

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



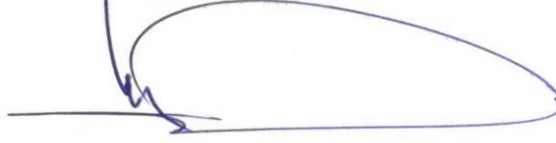
**RATLARDA EGZERSİZ SONRASI SOYA
PROTEİNİ VE AMİLOPEKTİN/KROM
KOMBİNASYONU TÜKETİMİNİN
PROTEİN SENTEZİ VE mTOR SİNYAL
YOLAĞI ÜZERİNE ETKİSİ**

DOKTORA TEZİ

Veysi KAYRI

2019

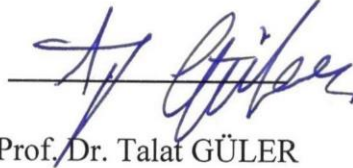
ONAY SAYFASI



Prof. Dr. Mustafa KAPLAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Doktora Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

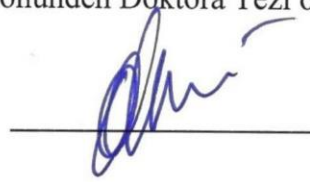


Prof. Dr. Talat GÜLER

Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

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

Prof. Dr. Kazım ŞAHİN



Danışman

Doktora Sınavı Jüri Üyeleri

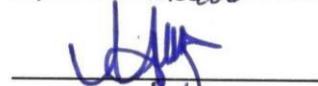
Prof. Dr. Kazım ŞAHİN



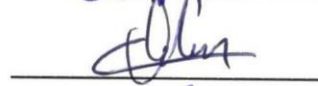
Prof. Dr. Mehmet AVCI



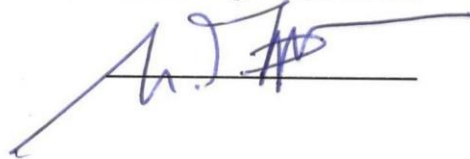
Prof. Dr. Murat Sedat BARAN



Doç. Dr. Cemal ORHAN



Doç. Dr. Mehmet TUZCU





ETİK BEYAN

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

Veysi KAYRI

02/05/2019

Danışman

Prof. Dr. Kazım ŞAHİN

Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı

ELAZIĞ

TEŞEKKÜR

Çalışmamın her aşamasında ilgi ve desteğini esirgemeyen, engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle çalışmamı bilimsel temeller ışığında şekillendiren kıymetli hocam Prof. Dr. Kazım Şahin'e, her konuda yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Nurhan Şahin, Prof. Dr. Hakkı Taştan, Doç. Dr. Cemal Orhan, Doç. Dr. Mehmet Tuzcu ve James R. Komorowski'ye ve her türlü desteğiyle yanımda olan çalışma arkadaşlarım Füsun Erten, Beşir Er, Hafize Telçeken ve Mehmet Irmak'a ve FÜBAP–VF.16.20 nolu proje ile sağladığı maddi destekten dolayı Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Projeler Birimi ve çalışanlarına teşekkür ederim. Her zaman maddi manevi bana güç veren başta annem ve babam olmak üzere tüm sevdiklerime teşekkürlerimi sunarım.

Veysi KAYRI

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	i
ETİK BEYAN	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
TABLO LİSTESİ	vi
ŞEKİL LİSTESİ	vii
KISALTMALAR LİSTESİ	viii
1.ÖZET	1
2. ABSTRACT	2
3. GİRİŞ	3
3.1. Egzersiz	6
3.2. Soya Proteini	8
3.3. Krom	11
3.3.1. Krom Pikolinat	13
3.3.2. Krom Histidinat	14
3.3.3. Krom Metabolizması ve Emilimi	15
3.3.4. Kromun Biyolojik Fonksiyonları	16
3.3.5. Krom Yetersizliği	17
3.3.6. Krom Toksisitesi	18
3.3.7. Krom ve Egzersiz	19
3.4. Amilopektin	19
3.5. İnsülin ve İnsülin Benzeri Büyüme Faktörleri	22
3.6. Protein Sentezi ve Protein Degredasyonunda Sinyal Yolakları	24
3.6.1. Kas Atrofisi	24
3.6.1.1. Ubiquitin Proteazom Yolağı (MAFbx/MuRF1) ve Kas Kitle Kaybı	24
3.6.1.2. IGF-1/PI3K/Akt/mTOR Yolakları ve Kas Atrofisi	26
3.6.1.3. Miyostatin ve Kas Atrofisi	26
3.6.1.4. Oksidatif Stres ve Kas Atrofisi	27
3.6.2. Kas Hipertrofisi	28
3.6.2.1. IGF-1/PI3K/Akt/ mTOR Yolağı ve Kas Hipertrofisi	29

3.6.2.2. Kalsinörin Yolağı ve Kas Hipertrofisi	34
3.7. Amaç	34
4. GEREÇ VE YÖNTEM	36
4.1. Hayvan Materyali	36
4.2. Araştırma Grupları	37
4.3. Laboratuvar Analizleri	39
4.3.1. FSR Analizleri	39
4.3.2. Serum İnsülin, Laktik Asit ve Kas Glikojen Analizleri	40
4.3.3. Amino Asit Analizleri	41
4.3.4. Proteinlerin Analizi	42
4.3.4.1. Dokuların Homojenizasyonu	42
4.3.4.2. SDS-PAGE Analizleri	43
4.3.4.3. Western Blot Analizi	44
4.3.5. İstatistiksel Analizler	46
5. BULGULAR	47
6.TARTIŞMA	62
7. KAYNAKÇA	71
8. ÖZGEÇMİŞ	81

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Soya Fasulyesi Besin Madde Bileşimi	10
Tablo 2. Soya Proteini Amino Asit İçeriği	11
Tablo 3. İnsanlarda Krom Eksikliği Sonucunda Görülen Durumlar	18
Tablo 4. Nişasta Kaynakları ve Granül Yapısı	20
Tablo 5. Rasyonun Bileşimi ve Besin Maddesi Değerleri	37
Tablo 6. SDS-PAGE için Jellerin Hazırlanması	44
Tablo 7. Soya Proteini, Krom ve Amilopektinin Kombinasyonunun Serum FSR, Glikojen, Laktik Asit ve İnsülin Üzerine Etkisi	48
Tablo 8. Soya Proteini, Krom ve Amilopektinin Kombinasyonunun Serum Amino Asit Profiline Etkisi	50
Tablo 9. Soya Proteini, Krom ve Amilopektinin Kombinasyonunun Kas Amino Asit Profili Üzerine Etkisi	52

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	Soya Fasulyesi Bitkisi ve Taneleri	9
Şekil 2.	Krom Pikolinatın Kimyasal Yapısı	14
Şekil 3.	Histidinin Kimyasal Yapısı	15
Şekil 4.	Amilozun Yapısı	20
Şekil 5.	Amilopektinin Yapısı	21
Şekil 6.	mTOR/IGF-II Ekspresyonu	30
Şekil 7.	Akt- mTOR Sinyal Yolağı, 4EBP1 ve p70S6K Aktivasyonu, Akt Aracılığıyla FOXO'nun Baskılanması ve mTOR'un Smad2 Kanalıyla Kas Atrofisinde Aktif Rol Oynayan Myostatin Yolağının İnhibisyonu	33
Şekil 8.	Araştırmanın Deneme Düzeni	38
Şekil 9.	Soya Proteini, Krom ve Amilopektin Kombinasyonunun Kas FOXO1 Düzeyleri Üzerine Etkisi	53
Şekil 10.	Soya Proteini, Krom ve Amilopektin Kombinasyonunun Kas FOXO3 Düzeyleri Üzerine Etkisi	54
Şekil 11.	Soya Proteini, Krom ve Amilopektin Kombinasyonunun Kas IGF-1 Düzeyleri Üzerine Etkisi	55
Şekil 12.	Soya Proteini, Krom ve Amilopektin Kombinasyonunun Kas MAFbx Düzeyleri Üzerine Etkisi	56
Şekil 13.	Soya Proteini, Krom ve Amilopektin Kombinasyonunun Kas 4E-BP1 Düzeyleri Üzerine Etkisi	57
Şekil 14.	Soya Proteini, Krom ve Amilopektin Kombinasyonunun Kas MuRF-1 Düzeyleri Üzerine Etkisi	58
Şekil 15.	Soya Proteini, Krom ve Amilopektin Kombinasyonunun Kas Akt Düzeyleri Üzerine Etkisi	59
Şekil 16.	Soya Proteini, Krom ve Amilopektin Kombinasyonunun Kas mTOR Düzeyleri Üzerine Etkisi	60
Şekil 17.	Soya Proteini, Krom ve Amilopektin Kombinasyonunun Kas p70S6 Kinaz Düzeyleri Üzerine Etkisi	61

KISALTMALAR LİSTESİ

4E-BP1	: Ökaryotik Translasyon Başlatıcı Faktör 4E Bağlayıcı
ActRIIB	: Aktivin Reseptör Tip IIB
Akt	: Protein Kinaz B
Ang-II	: Anjiotensin-II
CAS	: Kimyasal Servis Numarası
CnA	: Kalsinörin
CrHis	: Krom Histidinat
CrPik	: Krom Pikolinat
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
EAA	: Esansiyel Amino Asit
eIF4E	: Ökaryotik Translasyon Başlatıcı Faktör 4E
Fe	: Demir
FIG	: n-formiminoglutamatı
FOXO	: Forkhead Box O
FOXO1	: Forkhead Box O1
FOXO3	: Forkhead Box O3
FSR	: Fraksiyonel Protein Sentezi
FÜDAM	: Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi
FÜHADEK	: Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu
GLUT-4	: Glikoz Transporter-4
GTF	: Glikoz Tolerans Faktör
HCl	: Hidroklorik Asit
IGF-1R	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü Reseptörü 1
IGF-I	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü I
IGF-II	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü II
IRS-I	: İnsülin Reseptörü Substrat-1
LMWCr	: Düşük Moleküler Ağırlıklı Krom
MAFbx	: Atrogin- 1/ Kas atrofi F- β ox
mRNA	: Mesajcı Ribo Nükleik Asit
mTOR	: Rapamisin Kompleksinin Memeli Hedefi

MURF1	: Fosforile Kas Ring Finger 1
NAD(P)H	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NFAT	: Nükleer Faktör Aktive T Hücreleri
NF-κB	: Nükleer Faktör Kappa Beta
NOX	: Adenin Dinükleotid Fosfat-Oksidaz
p70S6K	: 70 kDa Ribozomal Protein S6 Kinaz
PI3K	: Fosfotidilinozitol-3-Kinaz Protein 1
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
S6K1	: Ribozomal Protein S6 Kinaz
SAK	: Soya Proteini, Amilopektin ve Krom Kombinasyonu
SMAD2	: Mothers Against Decapentaplegic Homolog 2
TGF-β	: Dönüştürücü Büyüme Faktörü Beta
TGF-β1	: Dönüştürücü Büyüme Faktör Tip Beta 1
TNF-α	: Tümör Nekrozis Faktör Alfa1

1.ÖZET

Bu çalışma, egzersiz uygulanan ratlarda soya proteini, amilopektin ve krom (SAK) kombinasyonunun protein sentezi ile bu sentezde (mTOR yolağı, IGF-I ve Akt) ve proteolizde (FOXO1; MURF1, MAFbx) rol oynayan sinyal yolakları üzerindeki etkisini araştırmak üzere yürütülmüştür. Çalışmada, 35 adet Wistar albino ratı rastgele beş gruba ayrılmıştır: (1) Kontrol (K); (2) Egzersiz (E); (3) Egzersiz + Soya Proteini (E + S); (4) Egzersiz + Soya Proteini + Krom (E + S + Cr); (5) Egzersiz + Soya Proteini + Amilopektin + Krom (E + S + A + Cr). Egzersiz sonrası SAK'ın verilmesi, protein sentezinin fraksiyonel oranını (FSR), insülin, glikojen ve amino asit düzeylerini önemli ölçüde arttırmıştır ($P<0.05$). Ancak, SAK takviyesi laktik asit konsantrasyonunu azaltmıştır ($P<0.05$). Ayrıca, SAK uygulaması, forkhead box protein O1 (FOXO1) ve forkhead box protein O3 (FOXO3) (ubiquitin proteoliz düzenleyicileri) ve kas atrofisi F-box (MAFbx) düzeylerinde bir azalmaya neden olmuştur ($P<0.05$). İnsülin benzeri büyüme faktörü 1 (IGF-1) düzeyi ise E + S, E + S + Cr ve E + S + A + Cr gruplarında artmıştır ($P<0.05$). SAK ilavesinden sonra 4E-BP1, Akt, mTOR ve S6K1 düzeylerinin fosforilasyonu artarken, fosforile kas ring finger 1 (MuRF-1) düzeyleri, E grubuna kıyasla önemli ölçüde daha düşük bulunmuştur ($P<0.05$). Bu sonuçlar, egzersiz sonrası SAK takviyesinin FSR, insülin ve glikojen seviyelerini iyileştirdiğini göstermektedir. SAK, ubiquitin-proteazom yolağını inhibe ederek ve anabolik metabolizmayı indükleyerek protein sentezini geliştirebilir.

Anahtar Kelimeler: Soya proteini, Amilopektin, Krom, Protein sentezi, Ubiquitin-proteazom Yolağı.

2. ABSTRACT

The effect of soy protein and combination of chromium/amylopectin intake on protein synthesis and mTOR pathways in after exercise in rats

The present study was conducted to investigate the effect of the combination of soy protein, amylopectin and chromium (SAC) on protein synthesis, signal transduction pathways involved in protein synthesis (mTOR pathways, IGF-1 and Akt) and proteolysis (FOXO1; MURF1, MAFbx) in exercised rats. Thirty-five Wistar rats were randomly divided into 5 groups: 1) Control (C); 2) Exercise (E); 3) Exercise+Soy Protein (E+S); 4) Exercise+Soy Protein+Chromium (E+S+Cr) and 5) Exercise+Soy Protein+ Amylopectin +Chromium (E+S+A+Cr). Post-exercise ingestion of SAC significantly increased the fractional rate of protein synthesis (FSR), insulin, glycogen, and amino acid levels with the highest effect observed in E+S+A+Cr group ($P<0.05$). However, SAC supplementation decreased the lactic acid concentration ($P<0.05$). A reduction in forkhead box protein O1 (FOXO1) and forkhead box protein O3 (FOXO3) (regulators of ubiquitin-related proteolysis) and muscle atrophy F-box (MAFbx) levels was noted after treatment with SAC ($P<0.05$). Insulin-like growth factor 1(IGF-1) level was increased in the E+S, E+S+Cr and E+S+A+Cr groups ($P<0.05$). While the phosphorylation of 4E-BP1, Akt, mTOR and S6K1 levels increased after SAC supplementation, phosphorylated muscle ring finger 1 (MuRF-1) was found to be significantly lower compared with the E group ($P<0.05$). These results indicate that SAC supplementation improves FSR, insulin and glycogen levels after exercise. SAC improves protein synthesis by inhibiting the ubiquitin-proteasome pathway and inducing anabolic metabolism.

Keywords: Soy protein, Amylopectin, Chromium, Protein synthesis, Ubiquitin-proteasome Pathway.

3. GİRİŞ

Soya proteini soya fasulyesinden elde edilen, kazein proteini ve albümin gibi tüm temel amino asitleri içeren ve biyoyararlanımı yüksek olan bir protein kaynağıdır. İnsan vücudu tarafından sentezlenemeyen ve dışardan alınması zorunlu olan esansiyel amino asitleri (EAA) içerdiği için herkes tarafından süt ürünleri yerine rahatlıkla kullanılabilir (1). Soya proteini hiç kolesterol içermediği ve bünyesinde çok az miktarda yağ bulundurduğu için canlı organizmada yağlanmaya yol açmadan kas yapımını artırıcı etki gösterebilmektedir (2, 3).

Glikoz moleküllerinin bir araya gelerek oluşturdukları nişastanın, amiloz ve amilopektin olmak üzere iki temel bileşeni vardır. Amiloz, glikoz moleküllerinin düz zinciri formunda yapı göstermesine karşılık, amilopektin zincir üzerinde dallanmış bir yapı göstermektedir (4). Nişastada yaklaşık olarak %20-30 oranında bulunan amiloz, sıcak suda dağınık halde çözünür. Amilopektin ise nişastanın yaklaşık olarak %70'lik bir bölümünü oluşturmaktadır. Amilopektin sıcak suda ısıtılırsa önce hacim kazanarak şişer, daha sonra ise üzeri zamlarla kaplanır. Amilopektinin bu özelliği dallanmış molekül yapısından kaynaklanmaktadır. Amilopektin serum insülin ve kan glikoz konsantrasyonunu hızlı bir şekilde arttırabilme özelliğine de sahiptir (4).

Canlı organizmada insülin, açlık kontrolünde, enerji üretimini ayarlama, yağların yakılmasında, kas oluşumunda ve kolesterol kullanımında rol almaktadır (5). Yapılan çalışmalarda insülinin protein sentezini uyardığı, iskelet kasında ve tüm vücuttaki protein yıkımını engellediği ortaya konmuştur (3, 6). İnsülinin protein sentezini uyarması mekanizmasında, insülinin akut hareketi, hücre içinde hazır bulunan protein sentezini başlatıcı faktörlerin fosforilasyonu ile mesajcı

ribonükleik asit (mRNA)'nın iletimiyle başlamaktadır. Ayrıca, vücutta yeterli miktarda protein ve/veya esansiyel amino asit olması durumunda insülin kas protein sentezini uyarırken, kanda esansiyel amino asitlerin düşük miktarlarda olması durumunda ise insülin kas protein sentezini yavaşlatıcı etki göstermektedir (6, 7). İnsülin kofaktörü olarak da bilinen krom (Cr) karbonhidrat, yağ ve protein sentezinde görev almaktadır (8-10). Ayrıca krom, insülinin etkisini artırarak glikoz metabolizması üzerine etki etmektedir (8, 11). Tip 2 diyabetli hastalarda (8), obez kedilerde (11) ve yüksek yağlı diyet ile beslenen ratlarda (12) yapılan çalışmalarda, diyetle krom pikolinat (CrPik) ve krom histidinat (CrHis) takviye edilmesi ile insülin duyarlılığının arttığı rapor edilmiştir. Öte yandan, koşu bandı egzersizinin iskelet kası protein sentezini baskıladığı ve protein içeren yiyeceklerin sindirimi veya sadece lösinin egzersizden sonra alımının iskelet kasındaki protein sentezini teşvik ettiği belirtilmiştir (2, 7, 13).

Protein sentezinde rol oynayan iki ana sinyal yolağı vardır. İnsülin benzeri büyüme faktörü1/fosfatidilinozitol-3-kinaz/Akt/rapamisin kompleksinin memeli hedefi yolağı (IGF-1/PI3K/Akt/m TOR), protein sentezinde pozitif düzenleyici olarak rol alırken, dönüştürücü büyüme faktörü β (TGF- β) ailesinin bir üyesi olan miyostatin yolağı ise negatif düzenleyici bir rol alarak protein sentezine engel olmaktadır (14). İnsülin benzeri büyüme faktörü1'in hücre membranı reseptörüne bağlanıp PI3K'yi aktif hale geçirdikten sonra, sinyali hücre içerisine göndermesi, protein sentezinin aktivasyonu için bir başlangıçtır (14, 15). Bu basamaktan sonra, PI3K tarafından fosforlanan Akt, mTOR'u aktif duruma geçirir ve protein sentezinin daha hızlı bir şekilde gerçekleşmesine yardımcı olur (15). Yapılan *in vitro* ve *in vivo* araştırmalarda, bu yolak aktivitelerini arttıran veya azaltan

uygulamalar, IGF-1'in protein sentezi ve protein rejenerasyonunda önemli fonksiyonlarda rol aldığını ortaya koymaktadır (16, 17). Canlı organizmada IGF-1 yolağının iki üyesi Akt ve mTOR, kas hücresinde protein döngüsü bakımından önem arz etmektedirler (18). Bu bağlamda, mTOR, Akt tarafından aktive edildikten sonra hedef moleküller olan ökaryotik translasyon başlatıcı faktör 4E-binding protein 1 (4E-BP1) ve 70kDa ribozomal protein, ribozomal protein S6 kinaz'ı (S6K1) uyararak translasyonun artmasını sağlamaktadır (14, 19, 20). Normal koşullarda 4E-BP1, ökaryotik translasyon başlatıcı faktör 4E (eIF4E)'e bağlanıp translasyonu baskılayan bir görev üstlenirken, mTOR'un 4E-BP1'i fosforlaması ile eIF4E aktif hale gelir ve translasyonun daha hızlı bir şekilde olmasını sağlar (20-22). Translasyon mekanizmasını kontrol eden bir diğer önemli sinyal molekülü olan ökaryotik elongasyon faktörü 2 (eEF2) ise, mTOR tarafından 70 kDa ribozomal protein S6 kinaz (p70S6K) üzerinden dolaylı olarak regüle edilmektedir (22, 23). Öte yandan mTOR yolağı genel olarak kasa etki eden baskının artmasıyla aktif hale gelmekte ve toparlanma döneminde yaklaşık bir saat içinde protein sentezini arttırmaktadır (24). Canlı organizmada Akt, mTOR aracılığı ile protein yapımını kontrol ederken, FOXO transkripsiyon faktörleri aracılığı ile protein yıkımını kontrol etmektedir (22, 25). mTOR ise, sekiz protein yıkımından sorumlu olan miyostatin yolağındaki mothers against decapentaplegic homolog 2 (SMAD2) proteini inhibe ederek protein yıkımına engel olurken, aynı zamanda 4E-BP1 fosforilasyonunu regüle ederek protein sentez hızını arttırmaktadır (26). Miyostatin-SMAD2/3 sinyal yolağı, kas hipertrofisini kumanda eden ikinci ana yolak, TGF- β ailesinin bir elemanı olan miyostatindir. İskelet kası tarafından sentezlenen miyostatin, hücre

membranındaki aktivin reseptör tip IIB (ActRIIB)'ye bağlanarak protein siklusunu olumsuz olarak regüle etmektedir (27, 28). Miyostatinin ActRIIB'ye bağlanması ile aktive olan SMAD2 ve SMAD3, Akt fosforilasyonunu engellemektedir. Bununla birlikte Akt, normalde protein sentezini korumak üzere FOXO transkripsiyon faktörlerinin fosforlanmasını baskılamaktadır (29). Bu transkripsiyon faktörleri aktive olmuş haldeyken, fosforile kas ring finger-1 (MuRF1) ve atrogin-1 olarak da bilinen MAFbx isimli iskelet kasına spesifik iki ubiquitin ligazın ekspresyonunu sağlamaktadır (28, 30). Ayrıca Akt'nin yeteri kadar fosforile olmaması, FOXO transkripsiyon faktörlerinin fosforilasyonunu engelleyemeyeceği için, FOXO aktivasyonunu sürdürür ve MuRF1 ile MAFbx ekspresyonu artar (28, 31).

3.1. Egzersiz

Bazal seviyenin üzerindeki iskelet kaslarındaki kasılmalar genel olarak fiziksel aktivite olarak adlandırılmaktadır. Fiziksel aktiviteler içerisinde yer alan egzersiz, temel olarak kas hareketleri olarak tanımlanmaktadır. Egzersiz, vücut kondüsyonunu ve gücünü arttırmakla beraber, organizmadaki fonksiyon bozukluklarını veya hareketsizlik neticesinde ortaya çıkan rahatsızlıkları gideren kas hareketleri olarak tanımlanmıştır (32, 33). Egzersiz bütün bu fonksiyonlarını canlı organizmada doku ve organlara yeterli ve dengeli bir şekilde oksijen dağılımını gerçekleştirerek sağlamaktadır (34, 35). Yapılan çalışmalar, egzersizin fizyolojik ve psikolojik olarak iyileşmeye sebep olduğu, hormonal sistem üzerindeki etkileriyle ise stres ve depresyon durumunun belirtilerini gidermeye yardımcı olduğu belirlenmiştir (35, 36).

Vücutta aniden yapılan egzersizlerde oksijen eksikliği ve egzersizin sürekliliği için enerji ihtiyacı şekillenmektedir. Organizmadaki metabolik olaylarda, kardiyovasküler sistemde ve termoregülatör sistemdeki adaptasyonlarda sapmalar meydana gelmektedir. Bu sapmalar, egzersizin şiddeti ve süresi, vücudun genel durumu, yaş ve beslenme gibi parametrelerden etkilenmektedir. Düzenli olarak yapılan egzersizlerde, bu parametreler pozitif yönde değişiklikler göstermektedir (33). Yapılan çalışmalarda akut egzersizin lipid peroksidasyon düzeyinde artışa neden olduğu belirlenmiştir (35, 37, 38). Ratlar üzerinde yapılan çalışmalarda, kalpte antioksidan enzim aktivitesinin akut egzersizde kronik egzersizden daha fazla olduğu saptanmış ve bu durumun nedeni olarak tükenme egzersizinde artan süperoksit ve oksiradikal üretimini karşılayabilmek için olaya dâhil olan dengeleyici mekanizmadan kaynaklı olduğu düşünülmüştür (35, 39).

