



Sıcaklık Stresine Maruz Kalan Broilerlerin Rasyonuna Katılan Vitamin C ve α -Lipoik Asidin Karaciğer ile But Etinde Antioksidan Metabolizma Üzerine Etkisi

Recep GÜMÜŞ¹, Halit İMİK², Hüseyin Serkan EROL³, Seçkin ÖZKANLAR³, Mesut HALICI³

1. Cumhuriyet Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Sivas, TÜRKİYE.
2. Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.
3. Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
13.02.2017	04.04.2017	20.12.2017

Öz: Bu çalışmada sıcaklık stresine maruz bırakılan broylerlerin rasyonlarına katılan vitamin C (L-askorbik asit) ve α -lipoik asidin karaciğer ve but eti dokularında antioksidan metabolizma üzerine etkileri araştırıldı. Araştırmada 4 grup oluşturuldu; Kontrol (bazal rasyon + 24°C sıcaklık), Stres (bazal rasyon + 34°C sıcaklık), Vit C (bazal rasyon + 250 mg askorbik asit/kg rasyon + 34°C sıcaklık) ve ALA (bazal rasyon + 250 mg α -lipoik asit/kg rasyon + 34°C sıcaklık). Araştırmanın sonunda kesilen hayvanların karaciğer ve but eti dokularında katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) aktiviteleri ile lipid peroksidasyon (LPO) ve glutatyon (GSH) seviyeleri belirlendi. Sıcaklık stresinin karaciğer ve but etinde CAT ve SOD aktiviteleri ile LPO ve GSH seviyelerini olumsuz etkilediği tespit edildi. Vitamin C'nin karaciğerde CAT ve SOD aktiviteleri ile LPO seviyesini, but etinde CAT ve SOD aktiviteleri ile GSH seviyesini önemli oranda düzelttiği belirlendi. α -lipoik asidin ise karaciğerde SOD aktivitesi ile LPO ve GSH seviyelerini, but etinde LPO ve GSH seviyelerini önemli oranda düzelttiği görüldü. Sonuç olarak stres karaciğer ve but eti dokularında antioksidan metabolizmayı olumsuz etkilerken, vitamin C ve α -lipoik asit katkılarının antioksidan etkilerinin dokulara göre değişebileceği tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: α -lipoik asit, Antioksidan metabolizma, Broiler, Sıcaklık stresi, Vitamin C.

Effects of Dietary Vitamin C and α -Lipoic Acid Supplementation on Antioxidant Metabolism in Liver and Drumstick Meat Tissues for Heat Stress-Exposed Broilers

Abstract: The present study was aimed to investigate the effect of adding vitamin C (L-ascorbic acid) or α -lipoic acid to the diet of broilers exposed to heat stress on antioxidant metabolism in liver and drumstick muscle tissues. In the study, four groups were established: Control (basal diet + 24°C temperature), Stress (basal diet + 34°C temperature), Vit C (basal diet + 250 mg L-ascorbic acid/kg ration + 34°C temperature and ALA (basal diet + 250 mg α -lipoic acid/kg ration + 34°C temperature). Catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) activities with lipid peroxidation (LPO) and glutathione (GSH) levels were determined in the liver and drumstick meat tissues of the animals slaughtered at the end of the study. It was determined that heat stress negatively affected CAT and SOD activities with LPO and GSH levels in liver and drumstick meat tissues. Vitamin C significantly restored hepatic CAT and SOD activities with LPO levels, and drumstick CAT and SOD activities with LPO levels. α -lipoic acid significantly restored hepatic SOD activity with LPO and GSH levels, and drumstick LPO and GSH levels. In conclusion, while heat stress negatively affects antioxidant metabolism in liver and drumstick meat tissues, it has been determined that the antioxidant effects of vitamin C and α -lipoic acid supplementation may vary depending on the tissues.

Keywords: α -lipoic acid, Antioxidant metabolism, Broiler, Heat stress, Vitamin C.

