

HOLŞTAYN SİĞIRLARDA GEBELİĞİN FARKLI DÖNEMLERİNDEKİ PLAZMA ADRENALİN, NORADRENALİN İLE VİTAMİN A VE E DÜZEYLERİİN ARAŞTIRILMASI

Haki KARA¹, Fikret KARATAŞ², Kadir SERVİ³, Yaşar AKAR³, Vahit KONAR²

¹Fırat Üniversitesi Elazığ Sağlık Yüksekokulu, Elazığ-TÜRKİYE

² Fırat Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Elazığ-TÜRKİYE

³ Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Elazığ-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 20.03.2001

Investigation of Levels Plasma Adrenalin, Noradrenalin with Vitamin A and E At Different Gestation Stage In Holstein-Friesian Cows.

SUMMARY

In this study the levels of adrenaline, noradrenalin, and vitamin A and E in plasma in holstein-friesian cows were investigated along their pregnancy by High Performance Liquid Chromatography (HPLC).

The levels of adrenaline, nor adrenalin, and vitamin A and E in plasma of control group nonpregnant cattles were determined to be 4.2 ng/ml, 27.0 ng/ml, 0.24 µg/ml and 2.81 µg/ml, respectively. Whereas at the first months of pregnancy these levels in plasma were found as 13.4 ng/ml, 25.6 ng/ml, 0.27 µg/ml and 2.76 µg/ml, respectively.

In the further periods of pregnancy of cows the levels adrenaline and noradrenalin were increased but the vitamin levels were observed to gradually decreased. In the last months of pregnancy it was determined that these values were 16.50 ng/ml, 40.13 ng/ml, 0.18 µg/ml and 2.56 µg/ml, respectively. These results show that the levels of adrenaline and noradrenalin significantly increased ($P<0.05$) while those of vitamin A and E significantly decreased ($P<0.05$).

Key words: Catecholamines, vitamin, pregnancy, cows, HPLC

ÖZET

Bu çalışma holştayn sığırlarda gebelik boyunca adrenalin, noradrenalin, A ve E vitamini düzeylerinde olabilecek muhtemel değişiklikleri belirlemek amacıyla yapıldı. Çalışmada farklı gebelik döneminde bulunan 30 adet sığır kullanıldı. Sıgırlardan alınan kanların plazmaları çıkarılarak ölçümle Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (YBSK)'nde yapıldı. Gebe olmayan kontrol grubu hayvanlarda adrenalin, noradrenalin, A vitamini ve E vitamini düzeyleri sırasıyla 4.2 ng/ml, 27.0 ng/ml, 0.24 µg/ml ve 2.81 µg/ml olarak bulunurken, gebeliğin ilk aylarında bu değerlerin sırasıyla 13.4 ng/ml, 25.6 ng/ml, 0.27 µg/ml ve 2.76 µg/ml olduğu gebeliğin ilerleyen dönemlerinde adrenalin ve noradrenalin düzeylerinde artış olurken, vitamin düzeylerinde tedrici bir azalmanın olduğu gözlandı. Gebeliğin son aylarında ise bu değerlerin sırasıyla 16.50 ng/ml, 40.13 ng/ml, 0.18 µg/ml ve 2.56 µg/ml olarak tespit edildi. Bu sonuçlara göre gebelik döneminde adrenalin ve noradrenalin düzeylerinde önemli bir artış olduğu ($P<0.05$), A ve E vitaminlerinde ise önemli bir azalma olduğu ($P<0.05$) sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: Kateşolaminler, vitaminler, gebelik, sığır, YBSK.

GİRİŞ

Kateşolaminler grubunda yer alan adrenalin (epinefrin) ve noradrenalinin (norepinefrin) otonom sinir sistemindeki fonksiyonlarının yanısıra birçok metabolik etkilere sahip olduğu, salgılanmasında

birçok faktörün yanı sıra vücutun hormonal durumu, gebelik dönemleri ve östrus siklusunun farklı dönemlerinde miktarlarında değişiklik olabileceği belirtilmektedir (13, 14, 15).

Noradrenalin, adrenerjik sinir uçlarından L-tirozinden bir dizi enzimatik olaylarla, adrenal medulla ve diğer yerlerdeki kromasın hücrelerden de sentez edildiği bildirilmektedir. İnsan ve hayvanlarda adrenerjik sinir uçlarından adrenal sentezlenmediği, bunun yanısıra adrenal medulladan sentez edildiği, etkilerini α ve β reseptörleri aracılığı ile gösterdikleri, ayrıca stres faktörlerine bağlı olarak adrenalin salgılanlığı belirtilmektedir (13, 20).

