T.C.
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İNEKLERDE VİTAMİN E ENJEKSİYONLARININ RETENSİYO SEKUNDİNARUM VE ÜREME PARAMETRELERİNE ETKİSİ

Veteriner Hekim Şevket GÜÇLÜ

DOKTORA TEZİ

DOĞUM ve JİNEKOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. İbrahim TAŞAL

BURDUR-2023

T.C.
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İNEKLERDE VİTAMİN E ENJEKSİYONLARININ RETENSİYO SEKUNDİNARUM VE ÜREME PARAMETRELERİNE ETKİSİ

Veteriner Hekim Şevket GÜÇLÜ

DOKTORA TEZİ

VETERİNER DOĞUM VE JİNEKOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. İbrahim TAŞAL

BURDUR-2023

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim sürecinde yanımda olan, bilgi ve deneyimleri ile yol göstererek bana her türlü desteği sağlayan başta danışman hocam Prof. Dr. İbrahim TAŞAL'a, ihtiyacım olduğunda yardımlarını esirgemeyen Veteriner Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyelerimize ve tez çalışmamı gerçekleştirdiğim AtaSancak Tarım İşletmesi'ne, her zaman maddi manevi yanımda olarak emeklerimin ortakları sevgili annem Emine GÜÇLÜ, babam Ahmet GÜÇLÜ, ağabeyim İbrahim GÜÇLÜ ve sevgili eşim Alime GÜÇLÜ 'ye teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK *i*
KABUL VE ONAY *ii*
TEŞEKKÜR *iii*
ETİK BEYAN *iv*
İÇİNDEKİLER *v*
ŞEKİLLER *vii*
TABLOLAR *viii*
SİMGELER VE KISALTMALAR *ix*
ÖZET *xi*
ABSTRACT *xii*
1. GİRİŞ **1**
2. GENEL BİLGİLER **2**
2.1. Serbest Radikaller, Oksidatif Stres ve Antioksidatif Savunma **2**
2.2. Serbest Radikallerin Zararları **5**
2.3. Serbest Oksijen Radikalleri ve Reaktif Oksijen Türleri **6**
2.3.1. Endojen Kaynaklar **6**
2.3.2. Eksojen Kaynaklar **7**
2.4. Oksidatif Stres **7**
2.5. Antioksidan Savunma Mekanizmaları **8**
2.5.1. Enzimatik Antioksidanlar **10**
2.5.1.1. Süperoksit Dismutaz **10**
2.5.1.2. Katalaz **10**
2.5.1.3. Glutatyon Redüktaz (GR) **11**
2.5.1.4. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px) **11**
2.5.2. Non Enzimatik Antioksidanlar **12**
2.5.2.1. Glutatyon (GSH) **12**
2.5.2.2. C Vitamini (Askorbik Asit) **12**
2.5.2.3. Melatonin **13**
2.5.2.4. Hyaluronik Asit (Hyaluronan) **13**
2.5.2.5. Karotenoidler **13**
2.6. E Vitamini **14**
2.7. E Vitamini ile Postpartum Dönem Arasındaki İlişki **20**
2.8. Retensiyo Sekundinarum ve E Vitamini **21**
2.9. Fertilite Parametreleri ve E Vitamini İlişkisi **23**
3. GEREÇ VE YÖNTEM **26**
3.1. Hayvan Materyali ve Çalışma Gruplarının Oluşturulması **26**
3.2. Barınak Yapısı **28**
3.3. Hayvanların Beslenmesi **29**
3.4. Vit E Uygulaması **32**
3.5. Doğum Sonrası Yönetim **34**
3.6. Kızgınlık Takibi **35**
3.7. Suni Tohumlama Uygulaması **35**
3.8. Gebelik Muayenesi **35**
3.9. Kan Örneklerinin Alınması, Serumların Çıkartılıp Saklanması ve Laboratuvara Gönderilmesi **36**

3.10. İstatistiksel Analiz **36**
4. BULGULAR **37**
4.1. Tanımlayıcı Veriler **37**
4.2. Retensiyo Sekundinarum ve Fertilite Parametreleri **37**
4.3. Kan Serum Sonuçları **39**
5. TARTIŞMA **40**
6. SONUÇ VE ÖNERİLER **52**
KAYNAKLAR **53**
ÖZGEÇMİŞ **64**

ŞEKİLLER

Şekil 3.1. $PP_{VİT-E}$ grubu çalışma dizaynı. **27**
Şekil 3.2. $PP_{KONT.}$ grubu çalışma dizaynı **27**
Şekil 3.3. $ST_{VİT-E}$ grubu çalışma dizaynı. **28**
Şekil 3.4. $ST_{KONT.}$ grubu çalışma dizaynı. **28**

TABLOLAR

Tablo 3.1.	Erken kuru dönemde kullanılan rasyonların hammadde ve besin maddesi kompozisyonları.	**30**
Tablo 3.2.	Doğum sonrası 1-21 günlerde rasyonun hammadde ve besin maddesi kompozisyonu.	**31**
Tablo 3.3.	Doğum sonrası dönemde 21-90 günlerde kullanılan rasyonun hammadde ve besin maddesi kompozisyonu ve parametreleri.	**32**
Tablo 4.1.	$PP_{VİT\text{-}E}$ ve $PP_{KONT.}$ grupları retensiyo sekundinarum ve fertilite parametre değerleri.	**38**
Tablo 4.2.	$ST_{VİT\text{-}E}$ ve $ST_{KONT.}$ grupları fertilite parametre değerleri.	**38**
Tablo 4.3.	$PP_{VİT\text{-}E}$ ve $PP_{KONT.}$ grupları kan serum α-tokoferol sonuçları.	**39**

SİMGELER VE KISALTMALAR

µg	Mikrogram
$^1O_2$	Singlet Oksijen
ADF	Asit Deterjan Fiber
ATP	Adenozin Trifosfat
ATPaz	Adenozin Trifosfataz
BHV-1	Bovine Herpesvirus Tip-1
°C	Santigrat Derece
Ca	Kalsiyum
Cl	Klor
Cu	Bakır
Cu^{2+}	Bakır +2 Değerlikli
DCAD	Rasyon Katyon-Anyon Dengesi
dl	Desilitre
DMI	Kuru Madde Alımı
DNA	Deoksiribonükleik Asit
Fe	Demir
Fe^{2+}	Demir +2 Değerlikli
FTS	Fizyolojik Tuzlu Su
GH	Büyüme Hormonu
GR	Glutatyon Redüktaz
GSH	Glutatyon
GSH-Px	Glutatyon Peroksidaz
H_2O_2	Hidrojen Peroksit
IBR	Infectious Bovine Rhinotracheitis
IGF	İnsülin Benzeri Büyüme Hormonu
IU	İnternasyonel Ünite
K	Potasyum
LDL	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
lt	Litre
m^3	Metreküp
mcal	Milikalori
MDA	Malondialdehit
mEq	Miliekivalan
Mg	Magnezyum
mRNA	Haberci Ribonükleik Asit
Na	Sodyum
NaCl	Sodyum Klorür
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
NDF	Nötral Deterjan Fiber
NED	Negatif Enerji Dengesi
NEFA	Esterlenmemiş Yağ Asidi
NEL	Net Enerji Laktasyon

NFC	Lifli Olmayan Karbonhidrat
NRC	National Research Council
O_2	Oksijen
O_2^-	Süperoksit
OH	Hidroksil Radikali
P	Fosfat
PG	Prostaglandin
PGF2α	Prostaglandin F2α
PMN	Polimorfonükleer Lökositler
$PP_{KON.}$	Postpartum Kontrol Grubu
$PP_{VİT-E}$	Postpartum Vit E Grubu
RNT	Reaktif Nitrojen Türleri
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
RS	Retensiyo Sekundinarum
Se	Selenyum
SGS	Sağılan Gün Sayısı
SOD	Süperoksit Dismutaz
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
$ST_{KON.}$	Suni Tohumlama Anı Kontrol Grubu
$ST_{VİT-E}$	Suni Tohumlama Anı Vit E Grubu
TMR	Karma Rasyon
u-PA	Ürokinaz Plazminojen Aktivatörü
USG	Ultrasonografi
UV	Ultraviyole
Vit E	Vitamin E
VKS	Vücut Kondisyon Skoru
XO	Ksantin Oksidaz
α	Alfa
β	Beta

ÖZET

İneklerde Vitamin E Enjeksiyonlarının Retensiyo Sekundinarum ve Üreme Parametrelerine Etkisi

Sunulan çalışma ile yüksek antioksidan kapasiteye sahip Vitamin E (Vit E) enjeksiyonlarının başta retensiyo sekundinarum (RS) olmak üzere üreme parametrelerine olan etkisi ve senkronizasyon sonucu sabit zamanlı tohumlama yapılan ineklerde, tohumlama anında Vit E enjeksiyonlarının gebelik oranları ile embriyonik ölüm üzerine etkisinin araştırılması amaçlandı. Çalışmada laktasyon ortalamaları 1.6 (1-8. laktasyon arasında) olan 55 baş bir defa doğum yapmış inek, 152 baş ise birden fazla doğum yapmış inek olmak üzere toplamda 207 inek seçildi ve bu inekler iki gruba ayrıldı. Vit E grubundaki ineklere ($PP_{VİT\text{-}E.}$, n=103), doğumlarına ortalama 23.5±2.5, 16±2.5, 9±2.5 gün kala her hafta 6 ml (900 IU dl-alfa tokoferol asetat, Evigen®, Aksu Farma, Türkiye) ve doğumdan sonra ortalama 42. günde 6 ml Vit E kas içi enjeksiyonu yapıldı. Kontrol grubuna ($PP_{KONT.}$, n=104) aynı günlerde 6 ml %0.9 NaCl serum fizyolojik kas içi uygulandı. Vit E enjeksiyonlarının kan serumundaki α-tokoferol yoğunluğuna olan etkisini görebilmek için, çalışmaya başlamadan önce Vit E grubundan 10, kontrol grubundan 10 inekten kan alındı ve aynı ineklerden doğum yaptıkları anda tekrar kan alınarak, kan serumundaki α-tokoferol yoğunluğunun değişimi hesaplandı. Sırasıyla serum α-tokoferol seviyesi değişimi **(**µg/ml**)** $PP_{VİT\text{-}E.}$'de +1.66 µg/ml**,** $PP_{KONT.}$ 'da ise +0.25 µg/ml**,** olarak bulundu. İki grup arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulunamadı ($p>0.05$). Vit E ve kontrol gruplarında sırasıyla RS oranı %5; %15; doğum-ilk östrus görülme 36.1; 37.0 gün; birinci tohumlama başarısı %40; %42; ikinci tohumlama başarısı %31; %29; üçüncü tohumlama başarısı %28; %24; boş geçen gün sayısı 136.0; 136.9; 200 gün, gebelik başarısı ise %70; %69 olarak belirlendi. Vit E grubundaki RS görülme oranı istatiksel açıdan önemli bulunurken ($p<0.05$) diğer parametreler arasında önemli bir fark bulunamadı ($p>0.05$). $PP_{VİT\text{-}E}$ ve PP_{KONT} gruplarından bağımsız olarak Double Ovysnch ile senkronize edilen ilk tohumlaması yapılacak 196 inek iki gruba ayrıldı. Tohumlama anı ($ST_{VİT\text{-}E}$, n=99) grubuna 6 ml (Evigen®, Aksu Farma, Türkiye) kas içi yapıldı. Kontrol grubuna ($ST_{KONT.}$, n=97) ise tohumlama anı 6 ml %0.9 NaCl serum fizyolojik kas içi uygulandı. $ST_{VİT\text{-}E}$ ve $ST_{KONT.}$ gruplarında sırasıyla ilk tohumlama başarısı %40.4; %40.2; embriyonik kayıp oranı %10.0; %23.1 olarak saptandı ve iki grup arasındaki bu parametrelerde istatistiki açıda önemli bir fark bulunamadı ($p>0.05$). Sonuç olarak ineklerde doğuma yakın dönem ve doğum sonrası dönem yapılan Vit E enjeksiyonlarının RS oranını azaltma üzerine olumlu bir etki yaparken diğer fertilite parametreleri üzerine herhangi bir etkisi olmadığı, ayrıca senkronizasyon sonucu sabit zamanlı suni tohumlama anında yapılan Vit E enjeksiyonlarının fertilite parametreleri üzerine olumlu katkısının istatiksel olarak önemli olmadığı kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: α-tokoferol, Fertilite, Gebelik, İnek, Retensiyo Sekundinarum.

ABSTRACT

The Effect of Vitamin E Injections on Retention Secundinarum and Reproductive Parameters in Cows

In the present study, it was aimed to investigate the effects of Vit E injections on the incidence of RS and fertility parameters in the Holstein cows at he close up and lactations periods, and the effects of the single injection of Vit E at the artificial insemination time in Double Ovysnch protocol on the pregnancy rate and embryonic death in cows. In the study, a total of 207 cows were selected which are in the one or more lactations and (between 1-8th lactation) cows were divided into two groups randomly. Cows in Vit E group (PP_{VIT-E}., n=103) were given 6 ml (900 IU dl-alpha tocopherol acetate) 23.5±2.5, 16±2.5, 9±2.5 days before calving (Evigen®, Aksu Farma, Turkey) and also were injected intramuscularly on the 42nd day after birth. The control group (PP_{KONT}., n=104) was administered 6 ml of 0.9% NaCl intramuscularly at the same days. In order to see the effect of Vit E injections on the α-tocopherol concentration in the blood serum, blood was taken 10 cows from the PP_{VIT-E} and 10 from the $PP_{KONT.}$ before starting the study and again at the time of parturation from the same cows. Respectively, the change in serum α-tocopherol level (µg/ml) was +1.66 (µg/ml) in the PP_{VIT-E} and +0.25 (µg/ml) in the $PP_{KONT.}$. There was no statistically significant difference between the two groups ($p>0.05$). The results between PP_{VIT-E}; PP_{KONT}. as RS rate was 5%; 15%, birth to first estrus (days) 36.1; 37.0; first insemination success 40%; 42%; second insemination success 31%; 29%; third insemination success 28%; 24%; the number of open days is 136.0; 136.9; 200-day pregnancy success is 70%; 69%. While the incidence of RS between the groups was statistically significant ($p<0.05$), no significant difference was found between other parameters ($p>0.05$). Independent of the PP_{VIT-E} and PP_{KONT}. groups, 196 cows synchronized with double ovysnch for the first insemination after calving, were divided into two groups. 6 ml (Evigen®, Aksu Farma, Turkey) was administered intramuscularly to the ST_{VIT-E} (n=99) group at the time of insemination, and ST_{KONT}. (n=97) 6 ml 0.9% NaCl was administered intramuscularly at the time of insemination. ST_{VIT-E} and $ST_{KONT.}$ first conception rate of 40.4%; 40.2%; embryonic loss rate of 10.0%; 23.1%. It was concluded as no significant difference was found in these parameters between the two groups ($p>0.05$). In conclusion it is found that the injections of Vit E at the close up period decrease the incidence of RS, however the multiple injections of Vit E at the close up and lactation periods or single injection at the insemination time has no positive effect on fertility parameters.

