

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BEDEN EĞİTİMİ VE SPOR ANABİLİM DALI



**EGZERSİZ UYGULANAN RATLARDA KROM
PİKOLİNAT TAKVİYESİNİN GLUKOZ VE LİPİD
METABOLİZMASI ÜZERİNE ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Mehmet Akif SARI

ELAZIĞ - 2017

ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Mustafa KAPLAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Yüksek Lisans Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.



Prof. Dr. Cengiz ARSLAN

Beden Eğitim ve Spor Anabilim Dalı Başkanı

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

Doç. Dr. Ragıp PALA



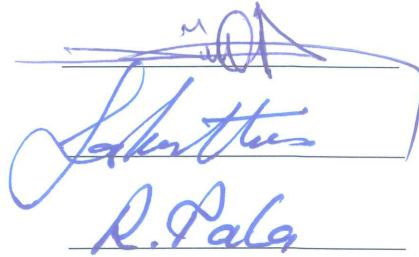
Danışman

Yüksek Lisans Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr Vedat ÇINAR

Doç. Dr Serkan HAZAR

Doç. Dr. Ragıp PALA



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmalarımın ders ve tez dönemindeki yardımlarından dolayı danışman hocalarım Doç. Dr. Ragıp PALA ve Prof. Dr. Kazım ŞAHİN' e teşekkür ederim. Çalışmanın her aşamasında yol gösteren ve bilgilerini paylaşan Prof. Dr. Vedat ÇINAR, Prof. Dr. Nurhan ŞAHİN, Yrd. Doç. Dr. Mehmet TUZCU, Doç. Dr. Cemal ORHAN ve Beşir ER' e projemizi destekleyen Fırat Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimine (FÜBAP-BSY.14.04) bu vesileyle sevgisiyle ve desteğiyle hep yanımda olan aileme en derin sevgi ve şükranlarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	I
ONAY SAYFASI	II
TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER	IV
TABLolar LİSTESİ	VI
ŞEKİLLER LİSTESİ	VII
KISALTMALAR LİSTESİ	VIII
1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	2
3. GİRİŞ	3
3.1. Krom pikolinat	4
3.2. Oksidatif Stres	5
3.3. Oksidatif Stres ve Egzersiz	6
3.4. Serbest Radikaller	7
3.5. Serbest Radikallerin Zararları	8
3.6. Serbest Radikallerin Oluşumu	9
3.7. Serbest Radikaller ve Egzersiz	11
3.8. Antioksidan Savunma Sistemleri	11
3.9. Antioksidanlar ve egzersiz	12
3.10. Oksidatif stres parametresi	12
3.10.1. Melondihaldehit	12
3.11. Glukoz ve lipid parametreleri	13
3.11.1. Glukoz	13
3.11.2. İnsülin	14
3.11.3. Kolesterol	15
3.11.4. Trigliserid	15
3.12. Glukoz Taşıyıcıları	16
3.12.1. GLUT-2	17
3.12.2. GLUT-4	17
3.13. Tez Çalışmasının Amacı	18

4. GEREÇ VE YÖNTEM	19
4.1. Hayvan Materyali ve Araştırma Grupları	19
4.2. Araştırma Grupları	20
4.3. Örneklerin Alınması	21
4.4. Serum Biyokimya Analizleri	21
4.5. Malondialdehit (MDA) Analizi	21
4.6. Real Time PCR Aşaması	23
4.6.1. Doku Parçalama	23
4.6.2. RNA İzolasyonu	23
4.6.3. cDNA Sentezi	24
4.6.4. Real Time PCR İşlemi	24
4.7. İstatistiksel Analizler	25
5. BULGULAR	26
6. TARTIŞMA VE SONUÇ	32
7. KAYNAKLAR	38
8. EKLER	47
9. ÖZGEÇMİŞ	48

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Krom pikolinatın glukoz ve lipid parametreleri üzerine etkisi	29
Tablo 2. Egzersiz uygulanan ratlarda krom pikolinatın oksidatif stres üzerine etkisi	30



ŞEKİLLER LİSTESİ

- Şekil 1.** Egzersiz uygulanan ratlarda krom pikolinatın karaciğer GLUT-2 ekspresyonu üzerine etkisi. 31
- Şekil 2.** Egzersiz uygulanan ratlarda krom pikolinatın kas GLUT-4 ekspresyonu üzerine etkisi. 31



KISALTMALAR LİSTESİ

AE	: Akut Egzersiz
ATP	: Adenozintrifosfat
Cr Pic	: Krom Pikolinat
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
GLUT	: Glukoz Taşıyıcı Protein
GSHPx	: Glutatiyon Peroksidaz
GTF	: Glukoz Tolerans Faktör
HPLC	: Yüksek performans Sıvı Kromatografisi
KE	: Kronik Egzersiz
MDA	: Malondialdehit
RNA	: Ribonükleik asit
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
SOD	: Süperoksit Dismutaz
β	: Beta

1.ÖZET

Egzersiz uygulanan ratlarda, krom pikolinatın lipid peroksidasyon ve artan Glukoz ihtiyacı ve taşımında görevli Glukoz taşıyıcılarının düzeyleri üzerine etkileri, oksidatif stres ve biyokimya serum parametrelerinin değişimleri araştırılmıştır.

Araştırma materyalini, 6 grupta (Kontrol, krom pikolinat, Egzersiz, Egzersiz+krom pikolinat, Akut Egzersiz ve Akut Egzersiz+krom pikolinat) 7 adet olmak üzere toplam 42 adet 8 haftalık yaşta erkek Wistar albino ırkı rat kullanıldı. Ratlar başlangıçta 10 m/dk hızla koşmaya başlatıldı ve kontrollü artışlarla 2 haftalık alışma süresinin sonunda 30 m/dk, %0 eğim, 30 dakika koşu protokolü uygulandı. Ratlar, diyetle krom pikolinat uygulanmaya başladıktan sonra 6 hafta boyunca haftada 5 gün olmak üzere koşu testine tabi tutuldu ve son gün akut egzersiz (ratlar yoruluncaya kadar koşu bandında koşması) protokolü uygulandı.

Veriler, IBM SPSS (versiyon 22) paket programında ANOVA prosedürü kullanılarak değerlendirildi. Gruplar arası karşılaştırmalar Tukey Post Hoc testi ile analiz edildi. Veriler grup ortalamaları ve ortalamanın standart hatası (SEM) olarak verildi. Verilerde istatistiksel önemlilik, olasılık değerleri $P<0.05$ 'den küçük olan değerler için anlamlı olarak tanımlandı.

Sonuç olarak, akut egzersizi oksidatif stresi artırırken, kronik egzersiz ise lipid peroksidasyon düzeyini düşürerek oksidatif stresi azaltmıştır. Bu etkisini de glukoz taşıyıcılarını regüle ederek göstermiştir. Ayrıca, ratlarda krom pikolinat tüketiminin GLUT-2 ve GLUT-4 düzeylerini arttırarak etkisini göstermiştir. Bu arada kronik egzersiz ve krom pikolinat da sinerjik bir etki göstererek oksidatif stresi azalttığı tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Egzersiz, krom pikolinat, Oksidatif Stres, Glukoz Taşıyıcıları.

2. ABSTRACT

THE EFFECTS OF CHROMIUM PICOLINATE ON GLUCOSE AND LIPID METABOLISM IN RUNNING RATS

Chromium picolinate and its effects on the level of lipid peroxidation increased need and responsible for glucose transport, changes in oxidative stress and serum biochemical parameters were investigated in exercise applied rats.

In this study, 6 groups (Control group, Chromium picolinate, Exercise, Exercise + Chromium picolinate, Acute Exercise and Acute Exercise + Chromium picolinate) 7 including a total of 42 8-week-old male Wistar albino rats have been used. Rats were initially started to run 10 m / min. At the end of 2-weeks run period, 30 m / min, 0% grade, 30 minutes of jogging protocol has been applied with a controlled rise. After using Chromium picolinate dietary, rats were subjected to a 5 days per week for 6 weeks of exercise and the last day of exercise protocol (rats running in the treadmill until exhaustion) was applied.

Data was assessed using ANOVA procedure on the package of IBM SPSS (version 22). Comparisons between groups were analyzed by the Tukey post hoc test. Data group average and standard error of mean (SEM) were calculated. For statistical significance, the probability values have been identified as significant for values that are less than $P < 0,05$.

Consequently, acute exercise increases oxidative stress, and reduced oxidative stress and chronic exercise reduces the level of lipid peroxidation. This effect shows glucose carrying regularly. In addition, Chromium picolinate consumption in rats showed the effect of increasing the level of GLUT-2 and GLUT-4. Meanwhile chronic exercise and Chromium picolinate showed a synergistic effect has been found to reduce oxidative stress.

Keywords: Exercise, Chromium picolinate, Oxidative Stress, Glucose Transporters.

3. GİRİŞ

Egzersiz, enerji elde etmek için yağ dokunun harcanmasında etkin rol oynayıp aynı zamanda kilo kaybı sırasında kas dokunun aşırı kaybına engel olur (1). Ballor ve Keesey yaptıkları çalışmada, fiziksel aktivite açısından durağan insanlarda aerobik egzersizin vücut kütlesi ile yakından ilişkili olduğu, ağırlık kaybının yapılan egzersizin sıklığı ile vücuttaki yağ kütlesi arasında pozitif bir korelasyon olduğunu bildirilmiştir (2). Bir başka çalışmada ise, egzersizin enerjisi azaltılmış ve düşük seviyede yağ içeren diyetle birlikte enerji harcamasının, vücut ağırlığını ve yağ doku kaybını artırdığını gösterilmiştir (3). Yağ dokudaki kaybı arttırmak için egzersiz programının minimum 8 hafta süreyle devam etmesi gerekir. Yağ dokudaki kaybın kalıcı olması için de egzersiz yaşam boyu sürdürülmelidir (4). Egzersiz sırasında, kasların artan enerji ihtiyacını gidermek için glukoz üretimi artar (5). Egzersizin şiddeti arttıkça, karbonhidratlar temel enerji kaynağı olmaya başlamaktadır, kaslar daha etkili enerji olan glikojene yönelmektedir. Egzersizin şiddeti daha da arttıkça, enerji sadece karbonhidratları kullanarak anaerobik olarak üretilir (6). Glukoz konsantrasyonu kasların glukoz kullanımının ve karaciğerdeki glukoz yapımının bir göstergesidir (7). Krom; karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasında rol oynayan, büyüme ve normal metabolizma için gerekli olan esansiyel bir mineraldir. Kan glukoz ve kolesterol düzeylerini normal seviyede tutulmasına yardımcı olur (8,9). Protein sentezini hızlandırır ve metabolizmayı düzenler. Krom, insülin hormonuyla vücutta karbonhidrat metabolizmasını ve glukoz dengesini düzenleyen ve Glukoz Tolerans Faktör (GTF) olarak adlandırılan kompleksin bir unsurudur (10,9). İnorganik krom, GTF’de yer almaz, aynı zamanda kromun bazı organik formları da GTF’de aktif değildir. Krom

insülinin aktivasyonunu daha da etkinleştirir ve yağın kan dolaşımından atılmasında vücudun yeteneğini artırır. Krom, kas büyümesini geliştirip obezite gelişimini inhibe ederek vücudun doğal ağırlık düzenleme mekanizmasında önemli bir rol oynar (11,12). Yapılan çalışmalar, kromun hücrelerdeki insülin reseptörlerini uyararak hücrelerin kandaki glukozu hücre membranı içine alarak enerjiye dönüştürmesini sağlamada etkin olduğunu göstermektedir (13). Stres, yetersiz ve dengesiz beslenme krom kaybına sebep olan şiddetli fiziksel aktiviteler krom eksikliğinin en belirgin nedenleri arasındadır. Araştırmalar, günde 400 mcg'ye kadar yapılan krom alımının kanatlılarda kas/yağ oranını ve karbonhidrat kaynaklı enerji kullanımını arttırarak, performansı arttırdığını göstermiştir. Sahin ve arkadaşları yaptığı çalışmada krom pikolinatın kanatlılarda sıcaklık stresini kortikosteron düzeyini düşürerek azatlığı tespit edilmiştir. (11). Yapılan çalışmalarda krom pikolinatın lipid peroksidasyon düzeyini düşürerek oksidatif stresi azalttığı bildirmişlerdir (11, 14, 15). Anderson ve arkadaşları Tip2 diyabetik kişiler üzerinde yaptıkları çalışmada krom takviyesinin diyabetik kişilerde antioksidan olarak etki ettiği ve oksidatif stresin zararlı etkilerini önleyeceğini bildirmişlerdir (16).