A ve E vitaminleri ise yağda eriyen vitaminler olup, A vitamininin; görme, büyümeye, gelişmeye, epitel dokuların farklılaşması, üreme, embriyo gelişimi ve kemik gelişimi için gerekli olduğu, E vitamininin ise antioksidant bir vitamin olup araşidonik asit gibi doymamış yağ asitlerinin yükseltgenmesini engelleyici ve serbest oksijen gruplarını etkisizleştirici özelliği olduğu belirtilmektedir (21).

İneklerde gebelik süresi ortalama 280 gün olup; tohumlama (0)-2.5 ay, 2.5-5 ay, 5-7.5 ay ve 7.5-doğum olmak üzere dört dönemde ayrıldığı ve gebelik süresince bir dizi değişimlerin olduğu, hormonal sistemdeki değişikliklerin ise bunlardan başlıcaları olduğu belirtilmektedir (3).

Birçok türde *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda adrenerjik innervasyonun corpus luteum etkilediği, ratlarda ise seksüel olgunluk döneminde noradrenalin olmak üzere dört dönemde ayrıldığı ve gebelik süresince bir dizi değişimlerin olduğu, hormonal sistemdeki değişikliklerin ise bunlardan başlıcaları olduğu belirtilmektedir (4, 5, 7, 9).

Miszkiel ve ark.(21) gebelikin 1-5. ayı arasındaki sığırların corpus luteumlarındaki dopamin ve noradrenalin düzeylerinde çok önemli bir farklılığın olmadığını belirtmişlerdir. Lescourt (16) ise holstbayn sığırlarda gebelikin 3 ve 5. aylarındaki epinefrin düzeylerinin 7. ve 9. aylardakinden daha düşük olduğunu bildirmiştir.

Kotwica ve ark. (14,15) sığırlarda noradrenalinin, etkisinin progesteron salgılanmasının düzenlenmesinde etkili olduğu, bunun luteal hücrelerde β_1 ve β_2 adrenoreseptörler aracılığıyla olduğu, luteal faz süresince periferal progesteron konsantrasyonu ile luteal β adrenoreseptörleri arasında ilişki olduğunu ve siklusun ortalarına doğru ovarian β adrenoreseptörlerinin inhibisyonunun şekillendiği ve progesteron sekrasyonunun %20-40 oranında azaldığını bildirmektedirler.

Aksakal ve ark. (1, 2) gebe holstbayn ve montofon sığırlarda hazırlan ayında 7.38 $\mu\text{g}/\text{ml}$ olan β karoten düzeyinin gebelikin son dönemi olan

aralık ayında 1.14 $\mu\text{g}/\text{ml}$ seviyesine indiğini, yine aynı hayvanlarda hazırlan ayında 4.31 $\mu\text{g}/\text{ml}$ olan vitamin E düzeylerinin gebelik süresince azaldığını ve gebeliğin son ayında 1.64 $\mu\text{g}/\text{ml}$ seviyesi ile en düşük değerde olduğunu belirtmişlerdir.

Lynch ve ark. (18) holstein ineklerde gebelikin 6 ve 7. aylarında kan serumu vitamin E düzeylerinin 137 $\mu\text{g}/\text{dl}$ olduğunu, Jagos ve ark (12) ise holstein ineklerde gebelikin son ayında vitamin E düzeyinin 168 $\mu\text{g}/\text{dl}$ olduğunu bildirmektedirler.

Bu çalışma gebelik boyunca ineklerin plazma kateşolamin düzeylerinde ve A, E vitaminlerindeki muhtemel değişikliklerin belirlenmesi amacıyla yapıldı.

MATERIAL VE METOD

Hayvan Materyali: Araştırmada hayvan materyali olarak Fırat Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Çiftliğinden yaşları 3-6 arası olan farklı gebelik döneminde olan 30 adet holstein ırkı sığır seçildi. Sığırlar gebelik dönemlerine göre gruplara ayrıldı.