GİRİŞ

Kanatlılar için termonötral (konfor) sıcaklık aralığı 18-27 °C arasında olup ortam sıcaklığı bu değerlerin üzerine çıktığında sıcaklık stresi oluşmaktadır (1). Sıcaklık stresi en önemli çevresel faktörlerden biri olup besinlerin kullanımını olumsuz etkileyerek performans ve verimliliğin azalmasına, antioksidan savunma sistemini zayıflatarak hastalıkların insidansının artmasına ve tüm bunların sonucunda da kanatlı endüstrisinde ekonomik kayıplara neden olmaktadır (2). Stres nedeniyle vücuttan vitamin-mineral atılımının artması sonucu düşük seviyedeki vitamin-mineral eksiklik derecesinin arttığı bildirilmiştir (3). Normal de vücuda giren besinlerin paylaşımı üreme payı (%30), büyüme payı (%30), sağlık payı (%10) ve yaşam payı (%30) şeklinde olurken; strese maruz kalındığında bu durumun sağlık payı (%80) ve yaşam payı (%20) şeklinde olduğu belirtilmiştir (4). Tavukların C vitaminini sentezleyebildiği bilinirken, bazı stres durumlarında bu özelliklerinin azaldığı ve dışarıdan vitamin C desteğinin çok önemli olduğu bildirilmiştir (5). Yine kanatlılarda yapılan çalışmalarda sıcaklık stresinin plazmada antioksidan vitaminlerden E, A ve C'nin konsantrasyonunu azaltarak oksidatif hasarın artmasına yol açtığı belirtilmiştir (3,6).

Vitamin C suda çözünebilir en önemli doğal antioksidanlardan biri olup, peroksidasyon başlamadan önce sulu fazda peroksil radikallerini ortamdan uzaklaştırarak lipid peroksidasyonuna karşı biyomembranları korumaktadır (7). Yine α -lipoik asit hem yağda hemde suda çözünebilir özelliğine sahip olup; mitokondrial ezimler için esansiyel bir kofaktör ve serbest radikalleri yok etmek için kullanılan doğal bir antioksidandır (8). Broilerlerde yapılan bir çalışmada rasyona katılan C vitamininin ette C vitamini konsantrasyonunu arttırdığı ve lipid oksidasyonunu azalttığı belirtilmiştir (9) Yine rasyona katılan α -lipoik asidin broiler etinde antioksidan metabolizma üzerinde olumlu etkilerinin olduğu bildirilmiştir (10). Ayrıca α -lipoik asidin kendisinin ve

indirgenmiş formu olan dihidrolipoik asidin metal bağlama aktivitesine sahip oldukları için C veya E vitamini gibi doğal antioksidanları radikal veya aktif olmayan formlarından yeniden üretebildikleri belirtilmiştir (11). Yapılan çalışmalarda rasyona katılan vitamin C ve α -lipoik asit gibi doğal antioksidanlar sıcaklık stresinin olumsuz etkilerini hafiflettiği veya tamamen ortadan kaldırdığı bildirilmiştir (6,12,13).

Bu çalışmada, hayvanların serumunda yapılmış birçok araştırmadan farklı olarak but eti ve karaciğer dokularının kronik ısı stresine tepkisi ile rasyona katılan vitamin C ve α -lipoik asidin bu tepkilere karşı oluşturdukları etkileri tespit edilmeye çalışılmıştır.

MATERYAL ve METOT

Hayvanlar ve Deneme Dizaynı

Bu çalışma Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylandı (Karar No: 2007/5f). Çalışma Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvancılık Araştırma ve Uygulama Biriminde yürütüldü. Çalışmada toplam 80 adet günlük erkek broiler (Ross 308) kullanıldı ve 4 deneme grubu (Kontrol, Stres, Vit C ve ALA) oluşturuldu. Denemenin 14. gününe kadar bütün hayvanlara konfor sıcaklığı uygulandı (sıcaklık dereceli olarak 36 °C'den 24 °C'ye düşürüldü). Denemenin 15. gününden itibaren denemenin sonuna kadar Kontrol grubuna 24 °C sıcaklık, Stres, Vit C ve ALA grupları ise ayrı odaya alınarak günün 08:00-16:00 saatleri arasında 34°C, 16:00-08:00 saatlerin de 24 °C sıcaklık uygulandı. Ayrıca deneme süresince Vit C grubunun bazal rasyonuna vitamin C (250 mg L-askorbik asit/kg rasyon), ALA grubunun bazal rasyonuna α -lipoik asit (250 mg α -lipoik asit/kg rasyon) ilave edildi. Tüm gruplara 42 gün süren deneme süresince 17 saat ışık uygulandı. Bazal rasyonun içeriği ve kimyasal kompozisyonu NRC (14) göre ayarlandı (Tablo 1). Rasyonun kimyasal analizleri AOAC (15)'de bildirilen metotlara göre yapıldı.

Tablo 1. Denemede kullanılan bazal rasyonun içeriği ve besin madde kompozisyonu.
Table 1. Ingredient of basal feed and nutrient composition of experimental ration.

