



**YUMURTA TAVUKLARINDA
RASYONA İLAVE EDİLEN FARKLI ORGANİK KROM
FORMLARININ OVARYUM GLUKOZ TAŞIYICILARI
VE ISI ŞOK PROTEİNLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

OĞUZHAN ÖZDEMİR

**Doktora Tezi
Biyoloji Anabilim Dalı
Danışman: Yrd. Doç. Dr. Mehmet TUZCU
(İkinci Danışman: Prof. Dr. Kazim ŞAHİN)**

KASIM -2017

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YUMURTA TAVUKLARINDA RASYONA İLAVE EDİLEN FARKLI ORGANİK
KROM FORMLARININ OVARYUM GLUKOZ TAŞIYICILARI VE ISI ŞOK
PROTEİNLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

DOKTORA TEZİ
OĞUZHAN ÖZDEMİR

(121110204)

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 09 Ekim 2017
Tezin Savunulduğu Tarih: 10 Kasım 2017

Tez Danışmanı : Yrd.Doç.Dr.Mehmet TUZCU (F.Ü)

Diğer Jüri Üyeleri : Prof.Dr.Kazim ŞAHİN (F.Ü)

Prof.Dr.Nurhan ŞAHİN (F.Ü)

Prof.Dr.Hakkı TAŞTAN (G.Ü)

Prof.Dr.Ökkeş YILMAZ (F.Ü)

Doç.Dr.İrfan EMRE (F.Ü)

Yrd.Doç.Dr.Mehmet GÜVENÇ (A.Ü)

KASIM -2017

ÖNSÖZ

Yüksek çevre sıcaklığı, dünyada hızla gelişen kanatlı sektörü için, ciddi ekonomik kayıplara neden olabilen bir problem olarak karşımıza çıkmaktadır. Sıcaklık stresi kümes hayvancılığında özellikle üretim, hayvan refahı, hayatta kalma, performans ve ürün kalitesini olumsuz yönde etkileme gibi birçok konuda negatif etkileri mevcuttur. Bu çalışma yumurta tavuklarında; organik krom formlarının (CrHis ve CrPic) ovaryum oreksin, glukoz taşıyıcıları, NF-κB ve ısı şok proteinleri düzeylerinin değişimlerinin ortaya konulması hedeflenmiştir.

Bu tez çalışmasının kurgulanmasında ve tamamlanmasında, yüksek lisans eğitimimin tamamlanmasında, maddi manevi her konuda yardımlarını esirgemeyen, bilimsel ahlakı öğrendiğim ve akademik tecrübelerinden faydalandığım kıymetli tez danışmanlarım Sayın Yrd. Doç. Dr. Mehmet TUZCU ve Sayın Prof. Dr. Kazim ŞAHİN'e teşekkürü bir borç bilirim.

Yaptığım araştırma ve eğitim esnasındaki katkılarından dolayı Sayın Prof. Dr. Nurhan ŞAHİN, Sayın Prof. Dr. Ökkeş YILMAZ, Sayın Doç. Dr. Cemal ORHAN'a teşekkürlerimi bildiririm. Tez çalışmalarım sırasında gerekli izinleri sağlayan personeli olduğum Siirt Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğüne teşekkür ederim. Ayrıca tezime katkıda bulunan Arş.Gör.Dr. Hasan GENÇOĞLU'na, doktora öğrencisi Füsün ERTEN'e ve Beşir ER'e teşekkürlerimi sunarım. Bu çalışma KOSGEB Elazığ Hizmet Merkezi Müdürlüğü (2012/ 846548) tarafından desteklenmiştir. Ayrıca katkılarından dolayı Türkiye Bilimler Akademisine, Nutrition 21'e (NY, ABD), Farmavet International Yem Katkı Maddeleri A.Ş.'ye teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemde çok büyük emekleri olan aileme ve çok kıymetli dostlarıma, eğitimim süresince her konuda desteğini esirgemeyen, varlığıyla güven veren sevgili eşim Tuğba'ya ve kızıma en içten şükranlarımı sunarım.

Oğuzhan ÖZDEMİR

ELAZIĞ-2017

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ	II
İÇİNDEKİLER.....	III
ÖZET	V
SUMMARY	VI
ŞEKİLLER LİSTESİ	VII
TABLolar LİSTESİ	VIII
SEMBOLLER LİSTESİ	IX
1. GİRİŞ	1
1.1. Stres	2
1.1.1.Stresin Nedenleri	2
1.1.1. Stresin Negatif Etkilerini Azaltma Yöntemleri	5
1.2. Krom.....	6
1.2.1. Krom Pikolinat	8
1.2.2. Krom Histidinat	9
1.3. Oreksin	9
1.4. Glukoz Taşıyıcı Proteinler (GLUT)	10
1.4.1.GLUT1	12
1.4.2. GLUT2	13
1.4.3. GLUT3	14
1.4.4. GLUT4	14
1.5. NF-κB	15
1.6. Isı Şok Proteinleri(HSP)	16
1.6.1. HSP60, HSP70, HSP90	19
2. MATERYAL ve METOT	23
2.1. Hayvan Temini ve Yem Hazırlama	23
2.2. Deneme Düzeni	23
2.3. Laboratuvar Analizleri.....	25
2.3.1. Örneklerin Hazırlanması.....	25
2.3.1.1. Kullanılan Cihaz ve Malzemeler	25

2.3.2. Ovaryum Dokularının Homojenizasyonu.....	25
2.3.3. Lowry Metodu ile Protein Tayini	25
2.3.4. Ovaryum Dokuları için SDS-PAGE Uygulanması	26
2.3.5. Ovaryum Dokuları için Western Blot Uygulanması	28
2.3.5.1. Blotlama	28
2.3.5.2. Bloklama.....	28
2.3.5.3. Spesifik Antikorlarla Reaksiyon.....	29
2.3.5.4. Bantların Görüntülenmesi.....	29
2.3.5.5. Densitometrik Analiz.....	29
2.3.6. İstatistiksel Analizler	30
3. BULGULAR	31
3.1. Oreksin Düzeyleri.....	31
3.2. GLUT1 Düzeyleri.....	32
3.3. GLUT4 Düzeyleri.....	33
3.4. NF- κ B Düzeyleri	35
3.5. HSP60 Düzeyleri	36
3.6. HSP70 Düzeyleri	37
3.7. HSP90 Düzeyleri	39
4. SONUÇLAR ve TARTIŞMA	42
KAYNAKLAR.....	51
ÖZGEÇMİŞ	74

ÖZET

Kanatlılarda verimliliği düşüren önemli çevre faktörlerinden birisi sıcaklık stresidir. Daha önce yapılan çalışmalarda krom pikolinat (CrPic) ve krom histidinat (CrHis)'ın yumurta veriminde artışa yol açtığı bildirilmiştir. Bu çalışmada, yumurtacı tavuklarda diyetle ilave edilen farklı organik krom kaynaklarının ovaryum oreksin (hipokretin), glukoz taşıyıcıları (GLUTs), ısı şoku proteinleri (HSPs) ve nükleer faktör kappaB (NF-κB) düzeyleri üzerine etkileri araştırılmıştır.

16 haftalık 1800 adet yumurta tavuğu (Lohmann LSL-Lite), 2 × 3 faktöriyel deneme düzenine göre 6 gruba ayrıldı. Denemede faktörleri iki farklı sıcaklık ortamı [termonötral (TN), 22 ± 2 °C 24 saat/gün) ve sıcaklık stresi (HS); 08:00 ila 17:00 saatleri arasında olmak üzere, 8 saat boyunca 34±2°C'ye ve 16 saat boyunca 22 °C'ye sıcaklık] ile bazal diyetle ilave edilen krom 3 farklı krom düzeyi oluşturdu [elementel Cr 200 µg / diyet kilogram olacak şekilde; **0**, **1.600** mg/kg CrPic (% 12.43 Cr) ve **0.788** mg/kg CrHis (% 25.22 Cr)]. Çalışma 12 hafta boyunca sürdürüldü.

Sıcaklık stres gruplarında termonötral gruplara kıyasla, GLUT1, GLUT4 ve oreksin protein düzeylerinin azaldığı ($P < 0.0001$) ve NF-κB, HSP60, HSP70 ile HSP90 protein düzeylerinin arttığı tespit edilmiştir ($P < 0.0001$). Diyetlere yapılan krom takviyesi (CrPic–CrHis) ile GLUT ve oreksin düzeylerinin arttığı, NF-κB ve HSP seviyelerinin ise termonötral gruba göre azaldığı gözlenmiştir ($P < 0.0001$). Sıcaklık stresi altında bulunan yumurtacı tavuk diyetine ilave edilen organik krom formları GLUT ve oreksin düzeylerini arttırmış, ancak NF-κB ve HSP protein düzeylerini azaltmıştır. Sonuç olarak, CrPic ve CrHis'in, stresin negatif etkilerinin hafifletilmesi ve tedavisinde destekleyici etkilerinin olduğu, CrHis'in ise CrPic'a göre daha etkili olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Sıcaklık stresi, Cr-His, Cr-Pic, GLUT, NF-κB, HSP, Oreksin

SUMMARY

The Effects of Dietary Supplementation of Different Organic Chromium forms on Glucose Transporters and Heat Shock Proteins in the Ovary of Laying Hens

Heat stress is one of the important environmental factors that reduce productivity in poultry. Earlier studies report that chromium picolinate (CrPic) and chromium histidinate (CrHis) increase egg yield. The effects of various organic chromium sources supplemented to the diets of laying hens were investigated on ovarian orexin (hypocretin), glucose transporters (GLUTs), heat shock proteins (HSPs) and nuclear factor kappaB (NF- κ B) levels in this study.

16-weeks-old; Lohmann LSL-Lite, 1800 laying hens were allocated to 6 random groups according to a 2×3 factorial trial scheme with two different environmental temperatures [Thermoneutral (TN groups; at either 22 ± 2 °C 24 h/d) and Heat Stress (HS groups; at 34 ± 2 °C for 8 h/d, 08:00 to 17:00 h, followed by 22°C environmental temperature for 16 h for a period of 12 weeks)]. The hens that reared under both environments were fed either a basal diet or the basal diet supplemented with **0, 1.600 mg** of CrPic (12.43% Cr) and **0.788 mg** of CrHis (25.22% Cr) per kg of diet (elemental Cr 200 μ g / kg).

In the heat stress groups, it was found that GLUT1, GLUT4 and orexin protein levels decreased ($P < 0.0001$), while NF- κ B, HSP60, HSP70 and HSP90 protein levels ($P < 0.0001$) were increased, compared to the thermoneutral groups. Dietary chromium supplementation (CrPic-CrHis) increased orexin and GLUT levels whereas NF- κ B and HSP levels were decreased in comparison to thermoneutral groups ($P < 0.0001$). Chromium supplements treatment on heat stressed laying hens, is able to increase orexin and GLUTs levels and decrease NF- κ B and HSPs. As a result, CrPic and CrHis have been found to have beneficial effects in alleviation of negative effects and treatment of stress complications, and CrHis is determined to be more effective than CrPic.

Key words: Heat Stress, Cr-His, Cr-Pic, GLUTs, NF- κ B, HSPs, Orexin

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1.1. Tavuklarda sıcaklık stresinin zararları	3
Şekil 1.2. Kromun periyodik cetveldeki yeri.....	6
Şekil 1.3. Genişletilmiş GLUT / SLC2A ailesinin üyeleri.	11
Şekil 1.4. GLUT4 vezikülleri	15
Şekil 1.5. Isı şoku proteinlerinin iki işlevi.....	19
Şekil 3.1. Ovaryum dokusu oreksin düzeyleri.....	32
Şekil 3.2. Ovaryum dokusu GLUT1 düzeyleri.....	33
Şekil 3.3. Ovaryum dokusu GLUT4 düzeyleri.....	34
Şekil 3.4. Ovaryum dokusu NF- κ B düzeyleri	36
Şekil 3.5. Ovaryum dokusu HSP60 düzeyleri	37
Şekil 3.6. Ovaryum dokusu HSP70 düzeyleri	38
Şekil 3.7. Ovaryum dokusu HSP90 düzeyleri	40

TABLÖLAR LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1. Bazal rasyonun bileşimi ve besin madde içerikleri.....	24
Tablo 2.2. Stacking ve seperating jel hazırlama protokolü	27
Tablo 3.1. Western blot analizi interaksiyonlarının yüzde olarak değişimi	41



SEMBOLLER LİSTESİ

AP1	: Aktivatör protein 1
Apaf-1	: Apoptotik proteaz aktifleştirici faktör 1
APS	: Amonyum peroksidisülfat
ATP	: Adenozin trifosfat
COL2A1	: Collagen, type II, alpha 1
Cr	: Krom
CrPic	: Krom pikolinat
CrHis	: Krom histidinat
CuSO₄.5H₂O	: Bakır sülfat penta hidrat
DAB	: Diaminobenzidin
DDR2	: Discoidin domain receptor tyrosine kinase 2
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
EDTA	: Etilen diamin tetra asetik asit
EGCG	: Epigallokateşin galat
Erk	: Ekstraselüler sinyal düzenleyici kinazlar
GLUT	: Glukoz taşıyıcı proteinler
GLUT1	: Glukoz taşıyıcı protein 1
GLUT4	: Glukoz taşıyıcı protein 4
GRR	: Glukoz represyon-rezistant
HO-1	: Hemoksijenaz-1
HNE	: 4-hidroksi-2-nonenal
HSP	: Isı şok proteinler
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
IKB	: Nükleer faktör kappa B inhibitör alfa
IL-6	: İnterloklin-6
KCl	: Potasyum klorür
kDa	: Kilodalton
KLF2	: Kruppel-like factor 2
KOSGEB	: Küçük ve Orta Ölçekli İşletmeleri Geliştirme ve Destekleme İdaresi Başkanlığı

MMP	: Matriks metalloproteinaz
MDA	: Malondialdehit
mRNA	: Messenger RNA
NaCl	: Sodyum klorür
NF-κB	: Nükleer faktör kappa B
Nrf2	: Nükleer faktör E2 ilişkili faktör 2
PBS	: Phospate buffer saline
pH	: Power hydrogen
PMSF	: Fenil metil sülfonil florid
REL	: Retikülo endoteliyozis
SDS-PAGE	: Sodyum dodesil sülfat poli akrilamid jel elektroforezi
SDS	: Sodyum dodesil sülfat
SGLT	: Sodyum-glukoz transport proteinler
SLC	: Solute carrier
sHSP	: Small HSP
SPSS	: Statistical package for the social sciences
TEMED	: N,N,N,N,tetrametil-ethilen diamin

1. GİRİŞ

Gıdalar, bireyin yaşam olaylarını devam ettirebilmesi, normal gelişme ve büyümesi için gereksinim duyduğu besin maddelerini içermektedir. Gıda ve beslenme bilimindeki son gelişmeler, gıdaların bireyin besin madde ihtiyacını karşılamasının yanı sıra çeşitli vücut fonksiyonlarının düzenlenmesinde ve bazı hastalıkların önlenmesinde de etkili olduğunu göstermiştir (Açıkgöz ve Önenç, 2006). Hayvancılık faaliyetlerinde ana hedef, insanların gereksinim duydukları hayvansal ürünleri bol miktarda, yüksek kalitede, zamanında ve oldukça uygun fiyata sağlamaktır. İnsanların beslenmesinde, çocuklar ile gençlerin bedensel ve zihinsel gelişimlerinde büyük bir öneme sahip olan, hayvansal kaynaklı gıda ürünlerinin, kişi başına düşen tüketim miktarının en azından fizyolojik gereksinimler doğrultusunda yeterli bir düzeye çıkarılması gerekmektedir. Ayrıca gıda bileşiminin besin değeri de önemlidir. Modern hayvancılık yapılarak tüketici bilincinin artması ile üretilen ürünlerin kaliteli ve sağlıklı yönleri giderek daha önem kazanmıştır (Adabi vd., 2011; Atik ve Ceylan, 2009; Cevger vd., 2008).

Dünyada kanatlı eti ve yumurta üretimi ile ürünlerin ticareti son 40-45 yılda dikkat çekici bir gelişme göstermiştir. 1970 ve 2014 yılları arasında kanatlı eti üretimi; sığır, domuz ve küçükbaş hayvan etleri üretiminden daha hızlı artmıştır. Kanatlı eti üretiminde uzun yıllar büyüme oranı artmış olup, ancak ekonomik gelişmeler ve tavukların sağlığı alanında ortaya çıkan sorunlara rağmen üretim artış trendi değişmemiştir. Gelecekte de bu eğilimin devam edeceği tahmin edilmektedir. 2012 yılında, 2010 ve 2011 yıllarına göre % 1.8'lik üretim artışı ile dünya kanatlı eti üretimi 103.5 milyon tona yükselmiştir. Pazara ulaşan tavuk eti yıllara göre farklılık göstererek (toplam kanatlı eti üretiminin % 12-15'i) yumurtaya göre (toplam yumurta üretiminin % 1.8-2.5'i) daha yüksek düzeyde gerçekleşmektedir. Dünyada kanatlı eti üretimindeki büyümenin büyük kısmı Asya ülkeleri kaynaklıdır. Özellikle Çin, Hindistan, Japonya, Güney Kore ve Türkiye'deki üretim artışları önemli etki yaratmıştır. Tavuk eti üretiminde Kuzey Amerika ve Avrupa, Pazar paylarında düşüş yaşarken Güney Amerika'da Brezilya üretiminin önemli merkezlerinden biri haline gelmiştir (Çobanoğlu vd., 2003; Li vd., 2016; Türkoğlu ve Sarıca, 2014).

Yaşam kalitesi ve beslenme adına hayati önem taşıyan ve hayvansal bir gıda kaynağı olan yumurta, dünyanın her tarafında geçmişten günümüze insan beslenmesinde kıymetli bir hayvansal protein kaynağı olarak yerini korumakta, gelecekte de bu özelliğini

koruması kaçınılmaz olan seçkin bir gıda maddesi gibi görünmektedir. Yumurta, büyüme ve gelişme süreçlerinin benzersiz bir destekleyici besini olarak bilinmektedir. Yumurta proteini biyolojik değer bakımından diğer gıda maddeleriyle karşılaştırıldığı zaman %95’lik sindirilebilirlik değeri ile ilk sırayı almakta bunu %85 ile süt, %76 ile balık ve %74 ile sığır eti takip etmektedir. Yumurta, özel bir üreme hücresi gibi, tam bir beslenme ve immün savunma sağlayarak gebelik dönemi boyunca yaşamını sürdürebilmesi gereklidir (Çelebi ve Karaca, 2006; Iannotti vd., 2014). Yumurta, gelişmekte olan kuş embriyosunu destekleyen yapılardan oluşmaktadır (Adabi vd., 2011).

1.1. Stres

Stres kavramını ilk kez ortaya atan Hans Selye (1976) stresi, organizmanın her türlü değişmeye özel olmayan (yaygın) tepkisi olarak tanımlamıştır. Yine Hans Selye’ye göre stres, bir algılama olayıdır. Selye’nin çok yaygın olarak benimsenen bu tanımına göre stres, memnuniyet verici olup olmadığına bakılmaksızın, her türlü isteme bedeninin uyum sağlamak için gösterdiği yaygın tepkisidir. Herhangi bir zamanda stres üreten bir madde "stresör" olarak tanımlanabilir ise de, stres bir etkiye karşı vücudun spesifik olmayan tepkisidir (Selye, 1976). Bu nedenle, stres normal fizyolojik dengenin veya homeostazi rahatsızlık uyaranlara karşı biyolojik bir cevap reaksiyonudur (Lara ve Rostagno, 2013). Stres insanlarda ve hayvanlarda pek çok kronik hastalığa neden olmaktadır. Stres bu etkisini organizmada özellikle inflamasyonu, immün sistemi ve antioksidan dengeyi bozarak göstermektedir (Sahin ve Kucuk, 2003).

1.1.1.Stres Nedenleri

Hastalık etkeni, değişen yaşam koşulları, fiziksel ve içsel koşullar stresin başlıca nedenleri arasındadır (Johnson vd., 1992). Stres, embriyonik gelişim ve çoğalma oranları ile ters orantılıdır (Puscheck vd., 2015). Son zamanlarda sıcaklık stresi, metabolizmayı değiştiren, bağışıklık sistemini etkileyen ve dolayısıyla büyüme ve katman performanslarını azalttığı belirlenmiştir (Calefi vd., 2016; Luo vd., 2014).

Sıcaklık dengesinin metabolizmada herhangi bir değişme olmaksızın, sıcaklık dilimi “Termik Konfor Bölgesi” olarak adlandırılır. Ergin kanatlılar için termik konfor bölgesinin sınırları 18-21 °C’dir. Vücut sıcaklığının metabolizmadaki kısmi

düzenlemelerle dengelendiği sıcaklık dilimi ise 16-24⁰C olarak kabul edilir ve “Termik Nötral Bölge” olarak tanımlanır. Vücut sıcaklığının kimi metabolik düzenlemelerin yanı sıra, sınırlı fizyolojik değişikliklerle dengelenebildiği sıcaklık dilimi “Homotermi Bölgesi” olarak adlandırılır. Homotermi bölgesinin alt ve üst sınırları 10-27 ⁰C olarak kabul edilir ve bu sınırlar aşıldığında organizmadaki metabolik ve fizyolojik düzenlemelere rağmen vücut sıcaklığı korunamaz. Çevre sıcaklığındaki değişimin yönüne bağlı olarak, vücut sıcaklığında azalma (hipotermi) veya artış (hipertemi) gerçekleşir (Türkoğlu ve Sarıca, 2014).



Şekil 1.1. Tavuklarda sıcaklık stresinin zararları (URL-1'den modifiye edilerek alınmıştır).

Sıcaklık stresinin zararları Şekil 1.1'de verilmiştir. Sıcaklık stresi sonuçları arasında, hayvanın vücudunda bulunan net enerji miktarı ile ortam ve hayvan tarafından üretilen ısı-enerji miktarı arasında negatif bir denge oluşturur. Ayrıca gıda alımında

hipertermi kaynaklı azalma olabilmektedir (Garriga vd., 2006; Lara ve Rostagno, 2013; Sahin vd., 2004; Sahin vd., 2013a).

Kanatlılarda sıcaklık stresinin; büyüme hızı, yemden yararlanma oranı ve canlı ağırlık gibi verim özelliklerini etkileyerek hayvanın performansı, verimi ve ürün kalitesi üzerine olumsuz etkilerinin olduğu bildirilmektedir (Sahin ve Kucuk, 2003; Santos vd., 2014).

Artmış ortam sıcaklığı kanatlılarda özellikle vücut sıcaklık mekanizmasında bozukluklara neden olmaktadır. Genel olarak çevre sıcaklığının aşırı yükselmesi su tüketimini, solunum hızını ve vücut sıcaklığını arttırabilir. Etlik piliçlerde 4. haftadan itibaren tavsiye edilen termonötral çevre sıcaklığı 20-24 °C arasındadır. Sıcaklık 30 °C'yi aştığında, sıcaklık stresi belirtileri görünmesi muhtemeldir. Sıcaklık stresine maruz kalan tavuklarda yem tüketimi düşmekte ve bunun bir sonucu olarak tavuklar optimum performansı sağlayacak kadar besin maddesi tüketemediğinden yumurta verimi ve yumurta kabuk kalitesi düşmektedir. Böylece stres; oksidatif hasar oluşan hücreler ve metabolizmada bazı değişikliklere neden olur (Karslı ve Dönmez, 2007; Konca ve Yazgan, 2002; Türkoğlu ve Sarıca, 2014; Yardibi ve Türkay, 2008).

Sıcak çevre şartlarındaki yaşama payı enerji gereksinim düzeyi ideal çevre sıcaklığındakinden oldukça düşüktür. Buna paralel olarak sıcak yaz aylarında enerji alımı kış aylarındakine göre %10-15 daha az olabilir. Yem tüketimindeki azalmaya paralel olarak protein, esansiyel amino asit, mineral ve vitaminlerin alımında da azalma olup bununla beraber; artan su tüketimi, kümes hayvanları azalmış yumurta kalitesi gibi fizyolojik değişikliklere yol açar (Akdemir vd., 2015; Önel vd., 2012; Sahin vd., 2002a). Sıcaklık stresi aynı zamanda mineral atılımını artırdığı gösterilmiştir (Sahin ve Kucuk, 2001; Sahin vd., 2002b; Sahin vd., 2012). Sıcaklık stresi, artmış oksidatif strese neden olan reaktif oksijen türlerinin üretimi ile bağlantılı bulunmaktadır (Orhan vd., 2013).

Sıcaklık stresi dişilerde; oogenez, oosit olgunlaşması, fertilizasyon, embriyoların gelişimi ve implantasyon oranını olumsuz yönde etkiler. Yüksek çevre sıcaklıkları endokrin sistemini bozduğu ve daha sonra yumurtacı tavuklarda yumurta üretimi gibi üreme faaliyetlerini bozduğu gösterilmiştir. Kanatlılarda yüksek sıcaklığın sperm hareketliliğini etkilemediği, ancak doğurganlık ve sperm-yumurta penetrasyonunda gerileme göstermesine neden olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle yüksek sıcaklık ve yüksek

nem ile yaz aylarında şiddetli sıcaklık stresine maruz kalan kanatlı üretimi ciddi şekilde etkilenmektedir (Choi vd., 2015; Shanmugam vd., 2015; Tu vd., 2016).

Yüksek ortam sıcaklığı antioksidan enzimlerin kofaktörleri (Zn, Cr vb.) olan minerallerin kullanılabilirliğini olumsuz yönde etkilemektedir. Ayrıca, sıcaklık stresi; reaktif oksijen türlerinin üretimi ile artan oksidatif strese, antioksidan savunma sisteminde rol oynayan serum vitamin ve mineral konsantrasyonlarının azalmasına neden olur (Orhan vd., 2012; Sahin vd., 2008; Sahin vd., 2010). Sıcaklık stresine maruz kalan kanatlılarda ölüm oranının arttığı, antioksidan enzim aktivitesinin azaldığı, immün sistemin baskılandığı ve stres sonucu ısı şok protein (HSP) düzeylerinin arttığı rapor edilmiştir (Sahin vd., 2013b).

1.1.2.Stresin Negatif Etkilerini Azaltma Yöntemleri

Günümüzde, kanatlı üretiminde sıcaklık stresinin etkilerini hafifletmek için havalandırma ile soğutma ve diyet takviyesi gibi yöntemler kullanılmaktadır (Luo vd., 2014).

Sıcaklık stresinin sebep olduğu ekonomik kayıpları fizyolojik ve metabolik değişimler nedeniyle tamamen ortadan kaldırmak mümkün olmadığı için kümeslerde yapısal ve kümes içi yetiştirme teknikleri ve/veya beslenme konusunda alınacak önlemler ile bu ekonomik kayıpları minimuma indirmek mümkün olabilecektir (Konca ve Yazgan, 2002). Ani sıcaklık değişimlerinden kaynaklanan birçok hasarı engellemek, hücrenin yapısı ve enzimatik bütünlüğünü muhafaza edebilmek için organizmalar tarafından bazı moleküler mekanizmalar geliştirmiştir (Bernabò vd. 2011; Chen vd., 2013). Bu enzimsel ve moleküler mekanizmaların aktif hale gelmesi için rasyondaki kritik besin maddelerinin miktarlarının artırılması ve bazı katkı maddelerinin ilavesi, beslemeciler tarafından sıkça kullanılan bir yöntemdir (Konca ve Yazgan, 2002).