Kimyasal madde ve Cihazlar: Heparin, Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (YBSK, CECIL 1100 serisi HPLC), derin dondurucu, deney tüpleri, ultrasonik su banyosu, metanol, asetonitril, kloroform, n-hegzan, etil alkol, perklorik asit, alüminyum oksit, n-heptanostülfonik asit ve fosforik asit, potasyum dihidrojen fosfat ve standartlar (A, E vitamini ile adrenalin ve noradrenalin)

Ölçümler: Gebe sığırlardan günün aynı saatlerinde alınan kanlar heparinli tüplere alınarak plazmaları çıkarıldı. Ayrılan plazmalar en geç 3 gün içerisinde çalışılmak üzere -20°C 'de saklandı. Plazmadaki adrenalin ve noradrenalin düzeyi Halbrügge ve ark. 1988 ve 1991 (10, 11)'nın belirtmiş oldukları metotlar esas alınarak, 1.5 ml plazma örneklerine 2M tris HCl katılarak (pH=8.7) 5 dk karıştırıldı. Örneklerde 20 mg Al_2O_3 katılarak 4°C 'da 1000 devirde 3 dk santrifünlendi. Daha sonra yakanarak ayrılan Al_2O_3 üzerine 2 kez 75 μL 0.1M HClO_4 katılarak ekstrakte edildi. Ekstrakte edilen asit fazları ayrılarak birleştirildi. Mobil faz olarak asetonitril: 25 mM KH_2PO_4 ve 5.4 mM heptanostülfonik asit (H_3PO_4 ile pH =2) (5/95, v/v)'in kullanıldığı YBSK'ne enjekte edilerek 270 nm de adrenalin ve noradrenalin tayin edildi. A ve E vitamini tayini için plazmalar üzerine etil alkol ilave edilerek Çetinkaya ve Özcan (8)'nın belirtmiş olduğu metoda göre ekstrakte edilip, Catignani (6) ile Miller ve ark. (17) tarafından belirtilen mobil faz olarak metanol, asetonitril ve kloroform (47:42:11) (v/v) karışımında 296 nm de E vitamini, 326 nm'de A vitamini YBSK ile belirlendi.

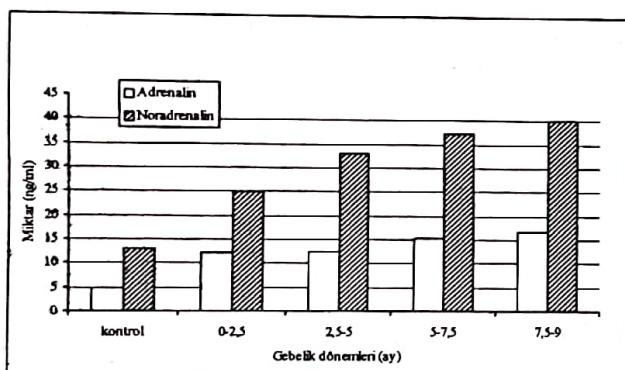
Tablo 1. Sığırların farklı gebelik dönemlerine göre plazma adrenalin, noradrenalin ile vitamin A ve E düzeyleri.

Gebelik (Ay)	Adrenalin (ng/ml)	Noradrenalin (ng/ml)	Vitamin A (μ g/ml)	Vitamin E (μ g/ml)
Kontrol	4.8±0.37	13.0±0.45	0.37±0.01	4.85±0.09
0-2.5	12.18±1.43*	24.75±2.01*	0.35±0.02	3.93±0.15*
2.5-5	12.31±0.67*	33.0±0.94*	0.25±0.01*	2.99±0.06*
5-7.5	15.13±0.55*	37.13±0.81*	0.21±0.01*	2.81±0.04*
7.5-9	16.50±0.42*	40.13±0.52*	0.18±0.01*	2.56±0.1*

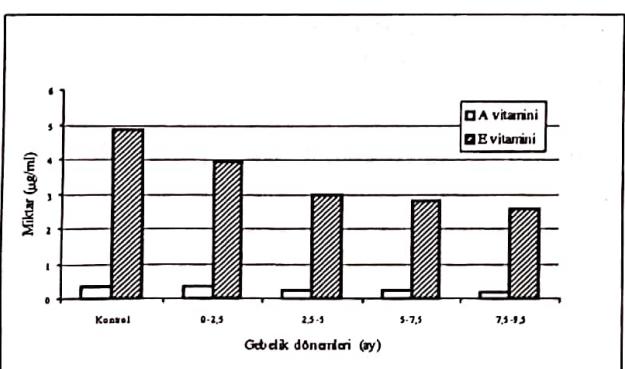
* Kontrol grubuna göre önemli farklılık ($P<0.05$)

BULGULAR

Örneklerdeki adrenalin, noradrenalin düzeyleri Tablo 1 ve Şekil 1'de, A ve E vitamini düzeyleri ise Tablo 1 ile Şekil 2'de gösterilmiştir. Geri kazanım (recovery) oranları adrenalin için %75.4, noradrenalin için %77.2, A vitamini için %98.2, E vitamini için %99.4 olarak belirlendi.