Oksijen tüketimi ile serbest radikallerin üretimi arasında doğru bir ilişki mevcuttur. Artan oksijen tüketiminin beraberinde getirdiği serbest radikaller gerek enzimatik gerekse de non-enzimatik antioksidan faktörlerle etkisiz hale getirilmektedir. Egzersizin, reaktif oksijen türleri (ROT) ve bunları nötralize eden antioksidanlar arasında oksidatif stres olarak adlandırılan bir dengesizlik oluşturduğu beyan edilmiştir (40). Düzenli ve düşük ya da orta aktivitedeki egzersizler canlı organizma üzerinde birçok fayda sağlarken, yüksek aktivitede yapılan ve oksijen tüketimini ciddi miktarda artıran egzersizlerin serbest radikal üretimini arttırmasından dolayı beraberinde getirdiği oksidatif stresin oluşturduğu hasar oranında artışlar gözlemlenmektedir (35, 41).

3.2. Soya Proteini

Modern dönemde hayvan besleme alanındaki gelişmelerle birlikte rasyonlar, organizmada özel fizyolojik etkiler gösteren, beslenmeye bağlı hastalıkları minimize eden, karbonhidrat yağ ve protein gibi vücudun ihtiyaç duyduğu temel besin öğelerini içeren, minimum zamanda maksimum verim prensibine dayalı olarak hazırlanmaktadır. Bünyesinde azot ihtiva etmesiyle yağ ve karbonhidratlardan ayrılan proteinler, dokuların yapısına girmeleri, tamiri, birçok hormon ve vücut sıvılarının salgılanmasında rol almaları, bağışıklık sistemini kuvvetlendirmeleri, diğer metabolik ve yapısal olayların düzenlenmesi, azotlu maddelerin sentezinde rol almaları sebebiyle canlı organizma için hayati öneme sahiptirler (42).

Bitkisel bir protein kaynağı olan soya fasulyesi (*Glycine max*), baklagiller familyasından olup boyu 1 ile 1.8 m aralığında değişebilen tek yıllık bir bitkidir (43, 44). Siyah, sarı ya da kahverengi tonlarında olabilen soya fasulyesi yetiştiriciliği Çin’de M.Ö. 3000 yıllarından beri yapılıyor olsa da dünyanın diğer bölgelerinde üretimi 20. yüzyılda yapılmaya başlanmıştır.



Şekil 1. Soya Fasulyesi Bitkisi ve Taneleri

Soya fasulyesinden elde edilen soya proteini, insan ve hayvan vücudu için gerekli birçok amino asit, mineral ve vitamin içeren, yüksek kaliteli bir bitkisel protein kaynağı olup, kaslar tarafından çok hızlı bir şekilde değerlendirilmektedir (2, 44). Tohumlarında %18-24 yağ, %35-45 protein, %30 karbonhidrat ve %5 oranında mineral, çok sayıda vitamin ve dışarıdan alınması zorunlu olan esansiyel amino asitleri içeren ve toprağa organik madde ile azot sağlayan bir bitki olan soya fasulyesinin ülkemizde hem insan hem de hayvan beslemedeki önemi giderek artmaktadır (44). Bitkisel kaynaklı olan soya proteinleri içerdiği besin öğeleri bakımından hayvansal protein kaynağı olan et kadar değerlidir. Soya proteini et ile kıyaslandığı zaman daha az kolesterol ve yağ içermektedir. Bu yapısından dolayı soya proteini, beslenme bakımından yüksek değerlikli protein kaynağı olarak ele alınmaktadır (45). Soya proteini, içerisinde hiç kolesterol bulundurmadığı ve çok az miktarda yağ bulundurduğundan dolayı canlı organizmada yağlanmaya yol açmadan kas yapımını artırıcı etki gösterebilmektedir (2, 44, 46).

Soya proteini, dallı zincirli amino asitler bakımından genel olarak zengin olsa da EAA olan metiyonin bakımından oldukça fakirdir (1). Ancak, son zamanlarda soya proteinine harici metiyonin takviyesi ile peynir altı suyu proteini ile kıyaslanabilir bir bitkisel protein kaynağı halini almıştır. Soya proteini, laktoz bulundurmaması sebebiyle laktoz intoleransı olan bireyler tarafından özellikle tercih edilen bir protein kaynağı halini almıştır. Yapılan çalışmalarda soya proteinindeki isoflavonların, testosteron seviyesini azaltmadığı ve kas hipertrofisine engel olmadığı beyan edilmiştir (46, 47). Soya fasulyesinin besin madde bileşimi Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1. Soya Fasulyesi Besin Madde Bileşimi (48)

Besin Madde	100 g
Enerji (kcal)	416 kcal
Protein	36.50 g
Karbonhidrat	30.20 g
Toplam yağ	19.90 g
Kül	4.90 g
Selüloz	9.30 g
Doymuş yağ asitleri	2.90 g
Mono-doymamış yağ asitleri	4.40 g
Poli-doymamış yağ asitleri	11.30 g
İzoflavonlar	200.00 mg
Çinko	4.90 mg
Demir	15.70 mg
Fosfor	704.00 mg
Kalsiyum	277.00 mg
Manganez	2.52 mg
Magnezyum	280.00 mg
Bakır	1.70 mg
Sodyum	2.00 mg
Potasyum	1797 mg
C Vitamini (askorbik asit)	6.00 mg
E Vitamini	1.95 mg
Niyasin (B3 Vitamini)	1.62 mg
Tiyamin (B1 Vitamini)	0.874 mg
B6 Vitamini	0.38 mg
Riboflavin (B2 Vitamini)	0.87 mg
A Vitamini	2.00 µg
Selenyum	17.80 µg
Folikasit	375 µg

Soya proteininde, glutamik asit diğer amino asit tiplerine oranla daha fazla bulunmaktadır. Glutamik asit ve aspartik asit, soya proteininde bulunan amino asitlerin yaklaşık olarak %30'unu oluşturmaktadır (1). Soya proteininin içerdiği amino asit sayıları çalışmalarda 16 (46), 18 (46, 49) ve 20 (44, 49) gibi değişik sayılarla ifade edilmiştir. Soya fasulyesinden yağ ve karbonhidratların ekstraksiyonuyla elde edilen soya proteinindeki protein oranı %90 dolaylarındadır. Soya proteinlerinin içerdikleri amino asitler Tablo 2'de verilmiştir (1, 44).

Tablo 2. Soya Proteini Amino Asit İçeriği (1)

Amino Asidin Adı	Soya (%)	Yan Zincirin Yapısı
Glisin	8.8	Hidrokarbon
Alanin	7.5	Alanin
Fenilalanin	4.4	Fenilalanin
Tirozin	--	Polar
Serin	6.4	Polar
İzolösin	4.8	Fenilalanin
Lösin	9.8	Hidrokarbon
Treonin	4.3	Polar
Aspartik Asit	12.8	Asidik
Valin	6.3	Hidrokarbon
Glutamik Asit	18.2	Asidik
Lizin	3.9	Bazik
Arjinin	0.8	Bazik
Histidin	5.5	Bazik
Sistin	0.1	Sülfür İçeriği
Metiyonin	0.8	Sülfür İçeriği
Prolin	5.6	Heterosiklik
Triptofan	--	Heterosiklik

3.3. Krom

İlk kez 1797 yılında Fransız kimyacı Louis Nicolas Vauquelin tarafından Sibirya'da bulunan Cr elementi, birinci dünya savaşına kadar çok fazla kullanılmamıştır. Top namluları dökümünde kullanılacak metaller üzerinde

çalışma yapan İngiliz bilim insanı Harry Brearley, 1913 yılında, deposunda bulunan birkaç çelik parçası dışında geriye kalanların paslandığını görür. Paslanmayan çelikler üzerinde başlattığı çalışmalarda ise bu çeliklerin paslananlardan farklı olarak %14 oranında Cr içerdiğini belirlemiştir. Bu buluş paslanması istenmeyen çatal bıçak gibi malzemelerin üretimine olanak sağlamıştır (50). Toprakta yaklaşık olarak 37-40 ppm; içme suyunda ise, 0.4-8.0 µg/L arasında bulunan Cr doğada en çok bulunan elementlerden biridir (51).

Doğada 3 ve 6 değerlikli iki formu bulunan Cr'un, atom numarası 24, kütle numarası ise 52'dir. Krom asetat, krom aspartat, krom klorür, krom sitrat ve krom triklorür kromun 3 değerlikli formunun örnekleridir. Canlı organizma üzerinde oldukça önemli fonksiyonlara sahip olan CrPik, %88 pikolinik asit ve %12 Cr içermektedir. CrPik'ın diyetel olarak gastro-intestinal sistemden emilimi %0.5-2.0 arasında olup diğer Cr formlarına göre daha iyidir (22, 52).

Bitkilerde bitkinin türüne, toprağın yapısına ve bitkinin hasat dönemine göre değişik miktarlarda Cr bulunmaktadır (22, 53). Hayvansal ürünler, meyve ve sebzelerde az miktarda bulunan Cr, bilhassa tahıl ürünleri, hububat, mantar, baharatlar, esmer şeker, kahve, çay ve birada bulunmaktadır (10, 55). Canlı organizmada Cr'un, 3 ve 6 değerlikli formları önem arz etmektedir. Diyetle esansiyel olarak bulunan Cr'un 3 değerlikli formunun, yapılan çalışmalarda karsinogenik etkileri kanıtlanmamıştır. Kromun 6 değerlikli formları ise karsinogenik etkiye sahiptir ve insan vücudu için toksik etki gösterdiğinden dolayı kullanımı uygun karşılanmamaktadır. Ayrıca Cr⁺⁶'nın Cr⁺³'e göre toksisitesi daha yüksektir (10, 55). Kromun çok sayıda oksidasyon basamağı olmasına rağmen sadece 3 ve 6 değerlikli formları biyolojik sistemlerde bulunmaktadır (56, 57).

Yaşlılar ve diyabetli hastalarda Cr eksikliğinin saptanması, dikkatleri Cr'un biyolojik etkileri üzerinde yoğunlaştırmıştır (57). Dışardan alınması zorunlu olan Cr elementi glikoz, insülin, lipit ve protein metabolizmalarında rol almaktadır (56). Yapılmış olan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda Cr'un insülinin hücrelerindeki reseptörlere bağlanarak, insülin reseptör sayısını ve insülin reseptör kinaz etkinliğini arttırarak insülin duyarlılığını tetiklediği belirtilmiştir (56-58).

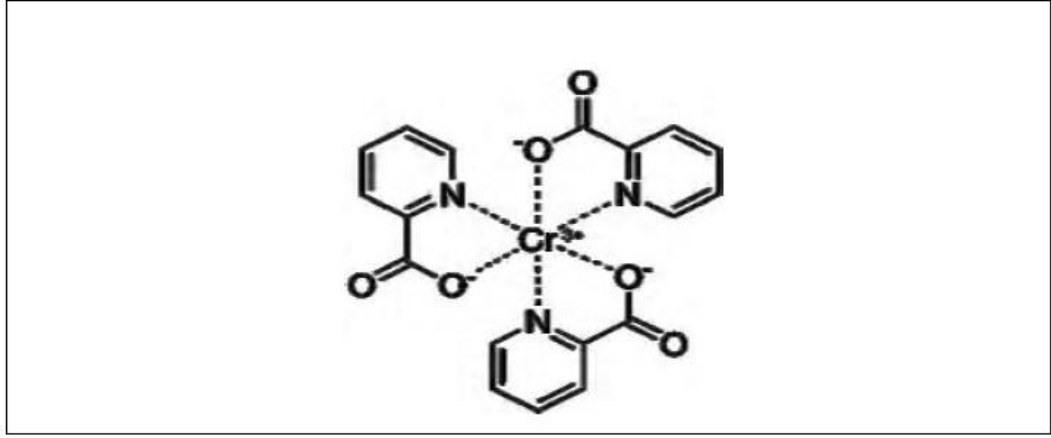
3.3.1. Krom Pikolinat

Kromun membranlardan geçişini kolaylaştırmak ve emilimini arttırmak amacıyla oluşturulduğu stabil yapılardan bir tanesi de bir triptofan metaboliti olan pikolinik asidin krom ile birleştirilmesiyle meydana gelen CrPik'tir (58-60). CrPik'ta bulunan pikolinik asit 2-pikolinattır. 1 gram CrPik 0.12 gram Cr ve 0.88 gram pikolinik asitten oluşmaktadır. CrPik'in moleküler formülü $C_{18}H_{12}N_3O_6Cr$, molekül ağırlığı 418,31, kimyasal servis numarası (CAS) ise 14639-25-9'dur (59).

Yapılan çalışmalarda CrPik'in, midedeki hidroklorik asitten (HCl) etkilenmediği ve mideden yapısını koruyarak jejenuma ve oradan emilerek hücre içine geçtiği fakat hücrede kalış süresinin az olduğu ortaya konmuştur (58, 60, 61, 62). Canlı organizmada CrPik'in hepatositlerde çekirdek, mitokondri, lizozom ve mikrozomlarda görüldüğü ve deoksiribo nükleik asit (DNA)'ya bağlanma isteği göstermediği bildirilmiştir (10, 62). Hepatositlerde CrPik'in modifiye olduğu, karaciğer ve böbrekte Cr birikimine yol açtığı ancak bu Cr kaynağının CrPik formunda olmadığı yapılan çalışmalarla belirlenmiştir (10, 62).

Dolaşım sisteminde Cr^{+3} 'ün, transferrin veya plazmada bulunan diğer proteinlere ya da glikoz tolerans faktörü gibi kompleksler halinde bulunduğu

açıklanmıştır (22, 63). Serbest Cr^{+3} 'ün en çok kromodulin ardından transferrin ve albümine ilgi duyduğu ve kromodulin ve transferrin arasında geçiş sağlayabildiği yapılan çalışmalarda saptanmıştır (22, 64, 65). Hücre içinde pasif halde olan insüline duyarlı transferrin reseptörleri, kanda glikoz seviyesinin yükselişi ile veziküllerden ayrılıp hücre zarına göçünü tetiklemekte, hücre yüzeyine geçen bu reseptörler Cr ile yüklü transferrini bağlamaktadır. İki metal iyonu bağlamış olan bu transferrin reseptörü endositozis ile hücre içine girerek, meydana gelen yeni vezikül içindeki asidik pH'nın etkisiyle metalden ayrılmakta ve serbest hale gelen Cr apokromodulin'e bağlanmaktadır (58, 66).



Şekil 2. Krom Pikolinatın Kimyasal Yapısı (67)

3.3.2. Krom Histidinat

Krom histidinat, Cr mineralinin histidin amino asidi ile oluşturmuş olduğu organik bir bileşiktir. Krom histidinatın sağlık açısından güvenilirliği ve dolaşım sisteminde yüksek oranda emildiği yapılmış olan çalışmalarla ortaya konmuştur (60, 68). Esansiyel bir amino asit olan histidin, metabolizmada deaminasyon ve hidrolizasyon ile n-formiminoglutamatı (FIG) meydana getirmektedir (60, 68). Folik asit eksikliği ile gebelikte kansızlık oluşmaktadır. Folik asit eksikliği olan

kişiler üzerinde yapılan çalışmalarda, histidin oranı yüksek diyetler verildiği zaman bilhassa idrarda FIG miktarında artış tespit edilmiş olmakla beraber kontrollü folik asit ilavelerinde, dokulardaki histidin miktarlarının eski seviyelerine döndüğü bildirilmiştir (69).



Şekil 3. Histidin'in Kimyasal Yapısı (67)

3.3.3. Krom Metabolizması ve Emilimi

İnce bağırsakların üst bölümünde basit difüzyondan farklı bir mekanizmayla emildiği belirtilen Cr'un duodenumdaki alkali ortamın da katkısıyla, ortamda mevcut bulunan ligantlarla şelatlar oluşturarak emilimi nispeten kolaylaşmaktadır (22, 70). Gıdalarla alınan Cr⁺³'ün büyük bir kısmı absorbe olmadan fekal yolla dışarı atılır. İntestinal emilimi düşük olan kromun emilimi %0.04 ile %2 arasındadır (22). Absorbsiyon oranı askorbik asit, aminoasitler, oksalat ve benzeri etkiler gösteren diyet öğeleriyle belirli miktarda arttırılabilmektedir. İntestinal sistemden absorbe olduktan sonra Fe'ye benzer şekilde transfer olarak memelilerde başta karaciğer olmak üzere dalak, kemik ve yumuşak dokularda yoğunlaşmaktadır.

Alınan besin maddelerinde Cr hem organik hem de inorganik formlarda olabilmektedir. Yapılan çalışmalar sonucunda organik Cr formlarının inorganik

Cr formlarına göre daha iyi emildiği tespit edilmiştir (71). Krom elementinin membranlardan geçişinin zayıf olması sebebiyle Cr emiliminin düşük olduğu bildirilmiştir (72). Yapılan çalışmalarda Cr emilimini arttırmak amacıyla, pikolinik asit, propiyonik asit, metiyonin gibi organik maddelerle kararlı bileşikleri oluşturulmuştur (71, 73). Diyet ile düşük oranda Cr alındığı takdirde idrarla dışarı atılan Cr oranı nispi olarak artış göstermektedir. Ayrıca, spor ve egzersizle beraber Cr'un idrarda artış gösterdiği yapılan araştırmalar ile saptanmıştır (60, 74).

3.3.4. Kromun Biyolojik Fonksiyonları

Hücrelerin insüline karşı olan duyarlılığında rol alan Cr, insülini kontrol eden mekanizmalarda aktif olarak işlev göstermektedir (56, 75). Daha önce yapılmış bir çalışmada Cr takviyesi ile plazma glikoz, kolesterol ve trigliserit düzeylerinin düştüğü, insülin aktivitesinin arttığı bildirilmiştir (57). Yapılan deneysel çalışmalarda, Cr eksikliğinin protein, karbonhidrat ve yağ metabolizmasında aksaklığa yol açtığı ve korneal lezyonlara sebebiyet vererek deneylerin uygulandığı hayvanların ömürlerini kısalttığı belirlenmiştir (56). Aynı çalışmada, hayvanlara verilen Cr takviyesi ile glikoz toleransında düzelme gözlemlenmiştir. Canlı organizma üzerinde Cr'un etki gösteren aktif formunun anlaşılabilmesi için çalışmalar devam etmekle beraber, ileri sürülen glikoz tolerans faktör (GTF), düşük moleküler ağırlıklı krom (LMWCr), Cr ve demir (Fe) metabolizması ilişkisi ve hormesis hipotezleri içerisinde insanlarda doğal olarak bulunan bir oligopeptid olan LMWCr hipotezi üzerinde yoğunlaşmaktadır (56, 57, 64, 76).

Glikoz tolerans faktör, çeşitli hücrel ve moleküler mekanizmalar aracılığı ile hücre membranındaki insülin reseptörleri vasıtasıyla tirozin kinaz aktivasyonunu teşvik eder (57, 64, 77).

Düşük moleküler ağırlıklı kromun biyolojik olarak aktif formlarından biridir ve düşük molekül ağırlıklı peptit olarak tanımlanmaktadır (64, 76-78). Kromodülin olarak da bilinen peptit kromun 3 değerli formlarını bağlayarak insülin reseptörlerinin insüline olan duyarlılığını artırır.

Birçok çalışma yüksek demir konsantrasyonu ile Tip-2 diyabet arasında bir ilişkinin varlığını kanıtlamaktadır (79-81). Demir bağlayan proteinlerin aynı anda Cr'un taşınması ve depolanmasında da aktif olarak rol aldığı saptanmıştır (81-84). Diyabetli hastalarda Cr miktarındaki düşüş birçok çalışmayla ortaya konmuştur. Bundan dolayı diyabet hastalarındaki azalmış Cr seviyeleri, yükselen demir oranının dolaylı bir sonucu olduğunu düşündürmektedir.

Yunanca teşvik etme kelimesinden türetilen hormesis, kimyasal bir maddenin yüksek dozda inhibe edici veya toksik etki göstermesine rağmen, aynı kimyasalın düşük dozlarda yararlı bir etki gözlenmesi durumudur. Hormesis çift yönlü bir doza karşı cevap eğrisiyle gösterilmektedir. Bu eğri uyarıcı etki gösteren bir düşük dozdan, etki göstermeyen bir orta dozdan ve inhibitör veya toksik etki gösteren yüksek bir dozajdan oluşmaktadır (81, 85).

3.3.5. Krom Yetersizliği

Hem hayvan hem de insanlar üzerinde Cr yetersizliğinin klinik semptomlarının belirlenmesi için yapılmış olan çalışmalar, uzun vadede parenteral beslenen hastalarda tanımlanmıştır (60). Yaşlanma durumu ve diyabet hastalığı Cr eksikliği ile beraber seyretmektedir (86). Dışardan alınmasının zorunlu olduğu

1960 yılında saptanan Cr'un, total parenteral beslenen hastalarda, insülin direnci gelişimine bağlı olarak, glikoz intoleransı, vücuttaki toplam kas miktarında azalma ve bazı hastalarda nörolojik bozukluklara yol açtığı bilinmektedir (81, 87). Ortaya çıkan bu semptomlar günlük 150-200 µg Cr'un damar yolu ile infüzyonu sonucu düzeltilmiş ve insülin gereksiniminde düşüş gözlemlenmiştir. Cr, U.S. Food and Nutrition Board tarafından eser element olarak belirlenmiştir (57).

Tablo 3. İnsanlarda Krom Eksikliği Sonucunda Görülen Durumlar (57)

Bozulmuş Glikoz Toleransı	İnsülin Reseptör Sayısı ↓
Glikozüri	İnsülin Bağlanması ↓
Hiperglisemi	Yağsız Vücut Kütlesi ↓
Hipoglisemi	Solunum Hacmi ↓
Plazma İnsülini ↑	Periferik Nöropati
Vücut Yağ Yüzdesi ↑	Ensefalopati
Oküler Basınç ↑	Anormal Azot Metabolizması

3.3.6. Krom Toksisitesi

Günlük tüketilen besin maddelerindeki Cr'a ilave olarak, insan metabolizmasında 250 µg/gün Cr'un güven sınırları içerisinde alınabileceğini ve yine günlük olarak 1 mg Cr⁺³'ün toksik etki oluşturmadığı yapılan çalışmalar ile belirlenmiştir (81, 88). Ratlara damar içi olarak verilen Cr⁺³ ile bu sıçanlarda LD 50'nin, 1 mg/100g canlı ağırlık olduğu ortaya konmuştur (81, 89). Ratlar üzerinde yapılan bir başka çalışmada ise, intravenöz olarak Cr⁺³'ün verilmesi ile tedavi edici doz ile toksik etki gösteren dozun oranı 1/10000 olarak saptanmıştır (89, 90). Cıvciv ve kedilerde yapılan bir çalışmada ise, krom florürün 1000 mg/kg dozunda verilmesinin cıvciv ve kediler tarafından tolere edilebildiği, 2000 mg/kg krom

florürün ise civcivlerde gelişim geriliğine sebebiyet verdiği beyan edilmiştir (90-92).

3.3.7. Krom ve Egzersiz

Yüksek enerjili diyetlerle beslenen sporcularda Cr yetersizliği görülebilirken, düşük enerjili diyetlerle beslenen sporcularda ise düşük canlı ağırlığının Cr'un eksikliğinden kaynaklanabileceği bildirilmiştir (60, 93). Yapılan bazı çalışmalarda, egzersiz ile birlikte Cr takviyesinin, vücutta meydana getirdiği değişiklikler araştırılmıştır (60, 94). Egzersiz yapan bireylerde ürinasyon ile Cr atılımındaki azalmanın, düzenli olarak ağır egzersiz yapan bireylerdeki Cr kaybına vücudun uyum sağlayarak adapte olduğu bildirilmiştir (92, 95). Yüksek enerjili diyetlerle beslenen profesyonel sporculara göre aralıklarla egzersiz yapan ve düşük enerjili diyetlerle beslenen sporcularda, bu adaptasyon şekillenmediği için idrarla Cr atılımı fazla olacağından, Cr eksikliği bakımından risk altında oldukları düşünülmektedir (92, 95, 96).