3.1. Krom pikolinat

Krom pikolinat (CrPic), krom mineralinin organik molekül olan pikolinik asitle birleşmiş halidir ve yüksek molekül stabilitesine sahiptir, vücut tarafından en iyi emilen ve de en çok deneysel çalışma yapılan kromun organik formudur. Krom takviyesinin vücut kas ve yağ oranına, karbonhidrat içerikli enerji kullanımını arttırıp önemli derecede etkiler göstereceği bilim insanları tarafından

düşünülmektedir. Krom, son zamanlarda tip 2 diyabet tedavisi için kullanılan popüler besin takviyesi haline gelmiştir (17). Krom pikolinat, sağlıklı kilolu insanlarda ve Sprague Dawley ratlarda gıda alımını azaltmıştır. CrPic insanlarda gıda alımını etkiler. Gıda alımında azalma da hastalık veya olumsuz diğer ilişki görülmemiştir (18). Krom pikolinat (CrPic) vücut kütlesinin azaltılması için tıbbi literatürde savunulmaktadır. Genel olarak kromun, insanların fazla kilolarının azaltılmasına yardımcı olduğuna inanılmaktadır. Krom pikolinatın iştahı bastırdığı, akabinde vücut ısını arttırdığı böylelikle enerji harcanmasını tetiklediği için kilo kaybına neden olabilir (19).

3.2. Oksidatif Stres

Kapsamlı savunma sistemine rağmen, reaktif oksijen türleri (ROT) üretimindeki bir artış yada antioksidanlardaki bir azalma ilerleyen hücre kaybına ve fizyolojik fonksiyon düşüşüne yol açabilir. Oksidatif kapasite antioksidan kapasitesini aştığı zaman, homeostasik denge bozulur ve redox durumu oksidasyonu hızlandırıcı bir hal alır. Bu dengesizlik oksidatif stres olarak adlandırılır (20). Jones oksidatif stresi elektron alışverişi yapan kimyasal tepkime (redox) sinyallemlerinin ve kontrolünün bozulması olarak adlandırmıştır (21). Clarkson ve arkadaşları ise Serbest oksijen radikallerin denetimsiz şekilde üretildiğinde, protein ve lipit gibi biyomoleküller oksitler, nükleik asit, DNA'nın değişmesine, protein yapının bozulmasına, enzim aktivitesinin engellenmesine ve hücre zarlarının zedelenmesine neden olur ve bu durum oksidatif stres olarak adlandırılır. (22).

3.3. Oksidatif Stres ve Egzersiz

Hücreler oksidatif stresin zararlarına karşı daha dayanıklı olabilmek için reaktif oksijen türleri (ROT) üretimine adapte olurlar (23). Bununla birlikte akut egzersizi ve kronik egzersizin etkilerinin çok farklı olduğu vurgulanmalıdır. Akut egzersizde adaptasyon sadece marjinal seviyelerde kalıyorken, düzenli fiziksel aktivite çok sayıda faydalı etkiyi beraberinde getirir ve vücut yüksek oksidan seviyelerine adapte olur. Akut egzersizin, oksidan-antioksidan iç dengesi için pek faydalı olmayabilecek; kan akışı, enerji aktarımı ve kinetik değişim gibi olayların allosterik enzim aktiviteleri aracılığıyla iyileştirilmesi için vazodilasyon seviyesini yükseltmekle alakalıdır (24). İç savunma mekanizmalarının uzun süreli uyarılması, belli seviyedeki ön oksidatif ortam seviyesini sağlayacak fizyolojik uyarımın sürekli varlığını ve antioksidan sistemlerin etkin aşırı yüklemesini gerektirmektedir (25). Egzersiz ve eğitimle vücut, egzersiz uyarımlı oksidatif strese adapte olur ve sonraki oksidatif nedenlere karşı daha dayanıklı olur. Redox duyarlı bazı gen kodlarının ve antioksidan enzim seviyelerinin üst seviyelere ayarlanması (26, 27), enzim aktivitesindeki bir artış (28, 29), protein yıkımı azalışının uyarılması (30), DNA onarım sistemindeki gelişme (31, 32), arttırılmış mitokondriyal biyogenez (26) ve kasların Isıyla Şoklanmış Protein içeriği (33, 34) gibi bir miktar değişik mekanizmalar ile elde edilir. Adaptasyonu ise çizgili kasların yaralanma sonrasında yeniden şekillendirilmesini pozitif olarak etkiler, iltihaplanmayı ve apoptozu azaltır (24,25). Aşırı ROT üretimi oksidatif strese yol açarken, makul seviyelerdeki reaktif türler; çeşitli fizyolojik süreçlerin gerçekleşmesi için gereklidir. Bu, hormesis yaklaşımıyla düşük dozun uyarıcı ve faydalı olduğu; yüksek dozun ise durdurucu ve toksik olduğu bir doz cevabı ilişkisi ile açıklanabilir (35). Mitokondrinin, artmış

ROT oluşumuna karşı adaptif cevabı; mitolondriyal hormes yada mitohormes olarak isimlendirilmiştir (36). Aktif türlerin hormetik davranışı, düzenli fiziksel aktivitenin sağlık ve performans faydalarının altında yatan mekanizmayı gösteriyor olabilir (35). Bu reaktif türlerin görevlerinden olan çizgili kas fonksiyonları içsel düzenleme görevinde görülebilir. Aslında onlar optimum kasılma faaliyeti için zorunludur. Miyosin, troponin ve sarkoplazmik retikulum içindeki proteinler gibi kas miyoflamentleri; ROT'a kas kasılmasını değiştirme yeteneğini veren redox hassasiyeti özelliğini kazandırır (37).

3.4. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, dış atomik alanlarda bir veya birden fazla çiftlenmemiş elektrona sahip enerjisi yüksek, kararsız bileşiklerdir. Bu çiftlenmemiş elektron serbest radikallere aşırı derecede reaktivlik kazandırarak lipid, DNA, protein, ve nükleotid koenzimler gibi birden fazla biyolojik materyale hasar vermelerine neden olmaktadır. Bu hasarın yaşlanmayı tetiklediği ve kalp-damar hastalıkları, katarakt, farklı kanser türleri, immün sistemde zayıflama, sinir sistemi dejeneratif sorunları gibi birden fazla hastalığa sebep olduğuna dair çalışmalar bulunmaktadır. Oksijenin insanlar için olmazsa olmaz önemine rağmen, normal metabolizma esnasında üretilen bazı reaktif oksijen türleri canlıya yüksek derecede zarar verme potansiyeline sahiptir (38). Birçoğu serbest radikallerden oluşan reaktif oksijen türleri normal oksijen molekülüyle kıyaslandığında, kimyasal tepkililiği çok daha yüksek olan oksijen formlarıdır (39). Serbest radikaller bir veya birden fazla çiftlenmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, stabil olmayan, molekül ağırlığı düşük moleküller olarak tanımlanır (40). Başka bir tanımlamayla atomik veya moleküler

yapılarda çiftlenmemiş bir veya birden fazla tek elektrona sahip moleküllere verilen addır. Diğer moleküllerle hızlı bir şekilde elektron alışverişi yapan bu moleküller oksidan moleküller yada reaktif oksijen partikülleri olarakta isimlendirilirler (41).

Çoğunlukla bir elektronunu kaybetmiş ve bir oksijen atomuna sahip moleküllerdir. Bu durum onları stabil olmayan (reaktif) bir hale getirir. DNA'ya saldırabilirler mutasyon ve kansere sebep olabilirler, fonksiyon bozukluğu, hücre hasarına yol açarlar, en önemlileri süperoksit ve hidroksil radikalidir. Birçok hastalıkla ilişkilendirilmişlerdir. Başlıcaları kanser, parkinson, Alzheimer. Yaşlanmaya sebep olduğu belirtilmiştir. Dokularda oluşan reaktif oksijen türleri (ROT) ve serbest radikaller protein, DNA, karbonhidrat ve lipidler gibi biyolojik açıdan öneme haiz materyallere zarar verebilme yeteneğine sahiptirler. Serbest radikaller dış ortamdan gelebilir ve insan metabolizmasının normal sonucu olarak da oluşabilir. Serbest radikallerin iç kaynaklı üretimi farklı yollarla gerçekleşmektedir. Buna rağmen, canlılar serbest radikallerin bilinen zararlı etkilerine karşı korunmak için birçok savunma mekanizmalarına sahiptir (42).

3.5. Serbest Radikallerin Zararları

Vücutta normal metabolizma esnasında yada farklı dış kaynaklar kanalıyla üretilen serbest radikal türleri öncelikle kanser ve kalp-damar hastalıkları olmak üzere birden fazla dejeneratif hastalığın ortaya çıkmasında önemli bir rol oynar. Hücre işleyişine zarar vermesiyle hücre içi ve dışı bileşenlere saldırabilen bu oksijen türlerinin oluşumunun ve etkinliğinin denetim altına alınması gerekmektedir. Reaktif türlerin ve tepki mekanizmalarının bilinmesi denetime alınabilmeleri açısından çok önemlidir. Zararlı reaktif türlerin yıkıcı etkileri

vücuttaki farklı savunma mekanizmaları tarafından denetim altında tutulmaktadır. Ayrıca, bahse konu içsel savunma mekanizmalarının diyetle alınacak antioksidan besin maddeleriyle de desteklenmesi gerekmektedir. Serbest radikaller etkisizleştirilmezler ise organizmada ciddi tahribata sebep olabilirler. Serbest radikaller hücre zarına saldırarak sağlıklı işleyişini bozar, zarın proteinlerini yıkarak hücre ve doku tahribatına sebep olur. Hücre zarını yararak hücre çekirdeğindeki genetik maddeye etki edip DNA'yı kırılmaya ve mutasyonlara açık hale getirir. Bağışıklık sistemine saldırarak işleyişinin aksamasına sebep olur. Serbest radikaller hücrelerin zarlarına, proteinlere, hücre yapısındaki lipitlere, nükleik asitlere ve DNA'ya zarar vermekte ve doğal olarak koroner hastalıklar, kanser, diyabet, karaciğer tahribatı, katarakt gibi çeşitli hastalıklara yol açmaktadır (43).

3.6. Serbest Radikallerin Oluşumu

İnsan vücudundaki elektronlar çiftler halinde bulunurlar ve kararlıdırlar. Birbirlerinin tersi yönde hareket ederler. Birlikteliklerini sürdürdükleri bağlar koptuğunda birlikte bir atoma katılırlarsa iyon oluştururlar, farklı farklı atomlara katılırlar ise serbest radikalleri oluştururlar. Tekrar kararlı hale gelebilmek için diğer çift elektronları birbirinden ayırarak reaksiyonu durdururlar. Bu elektron alışverişi yüksek enerji ortaya çıkarır bu hücre için enerji kaynağıdır fakat bu süreç kontrolden çıkıp tamamıyla kararsız bir hal alırsa hücre hasarına sebep olurlar. Canlılarda; hücrelerdeki oksijen metabolizması sırasında, olumsuz çevre koşulları, tedavi yöntemleri, ağır metallerle dolu sular, radyasyon, yiyecek ve içeceklerimizdeki kimyasal atıklar oksijen türevi serbest radikallerin oluşmasına

sebepler olurlar. Çiftleşmemiş elektronlar serbest radikallere yüksek reaktivlik kazandırarak nükleotid koenzimler, lipid, protein ve DNA gibi birçok biyolojik materyale zarar vermelerine neden olmaktadır. Bu zararın yaşlanmayı teşvik ettiği ve kalp-damar hastalıkları, katarakt, çeşitli kanser türleri, immün sisteminde zayıflama, sinir sistemi dejeneratif hastalıkları gibi birden fazla hastalığa sebep olduğuna dair çalışmalar bulunmaktadır (38). Radikal türlerinin oluşumu hücre içi ya da hücre dışıdır. Serbest radikal oluşumuna sigara, herbisit ve pestisitler, çözücüler, ilaçlar, petrokimya ürünleri, güneş ışınları, X-ışınları, hatta yiyeceklerde bulunan bazı bileşik maddeler neden olur. Ayrıca egzersizlerde oksijen tüketiminin artması da serbest radikal oluşumuna neden olur. Canlı hücrelerdeki oksijen metabolizması, pestisitler, farklı tıbbi tedavi yolları, çevre kirleticileri, radyasyon ve kontamine sular gibi birden fazla etken doğrudan oksijen türevi serbest radikallerin oluşumuna sebep olmaktadır. Bu oksijen türevi serbest radikaller; süperoksit anyonu, tekli oksijen, peroksi, hidroksi ve alkoksi radikalleridir (44). Serbest radikaller ve diğer reaktif oksijen türleri insan vücudunda normal esansiyel ve metabolik süreçlerden ya da X-ışınları, ozon, sigara, hava kirletici ve endüstriyel kimyasallara maruz kalma gibi dış kaynaklardan da üretilir. Serbest radikal oluşumu sürekli olarak enzimatik ve enzimatik olmayan reaksiyonların her ikisinin bir sonucu olarak oluşur. Serbest radikallerin bazılarının dahili olarak üretildikleri kaynaklar, mitokondri, ksantin oksidaz, peroksizomlar, enflamasyon, fagositoz, arakidonat yolları, egzersiz ve iskemi / reperfüzyon. Serbest radikallerin bazılarının dışarıdan üretildikleri kaynaklar ise sigara dumanı, çevresel kirleticiler, radyasyon, bazı ilaçlar, pestisitler, endüstriyel çözücüler ve ozon (45).

