde krom (krom sülfat, Fluka-12243) ve çinko (çinko klorür, Sigma-208086) düzeyleri uygulanan 6 adet deneme grubu ve 1 adet kontrol grubu oluşturulmuştur. Sıçanlar her kafese 3 hayvan gelecek şekilde yerleştirilmiştir. Her deneme grubunda oniki hayvanla çalışılmıştır.

Çalışmada kullanılan yem, tablo 3-1' de belirtilen besin maddelerine ve bileşimlerine göre MED Yem Ticaret firmasına hazırlanmıştır.

Tablo 3-1: Temel yemin bileşimi, besin maddeleri ve enerji içeriği

Yem Maddeleri	%
Buğday	40
Arpa	20,5
Soya	14,5
Balık unu	2
Razmol	15
Yağ	2
Mineral madde karması *	0,5
Vitamin-iz element karması **	0,5
Analiz sonucu bulunan değerler	
Kuru madde	87
Ham protein	18
Ham yağ	2,5
Ham selüloz	4
Kül	5,5
Hesaplanan değer	
Metabolize olabilir enerji (MJ / kg)	15,7

* Mineral karması bileşimi, %: Kalsiyum, 0,88; Fosfor, 0,70; tuz, 0,58; magnezyum, 0,16; sodyum, 0,30; klor, 0,40; potasyum, 0,70. ** Vitamin ve iz element karması, kg: Vitamin A, 12 000 IU; Vitamin D₃, 1500 IU; Vitamin E, 104 IU; Vitamin K, 15 mg; Vitamin B1, 14 mg; Vitamin B2, 11 mg; Vitamin B6, 14 mg; Vitamin B12, 20 mg; Vitamin C, 0 mg; Folik asit, 2,5 mg; Nikotinik asit, 78 mg; Pantotenik asit, 26 mg; Biotin, 334 mcg; Kolin klorid, 1635 mg; selenyum 0,36 mg; kobalt, 0,46 mg; iyot, 1,41 mg; krom, 100 ppb; çinko, 95 mg; mangan, 68 mg; bakır, 20 mg; demir, 104 mg.

Araştırmada kullanılan sıçanlar tablo 3-2' de gösterildiği şekilde 7 gruba ayrılmıştır.

Tablo 3-2: Araştırmada oluşturulan gruplar ve yemlerde bulunan çinko ve krom miktarları

GRUP	Çinkoklorür	Kromsülfat
Deneme 1	130,26 ppm	100,012 ppm
Deneme 2	210,26 ppm	0,012 ppm
Deneme 3	210,26 ppm	100,012 ppm
Deneme 4	130,26 ppm	0,020 ppm
Deneme 5	35,26 ppm	0,020 ppm
Deneme 6	35,26 ppm	0,012 ppm
Kontrol	130,26 ppm	0,012 ppm

Çalışma süresince kontrol grubundaki hayvanlar standart sıçan yemi ile beslenmişlerdir. Deneme gruplarının yemlerine, 80 ppm Zn ve 100 ppm Cr ayrı ayrı veya beraber olacak şekilde ilave edilmiştir.

Çalışmaya başlamadan önce sıçanlara verilecek olan yemlerin Zn ve Cr içerikleri, İstanbul Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Bölümü Analitik Kimya Bilim Dalı tarafından atomik absorpsiyon spektrofotometresi kullanılarak analizleri yapılmıştır. Analiz sonucu yemlerin Zn ve Cr içeriklerinin istenen düzeyde homojen olarak dağılmış olduğu bildirilmiştir.

Her bir grup, dörtlü replikasyonlu çalışılmış ve araştırma 84 gün devam etmiştir. Araştırma süresince sıçanlar 20-22 °C oda sıcaklığında, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık olacak şekilde tutulmuşlardır. Buldukları ortamdaki bağıl nem oranının %50-60 olması sağlanmıştır.

3.4. Örneklerin Toplanması

Deneme periyodunun başında (sıfırinci gün)ve takiben 14 gün aralıklarla toplam 7 defa kan alınmıştır. Kanlar sıçanların kuyruklarının kesilmesi yöntemi ile alınmıştır. Kan alımında heparinli ve antikoagülsüz tüp kullanılmıştır. Alınan kanlar 3000 rpm'de 10 dakika santrifuj edilerek, plazma ve serum örnekleri elde edilmiştir. Örneklerin hepsi küçük porsiyonlara bölünerek, -20 °C'de analizleri yapılana kadar saklanmıştır.

3.5. Biyokimyasal Analizler

3.5.1. Plazmada Malondialdehit (Tiyobarbitürik asit reaktif partikülleri= TBARS) Düzeyi Ölçümü

Prensip

İki molekül tiyobarbitürik asidin (TBA) bir molekül MDA ile asit ortamda reaksiyona girerek pembe renkli ürün oluşturması esasına dayanmaktadır. Oluşan bu bileşik 535 nm'de maksimum absorbanı vermektedir (157).

Ayrıçlar

Triklorasetik asit (TCAA) Çözeltisi (%20): 200 g triklorasetik asit(TCAA) bidistile suda çözülerek 1000 ml'ye tamamlanmıştır.

Tiyobarbitürik asit (TBA) Çözeltisi (% 0.67): 1,675 g tiyobarbitürik asit bidistile suda çözülerek 250 ml'ye tamamlanmıştır.

n-Butanol

1.1.3.3. Tetraetoksipropan standartı (C₁₁H₂₄O₄):1.1.3.3. tetraetoksipropan 0,494 ml alınarak 100 ml'ye etanol ile tamamlanmıştır. Bu çözeltiden 0,1 ml alınarak100ml'ye bidistile su ile tamamlamak suretiyle standart elde edilmiştir. Standart çözeltinin konsantrasyonu 20 µmol /l'dir.

Yöntem

TBARS parametresinin analizinde uygulanan yöntem tablo 3-3' de anlatılmıştır.

Tablo 3-3:TBARS ölçümünde uygulanan işlem

Kullanılan maddeler	Kör	Örnek	Standart
Plazma	-----	0,5 ml	-----
Tetraetoksipropan standartı	-----	-----	0,5 ml
TCAA çözültisi	3,0 ml	2,5 ml	2,5 ml
TBA çözültisi	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml
30 Dakika kaynar su banyosunda inkubasyon ve soğutma			
n-Butanol	4,0 ml	4,0 ml	4,0 ml

Son olarak tüpler 3000 rpm'de 10 dakika santrifuj edilerek, tüplerin üst kısımlarında oluşan Butanol tabakaları alınarak 535 nm'de okunmuştur. Bu okuma sonucu elde edilen değerler aşağıda gösterilen formulasyona göre TBARS değerleri olarak hesaplanmıştır.

$$N \text{ mol/ml} = \frac{\text{Testin Absorbansı} \times \text{Standardın Konsantrasyonu}}{\text{Standardın Absorbansı}}$$

3.5.2. Plazmada Katalaz (CAT) Düzeyi Ölçümü

Prensip

Yöntem, uygun tampon içinde bulunan hidrojen peroksidin örnekte bulunan katalaz enziminin etkisi ile yıkılması sonucu, bu maddenin 240 nm' de sebep olduğu absorbans azalmasının ölçülmesi esasına dayanır (154).

Ayıraçlar

Tampon I: Potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4) : KH_2PO_4 'den 1,7011 g alınmış ve hacim bidistile su ile 250 ml'ye tamamlanmıştır.

Tampon II: Dipotasyum hidrojen fosfat (K_2HPO_4) : K_2HPO_4 'den 4,3545 g alınmış ve hacim bidistile su ile 500 ml'ye tamamlanmıştır.

pH 7 Tampon : Tampon I'den 39,2 ml alınmış ve hacim Tampon II ile 100 ml'ye tamamlanmıştır. Bu karışımdan 2 adet hazırlanmıştır. Bu karışım +4 °C'de saklanmıştır ve her kullanımında pH kontrol edilmiştir.

H₂O₂ (38 mmol /l) : 0,3267 ml H₂O₂ alınmış ve hacim pH 7 tampon ile 100 ml'ye tamamlanmıştır. Taze olarak hazırlanmıştır.

Yöntem

Katalaz parametresinin analizinde uygulanan yöntem tablo 3-4' de anlatılmıştır.

Tablo 3-4:CAT ölçümünde uygulanan işlem

Kullanılan maddeler	Örnek
Plazma	10 µl
pH 7 Tampon	790 µl
H ₂ O ₂ Çözeltisi (38 mmol)	400 µl

Örnek tüpüne tüm ayıraçlar konduktan sonra örnek 30°C'de 5 dakika bekletilmiş, 240 nm'de ilk okuma yapılmıştır. Örnek tekrar 30°C'de 5 dakika bekletilmiş ve 2. okumalar yapılmıştır. Okumalarda kuvartz küvetler kullanılmıştır. Bu okuma sonucu elde edilen değerler aşağıda gösterilen formülasyona göre CAT değerleri olarak hesaplanmıştır.

$$\text{AKTİVİTE} = \frac{\Delta A / \text{dak} \times \text{toplam hacim} \times 1}{(\text{Ku/l=U/ml}) \times \text{numune hacmi} \times 0,04}$$

3.5.3. Plazmada Superoksit Dismutaz (SOD) Düzeyi Ölçümü

Prensip

Yöntem, ksantin-ksantin oksidaz enzimatik reaksiyonu ile oluşan superoksit radikallerinin ortamda bulunan nitroblue (azot mavisi) tetrazoliumu (NBT) indirgemesinin örnekte bulunan SOD enzimi tarafından engellenmesi esasına dayanır.

Renksiz NBT iyonu, süperoksit radikali ile indirgendiğinde maksimum absorbansını 560 nm'de veren mavi renkli formazona dönüşür (135).

Ayrıçlar

Ksantin stok çözeltisi (3 mmol/l): 23 mg ksantin, 50 ml'lik balon joje içinde 5 ml 0.1 N NaOH ile hafifçe ısıtılıp çözülerek, bidistile su ile 50 ml'ye tamamlanmıştır. Stok çözeltisi 10 kat seyreltilerek çalışma çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan çözelti +4 °C'de 1 hafta dayanıklıdır.

Disodyum EDTA çözeltisi (0,6 mmol/l): 0,2233 g EDTA bidistile su ile çözülerek hacim 1 litreye tamamlanmış ve +4 °C'de saklanmıştır.

Nitroblue tetrazolium çözeltisi (0,15 mmol/l): 30,75 mg NBT bidistile su ile çözülerek hacim 250 ml'ye tamamlanmış ve +4 °C'de saklanmıştır.

Sodyum karbonat (Na₂CO₃) çözeltisi (400 mmol/l) : 10,599 g sodyum karbonat, bidistile su ile çözülerek hacim 250 ml'ye tamamlanmış ve +4 °C'de saklanmıştır.

Sığır serum albumini (1,0 g/l) : 100 mg sığır albumini bidistile suda çözülerek hacim 100 ml'ye tamamlanmış ve +4 °C'de saklanmıştır.

Amonyum sülfat [(NH₄)₂SO₄] çözeltisi (2 mol/l): 26,428 g amonyum sülfat bidistile suda hacim çözülerek hacim 100 ml'ye tamamlanmış ve +4 °C'de saklanmıştır.

Bakır klorür (CuCl₂) çözeltisi (0,8 mmol) : 26,75 mg bakır klorür bidistile suda çözülerek hacim 250 ml'ye tamamlanmış ve +4 °C'de saklanmıştır.

Ksantin oksidaz çözeltisi : 16,66 U/ml aktiviteye sahip ksantin oksidaz enzim çözeltisinden 20 µl alınarak, daha önce hazırlanmış olan 2M amonyum sülfat çözeltisinden 2 ml alınarak karıştırılmıştır.

SOD deney reaktifi (20 testlik): 20 ml ksantin çalışma çözeltisi, 10 ml EDTA çözeltisi, 10 ml NBT çözeltisi, 6 ml sodyum karbonat çözeltisi ve 3 ml sığır albumini çözeltisi 100 ml' lik bir erlende karıştırılmıştır.

Yöntem

SOD parametresinin analizinde uygulanan yöntem tablo 3-5' de anlatılmıştır

Tablo 3-5:SOD ölçümünde uygulanan işlem

Kullanılan maddeler	Kör	Örnek
SOD Deney reaktifi	2,45 ml	2,45 ml
Plazma	-----	0,5 ml
Bidistile su	0,50 ml	-----
Ksantin Oksidaz Çözeltisi	50 µl	50 µl
	20 Dakika 25 °C su banyosunda inkubasyon	
CuCl₂ Çözeltisi	1,0 ml	1,0 ml

Kör ve örnek tüplerinde oluşan rengin absorbanansı deney reaktifine karşı 560 nm’de okunmuştur. Bu okuma sonucu elde edilen değerler aşağıda gösterilen formülasyona göre SOD değerleri olarak hesaplanmıştır.

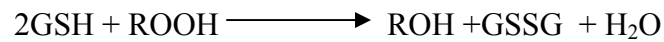
$$\% \text{ İnhibisyon} = \frac{\text{körün absorbanansı} - \text{örneğin absorbanansı} \times 100}{\text{körün absorbanansı}}$$

Bir SOD ünitesi, NBT’nin indirgenmesini % 50 oranında inhibe eden enzim aktivitesi olarak kabul edilmiştir.

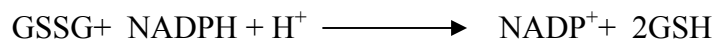
3.5.4. Plazmada Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Düzeyi Ölçümü

Prensip

Bu parametrenin analizinde ticari test kiti kullanılmıştır (13). Bu analiz yönteminde peroksidaz kullanılarak GSH, okside form olan GSSG’ye dönüştürülür.



Tepkimenin geriye dönüşümü glutasyon redüktaz (E.C.1.6.4.2) tarafından katalizlenebilen ve NADH+H tarafından kullanılan bir tepkime ile gerçekleşir ve bu tepkimede GSH miktarını sabit kalır.



