

## Sığırlarda Asetilmetiyonin, L-Karnitin, Vitamin E ve Vitamin B<sub>12</sub> Kombinasyonunun Bazı Klinik, Hematolojik ve Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkisi

Handan Hilal ARSLAN<sup>1</sup>, Cevat NİSBET<sup>2</sup>, Devrim SARIPINAR<sup>3</sup>, Sena ÇENESİZ<sup>2</sup>, Metin ÇENESİZ<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye

<sup>2</sup>Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye

<sup>3</sup>Mustafa Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye

<sup>4</sup>Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye

Makale Geliş ve Kabul Tarihi: 21.11.2007-07.02.2008 Sorumlu Araştırmacı: hharslan@omu.edu.tr

**Özet:** Bu çalışmada asetilmetiyonin, l-karnitin, vitamin E ve vitamin B<sub>12</sub> kombinasyonunun sığırlarda bazı klinik, hematolojik ve biyokimyasal parametreler üzerine etkisinin değerlendirilmesi amaçlandı. Çalışmada, çeşitli stres faktörlerine maruz kalmış, klinik olarak genel vücut kondisyonu iyi olmayan, durgun, halsiz, iştahsız ve çevreye ilgisi azalmış 32 adet sığır kullanıldı. Hayvanlara asetilmetiyonin, l-karnitin, vitamin E ve vitamin B<sub>12</sub> içeren bir ticari ürün (Metabolase Forte, FATRO-VETAŞ) 100 kg canlı ağırlığa 5 ml dozda, kas içi yolla günde bir defa olmak üzere 7 gün süre ile uygulandı. Hayvanların ilaç uygulanmasından önce ve sonra klinik muayenesi yapılarak, genel durum bozukluğu, kıl örtüsünde düzensizlik, çevreye ilgisizlik/depresyon, iştah durumları skorlanarak (0=yok, 4=çok şiddetli) değerlendirildi. Yine ilaç uygulaması öncesi ve sonrasında antikoagülanlı ve boş tüplere hematolojik ve biyokimyasal değerlendirmeler amacıyla kan alındı. Formül lökosit tablosu ile karaciğer fonksiyonları için serum ALT, AST, total protein ve kolesterol değerleri belirlendi. Ayrıca hayvanlardaki antioksidan metabolizma hakkında değerlendirme yapmak amacıyla serum MDA ve seruloplazmin düzeyleri tespit edildi. Çalışma sonunda hematokrit değer, alyuvar ve akyuvar sayıları ile total protein seviyesinde ilaç öncesi ve sonrasında istatistiksel olarak fark tespit edilirken ( $p < 0.05$ ), diğer hematolojik ve biyokimyasal parametrelerde istatistiksel açıdan önemli bir fark saptanmadı ( $p > 0.05$ ). Çalışmada, tedavi öncesi  $2.44 \pm 0.13$  olan ortalama klinik skor tedavi sonrası  $0.26 \pm 0.07$  olarak bulundu. Tedavi öncesi ve sonrası yapılan klinik değerlendirmelerde hayvanların 28 adedinde (%87.5) başlangıçta incelenen parametreler yönünden 3 ve 4 olan klinik skorların tedavi sonrası 1'in altına düştüğü belirlendi. Bu hayvanların klinik olarak iyi derecede iyileştikleri kabul edildi.

**Anahtar kelimeler:** Asetilmetiyonin, Biyokimyasal parametreler, Hematoloji, L-karnitin, Sığır, Vitamin E, Vitamin B<sub>12</sub>.

### Effects of Combination of Asetylmethionine, L-Carnitine, Vitamin E and Vitamin B<sub>12</sub> on Some Clinical, Haematological and Biochemical Parameters in Cattle

**Summary:** In this study, evaluation of the effects of asetylmethionine, l-carnitine, vitamin E and vitamin B<sub>12</sub> combination on some clinical, haematological and biochemical parameters in cattle was aimed. Thirty two animals, which were affected by various stressors, clinically weakness body condition, dullness, drooping, anorexic and apathetic, were used in the study. A commercial product which contained asetylmethionine, l-carnitine, vitamin E and vitamin B<sub>12</sub> was administrated 5 ml/100 kg b.w. once a day for 7 days via intramuscularly. General clinical examinations were made in the all animals before and after the drug applications and disorders of general condition and feather, apathy/signs of depression, appetite were scored (0=absent, 4=very severe). Also, blood samples were collected into empty and anticoagulant contained tubes for haematological and biochemical evaluations before and after the drug applications. Differential leukocyte and serum ALT, AST, total protein and total cholesterol levels for liver functions were determined. In addition, serum malondialdehit (MDA) and seruloplasmin levels were determined to evaluate antioxidant metabolism. After the study, microhaematocrit, red blood cell, white blood cells counts and total protein levels before and after treatment were found to be significant ( $p < 0.05$ ). But other haematological and biochemical parameters were not found statistically different ( $p > 0.05$ ). In the study, mean clinical score was determined  $2.44 \pm 0.13$  before the treatment and  $0.26 \pm 0.07$  after the treatment. In the evaluation of clinical examinations before and after the treatment, investigated clinical scores of 28 animals (87.5%) were found 3 and 4 before the treatment and less than 1 after the treatment. Satisfactory clinical recovery was considered in these animals.