3.7. Serbest Radikaller ve Egzersiz

Yoğun egzersiz oksijen tüketimini arttırır ve artan ROT üretiminin bir sonucu olarak oksidatif stres yaratmadan, ROT ve antioksidanlar arasında bir dengesizlik üretebilir (46). Yüksek yoğunluklu tüm vücut direnci egzersizleri serbest radikallerin oluşmasına neden olabilir. E vitamini egzersiz ile birlikte kas membran bozulması miktarını azaltmada etkilidir (47). Egzersiz ve oksidatif stres arasındaki ilişki son derece karmaşıktır. Egzersiz modu, yoğunluk ve süreye bağlı olarak değişir. Düzenli orta düzeyde şiddete dayalı egzersiz, oksidatif stres ve insan sağlığı için faydalıdır. Bunun aksine, akut egzersiz oksidatif strese sebep olur (48). Serbest radikaller çok önemli fizyolojik işlevler için düşük konsantrasyonlarda gerekmektedir. Ancak, şiddetli egzersiz sırasında serbest radikallerde yoğun bir artış ile hücre zarlarına zarar verebilir ve iskelet kas performansı üzerinde zararlı etkilere sahip olurlar (49).

3.8. Antioksidan Savunma Sistemleri

Antioksidanlar işleyişlerine göre, ikiye ayrılmaktadır. Birincil ve ikincil antioksidanlar. Birincil antioksidanlar; var olan radikallerle tepkimeye girerek daha zararlı bileşiklere dönüşmelerini önleyen ve yeni serbest radikal oluşumunu engelleyen bileşiklerdir. Birincil antioksidan kategorisinde yer alan glutatyon peroksidaz (GSHPx) süperoksit dismutaz (SOD), ve katalaz gibi enzim sistemleri serbest radikalleri yok etme yeteneğindedir. Bu enzimler serbest radikallerin DNA, proteinler ve lipitler gibi hücresel düzeydeki bileşenlere zarar vermesini bastırmakta ve hücresel bölgeler arasında yer değiştirmesini engelleyebilmektedirler (38). İkincil antioksidanlar ise; oksijen radikallerini

yakalayan ve radikal zincir reaksiyonlarını kıran E vitamini, C vitamini, bilirubin ürik asit ve polifenoller gibi bileşiklerdir (50). Serbest radikallerin sonucu oksidasyonları engelleyen, serbest radikalleri yakalama ve kararlı hale getirme yeteneğine sahip maddelere “antioksidan” adı verilir (51). Reaktif oksijen türlerinin yıkıcı etkilerine rağmen vücuttaki doğal savunma sistemleri serbest radikalleri denetim altında tutmaktadır. Bu savunma sistemleri farklı hücrelerde ve farklı serbest radikaller üzerinde etkin oldukları için birbirlerini tamamlayıcı özelliktedir (38).

3.9. Antioksidanlar ve egzersiz

Normal şiddette egzersizin antioksidan savunma aktivitesi üzerinde daha etkili olduğu, fakat; yüksek şiddette antrenmanlı hayvanlarda oksidan/antioksidan sistemler arasındaki dengenin daha etkili düzenlendiği (52). Antioksidan takviyesi ile egzersiz yaptırılan radlarda oksidatif stresi baskıladığını ve kronik egzersizlerin oksidatif stresi baskıladığını (53). Antioksidan takviyesi ile egzersiz yaptırılan radlarda kronik egzersizin oksidatif stresi düşürdüğünü ve antioksidan takviyesinin oksidatif stresi baskıladığını (54). Kronik egzersizin oksidatif stres parametresinde düşmeye sebep olduğu, akut egzersizin oksidatif stresi artırdığını ve antioksidan takviyesinin ise oksidatif stresi azalttığını belirtmiştir (55).

3.10. Oksidatif stres parametresi

3.10.1. Melondihaldehit

Reaktif oksijen türleri, çoklu doymamış lipidleri parçalayıp malondialdehit oluştururlar. Bu bileşik bir reaktif aldehittir ve hücrelerde toksik strese neden olan

ve ilerlemiş glikasyon son ürünlerine benzer şekilde ilerlemiş lipoksidasyon son ürünleri olarak adlandırılan kovalent protein adüktleri oluşturan birçok reaktif elektrofil türünden biridir. Bu aldehitin üretimi, bir organizmadaki oksidatif stres düzeyini ölçmek için bir biyolojik belirteç olarak kullanılır (56). Serbest radikal aracılı doku hasarının önemli göstergelerinden biridir. Protein, RNA ve DNA'ya kovalent bağlama dahil olmak üzere çeşitli kimyasal ve biyolojik reaksiyonlara katılır. Hücre içi oksidatif stres sırasında MDA'nın endojen formasyonu ve biyolojik açıdan önemli makro moleküllerle reaksiyonu, DNA hasarının uygun bir biyogöstergesi haline getirir. Malondialdehit, lipid peroksidasyonunun en yaygın olarak kullanılan belirteçidir (57). MDA, üretilen düşük molekül ağırlıklı aldehittir. Malondialdehidin belirlenmesi, biyolojik materyallerde lipid peroksidasyonunu değerlendirmenin kolay bir yolunu sunduğu için yaygın bir ilgi çekmiştir. Malondialdehit, biyolojik materyallerde serbest halde ve çeşitli kovalent bağlı formlarda oluşur. (58). Dolayısıyla lipid peroksidasyonunun ürünleri, oksidatif stres biyolojik belirteçleri olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. Lipit peroksidasyonu, nispeten kararlı ayrışım ucu, malondialdehit (MDA) ve ürün, temel olarak α , β -doymamış reaktif aldehitlerdir (59).

3.11. Glukoz ve lipid parametreleri

3.11.1. Glukoz

Glukoz bir karbonhidrattır ve insan metabolizmasındaki basit şekere verilen addır ve ya basit bir şeker yada monosakkarit olarak adlandırılır. Sınıfının en küçük birimlendendir. Örneğin mısır şurubu bir glikozdur. Bitkiler ve hayvanlar da enerji için kullanılan en temel moleküldür. İnsan ve hayvanların kanında bitkilerin

ise sularında bulunur ve insanlarda kan şekeri olarak adlandırılır. Kandaki glikozun normal konsantrasyonu % 0.1 kadardır bu değer diyabetli insanlarda çok yüksek olur. glukoz enerjisi oksidasyon ile elde edilir. Karaciğer ve kaslarda glikojen olarak depolanır. İhtiyaç halinde tekrar glikoza dönüştürülür. Tüm hücrelerde glikozun parçalanmasındaki ilk adım, glikolizdir ve hücresel solunumdaki diğer tüm süreçlerin başlangıç noktası olan piruvat üretmektedir. Glukoz oksidasyonu ile elde edilen enerjinin kullanımının büyük bir kısmı, Adenozin difosfat (ADP) 'ın Adenozin trifosfat (ATP) 'ye dönüştürülmesidir ve enerji bakımından zengin molekül ATP daha sonra Hücrenin enerji birimi olarak kullanılır. Metabolizma esnasında vücutta oksitlenmeye başlar ve bazı azot bileşikleri ile su ve Glukoz karbondioksit üretir ve yine bu metabolizma sırasında hücreler tarafından kullanılacak enerjiyi sağlar (60).

3.11.2. İnsülin

İnsülin, en güçlü anabolik hormon olarak bilinir. Dokuların büyümesi gelişimi ve vücuttaki tüm glukoz homeostazının düzenlenmesi için elzemdir. İnsülin, beslenmeden sonra kan dolaşımında artmış glukoz ve amino asitler seviyesini düzenlemek için Langerhans pankreatik adacıklarının β hücreleri tarafından salgılanır. İnsülin, hepatik glukoz üretimini azaltır, düşük glikoneogenez ve glikojenoliz yoluyla ve öncelikli olarak çizgili kas ve yağ dokusuna glukoz alımını artırır. İnsülin aynı zamanda lipid metabolizmasını da etkiler, karaciğer ve yağ hücrelerinde lipid sentezini artırır ve trigliseridlerden yağ ve kas yağ asidi salımını zayıflatır. İnsülin direnci hormonun normal dolaşımdaki konsantrasyonları bu işlemleri uygun bir şekilde düzenlemek için yetersiz olduğunda oluşur. İnsülinin çeşitli biyolojik tepkilerinde yer alan sinyal mekanizmaları biraz zor olmaya devam

etmektedir ancak son gelişmeler, glukoz ve lipid metabolizmasının düzenlenmesi için kritik olan birkaç yol üzerine ışık tutmaktadır. İnsülin; hücresel büyüme, farklılaşma, apoptoz, lipid, protein, glukoz sentezi ve parçalanması gibi çok çeşitli işlemleri etkilemekle birlikte, glukoz taşınımının kullanımındaki ve depolamadaki hız sınırlayıcı adım olarak betimlenir. (61).

3.11.3. Kolesterol

Kolesterol, hayvan hücresi zarlarının yapısal bir bileşeni olarak önemli bir rol oynayan, biyoloji, tıp ve kimyada büyük önemi olan, doğada yaygın olarak bulunan bir steroiddir. Kolesterol fizyolojik ilgisine göre, kan seviyesinde dengesiz bir şekilde olduğunda ciddi insan hastalıklarına sebep olmaktadır. Damarlarda birikerek damarların sertleşmesine sebep olur. Bazen ise safra pigmentleriyle birleşerek safrada taş oluşumuna sebep olur. Vücut, kolesterolü kullanarak kortizol, üreme hormonları, safra asitlerini üretir. Yağda eriyen vitaminler (A,D, E ve K) için gereklidir. Kolesterol hücre membranlarının inşası ve bakımı için gereklidir. Kolesterol, doğal bolluk nedeniyle değil, aynı zamanda mikrobiyal parçalanmaya karşı yüksek dayanıklılığından dolayı biyosferde sıklıkla bulunur. Ayrıca, kolesterol lanolin ana bileşenidir. Kolesterol aynı zamanda biyoteknolojik araçlar olarak potansiyel kullanımı olan metabolik mühendislik ile yeni organizmalar geliştirmek için de yararlı olabilir (62).

3.11.4. Trigliserid

Bitkisel ve hayvansal yağların ana bileşenidir. Trigliseritler metabolizmada enerji kaynağı olarak önemle kullanılırlar. Trigliseridler, enerji depolaması için kullanılan, hem özünde karaciğerde sentezlenen ve bağırsaktaki alım yoluyla dış

kaynaklardan türetilen lipid fraksiyonlarıdır (63). Trigliserid, doğrudan aterojenik değil, aynı zamanda aterojenik kalıntı parçacıkları ile olan ilişkisi ve tüm plazma lipoprotein sınıflarında bulunan proinflamatuvar, proaterojenik bir protein olan apo C-III'ün CVD riskinin önemli bir biyolojik belirteçini temsil etmektedir (64). Trigliserit, Gliserin ve üç yağ asidinin birleşimi ile oluşan esterdir. Trigliseritler plazmada spesifik trigliseritten zengin lipoproteinler ile taşınır (65).

3.12. Glukoz Taşıyıcıları

Ökaryotik hücrelerde can alıcı öneme sahip olan hücresel besin taşımalarından biri, katalize edilmiş ve glukoz taşıyıcı besinler tarafından plazma zarı etrafında taşınan glukoz taşımasıdır (GLUT). GLUT ailesi, SLC2 genleri tarafından kodlanmış ökaryotik hücre zarlarının etrafındaki diğer küçük karbon bileşikleri ve poliyelleri ile meditasyonu monosakkaritleri taşıyan, tamamlayıcı zar proteinleridirler. İnsandaki GLUT-1-12 ve 14 ayrıca kas kısmındaki miyoinositol taşıyıcıları, 14 GLUT proteinleri olarak adlandırılıp ifade edilmiştir. Bu proteinler çözülmez 500 amino asitlerinden ve sınıf 1 (GLUTs 1,4,14); sınıf 2 (GLUTs 5,7,9,11); ve sınıf 3 (GLUTs 6,8,10 ve 12) olarak üç sınıf adlarıyla karakterize edilen benzer ardilli amino asitlerinden oluşmaktadır (66,67). 14 GLUT proteinleri, sitoplazmadaki her iki N ve C alanlı, merkezi, diğerine nazaran büyük, glukozilasyon ile bağlantılı N in tek noktası ve 12 dilimli zar aracılığı ile oluşmaktadır (90). Neredeyse her insan hücresi türlerinde GLUT proteinleri ifade edilmiştir. Hücre içerisine glukoz giriş oranı bir veya birden fazla kendine özgü doku şekilleri olan GLUT proteinleri tarafından belirlenmektedir. Bütün glukoz taşıyıcıları arasında, GLUTs 1-4 ler farklı dokular ve hücre türleri içerisinde,

glukoz ve früktoz gibi en geniş çalışılmış ve görevleri itibari ile iyi belgelenmiş taşıyıcılardır (66).