Kümes hayvanlarında kan asit baz dengesinde oluşan dengesizliklere bağlı bozuklukların giderilmesi amacıyla karma yemlere CaCO_3 , CaHPO_4 ve NaHCO_3 ilavesi yaygınlaşmaya başlamıştır. Yılda 300 civarında yumurta veren ve bu nedenle de her gün asidozis ile karşı karşıya kalan ya da yüksek çevre sıcaklığı nedeniyle özellikle sıcak yaz aylarında kanatlıların vücutlarını serinletmek amacıyla hızlı teneffüs etme mecburiyetleri bulunmaktadır. Bunun sonucunda CO_2 kaybı ve alkalozis şekillenmesi, kanatlıların ve

özelikle de yumurta tavuklarının kan tampon düzeyinin korunmasının önemini ortaya koymaktadır (Kaplan vd., 2006).

1.2. Krom (Cr)

Genelde rasyonlar hazırlanırken protein, metabolik enerji ve makro elementler doğru şekilde değerlendirilirken mikro besin elementleri gözden kaçmaktadır. Ancak; organik iz minerallerin hayvan beslemede kullanılması son dönemde üzerinde durulan alanlardan biridir. Ayrıca ürünlerin hayvan beslemede sağlayacağı yararlar hakkında pek çok araştırma yapılmıştır. Organik minerallerin biyolojik yararlılıklarının daha yüksek olması, büyümeye olumlu etkisi, bağışıklık fonksiyonlarını geliştirmesi, metabolizmanın iyileştirilmesi, karkas kalitesinin iyileştirilmesi, mineral premikslerinde vitamin kayıplarının azaltılmasında etkili oldukları belirtilmektedir. Aynı zamanda organik minerallerin kullanımının üreme üzerine etkisinin olduğu, somatik hücre miktarını azalttığı, hayvanların performanslarını artırdığı hayvan sağlığını iyileştirdiği ve ölüm oranını azalttığı, ayak hastalıklarını iyileştirdiği bildirilmiştir (Boğa ve Filik, 2011; Yeşilbağ, 2008).



Şekil 1.2. Kromun periyodik cetveldeki yeri (URL-2’den modifiye edilerek alınmıştır).

Metalik bir element olan Krom’un atom numarası 24, atom ağırlığı 51,996’dır. Krom doğada +3 yüklüdür, indirgenme reaksiyonuyla +6 değerlik almaktadır. Kromun periyodik cetveldeki yeri Şekil 1.2’de verilmiştir. Krom biyolojik olarak, glukoz tolerans

faktör olarak bilinir ve kromodulin gibi biyomoleküllerin yapısına girer. Protein ve nükleik asit stabilizasyonu için gerekli olan enzimlerin kofaktörüdür (Dogukan vd., 2010). Krom ve karbohidrat metabolizması arasındaki bağlantı, yaklaşık 50 yıl önce öne sürülmüştür (Albarracin vd., 2008). Laboratuvar ve klinik kanıtlar, krom takviyesinin hücre içi sinyalizasyonu artırarak insülin duyarlılığını düzenleyebileceğini göstermektedir. Diyabetik ratlarda krom komplekslerinin oksidatif stresi azalttığı tespit edilmiştir (Tuzcu vd., 2011). Kısacası krom; (a) glikojen sentezini artırır, (b) glikojen yıkımını azaltır, (c) glikolizi artırır, (d) glukoneogenezi azaltır (Volek vd., 2006).

Kromodulin (zayıf molekül kütleli krom-bağlayıcı oligopeptitler), insülin etkisini güçlendirir ve hücrel sinyal iletimini ve glukoz taşıyıcıları (GLUT) aracılığıyla glukoz kullanımını geliştirir (Sahin vd., 2013c; Torki vd., 2014). Moleküler düzeyde kromun etki mekanizmalarının araştırılması ile benzersiz krom bağlaması ile kromodulinin karakterizasyonu bildirilmiştir. Oligopeptid formunda 1500 Da molekül ağırlığı olan, ve amino asit kalıntıları arasında, sadece glisin, sistein, glutamat ve aspartattan meydana gelmiştir. Küçük molekül ağırlığına rağmen, dört çekirdekli yapı, krom iyonlarını dört eşdeğerli olarak bağlar. Kromodulin insüline duyarlı hücrelerin sitosol ve çekirdek içinde apo-formunda depolanır (Vincent, 2000).

İnsülinin reaksiyonunu geliştirmek için kromun asetat, klorit, glisinat, histidinat, laktat ve propiyonat gibi organik ve inorganik şelatları üretilmiştir (Anderson, 1998; Sahin vd., 2005). Yapılan çalışmalar, organik krom bileşiklerinin biyoyararlanım, sindirilebilirlik ve emilimlerinin inorganik krom bileşiklerine göre daha yüksek olduğunu göstermektedir. Nitekim, son yıllarda kromun kimyasal olarak amino asitten oluşan bir ligant ile reaksiyona girmesiyle şekillenen organik krom bileşikleri, hayvan beslemede yaygınlaşarak kullanılmaya başlanmıştır (Volek vd., 2006). Krom ayrıca, güçlü ve etkili bir antioksidan olarak sıcaklık stresine maruz kalan kanatlılarda verimlilik ve metabolizma düşüşünü azaltmaktadır. Bu etkiler kısmen vücut krom rezervlerinin ikmal edilmesi ile ilgili olabilir (Akdemir vd., 2015).

Krom, bilinen bazı gıdalarda yüksek konsantrasyonda bulunmaktadır. Krom bira mayasında bol miktarda bulunmasına rağmen, şişkinlik meydana getirdiğinden insanlar tüketmekten kaçınmaktadır. Tahıllar: tam tahıllı ürünleri, özellikle buğday tohumu,

sebzeler: yeşilbiber, ıspanak, patates, brokoli, meyveler: elma, muz, üzüm, süt ürünleri: genellikle tereyağı, karabiber ve pekmez vb. olarak bilinmektedir (Mason, 2011; URL-1).

Cr-pikolinat, Cr-histidinat, Cr-nikotinat, Cr-fenilalanin, ve Cr-metionin gibi kromun çeşitli üç değerlikli formları patentli olarak üretilir. Bu formların bazıları dünya çapında diyet takviyeleri olarak pazarlanmaktadır. Bununla birlikte, hayvan ve insanlarda da biyoyararlılık ve biyojik etkileri hakkında tam olarak bilgi mevcut değildir (Sahin vd., 2011).

Yoğun egzersiz, stres, yüksek oranda karbohidrat alımı ve aşırı canlı ağırlık gibi durumlarda; kanda glukoz düzeyinin artışına, vücutta krom depolarının mobilize olmasına ve idrarla atılımının artışına neden olarak krom yetersizliğine yol açmaktadır (Sahin vd., 2013c; Torki vd., 2014). Krom supplementinin organik formların kullanımı, artan diyet konsantrasyonları ile sıcaklık stresi altındaki kuşlarda kromun rolünü aydınlatmak için yardımcı olabilir (Akdemir vd., 2015).

1.2.1. Krom Pikolinat

Krom pikolinat, krom mineralinin organik bir molekül olan pikolinik asitle bileşimidir. Vücut tarafından en iyi emilen krom formu olup, üzerinde en çok çalışılan kromun organik formudur (Jiajun vd., 2011).

Krom pikolinat, üç değerlikli krom ile diyet takviyesi insülin direnci ve tip 2 diyabet tedavisinde güvenli ve etkili bir tamamlayıcı tedavi yöntemlerinden biridir. Deney hayvanları modellerinde, depresyon belirtilerinin gelişimi ve indirgeyici kortizol seviyelerini azalttığı rapor edilmiştir (Albarracin vd., 2008; Komorowski vd., 2012). Krom pikolinatın sıcaklık stresini kortikosteron düzeyini düşürerek azalttığı tespit edilmiştir (Dubey vd., 2015). İnsanlarda ve hayvanlarda krom pikolinatın sağlık ile ilgili yönlerini inceleyen çok sayıda çalışma yapılmıştır (Dogukan vd., 2009). Krom pikolinat sıcaklık stresi altında kanatlılar üzerinde olumlu etkilere sahip olabilir. Sıcaklık stresinde yem tüketimi düşmesine rağmen, kanatlılar krom pikolinat ile daha çok krom temin etmiş olurlar (Sahin vd., 2005).

1.2.2. Krom Histidinat

Krom histidinat (CrHis), kromun organik bir formu, inorganik formundan 20-30 kat daha verimli bir şekilde absorbe edildiği belirtilmiştir (Akdemir vd., 2015). Krom histidinat krom mineralinin histidin aminoasitiyle oluşturulmuş organik bir kompleksidir. Histidin esansiyel bir aminoasit olup protein içeren besinlerin muhteviyatında yer alır. Bu aminoasit metabolizmada deaminasyonla ve hidroliz olarak n-formiminoglutamatı (FIGlu) oluşturur. Bu bileşik formimino grubunu tetra hidrofolata aktararak glutamatı serbest bırakır (Mackowiak vd., 2010). Açığa çıkan glutamat ise transaminasyonla veya glutamat dehidrogenaz enziminin katalizlediği oksidatif deaminasyonla α -ketoglutarata dönüştürülür (Anderson vd., 2004). Diyet organik krom formu olan krom histidinatın diğer organik krom formlarından daha fazla absorbe edilebildiği deney hayvanlarıyla yapılan araştırmalarla doğrulanmıştır (Moeini vd., 2011; Tuzcu vd., 2011).

Krom histidinat ABD Tarım Bakanlığı tarafından (patent numarası 6689383) patentlidir ve Nutrition 21 şirketi (Nutrition 21, Inc. 4, Manhattanville Purchase, NY, ABD) bileşiğinin ilaç kullanımı için lisans almıştır. kromun bu formu, insan deneklerde test edilmiş krom bileşiklerinin diğer formların daha iyi emilmesi ile daha kararlı bir bileşik olarak rapor edilmiştir (Dogukan vd., 2009).

1.3. Oreksin (Hipokretin)

Oreksin, ilk defa 1998'de birbirinden bağımsız iki araştırma grubu tarafından keşfedilmiştir (de Lecea vd., 1998; Greene vd., 2016; Sakurai vd., 1998). Birçok fizyolojik süreçleri regüle eden oreksinler; böbrek, hipofiz (González vd., 2016; Nakamura, 2015), tiroid, testis, ovaryum, jejunum ve akciğer gibi birçok dokuda üretilir. Aslında, oreksinler, enerji homeostazını (Elbaz vd., 2016), glukoz ve lipid metabolizmasını düzenlediği belirtilmiştir (Goforth ve Martin, 2016). Oreksin A ve oreksin B (ayrıca hipokretin 1 ve 2 olarak da adlandırılır), lateral hipotalamik bölgenin (LHA) nöronları ve bitişik hipotalamik bölgelerin kısımları tarafından üretilen peptitlerdir. İnsan ve hayvan çalışmalarının oreksin nöronlarının uyanıklık ve uyku düzeninde nasıl rol aldığını gösteren kanıtlar vardır (Luna vd., 2017). Akut ve kronik stresin oreksin sistemini etkileyebileceği ve hem ağrı eşiği hem de nosiseptif davranışlarda değişikliğe neden olduğu iyi bilinmektedir (Razavia ve

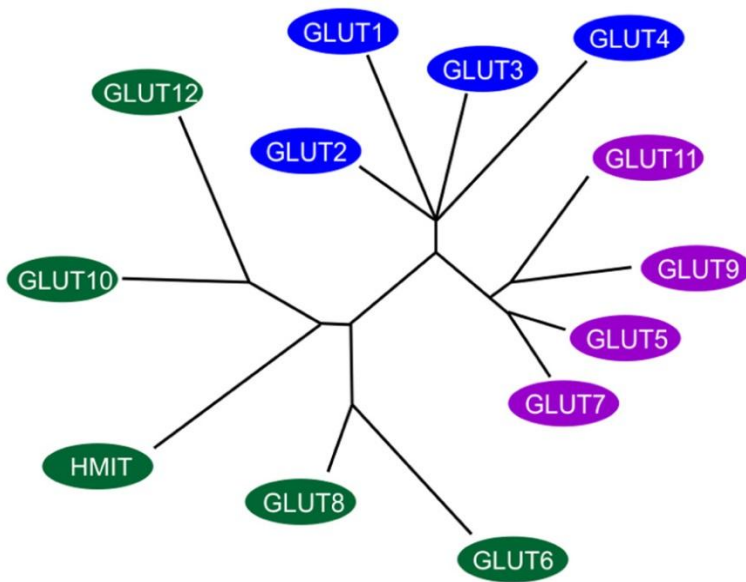
Hosseinzadeh, 2016). Beslenme fizyolojisinde etkin rollerinin olduğu gösterilen oreksinler de anti-obeziter ilaç hedeflerinden biridir. Klasik beslenme merkezi olarak bilinen LHA'da yoğun olarak bulunan oreksinler, son yıllarda sıçan hipotalamusunda tanımlanmış iki peptiddir (Göltekin ve Şahin, 2005). Estabrooke ve arkadaşları yaptıkları bir araştırmada uykusuz bırakılan ratlarda stres oluştuğunu, oreksinin nöronlarının da bu stres, nabız artması ve tansiyon yükselmesinden etkilendiğini belirtmişlerdir (Estabrooke vd; 2001). Oreksinlerin ratlarda yiyecek alımını uyardığı, oreksin mRNA'nın açlıkla düzenlendiği ve a bırakılan hayvanlarda pre-pro oreksin mRNA düzeyinin yükselmesiyle orantılı olarak yiyecek tüketiminin arttığı gözlenmiştir. Tüm bunlar çerçevesinde bu peptitlere Yunanca'da iştah anlamına gelen "orexis" kelimesinden dolayı oreksin ismi verilmiştir. Terminolojide, sekretinle hipotalamik yerleşiminin benzer olduğu düşünöldüğü için hipokretin olarak da kullanılabilmektedir (Karadağ ve Aksoy, 2009; Mieda, 2017). Oreksinin en önemli özelliklerinden biri stres modölatörü olduğudur. Ancak, oreksin sisteminin stres mekanizması üzerine etkisi birçok canlı türünde net olarak açıklanamamıştır (Greene vd., 2016).

1.4. Glukoz Taşıyıcı Proteinler (GLUT)

Monosakkaritler, polioller ve diğer küçük karbon bileşiklerinin taşınımı; ökaryotik hücre membranları boyunca, SLC2 süper familyasının genleri tarafından kodlanan ve başlıca üyeleri olan integral membran proteinleri GLUT ailesinin üyeleri vasıtası ile gerçekleşir (Mueckler ve Thorens, 2013). GLUT proteinleri çeşitli substrat özğüllüklerine sahiptir ve miyoinositola ek olarak, ürat, glukozamin ve askorbat gibi birçok heksozların taşınması ile ilgili görev alırlar. Tüm GLUT proteinlerinde 12 transmembran segment, bağımsız bir N-bağılantılı glikozilasyon alanı, merkezi sitoplazmik bağlantı alanı ve sitoplazmada ki N ve C terminal bölgesine sahip olduğu bilinmektedir (Mueckler ve Thorens, 2013).

Glukoz tüm memeli hücrelerinin enerji ihtiyacının temel metabolik substratıdır. Glukoz hidrofilik bir moleküldür ve plazma zarından geçemez. Bu nedenle hücreye glukoz alımına GLUT proteinleri aracılık ederler. Ana GLUT izoformlarının on dört elemanı olduğu tespit edilmiştir. GLUT proteinleri yaklaşık 500 aminoasitin bir araya gelmesi ile oluşur. Dizi benzerliği temelinde üç ana sınıf altında kategorize edildiği Şekil 1.3'te

verilmiştir: Sınıf 1 (GLUT 1–4, 14), Sınıf 2 (GLUT 5, 7, 9, ve 11), Sınıf 3 (GLUT 6, 8, 10, 12 ve HMIT). Sınıf 1 ve 2 GLUT’lar N-bağlantılı glikozilasyon, bulundukları bölge farkı ile yapısal olarak 3.Sınıf olanlar GLUT proteinlerden ayırt edilebilirler. Bu taşıyıcılar plazma zarlarının üzerinde glukoz taşınmasını kolaylaştırır. GLUT proteinleri farklı dokulara ve spesifik monosakkarit taşınımına göre değişik fizyolojik düzenleme göstermiş olup, dağılım farklılıklara ve genellikle hücreye özgüdür (de Montpréville vd., 2015; Mueckler ve Thorens 2013). Hücrelerde monosakkaritlerin kolaylaştırılmış taşınması transmembran protein ailesi ile gerçekleştirilir (Cantuaria vd., 2000).



Şekil 1.3. Genişletilmiş GLUT / SLC2A ailesinin üyeleri (Mobasheri 2012 modifiye edilerek alınmıştır).

Yapılan bazı bilimsel çalışmalarda; GLUT-1, GLUT-2, GLUT-3 ve GLUT-4’ün yüksek afinite ile glukoz alımına önemli katkıda bulunduğu belirtilmiştir. Plazmadaki glukoz homeostazı, hücre membranlarından glukoz hareketine olanak sağlayan spesifik taşıyıcı proteinler tarafından etkilenmektedir. Glukoz taşıyıcı proteinler ikiye ayrılmaktadır. Bunlar sodyuma bağlı glukoz taşınımına aracılık eden Na/glukoz co-taşıyıcı ailesi (SGLT) ve pasif kolaylaştırılmış taşınımına aracılık eden kolaylaştırıcı glukoz taşıyıcıları protein ailesi (GLUT) dir (Bell vd., 1990; Carruthers, 1990). Yumurtalık fizyolojisinde gonadotropinin etkileri uzun yıllardır bilinmesine rağmen, sıçan

ovaryumunda glukoz alımı konusu tam olarak anlaşılamamıştır. (Rudlowski vd., 2003; Zhang vd., 2012).

1.4.1. GLUT-1

SLC2A1 geni tarafından kodlanan GLUT1 ilk membran taşıyıcılarının biri olarak saflaştırılıp klonlanmıştır. Tüm membran taşıyıcıları arasında en yaygın bulunan proteinlerden biridir (Mueckler ve Thorens 2013).

Glukoz taşıyıcı protein 1'in ortaya çıkan protein dizisi yaklaşık olarak 54 kDa moleküler ağırlığında olup balıklarda 488; tavuklarda 490; insan, sığır, rat ve farelerde ise 492 amino asitten oluşur. GLUT1 eritrosit, hepatosit ve beyin endotelial hücrelerin plazma membranında bulunmaktadır (Zhao ve Keating, 2007). GLUT1 izoformu eritrosit toplam membran proteininin %3-5'ini kapsar. GLUT1 mRNA'sı her yere dağılmış bir izoform olarak oosit ve blastosit evreleri arasındaki fare embriyosunda, çeşitli insan ve hayvan dokularında belirlenmiştir (Hediger ve Rhoads, 1994). Plasentanın, meme bezinin (özellikle süt veren dönemlerde), çevresel sinir sisteminin, gözün ve beyinin endoepitelial ve epitelial bariyerlerinde yüksek düzeyde bulunduğu gösterilmiştir (Jensen vd., 2006; Takata vd., 1990; Zhao vd., 1993). GLUT-1 beyinde (özellikle beyin mikrodamarları), böbrek ve kolonda yüksek seviyelerde tespit edilmiştir (Cantuaria vd., 2000).

Farklı kökenli insanların vücutlarında gelişen kanser hücrelerinin özütlerinde, GLUT-mRNA ekspresyonları ve GLUT düzeylerinde artış görülmüştür (Cantuaria vd., 2000). Bazı yeni antikanser maddelerinin tasarımı, GLUT1 modülasyonu yoluyla hareket edilmektedir. Bu maddeler, histon deasetilaz inhibitörleri gibi GLUT1 proteinlerini inhibe ederek; bu sayede multipl-miyelom hücrelerinin içinde glukoz taşınmasını azaltmayı hedeflemektedir (Airley vd., 2010). GLUT-1; özellikle eritrositlerde, kan-beyin bariyerinin endotel hücreleri, trofoblastik plasental hücreleri veya perinöral hücreleri gibi bariyer fonksiyonlu hücrelerde bulunduğu yaygın olarak üretilir. GLUT-1'in patolojik tanıda yararlı bir marker olduğu bilinmektedir. Kendi kendini sınırlandıran infantil hemanjiomalarda GLUT-1 sentezi vasküler lezyonların ayırımında kullanılmaktadır. Ayrıca perinöral hücrelerin ve perinöral tümörlerin belirlenmesi için kullanılabilir (de Montpréville vd., 2015).

GLUT1 genindeki mutasyonlar GLUT1 eksikliği ya da nadir görülen ve otozomal dominant bir hastalık olan *de Vivo* hastalığını meydana getirir. Bu hastalık, düşük beyin-

omurilik sıvısı glukoz konsantrasyonu (hypoglycorrhachia) ile karakterize edilir (Seidner vd., 1998). GLUT1 aynı zamanda, hedef hücrelere giriş elde etmek için HTLV virüsü tarafından kullanılan bir reseptördür. GLUT1 ayrıca bebeklik dönemi hemanjiyom için güçlü bir histokimyasal marker olarak gösterilmiştir (Manel vd., 2003).

Sıçanda yumurtalık ve rahim ile ilgili GLUT1 regülasyonu bildirilmiştir (Asano vd., 1991; Hagi vd., 2000; Nishimoto vd., 2006). Glukoz, normal yumurtalık fonksiyonunu ve aktivitesini korumak için gerekli olan çok önemli metabolik substrattır. Glukoz taşıyıcı proteinler glukozun hücre içine alınmasına aracılık etmişlerdir. GLUT'ların fizyolojik fonksiyonları kendi kinetik ve substrat özelliklerine bağlıdır. Glukoz konsantrasyonları nispeten daha yüksek olduğunda kesinlikle GLUT1, GLUT2 ve GLUT4 aynı anda hücre içi glukoz alımını artırır (da Costa vd., 2004; Zhan vd., 2011).

1.4.2. GLUT-2

Glukoz taşıyıcı protein 2; bağırsak ve böbrek epitel hücre bazolateral membranları içinde ve pankreatik β -hücrelerinde son derece yüksek oranlarda ifade edilmektedir (Thorens, 1992). Bu durum, tüm fizyolojik veya diyabetle ilişkili glisemik seviyelerde hücre sitosölü ile ekstraselüler alan arasında hızlı bir dengelenme sağlamaktadır. Bu hücrelerde glukoz metabolizmasının hızı, glukoz fosforilasyon basamağında kontrol edilmektedir. Böylece; β -hücrelerinde diyabetik koşullarda olabildiği gibi, heksokinazlara glukozun girişini sınırlamaya yetecek oranda glukoz miktarının indirgenmiş olması dışında, GLUT2 yüzey bölgesinde modülasyonu genellikle metabolizmayı regüle etmemektedir (Thorens vd., 1990). Bağırsakta ise GLUT2; glukoz absorpsiyonunu artırmak için yüksek oranda lümen glukoz konsantrasyonu bulunduğunda, apikal yüzeye kadar ulaşmaktadır (Kellett vd., 2008). Kan glukoz konsantrasyonunun yükselmesi; pankreatik β -hücrelerinde insülin sekresyonunu tetikler ve hepatositlerde glukoz, glikolitik ve lipogenik gen ekspresyonunu uyarır. GLUT2 eksikliği, β -hücrelerince glukoz uyarımlı insülin sekresyonunu ve hepatositlerde glukoz hassas gen ekspresyonunun düzenlenmesini önlemektedir. Transgenik farelerle yapılan çalışmalar; GLUT2'nin karaciğer kapı toplardamar bölgesinde mevcut olan glukoz sensörlerinin ve merkezi sinir sisteminin sensörlerinin fonksiyonları için gerekli olduğunu ortaya koymaktadır. Bu sensörlerin glukagon sekresyonunu, beslenme davranışını, insülin sekresyonunu ve periferik doku glukoz alımını kontrol ettiği düşünülmektedir (Marty vd., 2007).

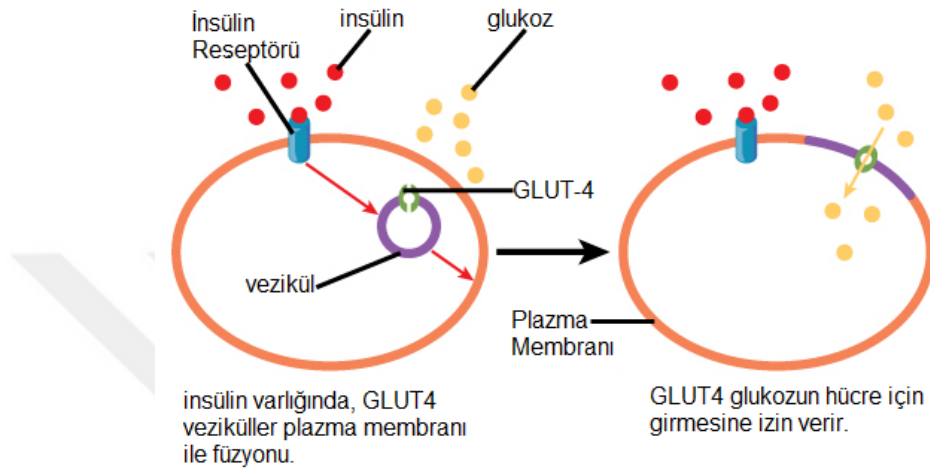
1.4.3. GLUT-3

Glukoz taşıyıcı protein 3; sperm, embriyo, nöronların hem dendrit hem de akson ve pankreas β -hücrelerinin plazma membranında yer almaktadır (Mantych vd., 1992; McCall vd., 1994; Sato vd., 1996; Shepherd vd., 1992). Ayrıca lenfositler, trombositler, monositler ve makrofajlarda bulunmaktadır (Estrada vd., 1994; Maratou vd., 2007). GLUT3, yüksek affinite ile glukozu (1.4 mM) ve ayrıca galaktozu (8.5 mM), mannozu, maltozu, ksilozu ve dehidroaskorbik asiti de taşıdığı bildirilmiştir (Joost ve Thorens., 2001).