İçerik, %	Başlangıç 1-15. gün	Büyüme 16-28. gün	Bitiş 29-42. gün
Mısır (8.5% HP)	56.99	58.74	64.16
Mısır gluteni (60% HP)	20.00	20.00	20.00
Buğday kepeği*	7.00	7.00	7.00
Soya yağı	0.78	3.72	3.22
Soya unu (48% HP)	11.53	7.14	1.99
Kalsiyum karbonat	1.36	1.23	1.18
Dikalsiyum fosfat	1.06	0.91	1.00
L-Lizin	0.40	0.42	0.56
Tuz	0.26	0.27	0.27
Vitamin-mineral karışımı 0.2%**	0.20	0.20	0.25
Toksin bağlayıcı	0.10	0.10	0.10
Antikoksidiyal	0.10	0.10	0.10
Sodyum bikarbonat	0.10	0.09	0.09
Büyüme faktörü	0.05	0.05	0.05
Phyzyme XP TPT	0.03	0.03	0.03
DL-Metiyonin 98%	0.04	-	-
Besin İçerikleri			
Metabolik enerji (kcal/kg)	3000	3200	3200
Ham protein %	23	21	19

*Rasyonuna vitamin C ve α - lipoik asit katılan gruplarda katıldığı miktar kadar buğday kepeğinden düşülmüştür.

**vitamin-mineral karışımı (her kg için): all-transretil asetat 1.8 mg; all-rac- α -tokoferol asetat 1.25 mg; menadion sodyum bisülfat 1.1 mg; riboflavin 4.4 mg; tiamin (tiamin mononitrat) 1.1 mg; vitamin B6 2.2 mg; niasin 35 mg; Ca-pantotenat 10 mg; vitamin B12 0.02 mg; folik asit 0.55 mg; d-biotin 0.1 mg; kolin klorür 175 mg; manganez (manganez oksitten) 40 mg; demir (demir sülfattan) 12.5 mg; çinko (çinko oksitten) 25 mg; bakır (bakır sülfattan) 3.5 mg; iyot (potasyum iyodürden) 0.3 mg; selenyum (sodyum selenitten) 0.15 mg.

Biyokimyasal Analizler

Denemenin sonunda (42. gün) her gruptan rastgele seçilen altı adet broyler uygun ortamda kesilerek karaciğer ve but eti dokuları alındı. Karaciğer ve but eti dokuları sıvı azot kullanılarak homojen hale getirildi ve daha sonra biyokimyasal analiz yapılacağı güne kadar -80°C 'de muhafaza edildi.

Dokulardaki SOD ve CAT enzim aktiviteleri ile GSH ve LPO miktarları belirlendi. Karaciğer ve but eti dokuları bir havanda sıvı azot ile dövülerek doku homojenatları hazırlandı. 0.5 gr doku üzerine uygun tampon maddeden 4.5 ml uygulandı (SOD: pH 7.4/0.2 mM Tris-HCl tamponu, CAT: pH 7/50 mM fosfat tamponu, GSH: pH 7.4/50 mM Tris-HCl tamponu, LPO: %10 KCl solusyonu). Karışımlar buz üzerinde ultra-turaks homojenizatör kullanılarak 15 dakika homojenize edildi. Homojenatlar bir süzgeç kağıdından süzildükten sonra soğutmalı santrifüjte 4°C ' de santrifüj edildi ve hazırlanan bu

süpernatantlarda UV-Vis spektrofotometre kullanılarak biyokimyasal ölçümler gerçekleştirildi.

SOD Aktivitesi

SOD aktivitesi Sun ve ark. (16) tarafından tarif edilen yöntemle ölçüldü. SOD tahmini, nitro blue tetrazolium (NBT) ile reaksiyona girerek formazan oluşturan ksantin ve ksantin oksidaz tarafından süperoksit radikallerinin üretilmesine dayanmaktadır. SOD aktivitesi daha sonra bu reaksiyonun inhibisyon derecesine göre 560 nm'de ölçüldü ve sonuçlar mmol/dk/mg doku olarak ifade edildi.

CAT Aktivitesi

Katalaz aktivitesi Aebi'nin belirttiği yöntemle ölçüldü (17). CAT varlığında H_2O_2 ayrışımı 240 nm'de takip edildi. CAT aktivitesi, pH 7.8'de ve 25°C ' de dakikada 1 mmol H_2O_2 'yi ayrıştırmak için gereken enzim miktarı olarak tanımlandı. Sonuçlar mmol/dk/mg doku olarak ifade edildi.

Total GSH

Dokulardaki GSH miktarı Sedlak ve Lindsay (18) tarafından geliştirilen yöntem esas alınarak belirlendi. Dokular pH 7.5'te 20 mM EDTA içeren 2 ml 50 mM Tris-HCl tamponunda homojenize edildi. Daha sonra 2 ml etanol ilave edildi (proteinleri çöktürmek için) ve homojenat 3000g 4 °C'de 40 dakika süreyle santrifüj edildi. Süpernatantlar 5, 5'-dithiobis (2-nitrobenzoic acid) (DTNB) kullanılarak GSH seviyesinin belirlenmesinde kullanıldı. Absorbans 412 nm'de ölçüldü ve dokuların GSH düzeyi nmol/g doku olarak ifade edildi.