Yöntem

GSH-Px parametresinin analizinde uygulanan yöntem tablo 3-6' da anlatılmıştır

Tablo 3-6:GSH-Px ölçümünde uygulanan işlem

Kullanılan maddeler	Reaktif kör	Örnek tüpü
Plazma	-----	50 µl
Distile su	50 µl	-----
Ayıraç	950 µl	950 µl
Kümen	100 µl	100 µl

Bu okumalar sonucu elde edilen değerler aşağıda gösterilen formulasyona göre GSH-Px değerleri hesaplanmıştır

$$\text{GSH-Px Konsantrasyonu (U/l)} = \frac{\Delta A / \text{dak} \times \text{toplam hacim} \times 106}{\text{numune hacmi} \times 6,22 \times 103}$$

3.5.5. Plazmada Glukoz Düzeyi Ölçümü:

Prensip

Bu parametrenin analizinde ticari test kiti kullanılmıştır (10). Bu analiz yöntemi, glukoz oksidazın enzimatik oksidasyonundan sonra glukoz tayini ilkesine dayalıdır.

Yöntem

Glukoz parametresinin analizinde uygulanan yöntem tablo 3-7' de anlatılmıştır.

Tablo 3-7:Glukoz ölçümünde uygulanan işlem

Kullanılan maddeler	Kör	Standart	Örnek
Distile Su	10 µl	-----	-----
Plazma	-----	-----	10 µl
Standart çözelti	-----	10 µl	-----
Ayıraç	1000 µl	1000 µl	1000 µl

Standart çözelti ve numueller karıştırıldıktan sonra 37 °C' de 10 dakika inkübe edilmiş ve ardından 546 nm'de okunmuştur. Bu okuma sonucu elde edilen değerler aşağıda gösterilen formulasyona göre glukoz değerleri hesaplanmıştır.

$$\text{Glukoz (mg/dl)} = \frac{\text{Numunenin absorbansı}}{\text{Standardın absorbansı}} \times \text{Std Kons.}$$

3.5.6. Serum İnsülin Ölçümü:

Prensip

Bu parametrenin analizi radioimmunoassay (RIA) yöntemiyle ticari test kiti kullanılarak yapılmıştır (12).

Bu analiz yöntemi, radioaktif ve radioaktif olmayan antijenler arasında belirli sayıda antikorla bağlanma için bir yarışma prensibine dayanmaktadır. [1-25] etiketli insülinin antikorla bağlanma miktarı mevcut olan insülin miktarı ile ters orantılıdır. Çift antikor sistemi kullanılarak serbest ve bağlı antikorların ayrılması kolay ve hızlı bir şekilde sağlanır (12).

Ayırıcılar

İnsülin standardı (liyofilize): A etiketli küçük şişe 0 µIU / ml ve B, C, D, E ve F etiketli beş küçük şişe ise yaklaşık 5, 15, 50, 150 ve 300 µIU / ml (0,2- 12 ng/ml) konsantrasyonlarındadır. Koruyucu olarak sodyum azid kullanılmıştır ve protein bazlı tampon içerisinde insülin içerir.

İnsülin (1-25) çözeltisi (liyofilize): Bir şişe <5 µCi (185 kBq) konsantrasyonlardadır. Koruyucu olarak sodyum azid kullanılmıştır ve protein bazlı tampon içerisinde insülin içerir.

İnsülin antiserumu (liyofilize): Koruyucu olarak sodyum azid kullanılmış küçük bir şişede kobay anti-insülin serumu bulunur.

Presipitat çözeltisi: Bir şişe (105 ml), presipitata yardımcı olarak polietilen glikol bulunan keçi kobay gamma globulin serumu içerir. Koruyucu olarak sodyum azid kullanılmıştır.

İnsülin kontrolleri (liyofilize): İki küçük şişe (düzey 1 ve düzey 2) protein bazlı tampon içinde düşük ve yüksek insülin içerirler.

Yöntem

Bütün çözeltiler kullanılmadan önce oda sıcaklığına getirilmiş ve köpürtülmeden karıştırılarak aşağıda belirtilen işlemler yapılmıştır:

1. Standart ve kontrol çözeltiler için ikişer tüp, serum örnekleri için ise birer tüp hazırlanmıştır. Ayrıca bir tüp T-tüpü (total) için hazırlanmıştır.

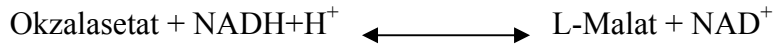
2. Standart A 5 ml distile su ile, diğer bütün standartlar ve insülin kontrolleri birer ml distile su ile sulandırılmıştır. İnsülin antiserumu ise 10 ml distile su ile sulandırılmıştır.
3. Hazırlanmış olan bu tüplere kendi çözeltilerinden 100 µl konmuştur (T-tüpü hariç). Plazma için hazırlanmış tüplere de 100 µl plazma konmuştur.
4. Hazırlanmış olan bu tüplere insülin antiserumundan 100 µl konmuştur (T-tüpü hariç).
5. Hazırlanmış olan bu tüplere insülin [1-25] çözeltilisinden 100 µl konmuştur (T-tüpü dahil).
6. Bütün tüpler vortekste karıştırıldıktan sonra 2-8 °C' de 16 saat inkübe edilmiştir.
7. İnkübasyondan sonra tüm tüplere presipitat çözeltilisinden 1 ml konmuş ve vortekste karıştırılarak oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edilmiştir (T-tüpü hariç).
8. Tüm tüpler 1500 devirde 20 dakika santrifüj edildikten sonra tüplerin içindikiler dökülmüştür.
9. Tüm tüpler en az 2 dakika bekletildikten sonra gamma sayacında okunmuştur.

Analizde gamma sayacı olarak Packard Riastar kullanılmıştır.

3.5.7. Plazmada Aspartat Aminotransferaz (AST) Düzeyi Ölçümü:

Prensip

Plazmadaki AST düzeylerine ticari test kiti kullanılarak ölçüm yapılmıştır (7).



NADH₂'nin NAD'ye dönüşümünün şekillendiği 2. reaksiyonda oluşan absorpsiyon farkı, 1. reaksiyonu katalizleyen AST enziminin aktivitesinin ölçülmesini sağlar.

Yöntem

Kitin içerisinde çıkan 1 numaralı reaktif çözeltilisi ile 2 numaralı reaktif çözeltilisi 4:1 oranında karıştırılarak yeni bir monoreaktif çözeltili hazırlanır.

AST parametresinin analizinde uygulanan yöntem tablo 3-9' da anlatılmıştır;

Tablo 3-8:AST ölçümünde uygulanan işlem

Kullanılan maddeler	Örnek
Plazma	100 µl
Monoreaktif Çözelti	1000 µl

Örnek tüpüne plazma ve monoreaktif çözeltisi konularak karıştırılmış ve 37 °C ısıda 1., 2. ve 3. dakikalarda havaya karşı 340 nm'de okunmuşlardır. Bu okuma sonucu elde edilen değerler aşağıda gösterilen formulasyona göre AST değerleri hesaplanmıştır.

$$\text{AST aktivitesi (U/l)} = \Delta A / \text{dak} \times \text{faktör (= 2143)}$$

3.6. Sonuçların Değerlendirilmesinde Kullanılan İstatistikî Yöntem

Elde edilen veriler SPSS 11.5 for Windows istatistiksel analiz paket programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Grup içi ve gruplar arası ortalama değerleri arasındaki farklılığın önemliliği için One-way ANOVA analizi, grup içi ve gruplar arası farkın önemliliği için Duncan Testi yapılmıştır.

Sonuçlar ortalama \pm standart hata (ort \pm SH) olarak gösterilmiştir. Araştırma gruplarına ait veriler $p \leq 0,05$ güvenlik eşiğine göre istatistiksel analize tabi tutulmuştur (129).

4. BULGULAR

4.1. Plazma Malondialdehit Düzeyleri

Kontrol ve deneme gruplarında bulunan hayvanların plazma malondialdehit düzeyleri tablo 4-1’de gösterilmiştir.

MDA düzeylerinin K grubunda anlamlı farklılık göstermemesine karşın D1, D3 ve D6 gruplarında giderek yükseldiği, D2, D4 ve D5 gruplarında ise giderek düştüğü gözlenmiştir.

Grup içi yapılan karşılaştırmalarda; 0. gün D2, D4 ve D5 grupları, 70. günde D6 grubu ve 84. günde D1, D3, D6 ve K gruplarının istatistiki anlamda en yüksek değerlere ulaştıkları saptanmıştır ($p \leq 0,05$).

Gruplar arası karşılaştırmada; 0. gün D5 grubu, 28. ve 42. günlerde D6 grubu, 56. günde D1, D3 ve D6 grupları, 70. ve 84. günlerde D1 ve D6 grupları diğer gruplardan istatistiki önem arz edecek derecede yüksek bulunmuştur ($p \leq 0,05$). 14. gün alınan kanda bakılan plazma Malondialdehit düzeylerinde tüm gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

Tablo 4-1:Araştırma süresince kontrol ve deneme gruplarının TBARS(N mol/ml) değerlerinin karşılaştırılması (ort ± SH)

	0. Gün	14. Gün	28. Gün	42. Gün	56. Gün	70. Gün	84. Gün
D1	23,50±2,07 ^{eB}	24,42±2,30 ^{de}	28,22±0,87 ^{deAB}	29,86±1,05 ^{cdB}	34,34±1,36 ^{bcA}	39,69±3,56 ^{bA}	45,95±2,35 ^{aA}
D2	26,43±2,22 ^{aAB}	24,54±2,48 ^{ab}	24,55±1,15 ^{abBC}	21,63±1,85 ^{abC}	19,50±1,87 ^{bB}	18,97±1,73 ^{bD}	10,70±0,66 ^{cD}
D3	25,86± 2,29 ^{dAB}	26,91±2,79 ^{cd}	28,05±1,11 ^{bedAB}	29,44±1,61 ^{abcd B}	31,50±1,05 ^{abcA}	32,87±1,00 ^{abbB}	34,25±1,45 ^{aB}
D4	26,92±2,00 ^{aAB}	23,56±2,45 ^{ab}	21,16±1,51 ^{bcC}	18,77±1,40 ^{cC}	13,64±1,20 ^{dC}	11,54±0,87 ^{dE}	12,14±0,74 ^{dD}
D5	31,89±2,71 ^{aA}	24,01 ±0,94 ^b	24,24±1,86 ^{bBC}	19,75±0,70 ^{bcC}	22,39 ±2,36 ^{bB}	22,88±2,71 ^{bCD}	16,10±1,71 ^{cD}
D6	23,81±3,67 ^{cB}	28,22±5,50 ^{bc}	30,64±1,45 ^{bc A}	35,02±2,54 ^{bA}	32,58±0,62 ^{bA}	43,98±1,09 ^{aA}	44,09±1,28 ^{aA}
K	25,43±1,04 ^{abAB}	24,74±1,31 ^{ab}	23,28±1,15 ^{abC}	20,70±2,04 ^{bc}	21,78±1,12 ^{bB}	25,25±1,06 ^{abC}	27,07±1,98 ^{aC}

Her bir parametre için ^{abcd}: Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki istatistiki fark önemlidir $p \leq 0,05$

^{ABCD}: Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki istatistiki fark önemlidir $p \leq 0,05$

Deneme I (D1) : Yemin içeriğinde 130,26 ppm çinko klorür ve 100.012 ppm krom sülfat bulunmaktadır

Deneme II (D2): Yemin içeriğinde 210,26 ppm çinko klorür ve 0.012 ppm krom sülfat bulunmaktadır.

Deneme III (D3): Yemin içeriğinde 210.26 ppm çinko klorür ve 100.012 ppm krom sülfat bulunmaktadır.

Deneme IV (D4):Yemin içeriğinde 130.26 ppm çinko klorür ve 0.020 ppm krom sülfat bulunmaktadır.

Deneme V (D5):Yemin içeriğinde 35.26 ppm çinko klorür ve 0.020 ppm krom sülfat bulunmaktadır.

Deneme VI (D6): Yemin içeriğinde 35.26 ppm çinko klorür ve 0.012 ppm krom sülfat bulunmaktadır.

Kontrol (K): Yemin içeriğinde 130.26 ppm çinko klorür ve 0.012 ppm krom sülfat bulunmaktadır.

4.2. Plazma Katalaz Düzeyleri

Kontrol ve deneme gruplarında bulunan hayvanların plazma katalaz düzeyleri tablo 4-2’de gösterilmiştir .

Katalaz düzeylerinin K grubunda anlamlı farklılık göstermemesine karşın D1, D3, D4 ve D6 gruplarında giderek yükseldiği, D2ve D5 gruplarında ise giderek düştüğü gözlenmiştir.

Grup içi yapılan karşılaştırmalarda; 0.günde D2 ve D5 grupları, 56. ve 70. günde D4 grubu ve 84. günde D1, D3, D4 ve D6 gruplarının istatistiki anlamda en yüksek değerlere ulaştıkları saptanmıştır ($p \leq 0,05$). Kontrol grubunda ise grup içi karşılaştırmada istatistiki olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

Gruplar arası karşılaştırmada; 0. günde D2 grubu, 28. günde D4 grubu, 42.günde D4 ve D6 grupları, 56. günde D1, D3, D4 ve D6 grupları, 70. günde D1, D3, D4 ve D6 grupları ve 84. günde ise D1 grubu diğer gruplardan önemli derecede yüksek bulunmuştur. 14. günde ise tüm gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

Tablo 4-2:Araştırma süresince kontrol ve deneme gruplarının Katalaz (U/ml) değerlerinin karşılaştırılması (ort ± SH)

	0. Gün	14. Gün	28. Gün	42. Gün	56. Gün	70. Gün	84. Gün
D1	15,14 ±1,67 ^{dAB}	15,81±2,92 ^d	19,28±2,96 ^{bcdAB}	18,20±1,67 ^{cdABC}	23,23±1,22 ^{bcA}	25,59±2,28 ^{ba}	35,30±0,87 ^{aA}
D2	17,50±1,38 ^{aA}	14,87±2,15 ^{ab}	14,65±1,22 ^{abB}	12,40±1,33 ^{bc}	11,20±1,67 ^{bcB}	6,91±1,05 ^{cdC}	5,74±2,62 ^{dC}
D3	15,72±1,67 ^{bAB}	16,06±1,38 ^b	19,14±2,54 ^{abAB}	20,24±1,76 ^{abAB}	21,04±1,74 ^{abA}	25,86±2,29 ^{abA}	31,28±9,86 ^{aAB}
D4	14,06±1,07 ^{bAB}	17,75±1,67 ^{ab}	22,20±3,44 ^{abA}	21,86±1,84 ^{abA}	24,28±1,35 ^{aA}	25,06±1,69 ^{aA}	27,75±6,80 ^{aAB}
D5	16,69 ±5,91 ^{aAB}	12,07±2,59 ^{ab}	15,14±1,37 ^{abB}	14,00±3,48 ^{abBC}	12,20 ±3,81 ^{abB}	9,40±1,07 ^{abC}	7,25±2,14 ^{bc}
D6	14,62±0,94 ^{eAB}	20,34±1,95 ^d	21,04±1,36 ^{dAB}	23,40±1,31 ^{cdA}	24,84±1,02 ^{bcA}	27,06±0,60 ^{abA}	29,19±0,52 ^{aAB}
K	12,13±1,21 ^B	14,99±0,82	14,30±0,65 ^B	13,80±4,18 ^{BC}	12,90±2,62 ^B	16,80±0,54 ^B	15,16±2,28 ^{BC}

Her bir parametre için ^{abcd}: Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki istatistiksel fark önemlidir $p \leq 0,05$

^{ABCD}: Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki istatistiksel fark önemlidir $p \leq 0,05$

Deneme I (D1) : Yemin içeriğinde 130,26 ppm çinko klorür ve 100.012 ppm krom sülfat bulunmaktadır

Deneme II (D2): Yemin içeriğinde 210,26 ppm çinko klorür ve 0.012 ppm krom sülfat bulunmaktadır.