1.4.4. GLUT-4

Glukoz taşıma proteini 4 (GLUT4) varlığı ilk defa David James 1988 yılında Nature dergisinde yayınladığı makalede bahsetmiştir (James vd., 1988). GLUT4 mRNA ve protein ifadesi *in situ* hibridizasyon tespit edilmiştir. GLUT4 iskelet kası, kalp, kahverengi ve beyaz adipoz doku gibi periferik dokularda insüline cevap veren temel bir taşıyıcıdır. Bu dokularda, glukoz alımını hızlandırır ve kolaylaştırır. GLUT4 plazma zarında bir hücre içi zar bölmesinden translokasyon yolu ile insülin uyarısına yanıt vermektedir (Dwyer vd., 2002). İskelet kası ve adipositlerde, intraselüler membran kompartımanlarından hücre yüzeyine insülin uyarımlı GLUT4 translokasyonunun mümkün olduğu bilgisi 1980'lerin başında yapılan çeşitli öncü çalışmalarla ortaya konmuştur (Cushman ve Wardzala 1980; Suzuki ve Kono, 1980; Wardzala ve Jeanrenaud, 1981). Aynı zamanda kemik ve kanser dokularında, ağırlıklı olarak insülin benzeri büyüme faktörü 1 reseptörü aracılığıyla regüle edilen GLUT4 bulunmaktadır. Ağırlıklı olarak insülin-benzeri büyüme faktörü 1 reseptörü yoluyla düzenlenir (Karnieli ve Armoni 2008) Bu regülasyon ile ilgili olarak; GLUT4 depolayıcı veziküllerin keşfi ve dahası gibi detaylarla ilgili çok miktarda bilgiye ise aradan geçen otuz yılda erişilmiştir (Larance vd., 2008). GLUT4 vezikülleri Şekil 1.4'te gösterilmiştir. GLUT4 proteini; rat ve farelerde yaklaşık olarak 55 kDa ağırlığında ve 509-510 amino asitten oluşan bir protein molekülü olup, bu türlerde %91–96 dizi özdeşliğiyle de oldukça korunumlu bir yapı sergilemektedir (Furtado vd., 2002; Mueckler, 1994; Sahin vd., 2010; Thorens ve Mueckler, 2010). Yakın zamandaki çok sayıda koyun, sığır, sıçan ve fare türlerindeki, ovaryumlarında GLUT 1,3 ve 4 düzeyleri rapor edilmiştir. Bu raporlar, aynı zamanda, foliküler gelişimi sırasında intraovaryan faktörlerin GLUT seviyeleri ile düzenlendiğini göstermiştir. Bu sonuçlar, yumurtalık GLUT proteinlerin glukoz alımını düzenleyen bir düzenleyici mekanizması olduğunu göstermektedir (Kodaman vd., 1999;

Kol vd., 1997; Williams vd., 2001; Zhou vd., 2000). GLUT-4 kas glikojen sentezi ve iskelet kaslarında glukoz taşımaya yardım eder (Morato vd., 2013). İnsülin regülasyonu ile GLUT4; özellikle insüline duyarlı dokularda üretilir.



Şekil 1.4. GLUT4 vezikülleri (URL-1'den modifiye edilerek alınmıştır).

1.5. Nükleer Faktör Kappa B (NF-κB)

Nükleer faktör kappa B (NF-κB), hücre adezyonu, inflamasyon, farklılaşma ve büyüme genleri, her dokuda, hücrenin hayatta kalması, proliferasyon, apoptozis ve hücre göçü gibi inflamatuvar ve doğuştan gelen bağışıklık yanıtlarında rol oynayan her hücrede bulunan bir transkripsiyon faktörüdür (Aggarwal vd., 1992; Collins v.d., 1995; Chen vd., 2001; Gilmore vd., 2004; Prasad vd., 2010; Tuzcu vd., 2012).

NF-κB; 1986 yılında Sen ve Baltimore tarafından B hücrelerinde immüno globülinlerin kappa zayıf zincirinde keşfedilen p50 ailesinin bir üyesi olan Retikülo endoteliyozis (REL) protein ailesine bağlı bir transkripsiyon faktörüdür (Bharti ve Aggarwal, 2002; Sen ve Baltimore, 1986). Çeşitli genlerin promotor bölgelerinin mevcut κB siteleri olarak bilinen ve özel DNA dizilerine bağlanan, NF-κB ailesi birkaç transkripsiyon faktörünü içermektedir (Kopitar-Jerala, 2015).

NF-κB, stres, beslenme, kemoterapötik maddeler, serbest radikaller, inflamatuvar uyaranlara, sitokinler, karsinojen ile aktive edilir. Aktif NF-κB'nin nükleus içine translokasyonundan önce, NF-κB1 ve NF-κB2 sırasıyla aktif p50 ve p52 alt birimlerine

ayrılmaktadır. Klasik yolak $IKK\alpha$, $IKK\beta$, $IKK\gamma$ ve inhibitör alt-birimi $I\kappa Bs$ 'den oluşan $I\kappa B$ kompleksine bağlı iken, alternatif yol $IKK\alpha$ homodimerler ve NF- κB uyarıcı kinaza bağlıdır. Klasik aktivasyon sırasında, E-2 ve E-3 ligazın poliubikütün aracılığıyla hedeflemesi ve daha sonrasında 26S proteozom bozulmasına aracılık eden $I\kappa B$ kinaz kompleksi, özellikle iki korunmuş N-terminal ve serin kalıntıları üzerinde $I\kappa B$ leri fosforile eder. Bu süreç ve daha sonra nükleusa doğru yer değiştiren NF- κB 'yi aktive eder (Sahin, 2015).

NF- κB ; transkripsiyonel aktivatör (Rel proteinleri) ya da represör (p50, p52) fonksiyonlarına sahiptir (Engelmann ve Haenold, 2016). NF- κB DNA'dan mRNA'ya, genetik bir bilgi aktarımını düzenleyip ayrıca DNA transkripsiyonunu kontrol etmekten sorumludur. NF- κB , normalde aktif olmayan bir formda hücrelerinin sitozolünde bulunur ve uyarılara yanıt olarak belirli genleri aktive etmek için nükleusa girer (Akdemir vd., 2015).

NF- κB doğal Rel-benzeri proteinlerin dimerizasyonu ile oluşturulan bir homo ya da heterodimer kompleks olarak bulunur. NF- κB ailesinin bileşenleri RelA / p65, RelB, NF- $\kappa B1$ / p 105, NF- $\kappa B1$ / p50, c-rel, NF- $\kappa B2$ / p100 ve NF- $\kappa B2$ / p52 vardır. Bunların dışında, sadece NF- $\kappa B1$ ve NF- $\kappa B2$ transkripsiyonu yapmak mümkündür. Ancak RelA, RelB ve Relc; aktivasyon ve transkripsiyon boyunca aktivasyon sitelerini ortaya çıkarmak için dimerin uygun yapısal konfigürasyon oluşturmada yardımcı olurlar. Denge durumunda NF- κB , p105/RelA veya p100/RelB iki formda bulunur. NF- $\kappa B1$ 'in çekirdeğin ve sitoplazmanın içinde farklı görevleri vardır. Sitoplazması içinde, p105 ile bağlanmış NF- κB proteinlerinin sitoplazmada tutunması için yardım eder, çekirdeğin içinde ise, GRR (glukoz represyon-rezistant) prosesi yoluyla bir ko-translasyonel işlemi ile p50 üretimine yardımcı olur (Ghosh ve Dass, 2016; Ghosh and Karin, 2002; Loaiza vd., 2016; Miklowitz vd., 2016).

1.6. Isı Şok Proteinleri (HSP)

Isı Şok Proteinleri (HSP'ler) omurgasız ve omurgalı hem dahil olmak üzere tüm canlı organizmalarda yaygın olarak mevcuttur. İlk Ritossa tarafından 1962 yılında *Drosophila melanogaster*'de yaptığı çalışmalarda keşfedilen HSPler yüksek derecede korunmuş proteinlerin kümesidir. Fizyolojik koşullar altında hareket eden ve aynı zamanda sıcaklık dahil olmak üzere, birçok sitotoksik stres tarafından indüklenen moleküler

şaperonlardır. Proteinler ve polipeptidlerin birçok durumda kümelenmesini önleme yeteneği en önemli işlevidir. Bu şaperon işlevi ilk olarak göz merceği proteini için gösterilmiştir (Bakthisaran vd., 2015; Pei-ming vd., 2007; Ritossa; 1962; Shanmugam vd., 2015).

HSPLer ve stresli hücrelerin hayatta kalması ve iç ortam stabilizasyonunda önemli bir rol oynamaktadır. HSP genleri; sıcaklığın yükseltilmesi, desikasyon, toksik kimyasallar, enfeksiyon ve hipoksiye maruz kalma gibi faktörlerden kaynaklanan çevresel ve fizyolojik stresler ile indüklenir. Sitokin ve kas gerilmesi, glukoz yoksunluğu, asidoz, enerji tükenmesi, iskemi reperfüzyon ve reaktif oksijen veya nitrojen türleri dahil olmak üzere sıcaklık stresi de HSP gen ekspresyonunu artırır (Akdemir vd., 2015; Kero vd., 2015; Shanmugam vd., 2015). Bu proteinler, proteomik hasara yanıt olarak sentezlenir ve bir protein tamir setinin bileşenleri olarak düşünülebilir (Akdemir vd., 2015; Calderwood ve Gong, 2016; Chaurasia vd., 2016; Driedonks vd., 2015). HSPLer ilk olarak ısı şoku ile ilişkili olarak tarif edilmiştir, ama şimdi stres faktörlerinin soğuk stresi, UV ışığı, yara iyileşmesi, dokunun yeniden modellenmesi ya da biyotik stresler gibi birçok nedenli olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, sıcaklık stresinden başka birçok stres sebepli ısı şok protein genlerinin ekspresyonunu sağladığından, "ısı şok proteini" ifadesi yanlış adlandırma olarak kabul edilir (Park ve Seo, 2015).

HSPLer hücresel homeostazinin önemli düzenleyicisidirler. HSPLer basit prokaryotlardan, insanlar gibi kompleks ökaryotlara kadar değişen türlerde yaygın olarak bulunur ve yüksek oranda muhafaza edilirler. Genel olarak HSPLer 27 ila 110 kDa arasında değişen bir moleküler ağırlığı bulunmaktadır Her bir HSP proteini kendi moleküler ağırlığına göre sınıflandırılır, ve 6 aileye ayrılırlar (Chaurasia vd., 2016; Preuss vd., 2007). Bunlar: Küçük HSPLer (sHSPs), HSP40, HSP60, HSP70, HSP90 ve HSP100 aileleridirler. HSPLer içinde farklı aileler arasında en yaygın araştırılanlar HSP60 ve HSP70 ve HSP90 olmuştur. HSP60, HSP70 ve HSP90 ailesinin üyeleri stresle uyarılabilir. Bunlardan bazıları organizmada yapısal olarak üretilir, bir kısmı ise stres durumunda üretilir. Yüksek molekül ağırlıklı HSPLer ATP ile aktif olan şaperonlardır. Buna karşılık, küçük molekül ağırlıklı HSPLer (örneğin HSP27 gibi) ATP bağımsız şaperonlardır. Yaklaşık 40 yıl öncesinden "ısı cevap genleri" olarak tanımlanan HSPLerin oluşmakta olan ve yeni oluşan proteinlerin paketlenmesinde ve yanlış paketlenmiş veya kısmen denatüre olan proteinlere de renatüre olmaları yolunda kılavuzluk ederek bir bakıma mevcut proteinlerle hücresel bilançoya

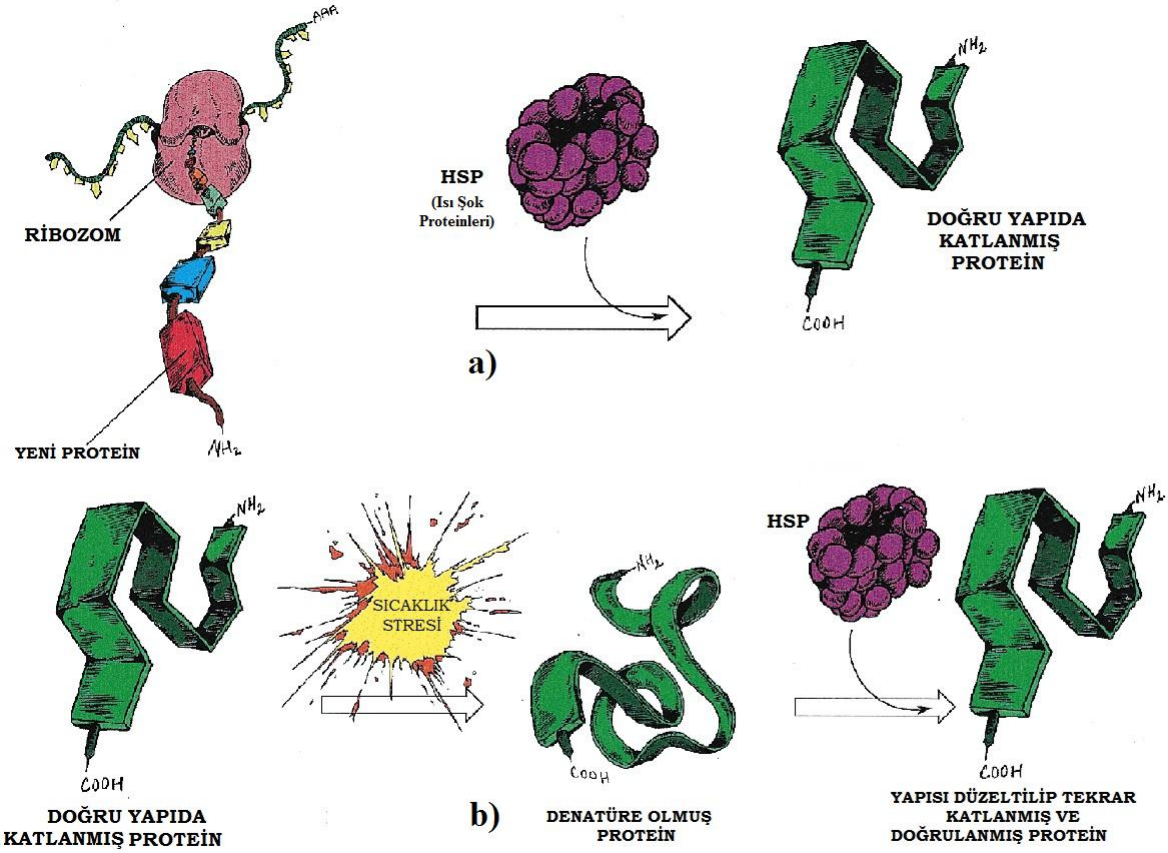
yardımcı olduğu bildirilmiştir (Chaurasia vd., 2016, Ciocca ve Calderwood, 2005; Haslbeck vd., 2005; Kappe vd., 2003; Park ve Seo, 2015; Preuss vd., 2007; Sevin vd., 2015; Wegele vd., 2004). Küçük ısı şok protein (sHSP)'ler, yaygın olarak çeşitli dokularda bulunabilir. Ağırlıklı olarak sıcaklık ile uyarılabilir stres koşulları altında, hücrenin hayatta kalması önemli bir rol oynar (Bakthisaran vd., 2015).

HSP'ler hücre yapısı ve doku homeostazının muhafazasını sağlar. Onlar da güçlü anti-apoptotik ajanlar olarak görev yapabilir. HSP düzeylerinin aşırı artması, apoptozisi önleyebilirken, onların yokluğu hücreleri pro-apoptotik uyarılara karşı daha duyarlı yapmaktadır. Benzer biçimde, HSP düzeylerinin azalma veya artması ile hücre farklılaşması başlayabilir. Bu nedenle HSP düzeylerinin kesin bir biçimde düzenlenmesi gerekmektedir (Kero vd., 2015). HSPlar bazı hayvanlarda antijen sunumu, lenfositlerin ve makrofajların aktivasyonu, dendritik hücrelerin aktivasyonu ve olgunlaşması da dahil olmak üzere bağışıklık sisteminde önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir (Park ve Seo, 2015).

Isı şok proteinleri (HSP'ler), hücre hasarı takiben hücre korunması ve hücre hasarın onarımına katılan stres proteinlerdir (An vd., 2014). Bu şaperonlar protein katlanmasını kolaylaştırarak yanlış katlanma, karmaşık derleme ve proteinin dağılması gibi tehlikelerden proteini korumaktadır (Kennedy vd., 2014). HSPlar birçok temel hücre mekanizma içinde yer alırlar. HSPlar, sitokrom c, kaspaz veya Apaf-1 (apoptotik proteaz aktifleştirici faktör 1) olarak, programlanmış hücre ölümüne katılan proteinlerle etkileşerek apoptozu inhibe edebilir (Bellay vd., 2014).

Isı şoku proteinlerinin iki işlevi Şekil 1.5'te verilmiştir. HSP, stresin çeşitli formlarına cevap olarak hücre onarım ve koruyucu mekanizmalarında önemli rol oynamak için indüklenmektedir. Aslında, şaperonlar hücrede;

- Çeşitli hücre bölümleri arasında protein lokasyonunu,
- Protein aktivitesini düzenleme yoluna bağlı olarak stabilizasyon ve / veya olgunlaştırma fonksiyonel yeteneği, konformasyonel seviyede hafif mutasyon gizleyici,
- Multi protein komplekslerini montaj/demontaj görevi,
- Yanlış katlanmış proteinlerin tekrar katlanması,
- Hasar görmüş proteinlerin geri dönülmez biçimde degradasyonu için hedeflenmesi,
- Hasar gören proteinlerin ayrılması, gibi çeşitli aktiviteler gösterirler (Dattilo vd., 2015).



Şekil 1.5. Isı şoku proteinlerinin iki işlevi **a)**Yeni polipeptid zinciri (proteinler) hücre içindeki ribozom tarafından üretilir, HSP'ler, fonksiyonel proteinin polipeptid zincirinin doğru katlanmasına yardım eder. HSP'nin (mor) varlığı, yeni bir proteinin fonksiyonel üç boyutlu bir konfigürasyona sahip olmasını sağlar. **b)** Stres olayından sonra, ısı şoku proteinleri de hasarlı veya denatüre proteinlerin üç boyutlu olarak katlanmasına veya yıkımına yardımcı olur (Whitley vd., 1999).

1.6.1. HSP 60, 70 ve 90

HSP'ler moleküler ağırlıklarına göre sınıflandırılırlar. HSP60 yerli makromoleküllerin yapısını, işlevini ve özellikle membranlar arası moleküler trafiği koruduğu bilinmektedir (Al-Zghoul vd., 2015). HSP60 protein katlanması, mitokondri taşınması vb. gibi birçok fizyolojik işlevi olduğu öne sürülmüştür (Okamoto vd., 2015).

Stres proteinlerinin 70 kDa ailesi (HSP70) en yoğun araştırılan HSP çeşitidir (Dattilo vd., 2015). HSP70, erken dönemde embriyo gelişimi sırasında üretilen, ayrıca apoptozis ve embriyonik dokuların farklılaşmasında rol oynadığı bilinmektedir (Kero vd., 2015). Hücrenin her yerinde yaygın olarak üretilen HSP 70 ailesi, çok sayıda proteinlerin şaperonları olarak bilinmektedir. Bunlar protein uygun bir şekilde katlanması, stres

kaynaklı hasarların proteinlerin korunması, hasarlı / kümelenmiş proteinleri kurtarma / renatürasyon, protein parçalanması, protein translokasyonu ve DNA replikasyonu makinesi gibi protein komplekslerini parçalara ayırmada önemli rol oynarlar (Khachatoorian ve French, 2016).

HSP hücre ve doku homeostazında bilişsel açıdan hareket eder. Stres etkisi arttıkça onlar uyarılabilir bir formda hücre içinde ve hücre dışında serbest bırakılırlar. HSP70 transkripsiyon gibi oksidatif stres, iskemi, inflamasyon ya da yaşlanma gibi ısı şoku gibi ayrıca diğer stres dürtüleri ile artar ve stresin bir göstergesi olabilir (Sheikh vd., 2016). Tavuklarda farklı dokularda HSP70 ve HSP27 gen ekspresyonu veya protein seviyeleri sıcaklık stres ayırıcı bir yanıt olarak bildirilmiştir (Shanmugam vd., 2015).

Hayvan modellerinde ve insan yumurtalık dokularında HSP70, HSP90, HSP27 proteinlerinin yumurtalık fonksiyonların kontrolünü diğer bir ifadeyle, folikülogenez ve hormon homeostasisinin düzenlediği bulunmuştur. Bunun yanı sıra, HSP70 steroidal etkilerin inhibitörü olarak hareket gösterilmiştir. HSP70 seviyelerinin artması, östrojen reseptörü ve progesteron reseptör üretiminin azalması ile ilişkili bulunmuştur. HSP70 proteininin yüksek konsantrasyonlarda doğrudan ya da dolaylı olarak, steroid biyosentezinin inhibe ettiği gösterildi. Özellikle HSP70 ve HSP90 çeşitli dokularda nükleer steroid reseptör işlevlerini, kontrol ettiği gösterilmiştir. Hormon yanıt sistemi yanı sıra HSP'ler, apoptotik mekanizmaların düzenlenmesinde rol oynadığı gösterilmiştir (Stope vd., 2016).

HSP 90 ökaryot canlılar için gereklidir. HSP90'ın yapısal bütünlüğü, sitosolik bir protein alt grubun uygun bir şekilde düzenlenmesini ve moleküler katlanmayı koruduğu gösterilmiştir. Ayrıca yüksek sıcaklıklarda, hücre içi HSP90 konsantrasyonunda meydana gelen bir azalma nedeni ile canlılarda hücre ölümünün arttırdığı bildirilmiştir (Al-Zghoul vd., 2015). En iyi bilinen etkileşimi, östrojen, PRG ve glukokortikoid reseptörlerini içeren steroid hormon reseptörleri ile olmaktadır. Bu reseptörlerin hormon-bağlayıcı domainlerine bağlanmakta, onları kısmi katlanmamış bir konfügrasyonda tutarak hormonal ligandları en yüksek affiniteye bağlanmasını sağlar (URL-3).

Önemli bir eritroid transkripsiyon faktörü olan GATA-1, geç eritroid farklılaşması sırasında geçici olarak aktif kaspazlar tarafından parçalanır. Bu protein, çekirdeğe doğru yer değiştirir ve kaspaz aracılı proteolizinden GATA-1'i korur. Ancak, B-talasemi GATA-1'i korumak için çekirdeğe translokasyonu engelleyen HSP70, sitoplazmada serbest-globin

zincirleri ile etkileşir. Bu olgunlaşma yakalama ve apoptozis ile sonuçlanır. Böyle nükleusa hedeflenen ayrıca bölünmeyen GATA-1 veya HSP70'in transfekte edilmesi gibi genetik manipölasyonlar, talasemi eritroblastlarının normal olgunlaşmasını yeniden düzenlemiştir. Bu bulgular serbest globin zincirleri veya HSP70 yönelik yeni tedavilerin geliştirilmesi için geçerli olabilir (Arlet vd., 2014; Rund, 2016).



Çalışmanın Amacı

Krom; karbohidrat, lipid, protein, nükleik asitlerin ve kromodulin gibi biyomoleküllerin yapısına girerek insülin metabolizmasında önemli rol oynamaktadır. Araştırma grubumuz tarafından yürütülen bazı çalışmalarda, diyabetik ratlarda kromun glukoz taşıyıcılarını aktive ettiğini belirledik (Sahin vd., 2011; Tuzcu vd., 2011). Ancak, sıcaklık stresi ve diyet krom ilavesinin ovaryum oreksin glukoz taşıyıcıları, ile ilgili çalışmalara rastlanılmamıştır. Bu çalışmada, yumurta tavuklarında diyetle ilave edilen farklı organik krom kaynaklarının ovaryum oreksin, GLUT, NF- κ B ve HSP protein düzeyleri üzerine etkileri araştırılmıştır.

2.MATERYAL ve METOT

2.1. Hayvan Temini ve Yem Hazırlama

Araştırmada, özel bir ticari firmadan temin edilen 1800 adet yumurta tavuğuna ait (16 haftalık; Lohmann LSL-Lite) ovaryum dokusu kullanılmıştır. Araştırmada kullanılan yem ham maddeleri özel bir yem fabrikasından temin edilmiştir. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Elazığ Veteriner Kontrol Enstitüsü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan, onay alındıktan sonra (Tarih: 28.05.2014, Toplantı Sayısı 2014/5 Karar No: 5-01), araştırma standart deneysel hayvan çalışmaları etik kurallarına uygun olarak düzenlendi. Araştırma premiksleri Farmavet International Yem Katkı Maddeleri A.Ş.'de hazırlanmıştır. Çalışmada, krom pikolinat ve krom histidinat Amerika Birleşik Devletlerinden Nutrition21'den sağlandı. Karma yemin hazırlanma işlemi özel bir yem fabrikasının karıştırma ünitesinde gerçekleştirildi.

2.2. Deneme Düzeni

16 haftalık 1800 adet yumurta tavuğu (Lohmann LSL-Lite), 2 × 3 faktöriyel deneme düzenine göre 6 gruba ayrıldı. Denemede faktörleri iki farklı sıcaklık ortamı [**termonötral** (TN), 22 ± 2 °C 24 saat/gün) ve **sıcaklık stresi** (HS); 08:00 ila 17:00 saatleri arasında olmak üzere, 8 saat boyunca 34±2°C'ye ve 16 saat boyunca 22 °C'ye sıcaklık] ile bazal diyetle ilave edilen krom 3 farklı krom düzeyi oluşturdu [elementel Cr 200 µg / diyet kilogram olacak şekilde; **0**, **1.600** mg/kg CrPic (% 12.43 Cr) ve **0.788** mg/kg CrHis (% 25.22 Cr)]. Çalışma 12 hafta boyunca sürdürüldü.

Alınan doku örnekleri analiz edilinceye kadar -80 °C'de saklandı. Tavukların Bazal rasyonun bileşimi ve besin madde içerikleri Tablo 2.1.'de verilmiştir. Cr-şelatların organik bir porsiyonunun olası negatif etkilerinden kaçınmak için diyet kontrol, CrPic ve CrHis diyetleri sırasıyla kilogram başına 1.401 mg pikolinik asit + 0.589 mg histidin, 0.589 mg histidin ve 1.401 mg pikolinik asit ile takviye edilmiştir. Toplam 75 kafeste deney gerçekleştirildi. Deney süresi boyunca yem ve tatlı su *ad libitum* olarak sunulmuştur. Tavuklara, düzenli ışık sağlayan bir aydınlatma programı kullanıldı (16 saat karanlık döngü, 8 saat aydınlık döngü).

Tablo 2.1. Bazal Rasyonun Bileşimi ve Besin Madde İçerikleri

Ham Maddeler	%
Mısır	60.00
Soya Küspesi	27.15
Mısır Yağı	2.00
Mermer Tozu	8.82
Dikalsiyum Fosfat	1.30
Vitamin-Mineral Premiks*	0.25
Tuz	0.35
DL-Metiyonin	0.13

* Grupların yemlerine ilave edilen premiks: Vitamin A: 12.500.000 IU; Vitamin D3: 2.500.000 IU; Vitamin E: 40.000 mg; Vitamin K3: 4.500 mg; Vitamin B1: 2.000 mg; Vitamin B2: 7.000 mg; Vitamin B6: 4.000 mg; Vitamin B12: 20 mg; Pantotenik asit: 8.000 mg; Niasin: 40.000 mg; Folik asit: 750 mg; Bakır: 5.000 mg; İyot: 500 mg; Kobalt: 100 mg; Selenyum: 300 mg; Mangan: 100.000 mg; Demir: 35.000 mg; Çinko: 60.000 mg; Elementel Cr 200 µg / diyet kilogram olacak şekilde; 2. ve 4.gruplar için 1.600 mg CrPic (%12.43 Cr); 3. ve 6. gruplar için 0.788 mg CrHis (%25.22 Cr) premikslere ilave edilmiştir.

2.3. Laboratuvar Analizleri

2.3.1. Örneklerin Hazırlanması

2.3.1.1. Kullanılan Cihaz ve Malzemeler

Cam homojenizatör, mikrosantrifüj tüpleri, alüminyum folyo, soğuk zincir aparatları, steril bistüri ucu, bistüri sapı, sonikatör, soğutmalı santrifüj, otomatik pipet, pipet uçları, mikrotüp rak, sıcak su banyosu kullanılmıştır. Protein konsantrasyonu UV-spektrofotometre cihazı ile ölçüldü. Homojenizasyon Buffer için: 1M TRİS, EDTA, 2-merkaptoetanol, Soybean tripsin inhibitör, PMSF (Fenil Metil Sülfonil Florid) kullanılır. Sample buffer için: Bromophenol blue, SDS, 0.5 M TRİS-HCl, Gliserin, 2-merkaptoetanol, distile su gereklidir.