**Key words:** Acetylmetionine, Biochemical parameters, Cattle, Hematology, L-carnitine, Vitamin E, Vitamin B<sub>12</sub>.

## GİRİŞ

Sığırlar normal üretim dönemlerinde çeşitli stres faktörlerinin etkisinde kalmaktadır (2). Stres, hayvanların refah, huzur, beslenme durumu ve hastalıklarıyla doğrudan ilişkilidir. Stres faktörü hayvanların genel durumunu değerlendirmekte önemli bir belirteçtir (31). Genellikle sığırlar üzerine etki eden stres faktörleri iki grup altında değerlendirilmektedir. Birinci grupta; fizyolojik stres,

sıkışıklık, bakım alanı, beklenmedik etkilere maruz kalma, ikinci grupta ise açlık, yaralanma, hastalıklar gibi fiziksel stres ve çevresel etki yer almaktadır (2).

Stresin varlığı, özellikle hayvanda bireysel olarak organizmanın işleyişinde meydana getirdiği bozuklukların tespiti ile tanımlanabilir (34). Bu durum klinik olarak ortaya çıkabilir ya da çıkmayabilir (2). Conner ve ark. (8), sığırlarda, stres uyarımına bağlı olarak akut faz proteinlerinde artış şekillendiğini bildirmektedir. Bu nedenle akut faz

proteinlerinin ölçülmesi sığırların stres şartlarına verdikleri tepkiyi değerlendirmekte yararlı bir parametredir (2).

Serbest radikallerin fazla üretilmesi ve birikmesi sonucu canlıda oluşturduğu hasar oksidatif stres olarak tanımlanır. Oksidatif stresin varlığı, organizmada reaktif oksidasyon ürünlerinin oluşumu sonucu antioksidan savunma sistemindeki dengenin bozulmasına neden olur. En önemli sebeplerinden biri hayvanın çeşitli stres faktörlerine maruz kalması olan oksidatif stres, lipit peroksidasyonuna ve proteinlerde değişikliğe neden olur. Stres varlığı lipit peroksidasyon ürünü olan malondialdehit (MDA) seviyesinde artışa yol açar. Bu nedenle MDA seviyesindeki artış, lipit peroksidasyonunun, dolayısıyla stres varlığının göstergesidir (23,28).

Antioksidan enzimler serbest radikalleri indirgeyerek lipit peroksidasyonunu ve bunun sonucu oluşacak hasarı önlemede rol oynar (19). Seruloplazmin, serbest radikallerin temizlenmesinde görev alan hücre dışı antioksidan savunma sistemlerinden biridir (15,16). Enfeksiyon, travma ya da inflamasyonu takiben seruloplazminin kan plazma düzeyinin %50'ye kadar arttığı bildirilmektedir (13).

Vitamin E, yağda çözünebilen en önemli antioksidandır ve serbest radikallere karşı vücut savunmasında önemli bir rol oynamaktadır (4). Vitamin E'nin, hücreleri düşük dozda oksidatif stres etkilerine bağlı ölümlerden koruduğu tespit edilmiştir (14,24).

Karnitin, memelilerde yağ asitlerinin mitokondriye taşınması için zorunlu ko-faktörlerden biridir (10,17). L-karnitin, memelilerde uzun zincirli yağ asitlerinin mitokondriya taşınarak oksidasyonu ve dolayısıyla hücrel enerji sağlanmasında rol oynamaktadır (20). Aynı zamanda vücut dokularından serbest radikalleri temizlemek gibi çok önemli bir görevi vardır (10,17).

Metiyonin ise esansiyel bir amino asit olarak hayvan organizmasında protein yapılımasının önemli bir parçasıdır. Molekülünde sülfür bulunduğu için sülfür içeren sisten ve sistin aminoasitlerinin karaciğerde biyo-sentezi için gereklidir. Ayrıca fosfolipidlerin sentezinde yer alır ve karaciğerden yağ asitlerinin taşınmasını artırarak karaciğer koruyucu etkisini gösterir (26).