Keywords: α-tocopherol, Cow, Fertility, Pregnancy, Retention of Secundinarium.

1. GİRİŞ

Modern sütçü işletmelerde geçiş dönemi ne kadar başarılı yönetilirse işletme kârlılığı da o oranda başarılı olmaktadır (Balamurugan ve ark., 2017). Peripartum dönem ve postpartum dönemler de immun sistem baskılanarak doğumdan sonra birçok metabolik hastalık ortaya çıkmaktadır (Harrison ve ark., 1984). Bu hastalıkların başında retensiyo sekundinarum (RS) gelmektedir (Kafilzadeh ve ark., 2014).

Prepartum dönemde başlayan immun supresyonu tetikleyen birçok etken vardır ve bunlardan birisi de kritik vitamin mineral alımının azalması veya tamamen eksikliğidir (Kafilzadeh ve ark., 2014). Bu immun supresyon, gebeliğin geç döneminde birçok süt ineğinin oksidatif stres yaşamasına bağlanmaktadır (Choonkham ve ark., 2021). Ayrıca preparturient (doğum öncesi) dönemde görülen metabolik stres; aşırı lipid mobilizasyonuna, ardından oksidatif strese ve immün disfonksiyona neden olmaktadır (Xiao ve ark., 2021). Oksidatif stresi önlemede önemli vitaminlerden biri olan Vit E'nin serbest radikal aracılı doku hasarını önleyerek güçlü antioksidan etkisi ile belirli dejeneratif ve inflamatuar hastalıkların oluşumunu engelleyebildiği bildirilmektedir (Xiao ve ark., 2021).

İneklerde suni tohumlama yöntemi ve senkronizasyon yöntemleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Sabit zamanlı yapılan suni tohumlama olgularında, preovulatör foliküllerin boyutu ve konsepsiyon oranlarının paralel olduğu kaydedilmektedir (Lopez ve Denicola, 2007). Bu önemli faktörlerin dışında bir diğer faktörde tohumlama anındaki reaktif okisjen türleri (ROT) ve antioksidanlar arasındaki dengedir. Serbest yapıdaki bu radikallerin fazlalıklarının fertilizasyon başta olmak üzere reproduktif olayları negatif olarak etkiledikleri ve infertiliteye sebep oldukları bildirilmektedir (Günay ve ark., 2011).

Sunulan bu çalışmada, yakın kuru ve laktasyon dönemlerindeki Holstein ırkı ineklere uygulanan Vit E enjeksiyonlarının RS insidensi ile üreme parametreleri üzerine etkileri ile Double Ovysnch protokolündeki ineklerde tohumlama anında yapılan Vit E enjeksiyonlarının gebelik oranları ve embriyonik ölüm üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Vücutta gerçekleşen metabolizma olayları sonucu serbest radikaller ile vücuttaki antioksidan savunma sistemi savaşarak serbest radikallerin zararları minimize edilmeye çalışılmaktadır. Fakat serbest radikaller bazı durumlarda özellikle patolojik olaylarda, kontrolsüz şekilde çoğalmaktadır (Sordillo ve Aitken, 2009). Bu kontrolsüz artış sonucu serbest kalan radikallerin fazlalığı vücutta birikerek vücuda zarar vererek bunun sonucunda oksidatif stres başlamaktadır (Castillo ve ark., 2005).

Oksidatif stres, oosit olgunlaşması, döllenme, yumurtalık steroidogenezi, implantasyon öncesi embriyolar ve sperm canlılığı gibi üreme süreçlerini de etkilemektedir (Khatti ve ark., 2017). Ayrıca oksidatif stres ile birlikte makro ve mikro besin eksiklikleri, ineklerde RS, endometritis ve mastitis gibi hastalıklara yatkınlığın artmasına sebep olmaktadır (Chandra ve ark., 2014).

Yağda çözünen ve hücre zarlarını lipid peroksidasyon zincir reaksiyonundan koruyan güçlü bir antioksidan olan Vit E, hayvan besleme için vazgeçilmez vitaminler arasında yerini almaktadır (Chalmeh ve ark., 2021; Gobert ve ark., 2009). Bu özelliğinden dolayı Vit E'nin, vücutta aşırı ROT üretiminin zararlı etkilerini en aza indirerek özellikle periparturient süt sığırlarında çeşitli hastalıkların önüne geçtiği bildirilmektedir (Xiao ve ark., 2021).

2.1. Serbest Radikaller, Oksidatif Stres ve Antioksidatif Savunma

Serbest radikaller; aerobik organizmalarda normal oksijen metabolizması sonucu açığa çıkan, son yörüngesinde bir ya da daha fazla eşlenmemiş elektron bulunduran atom veya moleküller olarak bildirilmektedir. Serbest radikaller eşlenmemiş elektron bulundurduklarından dolayı kararsız yapıdadır ve diğer maddelerle reaksiyona girerek kararlı duruma geçme eğilimi göstermektedirler. Bu radikaller normal metabolik işlemlerden dolayı vücutta normal olarak üretilirler fakat üretim hızları, bazı yangısal veya diğer hastalık durumlarında artmaktadır (Altıner ve ark., 2017). Vücutta eşlenmemiş elektronu bulunmayan ve diğer maddeler ile serbest radikallerden daha zayıf bir şekilde reaksiyona giren moleküller "nonradikaller" olarak ifade edilmektedir. Nonradikaller canlı hücreler için zararsızken, serbest radikallerin

yoğunlukları arttığı durumlarda lipitler, proteinler ve nükleik asitler üzerinde yapısal bozukluklara neden olarak zararlı etkilere yol açabilmektedir. Buna karşılık, serbest radikallerin düşük düzeylerde bulunmaları halinde yararlı etkilerinin olduğu bildirilmektedir (Castillo ve ark., 2005). Serbest radikaller, oksijen ve nitrojen kaynaklı olabilmektedir. Oksijen kaynaklı olanlar reaktif oksijen türleri (ROT) ve nitrojen kaynaklı olanlar reaktif nitrojen türleri (RNT) olarak isimlendirilmektedir. Düşük yoğunluktaki serbest radikaller enfeksiyonlara karşı savunma, kanser hücrelerinin öldürülmesi ve ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu gibi savunma fonksiyonlarıyla birlikte intraselüler depolardan kalsiyum salınımı, tirozin amino asidini fosfatlama aktivasyonu ve büyüme faktörü sinyallerinin aktivasyonu gibi hücresel sinyallerin aktivasyonunda rol oynamaktadır. Düşük yoğunluklarda olduklarında ROT ve RNT'nin yararlı etkilerinden söz edilebilir. Bu yararlı etkiler arasında fagositoz aracılığıyla enfeksiyonlara karşı savunma, sitotoksik lenfositler ve makrofajlar tarafından kanser hücrelerini öldürme, mitokondride ATP üretimi, hücre büyümesi ve düşük konsantrasyonda mitojenik yanıtlara neden olma sayılabilir. Bunların yanında düşük yoğunluktaki ROT ve RNT'nin nükleer transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu, intraselüler depolardan Ca'un salınımı, tirozin amino asidinin fosfatlama aktivasyonu, non-reseptör tirozin kinaz aktivasyonu, bazı sitokinler ve büyüme faktörü sinyallerinin aktivasyonu gibi hücresel sinyaller üzerine önemli rolleri olduğundan bahsedilebilir. Ayrıca ROT; prostaglandin ve tiroksin gibi moleküllerin biyosentezine katılıp bu işlemlerin gelişimini uyardığı bildirilmektedir (Karabulut ve Gülay, 2016).

Vücutta gerçekleşen oksidatif stres ile hücrelerin lipid, protein, DNA ve enzim gibi bileşikleri zarara uğramaktadır. Özellikle lipid peroksidasyonu olarak bilinen çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı, canlı için oldukça hasar vericidir (Altıner ve ark., 2017). Ayrıca serbest radikaller başta steroidler ve prostaglandinlerin sentezi olmak üzere, sperm motilitesini, embriyo gelişimi de dahil olmak üzere üreme performansını olumsuz etkileyebilmektedir. Serbest radikallerin kontrolsüz çoğalmalarının diğer sebepleri arasında solar radyasyon, mantar toksikasyonu ve pestisitler olduğu belirtilmektedir (Miller ve ark., 1993).

Oksijen, enerji üretimi için kullanıldığında hem ROT hem de RNT'lerin oluşumuna sebep olmaktadır ve serbest radikaller vücudun normal oksijen kullanımı sırasında mitokondri tarafından sürekli üretilmektedir. (Karabulut ve Gülay, 2016). Oksijen tüm aerobik organizmalar için gerekli olmasına rağmen toksisitesi, 'oksidatif stres' olarak adlandırılmaktadır (Altıner ve ark., 2017). Oksidatif stres, vücutta yağ hücreleri, proteinler ve DNA zinciri olmak üzere birçok makro molekülünün hasar görmesine neden olmaktadır (Salles ve ark., 2022). Böylece, metabolik ve fizyolojik değişimlere neden olarak canlılarda hastalıkların ortaya çıkmasına sebep olmaktadır. (Chalmeh ve ark., 2021). Bilimsel verilere göre oksidatif strese bağlı olarak vücutta gelişen hasarın insan sağlığında birçok hastalığın birincil veya ikincil nedeni olduğu bildirilmektedir. Fakat hayvan sağlığında oksidatif hasarın yol açtığı hastalıklar veya semptomlar hakkında beşeri hekimlik kadar yeterli bilgi bulunmamaktadır. Son yıllarda özellikle ineklerin geçiş dönemlerinde oksidatif stresin sebep olduğu hasarların tespiti ve antioksidan savunma mekanizmasını tam olarak anlamak için bilimsel çalışmalar yapıldığı ifade edilmektedir (Sordillo ve Aitken, 2009).

İneklerde doğum ile başlayan süreçte birçok fizyolojik ve patolojik değişim meydana gelmektedir özellikle bu dönemde vücut kondisyon skorundaki (VKS) düşüşler başta yağ ve proteinlerin yıkımlanmasına sebep olduğu için bu reaksiyonlar, vücuttaki serbest radikallerin artmasına ve oksidatif stresin başlamasına neden olmaktadır. Doğumdan önce VKS>3.5 olan ineklerin, doğumdan sonra kondisyon kayıplarının daha yüksek olduğu bu yüzden bu ineklerin oksidatif strese yakalanma risklerinin daha yüksek olduğu bildirilmektedir (Xiao ve ark., 2021). Ayrıca yeni doğan insanlarda ve memelilerde doğum, esas olarak pulmoner solunumun indüklenmesinden dolayı oksidatif stres ile ilişkilidir. Yenidoğan bebekler, annelerine kıyasla daha yüksek bir oksidatif stres altında olduklarından, aşırı serbest radikal üretimine atfedilen bir dizi soruna karşı hassastırlar. Özellikle prematüre bebeklerin kanında pro-oksidanlar ve antioksidanlar arasında güçlü bir dengesizlik mevcuttur (Gaál ve ark., 2006).

2.2. Serbest Radikallerin Zararları

Metabolizma olaylarında ROT'lar kaçınılmaz yan ürünlerdir ve her zaman memeliler için zararlı değildirler (Miller ve ark., 1993). Normal fizyolojik koşullarda, hücrelerde sürekli oluşan ROT ve onlarla etkileşime geçen antioksidanlar arasında bir denge vardır. Bu dengenin ROT lehine bozulması yani hücrede süperoksit radikallerinin birikmesi ya da endojen savunma sistemlerinin yetersiz kalması oksidatif strese neden olarak canlıya zarar verir ve ROT'lerinin artışı hücre için toksiktir ve hücrede proteinleri, lipidleri ve nükleik asitleri hasara uğratarak hücre içi sinyal yapılarını bozmaktadır (Lopez ve Denicola, 2013). Serbest radikallerle uyarılan oksidatif stresin, Parkinson, Alzheimer, Huntington, amyotrofik lateral skleroz, immun sistem bozuklukları, diyabet, kanser, kardiyovasküler bozukluklar ve kanser gibi çok fazla hastalığın oluşumuna neden olduğu düşünülmektedir. Serbest radikallerin neden olduğu oksidatif hasarın ilerleyici olması, yaşlanma ve yaşlanmaya bağlı dejeneratif hastalıkların (katarakt, ateroskleroz) ortaya çıkmasına da neden olmaktadır (Pisoschi ve Pop, 2015).

Lipitler, hücre içi organellerin membranlarında bulunurlar ve serbest radikal hasarına karşı son derece hassastırlar. Serbest radikaller, lipitler ile reaksiyona girdiğinde şekillenen lipit peroksidasyonu vücut için yüksek derecede zararlı etkilere yol açabilir. Lipit peroksidasyonu, toksik yan ürünlerin çok miktarda üretilmesine yol açar ve üretilen bu yan ürünler ikinci haberciler gibi hareket ederek üretildiği alandan uzak bir bölgede etkilerini gösterebilmektedir. Lipit peroksidasyonundan kaynaklanan hasar, hücrenin fonksiyonuna olan zararlı etkisini hücre membranının, akışkanlığını ve geçirgenliğini bozarak gösterebilir (Karabulut ve Gülay, 2016). Polimorfonükleer lökositler (PMN'ler), bağışıklık sisteminde büyük görevleri olan ve vücutta patojen tespit edildiğinde devreye giren ilk savunma sistemidir. PMN nötrofiller patojenleri fagositoz yaparken yan ürün olarak ROT'ları üretmektedirler. Oksidatif patlama olarak da adlandırılan bu işlevsel yanıt, konak savunmasına katkıda bulunurken bunun yanında konakçıdaki dokuların zarar görmesine de neden olabilmektedir (Yazlık ve ark., 2021).