Şekil 1. Sığırlarda gebeliğin farklı dönemlerine göre plazma adrenalin ve noradrenalin düzeyleri



Şekil 2. Sığırlarda gebeliğin farklı dönemlerine göre plazma A ve E vitamini düzeyleri.

TARTIŞMA

Holstaysn ineklerde gebelik süresince adrenalin, noradrenalin, vitamin A ve E düzeyleri

ile ilgili çeşitli araştırmalar yapılmış ve değişik görüşler ortaya konmuştur (9, 16, 20).

Miszkiel ve ark.(20) gebeliğin 1-5. ayı arasındaki sığırların corpus luteumlarındaki dopamin ve noradrenalin düzeyleri üzerine yaptıkları araştırmada gebelikte çok önemli bir farklılığın olmadığını belirtmişlerdir. Tablo 1 ve şekil 1 inelendiğinde gebeliğin ilk aylarından itibaren plazma adrenalin ve noradrenalin düzeyinde belirgin bir artış olduğu görülmektedir. Adı geçen araştırmacılarla (20) farklı sonuçların elde edilmesinin plazma adrenalin ve noradrenalin düzeylerinden dolayı olabileceği görüşündeyiz.

Lefcourt (16) ise holstaysn sığırlarda gebeliğin 7 ve 9. aylarındaki adrenalin ve noradrenalin düzeylerinin 3. ve 5. aylardakinden daha yüksek olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada ise gebe olmayan kontrol grubu hayvanlarda sırasıyla 4.8 ng/ml ve 13.0 ng/ml olan adrenalin ve noradrenalin düzeylerinin gebeliğin ilk döneminde 12.18 ng/ml ($P<0.05$) ve 24.75 ng/ml ($P<0.05$) olduğu ve gebelik süresince artarak gebeliğin son döneminde 16.50 ng/ml ($P<0.05$) ve 40.13 ng/ml ($P<0.05$) düzeylerine çıktıgı görülmektedir. Çalışmadan elde edilen sonuçların adı geçen araştırmacının sonuçlarıyla paralel olduğu görülmektedir.

Holstaysn ineklerin gebelik süresince plazma adrenalin ve noradrenalin seviyesindeki bu artışların hem progesteron hormonu etkisi altında olabileceği, hem de gebeliğin yarattığı bir strese bağlı olabileceği görüşündeyiz.

Yapılan araştırmalarda holstaysn ineklerin gebelik süresi boyunca vitamin E ve β karoten düzeylerinin azaldığı belirtilmiştir (1,2, 12, 18.). Aksakal ve ark. (1,2) gebeliğin başlarında β karoten ve vitamin E düzeylerini 7.38 μ g/ml ve 4.31 μ g/ml iken gebeliğin son dönemi olan Aralık ayında 1.14 μ g/ml ve 1.64 μ g/ml seviyesi ile en düşük düzeyde olduğunu, Lynch ve ark. (18) holstaysn ineklerde gebeliğin 6 ve 7. aylarında kan serumu vitamin E düzeylerinin 137 μ g/dl olduğunu, Jagos ve ark (12) ise holstaysn ineklerde gebeliğin son ayında vitamin E düzeyinin 168 μ g/dl olduğunu bildirmektedirler.

Tablo 1 ve Şekil 2 incelendiğinde kontrol grubu ineklerin plazma A ve E vitamini düzeylerinin $0.37 \mu\text{g/ml}$ ve $4.85 \mu\text{g/ml}$ olduğu, gebeliğin ilk aylarında bu değerlerin $0.35 \mu\text{g/ml}$ ve $3.93 \mu\text{g/ml}$ olduğu gebelik boyunca tedrici bir azalma olduğu ve gebeliğin son döneminde A vitamininin $0.18 \mu\text{g/ml}$ ($P<0.05$), E vitamininin de $2.56 \mu\text{g/ml}$ ($P<0.05$) seviyesine indiği görülmektedir. Elde edilen bu sonuçlar yukarıda adı geçen araştırmacıların sonuçları ile karşılaştırıldığında aralarında bir benzerlik olduğu görülmektedir.