3.12.1. GLUT-2

GLUT-2, SLC2A2 tarafından kodlanmış, ağırlıklı olarak karaciğer hücrelerinde ifade edilmiştir. Bununla birlikte, GLUT-2 ayrıca böbreğe yakın olan sarmal boru hücreler, bağırsağa ait emici hücreler ve pankreatik β -hücreler tarafından ifade edilmektedir (68). Bu farklı şekillerde olan aynı proteinler glukoz algılamada, pankreatik β -hücrelerde, akciğerde ve hipotalamusta glukozla yönelmiş kademeli insülin salgılamayı tetikler gibi görevlere dahil olmuştur (69,70). Bütün glukoz taşıyıcıları arasında, GLUT-2 glukoz için en düşük görülebilir ilişkiye sahiptir. Galaktoz, manoz ve früktoz gibi diğer monosakkaritler ile olan ilişkisi düşük seviyededir. Buna rağmen glukozamin çok yüksek ilişki ile taşınabilir. Yakın yıllarda GLUT-2 şeker hastalığı esnasında ve gelişiminde bir molekül gibi dahil olabilirlik dikkati çekmiştir. Yapılan çalışmalar, GLUT-2 (71). İfadesinin, bu glukoz taşıyıcısının diyabetik (hayvan) modelleri üzerinde gelişmesine karşın, pankreatik β -hücrelerde baskılanmıştır (72). Esperedin ve Naringin, deneylerde kullanılan hayvanların akciğerlerindeki GLUT-2 protein ifadelerinin azalmasını sağlamıştır (73,74). Ayrıca Epiketkin, yüksek glukoz karışımındaki HepG2 fonksiyonellerini korumak için, GLUT-2 nin seviyelerini, GLUT-2 nin glukoz üretim ve alımını geri yüklediği rapor edilmiştir (75,76).

3.12.2. GLUT-4

İnsüline duyarlı glukoz taşıyıcı GLUT-4, inaktif olan dahili hücresel zarlara bağlı olarak bulunur. Çoğu araştırmacı, GLUT-4'ün Golgi aygıtına bağlı olduğunu

kabul etmektedir. GLUT-4, bir ATP gerektiren süreçle plazma membranına getirilir. Yüzey membrana ulaşan taşıma protein molekülleri glukoz taşınımına katkıda bulunur. Bir başka ATP'ye bağlı mekanizma GLUT-4'ü, bu moleküllerin bir kez daha inaktif olduğu Golgi cihazına geri gönderir. İnsülin, plazma zarındaki fonksiyonel GLUT-4 moleküllerinin sayısının artması ve böylece glukoz alımını aktive edecek şekilde ekzositoz ve endositoz arasındaki dengeyi değiştirir. Kas aktivitesinin aynı mekanizmayla plazma zarındaki GLUT-4 moleküllerinin sayısını artırabileceğini çok kez araştırılmıştır. Kas aktivitesi ve hücre içi glikozun tek başına tüketilmesi (artan insülin seviyeleri olmaksızın) glukoz alımını aktive eder. İnsülinle aktif olurlar, iskelet kası ile kalp kasında ve yağ dokuda bulunurlar (77).

3.13. Tez Çalışmasının Amacı

Egzersizle birlikte aşırı üretilen serbest oksijen radikalleri lipid, protein ve nükleik asit hasarı ile sonuçlanan oksidatif strese neden olmaktadır. Aşırı egzersiz sonucunda mitokondrial kaynaklı oksidatif stres kas yorgunluğu ve hasarı şeklinde kendini göstermektedir. Krom pikolinatın antioksidan özelliğiyle hem mitokondrilerde oksijen kullanımı veya etkinliğindeki bozuklukların düzeltilmesinde hem de oksidatif stresin ortadan kaldırılmasında önemli etkiler gösterebileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada, egzersiz uygulanan ratlarda, krom pikolinatın lipid peroksidasyon ve artan Glukoz ihtiyacı ve taşınımında görevli Glukoz taşıyıcılarının düzeyleri üzerine etkileri, oksidatif stres ve biyokimya serum parametrelerinin değişimleri araştırılmıştır. Elde edilecek bulguların egzersiz fizyolojisi alanında yeni yaklaşımlara öncülük etmesi düşünülmektedir.

4. GEREÇ VE YÖNTEM

4.1. Hayvan Materyali ve Araştırma Grupları

Bu tez çalışması, Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu (FÜHADEK) onayı alındıktan sonra (Tarih: 08.01.2014, Toplantı: 2014/01, Karar No:09), etik kurallara uygun bir şekilde hayvan refahı ve hayvan haklarına riayet edilerek yürütüldü. Deneylerde kullanılan ratlar, Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezinden (FÜDAM) temin edildi. Araştırmada her grupta 7 adet olmak üzere toplam 42 adet 8 haftalık yaşta erkek Wistar albino ırkı rat kullanıldı. Ratlara günlük 12 saat aydınlık; 12 saat karanlık olacak şekilde bir aydınlatma periyodu uygulandı. Ratlar, 22 ± 2 °C sıcaklıkta, $\%55\pm5$ nispi nem bulunan havalandırma sistemine sahip bir ortamda özel olarak hazırlanmış ve her gün altları temizlenen kafeslerde beslendi.

Deney hayvanları, başlangıçta 10 m/dk hızla koşmaya başlatıldı ve kontrollü artışlarla 2 haftalık alışma süresinin sonunda 30 m/dk, $\%0$ eğim, 30 dakika koşu protokolü uygulandı (Koşu Bandı, MAY-TME 0804, Commat Limited, Ankara). Ratlar, diyetle krom pikolinat uygulanmaya başladıktan sonra 6 hafta boyunca haftada 5 gün olmak üzere koşu testine tabi tutuldu ve son gün akut egzersiz (ratlar yoruluncaya kadar koşu bandında koşması) protokolü uygulandı. Koşu testi (11:30-13:30) saatleri arasında yapıldı (bazal glikokortikoid etkinliğini göz ardı etmek için). Kontrol grubu hayvanları koşturulmadı.

4.2. Araştırma Grupları

Araştırma gruplarını egzersiz türü ve krom pikolinat dozları aşağıdaki gibi oluşturuldu.

Grup 1 (Kontrol): Ratlar standart diyet ile beslendi ve egzersiz yaptırılmadı.

Grup 2 (Krom pikolinat): Bu gruptaki ratlar 400 µg/kg krom pikolinat (CrPic) ilave edilmiş standart diyetle beslendi ve egzersiz yaptırılmadı.

Grup 3 (Egzersiz): Bu gruptaki ratlar standart diyetle beslendi ve 6 hafta boyunca haftada 5 gün olmak üzere egzersiz (30 m/dk, % 0 eğim, 30 dakika) yaptırıldı.

Grup 4 (Egzersiz+Krom pikolinat): Bu gruptaki ratlar 400 µg/kg CrPic ilave edilmiş standart diyetle beslendi ve 6 hafta boyunca haftada 5 gün olmak üzere egzersiz (30 m/dk, %0 eğim, 30 dakika) yaptırıldı.

Grup 5 (Akut Egzersiz): Bu gruptaki ratlar standart diyetle beslendi ve 6 hafta boyunca haftada 5 gün olmak üzere egzersiz (30 m/dk, %0 eğim, 30 dakika) yaptırıldı ve son gün tükenme egzersiz (ratlar yoruluncaya kadar koşu bandında koşturularak hemen sonrasında serum ve doku örneklerinin alınması) uygulandı.

Grup 6 (Akut Egzersiz+Krom pikolinat): Bu gruptaki ratlar 400 µg/kg CrPic ilave edilmiş standart diyetle beslendi ve 6 hafta boyunca haftada 5 gün olmak üzere egzersiz (30 m/dk, %0 eğim, 30 dakika) yaptırıldı. Son gün tükenme egzersizi (ratlar yoruluncaya kadar koşu bandında koşturularak hemen sonrasında serum ve doku örneklerinin alınması) yaptırıldı.

4.3. Örneklerin Alınması

Deneme sonunda, hayvanlar anestezi altında servikal dislokasyon yolu ile dekapite edilerek kan, karaciğer, kalp ve kas örnekleri alındı. Kan örnekleri jelli biyokimya tüplerine (Standardplus & Medical Co., Ltd., Almanya) alınarak soğutmalı santrifüjde (Universal 320R, Hettich, Almanya) 5000 rpm devir 4 °C’de 10 dakika santrifüj edilerek hayvanlara ait serum örnekleri elde edildi. Ayrıca kesilen hayvanlardan alınan dokular analiz edilinceye kadar derin dondurucuda (Hettich, Almanya) -80 °C’de muhafaza edildi.

4.4. Serum Biyokimya Analizleri

Glukoz, kolesterol, trigliserit düzeyleri Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalında bulunan otoanalizörde (Samsung Labgeo PT10) analiz edildi. İnsülin düzeyleri Simens marka Immulite 2000 XPİ direk kemülomlenans kapalı sistem yöntem yardımıyla tespit edildi.

4.5. Malondialdehit (MDA) Analizi

MDA analizleri, Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ünitesinde gerçekleştirildi. Kromatografik analizlerde saf su sistemi (Human Power I Scholar-UV, Kore) ile üretilen 18.3 MΩ kalitede ultra saf su kullanıldı. Serum ve doku örneklerinin malondialdehit düzeyleri HPLC cihazı ile belirlendi (78). Kas ve karaciğer örneklerinden 0,5 g alınarak, 1 ml ultra saf su, 100 µl butil hidroksi tolüen (500 µg/ml; 2,6-di t-butyl-p-kresol, BHT) ve 1 ml 0.5 M perklorik asit (HClO₄, % 60, Riedel, Almanya) ile ultraturrax mekanik homojenizatör yardımıyla

parçalandı. Örnekler kapaklı polipropilen santrifüj tüplerine alındı ve vorteksle iyice karıştırıldıktan sonra 5000 rpm devirde 4 °C’de 10 dk santrifüj edildi. Süpernatant dikkatlice viallere alınarak dokularda ekstraksiyon işlemi tamamlandı. Serum örneklerinden, 1.5 ml hacimli mikrosantrifüj tüplerine 400 µl alındı. Örneklerin üzerine 300 µl 0.5 M HClO₄ eklenerek vorteksle karıştırıldıktan sonra santrifüj edildi. Süpernatant dikkatlice viallere alınarak serumların ekstraksiyon işlemi tamamlandı.

Kalibrasyon grafiği oluşturulmak ve hesaplamalarda kullanmak üzere MDA (1,1,3,3-tetraethoksi-propan, Sigma-Aldrich, Almanya) standartları hazırlandı. MDA standardı için tetraethoksi-propandan 10 µl hacimde alınarak 10 ml’lik kapaklı bir cam tüpe alındı. Hacim 0.1 M hidroklorik asit (HCl, %37, Merck, Almanya) ile 10 ml hacme tamamlandı. Benmaride (Memmert, Almanya) 100 °C’de 5 dk kapak kapalı şekilde muamele edildikten sonra soğutuldu ve ultra saf su ile 100 ml hacme tamamlandı. Elde edilen solüsyon 2.92 µg/ml MDA içermektedir.

MDA analizlerinde kolon olarak C₁₈ (ODS-3, 5 µm, 4.6 x 250 mm, Inertsil, GL Sciences, Japonya), hareketli faz olarak ise pH: 3.6 olarak ayarlanan 30 mM potasyum dihidrojen fosfat (KH₂PO₄, Merck, Almanya) – metanol (CH₄O, Sigma-Aldrich, Almanya) karışımı (% 82.5–17.5; v/v) kullanıldı. Analiz şartları; kolon fırını sıcaklığı 30 °C, hareketli faz akış hızı 1 ml/dk, enjeksiyon hacmi 30 µl, dalga boyu 250 nm ve analiz süresi 10 dk olacak şekilde ayarlandı. Örneklerde MDA için alıkonma süreleri sırasıyla yaklaşık 5 ve 3.4 dakika olarak belirlendi. Serum ve doku örneklerinin MDA düzeyleri nmol/mg protein olarak verildi.

4.6. Real Time PCR Aşaması

4.6.1. Doku Parçalama

Real Time PCR için ratlardan alınan karaciğer ve kas dokuları hemen -80 °C derin dondurucuya alındı. Dokular; grup değişiminde temizliğe dikkat edilerek 50'şer mg ince kesitler halinde kesilerek tüplere alındı. Her tüp için 1/100 oranında β -Merkaptoetanol + RLT (rna lysis buffer) karışımı eklendi. Qiagen Tissue Lyser ile 3 mm'lik bilyeler ile mikro tüp içinde 30 frekansta ve 2 dakika boyunca parçalandı. Tüpler 15.000 devirde + 4°C'de 3 dakika santrifüjlendi. Daha sonra süpernatant ekstraksiyon cihazına aktarılmak üzere 2 ml tüplere alındı.