2.3. Serbest Oksijen Radikalleri ve Reaktif Oksijen Türleri

Serbest radikallerin kaynağı moleküler oksijendir. Organizmadaki geçiş metallerini (Fe, Cu gibi) içeren enzimler vasıtasıyla moleküler oksijene tek elektron transferi ile oksitlenme reaksiyonları meydana gelir. Eşlenmemiş elektron içeren moleküler oksijen serbestliği, ROT oluşumunda önemli rol oynar (Gutteridge, 1994). ROT hem serbest radikalleri hem de hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksit (O_2^-), singlet oksijen ($^1O_2$) ve hidroksil radikali (OH) gibi serbest radikal olmayan oksijenli molekülleri içerir ve H_2O_2, O_2^-, $^1O_2$ ve OH gibi aktifleşmiş oksijen türleri oldukça reaktiftir ve organlarda toksik etkilere yol açabilmektedirler (Kohen ve Nyska, 2002).

Serbest radikaller proteinleri doğrudan etkilerler fakat proteinlerin etkilenme derecelerini içerdikleri aminoasitler belirler. Doymamış bağ ve sülfür içeren moleküller serbest radikaller ile daha yüksek reaktiviteye sahip olduğundan triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metiyonin ve sistein gibi aminoasitler içeren proteinler serbest radikallerle daha kolay reaksiyona girip yapısal proteinlerin fonksiyonunu ve enzim aktivitesini engelleyerek birçok proteinin hasarına yol açarlar. Vücuttaki ROT ve RNT'nin neden olduğu protein oksidasyonu neticesinde, protein hidroperoksitler gibi kararlı ve yüksek derecede reaktif ürünler meydana gelir. Bu ürünler ile geçiş metal iyonlarının etkileşimi sonucunda da radikaller oluşabilir. Bununla beraber oksitlenmiş proteinlerin birçoğu, fonksiyonel olarak doğada inaktiftir ve hızlı bir şekilde uzaklaştırılır. Fakat zaman ile kademeli olarak bir miktar birikebilir. Böylece çeşitli hastalıkların yanı sıra yaşlılık ile ilişkili hasarlara da sebep olabildiği kaydedilmektedir (Karabulut ve Gülay, 2016).

Organizmadaki serbest radikaller hem endojen hem de eksojen kaynaklar tarafından meydana gelmektedir (Kohen ve Nyska, 2002).

2.3.1. Endojen kaynaklar

Mitokondride aerobik solunum sırasında elektron transport sistemi tarafından katalize edilen oksijenler serbest radikallerin oluşmasına neden olabilmektedir. Vücuttaki yangı durumlarında sitokinler serbest bırakılır ve bunun sonucunda

nötrofiller ve makrofajlar serbest radikalleri üretmeye başlar. Serbest radikaller; lipit peroksidasyonu, ksantin oksidaz ve mitokondriyal sitokrom oksidaz gibi çeşitli kaynaklardan oluşabilir. Ayrıca düz kas hücreleri, plateletler ve araşidonik asit metabolizması tarafından serbest radikaller üretilebilir (Yazlık ve ark., 2021).

Otooksidasyon reaksiyonları sırasında ksantin oksidaz (XO) ile nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) oksidaz gibi enzimlerle endoplazmik retikulumda sitokrom p450 sisteminde meydana gelen elektron kaçaklarından dolayı serbest radikaller oluşabilmektedir. Zihinsel stres veya vücut yorgunluğundan kaynaklanan stres toksik yan ürün olarak serbest radikaller üretilebildiği ayrıca, kortizol ve katekolamin gibi hormonlar vücutta stres reaksiyonlarına yol açtığı belirtilmekte ve bu hormonların kendileri de serbest radikallere dönüşebildiği ifade edilmektedir. Bunlara ek olarakta immun sistem hücreleri patojenlere yanıt olarak ROT'ları üretebildiği de kaydedilmektedir (Karabulut ve Gülay, 2016).

2.3.2. Eksojen kaynaklar

Vücuttaki fizyolojik veya patolojik olaylardan bağımsız eksojen olarak serbest radikallerin oluşmasına neden olan birçok faktör vardır. Bunlar; ultraviole ışınlar, X-ray, gamma ışınları, mikrodalga ışınları, pişirme esnasında organik maddelerin yakılması, orman yangınları, volkanik faaliyetler, asbest, benzen, karbonmonoksit, formaldehit, ozon ve tolüen gibi hava kirleticiler, temizlik ürünleri, tutkal, boya, tiner, parfümler ve böcek ilaçları gibi kimyasallar, kloroform ve diğer trihalometanlar gibi su kirletici maddeler olarak sıralanabilir. Ayrıca alkol ve sigara kullanımı, sigara dumanı, egzoz dumanı, eksojen olarak serbest radikal üretimine katkıda bulunabilir (Karabulut ve Gülay, 2016).

2.4. Oksidatif Stres

Canlı metabolizmasında oksidasyonun oluşması fizyolojiktir ve normal koşullarda vücutta oksidan-antioksidan dengesi bulunur. Bu durum bazen oksidan maddelerin artışı veya antioksidan maddelerin azalışıyla, oksidan madde fazlalığına yol açar. Bu olaya oksidatif stres denilmektedir ve bu canlı için hayati önem arz edebilir (Karabulut ve Gülay, 2016). Oksidatif stres, biyolojik makro moleküllerin

zarar görmesine ve hücre yapılarının bozulmasına neden olur (Bouwstra ve ark., 2010). Böylece canlı da miyopati, kardiyomiyopati, embriyonik dejenerasyon, karaciğer nekrozu ve ensefalomalazi gibi çeşitli patolojik süreçler gözlenebilmektedir (Mudron ve Rehage, 2018). Ayrıca bu stres üreme, fizyolojik ve metabolik fonksiyonların bozulmasına yol açabilmektedir (Omur ve ark., 2016). Organizmada herhangi bir nedenle aşırı miktarda üretilen ROT'lar, nükleik asitler, lipidler, proteinler, enzimler ve karbonhidratlarla etkileşerek, hücre hasarı ve ölümü ile sonuçlanan zararlı etkilere neden olmaktadır (Miller ve ark., 1993). Bu etkilerini DNA polimeraz aktivitesini de inhibe ederek, nötrofillerin salgıladığı hidrojen peroksit, membranlardan kolayca geçerek DNA hasarına ve hücre ölümüne yol açmaktadır (Koca ve Karadeniz, 2005).

Serbest radikallerin karbonhidrat metabolizması üzerine etkisi, glikolitik ATP sentezinin azalması ve ATP kullanımının artması yönündedir. Proteinlerde ROT'lar dekarboksilasyona, peptid bağlarının hidrolizine, disülfit bağlarının oluşumuna neden olur. Bu durum hücre için esansiyel olan Ca-ATPaz, Na/K ATPaz gibi enzimlerde fonksiyon kaybına sebep olacağı için hücre içi ve hücre dışı iyon dağılımının bozulmasına neden olmaktadır (Koca ve Karadeniz, 2005).

2.5. Antioksidan Savunma Mekanizmaları

Hücrede lipit, protein ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin serbest radikaller tarafından oksidasyonunu önleyebilen veya geciktirebilen maddelere antioksidan, bu mekanizmalara ise antioksidan savunma sistemleri denir. Antioksidanlar serbest radikallere elektron transferi yaparak hücresel düzeydeki hasarı engellemektedir (Aslankoç ve ark., 2019). Antioksidanların dört farklı mekanizması vardır. Temizleme etkisi; serbest oksijen radikallerini etkileyerek onların tutulması ya da oksidanları daha zayıf bir moleküle dönüştürerek etkisizleştirmedir. Antioksidan enzimler ve mikro moleküller bu yolla etki eder. Baskılama etkisi; oksidanlara bir hidrojen aktararak onları etkisiz hale getirme ya da 365 t etkilerinin veya reaksiyon hızlarının azaltılması. Vitaminler ve flavonoidler ise etkilerini bu yolla gösterirler. Onarma etkisi; serbest radikallerin lipidi protein ve DNA gibi yapılarda oluşturdukları biyolojik hasarın onarılması. Zincir koparma etkisi; serbest oksijen radikallerini

bağlayarak, zincirlerini kırıp işlevlerinin engellenmesi olarak gruplandırılmaktadır (Mirshafiey ve Mohsenzadegan, 2008).

Antioksidanların bir kısmı dışarıdan alınırken (enzimatik olmayan) bir kısmı da vücutta hücresel düzeyde (enzimatik olarak) üretilir (Hayes ve ark., 2001). Vücudun serbest radikallere karşı ürettiği birinci basamak antioksidanlar (enzimatik); katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidazdır ve mevcut radikallerle reaksiyona girerek bunların daha zararlı formlara dönüşmelerini ve yeni serbest radikal oluşumunu önlerler. Sağlık açısından önemli, enzimatik olmayan antioksidanlar vardır. Bunlar; A, E ve C vitaminleri, sebze, meyve, baharat, tahıllarda yaygın olarak bulunan fenolik maddeler, resveratrol ile kuersetin ve kateşin gibi flavonoidlerdir. Normal fizyolojik koşullarda bu antioksidanların hücre içi seviyeleri ve aktiviteleri arasında denge vardır. Enzimatik antioksidanların, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT), ve enzimatik olmayan antioksidanların (C Vitamini, Vit E, karotenoidler, lipoik asit ve diğerleri) oksidatif strese karşı korunmasında çeşitli rolleri olduğunu göstermiştir (Aslankoç ve ark., 2019).

Vücudun antioksidan dengesi diyetten büyük ölçüde etkilenmektedir. Besin yetersizlikleri nedeniyle vücudun savunma mekanizmaları tahrip olduğu zaman patolojik reaksiyonlar meydana gelebilmektedir. Vücuttaki ROT'ların artışı ve savunma sistemlerindeki bir yetersizlik vücuttaki antioksidan dengesinin bozulmasına ve 'oksidatif stres' koşullarının oluşmasına neden olmaktadır. Antioksidan savunma sisteminin etkinliği; Vit E, C vitamini ve karotenoidler gibi antioksidan vitaminleri ve esansiyel iz mineralleri içeren gıdaların yeterli seviyede alınmasına bağlıdır. Bu vitaminler etkin şekilde çalışarak hastalık ve hasarlara neden olan zararlı ROT'ların zararlı etkilerini minimize etmektedir (Koca ve Karadeniz, 2005).

Vücuttaki hücrelerin serbest radikallerden ve peroksit metaboliklerinden koruyan iki tane önemli molekül vardır bunlar; Vit E ve selenyum (Se)'dur. Vit E oksidatif hasara ve peroksidasyona karşı fosfolipitlerin bütünlüğünü koruyan hücre içi antioksidan görevi görürken, Se ise hücre içi ve hücre dışı bölümlerde peroksitlerin yıkımını sağlayan glutatyon peroksidazın kofaktörü olarak görev yaptığı düşünülmektedir (Arechiga ve ark., 1994). Vit E (tokoferoller), yağda çözünebilen

başlıca antioksidanlardan olup tüm hücre membranlarında bulunmakta ve çoklu doymamış yağ asitlerini oksidasyona karşı korumaktadır. Vit En yüksek dozlarda vücuda alınması, düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) düzeylerini önemli ölçüde artırarak oksidatif strese karşı oldukça koruyucu olduğu bildirilmektedir (Koca ve Karadeniz, 2005). Artan miktarlarda Vit E ile beslenme, doku α-tokoferol konsantrasyonunu artırabilir ve hücrelerdeki membranal doymamış yağ asidi oksidasyonuna engel olarak, koruma sağlamaktadır (Burken ve ark., 2012). Eksojen olarak vücuda alınan α-tokoferolün lipoproteinler tarafından taşınarak, antioksidan olarak önemli sağlık yararları sağlayabileceği yapılan çalışmalarda vurgulanmaktadır (Hayes ve ark., 2001).

2.5.1. Enzimatik Antioksidanlar

2.5.1.1. Süperoksit Dismutaz

Süperoksit dismutaz (SOD) serbest radikalleri metabolize eden enzimlerden ilk bilinenidir (Kocaarslan, 2013). Ayrıca SOD, ROT ve süperoksit anyon radikallerine karşı en önemli antioksidan savunma sistemi olarak kabul edilmektedir (Aslankoç ve ark., 2019). Vücutta SOD'lar, süperoksit radikallerinin hidrojen peroksite dismutasyonunu katalizleyen bir metalloenzim grubudur. Hücrelerin sitozolünde, mitokondrilerinde ve plazmada bulunurlar (Kocaarslan, 2013). Normal koşullarda SOD, bir süperoksit radikalini O_2 molekülüne yükseltgeyip, diğer bir süperoksit radikalini ise daha az reaktif bir molekül olan hidrojen perokside (H_2O_2) indirgenmesinde katalizör olarak görev almaktadır (Aslankoç ve ark., 2019).

2.5.1.2. Katalaz

Katalazlar, antioksidan metalloenzimler grubuna dahil hücre ömrünün uzamasına önemli katkıları olduğu bilinen enzimlerdir (Yüzügüllü ve Ögel, 2013). Katalazlar tüm hücre tiplerinde, değişik konsantrasyonlarda bulunan dört tane hem grubu içeren bir hemoproteindir ve H_2O_2'i moleküler oksijene ve suya katalizler. Bir molekül katalaz bir dakikada 1 milyon H_2O_2 molekülünü suya katalizler. İneklerde ovidukt sıvısında bulunan katalazın, spermanın akrozomal boşluğuna bağlanarak

antioksidan etkisi ile spermanın kapasitasyonunu ve canlılığını sağladığı bildirilmektedir (Kurum ve ark., 2016).

2.5.1.3. Glutatyon Redüktaz (GR)

Prokaryotik ve ökaryotik tüm hücrelerde bulunan glutatyon redüktaz (GR), tripeptid yapısında olan önemli bir tiyoldür ve hücre içi serbest sülfidril gruplarının büyük bir bölümünü oluşturmaktadır (Temel ve ark., 2017). Vücutta, GR'nin başlıca görevleri şunlardır; hücre içindeki serbest radikallerin ve ROT'ların zararsızlaştırılması, hemoglobin ve spektrin gibi membran proteinleri ve çeşitli enzimlerin tiyol gruplarının korunması, DNA ve protein sentezi, ksenobiyotiklerin, bazı antineoplastik ilaçların ve bazı metabolik son ürünlerin konjugasyonla detoksifikasyonu, aminoasit transportu, insülin gibi bazı proteinlerin disülfür bağlarının koparılması ve böylece proteinlerin konformasyonlarının değişmesi, hücre içerisinde sistein deposu olarak bulunması ve bazı enzimlerin reaksiyonlarında rol oynamasıdır. Üstlendiği bu önemli görevleri dolayısıyla hücrede GR'nin düşük konsantrasyonda bulunması sonucunda bazı metabolik olumsuzluklar meydana gelebilmektedir (Knapen ve ark., 1999).