Vitamin B<sub>12</sub>, memelilerde iki önemli kofaktör görevini yerine getirmektedir. Görevlerinden biri, intestinal absorpsiyon ve plazma transportu, diğeri de hücrelerin yüzey reseptörlerini kullanarak hücre içi alımları sağlamaktır (36). Vücuttaki görevlerini yapabilmeleri vitamin B<sub>12</sub>'nin varlığına bağlı olan iki önemli enzim bulunmaktadır. Bunlardan birincisi metiyonin sentetaz enzimidir ve folik asit sentezi için temel önem taşır, ikincisi ise metilmalonil-CoA olup Krebs Siklusuna katılır (12). Ruminantlarda, vitamin B<sub>12</sub> rumende sentezlenerek sindirim kanalı tarafından absorbe edilir. Daha sonra kan damarları yoluyla öncelikle karaciğer olmak üzere vücut dokularına ve son olarak da kaslara taşınmaktadır (25).

Hayvanların genel durumunun belirlenmesinin yanı sıra klinik bulguların tanımlanması ve güçlendirilmesi bakımından prelinik önem taşıyan hematolojik değerlerde; stres faktörlerinin varlığına bağlı olarak yetersiz beslenme, enfeksiyon varlığı, gebelik, laktasyon gibi faktörlerine bağlı olarak değişiklik görülmektedir (11).

Bu çalışmada, tespit edilmiş herhangi bir hastalığı bulunmayan ancak çeşitli stres faktörlerine maruz kalmış, bu nedenle genel durumu bozuk, vücut kondüsyonu yetersiz, iştahı azalmış ya da hastalık dönemini yeni atlatmış hayvanlar üzerinde asetilmetiyonin, l-karnitin, vitamin E ve vitamin B<sub>12</sub> bileşiminin bazı klinik, hematolojik ve biyokimyasal parametrelerle beraber oksidatif stres bileşenleri üzerine etkisinin araştırılması amaçlandı. Ayrıca elde edilen verilerin sözkonusu kombinasyonun kullanımının herhangi bir olumsuz yan etki oluşumuna neden olup olmadığına da değerlendirilmesi yönünden kullanılabilirliği düşünüldü. Bu amaçla tedavi öncesi ve tedavi sonrası hayvanların klinik durumu, hematolojik (Hematokrit değeri, alyuvar, akyuvar, formül lökosit) ve bazı biyokimyasal parametreler (ALT, AST, albumin, total protein, total kolesterol) ile serum seruloplazmin ve MDA düzeyleri incelendi.

## MATERYAL VE METOT

### Hayvanlar ve Çalışma Prosedürü

Çalışmada genel durumu sağlıklı birey görünümü ile tam örtüşmeyen, 32 adet, 1-3 yaşlı, ağırlıkları 80-250 kg arasında değişen ve çeşitli stres faktörlerine maruz kalmış, klinik olarak genel vücut kondüsyonu iyi olmayan, durgun, halsiz, iştahsız ve çevreye ilgisi azalmış sığırlar kullanıldı. Seçilen hayvanların tedavi öncesi ve tedavi sonrası klinik durumlarının değerlendirilmesi amacıyla Vangroenweghe ve ark. (35) tarafından bildirilen skorlama sistemi modifiye edilerek kullanıldı. Buna göre tedavi öncesi ve sonrası genel durum bozukluğu, kıl örtüsünde düzensizlik, çevreye ilgisizlik/depresyon ve iştah bozukluğu parametreleri 0 ile 4 arasında skorlandı ve ortalama klinik skor belirlendi (0= yok, 1=az, 2=orta derecede, 3= şiddetli, 4= çok şiddetli). Hayvanlar tedavi öncesi ve tedavi sonrası aynı araştırmacı tarafından muayene edildi. Çalışmada kullanılan hayvanlara 7 gün süresince günde bir defa olmak üzere kas içi yolla 100 kg canlı ağırlığa 5 ml dozda, içerisinde ml başına 200 mg asetilmetiyonin, 50 mg l-karnitin, 30 mg vitamin E ve 0.2 mg vitamin B<sub>12</sub> içeren ticari preparat (Metabolase Forte, FATRO-VETAŞ) uygulandı.