2.3.2. Ovaryum Dokularının Homojenizasyonu

Derin dondurucudan (-80 °C) çıkarılan ovaryum dokuları soğuk zincire bağlı kalacak şekilde ve tüm grup üyelerini temsil edecek şekilde ovaryum parçaları tartıldı. Daha sonra ağırlının 1/6 v/v olacak şekilde homojenizasyon buffer ile kar içinde cam/cam homojenizatör ile parçalandı. Katı doku parçacığı kalmayıp, homojen bir hal alınca kadar bu işlem devam edildi. Daha sonra tüm örnekler 120 sn (30sn sonikasyon-15sn dinlenme-30sn sonikasyon-15sn dinlenme -30sn sonikasyon) olacak şekilde sonikasyon işlemi yapıldı. Yapılan tüm sonikasyon işlemlerinden sonra 15.000 G'de 60 dakika +4 °C olacak şekilde tüm örnekler santrifüj edildi.

Santrifüj işleminden sonra alınan örneklerde süpernatant kısmı alındı. Eşit hacimde sample buffer ilavesi yapıldıktan sonra vortekslendi. Daha sonra önceden ısıtılmış 95 °C su banyosunda 5 dakika bekletilerek örneklerdeki proteinler denatüre edildi. Lowry'nin "Folin fenol reaktifi ile Protein Ölçümü" metodu ile ovaryum doku örneklerinin protein yoğunluğu ölçümü yapıldı (Lowry vd.,1951).

2.3.3. Lowry Metodu ile Protein Tayini

Yöntem, alkali koşullarda meydana gelen iki farklı reaksiyona dayanmaktadır.

1. Reaksiyon: Amid bağları ile bakır arasında meydana gelen ve indirgenmiş bakır oluşumu ile sonuçlanan biüret reaksiyonu,

2. Reaksiyon: Folin–Ciocalteu ayırıcının (fosfomolibden ve fosfotungsten) tirozin ve triptofan amino asitleri ile tepkimeye girerek indirgenmesi:İndirgenmiş ayıraç mavi renktedir.
3. Oluşan rengin şiddeti 660 nm’de UV ile ölçülebilir. Ortam pH’ı 10–10.5 olmalıdır.

Uygulanışı

- 1 ml % 5 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ve %1 Na-K tartarat, %2 sodyum karbonat içeren 0.1 M sodyum hidroksit çözeltisi içerisinde hazırlanır.
- 0.5 ml protein çözeltisi hazırlanan reaktifin 5 ml’si içine katılır. Sonra 10 dk kadar beklenir.
- Folin-Ciocalteu fenol reaktifinden 0.5 ml eklenip hızlı bir şekilde karıştırılır. 30 dk bekletilir.
- Absorbansı 660 nm’de ölçülür.
- Serum albumini proteinlerden 20-400 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyon serisi kullanılarak standart eğri hazırlanır.
- Sonuçlar eğriye göre değerlendirilir ve miktar tayini yapılmış olur.

2.3.4. Ovaryum Dokuları için SDS-PAGE Uygulanması

Elektroforez, yüklü moleküllerin bir elektriksel alandaki hareketlerinin izlendiği tekniğe verilen isimdir. Moleküllerin hareketi, moleküllerin yüküne, boyutuna, biçimine, kimyasal içeriğe ve uygulanan elektriksel alana bağlıdır. Jel elektroforezi en çok kullanılan elektroforez yöntemidir. Jel sentetik bir madde olan akrilamid ile akrilamid türevi olan N-N'-metilen bisakrilamidin polimerleşmesiyle oluşturulur ve örnekler bu jel üzerinde yürütülür. Akrilamid miktarı ve akrilamid/bisakrilamid oranı jelin ayrıştırma kapasitesini belirler. Akrilamid / bisakrilamid oranı yükseldikçe jellerde ısınma fazlaşır, kırılabilirlik artar, daha kolay yıkanır.

SDS PAGE için Kullanılan Kimyasallar

- 2 jel örneği için: Akrilamid/Metilen Bisakrilamid, Sodyum dodesilsülfat, Tris-HCl, TEMED (N,N,N,N-Tetrametil-Etilen diamin), (APS) Amonyum peroksidisülfat (%10).
- Stain çözeltisi: Metanol, asetik asit(Glasiyel), Distile su, Coomassie blue

- Destain çözeltisi: Distile su, asetik asit(Glasiyel), Metanol,
- Running buffer:, Tris base, Glisin, Distile su

Tablo 2.2. Stacking ve seperating jel hazırlama protokolü (%12)

Stacking	Madde Miktarı	Seperating	Madde Miktarı
Su(distile)	6.1 ml	Su(distile)	3.35 ml
Tris-HCl 0.5 M (pH: 6.8)	2.5 ml	Tris-HCl 1.5 M (pH: 8.8)	2.5 ml
SDS (%10)	100 µl	SDS (%10)	100 µl
Acrylamid/Metilen Bisacrylamid (%30)	1.3 ml	Acrylamid/Metilen Bisacrylamid (%30)	4 ml
TEMED	5 µl	TEMED	10 µl
Amonyum Peroksidisülfat	50 µl	Amonyum Peroksidisülfat	50 µl
Toplam	10 ml	Toplam	10 ml

SDS (Sodyum dodesil sülfat) anyonik bir deterjan olup iki amino asitte bir peptit zincirine bağlanarak protein moleküllerini oluşturan alt birimleri birbirinden ayırır. Ayrıca (-) yük taşıdığından peptitlerde yüksek oranda (-) yük kazandırır. Böylece elektrik yükü açısından karışım içerisindeki bütün protein molekülleri eşit duruma getirilir. Jel konsantrasyonu artırılarak protein moleküllerinin molekül ağırlıklarına göre ayrışmaları sağlanır. SDS PAGE yöntemi proteinlerin saflığının kontrolü, molekül ağırlıklarının saptanması ve konsantrasyon çeşitliliğinin belirlenmesi amacıyla kullanılmaktadır. Proteinin göç oranı; Elektriksel alanın gücüne, proteinin net yüküne ve Elektroforezin ortam yoğunluğuna bağlıdır. Amonyum persülfat (APS) gibi bir serbest radikal ile TEMED gibi stabilizatörü sağlayıcı ortamda akrilamid monomerleri uzun zincirler oluşturacak şekilde polimerleşmekte ve daha sonra oluşan bu uzun zincirler arasında yanal bağlantılar oluşarak jel meydana gelmektedir (Tuzcu, 2004).

SDS–PAGE çalışmamız Laemmli’ye göre düzenlendi (Laemmli,1970). Stacking ve seperating jel hazırlama protokolü Tablo 2.2’de verilmiştir. Çalışmada jel karışımı

platform üzerinde hazırlandı. 0.75 mm kalınlığında jel cam aparatlar arasında SDS–PAGE kasetlerine yerleştirildi. Jeller prosedüre göre hazırlandıktan sonra taraklar çıkarılıp protein çözeltilerinin yüklenmesi yapıldı (15 µl). Daha sonra tankın içine 1x taze hazırlanmış Runnig buffer ilave edildi. İlk 30 dk 20 mA’de proteinler koşturulmaya başlandı. Daha sonra sistemdeki akım 40 mA’e alındı. Boyalı protein çözeltisi jelden düşer düşmez elektroforez işlemi bitmiş oldu. Yapılan stain boyamalar ile total protein görüldü. Tekrarlanan çalışmada kasetlerden çıkarılıp stacking kısmı kesilip atıldı. Bantlaşma gerçekleşen seperating kısmı ise çalışma blotlama yapmak üzere hazırlandı.

2.3.5. Ovaryum Dokuları için Western Blot Uygulanması

Elektrik yük farkı prensibiyle homojenattan jele aktarılan proteinlerin horizontal olarak nitroselüloz membrana transferi ve antijen, antikor ve görüntüleme maddeleri ile ortaya çıkarılan spesifik protein bantların incelenmesine Western blot işlemi denir. Western blot işlemleri Tuzcu’ya (Tuzcu, 2004) göre yapıldı ve dört aşamada gerçekleşti.

2.3.5.1. Blotlama

SDS-PAGE ile dikey olarak proteinler ağırlıkları farkı ile jelde birbirlerinden ayrıldı. Proteinlerin jelden nitroselüloz membrana (Schleicher and Schuell, Inc., USA) transferi yapılması sağlanmıştır. Blotlamada jel ve nitroselüloz membran arasında hava boşluğu kalmayacak şekilde birleştirilip, filtre kağıtları arasına yerleştirildi. Sünger ve aparatlarla sıkıştırıldı. Daha sonra immüno blot tank içine yerleştirilip tampon solüsyon ilave edildi. Buz aküleri ve manyetik karıştırıcılarla ortamın soğuk olması sağlandı. 90 dakika boyunca 150 mA elektrik akımı uygulandı. Böylece proteinlerin membrana transferi sağlanmış oldu.

Blotlama bittikten sonra PBS solüsyonu (Sodyum bifosfat dihidrat, sodyum hidrojen fosfat dodekahidrat, sodyum klorür) ile membran 5 dakika olacak şekilde 5 kez yıkandı. Yıkama yapılarak nitroselüloz membrandaki jel artıklarını ve diğer partikülleri temizlenmiş oldu.

2.3.5.2. Bloklama

Bloklama nitroselüloz üzerinde protein bağlanmamış bölgelerin ilgisiz proteinler ile kaplanmasıdır. Bazı çalışmalarda bloklama işlemi süt tozu kullanılmıştır. Çalışmada BSA (Bowling serum albumini) ile 37 °C’de 90 dakika boyunca bloklaması yapıldı.

Bowing serum albümini hazırlanması: 5 gr Albumin fraction, PBS ile 100 ml ye tamamlandı ve manyetik karıştırıcıda çözülmesi gerçekleşikten sonra + 4 C’de bekletildi. Daha sonra yıkama yapılmadan primer antikor ile muamele işlemine geçildi.

2.3.5.3. Spesifik Antikorlarla Reaksiyon

Çalışmada Primer antikorlar oreksin (Abcam Inc., USA), GLUT1 (Abcam Inc., USA), GLUT4 (Santa Cruz Biotech. Inc., USA), NF- κ B (Abcam Inc., USA), HSP60 (Abcam Inc., USA), HSP70 (Abcam Inc., USA), HSP90 (Santa Cruz Biotech. Inc., USA) kullanıldı. Primer antikorlar nitroselüloz membran üzerine Tween-20 (%0.05) bulunan tampon çözeltisi ile 1/1000 oranında dilüe edilerek uygulandı. +4 °C’da gece boyu inkübasyonu sağlandı.

Daha sonra membranı 5 x5 dakika PBS ile yıkanması yapılarak membrandaki bağlanmayan primer antikor atıkları temizlenmiş oldu. Yıkama işlemi bittikten sonra, membranlar Tween-20 (%0.05) bulunan ve peroksidaz ile konjuge sekonder antikorlar (goat-antirabbit immunoglobulin) nitroselüloz membran üzerine uygulandı. 90 dakika ve 37 °C’de inkübe edildi. Bu işlemten sonra membranı bağlanmayan sekonder antikordan kurtarmak için 5 x5 dakika PBS ile yıkandı. Bandların görüntüleme işlemine geçildi.

2.3.5.4. Bantların görüntülenmesi

Bantların görüntüleme işlemi için Tris tamponu (pH: 7.4, 1 M) ile hazırlanmış olan DAB solüsyonu % 0.03–0.05 oranında uygulandı. DAB solüsyonu ışıkla bozunduğu için karanlık ortamda hazırlandı. DAB muameleden sonra kısa sürede belirgin bir hale geldi. 5–10 dakikalık bir reaksiyon süresi sonunda DAB’la görünür hale gelen bantlar netleştikten sonra nitroselüloz membranlar distile su ile iyice yıkandı.

2.3.5.5. Densitometrik Analiz

Nitroselüloz membranlar iyice kurutulduktan sonra, bantların rölatif yoğunlukları analiz edilmek üzere alındı. Bantların rölatif yoğunlukları Image Analyses System (Image J; National Institute of Health, Bethesda, USA) yazılım programı kullanılarak analiz edildi.

2.3.6. İstatistiksel Analizler

İstatistiksel Analiz; Veriler gruplar arasındaki farklılıkları ortaya koymak için SPSS 22. paket programında bulunan Two-way ANOVA prosedürü kullanılarak analiz edildi. İstatistiksel anlamlılık $P < 0.05$ olarak kabul edilmiştir. Grafikler ise GraphPad Prism (GraphPad 5.0 Software Inc, LaJolla, CA) ile çizilmiştir.



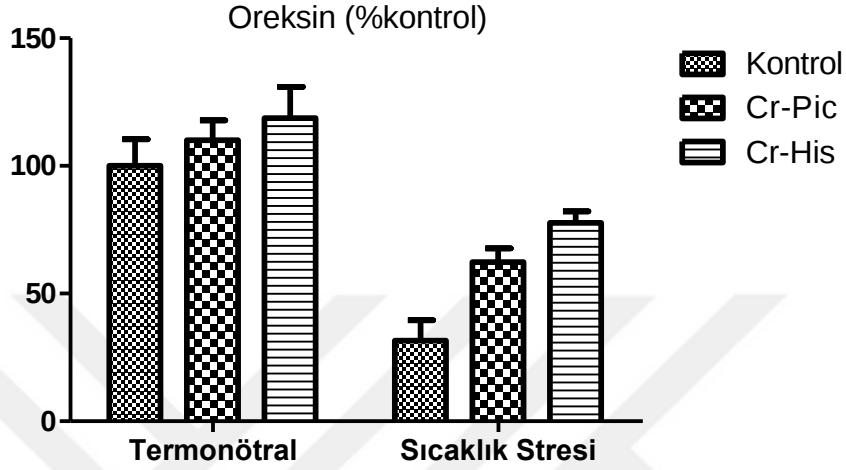
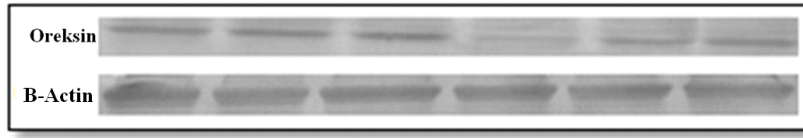
3.BULGULAR

3.1. Oreksin Düzeyleri

Ovaryum oreksin protein düzeyleri sıcaklık stresine maruz kalan hayvanlarda, termonötral gruplara kıyasla % 47.82 düzeyinde azalmıştır ($P < 0.0001$; Şekil 3.1’de gösterilmiştir). Oreksin düzeyleri kontrol gruplarına göre; CrPic gruplarında % 30.80, CrHis gruplarında ise % 49.01 oranında artış göstermiştir. Oreksin düzeyleri, diyetlerine CrHis takviye edilen grupta CrPic grubuna göre % 13.92 arttığı ve iyileşmenin CrHis gruplarında daha fazla olduğu görülmüştür. Ovaryum oreksin protein seviyelerinde kontrol ve krom grupları arasında interaksiyon tespit edilmiştir ($P < 0.0001$).

Sıcaklık değişimi ile diyetlere yapılan Cr takviyesi arasında yapılan karşılaştırılmada bir fark tespit edilmemiştir ($P > 0.05$). Termonötral gruplar kendi içinde; CrPic gruplarında kontrol grupları ile karşılaştırıldığında oreksin düzeyleri %10, CrHis gruplarında ise % 18.67 artış göstermiştir. Termonötral koşullarda tavuk ovaryum dokularında, CrHis grubu oreksin düzeyleri CrPic grubuna göre % 7.88 artış olduğu tespit edilmiştir. Stres grupları kendi aralarında; kontrol gruplarına göre CrPic gruplarında oreksin düzeyleri % 97.37, CrHis gruplarında ise % 145.93 artış göstermiştir. Stres koşullarında CrHis grubu oreksin düzeyleri CrPic grubuna kıyasla, % 24.60 artış göstermiştir. Böylece CrHis diyet takviyesinin CrPic takviyesine göre daha etkili olduğu belirlenmiştir.

Sıcaklık stresi kontrol grubu, termonötral kontrol grubuna göre; oreksin düzeyleri % 68.43 azalma göstermiştir. Sıcaklık stresi CrPic grubu termonötral CrPic grubuna göre; ovaryum dokuları oreksin düzeyleri % 43.35 azalma göstermiştir. Ayrıca oreksin düzeyleri sıcaklık stresi CrHis grubunda termonötral CrHis grubuna kıyasla % 34.57 azalma göstermiştir.



Şekil 3.1. Ovaryum dokusu oreksin düzeyleri

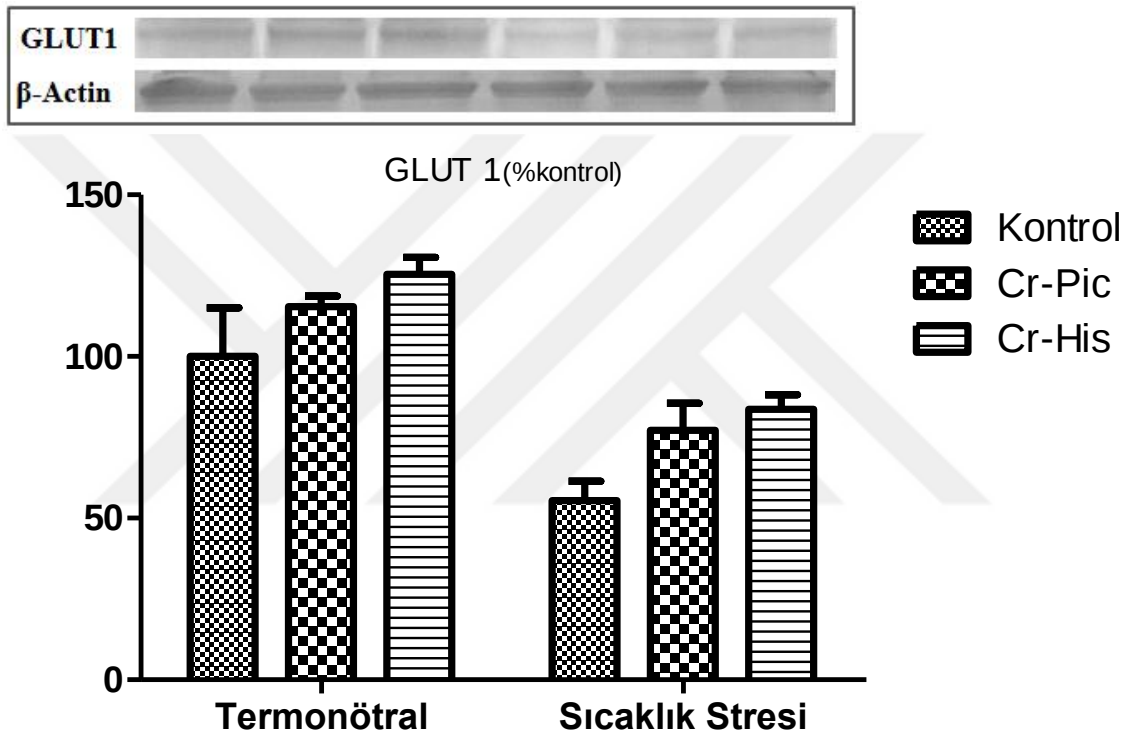
3.2. GLUT-1 Düzeyleri

Sıcaklık stresi ile termonötral bölgedeki gruplara oranla GLUT 1 seviyesinde % 36.55 azalma seviyesi Şekil 3.2’de gösterilmiştir ($P < 0.0001$). Kontrol gruplara göre CrPic gruplarında GLUT1 düzeyleri %23.89, CrHis gruplarında ise % 34.45 artış göstermiştir. CrHis grubu GLUT1 düzeyleri CrPic grubuna göre % 8.53 arttığı ve iyileşmenin daha fazla olduğu görülmektedir.

Ovaryum GLUT1 protein seviyelerinde bazal diyetle beslenen gruplar ile CrPic ve CrHis grupları arasında interaksiyon anlamlı bulunmuştur ($P < 0.0001$). Ancak sıcaklık değişimi ile diyetlere ilave edilen Cr takviyesi arasında yapılan karşılaştırmada istatistiksel bir fark tespit edilmemiştir ($P > 0.05$). Termonötral gruplar kontrol gruplarına göre kendi aralarında olmak üzere; CrPic gruplarında GLUT1 düzeyleri %15.47, CrHis gruplarında ise % 25.38 artış göstermiştir. Termonötral koşullarda, CrHis grubu GLUT1 düzeyi CrPic grubuna göre % 8.58 artış olduğu görülmektedir.

Stres grupları kontrol gruplarına göre kendi aralarında kıyaslandığında; CrPic gruplarında GLUT1 düzeyleri % 39.05, CrHis gruplarında ise % 50.80 artış göstermiştir. Stres koşullarında tavuk ovaryum dokularında, CrHis grubu GLUT1 düzeyleri CrPic

grubuna göre % 8.45 artış göstermiştir. Sıcaklık stresi kontrol grubu ile termonötral kontrol grubu karşılaştırıldığında; tavukların ovaryum dokuları GLUT1 protein düzeyleri % 44.53 azalma göstermiştir. Sıcaklık stresi CrPic grubu termonötral CrPic grubu ile karşılaştırıldığında; ovaryum dokuları GLUT1 protein düzeyleri % 33.20 azalma göstermiştir. Ayrıca GLUT1 protein düzeyleri sıcaklık stresi CrHis grubunda termonötral CrHis grubuna oranla % 33.28 azalma göstermiştir.



Şekil 3.2. Ovaryum dokusu GLUT1 düzeyleri

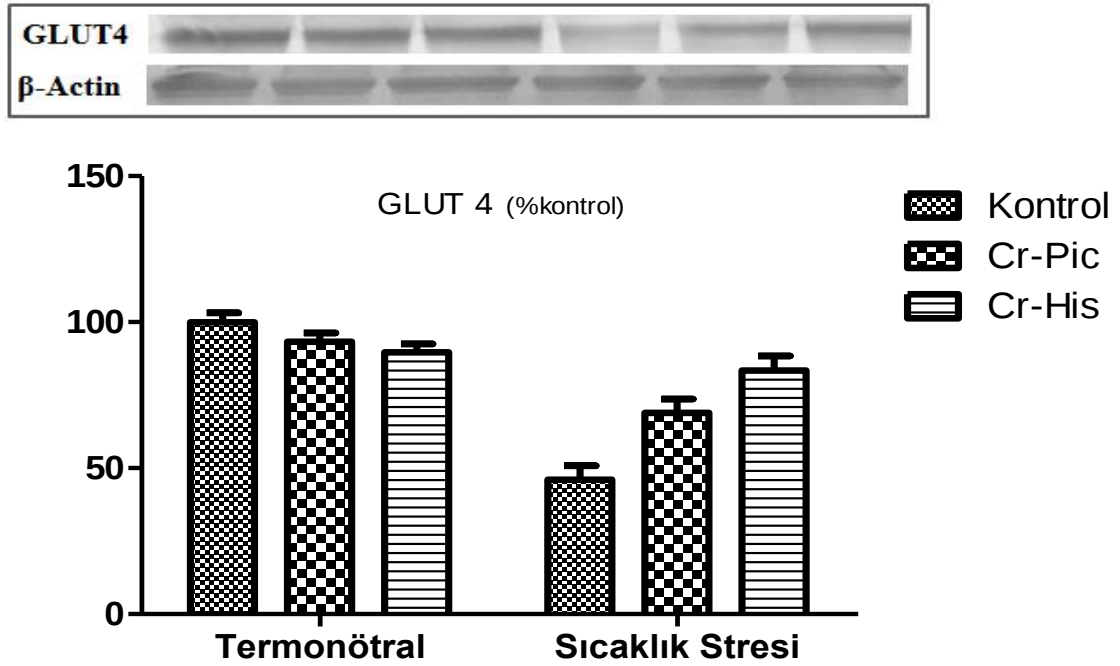
3.2. GLUT-4 Düzeyleri

Sıcaklık stresi oluşturulan tavuklarda organik krom formları yem katkılarının ovaryum dokularındaki GLUT 4 protein düzeyleri üzerine etkileri Şekil 3.3'te verilmiştir. Sıcaklık stres grupları ile termonötral bölgedeki gruplara göre GLUT 4 seviyelerinde % 29.83 oranında azalma göstermiştir ($P < 0.0001$). Ovaryum GLUT4 protein düzeylerinde bazal diyetle beslenen gruplar ile CrPic ve CrHis grupları arasındaki interaksyon anlamlı bulunmuştur ($P < 0.0001$). Kontrol gruplarına göre CrPic gruplarında GLUT4 düzeyleri %11.04, CrHis gruplarında ise % 18.50 oranında artış göstermiştir. CrHis grubu GLUT4

düzeyi CrPic grubuna göre % 6.71 artış görülmektedir. CrHis gruplarında CrPic grubuna göre daha fazla iyileşme gözlemlendi.

Sıcaklık değişimi ile diyetlere ilave edilen Cr takviyesi arasında yapılan karşılaştırmada GLUT4 düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P < 0.0001$). Termonötral gruplar kendi aralarında; kontrol gruplarına göre CrPic gruplarında GLUT4 düzeyleri % 6.72, CrHis gruplarında ise % 10.43 oranında azalma göstermiştir. Termonötral koşullarda tavuk ovaryum dokularında, CrHis grubu GLUT4 düzeylerinde CrPic grubuna göre % 3.97 oranında azalma olduğu görülmektedir.

Stres grupları kontrol gruplarına göre kendi aralarında; CrPic gruplarında GLUT4 düzeyleri % 49.62, CrHis gruplarında ise % 81.29 artış göstermiştir. Stres koşullarında CrHis grubu GLUT4 düzeyleri CrPic grubuna göre % 21.17 artış göstermiştir. Sıcaklık stresi kontrol grubu, termonötral kontrol grubuna göre; GLUT4 protein düzeyleri % 53.94 oranında azalma göstermiştir. Sıcaklık stresi CrPic grubu termonötral CrPic grubuna göre; GLUT4 protein düzeyleri % 26.12 oranında azalma göstermiştir. Ayrıca GLUT4 protein düzeyleri sıcaklık stresi CrHis grubunda termonötral CrHis grubuna oranla % 6.78 oranında azalma göstermiştir.