Deneme III (D3): Yemin içeriğinde 210.26 ppm çinko klorür ve 100.012 ppm krom sülfat bulunmaktadır.

Deneme IV (D4):Yemin içeriğinde 130.26 ppm çinko klorür ve 0.020 ppm krom sülfat bulunmaktadır.

Deneme V (D5):Yemin içeriğinde 35.26 ppm çinko klorür ve 0.020 ppm krom sülfat bulunmaktadır.

Deneme VI (D6): Yemin içeriğinde 35.26 ppm çinko klorür ve 0.012 ppm krom sülfat bulunmaktadır.

Kontrol (K): Yemin içeriğinde 130.26 ppm çinko klorür ve 0.012 ppm krom sülfat bulunmaktadır.

4.3. Plazma Süperoksit Dismutaz Düzeyleri

Kontrol ve deneme gruplarında bulunan hayvanların plazma süperoksit dismutaz düzeyleri tablo 4-3’de gösterilmiştir.

SOD düzeylerinin K grubunda anlamlı farklılık göstermemesine karşın D1, D3, D5 ve D6 gruplarında giderek yükseldiği, D2 ve D4 gruplarında ise giderek düştüğü gözlenmiştir.

Grup içi yapılan karşılaştırmalarda; 0. günde D2 ve D4 grupları, 14. günde D4 grubu, 70. günde D1 ve D3 grupları, 84. günde D1, D3, D5 ve D6 gruplarının istatistiki anlamda en yüksek değerlere ulaştıkları saptanmıştır ($p \leq 0,05$). Kontrol grubunda ise grup içi karşılaştırmada istatistiki olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

Gruplar arası karşılaştırmada; 28. günde D1 grubu, 42. günde D1, D3 ve D6 grupları, 56. günde D1 grubu, 70. ve 84. günlerde D1 ve D3 grupları diğer gruplardan önemli derecede yüksek bulunmuştur ($p \leq 0,05$). 0. ve 14. günlerde alınan kanlarda bakılan süperoksit dismutaz düzeylerinde tüm gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

Tablo 4-3:Araştırma süresince kontrol ve deneme gruplarının SOD (U/ml) değerlerinin karşılaştırılması (ort ± SH)

	0. Gün	14. Gün	28. Gün	42. Gün	56. Gün	70. Gün	84. Gün
D1	27,28±1,13 ^d	30,10±1,59 ^{cd}	36,74±2,49 ^{bcdA}	38,75±4,26 ^{bcA}	42,35±4,22 ^{abA}	49,20±5,01 ^{aA}	51,44±1,82 ^{aA}
D2	26,62±1,73 ^a	25,42±1,74 ^{ab}	23,43±1,26 ^{abD}	22,01±1,12 ^{bc}	24,68±1,07 ^{abC}	21,34±1,22 ^{bc}	15,60±1,51 ^{cd}
D3	21,23±0,78 ^c	25,92±3,19 ^c	25,23±1,58 ^{cd}	34,96±5,58 ^{ba}	38,61±1,14 ^{baB}	48,40±3,84 ^{aA}	52,95±2,49 ^{aA}
D4	28,14±0,94 ^a	28,07±1,93 ^a	24,64±1,47 ^{abCD}	21,75±1,81 ^{bc}	18,43±1,19 ^{cd}	18,02±1,01 ^{cd}	18,75±0,85 ^{cd}
D5	27,59±1,96 ^d	28,22 ±1,83 ^{cd}	30,65±1,08 ^{cdB}	32,14±1,06 ^{bcAB}	34,76 ±1,13 ^{bb}	36,19±0,90 ^{bb}	40,27±1,16 ^{ab}
D6	26,08±4,56 ^c	25,40±1,11 ^c	29,59±0,84 ^{cd}	35,90±1,82 ^{ba}	37,74±0,83 ^{abAB}	41,75±1,95 ^{abAB}	42,84±1,53 ^{ab}
K	26,41±1,68	27,54±0,91	26,62±2,16 ^{BCD}	26,85±0,96 ^{BC}	27,72±1,74 ^C	25,77± 1,23 ^C	27,25±2,03 ^C

Her bir parametre için ^{abcd}: Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki istatistiksel fark önemlidir $p \leq 0,05$

^{ABCD}: Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki istatistiksel fark önemlidir $p \leq 0,05$

Deneme I (D1) : Yemin içeriğinde 130,26 ppm çinko klorür ve 100.012 ppm krom sülfat bulunmaktadır

Deneme II (D2): Yemin içeriğinde 210,26 ppm çinko klorür ve 0.012 ppm krom sülfat bulunmaktadır.

Deneme III (D3: Yemin içeriğinde 210.26 ppm çinko klorür ve 100.012 ppm krom sülfat bulunmaktadır.

Deneme IV (D4): Yemin içeriğinde 130.26 ppm çinko klorür ve 0.020 ppm krom sülfat bulunmaktadır.

Deneme V (D5): Yemin içeriğinde 35.26 ppm çinko klorür ve 0.020 ppm krom sülfat bulunmaktadır.

Deneme VI (D6): Yemin içeriğinde 35.26 ppm çinko klorür ve 0.012 ppm krom sülfat bulunmaktadır.

Kontrol (K): Yemin içeriğinde 130.26 ppm çinko klorür ve 0.012 ppm krom sülfat bulunmaktadır.

4.4. Plazma Glutasyon Peroksidaz Düzeyleri

Kontrol ve deneme gruplarında bulunan hayvanların plazma glutasyon peroksidaz düzeyleri tablo 4-4'de gösterilmiştir.

GSH-Px düzeylerinin K grubunda anlamlı farklılık göstermemesine karşın D1, D3, D5 ve D6 gruplarında giderek yükseldiği, D2 ve D4 gruplarında ise giderek düştüğü gözlenmiştir.

Grup içi yapılan karşılaştırmalarda; 0. günde D2 ve D4 grupları, 14. günde D2 grubu, 28., 42. ve 56 günlerde D1 grubu, 70. ve 84. günlerde D1, D3, D5 ve D6 gruplarının istatistiki anlamda en yüksek değerlere ulaştıkları saptanmıştır ($p \leq 0,05$). Kontrol grubunda ise grup içi karşılaştırmada istatistiki olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

Gruplar arası karşılaştırmada; 14. günde D5 ve D6 grupları, 28., 42., 56., 70. ve 84. günlerde D1 grubu diğer gruplardan önemli derecede yüksek bulunmuştur ($p \leq 0,05$). 0. günde alınan kanlarda bakılan Glutasyon Peroksidaz düzeylerinde tüm gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

Tablo 4-4:Araştırma süresince kontrol ve deneme gruplarının GSH-Px (U/ l) değerlerinin karşılaştırılması (ort ± SH)

	0. Gün	14. Gün	28. Gün	42. Gün	56. Gün	70. Gün	84. Gün
D1	6,54±0,49 ^b	10,56±1,48 ^{bAB}	20,15±3,47 ^{aA}	24,52±4,31 ^{aA}	24,85±3,85 ^{aA}	27,02±1,56 ^{aA}	28,00±1,95 ^{aA}
D2	8,84±1,55 ^a	7,31±1,20 ^{aBC}	6,71±0,86 ^{abC}	3,97±0,81 ^{bcC}	3,72±0,61 ^{cC}	3,02±0,64 ^{cC}	3,63±0,89 ^{cC}
D3	5,17±0,65 ^c	5,75±0,94 ^{cC}	9,54±1,50 ^{bcBC}	13,59±2,30 ^{abB}	17,08±1,63 ^{abB}	18,01±4,19 ^{aB}	19,18±3,26 ^{aB}
D4	7,06±1,30 ^a	6,32±0,94 ^{abBC}	4,17±0,78 ^{bcC}	3,05±0,38 ^{cC}	2,71±0,53 ^{cC}	3,62±0,84 ^{cC}	3,33±0,58 ^{cC}
D5	7,18±1,21 ^c	12,64 ±2,95 ^{bcA}	15,02±1,15 ^{abcAB}	16,45±1,41 ^{abcB}	19,33 ±1,34 ^{abB}	22,24±4,34 ^{aAB}	22,53±5,31 ^{aAB}
D6	8,47±1,78 ^d	12,36±1,19 ^{cdA}	15,85±1,60 ^{bcAB}	17,83±1,52 ^{abB}	17,80±1,92 ^{abB}	21,23±0,78 ^{aAB}	21,27±0,66 ^{aAB}
K	6,97±0,98	6,60±1,10 ^{BC}	5,88±0,88 ^C	6,40±0,48 ^C	5,96±0,44 ^C	7,13±0,43 ^C	6,93±0,63 ^C

Her bir parametre için ^{abcd}: Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki istatistiksel fark önemlidir $p \leq 0,05$

^{ABCD}: Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki istatistiksel fark önemlidir $p \leq 0,05$

Deneme I (D1) : Yemin içeriğinde 130,26 ppm çinko klorür ve 100.012 ppm krom sülfat bulunmaktadır

Deneme II (D2): Yemin içeriğinde 210,26 ppm çinko klorür ve 0.012 ppm krom sülfat bulunmaktadır.

Deneme III (D3): Yemin içeriğinde 210,26 ppm çinko klorür ve 100.012 ppm krom sülfat bulunmaktadır.

Deneme IV (D4): Yemin içeriğinde 130,26 ppm çinko klorür ve 0.020 ppm krom sülfat bulunmaktadır.

Deneme V (D5): Yemin içeriğinde 35,26 ppm çinko klorür ve 0.020 ppm krom sülfat bulunmaktadır.

Deneme VI (D6): Yemin içeriğinde 35,26 ppm çinko klorür ve 0.012 ppm krom sülfat bulunmaktadır.

Kontrol (K): Yemin içeriğinde 130,26 ppm çinko klorür ve 0.012 ppm krom sülfat bulunmaktadır.

4.5. Plazma Glukoz Düzeyleri

Kontrol ve deneme gruplarında bulunan hayvanların plazma glukoz düzeyleri tablo 4-5’de gösterilmiştir.

Glukoz düzeyleri incelendiği zaman;

K grubunda 42. gün hariç gruplar arasında istatistikî açıdan önemli bir değişim olmadığı,

D1 grubunda istikrarlı bir düşüş olduğu,

D2 grubunun 0 ile 14. günlerde düşük olan değerlerinin 28. günden itibaren arttığı ardından gelen 42. ve 56. günlerde düştüğü ve daha sonra yükselerek 84. günde en yüksek değere ulaştığı,

D3 grubunda 14. ve 42. günler arasında giderek düşen düzeylerin 84. günde en yüksek düzeye ulaştığı,

D4 grubunda 84. günde kan glukoz düzeylerinin 310,48 mg/dl düzeyine çıktığı,

D5 grubunda 42. gün haricinde kan glukoz düzeylerinin giderek yükseldiği,

D6 grubunda kan glukoz düzeylerinin istikrarlı bir şekilde yükseldiği gözlenmiştir.

Glukoz düzeylerinin K grubunda sadece 42. günde anlamlı bir farklılık göstermesine karşın D6 grubunda giderek yükseldiği, D1 grubunda ise giderek düştüğü gözlenmiştir. Diğer gruplarda ise glukoz düzeylerine ilişkin değerlerde dalgalanmalar görülmüştür.

