

Nakil İşlemine Tabi Tutulan Koyunlarda Vitamin C ve Ksilazin Uygulamasının Kortizol ve Lipid Peroksidasyon ile Bazı Biyokimyasal Parametrelere Etkisi*

Gülcan AVCI¹
İsmail KÜÇÜKURT¹
Fatih FİDAN¹
Abdullah ERYAVUZ²
Recep ASLAN²
Yılmaz DÜNDAR¹

¹Afyon Kocatepe
Üniversitesi
Veteriner Fakültesi,
Biyokimya Anabilim Dalı
Afyonkarahisar-TÜRKİYE

²Afyon Kocatepe
Üniversitesi
Veteriner Fakültesi,
Fizyoloji Anabilim Dalı
Afyonkarahisar-TÜRKİYE

Geliş Tarihi : 27.11.2007
Kabul Tarihi : 05.03.2008

Yazışma Adresi Correspondence

Gülcan AVCI
Afyon Kocatepe
Üniversitesi
Veteriner Fakültesi,
Biyokimya Anabilim Dalı
Afyonkarahisar-TÜRKİYE

gulcanavci@hotmail.com

Araştırmada nakil işlemine tabi tutulan Akkaraman ve Merinos ırkı koyunlara vitamin C ve ksilazin uygulanmasının kortizol ve lipid peroksidasyon düzeyleri ile bazı biyokimyasal parametrelere etkisinin belirlenmesi amaçlandı.

Çalışmada yaklaşık 1 yaşlı, 12 baş Akkaraman ve 12 baş Merinos ırkı koyun kullanıldı. Her grupta 3 Akkaraman ve 3 Merinos koyunu olacak şekilde 4 grup oluşturuldu. Tüm hayvanlardan kan alındıktan sonra nakil öncesi kontrol (K) grubuna 1 ml fizyolojik tuzlu su (FTS) (i.m), vitamin C (C) grubuna 500 mg/kg vitamin C (i.m), ksilazin (X) grubuna 0,05 mg/kg ksilazin-HCl (i.m), vitamin C + ksilazin (CX) grubuna 0,05 mg/kg ksilazin-HCl + 500 mg/kg vitamin C (i.m) uygulandı. Uygulama sonrası nakil işlemi Konya'dan Afyonkarahisar'a olacak şekilde ortalama 60 km/saat hızla gerçekleştirildi. Nakil öncesi ve sonrası alınan kan örneklerinde kortizol, malondialdehit (MDA), glikoz, total kolesterol, trigliserit, total protein, hemoglobin ve hematokrit düzeyleri ölçüldü.

Nakil öncesine göre nakil sonrası K grubunda kortizol ve MDA düzeylerinde artış ($p<0.01$) bulunurken, C grubunun kortizol düzeyinde azalma ($p<0.01$) tespit edildi. Nakil sonrası X grubunda kortizol ($p<0.001$) ve glikoz ($p<0.01$) düzeylerinde artış bulunurken, total kolesterol ($p<0.05$) ve trigliserit ($p<0.01$) düzeylerinde azalma tespit edildi. CX grubunda kortizol ($p<0.01$) ve glikoz ($p<0.001$) düzeyleri artarken, MDA ve total kolesterol ($p<0.05$) düzeyleri ile trigliserit ($p<0.01$) düzeylerinde azalma tespit edildi. Nakil sonrası tüm gruplarda total protein, hematokrit ve hemoglobin düzeylerinde önemli bir değişim bulunmadı.

Sonuç olarak; nakil işlemi sonunda vitamin C kan kortizol düzeyini azalttı ve MDA düzeyini değiştirmedii. Buna karşın, ksilazin MDA düzeyini değiştirmeyken, kortizol düzeyini artırdı.

Anahtar Kelimeler: Stres, Kortizol, Vitamin C, Ksilazin, Lipid peroksidasyon.

The Influence of Vitamin C and Xylazine On Cortisol, Lipid Peroxidation and Some Biochemical Parameters in Transported Sheep

The aim of this study was to assess the effects of vitamin C and xylazine on cortisol, lipid peroxidation and some biochemical parameters of sheep that were exposed to transport stress. The study was carried out on 12 Akkaraman and 12 Merino sheep aged 1 year old. Animals were allocated into 4 groups each containing 3 Akkaraman and 3 Merino sheep. Intramuscular administration of 1 ml saline solution to the control group (K); 500 mg/kg vitamin C to the vitamin C group (C); 0,05 mg/kg xylazine-HCl to the xylazine group (X); and 0,05 mg/kg xylazine-HCl+500 mg/kg vitamin C to the vitamin C + xylazine group (CX) were achieved. All groups were transported from Konya to Afyonkarahisar in a truck. After and before transportation, blood samples were taken to determine the concentrations of, malondialdehyde (MDA), cortisol, glucose, triglyceride, total protein, total cholesterol, hematocrit and hemoglobin.

In K group after transportation, plasma cortisol and MDA ($p<0.01$) levels were increased but, in C group, plasma cortisol level was decreased ($p<0.01$). In X group, plasma cortisol ($p<0.001$) and glucose ($p<0.01$) levels were increased as compared to before transportation although plasma total cholesterol ($p<0.05$) and triglyceride ($p<0.01$) levels were decreased. In CX group, plasma cortisol ($p<0.01$) and glucose ($p<0.001$) levels were increased as compared to before transportation while MDA, total cholesterol ($p<0.05$) and triglyceride ($p<0.01$) levels were decreased. Hematocrit, hemoglobin and total protein values were not significantly changed in all groups after the transport.