2.5.1.4. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px)

Glutatyon peroksidaz (GSH-Px), Se bağımlı bir metalloenzimdir veya selenoproteindir. Ekstrasellüler formu bir glikoprotein olan GSH-Px'in intraselüler ve mitokondriyal formlarının da farklı antijenik yapıda olduğu düşünülmektedir. GSH-Px, spesifik olmayan substratları olan lipid ve lipid bulundurmayan hidroperoksitleri indirgemek için spesifik bir hidrojen donörü olan glutatyonu kullanır. Glutatyon peroksidaz, translasyonu sırasında polipeptid zinciriyle birleşen aktif merkezinde selenosistein bulundurur. Hidrojen peroksidin yüksek konsantrasyonlarının ve büyük moleküllü lipid hidroperoksitlerinin indirgenmesinde etkilidir (Kocaarslan, 2013). Vücuttaki yüksek ROT üretimi, lipid peroksidasyonuna, oksidatif strese, doku hasarına ve glutatyon metabolizmasında yer alan indirgenmiş glutatyon (GSH) seviyesinin değişmesine neden olmaktadır (Xiao ve ark., 2021).

2.5.2. Non Enzimatik Antioksidanlar

2.5.2.1. Glutatyon (GSH)

Glutatyon (GSH) karaciğerde genetik bilgiye ihtiyaç duyulmadan, iki aşamada sentezlenebilen bir tripeptittir (Kocaarslan, 2013). Bu peptit, ana ve anahtar bir antioksidan görevi görür ve ayrıca hücre içindeki birçok biyokimyasal süreci modüle eder. Vücutta enzimatik olmayan önemli bir antioksidan olan GSH, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur (Necasova ve ark., 2021). En önemli görevi, enzim ve proteinlerin tiyol gruplarının indirgenmesi ile redükte formlarının yeterli düzeylerde kontrolünü sağlamaktır. Yabancı bileşiklerin detoksifikasyonunu ve amino asitlerin membran transportunu sağlar. Hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşmesini engeller. Özellikle H_2O_2'nin elimine edilmesinde de GSH'ın oksitlenebilirliğinden faydalanılır (Kocaarslan, 2013). Ayrıca GSH, hücreleri oksidatif stresten ve ksenobiyotiklerin etkisinden korur, sistein için kofaktörü olarak hizmet eder Vit Enin geri dönüşümüne yardımcı olur (Meister ve Anderson, 1983).

2.5.2.2. C Vitamini (Askorbik asit)

Vitamin A ve E'nin aksine vitamin C hidrofiliktir. Sulu ortamda etkindir. Antioksidan olarak özelliği, serbest radikal temizleyici işlevi olarak bildirilmektedir. İndirgeyici ve antioksidan ajan olarak, doğrudan $^1O_2$ ve OH ve çeşitli lipid peroksitlerle etkileşir (Kocaarslan, 2013). C vitamini, Vit E'nin geri dönüşümünde; α-tokoferol ön radikallerini temizler ve onlarla reaksiyona girerek bir α-tokoferoksil radikali oluşturur, bu daha sonra C vitamini ile tekrardan α -tokoferole geri dönüştürülür (Matsui, 2012). Böylelikle, okside olmuş Vit E'nin antioksidan özelliğini restore etmede etkin rol oynar (Kocaarslan, 2013). Bu yüzden vitamin C'nin en önemli fonksiyonlarından birinin Vit E radikalini yeniden antioksidan aktivite kazandırmak olduğu bildirilmektedir (Kocaarslan, 2013).

2.5.2.3. Melatonin

Melatonin, epifiz bezi tarafından üretilen endojen bir hormon aynı zamanda hidroksil radikalini yakalayıp ortadan kaldıran çok güçlü bir antioksidandır, organik membranlardan hızlı bir şekilde geçmek için hem yağda hem de suda çözünür (Ratchamak ve ark., 2022). Antioksidan özellikli melatonin lipofiliktir (Kocaarslan, 2013). Melatonin'in hem bitkilerde hem de hayvanlarda kronobiyotik eylemler, dişi üreme, doğuştan gelen bağışıklık, abiyotik stres direnci, kanser önleyici, radyasyon önleyici ve antioksidan işlem gibi çeşitli fizyolojik süreçlerde yer aldığı bildirilmiştir. Melatonin vücuttaki ROT'ları azalttığı için aynı zamanda antienflamatuvar etkisi olduğu bildirilmektedir (Galano ve ark., 2014).

2.5.2.4. Hyaluronik Asit (Hyaluronan)

Hyaluronan ya da hyaluronik asit bir glikozaminoglikan olup, antioksidan özelliklere sahiptir (Kocaarslan, 2013). Hyaluronik asit, doku hasarı, doku onarımı ve yara iyileşmesi sırasında aktif olarak üretilir. Hyaluronik asit fragmentleri, hasarlı bölgedeki çeşitli bağışıklık hücrelerinin varlığı ile yangısal genlerin ekspresyonunu uyarır. Hyaluronik asit ve bağlayıcı proteinleri, yangısal hücre toplanmasının düzenlenmesi yoluyla doku hasarı ve onarımı, yangısal sitokinlerin salınımı ve kök hücre göçü ile yangıyı regüle ederler (Jiang ve ark., 2011). Ayrıca yapılan çalışmalarda in-vitro olarak hyaluronik asit içeren ortamda taze ve donmuş-çözülmüş ejakulatta spermlerde hız motilite ve viabilite artışının olduğu bildirilmektedir (Necasova ve ark., 2021).

2.5.2.5. Karotenoidler

Karotenoidlerin, $^1O_2$ 'i baskıladığı, süperoksit radikalini temizlediği ve peroksit radikalleri ile direkt olarak etkileşerek antioksidan vazife gördüğü bildirilmektedir. Karotenoid sınıfından, A vitamininin metabolik ön maddesi olan β-karoten, veteriner biliminde birçok çalışmaya konu olduğu bildirilmektedir (Kocaarslan, 2013). Karotenoidler, ROT ve serbest radikalleri yakalama özelliği bulunan antioksidan maddeler arasında önemli bir yere sahiptir (Von Elbe ve Schwatz, 1996). Bu aktivite esas olarak, molekülün içerdiği çok sayıdaki konjuge çift bağlar ve bir ölçüde de

halkalı uç gruplarla ilişkilidir (Paiva ve Russel, 1999). Karotenoidler içerisinde en etkili antioksidanın likopen olduğu ve bunu sırasıyla β-kriptoksantin ve β-karotenin izlediği, ksantofillerin ise minimum aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir (Von Elbe ve Schwatz, 1996).

2.6. E Vitamini

Vitaminler, insan sağlığı başta olmak üzere hayvan sağlığında da büyüme, üreme, sağlık için gereklidir ve eksiklikleri organizmada olumsuzluklara yol açmaktadır (Gouvea ve ark., 2018). Hayvan beslemede geviş getirenler, suda çözünen vitamin ihtiyaçlarını genellikle sağlıklı bir rumen mikroflorasından karşılayabilmekteyken, buna karşılık vitamin E (Vit E) gibi yağda çözünen vitaminleri rumenden sağlayamadıkları için bunların takviyesinin enjektabl, oral veya rasyon yoluyla yapılması önemlidir. Bu vitaminlerden en önemlilerinden birisi de güçlü antioksidan etkili Vit E'dir (Bourne ve ark., 2007). Suda çözünen vitaminlere göre yağda çözünen vitaminlerin, ruminantlarda bağışıklık fonksiyonunu güçlendirmede ve üreme özelliklerini arttırmada da önemli etkileri olduğu bildirilmektedir. (Beeckmen, 2010).

Yağda çözünen ve hücre zarlarını lipid peroksidasyon zincir reaksiyonundan koruyan güçlü bir antioksidan olan Vit E, hayvan besleme için vazgeçilmez vitaminler arasında yerini almaktadır (Chalmeh ve ark., 2021; Gobert ve ark., 2009). Fakat Vit E uzun yıllardır inekler için temel gereksinim olarak kabul edilse bile günümüzde halen biyoyararlanımı, süt kalitesine ve ineklerin sağlığına etkisi net olarak bilinmemektedir (Politis, 2012). Vitamin E, hücre zarında ve plazma lipoproteinlerinde serbest radikallerin yayılmasını önleyen güçlü bir lipit ve zincir kırıcı bir antioksidan etkisiyle görev yapmaktadır (Chalmeh ve ark., 2021). Hücresel düzeyde bakıldığında, Vit E, fenolik hidrojenini lipid peroksil radikallerine bağlayarak onları daha az yıkıcı α-tokoferoksil radikallerine dönüştürerek ve sonuç olarak membran bütünlüğünü koruyarak bir zincir reaksiyonunu sona erdirir. Bu nedenle vücuttaki Vit E düzeyi önemlidir çünkü Vit E ROT'ların nötralizasyonundaki kritik katkısını ile vücuttaki konsantrasyonu arasında doğru ilişki bulunmaktadır (Kandelousi ve ark., 2020).

Vitamin E'nin yağda çözünebilen iki alt sınıfı vardır bunlar; tokoferoller ve tokotrienollerdir. Bunların içinde en yüksek biyolojik aktivite ise α-tokoferole aittir (Politis, 2012). En aktif form olan α-tokoferolden birçok antioksidatif çalışmada bahsedilmiştir ayrıca ineklerin kan ve sütünde en fazla bulunan bileşen olduğu da bildirilmektedir (Xiao ve ark., 2021). Karaciğer, iskelet kasları ve yağ dokuları α-tokoferolü depolayabilmektedir. Vücut α-tokoferol deposunun %90'ı bu organlarda bulunmaktadır. Testis ve beyin α-tokoferolün en düşük olduğu dokulardır, bu durum Vit E yetersizliğinin ilk olarak, üreme bozuklukları ve nörolojik bozukluk belirtilerine neden olabileceğini göstermektedir (Reece, 2017). Çalışmalar, α-tokoferol 'in sıçanlarda ve köpeklerde böbrek ve böbrek 'tight junction' bağlantılarının yapısını ve işlevini iyileştirdiğini, domuzlarda ve besi sığırlarında yapılan araştırmalar ise, rasyonlara Vit E takviyesinin α-tokoferol konsantrasyonunu önemli ölçüde artırdığını ortaya çıkarmış ve kaslarda α-tokoferol 'ün hücre zarlarını oksidasyondan korumada bir rolü olduğu çalışmalarda bildirilmektedir (Mckay ve ark., 2019). Özellikle prepartum dönemde antioksidan yetenekteki Vit E'ye gereksinim çok fazla olmaktaysa da doğum ve postpartum süreçte de Vit E ihtiyacı devam etmektedir (Allison ve Laven, 2000).

İmmun sistem hücre fonksiyonunun artışını sağlayan Vit E, antioksidan özellikte yağda çözünebilen bir mikro nutrienttir ve rumende sentezlenemez. İneklerde Vit E özellikle gebelik ve doğum sırasında daha yüksek seviyede olmak üzere tüm laktasyon boyunca ineğin ihtiyaç duyduğu temel vitaminlerdendir. Bu yüzden Vit E dışardan besinlerle karşılanmalıdır fakat çoğu koşulda yemlerdeki Vit E seviyeleri tam olarak bilinmemektedir (Kafilzadeh ve ark., 2014). Aslında kaba yemler Vit E açısından en önemli doğal kaynaklardır fakat seviyesi, bitki türüne, hasat zamanına, saklama koşullarına göre değişmektedir. Karma rasyon (TMR)'lardaki kaba yem oranının artmasıyla rasyonun Vit E seviyesini arttırmak mümkündür. Danimarka da yapılan bir çalışmada ot silajı ile beslenen ineklerden elde edilen sütteki Vit E seviyesi mısır silajı ile beslenenlere göre daha fazla bulunmuştur. Kaba yemlerin depolanma sürecinde vitamin kayıplarına uğradığı bilinen bir geçektir, bunun yanında İsveç'te yapılan çalışmada silajların depolama şekillerinin de TMR'daki Vit E seviyelerini etkilediği bildirilmiştir. Paket balyalama yapılan silajların silolara basılan silajlara

göre daha fazla Vit E kaybettikleri bildirilmektedir. İneğin kan serumundaki Vit E seviyesi tükettiği kuru madde ile doğru orantılıdır (Torsein ve ark., 2018). Benzer şekilde, bitkiler olgunlaştıkça kaba yemlerdeki α-tokoferol konsantrasyonu azalır ve özellikle kaba yemler işlendiğinde ve depolandığında önemli miktarda Vit E kaybı meydana gelmektedir (Hogan ve ark., 1992). Yemlerdeki Vit E konsantrasyonlarına baktığımızda; taze yeşil kaba yemlerde α-tokoferol seviyesi 80-120 IU/kg iken saman ve silajda bu oranın %80'e kadar daha az olduğu bildirilmektedir. Ayrıca kaba yemler güneş ışığına ne kadar fazla maruz kalırsa o kadar α-tokoferol seviyeleri düşmektedir Dolayısıyla yonca, yulaf, ot gibi çiftliklerde saklama kolaylığı nedeniyle kurutulmuş olarak saklanan kaba yemlerde Vit E seviyesi düşük olmaktadır (Weiss, 1998). Günümüz sütçü işletmelerinde rasyonun büyük çoğunluğunu silajlar oluşturmaktadır. Silaj yapımından yemin ineğin önüne dökületeceği zamana kadar geçen süreçte içindeki vitamin konsantrasyonları azalmakta ve vitamin miktarları hiçbir zaman taze kaba yem miktarlarındaki kadar olmamaktadır (Torsein ve ark., 2018). Vit E'nin taze yemden depolanmış kaba yeme oranla kuru maddedeki değişimi %80'e ulaşabilmektedir (Baldi, 2005). Nutrient Requirements of Dairy Cattle, (NRC), (2001)' e göre taze kaba yemlere oranla, kuru ot ve silajda α-tokoferol seviyesi %20-80 oranında daha az olabilmektedir ve depolama süresi arttıkça da α-tokoferol seviyesi azalmaktadır. Vejetatif aşamadaki taze kesilmiş kaba yemler, birkaç aylık depolamadan sonraki kaba yemlere oranla beş ila altı kat daha fazla Vit E içerdiği bildirilmektedir (Harrison ve ark., 1984). Bu yüzden güneş ışığına maruz kalan ve yetersiz taze yem temin edilen modern entansif beslenen çiftlik hayvanlarının yağda çözünen A, D ve E vitaminlerine yönelik gereksinimleri değişmiştir ve bu gereksinimler yenilenmiştir. Bu kapsamda, Vit E'nin rasyonlardaki olması gereken miktarı 1989'da NRC tavsiyesi, kilo gram kuru madde alımı (DMI) başına 15 IU Vit E iken, son yıllarda kuru dönemde ve doğumdan hemen sonra yaklaşık 80 IU/kg DMI ve laktasyon döneminde yaklaşık 20 IU/kg'dır (Baldi, 2005). TMR kullanılan işletmede kullanmayana göre rasyonların α-tokoferol seviyesinin kuru maddede 0,45 mg/kg daha az olduğu bildirilmektedir. Bu nedenden dolayı işletmelerde rasyonlara ek vitamin takviyeleri yapılması önerilmektedir. Beslemesi TMR ile yapılan çiftliklerden alınan yem örneklerindeki α-tokoferol oranı TMR kullanmayan işletmelere göre daha az bulunmuştur (Torsein ve ark., 2018). Ayrıca artan modern süt işletmelerinde kullanılan kaba yemlerin vitamin içeriği birçok

faktöre (örneğin, konum, iklim) bağlı olarak büyük ölçüde değişmektedir. Bununla birlikte, son yıllarda, besleme sistemleri, kuru kaba yemlerin daha fazla dahil edilmesine ve daha az taze otlara doğru değiştiği için, modern süt inekleri, daha yüksek oksidatif stres yaşamasına rağmen, sınırlı diyet vitaminleri ve bunun yanında kısıtlı antioksidan kaynağına maruz kalmaktadır. Bu uyumsuzluk, modern işletmelerde gözlenen meme sağlığı ve doğurganlık sorunlarını kısmen açıklayabilir (Mary ve ark., 2021).