Grup içi yapılan karşılaştırmalarda; 42. günde D4 grubu, 70. günde D5 grupları ve 84. günde D5 ve D6 gruplarının istatistikî anlamda en yüksek değerlere ulaştıkları saptanmıştır ($p \leq 0,05$). D1, D2, D3 ve K gruplarında yapılan grup içi karşılaştırmalarda ise istatistikî olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

Gruplar arası karşılaştırmada; 42. günde D4, 56. günde D6 grubu, 70. günde D5 ve D6 grupları ve 84. günde ise D4 grubu diğer gruplardan önemli derecede yüksek bulunmuştur ($p \leq 0,05$). 0., 14., ve 28. günlerde alınan kanlarda bakılan glukoz düzeylerinde tüm gruplar arasında istatistikî olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

Tablo 4-5:Araştırma süresince kontrol ve deneme gruplarının Glukoz (mg/ dl) değerlerinin karşılaştırılması (ort ± SH)

	0. Gün	14. Gün	28. Gün	42. Gün	56. Gün	70. Gün	84. Gün
D1	124,52±8,76	123,28±11,17	120,72±7,02	119,73±7,80 ^C	117,98±8,54 ^C	116,79±8,11 ^B	118,68±13,60 ^B
D2	109,05±10,68	105,43±7,52	123,61±9,32	116,05±10,00 ^{BC}	111,85±12,04 ^C	123,36±8,12 ^B	136,08±12,93 ^{AB}
D3	112,43±10,63	134,00±4,23	117,87±8,15	103,87±5,66 ^C	124,02±3,87 ^{BC}	121,34±4,96 ^B	135,19±23,35 ^{AB}
D4	125,73±7,40 ^b	112,25±11,66 ^b	116,49±18,54 ^b	154,93±5,53 ^{aA}	106,04±8,00 ^{bC}	117,50±8,82 ^{bB}	110,48±6,03 ^{abAB}
D5	106,15±11,02 ^c	122,88 ±9,61 ^c	128,91±5,41 ^{bc}	117,23±2,99 ^{cBC}	145,98 ±3,72 ^{abAB}	152,98±7,54 ^{aA}	159,79±7,10 ^{aAB}
D6	115,69±5,53 ^c	124,87±7,52 ^c	124,66±9,11 ^c	139,51±10,67 ^{bcAB}	156,14±7,14 ^{abA}	160,15±6,38 ^{abA}	166,79±6,56 ^{aA}
K	115,37±6,60	113,89±9,27	118,90±11,38	125,29±8,33 ^{BC}	116,85±6,70 ^C	120,83±4,85 ^B	122,13±2,84 ^B

Her bir parametre için ^{abcd}: Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki istatistikî fark önemlidir $p \leq 0,05$

^{ABCD}: Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki istatistikî fark önemlidir $p \leq 0,05$

Deneme I (D1) : Yemin içeriğinde 130,26 ppm çinko klorür ve 100.012 ppm krom sülfat bulunmaktadır

Deneme II (D2): Yemin içeriğinde 210,26 ppm çinko klorür ve 0.012 ppm krom sülfat bulunmaktadır.

Deneme III (D3): Yemin içeriğinde 210.26 ppm çinko klorür ve 100.012 ppm krom sülfat bulunmaktadır.

Deneme IV (D4): Yemin içeriğinde 130.26 ppm çinko klorür ve 0.020 ppm krom sülfat bulunmaktadır.

Deneme V (D5): Yemin içeriğinde 35.26 ppm çinko klorür ve 0.020 ppm krom sülfat bulunmaktadır.

Deneme VI (D6): Yemin içeriğinde 35.26 ppm çinko klorür ve 0.012 ppm krom sülfat bulunmaktadır.

Kontrol (K): Yemin içeriğinde 130.26 ppm çinko klorür ve 0.012 ppm krom sülfat bulunmaktadır.

4.6. Serum İnsülin Düzeyleri

Kontrol ve deneme gruplarında bulunan hayvanların serum insülin düzeyleri tablo 4-6'de gösterilmiştir.

İnsülin düzeyleri incelendiği zaman ;

K grubunda 14. ve 56. günler arasında devamlı yükselen değerlerin 70. günde bir düşüş gösterdiği son günde ise en yüksek değere ulaştığı,

D1 grubunda 42. gün hariç değerlerin daima yükseldiği,

D2 grubunda düzeylerin anlamlı bir şekilde değişmediği,

D3 grubunda düzeylerin sürekli bir şekilde yükseldiği,

D4 grubunda düzeylerin inişli çıkışlı bir grafik izlediği,

D5 grubunda başlangıçta değişmeyen düzeylerin 28. günde pik yaptığı daha sonra azalarak 42. ve 56. günlerde yatay bir seyir izlediği, 70. günde başlangıç düzeyine geldiği ve 84. günde ise yükseldiği,

D6 grubunda 0. ile 14. günlerde yatay bir seyir izleyen düzeylerin daha sonra yükseldiği ve 28. ve 42. günler arasında değişmediği ve 56. günde pik yüksekliğe ulaştıktan sonra 70 ve 84. günlerde düştüğü görülmüştür.

Grup içi yapılan karşılaştırmalarda; 28. günde D5, 42. günde D3, 56. günde D3 ve D6, 70. günde D3 ve 84. günde D1, D3 ve K gruplarının istatistiki anlamda en yüksek değerlere ulaştıkları saptanmıştır ($p \leq 0,05$). D2 ve D4 grubunda ise yapılan grup içi karşılaştırmada istatistiki olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

Gruplar arası karşılaştırmada; 0. günde K, 56. günde D6, 70. günde D3 ve D6 ve 84. günde D1 grupları diğer gruplardan önemli derecede yüksek bulunmuştur ($p \leq 0,05$). 14. ve 42. günlerde alınan kanlarda bakılan insülin düzeylerinde tüm gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

Tablo 4-6:Araştırma süresince kontrol ve deneme gruplarının İnsülin ($\mu\text{U} / \text{ml}$) değerlerinin karşılaştırılması (ort \pm SH)

	0. Gün	14. Gün	28. Gün	42. Gün	56. Gün	70. Gün	84. Gün
D1	7,70 \pm 1,03 ^{bAB}	7,13 \pm 0,74 ^b	8,49 \pm 1,06 ^{bAB}	6,71 \pm 0,98 ^b	9,94 \pm 1,92 ^{bB}	9,94 \pm 1,33 ^{bAB}	16,06 \pm 2,41 ^{aA}
D2	7,18 \pm 0,54 ^{AB}	7,30 \pm 1,08	7,53 \pm 0,57 ^B	6,42 \pm 0,47	7,84 \pm 1,02 ^B	7,64 \pm 1,27 ^B	7,51 \pm 0,60 ^B
D3	6,53 \pm 0,86 ^{bB}	6,51 \pm 0,89 ^b	9,45 \pm 0,93 ^{abAB}	11,03 \pm 1,56 ^a	11,13 \pm 1,12 ^{aB}	11,66 \pm 0,95 ^{aA}	12,41 \pm 2,51 ^{aAB}
D4	8,86 \pm 0,75 ^{AB}	6,87 \pm 0,31	9,84 \pm 1,57 ^{AB}	6,92 \pm 1,02	9,47 \pm 1,19 ^B	7,52 \pm 1,22 ^B	9,15 \pm 1,46 ^{AB}
D5	6,96 \pm 0,84 ^{bcAB}	6,58 \pm 0,73 ^c	11,12 \pm 1,15 ^{aA}	9,13 \pm 1,47 ^{abc}	9,28 \pm 0,93 ^{abc B}	6,93 \pm 0,97 ^{bc B}	10,44 \pm 1,90 ^{abAB}
D6	7,59 \pm 0,66 ^{bAB}	7,62 \pm 0,88 ^b	10,86 \pm 1,02 ^{abA}	10,77 \pm 3,00 ^{ab}	15,21 \pm 2,17 ^{aA}	11,66 \pm 1,87 ^{abA}	11,34 \pm 2,56 ^{abAB}
K	9,01 \pm 0,38 ^{abcA}	5,50 \pm 0,58 ^d	6,83 \pm 0,77 ^{bcdB}	6,13 \pm 0,92 ^{cd}	9,69 \pm 1,00 ^{ab B}	7,30 \pm 0,84 ^{abcd B}	10,07 \pm 2,24 ^{aAB}

Her bir parametre için ^{abcd}: Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki istatistikî fark önemlidir $p \leq 0,05$

^{ABCD}: Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki istatistikî fark önemlidir $p \leq 0,05$

Deneme I (D1) : Yemin içeriğinde 130,26 ppm çinko klorür ve 100.012 ppm krom sülfat bulunmaktadır

Deneme II (D2): Yemin içeriğinde 210,26 ppm çinko klorür ve 0.012 ppm krom sülfat bulunmaktadır.

Deneme III (D3): Yemin içeriğinde 210.26 ppm çinko klorür ve 100.012 ppm krom sülfat bulunmaktadır.

Deneme IV (D4): Yemin içeriğinde 130.26 ppm çinko klorür ve 0.020 ppm krom sülfat bulunmaktadır.

Deneme V (D5): Yemin içeriğinde 35.26 ppm çinko klorür ve 0.020 ppm krom sülfat bulunmaktadır.

Deneme VI (D6): Yemin içeriğinde 35.26 ppm çinko klorür ve 0.012 ppm krom sülfat bulunmaktadır.

Kontrol (K): Yemin içeriğinde 130.26 ppm çinko klorür ve 0.012 ppm krom sülfat bulunmaktadır.

4.7. Plazmada Aspartat Aminotransferaz Düzeyleri

Kontrol ve deneme gruplarında bulunan hayvanların plazma aspartat aminotransferaz düzeyleri tablo 7’de gösterilmiştir.

AST düzeyleri incelendiği zaman;

K grubunda sadece 56. günde anlamlı bir düşüş olduğu,

D1 grubunda istikrarlı bir artış olduğu,

D2 grubunda 14. gün hariç istikrarlı bir düşüş olduğu,

D3 grubunda 0 ile 28. günler arası istikrarlı bir artış olduğu daha sonra ise herhangi bir değişiklik olmadığı,

D4 grubunda anlamsız şekilde dalgalanmalar görüldüğü,

D5 grubunda 0 ile 28. günler arasında istikrarlı artış ve ardından 28 ile 56. günler arasında düştüğü, 70. günde tekrar arttığı ve 84. günde en düşük düzeye ulaştığı,

D6 grubunda ise istikrarlı bir artış olduğu görülmüştür.

Grup içi yapılan karşılaştırmalarda; 14. günde D4 ve 84. günde D1 ve D6 gruplarının istatistiki anlamda en yüksek değerlere ulaştıkları saptanmıştır ($p \leq 0,05$). D2, D3, D5 ve K grubunda ise grup içi karşılaştırmada istatistiki olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

Gruplar arası karşılaştırmada; 42. günde D1 ve D6 grupları, 56. günde D6 grubu, 70. ve 84. günlerde D1 grubu diğer gruplardan önemli derecede yüksek bulunmuştur ($p \leq 0,05$). 0., 14. ve 28. günlerde alınan kanlarda bakılan aspartat aminotransferaz düzeylerinde tüm gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır

Tablo 4-7:Araştırma süresince kontrol ve deneme gruplarının AST (U/ l) değerlerinin karşılaştırılması (ort ± SH)

	0. Gün	14. Gün	28. Gün	42. Gün	56. Gün	70. Gün	84. Gün
D1	141,11± 10,14 ^c	155,87±10,32 ^c	156,48±4,40 ^c	159,74±9,74 ^{cA}	168,75±11,47 ^{bc}	187,43±4,27 ^{abA}	204,92±2,74 ^{aA}
D2	158,80±16,22	146,07±8,84	157,89±6,62	146,89±8,77 ^{AB}	149,13±11,53 ^{ABC}	146,34±12,40 ^{BC}	131,87±11,24 ^C
D3	135,38±12,53	146,63±13,65	154,72±15,99	149,00±12,28 ^{AB}	144,93±11,12 ^{ABC}	149,71±10,83 ^{BC}	147,16±8,56 ^{BC}
D4	138,77±17,97 ^{ab}	159,87±16,33 ^a	156,50±2,58 ^{ab}	125,91±11,89 ^{abB}	147,74±5,87 ^{abABC}	137,88±9,43 ^{abC}	114,00±10,33 ^{bC}
D5	133,69±4,14	146,75 ±12,95	152,18±9,55	141,94±10,00 ^{AB}	138,73 ±8,69 ^{BC}	148,02±11,64 ^{BC}	128,26±2,23 ^C
D6	144,36±4,96 ^b	143,46±9,22 ^b	148,78±14,16 ^{ab}	170,50±7,10 ^{abA}	174,15±13,43 ^{abA}	173,84±8,07 ^{abAB}	180,37±15,29 ^{aAB}
K	141,93±15,47	137,92±14,52	145,83±6,32	141,11±4,26 ^{AB}	130,68±9,05 ^C	151,90±16,47 ^{BC}	146,39±30,65 ^{BC}

Her bir parametre için ^{abcd}: Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki istatistiksel fark önemlidir $p \leq 0,05$

^{ABCD}: Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki istatistiksel fark önemlidir $p \leq 0,05$

Deneme I (D1) : Yemin içeriğinde 130,26 ppm çinko klorür ve 100.012 ppm krom sülfat bulunmaktadır

Deneme II (D2): Yemin içeriğinde 210,26 ppm çinko klorür ve 0.012 ppm krom sülfat bulunmaktadır.

Deneme III (D3): Yemin içeriğinde 210.26 ppm çinko klorür ve 100.012 ppm krom sülfat bulunmaktadır.

Deneme IV (D4):Yemin içeriğinde 130.26 ppm çinko klorür ve 0.020 ppm krom sülfat bulunmaktadır.

Deneme V (D5):Yemin içeriğinde 35.26 ppm çinko klorür ve 0.020 ppm krom sülfat bulunmaktadır.

Deneme VI (D6): Yemin içeriğinde 35.26 ppm çinko klorür ve 0.012 ppm krom sülfat bulunmaktadır.

Kontrol (K): Yemin içeriğinde 130.26 ppm çinko klorür ve 0.012 ppm krom sülfat bulunmaktadır.

5. TARTIŞMA

5.1. Çinkonun Antioksidan Mekanizmayla İlişkisi

Çinko eksikliği nedeniyle şekillenen antioksidan savunma sistemindeki bozukluklar, oksidatif bozukluğun gelişimi açısından kritiktir ve bazı araştırmacılar çinko yetersizliği durumlarında farklı dokularda SOD aktivitesinde düşüş olduğunu saptamışlardır (82, 106, 147).

SOD normal enzim aktivitesi için çinko ve bakıra ihtiyaç duyan önemli bir hücre içi enzimdir. Bakır kataliz için gerekliyken, çinko normal enzim aktivitesi için gereklidir (102). Yüksek miktarlarda çinko alımı, bakır emilimi ve organizmadaki bakır düzeyinde azalmaya sebep olduğu için Cu, Zn-SOD aktivitesinde de azalmalar şekillenmektedir (3).

Besi sığırı, süt inekleri, domuz, at, koyun, keçi, tavuk ve hindilerin rasyonlarında sırasıyla 30, 40, 50, 40, 20-33, 40-75, 40-50 ve 40-75 ppm miktarlarında çinko bulunması gerekmektedir (158).

Sıçanların maksimal büyüme için diyetle 10-20 mg/kg çinko almaları gerektiği ifade edilmektedir (16).