We concluded that vitamin C decreased plasma cortisol concentration and unchanged MDA level in the blood. Whereas, xylazine did not alter MDA level in the blood and increased plasma cortisol concentration.

Key Words: Stress, Cortisol, Vitamin C, Xylazine, Lipid peroxidation.

Giriş

Dış ve iç etmenlerin zorlamasıyla organizmanın fizyolojik durumunu ağır yük altına ve bu uyarılara karşı organizma, fizyolojik ve davranışsal tepki verir. Stres yaratan

* Bu çalışma "III. Ulusal Veteriner Biyokimya ve Klinik Biyokimya Kongresi"nde sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

durumlarda vücutta, sempatik sinir sisteminin aktivitesi ve hormonal değişimler ile kan glukoz düzeyinin yükselmesi gibi fizyolojik ve biyokimyasal pek çok faktörde değişimler olmaktadır (1). Hayvan refahı acı, ızdırıp ve stres gibi istenmeyen duygulardan uzak bir yaşamı hedeflerken (2,3) hayvanlarda strese karşı yanıtın oluşmaması refahın bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (4,5). Çiftlik yönetiminin önemli aktivitelerinden biri olan nakil işlemi de hayvan refahını etkileyen ve hayvanlarda stres yaratan etmenlerden biridir (6). Nitekim Avrupa ülkelerinde değişik nedenlerle her yıl 209 milyon domuz, 22 milyon sığır, 6 milyon buzağı, 70 milyon koyun, 8 milyon keçi ve 300 bin at olmak üzere yaklaşık 315 milyon çiftlik hayvanının nakledildiği bildirilmektedir (7). Hayvanlar yolculuğa genellikle iyi adapte olmasına rağmen nakil işlemi; nakil sırasındaki yorgunluk, yakalama ve tutma gibi işlemler ile çevresel değişikliklerden dolayı hayvanlarda strese yol açmakta (6) ve fizyolojik değişimlere neden olmaktadır (8).

Farklı hayvan türlerindeki çalışmalarda stresin; kalp atım sayısında (9), adrenal kortikal aktivitede (10) ve enfeksiyonlara bağlı olarak gelişen mortalite ve morbiditede artışa neden olduğu bildirilmektedir. Ayrıca stresin canlı yaşamı ve verimliliğini etkileyen hücrelerdeki lipid peroksidasyonu, protein denaturasyonu ve DNA mutasyonları gibi olumsuzluklara yol açabildiği ve et kalitesinde düşmeye yol açtığı belirtilmektedir (11,12). Evcil hayvanlarda stresin fizyolojik ve biyokimyasal etkilerini hafifletmek amacıyla adrenerjik agonist ya da antagonist sedatifler, dopamin, opioidler, merkezi sinir sistemi (MSS) depresantları, hormonal etkili ilaçlar, vitaminler, mineraller ve amino asitler yaygın olarak kullanılmaktadır (13,14). Bunlar arasında, merkezi ve periferik sinir sistemini etkileyerek sedasyon, analjezi ve kasların relaksasyonunu sağlayan ksilazin de yer almakta ve etkilerini α -2 adrenerjik reseptörleri uyararak göstermektedir (13). Ayrıca, MSS impulslarının intranöronal geçişlerini inhibe ederek iskelet kaslarında gevşeme sağlamaktadır (15, 16). Ksilazin; kas içi enjeksiyondan sonra hızla emilmekte ve organizmaya dağılmakta, yoğun bir şekilde metabolize olmasına bağlı olarak, 23-60 dakikalık atılma yarı ömrü ile hızla atılmaktadır. Tam atılma, uygulama şekline ve dozdan bağımsız olarak 2-3 saat içinde olmaktadır (17). Bununla birlikte, gıdalardaki kalıntı riski nedeniyle MSS depresant ilaçlarının stresin yatıştırılmasında kullanımı pratik, ekonomik ve güvenli olmayabilmektedir (12, 14). Bu nedenle ilaçlara alternatif olarak strese olumlu etkileri olduğu bilinen yasal gıda katkı maddelerinin kullanımı önem taşımaktadır. Bunlar arasında katekolaminlerin biyosentezi ve adrenal steroidogenezis için gerekli bir koenzim olan vitamin C (18)'de yer almaktadır. Özellikle organizmadaki hidroksilasyon reaksiyonlarında güçlü indirgeyici bir antioksidan olması nedeniyle (19), nakil stresinin yol açabileceği olumsuzlukları azaltmada önemli olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle bu çalışmada, nakil işleminin yol açtığı stresin azaltılması amacıyla koyunlara ksilazin ve vitamin C uygulanmasının plazma kortizol ve lipid peroksidasyonu ile bazı hematolojik ve biyokimyasal parametrelere etkisinin belirlenmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem

Araştırma TIGEM'e bağlı Gözlü ve Altınova Tarım İşletmeleri Müdürlüğü'nden temin edilen sağlıklı ve yaklaşık 1 yaşlı 12 baş Akkaraman (ortalama 63 kg) ile 12 baş Merinos koyun (ortalama 50 kg) üzerinde gerçekleştirildi. Hayvanlar her grupta ırk ve hayvan sayısı (n=6) eşit olacak şekilde Tablo 1'de belirtildiği gibi 4 gruba ayrıldı. Dinlenme halindeki (öğlen, 14:00) tüm hayvanların vena jugularisinden heparinli tüplere kan alındı. Alınan kanların bir kısmı aynı gün yapılması gereken hemoglobin, hematokrit ve malondialdehit (MDA) analizleri için ayrılırken, geri kalan kısmı +4°C'de 3000 rpm ve 10 dakika santrifüj edilerek elde edilen plazmalar diğer analizler için -20°C'de saklandı. Tüm gruplara nakil öncesi Tablo'1 de belirtildiği gibi ksilazin ve vitamin C uygulamaları yapıldıktan sonra yaklaşık 20 dakika içinde hayvanlar araca yüklendi. Nakil işlemi Temmuz ayında ve ortalama 32°C'de gerçekleştirildi. Tüm hayvanlar aynı araç ile asfalt yolda ortalama 60 km/saat hızla yaklaşık 5 saatte Konya'dan Afyonkarahisar'a nakil edildi. Taşıma saat 15:00'de başladı ve aynı gün saat 20:00'de tamamlandı. Yol şartları iyi ve sürücü hayvan taşıma konusunda deneyimliydi. Nakil sonrası yaklaşık 30 dakika içinde araçtan indirilen hayvanların vena jugularisinden heparinli tüplere kan örnekleri alındı. Alınan kan örneklerinin bir kısmı hemoglobin, hematokrit ve MDA analizleri için ayrılırken, geri kalan kısmı +4°C'de 3000 rpm ve 10 dakika santrifüj edilerek elde edilen plazmalar -20°C'de saklandı.

Tablo 1. Deneme grupları ve uygulama prosedürü

Gruplar	n	Uygulama
K grubu	6	1 ml fizyolojik tuzlu su (FTS) (i.m)
C grubu (Injacom C)	6	500 mg/kg Vitamin C (i.m)
X grubu (Roumpun)	6	0,05 mg/kg Ksilazin-HCl (i.m)
CX grubu	6	500 mg/kg Vitamin C (i.m) + 0,05 mg/kg Ksilazin-HCl (i.m)

Tam kan MDA düzeyleri Draper ve Hardley (20)'in bildirdiği yöntemle göre spektrofotometrik olarak ölçüldü. Hemoglobin düzeyleri Sahli metoduna göre, hematokrit düzeyleri ise mikrohematokrit santrifüjü kullanılarak belirlendi (21).

Plazma glikoz, trigliserit, total protein ve kolesterol düzeyleri ticari kitleler (TECO Diagnostics, California, USA) ile spektrofotometrik olarak ölçüldü. Plazma kortizol düzeyi ELISA kit (Eucardio Laboratory, Inc., Encinitas, CA. 92024, USA) kullanılarak Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda ölçüldü.

Çalışmada elde edilen veriler istatistik bilgisayar paket programı (SPSS for Windows 11.0 Standart Version) kullanılarak değerlendirildi. Veriler ortalamaları \pm standart hatalarıyla ifade edildi. Elde edilen verilerin normallik testleri yapıldıktan sonra nakil öncesi ve sonrası farklılıkların değerlendirilmesinde eşleştirilmiş t testi kullanıldı.

Bulgular

Vitamin C ve ksilazin uygulanarak nakiledilen Akkaraman ve Merinos ırkı koyunlarda kortizol ve MDA düzeyleri Tablo 2'de, plazma glikoz, total kolesterol ve trigliserit düzeyleri Tablo 3'de, total protein, hemoglobin ve hematokrit düzeyleri Tablo 4'de ortalamalar ve standart hataları şeklinde belirtildi. Nakil öncesine göre nakil sonrası K grubunda kortizol ve MDA düzeylerinde artış ($p<0.01$) bulunurken, C grubunun kortizol düzeyinde azalma ($p<0.01$) tespit edildi. Nakil sonrası X grubunda

kortizol ($p<0.001$) ve glikoz ($p<0.01$) düzeylerinde artış bulunurken, total kolesterol ($p<0.05$) ve trigliserit ($p<0.01$) düzeylerinde azalma tespit edildi. CX grubunda kortizol ($p<0.01$) ve glikoz ($p<0.001$) düzeyleri artarken, MDA ve total kolesterol ($p<0.05$) düzeyleri ile trigliserit ($p<0.01$) düzeylerinde azalma tespit edildi. Nakil sonrası tüm gruplarda total protein, hematokrit ve hemoglobin ve düzeylerinde önemli bir değişim bulunmadı.

Tablo 2. Nakil edilen tüm gruplarda plazma kortizol ve tam kan MDA düzeyleri (n=6, \pm SE).

