



Cem AVCI  
Ömer KIZIL

Fırat Üniversitesi,  
Veteriner Fakültesi,  
İç Hastalıkları Anabilim Dalı,  
Elazığ, TÜRKİYE

Geliş Tarihi : 10.02.2012  
Kabul Tarihi : 26.06.2012

**Yazışma Adresi  
Correspondence**

**Ömer KIZIL**  
Fırat Üniversitesi,  
Veteriner Fakültesi,  
İç Hastalıkları Anabilim Dalı  
Elazığ - TÜRKİYE

omerkizil@yahoo.com

## ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.  
2012; 26 (2): 87 - 91  
http://www.fusabil.org

### Geçiş Dönemindeki İneklerde Stres Parametreleri Üzerine Mineral Uygulamasının Etkileri

Bu çalışmanın amacı, geçiş dönemindeki ineklerin oksidatif stres parametreleri üzerine enjektabl bir mineral solüsyonunun etkilerini araştırmaktır. Çalışmada 20 adet Montefon ırkı ileri gebe inek kullanıldı. İki eşit gruba ayrılan ineklerden, deney grubuna doğumuna yaklaşık 3 hafta kala tek doz mineral solüsyonu, kontrol grubuna ise aynı dönemde sadece izotonik sodyum klorür solüsyonu uygulandı. Çalışmadaki tüm sığırlarda eritrosit lipid peroksidasyonu, plazma glutathiyon peroksidaz (GSHPx), katalaz (CAT), vitamin E ve vitamin C düzeyleri belirlendi. Çalışmada malondialdehit (MDA), GSHPx, CAT, vitamin E ve vitamin C gibi oksidatif stres parametreleri yönünden her iki grupta da istatistiksel farklılıklar saptansa da, doğum sonrası dönemde MDA düzeylerindeki azalmalar ile GSHPx ve CAT düzeylerindeki artışlar deney grubunda oksidatif stresin azalma eğiliminde olduğunun göstergesi olarak kabul edildi. Sonuçta, özellikle selenyum, bakır, çinko ve mangan içeren bir mineral solüsyonunun geçiş döneminin başlangıcında uygulanmasının oksidatif stresi önlemede etkili olabileceği kanaatine varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Geçiş dönemi, inek, oksidatif stress, mineral.

#### The Effects of Mineral Solution on Stress Parameters in the Transition Cows

The aim of this study was to determined the effects of injectable mineral solution on the changes of oxidative stres parameters in the cows during transition period. In the study 20 pregnant Swiss-Brown late-pregnant cows were used. The cows were divided into 2 equal groups; in the experiment group one dose injectabl mineral solution were injected, but the control group was only injected with isotonic sodium chloride 3 weeks before the expected calving. The erythrocyte lipid peroxidation, plasma glutathione peroxidase (GSHPx), catalase (CAT), vitamin E and vitamin C levels were determined in all groups. Although the significant differences were determined in oxidative stres parameters such as malondialdehyde (MDA), GSHPx, CAT, vitamin E and vitamin C levels, the decreased level of MDA and increased levels of GSHPx and CAT suggested a declining tendency of oxidative stres in the experiment group. It was concluded that the injectabl mineral solution, especially involved selenium, copper, zinc and manganese that administered at the beginning of transition period could be effective in preventing the oxidative stress.

**Key Words:** Transition period, cow, oxidative stress, mineral.

#### Giriş

Geçiş dönemi (periparturient dönem) olarak tarif edilen dönem, gebeliğin sonları ile erken laktasyon dönemlerini kapsar. Değişik yazarlar tarafından bu dönemin sınırları farklı tarif edilmesine rağmen, genel olarak doğum öncesi ve sonrası 3 haftalık süreyi içine alır (1-3). Geçiş dönemi diğer dönemlerle kıyaslandığında daha az bilinen bir dönemdir. Bu dönemde özellikle fizyolojik olayların çok hızlı değişim göstermesi önemli bir problem olup (4), gebelikten laktasyona geçiş dönemi oldukça sıkıntılı bir süreç olarak tanımlanmaktadır (2).