KAYNAKLAR

- Aksakal M, Karakılçık AZ, Kalkan C, Çay M, Naziroğlu M. İneklerde üremenin çeşitli dönemlerinde β karoten ve E vitamini düzeyleri. Doğa Tr J of Vet Anim Sci 1995, 19: 59-64.
- Aksakal M, Karakılçık AZ, Kalkan C. İnek ve düvelerin kan plazması β karoten ve vitamin E değerleri üzerinde ırk, yaş, mevsim gebelik ve laktasyonun etkileri. Doğa Tr J of Vet Anim Sci 1990, 14: 320-333.
- Alaçam E. Gebelik Tanısı. Ed. Erol Alaçam, Evcil hayvanlarda doğum ve infertilite, 109-120. İlkinci baskı, Medisan Yayınevi, Ankara.
- Bahr JM, Ben-Jonathan N. Elevated catecholamines in porcine follicular fluid before ovulation. Endocrinology, 1985, 117: 620-623.
- Battista PJ, Rexroad CE, Poff JP, Condon WA. Support for a physiological role of endogenous catecholamines in the stimulation of bovine luteal progesterone production. Biol Reprod 1989, 115: 807-812.
- Catignani GL. Simultaneous determination of retinol and α -tocopherol in serum of plasma by liquid chromatography. Clin Chem, 1983, 29(4):708-712,
- Condon WA, and Blcak DL. Catecholamine-induced stimulation of progesterone by the bovine CL. in vitro. Biol Reprod, 1976, 15: 573-578.
- Çetinkaya N, Özcan H. Investigation of seasonal variations in cow serum retinol and β -carotene by high performance liquid chromatographic method. Comp Biochem Physiol, 1991, 100 A (4): 1003-1008.
- Ferrante F, Bronzetti E, Cavalloti C, Ricci A, Amenta F. The noradrenergic innervation of the ovary in old rats. Mech Ageing Dev, 1990, 54: 55-62.
- Halbrügge T, Gerhardt T, Ludwig J, Heidbreder E, Graef KH. Assay of catecholamines and dihydroxyphenylethylene glycol in human plasma and its application in orthostasis and mental stress. Life Sci., 1988, 43 (1): 19-26.
- Halbrügge T, Lutsch K, Thyen A, Graef KH. Role of nitric oxide formation in the regulation of haemodynamics and the release of noradrenaline and adrenaline. Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol, 1991, 344: 720-727.
- Jagos P, Bouda J, Geryk J. The plasma Levels of vitamins A, E and carotene in cows in late pregnancy and their foetuses. Acta Vet Brno, 1979, 48: 19-23.
- Kayaalp O. Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji, 3. Cilt, 6. Baskı, Feryal matbaası, Ankara, 1993.
- Kotwica J, Bogacki M. Physiological importance of dopamine as a noradrenaline precursor in the corpus luteum. Clin Exp Pharmacol Physiol, Suppl, 1999, 26: 29-35.
- Kotwica J, Skarzynski D, Bogacki M, Miszkiel G. Influence of dopamine as noradrenaline precursor on the secretory function of bovine corpus luteum using in vitro model. Br J Pharmacol, 1996; 118: 1669-1674.
- Lefcourt AM, Akes RM. Teat stimulation-induced oxytocin and catecholamine release in pregnant and lactating. Domest Anim Endocrinol, 1991, 8(2): 235-243.
- Luck MR, Jungclas B. Catecholamines and ascorbic acid as stimulators of bovine ovarian oxytocin secretion. J Endocrinol, 1987, 114: 423-430.
- Lynch GP. Changes of tocopherols in blood serum of cows fed hay or silage. J Dairy Sci, 1983, 66: 1461-1465.
- Miller KW, Lorr NA, Yang CS. Simultaneous determination of plasma retinol α -tocopherol, lycopene, α -carotene, and β -carotene by high performance liquid chromatography. Analytical Biochem, 1984, 138: 340-345,
- Miszkiel G, Skarzynski D, Bogacki M, Kotwica J. Concentrations of catecholamines, ascorbic acid, progesterone and oxytocin in the corpora lutea of cyclic and pregnant cattle. Reprod Nutr Dev, 1999, 39: 509-516.
- Özer N. Vitamin ve Mineraller, Editörler, Onat T. ve Emerk K. Temel Biyokimya, Saray Medikal Yayıncılık, 1996, Cilt 2, 796-801.

Holştayn ineklerin gebelikleri boyunca vitamin A ve E düzeylerindeki bu azalmaların fötüs gelişimi için kullanılmasına bağlı olabilecegi kanaatindeyiz.

Sonuç olarak, gebeliğin holştayn ineklerde adreanlin ve noradrenalin düzeyinde belirgin bir artışa ($P<0.05$) neden olduğu, vitamin A ve E seviyelerinde ise önemli bir düşüşe ($P<0.05$) yol açtığı kanaatindeyiz.