### Kan Örneklerinin Toplanması

Hayvanlardan çalışmaya başlamadan 0. günde ve tedaviyi takip eden 7. günde vena jugularis'ten antikoagulanlı ve boş tüplere kan alındı. Antikoagulanlı kanlarda alyuvar ve akyuvar sayıları ve hematokrit değeri belirlendi. Ayrıca akyuvar formülü belirlemek amacıyla kan frotileri hazırlanarak May-Grünwald Giemsa karışık boyama yöntemiyle boyandı. Alyuvar ve akyuvar sayıları hemositometrik yöntemle belirlendi. Hematokrit değeri mikrohematokrit yöntemle tespit edildi (21). Boş tüplere alınan kanlar 37°C'lik etüvde 15 dakika bekletildikten sonra 3000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek serumları elde edildi ve serum örnekleri biyokimyasal analizler için kullanıldı.

### Biyokimyasal Analizler

Uygulanan asetilmetiyonin, l-karnitin, vitamin E ve vitamin B<sub>12</sub> kombinasyonunun karaciğer fonksiyonları üzerine olumlu ya da olumsuz etkilerini değerlendirmek amacıyla serum ALT, AST, albumin, total protein ve kolesterol değerleri ölçüldü. Ayrıca metabolizmadaki oksidatif stres ve uygulanan kombinasyona bağlı antioksidan metabolizmadaki değişimi değerlendirebilmek amacıyla seruloplazmin ve MDA analizi yapıldı. Serumlar analiz yapıncaya kadar incelenen parametrelerin stabil kalmasını sağlamak amacıyla -80 °C’de bekletildi.

Seruloplazmin ve MDA analizi dışındaki biyokimyasal analizler, ticari kitler kullanılarak (Audit, İrlanda) otoanalizör (Autolab, The Netherlands) yardımıyla yapıldı.

Seruloplazmin analizi, PPD (P-fenilendiamin diklorid)’in kullanıldığı spektrofotometrik (7) metot ile tespit edildi.

Serum MDA düzeyleri ise Yoshioka ve ark. (37) tanımladığı metoda göre thiobarbituric asit reaksiyonu ile ölçüldü.

### İstatistiksel analiz

Deneme öncesi ve deneme sonrası elde edilen bulguların istatistiksel olarak

karşılaştırılmasında Wilcoxon test kullanıldı. İstatistiksel verilerin değerlendirilmesinde bulgular arasındaki farkın önem derecesi p<0.05 olarak kabul edildi (27).

### BULGULAR

#### Klinik Bulgular

Tedavi sonrası hayvanların klinik olarak, genel vücut kondisyonu/görünümü (kaşektik-yağlı, vücudun tutuluşu, kemik çıkıntılarının görünümü), kıl örtüsünün durumu, çevreye ilgi-depresyon, iştah durumu değerlendirildi. Bu parametrelerin skorlanması ile elde edilen ortalama klinik skor tedavi öncesi 2.44±0.13 ve tedavi sonrası 0.26±0.07 olarak tespit edildi. Tedavi öncesi ve sonrası yapılan klinik değerlendirmeler sonunda hayvanların 28 adedinde (%87.5) başlangıçta incelenen parametreler yönünden 3 ve 4 olan klinik skorların tedavi sonrası 1’in altına düştüğü belirlendi ve bu hayvanların klinik olarak iyi derecede iyileştikleri kabul edildi.

#### Hematolojik ve Biyokimyasal Bulgular

Çalışmada kullanılan hayvanlara ait hematolojik veriler tablo 1’de gösterilmektedir. İlaç uygulaması öncesi ve sonrasında hematokrit değer, alyuvar ve akyuvar sayıları arasında istatistiksel olarak fark tespit edilirken (p<0.05), diğer hematolojik parametrelerde istatistiksel açıdan önemli bir fark bulunmadı (p>0.05).

**Tablo 1.** Tedavi öncesi ve tedavi sonrası hematolojik veriler (Ortalama±Standard hata)

Parametre	n	Tedavi Öncesi	Tedavi Sonrası
Hematokrit (%)	32	29.09±0.63	27.68±.54*
Alyuvar (x10 <sup>6</sup> /µl)	32	6.51±.17	5.76± 1.48*
Akyuvar (x10 <sup>3</sup> /µl)	32	9.40±0.39	10.66±0.24*
Lenfosit (%)	32	55.52±2.97	59.08±1.88
Nötrofil (%)	32	28.74±1.38	26.38±1.32
Eozinofil (%)	32	12.45±2.52	9.47±1.48
Monosit (%)	32	2.71±0.46	4.45±0.90
Basofil (%)	32	0.84±0.18	0.63±.19

\*Tedavi öncesine göre istatistiksel olarak farklıdır (p<0.05).

Tedavi öncesi ve sonrasındaki MDA ve seruloplazmin düzeyleri dışındaki biyokimyasal parametreler tablo 2’de görülmektedir. Tedavi sonrasında bu parametrelerden sadece total protein

düzeyinde istatistiksel olarak bir azalma belirlendi (p<0.05), diğer parametreler açısından ise tedavi öncesi ve sonrasında fark tespit edilmedi (p>0.05).