Vitamin E bağırsaklardan karaciğere lipitlerle birlikte taşınır. Karaciğerde, α-tokoferol lipoproteinlerde paketlenir ve karaciğerden plazma yoluyla vücudun geri kalanına dağıtılır (Bouwstra ve ark., 2008). Ayrıca Vit E, lipoproteinler arasında kolayca geçiş sağlayabilir ve lipid membranları reaktif oksijenlerden korumada etkin rol oynar. Ayrıca Vit E zincir kırıcı bir antioksidandır ve lipid peroksidasyonuna karşı ilk savunma hattıdır, hücre zarlarını serbest radikal hasarından korur ve vücuda giren bakterilerin hücre içi öldürülmesini takiben oksidatif hasara karşı koruma sağlamak için nötrofillerin fonksiyonel etkinliğini de arttırmaktadır (Xiao ve ark., 2021). Bir başka deyişle Vit E'nin ana işlevi, hücre zarı bütünlüğünü ve işlevini sağlamak için lipid peroksidasyonunu engel olmak, serbest radikalleri in vivo olarak vücuttan temizlemektir (Qian ve ark., 2021). Vit E, hücresel bağışıklık başta olmak üzere, araşidonik asit metabolizması, immun sistem ve üreme fonksiyonlarında da önemli bir yere sahiptir (Reece, 2017; Swecker ve ark., 2008). Son yıllarda Vit E'nin üreme problemleri, mastitis ve immun sistem üzerine etkileri birçok çalışmaya konu olmaktadır. Örneğin, spermada oksidatif strese maruz kalmayı engellediği ve kapasitasyonu arttırdığı belirtilmektedir (Losano ve ark., 2018; Schafers ve ark., 2018). Bunun yanında vücutta peroksil radikallerini yakalayıp, ikincil radikallerin oluşumunu en aza indirgemek ve hücre zarlarını stabilize etmeye yardımcı olmak Vit E'nin diğer antioksidan görevleri arasında sayılmaktadır (Kandelousi ve ark., 2020).

Vitamin E inekler için ne kadar önemliyse buzağıların immun sistemi içinde o kadar önem arz etmektedir. Vit E'nin yalnızca küçük bir kısmı plasentadan geçebilmektedir (NRC, 2001). İneklerdeki Vit E seviyeleri ile annelerinin kolostrumlarını düzgün alan buzağıların vücut Vit E düzeyleri paralel seviyede olduğu çalışmalarda belirtilmiştir (Maas ve ark., 2008). Yani prepartum dönemde ineklerin

Vit E alımı ne kadar artarsa, kolostrumdaki Vit E düzeyide o seviyede artmaktadır (NRC, 2001). Vit E eksikliği prematüre buzağılarda hemolitik aneminin nedenlerinden biri olduğu vurgulanmaktadır (Lo ve ark., 1973). Biyolojik zarların stabilitesini ve bağışıklık sisteminin işlevini korumak için temel bir antioksidan olan Vit E'nin temel bağışıklık hücrelerinin işlevsel ve yapısal bütünlüğünü koruyarak adaptif bağışıklık tepkilerini desteklediği kabul edilir. Bu özelliğinden dolayı özellikle besi buzağılarının beslemesinde Vit E takviyesi üzerine çalışmalar yapılmaktadır (Schmidt ve ark., 2018). Ayrıca buzağılamadan önce antioksidan takviyesi yapılan inekler, laktasyonun ilk haftasında gelişmiş insülin duyarlılığı göstermiştir; böylece oksidatif stresin süt ineklerinde insülin direnci gelişimi üzerindeki etkisi vurgulanmıştır (Abuelo, 2016).

Buzağıların beyaz kas hastalığı, Vit E yetersizliğinin göstergesidir ve sütten kesim öncesi buzağılara günde 50 IU Vit E takviyesi ile beyaz kas hastalığı önlenebilmektedir (Swecker ve ark., 2008). Besi danalarında kaslardaki α-tokoferol konsantrasyonu, lipid oksidasyonunu geciktirmek ve ette rengi iyileştirmek amacıyla kritiktir. Birçok çalışma α-tokoferol'ün etteki lipid oksidasyonu ve renk stabilitesi üzerinde olumlu etkilerini bildirmektedir (Sales ve Koukolova, 2011; Müller ve ark., 2018). Buna karşılık, besi buzağılarında rasyona yapılan ek Vit E takviyesinin besi performansı ve hastalık parametrelerine bir etkisi olmadığı da bildirilmektedir (Deters ve Hansen, 2019). Vitamin E'nin ineklerde aynı zamanda çoklu doymamış yağ asitlerini oksidasyondan koruyarak süt kalitesine olumlu etkisinin olduğu bildirilmektedir (Schafers ve ark., 2017). İn vitro yapılan çalışmalarda Vit E fazlalığının rumendeki protozoolarda artış sağladığı bulunmuştur (Otomaru ve ark., 2013; Schafers ve ark., 2018). Bunun yanında Vit E'nin besi ırklarının verimini olumsuz etkileyen karaciğer apselerinin oluşumunu engellemek amacıyla kullanıldığını vurgulamaktadır (Müller ve ark., 2018). Ayrıca rasyondaki Vit E miktarı ile özellikle kolostrumdaki Vit E arasında doğru orantı olduğu bildirilmektedir (Calderon ve ark., 2007). Sığırlarda geçiş stresine ve yem ve sudan yoksun kalmaya tepki olarak azalan plazma α-tokoferol konsantrasyonları gözlenmektedir (Carter ve ark., 2005). Ayrıca besi buzağılarının beslemesinde Vit E enjeksiyonları ile taşımadan kaynaklı stresin azaltılması ile canlı ağırlık artışı kontrol gruplarına göre daha fazla gözlemlenmiştir (Galarza ve ark., 2021). Vit E takviyesi yapılan besi danalarının

etlerindeki mermerleşme kontrol grubuna göre daha fazla olduğu bildirilmiştir (Harsh ve ark., 2018).

Vücutta, Vit E'nin emilimi, yağların sindirimi ve emilimi ile doğrudan bağlantılıdır. Rasyonlarına Vit E ve yağ takviyesi yapılan orta laktasyonlardaki ineklerde, Vit E'nin yararlanımı artarak, bu ineklerde plazma α-tokoferolün daha fazla arttığı tespit edilmiştir. Fakat, erken laktasyondaki ineklerin rasyonlarına yağ oranları artırılarak Vit E verilmesinin plazma α-tokoferol üzerine etkisi olmadığı saptanmıştır. Bu zıt sonuçlar iki şekilde açıklanabilir: birincisi rasyonlardaki yağ miktarının değişimi Vit E emilim etkinliğini ve dolayısıyla plazma seviyelerini etkileyebilir, ikinci ise laktasyonun farklı evrelerinde değişen sindirim sistemi hızından Vit E emilimi değişebilmektedir (Baldi, 2005).

Konjuge linoleik asit başta epitel olmak üzere kolon, göğüs ve akciğer kanserinde antikarsinojenik etkisi olduğu bilinmektedir. Farelerde yapılan çalışmada böbrekler için oldukça toksik olan Cadmium ağır metaline maruz kalan farelerin Vit E takviyesi ile oksidatif stres ve toksisitenin azaldığı belirtilmiştir (Fang ve ark., 2021). Bazı aşı çalışmalarında Vit E adjuvan olarak kullanılmış ve avantaj olarak, geleneksel adjuvan sisteminin kullanımına kıyasla enjeksiyon bölgesindeki apselerin azaldığı vurgulanmaktadır (Hogan ve ark., 1992). Vitamin E'nin antioksidan etkisi muhtemelen bağışıklık tepkisini güçlendirmede önemli mekanizma olsa da Vit E ayrıca farelerde belirli prostaglandinlerin (PG) sentezini ve düşük serum kortikosteronunu azaltır. Hem kortizol hem de bazı PG, mitojen tepkisi ve lenfokin üretimi gibi lenfosit fonksiyonlarının güçlü inhibitörleri olarak kabul edilmektedir (Reddy ve ark., 1987).

Vitamin E fazlalığı karaciğerin ilaç metabolize etme etkisini negatif indüklemektedir. Karaciğer, özellikle prepartumdaki ineklerde glikoz, yağlar, trigliserol ve kolesterol metabolizmasında aktif rol oynamaktadır. Vit E fazlalığı bu metabolik olayları sekteye uğratarak geçiş dönemindeki ineklerin sağlığını negatif olarak etkileyebileceği ifade edilmekte bu yüzden, ineklerin Vit E düzeyleri bilinmeden ekstra yüksek dozlarda Vit E takviyeleri bazen ters etki yaratabileceği kaydedilmektedir (Bouwstra ve ark., 2010).

2.7. E Vitamini ile Postpartum Dönem Arasındaki İlişki

Süt ineklerinde doğum öncesi ve sonrası dönemi başarılı yönetmek ve laktasyonda da verimliliği artırmak için oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki denge önemli bir yere sahiptir (Xiao ve ark., 2021). Kandaki Vit E seviyelerinin doğum öncesinden başlayarak kademeli olarak düştüğü ve doğumdan sonra en düşük seviyelere (hipovitaminoz E) ulaştığı bilinmektedir (Haga ve ark., 2021). Preparturient (doğum öncesi) dönemde görülen metabolik stres; aşırı lipid mobilizasyonuna, ardından oksidatif strese ve immün disfonksiyon sonucu fizyolojik değişikliklere yol açarak birçok metabolik hastalığa neden olmaktadır (Xiao ve ark., 2021). Stres koşullarında vücutta artan serbest radikallere karşı antioksidan seviyesinin yetersiz kalması oksidatif strese yol açarak bu durum başta metabolik hastalıklar olmak üzere ineği birçok hastalığa predispoze eder (Castillo ve ark., 2005). Ayrıca bu dönemindeki makro ve mikro besin eksiklikleri, RS, endometritis ve mastitis gibi metabolik hastalıklara yatkınlığın artmasına sebep olmaktadır (Chandra ve ark., 2014).

Geçiş döneminden sonra laktasyonun başlaması için glukoz, amino asitler ve yağ asitleri gibi besin maddelerine olan ihtiyaç yüksek seviyede artar ve genellikle az yem tüketimi sonucu negatif enerji dengesi oluşarak, enerji ihtiyacı vücut rezervlerindeki yağların oksidasyonu ile sağlanır ve immunsupresyon oluşur. Bu enerji dengesizliğinin yaşandığı süreçte Vit E, yağ mobilizasyonunu engelleyerek metabolik hastalıklara karşı önemli bir savunma sistemi göstermektedir (Chandra ve ark., 2018). Oral yolla veya enjeksiyon olarak peripartum dönemde verilen Vit E'nin nötrofillerin fonksiyonunu artırdığı belirtilmektedir. Peripartum süreçte plazma α-tokoferol seviyesi düşüktür ayrıca bunun plazma kortizol seviyesi ile korelasyonu olduğu bildirilmektedir. Bu yüzden ineklerde gerçekleşen stres koşullarının plazma α-tokoferol seviyesini azalttığı bildirilmektedir (Weiss, 1998). İneklerde Vit E azlığından dolayı kas miyopatisi görülebilir ve bunun bir nedeni olarak da özellikle erken laktasyonda yüksek tane yemlerle beslenen ineklerde artan propiyonik asitin Vit E'yi parçaladığı ve böylece disfonksiyona sebep olduğu tezi düşünülmektedir (Allison ve Laven, 2000).

2.8. Retensiyo Sekundinarum ve E Vitamini

Sütçü inek işletmelerinde fertilitenin optimal düzeyde sürdürülebilmesi, doğum sonrası sürecin sorunsuz geçirilmesiyle yakından ilişkilidir. Abortus, doğum, güç doğum, sezaryen operasyonu sonrası şekillenen yavru zarlarının bir kısmının ya da tamamının atılamaması önemli bir problemdir ve buna RS denilmektedir (Kaymaz ve ark., 2019). Sığır plasentası, 100'den fazla plasentom içermektedir ve fetal kotiledon villus, maternal karunkulaya yakından bağlıdır. Bu bağlantı, kolajenlerle birbirine bağlanır ve bu kollajenlerin parçalanması muhtemelen plasental ayrılmada kilit bir faktör oynamaktadır. Plasental olgunlaşmanın endokrin ve immünolojik değişiklikler tarafından indüklendiği düşünülmektedir. Fetal adrenallerden artan prepartum kortizol salınımı, kotiledonlarda prostaglandin (PGE2) sentezini uyarır. Bu dönemde antioksidan seviyesi yeterli olmaması plasentada lipidlerin peroksidasyonuna neden olarak glutatyon peroksidaz aktivitesi azalır, bunun sonucu PGF2α azalarak uterus enfeksiyonlarına predispoze faktörler oluşur ve uterus kasılmaları zayıfladığından dolayı RS'ye sebep olmaktadır (Ganaie ve ark., 2018; Xiao ve ark., 2021). Normal koşullarda doğum anında artan östrojen hem miyometriyumdaki oksitosin reseptörlerinin düzenlenmesine hem de PGF2α salgılanmasıyla sonuçlanır. Prostaglandin miyometriyal kasılmaları başlatır ve korpus luteumun (CL) regresyonuna neden olur. CL'nin regresyonu, relaksin salgılanmasına ve progesteronda daha fazla düşüşe yol açar. Hem relaksin salgılanması hem de progesteronun azalması kollajenaz aktivitesini daha da arttırır. Relaksin, serviksin yumuşamasına ve pelvik bağların gevşemesine neden olan kollajen lizise neden olmaktadır (Eiler ve Hopkins, 1993). Lökositler doğum sırasında plasentomlara sızar ve matriks metalloproteinazları salgılarlar. Bu metalloproteinazlar, fetal zarın karunkula ayrılmasında önemli bir rol oynamaktadırlar (Inaba ve ark., 2022).