Gruplar	Kortizol ($\mu\text{g/dl}$)		MDA (nmol/ml)	
	Nakil öncesi	Nakil sonrası	Nakil öncesi	Nakil sonrası
K grubu	2.36 \pm 0.15	3.77 \pm 0.27**	4.24 \pm 0.19	5.08 \pm 0.25**
C grubu	2.11 \pm 0.17	1.54 \pm 0.28**	5.15 \pm 0.44	4.76 \pm 0.41
X grubu	2.40 \pm 0.15	8.47 \pm 0.70***	4.63 \pm 0.36	5.02 \pm 0.16
CX grubu	2.49 \pm 0.17	9.67 \pm 1.18**	4.59 \pm 0.41	3.87 \pm 0.17*

*: $p<0.05$, **: $p<0.01$, ***: $p<0.001$

Tablo 3. Nakil edilen tüm gruplarda plazma glikoz, total kolesterol, trigliserid düzeyleri (n=6, \pm SE).

Gruplar	Glikoz (mg/dl)		Total kolesterol (mg/dl)		Trigliserit (mg/dl)	
	Nakil öncesi	Nakil sonrası	Nakil öncesi	Nakil sonrası	Nakil öncesi	Nakil sonrası
K grubu	53.51 \pm 5	61.10 \pm 3.3	34.82 \pm 2.2	35.13 \pm 3.1	116.82 \pm 18.4	142.72 \pm 15.3
C grubu	57.57 \pm 2.4	63.20 \pm 4.3	35.13 \pm 2.3	29.95 \pm 1.4	116.84 \pm 6.5	116.76 \pm 9.3
X grubu	61.78 \pm 1.9	81.69 \pm 3.6**	32.27 \pm 2.7	24.71 \pm 2.3*	118.06 \pm 6.0	76.16 \pm 5.8**
CX grubu	57.59 \pm 3.3	81.60 \pm 5.2***	38.74 \pm 3.5	24.67 \pm 2.1*	129.36 \pm 7.2	101.10 \pm 9.4**

*: $p<0.05$, **: $p<0.01$, ***: $p<0.001$

Tablo 4. Nakil edilen tüm gruplarda total protein, hemoglobin ve hematokrit düzeyleri (n=6, \pm SE).

Gruplar	Total protein (g/dl)		Hemoglobin (g/dl)		Hematokrit (%)	
	Nakil öncesi	Nakil sonrası	Nakil öncesi	Nakil sonrası	Nakil öncesi	Nakil sonrası
K grubu	6.67 \pm 0.3	6,20 \pm 0,22	12.76 \pm 0.52	12.75 \pm 0.75	37.83 \pm 1.66	35.50 \pm 1.33
C grubu	6.35 \pm 0.1	6,09 \pm 0,30	10.13 \pm 0.48	9.84 \pm 0.52	36.33 \pm 0.67	35.17 \pm 1.19
X grubu	6.61 \pm 0.1	6,27 \pm 0,13	10.58 \pm 0.56	10.42 \pm 0.91	34.83 \pm 1.38	34.33 \pm 1.38
CX grubu	6.69 \pm 0.1	6,41 \pm 0,22	10.95 \pm 0.53	10.69 \pm 0.51	37.00 \pm 1.24	35.33 \pm 1.17

Tartışma

Nakil işlemi, hayvanların başka bir ortama aktarılması amacıyla yakalanması, araca konulması, sevk, taşınması ve araçtan indirilmeleri ile yeni yerlerine yerleştirilmesini içermekte ve hayvanlarda stres oluşmasına neden olmaktadır. Ayrıca, nakil sırasında hayvanların hareketli ya da hareketsiz olarak sınırlanması, aracın sarsıntısı, sıcaklık ve nem gibi atmosferik değişiklikler, yetersiz havalandırma, su ve yemin kısıtlanması (22), taşıma süresi ve hayvan sayısı ile yoğun egzoz gazları gibi faktörler hayvan refahını da olumsuz yönde etkilemekte ve güçlü stres yaratan faktörler arasında yer almaktadırlar (7, 8). Hayvanlarda

oluşan stresin şiddetine bağlı olarak metabolizmada da değişimler olmaktadır (22). Bu nedenle, kısa ve uzun süreli nakil işleminin hayvanlarda meydana getirdiği stresin neden olduğu metabolizmadaki değişiklikler; kandaki bazı biyokimyasal moleküllerin fizyolojik sınırlarındaki değişimlerin belirlenmesi ve hayvan davranışlarının izlenmesi sonucunda tespit edilebilmektedir (7). Strese yol açan durumlar; hipotalamo-hipofizer-adrenal aksinin uyarılmasına bağlı olarak plazma ACTH ve kortizol salınımını 10 katına kadar artırabilmekte (14, 23) ve strese bağlı olarak kanda düzeyi artan kortizol gibi kan glikokortikoidleri ise

hayvanlarda çevresel değişimlere gösterilen tepkinin iyi bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (22, 24). Bu çalışmada; K grubunda plazma kortizol düzeylerinde nakil sonrası tespit edilen artış, hipotalamo-hipofizer-adrenokortikal aksis ve sempato-adrenal medullar aksisin uyarıldığına işaret etmektedir (25, 26). Bununla birlikte, şayet stres yaratan etken çok şiddetli değil ve etkinin süresi uzamışsa, glukokortikoid sekresyonu yavaş yavaş azalarak normal düzeye dönerken vücutta da fizyolojik adaptasyon meydana gelmektedir (1). Nitekim plazma kortizol seviyesinin keçilerde (27) ve koyunlarda (14) yükleme ve nakil işleminin başlangıç ile ilk yarım saati içinde pik düzeye ulaştığı, ancak 1. saatten sonra giderek azaldığı bildirilmektedir. Bu çalışmada; 5 saatlik nakil süresi boyunca plazma kortizol düzeylerindeki değişimler incelenmemesine rağmen, nakil sonrası plazma kortizol düzeyindeki artış, araç içindeki sarsıntıya bağlı olarak yaşanan stres (8) ile hayvanların araçtan indirilmesi ve farklı bir ortama gelmelerinin oluşturduğu stresten kaynaklanabilir. Hartung (7), nakil işleminde fizyolojik ve biyokimyasal değişimlerin en fazla hayvanların araca yüklenmesi ve indirilmesi esnasında olduğunu bildirmektedir.