**Tablo 2.** Tedavi öncesi ve tedavi sonrası biyokimyasal parametreler (Ortalama±Standard hata)

Parametre	n	Tedavi öncesi	Tedavi sonrası
Albumin (g/dl)	32	3.24±0.08	3.30±0.05
Total protein (g/dl)	32	8.08±0.23	7.15±0.15*
Total kolesterol (mg/dl)	32	105.42±6.53	103.96±4.77
ALT (I/U)	32	32.38±2.46	34.25±2.16
AST (I/U)	32	92.47±8.28	105.00±8.16

\*Tedavi öncesine göre istatistiksel olarak farklıdır (p<0.05).

Tedavi öncesi ve tedavi sonrası belirlenen MDA ve seruloplazminin düzeyleri ise tablo 3’te gösterilmiştir. Her iki parametre açısından da tedavi

öncesi ve sonrası değerler arasında istatistiksel bir farklılık tespit edilmedi (p>0.05).

**Tablo 3.** Tedavi öncesi ve tedavi sonrası MDA ve Seruloplazmin düzeyleri (Ortalama±Standard hata)\*

Parametre	n	Tedavi öncesi	Tedavi sonrası
MDA (nmol/mL)	32	6.08±1.37	4.74±1.25
Seruloplazmin (mg/dl)	32	11.49±1.12	10,77±1,03

\*(p&gt;0,05)

**TARTIŞMA ve SONUÇ**

Çalışma sonunda, hayvanların hemen tamamının genel vücut görünümü ve genel durumunda tedavi öncesine göre klinik olarak belirgin şekilde düzelme olduğu tespit edildi. Bu durum hayvanların ortalama klinik skorlarında belirgin düşüş ve klinik olarak genel vücut görünümünde tedavi öncesine göre iyileşme şekillenmiş olmasıyla desteklendi. Ayrıca elde edilen hematolojik verilerden hematokrit değeri, alyuvar ve akyuvar sayılarının tedavi öncesi ile tedavi sonrası değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli olmakla beraber (p<0.05) değişim fizyolojik sınırlar içerisinde kaldığından klinik olarak önemli kabul edilmedi.

Oksidatif stres, içerisinde yaşlanma, kanser gibi hastalıklar, post işemik travma, nörodejenerasyon bozuklukları ve nefropatilerin de bulunduğu çok geniş bir fizyolojik bozukluk durumunu kapsamaktadır. Oksidatif stres, pro-oksidan ve post-oksidan mekanizma arasındaki dengenin bozulması sonucu meydana gelmektedir. Oksidatif stres sonucu lipit moleküllerinin oksidasyonu ile son ürün olarak hücre duvarındaki doymamış yağ asitleri üzerine oldukça toksik bir etki oluşturan MDA meydana gelmektedir (29,32). Bu nedenle MDA, lipit peroksidasyonunu dolayısıyla oksidatif stresi değerlendirmek için önemli ve kullanışlı bir biyolojik belirteç olarak kabul edilmektedir (6,29). Chirase ve ark. (6), sığırlarda yaptıkları bir çalışmada, yol stresine bağlı olarak bazı sığırlarda MDA düzeyinin sağlıklı gruba göre %43'e kadar artış gösterdiği ve bu hayvanların öldüğünü tespit etmiştir. Vitamin E gibi antioksidanların MDA üretimini baskılayıcı özelliği olduğu bildirilmiştir (33). İzgüt-Uysal ve ark. (17), l-karnitinin birçok dokuda oksidatif stresten koruyucu etkinliğinin olduğunu bildirmişler ve bunu da özellikle hücre duvarına zarar veren reaktif oksijen türlerini temizleyici etkisi ile açıklamışlardır. Bu çalışmada çevresel stres faktörlerine maruz kalarak genel durum bozukluğu şekillenmiş sığırlarda oksidatif stres ve asetilmetyonin, l-karnitin, vitamin E ve vitamin B<sub>12</sub> kombinasyonunun bu durum üzerine etkisini değerlendirmek amacıyla MDA parametrelerden biri olarak seçildi. Tedavi sonrası hayvanların serum MDA düzeylerinde tedavi öncesine göre azalma tespit edildi ve çalışma sonunda saptanan serum MDA düzeyinin Karapehlivan ve ark. (18) bildirdiği sağlıklı kontrol grubu serum MDA düzeyleriyle (4.92 ± 0.18) uyumlu olduğu görüldü. Tedavi öncesi ve tedavi sonrası serum MDA düzeyleri arasında belirgin bir istatistiksel farklılık saptanmadı.