4.6.2. RNA İzolasyonu

Doku izolasyon işlemi Qiagen QIAcube ekstraksiyon cihazı ile cihaz protokolüne göre yapıldı. Rötör adapter, içerisine mini spin kolon ve 1,5 ml'lik mikro tüp yerleştirildikten sonra QIAcube içinde santrifüj kısmına yerleştirildi. Parçalanmış doku ekstratları 2 ml mikro tüp içinde cihaz içindeki shaker kısmına alındı. Rna ekstraksiyonu için RNeasy Mini QIAcube kiti kullanıldı. Daha sonra ekstraksiyon robotu solüsyon kısmına RW1 (rna washing buffer), %70 etanol, Rnase free water ve RPE solüsyonları ağızları açık şişelerde uygun yerlere yerleştirildi. Parçalanmış dokular, RNeasy Mini QIAcube protokolüne uygun olarak rna izolasyonu yapıldı. Nanodrop ile total rna miktarı kontrol edildi.

4.6.3. cDNA Sentezi

cDNA sentezi için Qiagen RT² HT First Strand kiti kullanıldı ve bu kitin standart protokolü takip edildi. 0,2 ml mikro tüpler içine aşağıdaki protokol uygulanarak termal döngü oluşturuldu.

- 6 µl GE2 Buffer (gDNA eliminasyon buffer)
- 8 µl RNA (karaciğer ve kas dokularından izole edilen) Elde edilen karışım 37 °C 5 dakika bekletilir.
- Karışıma 6 µl BC5 (revers transkriptaz) eklenip mikro tüplerin kapakları sıkıca kapatıldı.

Her örnek için 42 °C sıcaklıkta 15 dakika (1. adım), 95 °C sıcaklıkta 5 dakika olacak şekilde Qiagen Rotor Gene Q cihazında termal döngü uygulandı. İşlem bitince cDNA'lar + 4 °C sıcaklığa alındı.

4.6.4. Real Time PCR İşlemi

Real Time PCR işlemi Qiagen RT² SYBR GREEN Fast Master Mix kiti kullanılarak ve bu kit protokolüne uygun şekilde yapıldı. Örneklerden elde edilen cDNA, rnase free water ile 1/5(cDNA/ rnase free water) oranında seyreltilti. Gen primerleri olarak (Qiagen, Primer Assay for rats) NFkB, IkB ve GAPDH house keeping gen olarak kullanıldı. Her primer için ayrı 0,2 ml mikro tüpler olacak şekilde aşağıdaki protokol uygulanarak PCR işlemine hazır hale getirildi.

- 12,5 µl SYBR Green MasterMix (Pembe Kapaklı)
- 5 µl cDNA(1/5 dilüe)
- 1 µl çalışılan Gen Primeri
- 6,5 µl RNase Free Water

Toplam 25 µl karışım elde edildi. 0,2 ml mikro tüpler tümü için 95 °C 10 dakika, daha sonra her tüp için ayrı ayrı 95 °C 15 saniye ve 65 °C 30 saniye olacak şekilde Qiagen Rotor Gene Q cihazı ile Real Time PCR yapıldı.

4.7. İstatistiksel Analizler

Veriler, IBM SPSS (versiyon 22) paket programında ANOVA prosedürü kullanılarak değerlendirildi. Gruplar arası karşılaştırmalar *Tukey Post Hoc* testi ile analiz edildi. Veriler grup ortalamaları ve ortalamanın standart hatası (SEM) olarak verildi. Verilerde istatistiksel önemlilik, olasılık değerleri $P < 0.05$ 'den küçük olan değerler için anlamlı olarak tanımlandı.

5. BULGULAR

Tablo 1' de görüleceği üzere, Ratlara uygulanan egzersiz türleri ve diyetle katılan krom pikolinat (CrPic) düzeyleri Glukoz parametrelerini etkilemiştir ($P<0.0001$). Glukoz parametreleri sırasıyla kontrol: 103.60 ± 1.91 , CrPic: 95.50 ± 2.49 , KE: 96.60 ± 2.09 , KE+CrPic: 90.67 ± 2.03 , AE: 97.60 ± 2.38 ve AE+CrPic: 91.60 ± 3.03 mg/dL olarak tespit edilmiştir. En düşük glukoz düzeyi KE+CrPic grubunda (90.67 ± 2.03 mg/dL) olarak tespit edilirken, en yüksek glukoz düzeyi ise kontrol grubunda (103.60 ± 1.91 mg/dL) bulunmuştur ($P<0.001$).

İnsülin düzeyleri ise sırasıyla kontrol: 31.55 ± 1.10 , CrPic: 36.28 ± 0.87 , KE: 35.63 ± 0.95 , KE+CrPic: 38.22 ± 1.12 , AE: 34.98 ± 0.75 ve AE+CrPic: 35.74 ± 1.33 μ U/mL olarak tespit edilmiştir ($P<0.0001$). En düşük insülin düzeyi kontrol grubunda (31.55 ± 1.10 μ U/mL) olarak tespit edilirken, en yüksek insülin düzeyi ise KE+CrPic grubunda 38.22 ± 1.12 μ U/mL olarak bulunmuştur ($P<0.0001$).

Kolesterol düzeyleri kontrol: 64.00 ± 2.97 , CrPic: 57.50 ± 3.30 , KE: 59.20 ± 3.10 , KE+CrPic: 49.83 ± 4.15 , AE: 60.60 ± 3.09 ve AE+CrPic: 50.40 ± 3.47 mg/dL olarak tespit edilmiştir ($P<0.0001$). En düşük kolesterol düzeyi KE+CrPic (49.83 ± 4.15 mg/dL) grubunda tespit edilirken, en yüksek kolesterol düzeyi ise kontrol grubunda: 64.00 ± 2.97 mg/dL olarak bulunmuştur ($P<0.0001$).

Trigliserit düzeyleri ise sırası ile kontrol: 89.00 ± 4.18 , CrPic: 82.00 ± 4.37 , KE: 83.20 ± 3.31 , KE+CrPic: 71.67 ± 3.89 , AE: 81.80 ± 4.96 ve AE+CrPic: 73.60 ± 3.93 mg/dL olarak tespit edilmiştir ($P<0.0001$). En düşük trigliserit düzeyi KE+CrPic grubunda (71.67 ± 3.89 mg/dL) olarak tespit edilirken, en yüksek trigliserit düzeyi ise kontrol grubunda (89.00 ± 4.18 mg/dL) bulunmuştur ($P<0.0001$). Trigliserit düzeyi CrPic ilave edilen gruplar ise önemli derecede düştüğü tespit edilmiştir ($P<0.0001$).

Tablo 2' de görüleceği üzere, serum MDA düzeyleri kontrol: 0.58 ± 0.01 , CrPic: 0.39 ± 0.04 , KE: 0.38 ± 0.01 , KE+CrPic: 0.31 ± 0.02 , AE: 0.93 ± 0.04 ve AE+CrPic: 0.67 ± 0.03 nmol/mg olarak tespit edilmiştir ($P < 0.001$). En düşük serum MDA düzeyi KE+CrPic (0.31 ± 0.02 nmol/mg) grubunda tespit edilirken, en yüksek serum MDA düzeyi ise AE grubunda (0.93 ± 0.04 nmol/mg) bulunmuştur ($P < 0.001$). serum MDA düzeyi CrPic ilave edilen gruplar ise önemli derecede düşmüştür ($P < 0.001$). Serum MDA düzeyi kronik egzersiz (KE) grubu kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur. Kontrol grubuna göre akut egzersizi (AE) grubu yüksek olarak tespit edilmiştir ($P < 0.001$). Ayrıca gruplar arasında ise önemli farklılıklar bulunmuştur ($P < 0.05$). Kas MDA düzeyleri sırası ile kontrol: 67.82 ± 3.11 , CrPic: 54.82 ± 2.55 , KE: 53.37 ± 2.83 , KE+CrPic: 44.48 ± 3.21 , AE: 85.24 ± 3.45 ve AE+CrPic: 74.62 ± 2.90 nmol/mg olarak tespit edilmiştir ($P < 0.001$). En düşük kas MDA düzeyi KE+CrPic (44.48 ± 3.21 nmol/mg) grubunda tespit edilirken, en yüksek kas MDA düzeyi ise AE grubunda (85.24 ± 3.45 nmol/mg) bulunmuştur ($P < 0.001$). Kas MDA düzeyi CrPic ilave edilen gruplar ise önemli derecede düşmüştür ($P < 0.001$). Kas MDA düzeyi kronik egzersiz (KE) grubu kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur ($P < 0.001$). Kas MDA düzeyi Kontrol grubuna göre akut egzersiz (AE) grubu yüksek olarak tespit edilmiştir ($P < 0.001$). Ayrıca gruplar arasında ise önemli farklılıklar bulunmuştur ($P < 0.05$). Karaciğer MDA düzeyleri kontrol: 112.93 ± 3.81 , CrPic: 101.55 ± 3.66 , KE: 98.10 ± 2.53 , KE+CrPic: 91.61 ± 2.94 , AE: 126.55 ± 3.28 ve AE+CrPic: 117.22 ± 2.26 nmol/mg olarak tespit edilmiştir ($P < 0.0001$). En düşük karaciğer MDA düzeyi KE+CrPic grubunda (91.61 ± 2.94 nmol/mg) tespit edilirken, en yüksek karaciğer MDA düzeyi ise AE grubunda (126.55 ± 3.28 nmol/mg) bulunmuştur ($P < 0.0001$). MDA düzeyi CrPic ilave edilen gruplar ise önemli

derecede düşmüştür ($P<0.05$). Karaciğer MDA düzeyleri kronik egzersiz ve akut egzersiz gruplarında da farklı bulunmuştur ($P<0.001$). Ayrıca Karaciğer MDA grupları arasında ise önemli farklılıklar tespit edilmiştir ($P<0.05$).

Şekil 1’de görüleceği üzere egzersiz uygulanan radlarda krom pikolinatın karaciğer GLUT-2 gen ekspresyonu KE+CrPic ve AE+CrPic grupları diğer gruplara göre yüksek olarak tespit edilmiştir ($P<0.05$). Kontrol grubuna göre krom pikolinat (CrPic) grubu yüksek olarak bulunmuştur ($P<0.05$). Ayrıca CrPic ilave edilen gruplar ise önemli derecede karaciğer GLUT-2 gen ekspresyon düzeyi yükselmiştir ($P<0.05$).

Şekil 2’de görüleceği üzere egzersiz uygulanan radlarda krom pikolinatın kas GLUT-4 gen ekspresyon düzeyleri, CrPic ilave edilen gruplar önemli derecede yükseldiği tespit edilmiştir ($P<0.05$). Ayrıca kontrol grubu diğer gruplar arasında kas GLUT-4 gen ekspresyon düzeyinin düştüğü bulunmuştur ($P<0.05$).

Tablo 1. Krom pikolinatın glukoz ve lipid parametreleri üzerine etkisi

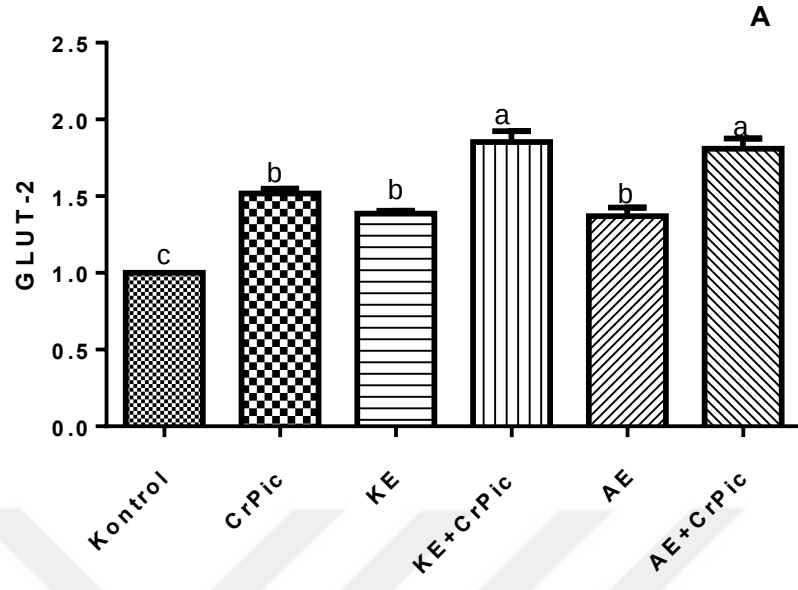
Parametreler	Kontrol	CrPic	KE	KE+CrPic	AE	AE+CrPic	<i>P</i> <
Glukoz, mg/dL	103.60±1.91 ^a	95.50±2.49 ^b	96.60±2.09 ^b	90.67±2.03 ^c	97.60±2.38 ^b	91.60±3.03 ^c	0.0001
İnsülin, µU/mL	31.55±1.10 ^c	36.28±0.87 ^b	35.63±0.95 ^b	38.22±1.12 ^a	34.98±0.75 ^b	35.74±1.33 ^b	0.0001
Kolesterol, mg/dL	64.00±2.97 ^{ba}	57.50±3.30 ^b	59.20±3.10 ^b	49.83±4.15 ^c	60.60±3.09 ^b	50.40±3.47 ^c	0.0001
Trigliserit, mg/dL	89.00±4.18 ^a	82.00±4.37 ^b	83.20±3.31 ^b	71.67±3.89 ^d	81.80±4.96 ^b	73.60±3.93 ^c	0.0001

Veriler ortalama ± standart hata olarak verilmiştir. (a-d) Farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılık istatistiksel bakımdan önemlidir ($P < 0.05$). Kontrol: sedentar ve egzersiz uygulanmayan ratlar; CrPic: Sedentar ve 400 µg/kg CrPic içeren diyetle beslenen ratlar; KE: Kronik egzersiz uygulanan ve CrPic içermeyen standart diyetle beslenen ratlar; KE+ CrPic; Kronik egzersiz uygulanan ve 400 µg/kg CrPic içeren diyetle beslenen ratlar; AE: Akut egzersiz uygulanan ve CrPic içermeyen standart diyetle beslenen ratlar; AE+CrPic: Akut egzersiz uygulanan ve 400 µg/kg CrPic içeren diyetle beslenen ratlar.