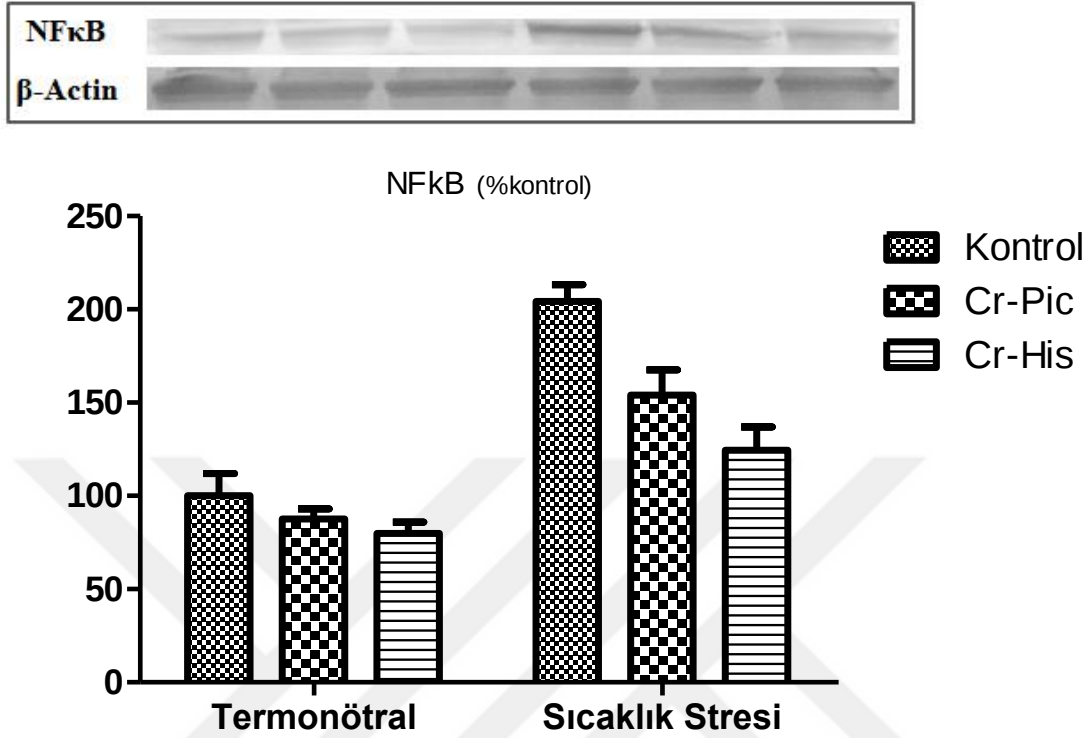
Şekil 3.3. Ovaryum dokusu GLUT4 düzeyleri

3.3. NF-κB Düzeyleri

NF-κB protein düzeyleri üzerine etkileri Şekil 3.4'te verilmiştir. Sıcaklık stres grupları termonötral bölgedeki gruplara kıyasla, NF-κB seviyesinde % 80.55 oranında artış göstermiştir. Kontrol grupları ile kıyasla CrPic gruplarında NF-κB düzeyleri %20.53, CrHis gruplarında ise % 32.87 oranında azalma göstermiştir. CrHis grubu NF-κB düzeyleri CrPic grubuna göre % 15.52 oranında azalmaya bağlı olarak iyileşme tespit edilmiştir. Ovaryum NF-κB protein seviyelerinde bazal diyetle beslenen gruplar ile CrPic ve CrHis grupları arasındaki interaksiyon anlamlı bulunmuştur ($P < 0.0001$).

Termonötral gruplar kendi aralarında kontrol gruplarına göre; NF-κB düzeyleri CrPic gruplarında %12.36, CrHis gruplarında ise % 20.22 oranında azalma göstermiştir ($P < 0.001$). CrHis grubu CrPic grubuna göre % 8.97 oranında azalma gösterdiği tespit edilmiştir. Stres grupları kontrol gruplarına göre kendi aralarında yapılan kıyaslamaya göre; NF-κB düzeyleri CrPic gruplarında 24.53, CrHis gruplarında ise % 39.06 azalma göstermiştir.

Stres koşullarında CrHis grubu NF-κB düzeyleri CrPic grubuna göre % 19.25 oranında azalma göstermiştir. Sıcaklık stresi kontrol grubu ile termonötral kontrol grubun karşılaştırıldığı durumda; NF-κB protein düzeyleri % 104. 23 oranında artış göstermiştir. Sıcaklık stresi CrPic grubu termonötral CrPic grubuna göre; NF-κB protein düzeyleri % 75.87 artış göstermiştir. Ayrıca NF-κB protein düzeyleri sıcaklık stresi CrHis grubunda termonötral CrHis grubuna oranla % 56.01 artış göstermiştir.



Şekil 3.4. Ovaryum dokusu NF-κB düzeyleri

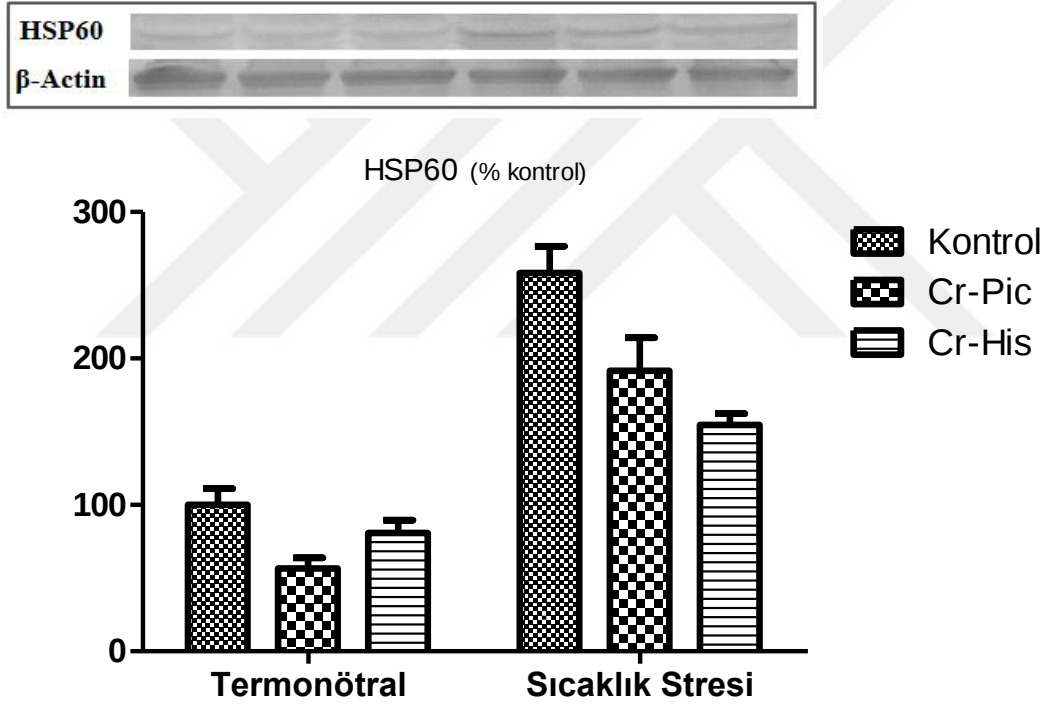
3.4. HSP-60 Düzeyleri

Ovaryum HSP60 protein düzeyleri Şekil 3.5'te belirtilmiştir. HSP60 düzeylerinin sıcaklığa bağlı değişimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P < 0.0001$). Sıcaklık stresi grupları ile termonötral bölgedeki gruplara göre HSP60 düzeylerinde % 154.51 oranında artış göstermiştir. Kontrol gruplar ile kıyaslandığında; CrPic gruplarında HSP60 düzeyleri % 30.65, CrHis gruplarında ise % 34.31 oranında azalma göstermiştir. CrHis grubu HSP60 düzeyleri CrPic grubuna göre % 5.28 oranında azalma görülmektedir. Sıcaklık değişimi ile diyetlere ilave edilen Cr takviyesi arasında yapılan karşılaştırmada HSP60 düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P < 0.0001$). Ovaryum HSP60 protein seviyelerinde bazal diyetle beslenen gruplar ile CrPic ve CrHis grupları arasındaki fark interaksiyon bulunmuştur ($P < 0.0001$).

Termonötral gruplar kendi aralarında; kontrol gruplarına göre CrPic gruplarında HSP60 düzeyleri % 43.29, CrHis gruplarında ise % 19.18 oranında azalma göstermiştir. Termonötral koşullarda tavuk ovaryum dokularında, CrHis grubu HSP60 düzeyleri CrPic

grubuna göre % 42.53 oranında artış olduğu görülmektedir. Stres grupları kendi aralarında; kontrol gruplarına göre CrPic gruplarında HSP60 düzeyleri 25.76, CrHis gruplarında ise % 40.17 azalma göstermiştir. Stres koşullarında tavuk ovaryum dokularında, CrHis grubu HSP60 düzeyleri CrPic grubuna göre % 19.42 oranında azalma göstermiştir.

Sıcaklık stresi kontrol grubu termonötral kontrol grubuna göre; tavukların ovaryum dokuları HSP60 protein seviyeleri % 158.27 oranında artış göstermiştir. Sıcaklık stresi CrPic grubu termonötral CrPic grubuna göre; ovaryum dokuları HSP60 protein düzeyleri % 238.13 artış göstermiştir. Ayrıca HSP60 protein düzeyleri sıcaklık stresi CrHis grubunda termonötral CrHis grubuna oranla % 91.18 artış göstermiştir.



Şekil 3.5. Ovaryum dokusu HSP60 düzeyleri

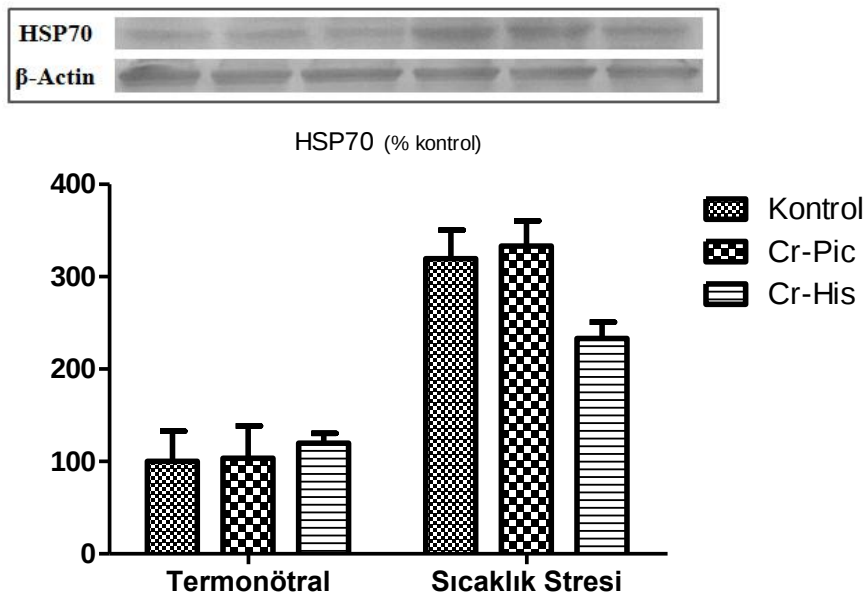
3.5. HSP-70 Düzeyleri

Şekil 3.6'da verildiği üzere, ovaryum HSP70 protein düzeylerinin, sıcaklığa bağlı değişimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P < 0.0001$). Oluşturulan sıcaklık stresi ile termonötral bölgedeki gruplara göre HSP70 seviyelerinde % 174.05 artış göstermiştir. Ovaryum HSP70 protein seviyelerinde bazal diyetle beslenen gruplar ile CrPic ve CrHis grupları arasındaki interaksiyon anlamlı bulunmuştur ($P < 0.05$). Kontrol gruplarına göre

CrPic gruplarında HSP70 düzeyleri % 4.06 artış göstermiştir. CrHis gruplarında ise % 15.87 oranında azalma göstermiştir. CrHis grubu HSP70 düzeyleri CrPic grubuna göre % 19.15 azalma görülmektedir. Sıcaklık değişimi ile diyetlere ilave edilen Cr takviyesi arasında yapılan karşılaştırmada HSP70 düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P < 0.05$). Sıcaklık stresine maruz kalan tavuklarda ovaryum dokuları, diyetlerine CrPic takviyesi yapılan gruba göre CrHis takviyesi yapılan grup daha fazla iyileşme göstermiştir.

Termonötral gruplar kendi aralarında; kontrol gruplarına göre CrPic gruplarında HSP70 düzeyleri % 3.54, CrHis gruplarında ise % 19.75 artış göstermiştir. Termonötral koşullarda tavuk ovaryum dokularında, CrHis grubu HSP70 düzeyleri CrPic grubuna göre % 15.65 artış olduğu görülmektedir. Stres grupları kendi aralarında; kontrol gruplarına göre CrPic gruplarında HSP70 düzeyleri % 4.22 artış görüldü. CrHis gruplarında ise % 27.01 oranında azalma göstermiştir. Stres koşullarında tavuk ovaryum dokularında, CrHis grubu HSP70 düzeyleri CrPic grubuna göre % 29.97 azalma göstermiştir.

Sıcaklık stresi kontrol grubu termonötral kontrol grubuna göre; tavukların ovaryum dokuları HSP70 protein düzeyleri % 219.60 artış göstermiştir. Sıcaklık stresi CrPic grubu termonötral CrPic grubuna göre; ovaryum dokuları HSP70 protein düzeyleri % 221.70 artış göstermiştir. Ayrıca HSP70 protein düzeyleri sıcaklık stresi CrHis grubunda termonötral CrHis grubuna oranla % 94.81 artış göstermiştir.



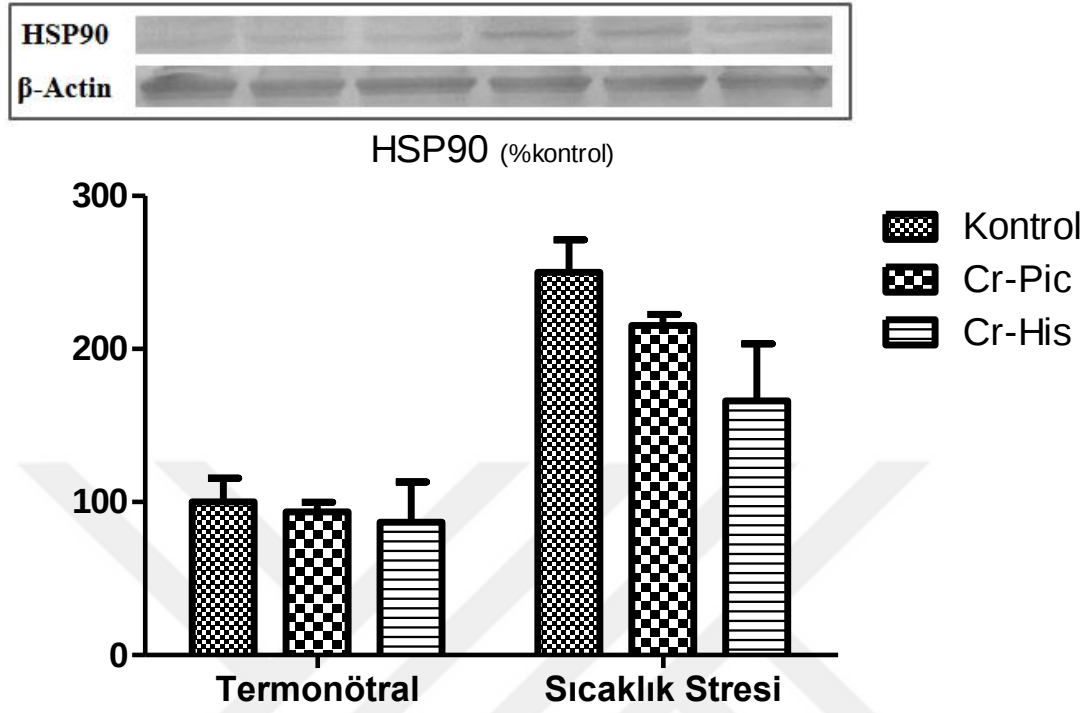
Şekil 3.6. Ovaryum dokusu HSP70 düzeyleri

3.6. HSP-90 Düzeyleri

Şekil 3.7’de verilen, sıcaklık stresi ile termonötral bölgedeki gruplara göre HSP90 seviyelerinde % 125.36 artış göstermiştir. Kontrol gruplarına kıyasla; CrPic gruplarında HSP90 düzeyleri %11.73, CrHis gruplarında ise % 27.77 azalma tespit edilmiştir. CrHis grubu HSP90 düzeyleri CrPic grubuna göre % 18.17 azalma görülmektedir. Sıcaklık değişimi ile diyetlere ilave edilen Cr takviyesi arasında yapılan karşılaştırmada HSP90 düzeyleri için istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir ($P < 0.05$). Ovaryum HSP90 protein seviyelerinde bazal diyetle beslenen gruplar ile CrPic ve CrHis grupları arasındaki interaksiyon anlamlı bulunmuştur ($P < 0.05$).

Termonötral gruplar kendi aralarında; kontrol gruplarına göre CrPic gruplarında HSP90 düzeyleri % 6.33, CrHis gruplarında ise % 13.29 oranında azalma göstermiştir. Termonötral koşullarda tavuk ovaryum dokularında, CrHis grubu HSP90 düzeyleri CrPic grubuna göre % 7.43 azalma olduğu görülmektedir. Stres grupları kendi aralarında; kontrol gruplarına göre CrPic gruplarında HSP90 düzeyleri % 13.89, CrHis gruplarında ise % 33.56 oranında azalma göstermiştir. Stres koşullarında tavuk ovaryum dokularında, CrHis grubu HSP90 düzeyleri CrPic grubuna göre % 22.84 artış göstermiştir.

Sıcaklık stresi kontrol grubu termonötral kontrol grubuna göre; tavukların ovaryum dokuları HSP90 protein düzeyleri % 150.20 artış göstermiştir. Sıcaklık stresi CrPic grubu termonötral CrPic grubuna göre; ovaryum dokuları HSP90 protein düzeyleri % 130 artış göstermiştir. Ayrıca HSP90 protein düzeyleri sıcaklık stresi CrHis grubunda termonötral CrHis grubuna oranla % 91.70 oranında artış göstermiştir.



Şekil 3.7. Ovaryum dokusu HSP90 düzeyleri

Elde edilen western blot analizi interaksiyonlarının yüzde olarak değişimi Tablo 3.1’de gösterilmiştir. İlgili tabloda sıcaklık formları, Cr değerleri ve istatistiksel olarak hesaplanan *p* değerleri verilmiştir.

Tablo 3.1. Western blot analizi interaksiyonlarının yüzde olarak değişimi

Sıcaklık Faktörü	Cr Form (µg/kg)	Oreksin	NF-kB	GLUT1	GLUT4	HSP60	HSP70	HSP90
Termonötral	Kontrol	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
	CrPic	110.00	87.64	115.48	93.27	56.70	103.54	93.67
	CrHis	118.67	79.78	125.39	89.57	80.82	119.75	86.71
Sıcaklık Stresi	Kontrol	31.57	204.23	55.48	46.06	258.26	319.60	250.20
	CrPic	62.31	154.13	77.14	68.91	191.73	333.10	215.44
	CrHis	77.64	124.46	83.66	83.50	154.50	233.28	166.23
SEM		7.46	5.41	3.64	1.38	6.14	14.32	10.56
ANOVA								
		----- <i>P</i> < -----						
Sıcaklık Faktörü		0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
Cr Formu		0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.05	0.05
Çevre Sıcaklığı x Cr Form		0.05	0.001	<i>P</i> > 0.05	0.0001	0.0001	0.05	0.05

4. SONUÇLAR ve TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında; sıcaklık stresi oluşturulan on iki haftalık yumurta tavuklarında organik krom formlarının yem takviyesi olarak verilmesi sürecinde, ovaryum dokularında oreksin, GLUT proteinleri (GLUT1, GLUT4), NF- κ B ve ısı şok proteinleri (HSP60, HSP70 ve HSP90) düzeylerinin üzerine olan etkileri çalışılmıştır. Bu çalışmada; termonötral gruptaki kontrol grup parametrelerinin sıcaklık stresi oluşturulan kontrol grubu parametrelerine göre anlamlı ölçüde değiştiği saptanmıştır. Çalışmada; kullanılan krom pikolinat ve krom histidinat supplementlerinin sıcaklık stresindeki tavukların çalışılan parametrelerini olumlu yönde etkilediği ve termonötral sıcaklık grup parametrelerine yakın hale getirdiği ve sıcaklık stresinin ortaya çıkardığı komplikasyonları indirgediğini ortaya koymuştur. Sıcaklık stres gruplarında termonötral gruplara kıyasla, GLUT1, GLUT4 ve oreksin protein düzeylerinin azaldığı ($P < 0.0001$) ve NF- κ B, HSP60, HSP70 ile HSP90 protein düzeylerinin arttığı tespit edilmiştir ($P < 0.0001$). Diyetlere yapılan krom takviyesi (CrPic–CrHis) ile GLUT ve oreksin düzeylerinin arttığı, NF- κ B ve HSP seviyelerinin ise termonötral gruba göre azaldığı gözlenmiştir ($P < 0.0001$). Sıcaklık stresi altında bulunan yumurtacı tavuk diyetine ilave edilen organik krom formları GLUT ve oreksin düzeylerini arttırmış, ancak NF- κ B ve HSP protein düzeylerini azaltmıştır. Sonuç olarak, CrPic ve CrHis’in, stresin negatif etkilerinin hafifletilmesi ve tedavisinde destekleyici etkilerinin olduğu, CrHis’in ise CrPic’a göre daha etkili olduğu belirlenmiştir.

Stresin tavuklar üzerinde bıraktığı zararlı etkilerin belirtildiği birçok güncel çalışma mevcuttur (Aljuobori vd., 2016; Hosseini-Vashan vd., 2015; Rafiee vd., 2016; Rimoldi vd., 2015; Van Goor vd., 2016a; Vinoth vd., 2015; Wu vd., 2016a). Kanatlı sektörü özellikle dünyanın yüksek ortam sıcaklığındaki bazı bölgelerde gelişmektedir. (Rafiee vd., 2016; Sahin vd., 2009; Sahin vd., 2013d; Tuzcu vd., 2013). Sıcaklık stresi kümes hayvancılığında özellikle üretim ve hayvan refahı konularında ortaya çıkan negatif etkilerin, sadece ABD broyler kümes hayvanları enstitüsünün yaklaşık 125–165 milyon dolar arasında ekonomik kaybı olduğu tahmin edilmektedir (Van Goor vd., 2016b). Yüksek ısıya maruz kalan hayvanlarda sıcaklık stresi ciddi hasarlara yol açmaktadır. Hayvancılık sektöründe sıcaklık stresinin yol açtığı sorunlar önceki çalışmalarda (özellikle kümes hayvanları yetiştiriciliğinde) önemli ekonomik kayıplara neden olduğu bilinmektedir. Dişilerde sıcaklık stresi; oogenesis, oosit olgunlaşması, döllenme, embriyo gelişimi ve implantasyon

oranını olumsuz yönde etkilemektedir (Cheng vd., 2015; Jahromi vd., 2016; Wu vd., 2016b; Zeferino vd., 2016). Örneğin, kümes hayvanları yüksek sıcaklıklara maruz kaldığında gıda tüketimi, büyüme hızı, besleme verimliliği, kabuk kalitesi ve hayatta kalma yeteneği gibi birçok göstergelerde azalma meydana gelmektedir. Hayvanlarda stres sonucu kalp, karaciğer, böbrek ve diğer organlarda biyokimyasal ve yapısal birçok değişiklikler ortaya çıkmaktadır (Ryu vd., 2016; Zhang vd., 2016). Sıcaklık stresi ve reaktif oksijen türlerinin birlikte ortaya çıkardığı negatif etkilerine, çeşitli mekanizmalar ile etki eden antioksidanlar aracılığıyla korunabilmektedir (Sahin vd., 2011).

Sahin ve arkadaşlarının (2016) broyler tavuklarda yaptığı sıcaklık stresi–likopen çalışmasına göre; sıcaklık stresi performans parametrelerini olumsuz yönde etkilemiş ve artan lipid peroksidasyonu, kas dokusu Keap1 protein seviyeleri arttığı ve Nrf2 düzeylerini önemli ölçüde inhibe ettiği rapor edilmiştir. Çalışmada—sıcaklık stresinin olumsuz etkilerinin diyetle eklenen likopen takviyesi ile azaldığı rapor edilmiştir. Sıcaklık stres gruplarında diyetlerine farklı dozlarda likopen (0, 200 ya da 400 mg likopen / kg diyet) eklenen tavuklarda, likopen miktarı 400 mg/kg olan grupta kas dokusu Keap1 düzeyleri diğer gruplara göre daha fazla azalmış olup, bunun aksine kas dokusu Nrf2 protein düzeyi önemli ölçüde artmıştır. Yapılan araştırma sonucunda, yüksek çevre sıcaklığına maruz kalan broyler tavukların doza bağımlı bir şekilde, kas nükleer transkripsiyon faktörü düzeylerinin modülasyonu vasıtasıyla oksidatif stresin yan etkilerini ortadan kaldırmıştır (Sahin vd., 2016). Başka bir sıcaklık stresi çalışmasında resveratrolün diyetteki doz miktarı artmasına bağlı olarak bağırsak jejunal villüslerinde HSP70, HSP90 ve NF- κ B protein düzeylerinin termonötröl gruplara göre önemli ölçüde azaldığı rapor edilmiştir (Liu vd., 2016).

Zeferino ve arkadaşları (2016) sıcaklık stresinin karkas ve et kalitesi özelliklerine etkisi üzerine yaptıkları bir çalışmada, yaşları 28–42 gün arasında değişen tavukların diyet takviyesi ilave edilen C ve E vitaminleri ile sıcaklık stresinin olumsuz etkilerini azaltabileceği veya nötralize edebileceğini ortaya koymuşlardır. Şahin ve arkadaşlarının (2009) yaptığı bir çalışmada, sıcaklık stres modeli oluşturulan ve bazal diyet ile beslenen tavuklarda yem tüketimi ve yumurta üretimi azalmıştır. Bildiricilerde yapılan çalışmada yem tüketimi ve yumurta üretimi C ve E vitamin takviyesi ile sıcaklık stresi gruplarda anlamlı olarak artmıştır. Sıcaklık stresine maruz kalan bildiricilerde; serum kortikosteron düzeyleri, beyin ve ovaryum dokularında HSP70 düzeyleri artmıştır. Çalışmada ovaryum

ve beyin HSP70 düzeyleri sıcaklık stresi gruplarında vitamin C ve E takviyesi ile anlamlı olarak azalmıştır. Ancak termonötral koşullarda bulunan bildiricınlar için vitamin C ve E'nin bir etkisi olmamıştır. Yapılan araştırma çalışmamız ile paralellik göstermektedir. 2006'da yapılan bir çalışmada sıcaklık stresi altında bulunan bildiricınlarda, performans parametrelerinin termonötral koşullarda bulunanlara göre daha düşük olduğunu rapor etmişlerdir. Bildiricınlarda sıcaklık stresinin performans verilerinde azalmaya neden olduğu yapılan birçok çalışmada bildirilmektedir (Sahin vd., 2006).

Oreksinler genel olarak, stresle ilişkili hastalıklar, besin alımları, uyarılma, ve duygusal bellekte etkilenen nöroendokrin ve davranışsal tepkilerini düzenlemektedir (Grafe vd., 2016). Araştırmalar oreksinin stresli koşullara tepki olarak aktive olduğunu ve strese karşı fizyolojik ve davranışsal tepkilerde anahtar rol oynadığını göstermektedir (Wang vd., 2017). Greene ve arkadaşlarının (2016) Bildiricınlar üzerinde yapılan bir araştırmada, sıcaklık stresinin karaciğer oreksin mRNA ekspresyonları çalışmamız ile uyumlu olarak, önemli ölçüde azalmaya neden olduğu görülmüştür (Greene vd., 2016).

Broyler tavuklar üzerinde yapılan bir sıcaklık stresi çalışmasında, sıcaklık stresi uygulanan grupta hipotalamus oreksin mRNA ekspresyonları termonötral sıcaklık grubuna göre önemli ölçüde azalmıştır (Lei vd., 2014).