L-karnitinin uzun zincirli yağ asitlerinin hücre içine taşınması ve enerji üretiminde kullanılmasında rol oynadığı bilinmektedir (20). Bu çalışmada l-karnitin yağ metabolizması üzerindeki etkinliğini değerlendirilmesi amacıyla çalışmada kullanılan hayvanların total kolesterol düzeyleri tespit edildi. Ancak tedavi öncesi ve sonrası arasındaki ortalama serum total kolesterol düzeyleri arasındaki önemli bir değişim saptanmadı.

Organizmadaki metiyoninin büyük bölümü karaciğerde metabolize olmaktadır. Karaciğer, metiyonin ve homosistein metabolizmasında görev alan genlerin ekspresyonunda özel yere sahiptir. Bu nedenlerle karaciğer hasarı oluştuğunda homosistein metabolizmasında önemli değişiklikler meydana gelmektedir (5). Rulquin ve Delaby (30), yaptıkları çalışmada özellikle enerji dengesinde bozulma söz konusu olan sığırlarda metiyonin takviyesinin hem koruyucu etkinliğinin olduğu hem de sütteki protein içeriğini arttırdığını saptamışlardır. Metiyoninin karaciğer fonksiyonlarını destekleyici özelliği olduğu bilinmektedir. Ayrıca antioksidan özelliği olan bileşikler arasında da yer almaktadır (22). Bu çalışmada, çeşitli stres faktörlerine maruz kalmış, tespit edilen herhangi bir hastalığı bulunmamakla birlikte klinik olarak sağlıklı birey görünümünden sapma şekillenmiş, kilo kaybı olan ve bu nedenle enerji dengesinin bozulmuş olduğu düşünülebilecek hayvanlar kullanıldı. Bunun yanında hayvanlarda kıl örtüsünde düzensizlikler, çevreye ilgide ve iştahta azalma tespit edilen bulgular arasındaydı. Söz konusu stres etkenleri ve genel görünüm bulguları bir araya getirildiğinde bu durumun oksidatif stres bileşenlerinde artış şekillenmesine neden olduğu düşünüldü. Bu hayvanlarda asetilmetyonin içerikli preparatın karaciğer üzerine etkinliğini araştırmak için bazı serum enzim değerleri (AST, ALT) ile albumin, serum total protein ve total kolesterol düzeyleri ölçüldü. Çalışma sonunda, tedavi öncesi ile karşılaştırıldığında total protein haricindeki parametrelerde önemli bir farklılık tespit edilmedi.

Vücuttaki enfeksiyona bağlı ya da enfeksiyöz olmayan çeşitli yangı durumlarında total protein düzeyinde artış şekillenebilmektedir (3). Çalışmada yer alan hayvanlarda tedavi sonrasına göre tedavi öncesi ortalama total protein değerinde artış şekillenmiştir. Bu artışı çeşitli stres faktörlerine maruz kalmış hayvanlarda akut faz proteinlerinin kandaki konsantrasyonlarının yükselmesine bağlamak mümkündür. Sığırlarda, stres nedeniyle kandaki akut faz protein konsantrasyonlarında artış şekillenmektedir. Bu sebeple sığırlarda stres faktörlerine organizmanın verdiği cevabın değerlendirilmesi için akut faz proteinleri önemli bir indikatör olarak kabul edilmektedir (2). Seruloplazminin organizmada birden fazla fonksiyonu bulunmakta ve sığırlarda akut faz proteini olarak değerlendirilmektedir. Bununla birlikte, seruloplazmin, önemli bir serum serbest radikal temizleyici ve antioksidandır (1). Yapılan çalışmada hayvanların tedavi sonrasında ortalama serum seruloplazmin

düzeyinde tedavi öncesine göre azalma olduğu saptanmakla beraber, fark istatistiksel olarak önemli bulunmadı. Diğer yandan seruloplazminle beraber tedavi sonrası ortalama total protein düzeyindeki azalma, kullanılan ilacın tedavi edici etkinliğini destekleyici bir veri olarak yorumlanabilir.

Girard ve Matte (12), sığırlarda kas içi vitamin B<sub>12</sub> uygulamasının, yeme folik asit ve metiyonin ilavesiyle beraber süt ve süt bileşiklerinde artış şekillendirdiğini, bununla birlikte bazı kan parametrelerinde artış olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada 7 gün boyunca 0.2 mg/ml vitamin B<sub>12</sub> içeren çözeltinin uygulandığı sığırlarda kan bileşenlerinde artış tespit edilmedi. Ancak klinik olarak, çalışmada kullanılan hayvanların büyük bölümünün klinik görünümünde görülür düzelme

olması (Tablo 1), Wuerges ve ark. (36), bildirdiği gibi, özellikle sindirim sisteminde ve intestinal absorpsiyonda çok önemli rolü bulunan vitamin B<sub>12</sub> desteğinin sindirim fonksiyonları üzerine etkisi olarak kabul edilebilir.