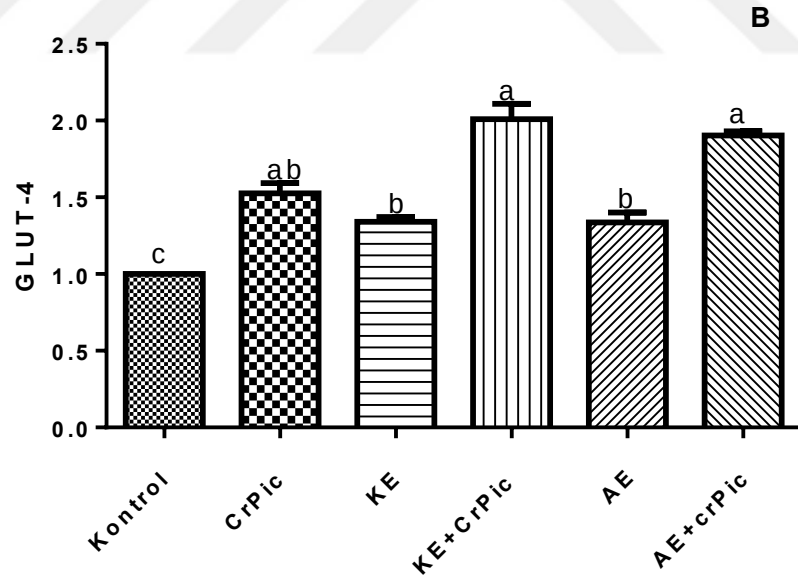
Tablo 2. Egzersiz uygulanan ratlarda krom pikolinatın oksidatif stres üzerine etkisi

Parametreler	Kontrol	CrPic	KE	KE+CrPic	AE	AE+CrPic	P<
Serum MDA, nmol/mg protein	0.58±0.01 ^c	0.39±0.04 ^d	0.38±0.01 ^d	0.31±0.02 ^e	0.93±0.04 ^a	0.67±0.03 ^b	0.001
Kas MDA, nmol/mg protein	67.82±3.11 ^c	54.82±2.55 ^d	53.37±2.83 ^d	44.48±3.21 ^{de}	85.24±3.45 ^a	74.62±2.90 ^b	0.001
Karaciğer MDA, nmol/mg protein	112.93±3.81 ^c	101.55±3.66 ^d	98.10±2.53 ^d	91.61±2.94 ^e	126.55±3.28 ^a	117.22±2.26 ^b	0.001

Veriler ortalama ± standart hata olarak verilmiştir. (a-d) Farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılık istatistiksel bakımdan önemlidir (P<0.05). Kontrol: sedentar ve egzersiz uygulanmayan ratlar; CrPic: Sedentar ve 400 µg/kg CrPic içeren diyetle beslenen ratlar; KE: Kronik egzersiz uygulanan ve CrPic içermeyen standart diyetle beslenen ratlar; KE+CrPic; Kronik egzersiz uygulanan ve 400 µg/kg CrPic içeren diyetle beslenen ratlar; AE: Akut egzersiz uygulanan ve CrPic içermeyen standart diyetle beslenen ratlar; AE+CrPic: Akut egzersiz uygulanan ve 400 µg/kg CrPic içeren diyetle beslenen ratlar.



Şekil 1. Egzersiz uygulanan ratlarda krom pikolinatın karaciğer GLUT-2 ekspresyonu üzerine etkisi.



Şekil 2. Egzersiz uygulanan ratlarda krom pikolinatın kas GLUT-4 ekspresyonu üzerine etkisi.

6. TARTIŞMA VE SONUÇ

Tez çalışmamızda; Egzersiz uygulanan ratlarda, krom pikolinat takviyesinin glukoz ve lipid parametreleri (Glukoz, İnsülin, Kolesterol ve Trigliserid), oksidatif stres belirteci olan malondialdehit (serum, kas ve karaciğer) düzeyleri, karaciğer GLUT-2 ve kas Glut-4 ekspresyonları üzerine etkileri incelenmiştir.

Çalışmamızda, Krom pikolinat ve egzersiz gruplarında glukoz ve lipid parametre düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmuştur (Tablo 1). Krom pikolinat ve egzersiz uygulamasının malondialdehit (serum, kas ve karaciğer) düzeylerini düşürdüğü tespit edilmiştir (Tablo 2). Ayrıca, Krom pikolinat ve egzersiz uygulamasının karaciğer (GLUT-2) ve kas (GLUT4) ekspresyon düzeylerini yükselttiği tespit edilmiştir (Şekil 1; Şekil 2).

Krom, karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasında rol oynayan, büyüme ve normal metabolizma için gerekli olan esansiyel bir mineraldir. Kan glukoz ve kolesterol düzeylerini normal seviyede tutulmasına yardımcı olur (8,9). Protein sentezini hızlandırır ve metabolizmayı düzenler. Krom, insülin hormonuyla vücutta karbonhidrat metabolizmasını ve glukoz dengesini düzenleyen ve Glukoz Tolerans Faktör (GTF) olarak adlandırılan kompleksin bir unsurudur (10,9). Krom insülinin aktivasyonunu etkinleştirir ve yağın kan dolaşımından atılmasında vücudun yeteneğini artırır. Krom, kas büyümesini geliştirip obezite gelişimini inhibe ederek vücudun doğal ağırlık düzenleme mekanizmasında önemli bir rol oynar (11,12).

Çalışmamızda, Radlara uygulanan egzersiz türleri ve diyet katılan krom pikolinat (CrPic) glukoz parametresini düşürdüğü ($P<0.0001$). Egzersiz türleri ve diyet katılan krom pikolinat (CrPic) insülin parametresini yükselttiği ($P<0.0001$). Kolesterol ve Trigliserit parametrelerini düşürdüğü istatistik olarak tespit edilmiştir

($P > 0.0001$). Yapılan çalışmalarda, Boyd ve arkadaşları üniversite öğrencilerine aerobik egzersiz ve krom pikolinat takviyesi yaptırdıkları çalışmada (79), Cefalu ve arkadaşları obez ratlar üzerinde yaptıkları çalışmada (80), Khanam ve Pillai Krom pikolinat takviyesi ve yüzme egzersizi yaptırdıkları Wistar albino ırkı ratlarda (81), glukoz düzeyini düşürdüğünü, insülin düzeyini yükselttiğini, kolesterol ve trigliserit düzeylerini düşürdüğünü tesbit etmişlerdir. Diğer çalışmalarda Pala ve arkadaşlarının boks milli takım antrenörlerinin maç öncesi ve maç sonrası bazı kan değerlerinin karşılaştırılması konulu çalışmada glukoz parametresinde düşüş, insülin parametresinde artış olduğunu tespit etmişlerdir (82). Turğut, Egzersiz uygulanan Ratlarda Biyotin ve Krom Histidinatın Glukoz Metabolizması PPAR- γ , IRS-1 Ve NF-K β Ekspresyonu Üzerine Etkileri konulu tez çalışmasında glukoz ve trigliserit düzeylerinde düşüş olduğunu tespit etmiştir (83). Genç, Egzersiz uygulanan ratlarda K-karnitin takviyesinin oksidatif stres ve glukoz transporterları üzerine etkileri konulu tez çalışmasında glukoz parametresinde önemli bir farkın olmadığı, kolesterol ve trigliserit parametrelerinde düşüşün istatistiksel olarak anlamlı fark olduğunu tespit etmiştir (55). Beyaz, Egzersiz uygulanan ratlarda koenzim Q10'nun bazı oksidatif stres parametreleri ve ısı şok proteinleri üzerine etkilerine baktığı tezinde, glukoz düzeyinde anlamlı bir farkın olmadığı, kolesterol ve trigliserit parametrelerinde düşüşün istatistiksel olarak anlamlı fark olduğunu tespit etmiştir (84). Pala ve arkadaşları, koşu egzersizi yaptırdıkları ve koenzim Q10 tüketen ratlarda kolesterol ve trigliserit düzeylerinde düşüş olduğunu tespit etmişlerdir (48). Sahin ve arkadaşları, egzersiz yaptırdıkları ve kurkumin takviye ettikleri ratlarda, glukoz parametresinde düşüş olduğu düşüşün önemli olmadığı, kolesterol ve trigliserit parametrelerinde düşüşün istatistiksel olarak anlamlı olduğu

bildirmişlerdir (49). Sahin ve arkadaşları, bildiricılara krom pikolinat takviyesi yaptıkları çalışmada, insülin parametresinde artış olduğu, glukoz ve kolesterol parametrelerinde istatistiksel olarak düşüş olduğunu tespit etmişlerdir (85). Sahin ve arkadaşları tavuklar üzerinde krom pikolinat takviyesi uyguladıkları çalışmada, insülin düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu, glukoz ve kolesterol düzeylerinde istatistiksel olarak düşüş olduğunu bildirmişlerdir (86). Yapılan çalışmalara bakıldığında bizim çalışmamızla paralellik göstermektedir.

Yetersiz ve dengesiz beslenme ile krom kaybına neden olan ağır fiziksel aktiviteler krom eksikliğinin en belirgin nedenleri arasındadır. Araştırmalar, günde 400 mcg'ye kadar krom alımının kanatlılarda kas/yağ oranını ve karbonhidrat kaynaklı enerji kullanımını arttırarak, performansa olumlu etki ettiğini ve lipid peroksidasyon düzeyini indirgeyerek oksidatif stresi azalttığını bildirilmişlerdir. (11,14,15). Diğer bir çalışmada krom takviyesinin diyabetik kişilerde antioksidan olarak etki ettiği ve oksidatif stresin zararlı etkilerini önleyeceğini bildirmişlerdir (16). Lipit peroksidasyonunun ürünü olan melondihaldehit (MDA), doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu oluşan bir dialdehittir ve oksidatif hasarın göstergesidir (87). MDA miktarının tiobarbütirik asit yöntemi ile ölçülmesi mevcut klinik ve deneysel çalışmalarda en çok kullanılan yöntemdir (88).

Çalışmamızda, egzersiz yapmayan kontrol grubunda krom pikolinatın etkisiyle serum, kas ve karaciğer MDA düzeylerini düşürdüğü tespit edilmiştir. Serum, kas ve karaciğer MDA düzeyleri Kronik egzersiz ve kronik egzersiz+krom pikolinat grupları kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur. Akut egzersiz ve akut egzersiz+krom pikolinat grupları kontrol ve kronik egzersiz gruplarına göre daha yüksek olarak bulunmuştur (Tablo 2). Sonuçlar krom pikolinat verilen

grupların, verilmeyen gruplarla karşılaştırıldığında anlamlı MDA düzeylerinde düşüşler olduğunu göstermektedir. Doddigarla ve arkadaşları radlar üzerinde krom pikolinat takviyesi yaptıkları çalışmada, krom pikolinatın oksidatif stres belirteçlerinden MDA parametresini düşürdüğünü belirtmişlerdir (89). Şahin ve arkadaşları diyabetik radlarda krom pikolinat takviyesinin radlarda serum, karaciğer ve böbrekte MDA parametrelerinde düşük olarak gözlemlemişlerdir (90). Diğer bir çalışmada Selçuk ve arkadaşları diyabet uyguladığı radlarda krom pikolinat takviyesinin oksidatif stresi azalttığını bildirmişlerdir (91). Pala ve Savucu Türkiye büyük erkekler boks millî takım boksörlerinin sekiz haftalık kamp öncesi ve kamp sonrası çalışmalar sonrasında oksidatif stres parametrelerinde kamp sonrası düştüğünü tespit etmişlerdir (92). Pala elit boksörlerin maç öncesi ve maç sonrası oksidatif stres parametrelerini incelediği çalışmada boksörlerin maç sonu oksidatif stres parametrelerinin düştüğünü tespit etmiştir (93). Pala ve arkadaşları Türkiye boks milli takımı antrenörlerinin maç öncesi ve maç sonrası oksidatif stres parametrelerinin düştüğünü tespit etmişlerdir (94). Genç koşu egzersizi ve antioksidan özeliği olan L-Karnitin takviyesi yaptırdığı erkek Wistar albino ratlarda serum, kas ve karaciğer MDA düzeylerini düşürdüğünü, akut egzersizin oksidatif stresi artırırken, kronik egzersiz ise lipid peroksidasyon düzeyini düşürerek oksidatif stresi azalttığını tesbit etmiştir (55). Beyaz, radlara egzersiz (kronik ve akut) ve antioksidan özeliği olan koenzim Q10 takviyesinin oksidatif stres parametresinden serum, kas ve karaciğer MDA seviyelerini düşürdüğünü tespit etmiştir (84). Yapılan çalışmalara bakıldığında bizim çalışmamızla paralellik göstermektedir. Elde ettiğimiz bulgular krom pikolinat takviyesinin kronik ve akut egzersizlerde, antioksidan kapasiteyi geliştirdiği, MDA düzeyini düşürdüğü,

oksidatif hasara karşı koruyucu rol üslendiği ve fiziksel performansı olumlu yönde artırabileceğini düşünülmektedir.