Organizmada çok düşük düzeylerde bulunan iz elementler yaşam için oldukça gerekli olup, özellikle büyüme, gelişme ve üreme ile ilgili önemli fonksiyonlara sahiptirler. Özellikle bu elementlerin yetersizliği durumlarında fizyolojik fonksiyonlar aksamakta ve çeşitli tipte enfeksiyöz veya metabolik hastalıklar oluşmaktadır (4, 5). Ruminant diyetlerindeki iz element yetersizliklerinde hastalıklara karşı direncin azaldığı belirtilmiştir (5). İz elementler çoğu enzimler, hormonlar ve vitaminlerle yakın alakalı olup, bunların yapısına katılarak fizyolojik fonksiyonların düzenlenmesinde önemli rol oynarlar. Çeşitli çalışmalarda hayvan sağlığı ve üreme fonksiyonları üzerine mineral ilavelerinin pozitif etkisinin olduğu vurgulanmıştır (6-8).

Serbest radikaller, dış yörüngelerinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron içeren, başlıca oksijenden türeyen, reaktif ve kısa ömürlü olan atom veya moleküllerdir (9-13). Çoğu güçlü reaktif oksijen türü normal metabolik süreçte belirli düzeylerde üretilmekte olup, bu maddeler düşük konsantrasyonlarda bazı fizyolojik işlemler için gereklidir (14-16). Sağlıklı bir organizmada oksidan ile antioksidan düzeyler arasında bir

denge mevcuttur. Canlı organizmalar normal olarak devamlı üretilen bu serbest radikalleri elimine etmede gelişmiş bir antioksidan savunma sistemine sahiptir (17, 18).

Organizmanın oksidantlara karşı etkili olan savunma sistemleri arasında başlıca antioksidan enzimler ve zincir kırıcı antioksidanlar yer almaktadır. Katalaz, glutatyon peroksidaz, vitamin E ve vitamin C bu sistemin önemli elemanlarıdır (19, 20). Oksidatif stres terimi hücrelerdeki oksidant/antioksidan maddeler arasındaki güçlü dengenin oksidantlar lehine kayması durumunu ifade eder. Sonuçta hücreyel yapılarda oksidant maddeler birikerek çeşitli fizyolojik olayların aksamasına neden olurlar (21, 22).

Bu çalışmanın amacı, oldukça stresli bir dönem olan geçiş döneminin başlangıcında uygulanan bir mineral solüsyonunun, geçiş dönemi boyunca çeşitli stres parametreleri üzerindeki etkilerini araştırmaktır.

### Gereç ve Yöntem

Araştırmanın materyalini suni tohumlama kayıtlarına göre doğumuna yaklaşık 3 hafta kaldığı belirlenen 20 adet Montofon ırkı inek oluşturdu. Bu inekler 2 eşit gruba (n=10) ayrılarak, 1. gruba (deney grubu) bir mineral solüsyonu (mL'sinde 2.5 mg bakır glukonat, 1.25 mg sodyum selenit, 5 mg manganez ve 5 mg çinko glukonat içeren, steril enjeksiyonluk çözelti) 20 kg canlı ağırlığa 1 mL dozunda kas içi yolla uygulandı, diğer grup ise kontrol grubu olarak bırakılarak sadece derialtı yolla 20 mL serum fizyolojik uygulandı.

Çalışmadaki tüm hayvanlardan tekniğine uygun olarak doğumuna 3 hafta kala, doğumun olduğu gün ve doğumdan 3 hafta sonra olmak üzere üçer kez v. jugularis'lerinden 10'ar mL EDTA'lı kan örneği alındı, 3000 rpm'de 5 dk santrifüj edilerek plazmaları çıkarıldı ve analizlerde kullanılmak üzere -20°C'de saklandı. Ayrıca plazmalar alındıktan sonra geriye kalan eritrosit kısmı, 3 kez %0.9'luk NaCl solüsyonuyla yıkandı, daha sonra 1 kısım eritrosit süspansiyonu 9 kısım distile su ile karıştırılarak %10'luk eritrosit hemolizati elde edildi. Bu hemolizat lipid peroksidasyonun tayininde kullanıldı.

Lipid peroksidasyonu Placer ve ark.'nın (23); plazma katalaz tayini Goth (24) ve plazma glutathion peroksidaz tayini Lawrence'ın (25) kullandığı metoda göre tayin

edildi. Antioksidan vitaminlerden olan vitamin E düzeyleri Martinek (26) ve vitamin C düzeyleri Kyaw (27) tarafından tayin edilen fosfotungstik asit metodu kullanılarak spektrofotometrik olarak belirlendi.