Lokalizasyonu ve regülasyonu ile GLUT1, GLUT2, GLUT3 ve GLUT4 doku ve hücreye spesifik bir şekilde bulunmaktadır. GLUT1 tüm organlarda bulunmaktadır. Çoğu hücre tiplerinde glukoz alımı bazal seviye ile son derece ilişkilidir. Zhang ve arkadaşlarının (2012) gonadotropinin rat ovaryumunda glukoz transportlar ve apoptozis etkisi üzerinde yaptıkları bir çalışmada GLUT1, GLUT3 ve GLUT4 rat ovaryumlarında tespit edilmiştir. GLUT 1-4 yüksek seviyeleri ile uyumlu olarak, gonadotropin serum glukoz artışı için güçlü uyarıcı bir etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir. Gonadotropin tedavi grubunda GLUT1 protein içeriği, anti-ECG antiserumu ve kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur (Zhang vd., 2012). Jahromi ve arkadaşlarının (2016) intestinal ve mikrobiyal dengeyi geliştiren, ayrıca çeşitli hastalıklara karşı koruyucu etkiye sahip olan probiyotik karışımlarının sıcaklık stresinin antioksidatif ve belirli genler üzerine etkisi ile ilgili yapılan bir çalışmada; kontrol grubu ile karşılaştırdığımızda yüksek sıcaklıkta belirli gen ekspresyonları azalmıştır. Aynı sıcaklık koşullarında kontrol grubu ile probiyotik grubunu karşılaştırdıklarında, diyetlerine probiyotik karışım eklenen grupta GLUT2, GLUT5 ve SGLT4 genlerinin ekspresyonu artmıştır. Aynı şekilde stres grubunda (35 °C) probiyotik

grubuna göre SGLT4 ve diğer tüm genlerin ekspresyonunun anlamlı ölçüde arttığını belirtmişlerdir. Yapılan analizler sonucu sıcaklık stresinde bulunan kontrol grubunda, termonötral sıcaklık altında bulunan kontrol grubuna göre antioksidan kapasitesinde önemli ölçüde azalma ortaya çıkmıştır (Jahromi vd., 2016).

NF- κ B; inflamasyon, hücre döngüsü, apoptozis, gelişme ve regülasyon gibi birçok biyolojik süreçleri kontrol eden ökaryotik transkripsiyon faktörleri ailesi olarak bilinmektedir (Won vd., 2016). NF- κ B, 50 ve 65 kDa iki alt birimlerden (p50 ve p65) oluşur. p50 DNA'ya bağlanır. p65 hücrede transkripsiyonel aktivasyon yapmaktadır. p65, I κ B olarak sitoplazmik inhibitör protein ailesine aittir. Bu bağlanma, NF- κ B'nin çekirdeğe translokasyonunu ve dolayısıyla DNA'ya bağlanmasını engeller. I κ B, proteolizle regüle edilir ve yıkımı NF- κ B'nin serbest kalarak örneğin transkripsiyonel aktivasyon yapar.

NF- κ B ve AP1 gibi diğer transkripsiyon faktörleri aracılı hücrel cevaplar, kanser mekanizması ile ilgili önemli rol oynar (Sümer Turanlıgil ve Uyanıkgil, 2010). Sahin ve arkadaşlarının (2011) yaptığı stres çalışmasında diyetlerine yapılan domates tozu ilavesi ile termonötral ve sıcaklık stresinde her iki grupta da karaciğer NF- κ B seviyelerinin aktivasyonunu kontrol seviyesine göre azaltmıştır. Ancak sıcaklık stresi gruplarında etkisinin daha belirgin olduğu rapor edilmiştir. Yapılan çalışmaya göre takviye domates tozu karaciğerde NF- κ B'nin azalmasına, Nrf2, Erk1/2 ve Akt seviyelerinin belirgin düzeyde artmasına neden olmuştur. Ayrıca yaptıkları başka bir sıcaklık stresi çalışmasında (Sahin vd., 2012) stres gruplarında termonötral gruplara göre karaciğer HSP70 ve NF- κ B seviyelerini azalttığını, Nrf2 ve HO-1 seviyelerinin arttırdığını rapor etmişlerdir. Strese maruz kalan bıldırcınlardaki iyileşmenin domates tozu ve kurkuminin antioksidatif etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu çalışmalar yaptığımız analizler ile benzerlik göstermektedir.

Koruyucu proteinler olarak da ifade edilen ısı şoku proteinleri, normal hücrelerde üretilmekte olup sitoplazma, nükleus ve mitokondri içinde bulunmaktadır. Isı şok proteinleri konstitütif hücrelerde (toplam protein içeriğinin% 5-10 kadar) bulunmasına rağmen, ultraviyole ışınlar, hipertermi, iskemi-reperfüzyon hasarı, hipertansiyon, beslenme yetersizlikleri, kimyasallar, viral enfeksiyonlar ve oksidatif stres gibi çeşitli stres kaynaklarının varlığı bu protein seviyelerini etkileyebilir (Hassanpour vd., 2016). Hayvan modellerinde ve insan ovaryum doku analizinde, ovaryum dokularında bulunan HSP27, HSP70 ve HSP90 proteinlerinin folikülogenez ve hormon homeostasisin düzenlemesini

kontrol etme gibi görevleri olduğu bulunmuştur. Yaklaşık 20 yıldır ovaryum kanserinde ısı şok proteinlerinin rol oynadığı bilinmektedir. 1993 yılında, Kimura ve arkadaşları mitokondri fonksiyonları ve iç apoptozisin takip ettiği yolu kontrol etmek için HSP60 mRNA seviyelerini incelemiştir. Yapılan araştırma sonucunda ovaryum kanseri örneklerinde HSP60 proteinin kanser olmayanlara göre daha yüksek olduğu ortaya konmuştur. Bu nedenle HSP60 proteini ovaryum kanserinde biyomarkır olarak kullanılabileceğini söylemişlerdir (Kimura vd., 1993; Stope vd., 2016).

Önemli bir antioksidatif etkiye sahip ve yaygın bir polifenol olan resveratrol ile bıldırcınlar üzerinde yapılan bir sıcaklık stresi çalışmasında (Sahin vd., 2012); karaciğer HSP70, HSP90 ve NF-κB protein seviyeleri stres grubunda termonötral gruba oranla daha yüksek bulunmuş olup, Nrf2 seviyeleri daha düşük bulunmuştur. HSP70, HSP90 ve NF-κB inhibe edilip, Nrf2 protein seviyeleri tam tersi olarak resveratrol takviyesi ile artmıştır. Yaptığımız araştırma ile benzerlik gösteren bu çalışma resveratrolün antioksidatif ve antisitotoksik özelliği ile bağlantılıdır.

Orhan ve arkadaşları (2013) diyetlerine belirli dozlarda EGCG ilave edilen kümes hayvanlarında yaptıkları bir stres çalışmasında HSP60, HSP70 ve HSP90 karaciğer protein seviyeleri sıcaklık stresine maruz kalan bıldırcınlarda, termonötral sıcaklıkta bulunan bıldırcınlara göre artmıştır. HSP karaciğeri destekleyici EGCG inhibitör etkisi sıcaklık stresi koşulları altında dikkat çekici olmuştur. Sahin ve arkadaşlarının (2006) sıcaklık stresi altındaki bıldırcınlar üzerinde yaptığı genistein çalışmasında, bazal diyet ile beslenen ve sıcaklığa maruz kalması; sindirilebilirliği ve mineral konsantrasyonlarını azaltmıştır. Genistein ilaveli yem ile beslenen bıldırcınlarda, genisteinin güçlü antioksidan aktivitesi ile kemik oluşumu ve mineralizasyonun düzelmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Wang ve Edens (1994) yaptığı bir *in vivo* çalışmada yüksek sıcaklık ortamında bulunan kuşların tamamında HSP70 mRNA 25 °C sıcaklıkta bulunan kontrol grubuna göre önemli ölçüde arttığını bildirmiştir. Yapılan bir *in vitro* stres modelinde, HSP90 sıcaklık stresinde tavuklarda birincil miyokard hücrelere cevaben aktif bir rol oynadığı görülmektedir. Aspirin HSP90'ın koruyucu etkisini arttırılabilir (Zhang vd., 2016).

Protein, karbohidrat ve lipid metabolizmasında önemli fonksiyonları olan krom, özellikle memelilerin diyetlerinde tükettikleri temel minerallerden biridir. Kromun; insülin ve insüline duyarlı hücre zarında etkileri olduğu bilinen, eksikliğinde glukoz toleransının bozulduğu, özellikle Tip 2 Diyabet gelişim riskinin arttığı bildirilmiştir (Büyükleblebici ve

Karag l, 2012). Krom- elatları (CrHis ve CrPic) oksidatif stresin negatif etkilerini hafifletir (Sahin vd., 2013c). Akdemir ve arkadaşlarının (2015) bildiric nlerde yaptığı bir araştırmada, diyetlerine farklı dozlarda CrHis ilave edilen (0, 400, 800 µg/kg) termonötral gruplar ve sıcaklık stresi grupları ile çalışma düzeni oluşturulmuştur. Çalışmada sıcaklık stresine maruz kalan bildiric nlerde termonötral ortamda bulunan gruba kıyasla, hepatik NF- B ve HSP düzeyleri yaklaşık 1.5 kat artmıştır. Genel olarak termonötral ortamlarında, diyetle Cr suplementi ilave edilen grup ile kontrol grubu karşılaştırıldığında, bildiric nlerde proteinlerin düzeylerinin değişmediği rapor edilmiştir. Ancak sıcaklık stresi grubunda diyetlerine CrHis ilave edilen gruplarda, protein düzeyi termonötral bölgedeki gruplara yaklaşarak hepatik NF- B, HSP60, HSP70 ve HSP90 protein seviyelerinde belirgin bir oranda azalma görülmüştür. Araştırmada çalışılan bu hepatik proteinlerin CrHis doz artışına bağlı olarak inhibisyonunun lineer olarak arttığı belirtilmiştir. Bununla beraber diyet CrHis takviyesi ile stres grubunda serum, kolesterol ve MDA seviyeleri azalmıştır. Yapılan bu araştırma çalışmamıza paralellik göstermektedir (Akdemir vd., 2015).

Tuzcu ve arkadaşlarının (2011) obezite ile ilgili yaptıkları çalışmada, kontrol grubunda bulunan ratlar ile yüksek yağlı diyet ile beslenen ratlara kıyasla, karaciğer GLUT-2, Nrf-2 ve HO-1 seviyelerinde önemli  l de azalma g r ld ğu rapor edilmiştir. Ancak yüksek yağlı diyetle CrHis suplementi eklenerek beslenen grup, sadece yüksek yağlı diyet ile beslenen gruba göre; GLUT-2, Nrf-2 ve HO-1 karaciğer protein düzeyleri normal seviyesine yükselmiştir. Bunun tersi olarak NF- B, HNE düzeyleri yüksek yağlı diyetle kontrol grubuna göre artmış olup, yüksek yağlı diyet + CrHis grubunda önemli  l de azalarak kontrol grubuna yakın bir değere ulaşmıştır (Tuzcu vd., 2011). Yapılan araştırma ile çalışmamız benzerlik göstermekte olup, CrHis'in karbonhidrat ve lipid mekanizmaları üzerine olumlu etkileri belirtilmiştir.

Doğukan ve arkadaşlarının yaptıkları (2010) nefropati çalışmasında; STZ uygulanarak deneysel diyabet oluşturulan ratlarda, böbrek HSP'ler (HSP60, HSP70), MDA ve 8-isoprostan düzeyleri önemli  l de artmıştır. Ancak tedavi grubunda (STZ+ CrHis), böbrek doku HSP60 ve HSP70 proteinlerinde ve lipid peroksidasyonu belirteçleri olan MDA ve 8-isoprostan düzeylerinde önemli  l de azalma meydana gelmiştir. Bu  alışmada CrHis antioksidatif özelliği sayesinde nefropati hasarı azaltıcı özelliği (böbrek koruyucu etkisi) rapor edilmiştir (Dogukan vd., 2010).

Antioksidan vitamin ve mineraller, stresin etkilerini önlemek için kullanılır (Akbari ve Torki, 2014). Krom gibi bazı mineraller sıcaklık stresinin negatif etkilerini azaltmak için diyetlere ilave edilebilir. Torki ve arkadaşlarının (2014) yumurtae+ tavukları üzerinde yaptıkları bir araştırmada, diyetlerinde CrPic ve C vitamini takviyesinin; yumurtada sarı renk, kabuk kütlesi ve kabuk kalınlığı gibi parametrelerde önemli derecede iyileşme olduğu rapor edilmiştir. Diyetinde CrPic supplementi bulunan tavuklarda stres grubuna göre, serum glukozu, total kolesterol, trigliserid konsantrasyonlarının daha düşük olduğu, bununla birlikte serum albümin ve total protein konsantrasyonlarının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Torki vd., 2014). Akbari ve Torki'nin broyler tavuklar üzerine yaptıkları sıcaklık stresi çalışmasında (2014), broyler piliçlerde CrPic + nane yağı diyeti ile beslenen grup ile sadece nane yağı ilave edilen grup ile karşılaştırıldığında; yalnızca nane yağı ilave edilen grubun albümin serum konsantrasyonu daha düşük seviyede olduğu tespit edilmiştir. CrPic supplementi eklenerek beslenen etlik piliçlerin, kontrol diyetle beslenen piliçlere göre Cr konsantrasyonu anlamlı olarak daha yüksek seviyede olduğu tespit edilmiştir. CrPic + nane yağı ile diyet takviyesi sıcaklık stresi koşulları altında yetiştirilen dişi etlik piliçlerde serum trigliserid ve glukozu azalttığı rapor edilmiştir. Böylece CrPic lipid peroksidasyonunun zararlı sonuçlarına karşı tavukları korumaya yardımcı olmuştur (Akbari ve Torki, 2014).

Bıldırcınlarda yapılan bir sıcaklık stresi modelinde (Sahin vd., 2010), diyetlerinde yalnızca veya kombine olarak CrPic supplementi alımı, kontrol diyet ya da tek başına diyetlerine biyotin takviyesi yapılmış olan gruba göre; canlı ağırlık artışı, yem tüketimi, karkas kalitesinin ve yem dönüşüm oranlarının arttığı rapor edilmiştir. CrPic ve CrPic + biyotin diyetleri ile beslenen bıldırcınlarda ölçülen parametrelerin değerleri arasında fark bulunmamıştır. Kombine veya yalnızca CrPic diyetle ilave edilen supplementler ile beslenen gruplarda, serum konsantrasyonlarında C ve E vitaminleri artmış olup; bunun tersi olarak yüksek ortam sıcaklığında MDA, glukoz ve kolesterol konsantrasyonları azalmıştır (Sahin vd., 2010).

Olgun bir tavuk ovaryumunda yaklaşık 12.000 oosit mevcuttur. Bununla birlikte, sadece birkaç yüz oosit yumurtlama ve daha sonra yumurta oluşumu için seçilir. 1-5 mm'lik bir çapa sahip olan fonksiyonel bir tavuk ovaryumunda; yüzlerce beyaz kortikal folikül, 6-8 mm çapında küçük sarı folikül ve 9-40mm çapında büyük sarı folikülleri içermektedir. Farklı şekilde üretilen genler metabolik, hücresel gelişim süreçleri gibi

biyolojik süreçlere katılmaktadır. IL6 üreme sürecinde, stres ve regülasyona yanıt olarak birçok moleküler yolağın bağlantısında önemli bir rol oynamaktadır. Yapılan çalışmada sonuç olarak ovaryum IL6, HSP25, MMP1 ve MMP1 genlerinin ekspresyonunda artış ve ddr2, klf2, col2a1 gen ekspresyonunda azalma; yapısal matrisin proteolitik olarak parçalanması ve inflamasyon hasarı görülmüştür. Araştırmada ortaya çıkan bulguların çalışmamıza benzer olarak sıcaklık stresi kaynaklı olduğu belirlenmiştir (Cheng vd., 2015).



Sonuç olarak; sıcaklık stresi oluşturulan yumurta tavuklarında termonötr l gruplara kıyasla; diyetlerine eklenen krom formlarının (CrHis ve CrPic) ovaryum dokusunda bulunan oreksin ve GLUT protein miktarlarının artmasına, bunun tersi olarak NF- B ve HSP protein düzeylerinin inhibisyonu ile stres kaynaklı doku hasarında iyileşmeye neden olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, CrHis'ın ise CrPic'a göre daha etkili olduğu belirlenmiştir. Tartışmada belirtilen birçok akademik araştırma ile çalışmamız desteklenmiştir. Araştırmamızın bu konudaki bilgi birikimine katkı sağlayacağı ve konu ile ilgili daha sonra yapılacak moleküler ve genetik çalışmalara ışık tutacağı düşünülmektedir.



KAYNAKLAR

- Açıkgöz, Z. ve Önenç, S.S.**, 2006. Fonksiyonel Yumurta Üretimi, *Hayvansal Üretim*, **47**, 36-46.
- Adabi, S.H.G., Ahbab, M., Fani, A. R., Hajbabaei A., Ceylan, N. and Cooper R.G.**, 2011. Egg yolk fatty acid profile of avian species – influence on human nutrition, *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, **97**, 2–12.
- Aggarwal, B.B. and Vilcek, J.**, 1992. Tumor necrosis factor: structure, function and mechanism of action, *New York: Marcel Dekker Inc.*
- Airley, R., Evans, A., Mobasheri, A. and Hewitt, S.M.**, 2010. Glucose transporter Glut-1 is detectable in perinecrotic regions in many human tumor types but not normal tissues: Study using tissue micro arrays, *Annals of Anatomy*, **192**, 133–138.
- Akbari, M. and Torki, M.**, 2014. Effects of dietary chromium picolinate and peppermint essential oil on growth performance and blood biochemical parameters of broiler chicks reared under heat stress conditions, *Int J Biometeorol*, **58**, 1383–1391.
- Akdemir, F., Sahin, N., Orhan, C., Tuzcu M., Sahin, K. and Hayirli, A.**, 2015. Chromium-histidinate ameliorates productivity in heat-stressed Japanese quails through reducing oxidative stress and inhibiting heat-shock protein expression, *British Poultry Science*, **56**, 247–254.
- Albarracin, C.A., Fuqua, B.C., Evans, J.L. and Goldfine, I.D.**, 2008. Chromium picolinate and biotin combination improves glucose metabolism in treated, uncontrolled overweight to obese patients with type 2 diabetes, *Diabetes Metab Res*, **24**, 41–51.
- Aljuobori, A., Zulkifli, I., Soleimani, A.F., Abdullah, N., Liang, J.B., and Mujahid A.**, 2016. Higher inclusion rate of canola meal under high ambient temperature for broiler chickens, *Poultry Science*, **95**, 1326–31.

- Al-Zghoul, M-B., Ismail, Z.B., Dalab, A.E.S., Al-Ramadan, A., Althnaian, T.A., Al-ramadan, S.Y., Ali, A.M., Albokhadaim, I.F., Al Busadah, K.A., Eljarah, A., Jawasreh, K.I., Hannon, K.M.,** 2015. HSP90, HSP60 and HSF-1 genes expression in muscle, heart and brain of thermally manipulated broiler chicken, *Research in Veterinary Science*, **99**, 105–111.
- An, L., Lei, K. and Zheng, B.,** 2014. “Use of heat shock protein mRNA expressions asbiomarkers in wild crucian carp for monitoringwater quality”, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, **37**, 247-255.
- Anderson, R.A.,** 1998. Chromium, glucose intolerance and diabetes”, *J Am Coll Nutr*, **17**, 548-555.
- Anderson, R.A., Polansky, M.M. and Bryden, N.A.,** 2004. Stability and Absorption of Chromium and Absorption of Chromium Histidinate Complexes by Humans, *Biological Trace Element Research*, **101**, 211-218.
- Arlet, J-B., Ribeil, J-A., Guillem, F., Negre, O., Hazoume, A., Marcion, G., Beuzard, Y., Dussiot, M., Moura, I.C., Demarest, S., de Beauchêne, I.C., Belaid-Choucair, Z., Sevin, M., Maciel, T.T., Auclair, C., Leboulch, P., Chretien, S. Tchertanov, L., Baudin-Creuz, V., Seigneuric, R., Fontenay, M., Garrido, C., Hermine, O. and Courtois, G.,** 2014. HSP70 sequestration by free α -globin promotes ineffective erythropoiesis in β -thalassaemia, *nature*, **514**, 242–246.
- Asano, T., Shibasaki, Y., Lin, J.L., Tsukuda, K., Katagiri, H., Ishihara, H., Yazaki, Y. and Oka, Y.,** 1991. Expression of the GLUT1 glucose transporter increases thymidine uptake in Chinese hamster ovary cells at low glucose concentrations, *Cancer Res*, **51**, 4450–4454.
- Atik, Z. ve Ceylan, N.,** 2009. Yumurta Kabuk Kalitesine Mineral Maddelerin Etkisi, *Tavukçuluk Araştırma Dergisi*, **8**, 42-49.
- Bakthisaran, R., Tangirala, R. and Rao, Ch.M.,** 2016. Small heat shock proteins: Role in cellular functions and pathology, *Biochimica et Biophysica Acta*, **1854**, 291–319.

- Bell, G.I., Kayano, T., Buse, J.B., Burant, C.F., Takeda, J., Lin, D., Fukumoto, H. and Seino, S.,** 1990. Molecular biology of mammalian glucose transporters, *Diabetes Care*, **13**,198–208.
- Bellaye, P., Burgy, O., Causse, S., Garrido, C. and Bonniaud, P.,** 2014. Heat shock proteins in fibrosis and wound healing: Good or evil?, *Pharmacology & Therapeutics*, **143**, 119–132
- Bernabò, P., Rebecchi, L., Jousson, O., Martínez-Guitarte, J.L. and Lencioni, V.,** 2011. Thermotolerance and hsp70 heat shock response in the cold-stenothermal chironomid *Pseudodiamesa branickii* (NE Italy), *Cell Stress Chaperones*, **16**, 403–10.
- Bharti, A.C. and Aggarwal, B.B.,** 2002. Nuclear factor-kappa B and cancer: its role in prevention and therapy, *Biochemical Pharmacology*, **64**, 883–888.
- Boğa, M. ve Filik, G.,** 2011. Ruminant hayvan beslemede organik iz minerallerin önemi, *Lalahan Hay. Araşt. Enst. Derg*, **51**, 31-40.
- Büyükleblebici, O. ve Karagül, H.,** 2012. Streptozotosin İle Deneysel Olarak Diyabet Oluşturulan Ratlarda Kromun Biyokimyasal Etkileri, *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, **18**, 21–26.
- Calderwood, S.K. and Gong, J.,** 2016. Heat Shock Proteins Promote Cancer: It's a Protection Racket, *Cellpress Trends in Biochemical Science*, **41**, 311–323.
- Calefi, A.S., de Siqueira, A., Namazu, L.B., Costola-de-Souza, C., Honda, B.B.T., Ferreira, A.J.P., Quinteiro-Filho, W.M., da Silva Fonseca, J.G. and Palermo-Neto, J.,** 2016. Effects of heat stress on the formation of splenic germinal centres and immunoglobulins in broilers infected by *Clostridium perfringens* type A, *Veterinary Immunology and Immunopathology*, **171**, 38–46.
- Cantuaria, G., Magalhaes, A., Penalver, M., Angioli, R., Braunschweiger, P., Gomez-Marin, O., Kanhoush, R., Gomez-Fernandez, C. and Nadji, M.,** 2000. Expression of GLUT-1 Glucose Transporter in Borderline and Malignant Epithelial Tumors of the Ovary, *Gynecologic Oncology*, **79**, 33–37.

- Carruthers, A.**, 1990. Facilitated diffusion of glucose, *Physiol Rev*, **70**, 1135–1176.
- Cevger, Y., Arall, Y., Demir, P. ve Sarıözkan, S.**, 2008. Ankara Üniversitesi veteriner fakültesi intern öğrencilerinde hayvansal ürünlerin tüketim durumu ve tüketici tercihleri, *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, **55**, 189–194.
- Chaurasia, M.K., Nizam, F., Ravichandran, G., Arasu, M.V., Al-Dhabi, N.A., Arshad, A., Elumalai, P. and Arockiaraj, J.**, 2016. Molecular importance of prawn large heat shock proteins 60, 70 and 90, *Fish & Shellfish Immunology*, **48**, 228–238.
- Chen, F., Castranova, V. and Shi, X.**, 2001. New insights into the role of nuclear factor-kappaB in cell growth regulation, *Am J Pathol*, **159**, 387-97.
- Chen, Z., Gan, J., Xiao, X., Jiang, L., Zhang, X. and Luo, Q.**, 2013. The association of SNPs in Hsp90b gene 50 flanking region with thermo tolerance traits and tissue mRNA expression in two chicken breeds, *Mol Biol Rep*, **40**, 5295–5306.
- Cheng, C., Tu, W., Wang, S., Tang, P., Chen, C., Chen, H., Lee, Y., Chen, S. and Huang, S.**, 2015. Annotation of Differential Gene Expression in Small Yellow Follicles of a Broiler-Type Strain of Taiwan Country Chickens in Response to Acute Heat Stress, *Plos One*, 1–14, doi:10.1371/journal.pone.0143418.
- Choi, I., Dasari, A., Kim, N.H. and Campbell, K.H.S.**, 2015. Effects of prolonged exposure of mouse embryos to elevated temperatures on embryonic developmental competence, *Reproductive BioMedicine*, **31**, 171–179.
- Ciocca, D.R. and Calderwood, S.K.**, 2005. Heat shock proteins in cancer: diagnostic, prognostic, predictive, and treatment implications, *Cell Stress Chaperones*, **10**, 86-103.
- Collins, T., Read, M.A., Neish, A.S., Whitley, M.Z., Thanos, D. and Maniatis, T.**, 1995. Transcriptional regulation of endothelial cell adhesion molecules: NF-kappa B and cytokine-inducible enhancers, *FASEB J*, **9**, 899-909.