Uterus, doğumdan hemen sonra saatte yaklaşık olarak 14 defa kasılma hareketi yaparken, bu kasılmalar 42 saat itibari ile saatte bir kasılmaya dönmektedir. Uterus involasyonunun gecikmesiyle kasılmalar tetanik form alır ve sürekli kasılmalar uterus inarşiyasına neden olarak ineği RS'ye predispoze duruma getirir (Günay ve ark., 2011). Normal fizyolojik koşullarda, yavru zarları 2-12 saat içerisinde kendiliğinden atılır. Eğer bu zaman dilimi aşılırsa yavru zarlarının atılamaması veya RS olarak kabul

edilmektedir. Yavru zarlarının atlamamasının oluşma mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte birçok faktörün rol aldığı bilinmektedir (Kaymaz ve ark., 2019). İneklerde RS, patojenlerin genital sistem boyunca kolonize olup yayılmasına olanak sağlayarak enfeksiyonun uzamasına, tekrar gebe kalmayı geciktirmeye sebep olmaktadır (Kandelousi ve ark., 2020). Genel olarak RS vakalarının yaklaşık %80'i maternal-fetal bağlantının ayrılmaması nedeniyle meydana gelirken, %20'si miyometriyal kasılmaların gücünün azalması nedeniyle oluşmaktadır (Bourne ve ark., 2007).

Sütçü ineklerde RS'nin özellikle üreme üzerine olumsuz etkileri bulunmaktadır. RS'nin oluşumundaki en önemli etken özellikle doğum öncesi ve sonrası ineğin immun sisteminin zayıflaması olarak bildirilmektedir (Khatti ve ark., 2017). Özellikle doğumdan 14 gün önce ve doğumdan 21 gün sonraki süreçte immun sistemin zayıflamasıyla beraber nötrofillerin fonksiyonları da azalmaktadır (Rocha-Quiroz ve ark., 2009). Bu dönemde azalan nötrofil fonksiyonları da RS'nin oluşmasına predispoze faktör oluşturmaktadır (Pontes ve ark., 2015). Oksidatif durum ile RS arasında bir ilişki vardır, plazmada düşük seviyelerde bulunan hızlı etkili antioksidanlar ve kırmızı kan hücrelerinde glutatyon peroksidaz bulunan ineklerde, antioksidan seviyeleri daha yüksek olan ineklere göre daha yüksek RS insidansı vardır (Baldi ve ark., 2000). Dolaşımdaki kortizol seviyesi de RS oluşumunda etkili olan diğer bir faktördür. Doğumdan önce ve doğum sırasında oluşan stres koşullarına bağlı olarak dolaşımdaki kortizol seviyesi artmaktadır (Tucho, 2017). Araştırmacılar, RS oluşan ineklerin kortizol seviyelerinin bu dönemde normale göre yüksek olduğunu bildirmektedirler (Pontes ve ark., 2015). Kandaki kortizol artışı ve Vit E'nin yeteri kadar alınamamasına bağlı olarak RS insidansı artmaktadır (Staples ve ark., 2016).

İneklerdeki RS nedeni tam olarak bilinemediği için insidansını azaltmak karmaşık bir hal almaktadır (Günay ve ark., 2011). Laktasyon sayısı RS oluşumunda diğer bir faktördür, multipar (birden fazla doğum yapan) ineklerin negatif enerji dengesine yatkınlığı ve bunun yanında bozulmuş Ca dengesi RS riskini arttıran faktörler olabilir (Kandelousi ve ark., 2020). Bunun yanında diğer faktörler ise; yavru atma, çoklu doğum, doğum öncesi hormonal dengesizlikler, doğumun suni olarak hormonlarla başlatılması, sezaryen operasyonu, fetotomi, ineğin yaşlı olmasına bağlı

olarak bağırsaklarda vitamin D reseptörlerinin azalması, uterus atonisi, güç doğum, gebelik süresinin uzun veya kısa olması, yavrunun erkek olması, plasentomların olgunlaşmaması, Vit E, Se yetersizliği, hipokalsemi, plasentitis, buzağılama şartlarının hijyenik olmaması, çiftlik yönetiminin düzgün olmaması, stres, mevsimler, sıcaklık stresi, brusellosiz, leptospirozis, listeriyozis, IBR ve immun sistemi bozan diğer immun suprese hastalıklardır (Hoque ve ark., 2016).

Doğuma yakın dönem ve doğum sonrası dönemde ineklerin rasyonlarındaki Vit E seviyelerinin artırımı α-tokoferolün hücre membranlarına girişini arttırmakta ve nötrofil fonksiyonunun artışını sağlayarak oksidatif stres ile daha iyi mücadele edilebilmektedir (Hoque ve ark., 2016; Shafers ve ark., 2017). Nötrofil fonksiyonunun artışının feto-maternal doku aktivesini artırarak RS oranında düşüş sağladığı bildirilmektedir (Hoque ve ark., 2016).

Doğum sırasında α-tokoferol kolostruma geçtiği için kandaki seviyesi düşmekte ve bu yüzden Vit E ihtiyacı artmaktadır. Özellikle doğuma yakın besleme döneminde laktasyona göre iki kat oranda Vit E verilmesi önerilmektedir. 650 kg ağırlığındaki bir ineğin Vit E gereksinimi en az prepartum süreçte 1000 IU, laktasyonda günlük 500 IU olarak önerilmektedir (NRC, 2001). Aslında bilimsel çalışmaların yetersizliğinden dolayı Vit E'nin ineklerdeki gereksinimi tam olarak bilinmemektedir. Taze yemlerle beslenen ineklerde bu gereksinimler daha az olmaktadır fakat günümüz hayvancılığında TMR ile besleme yapılan işletmelerde Vit E eksikliği daha fazla olmaktadır. Eğer rasyondan alınan Vit E alımı yetersizse kandaki α-tokoferol seviyesi düşmekte ve RS riski artmaktadır (Pontes ve ark., 2015).

2.9. Fertilite Parametreleri ve E Vitamini İlişkisi

İneklerde peripartum dönem ve postpartum dönemler de immun sistem baskılanarak doğumdan sonra birçok metabolik hastalık ortaya çıkmaktadır. Bu hastalıklardan ve çevre kontaminasyonlarından dolayı ineklerde uterus enfeksiyonları yaygın olarak görülmektedir. Laktasyonun diğer dönemlerine nazaran doğumdan sonraki ilk bir haftalık süreçte ineklerin uteruslarının %85 ila 93'ü bakteriler ile kontaminasyon halindedir (Harrison ve ark., 1984). Enfeksiyona neden olan bakteriler

genellikle; Pseudomonas aerogenosa, Escherichia coli, Trueperella pyogenes, Pasterolla multocida, Staphylococcus aureus, Prevotella türleri ve Fusobacterium türleridir. Sütçü işletmelerde, uterus enfeksiyonları büyük ekonomik zararlara yol açmaktadır. Fakat buna rağmen bu enfeksiyonların kontrolünde ve korunmasında çok az önlem alınmaktadır. Bu yüzden, uterus enfeksiyonların önüne geçici önlemler alınması, sütçü işletmeler için faydalı bir koruyuculuk ve ekonomik açıdan önem arz etmektedir (Ganaie ve ark., 2018).

Doğumdan sonra görülen aşırı kondisyon kayıpları, negatif enerji dengesi (NED), metabolik hastalıklar ve uterus enfeksiyonları ineklerde fertilite başarılarında düşüşlere ve infertiliteye neden olabilmektedir (Kandelousi ve ark., 2020). Doğumla birlikte aşırı vücut kondisyon skoru kaybeden inekler de zor doğum, metabolik hastalıklar, RS ve bunlara bağlı endometritis, metritis ve septik metritislerin görülme ihtimali daha yüksek olmaktadır. Bunun yanında, VKS 4'ün üzerinde olan ineklerde de zor doğum ve ayrıca zayıf kas tonusu nedeniyle metritislerin ve RS'lerin şekillenmesi daha olasıdır (Ganaie ve ark., 2018). Metabolik hastalıklar sonucu vücutta biriken ROT'lar uzun süreli olarak steroid ve prostaglandin üretimi, spermatogenez üzerine olumsuz etki edebilmekte ayrıca embriyonik gelişime zarar vererek birçok üreme bozukluklarına sebep olabilmektedir (Kandelousi ve ark., 2020). Genital kanalları normale göre uzun süre daha açık kalan ineklerde uterusun dışkı ile kontaminasyonu daha fazla olmaktadır. Bu yüzden bazı araştırmacılara göre ineklerde septik metritisin, endometritisin ve infertilitenin en yaygın nedeninin RS olduğu bildirilmektedir. Diğer bazı çalışmalar ise RS'nin direkt olarak infertilite nedeni olmadığını savunmaktadır (Günay ve ark., 2011).

İneklerin tohumlama anındaki sağlık durumları da konsepsiyon başarılarını etkilemektedir. Hidrojen peroksit, süperoksit anyon ve hidroksil radikal gibi ROT'lar dişi üreme sisteminde bulunan serbest radikallerdir. Bu reaktif oksijenlerin vücutta üretimi fizyolojiktir ve bu radikaller vücudun antioksidan durumu ile hassas bir denge halindedirler. Serbest yapıdaki bu radikallerin fazlalıklarının fertilizasyon başta olmak üzere reproduktif olayları negatif olarak etkiledikleri ve infertiliteye sebep oldukları bildirilmektedir (Günay ve ark., 2011). Özellikle son yıllarda çok kullanılan senkronizasyon sonucu tohumlanan ineklerde enjeksiyonların yarattığı stres sonucu

tohumlama başarıları düşebilmektedir. Bu stres koşullarını en aza indirgemek için antioksidanlar tohumlama anında veya öncesinde kullanılabilmektedir. Ovulasyondan önce Vit E takviyesinin bu serbest radikallerin sayısını azaltarak fertiliteye olumlu katkı sağladığı bildirilmiştir (Sönmez ve ark., 2009). Ayrıca, Vit E'nin erken embriyonik dönemde embriyoyu sıcaklık stresinin etkilerinden koruduğu ve embriyonik kayıpları azalttığı da bildirilmektedir (Gouvea ve ark., 2018).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hayvan Materyali ve Çalışma Gruplarının Oluşturulması

Çalışmanın hayvan deneyleri kısmı ‘’37.465672, 29.425423‘’ koordinatlarında bulunan, 2005 yılında, Denizli’nin- Acıpayam ilçesinde özel bir damızlık süt işletmesi olan AtaSancak Acıpayam Tarım İşletmesi San. Tic. A.Ş’inde yürütüldü. Laboratuvar analizleri Vetlab Veteriner Teşhis Laboratuvarında, veri analizleri Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalında yürütülmüştür.

Sunulan bu çalışmada laktasyonları farklı 403 inek kullanılmıştır. Deneme süresince belirlenen gruplardan kan materyalleri vena coccygea’dan alınarak laboratuvarda santrifüj yapılarak serumları çıkartıldı ve -20 C° de muhafaza edilerek analizleri Vetlab Veteriner Teşhis Laboratuvarın (İstanbul)’da serum α-tokoferol seviyeleri ölçtürülmüştür.

Çalışma iki aşamalı planlanmıştır ve iki çalışma birbirinden bağımsız olarak yönetilmiştir. Birinci aşamada 207 inek ile Vit E enjeksiyonlarının başta RS olmak üzere fertilite parametrelerine etkisi araştırılırken, ikinci aşamada ise senkronizasyon sonucu tohumlaması yapılacak olan 196 ineğe tohumlama anında yapılan Vit E enjeksiyonlarının fertilite üzerine etkisini görmek için, çalışmada toplam 403 Holstein-Friesian ırkı inek kullanılmıştır.

Birinci aşamada doğumlarına ortalama 23,5 ± 2,5, 16 ± 2,5, 9 ± 2,5 gün kalan, laktasyon ortalamaları 1,6 (1-8. laktasyon arasında) olan 55 baş bir kez doğum yapmış inek, 152 baş ise çoklu doğum yapmış inek olmak üzere toplamda 207 inek seçildi ve bu gruplandırmalar aşağıdaki gibi oluşturulmuştur.

- Peripartium dönem Vit E enjeksiyon grubu (n=103) = $PP_{VİT\text{-}E}$
- Peripartium dönem kontrol grubu (n=104) = $PP_{KONT.}$

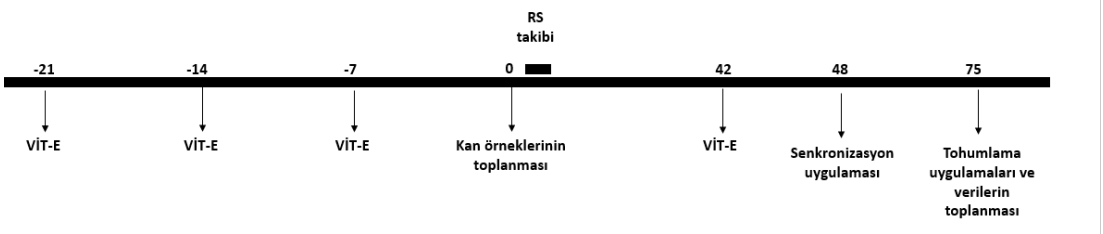
$PP_{VİT\text{-}E}$ grubundaki ineklere doğumlarına ortalama 21, 14 ve 7 gün kala Vit E enjeksiyonu yapıldı, RS ve üreme parametrelerine bakılmıştır (Şekil 3.1.).

$PP_{KONT.}$ grubundaki ineklere ise doğumlarına ortalama 21, 14 ve 7 gün kala fizyolojik tuzlu su (FTS) (NaCl) yapılarak aynı parametreler takip edilmiştir (Şekil 3.2.).