Çalışmamızda, egzersiz uygulanan ratlarda krom pikolinatın karaciğer GLUT-2 gen ekspresyonu KE+CrPic ve AE+CrPic grupları diğer gruplara göre yüksek olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubuna göre krom pikolinat (CrPic) grubu yüksek olarak bulunmuştur. Ayrıca CrPic ilave edilen gruplar ise önemli derecede karaciğer GLUT-2 gen ekspresyon düzeyi yükselmiştir. Ratlarda krom pikolinatın kas GLUT-4 gen ekspresyon düzeyleri ise CrPic ilave edilen gruplar önemli derecede yükseldiği tespit edilmiştir. Ayrıca kontrol grubu diğer gruplar arasında kas GLUT-4 gen ekspresyon düzeyinin düştüğü bulunmuştur. İskelet kaslarında yakıt olarak egzersiz esnasında glukojen kullanılır, fakat uzun egzersizlerde glukojen tükenirken kan şekeri ve yağ asitleri yükselir aynı zamanda Glukoz taşıyıcılar GLUT-2 ve GLUT-4 yükselir bu duruma da glukojen sentezi denir. Bu yüzden kronik (aerobik) egzersizlerde GLUT-2 ve GLUT-4 etkisi yükselir buda kan şekerinin düzenlenmesine yardımcı olur (95, 96). Araştırma bulgularımız destekler nitelikteki çalışmalar, Ha ve Kim diyabetik ratlar üzerinde yaptıkları çalışmada Glukoz konsantrasyonu PPAR- γ ve GLUT-4 düzeylerinde artışlar olduğunu belirtmişlerdir (97). Jessen ve arkadaşları egzersiz yaptırdıkları ratlarda kas GLUT-4 düzeyinde artış olduğunu tespit etmişlerdir (98). Yine, Boyda ve arkadaşları koşu egzersizi yaptırdıkları dişi ratlar' da egzersizin kas GLUT-4 düzeylerine baktıkları çalışmada sadenter gruplara göre, egzersiz grup kas GLUT-4 düzeyleri daha yüksek olarak belirtmişlerdir (99). Morato ve arkadaşları peynir suyu takviyesi ve egzersiz yaptırdıkları ratlarda kas GLUT-4 düzeyini artırdığını belirtmişlerdir (100). Lee ve arkadaşları yüzme egzersizi ve diyet uyguladıkları

radlarda karaciğer ve kas GLUT-2 ve GLUT-4 düzeylerinin arttığını bildirmişlerdir (101).

Sonuç olarak, akut egzersizi oksidatif stresi artırırken, kronik egzersiz ise lipid peroksidasyon düzeyini düşürerek oksidatif stresi azaltmıştır. Bu etkisini de glukoz taşıyıcılarını regüle ederek göstermiştir. Ayrıca, radlarda krom pikolinat tüketiminin GLUT-2 ve GLUT-4 düzeylerini arttırarak etkisini göstermiştir. Bu arada kronik egzersiz ve krom pikolinat da sinerjik bir etki göstererek oksidatif stresi azalttığı tespit edilmiştir.



7. KAYNAKLAR

1. Janssen J, Fortier A, Husson R, et al. Effects of an energy-restrictive diet or without exercise on abdominal fat, intermuscular fat, and metabolic risk factors in obese women. *Diabetes Care* 2002; 25: 431-438.
2. Ballor DL, Keeseey RE. A meta-analysis of the factors affecting exercise-induced changes in body mass, fat mass and fat free mass in males and females. *International Journal of Obesity* 1991; 15: 717-726.
3. Tremblay A, Almeras N, Boer J, et al. Diet composition and post exercise energy balance. *The American Journal of Clinical Nutrition* 1994; 59: 975-979.
4. Stubbs RJ, Sepp A, Hughes DA, et al. The effect of graded levels of exercise on energy intake and balance in free-living men, consuming their normal diet. *European journal of clinical nutrition* 2002; 56: 129-140.
5. Marmy-Conus N, Fabris S, Protetto J, et al. Preexercise glucose ingestion and glucose kinetics during exercise. *Journal of Applied Physiology* 1996; 81: 853-857.
6. Paker S. Sporda Beslenme. 4. Baskı, Onay Ajans, Ankara Türkiye. 1998.
7. Spendiff O, Campbell IG. Influence of glucose ingestion prior to prolonged exercise on selected responses of wheelchair athletes. *Adapted Physical Activity Quarterly* 2003; 20: 80-90.
8. Anderson RA, Bryden NA, Polansky MM. Lack of toxicity of chromium chloride and chromium picolinate in rats. *J Am Coll Nutr* 1997; 16: 273-279.
9. Anderson GR. Inference of phylogeny and taxonomy within the Didymozoidae (Digenea) from the second internal transcribed spacer (ITS2) of ribosomal DNA. *Systematic Parasitology* 1998; 41: 87-94.
10. Underwood EJ. Chromium. Trace elements in human and animal nutrition. Fourth Edition, Academic Press, New York 1977: 258-270.
11. Sahin K, Sahin N, Onderci M, et al. Optimal dietary concentration of chromium for alleviating the effect of heat stress on growth, carcass qualities, and some serum metabolites of broiler chickens. *Biol Trace Element Res* 2002; 89: 53-64.

12. Sahin N, Sahin K, Onderci M, et al. Chromium picolinate, rather than biotin, alleviates performance and metabolic parameters in heat-stressed quail. *Brit Poult Sci* 2005; 46: 457-63.
13. Prasad, AS. Chromium Pp 3-15. In *Trace Element and Iron in Human Metabolism*. A.S. Prasad Ed. New York. Plenum Medical Book Company. 1978.
14. Onderci M, Sahin N, Sahin K, et al. Antioxidant properties of chromium and zinc. *Biological trace element research* 2003; 92: 139-149.
15. Onderci M, Sahin K, Sahin N, et al. Effects of dietary combination of chromium and biotin on growth performance, carcass characteristics, and oxidative stress markers in heat-distressed Japanese quail. *Biological trace element research* 2005; 106: 165-176.
16. Anderson RA, Roussel AM, Zouari N, et al. Potential antioxidant effects of zinc and chromium supplementation in people with type 2 diabetes mellitus. *Journal of the American College of Nutrition* 2001; 20: 212-218.
17. Jana M, Rajaram A, Rajaram R. Chromium picolinate induced apoptosis of lymphocytes and the signaling mechanisms thereof. *Toxicology and applied pharmacology* 2009; 237: 331-344.
18. Anton SD, Morrison CD, Cefalu WT, et al. Effects of chromium picolinate on food intake and satiety. *Diabetes technology & therapeutics* 2008; 10: 405-412.
19. Tian H, Guo X, Wang X, et al. Chromium picolinate supplementation for overweight or obese adults. *The Cochrane Library*, 2013
20. Sies H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. *The American journal of medicine* 1991; 91: 31-38.
21. Jones DP. Redefining oxidative stress. *Antioxidants & redox signaling* 2006; 8: 1865-1879.
22. Clarkson PM, Thompson HS. Antioxidants What Role Do They Play In Physical Activity and Health *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 637.
23. Niess AM, Simon P. Response and adaptation of skeletal muscle to exercise: the role of reactive oxygen species. *Front Biosci* 2007; 12: 4826-38.
24. Ji LL. Modulation of skeletal muscle antioxidant defense by exercise: role of redox signaling. *Free Radic Biol Med* 2008; 44: 142-52.

25. Radak Z, Chung HY, Koltai E, et al. Exercise, oxidative stress and hormesis. *Ageing research reviews* 2008; 7: 34-42.
26. Gomez-Cabrera MC, Domenech E, Vina J. Moderate exercise is an antioxidant: upregulation of antioxidant genes by training. *Free Radic Biol Med* 2008; 44 (2): 126-31.
27. Ristow M, Zarse K, Oberbach A, Klötting N, et al. Antioxidants prevent health-promoting effects of physical exercise in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2009; 106 (21): 8665-8670.
28. Chang CK, Huang HY, Tseng HF, et al.. Interaction of vitamin E and exercise training on oxidative stress and antioxidant enzyme activities in rat skeletal muscles. *The Journal of nutritional biochemistry* 2007; 18: 39-45.
29. Knez WL, Jenkins DG, Coombes JS. Oxidative stress in half and full Ironman triathletes. *Med Sci Sports Exerc* 2007; 39: 283-288.
30. Pikosky MA, Gaine PC, Martin WF, et al. Aerobic exercise training increases skeletal muscle protein turnover in healthy adults at rest. *The Journal of nutrition* 2006; 136: 379-383.
31. Radak Z, Apor P, Pucsok J, et al. Marathon running alters the DNA base excision repair in human skeletal muscle. *Life Sciences* 2003; 72: 1627-1633.
32. Okamura K, Doi T, Sakurai M, et al. Effect of endurance exercise on the tissue 8-hydroxy-deoxyguanosine content in dogs. *Free Radical Research* 1997; 26: 523-528.
33. Khassaf M, McArdle A, Esanu C, et al. Effect of vitamin C supplements on antioxidant defence and stress proteins in human lymphocytes and skeletal muscle. *The Journal of Physiology* 2003; 549: 645-652.
34. Fischer CP, Hiscock NJ, Basu S, et al. Vitamin E isoform-specific inhibition of the exercise-induced heat shock protein 72 expression in humans. *Journal of applied physiology* 2006; 100: 1679-1687.
35. Mattson MP. Hormesis defined. *Ageing research reviews* 2008; 7: 1-7.
36. Ristow M, Zarse K. How increased oxidative stress promotes longevity and metabolic health: The concept of mitochondrial hormesis (mitohormesis). *Experimental gerontology* 2010; 45: 410-418.

37. Reid MB. Invited Review: redox modulation of skeletal muscle contraction: what we know and what we don't. *Journal of Applied Physiology* 2001; 90: 724-731.
38. Diplock A. Healthy lifestyles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients. ILSI Europe concise monograph series. 1998
39. Nawar WW, Champagne JR, Dubravcic MF, et al. Recovery and measurement of volatiles from lipids. Hydrocarbons in irradiated fats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1969; 17: 645-648.
40. Mercan U. Toksikolojide serbest radikallerin önemi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 2004; 15: 91-96.
41. Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T. Reactive oxygen particles and antioxidant defence. *Office Journal of the Turkish Nephrology, Association* 1997: 3-4.
42. Koca N, Karadeniz F. Serbest radikal oluşum mekanizmaları ve antioksidan savunma sistemleri. *Gıda Mühendisliği Dergisi* 2003; 16: 32-37.
43. Velioğlu S. Doğal Antioksidanların İnsan Sağlığına Etkileri, *Gıda* 2000; 25: 167-176.
44. Kaur C, Kapoor HC. Antioxidants in fruits and vegetables—the millennium's health. *International journal of food science & technology* 2001; 36: 703-725.
45. Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy reviews* 2010; 4: 118.
46. Xu J, Li Y. Effects of salidroside on exhaustive exercise induced oxidative stress in rats. *Molecular medicine reports* 2012; 6: 1195-1198.
47. McBride JM, Kraemer WJ, Triplett-McBride TRAVIS, Sebastianelli WAYNE. Effect of resistance exercise on free radical production. *Medicine and science in sports and exercise* 1998; 30: 67-72.
48. Pingitore A, Lima GPP, Mastorci F, et al. Exercise and oxidative stress: Potential effects of antioxidant dietary strategies in sports. *Nutrition* 2015; 31: 916-922.
49. Bentley DJ, Ackerman J, Clifford T, et al. Acute and chronic effects of antioxidant supplementation on exercise performance. In *Antioxidants in Sport Nutrition*. CRC Press (c) 2015 by Taylor & Francis Group, LLC. Boca Raton (FL). 2015.
50. Ou B, Huang D, Hampsch-Woodill M, et al. Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and

ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: a comparative study. Journal of agricultural and food chemistry 2002; 50: 3122-3128.