Farelerle yapılan bir çalışmada, hayvanlara 1,6 ppm çinko bulunan yem verilerek yetersizlik oluşturulmuş ve çalışma sonucunda MDA miktarında yükselme görülürken SOD aktivitesinde azalma görüldüğü bildirmişlerdir (30).

Shaheen ve ark. (120), 0,5 ppm çinko içeren yemle beslenerek çinko yetersizliği yaratılan sıçanların plazma MDA düzeyini kontrol grubuna göre yüksek ve eritrosit SOD düzeylerini kontrol grubuna göre daha düşük saptamışlardır. Yine aynı çalışmada çinko yetersizliği oluştuktan sonra yemlerine 100 ppm ve 1000 ppm çinko ilave edilen sıçanların plazma MDA ve eritrosit SOD düzeylerinin düşerek kontrol grubunun değerlerine yaklaştığını bildirmişlerdir. Bu sonuçlara paralel olarak Yousef ve ark. (158) yaptıkları çalışmada çinko yetersizliği olan sıçanların çeşitli dokularındaki MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre yüksek olduğunu tespit etmişlerdir.

Yaptığımız çalışmada, çinko noksan yemle beslenen grupta (D6) MDA ve SOD düzeylerinin sürekli olarak yükseldiği görülmüştür. MDA düzeyleri bakımından

yukarıda bildirilen çalışmalarla arasında uyum olduğu halde, SOD düzeyleri bakımından herhangi bir paralelliğin söz konusu olmadığı görülmektedir.

Buna karşın Mariani ve ark. (82) yaptıkları çalışmada plazma çinko eksikliğine ilişkili olarak SOD aktivitesinde yükselme tespit etmişlerdir. Yapılan çalışmada ise plazma çinko düzeylerine bakılmamıştır. Ancak çinko noksan yemle beslenmeye bağlı olarak plazma çinko düzeylerinin düşmesi kaçınılmazdır. Bu nedenle yapılan iki çalışma arasında SOD değerleri bakımında bir paralelliğin olduğu öne sürülebilir.

Chen ve ark. (37) yaptıkları çalışmada 5 hafta süre ile çinko eksik yem vererek çinko eksikliği yaratılan sıçanların böbrek glomerular hücrelerindeki MDA, GSH-Px ve SOD düzeylerinin yükseldiğini fakat CAT düzeyinde herhangi bir değişiklik olmadığını tespit etmişlerdir. Yapılan çalışmada ise, adı geçen 4 parametrenin de yükseldiği görülmüştür. MDA, GSH-Px ve SOD düzeyleri açısından sonuçlar arasında bir paralellik olduğu, CAT düzeyleri açısından bir uyum olmadığı görülmektedir. Ancak çinko noksanlığına bağlı olarak oksidatif stres şekillenmektedir. Oksidatif stres sonucu oluşan süperoksit anyonları SOD tarafından H_2O_2 'ye dönüştürülmekte ve H_2O_2 de CAT ve GSH-Px tarafından detoksifiye edilmektedir (82). Bu çalışmada SOD enzim düzeyinin yüksek çıkmasına bağlı olarak CAT'ın da yükselmesinin gerektiğine inanılmaktadır.

Yapılan bu çalışmada, çinko eksik yemle beslenen hayvanların CAT, MDA, SOD ve GSH-Px düzeyleri çalışmanın sonucunda kontrol grubuna kıyasla yüksek bulunmuştur ($p \leq 0,05$). Çalışmada lipid peroksidasyonun göstergesi olan MDA düzeyi ve antioksidan enzimlerin kontrol grubuna göre daha yüksek bulunması, Sullivan ve ark.'nın (134), sıçanlarda yemle yetersiz çinko alımının in vitro ve in vivo olarak lipid peroksidasyonunu arttırdığı görüşünü desteklemekte ve artan lipid peroksidasyona yanıt olarak antioksidan enzim düzeylerinde artış meydana geldiğini düşündürmektedir .

Bazı çalışmalarda, akut çinko zehirlenmesinin genellikle gıda zehirlenmesi vakaları sonucunda şekillendiğini bildirmişlerdir (31, 114). Doğada bir şekilde asidik yapıda bulunan içecek veya yiyecek uzun bir süre galvaniz kaplı yerlerde bekletildiği takdirde, kaplama bulunan çinkonun yiyecek veya içeceklerin yapısına girerek akut zehirlenmelere neden olabildiği de bildirilmiştir (114).

Ayrıca çinkonun yüksek miktarda ve uzun süreli uygulanmasının karaciğer, böbrek ve barsak gibi bazı organlarda metallotiyeinlerin oluşumuna sebep olduğu ve

bundan dolayı çinkonun dolaylı olarak antioksidan etkiye sahip olduğu bilinmektedir (77, 106).

Yemlerine 150 mg ilave edilerek, fazla miktarda çinko alması sağlanan sıçanlarla yapılan bir çalışmada, eritrosit SOD düzeyleri kontrol grubuna göre daha yüksek düzeylerde bulunmuştur (48). Yapılan çalışmada ise, yemine çinko ilave edilen grupta (D2) plazma SOD düzeyi kontrol grubundan daha düşük bulunmuştur. Çalışmalar arasında SOD düzeyleri açısından paralellik bulunmamıştır. Ancak söz konusu bu durumun her iki çalışmada yeme ilave edilen çinko bileşiklerinin farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Çünkü yapılan çalışmada yeme $ZnCl_2$ ilave edildiği halde adı geçen çalışmada ise $ZnSO_4$ kullanılmıştır. Sülfat artıklarının kuvvetli asidik özellik göstermeleri nedeni ile doku hasarına yol açacağı ve SOD düzeyini arttıracığı düşünülmektedir. Bu durumda, eğer gerek duyulursa yeme ilave edilecek olan çinkonun sülfat formunun kullanılmaması gerektiği ileri sürülebilir.

Shaheen ve ark. (120) ise çinko eksikliği oluşturulan sıçanların lipid peroksidasyon ve antioksidan enzim düzeylerinin yükseldiğini ve hemen ardından yemlerine 100 ppm ve 1000 ppm dozlarında çinko ilavesi ile eksiklik sırasında yükselen değerlerin düştüğünü saptamışlardır. Yeme çinko ilavesinin hepatik kromozom P450 enzim sistemi tarafından oluşturulan serbest radikal sentezini inhibe ettiğini ve bu nedenden dolayı MDA ve antioksidan enzim değerlerinde düşüş meydana geldiğini ileri sürmüşlerdir

Çalışma sonucunda yemlerine 80 ppm çinko ilave edilen sıçaların MDA düzeyleri ve SOD düzeyleri kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur ($p \leq 0,05$). Katalaz ve GSH-Px düzeylerinde ise istatistiki açıdan farklılık saptanamamıştır. MDA ve SOD değerlerindeki bu düşüş Shaheen ve ark. (120)' in çalışmasının sonuçlarını destekler niteliktedir ve yeme ilave edilen çinkonun serbest radikal sentezini inhibe ettiğini ve buna bağlı olarak antioksidan enzimlerin seviyelerinde düşüş meydana geldiğini düşündürmektedir.

5.2. Çinkonun AST ile İlişkisi

Karaciğerin iz element metabolizmasının regülasyonunda önemli rolü olduğu bilinmektedir. İz elementler bir çok metabolik yoldaki önemli enzimlerin kofaktörü olarak görev yaptığı için, bu elementlerin organizmadaki dağılımında bir değişim

gerçekleşmesi durumunda beslenmeye bağlı ve toksikolojik birçok çok probleme neden olmaktadır (126).

AST biyolojik süreçte amino asitlerin α -ketoasitlere dönüşümünü sağlayan ve bu dönüşüm sebebi ile Krebs döngüsü ve elektron transport zincirinin şekillenmesinde katkısı bulunan enzimlerden bir tanesidir. Bu sebeple karaciğer fonksiyon bozuklukları ve hasarının en önemli göstergelerindendir (121).

Yapılan çalışmalarda çinko yetersizliği olan sıçanlarda karaciğer dokusundaki AST düzeylerinin ve serum AST düzeylerinin kontrol grubuna oranla daha yüksek olduğu ileri sürülmüştür (70, 158).

Tekeli ve ark. (140), gavaj yolu ile 100, 500, 1000 ve 2000 ppm dozlarında çinko uygulanan sıçanlarda serum AST düzeylerini incelemiş ve uygulanan çinko düzeylerinin yükselmesine paralel olarak serum AST seviyelerinin de yükseldiğini saptamışlardır. Yapılan çalışmanın sonucunda ise çinko fazla yemle beslenen D2 grubunda hem günler arasında hem de kontrol grubuna göre serum AST değerleri açısından anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Tekeli ve ark. (140), yemlerle alınan çinkonun ancak % 15-30' nun barsaktan emilirken, gavaj yolu ile verilen çinkonun daha hızlı bir şekilde emilebileceğini bildirmişlerdir. Her iki çalışmada da aynı çinko bileşiği kullanıldığı halde sonuçlarının farklı olması, çinkonun gavaj yolu ile verilmesinin yemle verilmesine oranla karaciğerde daha yüksek tahribat yapabileceğini düşündürmektedir.

Bag ve ark. (17) sıçanlarla yaptıkları çalışmada yemlerine çinko ilave edilmesine bağlı olarak serum AST düzeylerinin arttığını bildirmişlerdir. Yapılan çalışmada kullanılan çinko miktarı adı geçen çalışmada kullanılanlardan daha düşük düzeyde olduğundan dolayı sonuçlar arasında herhangi bir paralellik bulunmamaktadır.

Yapılan çalışma sonucunda çinko fazla yemle beslenen ve çinko eksik yemle beslenen sıçanların serum AST düzeylerinde istatistiki açıdan farklılık saptanamamıştır. Bunun yemle verilen çinko miktarının karaciğerde dejenerasyon yapacak düzeyde olmadığından kaynaklandığı düşünülmektedir.

5.3. Çinkonun Glukoz ve İnsülin ile ilişkisi

Normal insülin metabolizması için çinko gerekli bir elementtir. Bu sebeple, vücuttaki çinko miktarı, insülinin üretimi, saklanması ve salgılanmasında etkin rol oynamaktadır. Sitolografik çalışmalar insülin kristalinde çinkonun mevcut olduğunu

göstermiştir (şekil 2.2). Ayrıca yapılan mikroskopik çalışmalar, çinko eksikliği olan hayvanların pankreas β hücrelerinin granülasyonunun ve histokimyasal olarak saptanabilen insülin miktarının azaldığını göstermiştir (71).

Kechrid ve ark. (70) yaptıkları çalışmada, yemlerine 1 mg/kg dozunda çinko ilave ettikleri sıçanların kan glukoz düzeylerini kontrol gruplarına kıyasla yüksek bulmuşlardır.

Tobia ve ark. (141), sıçanlarla yaptıkları çalışmada, yemlerine çok düşük (1 ppm) ve çok yüksek dozda (1000 ppm) çinko ilave etmişler ve serum glukoz ve insülin düzeylerini incelemişlerdir. Yemlerine yüksek dozda çinko ilave edilen sıçanların serum insülin düzeyleri, düşük dozda ilave edilenlere oranla daha yüksek ve buna paralel olarak da serum glukoz düzeyleri daha düşük bulunmuştur.

Yapılan çalışmada ise, yeme çinko ilave edilen grubun glukoz ve insülin düzeylerinde istatistiki açıdan anlamlı bir farklılık saptanmadığı halde kontrol grubuna kıyasla glukoz düzeyinin yüksek, insülin düzeyinin ise düşük olduğu dikkati çekmektedir. Bu durumun Tobia ve ark. (141)' nin da belirttiği gibi çinkonun pankreatik insülin sekresyonunu inhibe etmesinden ve buna bağlı olarak dokulara glukoz girişinin azalması ve kan glukoz düzeylerinin yükselmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

El Hendy ve ark. (44) yaptıkları çalışmada yemlerinde çok düşük dozda çinko (3.8 mg/kg=3.8 ppm) bulunan sıçanlardaki plazma glukoz miktarlarının kontrol grubuna oranla çok daha düşük seviyelerde olduğunu belirtmişlerdir.

Yapılan çalışmada ise, çinko eksik yemle beslenen sıçanların serum glukoz düzeyleri kontrol grubuna kıyasla yüksek bulunmuştur ($p \leq 0,05$). Sonuçlar arasında paralellik görülmemektedir. Bu durumun, çinkonun insülin sentezinde ve yapısında önemli bir rolü olduğu ve insülin sentezindeki aksamalardan dolayı serum glukoz düzeyinin değişebildiğinden dolayı çinko noksanlığına bağlı olarak insülin sentezinin dengesiz bir şekilde gerçekleştiğini gösterdiğine inanılmaktadır (48).

5.4. Kromun Antioksidan Mekanizmayla İlişkisi

Kromun GTF' nin yapısına katılarak glukoz metabolizmasını etkilediği bilinmektedir. Bu noktadan yola çıkarak yapılan in vitro çalışmalar göstermiştir ki; glukoz metal-katalizörlü oto-oksidasyon reaksiyonlarına maruz kalmakta ve bu

reaksiyon sonucu oluşan yüksek reaktif radikaller biyolojik membranlardaki doymamış yağ asitlerine saldırarak lipid peroksidasyonun artmasına sebep olmaktadır (50).

Krom eksikliğine bağlı olarak şekillenen hiperglisemi; toksik peroksitlerin üretiminin artması, glukoz oto-oksidasyonu ve fruktoz ile sorbitol düzeylerinin yükselmesi gibi çeşitli yollar aracılığıyla hücrelerde oksidatif strese neden olmaktadır. Burada sentezlenen fruktoz ve sorbitolün *aldoz-redüktaz* ve *sorbitol dehidrojenaz* yollarıyla indirgenmesi sırasında da serbest radikal sentezi şekillenmektedir (98).

Yapılan bir çalışmada 1 mM Cr (III)' un 10 mM hidrojen peroksit ile, fizyolojik pH' da inkübasyonu sonucu hidroksil serbest radikallerini oluşturduğu bildirilmiştir (79).

Preuss ve ark. (108) yemlerine 5 ppm dozunda krom ilave edilen sıçanlarla yaptıkları çalışmada MDA düzeylerini kontrol grubuna kıyasla daha düşük saptamışlardır.