Vitamin C eksikliğinde böbrek üstü bezindeki askorbik asit düzeyinin azaldığı ve plazma kortizol düzeyinin ise arttığı bildirilmektedir (28). Bu çalışmada, vitamin C uygulaması yapılan hayvanlarda nakil sonrası kortizol düzeyinin azaldığı bulundu. Bu bulgu, 100 mg / kg düzeyinde vitamin C uygulamasının kobayların kanında kortizol düzeyini azalttığı ve askorbik asidin plazmadaki düzeyindeki farklılıkların membrana bağlı adenilat siklaz aktivitesinde değişiklik yaparak steroidogenezi düzenleyebileceklerini öne süren bildirimle uyumlu (29). Nitekim vitamin C'nin tavuklarda kesim öncesi artmaya başlayan plazma kortizol seviyelerini ve diğer stres parametrelerini önemli ölçüde azalttığı bildirilmektedir (30).

Dinlenme halinde hipotalamusun α -2 adrenerjiklerin baskısı altında olduğu ve ksilazın gibi α -2 adrenerjik agonistlerin stres nedeniyle artan kortizolün salınımını inhibe edebileceği bildiriminin aksine (14), bu çalışmada ksilazın uygulanan gruplarda nakil işleminden sonra kortizol düzeyi yüksek bulundu. Bu bulgu; boynuzları çıkarılmış buzağılarda ksilazın uygulamasının kortizolün plazma düzeyini 3 saat boyunca önemli düzeyde artırdığı ve ancak 5 saat sonra bazal düzeye indirebildiği bildirimiyle (31) uyumlu (31).

Ruminant hayvanlarda ksilazın uygulanmasını takiben gözlenen vücut ısısında ve tükürük sekresyonundaki artış ile kalp atım sayısındaki azalma gibi klinik belirtiler (17), parasempatometik ilaçların etkisine benzerlik göstermektedir (32). Nitekim, ruminant hayvanlarda ksilazın uygulamasının atropinle birlikte yapılması önerilmektedir (17). Ayrıca efedrin gibi α -2 adrenerjik reseptörleri uyaran ilaçların asetilkolin salınımını artırdığı bildirilmektedir (32). Bu bilgiler, ksilazın parasempatometik bir etki gösterebileceğine işaret etmektedir. Adrenal medullaya gelen sempatik sinirin nörotransmitter maddesi asetilkolin (1) olduğu ve α -2 adrenerjik reseptörleri uyaran klonidin kolinerjik

uyarıya bağlı olarak adrenal medulladan adrenal ve noradrenalin salınımını artırdığı (32) göz önüne alınırsa, ksilazın uygulamasından sonra kateşolamin sentez ve salınımında bir artışın olması mümkün gözükmemektedir. Stresin, aynı zamanda böbrek üstü bezinin medulla kısmında kateşolaminlerin sekresyonuna neden olduğu ve artan kateşolaminlerin de adenohipofizdeki β -adrenerjik reseptörleri uyarak hipofiz bezinden ACTH sekresyonunu artırdığı bildirimi (1) ele alınırsa; bir α -2 adrenerjik reseptör agonisti olan ksilazın uygulanmasından sonra kortizol düzeyinde meydana gelen artışın, gerek nakil işleminin oluşturduğu strese gerekse ksilazın parasempatometik etkisine bağlı olarak kateşolaminlerin kandaki düzeylerinin artmasına ve bu artan kateşolaminlerin de adenohipofizdeki β -adrenerjik reseptörleri uyarak ACTH salgılanmasını artırmasına bağlanabilir. Nitekim Sanhour ve ark (33) keçilere ksilazın uygulamasının kortizol düzeylerini azalttığını fakat, ksilazın uygulanan hayvanları nakil işlemine tabi tuttuklarında ise tam tersi kortizolün yükseldiğini bildirmişlerdir.

Adrenal medullada bulunan granüllerde noradrenalin sentezi için vitamin C'ye ihtiyaç olduğu ve granüller içerisinde bol miktarda vitamin C olduğu bildirimi (1) dikkate alınırsa, bu çalışmada; ksilazın ve vitamin C'nin birlikte uygulandığı hayvanlarda nakil sonrası gözlenen kortizol düzeyindeki artış, ksilazın muhtemelen kateşolamin salgılanmasında artışa neden olmasından kaynaklanabilir. Bu bulgu, CX grubunda nakil sonrası plazma kortizol düzeyindeki artışın, ksilazın ile birlikte verildiğinde vitamin C'nin plazma kortizol düzeyindeki azaltıcı etkisinin ortadan kalktığına hatta ters bir etkiye yol açtığına işaret etmektedir.