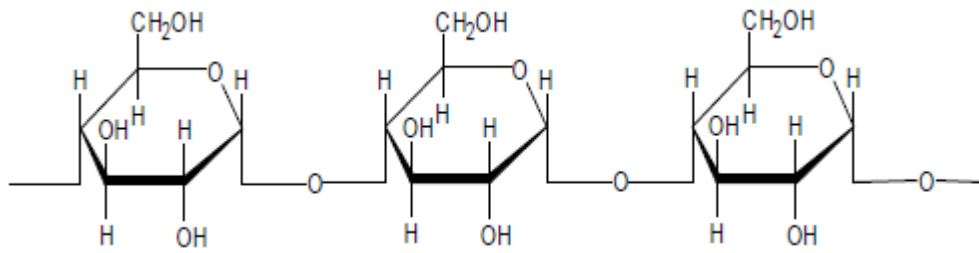
3.4. Amilopektin

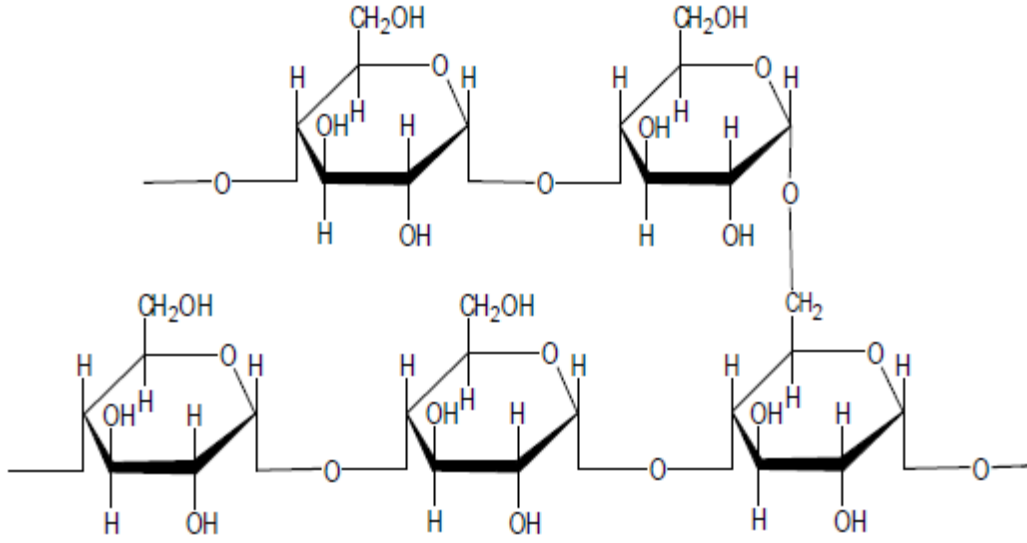
Endüstri ve gıda sanayisinde önemli bir role sahip olan nişasta, canlı organizmada depolanabilen bir besin ögesidir. Bitkilerin kök, gövde, tohum ve yapraklarında bulunan nişasta granülleri küre, elips, poligon ve mercek şekillerinde olabilmekte ve büyüklükleri 0.5 ile 175 µm arasında değişiklik göstermektedir (97). Bazı bitkilerde bulunan nişasta granüllerinin özellikleri Tablo 4'te gösterilmiştir.

Tablo 4. Nişasta Kaynakları ve Granül Yapısı (97)

Nişastanın Kaynağı	Büyüklüğü (µm)	Şekli
Mısır	2-30	Küresel/Çok yüzlü
Patates	5-100	Mercek Şeklinde
Buğday	20-35	Mercek Şeklinde
Pirinç	3-8 (Basit) 150 (Bileşik)	Çok yüzlü

Nişasta granüllerinin kristal yapıda olmaları ve suda çözünmemeleri izolasyonlarını ve elde edilmelerini kolaylaştırmaktadır (4, 98). Glikoz moleküllerinin bir araya gelerek oluşturdukları nişastanın amiloz ve amilopektin olmak üzere iki temel bileşeni vardır. Amiloz, glikoz moleküllerinin düz zinciri formunda dallanmamış, lineer yapıda, heliks şeklinde bükülmüş, farklı boyda, 100-2000 D-glukopiranoz birimlerinin α -1,4-glikozid bağları ile bağlanmasıyla meydana gelen bir yapı göstermektedir (Şekil 4). Amilopektin ise, zincir üzerinde dallanmış ve en az 1500 glukopiranozdan meydana gelen ve α -(1, 4) ve α -(1, 6) bağları ile dallanmış bir yapı gösterir (Şekil 5). Bununla beraber nişastanın yapısında çok az miktarda lipid, fosfolipit ve fosfat monoester türevleri de bulunabilmektedir (99).

**Şekil 4.** Amilozun Yapısı (4)



Şekil 5. Amilopektinin Yapısı(99)

Birçok yönüyle amiloz ve amilopektin birbirinden farklılık göstermektedir. Nişastanın temel iki bileşeninden birini oluşturan amilopektin suda çözünürken, amiloz suda çözünmemektedir (100). Nişasta moleküllerinin fazla miktarda hidroksil grubu bulundurmaları, onlara nem tutma yeteneği kazandırmaktadır. Nişasta moleküllerinin emdiği nem miktarı nişastanın türüne ve bağıl nem oranına göre değişiklik göstermektedir. Pirinç tanelerinde bulunan bağıl nem vakumlanarak düşürüldüğü takdirde, bazı maddelerdeki nemi çekmek veya bazı maddeleri nemden korumak amaçlı kullanılabilir (4).

Glisemik indeks; 50 g karbonhidrat içeren kontrol gıda maddesinin, iki saat içerisinde oluşturduğu kan glikoz alanının, eşit miktarda karbonhidrat içeren ve ölçülmek istenen gıda maddesinin oluşturduğu kan artış alanıyla kıyaslanması olarak tanımlanmaktadır (101). Nişastanın bulundurmuş olduğu amiloz-amilopektin oranına göre glisemik indeks etkilenmektedir. Tüketilen gıda maddesindeki amiloz oranı arttıkça glisemik indeks oranı düşüş göstermekte,

amilopektin oranındaki artış ise glisemik indeks oranında yükselişe neden olmaktadır (4, 102, 103).

3.5. İnsülin ve İnsülin Benzeri Büyüme Faktörleri

Pankreasta bulunan beta hücreleri tarafından salgılanan insülin hormonu karbonhidrat, protein ve yağ moleküllerinden enerji sağlama ve organizmadaki fizyolojik olayların devamı için gerekli bir hormon olup, kanda bulunan şeker seviyesini kontrol altında tutar ve kanda serbest olarak dolaşan şekerin hücre içine girmesini sağlar (6, 12, 104). Ayrıca, insülin, karaciğerde glukoneogenez ve glikojenolizi inhibe ederek glikojen depolanmasını sağlar. Kas ve yağ dokusunda glikozun tutulması ve depolanması üzerinde de etki gösteren insülin, kaslarda potasyum transportundan da sorumludur (104). Yapılan çalışmalarda insülinin protein sentezini uyardığı, iskelet kasında ve tüm vücuttaki protein yıkımının insülinle engellendiği ortaya konmuştur (6).

Büyüme, genetik yapının yanı sıra birçok çevresel etkenin (beslenme, spor vb) metabolik yapıya etkisiyle şekillenir. İnsülin benzeri büyüme faktörleri, büyümeyle birlikte metabolizmayı da kontrol eden kompleks sistemlerin bileşenidir (12, 105). Yapısal olarak proinsülin formuna sahip olmaları ve kan şeker seviyesini düşürmelerinden dolayı insüline benzerlik gösteren IGF'lerin, esas sentezlendikleri yer karaciğer olmasına rağmen otokrin ve parakrin etkilerini gösterdikleri kas gibi bazı özel dokularda da sentezlenebilmektedirler (12, 106). IGF-1 doğumdan sonraki süreçte gerçekleşen mitojen aktiveleri artırarak somatik büyüme üzerindeki etkisini gösterir (107). Canlı organizmada IGF-1, kas ve kemik dokusu üzerine düzenleyici etki gösteren bir regülatördür. Kasların büyüme süreci içerisinde büyüme hormonundan bağımsız olarak etkisini gösteren IGF-1'in

etki mekanizması satelit (uydu) hücrelerinin aktivasyonu ile tetiklenmektedir (12, 108).

Egzersiz miyofibrillerin etrafını saran ekstraselüler matriksin yapısının değişmesine yol açmaktadır. Organizmada IGF-1'in salınması ve depolanmasında fonksiyon gösteren ekstraselüler matriks ayrıca glikoproteinler, kollajen, laminin, heparin sülfat, proteoglikan gibi hücre büyümesinde önemli rol oynayan birçok molekül yapısında bulundurmaktadır (109, 110). Yapılan egzersizler kas dokusunda değişik boyutlarda hasara yol açmaktadır. Meydana gelen bu hasar, büyüme faktörlerinin serbest kalmasına yol açarak kas hipertrofisine sebep olmaktadır (110). Yapılan çalışmalarda, ekzentrik kasılmalar sonrası meydana gelen hasarlı kas bölgelerinde kas IGF-1 seviyesinde anlamlı bir artış gözlemlenmiştir (111). Yapılan bazı hayvan denemelerinde dolaşım sistemindeki IGF-1 seviyesinin artırılmasıyla kas miktarında artış gösteren somatik bir gelişme gözlemlenmiştir (110, 112).

Kas dokusunda miyofibril alanındaki artış hipertrofi olarak tanımlanmaktadır. Miyofibril çapı ile miyonuklei sayısı arasında doğru orantı olduğundan dolayı miyofibril alanındaki artışla beraber çekirdek sayısı da artış göstermektedir (113). Kas gelişimi için uygun zemini hazırlayan ve kas prekürsörleri olan satelit hücreler çekirdek havuzunu oluştururlar. Standart gelişim esnasında miyofibrillerin basal laminası ve sarkolemması arasında bulunan uydu hücreler proliferasyon ve farklılaşma sinyalleri oluşuncaya dek pasif durumdadırlar. Bu hücrelerin proliferasyonu ve farklılaşması sonucunda çekirdek sayısında artış gözlemlenmektedir. Kas hipertrofisi bu mekanizma sonucu şekillenmektedir (113, 114).

IGF-1'in kas hacmindeki büyüme üzerindeki etki mekanizması satellit hücrelerin aktivasyonu ile gerçekleşmektedir (114). Satellit hücrelerinin oluşturmuş olduğu çekirdekler uzun süre bölünebilme yeteneğine sahip olmamalarına karşın kasın miyofibril alanını arttıran özel proteinler sentezleyebilmektedirler (110, 114). Yapılan çalışmalarda gamma radyasyonu uygulanarak uydu hücrelerini yenileme yeteneklerine hasar verilen ratlarda IGF-1 tedavisinin etkili olduğu saptanmıştır (110, 115).

3.6. Protein Sentezi ve Protein Degredasyonunda Sinyal Yolakları

3.6.1. Kas Atrofisi

Sarkopeni veya kas atrofisi olarak adlandırılabilen iskelet kaslarının total miktarındaki azalmayla karakterize bir durum olan kas kaybı, yaştan ilerlemesi ve bazı kronik hastalıkların meydana gelmesiyle hızlanabilmektedir (116). Yetersiz ve/veya dengesiz beslenme, doku hasarları, kanser, diyabet ve böbrek hastalıkları gibi çeşitli rahatsızlıklar hem protein yıkımını arttırırlar hem de yeni protein sentezine engel olurlar (117,118). İskelet kaslarındaki kitle azalması, kas hücrelerinin etkinliklerinde azalma ve protein yıkımındaki artış ile protein yapımındaki azalmanın birlikte görülmesiyle ortaya çıkan ve progresif olarak seyreden bir durumdur (119). Proteinlerin degredasyonunda etkinlik gösteren ubiquitin proteazom yolağı gibi mekanizma vardır.

3.6.1.1. Ubiquitin Proteazom Yolağı (MAFbx/MuRF1) ve Kas Kitle Kaybı

ATP ile ilişkili ubiquitin proteazom yolağı (MAFbx/MuRF1), iskelet kaslarının yeterince hareket etmemesi neticesinde ortaya çıkan ve iskelet

kaslarındaki proteinlerin yıkımlanmasıyla sonuçlanan bir yoldur (120). Bu mekanizma, iskelet kasındaki miyofibriller proteinlerin degradasyonuna, sarkomerik protein miktarlarında ise düşüşe neden olmaktadır (119, 120). Ubiquitin proteazom yolağının sebep olduğu kas degradasyonunda rol alan 3 etken vardır. E1 ligazlar, pasif halde bulunan ubiquitini uyararak aktivasyonunu sağlarken, E2 ligazlar ise aktif duruma gelmiş ubiquitini yıkım için hedef alınan protein molekülüne taşımakla sorumludur. Nihai olarak E3 ligazlar ubiquitin'in yıkımlanacak olan protein molekülüne iletimini koordine etmektedir (120). Bu yolak, ubiquitin E3 ligazları olarak ta bilinen, atrogin-1 veya MAFbx ve MuRF1'i kapsayan koordineli enzimatik yapı üzerinde rol oynayarak spesifik proteinleri belirler ve bu proteinleri yıkmalar. Temel eksprese yerleri iskelet kasları olan bu enzimler, iskelet kası miktarındaki azalmaların farklı koşulları altında up-regülasyonu ve kas gücünün zayıflığını ortaya koymak açısından çok sık bir biçimde kullanılmaktadır (119). Bir transkripsiyon faktörü olan forkhead box O, MAFbx ve MuRF1'i regüle etmektedir. Transkripsiyon faktörü olan FOXO, vücuttaki yapım ve yıkım olayları, apoptozis ve hücreysel olaylarda görev almaktadır (120). İskelet kasında aktif hale gelen FOXO3, total kas kitlesindeki azalmadan sorumlu olan genlerin transkripsiyonunda görev üstlenir ve kas yıkımını uyararak hızlı bir şekilde atrofinin ortaya çıkmasına neden olur (117). Defosforile olması durumunda hücre çekirdeğine giren FOXO, kas gelişimini durdurmakta ve hücre ölümünü uyarmaktadır. Akt ise FOXO'yu fosforlayarak hücre çekirdeğinden çıkmasını sağlamaktadır (120). Bundan dolayı normal koşullarda Akt, FOXO'nun transkripsiyonel özelliklerini inhibe etmekte ve FOXO'nun atrofiye yol açmasını önleyen bir tavır sergilemektedir (120).

3.6.1.2. IGF-1/PI3K/Akt/mTOR Yolakları ve Kas Atrofisi

İnsülin büyüme faktörü 1, PI3K, Akt ve mTOR sinyal yollarının iskelet kaslarındaki kitle artış mekanizmasına etki ettiği düşünülmektedir. Bu sinyal yollarının etkin hale gelmesi ile protein sentezini teşvik eden translasyon başlatıcı faktörlerin miktarında artışa yol açmaktadır (120). İnsülin büyüme faktörü 1, PI3K'nın aktivasyonunu sağlar. Aktive olmuş PI3K, fosfotidilinositol-4-5 bifosfatı, hücre zarında fosfotidilinositol-3-4-5 trifosfata fosforlar, bu fosforilasyon sonucunda Akt'in bağlanabileceği bir alan oluşmuş olur. Daha sonra Akt'in aktive duruma gelmesi ile mTOR kinazın aktivasyonu ve fosforilasyonunu sağlar. Organizmada mTOR protein yapımını p70S6 kinaz ve 4E-BP1'i aktif hale getirerek ve fosforile ederek arttırmaktadır (121). Akt'in aktif hale gelmesi iskelet kasındaki total kitlenin artması ya da azalması mekanizmasında kritik öneme sahiptir. Kaslarda yeterli hareketin olmadığı durumlarda Akt'in aktivasyonu şekillenmez ve bu durum FOXO vasıtasıyla kas atrofisinin ortaya çıkmasına yardımcı olmaktadır. Ubiquitin proteazom ligaz, MAFbx ve MuRF1 doğrudan IGF-1, Akt, mTOR sinyal yollarındaki değişimlerden etkilenmektedir (121). IGF-1, FOXO'nun etkinlik göstermesine engel olmaktadır. Ayrıca IGF-1 sinyal yolağının inhibisyonu ile FOXO hücre çekirdeği içine geçerek protein yıkımını hızlandırmaktadır (120).

3.6.1.3. Miyostatin ve Kas Atrofisi

İskelet kasının total miktarını ve kuvvetini belirleyen sinyal yollarından bir tanesi de miyostatindir. TGF- β ailesinin bir elemanı olan miyostatin, en çok iskelet kaslarında ekspresyona uğramaktadır (28, 122). Miyostatin sinyalizasyonu

büyüme döneminde olduğu gibi ergin dönemde de aktiftir. Hücre bazında etkinliği otokrin/parakrin şeklinde olan myostatinin etkinliğini tip II aktivin reseptörü A ve B'ye bağlanarak ortaya koymaktadır (31). Bu durum SMAD2 ve SMAD3'ün fosforlanmasını aktive ederek SMAD4'e katılır ve nihai olarak SMAD 2/3/4 yapısını meydana getirerek gen transkripsiyonunun etkinliğini arttırmaktadır. Miyostatin iskelet kas kitlesinde ana regülatör olarak düşünülmekte ve miyostatinin inaktivasyonu bu kasların kuvvetli degradasyonuna sebep olmaktadır. Miyostatinin fazla miktarda ekspresyonu ile hipertrofi şekillenmektedir (32). Yapılan çalışmalarda, myostatin ekspresyonunun, bazı hastalıklar (AIDS, kalp-damar hastalıkları) sonucunda artış eğilimi gösterdiği ve bu durumun iskelet kaslarının güçsüzlüğü ile ilgili olduğu beyan edilmektedir (123). Miyostatin kaslarda güçsüzleşmeyi Akt-mTOR sinyalizasyonlarını baskılayarak gerçekleştirmektedir (120).

3.6.1.4. Oksidatif Stres ve Kas Atrofisi

İskelet kaslarının zayıflamasına yol açan sistemlerden bir tanesi de oksidatif strestir. Oksidatif stres, oksidan ve anti-oksidanlar arasındaki dengenin bozulmasıyla şekillenen ve fizyolojik limitlerin üstünde reaktif oksijen türlerinin (ROT) birikmesi olarak tanımlanmaktadır (124, 125). İskelet kasında ROT üretimi, kalp rahatsızlıkları, sarkopeni, immobilizasyon ve kanser durumlarında artış eğilimi göstermektedir (126). İskelet kasında ROT üretim merkezlerinden biri de nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NAD(P)H) oksidaz ve nikotinamid adenin dinükleotid fosfat-oksidad (NOX)'dır. Bu enzim yapısı, NAD(P)H'ı moleküler oksijeni reaktif oksijen türlerine dönüştürmek amacıyla substrat olarak kullanmaktadır. NOX, kas hücresinin miyostatin ve Anjiotensin-II (ang-II) gibi

çeşitli kas kitlesini azaltıcı faktörlere olan cevabını regüle etmekte ve Dunchenne kas distrofisinde de oksidatif stresin şekillenmesini sitümüle etmektedir (126). Yapılan bir çalışmada, dönüştürücü büyüme faktörü $\beta 1$ 'in (TGF- $\beta 1$) iskelet kaslarının kitle kaybetmesi mekanizmasında rol aldığı bildirilmiştir (119). Ancak, TGF- $\beta 1$ 'in iskelet kas kuvvetini azalttığı ve MAFbx ekspresyonunu sitümüle ettiği ortaya konmasına rağmen, iskelet kasının atrofisi mekanizmasındaki rolü tam olarak anlaşılabilmiş değildir (119).

3.6.2. Kas Hipertrofisi

Miyofibrillerden meydana gelen iskelet kasları, hem hacmini hem de çalışma düzenini (yavaş-hızlı kasılabilen, çabuk-geç yorulabilen) değiştirebilen bir yapıdadır. Günlük yaşamsal aktiviteler esnasında kas dokusunda küçük çapta yırtılmalar ve doku zararları meydana gelmekte ve bunun sonucunda fibrillerin oluşmasını sağlayan etmenlerde normalden daha yavaş bir döngü şekillenmektedir. İskelet kası, büyük çapta yırtıklar veya ağır egzersizlerden sonra güçlü bir şekilde kendini rejenere etmektedir. İskelet kası bu özelliği ile sahip olduğu kas miktarını korumanın yanı sıra kas dokusuna bağlı hastalıklarda klinik bulguların hafif seyretmesini sağlamaktadır (127).

Ergin canlılarda mevcut kas miktarının stabilizasyonu, kas dokusundaki protein sentezi ve protein yıkımı ile ilgilidir. Tüketilen besin maddelerinin yeterli ve dengeli olması veya egzersiz gibi uyaranlar ile kas kitlesi artarken (hipertrofi); yetersiz beslenme, immun sistemin zayıflaması, sinirsel hastalıklar ve yaşın ilerlemesi gibi durumlarda kas kitlesinde düşüşler (atrofi) gözlemlenmektedir (128). Kas hipertrofisi, kas miktarındaki artış ve mevcut olan iskelet kas fibrillerindeki sayısal artış olarak bilinmektedir (129). Kas hipertrofisi

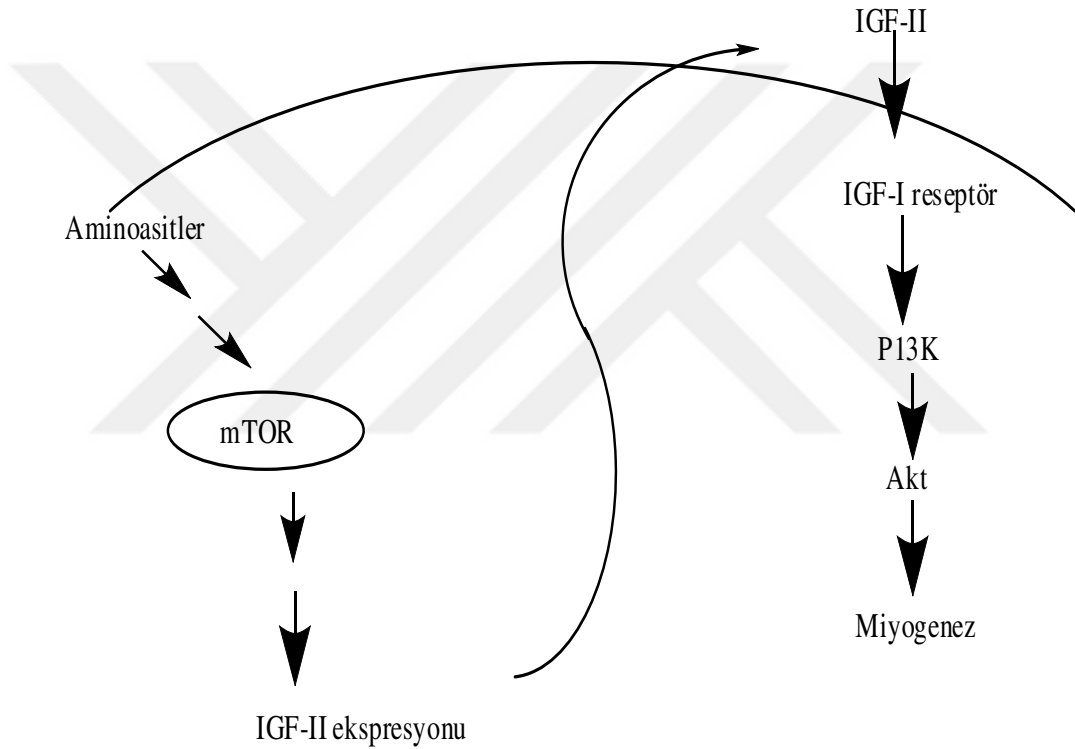
mekanizmasında IGF-1- Akt- mTOR ve kasinörin- nükleer faktör aktive T hücreleri (NFAT) olarak belirtilen iki sinyal yolağı mevcuttur (130).

3.6.2.1. IGF-1/PI3K/Akt/ mTOR Yolağı ve Kas Hipertrofisi

İskelet kası miktarındaki artış, buradaki miyofibrillerin boyutundaki büyümeler ile gerçekleşmektedir. Kas kitlesindeki artış, IGF-1 gibi canlı organizmadaki yapım olaylarını tetikleyen uyaranlar ile teşvik edilebilmektedir (27). IGF-1/Akt sinyal yolağı iskelet kasında protein sentezini arttırarak ve protein yıkımını azaltarak hipertrofik etki göstermektedir. Ayrıca IGF-1, insülin benzeri büyüme faktörü reseptörü 1(IGF-1R) ile bir bağ oluşturmakta ve insülin reseptörü substrat-1 (IRS-1) aracılığı ile PI3K'nın aktivasyonunu sağlamaktadır. Aktif duruma gelen PI3K, fosfotidilinositol 3, 4, 5 trifosfatı (PIP3) sentezleyerek Akt proteinin aktif hale gelmesini sağlamaktadır (128). Aktive olan Akt proteini ise protein sentezini regüle eden mTOR sinyal yolağının aktivasyonunu sitümüle etmektedir. Akt, iskelet kaslarındaki genlerin düzenlenmesinde kilit görev alan FOXO'nun translasyonunu inhibe etmektedir. FOXO'nun çalışmasının engellenmesi ile iskelet kaslarında protein yıkımı durdurulmaktadır. Bu bilgiler ışığında, IGF-Akt- mTOR sinyal yolaklarının iskelet kasında protein sentezinde kilit rol aldığı düşünülmektedir (128, 130).