Acharya ve ark. (3) ise yaptıkları çalışmada intraperitoneal olarak CrO₃ enjekte ettikleri farelerde, çalışma sonucunda lipid peroksidasyon düzeylerini yükseldiğini saptamışlardır. Scibior ve ark. (116) da, krom verilen sıçanlarda, karaciğer ve böbreklerde meydana gelen hasardan dolayı lipid peroksidasyonun göstergesi olan MDA'nın yükseldiğini saptamışlardır.

Preuss ve ark.'nın (108) yaptığı çalışma ile yapılan çalışma arasında bulgular bakımından bir paralellik yoktur. Ancak, yapılan çalışmada ise krom fazla yemle beslenen (D1) gruba verilen krom miktarı 100 ppm'dir. İki çalışmada kullanılan krom düzeyleri arasında 20 kat farklılık vardır. Yapılan çalışmada 100 ppm kromun süregelen bir şekilde fazla verilmesi ile plazma MDA düzeylerinin de sürekli ve istikrarlı bir şekilde arttığı gözlenmiştir. Sonuçlar arasındaki bu farklılığın doza bağlı olarak gerçekleştiği düşünülmektedir. Yeme 100 ppm ve daha yüksek miktarlarda krom ilavesinin doku harabiyetini ve lipid peroksidasyonunu arttıracak ileri sürülebilir.

Adı geçen diğer iki çalışmaya paralel olarak, yapılan çalışmada yeme krom ilave edilerek beslenen hayvanların CAT, MDA, SOD ve GSH-Px düzeyleri kontrol grubuna kıyasla yüksek bulunmuştur ($p \leq 0,05$). Yemine çinko ve krom birlikte ilave edilen hayvanların CAT düzeylerinde istatistiki açıdan anlamlı bir farklılık saptanmamasına karşın, MDA, SOD ve GSH-Px düzeyleri kontrol grubuna kıyasla yüksek bulunmuştur

($p \leq 0,05$). Cr^{+3} un hayvanların karaciğer ve böbreklerinde lipid peroksidasyonuna neden olarak antioksidan enzimleri yükselttiği düşünülmektedir (116).

Bu çalışmada ise, krom eksik yemle ve çinko ve kromun beraber eksikliğinin bulunduğu yemle beslenenlerde MDA, SOD, CAT ve GSH-Px düzeylerinde kontrol grubuna kıyasla istatistiki açıdan anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

5.5. Kromun AST ile İlişkisi

Bir çok geçiş elementi gibi krom da, insan ve hayvanlar için düşük miktarlarda gereklidir. Fakat yüksek konsantrasyonlarda olduğu zaman bir çok sistem için toksik etki gösterir (116).

Serum AST düzeyinde meydana gelen değişiklikler hücrenin durumu ve hücre membran geçirgenliğindeki değişimlerin göstergesi olarak kabul edilmektedir (125).

Acharya ve ark. (2) sıçanların içme sularına krom ilave ederek yaptıkları çalışmada, serum AST düzeylerinde artış olduğunu saptamışlardır. Solis-Heredia ve ark. (128) ise değişik dozlarda krom enjeksiyonu yapmışlar ve doz artışına paralel olarak serum AST düzeyinde yükselme olduğunu bildirmişlerdir.

Eren ve ark. (45), broylerlerde yemlerine 20 ppm krom ilave ederek yaptıkları çalışmada krom ilavesinin serum AST düzeylerini yükselttiğini saptamışlardır

Adı geçen çalışmalara benzer olarak, bu çalışmada yeme krom ilave edilerek beslenen hayvanların serum AST düzeyleri kontrol grubuna kıyasla yüksek bulunmuştur ($p \leq 0,05$). Krom eksik yemle beslenenler (D4) ve çinko ile kromun beraber eksikliğinin bulunduğu yemle beslenenlerde (D5) kontrol grubuna göre istatistiki açıdan anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Krom ilavesine bağlı olarak serum AST düzeyinin yükselmesinin, krom sülfatta bulunan sülfatın karaciğerde yaptığı hasara bağlı olarak, biyomembranlardaki fonksiyonel enzimlerin sentezi ve salımının artmasından kaynaklandığı öne sürülebilir (125).

5.6. Kromun Glukoz ve İnsülin ile İlişkisi

Krom, insülin-duyarlı hücre reseptör sayısı veya bağlama etkinliğini arttırarak insülinin aktivitesini ayarlayabilmektedir. İnsülin anabolizmanın stimülatörü ve katabolizmanın inhibitörü olarak rol oynadığı için, kan glukozunun hücreler tarafından alımı ve kullanımını arttırmaktadır (8).

Şahin ve ark. (137) bildircinlarla yaptıkları çalışmada hayvanların yemlerine 400 µg/kg krom ilave etmişler ve serum glukoz düzeylerinin kontrol grubuna oranla düştüğünü bildirmişlerdir. Yapılan çalışmada ise serum glukoz düzeylerinin krom fazla yemle beslenenlerde 0. güne göre diğer günlerde istatistiki açıdan önemsiz ama daha düşük olduğu bulunmuştur. Bu yönü ile iki çalışma arasındaki sonuçların birbirleri ile paralel olduğu ileri sürülebilir.

Preuss ve ark. (108) yemlerine 5 ppm dozunda krom ilave edilerek yaptıkları çalışmada, sıçanların glukoz düzeyinde istatistiki açıdan farklılık saptamamışlardır. Adı geçen bulgular ile çalışma arasında paralellik söz konusudur.

Kromun insülinin kofaktörü olarak görev yapmasından dolayı, organizmadaki krom aktivitesinin insülin fonksiyonları ile paralellik gösterdiği ve kromun insülinin aktivitesini arttırmasına karşın hiçbir zaman onun yerine geçemeyeceği öne sürülmektedir (104). Bu çalışmada krom fazla yem ile beslenen grupta insülin düzeylerinin gittikçe yükseldiği saptanmıştır. Bu bakımdan, bulunan sonuçlar, yukarıda verilen bilgilerle paralellik arz etmektedir. Krom noksan yemle beslenen grupta ise insülin düzeylerinin dalgalı bir seyir izledikleri görülmüştür. Bu durumun, krom noksanlığının insülin metabolizmasını bozmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Striffler ve ark. (133) krom eksik yemle beslenerek krom eksikliği yaratılan ratlarda yükselen kan glukoz düzeyine yanıt olarak, insülin sekresyonunun arttığını tespit etmişlerdir. Yapılan çalışma ile bu çalışma arasında sonuçlar açısından benzerlik yoktur.

Araştırma süresince krom ve çinkodan noksan ve zengin beslenmelerle ilgili bir çok yayın bulunmuştur (3, 37, 116, 140, 158). Ancak, krom ile çinkonun beraber noksanlık ve fazlalıkları ile ilgili araştırmalara rastlanmamıştır. Yapılan çalışmada ise, bu durumun yeterli bir şekilde incelendiğini ve adı geçen iki elementin kombine bir şekilde noksanlık ve fazlalığı konularında daha sonra yapılacak olan araştırmalara önemli bir kaynak oluşturacağı düşünülmektedir.

Sonuç olarak; bu çalışmada, krom ile çinkonun hem insülin ve hem de buna bağlı olarak kan glukoz düzeyinin düzenlenmesinde önemli rolleri olmalarına karşın, krom fazlalığının lipid peroksidasyonunu tetiklediği, çinkonun ise bu konuda önemli bir rolünün olmadığı gözlenmiştir.

KAYNAKLAR

1. Abraham S., Baruch A., Uri E. Chromium and cholesterol-induced atherosclerosis in rabbits. *Ann Nutr. Metab.* 1991; **35**: 203-207
2. Acharya S., Mehta K., Krishnan S., Rao C.V. A subtoxic interactive toxicity study of ethanol and chromium in male Wistar rats. *Alcohol.* 2001; **23**: 99-108.
3. Acharya U.R., Mishra M., Mishra I. Status of antioxidant defense system in chromium-induced Swiss mice tissues. *Environ. Toxicol. Phar.* 2004; **17**: 117-123
4. Aguilar M.V., Martinez-Para M.C., Gonzalles M.J. Effects of arsenic(V)-chromium(III) interaction on plasma glucose and cholesterol levels in growing rats. *Ann. Nutr. Metab.* 1997; **41**: 189-195
5. Altan N., Dinçel A.S., Koca C. Diabetes mellitus ve oksidatif stres. *Turk J Biochem.* 2006; **31(2)**: 51-56
6. Altınışık M. Serbest Oksijen radikalleri ve antioksidanlar. [web page on the internet]. Erişim tarihi 19 03 2007 <http://www.mustafaaltinisik.org.uk/21-adsem-01ppt#2>
7. Anderson R.A. Chromium, glucose intolerance and diabetes. *J. Am. Coll. Nutr.* 1998; **17(6)**: 548-555
8. Anderson R.A. *Chromium, Human and Animal Nutrition* New York: Academic Press:1987
9. Anderson R.A., Polansky M.M., Bryden N.A., Rogenski E.E., Patterson K.Y., Veillon C ve ark. Urinary chromium excretion of human subjects: effects of chromium supplementation and glucose loading. *Am. J. Clin. Nutr.* 1982; **36**: 1184-1193. Erişim 18.07.2007, <http://www.ajcn.org>
10. Anonim. DDS, D1G25-600; Diasis Diagnostik Sistemler Tic. Ve San. A.Ş., 28 Nisan cad. Burak sok.No:4 Okmeydanı, İstanbul, Türkiye, 2005.
11. Anonim. DDS, D1G60-500; Diasis Diagnostik Sistemler Tic. Ve San. A.Ş., 28 Nisan cad. Burak sok.No:4 Okmeydanı, İstanbul, Türkiye, 2005.
12. Anonim. DSL-1600 insülin RIA; Diagnostic Systems Laboratories Inc. Corporate Headquarters, 445 Medical Center Blvd. Webster, Texas 77598-4217, USA, 2005
13. Anonim. Ransel-Randox, RS505 Glutathione Peroxidase; Randox Laboratories Ltd., Diamond road, Crumlin, Co. Antrim, United Kingdom, 2005
14. Antaplı M. Koyunların kanında çinko seviyeleri ile karbonik anhidraz aktiviteleri arasındaki ilişkilerin araştırılması. *Doğa-Tr. J. Anim. Sci.* 1990; **14**: 272-281
15. Apgar J., Fitzgerald J.A. Effect on the ewe and lamb of zinc intake throughout pregnancy. *J. Anim. Sci.* 1985; **60**: 1530-1538
16. Aydemir S., Özcan M. Sıçanlarda yüksek bakır ve çinkonun bazı hematolojik parametreler üzerine etkileri. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 2003; **27**: 165-172
17. Bag S., Vora T., Ghadak R., Nilufer I., D'Mello D., Pereira L. ve ark. A study of toxic effects of heavy metals contaminants from sludge-supplemented diets on male Wistar rats. *Ecotox. Environ. Safe.* 1999; **42**: 163-170
18. Bagchi D., Stohs S.J., Downs B.W., Bagchi M., Preuss H.G. Cytotoxicity and oxidative mechanisms of different forms of chromium. *Toxicol.* 2002; **180**: 5-22
19. Baker H.B. *Bioavailability of nutrients for animals: aminoacids, minerals and vitamins.* San Diego, Ca. Academic Press, Inc 1995

20. Barceloux D.G. Chromium. *Clin. Tox.* 1999; **37(2)**: 173-194 Erişim 26.07.2007, <http://dx.doi.org/10.1081/CLT-100102418>
21. Beitz D.C., Fahey G.C., Gatlin D., Horst R.L., Klopfenstein T., Lewis A.J. ve ark. *The Role of Chromium in Animal Nutrition*. Washington DC. National Academic Press,1997. Erişim 01 05 2006, <http://www.nap.edu/openbook/036906354X/html/R1.html>
22. Belgemen T.,Akar N. Çinkonun yaşamsal fonksiyonları ve çinko metabolizması ile ilişkili genler. *Ankara Üni.Tıp.Fak.Mecmuası*. 2004; **57(3)**: 161-166
23. Beyer C.E., Steketee J.D., Saphier D. Antioxidant properties of melatonin-an emerging mystery. *Biochem Pharmacol*.1998; **56**: 1265-1272
24. Biesalski H.K., Grimm P. *Pocket Atlas of Nutrition*. New York: Thieme;2006.
25. Boşgelmez İ., Güvendik G., Söylemezoğlu T. Hekzavalan kromun fare beyin dokusunda indüklediği oksidatif stres üzerine taurinin koruyucu ve antidotal etkisi. *Kocatepe Tıp Derg*. 2004; **5**: 63-67
26. Brandao-neto J.,Stefan V., Mendoça B.B., Bloise W., Castro A.V. The essential role of zinc in growth. *Nutr. Res.* 1995; **15**: 335
27. Brown J.E., Khodr H., Hider R.C., Rice-Evans C. Structural dependence of flavonoid interactions with Cu²⁺ ions: implications for their antioxidant properties. *Biochem. J.* 1998; **330**: 1173-1178.
28. Burch R.E., Sullivan J.F., Clinical and nutritional aspects of zinc deficiency and excess. *Med. Clin. North Am.* 1976; **60**: 675-683
29. Burton G.W., Inghold K.U. Vitamin E as an in vitro and in vivo antioxidant. *Ann NY Acad Sci.*1989; **570**: 7- 22
30. Cao G. Effects of zinc deficiency and supplements on lipid peroxidation and Superoxide Dismutase in mice. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 1991; **71(11)**: 623-629
31. Chadra R.K. Nutrition and the immun system: an introduction. *Am. J. Clin. Nutr.*1997; **66**: 460-463 Erişim 24.07.2007, <http://www.ajcn.org>
32. Chadra R.K., McBean L.D.:Zinc and immunity.*Nutr.*1994; **10(1)**: 79-80 n
33. Chang X., Movat D.N. Supplemental chromium for stressed and growing feeder calves. *J. Anim. Sci.* 1992; **70**: 559-565
34. Chausmer A.B. Zinc, insulin and diabetes. *J. Am. Coll.Nutr.* 1998; **17(2)**: 109-118
35. Chen L.H.,Thacker R.R. Effect of ascorbic acid and vitamin E on biochemical changes associated with vitamin E deficiency in rats. *Internat. J. Vit. Nutr. Res.* 1987; **57**: 385-390
36. Chen NSC.,Tsai A.,Dyer I.A. Effect of chelating agents on chromium absorption in rats. *J. Nutr.* 1973; **103**: 1182-86
37. Chen S.M., Young T.K. Effects of deficiency on endogenous antioxidant enzymes and lipid peroxidation in glomerular cells of normal and five-sixths nephrectomized rats. *J. Formos. Med. Assoc.* 1998; **97**: 750-756
38. Crea T., Guerin V., Ortega F., Hartemann P. Zinc et systeme immunitaire. *Ann. Med. Interne.* 1990; **141(5)**: 447-451
39. Çavdar C., Sifil A., Çamsarı T. Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma.*Türk Nefroloji Diyaliz ve Tranplantasyon Derg*.1997; **3-4**: 92-95
40. Davis C.M., Vincent J.B. Chromium in carohydrate and lipid metabolism. *JBIC.* 1997; **2**: 675-679.
41. DiMascio P., Murphy M.E., Sies H.:Antioxidant defense systems: the role of carotenoids, tocopherols and thiols. *Am. J.Clin. Nutr.*1991; **53**: 194-200 Erişim 24.07.2007, <http://www.ajcn.org>

42. Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol. Rev.* 2002; **82**: 47-95.
43. El Agamey A., Lowe G.M., McGarvey D.J., Mortensen A., Phillip D.M., Truscott T.G. Carotenoid radical chemistry and antioxidant/prooxidant properties. *Arch Biochem Biophys.* 2004; **430**: 37-48
44. El Hendy H.A., Mokhtar I.Y., Abo El-Naga N. Effect of dietary zinc deficiency on hematological and biochemical parameters and concentrations of zinc, copper and iron in growing rats. *Toxicol.* 2001; **167**: 163-170
45. Eren M., Başpınar N. Effects of dietary CrCl₃ supplementation on some serum biochemical markers in broilers. Influence of season, age and sex. *Revue Med. Vet.* 2004; **155(12)**: 637-641
46. Fang Y.Z., Yang S., Wu G. Free radicals, antioxidants and nutrition. *Nutr.* 2002; **18(10)**: 872-879
47. Favier A.E. Hormonal effects of zinc on growth in children. *Biol. Trace Elem Res.* 1992; **32**: 383
48. Fischer P.W., Campbell J.S., Giroux A. Effects of low copper and high zinc intakes and related changes in Cu,Zn-Superoxide Dismutase activity on DMBA-induced mammary tumorigenesis. *Biol. Trace Elem. Res.* 1991; **30**: 65-79
49. Fosmire G.J. Zinc toxicity. *Am. J. Clin. Nutr.* 1990; **51**: 225-227. Erişim 18 07 2006 <http://www.ajcn.org>
50. Gallaher D.D., Csallany A.S., Shoeman D.W., Olson J.M. Diabetes increases excretion of urinary malonaldehyde conjugates in rats. *Lipids.* 1993; **28(7)**: 663-666
51. Genç S., Gürdöl F., İyidoğan Y.Ö., Onaran İ. The effect of melatonin administration on ethanol-induced lipid peroxidation in rats. *Pharmacol. Res.* 1998; **37**: 37-40
52. Georgievski V.I. The physiological role of microelements: Zinc. *Min. Nutr. Ani.* 1982; **1**: 192-198
53. Girotti A.W. Lipid hydroperoxide generation, turnover and effector action in biological systems. *J. Lipid Res.* 1998; **39**: 1529-1542.
54. Glaser E., Halpern G. Über die aktivierung des insulins durch hefepräparat. *Biochem. Z.* 1929; **207**: 377-383
55. Gomes M.R., Rogero M.M., Tirapegui J. Considerations about chromium, insulin and exercise. *Rev. Bras. Med. Esporte.* 2005; **11(5)**: 246-250
56. Gözükara E.M.: *Biyokimya. Nobel Tıp Kitapevleri.* 4. baskı. İstanbul. 2001. 709-710
57. Griffith O.W.: Biologic and pharmacologic regulation of mammalian glutathione synthesis. *Free Rad. Biol. Med.* 1999; **27**: 922-935
58. Guerrero-Romero F., Rodriguez-Moran M. Complementary therapies for diabetes: the case for chromium, magnesium and antioxidants. *Arch. Med. Res.* 2005; **36**: 250-257
59. Gutteridge J.M.C. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin. Chem.* 1995; **110**: 177-187
60. Gürdöl F., Ademoğlu E. *Biyokimya. Nobel Tıp Kitapevleri,* İstanbul. 2006
61. Halliwell B. Drug antioxidant effects. *Drugs.* 1991; **42(4)**: 569-605
62. Ianas O., Olinescu R., Bădescu I. Melatonin involvement in oxidative processes. *Endocrinologie.* 1991; **29(3-4)**: 147-53

63. Insulin-diabetic drug for treating hyperglycemia and high blood sugar in type-1 and some type-2 diabetes [web page on the internet]. Level1diet: <http://diabetes.level1diet.com/insulin-diabetes.html>
64. International Association of the European Manufacturers of Major, Trace and Specific Feed Mineral Materials: *Bioavailability of Major and Trace Minerals*. (İnternette) 2002, 01 Ağustos. Erisim: 17.10.2004 <http://www.emfema.org/bio/20020701Bioavailabilitystudy2.pdf>
65. Ireland M.J. *The Effects of Supplemental Trivalent Chromium on Endocrine and Immune system interactions of the Periparturient dairy cow*. The University of Guelph. Masters of Science. Canada. 1998 Erişim 23 04 2007 <http://www.collectionscanada.ca/obj/s4/f2/dsk2/ftp03/MQ35898.pdf>
66. Johannes W., Swinkles M., Kornegay E.T.,Verstegen M.W. Biology of zinc and biological value of dietary organic zinc complexes and chelates. *Nutr. Res. Rev.*1994; **7**: 129-149
67. Johansen J.S.,Harris A.K.,Rychly D.J.,Ergul A. Oxidative stres and the use of antioxidants in diabetes:linking basic science to clinical practice.*Cardiovasc. Diabet.* 2005; **1**: 1-11
68. Kaneko J.J. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*.USA, 1989.
69. Kaya Ş., Keçeci T.,Haliloğlu S. Effect of zinc and vitamin A supplements on plasma levels of throid hormones, cholesterol, glucose and egg yolk cholesterol of laying hens.*Res. Vet. Sci.* 2001; **71**: 135-139
70. Kechrid Z., Amamra S., Bouzerna N. The effect of zinc deficiency on zinc status, carbohydrate metabolism and progesterone level in pregnant rats. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 2006; **36(6)**: 337-342
71. Kechrid Z., Demir N., Abdennour C., Bouzerna N. Rffect of low dietary zinc intake and experimental diabetes on the zinc and carbohydrate metabolism in rats. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 2002; **32**: 101-105
72. Kılınç K.,Kılınç A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikaller.*Hacettepe Tıp Dergisi.* 2002; **33(2)**: 110-118
73. Kojo S. Vitamin C: basic metabolism and its function as an index of oxidative stres. *Curr. Med. Chem.*2004; **11**: 1041-1064
74. Kolsuz A.H. *Yumurta Tavuklarında Yeme Krom İlavesinin Serum Lipid Düzeylerine Etkisi*. Kayseri Erciyes Üni. Sağlık Bilimleri Ens. Yüksek lisans tezi.Kayseri. 2001
75. Kolsuz A.H., Uyanık F.: Yumurta avuklarında yeme krom ilavesinin serum lipid düzeylerine etkisi. *E.Ü.Sağ.Bil.Derg.* 2002; **11(2)**: 25-34
76. Kuran M, Erener G., Ocak N., Yıldız S. Çiftlik hayvanlarının üreme fonksiyonlarının doğal kontrolünde vitamin ve minerallerin önemi. *Animal Enformasyon.* 1997; **11**: 143-151
77. Kurihara N., Yanagisawa H., Sato M.,Tien C., Wada O. Increased renal vascular resistance in zinc-deficient rats: role of nitric oxide and superoxide. *Clin. Exp. Pharmacol. Phy.* 2002; **29**: 1096-1104
78. Lamson D.W., Plaza S.M. The safety and efficacy of high-dose chromium. *Altern. Med. Rev.* 2002; **7(3)**: 218-234
79. Leung F.Y. Trace elements that act as antioxidants in parenteral nutrition. *J. Nutr. Biochem.* 1998; **9**: 304-307

80. Lindemann M.D., Wood C.M., Harper A.F., Kornegay E.T., Anderson R.A. Dietary chromium picolinate additions improve gain:feed and carcass characteristics in growing-finishing pigs and increase litter size in reproducing sows. *J. Anim. Sci.* 1995; **73**: 457-465
81. Lukaski H.C. Magnesium, zinc and chromium nutriture and physical activity. *Am. J. Clin. Nutr.* 2000; **72**: 585-593
82. Mariani E., Cornacchiola V., Polidori M.C., Mangialasche F., Malavolta M., Cecchetti R. Ve ark. Antioxidant enzyme activities in healthy old subjects: influence of age, gender and zinc status. *Biogerontology.* 2006; **7**: 391-398
83. Masella R., Di Benedetto R., Vari R., Filesi C., Giovannini C. Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *J. Nutr. Biochem.* 2005; **16**: 577-586
84. Mc Cord J.M. The evolution of free radicals and oxidative stress. *Am J Med.* 2000; **108**: 652-659
85. McDowell L.R. Minerals in Animal and Human Nutrition. San Diago, Ca. Academic Press, Inc 1992
86. Mercan U. Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *YYU Vet Fak Derg.* 2004; **15(1-2)**: 91-96
87. Mertz W. Chromium in human nutrition. *J. Nutr.* 1993; **123**: 626-633.
88. Mertz W. *Chromium occurrence and function in biological systems. Physiological Reviews.* Washington: Walter Reed Army Center: 1969; 163-239.
89. Mertz W The newer essential trace elements, chromium, tin, vanadium, nickel and silicon. *Proc. Nutr. Soc.* 1974; **33**: 307-313
90. Mertz W., Schwarz K. Relation of glucose tolerance factor to impaired intravenous glucose tolerance of rats on stock diets. *Am. J. Physiol.* 1959; **196**: 614-618
91. Moonsie-Shager S., Mowat D.N. Effect of level of supplemental chromium on performance, serum constituents and immune status of stressed feeder calves. *J. Anim. Sci.* 1993; **71**: 232-238
92. Mortensen A., Skibsted L.H., Truscott T.G. The interaction of dietary carotenoids with radical species. *Arch. Biochem Biophys.* 2001; **385**: 13-19
93. Nakamura H., Nakamura J., Yodoi J. Redox regulation of cellular activation. *Ann. Rev. Immunol.* 1997; **15**: 351-369
94. Nelson D.L., Cox M.M. *Lehninger Biyokimyanın İlkeleleri.* Ankara. Palme yayıncılık. 2005: 743-744
95. Nutrient Requirements of Laboratory Animals. National Academic Press, Washington DC. 1995
96. Offenbacher E.G., Pi-Sunyer F.X. Chromium in human nutrition. *Ann Rev. Nutr.* 1988; **8**: 543-563.
97. Okada S., Suzuki M., Ohba H. Enhancement of ribonucleic acid synthesis by chromium (III) in mouse. *J. Inorg. Biochem.* 1983; **19**: 95-103.
98. Opera E.C. Oxidative stress, micronutrients, diabetes mellitus and its complications. *J. R. Soc. Promo. Health.* 2002; **122(1)**: 28-34
99. Packer L., Suzuki Y.J. Vitamin E and alpha lipoate- role in antioxidant recycling and activation of the NF-kappa-b transcription factor. *Mol. Aspects Med.* 1993; **14**: 229-239

100. Padayatty S.J., Katz A., Wang Y., Eck P., Kwon O., Lee J ve ark. Vitamin C as an antioxidant: Evolution of its role in disease prevention. *J. Am. Coll. Nutr.* 2003; **22**: 18-35
101. Page T.G., Southern L.L., Ward T.L., Thomson D.L. Effect of chromium picolinate on growth and serum and carcass traits of growing-finishing pigs. *J. Anim. Sci.* 1993; **71**: 656-662
102. Panemangalore M., Bebe F.N. Effect of high dietary zinc on plasma Ceruloplasmin and erythrocyte Superoxide Dismutase activities in copper-depleted and repleted rats. *Biol. Trace Elem. Res.* 1996; **55**: 111-126
103. Pechova A., Illek J., Sindelar M., Pavlata L. Effects of chromium supplementation on growth rate and metabolism in fattening bulls. *Acta Vet. BRNO.* 2002; **71**: 535-541
104. Pechova A., Pavlata L. Chromium as an essential nutrient: a review. *Vet. Med-Czech.* 2007; **52**: 1-18.
105. Pietta P.G. Flavonoids as antioxidants. *J. Nat. Prod.* 2000; **63**: 1035-1042
106. Powell S.R. The antioxidant properties of zinc. 2000; **130**: 1447-1454
107. Prasad A.S., Bao B., Beck F.W.J., Kucuk O., Sarkar F.H. Antioxidant effect of zinc in humans. *Free Rad. Bio. Med.* 2004; **37**: 1182-1190
108. Preuss H.G., Grojec P.L., Lieberman S., Anderson R.A. Effects of different chromium compounds on blood pressure and lipid peroxidation in spontaneously hypertensive rats. *Clin. Nephrol.* 1997; **47(5)**: 325-330.
109. Reiter R.J., Tan D.X., Osuna C., Gittto E. Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress. *J Biomed Sci.* 2000; **7**: 444-458
110. Rink L., Gabriel P. Zinc and the immune system. *Proc. Nutr. Soc.* 2000; **59**: 541-552.
111. Riordan J.F. Biochemistry of zinc. *Med. Clin. North Am.* 1976; **60**: 661-673
112. Salgueiro M.J., Zubillaga M.B., Lysionek A.E., Caro R.A., Weill R., Boccio J.R. The role of zinc in the growth and development of children. *Nutrition.* 2002; **18**: 510-519
113. Salguero M.J., Zubillaga M., Lysionek A., Sarabia M.I., Caro R., De Paoli T. Ve ark. Zinc as an essential micronutrient: A Review. *Nutr. Res.* 2000; **20(5)**: 737-755
114. Scandalios J.G. Oxygen stress and superoxide dismutases. *Plant Physiol.* 1993; **10**: 7-12
115. Schachter S., Nelson R.W., Kirk C.A. Oral chromium picolinate and control of glycemia in insulin-treated diabetic dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 2000; **15(4)**: 379-384
116. Scibior A., Zaporowska H., Ostrowski J., Banach A. Combined effect of vanadium(V) and chromium(III) on lipid peroxidation in liver and kidney of rats. *Chem-Biol Interact.* 2006; **159**: 213-222
117. Schroeder H.A. The role of trace elements in cardiovascular diseases. *Med. Clin. North Am.* 1974; **58**: 381-396
118. Sezer R.G. *Febril konvülziyonlu çocuklarda serum çinko düzeyleri*. T.C. Sağlık Bakanlığı Zeynep Kamil Kadın ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi Uzmanlık tezi. İstanbul; 2005. Erişim 12 05 2007, http://www.istanbul saglik.gov.tr/w/tez/pdf/cocuk_sagligi/dr_rabia_gonul_sezer.pdf