Sonuç olarak sığırlarda asetilmetiyonin, l-karnitin, vitamin E ve vitamin B<sub>12</sub> kombinasyonu kullanımının, istatistiksel olarak önemli bulunmamakla birlikte ölçülen oksidatif stres bileşenlerinde azalmaya neden olduğu tespit edildi. Hematolojik ve biyokimyasal parametrelerde ise önemli bir değişim şekillendirmediği görüldü. İlacın, klinik olarak vücut kondisyonunu destekleyici etkisi görülmeyle birlikte söz konusu bileşimin kullanımın saha şartlarında bu çalışmada incelenen parametrelerde belirgin bir değişim yapmadığı tespit edildi.

## KAYNAKLAR

- Aouffen M, Paquin J, Furtos A, Waldron KC, Mateescu MA (2004):** Oxidative aggregation of ceruloplasmin induced by hydrogen peroxide is prevented by pyruvate. *Free Radical Res.* 38: 19-26.
- Arthington JD, Eicher SD, Kunkle WE (2003):** Effect of transportation and commingling on the acute-phase protein response, growth, and feed intake of newly weaned beef calves. *J Anim. Sci.* 81: 1120-1125.
- Batmaz H., Aytug N., Kennerman E (1998):** Klinik tanıda laboratuvar bulgularının değerlendirilmesi. Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Kurs Kitabı, Bursa.
- Brzezinska-Slebodzinska E, Miller JK, Quigley JD, Moore R (1994):** Antioxidant status of dairy cows supplemented prepartum with vitamin e and selenium. *J. Dairy. Sci.* 77: 3087-3095.
- Canoruç N, Canoruç F, Aslan Ç, Yılmaz Ş, Turgut C, Dursun M, Akkuş Z, Kale E (2006):** Karaciğer hastalıklarında (siroz veya hepatit) homosistein ve selenyum düzeyleri. *Akademik Gastroenteroloji Dergisi.* 5: 26-30.
- Chirase NK, Greene LW, Purdy CW, Loan RW, Auvermann BW, Parker DB, Walborg EF Jr, Stevenson DE, Xu Y, Klaunig JE (2004):** Effect of transport stress on respiratory disease, serum antioxidant status, and serum concentrations of lipid peroxidation biomarkers in beef cattle. *Am. J. Vet. Res.* 65: 860-864.
- Clombo JP, Richterich R (1964):** Zur bestimmung des ceruloplasmin im plasma. *Schweiz Med. Wschr.* 94: 715-720.
- Conner JG, Eckersall PD, Wiseman A, Bain RK, Douglas TA (1989):** Acute phase response in calves following infection with pasteurized haemolytica, ostertagia ostertagi and endotoxin administration. *Res. Vet. Sci.* 47: 203-207.
- Edmonson AJ, Lean I, Weaver LD, Farver T, Webster G (1989):** A body condition scoring chart for holstein dairy cows. *J. Dairy. Sci.* 72:68-78.
- Erkin B, Dokmeci D, Altaner S, Turan FN (2006):** Gastroprotective effect of l-carnitine on indomethacin-induced gastric mucosal injury in rats: a preliminary study. *Folia Med (Plovdiv).* 48: 86-89.
- Feldman BF, Zinkl JG, Jain NC (2000):** Schalm's Veterinary Hematology. 5<sup>th</sup> ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
- Girard CL, Matte JJ (2005):** Effects of intramuscular injections of vitamin b<sub>12</sub> on lactation performance of dairy cows fed dietary supplements of folic acid and rumen-protected methionine. *J. Dairy Sci.* 88: 671-676.
- Gruys E, Oblovo, MJ, Toussaint JM (1994):** Diagnosis significance of major acute phase proteins in veterinary clinical chemistry: a review. *B. Vet. I. Pulawy.* 64: 1009-1015.
- Gupta S, Gupta HK, Soni J (2004):** Effect of vitamin e and selenium supplementation on concentrations of plasma cortisol and erythrocyte lipid peroxides and the incidence of retained fetal membranes in crossbred dairy cattle. *Theriogenology.* 64: 1273-1286.
- Halliwell B (1996):** Antioxidants in human health and disease. *Annu. Rev. Nutr.* 16: 33-50.
- Halliwell B, ve Gutteridge JM (1984):** Free radicals, lipid peroxidation and cell damage. *Lancet.* 2: 1095.
- İzgüt-Uysal VN, Ağaç A, Derin N (2001):** Effect of carnitine on stress-induced lipid peroxidation in rat gastric mucosa. *J Gastroenterol.* 36: 231-236.
- Karapehlivan M, Uzlu E, Kaya N, Kankavi O, Ural K, Çitil M (2007):** Investigation of Some Biochemical Parameters and the Antioxidant System in Calves with Dermatophytosis. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 31(2): 85-89
- Kleczkowski M, Klucinski W, Sikora J, Zdanowicz M, Dziekan P (2003):** Role of antioxidants in the protection against oxidative stress in cattle nonenzymatic mechanism. *Pol J. Vet. Sci.* 6: 301-308.
- Koeck T., Kremser K (2003):** L-carnitine alters nitric oxide synthase activity in fibroblasts depending on the peroxisomal status. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 35:149-156.
- Konuk T (1981):** Pratik Fizyoloji I. 2. baskı. Ankara Üniv. Basımevi, Ankara.
- Mercan U (2004):** Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *YYU Vet. Fak. Derg.* 15: 91-96.
- Napoli C, Ignarro LJ (2001):** Nitric oxide and atherosclerosis. *Nitric. Oxide-Biol. Ch.* 5: 88-97.