Stresin yol açtığı olumsuz etkilere karşı homeostazisin sürdürülmesi organizmanın gösterdiği otonom, hormonal, metabolik ve immunolojik yanıtlara bağlıdır (34). Aerobik organizmalarda normal oksijen metabolizması sonucu açığa çıkan serbest oksijen radikalleri yarı ömürleri çok kısa olmasına rağmen, son derece reaktif olan ve dış orbitalinde tek sayıda elektron bulduran atom ya da moleküllerdir (34). Yüksek reaktivitelerine bağlı olarak serbest radikallerin direk olarak ölçümlerinin oldukça zor olması (35) ve en önemli hedeflerinin membran fosfolipidleri olması nedeniyle, oksidatif hasarın belirlenmesinde lipid peroksidasyonu önemli parametrelerdendir (36). Serbest radikallerin meydana getirdiği lipid peroksidasyonu ise membran fosfolipidleri tamamen okside oluncaya kadar devam etmekte ve membran geçirgenliğinin artmasına bağlı olarak hücrenin iyon dengesi bozulmaktadır. Bu durum, biyokimyasal moleküller ile hormonların girişine aracılık eden membrana bağlı yüzey reseptörlerinin aktivasyonlarını kaybetmelerine neden olmaktadır (36, 37). Bu nedenle, malondialdehit gibi tiyobarbitürik asit reaktifleri, konjuge dienler ve lipid hidroperoksitlerinin ölçümü, oksidatif stresin hücrelerde yol açtığı hasarın belirlenmesinde yaygın kullanılmaktadır (37). Chirase ve ark.(11) sığırlarda nakil stresinin total antioksidan kapasiteyi azaltırken, serum MDA düzeyinde artışa yol açtığı yönündeki bildirimlerine uygun olarak, bu

çalışmada da K grubunda nakil sonrası MDA düzeylerinde artış tesbit edildi. Bu bulgu, nakil esnasında hayvanların huzursuzluğa bağlı efor sarf etmeleri ve stres faktörleri nedeniyle oluşan serbest radikallere atfedilebilir. Nitekim Van de Water ve ark. (8) buzağılarda nakil sonrası kreatin kinaz, kortizol ve laktatin önemli düzeyde artmasını, araç içindeki sarsıntıya bağlı olarak efor sarf etmelerine bağlamaktadır. Bu çalışmada, C ve X gruplarında nakil sonrasındaki MDA düzeylerinde nakil öncesine göre farklılığın istatistiksel anlamda önemli olmadığı bulundu. Çalışmanın CX grubunda ise MDA düzeyinin nakil öncesine göre düşük bulunması, hem ksilazinin iskelet kaslarında gevşemeye yol açarak kassal faaliyetleri azaltmasına, hem de vitamin C'nin vermiş olduğu hidrojen atomu ile peroksit radikallerini zararsız hale dönüştürmesine ve böylece lipid peroksidasyonunu önlemesine (38, 39) atfedilebilir. İskelet kasında artan serbest radikallerin hücre sarkoplazmik membranında hasara neden olması ve kasların kontraktilesi ile miyofibril yapıda bozulmaya sebep olması nedeniyle, egzersiz gibi efor sarf edilen durumların serbest radikaller ve lipid peroksidasyonunda artışa yol açtığı bildirilmektedir (40, 41).

Bu çalışmada, K ve C gruplarında nakil sonrası ile nakil öncesi plazma glikoz düzeyleri bakımından farklılık bulunmadı. Bu bulgu, stres durumlarında kortizolün plazma glikoz düzeylerini artırması nedeniyle glikozun bir stres göstergesi olarak yararlı olabileceği yönündeki bildirimle (42) uyusmamaktadır. Streste görülen hipergliseminin; stres sonucu kanda düzeyi artan kortizolün, karaciğerde glikojenolizis ya da sempato-adrenal aktivitedeki artışa bağlı olarak kortizolün sekonder etkisinden kaynaklandığı bildirilmektedir (13, 14). Bu çalışmada; kontrol grubu hayvanlarda, nakil sonrası kortizol düzeyi artmış olmasına rağmen glikoz düzeyi sadece sayısal artış göstermiştir. Bununla birlikte, çalışmanın X ve CX gruplarında plazma glikoz düzeylerinde nakil sonrası, nakil öncesine göre hem kortizol hemde glikoz düzeylerinde anlamlı bir artış olduğu gözlemlendi. Bu bulgu, ayrıca ksilazinin pankreas β -hücrelerindeki α -2 adrenerjik reseptörleri aracılığıyla

insulin salınımını azalttığı ve karaciğerden glikozun mobilizasyonunu artırdığı yönündeki bildirimle de (13) uyumlu. Çalışmanın X ve CX gruplarında nakil sonrası total kolesterol düzeylerinin düşük bulunması, strese bağlı olarak adrenal kortekste daha fazla kortizol sentezinde kolesterolün kullanıldığına işaret etmektedir. Aynı gruplarda trigliserit düzeylerinin de düşük bulunması, artan kortizolün lipolizisi uyardığı ve oluşan serbest yağ asitleri ile gliserolün glikoneogenezis yoluna girdiğini (43) göstermektedir