51. Elliot JG. Application of antioxidant vitamins in foods and beverages. Food Technology 1999; 53: 46-48.
52. Düzova H, Emre MH, Karakoç Y, et al. Orta ve yüksek düzeyde treadmill egzersizinin sıçanların kas ve eritrosit oksidan/antioksidan sistemine etkisi. İnönü Üniversitesi. Tıp Fakültesi. Dergisi 2006; 13: 1-5
53. Pala R, Orhan C, Tuzcu M, Sahin N, Ali S, Cinar V, Sahin K. Coenzyme Q10 Supplementation Modulates NFκB and Nrf2 Pathways in Exercise Training. Journal of Sports Science & Medicine 2016; 15: 196-203.
54. Sahin K, Pala R, Tuzcu M, Ozdemir O, Orhan C, Sahin N, Juturu V. Curcumin prevents muscle damage by regulating NF-κB and Nrf2 pathways and improves performance: an in vivo model. Journal of Inflammation Research 2016; 9: 147-154.
55. Genç E. Egzersiz uygulanan ratlarda l-karnitin takviyesinin oksidatif stres ve glukoz transporterleri üzerine etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2016.
56. Anonymous."Malondialdehyde" <https://en.wikipedia.org/wiki/Malondialdehyde/> 17.01.2017.
57. Zhang Y, Chen SY, Hsu T, et al. Immunohistochemical detection of malondialdehyde - DNA adducts in human oral mucosa cells. Carcinogenesis 2002; 23: 207-211.
58. Draper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid Peroxidation. Methods in enzymology 1990; 186: 421-431.
59. Dalle-Donne I, Rossi R, Colombo R, et al. Biomarkers of oxidative damage in human disease. Clinical chemistry 2006; 52: 601-623.
60. Shipman J, Wilson J, Todd A. An Introduction to Physical Science, 7th Ed., D. C. Heath. 1993.
61. Pessin JE, Saltiel AR. Signaling pathways in insulin action: molecular targets of insulin resistance. The Journal of clinical investigation 2000; 106: 165-169.

62. García JL, Uhía I, Galán B. Catabolism and biotechnological applications of cholesterol degrading bacteria. *Microbial biotechnology* 2012; 5: 679-699.
63. Sarwar N, Danesh J, Eiriksdottir G, et al. Triglycerides and the risk of coronary heart disease 10 158 incident cases among 262 525 participants in 29 western prospective studies. *Circulation* 2007; 115: 450-458.
64. Talayero BG, Sacks FM. The role of triglycerides in atherosclerosis. *Current cardiology reports* 2011; 13: 544-552.
65. Do R, Willer CJ, Schmidt EM et al. Common variants associated with plasma triglycerides and risk for coronary artery disease. *Nature genetics* 2013; 45: 1345-1352.
66. Mueckler M, Caruso C, Baldwin SA, et al. Sequence and structure of a human glucose transporter. *Science* 1985; 229: 941-5.
67. Mueckler M, Thorens B. The SLC2 (GLUT) family of membrane transporters. *Mol Aspects Med* 2013; 34: 121-38.
68. Kellett GL, Brot-Laroche E, Mace OJ, et al. Sugar absorption in the intestine: the role of GLUT2. *Annual review of nutrition* 2008; 28: 35-54.
69. Mounien L, Marty N, Tarussio D, et al. Glut2-dependent glucose-sensing controls thermoregulation by enhancing the leptin sensitivity of NPY and POMC neurons. *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 2010; 24: 1747-58.
70. Burcelin R, Dolci W, Thorens B. Glucose sensing by the hepatoportal sensor is GLUT2-dependent: in vivo analysis in GLUT2-null mice. *Diabetes* 2000; 49: 1643-8.
71. Bonny C, Roduit R, Gremlich S, et al. The loss of GLUT2 expression in the pancreatic beta-cells of diabetic db/db mice is associated with an impaired DNA-binding activity of islet-specific trans-acting factors. *Molecular and cellular endocrinology* 1997; 135: 59-65.
72. Okamoto Y, Tanaka S, Haga Y. Enhanced GLUT2 gene expression in an oleic acid-induced in vitro fatty liver model. *Hepatology Research* 2002; 23: 138-44.
73. Jung UJ, Lee MK, Jeong KS, Choi MS. The hypoglycemic effects of hesperidin and naringin are partly mediated by hepatic glucose-regulating enzymes in C57BL/KsJ-db/db mice. *The Journal of nutrition* 2004; 134: 2499-503.

74. Jung UJ, Lee MK, Park YB, et al. Effect of citrus flavonoids on lipid metabolism and glucose-regulating enzyme mRNA levels in type-2 diabetic mice. *The International Journal Of Biochemistry & Cell Biology* 2006; 38: 1134-45.
75. Cordero-Herrera I, Martin MA, Goya L, Ramos S. Cocoa flavonoids attenuate high glucose-induced insulin signalling blockade and modulate glucose uptake and production in human HepG2 cells. *Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association* 2014; 64: 10-9.
76. Cordero-Herrera I, Martin MA, Bravo L, Goya L, Ramos S. Cocoa flavonoids improve insulin signalling and modulate glucose production via AKT and AMPK in HepG2 cells. *Molecular nutrition & food research* 2013; 57: 974-85.
77. Elmendorf JS. Signals that regulate GLUT4 translocation. *Journal of Membrane Biology* 2002; 190: 167-174.
78. Karatepe M. Simultaneous determination of ascorbic acid and free malondialdehyde in human serum by HPLC-UV. *Lc Gc North America* 2004; 22: 362-365.
79. Boyd SG, Boone BE, Smith AR, et al. Combined dietary chromium picolinate supplementation and an exercise program leads to a reduction of serum cholesterol and insulin in college-aged subjects. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 1998; 9: 471-475.
80. Cefalu WT, Wang ZQ, Zhang XH, et al. Oral chromium picolinate improves carbohydrate and lipid metabolism and enhances skeletal muscle Glut-4 translocation in obese, hyperinsulinemic (JCR-LA corpulent) rats. *The Journal of nutrition* 2002; 132: 1107-1114.
81. Khanam R, Pillai KK. Effect of chromium picolinate on modified forced swimming test in diabetic rats: involvement of serotonergic pathways and potassium channels. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* 2006; 98: 155-159.
82. Pala R, Çınar V, Kılıç Y, Karadağ M, Alpay N, Orhan S. Comparison of Certain Blood Values of Coaches of National Boxing Team Before and After Matches *Advances in Environmental Biology* 2013; 7: 689-692.

83. Turğut M. Egzersizuygulanan Ratlarda Biyotin Ve Krom Histidinatın Glukoz Metabolizması PPAR- γ , IRS-1 Ve NF-Kb Ekspresyonu Üzerine Etkileri, Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Beden Eğitimi Ve Spor Anabilim Dalı, Elazığ. 2016.
84. Beyaz F. Egzersiz uygulanan ratlarda koenzim Q10'nun bazı oksidatif stres parametreleri ve ısı şok proteinleri üzerine etkileri, Yüksek Lisans Tezi (Yayınlanmamış Tez), Elazığ: Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2016
85. Şahin K, Küçük O, Şahin N, Ozbey O. Effects of dietary chromium picolinate supplementation on egg production, egg quality and serum concentrations of insulin, corticosterone, and some metabolites of Japanese quails. Nutrition Research 2001; 21: 1315-1321.
86. Sahin K, Sahin N, Kucuk O. Effects of chromium, and ascorbic acid supplementation on growth, carcass traits, serum metabolites, and antioxidant status of broiler chickens reared at a high ambient temperature (32 C). Nutrition Research 2003; 23: 225-238.
87. Cighetti G, Duca L, Bortone L, et al. Oxidative status and malondialdehyde in β -thalassaemia patients. European journal of clinical investigation 2002; 32: 55-60.
88. Goode HF, Cowley HC, Walker BE, et al. Decreased antioxidant status and increased lipid peroxidation in patients with septic shock and secondary organ dysfunction. Critical care medicine 1995; 23: 646-651.
89. Doddigarla Z, Ahmad J, Parwez I. Effect of chromium picolinate and melatonin either in single or in a combination in high carbohydrate diet-fed male Wistar rats. BioFactors 42 (1): 106-114.
90. Sahin K, Tuzcu M, Orhan C, et al. Anti-diabetic activity of chromium picolinate and biotin in rats with type 2 diabetes induced by high-fat diet and streptozotocin. British Journal of Nutrition 2013; 110: 197-206; 205.
91. Selcuk MY, Aygen B, Dogukan A, et al. Chromium picolinate and chromium histidinate protects against renal dysfunction by modulation of NF- κ B pathway in high-fat diet fed and Streptozotocin-induced diabetic rats. Nutrition & metabolism 2012; 9: 1.

92. Pala R, Savucu Y. Boks Milli Takımının Avrupa Şampiyonasına Hazırlık Kampları Süresince Bazı Fiziksel ve Oksidatif Stres Parametrelerinin İncelenmesi, Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Tıp Dergisi 2011; 115-120.
93. Pala R. Investigation of the Oxidative Stress Parameters of Elite Boxers. Australian Journal of Basic and Applied Sciences 2013; 7: 692-696.
94. Pala R, Çınar V, Kılıç Y, et al. Examining certain oxidative stress parameters of coaches of Turkish national boxing team before and after the matches. European Journal of Experimental Biology 2013; 3: 558-561.
95. Kim SH. Effect of exercise on glyucose metabolism. The Journal of Korean Diabetes 2011; 12: 21-4.
96. Jeong IG, Oh MJ, Jang MN, et al. Effects of Dietary Caloric Restriction and Exercise on GLUT 2 in Liver and GLUT-4 and VAMP-2 in Muscle Tissue of Diabetic Rats. Journal of Exercise Nutrition & Biochemistry 2009; 13:1-7.
97. Ha TG, Kim JC. The effects of endurance training combined with rosiglitazone on the expression of PPARs, PGC-1 α , GLUT-4 and p-AMPK- α 2 in the skeletal muscle of diabetic induced-rats. Journal of Exercise Nutrition & Biochemistry 2009; 13: 131-140.
98. Jessen N, Pold R, Buhl ES, et al. Effects of AICAR and exercise on insulin-stimulated glucose uptake, signaling, and GLUT-4 content in rat muscles. Journal of Applied Physiology 2003; 94: 1373-1379.
99. Boyda HN, Ramos-Miguel A, Procyshyn RM, et al. Routine exercise ameliorates the metabolic side-effects of treatment with the atypical antipsychotic drug olanzapine in rats. International Journal of Neuropsychopharmacology 2014; 17: 77-90.
100. Morato PN, Lollo PC, Moura CS, et al. Whey protein hydrolysate increases translocation of GLUT-4 to the plasma membrane independent of insulin in wistar rats. PloS one 2013; 8: 7.
101. Lee SS, Seo H, Ryu S, et al. The effect of swimming exercise and powdered-Salicornia herbacea L. ingestion on glucose metabolism in STZ-induced diabetic rats. Journal of exercise nutrition & biochemistry 2015; 19: 235.

8. EKLER

EK-1



T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ ETİK KURULU BAŞKANLIĞI



ETİK KURULU KARARI

TOPLANTI TARİHİ	TOPLANTI SAYISI	KARAR NO	ÖZÜ
08.01.2014	2014/01	09	Yrd. Doç. Dr. Ragıp PALA

KARAR

"Egzersiz Uygulanan Ratlarda Krom Pikolinat Takviyesinin Glukoz ve Lipid Metabolizması Üzerine Etkisi" başlıklı araştırma projenizde 42 Adet wistar albino rat kullanılacağı ve hayvanlar üzerinde yapılacak girişimlerde hayvan kullanım etiği ilkelerine uyulacağı beyan edilmiştir. Bu çerçevede, anılan projenin "Hayvan Deneyleri Etik Kurullarının Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Yönetmelik" hükümleri yönünden uygun olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.

GÖREVİ	ADI SOYADI	BÖLÜMÜ	İMZA
Başkan	Prof. Dr. Yesari ERÖKSÜZ	Veteriner Fakültesi	İMZA
Üye	Prof. Dr. Murat ÖGETÜRK	Tıp Fakültesi	İMZA
Üye	Doç. Dr. Sinan CANPOLAT	Veteriner Hekim	İMZA
Üye	Doç. Dr. Azize BEŞTAŞ	Tıp Fakültesi	İMZA
Üye	Doç. Dr. Mehmet Kaya ÖZER	Tıp Fakültesi	İMZA
Üye	Doç. Dr. Gülsüm ÖKSÜZTEPE	Veteriner Fakültesi	İMZA
Üye	Doç. Dr. Gaffari TÜRK	Veteriner Fakültesi	İMZA
Üye	Şahin KARA	Sivil Üye	Bulunmadı
Üye	Murat DAĞHAN	Sivil Üye	Bulunmadı

Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu
Bölge: 46100 Kadirli / Şanlıurfa - Türkiye
E-posta: etik@firat.edu.tr

9. ÖZGEÇMİŞ

Elazığ ilinde 1983 tarihinde doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Elazığ'da tamamladı. 1995--2006 yılları arası amatör boks sporuyla uğraştı.

2006 yılında Fırat üniversitesi BESYO'dan mezun olup 2008 yılında Bingöl ilinde öğretmenliğe başladı ve Elazığ ilinde öğretmenliğe devam etmektedir. Yabancı dili İngilizce olup evli ve iki çocuk babasıdır.