- Cushman, S.W. and Wardzala, L.J.**, 1980. Potential mechanism of insulin action on glucose transport in the isolated rat adipose cell. Apparent translocation of intracellular transport systems to the plasma membrane, *J Biol Chem*, **255**, 4758-4762.
- Çelebi, Ş. ve Karaca, H.**, 2006. Yumurtanın besin değeri, kolesterol içeriği ve yumurtayı n-3 yağ asitleri bakımından zenginleştirmeye yönelik çalışmalar
- Çobanoğlu, F., Konak, K., Bozkurt, M.**, 2003. Türkiye etlik piliç sektörünün mevcut durumu ve dünya genelindeki gelişmeler, *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, **16**, 127-133.
- da Costa, C.L., De Freitas, M.S. and Moura, A.S.**, 2004. Insulin secretion and GLUT-2 expression in undernourished neonate rats, *Journal of Nutritional Biochemistry*, **15**, 236–241.
- Dattilo, S., Mancuso, C., Koverech, G., Di Mauro, P., Ontario, M.L., Petralia, C.C., Petralia, A., Maiolino, L., Serra, A., Calabrese, E.J. and Calabrese V.**, 2015. Heat shock proteins and hormesis in the diagnosis and treatment of neurodegenerative diseases, *Immunity & Ageing*, **12**, 1–19.
- de Lecea, L., Kilduff, T.S., Peyron, C., Gao, X., Foye, P.E., Danielson, P.E., Fukuhara, C., Battenberg, E.L., Gautvik, V.T., Bartlett 2nd, F.S., Frankel, W.N., van den Pol, A.N., Bloom, F.E., Gautvik, K.M., Sutcliffe, J.G.**, 1998. The hypocretins: hypothalamusspecific peptides with neuroexcitatory activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **95**, 322–327.
- de Montpréville, V.T., Quilhot, P., Chalabreysse, L., Muret, A.D., Hofman, V., Lantuéjoul, S., Parrens, M., Payan, M., Rouquette, I., Secq, V., Girard, N., Besse, B., Marx, A. and Molina, T.J.**, 2015. Glut-1 intensity and pattern of expression in thymic epithelial tumors are predictive of WHO subtypes, *Pathology – Research and Practice*, **211**, 996–1002.
- Dogukan, A., Sahin, N., Tuzcu, M., Juturu, V., Orhan, C., Onderci, M., Komorowski, J. And Sahin, K.**, 2009. The Effects of Chromium Histidinate on Mineral Status of Serum and Tissue in Fat-Fed and Streptozotocin-Treated Type II Diabetic Rats, *Biol Trace Elem Res*, **131**, 124–132.

- Dogukan, A., Tuzcu, M., Juturu, V., Cikim, G., Ozercan, I., Komorowski, J., and Sahin, K.,** 2010. Effects of Chromium Histidinate on Renal Function, Oxidative Stress, and Heat-Shock Proteins in Fat-Fed and Streptozotocin-Treated Rats, *Journal of Renal Nutrition*, **20**, 112–120.
- Driedonks, N., Xu, J., Peters, J.L., Park, S. and Rieu, I.,** 2015. Multi-Level Interactions Between Heat Shock Factors, Heat Shock Proteins, and the Redox System Regulate Acclimation to Heat, *Frontiers in Plant Science*, **6**, 1–9.
- Dubey, V.K., Ansari, F., Vohora, D. and Khanam, R.,** 2015. Possible involvement of corticosterone and serotonin in antidepressant and anxiolytic effects of chromium picolinate in chronic unpredictable mild stress induced depression and anxiety in rats, *Journal Trace Element Medical Biology*, **29**, 222–226.
- Dwyer, D.S., Vanucci, S.J. and Simpson, I.A.,** 2002. Expression, regulation, and functional role of glucose transporters (gluts) in brain, *International review of neurobiology*, **51**, 159–188.
- Elbaz, I., Levitas-Djerbi, T., and Appelbaum, L.,** 2016. The Hypocretin/Orexin Neuronal Networks in Zebrafish, *Curr Topics Behav Neurosci*, Doi 10.1007/7854_2016_59.
- Engelmann, C. and Haenold, R.,** 2016. Transcriptional Control of Synaptic Plasticity by Transcription Factor NF- κ B, *Neural Plasticity*, **2016**, 1–7.
- Estabrooke I.V., McCarthy, M.T., Ko, E., Chou, T.C., Chemelli, R.M., Yanagisawa, M., Saper, C.B. and Scammell, T.E.,** 2001. Fos Expression in Orexin Neurons Varies with Behavioral State, *The Journal of Neuroscience*, **21**, 1656–1662.
- Estrada, D.E., Elliott, E., Zinman, B., Poon, I., Liu, Z., Klip, A., and Daneman, D.,** 1994. Regulation of glucose transport and expression of GLUT3 transporters in human circulating mononuclear cells: studies in cells from insulin-dependent diabetic and nondiabetic individuals, *Metabolism*, **43**, 591–598.
- Furtado, L.M., Somwar, R., Sweeney, G., Niu, W. and Klip, A.,** 2002. Activation of the glucose transporter GLUT4 by insulin, *Biochem Cell Biol*, **80**, 569–578.

- Garriga C., Hunter R.R., Amat C., Planas, J.M., Mitchell, M.A. and Moreto, M.,** 2006. Heat stress increases apical glucose transport in the chicken jejunum, *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, **290**, 195–201.
- Ghosh, S. and Dass, J.F.P.,** 2016. Study of pathway cross-talk interactions with NF- κ B leading to its activation via ubiquitination or phosphorylation: A brief review, *Gene*, **584**, 97–109.
- Ghosh, S. and Karin, M.,** 2002. Missing Pieces in the NF- κ B Puzzle, *Cell*, **109**, 81–96.
- Gilmore, T.D., Kalaitzidis, D., Liang, M.C. and Starczynowski, D.T.,** 2004. The c-Rel transcription factor and B-cell proliferation: a deal with the devil, *Oncogene*, **23**, 2275–86.
- Goforth, P.B. and Myers, M.G.,** 2016. Roles for Orexin/Hypocretin in the Control of Energy Balance and Metabolism, *Curr Topics Behav Neurosci*, **33**, 137–156.
- González, J.A., Jensen L.T., Iordanidou, P., Strom, M., Fugger, L., and Burdakov, D.,** 2016. Inhibitory Interplay between Orexin Neurons and Eating, *Current Biology*, **26**, 2486–2491
- Grafe, L.A., Cornfeld, A., Luz, S., Valentino, R. and Bhatnagar, S.,** 2016. Orexins mediate sex differences in the stress response and in cognitive flexibility, *Biological Psychiatry*, **81**, 683–692.
- Greene, E., Khaldi, S., Ishola, P., Bottje, W., Ohkubo, T., Anthony, N. and Dridi, S.,** 2016. Heat and oxidative stress alter the expression of orexin and its related receptors in avian liver cells, *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* **191**, 18–24.
- Gültekin, H., ve Şahin, S.,** 2005. Oreksinler (hipokretinler): Obezite tedavisinde yeni hedef moleküller, *Genel Tıp Derg*, **15**, 85–90.
- Hagi, A., Hayashi, H., Kishi, K., Wang, L. and Ebina Y.,** 2000. Activation of G-protein coupled fMLP or PAF receptor directly triggers glucose transporter type 1 (GLUT1) translocation in Chinese hamster ovary (CHO) cells stably expressing fMLP or PAF receptor, *J Med Invest*, **47**, 19–28.

- Haslbeck, M., Franzmann, T., Weinfurtner, D. and Buchner, J.** 2005. Some like it hot: The structure and function of small heat shock proteins, *Nat Struct Mol. Biol.*, **12**, 842–846.
- Hassanpour, H., Alekooi, Z.K., Madreseh, S., Bahadoran, S. and Nasiri, L.,** 2016. Variation of heat shock protein gene expression in the brain of cold-induced pulmonary hypertensive chickens, *British Poultry Science*, **57**, 1–22.
- Hediger, M.A. and Rhoads, D.B.,** 1994. Molecular physiology of sodium-glucose cotransporters, *Physiol Rev*, **74**, 993–1026.
- Hosseini-Vashan, S. J., Golian, A. and Yaghobfar, A.,** 2015. Growth, immune, antioxidant, and bone responses of heat stress-exposed broilers fed diets supplemented with tomato pomace, *International Journal of Biometeorology*, 1–10, doi:10.1007/s00484-015-1112-9.
- Iannotti, LL., Lutter, CK., Bunn, DA. and Stewart, CP.,** 2014. Eggs: the uncracked potential for improving maternal and young child nutrition among the world's poor, *Nutr Rev.*, **72**, 355–68.
- Jahromi, M.F., Altaher, Y.W., Shokryazdan, P., Ebrahimi, R., Ebrahimi, M., Idrus, Z., Tufarelli, V. and Liang, J.B.,** 2016. Dietary supplementation of a mixture of Lactobacillus strains enhances performance of broiler chickens raised under heat stress conditions, *Int J Biometeorol*, **60**, 1099–1110.
- James, D.E., Brown, R., Navarro, J. and Pilch, P.F.,** 1988. Insulin-regulatable tissues express a unique insulin sensitive glucose transport protein, *Nature*, **333**, 183–185.
- Jensen, P.J., Gitlin, J.D. and Carayannopoulos, M.O.,** 2006. GLUT1 deficiency links nutrient availability and apoptosis during embryonic development, *J. Biol. Chem*, **81**, 13382–13387.
- Jiajun, Y., Aiyun, H., Shanshan, Z. and Minhong, Z.,** 2011. Regulation of organic nucleic acids and serum biochemistry parameters by dietary chromium picolinate supplementation in swine model, *Journal Trace Element Medical Biology*, **25**, 91–6.

- Joost, H.G., and Thorens, B.,** 2001. The Extended Glut-Family of Sugar/Polyol Transport Facilitators: Nomenclature, Sequence Characteristics, and Potential Function of Its Novel Members, *Mol Membr Bio*, **18**, 247–256.
- Johnson, E.O., Kamilaris, T.C., Chrousos, G.P. and Gold, P.W.,** 1992. Mechanisms of stress: a dynamic overview of hormonal and behavioral homeostasis, *Neurosci Biobehav Rev*, **16**, 115-30.
- Kaplan, O., AVCI, M. ve Yertürk, M.,** 2006. Sıcaklık Stresi Altındaki Bildircin Karma Yemlerine Sodyum Bikarbonat Katkısının Canlı Ağırlık Yumurta Verimi ve Kalitesi ile Bazı Kan Parametreleri Üzerine Etkileri, *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg.*, **1**, 33-38.
- Kappe, G., Franck, E., Werschuure, P., Boelens, W.C., Leunissen, J.A. and de Jong, W.W.,** 2003. The human genome encodes 10 α -crystalin-related small heat shock proteins: HspB1-10, *Cell Stress Chaperones*, **8**, 53-61.
- Karadağ, M.G. ve AKSOY, M.,** 2009. Yeni keşif nöropeptitlerden: Oreksin, *Göztepe Tıp Dergisi*, **24**, 79-87.
- Karnieli, E. and Armoni, M.,** 2008. Transcriptional regulation of the insulin-responsive glucose transporter GLUT4 gene: from physiology to pathology, *Am J Physiol Endocrinol Metab*, **295**, 38-45.
- Karlı, M.A. ve Dönmez, H.H.,** 2007. Sıcaklık Stresi Oluşturulan Broylerlerde Rasyona İlave Edilen Bitki Ekstraktının Büyüme Performansı ve İnce Bağırsak Villusları Üzerine Etkisi, *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg.*, **2**, 143-148.
- Kellett, G.L., Brot-Laroche, E., Mace, O.J. and Leturque, A.,** 2008. Sugar absorption in the intestine: the role of GLUT2, *Annu Rev Nutr*, **28**, 35–54.
- Kennedy, D., Jeager, R., Mosser, D.D. and Samali, A.,** 2014. “Regulation of Apoptosis by Heat Shock Proteins”, *International Union of Biochemistry and Molecular Biology*, **66**, 5, 327–338.
- Kero, D., Govorko, D.K., Mikic, I.M., Vukojevic, K., Cigic, L. and Saraga-Babic, M.,** 2015. Analysis of expression patterns of IGF-1, caspase-3 and HSP-70 in developing human tooth germs, *Archives of Oral Biology*, **60**, 1533–1544.

- Khachatoorian, R. and French S.W.**, 2016. Chaperones in hepatitis C virus infection, *World J Hepatol*, **8**, 9–35.
- Kimura, E., Enns, R.E., Alcaraz, J.E., Arboleda, J., Slamon, D.J. and Howell, S.B.**, 1993. Correlation of the survival of ovarian cancer patients with mRNA expression of the 60-kD heat-shock protein HSP-60, *J. Clin. Oncol.*, **11**, 891–898.
- Kodaman, P.H. and Behrman, H.R.**, 1999. Hormone-regulated and glucose-sensitive transport of dehydroascorbic acid in immature rat granulosa cells, *Endocrinology*, **140**, 3659–3665.
- Kol, S., Ben-Shlomo, I., Ruutiainen, K., Ando, M., Davies-Hill, T.M., Rohan, R.M., Simpson, I.A., Adashi, E.Y.**, 1997. The midcycle increase in ovarian glucose uptake is associated with enhanced expression of glucose transporter 3. Possible role for interleukin-1, a putative intermediary in the ovulatory process, *J Clin Invest*, **99**, 2274–2283.
- Komorowski J.R., Tuzcu M., Sahin N., Juturu V., Orhan C., Ulas M. and Sahin K.**, 2012. Chromium Picolinate Modulates Serotonergic Properties and Carbohydrate Metabolism in a Rat Model of Diabetes, *Biol Trace Elem Res*, **149**, 50–56.
- Konca, Y. ve Yazgan, O.**, 2002. Yumurta Tavuklarında Sıcaklık Stresi ve Vitamin C, *Hayvansal Üretim*, **43**, 16-25.
- Kopitar-Jerala, N.**, 2015. Innate Immune Response in Brain, NF-Kappa B Signaling and Cystatins, *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 1–9.
- Laemmli, U.K.**, 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4, *Nature*, **227**, 680-685.
- Lara, J.L. and Rostagno, M.H.**, 2013. Impact of Heat Stress on Poultry Production, *Animals*, **3**, 356–369.
- Larance, M., Ramm, G., and James, D.E.**, 2008. The GLUT4 code, *Mol Endocrinol*, **22**, 226–233.

- Lei, L., Hepeng, L., Xianlei, L., Hongchao, J., Hai, L., Sheikhahmadi, A., Yufeng, W., and Zhigang, S.,** 2014. Effects of acute heat stress on gene expression of brain–gut neuropeptides in broiler chickens, *J. Anim. Sci.*, **91**, 5194–5201.
- Li, F., Cheng S., Yu, H. and Yang, D.,** 2016. Waste from livestock and poultry breeding and its potential assessment of biogas energy in rural China, *Journal of cleaner production*, **126**, 451–460.
- Liu, L., Fu, C., Yan, M., Xie, H., Li, S., Yu, Q., He S. and He J.,** 2016. Resveratrol modulates intestinal morphology and HSP70/90, NF- κ B and EGF expression in the jejunal mucosa of black-boned chickens on exposure to circular heat stress, *Food Function*, **7**, 1329–1338.
- Loaiza, B., Hernandez-Gutierrez, S., Montesinos, J.J., Valverde, M., and Rojas, E.,** 2016. Nuclear Transcription Factor Kappa B Downregulation Reduces Chemoresistance in Bone Marrow-derived Cells Through P-glycoprotein Modulation, *Archives of Medical Research*, 1–11, doi:10.1016/j.arcmed.2016.05.004.
- Lowry, O. H., Rosebrough N. J., Farr, A.L., Randall R. J.,** 1951. Protein measurement with the Folin-Phenol reagents. *J Biol Chem.*, **193**, 265-275.
- Luna, S.L., Brown, D.I., Eghlidi, D.H., Kohama, S.G. and Urbanski, H.F.,** 2017. Locomotor activity and the expression of orexin A and orexin B in aged female rhesus macaques, *Neurobiology of Aging*, **50**,1–4.
- Luo, Q.B., Song, X.Y., Ji, C.L., Zhang, X.Q. and Zhang, D.X.,** 2014. Exploring the molecular mechanism of acute heat stress exposure in broiler chickens using gene expression profiling, *Gene*, **546**, 200–205.
- Mackowiak, P., Krejpcio, Z., Sassek, M., Kaczmarek, P., Hertig, I., Chmielewska, J., Wojciechowicz, T., Szczepankiewicz, D., Wieczorek, D., Szymusiak, H. and Nowak, K.W.,** 2010. Evaluation of insulin binding and signaling activity of newly synthesized chromium(III) complexes in vitro, *Molecular Medicine Reports*, **3**, 347-53.
- Manel, N., Kim, F.J., Kinet, S., Taylor, N., Sitbon, M. and Battini, J.,** 2003. The Ubiquitous Glucose Transporter GLUT-1 Is a Receptor for HTLV, *Cell*, **115**, 449–459.

- Mantych, G.J., James, D.E., Chung, H.D., and Devaskar, S.U.,** 1992. Cellular localization and characterization of Glut 3 glucose transporter isoform in human brain, *Endocrinology*, **131**, 1270-1278.
- Maratou, E., Dimitriadis, G., Kollias, A., Boutati, E., Lambadiari, V., Mitrou, P. and Raptis, S.A.,** 2007. Glucose transporter expression on the plasma membrane of resting and activated white blood cells, *Eur J Clin Invest*, **37**, 282-290.
- Marty, N., Dallaporta, M. and Thorens, B.,** 2007. Brain glucose sensing, counterregulation, and energy homeostasis, *Physiology (Bethesda)*, **22**, 241-251.
- Mason, J.B.,** 2011. Vitamins, trace minerals, and other micronutrients. In: Goldman L, Ausiello D, eds. Goldman's Cecil Medicine. 24th ed. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders; chap, **225**, 1–10.
- McCall, A.L., Van Bueren, A.M., Moholt-Siebert, M., Cherry, N.J. and Woodward, W.R.,** 1994. Immunohistochemical localization of the neuron-specific glucose transporter (GLUT3) to neuropil in adult rat brain, *Brain Res*, **659**, 292-297.
- Miklowitz D.J., Portnoff, L.C., Armstrong, C.C., Keenan-Miller, D., Breen, E.C., Muscatell, K.A., Eisenberger, N.I. and Irwin, M.R.,** 2016. Inflammatory cytokines and nuclear factor-kappa B activation in adolescents with bipolar and major depressive disorders, *Psychiatry Research*, **241**, 315–322.
- Mobasheri, A.,** 2012. Glucose: an energy currency and structural precursor in articular cartilage and bone with emerging roles as an extracellular signaling molecule and metabolic regulator, *endocrinology*, **3**, 1–10.
- Moeini, M.M., Bahrami, A., Ghazi, S. and Targhibi, M.R.,** 2011. The Effect of Different Levels of Organic and Inorganic Chromium Supplementation on Production Performance, Carcass Traits and Some Blood Parameters of Broiler Chicken Under Heat Stress Condition, *Biol Trace Elem Res*, **144**, 715–724.
- Morato, P.N., Lollo, P.C.B., Moura, C.S., Batista, T.M., Carneiro, E.M., Amaya-Farfan, J.,** 2013. A dipeptide and an amino acid present in whey protein hydrolysate increase translocation of GLUT-4 to the plasma membrane in Wistar rats, *Food Chemistry*, **139**, 853–859.

- Mueckler, M. and Thorens, B.,** 2013. The SLC2 (GLUT) family of membrane transporters, *Molecular aspects of medicine*, **34**, 121–138.
- Mueckler, M.,** 1994. Facilitative glucose transporters, *Eur J Biochem*, **219**, 713–25.
- Mieda, M.,** 2017. The roles of orexins in sleep/wake regulation, *Neuroscience Research*, **118**, 56–65.
- Nakamura, K.,** 2015. Neural circuit for psychological stress-induced hyperthermia, *Temperature*, **2**, 352–361.
- Nishimoto, H., Matsutani, R., Yamamoto, S., Takahashi, T., Hayashi, K.G., Miyamoto, A., Hamano, S. and Tetsuka, M.,** 2006. Gene expression of glucose transporter (GLUT) 1, 3 and 4 in bovine follicle and corpus luteum, *J Endocrinol*, **188**, 111–119.
- Okamoto, T., Ishida, R., Yamamoto, H., Tanabe-Ishida, M., Haga, A., Takahashi, H., Takahashi, K., Goto, D., Grave, E., and Itoh, H.,** 2015. Functional structure and physiological functions of mammalian wild-type HSP60, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **586**, 10–19.
- Orhan, C., Akdemir, F., Sahin, N. , Tuzcu, M., Komorowski, J.R., Hayirli, A. and Sahin, K.,** 2012. Chromium histidinate protects against heat stress by modulating the expression of hepatic nuclear transcription factors in quail, *British Poultry Science*, **53**, 828–835.
- Orhan, C., Tuzcu, M., Gencoglu, H., Sahin, N. Hayirli A, and Sahin, K.,** 2013. Epigallocatechin-3-gallate exerts protective effects against heat stress through modulating stress-responsive transcription factors in poultry, *British Poultry Science*, **54**, 447–53.
- Önol, A.G., Daşkiran, M., Cengiz, Ö., Nazlıgöl, A. ve Sarı, M.,** 2012. Sicaklik Stresi Altındaki Erken Yumurtlama Döneminde Olan Tavukların Rasyonlarına E Vitamini ve Lizin Katkisinin Performans ve Yumurta Kabuk Özellikleri Üzerine Etkisi, *Kafkas Univ. Vet Fak Derg.*, **18**, 49–55.
- Park, C-J. and Seo, Y-S.,** 2015. Heat Shock Proteins: A Review of the Molecular Chaperones for Plant Immunity, *Plant Pathol. J.*, **31**, 323–333.

- Pei-ming, S., Yu-tian, L., Yong-gang, Z., En-dong, B. and Zhi-liang, W.,** 2007. Relationship Between Heart Damages and HSPs mRNA in Persistent Heat Stressed Broilers, *Agricultural Sciences in China*, **6**, 227–233.
- Prasad, S., Ravindran, J. and Aggarwal, B.B.,** 2010. NF-kB and cancer: how intimate is this relationship, *Mol. Cell Biochem*, **336**, 25–37.
- Preuss, H.G., Grojec, P.L., Lieberman, S., and Anderson, R.A.,** 1997. Effects of different chromium compounds on blood pressure and lipid peroxidation in spontaneously hypertensive rats, *Clin. Nephrol*, **47**, 325-30.
- Puscheck, E.E., Awonuga, A.O., Yang, Y., Jiang, Z. and Rappolee, D.A.,** 2015. Molecular Biology of the Stress Response in the Early Embryo and its Stem Cells, *Advances in Experimental Medicine and Biology*, **843**, 77–127.
- Rafiee, F., Mazhari, M., Ghoreishi, M. and Esmaeilipour, O.,** 2016. Effect of lemon verbena powder and vitamin C on performance and immunity of heat-stressed broilers, *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 1–6, doi: 10.1111/jpn.12457.
- Razavia, B.M. and Hosseinzadeh, H.,** 2016. A review of the role of orexin system in pain modulation, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **90**, 187–193.
- Rimoldi, S., Lasagna, E., Sarti, F.M., Marelli, S.P., Cozzi, M.C., Bernardini, G. and Terova, G.,** 2015. Expression profile of six stress-related genes and productive performances of fast and slow growing broiler strains reared under heat stress conditions, *Meta Gene*, **6**, 17–25.
- Ritossa, F.,** 1962. A new puffing pattern induced by temperature shock and DNPin *Drosophila*, *Experientia*, **18**, 571–573.
- Rudlowski, C., Moser, M., Becker, A.J., Rath, W., Buttner, R., Schroder, W., Schurmann, A.,** 2003. GLUT1 mRNA and Protein Expression in Ovarian Borderline Tumors and Cancer, *Oncology*, **66**, 404–410.
- Rund, D.,** 2016: Modern medicine battles an ancient disease, *American Journal of Hematology*, **91**, 15–21.

- Ryu, S., Park, B., Bang, H., Kang, H. and Hwangbo, J.,** 2016. Effects of anti-heat diet and inverse lighting on growth performance, immune organ, microorganism and short chain fatty acids of broiler chickens under heat stress, *Journal of Environmental Biology*, **37**, 185–192.
- Sahin K., Orhan C., Tuzcu Z., Tuzcu M. and Sahin N.,** 2012. Curcumin ameliorates heat stress via inhibition of oxidative stress and modulation of Nrf2/HO-1 pathway in quail, *Food and Chemical Toxicology*, **50**, 4035–4041.
- Sahin, K. and Kucuk, O.,** 2001. Effects of vitamin C and vitamin E on performance, digestion of nutrients and carcass characteristics of Japanese quails reared under chronic heat stress (34 °C), *J. Anim. Physiol. a. Anim. Nutr*, **85**, 335–341.
- Sahin, K.,** 2015. Modulation of NF- κ B and Nrf2 pathways by lycopene supplementation in heat-stressed poultry, *World's Poultry Science Journal*, **71**, 271–284.
- Sahin, K., and Kucuk, O.,** 2003. Heat stress and dietary vitamin supplementation of poultry diets, *Nutrition Abstracts and Reviews. Series B: Livestock Feeds and Feeding*, **73**: 41–50.
- Sahin, K., Orhan, C., Akdemir, F., Tuzcu, M., Ali, S. and Sahin, N.,** 2011. Tomato powder supplementation activates Nrf-2 via ERK/Akt signaling pathway and attenuates heat stress-related responses in quails, *Animal Feed Science and Technology*, **65**, 230–237.
- Sahin, K., Orhan, C., Akdemir, F., Tuzcu, M., Iben, C. and Sahin, N.,** 2012. Resveratrol protects quail hepatocytes against heat stress: modulation of the Nrf2 transcription factor and heat shock proteins, *Journal of Animal Physiology and Animal, Nutrition*, **96**, 66–74
- Sahin, K., Orhan, C., Tuzcu, M. and Sahin, N.,** 2013a. The Effects of lycopene on the meat lycopene levels, antioxidant enzymes and Nrf2 pathway in broiler chickens. 2nd International Poultry Meat Congress. 24-28 April 2013 Antalya, Turkey.

- Sahin, K., Orhan, C., Smith, M.O. and Sahin, N.,** 2013b. Molecular targets of dietary phytochemicals for alleviation of heat stress in poultry, *Worlds Poult Sci J*, **69**, 113–123.
- Sahin, K., Tuzcu, M., Orhan, C., Ali, S., Sahin, N., Gencoglu, H., Ozkan, Y., Hayirli, A., Gozel, N. and Komorowski J.R.,** 2013c. Chromium modulates expressions of neuronal plasticity markers and glial fibrillary acidic proteins in hypoglycemia-induced brain injury *Life Sciences*, **93**, 1039–1048.
- Sahin, K., Orhan, C., Tuzcu, M., Borawska, M.H., Jablonski, J., Guler, O., Sahin, N. and Hayirli, A.,** 2013d. Berberis vulgaris root extract alleviates the adverse effects of heat stress via modulating hepatic nuclear transcription factors in quails, *Br J Nutr*, **110**, 609–16.
- Sahin, K., Orhan, C., Tuzcu, M., Sahin, N., Hayirli, A., Bilgili, S. and Kucuk O.,** 2016. Lycopene activates antioxidant enzymes and nuclear transcription factor systems in heat-stressed broilers, *Poultry Science*, **95**, 1088–1095.
- Sahin, K., Ozbey, O., Onderci, M., Cikim, G. and Aysondu, M.H.,** 2002a. Chromium Supplementation Can Alleviate Negative Effects of Heat Stress on Egg Production, Egg Quality and Some Serum Metabolites of Laying Japanese Quail, *The Journal of Nutrition*, **132**, 1265–1268.
- Sahin, K., Sahin, N., Yaralioglu, S., and Onderci, M.,** 2002b. Protective Role of Supplemental Vitamin E and Selenium on Lipid Peroxidation, Vitamin E, Vitamin A, and Some Mineral Concentrations of Japanese Quails Reared Under Heat Stress, *Biological Trace Element Research*, **85**, 59–70.
- Sahin, K., Tuzcu, M., Orhan, C., Agca, C.A., Sahin, N., Guvenc, M., Krejpcio, Z., Staniek, H. and Hayirli A.,** 2011. The Effects of Chromium Complex and Level on Glucose Metabolism and Memory Acquisition in Rats Fed High-Fat Diet, *Biol Trace Elem Res*, **143**, 1018–1030.