Yapılan çalışmalara göre, IGF-1'in fazla miktarda ekspresyonunun iskelet kaslarında büyümeyi uyarmak için yeterli olduğu bildirilmiştir (129, 131). Ayrıca IGF-1'in iskelet kaslarında protein sentezini arttıran sinyal yolaklarını sitümüle ettiği ve protein degradasyonunda kilit görev alan yolakları (MuRF1, MAFbx) inhibe ederek kas hipertrofisinin aktivasyonunu sağladığı bilinmektedir (129). IGF-1, iskelet kas dokusunun yenilenmesinde PI3K ve Akt sinyalizasyon

yolaklarını düzenleyerek etkisini ortaya koymaktadır. Öte yandan, IGF-II'nin kas hücrelerinin farklılaşmasını başlattığı bilinmekle beraber protein sentezini artırıcı etkisini nasıl regüle ettiği tam olarak açıklanamamaktadır. Yapılan bir çalışmada (132), IGF-II ekspresyonunun, iskelet kası kitlesinin regülasyonunda kritik önemde olduğunu, kas hücrelerinin farklılaşması için otokrin IGF-II'nin transkripsiyonuna ihtiyaç duyulduğunu ve bu durumun mTOR tarafından alınan besin maddeleri ile kontrol edildiği bildirilmiştir (Şekil 6).



Şekil 6. mTOR/IGF-II Ekspresyonu (132)

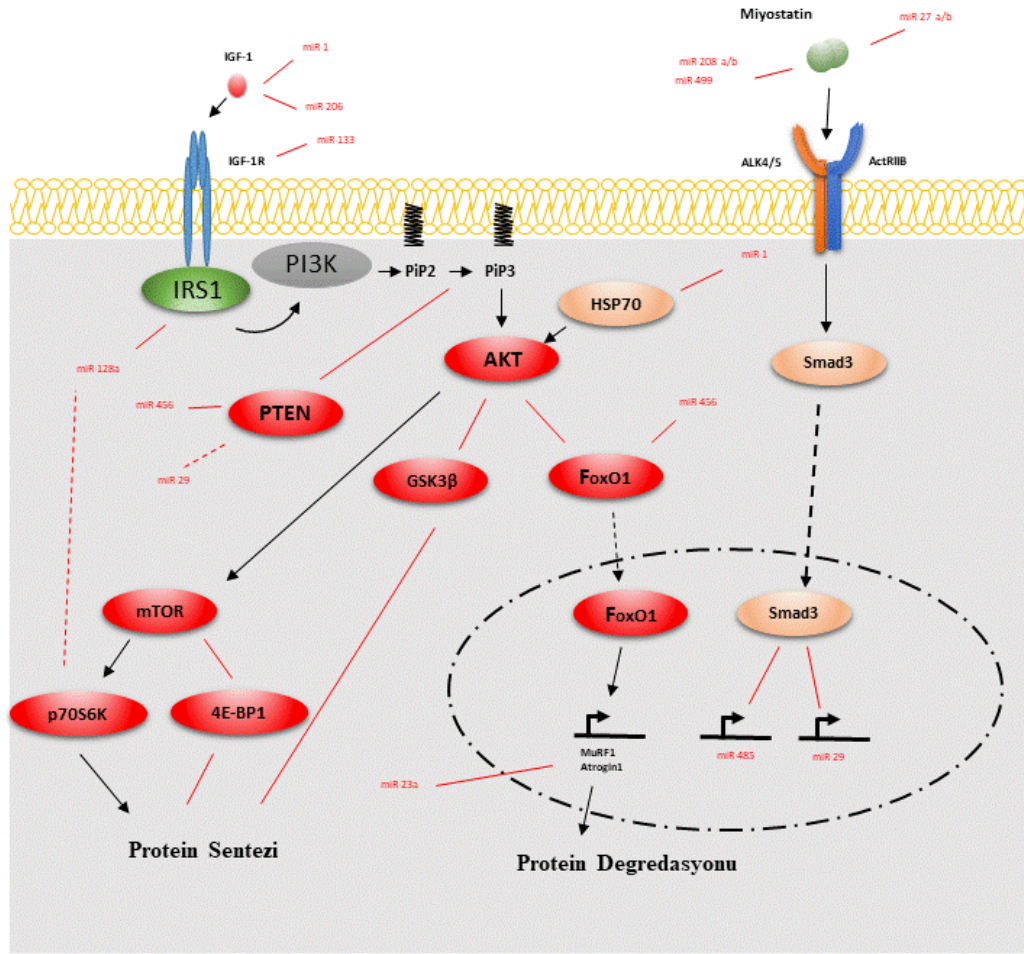
Miyoblast hücre farklılaşması temelde IGF-1 ve IGF-II ile ilişkilidir. IGF-1 ve IGF-II hücre farklılaşmasındaki etkisini, PI3K-Akt-mTOR-p70S6K sinyal yollarındaki regülasyonu ile göstermektedir (132). Akt1, Akt2 ve Akt3 olmak üzere 3 farklı yapısı mevcut olan Akt bir serin/treozin kinazdır. Üç farklı izotopu bulunan Akt'nin, iskelet kaslarının hipertrofisinde rol alan IGF-1 ile ilişkisi daha çok Akt1 izotopudur (18). İnsülin ve IGF-1'in uyarılması Akt'nin

translokasyonuna yol açmaktadır. Translokasyona uğrayan Akt, plazma membranına gider ve burada serin ile treonini fosforladıktan sonra tekrardan çekirdek veya sitozoldeki mevkisine dönmektedir (131). İskelet kasında protein sentezini arttıran Akt ve IGF-1 arasındaki etkileşim, anabolik etki ve protein degradasyonuna yol açan etmenlerin ortadan kaldırılması olmak üzere iki farklı şekilde olmaktadır. Akt anabolik etkisini, miyoblastların farklılaşmasını ve protein üretimini mTOR ve p70S6K'yı fosforlayarak yapmaktadır (19). Rapamisin, mTOR yolağında inhibisyona yol açarak hem kas hücrelerindeki farklılaşmaya, hem de kas kitlesinin gelişmesi için gerekli olan miyofibrillerin büyümesine engel olmaktadır (133). Canlı organizmada Akt anti katabolik fonksiyonunu, fosforilasyon ile inhibisyonunu sağladığı FOXO3a'nın protein yıkımı üzerindeki etkinliğini engelleyerek göstermektedir (127).

Organizmada IGF-1 sinyal yolağının iki üyesi olan Akt ve mTOR iskelet kasında protein sentezinde rol alan iki önemli faktördür (18). Lai ve arkadaşları (121) yapmış oldukları bir çalışmada, Akt proteinleri aktif halde olan transgenik farelerde, Akt'nin *in vivo* olarak uyarılması ile kas büyümesi tetiklendiği ve bu aşamadan sonra bulunan p70S6K'nın da aktivasyonunun sağlandığı belirlenmiştir. Akt'nin uyarmasıyla aktive olan mTOR, protein sentezinde hedef yapılar olarak bilinen 4E-BP1 ve 70kDa ribozomal protein S6K1'i indükleyerek translasyonun artmasına olanak sağlamaktadır (19). Normalde 4E-BP1, eIF4E ile bağ kurarak translasyonu baskılayan bir tutum sergilemekteyken, mTOR'un 4E-BP1'i fosforlaması neticesinde eIF4E aktive olmaktadır (21).

Translasyonu düzenleyen bir başka sinyalizasyon molekülü de eEF2'dir. Organizmada eEF2, mTOR aracılığı ile aktive edilen p70S6K tarafından dolaylı

olarak düzenlenmektedir. Yapılmış çalışmalarda egzersiz öncesi mTOR yolağının baskılanması ile protein sentezinin inhibe edildiği beyan edilmiştir (133). Bodine ve arkadaşlarının (134) yapmış oldukları çalışmada ise, Akt-mTOR sinyal yolağının kas büyümesinde aktif olduğu, kullanmama sonucu şekillenen kas küçülmesinde ise pasif durumda olduğu ve rapamisin ile blokasyonu sağlanan mTOR'un iskelet kaslarında büyümeyi %95 oranında engellediği saptanmıştır. Yapılmış olan bu ve bunun gibi çalışmaların sonuçlarına göre, Akt-mTOR sinyal yolağının kas hipertrofisinde kilit bir role sahip olduğunu söyleyebiliriz. Yapılan çalışmalarda, Akt-mTOR sinyalizasyonu ve bu sinyal yolağının sonraki basamağı olan 4E-BP1 ve p70S6K'nın kas liflerinin büyüklüğünü düzenlediği ve kullanmama sonucu şekillenen atrofinin bu yolaklarla engellendiği araştırmacılar tarafından açık bir şekilde belirlenmiştir (134). Akt-mTOR sinyal yolağı, 4E-BP1 ve p70S6K aktivasyonu, Akt aracılığıyla FOXO'nun baskılanması ve mTOR'un SMAD2 kanalıyla kas atrofisinde aktif rol oynayan miyostatin yolağını inhibe etmesi Şekil 7'de gösterilmiştir (27).



Şekil 7. Akt- mTOR Sinyal Yolağı, 4EBP1 ve p70S6K Aktivasyonu, Akt Aracılığıyla FOXO'nun Baskılanması ve mTOR'un Smad2 Kanalıyla Kas Atrofisinde Aktif Rol Oynayan Myostatin Yolağının İnhibisyonu (27)

Miyostatin sinyal yolağı iskelet kasında protein üretimini azaltmaktadır. Miyostatin sinyal yolağının fazla miktarda ekspresyonu iskelet kas kitlesinde azalmaya yol açacağı gibi, bu sinyalizasyonun inaktivasyonu ise kas hipertrofisi ile sonuçlanır (135, 136). Öte yandan, nükleer faktör kappa beta (NF- κ B) transkripsiyon yolağının tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α) tarafından aktive edildiği ve bu sinyal yolağının iskelet kasının atrofisi için yeterli olduğu bildirilmiştir (129). Özetle IGF-1 sinyalizasyonunun aktivasyonu veya TNF- α ve

myostatin yollarının inaktivasyonu ile iskelet kasına kitle kazanımı sağlanabileceği belirtilmektedir (129).

3.6.2.2. Kalsinörin Yolağı ve Kas Hipertrofisi

İskelet kasındaki hipertrofi periyodunca Akt/mTOR sinyal yolağı aktive olurken, kalsinörin (CnA) yolağının aktivasyonu gerçekleşmemektedir (130). Genel olarak iskelet kası atrofisinde rol aldığı düşünülen kalsinörin yolağının, IGF-1'in aktivasyonu ile oluşan hipertrofide PI3K/Akt/mTOR sinyal yolağının yanı sıra CnA-NFAT sinyalizasyonuna da gereksinim olduğunu vurgulayan çalışmalar mevcuttur (137). Bu çalışmalara göre IGF-1, CnA'yı aktif hale getirerek NFAT transkripyon faktörü üzerine etki etmektedir. IGF-1 aktivasyonuna cevap olarak şekillenen iskelet kasındaki hipertrofi için CnA aktivasyonunun gerekli olduğu belirtilmektedir (137).

3.7. Amaç

Proteinler, dokuların oluşumu, onarımı, rejenerasyonu, ısı ve enerji kaynağı olmaları, kas kontraksiyonlarında rol almaları, immun sistemi güçlendirmeleri ve vücutta gerçekleşen biyokimyasal olaylarda görev almalarından dolayı canlı organizmada hayati öneme sahiptir (43). Egzersizin organizmada protein yıkımına neden olduğu da bilinmektedir (138). Soya fasulyesinden elde edilen soya proteini, insan ve hayvan vücudu için gerekli birçok amino asit, mineral ve vitamin içeren yüksek kaliteli bir bitkisel protein kaynağı olup kaslar tarafından çok hızlı emilmektedir (1). Yapılmış çalışmalarda protein sentezini uyarmada insülinin etkili olduğu ve protein degradasyonunun insülinle durdurulabileceği bildirilmiştir (6). Akt/mTOR yolağı aktivasyonu ve bu

yolağın sonraki basamaklarında yer alan p70S6K ve 4E-BP1'in kas protein sentezinin regülasyonunda rol almaktadır. Öte yandan, nişastanın iki bileşiginden biri olan amilopektinin insülin yoğunluğu ve kan glikoz konsantrasyonunun hızlı bir şekilde artmasına öncülük edebileceği belirlenmiştir (19). İnsülin kofaktörü olarak bilinen Cr'un insülinin etkisini arttırarak protein metabolizması üzerine etki edebileceği düşünülmektedir. Şahin ve arkadaşları (60) tarafından yüksek yağlı diyetle beslenen ratlarda yapılan bir çalışmada, CrPik ve CrHis kombinasyonunun tek başına hayvanlara verilen CrPik veya CrHis'den daha etkili olduğu rapor edilmiştir. Bu bilgiler ışığında bu araştırmada; ratlarda egzersiz sonrası soya proteini ve amilopektin+CrHis+CrPik kombinasyonu tüketiminin protein sentezi, insülin p-FOXO1a, p-FOXO3a, MAFbx, p-4E-BP1, p-Akt1, mTOR ve S6K1 düzeyleri üzerine olan etkileri araştırılmıştır.

4. GEREÇ VE YÖNTEM

4.1. Hayvan Materyali

Deneme, Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'ndan (FÜHADEK) alınan onay sonrası (Tarih: 12.10.2016, Toplantı: 2016/10, Karar No: 179) etik kurallarına uygun olarak başlatılmıştır. Denemede, Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi'nden (FÜDAM) sağlanan 35 adet Wistar albino ırkı erkek rat (8 haftalık, 180-200g) kullanılmıştır. Ratlar 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlıkta ve $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ sıcaklık ile $\%55 \pm 5$ bağıl nem bulunan havalandırma sistemine sahip ortamdaki kafeslerde barındırılmıştır. Deneysel çalışma esnasında oluşabilecek problemleri minimize etmek amacıyla denemeye başlamadan önce, ratlar 14 gün boyunca uygulama koşullarına adapte edilmiştir. Ratlara taze su ve yem *ad libitum* olarak verilmiştir. Hayvanlar standart rat diyeti ile beslenmiştir (Tablo 5).

Tablo 5. Rasyonun Bileşimi ve Besin Maddesi Değerleri

Yem Hammaddeleri	%
Mısır	30.22
Arpa	10.07
Soya Fasulyesi Küspesi	38.28
Ayçiçeği Tohumu Küspesi	6.04
Buğday Kepeği	10.08
Melas	3.02
Kireç Taşı	1.51
Tuz	0.08
DL-Metiyonin	0.30
Dikalsiyum Fosfat	0.20
Vitamin-Mineral Premiksi*	0.20
Besin Madde Bileşimi	
Ham Protein %	24.00
Metabolik Enerji (kcal/kg**)	3100
Ham Yağ %	3.40
Ham Selüloz %	6.90
Kül %	8.10
Kalsiyum %	1.30
Fosfor %	0.90

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

**Metabolik enerji National Research Council (NRC, 139) göre hesaplandı

4.2. Araştırma Grupları

Araştırmada her grupta yedi (n=7) adet olmak üzere toplam 35 adet erkek Wistar albino rat kullanılmıştır. Bu amaçla hayvanlar aşağıdaki gibi rastgele beş gruba ayrılmıştır (Şekil 8).

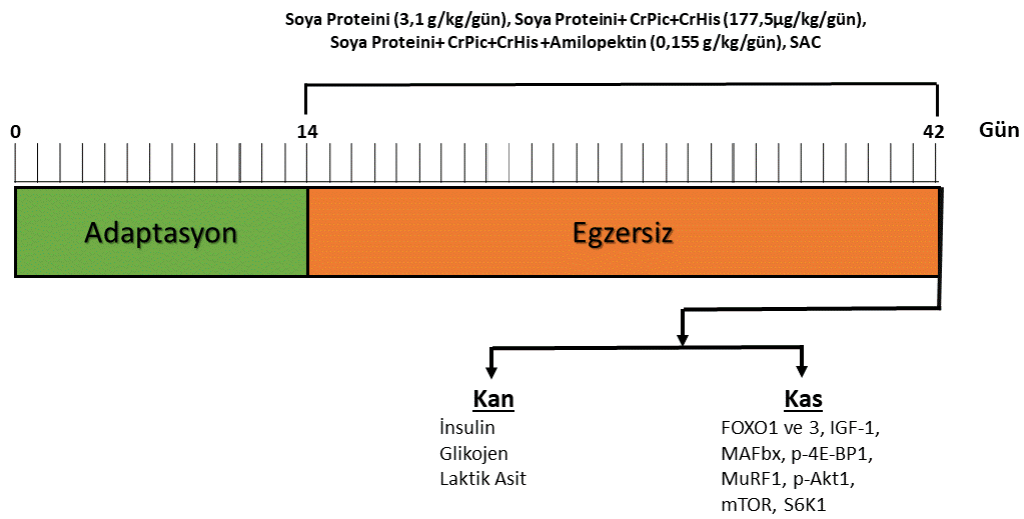
- 1) **Kontrol (K):** Ratlar standart diyet ile beslenmiş ve herhangi bir uygulamaya tabii tutulmamıştır.
- 2) **Egzersiz (E):** Ratlar standart diyetle beslenmiş ve 4 hafta boyunca haftada 5 gün olmak üzere koşu bandında egzersiz uygulanmıştır.

3) **Egzersiz+Soya Proteini (E+S):** Ratlara 4 hafta boyunca haftada 5 gün egzersiz uygulanmış ve egzersizden sonra soya proteini (3.1 g/kg/gün) verilmiştir.

4) **Egzersiz+Soya Proteini+CrPik/CrHis (E+S+C):** Ratlara 4 hafta boyunca haftada 5 gün olmak üzere egzersiz uygulanmış ve soya proteini (3.1 g/kg/gün) ile CrPik/CrHis kombinasyonu (77.5 µg/kg/gün) verilmiştir.

5) **Egzersiz+Soya Proteini+Amilopektin+CrPik/CrHis (E+S+A+C):** Ratlara dört hafta boyunca haftada beş gün olmak üzere egzersiz uygulanmış ve soya proteini ile aynı miktarda CrPik+CrHis (77.5 µg/kg/gün) içeren amilopektin (0.155 g/kg/gün) + CrPik + CrHis kombinasyonu verilmiştir.

Soya proteini, amilopektin ve Cr dozları daha önceki çalışmalarda kullanılan dozlar esas alınarak belirlenmiş (60, 140, 141) ve hayvanlara gavaj yoluyla verilmiştir.



Şekil 8. Araştırmanın Deneme Düzeni

Alıştırma süresinin başlangıcında 10 m/dk hızla koşu bandında koşturulan ratlar 2 haftalık adaptasyon süresinin sonunda 30 m/dk hıza ulaşmıştır (MAY-TME 0804, Commat Limited, Ankara). Ratlar, haftada beş gün olmak üzere toplam dört hafta boyunca koşu testine tabi tutulmuştur. Koşu bandının eğimi de 0°-15° arasında değişen açılarda ayarlanmıştır. Koşu testi sabah (08:00-10:00) saatleri arasında yapılmıştır (bazal glikokortikoid etkinliğini göz ardı etmek için). Kontrol grubu hayvanları koşturulmamış, sadece koşu bandının üzerinde 30 dk bekletilmiştir. Deneme gruplarındaki ratlar, günlük olarak 30 dk'lık bir koşu testine tabi tutulmuştur. Bütün gruplarda egzersiz işlemi tamamlandıktan sonra soya proteini, CrPik/CrHis, amilopektin ve bunların kombinasyonları hayvanlara verilmiştir.

Denemenin son gününde, egzersizin tamamlanmasından hemen sonra ratlar dekapite edilmiş ve kan ile kas (sağ gastrocnemius) örnekleri alınmıştır. Kan örnekleri dakikada 3.000 devirde 10 dakika süreyle santrifüj edilerek kan serum örnekleri alınmıştır. Kesilen ratlardan alınan serum ve kas örnekleri daha sonra analiz edilmek üzere derin dondurucuda (Hettich, Almanya) -80°C'de saklanmıştır.

4.3. Laboratuvar Analizleri

4.3.1. FSR Analizleri

Dokulardaki protein sentez oranı, kas proteinlerine enjekte edilen [2H5] fenilalanin ilave edilmesiyle belirlenmiştir. Plazma ve hidrolize kas protein örneklerinde [2H5] Phe zenginleşmesinin belirlenmesi daha önceki çalışmalar

temel alınarak yapılmıştır (142). Bu amaçla dekapitasyondan 15 dakika önce, FSR ölçülebilmesi için kuyruk veninden bir doz [2H5] Phe (45 mg/kg vücut ağırlığı, 22.5 mg/ml; Cambridge İzotop Laboratuvarları) enjekte edilmiştir. Enjeksiyondan 15 dakika sonra triceps kası alındı ve hızlıca dondurulmuştur. Enjeksiyondan donmaya kadar geçen süre, belirlenmiş amino asidin proteine katılması için gerçek zaman olarak kaydedilmiştir. Kas serbest amino asit havuzunda [2H5] Phe zenginleştirilmesi, elektron etkisi ve seçici iyon kaydı altında *t*-butyldimethylsilyl türevinin GS-MS 'si ile tespit edildi. Her gün yenilenen doku protein yüzdesi olarak tanımlanan FSR, aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$FSR = (Eb \times 100) / (Ea \times t)$$

Burada, *t* örneklemiş dokunun enjeksiyon ile soğuma arasındaki zaman aralığıdır, gün cinsinden ifade edilir. Eb ile Ea ise sırasıyla, hidrolize doku proteininde ve amino asitsiz kasta [2H5] Phe'nin zenginleştirilmesidir.

4.3.2. Serum İnsülin, Laktik Asit ve Kas Glikojen Analizleri

Serum insülin konsantrasyonu rata özgü insülin kitleri (Linco Research Inc, St. Charles, MO, ABD) kullanılarak, ELISA cihazı (Elx-800, Bio-Tek Instruments Inc, Vermont, USA) ile analiz edilmiştir. Testin analitik duyarlılığı 0.30 ng/ml ve inter-assay CV değeri %2.8 ve intra-assay CV değeri %4.9'dir. Serum laktat konsantrasyonu da aynı ELISA cihazı ile rata özgü ticari laktik asit kiti (Cayman Chemical Co., Ann Arbor, MI, USA) ile ölçülmüştür. Laktat için testin inter- ve intra-assay CV değerleri %3.5 ve %7.1'dir. Kas glikojen konsantrasyonu, ticari ELISA kiti (Biovision Inc., Milpitas, CA) kullanılarak analiz edilmiştir. Testin inter- ve intra-assay CV değerleri %4.2 ve %6.5'dir.

4.3.3. Amino Asit Analizleri

Serum örnekleri metanolde (LC/MS grade; St. Louis, MO, USA) deproteinize edilmiştir. Serum amino asit düzeyleri fotodiyot detektörlü bir Varian Modüler Analitik HPLC Sistem (Varian, Harbor City, CA) ile ölçülmüştür. 5 µL örnek, ACE-5 C18 kolonu (5 µ, 250 mm; 4.6 mm) içeren cihaza enjekte edilmiştir. Örnekler, hazırlanan mobil fazda %0.1 formik asit, %0.01 heksafluorobutirik asit içeren asetonitril (LC/MS grade; St. Louis, MO, USA) lineer gradient yöntem ile 0.8 ml/dk akış hızında ilk 10 dk içerisinde %2'den %22 oranına çıkarıldı, ikinci 10 dk süresince %22'den %80 oranına çıkarıldı ve 6 dk süresince %80 oranında akış devam ettirilerek ölçümler tamamlanmış ve bilgisayarlı sistemde hesaplamalar yapılmıştır (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) (143).

Kas amino asit konsantrasyonları daha önce tarif edildiği gibi analiz edilmiştir (144). Bu amaçla, her bir kas örneği 10 kat metanol ile deproteinize edilmiştir ve 2000 devir/dk hızında 10 dakika süresince santrifüj edilmiştir. Ön hazırlık için, o-phthaldialdehyde reaktif çözeltisi, 2-mercaptoethanol (5 mL/mL) ile karıştırılmış ve kullanımdan önce gece boyunca bırakılmıştır. 100 µL aktive edilmiş o-phthaldialdehyde reaktif çözeltisine 220 µL ilave edildi ve vorteksle karıştırılmıştır. Varian Prostar HPLC (Varian, Harbor City, CA) sistemine 50 µL hacimde enjekte edilmiştir. Analizler 25 cm x 5 mm ODS-Hypersil kolon yardımıyla ve floresan dedektörü (ProStar 363) ile tespit edilmiştir. Solvent sistemi, 0.3 M sodyum asetat, 1 M asetik asit ile pH 5.10'a ayarlanmış ve son olarak %50 metanol ilave edilerek oluşturulmuştur. Kolon, su içinde %10 metanol (LC/MS grade; St. Louis, MO, USA) ile kullanımlar arasında yıkanmıştır. Tüm

numuneler için ölçüm, üç kez tekrarlanmıştır. Yöntemin tespit limitleri (LODs) ve miktar limitleri (LOQs), incelenen amino aside bağlı olarak sırasıyla 0.25-1.0 mg/kg ve 1.0-5.0 mg/kg arasında değişmiştir.