İstatistiksel analizlerde, SPSS Ms Windows Release 10.0 programı kullanıldı ve grup içi veriler birbirine bağımlı olduğundan grup içi değerlendirilmelerde bağımlı-t testi kullanıldı.

### Bulgular

Çalışmada, deney grubundaki sığırlarda saptanan stres parametreleri ile bulguların istatistiksel önem dereceleri Tablo 1'de, kontrol grubu sığırlarda saptanan stres parametreleri ile bulguların istatistiksel önem dereceleri ise Tablo 2'de gösterildi.

Deney grubuna ait olan Tablo 1 incelendiğinde lipid peroksidasyonun göstergesi olan MDA düzeyinin doğum sırasında arttığı ve sonraki dönemde yeniden azalmaya başladığı görülmektedir. Bu bulguya GSHPx ve CAT düzeylerindeki doğum sırasındaki azalmalar ve sonraki dönemdeki artışlar eşlik etmektedir. Vitamin E ve C düzeyleri ise deneyin başlangıcından itibaren azalmaya devam etmiştir. CAT düzeyleri bakımından deneyin başlangıcı ile sonu arasında fark olmamasına rağmen, bu dönemlerle doğum zamanı arasında istatistiksel olarak önem (P<0.01) belirlenmiş, GSHPx bakımından tüm dönemler arasında (P<0.01), vitamin E ve C bakımından ise ilk iki dönemle doğum sonu dönem arasında (P<0.01) istatistiksel önem belirlenmiştir.

Kontrol grubuna ait Tablo 2 incelendiğinde ise MDA düzeyinin doğum sırasında arttığı ve sonraki dönemde düzeylerin düşmeyerek artmaya devam ettiği görülmektedir. Vitamin E, vitamin C, GSHPx ve CAT düzeylerinde ise deneyin başlangıcında belirlenen düzeylerin sonraki dönemlerde azalmaya devam ettiği anlaşılmaktadır. Vitamin E ve CAT düzeyleri bakımından dönemler arasında fark saptanmamış, MDA düzeyleri bakımından deneyin başlangıcı ile diğer dönemler arasında (P<0.05), vitamin C bakımından ilk iki dönemle son dönem arasında (P<0.01) ve GSHPx düzeyleri bakımından ilk dönemle son dönem arasında (P<0.01) istatistiksel önem belirlenmiştir.

**Tablo 1.** Deney grubu sığırlarda saptanan stres parametreleri ile bulguların istatistiksel önem dereceleri.

Parametreler	Doğum öncesi 3.hafta (mean ± SD)	Doğum zamanı (mean ± SD)	Doğum sonrası 3. hafta (mean ± SD)	P
MDA (µmol/L)	3.54 ± 0.5	3.84 ± 0.6	3.76 ± 1.5	-
Vitamin E (mg/dL)	0.261 ± 0.06 <sup>a</sup>	0.245 ± 0.06 <sup>a</sup>	0.182 ± 0.04 <sup>b</sup>	*
Vitamin C (mg/L)	0.69 ± 0.17 <sup>a</sup>	0.59 ± 0.09 <sup>a</sup>	0.45 ± 0.03 <sup>b</sup>	*
GSHPx (U/g protein)	3.13 ± 0.6 <sup>a</sup>	1.67 ± 0.14 <sup>b</sup>	2.08 ± 0.6 <sup>c</sup>	*
CAT (kU/L)	84.8 ± 16.1 <sup>a</sup>	58.7 ± 18.9 <sup>b</sup>	82.4 ± 18.1 <sup>a</sup>	*

\*:P<0.01, <sup>a,b,c</sup>: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen rakamlar istatistiksel olarak birbirinden farklı bulunmuştur.