LPO Seviyesinin Belirlenmesi

Dokularda LPO seviyesi, tiyobarbitürik asit testi kullanılarak malondialdehit (MDA) miktarı tahmin edilerek belirlendi (19). Dokular kazındı, tartıldı ve 10 ml 100 g/l KCl çözeltisi kullanılarak homojenize edildi. Homojenata (0.5 ml), 80g/l sodyum laurilsülfattan 0.2 ml, 200g/l asetik asitten 1.5 ml, 1.5 ml 8g/l 2-tiyobarbitürattan 1.5 ml ve 0.3 ml distile su ihtiva eden bir çözelti ilave edildi. Karışım, 98 ° C'de 1 saat inkübe edildi. Soğutulduktan sonra, 5 ml n-bütanol:

piridin (15: 1) ilave edildi. Karışım 1 dakika vortekslenildi ve sonra 30 dakika 4000 devir/dk hızında santrifüj edildi. Süpernatantın absorbansı 532 nm'de ölçüldü. Standart eğrisi 1,1,3,3-tetrametoksipropan kullanılarak elde edildi. Geri kazanım oranı %99'un üzerindeydi. Sonuçlar nmol MDA/g doku olarak ifade edildi.

İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel analizi SPSS 20 (20) paket programı kullanılarak yapıldı. Gruplara ait istatistik hesaplamalar ve grupların ortalama değerleri arasındaki farklılığın önem kontrolü için tek yönlü varyans analizi (ANOVA), gruplar arasındaki ikili karşılaştırmalarda Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulandı.

BULGULAR

Sıcaklık stresi karaciğer ve but eti dokularında CAT aktivitesini önemli oranda düşürürken, C vitamininin her iki dokudada düşen CAT aktivitesini önemli derecede arttırdığı (P<0.01), fakat α-lipoik asidin etkisinin olmadığı belirlendi (P>0.05) (Tablo 2).

Tablo 2. Sıcaklık stresi uygulanan broylerlerin rasyonuna katılan Vitamin C ve α-lipoik asidin antioksidan metabolizma üzerine etkileri.

Table 2. Effects of vitamin C and α-lipoic acid dietary supplementations on antioxidant metabolism of broilers to heat stress.

Parametreler	Gruplar				P değeri
	Kontrol	Stres	Vit C	ALA	
CAT, mmol/dk/mg doku					
Karaciğer	3.500±0.110 ^b	2.572±0.052 ^c	5.372±0.264 ^a	2.437±0.059 ^c	**
But eti	1.375±0.065 ^a	0.192±0.023 ^c	0.319±0.008 ^b	0.184±0.009 ^c	**
SOD, mmol/dk/mg doku					
Karaciğer	0.127±0.005 ^c	0.190±0.010 ^a	0.152±0.007 ^b	0.154±0.007 ^b	**
But eti	0.170±0.008 ^c	0.257±0.011 ^a	0.214±0.016 ^b	0.252±0.002 ^a	**
GSH, nmol/g doku					
Karaciğer	0.113±0.001 ^c	0.152±0.002 ^b	0.154±0.002 ^b	0.335±0.017 ^a	**
But eti	0.265±0.021 ^a	0.161±0.001 ^c	0.186±0.009 ^b	0.207±0.011 ^b	**
LPO, nmol MDA/g doku					
Karaciğer	0.628±0.029 ^d	1.895±0.066 ^a	1.370±0.023 ^b	0.868±0.050 ^c	**
But eti	1.496±0.051 ^b	2.637±0.037 ^a	2.871±0.123 ^a	1.690±0.100 ^b	**

Bütün değerler ortalama ± standart hata olarak verilmiştir. (n=6).

a, b, c, d: Aynı satırda farklı harfle gösterilen ortalamalar arası fark önemlidir (**: P<0.01)

CAT; Katalaz, SOD; Süperoksit dismutaz, GSH; Glutasyon ve LPO; Lipid peroksidasyon. Kontrol; bazal rasyon + 24 °C sıcaklık, Stres; bazal rasyon + 34 °C sıcaklık, Vit C; bazal rasyon + 250 mg L-askorbik asit/kg rasyon +34 °C sıcaklık, ALA; bazal rasyon + 250 mg α-lipoik asit/kg rasyon +34 °C sıcaklık.