4.3.4. Proteinlerin Analizi

Kas dokusuna ait örnekler homojenize edilerek homojenatların içerdiği toplam protein miktarları hesaplanmıştır. p-FOXO3a, MAFbx, p-4E-BP1, p-Akt1, mTOR, S6K1 proteinlerinin düzeyleri Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektrofrezisi (SDS-PAGE) ve Western blot metotları ile belirlenmiştir.

4.3.4.1. Dokuların Homojenizasyonu

Kas örneklerinin SDS-PAGE ve Western blot analizleri, Sahin (60), tarafından uygulanan metoda göre yapılmıştır. Taze veya dondurulmuş dokular 1:10 (w/v) oranında homojenizasyon solüsyonunda (PBS) cam homojenizatör yardımıyla homojenize edilmiştir. Homojenatlar, soğutmalı santrifüjde +4 °C’ de 60 dakika süreyle 15.000 x g’de santrifüj edilmiştir. İlk süpernatantlar eppendorf tüplere alınarak -80 °C’de saklanmıştır. Pelletler, eşit hacimde ilave edilen homojenizasyon solüsyonunda [25 mMTris-HCl (pH=7.4), 0.1 mM PMSF, %2’lik TritonX -100 ve %1’lik SDS] yeniden süspanse edilmiştir. +4 °C’de 2 saat inkübasyona bırakılmış ve homojenatlar soğutmalı santrifüjde +4 °C’de 60 dakika süreyle 15.000 x g’de santrifüj edilmiştir. Bu arada, toplam protein konsantrasyonları nano ölçüm cihazı ile ölçülmüştür (MaestroGen, Las Vegas, NV, USA). Elde edilen ikinci süpernatantlar mikrosantrifüj tüplere alınarak SDS-PAGE ve Western blot analizleri için -80 °C’de saklanmıştır.

4.3.4.2. SDS-PAGE Analizleri

Akrilamid jel oluşturmak için uygun ayırma jel solüsyonu hazırlanmıştır. Hazırlandıktan sonra iyice karıştırılan bu jel solüsyonu, otomatik pipet aracılığıyla belirli kısımlardan sıkıştırılarak kaset haline getirilmiş iki cam levha arasına boşaltılmış ve yükleme jeli için yaklaşık 1 cm boşluk bırakılmıştır. Yükleme jeli hazırlanıp aralığa dökölerek akrilamid monomerlerinin polimerleşmesi sağlanmış ve taraklar yerleştirilmiştir. Yükleme jeli çok çabuk polimerize olduğundan işlemlerin kısa sürede yapılmasına dikkat edilmiştir. Tarak, polimerleşmesi tamamlanan jelden çıkarılmıştır. Bu işlem sırasında jelde meydana gelen ve örnekerin yükleneyeği yuvaların bozulmamasına dikkat edilmiştir. Cam levhalardan oluşan kaset elektroforez tankına yerleştirilmiştir. Protein özücü solüsyonu; 0.125 M Tris (pH 6.8), %2’lik SDS, %0.002 oranında Bromofenol mavisi, %20’lik gliserol, %10’luk merkapttoethanol şeklinde hazırlanmıştır. Yaklaşık olarak 150 µl olarak alınan her bir protein örneğine eşit oranda çözücü solüsyondan ilave edilmiş ve karıştırılmıştır. Tarak dışının genişliğine bağlı olarak, hazırladığımız karışımdan 10–20 µl kadar transfer edilmiştir. Tank içerisine yeterli miktarda tank solüsyonu ilave edilmiştir. Daha sonra elektroforez için sisteme (Bio-Rad, Mini-PROTEAN®, Tetra cell System, UK) yerleştirilen cam kasetler elektroforez edilmiştir. Daha sonra immunoblotlama safhasına geçilmiştir..

SDS-PAGE’de kullanılan özeltiler

1.5 M Tris-HCl (pH 8.8)

0.5 M Tris-HCl (pH 6.8)

%10 Sodyum dodesilsülfat özeltilisi (SDS)

%30 Akrilamid/Bisakrilamid çözeltisi

%10 Amonyum persülfat çözeltisi (APS)

N, N, N', N', -tetrametil-ethylendiamin (TEMED)

Gliserin

2-β- Mercaptoethanol

%0,05 Bromofenol blue çözeltisi

Tablo 6. SDS-PAGE için Jellerin Hazırlanması

Separating (ayırma) jelinin hazırlanması (%12)	Miktar
Distile su	3.35 ml
1,5 M Tris-HCl (pH 8.8)	2.50 ml
%10 SDS	100.00 l
Akrilamid /Bis (%30)	4.00 ml
Amonyum persülfat (%10)	50.00 l
TEMED	5.00 l
Toplam	10.00 ml
Stacking jelin hazırlanması (%4)	Miktar
Distile su	6.10 ml
0.5 M Tris-HCl (pH 6.8)	2.50 ml
SDS (%10)	100.00 l
Akrilamid-Bis (%30)	1.30 ml
Amonyum persüfat (%10)	50.00 l
TEMED	10.00 l
Toplam	10.0ml

4.3.4.3. Western Blot Analizi

Jeldeki proteinlerin nitroselüloz membrana (Schleicher and Schuell, Inc., USA), transferi (blotlama) amacıyla, poliakrilamid jeller blotlanmak için alınmıştır. Membranlar boşluk olmayacak şekilde karşı karşıya getirilmiş ve bunlar filtre kâğıtlarıyla sarılmış bir şekilde blotlama düzeneğine konarak immünoblot tampon solüsyonuyla [$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0.025 M), $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (0.075 M), NaCl (1.45 M)] doyurulmuştur. Soğutulmuş tampon solüsyonuyla

doldurulmuş tanklara yerleştirilen düzenek için 90 dk süreyle, 175 mA elektrik akımı ile muamele edilmiştir. Bu sayede proteinlerin jelden membrana aktarımı oluşturulmuştur. Blotlama işlemi bittikten sonra spesifik olmayan tepkimeleri önlemek amacıyla nitroselüloz membranda protein bağlanmamış kısımların ilgisiz proteinlerle kaplanması (bloklama) amacıyla, petri kutularına alınan nitroselüloz membranlar tampon solüsyonla çalkalayıcı üzerinde üç kez beş dakika kalacak biçimde yıkanmıştır. Spesifik olmayan bağlanmalar, 100 mM NaCl, 20 mM Na₂HPO₄, 20 mM NaH₂PO₄ (pH: 7.2) tamponunda %1'lik, taze sığır serum albümini (BSA) ile bloklanmıştır. Özgül antikorlarla tepkime işleminde primer antikorlar olarak, p-FOXO3a antikor, MAFBx antikor, p-4E-BP1 antikor, p-Akt1 antikor, mTOR antikor, S6K1 antikor (Abcam Inc., CA, USA) kullanılmıştır. Primer antikorlar %0.05 oranında Tween-20 bulunan tamponda 1:1000 oranında hazırlanarak kullanılmıştır. Nitroselüloz membranlar; p-FOXO3a, MAFBx, p-4E-BP1, p-Akt1, mTOR, S6K1 antikorları ile +4 °C'de gece boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonraki aşamada, nitroselüloz membranlar beş kez beş dk süreyle tampon solüsyonuyla yıkanmıştır. Yıkama işlemi tamamlandıktan sonra nitroselüloz membranlar %0.05 oranında Tween-20 bulunan tamponda 1:1000 oranında hazırlanan, peroksidazla konjuge edilmiş sekonder goat-anti-rabbit immünoglobulinle inkübe edilmiştir. Sonraki safhada nitroselüloz membranlar 5 kez 5 dk süreyle tampon solüsyonuyla yıkanmıştır. Bantların görüntülenmesi amacıyla 1 M Tris (pH: 7.4) tamponunda %0.03-0.05 oranında hazırlanmış diaminobenzidin (DAB) solüsyonu kullanılmıştır. DAB ile reaksiyon sonucu nitroselüloz membranlar üzerindeki bantlar kısa bir süre sonra görünür hale gelmiştir. 5-10 dakikalık bir tepkime süresini takiben DAB ile

renklendirilen bantlar net olarak görüldü ve nitroselüloz membranlar iyice yıkanmıştır. Nitroselüloz membranlar iyice kurutulduktan sonra, bantların göreceli yoğunlukları analiz edilmek üzere alınmıştır. Bantların rölatif yoğunlukları Image Analyses System (Image J; National Institute of Health, Bethesda, USA) yazılım programı kullanılarak analiz edilmiştir.

4.3.5. İstatistiksel Analizler

Veriler SAS paket programında (145) PROC GLM prosedürü kullanılarak analiz edilmiştir. Veriler grup ortalaması ve standart hata olarak sunulmuştur. Gruplar arası farklılık tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile belirlenirken grup içi farklılıklar post hoc Tukey testi ile belirlenmiştir. İstatistiki anlamlılık düzeyi $P<0.05$ olarak kabul edilmiştir.

5. BULGULAR

Tablo 7’de görüleceği üzere, FSR oranı ve serum insülin ile glikojen düzeyleri, kontrol grubuna göre egzersiz uygulanan grupta düşerken, laktik asit düzeyi (4.07 mmol/L) ise bu grupta artmıştır ($P<0.05$). Egzersiz sonrası ratlara soya proteini, soya proteini + Cr ve soya proteini + Cr + amilopektin verilmesi ile FSR oranı, serum insülin ve glikojen düzeyleri artmıştır. En yüksek serum insülin ve glikojen düzeyleri E+S+A+Cr grubunda tespit edilmiştir. FSR oranı, insülin ve glikojen düzeyleri E+S+A+Cr grubunda, egzersiz uygulanan gruba göre sırası ile 1.6, 1.2, 1.67 kat arttırmıştır. Laktik asit düzeyleri E+S, E+S+Cr ve E+S+Cr+A grupları arasında önemli bulunmazken ($P>0.05$), FSR oranı ve insülin ile glikojen düzeyleri önemli bulunmuştur ($P<0.05$)

Tablo 7. Soya Proteinini, Krom ve Amilopektinin Kombinasyonunun Serum FSR, Glikojen, Laktik Asit ve İnsülin Üzerine Etkisi

	Gruplar				
	K	E	E+S	E+S+Cr	E+S+A+Cr
FSR, %	8.13±0.05 ^a	4.3±0.12 ^e	5.69±0.1 ^d	6.21±0.2 ^c	7.08±0.08 ^b
İnsülin, pmol/L	147.73±3.36 ^a	110.82±2.37 ^d	124.42±0.76 ^c	129.67±1.73 ^b	133.94±2.15 ^{ab}
LaktikAsit, mmol/L	2.61±0.14 ^c	4.07±0.09 ^a	3.55±0.1 ^b	3.46±0.14 ^b	3.2±0.09 ^b
Glikojen, mg/g	5.36±0.09 ^a	2.91±0.12 ^e	3.57±0.09 ^d	4.41±0.17 ^c	4.88±0.05 ^b

K: Kontrol; E: Egzersiz; S: Soya proteini; Cr: Krom; A: Amilopektin; FSR: Protein Sentezinin Fraksiyonel Oranı. Veriler ortalama ve standart hata olarak sunulmuştur. a-e Aynı satırda farklı harfi taşıyan ortalamalar için gruplar arası fark anlamlıdır ($P<0.05$).

Serum örneklerindeki alanin, treonin, tirosin, lizin, valin, lösin, izolösin, triptofan, fenilalanin amino asit düzeyleri, soya proteini, Cr ve bunların amilopektin kombinasyonlarının tüketimi ile artmıştır (Tablo 8; $P<0.05$). Ancak, serum metiyonin düzeylerinde ise azalma tespit edilmiştir ($P<0.05$). Deneme gruplarında, en yüksek serum amino asit düzeyleri (metiyonin hariç) kombine grupta (E+S+A+Cr) elde edilirken, en düşük düzeyler ise kontrol grubundaki (K) ratlarda elde edildi.

Tablo 8. Soya Proteini, Krom ve Amilopektinin Kombinasyonunun Serum Amino Asit Profiline Etkisi

Amino asitler, μmol/L	Gruplar				
	K	E	E+S	E+S+Cr	E+S+A+Cr
Alanin	302.91±9.77 ^d	360.59±5.53 ^c	424.73±7.66 ^b	437.69±7.55 ^b	562.44±12.54 ^a
Treonin	243.13±5.26 ^{cd}	265.25±3.86 ^c	236.46±3.27 ^d	407.50±4.84 ^b	534.49±10.46 ^a
Tirosin	26.95±0.36 ^e	31.23±0.71 ^d	53.53±0.67 ^c	64.62±0.63 ^b	69.97±1.06 ^a
Metiyonin	82.07±0.83 ^a	69.67±0.67 ^b	51.55±0.65 ^d	52.60±0.66 ^d	56.78±0.62 ^c
Lizin	406.16±4.41 ^c	430.45±3.90 ^c	569.30±15.30 ^b	543.09±6.96 ^b	614.61±4.86 ^a
Valin	187.49±1.70 ^d	203.55±3.44 ^d	244.16±5.23 ^c	271.14±7.53 ^b	325.83±7.04 ^a
Lösin	100.22±2.49 ^d	122.46±4.52 ^c	105.18±2.96 ^d	177.64±1.87 ^b	224.50±3.21 ^a
İzolösin	81.54±0.82 ^d	91.69±2.06 ^c	85.91±1.06 ^{cd}	104.68±2.59 ^b	117.91±3.85 ^a
Triptofan	97.26±4.52 ^c	114.14±5.84 ^{bc}	109.43±3.66 ^{bc}	125.25±5.62 ^{ab}	136.07±3.60 ^a
Fenilalanin	66.05±2.33 ^b	82.15±2.22 ^b	78.15±1.90 ^b	114.74±5.39 ^a	128.96±8.21 ^a

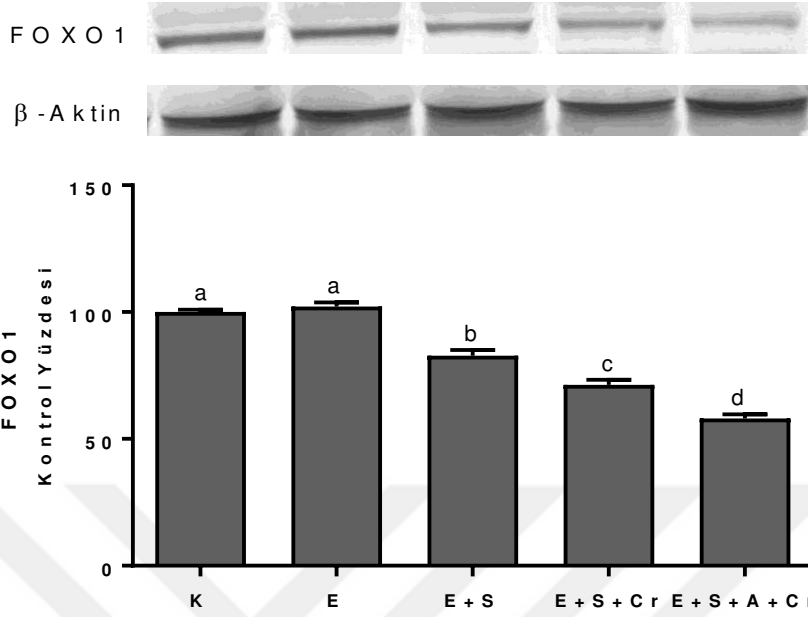
Her grup için rat sayısı n = 7. K: Kontrol; E: Egzersiz; S: Soya proteini; C: Krom; A: Amilopektin. Veriler ortalama ve standart hata olarak sunulmuştur. a-e Aynı satırda farklı harfi taşıyan ortalamalar için gruplar arası fark anlamlıdır ($P<0.05$).

Kas alanin, treonin, metiyonin ve lizin amino asit seviyeleri E+S ve E+S+Cr grupları arasında istatistiksel olarak anlamsız bulunurken (Tablo 9; $P>0.05$), diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir ($P<0.05$). En yüksek kas alanin, treonin ve lizin düzeyleri E+S+A+Cr grubunda saptanmıştır. En düşük kas metiyonin seviyesi ise %39'luk bir düşüşle E+S grubunda saptanmıştır ($P<0.05$). Kas tirosin ve valin amino asit düzeyleri bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($P<0.05$). Kas tirosin ve valin seviyeleri en düşük K grubunda, en yüksek ise E+S+A+Cr grubunda belirlenmiştir. Yine, kas lösin, izolösin, triptofan ve fenilalanin düzeyleri E ve E+S grupları arasında istatistiksel olarak anlamsız bulunurken ($P>0.05$), diğer gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir ($P<0.05$). Kas lösin, izolösin, triptofan ve fenilalanin seviyeleri en düşük K grubunda, en yüksek ise E+S+A+Cr grubunda saptanmıştır.

Tablo 9. Soya Proteinini, Krom ve Amilopektinin Kombinasyonunun Kas Amino Asit Profili Üzerine Etkisi

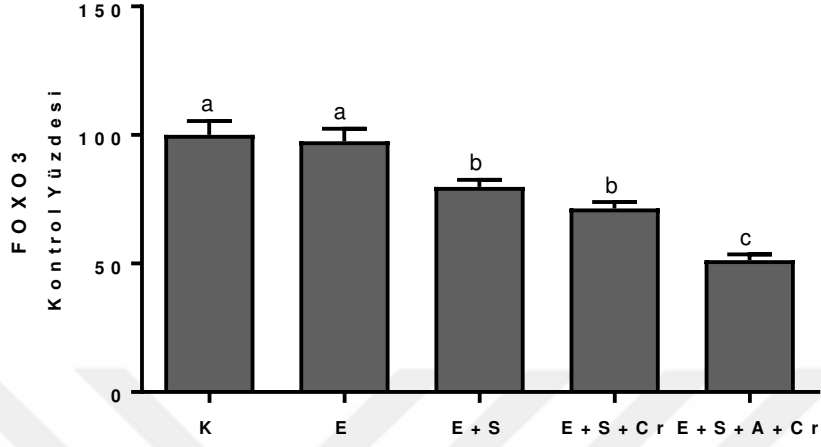
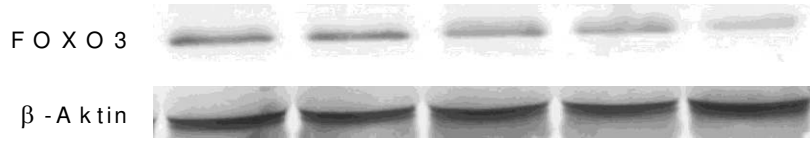
Amino asitler, μmol/kg doku	Gruplar				
	K	E	E+S	E+S+Cr	E+S+A+Cr
Alanin	2231±28.59 ^d	2489±35.63 ^c	2962±43.24 ^b	3404±47.91 ^b	3954±39.62 ^a
Treonin	825.30±12.30 ^d	902.61±11.34 ^c	967.15±9.85 ^b	961.87±19.30 ^b	1162.66±22.03 ^a
Tirosin	165.25±5.16 ^c	196.32±4.08 ^d	225.35±3.29 ^c	245.14±6.25 ^b	271.47±5.45 ^a
Metiyonin	105.14±3.54 ^a	91.49±3.03 ^b	63.85±3.77 ^d	65.16±2.55 ^d	79.92±1.84 ^c
Lizin	813.40±7.19 ^d	875.86±9.12 ^c	1264.35±11.6 ^b	1273.08±10.44 ^b	1315.17±14.32 ^a
Valin	212.54±3.40 ^e	231.90±5.18 ^d	247.63±2.64 ^c	255.10±5.23 ^b	287.63±4.44 ^a
Lösin	153.32±3.64 ^d	176.54±5.87 ^c	179.62±4.04 ^c	196.35±3.75 ^b	246.68±6.53 ^a
İzolösin	95.40±3.51 ^d	115.87±4.33 ^c	112.±1.34 ^c	131.44±2.68 ^b	157.45±2.35 ^a
Triptofan	128.13±4.42 ^d	145.10±6.85 ^c	149.16±5.74 ^c	166.17±6.43 ^b	187.10±5.89 ^a
Fenilalanin	86.83±5.25 ^d	104.86±4.12 ^c	105.53±6.35 ^c	132.57±6.13 ^b	174.31±7.34 ^a

Her grup için rat sayısı n= 7. K: Kontrol; E: Egzersiz; S: Soya proteinini; C: Krom; A: Amilopektin. Veriler ortalama ve standart hata olarak sunulmuştur. a-e Aynı satırda farklı harfi taşıyan ortalamalar için gruplara arası fark anlamlıdır ($P<0.05$).



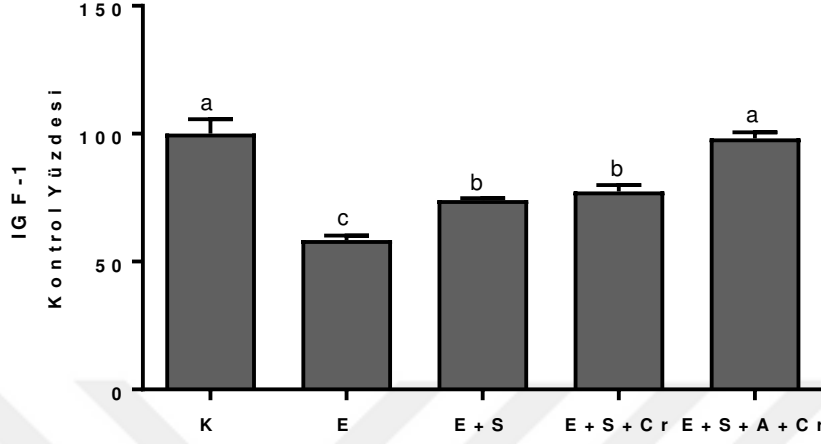
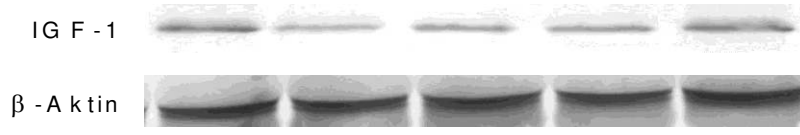
Şekil 9. Soya Proteini, Krom ve Amilopektin Kombinasyonunun Kas FOXO1 Düzeyleri Üzerine Etkisi

Egzersiz grubunda FOXO1 düzeyi, kontrol grubuna göre %2.16 oranında daha yüksek olarak tespit edilmiş, ancak bu fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (Şekil 9; $P>0.05$). Kas FOXO1 düzeyi en yüksek E grubunda tespit edilirken, en düşük düzey ise E+S+A+Cr grubunda bulunmuştur. E+S+A+Cr grubunda kas FOXO1 düzeyi, egzersiz uygulanan gruba göre %43 oranında daha düşük olarak tespit edilmiştir ($P<0.05$). Bu düzey, E+S grubunda, E grubuna kıyasla, %15.5, E+S+Cr grubunda ise E+S grubuyla kıyaslandığı zaman ise %14 oranında daha düşük tespit edilmiştir ($P<0.05$).



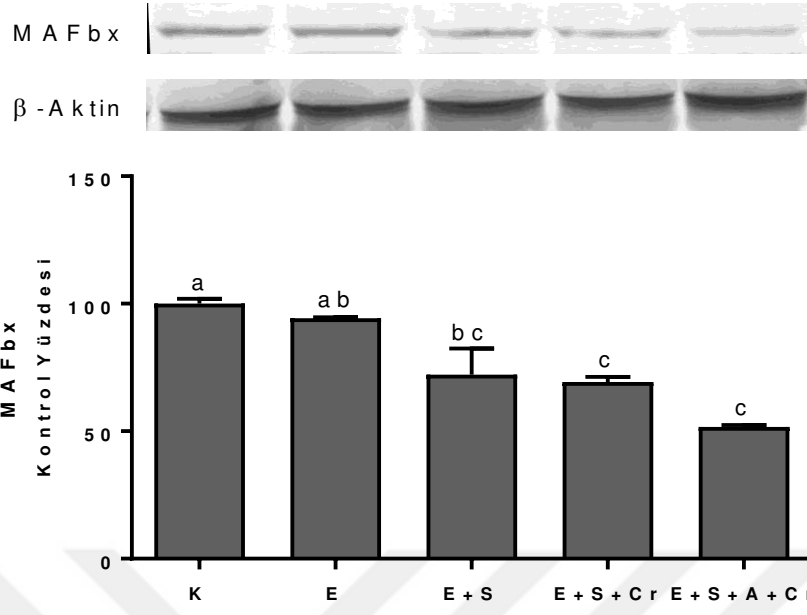
Şekil 10. Soya Proteinini, Krom ve Amilopektin Kombinasyonunun Kas FOXO3 Düzeyleri Üzerine Etkisi

Kontrol ve egzersiz gruplarında FOXO3 düzeyleri bakımından farklılık gözlenmemiştir (Şekil 10; $P>0.05$). Kontrol ve egzersiz grubu ile kıyaslandığında, E+S, E+S+Cr ve E+S+A+Cr gruplarında FOXO3 düzeylerinde azalma görülmüştür ($P<0.05$). Ancak, E+S+A+Cr grubunda en düşük FOXO3 düzeyi tespit edilmiştir. Kas FOXO3 düzeyleri E+S+Cr grubunda, E+S grubuna göre %10.5 oranında daha düşük olmasına rağmen, gruplar arasında istatistiksel olarak önemli fark bulunmamıştır ($P>0.05$).