**Tablo 2.**Kontrol grubu sığırlarda saptanan stres parametreleri ile bulguların istatistiksel önem dereceleri.

Parametreler	Doğum öncesi 3.hafta (mean ± SD)	Doğum zamanı (mean ± SD)	Doğum sonrası 3. hafta (mean ± SD)	P
MDA (µmol/L)	2.08 ± 0.8 <sup>a</sup>	3.39 ± 1.0 <sup>b</sup>	3.47 ± 1.5 <sup>bc</sup>	*
Vitamin E (mg/dL)	0.201 ± 0.08	0.184 ± 0.04	0.166 ± 0.02	-
Vitamin C (mg/L)	0.68 ± 0.18 <sup>a</sup>	0.62 ± 0.08 <sup>a</sup>	0.53 ± 0.04 <sup>b</sup>	**
GSHPx (U/g protein)	1.62 ± 0.1 <sup>a</sup>	1.52 ± 0.2 <sup>ab</sup>	1.36 ± 0.1 <sup>b</sup>	**
CAT (kU/L)	144.1 ± 48.1	134.4 ± 10.1	126.7 ± 29.4	-

\*:P<0.05, \*\*: P<0.01, <sup>a,b,c</sup>: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen rakamlar istatistiksel olarak birbirinden farklı bulunmuştur.

### Tartışma

Mikro elementler organizmada çok sayıda yapısal katalitik ve düzenleyici fonksiyona sahip olup, özellikle bağışıklık sisteminde önemli rol oynarlar (5, 28). Hayvanlar ihtiyaç duydukları iz elementleri ekolojik duruma göre günlük olarak rasyondan veya çayır ve mera bitkilerinden temin ederler. Bakır, selenyum ve çinko gibi mikroelementler özellikle immün sistem üzerine etkili olup, bu etkiye selenyum ve çinkonun önemi daha fazladır (29, 30). Selenyum vücudun en önemli antioksidan enzimi olan GSHPx'in bir komponenti olması nedeniyle lipidlerin oksidasyonu sonucu oluşan lipid peroksidlerin yıkılmasında önemli rol oynar. Bu sayede hücre zarının bütünlüğünün sağlanması ve korunmasında önemli fizyolojik görev üstlenir (18, 31-34). E vitamini ile GSHPx serbest radikallere karşı birbirlerini tamamlayıcı etkilere sahiptir. E vitamini, peroksit ve hidroperoksitler gibi radikallerle karşılaştığında sahip olduğu hidrojen protonlarından birini vererek bu radikalleri doyurur ve böylece bu radikallerin etkinliklerini azaltır. Selenyum ise peroksidleri GSH-Px aracılığı ile inaktif ürünlere parçalayarak hücre zarları oksidatif zarardan korur (34, 35).

Doğuma yakın dönemdeki ineklerde genellikle gıdayla alınan selenyumla alakalı olarak selenyum düzeylerinin azaldığı bildirilmektedir. Özellikle gebelerin fetüse etkili şekilde selenyum transfer etmeleri nedeniyle, yetersiz selenyum alan gebelerde doğum sonrası dönemde retensiyon sekondinarum ve mastitis olayları daha sık ortaya çıkmaktadır. Selenyum, bakır ve çinkonun düşük veya yetersiz düzeylerde olması bağışıklığın azalması, mastitis insidensinde artma ve diğer sağlık problemleriyle alakalı bulunmuştur (36). Birçok hastalıkta oksidatif stresin sekonder olarak etkileyen bir faktör olduğu düşünülmektedir. Özellikle organizmada oksidatif savunma yeteneğinin azalması sonucu hastalıklar ve bu hastalıklarla ilişkili olarak klinik semptomlar oluşabilmektedir (37). Organizmada oksidatif stresin gelişip gelişmediğinin en önemli göstergesi MDA düzeyinin belirlenmesi olup, plazmada artan MDA düzeyleri lipid peroksidasyonun belirleyicisidir (15, 16, 38). Lipid peroksidasyon terimi organizmada başlıca doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu ifade eden enzimatik olmayan bir zincir reaksiyonudur (39, 40). Bu reaksiyon sonrasında başlıca lipid peroksidler ve diğer zararlı ara ürünler oluşmaktadır.