- Sahin, N., Akdemir, F., Tuzcu, M., Hayirli, A., Smith, M.O. and Sahin, K., 2010.** Effects of supplemental chromium sources and levels on performance, lipid peroxidation and proinflammatory markers in heat-stressed quails, *Animal Feed Science and Technology*, **159**, 143–149.
- Sahin, N., Onderci, M. , Sahin, K., Gursu, M.F. and Smith, M.O., 2004.** Ascorbic Acid And Melatonin Reduce Heat-induced Performance inhibition and Oxidative Stress in Japanese Quails, *British Poultry Science*, **45**, 116–122.
- Sahin, N., Onderci, M., Sahin, K. and Kucuk, O., 2008.** Supplementation with Organic or Inorganic Selenium in Heat-distressed Quail, *Biol Trace Elem Res*, **122**, 229–237.
- Sahin, N., Sahin, K., Onderci, M., Gursu, M.F., Cikim, G., Vijaya, J. and Kucuk, O., 2005.** Chromium picolinate, rather than biotin, alleviates performance and metabolic parameters in heat-stressed quail, *British Poultry Science*, **46**, 457–463.
- Sahin, N., Sahin, K., Onderci, M., Sarkar, F.H., Doerge, D., Prasad, A. and Kucuk, O., 2006.** Effects of dietary genistein on nutrient use and mineral status in heat-stressed quails, *Exp Anim*, **55**, 75–82.
- Sahin, N., Tuzcu, M., Orhan, C., Onderci, M., Eroksuz, Y. and Sahin K., 2009.** The effects of vitamin C and E supplementation on heat shock protein 70 response of ovary and brain in heat-stressed quail, *British Poultry Science*, **50**, 259—265
- Sakurai, T., Amemiya, A., Ishii, M., Matsuzaki, I., Chemelli, R.M., Tanaka, H., Williams, S.C., Richardson, J.A., Kozlowski, G.P., Wilson, S., Arch, J.R., Buckingham, R.E., Haynes, A.C., Carr, S.A., Annan, R.S., McNulty, D.E., Liu, W.S., Terrett, J.A., Elshourbagy, N.A., Bergsma, D.J., Yanagisawa, M., 1998.** Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior, *Cell*, **92**, 573–585.

- Santos, R.R., Awati, A., Roubos-van, den Hil P.J., Tersteeg-Zijderveld, M.H., Koolmees, P.A. and Fink-Gremmels, J., 2014.** Quantitative histomorphometric analysis of heat-stress related damage in the small intestines of broiler chickens, *Avian Pathology*, **20**, 1–14.
- Sato, Y., Ito, T., Udaka, N., Kanisawa, M., Noguchi, Y., Cushman, S.W., and Satoh, S., 1996.** Immunohistochemical localization of facilitated-diffusion glucose transporters in rat pancreatic islets, *Tissue Cell*, **28**, 637–643.
- Seidner, G., Alvarez M.G., Yeh, J., O'Driscoll, K.R., Klepper, J., Stump, T.S., Wang, D., Spinner, N.B., Birnbaum, M.J. and de Vivo, D.C., 1998.** GLUT-1 deficiency syndrome caused by haploinsufficiency of the blood-brain barrier hexose carrier, *nature genetics*, **18**, 188–191.
- Selye, H., 1976.** Forty years of stress research: principal remaining problems and misconceptions, *Can. Med. Assoc. J.*, **115**, 53–56.
- Sen, R. and Baltimore., D., 1986.** Inducibility of kappa immunoglobulin enhancer-binding protein Nf-kappa B by a posttranslational mechanism, *Cell*, **47**, 921–8.
- Sevin, M., Girodon, F., Garrido, C. and de Thonel A., 2015.** HSP90 and HSP70: Implication in Inflammation Processes and Therapeutic Approaches for Myeloproliferative Neoplasms, *Mediators of Inflammation*, **2015**, 1–8.
- Shanmugam, M., Vinoth, A., Rajaravindra, K.S. and Rajkumar, U., 2015.** Thermal manipulation during embryogenesis improves certain semen parameters in layer breeder chicken during hot climatic conditions, *Animal Reproduction Science*, **161**, 112–118.
- Sheikh, A. A., Aggarwal, A. and Aarif, O., 2016.** Effect of in vitro zinc supplementation on HSPs expression and Interleukin 10 production in heat treated peripheral blood mononuclear cells of transition Sahiwal and Karan Fries cows, *Journal of Thermal Biology*, **56**, 68–76.
- Shepherd, P.R., Gould, G.W., Colville, C.A., McCoid, S.C., Gibbs, E.M. and Kahn, B.B., 1992.** Distribution of GLUT3 glucose transporter protein in human tissues, *Biochem. Biophys. Res. Commun*, **188**, 149–54.

- Shishodia, S. and Aggarwal, B.B.**, 2002. Nuclear factor-kappa B activation: a question of life and death, *J Biochem Mol Biol*, **35**, 28–40.
- Stope, M.B., Koensgen, D., Burchardt, M., Concin, N., Zygmunt, M. and Mustea, A.**, 2016. Jump in the fire — heat shock proteins and their impact on ovarian cancer therapy, *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, **97**, 152–156.
- Suzuki, I. and Kono, T.**, 1980. Evidence that insulin causes translocation of glucose transport activity to the plasma membrane from an intracellular storage site, *Proc Natl Acad Sci USA*, **77**, 2542–2545.
- Sümer Turanlıgil, N.C. ve Uyanıkgil, Y.**, 2010. Hücre İçi Sinyal Yolakları ve Klinik Yansımaları, *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, **19**, 180–191.
- Takata, K., Kasahara, T., Kasahara, M., Ezaki, O. and Hirano, H.**, 1990. Erythrocyte/HepG2-type glucose transporter is concentrated in cells of blood-tissue barriers, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **173**, 67-73.
- Thorens, B. and Mueckler, M.**, 2010. Glucose transporters in the 21st Century, *Am J Physiol Endocrinol Metab*, **298**, 141-5.
- Thorens, B.**, 1992. Molecular and cellular physiology of GLUT2, a high-Km facilitated diffusion glucose transporter, *Int Rev Cytol.*, **137**, 209–238.
- Thorens, B., Weir, G.C., Leahy, J.L., Lodish, H.F. and Bonner-Weir, S.**, 1990. Reduced expression of the liver/beta-cell glucose transporter isoform in glucose-insensitive pancreatic beta cells of diabetic rats, *Proc Natl Acad Sci USA*, **87**, 6492–6406.
- Torki, M., Zangeneh, S. and Habibian, M.** 2014. Performance, egg quality traits, and serum metabolite concentrations of laying hens affected by dietary supplemental chromium picolinate and vitamin C under a heat-stress condition, *Biology Trace Element Research*, **157**, 120–9.

- Tu, W-L., Cheng, C-Y., Wang, S-H., Tang, P-C., Chen, C-F., Chen, H-H., Lee, Y-P., Chen S-E. and Huang S-Y.,** 2016. Profiling of differential gene expression in the hypothalamus of broiler-type Taiwan country chickens in response to acute heat stress, *Theriogenology*, **85**, 483–494.
- Tuzcu, M.,** 2004. Deneyisel olarak oluşturulan diyabetik ratlarda hipokampus ve beyin korteksinden n-cam protein ekspresyonu ve buna melatonin ve vitamin E'nin etkisi, *Doktora Tezi*, Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
- Tuzcu, M., Aslan, A., Tuzcu, Z., Yabas, M., Bahcecioglu, I.H., Ozercan, I.H., Kucuk, O. and Sahin, K.,** 2012. Tomato powder impedes the development of azoxymethane-induced colorectal cancer in rats through suppression of COX-2 expression via NF-kB and regulating Nrf2/HO-1 pathway, *Mol. Nutr. Food Res.*, **56**, 1447–81.
- Tuzcu, M., Sahin, N., Karatepe, M., Cikim, G., Kilinc, U. and Sahin K.,** 2013. Epigallocatechin-3-gallate supplementation can improve antioxidant status in stressed quail, *British Poultry Science*, **49**, 643—648.
- Tuzcu, M., Sahin, N., Orhan, C., Agca, C.A., Akdemir, F., Tuzcu, Z., Komorowski, J. and Sahin, K.,** 2011. Impact of chromium histidinate on high fat diet induced obesity in rats, *Nutr Metab (Lond)*, **3**, 8–28.
- Türkoğlu M. ve Sarıca M.,** 2014. Tavukçuluk Bilimi Yetiştirme Besleme ve Hastalıklar, 4. Baskı. *Bey Ofset Matbaacılık*, Ankara, Bölüm **8**, 293–342.
- URL1_**<http://www.heatstress.info/Heatstressincattlepoultryandswine/costofheatstressinlayersandbroilers/tabid/2132/Default.aspx>. 22.11.2016.
- URL2_**<http://www.periodictable.com/Items/024.11/index.html>.27.01.2017.
- URL3_**www.ahmetgnc.com/wp-content/uploads/2012/03/Isı-Şok-Proteinleri.ppt.19.05.2017.
- Van Goor, A., Ashwell, C.M., Persia, M.E., Rothschild, M.F., Schmidt, C.J. and Lamont S.J.,** 2016a. Quantitative trait loci identified for blood chemistry components of an advanced intercross line of chickens under heat stress, *BMC Genomics*, **17**–287.

- Van Goor, A., Bolek, K.J., Ashwell, C.M., Persia, M.E., Rothschild, M.F., Schmidt, C.J. and Lamont, S.J.,** 2016b. Identification of quantitative trait loci for body temperature, body weight, breast yield, and digestibility in an advanced intercross line of chickens under heat stress, *Genetics Selection Evolution*, **47**, 1–13.
- Vincent, J.B.,** 2000. The Biochemistry of Chromium, *The Journal of Nutrition*, **130**, 715–718.
- Vinoth, A., Thirunalasundari, T., Tharian, J.A., Shanmugam, M. and Rajkumar, U.,** 2015. Effect of thermal manipulation during embryogenesis on liver heat shock protein expression in chronic heat stressed colored broiler chickens, *Journal of Thermal Biology*, **53**, 162–171.
- Volek, J.S., Silvestre, R., Kirwan, J.P., Sharman, M.J., Judelson, D.A., Spiering, B.A., Vingren, J.L., Maresh, C.M., Vanheest, J.L. and Kraemer, W.J.,** 2006. Effects of chromium supplementation on glycogen synthesis after high-intensity exercise, *Medicine & Science in Sports & Exercise*, **38**, 2102–9.
- Wang, H., Li, S. and Kirouac, G.J.,** 2017. Role of the orexin (hypocretin) system in contextual fear conditioning in rats, *Behavioural Brain Research*, **316**, 47–53.
- Wardzala, L.J. and Jeanrenaud, B.,** 1981. Potential mechanism of insulin action on glucose transport in the isolated rat diaphragm, *J Biol Chem.*, **253**, 4758–4762.
- Wegele, H., Muller, L. and Buchner, J.,** 2004. Hsp70 and Hsp90- a relay team for protein folding, *Rev Physiol Biochem Pharmacol*, **151**, 1-44.
- Whitley, D., Goldberg, S.P., and Jordan, W.D.,** 1999. Heat shock proteins: A review of the molecular chaperones, *Journal of vascular surgery*, **29**, 748–751.
- Williams, S.A., Blache, D, Martin, G.B., Foot, R., Blackberry, M.A. and Scaramuzzi, R.J.,** 2001. Effect of nutritional supplementation on quantities of glucose

- transporters 1 and 4 in sheep granulosa and theca cells, *Reproduction*, **122**, 947–956.
- Won, M., Byun, H.S., Park, K.A. and Hur, G.M.**, 2016. Post-translational control of NF- κ B signaling by ubiquitination, *Archives of Pharmacal Research*, 1–10, doi:10.1007/s12272-016-0772-2.
- Wu, D., Zhang, M., Lu, Y., Tang, S., Kemper, N., Hartung J. and Bao, E.**, 2016a. Aspirin-induced heat stress resistance in chicken myocardial cells can be suppressed by BAPTA-AM in vitro, *Cell Stress and Chaperones*, **9**, 1–11.
- Wu, D., Zhang, M., Xu, J., Song, E., Lv, Y., Tang, S., Zhang, X., Kemper, N., Hartung, J. and Bao, E.**, 2016b. In vitro evaluation of aspirin-induced HspB1 against heat stress damage in chicken myocardial cells, *Cell Stress and Chaperones*, **21**, 405–413.
- Yardibi, H. and Türkay, G.**, 2008. The Effects of Vitamin E on the Antioxidant System, Egg Production, and Egg Quality in Heat Stressed Laying Hens, *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, **32**, 319-325.
- Yeşilbağ, D.**, 2008. Hayvan Beslemede Bor Elementinin Kullanımı, Uludag Univ. J. Fac. Vet. Med., **27**, 61-68.
- Zeferino, C.P., Komiya, C.M., Pelicia, V.C., Fascina, V.B., Aoyagi, M.M., Coutinho, L.L., Sartori, J. R. and Moura, A.S.A.M.T.**, 2016. Carcass and meat quality traits of chickens fed diets concurrently supplemented with vitamins C and E under constant heat stress, *Animal*, **10**, 163–171.
- Zhan, T., Digel, M., Kuch, E.M., Stremmel, W. and Fullekrug J.**, 2011. Silybin and dehydrosilybin decrease glucose uptake by inhibiting GLUT proteins, *J Cell Biochem*, **112**, 849–59.
- Zhang, Niu C.W., Wang Z., Wang X. and Xia G.**, 2012. The Effect of Gonadotropin on Glucose Transport and Apoptosis in Rat Ovary, *Plos One*, **7**, 1–8.

- Zhang, X., Qian, Z., Zhu, H., Tang, S., Wu, D., Zhang, M., Kemper, N., Hartung, J. and Bao, E.,** 2016. HSP90 gene expression induced by aspirin is associated with damage remission in a chicken myocardial cell culture exposed to heat stress, *British Poultry Science*, **57**, 1–12.
- Zhao, F.Q. and Keating, A.F.,** 2007. Functional Properties and Genomics of Glucose Transporters, *Curr Genomics*, **8**, 113–128.
- Zhao, F.-Q., Glimm, D.R., and Kennelly, J.J.,** 1993. Distribution of mammalian facultative glucose transporter messenger RNA in bovine tissues, *Int. J. Biochem.*, **25**, 1897–1903.
- Zhou, J., Bievre, M. and Bondy, C.A.,** 2000. Reduced GLUT1 expression in Igf1^{-/-} null oocytes and follicles, *Growth Horm IGF Res*, **10**, 111–117.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel bilgiler

Ad / Soyad Oğuzhan ÖZDEMİR
e-Posta oguzhan23@gmail.com, oguzhanozdemir@siirt.edu.tr
Yazışma Adresi Siirt Üniversitesi Kezer Yerleşkesi Bilim ve Teknoloji Uygulama Merkezi
56100 Siirt / Türkiye
Çalıştığı Kurum Siirt Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi
Görevi Uzman (Akademik) 2014– Devam Ediyor
Doğum tarihi 1988 *Medeni Hali* Evli
Telefon 0484 212 1111 / 3460
Yabancı Dil İngilizce

EĞİTİM BİLGİLERİ ÜNİVERSİTE

Lisans

Üniversite Fırat Üniversitesi / Fen Fakültesi
Bölümü Biyoloji
Mezuniyet Tarihi 06.07.2010
Not Ortalaması 4'lük sistem: 2.72 100'lük sistem: 70.13

Yüksek Lisans

Üniversite Fırat Üniversitesi / Fen Fakültesi / Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı Biyoloji
Mezuniyet Tarihi 15.08.2012
*Yüksek Lisans
Semineri* RNA İnterferans Mekanizmasının İşleyişi ve siRNA'nın Tedavide Kullanımı.

Tez Konusu: Deneysel Diyabetik Ratlarda Resveratrolün Böbrek Dokusunda OAT-1,OAT-3, OKT-1,OKT-2 Proteinleri'nin Ekspresyonu üzerine etkisi

Tez Danışmanı: Yrd. Doç.Dr. Mehmet TUZCU

Doktora

Üniversite Fırat Üniversitesi / Fen Fakültesi / Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı Biyoloji *Bilim Dalı* Moleküler Biyoloji
Mezuniyet Tarihi Kasım-2017
Doktora Semineri Kanser Nanoteknolojisi
Tez Konusu: Yumurta Tavuklarında Rasyona İlave Edilen Farklı Organik Krom Formlarının Ovaryum Glukoz Taşıyıcıları ve Isı Şok Proteinleri Üzerine Etkileri
Tez Danışmanları: Yrd.Doç.Dr. Mehmet TUZCU *Tez 2.Danışmanı* Prof.Dr. Kazim ŞAHİN

ULUSLARARASI HAKEMLİ DERGİLERDEKİ (SCI & SSCI) YAYINLAR

1. **Ozdemir, O.**, Tuzcu, M., Sahin, N., Orhan, C., Tuzcu, Z. and Sahin, K., 2017. Organic chromium modifies the expression of orexin and glucose transporters of ovarian in heat-stressed laying hens, *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*, **63**, 93–98. doi: 10.14715/cmb/2017.63.10.15.
2. Sahin, K., Orhan, C., Tuzcu, M., Sahin, N., **Ozdemir, O.** and Juturu, V., 2017. Ingested capsaicinoids can prevent low-fat–highcarbohydrate diet and high-fat diet-induced obesity by regulating the NADPH oxidase and Nrf2 pathways, *Journal of Inflammation Research*, **10**, 161—168.
3. Sahin, K., Pala, R., Tuzcu, M., **Ozdemir, O.**, Orhan, C., Sahin, N. and Juturu, V., 2016. Curcumin prevents muscle damage by regulating NF-kB and Nrf2 pathways and improves performance: an in vivo model, *Journal of Inflammation Research*, **9**, 147–154.
4. Durmus, A.S., Tuzcu, M., **Ozdemir, O.**, Orhan, C., Sahin, N., Ozercan, I.H., Komorowski, J.R., Ali, S. and Kazim Sahin, 2016. Arginine Silicate Inositol Complex Accelerates Cutaneous Wound Healing, *Biological Trace Element Research*.

ULUSAL HAKEMLİ DERGİLERDEKİ YAYINLAR

1. **Ozdemir, O.** and Tuzcu Z., 2015. Resveratrol attenuates diabetic nephropathy by modulating organic transporters and heat shock proteins in streptozotocin-induced diabetic rats, *Türk Doğa ve Fen Dergisi*, **4**, 36–43.

ULUSLARARASI KONGRELERDE SUNULAN SÖZLÜ BİLDİRİLER

1. Juturu V., Sahin K., Pala R., Tuzcu M., Sahin N., **Ozdemir O.** and Jayant D., 2015. Antioxidant Properties and Safety Evaluation of Curcumin (CurcuWINTM), Experimental Biology 2015, March 28 – April 01, Boston, USA.
2. Juturu, V., Sahin, K., Pala, R., Tuzcu, M., Sahin, N., **Ozdemir, O.** and Jayant D., 2015. Curcumin (CurcuWINTM) Improves Antioxidant Capacity and Reduces Inflammation Following Downhill Running-Induced Muscle Damage, Experimental Biology 2015, March 28 – April 01, Boston, USA.
3. Juturu, V., Şahin, K., Şahin, N., Pala, R., Tuzcu, M., **Ozdemir, O.**, Ghanam, K. and Jayant D., 2015. Mesozeaxanthin protects liver health and reduces risk factors in

insulin resistance induced by high-fat diet in rodents, IDF World Diabetes Congress, November 30–December 4, Vancouver, Canada.

4. Sahin, K., Orhan, C., Tuzcu, M., Sahin, N., **Ozdemir, O.**, and Juturu, V., 2016. Ingested Capsaicinoids Can Prevent Low-Fat/High-Carbohydrate diet and High-Fat Diet-Induced Obesity by Regulating the Expression of Genes for Metabolism, Experimental Biology, April 2–6, San Diego USA, The FASEB Journal, 30(1), 428-7.
5. Akkemik, E., **Ozdemir, O.**, Baykara, H., Kalelioglu, G., Tektas, O. and Alim, Z., 2016. Investigation of the Effect of the Natural and Synthetic Phenolic Compounds on Glutathione Reductase Enzyme Activity under *in vitro* Conditions, International Conference On Advances In Natural And Applied Sciences, April 21-23, Antalya, Turkey.
6. **Ozdemir, O.**, Tuzcu, M., Sahin, N., Tuzcu, Z. and Sahin K., 2016. The Effects of Dietary Supplementation of Different Organic Chromium forms on Glucose Transporters and Heat Shock Proteins in the Ovary of Laying Hens, 4th International Bahçeşehir University (BAU) Drug Design Congress, October, 13-15, İstanbul, Turkey.
7. **Ozdemir, O.**, Tuzcu, M., Sahin, N., Orhan, C., Tuzcu, Z. and Sahin, K., 2017. Organic chromium forms modifies the expression of orexin and its related receptors and glucose transporters in heat stressed hens, 9th International Congress on Nutrition & Health, February 20-21, Berlin, Germany.

ULUSLARARASI KONGRELERDE SUNULAN SÖZLÜ POSTERLER

1. Juturu, V., Sahin, K., Pala, R., Tuzcu, M., Sahin, N. and **Ozdemir, O.**, 2016. Beta-cryptoxanthin (BCX) improves lung function and reduces stress induced inflammation: *In vivo* model, 20th International Conference of FFC, September, 22-23, Boston, USA.

ULUSAL KONGRELERDE SUNULAN SÖZLÜ BİLDİRİLER

1. **Ozdemir, O.**, Gurel, A., Tuzcu M., Dogukan A., Aygen, B., Ulu, R. and Sahin, K., 2013. Effects of resveratrol on oxidative stress and on organic anion and cation transporters in kidneys of streptozotocin-induced Diabetic rats, 15th National Meeting of the Turkish Society of Hypertension and Renal Diseases, April 14-18 Maxx Royal Hotel & Convention Center Belek, Antalya, Turkey.

2. Şahin, K., Orhan, C., Tuzcu, M., **Özdemir, O.**, Demirdag, A., Sahin, N., 2014. Etlik Piliçlerde Krom İçeren Yeni Bir Mineral Premiksinin (KROM-MIX) Moleküler Mekanizmasının Araştırılması, Ulusal Kümes Hayvanları Kongresi 2014 (uluslararası katılımı), 9-11 Ekim, Akgün Hotel, Elazığ, Türkiye

ULUSAL KONGRELERDE SUNULAN POSTER BİLDİRİLER

1. Akkemik, E., Kalelioğlu, G., Baykara, H., Tektaş, O., **Özdemir, O.** ve Alım, Z., 2015. Doğal Fenolik Bileşiklerle Sentetik Fenolik Bileşiklerin Tioredoksin Redüktaz Enzim Aktivitesi Üzerindeki Etkilerinin in vitro Şartlarda Karşılaştırılması, 18. Ulusal Biyoteknoloji Kongresi, 18-19 Aralık, Konya, Türkiye.

Katıldığı/Görev Aldığı Bilimsel Etkinlikler / WorkShops

1. 5th International Congress on Nutrition and Cancer 2012 Elazığ/Turkey attended certificate, Akgun Hotel, Elazig, Turkey.
2. Ulusal Kümes Hayvanları Kongresi 2014, 9-11 Ekim, Bilimsel Sekreteryası, Akgün Hotel, Elazığ, Türkiye.
3. Ulusal Kümes Hayvanları Kongresi 2014, 9-11 Ekim, Katılım Sertifikası, Akgün Hotel, Elazığ, Türkiye.
4. İUGEN13.Uluslararası Katılımlı Moleküler Biyoloji ve Genetik Öğrenci Kış Okulu, Katılım sertifikası, 4-6 Mart, İstanbul Üniversitesi.
5. III. Uygulamalı Moleküler Biyoloji Teknikleri Lisansüstü Yaz Okulu, 2016, 19-22 Mayıs, Workshop Katılım Sertifikası, DAYTAM, Atatürk Üniversitesi, Erzurum.
6. 4th International Bahçeşehir University (BAU) Drug Design Congress,2016, October, 13-15, attended certificate, İstanbul, Turkey.

Projeler

1. FF.12.07. Nolu FÜBAP Projesi, Araştırmacı, Deneysel Diyabetik Ratlarda Resveratrolün Böbrek Dokusunda OAT-1, OAT-3, OKT-1, OKT-2 Proteinlerinin Ekspresyonu Üzerine Etkisi (2010-2012).
2. KOSGEB Projesi, Kümes Hayvanları için Yeni Bir Mineral Premiksi: Krom-Mix, Ar-Ge ve İnovasyon Programı Projesi, Bursiyer, Ocak–Kasım, 2013.

3. TÜBİTAK 1130622 Nolu Proje-İnsan Ovaryum kanseri için preklinik bir model olan yumurta tavuklarında rasyona katılan kurkuminin moleküler mekanizması, Bursiyer (Doktora), (Ocak 2014-Ocak 2015).
4. TÜBA Projesi, Arjinin Silikat İnositol Kompleksinin Yara İyileşmesi Üzerine Etkileri, Araştırmacı, (06.04.2014-05.10.2015).
5. SİÜLAB 999 No'lu Proje, BAP Projesi, Siirt Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi Gıda Analiz Laboratuvarının Alt Yapısının Geliştirilmesi, Altyapı projesi (2016-2017).
6. Kalkınma Bakanlığı (DİKA), Bal Analiz Laboratuvarının Altyapısının Güçlendirilmesi ve Bal Üreticiler Ağının Sektörel Kapasitesinin Geliştirilmesi, Araştırmacı, (2016-Devam Ediyor)

Eğitim Sertifikalar

1. Deneysel Hayvan Kullanım Sertifikası, , T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı,9-20 Nisan 2012.
2. Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific, Piko Real) Certificate, VWR, 7–9 March, 2016.
3. Multiskan Go Microplate Spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific),VWR ,7–9 March, 2016.
4. UV-VIS Spektrofotometre(Thermo Fisher Scientific Evolution 201), Redoks Lab, 17-18 Şubat, 2015.
5. IC iyon kromatografi (Dionex, IC 5000⁺), Redoks Lab, 13-15 Ocak, 2015.
6. HPLC (Dionex ultimate 3000), Redoks Lab, 14-16 Ocak, 2015.
7. Elementel Analiz cihazı, (Thermo Scientific), Redoks Lab, 09-13 Şubat, 2015.
8. Nicolet IS 10 Spektrofotometre, (Thermo Scientific), Redoks Lab, 19 şubat , 2015.
9. IR-MS (İzotop Oranı-Kütle Spektrometresi), (Delta V Advantage, Thermo Scientific) Redoks Lab, 03-05 Ekim, 2015.
10. GC-MS (Gaz kromatografi-Kütle Spektrometresi), (Trace 1310–ISQ LT, Thermo Scientific), Redoks Lab, 09-13 Şubat, 2015.
11. LC-MS/MS (Sıvı Kromatografi-Kütle Spektrometresi), (TSQ Quantum Access Max, Thermo Scientific) Redoks Lab, 01-03 Ekim, 2015.

12. GC-FID (Gas Chromatography- Flame Ionization Detector), (Trace 1310, Thermo Scientific), Redoks Lab, 09-13 Şubat, 2015.

Bilgisayar beceri ve yeterlilikleri

1. Microsoft Office, Excel, Word, PowerPoint,
2. Photoshop Cs6, Corel Draw.
3. Graphpad, SPSS V22.,,
4. Image J Band Calculate Programme,