Karaciğer dokusunda sıcaklık stresinin arttırdığı SOD aktivitesini vitamin C ve α -lipoik asidin önemli oranda düşürdüğü görüldü ($P<0.01$) (Tablo 2). But eti dokusunda sıcaklık stresi ile artan SOD aktivitesini C vitamininin önemli derecede azalttığı ($P<0.01$), α -lipoik asidin ise etkisinin olmadığı tespit edildi ($P>0.05$) (Tablo 2).

Karaciğer dokusunda GSH seviyesinin en düşük kontrol grubunda, en yüksek ALA grubunda olmak üzere stres ve Vit C gruplarında yükseldiği belirlendi. ($P<0.01$) (Tablo 2). Sıcak stresinin but etinde GSH seviyesini önemli derecede düşürdüğü, vitamin C ve α -lipoik asit uygulamalarının düşen GSH seviyesini önemli derecede arttırdığı tespit edildi ($P<0.01$) (Tablo 2).

Sıcak stresinin karaciğer ve but eti dokularında LPO oranını önemli derecede arttırdığı ($P<0.01$), α -lipoik asidin her iki dokuda artan LPO oranını önemli derecede azalttığı belirlendi ($P<0.01$) (Tablo 2). Vitamin C'nin ise karaciğerde artan LPO oranını önemli derecede azalttığı ($P<0.01$), ancak but etinde etkisinin olmadığı tespit edildi ($P>0.05$) (Tablo 2).

TARTIŞMA ve SONUÇ

Kronik ısı stresi broyler yetiştiriciliğinde çok sık karşılaşılan problemlerden biri olup hayvanların ısı stresine adaptasyonunu kolaylaştırmak için rasyona anti-stres ve antioksidan özellik gösteren yem katkı maddeleri ilave edilmektedir (21). Singlet oksijen, hidroksil radikalleri, peroksil radikalleri ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türleri (ROS), mitokondriyal solunum sırasında elektron kaybı ile oluşan süperoksit anyonunun formunun bozulması nedeniyle hücreler içinde çeşitli oksidaz enzimleri tarafından sürekli olarak üretilir (22). Yine sıcaklık ile birlikte birçok kimyasal ve biyokimyasal reaksiyonun hızı artacağı için vücut sıcaklığı yükseldiğinde hücrelerde ve dokulardaki hızlanan metabolik reaksiyonların sonucunda ROS oluşumu da artmaktadır (23). Memeli hücreleriyle yapılan çalışmada, hipertermi (45 °C, 20 dk) hücresel serbest radikallerin üretimini arttırdığı belirtilmiştir

(24). Ayrıca sıcaklık stresi hücrelerde (Çin hamsterı yumurtalık hücreleri) redoks dengesizliği ve oksidatif stres GSH/GSSG oranını azaltmakta ve sıcaklık şoku nedeniyle oksidanların sitotoksitesini arttırılabilmektedir (25). Ayrıca sağlam hayvanlar üzerinde yapılan çalışmada hipertermik farelerin portal dolaşımında ROS oluşumunun arttığı bildirilmiştir (23). Bu nedenle, oksijen merkezli serbest radikal oluşumunun ve sitotoksik oksidanların üretimi arttığında ortaya çıkan oksidatif stresin kısmen sıcaklık kaynaklı hücre hasarına aracılık edebileceği öne sürülmektedir (25). Yine yapılan bir çalışmada tiyobarbitürik asit reaktif ürünlerin (TBARS) konsantrasyonunun karaciğerde önemli ölçüde artması ancak kalpte değişmemesi, karaciğerin sıcaklık maruziyeti sırasında oksidatif strese kalpten daha fazla duyarlı olduğunu göstermektedir (26). Muhtemel sebep, karaciğerin yüksek miktarda doymamış yağ asidi içermesi ve antioksidan sistemdeki göreceli değişikliklerle ilişkili olabilir. Çalışmamızda sıcaklık stresinin karaciğer dokusunda LPO seviyesini kontrol grubuna göre önemli miktarda arttırdığı, vitamin C ve α -lipoik asit uygulamalarının da artan LPO seviyesini düşürdüğü görüldü. But etinde de stres LPO seviyesini yükseltirken, C vitamininin etkisinin olmadığı ancak α -lipoik asidin artan LPO seviyesini önemli düzeyde düşürdüğü belirlendi. Bu çalışmanın sonuçlarına benzer olarak; broyler rasyonuna ilave edilen 150 mg/kg α -lipoik asidin ette TBARS düzeyini azalttığı, etin antioksidan durumunu iyileştirdiği bildirilmiştir (27). Bıldırcınlarda yapılan çalışmada rasyona katılan vitamin C ve α -lipoik asidin göğüs etinde sıcaklık stresinin arttırdığı LPO seviyesini önemli düzeyde düşürdüğü tespit edilmiştir (6). Yine ratlarda (28) ve broylerlerde yapılan çalışmalarda α -lipoik asidin ette serbest radikal üretimini ve MDA konsantrasyonunu azalttığı belirtilmiştir (29). Wang ve ark. (30) yaptıkları çalışmada rasyona katılan 300 ve 600 mg/kg dozundaki α -lipoik asidin keçilerin serumunda MDA seviyesini önemli düzeyde düşürdüğünü, total antioksidan kapasitesini ise arttırdığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda ve diğer çalışmalarda elde edilen sonuçlara bakıldığında rasyona katılan