119. Shah S.L., Hafeez M.A., Shaikh S.A. Changes in haematological parameters and plasma glucose in the fish, *Cyprinion watsoni*, in response to zinc and copper treatment. *Pakistan J. Zoology*. 1995; **27**: 249-253
120. Shaheen A.A, Amal A., El-Fattah ABD. Effect of dietary zinc on lipid peroxidation, glutathione, protein thiols levels and superoxide dismutase activity in rat tissues. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 1995; **27**: 89-95
121. Shakoori A.R., Butt U., Riffat R., Aziz F. Hematological and biochemical effects of danitol administered for two months on the blood and liver of rabbits. *Z. Angew. Zool.* 1994; **80**: 165-180
122. Shallari, S., Schwartz, C., Hasko, A., Morel, J.L. Heavy metals in soils and plants of serpentine and industrial sites of Albania. *Sci.Total. Environ.* 1998; **209(2)**: 133-142.
123. Shi H., Hudson L.G., Liu K.J. Oxidative stress and apoptosis in metal ion-induced carcinogenesis. *Free Radic. Biol. Med.* 2004; **37**: 582-593
124. Shi X., Dalal N.S. The role of superoxide radical in chromium (VI)-generated hydroxyl radical: The Cr(VI) Haber-Weiss cycle. *Arch. Biochem. Biophys.* 1992; **292**: 323-327
125. Sidhu P., Garg M.L., Dhawan D.K. Protective role of zinc in nickel induced hepatotoxicity in rats. *Chem-Biol Interact.* 2004; **150**: 199-209
126. Sidhu P., Garg M.L., Dhawan D.K. Time dependent study to evaluate the efficacy of zinc on hepatic marker enzymes and elemental profile in serum and liver of protein deficient rats. *Biometals.* 2005; **18**: 97-106.
127. Smith A.R., Shenvi S.V., Widlansky M., Suh J.H., Hagen T.M. Lipoic acid as a potential therapy for chronic diseases associated with oxidative stress. *Curr. Med. Chem.* 2004; **11**: 1135-1146
128. Solis-Heredia M.J., Quintanilla-Vega B., Sierra-Santoyo A., Hernandez J.M., Brambila E., Cebrain M.E., Albores A. Chromium increases pancreatic metallothionein in the rat. *Toxicology.* 2000; **142**: 111-117
129. SPSS for Windows. Standart Version 11.5, SPSS Inc, Headquarters, Chicago, USA. 1999
130. Stafanidou M., Maravelias C., Dona A., Spiliopoulou C. Zinc: a multipurpose trace element. *Arch. Toxicol.* 2006; **80**: 1-9
131. Stahl J.L., Greger J.L., Cook M.E. Zinc, copper and iron utilisation by chicks fed various concentrations of zinc. *Br. Poult. Sci.* 1989; **30**: 123-134
132. Stehbens W.E. Oxidative stress, toxic hepatitis and antioxidants with particular emphasis on zinc. *Exp Mol Path.* 2003; **75**: 265-276
133. Striffler J.S., Polansky M.M., Anderson R.A. Overproduction of insulin in the chromium-deficient rat. *Metabolism.* 1999; **48(8)**: 1063-1068.
134. Sullivan J.F., Jetton M.M., Hahn H.K.J., Burch R.E. Enhanced lipid peroxidation in liver microsomes of zinc-deficient rats. *Am. J. Clin. Nutr.* 1980; **33**: 51-56 Erişim 28 06 2007 <http://www.ajcn.org>
135. Sun Y., Oberley L.W., Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin. Chem.* 1988; **34(3)**: 497-500.
136. Şahin K., Küçük Ö. Zinc supplementation alleviates heat stress in laying Japanese quail. *American Society for nutritional sciences.* 2003; **133**: 2808-2811
137. Şahin N., Şahin K., Önderci M., Gürsu M.F., Cıkım G., Vijaya J. Ve ark. Chromium picolinate, rather than biotin, alleviates performance and metabolic parameters in heat-stressed quail. *Brit. Poultry Sci.* 2005; **46(4)**: 457-463 Erişim 28 02 2007 <http://jn.nutrition.org/cgi/content/abstract/133/9/2808>

138. Taiero H., Tew K.D. Trace elements in human physiology and pathology:zinc and methallothionenins. *Biomed. Pharmacother.* 2003; **57**: 399-411
139. Tamer L.,Polat G., Eskandari G.,Ercan B.,Atik U. Serbest radikaller. *Mersin Üni Tıp Fak Derg.*2000; **1**: 52-58
140. Tekeli S.K., Toker N.Y., Tekeli F. Çinkonun ratlarda canlı ağırlık ve bazı serum enzimleri üzerine etkisi. *J. Vet. Anim. Sci.* 2002; **26**: 79-84
141. Tobia M.H., Zdanowicz M.M., Wingertzahn M.A., McHeffey-Atkinson B., Slonim A.E., Wapnir R.A. The role of dietary zinc modifying the onset and severity of spontanous diabetes in the BB Wistar rat. *Mol. Genet. Metab.* 1998; **63**: 205-213
142. Tucker H.F., Salmon W.D. Parakeratosis or zinc deficiency disease in the pig. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1955; **88**: 613-616
143. Uyanık F. Bazı iz elementlerin organizmadaki başlıca fonksiyonları ve bağışıklık üzerine etkileri. *Erciyes Üni.Sağlık Bilimleri Derg.* 2000; **9(2)**: 49-58
144. Uyanık F. Hayvanlarda çinko metaboliması.*Erciyes Üniv. Sağlık Bilim. Derg.* 1998; **7(1-2)**: 58-66
145. Uyanık F., İşcan D.,Gümüşsoy K.S. The effects of various levels of zinc on immune response in broilers.*Veteriner Hekimler Dern. Derg.* 2000; **2**: 37-42
146. Ülger H.,Coşkun A. Çinko: Temel fonksiyonları ve metabolizması. *Düzce Tıp Fak. Derg.* 2003; **5(2)**: 38-44
147. Valko M., Rhodes C.J., Moncol J., Izakovic M., Mazur M Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stres-induced cancer.*Chemico-Biological Interactions.*2006; **160**: 1-40
148. Valko M.,Morris H., Cronin M. Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr. Med. Chem.* 2005; **12**: 1161-1208
149. Vincent J.B. Mechanisms of chromium action:low-molecular-weight chromium binding substance. *J.Am.Coll.Nutr.* 1999; **18(1)**: 6-12
150. Vincent J.B.: The bioinorganic chemistry of chromium (III).*Polyhedron.* 2001; **20**: 1-26
151. Wright A.J., Mallard B.A.,Mowat D.N. The influence of supplemental chromium and vaccines on the acute phase response of newly arrived feeder calves.*Can. J. Vet. Res.*1995; **59**: 311-315
152. Wu D.,CederbaumA.J. Alcohol,oxidative stres and free radical damage. *Alcohol Research and Health.* 2003; **4**: 277-284
153. Yamamoto A, Wada O,Ono T. Distribution and chromium binding capacity of a low-molecular-weight,chromium binding substance in m".*Journal Inorg. Biochem.* 1984; **22(2)**: 91-102.
154. Yasmineh W.G., Kaur T.P., Blazar B.R., Theologides A. Serum catalase as marker of graft-vs-host disease in allogeneic bone marrow transplant recipients:pilot study. *Clin. Chem.* 1995; **41(11)**: 1574-1580
155. Yazıcı C., Köse K. Melatonin:karanlığın antioksidan gücü. *E.Ü.Sağlık Bil.Derg.* 2004; **13(2)**: 56-65
156. Yıldız A.Ö., Parlat S.S. Yazgan O. The effects of organic chromium supplementation on production traits and some serum parameters of laying quails. *Revue.Med.Vet.* 2004; **155(12)**: 642-646
157. Yoshioiko T., Kawada K., Shimada T. Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against actived-oxygen toxicity in the blood. *Am. J. Obset. Gynecol.* 1979; **135**: 372-376

158. Yousef M.I., El Hendy H.A., El-Demerdash F.M., Elagamy E.I. Dietary zinc deficiency induced-changes in the activity of enzymes and the levels of free radicals, lipids and protein electrophoretic behaviour in growing rats. *Toxicology*. 2002; **175**: 223-234

ETİK KURUL KARARI


İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ ETİK KURULU Istanbul University Veterinary Faculty Ethic Committee

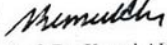
Karar No: 2004-85


02.05.2004

İlgi: İ. Ü. Veteriner Fakültesi Dekanlığının 1-1841 sayı ve 21. 04.2004 tarihli yazısı.

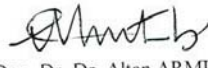
Fakültemiz Biyokimya Anabilim Dalı öğretim elemanı Araş.Gör. Feraye ESEN GÜRSEL'in sorumluluğunu üstlendiği "Çinko ve krom düzeyleri farklı yemlerle beslemenin sçanlarda canlı ağırlık plazma TBARS, SOD, GSH-Px, Katalaz, AST, insülin ve glikoz düzeylerine etkisi" araştırma projesi, kurumumuz tarafından incelenmiş ve "Etik Kurul İlkelerine Uygun Bulunmuştur".


Prof. Dr. Müfit TOPARLAK
Başkan


Prof. Dr. Kemal AK
Başkan Yardımcısı


Doç. Dr. Recep KAHRAMAN
Üye

Doç. Dr. H. Hakan BOZKURT
Üye (İzinli)


Yard. Doç. Dr. Dr. Altan ARMUTAK
Raportör

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	FERAYE	Soyadı	ESEN GÜRSEL
Doğ.Yeri	İSTANBUL	Doğ.Tar.	16. 07. 1976
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	29984898376
Email	fesen@istanbul.edu.tr	Tel	0 212 4737070/ 17127

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora	İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ	2007
Yük.Lis.	İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ	1999
Lisans		
Lise	İSTEK VAKFI ÖZEL BELDE LİSESİ	1994

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	ARAŞTIRMA GÖREVLİSİ	İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ	2001-2007
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	İyi	İyi	Çok iyi	67,500	

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı	56,991	57,290	57,589
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office	İyi

Yayımları/Tebligleri Sertifikaları/Ödülleri

YAYINLAR

1. Öztabak K., Civelek S., Özpınar A., Burçak G., Esen F.: The effects of energy restricted diet on the activities of plasma Cu-Zn SOD, GSH-Px, CAT and TBARS concentrations in late pregnant ewes. Turk J. Vet. Anim. Sci. 2005; 29: 1067-1071
2. Öztabak K., Gursel F. E., Tekeli S.K.: Effect of copper addition to feed of laying hens. Indian Vet. J. 2005; 82: 745-746
3. Tekeli S.K., Öztabak K., Gursel F. E.: Yumurtacı tavukların yemine yüksek dozda ilave edilen bakırın yumurta üretimi, yumurta kabuk ağırlığı ve yumurta kabuk kalınlığına etkisi. İstanbul Üniv. Vet. Fak. Derg. 2005; 31(1): 179-185

TEBLİĞLER

1. Gursel F. E., Tekeli S.K., Öztabak K.: Yeme bakır katılmasının yumurta tavuklarında bazı serum enzim düzeylerine etkisi. II. Ulusal Veteriner Biyokimya ve Klinik Biyokimya Kongresi . 9-11 Eylül 2004, Elazığ. (Poster Sunumu)
2. Tekeli S.K., Öztabak K., Gursel F. E.: Yumurtacı tavukların yemine yüksek dozda ilave edilen bakırın yumurta üretimi, yumurta kabuk ağırlığı ve yumurta kabuk kalınlığına etkisi. II. Ulusal Veteriner Biyokimya ve Klinik Biyokimya Kongresi . 9-11 Eylül 2004, Elazığ. (Sözlü Sunum)
3. Çevik A., Tekeli S.K., Gursel F. E.: Antioxidant response to oxidative stress induced by copper deficiency in broilers. 5th Joint Scientific Symposium of the Veterinary Faculties of Ludwig Maximilians Universität München and İstanbul University. 5-6 October 2006. İstanbul. (Poster Sunumu)
4. Çevik A., Tekeli S.K., Gursel F. E.: Broylerlerde Bakır noksanlığına bağlı oksidatif strese karşı antioksidan yanıt. III. Ulusal Veteriner Biyokimya ve Klinik Biyokimya Kongresi. 21-23 Haziran 2007, Konya. (Sözlü Sunum)

KURSLAR/SERTİFİKALAR

1. Tıbbi Laboratuvarlarda Standardizasyon ve Kalite Güvencesi Kursu. Türk Biyokimya Derneği. 2002, İstanbul
2. Ulusal HPLC ve Diğer Separasyon Teknikleri Sempozyumu. Gülhane Askeri Tıp Akademisi Askeri Tıp Fakültesi. 25-27 Mayıs 2003, Ankara
3. Makale Yazma Uygulaması. İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü. 16-17 Şubat 2006, İstanbul.