Nakil esnasında hayvanların su alımının kısıtlanması, solunum sayısının artması, üriner ve ruminal su kaybı ile aşırı terleme gibi sebeplerin yol açtığı dehidrasyon derecesine bağlı olarak hematokrit düzeyinin arttığı bildirilmektedir (44). Streste salınan kateşolaminlerin dalakta bulunan adrenerjik reseptörleri uyarması ya da sempatik sinirlerin uyarımı kan depo eden bir organ olan dalağın kasılmasına neden olmakta, sonuçta hematokrit değeri yüksek kanın dolaşıma verilmesini sağlamaktadır (45, 46). Bu nedenle, gerek dalağın kontraksiyonu gerekse dehidrasyon nedeniyle plazma hacmindeki azalma, nakil esnasında hematokrit ve hemoglobinin düzeylerinin artışına yol açmaktadır (44, 45, 46). Çalışmanın tüm gruplarında nakil sonrası total protein, hemoglobin ve hematokrit değerlerinin değişmemesi, bu çalışmada nakil süresinin hipoksi ya da dehidrasyona yol açacak kadar uzun olmamasından kaynaklanabilir. Nitekim, yapılan çalışmalar hayvanların uzun süreli nakillerinin (2200 km) hematokrit değerlerini artırdığını göstermektedir (44, 22).

Sonuç olarak; vitamin C'nin hem kan kortizol düzeyini azaltması hem de lipid peroksidasyonu göstergelerinden olan MDA düzeyini değiştirmemesi, nakil işlemi esnasında oluşan ve vücudu ağır yük altına sokan stresin organizmadaki olumsuz etkilerini azaltmak için yararlı olabileceğini göstermektedir. Nakil işlemi sonunda stres hormonlarından olan kortizol düzeyini artırması nedeniyle ksilazinin uygulamasının, stresin olumsuz etkisini daha da şiddetlendirebileceğine işaret etmektedir.

Kaynaklar

1. Noyan A. Yaşam ve Hekimlikte Fizyoloji. Sekizinci baskı. Meteksan yayınevi, Ankara, 1993.
2. Bryant MJ. The social environment: behaviour and stress in housed livestock. *Vet Rec* 1972; 90: 351-359.
3. Dantzer R. Stress emotions and health: where do we stand? *Dantzer Social Science Information*. 2001; 40: 61-78.
4. Barnett JL, Hemsworth PH. The validity of physiological and behavioural measures of animal welfare. *Appl Anim Behav Sci* 1990; 25: 177-187.
5. Broom DM. Welfare stress and the evolution of feelings. *Adv Study Behav* 1998; 27: 371-403.
6. Giovagnoli G, Trabalza Marinucci M, Bolla A, et al. Transport stress in horses: an electromyographic study on balance preservation. *Livestock Production Science* 2002; 73: 247-254.
7. Hartung J. Effects of transport on health of farm animals. *Vet Res Comm* 2003; 27: 525-527.
8. Van de Water G, Verjans F, Geers R. The effect of short distance transport under commercial conditions on the physiology of slaughter calves; pH and colour profiles of veal. *Livestock Production Science* 2003; 82: 171-179.
9. Kent JE, Ewbank R. The effect of road transportation on the blood constituents and behavior of calves. III. Three months old. *Br Vet J* 1986; 142: 326-335.
10. Ruiz-de-la-Torre JL, Velarde A, Diestre A, et al. Effects of vehicle movements during transport on the stress responses and meat quality of sheep. *The Vet Record* 2001; 148: 227-29.