vitamin C ve α -lipoik asidin stres nedeniyle yükselen LPO seviyesini önemli oranda düzelttiği söylenebilir.

Yem takviyesi olarak vitamin C ve α -lipoik asit birçok biyolojik fonksiyona sahiptirler (31). α -lipoik asit ve indirgenmiş formu olan dihidrolipoik asit, singlet oksijen, hidroksil radikalleri, süperoksit anyon radikalleri, peroksil radikalleri ve hidrojen peroksit gibi oksidasyonlarla reaksiyona girerek hücre hasarların en aza indirgenmesini sağladığı, aynı zamanda memeli hücrelerinde en çok bulunan antioksidan olan GSH'ın hücre içi seviyesini arttırdığı belirtilmiştir (32). Yine α -lipoik asit uygulamasının broylerde stres nedeniyle düşen serum (33) ve karaciğer GSH seviyelerini önemli düzeyde iyileştirdiği tespit edilmiştir (10). Halıcı ve ark. (6) sıcaklık stresi uygulanan bıldırcınların göğüs etinde düşen GSH seviyesini α -lipoik asidin önemli düzeyde arttırdığını ancak C vitamininin etkili olmadığını bildirmişlerdir. Lu ve ark. (33)'da ortamdaki amonyak miktarını yükselterek strese sokulan broylerde α -lipoik asidin serumda düşen GSH-Px aktivitesini önemli düzeyde arttırdığını tespit etmişlerdir. Wang ve ark. (30)'da rasyona katılan 600 mg/kg dozundaki α -lipoik asidin keçilerin serumunda GSH seviyesini önemli düzeyde arttırdığını bildirmişlerdir. Bu bulgulara benzer olarak bu çalışmada da α -lipoik asit hem karaciğer hem de but eti dokusunda stresin düşürdüğü GSH seviyesini önemli düzeyde yükseltmiştir. Vitamin C ise karaciğer dokusunda etkili olmaz iken but eti dokusunda GSH seviyesini olumlu etkilemiştir. Sonuçlara bakıldığında kullanılan katkıların metabolik faaliyetlerin en yoğun olduğu karaciğerin yanında et dokusunda da belirgin antioksidan etkilerinin olduğu ve bu etkilerinin etlerin raf ömrü süreleri üzerinde önemli olabileceği düşünülmektedir.

Stres karaciğer ve but eti dokularında CAT aktivitesini baskımlarken vitamin C uygulamasının her iki dokuda da olumlu etkisinin olduğu, α -lipoik asidin ise etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Yine karaciğer ve but eti dokularında stresin arttırdığı SOD aktivitesini C vitamininin düşürdüğü, α -lipoik asidin ise sadece karaciğer dokusunda düşürdüğü