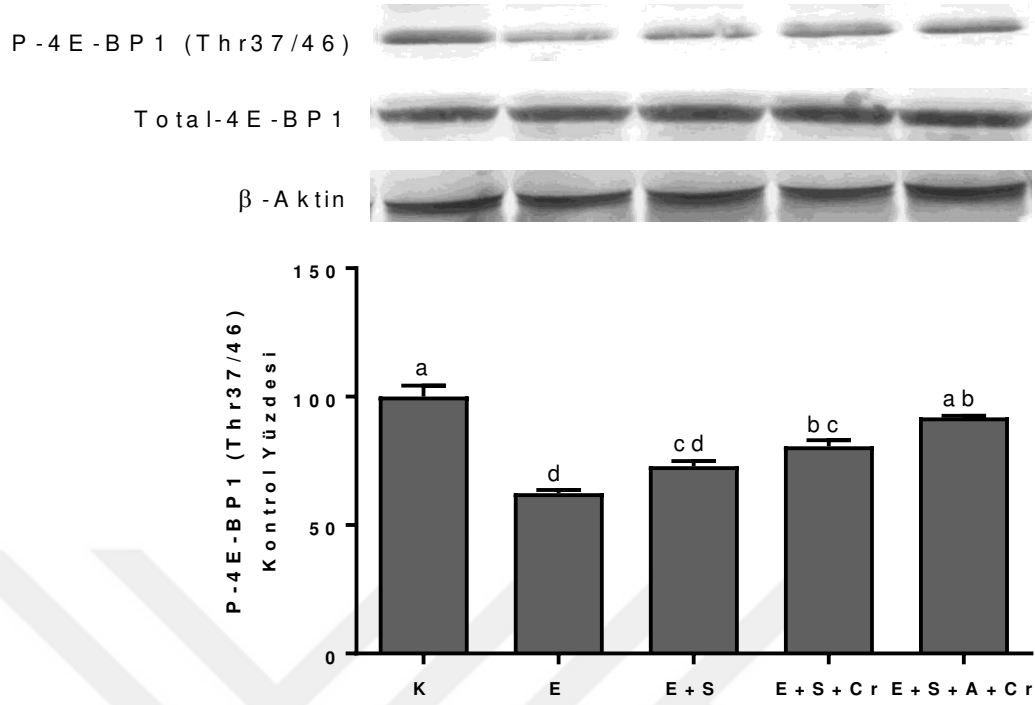
Şekil 11. Soya Proteinini, Krom ve Amilopektin Kombinasyonunun Kas IGF-1 Düzeyleri Üzerine Etkisi

En düşük IGF-1 düzeyi egzersiz grubunda tespit edilmiştir (Şekil 11; $P<0.05$). Egzersiz uygulaması ile IGF-1 ekspresyon düzeyi kontrol grubuna göre %41.6 azalmıştır. Egzersiz uygulanan gruplarda soya proteini, Cr ya da amilopektin tüketimi IGF-1 ekspresyon düzeyinde artışa neden olmuştur ($P<0.05$). E+S+A+Cr grubunda IGF-1 düzeyi kontrol grubundan %1.8 oranında daha düşük olarak belirlenmiş olsa da bu fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P>0.05$). E+S grubu ile E+S+Cr grubu kıyaslandığında, soya ve Cr tüketen grupta IGF-1 düzeyi %4.6 oranında artmış ancak bu artış istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P>0.05$).



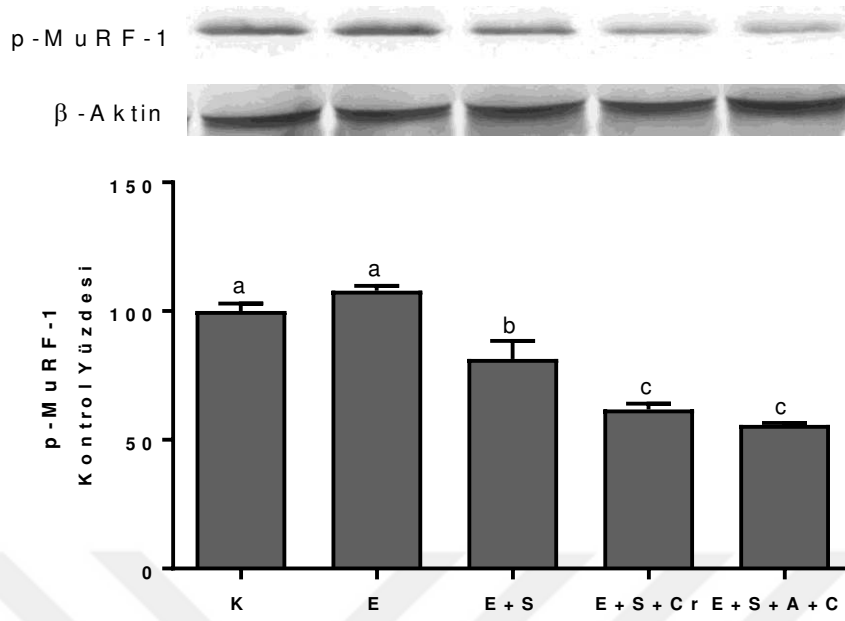
Şekil 12. Soya Proteini, Krom ve Amilopektin Kombinasyonunun Kas MAFbx Düzeyleri Üzerine Etkisi

Şekil 12’de görüleceği üzere, kontrol ve egzersiz gruplarında kas MAFbx düzeyi bakımından bir farklılık tespit edilmemiştir ($P>0.05$). Benzer şekilde, E ve E+S gruplarında da MAFbx ekspresyonu düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($P>0.05$). E+S+Cr grubunda kas MAFbx düzeyi, E grubuna göre %26.5 oranında daha düşük bulunmuştur ($P<0.05$). Öte yandan, en düşük kas MAFbx düzeyi E+S+A+Cr grubunda tespit edilmiştir. E+S+A+Cr grubunda kas MAFbx düzeyi, E+S+Cr grubuna göre, %25.5 oranında daha düşük olmasına rağmen bu düzey istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P>0.05$).



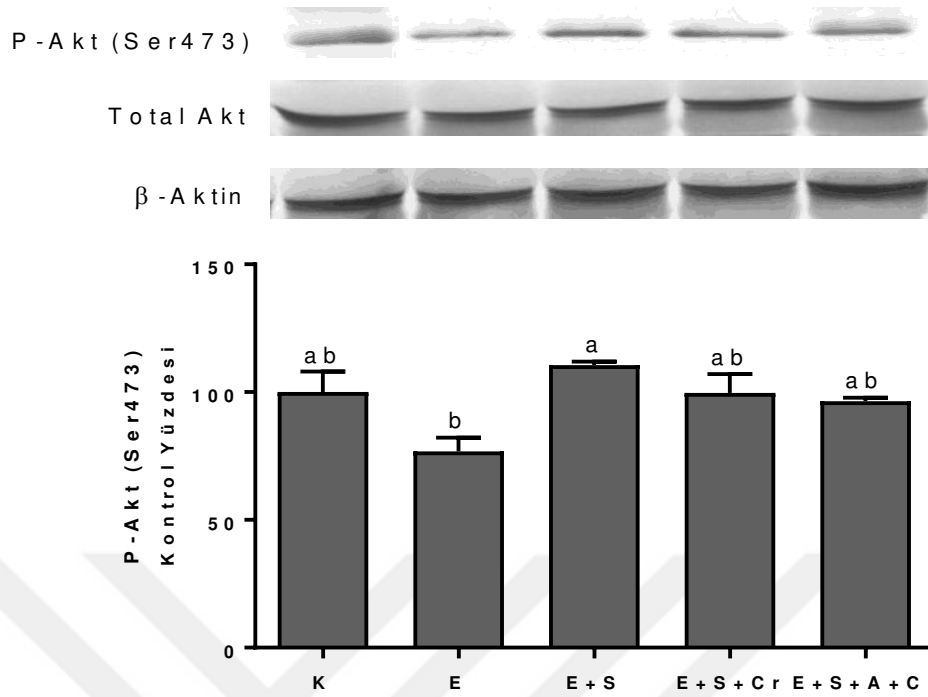
Şekil 13. Soya Proteinini, Krom ve Amilopektin Kombinasyonunun Kas 4E-BP1 Düzeyleri Üzerine Etkisi

Kas 4E-BP1 düzeyleri egzersiz grubunda, kontrol grubuna göre 1.6 kat daha düşük bulunmuştur (Şekil 13, $P<0.05$). Ancak, E+S+A+Cr grubu ile kontrol grubu arasında bir farklılık tespit edilmemiştir ($P>0.05$). E+S+A+Cr grubunda 4E-BP1 düzeyi %13.9 oranında artmasına rağmen, E+S+Cr grubu ile arasında istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir ($P>0.05$). E+S+A+Cr grubundaki kas 4E-BP1 düzeyi E grubuna kıyasla %29.3 oranında artış göstermiştir ($P<0.05$).



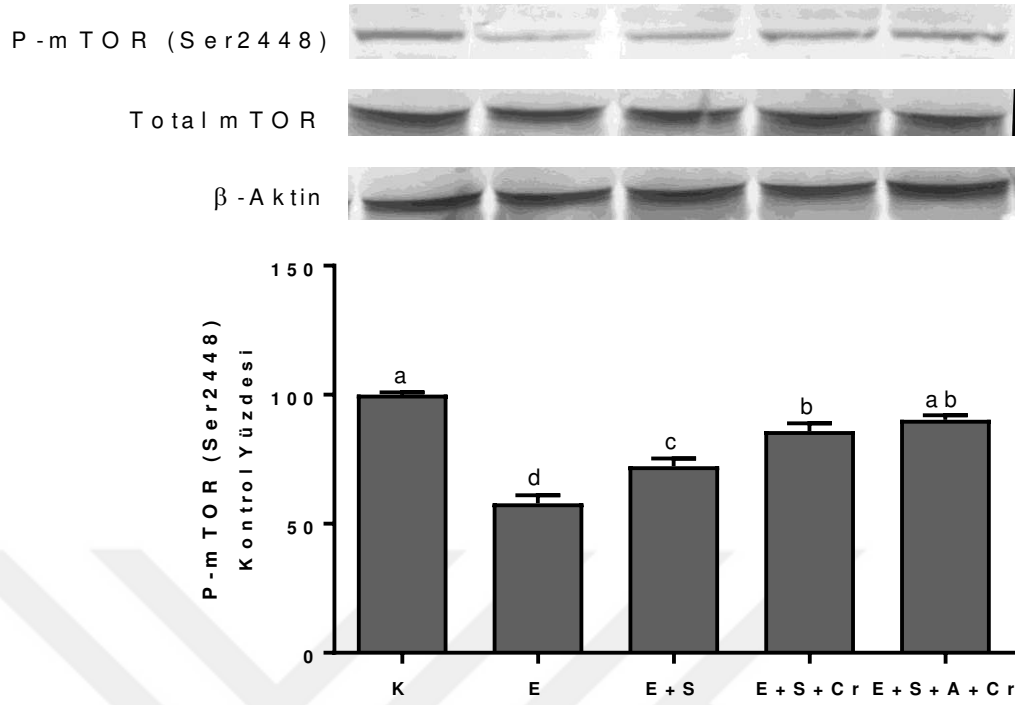
Şekil 14. Soya Proteini, Krom ve Amilopektin Kombinasyonunun Kas MuRF-1 Düzeyleri Üzerine Etkisi

Şekil 14'te görüldüğü gibi, MuRF-1 düzeyleri bakımından egzersiz grubu ile kontrol grubu arasında bir farklılık bulunmamıştır ($P>0.05$). Kas dokusunda en yüksek MuRF-1 düzeyi E grubunda tespit edilirken, en düşük MuRF-1 düzeyi E+S+A+Cr grubunda saptanmıştır. E+S grubunda MuRF-1 düzeyi ile E+S+Cr ve E+S+A+Cr gruplardaki düzeyler arasında farklılık görülmüştür ($P<0.05$). E+S+Cr ve E+S+A+Cr grupları arasında ise farklılık tespit edilmemiştir ($P>0.05$).



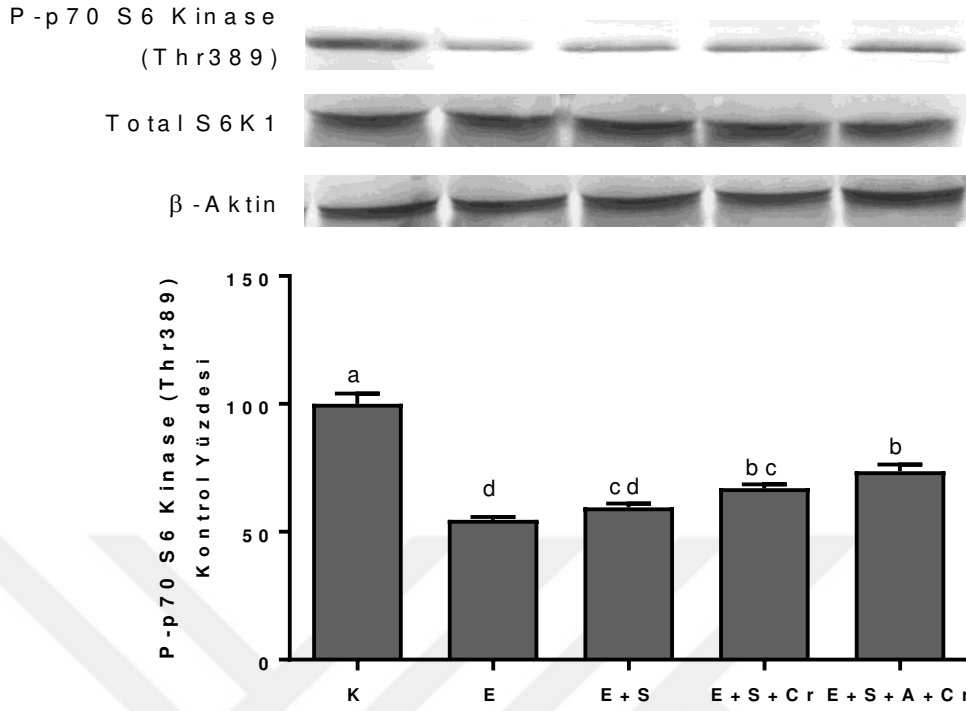
Şekil 15. Soya Proteinini, Krom ve Amilopektin Kombinasyonunun Kas Akt Düzeyleri Üzerine Etkisi

Kontrol grubu ile kıyaslandığında, egzersiz grubu kas Akt düzeylerinde fark görülmemiştir ($P>0.05$). Bu düzeyler, soya proteini, Cr ve bunların kombinasyonunun tüketimi ile artmıştır ($P<0.05$). En yüksek kas Akt düzeyi E+S grubunda, en düşük Akt düzeyi E grubunda tespit edilmiştir ($P<0.05$). K, E+S, E+S+Cr, E+S+A+Cr grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($P>0.05$). E grubu kas Akt düzeyi, E+S grubu Akt düzeyine göre 1.44 kat daha düşük bulunmuştur ($P<0.05$).



Şekil 16. Soya Proteini, Krom ve Amilopektin Kombinasyonunun Kas mTOR Düzeyleri Üzerine Etkisi

Şekil 16’da görüleceği üzere, en düşük kas mTOR düzeyi egzersiz grubunda görülürken, deneme grupları arasında en yüksek kas mTOR düzeyi E+S+A+Cr grubunda saptanmıştır ($P<0.05$). Egzersiz grubu mTOR düzeyi, kontrol grubu mTOR seviyesinden 1.73 kat daha düşük bulunmuştur ($P<0.05$). Ancak, E+S+A+Cr grubu ile kontrol grubu arasında fark tespit edilmemiştir ($P>0.05$). E+S ve E+S+Cr gruplarında mTOR düzeyleri egzersiz grubuna göre daha yüksek bulunmuştur ($P<0.05$).



Şekil 17. Soya Proteini, Krom ve Amilopektin Kombinasyonunun Kas p70S6 Kinaz Düzeyleri Üzerine Etkisi

Egzersiz uygulaması p70S6K düzeyinde düşüşe neden olmuş ve en düşük kas p70S6K düzeyi bu grupta saptanmıştır (Şekil 17, $P<0.05$). Egzersiz grubu ile E+S, E+S+Cr ve E+S+A+Cr grupları arasında önemli bir farklılık tespit edilmiştir ($P<0.05$). E+S+A+Cr grubu E+S grubundan %23.9 oranında daha yüksek kas p70S6K düzeyine sahiptir ($P<0.05$). E+S+A+Cr grubu p70S6K düzeyi, E+S+Cr grubuna göre %9.8 oranında daha yüksek saptanmış olmasına rağmen, bu farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P>0.05$).

6.TARTIşMA

Bu çalışmanın amacı, egzersiz sonrası soya proteini, Cr ve amilopektin+CrPik+CrHis kombinasyonu tüketimeinin insülin düzeyi, protein sentezi ve protein sentezinde görevli olan sinyal yollarını (Akt/mTOR ve miyostatin) nasıl etkilediğini araştırmaktır. Diğeri bir deyişle, gerek sentez ve gerekse yıkımda rol oynayan ve birbiri ile etkileşim içerisinde olan moleküllerin egzersiz sonrası protein ve amilopektin+CrPik+CrHis tüketimi ile nasıl değıştiğini belirlemek projenin ana amacıdır. Egzersiz sonrası SAK uygulaması fraksiyonel protein sentezi, insülin, glikojen ve amino asit düzeylerini arttırmıştır. SAK takviyesinin, egzersiz sonrası kaslarda ubikuitin-proteazom proteoliz yolağını inhibe ederek ve anabolik metabolizmayı ise aktive ederek protein sentezini arttırdığı tespit edilmiştir.

Daha önce yapılan çalışmalarda, soya proteini tüketimeinin, egzersiz uygulamasından sonra kas protein sentezini uyardığı bildirilmiştir (146). Örneğinin, Anthony ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada (2), soya proteininin kolesterol içermemesi ve içerisinde az miktarda yağ bulunmasından dolayı, yağsız vücut kitlesini arttırabileceğini bildirmişlerdir. Daha önce yapılan çalışmalara benzer olarak, bu çalışmada, ratlarda egzersiz ile birlikte soya proteini tüketimi, serum FSR, insülin ve glikojen düzeylerini arttırırken, laktik asit düzeyini düşürmüştür (2, 146, 147). Ayrıca, soya takviyesi protein degradasyonuna yol açan FOXO1, FOXO3, MAFbx ekspresyon düzeylerini de düşürmüş ve IGF-1, mTOR, 4EBP1 gibi proteinlerin düzeyini arttırmıştır.

İnsülinin kas protein metabolizmasındaki rolü kesinleşmemesine rağmen, yeterli EAA olması durumunda kas protein sentezi üzerinde uyarıcı bir etki

gösterdiği ve EAA konsantrasyonlarının azaldığı durumlarda ise kas proteini yıkımını arttırmaya yönelik daha fazla çalıştığı görülmektedir (148). Bu bağlamda, insülin reseptörü substrat-1 (IRS-1)/PI3K/Akt/mTOR/p70S6 kinaz yolağının aktivasyonu dâhil olmak üzere post-insülin reseptör sinyal transdüksiyon yollarının ve fosforilasyon mekanizmalarının araştırılması, kas protein sentezinin moleküler mekanizmalarını anlamak için merkezi bir konumdadır (149). Bu çalışmada, soya proteini ile birlikte Cr tüketen hayvanlarda (E+S+Cr), sadece egzersiz uygulanan ve egzersiz ile birlikte soya proteini tüketen hayvanlara göre, serum insülin seviyesi daha yüksek bulunmuştur. Bu sonuç, insülin kofaktörü olarak da bilinen Cr'un etkinliğini doğrulamaktadır (6, 11, 12) Kromun insülin metabolizması üzerine olan önemli etkileri daha önce *in vitro* (150) ve *in vivo* (11, 12, 151-153) çalışmalarda belirlenmiştir. Krom takviyesi, karbonhidrat ve lipid metabolizmasını iyileştirdiği gibi GLUT-4 translokasyonunu ve insülin metabolizmasında rol alan diğer yapıları da olumlu yönde etkilemektedir (154, 155). Canlı organizmada CrPik'in, insülinin internalizasyonunu ve kültürlenmiş rat iskelet kası hücrelerinde lösin alımını belirgin bir şekilde artırabildiği bildirilmiştir (150). Benzer şekilde yapılmış olan çalışmalarda da, Cr'un insülin direncini azalttığı ve insülin davranışlarını regüle ettiği saptanmıştır (57). Wang ve arkadaşları (156), kültürlenmiş insan hücrelerindeki Cr tedavisinin, insülin reseptör kinaz aktivitesine yol açtığını bildirmişlerdir. İnsanlarda yapılan çalışmalarda, diyabetik olmayan ve diyabetik erişkinlerde günlük 200 µg/kg CrPik'in kolesterol ve glikoz seviyelerini düzenlediği bildirilirken, direnç egzersizi uygulanan genç erkeklerde yapılan diğer iki çalışma da vücut yağında önemli kayıplar yaşandığı ve yağsız kütle elde

edildiği rapor edilmiştir (157). Bu çalışmada, egzersiz+soya (E+S) grubuna göre, egzersiz+soya+krom (E+S+Cr) grubunda bulunan ratlardaki serum insülin seviyeleri yüksek bulunmuştur. Elde etmiş olduğumuz bu bulgular, kromun insülin mekanizması üzerindeki etkilerini araştıran benzeri çalışmalar ile uyumludur (57, 151, 156). Feng ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada (155), Cr takviyesinin glikoz transporter-4 (GLUT-4), Akt, IRS-1, PI3K ekspresyon düzeylerini arttırdığı ve insülin direncini regüle ederek protein sentezini iyileştirdiğini bildirmişlerdir. Ratlarda yapılan başka bir çalışmada da, Cr'un iskelet kası insülinini uyardığı, GLUT-4 translokasyonunu ve glikoz alımını arttırabildiği bildirilmiştir (158). Yine, Shobana ve arkadaşlarının (159) suya 50, 100 and 200 ppm miktarlarında katılarak ratlara verilen Cr^{+6} ($K_2Cr_2O_7$)'ın, serum insülin seviyesinde bir artışa neden olduğunu bildirmişlerdir.

Amilopektinin kas protein sentezini arttırabildiği daha önce yapılmış olan çalışmalarda rapor edilmiştir (2, 141). Bu çalışmada, ratlarda egzersiz sonrası soya, amilopektin ve Cr kombinasyonu tüketiminin insülin, FSR, glikojen ve amino asit düzeylerinde artışa neden olduğu tespit edilmiştir. İnsanlarda yapılmış benzeri bir çalışmada, amilopektin/krom kompleksine peynir altı suyu proteini eklenmesinin, genç ve sağlıklı bireylerde tek başına protein dozunun ötesinde akut direnç egzersizine karşı kas anabolizma yanıtını geliştirdiği gösterilmiştir (141). Elde ettiğimiz sonuçlar, sadece krom uygulamasından sonra gözlemlenen insülin seviyesindeki artışın, kromun amilopektin kombinasyonu ile tüketiminin insülin yanıtını daha fazla arttırdığını gösteren daha önceki bazı çalışmalar ile benzerlik göstermiştir (160). Ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada, sadece krom propiyonat takviyesinin uygulandığı ratlarda, önemli derecede insülin seviyesinin arttığı ve

orta derecede kan lipit seviyesinin düştüğü belirlenmiş, krom propiyonat ve tiyaminin kombine verilmesiyle sinerjik etkinin oluşmadığı belirlenmiştir (161). Ziegenfusset ve arkadaşlarının (141) yapmış oldukları çalışmaya benzer şekilde, kas protein sentezini uyarmada soya proteini, krom ve amilopektin'in kombine olarak uygulanmasının ayrı ayrı uygulanmasından daha etkili olduğunu tespit ettik. SAK ile tedaviden sonra amino asit konsantrasyonlarındaki artış, insülin ve FSR seviyeleri ile ilişkilidir. Bu bulgular, amino asit seviyesindeki artışın mTOR yolağını ve kas anabolik yanıtını aktive ettiğini ileri süren önceki verilerle uyumludur (162, 163). Ayrıca, soya proteini (144), amilopektin ve krom (141) takviyesinin egzersiz sonrası onarımı desteklediği bildirilmiştir. Bu çalışmada da, ratlarda egzersiz sonrası SAK tüketimi, insülin, FSR, glikojen ve amino asit seviyelerini arttırmıştır. Egzersiz sonrası ratlarda soya proteini, amilopektin ve Cr kombinasyonu tüketimi ile ilgili çalışmalara literatürlerde rastlanılmamıştır. Ancak, bunların egzersiz sonrası tek başına kullanımı ile ilgili literatürler, bu çalışmada tespit edilen sonuçları destekler niteliktedir (47, 164-167). Wei ve arkadaşları yapmış olduğu bir çalışmada (165), kuvvet egzersizi uygulanan farelerde, izole soya proteini takviyesinin yağsız kas kütlesini arttırdığını ve vücut yağlanmasını önlediğini bildirilmişlerdir. Aynı çalışmada, izole soya proteini takviyesiyle yüzme egzersizi uygulanan grupta yüzme süresi diğer gruplardan daha uzun olarak tespit edilmiştir. İzole soya proteini takviyesi ile yüzme egzersizi uygulanan farelerde serum laktat seviyesi azalırken, serum glikoz seviyesi artmıştır (165). Öte yandan, Turgut ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada (166), CrHis'in diyetle 400 µg/kg dozunda ilavesi ile serum glikoz ve trigliserit düzeylerinde azalma tespit etmişlerdir. Aynı araştırmacılar, diyetle katılan

CrHis'in kas ve karaciğer IRS-1, PPAR- γ düzeylerini arttırdığını, ancak NF-k β düzeylerini düşürdüğünü belirlemişlerdir.