11. Chirase NK, Greene LW, Purdy CW, et al. Effect of transport stress on respiratory disease, serum antioxidant status, and serum concentrations of lipid peroxidation biomarkers in beef cattle. *A J V R* 2004; 65: 860-864.
12. Peeters E, Neyt A, Beckers F, et al. Influence of supplemental magnesium, tryptophan, vitamin C, and vitamin E on stress responses of pigs to vibration. *J Anim Sci* 2005; 83(7): 1568-80.
13. Ali BH, Al-Qarawi AA. An evaluation of drugs used in the control of stressful stimuli in domestic animals: A Review. *Acta Vet Brno* 2002; 71: 205-21.
14. Ali BH, Al-Qarawi AA, Mousa HM. Stress associated with road transportation in desert sheep and goats, and the effect of pretreatment with xylazine or sodium betaine. *Research in Veterinary Science* 2006; 80: 343-348.
15. Thurmon JC, Tranquilli WJ, Benson G, et al. *Veterinary Anesthesia*. Thrd. edition. William & Wilkins. USA, 1996:183-364.
16. Doze VA, Chen BX, Li Z. Characterisation of the α -2 adrenoreceptor-effector mechanism for the hypnotic action of MPV-3.657,60 cm rats. *Anesthesiology* 1988; 69: 619.
17. Kaya S. Narkotik olmayan ağrı kesiciler. *Veteriner Uygulamalı Farmakoloji* cilt 1 ed: S. Kaya, İ. Pirinççi, A Bilgili. Medisan yayınevi, 1 baskı, Ankara, 1997.
18. Patak P, Willenberg HS, Bornstein SR. Vitamin C is an important cofactor for both adrenal cortex and adrenal medulla. *Endocrine Research* 2004; 30 (4): 871 – 875.
19. Rucker BR, Morris GJ. The Vitamins. In: *Clinical Biochemistry of Domestic Animals* / edit: J.Jerry Kaneko, John W. Harvey, Michael L. Bruss. 5th edition. Academic Pres. Inc., Chapter 24, 1997: 703-739.
20. Draper HH, Hardley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1990; 186: 421-30.
21. Konuk T. *Pratik Fizyoloji*. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları. Yayın no: 378. 2. baskı. Ankara, 1981.
22. Fazio E, Medica D, Cavaleri AS, et al. Effect of long-distance road transport on thyroid and adrenal function and haematocrit values in limousin cattle: influence of body weight decrease. *Vet Res Comm* 2005; 29: 713-719.
23. Kay NH, Allen MC, Bullingham RES, et al. Influence of meptazinol on metabolic and hormonal responses following major surgery. *Anesthesia* 1985; 40: 223-228.
24. Rijnberk AD, Mol JA. Adrenocortical function. In: *Clinical Biochemistry of Domestic Animals* / edit: J.Jerry Kaneko, John W. Harvey, Michael L. Bruss. 5th edition. Academic Pres. Inc., Chapter 20, 1997: 553-568.
25. Tyler PJ, Cummins KA. Effect of dietary ascorbyl-2-phosphate on immune function after transport to a feeding facility. *J Dairy Sci* 2003; 86: 622-629.
26. Minton JE. Function of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and the sympathetic nervous system in models of acute stress in domestic farm animals. *J Anim Sci* 1994; 72: 1891-1898.
27. Kannan G, Terrill TH, Kouakou B, et al. Transportation of goats: Effects on physiological stress responses and live weight loss. *J Anim Sci* 2000; 78: 1450-1457.
28. Hodges J, Hotston RT. Ascorbic acid deficiency and pituitary adrenocortical activity in the guinea pig. *Br J Pharmacol* 1970; 40:740-746.
29. Doulas NL, Constantopoulos A, Litsios B. Effect of ascorbic acid on guinea pig adrenal adenylate cyclase activity and plasma cortisol. *Journal of Nutrition* 1987; 117(6): 1108-1114.
30. Satterlee DJ, Aguilera-Quintana I, Munn BJ, et al. Vitamin C amelioration of the adrenal stress response in broiler chickens being prepared for slaughter. *Comp Biochem Physiol A*. 1989; 94: 569-574.
31. Stafford KJ, Mellor DJ, Todd SE, et al. The effect of different combinations of lignocaine, ketoprofen, xylazine and tolazoline on the acute cortisol response to dehorning in calves. *New Zealand Veterinary Journal* 2003; 51: 219-226.
32. Kayaalp OS. Otonom sinir sistemi ilaçları. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. Cilt 3. 4 baskı Ankara,1989.
33. Sanhoury AA, Jones RS, Dobson, H. Pentobarbitone inhibits the stress response to transport in male goats. *Br Vet J* 1991; 147: 42-48.
34. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyolojik etkileri. 2.Baskı, Mimoza Yayınları. Konya,1995.
35. Joreno DR. Malondialdehyde and thiobarbituric acid reactivity as perostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Rad Biol* 1990; 9: 515-540.
36. Katz D, Mazor D, Dvilansky A, et al. Effect of radiation on red cell membrane and intra cellular oxidative defense system. *Free Red Res* 1996; 24 (3): 199-204.
37. Carr TP, Andersen CJ, Rudel LL. Enzymatic determination of triglyceride free cholesterol and total cholesterol in tissue lipid extracts. *Clin Biochem* 1993; 26: 39-42.
38. Wefers H, Sies H. The protection of ascorbate and glutathione against microsomal lipid peroxidation is dependent on vitamin E. *Eur J Biochem* 1988; 174: 353-357.
39. Chan AC. Partners in defense, vitamin E and vitamin C. *Can J Physiol Pharmacol* 1993; 71: 725-731.
40. Evans WJ. Vitamin E, vitamin C and exercise. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 647-52.
41. Balogh N, Gaal T, Ribiczeyne PS, et al. Biochemical and antioxidant changes in plasma and erythrocytes of pentathlon horses before and after exercise. *Vet Clin Pathol* 2001; 30: 214-218.
42. Sanhoury AA, Jones, RS, Dobson, H. Pentobarbitone inhibits the stress response to transport in male goats. *Br Vet J* 1991; 147: 42-48.
43. Murray RK, Granner DK, Mayes PA et al. Gluconeogenesis and control of the blood glucose: Hormones of the adrenal cortex and adrenal medulla. In: *Harper's Biochemistry* (12thEd.). Prentice-Hall, Englewood Cliffs, N J. 1990.
44. Schaefer AL, Jones SDM, Stanley RW. The use of electrolyte solutions for reducing transport stress. *J Anim Sci* 1997; 75: 258-265.
45. Gupta S, Earley B, Crowe MA. Effect of 12-hour road transportation on physiological, immunological and haematological parameters in bulls housed at different space allowances. *The Vet J* 2007; 173: 605-616.
46. Mitchell G, Hattingh J, Ganhao M. Stress in cattle assessed after handling, after transport and after slaughter. *Veterinary Record* 1988; 123: 201-205.