24. Nunes VA, Gozzo AJ, Cruz-Silva I, Juliano MA, Viel TA, Godinho RO, Meirelles FV, Sampaio MU, Sampaio CA, Araujo MS (2005): Vitamin E prevents cell death induced by mild oxidative stress in chicken skeletal muscle cells. *Comp. Biochem. Phys. C.* 141: 225-240.
25. Ortigues-Marty I, Micol D, Prache S, Dozias D, Girard CI (2005): Nutritional value of meat: the influence of nutrition and physical activity on vitamin B<sub>12</sub> concentrations in ruminant tissues. *Reprod. Nutr. Dev.* 45: 453-467.
26. Oz HS, Chen TS, Neuman M (2007): Methionine deficiency and hepatic injury in a dietary steatohepatitis model. *Cell. Mol. Biol. (Noisy-le-grand)*. 53: 1-2.
27. Rao CR (1973): Linear statistical inference and its applications. John&Sons, New York.
28. Reaven PD, Napoli C, Merat S, Witztum JL (1999): Lipoprotein modification and atherosclerosis in aging. *Exp. Gerontol.* 34: 527-537.
29. Rezaei AS, Dalir-Naghadeh B (2006): Evaluation of antioxidant status and oxidative stress in cattle naturally infected with *Theileria annulata*. *Vet. Parasitol.* 142: 179-186.
30. Rulquin H, Delaby L (1997): Effects of the energy balance of dairy cows on lactational responses to rumen-protected methionine. *J. Dairy. Sci.* 80: 2513-2522.
31. Saco Y, Fina M, Gimenez M, Pato R, Piedrafita J, Bassols A (2007): Evaluation of serum cortisol, metabolic parameters, acute phase proteins and faecal corticosterone as indicators of stress in cows. *The Veterinary Journal*, (basimda).
32. Sani M, Ghanem-Boughanmi N, Gadacha W, Sebai H, Boughattas NA, Reinberg A, Ben-Attia M (2007): Malondialdehyde content and circadian variations in brain, kidney, liver, and plasma of mice. *Chronobiol. Int.* 24: 671-685.
33. Selvaraj N, Bobby Z, Sridhar MG (2007): Oxidative stress: Does it play a role in the genesis of early glycated proteins? *Medical Hypotheses* (basimda).
34. Sheridan JF, Dobbs C, Brown D, Zwilling B (1994): Psychoneuroimmunology: Stress effects on pathogenesis and immunity during infection. *Clin. Microbiol. Rev.* 7: 200-212.
35. Vangroenweghe F, Duchateau L, Boutet P, Lekeux P, Rainard P, Paape MJ, Burvenich C. (2005): Effect of carprofen treatment following experimentally induced *Escherichia coli* mastitis in primiparous. *Cows J. Dairy Sci.* 88:2361-2376
36. Wuerges J, Garau G, Geremia S, Fedosov SN, Petersen TE, Randaccio L (2006): Structural basis for mammalian vitamin B<sub>12</sub> transport by transcobalamin. *Proc. Natl. Acad. Sci .U S A.* 103: 4386-4391.
37. Yoshioka T, Kawada K, Shimada T, Mori M (1979): Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against activated oxygen toxicity in the blood. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 135: 372-376.