Kas ve karaciğer dokusunda önemli miktarlarda bulunan glikojen rezervleri, egzersiz ve beslenme ile doğrudan ilişkilidir (168, 169). Kan glikoz miktarının ayarlanması büyük ölçüde karaciğerde bulunan glikojen ile sağlanmaktadır. Yüksek miktarda karbonhidrat alımında öncelikle kas ve karaciğer uyarılmaktadır (170). Daha sonra ise kas dokusu insüline adapte olur ve duyarsızlaşır. Bu aşamalardan sonra yağ dokusu işlev göstermeye başlamaktadır. Bu çalışmada, egzersiz uygulanan ratlara soya proteini, Cr ve bunların amilopektin ile birlikte verilmesinin glikojen düzeyini arttırdığı, en yüksek glikojen seviyesinin ise E+S+A+Cr grubunda olduğu tespit edilmiştir. Egzersiz uygulanan ratlarda SAK tüketiminin glikojen düzeyleri üzerine etkisi ile ilgili daha önce yapılan çalışmalara rastlanılmamış ancak Cr ve soya protein tüketimi ile ilgili çalışmalara rastlanılmıştır (170-172). Örneğin, Volek ve arkadaşları (170), egzersiz sonrası Cr ilavesinin laktat ve glikojen miktarlarını arttırdığını, PI3-kinase seviyesini ise azalttığını bildirmişlerdir.

Bu çalışmada, SAK ilavesi ile metiyonin hariç diğer amino asit düzeylerinde artış görülmüştür. Egzersiz yaptırılan ratlarda metiyonin düzeyindeki azalma ilginçtir. Aslında, amino asitler arasında sadece metiyonin ve sistein sülfür içermektedir. Sülfür, DNA'yı modifiye ederek, hücrelerin düzgün çalışmasının sürdürülmesini ve kas kazanımını sağlamaktadır (173, 174). Metiyonin, kaslara zarar veren bir egzersiz uygulamasından sonra kaslarda yeni proteinleri üretme sürecini başlatır (175). Bu durum, egzersiz uygulanan ratlarda düşük orandaki metiyonin düzeyini açıklayabilir. Öte yandan, soya proteini takviyesinin

kas protein sentezi üzerindeki uyarıcı etkileri daha önce bildirilmiştir (147, 176). Ziegenfuss ve arkadaşlarının (141) yapmış oldukları çalışma sonuçlarına benzer olarak, bu çalışmada da soya proteini, amilopektin ve kromun, kas protein sentezini uyarmada arttırıcı etkisi, kombine grupta daha etkili bulunmuştur. SAK uygulamasından sonra amino asit konsantrasyonlarındaki artış, insülin ve kas FSR seviyeleri ile ilişkili olabilir. Bu gözlem, amino asit seviyesindeki artışın, mTOR yolağını ve kas anabolizmasını aktive ettiğini öne süren önceki verilerle uyumludur (162, 163). Bunlara ilave olarak, insülinin protein sentezini yeterli miktarda protein veya amino asit varlığında uyardığı yapılan çalışmalarda belirlenmiştir (2).

İskelet kası protein sentezinde (p70S6K1 ve 4E-BP'in fosforilasyon seviyesi; IGF-1, Akt^{Ser473} ve mTOR^{Ser2448}, un ekspresyonu) ve protein yıkımında (FOXO1'in fosforilasyon seviyesi; MURF1, MAFbx'in ekspresyonu) çok sayıda molekülün birbiri ile etkileşim içinde rol aldığı sinyal yollarının aktive veya inhibe olması etkilidir (14). FOXO'lar, forkhead ailesindeki transkripsiyon faktörleri, korunmuş bir DNA-bağlama alanına sahiptirler (177-179) ve FOXO1, PI3K/Akt yollarının önemli bir inhibisyon hedefidir (180). Organizmada FOXO3, ubiquitin-protea ile bazı sinyal yolları ve kaslardaki atrogen1, ubiquitin E3 ligaz ekspresyonunu düzenleyen hücre içi protein yıkımı olarak tanımlanır (181, 182, 183). Aslında, FOXO1 ve FOXO3, E3 ubiquitin ligazları MAFbx/atrogen-1 ve MuRF1'in transkripsiyonu için gereklidir (181) ve bu da iskelet kası homeostazında rol oynayan çeşitli proteinlerin proteazomal bozulmasına yol açmaktadır. Yapılmış çalışmalarda MAFbx/atrogen-1 miyojenik transkripsiyon faktörleri, miyogeninlerin desmin ve vimentin gibi bazı sarkomerik

proteinlere kadar parçalanmasını katalize ettiği bildirilmiştir (184, 185). Organizmada MAFbx ve MuRF1; FOXO transkripsiyonel faktör familyası tarafından regüle edilmektedir. Ayrıca FOXO transkripsiyonel faktör ailesi, apoptozis, metabolizma ve hücre siklusu aşamalarıyla bağlantılıdır (120). Kas dokusunda FOXO3' ün aktif hale gelmesi; kas dokusunun küçülmesini sağlayan genlerin transkripsiyonunda önemli rol oynar ve protein yıkımını tetikleyerek hızlı bir şekilde atrofiye yol açar (117). Ayrıca FOXO defosforilize olduğunda, hücre çekirdeğine girer ve gelişmeyi durdurur, apoptozisi teşvik eder (120). Bu çalışmada, egzersiz uygulanan ratlarda, SAK ilavesi FOXO1, FOXO3, MAFbx ve MuRF1 düzeylerinde azalmaya neden olmuştur. Bu azalmalar, ubiquitin-proteazom proteoliz yolağının inhibisyonunu göstermektedir. Egzersiz uygulanan ratlarda SAK'ın bu proteinler üzerine etkilerini karşılaştıracak herhangi bir literatür bulunmamıştır. Ancak, Luo ve arkadaşları (186), tek başına soya proteini izolatu diyetinin, MAFbx/atrogin/MuRF1 ekspresyonunu ve E3 ligazlarının indüksiyonunda rol oynayan FOXO transkripsiyon faktörlerini azalttığını bildirmişlerdir. Bu da bu bulguları destekler niteliktedir. Öte yandan, E3-ubiquitin ligaz genlerinin ekspresyonu, Akt ve FOXO1'in uyarılması yoluyla IGF-1 tarafından düzenlenmektedir (187). Temelde IGF-1 yolağı proteinlerin inaktif olduğu sitoplazmadaki FOXO'yu ayrıştırarak protein yıkımını engellemektedir (187). Bu çalışmada, egzersiz sonrası SAK tüketimi IGF-1 düzeyini arttırmıştır.

mTOR, PI3K ilişkili kinaz familyasına ait tipik olmayan serine/treonin protein kinazdır. mTOR yolağı en az beş temel hücre içi ve hücreler arası uyarıları (büyüme faktörleri, stres, enerji durumu, oksijen ve aminoasitler gibi) bir araya getirerek birçok süreci (protein ve lipid sentezi ve otofaji gibi) denetlemektedir

(18). Ayrıca mTOR, gelişme sinyalleri ve ideal besin alımı durumunda, protein sentez düzenleme mekanizmasını etkilemektedir. İnsan ve hayvan organizmasındaki proteinlerin büyük kısmı iskelet kaslarında depolandığından, iskelet kas fenotipinin belirlenmesinde mTOR odak noktadır. Miyofibriller proteinlerin üretimi içinde gerekli olan mTOR, total iskelet kası miktarında artmış mekanik yüklenmeye cevap olarak oluşan kas büyümesi ve protein sentezindeki artış için de gerekmektedir (188, 189). Ancak, mTOR sinyal yollarında azalmış mekanik yüklenme süresince protein sentezi ve total kas miktarının düzenlenmesi üzerindeki etkisinin incelendiği bir araştırmada; immobilizasyon sürecinde öngörüldüğü gibi protein sentez hızını ve mevcut kas miktarını azaltmıştır. İlgi çekici olarak immobilizasyonda mTOR sinyalizasyonu da artmıştır (190). Immobilizasyon halinde rapamisin ile mTOR sinyal yolları bloke edildiğinde ise, protein yapımı ve kas miktarındaki kayıp daha da artmaktadır. Bundan dolayı mTOR'un aktif hale gelmesinin immobilizasyon süresince oluşan protein üretimi ve total kas kütlesindeki azalmayı değiştirmek için gerekli olduğu belirtilmiş ve kas küçülmesinin engellenmesinde mTOR aktivasyonu hedef uygulama olarak belirlenmiştir (190). Ayrıca mTOR'un Akt aktivasyonu ve ardından p70S6K ve 4E-BP1'in fosforile etmesi, protein sentezini indükler (179, 191). Bu çalışmada, egzersiz sonrası SAK ilavesi fosforile IGF-1, Akt, mTOR, 4E-BP1 ve S6K1 düzeylerinde artışa neden olmuş, bu da kas ve protein sentezinde anabolik metabolizmanın indüklendiğini göstermektedir. Bu bilgilere ek olarak, yüksek insülin seviyesinin, mTOR substratları fosforilasyonunun yükselmesini indüklediği bilinmektedir (178). Bu etki, SAK ile muameleden sonra 4E-BP1 ve p70S6K1'in fosforilasyon seviyesindeki artışı da açıklayabilir. Benzer şekilde,

Anthony ve arkadaşları (6) yaptıkları bir çalışmada, soya ve peynir altı suyu proteinlerinin egzersiz sonrası uygulanmasıyla fosforile mTOR düzeyinin arttığını bildirmişlerdir. Aynı şekilde, Luo ve arkadaşları (186), soya proteini izolatu diyetinin mRNA düzeylerini ve mTOR'un fosforilasyonunu arttırdığını rapor etmişlerdir. Ancak, SAK kombinasyonun mTOR sinyal yolağı üzerine etkisi ile ilgili çalışmalara rastlanılmamıştır.

Sonuç olarak, egzersiz sonrası SAK ilavesi FSR, insülin ve glikojen düzeylerini arttırmıştır. SAK ilavesi, ubiquitin-proteasome yolağını inhibe ederek ve anabolik metabolizmayı indükleyerek protein sentezini iyileştirmiştir. Bu veriler, egzersiz sonrası kas protein sentezini uyaran SAK kompleksinin yararlı etkilerini ortaya çıkaran ilk bulgular arasındadır. Fakat SAK uygulaması sonrasında kas protein sentezinde yer alan diğer mekanizmaları açığa çıkarmak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca, bu çalışmada elde edilen bulguların yarış atlarında da yeni yaklaşımlara öncülük edebilir.

7. KAYNAKÇA

1. Vynias D. Investigation into the wet processing and surface analysis of soybean fabrics. PhD Thesis, University of Manchester, UK, 2006.
2. Anthony JC, Anthony TG, Layman DK. Leucine supplementation enhances skeletal muscle recovery in rats following exercise. *J Nutr* 1999; 129: 1102-1106.
3. Messina M, Magee P. Does soy protein affect circulating levels of unbound IGF-1? *Eur J Nutr* 2018; 57: 423-432.
4. Tetlow IJ, Emes MJ. A review of starch-branching enzymes and their role in amylopectin biosynthesis. *IUBMB Life* 2014; 66: 546-558.
5. Rudrappa SS, Wilkinson DJ, Greenhaff PL, et al. Human skeletal muscle tissue atrophy: effects on muscle protein synthesis, breakdown, and insulin resistance-A Qualitative Review. *Front Physiol* 2016; 7: 361-370.
6. Anthony TG, McDaniel BJ, Knoll P, et al. Feeding meals containing soy or whey protein after exercise stimulates protein synthesis and translation initiation in the skeletal muscle of male rats. *J Nutr* 2007; 137: 357-362.
7. Williamson DL, Kubica N, Kimball SR, Jefferson LS. Exercise-induced alterations in extracellular signal-regulated kinase 1/2 and mammalian target of rapamycin (mTOR) signalling to regulatory mechanisms of mRNA translation in mouse muscle. *J Physiol* 2006; 573: 497-510.
8. Vincent JB. Chromium. Is it essential, pharmacologically relevant, or toxic. *Met Ions Life* 2013; 13: 171-198.
9. Costello RB, Dwyer JT, Bailey RL. Chromium supplements for glycemic control in type 2 diabetes: limited evidence of effectiveness. *Nutr Rev* 2016; 74: 455-68.
10. White PE, Vincent JB. Systematic review of the effects of chromium (III) on chickens. *Biol Trace Elem Res* 2019; 188: 99-126.
11. Machac N, Kaya Karasu G, Sahin N, et al. Effects of supplementation of chromium histidinate on glucose, lipid metabolism and oxidative stress in cats. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 2019; 103: 331-338.
12. Orhan C, Kucuk O, Tuzcu M, et al. Effect of supplementing chromium histidinate and picolinate complexes along with biotin on insulin sensitivity and related metabolic indices in rats fed a high-fat diet. *Food Sci Nutr* 2018; 7: 183-194.
13. Hiroyuki Kato, Hiromi Suzuki, Yoshiko Inoue, Katsuya Suzuki, Hisamine Kobayashi. Leucine-Enriched essential amino acids augment mixed protein synthesis, but not collagen protein synthesis, in rat skeletal muscle after downhill running. *Nutrients* 2016; 8: 399-404.
14. Suljevic S. İskelet kasında tüm vücut titreşimi ve immobilizasyonun protein sentez ve yıkımında rol oynayan sinyal yolları üzerine etkisi. Doktora Tezi, Ankara: Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2015.
15. Timmer LT, Hoogaars WMH, Jaspers RT. The role of IGF-1 signaling in skeletal muscle atrophy. *Adv Exp Med Biol* 2018; 1088: 109-137.
16. Schiaffino S, Mammucari C. Regulation of skeletal muscle growth by the IGF1-Akt/PKB pathway: insights from genetic models. *Skeletal Muscle* 2011; 1: 4-10.
17. Gordon BS1, Kelleher AR, Kimball SR. Regulation of muscle protein synthesis and the effects of catabolic states. *Int J Biochem Cell Biol* 2013; 45: 2147-57.
18. Laplante M, Sabatini DM. mTOR signaling in growth control and disease. *Cell* 2012; 149: 274-293.

19. Lang SM, Kazi AA, Hong-Brown L, Lang CH. Delayed recovery of skeletal muscle mass following hindlimb immobilization in mTOR heterozygous mice. *PLoS One* 2012; 7: 38910.
20. Goodman CA. The Role of mTORC1 in mechanically-induced increases in translation and skeletal muscle mass. *J Appl Physiol* 2019; 24.
21. Gingras AC, Kennedy SC, O'Leary MA, Sonenberg N, Hay N. 4E-BP1, a repressor of mRNA translation, is phosphorylated and inactivated by the Akt(PKB) signaling pathway. *Genes Dev* 1998; 12: 502-513.
22. Hua Y, Clark S, Ren J, Sreejayan N. Molecular mechanisms of chromium in alleviating insulin resistance. *J Nutr Biochem* 2012; 23(4): 313-319.
23. Wehling M, Cai B, Tidball JG. Modulation of myostatin expression during modified muscle use. *FASEB Journal* 2000; 14: 103-110.
24. Bolster DR, Kubica N, Crozier SJ, et al. Immediate response of mammalian target of rapamycin (mTOR)-mediated signalling following acute resistance exercise in rat skeletal muscle. *Physiol J* 2003; 553: 213-220.
25. Nader GA. Molecular determinants of skeletal muscle mass: getting the "AKT" together. *Int J Biochem Cell Biol* 2005; 37: 1985-1996.
26. Egerman MA, Glass DJ. Signaling pathways controlling skeletal muscle mass. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 2014; 49(1): 59-68.
27. Lee SJ, McPherron AC. Myostatin and the control of skeletal muscle mass. *Curr Opin Genet Dev* 1999; 9: 604-607.
28. Zeng F, Zhao H, Liao J. Androgen interacts with exercise through the mTOR pathway to induce skeletal muscle hypertrophy. *Biol Sport* 2017; 34(4): 313-321.
29. Verbrugge SAJ, Schönfelder M, Becker L, et al. Genes whose gain or loss-of-function increases skeletal muscle mass in mice: a systematic literature review. *Front Physiol* 2018; 22(9): 553.
30. Clemmons DR. Role of IGF-1 in skeletal muscle mass maintenance. *Trends Endocrinol Metab* 2009; 20(7): 349-356.
31. Allen DL, Unterman TG. Regulation of myostatin expression and myoblast differentiation by FoxO and SMAD transcription factors. *Am J Physiol Cell Physiol* 2007; 292: 188-199.
32. Can S. Östrojenin egzersize bağlı kas hasarına karşı koruyucu olup olmadığının araştırılması. Doktora Tezi, Erzurum: Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı, 2010.
33. Pataky MW, Yu CS, Nie Y, et al. Skeletal muscle fiber type-selective effects of acute exercise on insulin-stimulated glucose uptake in insulin resistant, high fat-fed rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2019; doi: 10.1152/ajpendo.00482.2018.
34. Toprak EK. Genç, sağlıklı erkek bireylerde ilerleyici direnç egzersizlerinin hemoreolojik parametreler üzerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Denizli: Pamukkale Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2010.
35. Korsager Larsen M, Matchkov VV. Hypertension and physical exercise: The role of oxidative stress. *Medicina (Kaunas)* 2016; 52(1): 19-27.
36. Peker G, Çiloğlu F, Buruk G. Egzersiz ve egzersiz + diyetin kan lipidleri üzerine etkisi. *Spor Araştırmaları Dergisi* 2000; 4: 33-46.
37. Alessio HM, Goldfarb AH. Lipid peroxidation and scavenger enzymes during exercise. *Adaptive Response to Training. J Appl Physiol* 1988; 64(4): 1333-1336.
38. Gönenç S, Açıkgöz O, "Akut egzersizin lipid peroksidasyon düzeylerine etkisi" *Spor Hekimliği Dergisi* 1997; 32: 155-160.

39. Somani SM, Frank S, Rybak LP. Responses of antioxidant system to acute and trained exercise in rat heart subcellular fractions. *Pharmacol Biochem Behav* 1995; 51: 627-634.
40. Urso ML, Clarkson PM. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicology* 2003; 189: 41-54.
41. Vollaard NB, Shearman JP, Cooper CE. Exercise-induced oxidative stress: Myths, realities and physiological relevance. *Sports Med* 2005; 35: 1045-1062.
42. Siddiq MA, Hochberg GK, Thornton JW. Evolution of protein specificity: insights from ancestral protein reconstruction. *Curr Opin Struct Biol* 2017; 47: 113-122.
43. Blackburn RS. Biodegradable and sustainable fibres. CRC Press UK, 2005.
44. Sukalingam K, Ganesan K, Das S, Thent ZC. An insight into the harmful effects of soy protein: A review. *Clin Ter* 2015; 166(3): 131-139.
45. Melson CE, Nepocatysh S, Madzima TA. The effects of whey and soy liquid breakfast on appetite response, energy metabolism, and subsequent energy intake. *Nutrition* 2019; 61: 179-186.
46. Ren G, Yi S, Zhang H, Wang J. Ingestion of soy-whey blended protein augments sports performance and ameliorates exercise-induced fatigue in a rat exercise model. *Food Funct* 2017; 8(2): 670-679.
47. Aragon AA, Schoenfeld BJ. Nutrient timing revisited: is there a post-exercise anabolic window? *J Int Soc Sports Nutr* 2013; 10: 5.
48. USDA. National Nutrient Database for Standard Reference, 2018.
49. Choi JH, Kang MJ, Yoon C. Dyeing properties of soya fibre with reactive and acid dyes. *Color Technol* 2005; 121: 81-85.
50. Liu P, Patteck CJ, Blowes DW, et al. A method for redox mapping by confocal micro-X-ray fluorescence imaging: using chromium species in a biochar particle as an example. *Anal chem* 2019; doi: 10.1021/acs.analchem.8b05718.
51. Golubnitschaja O, Yeghiazaryan K. Opinion controversy to chromium picolinate therapy's safety and efficacy: ignoring 'anecdotes' of case reports or recognising individual risks and new guidelines urgency to introduce innovation by predictive diagnostics? *EPMA J* 2012; 3-11.
52. Nieto AM, Soriano JJ, Garcia-Delgado RA. Changes in chromium distribution during the electrodialytic remediation of a Cr (6)-contaminated soil. *Environ Geochem Health* 2008; 6.
53. Offenbacher EG, Pi-Sunyer FX. Chromium in human nutrition. *Ann Rev Nutr* 1988; 8: 543-563.
54. McDowell LR. Minerals in animal and human nutrition. Academic Press 1992; 265-293.
55. Jing X, Edwards KC, Vincent JB, Cassady CJ. The use of chromium (III) complexes to enhance peptide protonation by electrospray ionization mass spectrometry. *J Mass Spectrom* 2018; 53: 1198-1206.
56. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. (Edited by). Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics. individual trace elements, chromium elsevier-saunders missouri USA 4th edition. 1122 -1125: 2006.
57. Clodfelder BJ, Emamaullee J, Hepburn DD, et al. The trail of chromium (III) in vivo from the blood to the urine: the roles of transferrin and chromodulin. *J Biol Inorg Chem* 2001; 6: 608-17.
58. Vincent JB. The biochemistry of chromium. *J Nutr* 2000; 130: 715-718.
59. Saad AA, El-Sikaily A, Kamel MA, Kassem H, Abdel-Latif MS. Relationship between metal pollution and gene expression of insulin-like growth factor II. *J Health Pollut* 2018; 8: 1-10.