belirlenmiştir. Sonuçlarımızdan farklı olarak Guo ve ark. (10) broylerde yaptıkları çalışmalarında rasyona katılan 500 mg/kg α -lipoik asidin karaciğer dokusunda CAT ve SOD aktiviteleri ile total antioksidan kapasitesini önemli düzeyde iyileştirdiğini bildirmişlerdir. Wang ve ark. (30) rasyona katılan 600 mg/kg dozundaki α -lipoik asidin keçilerin serumunda SOD ve CAT aktivitelerini önemli düzeyde iyileştirdiğini belirtmişlerdir. Yine sıcaklık stresi uygulanan bıldırcınların göğüs etinde azalan CAT enzim aktivitesi üzerine C vitamininin etkisinin olmadığı ancak α -lipoik asidin azalan CAT enzim aktivitesini önemli düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (6). Castellini ve ark. (34) tavşanlara uygulanan C vitamininin (500 ve 1000 mg/kg rasyon) kaslardaki E vitamininin miktarını arttırarak ette oksidatif süreci geciktirdiğini bildirmişlerdir. Bu bilginin aksine Lauridsen ve ark. (35) rasyona ilave edilen 420-840 mg/kg C vitamininin, donmuş etlerde depolama esnasında oksidatif stabiliteyi etkilemediğini bildirmişlerdir. Skřivan ve ark. (9) broyler rasyonuna ilave edilen 280-560 mg/kg rasyon dozlarındaki C vitamininin depolanan etlerde 5. gündeki TBARS seviyesini önemli düzeyde düşürdüğünü tespit etmişlerdir. Sonuçlara bakıldığında C vitamininin her iki dokuda stres nedeniyle baskılanan CAT aktivitesini önemli düzeyde iyileştirdiği ve stres nedeniyle hayvanda oluşabilecek olumsuzlukların (verim kaybı, hastalık vb.) önlenmesinde kullanılan sentetik katkıların yerine kullanılabileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak, çok sayıda etken tarafından meydana getirilen stres, kanatlı hayvanlarda pek çok doku ve sistemi etkileyerek önemli verim kayıplarına yol açmaktadır. Söz konusu olumsuz etkilerin azaltılması ya da ortadan kaldırılabilmesi için ya stres unsurunun yok edilmesi ya da hayvanın strese karşı daha dirençli olması gerekmektedir. Bu çalışmada sıcaklık stresine maruz bırakılan broylerin rasyonuna C vitamini ve α -lipoik asit katılmasının antioksidan metabolizmada enzimatik savunmada görevli olan SOD ve CAT enzim aktiviteleri ile GSH seviyesi üzerine olumlu etkilerinin olduğu ve dokularda lipid oksidasyonunun göstergesi olarak

bilinen LPO seviyesini önemli oranda düşürdüğü görülmüştür. Genel olarak, sıcaklık stresinin broylerler üzerinde oluşturduğu olumsuz etkilerin giderilmesinde C vitamini ve α - lipoik asidin antioksidan yem katkı maddesi olarak katılmalarının faydalı olabileceği kanaatine varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. McKee JS., Harrison PC., Riskowski GL., 1997. Effects of supplemental ascorbic acid on the energy conversion of broiler chicks during heat stress and feed withdrawal. *Poult Sci*, 76, 1278-1286.
2. Bollengier-Lee S., Mitchell MA., Utomo DB., Williams PE., Whitehead CC., 1998. Influence of high dietary vitamin E supplementation on egg production and plasma characteristics in hens subjected to heat stress. *Br Poult Sci*, 39, 106-112.
3. Siegel HS., 1985. Immunological responses as indicators of stress. *Worlds Poult Sci J*, 41, 36-44.
4. Siegel BP., Gross WB., 2000. General principles of stress and well-being. In 'Livestock Handling and Transport', Ed., T Gandin, 2nd ed., pp. 27-41, Fort Collins, CO: CABI publishing
5. Pardue SL., Thaxton JP., 1986. Ascorbic acid in poultry: a review. *Worlds Poult Sci J*, 42, 107-123.
6. Halıcı M., Imik H., Koç M., Gümüş R., 2012. Effects of α -lipoic acid, vitamins E and C upon the heat stress in Japanese quails. *J Anim Physiol Anim Nutr*, 96, 408-415.
7. McDowell LR., 2000. Vitamin C. In: *Vitamins in animal and human nutrition*. Second edition. Iowa State University Press/Ames, pp 597-640.
8. Bergamini CM., Gambetti S., Dondi A., Cervellati C., 2004. Oxygen, reactive oxygen species and tissue damage. *Curr Pharm Des*, 10, 1611-1626.
9. Skrivan M., Marounek M., Englmaierova M., Skrivanova E., 2012. Influence of dietary vitamin C and selenium, alone and in combination, on the composition and oxidative stability of meat of broilers. *Food Chem*, 130, 660-664.
10. Guo ZY., Li JL., Zhang L., Jiang Y., Gao F., Zhou GH., 2014. Effects of alpha-lipoic acid supplementation in different stages on growth performance, antioxidant capacity and meat quality in broiler chickens. *Br Poult Sci*, 55, 635-643.
11. Bilska A., Wlodek L., 2005. Lipoic acid - the drug of the future? *Pharmacol Rep*, 57, 570-577.
12. Sohaib M., Anjum FM., Khan MI., Arshad MS., Yasin M., Shahid M., 2013. Effect of α -lipoic acid and α -tocopherol acetate enriched broiler diet on oxidative stability and quality of broiler leg meat and meat products. *J Food Process Technol*, 4, 243-250.
13. Khan MI., Shehzad K., Arshad MS., Sahar A., Shabbir MA., Saeed M., 2015. Impact of dietary α -lipoic acid on antioxidant potential of broiler thigh meat. *J Chem*, 2015, 1-8.
14. NRC., 1994. *Nutrient Requirements of Poultry*, 9th revision & edition. National Academy Press, Washington, DC.
15. AOAC., 1990. *Official Methods of Analysis*. Association of Official Analytical Chemists, Vol. I, 15th edn. Association of Official Analytical Chemists Publishing, Arlington, VA.
16. Sun Y., Larry WO., Ying L., 1988. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem*, 34, 497-500.
17. Aebi H., 1984. Catalase. *Methods enzymol*, 105, 121-126.
18. Sedlak J., Lindsay RH., 1968. Estimation of total, protein-bound, and non-protein sulfhydryls groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem*, 25, 192-205.
19. Ohkawa H., Ohishi H., Yagi K., 1979. Assay for lipid peroxide in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*, 95, 351-358.
20. SPSS., 2011. *Statistical Packages for the Social Sciences*, 20 ed. IBM Inc., Chicago.
21. Imik H., Ozlu H., Gumus R., Atasever MA., Urcar S., Atasever M., 2012. Effects of ascorbic acid and α -lipoic acid on performance and meat quality of broilers subjected to heat stress. *Br Poult Sci*, 53, 800-808.
22. Fridovich I., 1978. *The biology of oxygen radicals*.