Çalışmadaki sonuçlar incelendiğinde her iki grupta da doğum zamanında lipid peroksidasyonun (MDA) arttığı

anlaşılmaktadır. Kontrol grubunda doğum zamanı artan lipid peroksidasyonun doğum sonrası dönemde de artmaya devam ettiğinin göstergesi olarak, doğumdan 3 hafta sonra ölçülen MDA düzeylerinin hala yüksek olduğu belirlenmiştir. Mineral solüsyonunun uygulandığı deney grubunda ise, doğum zamanı artan MDA düzeylerinin doğumdan sonra düşmeye başladığı ve dolayısıyla da lipid peroksidasyonun azaldığı sonuçlardan anlaşılmaktadır. Her iki grupta da doğum zamanı artan MDA düzeyleri bu süreçteki yoğun stresin önemli göstergesidir. Ancak deney grubunda MDA düzeylerinin doğum sonrası dönemde azalması, muhtemelen uygulanan mineral solüsyonuna bağlı olarak antioksidan savunma yeteneğindeki artışa bağlanmaktadır. Bu artışta özellikle uygulanan solüsyondaki selenyumun GSHPx aktivitesindeki artışa neden olmasının etkili olduğu düşünülmektedir.

Hem deney hem de kontrol grubunda antioksidan enzimlerden GSHPx ve CAT düzeylerinde doğum zamanı gözlenen azalmaların yoğun stres nedeniyle kullanımlarının artışından kaynaklandığı düşünülmektedir. Devam eden süreçte kontrol grubunda stresin olumsuz etkilerinin halen devam ettiğinin göstergesi olarak bu enzim düzeyleri azalmaya devam etmiştir. Deney grubunda ise doğum zamanı gözlenen azalmaların sonraki süreçte yeniden artmaya başlaması, stresin olumsuz etkilerinin ortadan kaldırılmaya başlandığının göstergesi olarak kabul edilebilir.

Vitamin E (alfa tokoferol) biyolojik membranlardaki lipoproteinleri oksidasyondan koruyan en önemli yağda çözünen antioksidan iken (41, 42), vitamin C (askorbik asit) biyolojik sıvılardaki en güçlü suda eriyen antioksidandır. Lipid peroksidasyonu önlemede vitamin E ile vitamin C arasında bir sinerjizm mevcuttur. Vitamin C, vitamin E'nin antioksidan etkisini artırırken organizmada düzeylerinin azalmasını da önlemektedir (43, 44). Her ne kadar ruminantlar kendi ihtiyaçları olan düzeyde vitamin C sentezleyebilseler de, ruminal mikroflora tarafından vitamin C'nin yıkıma uğraması nedeniyle zaman zaman yetersizlikler oluşabilmektedir (43). Çalışma sonuçlarına bakıldığında, zincir kıran antioksidanlardan olan vitamin E ve C'nin her iki grupta da çalışmanın başlangıcında belirlenen düzeylerinin doğum zamanı ve sonrası dönemlerde azalarak devam ettiği anlaşılmaktadır. Bu azalmaların nedeninin bozulmuş olan oksidan dengesi sağlamak adına bu vitaminlerin kullanımıyla alakalı olduğu düşünülmektedir.

Plazma vitamin E düzeylerinin geçiş dönemi boyunca azaldığı ifade edilmiş ve düşük antioksidan kapasitenin periparturient dönemindeki sığırlarda gözlenen hastalıklarla alakalı olduğu (45, 46) vurgulanmıştır. Ayrıca geçiş dönemindeki bazı hastalıklarda hem MDA düzeylerinde artış, hem de antioksidan vitamin düzeylerinde azalmalar yapılan çalışmalarda (47, 48) saptanmıştır. Mevcut çalışmanın sonuçları bu bildirimlerle de ayrıca uyumlu bulunmuştur.

Sonuç olarak, geçiş dönemindeki sığırlarda eritrosit MDA düzeylerindeki artışlar ile plazmadaki antioksidanların (CAT, GSHPx, vitamin E ve vitamin C) azalması bu dönemde oksidatif stresin geliştiğinin önemli göstergeleridir. Bununla beraber özellikle selenyum, bakır, çinko ve mangan içeren bir mineral solusyonunun geçiş döneminin başında uygulanmasının doğum sırası ve sonrasında gözlenen oksidatif stresi azaltmada etkili olduğunu söylemek mümkündür.