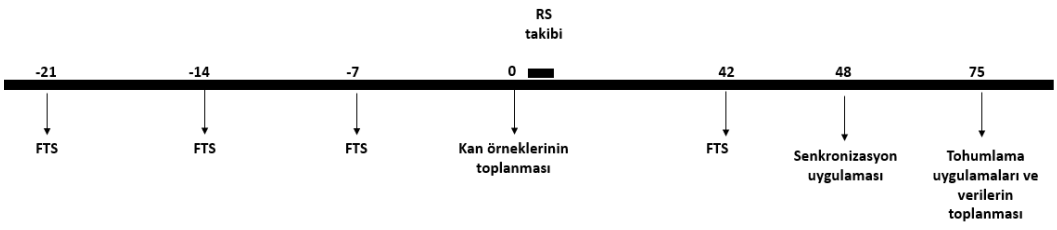
Çalışmanın ikinci aşamasında ise, $PP_{VİT\text{-}E}$ ve $PP_{KONT.}$ gruplarındaki ineklerden tamamen bağımsız olarak, senkronizasyon sonucu (double-ovysnch) ilk tohumlama gününe gelen 158 baş çoklu doğum yapmış ve 38 baş bir kez doğum yapmış inek olmak üzere toplam 196 inek kullanılmış ve rastgele aşağıdaki gibi gruplandırılmıştır.

- Suni tohumlama zamanı Vit E enjeksiyon grubu (n=99) = $ST_{VİT\text{-}E}$
- Suni tohumlama zamanı kontrol grubu (n=97) = $ST_{KONT.}$

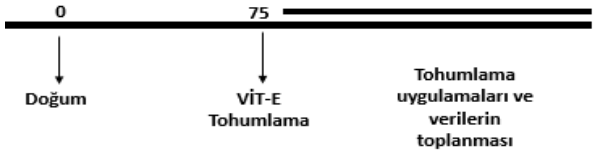
$ST_{VİT\text{-}E}$ grubundaki ineklere tohumlama anında Vit E enjeksiyonu yapılırken (şekil 3.3.), $ST_{KONT.}$ grubundaki ineklere ise tohumlama anında FTS yapılarak (şekil 3.4.) tohumlama başarıları takip edilmiştir.



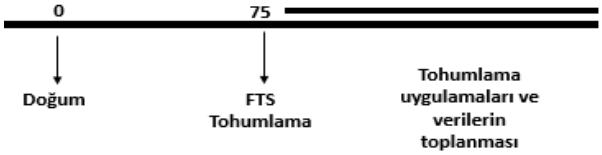
Şekil 3.1. $PP_{VİT\text{-}E}$ grubu çalışma dizaynı.



Şekil 3.2. $PP_{KONT.}$ grubu çalışma dizaynı.



Şekil 3.3. $ST_{VİT\text{-}E}$ grubu çalışma dizaynı.



Şekil 3.4. $ST_{KONT.}$ grubu çalışma dizaynı.

3.2. Barınak Yapısı

Çalışmadaki inekler 214 metre uzunlukta, 31,1 metre genişlikte, 4,90 metre saçak yükseklikte, 360 adet kafa kilidi ve 300 adet yataklık bulunan yarı açık barınaklarda tutulmuşlardır. Barınaklarda yataklık altlığı olarak kum kullanılmış, günlük olarak temizlenmiş ve özel aparatla havalandırılmış, haftada iki kez ise üzerine temiz kum ilave edilmiştir. Her grupta 250 lt hacminde 10 adet suluk bulundurulmuştur. Ayrıca her grupta yerden 3,15 metre yükseklikte, 21 derece açıyla konumlandırılmış 12 metre aralıklarla 18 adet fan bulunmaktadır. Bunun yanında her grupta kafa kilitlerinin üzerinde 3 metre aralıklarla 72 adet sprink yer almaktadır. Ortam sıcaklığı 18 derecenin üzerinde çıktığı anda fanlar ve sprinkler otomatik olarak çalışmaktadır. Grupların zemin temizliği ise günde 2 kez her defasında 45 metreküp basınçlı su kullanılarak flushing sistemi ile yapılmıştır. Hayvanlar yataklık sayısına göre doğum sonrası ilk 21 günde % 60-70, doğum sonrası 21-90 günde ise %80-99 stok yoğunluğu ile barındırılmaktadır.

3.3. Hayvanların Beslenmesi

$PP_{VİT\text{-}E}$ ve $PP_{KONT.}$ gruplarındaki hayvanlar aynı şartlar altında doğuma ortalama doğuma 21 gün kala yakın kuru rasyonu ile beslenmiştir. Doğumdan sonra ise sağılan gün sayısı (SGS) 21'e kadar erken laktasyon rasyonu ile beslenmiştir, erken laktasyon rasyonun enerjisi yakın kuru rasyonuna göre daha yüksektir. Doğumdan 21 gün sonra ise inekler laktasyon rasyonuna geçiş yapmaktadır. Yemler TMR formunda 46 m^3 hacimli 2 adet sabit elektrikli vagonda hazırlanmakta, günde iki defa yem dağıtımı yapılmakta, 1-1,5 saat aralıklarla yem itme yapılmaktadır ve ad libitum besleme metodu uygulanmaktadır. Yakın kuru (Tablo 3.1.), erken laktasyon rasyon (Tablo 3.2.), ve laktasyon rasyon (Tablo 3.3.), içerikleri tablolardaki gibidir.

Tablo 3.1. Yakın kuru dönemde kullanılan deneme rasyonlarının hammadde ve besin maddesi kompozisyonları

Parametreler	Rasyon Çoklu Doğum Yapan İnek	Rasyon Tekli Doğum Yapan İnek
Kuru Madde Tüketimi kg/gün	12,75	11,10
Ham Protein %	12,90	12,10
Yıkımlanabilir Protein %	7,83	5,48
NDF %	44,90	48,09
ADF %	29,11	32,03
Şeker %	2,50	2,79
Nişasta %	20,53	20,48
NFC %	31,23	30,53
Çözünebilir Lif %	4,43	2,60
Yağ %	2,44	2,13
Nel Mcal/kg	1,40	1,36
Ca %	0,99	0,36
P %	0,32	0,38
Mg %	0,42	0,21
Na %	0,07	0,08
Cl %	1,53	0,40
Vit-E mg/gün	2000,00	2000,00
DCAD mEq/100g	-19,50	15,75

Tablo 3.2. Erken laktasyon, doğum sonrası 1-21 günlerde kullanılan rasyonun hammadde ve besin maddesi kompozisyonu ve parametreleri

Parametreler	**Rasyon Parametre Değerleri**
Kuru Madde Tüketimi kg/gün	17.89
Ham Protein %	17.35
Yıkımlanabilir Protein %	8.4
NDF %	29.49
ADF %	21.21
Şeker %	5.33
Nişasta %	21.25
NFC %	38.96
Çözünebilir Lif %	8.98
Yağ %	5.57
Nel Mcal/kg	1.97
Ca %	1.07
P %	0.39
Mg %	0.52
Na %	0.71
Cl %	0.47
DCAD mEq/100g	41.75

Tablo 3.3. Doğum sonrası dönemde (laktasyon) 21-90 günlerde kullanılan rasyonun hammadde ve besin maddesi kompozisyonu ve parametreleri

Parametreler	**Rasyon Parametre Değerleri**
Kuru Madde Tüketimi kg/gün	27.03
Ham Protein %	16.25
Yıkımlanabilir Protein %	7.6
NDF %	27.53
ADF %	18.6
Şeker %	4.5
Nişasta %	27.75
NFC %	45.02
Çözünebilir Lif %	8.74
Yağ %	4.92
Nel Mcal/kg	1.66
Ca %	0.48
P %	0.36
Mg %	0.38
Na %	0.52
Cl %	0.37
DCAD mEq/100g	26.03

Kullanılan hammaddelerden yonca kuru otu %16-18 ham protein, buğday samanı %3-5 ham protein, mısır silajı %34 kuru madde ve kuru maddede %28-30 nişasta içeriğine sahip olup kanola küspesi %33-35 ham protein içermektedir.

3.4. Vit E Uygulaması

Çalışmada ilk olarak, işletmenin sürü yönetim programı olan Delpro Software 5.8 programı ile doğuma yakın zamandaki ineklerden kontrol ve Vit E grupları belirlenerek listeler hazırlanmıştır. İşletmede doğumları yaklaşan inekler her salı günü belli sayıda olacak şekilde uzak kuru ahırları gruplarından yakın kuru gruplara aktarılmıştır. Her hafta salı günü aktarılan $PP_{VİT\text{-}E}$ ve $PP_{KONT.}$ gruplarındaki bu ineklere

Vit E ve fizyolojik tuzlu su (NaCl) enjeksiyonları yapılmaya başlanmış ve çalışmaya 4 hafta boyunca yeni inekler eklenerek aynı prosedür aşağıdaki anlatıldığı gibi uygulanmıştır.

Çalışma, birbirinden farklı iki bölümden oluşacak şekilde toplamda 406 Holstein-Friesian ırkı inek deneme ve kontrol grupları oluşturularak başlatılmıştır.

1. $PP_{VİT\text{-}E}$ ve $PP_{KONT.}$ grubundaki inekler doğumlarına ortalama 23,5 ± 2,5; 16 ± 2,5; 9 ± 2,5 gün olacak şekilde, laktasyon ortalamaları 1,6 (0-8. laktasyon arasında) olan 55 baş bir kez doğum yapmış inek, 152 baş ise çoklu doğum yapmış inek olmak üzere toplamda 207 inek çalışmaya dahil edilmiştir.

1.1. $PP_{VİT\text{-}E}$ (n=103); bu gruptaki inekler de doğumlarına ortalama 23,5 ± 2,5; 16 ± 2,5; 9 ± 2,5 gün kala ve SGS 42 olduğunda her hafta 6 ml (900 IU dl-alfa tokoferol asetat) kas içi olarak Vit E enjeksiyonu yapılmıştır.

1.2. $PP_{KONT.}$ (n=104); bu gruptaki inekler de doğumlarına ortalama 23,5 ± 2,5; 16 ± 2,5; 9 ± 2,5 gün kala ve SGS 42 olduğunda her hafta %0,9 NaCl izotonik, 6 ml kas içi olarak enjekte edilmiştir.

2. Çalışmanın ikinci kısmında $ST_{VİT\text{-}E}$ ve $ST_{KONT.}$ grubundaki inekler, doğumlarından sonra gönüllü bekleme sürelerini tamamlamış $PP_{VİT\text{-}E}$ ve $PP_{KONT.}$ gruplarındaki ineklerden tamamen bağımsız olarak; 158 baş çoklu doğum yapmış ve 38 baş ilkine doğum yapmış inek olmak üzere 196 ineklerden oluşmaktadır.

2.1. $ST_{VİT\text{-}E}$ (n=99); Double ovysnch ile senkronize edilmiş ortalama sağılan gün sayısı 78 olan ineklere tohumlama anında 900 IU, (dl-alfa tokoferol asetat), 6 ml kas içi olarak uygulanmıştır.

2.2. $ST_{KONT.}$ (n=97); Double ovysnch ile senkronize edilmiş ortalama sağılan gün sayısı 78 olan ineklere tohumlama anında 6 ml %0,9 NaCl izotonik kas içi uygulanmıştır.

Toplamda çalışmada, $PP_{VİT\text{-}E}$ (n=103), $PP_{KONT.}$ (n=104), $ST_{VİT\text{-}E}$ (n=99) ve $ST_{KONT.}$ (n=97) gruplarında toplam 403 Holstein-Friesian ırkı inek ile çalışma yürütülmüştür.

Vit E enjeksiyonları (Evigen® Aksu Farma, İstanbul/TÜRKİYE) beşerî preparat alınarak yapılmıştır. Preparatın içindeki her bir ampul de (2 ml) 300 mg dl-alfa tokoferol asetat bulunduğu belirlenmiştir.

3.5. Doğum Sonrası Yönetim

$PP_{VİT\text{-}E}$ ve $PP_{KONT.}$ grubundaki inekler doğumdan sonra yeni doğum yapan bölümüne alınmıştır. Burada başta hipokalsemi olmak üzere bütün metabolik hastalıklar yönünden inekler takibe alınmış ve hastalık geçirenlerin kayıtları tutularak sisteme kaydedilmiştir. Ayrıca doğum anından itibaren yavru zarlarının atılımı takip edilmiştir. Zarların atılımı 24 saatten uzun süren ya da kısmi olarak zarlarını atan inekler RS olarak kabul edilmişlerdir. Gebeliğin son haftasında ölü doğum yapan inekler ile yavruları doğumdan sonraki ilk 3 saat içinde ölenler ölü doğum olarak kaydedilmiştir. İşletmede rutin olarak uygulanan, doğumdan sonraki ilk 7 gün boyunca günde 1 defa ateş, uterus akıntısı, RS, septik metritis, mastitis, abomasal deplasman, ketozis, gibi metabolik hastalıklar yönünden deneme ve kontrol grubundaki tüm hayvanlar kontrol edilmiş ve gerekli olanlara tedavi yapılmıştır. RS tanısı konulan ineklere işletme protokolü gereği 5 gün boyunca ceftiofur hydrochloride, (Eficur® 50 mg, HIPRA) kas içi, eğer vücut ısısı yüksekse tedaviye ek olarak 3 gün kas içi ketoprofen (Vilprofen®, VİLSAN) yapılmıştır.

$PP_{VİT\text{-}E}$ ve PP_{KONT} grubundaki inekler aynı koşullarda bakım ve beslenmesi yapılarak, senkronizasyon işlemi sağılan gün ortalama 51±3 olduğunda haftalık olacak şekilde double ovysnch protokolüne başlatılmıştır. Gönüllü bekleme süresi doğumdan sonra 73 gün olan ineklere bu döneme kadar kızgınlık gösterseler bile tohumlama yapılmamıştır. Gönüllü bekleme süresini tamamlayan inekler aynı koşullarda senkronizasyon yöntemi veya kızgınlıkla tohumlanarak kayıt altına alınmıştır.

3.6. Kızgınlık Takibi

Doğum sonrası $PP_{VİT\text{-}E}$ ve PP_{KONT} grubundaki inekler, senkronizasyonun başladığı 48. güne kadar gözlem yolu ile günde 3 kez olmak üzere östrus belirtisi (başka bir ineğin kendi üzerine atlamasına izin vermesi, bu durumda hareketsiz kalması, huzursuzluk, çara akıntısı, bağırma, vulvanın hiperemik ve nemli olması) gösteren inekler belirlenmiş ve sürü takip sisteminde kaydedilmiştir.