60. Sahin K, Tuzcu M, Orhan C, et al. Chromium modulates expressions of neuronal plasticity markers and glial fibrillary acidic proteins in hypoglycemia-induced brain injury. *Life Sci* 2013; 93(25-26): 1039-1048.
61. Hepburn DD, Vincent JB. Tissue and subcellular distribution of chromium picolinate with time after entering the bloodstream. *J Inorg Biochem* 2003; 94: 86-93.
62. Vincent JB. The potential value and toxicity of chromium picolinate as a nutritional supplement, weight loss agent and muscle development agent. *Sports Med* 2003; 33: 213-230.
63. Ducros V. Chromium metabolism. A literature review. *Biol Trace Elem Res* 1992; 32: 65-77.
64. Yamamoto A, Wada O, Ono T. Distribution and chromium-binding capacity of a low-molecular-weight, chromium-binding substance in mice. *J Inorg Biochem* 1984; 22: 91-102.
65. Borguet F, Cornelis R, Delanghe J, et al. Study of the chromium binding in plasma of patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Clin Chim Acta* 1995; 238: 71-84.
66. Büyükleblebici O, Karagül H. Streptozotosin ile deneysel olarak diyabet oluşturulan ratlarda kromun biyokimyasal etkileri. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2012; 18: 21-26.
67. Komorowski JR, Greenberg D, Juturu V. Chromium picolinate does not produce chromosome damage. *Toxicol In Vitro* 2008; 22: 819-826.
68. Harvey RA, Ferrier DR. Integration of metabolism: Biochemistry 5th Edition, Philadelphia: Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry 66-72 :2011.
69. Anderson RA, Polansky MM, Bryden NA. Stability and absorption of chromium and absorption of chromium histidinate complexes by humans. *Biol Trace Elem Res* 2004; 101: 211-218.
70. Kalaycıoğlu L, Serpek B, Nizamlıoğlu M, Baspınar M, Tiftik AM. Biyokimya. Nobel Yayın Dağıtım. Ankara, 51-52:2000.
71. Stout MD, Nyska A, Collins BJ, et al. Chronic toxicity and carcinogenicity studies of chromium picolinate monohydrate administered in feed to F344/N rats and B6C3F1 mice for 2 years. *Food Chem Toxic* 2009; 47: 729-733.
72. Chen SY, Lien TF. Toxicity evaluation of chromium picolinate nanoparticles in vivo and in vitro in rat. *Biol Trace Elem Res* 2013; 151: 247-255.
73. NRC.National Research Council. The role of chromium in animal nutrition. National Academic Press, Washington DC 1997:202-310.
74. Rager JE, Suh M, Chappell GA, Thompson CM, Proctor DM. Review of transcriptomic responses to hexavalent chromium exposure in lung cells supports a role of epigenetic mediators in carcinogenesis. *Toxicol Lett* 2019; 305: 40-50.
75. Anderson RA, Cheng N, Bryden NA, et al. Elevated intakes of supplemental chromium improve glucose and insulin variables in individuals with type 2 diabetes. *Diabetes* 1997; 46: 1786-1791.
76. Cefalu WT, Frank BH. Role of chromium in human health and in diabetes. *Diabetes Care* 2004; 27: 2741-2751.
77. Vincent JB. Mechanisms of chromium action: Low-molecular-weight chromium- binding substance. *J Am Coll Nutr* 1999; 18: 6-12.
78. Davis CM, Royer AC, Vincent JB. Multinuclear chromium assembly activates insulin receptor kinase activity: functional model for low-molecular-weight chromiumbinding substance. In *Org Chem* 1997; 36: 5316-5320.
79. Fernandez-Real JM, Lopez-Bermejo A, Ricart W. Cross-talk between iron metabolism and diabetes. *Diabetes* 2002; 51: 2348-2354.

80. Murakami K, Okubo H, Sasaki S. Effect of dietary factors on incidence of type 2 diabetes: a systematic review of cohort studies. *J Nutr Sci Vitaminol* 2005; 51: 292-310.
81. Bjørklund G, Aaseth J, Skalny AV, et al. Interactions of iron with manganese, zinc, chromium, and selenium as related to prophylaxis and treatment of iron deficiency. *J Trace Elem Med Biol* 2017; 41: 41-53.
82. Feng W, Li B, Liu J, et al. Study of chromium containing proteins in subcellular fractions of rat liver by enriched stable isotopic tracer technique and gel filtration chromatography. *Anal Bioanal Chem* 2003; 375: 363-368.
83. Moshtaghi AA, Ani M, Bazrafshan MR. Comparative binding study of aluminum and chromium to human transferrin. *Biol Trace Elem* 1992; 32-38.
84. Clodfelder BJ, Vincent JB. The time-dependent transport of chromium in adult rats from the bloodstream to the urine. *J Biol Inorg Chem* 2005; 10: 383-393.
85. Calabrese EJ, Baldwin LA. Defining hormesis. *Human Exp Toxicol* 2002; 21: 91-97.
86. Offenbacher GE, Xavier P, Sunyer Stocer BJ. Chromium. In: O' Dell BL, Sunde RA, eds. *Handbook of nutritionally essential mineral elements*. New York, Basel, Hong Kong: Marcel Dekker 1997; 389-412.
87. Davies S, McLaren Howard J, Hunnisett A, Howard M. Age-related decreases in chromium levels in 51,665 hair sweat, and serum samples from 40,872 patients-implications for the prevention of cardiovascular disease and type 2 diabetes mellitus. *Metab Clin Exp* 1997; 46(5): 469-73.
88. Gerloff BJ. Effects of selenium supplementation on dairy cattle. *J Anim Sci* 1992; 70: 3934-3940.
89. Sun H, Brocato J, Costa M. Oral chromium exposure and toxicity. *Curr Environ Health Rep* 2015; 2(3): 295-303.
90. Roginski EE, Mertz W. Effect of chromium (III) supplementation on glucose and amino acid metabolism in rats fed a low protein diet. *J Nutr* 1969; 97: 525-530.
91. Page TG, Southern II, Ward TL, et al. Effect of chromium picolinate on growth and serum and carcass traits of growing-finishing pigs. *J Anim Sci* 1993; 71: 656-662.
92. Hao P, Zhu Y, Wang S, et al. Selenium administration alleviates toxicity of chromium (VI) in the chicken brain. *Biol Trace Elem Res* 2017; 178(1): 127-135.
93. Clarkson PM. Effects of exercise on chromium levels: is supplementation required. *Sports Med* 1997; 23: 341-349.
94. Clarkson PM, Haymes EM. Trace mineral requirements for athletes. *Int J Sport Nutr* 1994; 4: 104-119.
95. Anderson RA, Bryden NA, Polansky MM, Deuster PA. Exercise effects on chromium excretion of trained and untrained men consuming a constant diet. *J Appl Physiol* 1988; 64: 249-252.
96. Anderson RA. New insights on the trace elements, chromium, copper and zinc, and exercise. *Med Sport Sci* 1991; 32: 38-58.
97. Ölçer H, Akın B. Starch: Biosynthesis, granule structure and genetic modifications. *Niğasta: biyosentezi, granül yapısı ve genetik modifikasyonlar*. Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi 2008; 16: 1-12.
98. Sun B, Prates LL, Yu P. Interactive curve-linear relationship between alteration of carbohydrate macromolecular structure traits in hullless barley grain and nutrient utilization, biodegradation and bioavailability. *Int J Mol* 2019; 18: 20.
99. Wittaya T. Rice starch-based biodegradable films: properties enhancement. 2012; 145: 43-48.

100. Zhang L, Li G, Yao W, Zhu F. Unit and internal chain profiles of maca amylopectin. *Food Chem* 2018; 242: 106-112.
101. Arvidsson-Lenner R, Asp ND, Axelsen M. Glycemic index. *Scand J Food Nutr* 2004; 48(2): 84-95.
102. Gulseth HL, Gjelstad IMF, Tierney A, et al. Effects of dietary fat on insulin secretion in subjects with the metabolic syndrome. *Eur J Endocrinol* 2019; 19-22.
103. Sayalsan A. Sağlıklı beslenme açısından gıdaların glisemik indeksi. *Gıda* 2005; 10(1): 84-91.
104. Gerich JE, Dailey G. Advances in diabetes for the millennium: understanding insulin resistance. *Med Gen Med* 2004; 6(3): 11.
105. Cappola AR, Bandeen-Roche K, Wand GS, Volpato S, Fried LP. Association of IGF-I levels with muscle strength and mobility in older women. *J Clin Endoc Metab* 2001; 86: 4139-4146.
106. Le Roith D. Insulin like growth factors. *N Engl J Med* 1997; 336: 633-640.
107. Owino V, Yang SY, Goldspink G. Age-related loss of skeletal muscle function and inability to express the autocrine form of insulin-like growth factor-I (MGF) in response to mechanical overload. *FEBS Letters* 2001; 63: 505-259.
108. Wang HS. TIGFs ve IGF-binding proteins in the regulation of human ovarian and endometrial function. *J Endoc* 1999; 161: 1-13.
109. Vierck J, O'Reilly B, Hossner K, et al. Satellite cell regulation following myotrauma caused by resistance exercise. *Cell Biol Intern* 2000; 24: 263-272.
110. Uysal N, Agilkaya S, Sisman AR, et al. Exercise increases leptin levels correlated with IGF-1 in hippocampus and prefrontal cortex of adolescent male and female rats. *J Chem Neuroanat* 2017; 81: 27-33.
111. Bamman MM, Shipp JS, Jiang, et al. Mechanical load increases muscle IGF-I and androgen receptor mRNA concentrations in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2000; 280: 383-390.
112. Adams GR, McCue SA. Localized infusion of IGF-I results in skeletal muscle hypertrophy in rats. *J Appl Physiol* 1998; 84: 1716-1722.
113. Singleton JR, Feldman EL. Insuline-like growth factor-I in muscle metabolism and myotherapies. *Neurobiol Dis* 2001; 8: 541-554.
114. Cai M, Wang Q, Liu Z, et al. Effects of different types of exercise on skeletal muscle atrophy, antioxidant capacity and growth factors expression following myocardial infarction. *Life Sci* 2018; 213: 40-49.
115. Barton-Davis ER, Shoturma DI, Sweeney HL. Contribution of satellite cell to IGF-I induced hypertrophy of skeletal muscle. *Acta Physiol Scand* 1999; 167: 301-305.
116. Ikeda Y, Imaob M, Satohb A, et al. Iron-induced skeletal muscle atrophy involves an Akt-forkhead box O3–E3 ubiquitin ligase-dependent pathway. *J Trace Elem Med Biol* 2016; 35: 66-76.
117. Lee D, Goldberg AL. SIRT1 protein, by blocking the activities of transcription factors FoxO1 and FoxO3, inhibits muscle atrophy and promotes muscle growth. *J Biol Chem* 2013; 288(42): 30515-30526.
118. Marzetti E, Calvani R, Bernabei R, et al. Apoptosis in skletal myocytes: a potential target for interventions against sarcopenia and physical frailty. A mini review. *Gerontology* 2012; 58(2): 99-106.
119. Abrigo J, Rivera JC, Simon F, et al. Transforming growth factor type beta (TGF- β) requires reactive oxygen species to induce skeletal muscle atrophy. *Cell Signal* 2016; 28(5): 366-376.

120. Brooks NE, Myburgh KH. Skeletal muscle wasting with disuse atrophy is multi-dimensional: the response and interaction of myonuclei, satellite cells and signaling pathways. *Front Physiol* 2014; 17: 99.
121. Lai K-MV, Gonzalez M, Poueymirou WT, Kline WO, Na E. Conditional activation of Akt in adult skeletal muscle induces rapid hypertrophy. *Nat Mol Cell Biol* 2004; 24: 9295-9304.
122. Lee SJ, McPherron AC. Regulation of myostatin activity and muscle growth. *Proc Natl Acad Sci* 2001; 98: 9306-9311.
123. Camporeza JPG, Petersena MC, Abudukadiera A, et al. Anti-myostatin antibody increases muscle mass and strength and improves insulin sensitivity in old mice. *Proc Natl Acad Sci* 2016; 113(8): 2212-2217.
124. Seshiah PN, Weber DS, Rocic P, et al. Angiotension II stimulation of NADPH oxidase activity: upstream mediators. *Circ Res* 2002; 91: 406-413.
125. Opara EC, Abdel-Rahman E, Soliman S, et al. Depletion of total antioksidan status capacity in type II diabetes. *Metabolism* 1999; 48: 414-417.
126. Deaton CM, Marlin DJ. Exercise-Associated oxidative stress. *Clin Tech Equine Prac* 2003; 2: 278-291.
127. Zanou N, Gailly P. Skeletal muscle hypertrophy and regeneration: interplay between the myogenic regulatory factors (MRFs) and insülin- like growth factors (IFGs) pahtways. *Cell Mol Life Sci* 2013; 70: 4117-4130.
128. Hitachi K, Tsuchida K. Role of microRNAs in skeletal muscle hypertrophy. *Front Physiol* 2014; 4: 1-7.
129. Glass DJ. Skeletal muscle hypertrophy and atrophy signaling pathways. *Int J Biochem Cell Biol* 2005; 37: 1974-1984.
130. Bodine SC, Stitt TN, Gonzalez M, et al. Akt/mTOR pathway is a crucial regulator of skeletal muscle hypertrophy and can prevent muscle atrophy in vivo. *Nat Cell Biol* 2001; 3: 1014-1019.
131. Schiaffinao S, Dyar AK, Ciciliot S, et al. Mechanisms regulating skeletal muscle growth and atrophy. *FEBS J* 2013; 280: 4294-4314.
132. Erbay E, Park HI, Nuzzi DP, et al. IGF-II transcription in skeletal myogenesis is controlled by mTOR and nutrients. *J Cell Biol* 2003; 163(5): 931-936.
133. Kubica N, Bolster DR, Farrell PA, Kimball SR, Jefferson LS. Resistance exercise increases muscle protein synthesis and translation of eukaryotic initiation factor 2B epsilon mRNA in a mammalian target of rapamycin-dependent manner. *J Biol Chem* 2005; 280: 7570-7580.
134. Bodine SC, Stitt TN, Gonzalez M, et al. Akt/mTOR pathway is a crucial regulator of skeletal muscle hypertrophy and can prevent muscle atrophy in vivo. *Nat Cell Biol* 2001; 3: 1014-1019.
135. Clapier VR. Potantiating exercise traning with resveratrol. *J Physiol* 2012; 590 (14): 3215-3216.
136. Rodriquez J, Vemus B, Chelh I, et al. Myostatin and the skeletal muscle atrophy and hypertrophy signaling pathways. *Cell Mol Life Sci* 2014; 71(22): 4361-4371.
137. Knight DRJ, Kothary R. The myogenic kinome: protein kinase critical to mammalian skeletal myogenesis. *Skelet Muscle* 2011; 1(29): 1-18.
138. Bloomer RJ, Goldfarb AH, Wideman L, Mckenzie MJ, Consitt LA. Effects of acute aerobic and anaerobic exercise on blood markers of oxidative stress. *J Strength Cond Res* 2005; 19: 276-285.
139. NRC. National Research Council. Washington D.C.: National Academies Press, 1995.

140. Kanda A, Nakayama K, Sanbongi C, et al. Effects of whey, caseinate, or milk protein ingestion on muscle protein synthesis after exercise. *Nutrients* 2016; 8(6): 339-348.
141. Ziegenfuss TN, Lopez HL, Kedia A, et al. Effects of an amylopectin and chromium complex on the anabolic response to a suboptimal dose of whey protein. *J Int Soc Sports Nutr* 2017; 8: 14-16.
142. Bark TH, McNurlan MA, Lang CH, Garlick PJ. Increased protein synthesis after acute IGF-I or insulin infusion is localized to muscle in mice. *Am J Phys* 1998; 275: 118-123.
143. Takach E, O'Shea T, Liu H. High-through put quantitation of amino acids in rat and mouse biological matrices using stable isotope labeling and UPLC-MS/MS analysis. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2014; 964: 180-190.
144. Shenoy S, Dhawan M, Sandhu JS. Four weeks of supplementation with isolated soy protein attenuates exercise-induced muscle damage and enhances muscle recovery in well trained athletes: a randomized trial. *Asian J Sports Med* 2016; 7: 33528.
145. SAS. SAS User's Guide: Statistics. SAS Institute Inc, Cary, NC, 2002.
146. Tang JE, Moore DR, Kujbida GW, Tarnopolsky MA, Phillips SM. Ingestion of whey hydrolysate, casein, or soy protein isolate: effects on mixed muscle protein synthesis at rest and following resistance exercise in young men. *J Appl Physiol* 2009; 107(3): 987-992.
147. Escobar J, Frank JW, Suryawan A, et al. Physiological rise in plasma leucine stimulates muscle protein synthesis in neonatal pigs by enhancing translation initiation factor activation. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005; 288(5): 914-921.
148. Wolfe RR. Effects of insulin on muscle tissue. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2000; 3: 67-71.
149. Greiwe JS, Kwon G, McDaniel ML, et al. Leucine and insulin activate p70 S6 kinase through different pathways in human skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001; 281: 466-471.
150. Evans GW, Bowman TD. Chromium picolinate increases membrane fluidity and rate of insulin internalization. *J Inorg Biochem* 1992; 46: 243-250.
151. 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. *J Nutr* 2002; 132: 1107-1114.
152. Amiri SM, Zadeh MS, Mirhosseini N, et al. The effects of chromium supplementation on gene expression of insulin, lipid, and inflammatory markers in infertile women with polycystic ovary syndrome candidate for in vitro fertilization: a randomized, double-blinded, placebo-controlled trial. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018; 28: (9) 726.
153. Huang H, Chen G, Dong Y, Zhu Y, Chen H. Chromium supplementation for adjuvant treatment of type 2 diabetes mellitus: Results from a pooled analysis. *Mol Nutr Food Res* 2018; 62 (1).
154. Vincent JB. Recent advances in the nutritional biochemistry of trivalent chromium. *Proc Nutr Soc* 2004; 63: 41-47.
155. Feng W, Ding Y, Zhang W, et al. Chromium malate alleviates high-glucose and insulin resistance in L6 skeletal muscle cells by regulating glucose uptake and insulin sensitivity signaling pathways. *Biometals* 2018; 31(5): 891-908.
156. Wang H, Kruszewski A, Brautigan DL. Cellular chromium enhances activation of insulin receptor kinase. *Biochemistry* 2005; 44(22): 8167-8175.
157. Evans GW. The effect of chromium picolinate on insulin controlled parameters in humans. *Int J Biosocial Med Research* 1989; 11: 163-180.
158. Doerner PG, Liao YH, Ding Z, et al. Chromium chloride increases insulin-stimulated glucose uptake in the perfused rat hindlimb. *Acta Physiol (Oxf)* 2014; 212(3): 205-213.

159. Shobana N, Aruldas MM, Tothhawng L, et al. Transient gestational exposure to drinking water containing excess hexavalent chromium modifies insulin signaling in liver and skeletal muscle of rat progeny. *Chem Biol Interact* 2017; 277: 119-128.
160. Hoffman NJ, Penque BA, Habegger KM, et al. Chromium enhances insulin responsiveness via AMPK. *J Nutr Biochem* 2014; 25(5): 565-572.
161. Król E, Krejpcio Z, Michalak S, Wójciak RW, Bogdański P. Effects of combined dietary chromium(III) propionate complex and thiamine supplementation on insulin sensitivity, blood biochemical indices, and mineral levels in high-fructose-fed rats. *Biol Trace Elem Res* 2012; 150(1-3): 350-359.
162. Frank JW, Escobar J, Suryawan A, et al. Dietary protein and lactose increase translation initiation factor activation and tissue protein synthesis in neonatal pigs. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006; 290: 225-233.
163. Connors MT, Poppi DP, Cant JP. Protein elongation rates in tissues of growing and adult sheep. *J Anim Sci* 2008; 86(9): 2288-2295.
164. Guezennec CY, Satabin P, Duforez F, Koziat J, Antoine JM. The role of type and structure of complex carbohydrates response to physical exercise. *Int J Sports Med* 1993; 14(4): 224-231.
165. Wei L, Wen YT, Lee MC, et al. Effects of isolated soy protein and strength exercise training on exercise performance and biochemical profile in postpartum mice. *Metabolism* 2019; doi: 10.1016/j.metabol.2019.01.012.
166. Turgut M, Cinar V, Pala R, et al. Biotin and chromium histidinate improve glucose metabolism and proteins expression levels of IRS-1, PPAR- γ , and NF- κ B in exercise-trained rats. *J Int Soc Sports Nutr* 2018; 15(1): 45.
167. Marmett B, Nunes RB, Souza KS, Lago PD, Rhoden CR. Aerobic training reduces oxidative stress in skeletal muscle of rats exposed to air pollution and supplemented with chromium picolinate. *Redox Rep* 2018; 23(1): 146-152.
168. Graham TE, Adamo KB. Dietary carbohydrate and its effect on metabolism and substrate stores in sedentary and active individuals. *Can J Appl Physiol* 1999; 24(5): 393-415.
169. Boule NG, Haddad E, Kenny GP, Wells GA, Sigal RJ. Effects of exercise on glycemic control and body mass in type 2 diabetes mellitus-a meta-analysis of controlled clinical trials. *J Am Med Assoc* 2001; 286: 1218-1227.
170. Volek JS, Silvestre R, Kirwan JP, et al. Effects of chromium supplementation on glycogen synthesis after high-intensity exercise. *Med Sci Sports Exerc* 2006; 38(12): 2102-2109.
171. Campbell WW, Polansky MM, Bryden NA, Soares JH Jr, Anderson RA. Exercise training and dietary chromium effects on glycogen, glycogen synthase, phosphorylase and total protein in rats. *J Nutr* 1989; 119(4): 653-660.
172. Morifuji M, Sakai K, Sugiura K. Dietary whey protein modulates liver glycogen level and glycoregulatory enzyme activities in exercise-trained rats. *Exp Biol Med (Maywood)* 2005; 230(1): 23-30.
173. Brosnan JT, Brosnan ME. The sulfur-containing amino acids: an overview. *J Nutr* 2006; 136(6): 1636-1640.
174. Wu G, Fang YZ, Yang S, Lupton JR, Turner ND. Glutathione metabolism and its implications for health. *J Nutr* 2004; 134: 489-492.
175. Stuart MP. A brief review of critical processes in exercise-induced muscular hypertrophy. *Sports Med* 2014; 44: 71-77.
176. Blomstrand E, Eliasson J, Karlsson HK, Köhnke R. Branched-chain amino acids activate key enzymes in protein synthesis after physical exercise. *J Nutr* 2006; 136: 269-273.
177. Arden KC. FOXO animal models reveal a variety of diverse roles for FOXO transcription factors. *Oncogene* 2008; 27: 2345-2350.

178. Greenhaff PL, Karagounis LG, Peirce N, et al. Disassociation between the effects of amino acids and insulin on signaling, ubiquitin ligases, and protein turnover in human muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2008; 295: 595.
179. Bonaldo P, Sandri M. Cellular and molecular mechanisms of muscle atrophy. *Dis Model Mech* 2013; 6: 25-39.
180. Tang ED, Nunez G, Barr FG, Guan KL. Negative regulation of the forkhead transcription factor FKHR by Akt. *J Biol Chem* 1999; 274: 16741-16746.
181. Sandri M, Sandri C, Gilbert A, et al. Foxo transcription factors induce the atrophy-related ubiquitin ligase atrogin-1 and cause skeletal muscle atrophy. *Cell* 2004; 117: 399-412.
182. Mammucari C, Milan G, Romanello V, et al. Foxo3 controls autophagy in skeletal muscle in vivo. *Cell Metab* 2007; 6: 458-471.
183. Zhao J, Brault JJ, Schild A, et al. FoxO3 coordinately activates protein degradation by the autophagic/lysosomal and proteasomal pathways in atrophying muscle cells. *Cell Metab* 2007; 6: 472-483.
184. Lokireddy S, Wijesoma IW, Sze SK, et al. Identification of atrogin-1-targeted proteins during the myostatin-induced skeletal muscle wasting. *Am J Physiol Cell Physiol* 2012; 303: 512-529.
185. Sanchez AM, Csibi A, Raibon A, et al. eIF3f: a central regulator of the antagonism atrophy/hypertrophy in skeletal muscle. *Int J Biochem Cell Biol* 2013; 45: 2158-2162.
186. Luo J, Chen D, Yu B. Effects of different dietary protein sources on expression of genes related to protein metabolism in growing rats. *Br J Nutr* 2010; 104: 1421-1428.
187. Paula-Gomes S, Goncalves DA, Baviera AM, et al. Insulin suppresses atrophy- and autophagy related genes in heart tissue and cardiomyocytes through AKT/FOXO signaling. *Horm Metab Res* 2013; 12: 849-855.
188. Watson K, Baar K. mTOR and the health benefits of exercise. *Semin Cell Dev Biol* 2014; 36: 130-139.
189. Tsang CK, Qi H, Liu LF, et al. Targeting mammalian target of rapamycin (mTOR) for health and diseases. *Drug Discov Today* 2007; 12: 112-124.
190. You JS, Anderson GB, Dooley MS, et al. The role of mTOR signaling in the regulation of protein synthesis and muscle mass during immobilization in mice. *Dis Model Mech* 2015; 8(9): 1059-1069.
191. Wullschlegel S, Loewith R, Hall MN. TOR signaling in growth and metabolism. *Cell* 2006; 124: 471-484.

8. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Veysi KAYRI
Doğum Yeri : Batman
Doğum Tarihi : 1987
Yazışma Adresi : Muş Alparslan Üniversitesi Teknik Bilimler Meslek
Yüksekokulu Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü
Muş/Türkiye
Medeni Hali : Bekar
Yabancı Dil : İngilizce
e-posta : v.kayri@alparslan.edu.tr

EĞİTİM DURUMU

Mezuniyet Yılı	Derece	Kurum	Öğrenim Alanı
2006-2011	Yüksek Lisans	Selçuk Üniversitesi	Veteriner Hekimliği

ULUSLAR ARASI HAKEMLİ DERGİLERDEKİ YAYINLAR

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

KURSLAR VE SERTİFİKALAR

- 1- Ulusal Kümes Hayvanları Kongresi (Uluslar Arası Katılımlı) 9-11 Ekim 2014 ELAZIĞ.
- 2- TÜBA-Gıda, Beslenme ve Kanserin Önlenmesi Sempozyumu 23 Mayıs 2015 ELAZIĞ.
- 3- TÜBA-Gıda, Gıda Güvenliği Sempozyumu 12-14 Ekim 2017 MALATYA.
- 4- Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası, Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu 2017.