## Kaynaklar

1. Curtis CR, Erb H, Sniffen C, et al. Association of periparturient hypocalcemia with eight periparturient disorders in Holstein cows. *J Am Vet Med Assoc* 1983; 5: 559.
2. Goff JP, Horst RL. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *J Dairy Sci* 1997; 80: 1260-1268.
3. Grummer RR. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. *J Anim Sci* 1995; 73: 2820-2833.
4. Başoğlu A, Sevinç M. Evcil Hayvanlarda Metabolik ve Endokrin Hastalıklar. I. baskı, Konya: Pozitif Matbaacılık, 2004.
5. Spears JW. Micronutrients and immune function in cattle. *Proceed Nutr Soc* 2000; 59: 587-594.
6. Campbell MH, Miller JK. Effect of Supplemental Dietary Vitamin E and Zinc on Reproductive Performance of Dairy Cows and Heifers Fed Excess Iron. *J Dairy Sci* 1998; 81: 2693-2699.
7. Hawkins D, Franklin BVS. "The Effect of Injectable Trace Elements (Multimin) on Health and Reproduction Parameters in New Zealand Dairy Herds". [http://www.blbadv.com/Multimin/Multimin\\_Dairy\\_Trial\\_NZ.pdf](http://www.blbadv.com/Multimin/Multimin_Dairy_Trial_NZ.pdf). 18.05.2010.
8. Nocek JE, Socha MT, Tomlinson DJ. The Effect of Trace Mineral Fortification Level and Source on Performance of Dairy Cattle. *J Dairy Sci* 2006; 89: 2679-2693.
9. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya: Mimoza yayınları, 1995.
10. Bramley PM, Elmadafa I, Kafatos A, et al. Vitamin E. (review). *J Sci Food Agric* 2000; 80: 913-938.
11. Burton GW, Joyce A, Ingold KU. Is Vitamin E Only Lipid-Soluble, Chain-Breaking Antioxidant in Human Blood Plasma and Erythrocyte Membranes? *Arch Biochem Biophys* 1983; 221(1): 281-290.
12. Cheeseman KH, Slater TF. An Introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull* 1993; 49(3): 481-493.
13. Ceratti PA, Trump BF. Inflammation and oxidative stress in carcinogenesis. *Cancer cell* 1991; 3: 1-7.
14. Ghosh J, Myers CE. Inhibition of arachidonate 5-lipoxygenase triggers massive apoptosis in human prostate cancer cells. *Proc Natl Acad Sci* 1998; 95: 13182-13187.
15. Gutteridge JMC, Halliwell B. The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. *Trends Biochem Sci* 1990; 15(4): 129-135.
16. Kohen R, Nyska A. Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicol Pathol* 2002; 30: 620-650.
17. Flohe RB, Traber MG. Vitamin E: function and metabolism. *Faseb J* 1999; 13: 1145-1155.
18. Yalçın S. Serbest Radikaller ve Patolojik Etkileri. *Sendrom* 1992; 4: 40-43.
19. Machlin LJ, Bendich A. Free radical tissue damage: Protective role of antioxidant nutrients. *Faseb J* 1987; 1: 441-446.
20. Osada H, Watanabe Y, Nishimura Y, et al. Profile of trace element concentrations in the feto-placental unit in relation to fetal growth. *Acta Obstet Gynecol Scan* 2002; 81: 931-937.
21. Evans PH. Free radicals in brain metabolism and pathology. *Br Med Bull* 1995; 49: 577-587.
22. Lightbody JH, Stevenson LM, Jackson F, Donaldson K, Jones DG. Comparative aspects of plasma antioxidant status in sheep and goats, and the influence of experimental abomasal nematode infection. *J Comp Pathol* 2001; 124 (2-3): 192-199.
23. Placer AZ, Linda LC, Johnson B. Estimation of product of lipid peroxidation (Malonyldialdehyde) in biochemical systems. *Anal Biochem* 1966; 16: 359-364.
24. Goth L. A Simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clin Chim Acta* 1991; 196: 143-152.
25. Lawrence RA, Burk RF. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem Biophys Res Commun* 1976; 71: 952-958.
26. Martinek RG. Method for determination of vitamin E (total tocopherols) in serum. *Clin Chem* 1964; 10: 1078-1086.
27. Kyaw A. A simple colorimetric method for ascorbic acid determination in blood plasma. *Clin Chim Acta* 1978; 16: 151-157.
28. Abdelrahman MM, Kincaid RL. Deposition of copper, manganese, zinc, and selenium in bovine foetal tissue at different stages of gestation. *J Dairy Sci* 1993; 76: 3588-3593.
29. Paterson JE, MacPherson A. The influence of low cobalt intake on the neutrophil function and severity of Ostertagia infection in cattle. *British Vet J* 1990; 146: 519-530.
30. Reddy PG, Frey RA. Nutritional modulation of immunity in domestic food animals. *Adv Vet Sci Comp Med* 1990; 35: 255-281.