- Science, 201, 875-880.
23. Hall DM., Buettner GR., Matthes RD., Gisolfi CV., 1994. Hyperthermia stimulates nitric oxide formation: electron paramagnetic resonance detection of. NO-heme in blood. *J App Physiol*, 77, 548-553.
 24. Flanagan SW., Moseley PL., Buettner GR., 1998. Increased flux of free radicals in cells subjected to hyperthermia: detection by electron paramagnetic resonance spin trapping. *FEBS letters*, 431, 285-286.
 25. Lord-Fontaine S., Averill-Bates DA., 2002. Heat shock inactivates cellular antioxidant defenses against hydrogen peroxide: protection by glucose. *Free Radic Biol Med*, 32, 752-765.
 26. Lin H., Decuypere E., Buyse J., 2006. Acute heat stress induces oxidative stress in broiler chickens. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, 144, 11-17.
 27. Arshad MS., Anjum FM., Asghar A., Khan MI., Yasin M., Shahid M., El-Ghorab AH., 2011. Lipid stability and antioxidant profile of microsomal fraction of broiler meat enriched with α -lipoic acid and α -tocopherol acetate. *J Agric Food Chem*, 59, 7346-7352.
 28. Savitha S., Tamilselvan J., Anusuyadevi M., Panneerselvam C., 2005. Oxidative stress on mitochondrial antioxidant defense system in the aging process: Role of DL- α -lipoic acid and L-carnitine. *Clin Chim Acta*, 355, 173-180.
 29. Hamano Y., 2014. Effects of α -lipoic acid supplementation on sexual difference of growth performance, heat exposure-induced metabolic response and lipid peroxidation of raw meat in broiler chickens. *Br Poult Sci*, 55, 343-350.
 30. Wang D., Zhou L., Zhou H., Hou G., Shi L., 2017. Effects of dietary α -lipoic acid on carcass characteristics, antioxidant capability and meat quality in Hainan black goats. *Italian J Anim Sci*, 16, 61-67.
 31. Mahmoud KZ., Edens FW., Eisen EJ., Havenstein GB., 2004. Ascorbic acid decreases heat shock protein 70 and plasma corticosterone response in broilers (*Gallus gallus domesticus*) subjected to cyclic heat stress. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*, 137, 35-42.
 32. Packer L., Witt EH., Tritschler HJ., 1995. Alpha-lipoic acid as a biological antioxidant. *Free Radic Biol Med*, 19, 227-250.
 33. Lu M., Bai J., Wei F., Xu B., Sun Q., Li J., Wang G., Tang X., Zhang H., Yin Q., Li S., 2017. Effects of alpha-lipoic acid supplementation on growth performance, antioxidant capacity and biochemical parameters for ammonia-exposed broilers. *Anim Sci J*, 88, 1220-1225.
 34. Castellini C., Dal Bosco A., Bernardini M., 2001. Improvement of lipid stability of rabbit meat by vitamin E and C administration. *J Sci Food Agric*, 81, 46-53.
 35. Lauridsen C., Jensen C., Jakobsen K., Engberg RM., Andersen JO., Jensen SK., Bertelsen G., 1997. The influence of vitamin c on the antioxidative status of chickens in vivo at slaughter and on the oxidative stability of broiler meat products. *Acta Agr Scand A An Sci*, 47, 187-196.