31. Kremidjian SL, Stotzky G. Selenium and immune responses. *Environ Res* 1987; 42: 277-303.
32. Raymond JS. Selenium metabolism and function. *J Anim Sci* 1986; 4: 42-49.
33. Sies H, Stahl W, Sundquist AR. Antioxidant Functions of Vitamins. *Annals New York Acad Sci* 1992; 669: 7-15.
34. Lacetera N, Bernabucci U, Ronchi B, Nardone A. Effects of selenium and vitamin E administration during a late stage of pregnancy on colostrum and milk production in dairy cows, and on passive immunity and growth of their offspring. *Am J Vet Res* 1996; 57: 1776-1780.
35. Karakılıçık AZ, Aksakal M. Selenyumun Bazı Fizyolojik İşlevleri, Metabolizması ve E vitamini ile Arasındaki İlişkileri. *Gaziantep Üni Tıp Fak Derg* 1993; 4: 283-291.
36. Kincaid R. Changes in the concentration of minerals in blood of peripartum cows. Mid-South Ruminant Nutrition Conference, Arlington, Texas, 2008.
37. Gutteridge JMC. Free radicals in disease processes: a compilation of cause and consequence. *Free Radic Res Commun* 1993; 19(3): 141-158.
38. Moore K, Roberts LC. Measurement of lipid peroxidation. *Free Radic Res* 1998; 28: 659-671.
39. Comborti M. Three models of free radical-induced cell injury. *Chem Biol Interact* 1989; 72 (1-2): 1-56,
40. Hallivell B, Gutteridge JMC. The importance of free radicals and catalytic metal ions in human diseases. *Mol Aspects Med* 1985; 8(2): 189-193.
41. Leung HW, Vang MJ, Mavis RD. The cooperative interaction between vitamin E and vitamin C in suppression of peroxidation of membrane phospholipids. *Biochim Biophys Acta* 1981; 664: 266-272.
42. Vannucchi H, Jordoa-Junior AA, Igllessias AC, Morandi MV, Chiarello PG. Effects of different dietary concentrations of vitamin E on lipid peroxidation in rats. *Arch Latinoam Nutr* 1997; 47: 34-37.
43. Doba T, Burton GW, Ingold KU. Antioxidant and co-antioxidant activity of vitamin C. The effect of vitamin C, either alone or in the presence of vitamin E or a water soluble vitamin E analogue, upon the peroxidation of aqueous multilamellar phospholipids liposomes. *Biochim Biophys Acta* 1985; 835: 298-303.
44. Niki E, Saito T, Kawakami A, Kamiya Y. Inhibition of oxidation of methyl linoleate in solution by vitamin E and vitamin C. *J Biol Chem* 1984; 259: 4177-4182.
45. Le Blanc SJ, Herdt TH, Seymour WM, Duffield TF, Leslie KE. Peripartum serum vitamin E, retinol, and beta-carotene in dairy cattle and their associations with disease. *J Dairy Sci* 2004; 87(3): 609-619.
46. Mudron P, Rehage J, Sallmann HP, et al. Plasma and liver alpha-tocopherol in dairy cows with left abomasal displacement and fatty liver. *Zentralbl Veterinarmed A* 1997; 44(2): 91-97.
47. Kızıl Ö, Akar Y, Saat N, Yüksel M, Kızıl M. The plasma lipid peroxidation intensity (MDA) and chain-breaking antioxidant concentrations in the cows with clinic or subclinic mastitis. *Rev Vet Med* 2007; 158 (11): 529-533.
48. Kızıl Ö, Akar Y, Saat N, Yüksel M, Saat N: Oxidative stress in cows with acute puerperal metritis. *Revue Med Vet* 2010; 161 (7): 353-357.