3.7. Suni Tohumlama Uygulaması

Doğum sonrası ineklere gönüllü bekleme süresi olan 73 günden önce herhangi bir suni tohumlama yapılmamıştır. Bu süreç zarfında inekler SGS'leri 51±3 olduğunda double ovsynch protokolüne başlatıldı ve SGS 78±3 olduğunda ilk tohumlamaları yapılmıştır. Uygulanan senkronizasyon programı aşağıdaki uygulanmıştır.

Senkronizasyon programlarında hormon olarak, 0,075 mg cloprostenol (Dalmazin, GÜNEŞLİ A.Ş.) ve Lecirelin 0,0262mg/ml (Dalmarelin, GÜNEŞLİ A.Ş.) kullanılmıştır. İlk tohumlamadan gebe kalmayan ineklerin diğer tohumlamaları resenkronizasyon yöntemi ile yapılmıştır (Matthew CL, 2012).

Deneme ve kontrol grubunda doğum ilk östrus, ilk tohumlama gebelik oranı, 1., 2. ve 3. tohumlama gebelik oranları, postpartum 200 günde gruplarda gebelik oranları, boş geçen gün sayısı gibi fertilite parametreleri analiz edilmiştir.

3.8. Gebelik Muayenesi

$PP_{VİT\text{-}E}$, $PP_{KONT.}$ grupları ve $ST_{VİT\text{-}E}$, ST_{KONT} gruplarındaki ineklerin, tohumlamalarından sonraki 31-37 günler arası gebelik muayeneleri ultrasonografik yöntem ile işletme veteriner hekimleri tarafından yapılmıştır. Gebelik muayene işlemleri için transrektal lineer problu veteriner ultrasonografi (USG) cihazı (Hasvet 838 Veteriner Ultrason Cihazı, HASVET, Antalya/TÜRKİYE) kullanılmıştır. Gebelik sonuçları sürü yönetim programına kaydedilmiştir ve gebe çıkan ineklere 55-61 günler arasında USG ile ikinci gebelik muayenesi yapılmıştır. Birinci gebelik muayenesinde

gebe çıkan ineklerden ikinci gebelik muayenesinde negatif çıkan inekler embriyonik kayıp olarak sürü yönetim programına kaydedilmiştir.

3.9. Kan Örneklerinin Alınması, Serumların Çıkartılıp Saklanması ve Laboratuvara Gönderilmesi

Vit E enjeksiyonlarının kan serumundaki α-tokoferol yoğunluğunun değişimini görebilmek için çalışmaya başlamadan önce $PP_{VİT\text{-}E}$ grubundan 10, $PP_{KONT.}$ grubundan 10 ineğin kuyruk venalarından kan alınmıştır, aynı ineklerin hepsinden doğum yaptıkları anda tekrar kan alınmış ve serumdaki α-tokoferol yoğunluğunun değişimi hesaplanmıştır. Bu amaçla, sarı kapaklı, vakumlu, plastik jelli tüpler kullanılmış ve kan örnekleri 2000 devirde 15 dakika santrifüj edilerek serumları çıkartılmıştır. Elde edilen kan serumları 1,5 mm'lik eppendorf tüplere yedekli olacak şekilde üzerlerine hayvanların işletme küpe numaraları yazılmış ve analize gitmek üzere işletmede bulunan iki farklı derin dondurucu da ortalama -20°C de bekletilmiştir. Serumlar, α-tokoferol yoğunluğunun ölçümü için Vetlab Veteriner Teşhis Laboratuvarına yollanmıştır.

3.10. İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen veriler SPSS 22 istatistik programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Tüm verilerin kontrolü için öncelikle tanımlayıcı istatistik ve normalite testleri yapılmıştır. Fertilite parametreleri ve kan değerlerinin karşılaştırılmasında Ki-Kare (x^2) testi kullanılmıştır. Önemlilik düzeyi olarak tüm analizler için $p<0,05$ düzeyi dikkate alınmıştır. P değeri 0,05'den düşük olduğunda elde edilen veriler istatistiksel olarak önemli, yüksek olduğunda ise önemsiz olarak belirtildi. Veriler ortalama+ standart sapmalı şeklinde gösterilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Tanımlayıcı Veriler

$PP_{VİT\text{-}E}$ ve $PP_{KONT.}$ yapılan Vit E enjeksiyonlarının RS ve fertilite parametrelerine etkisinin araştırıldığı bu çalışmada elde edilen bulgular metin ve çizelge şeklinde sunulmuştur. $PP_{VİT\text{-}E}$ ve $PP_{KONT.}$ gruplarındaki toplam 207 inekten, 10 tanesi $PP_{VİT\text{-}E}$, 8 tanesi $PP_{KONT.}$ grubundan olmak üzere 18 inek tohumlama zamanına gelmeden çeşitli sorunlardan dolayı çalışmadan çıkartılmıştır.

$ST_{VİT\text{-}E}$ ve ST_{KONT}. tohumlama anında Vit E enjeksiyonlarının üreme verilerine etkisi araştırılmıştır. Çalışmaya gönüllü bekleme sürelerini doldurmuş 196 baş inek ile başlanılmış ve çalışma, aynı inek sayısı ile devam etmiştir. Toplamda, çalışma süresince kullanılan 403 inekten 18 tanesi işletme kârlılığı gereği veya hastalıklardan dolayı zorunlu olarak çalışmadan çıkartılmıştır.

4.2. Retensiyo Sekundinarum ve Fertilite Parametreleri

Sunulan çalışmada $PP_{VİT\text{-}E}$ ve $PP_{KONT.}$ grubundaki ineklerde RS görülme oranı açısından (P=0,012), değeri elde edilerek, bu farklılığın istatistiki açıdan önemli olduğu (P<0,05) bulunmuştur (Tablo 4.1.).

Doğumdan sonra takip edilen ortalama ilk kızgınlık gösterme günü parametresinde $PP_{VİT\text{-}E}$ ve $PP_{KONT.}$ grupları arasında 1 güne yakın fark olmasına rağmen (P=0,457), değeri ile (P>0,05) olduğundan istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmamıştır (Tablo 4.1.).

Çalışma dahilinde gerçekleştirilen tüm uygulamaların tamamlanmasının ardından yapılan hesaplamalar ile fertilite parametreleri değerlendirilmiştir. Birinci (P=0,794), ikinci (P=0,79), üçüncü (P=0,706) tohumlama başarıları ve SGS 200 günlük gebelik oranları (P=0,741) ayrı ayrı karşılaştırıldığında $PP_{VİT\text{-}E}$ ve $PP_{KONT.}$ grupları arasında rakamsal ve oransal düzeyde fark bulunmasına karşılık, istatistiki açıdan herhangi bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca iki grup arasında boş geçen

gün sayısı (P=0,478) olarak da istatistiki açıdan önemli fark bulunmamıştır (P>0,05) (Tablo 4.1.).

Tablo 4.1. $PP_{VİT\text{-}E}$ ve PP_{KONT} grupları RS ve fertilite parametre değerleri.

Parametreler	**$PP_{VİT\text{-}E}$**	**$PP_{KONT.}$**	**P**
RS	(5/103) %5	(16/104) %15	0,012±0,04
Doğum - İlk Östrus Aralığı	36,1	37,0	0,457±0,08
Birinci Tohumlama Başarısı	(37/93) %40	(40/96) %42	0,794±0,01
İkinci Tohumlama Başarısı	(16/55) %29	(16/56) %29	0,79±0,06
Üçüncü Tohumlama Başarısı	(11/39) %28	(10/40) %25	0,706±0,09
Boş Geçen Gün Sayısı	136,0	136,9	0,478±0,03
200 Günlük Gebelik Başarısı	(64/93) %68	(66/96) %69	0,741±0,06

$ST_{VİT\text{-}E}$ ve $ST_{KONT.}$ grupları arasında takip edilen fertilite parametreleri analizleri yapılmıştır. İki grup arasında tohumlama başarısı olarak (P=0,978) istatistiki açıdan önemli fark bulunamamıştır. $ST_{VİT\text{-}E}$ ve $ST_{KONT.}$ grupları arasında embriyonik kayıplar açısından sayısal bir farklılık olsa da bu farklılığın istatistiki açıdan (P=0,12) önemli olmadığı tespit edilmiştir (P>0,05) (Tablo 4.2.).

Tablo 4.2. $ST_{VİT\text{-}E}$ ve $ST_{KONT.}$ grupları fertilite parametre değerleri.

Parametreler	**$ST_{VİT\text{-}E}$**	**$ST_{KONT.}$**	**P**
Tohumlama Başarısı	(40/99) %40,4	(39/97) %40,2	0,978±0,07
Embriyonik Kayıp	(4/40) %10,0	(9/39) %23,1	0,12±0,08

4.3. Kan Serum Sonuçları

$PP_{VİT-E}$ ve $PP_{KONT.}$ gruplarındaki 10'ar inekten doğumlarına 23,5 ± 2,5 gün kala ve doğum yaptıkları günler alınan kan analizleri değerlenmeye alınmıştır. Bu değerlendirmeler sonucu $PP_{VİT-E}$ ve $PP_{KONT.}$ grupları arasında rakamsal düzeyde önemli farklılıklar tespit edilmiş ancak istatistiki açıdan fark önemsiz olarak bulunmuştur (P>0,05) (Tablo 4.3.).

Tablo 4.3. $PP_{VİT-E}$ ve $PP_{KONT.}$ grupları kan serum ortalama α-tokoferol değerleri

α-tokoferol Değerleri	**$PP_{VİT-E}$ (µg/ml)**	**$PP_{KONT.}$ (µg/ml)**
Yakın kuru	3,33±0,7	2,85±0,9
Doğum anı	4,99±0,8	3,10±0,6

5. TARTIŞMA

Sütçü inek işletmelerinde geçiş döneminde görülen hastalıklar, immun sistemin zayıfladığı doğum veya doğumdan hemen sonraki periyotta meydana gelmektedir. Prepartum dönemde başlayan immun supresyonu tetikleyen birçok etken vardır ve bunlardan birisi de kritik vitamin mineral alımının azalması veya tamamen eksikliğidir (Kafilzadeh ve ark., 2014). Choonkham ve ark. (2021) bu immun supresyonu, gebeliğin geç döneminde birçok süt ineğinin yüksek seviyede oksidatif stres yaşamasına bağlamaktadır. Kandelousi ve ark. (2020) ise ineklerin geçiş döneminde görülen stres, vücut yağ dokularının aşırı mobilizasyonu, hücresel hasarlar ve enfeksiyonlarla birlikte ciddi enerji ve besin eksiklikleri yaşadıklarını bildirmektedir. Castillo ve ark. (2005)'da bunlara ek olarak çalışmalarında, doğumdan sonraki dönemde görülen kolesterolemi, serumda trigliserit artışı, azalan kuru madde tüketimi sonucu artan lipid katabolizmasından kaynaklandığını ve ineklerde kondisyon skoru düşüşü yaşanarak negatif enerji dengesinin olumsuz etkilendiği ve immun supresyonun meydana geldiğini savunmaktadır. Sordillo ve Aitken (2009) bu dönemde fetal büyüme ve laktasyon için gerekli olan enerji gereksiniminin arttığını ve bunu karşılamak için vücutta değişimler meydana geldiğini, artan metabolik olaylar sonucunda vücutta ROT'ların arttığını ve artan ROT üretimi ile antioksidan savunmanın arasında oluşan dengesizliklerin, inekleri oksidatif strese maruz bıraktığını savunmaktadır. Buna paralel olarak Xiao ve ark. (2021) özellikle geç gebelikten pik laktasyona geçiş sırasında oksidatif stresin, RS başta olmak üzere, yağlı karaciğer sendromu, ketozis, mastitis ve metritis gibi çeşitli hastalıklara neden olduğunu bildirmişlerdir. Tüm bu bilgiler ışığında özellikle bu dönemde görülen hastalıkların ineklerin tekrar gebe kalmalarında problemlere ve infertiliteye neden olduğu çalışmalarda kaydedilmektedir (Balamurugan ve ark., 2017; Khatti ve ark., 2017; Xiao ve ark., 2021).

Başarılı bir postpartum dönem için hayvan besleme çok önemlidir, özellikle geçiş döneminde artan stres koşullarını minimize etmek için rasyonlarda antioksidan etkili vitaminler kullanılmaktadır (Xiao ve ark., 2021). Bu vitaminlerden biri olan Vit E, serbest radikal aracılı doku hasarını önleyebilen güçlü bir antioksidan olması ve bunun sonucunda belirli dejeneratif ve inflamatuar hastalıkların oluşumunu

önleyebildiği bildirilmektedir (Xiao ve ark., 2021). Gobert ve ark. (2009) Vit E'nin ineklerde özellikle geçiş döneminde oksidatif stresi engellediği için rasyonlarda yüksek seviyeler de kullanılmasını önermektedir. Doğum sırasında artan kortizol seviyesinden dolayı antioksidan ihtiyacında artış yaşanmaktadır fakat doğumla birlikte Vit E'nin kolostrogenesis ile kolostruma geçmesi ve bu dönemde azalan yem tüketiminden dolayı, Vit E'nin plazma konsantrasyonunda %47 oranında bir kayba uğradığı bildirilmektedir (Kafilzadeh ve ark., 2014). Buna paralel olarak, NRC (2001)'e göre normal süt 0,4-0,6 µg/ml oranında α-tokoferol içerirken bu oran kolostrumda, 3-6 µg/ml olabilmektedir. Bu yüzden kolostrogenesis sırasında ekstra Vit E ihtiyacı oluşmakta bu da enjektabl, oral veya rasyon yoluyla ineğe prepartum süreçten itibaren verilmesi gerektiği ifade edilmekte, yapılan çalışmalarda, peripartum dönemde rasyonla veya parenteral uygulamalarla verilen Vit E'nin nötrofillerin ve makrofajların fonksiyonlarını güçlendirdiği de bildirilmektedir (NRC, 2001). Aynı şekilde Bourne ve ark. (2007) gebeliğin son 4-6 haftasında yeme katılan veya enjektabl olarak yapılan Vit E takviyesinin, kandaki Vit E konsantrasyonlarındaki düşüşü önleyebildiği ve nötrofillerin öldürme yeteneklerini artırabildiğini savunmaktadırlar. Arechiga ve ark. (1994) özellikle doğuma yakın dönemlerde Vit E ve Se enjeksiyonlarının üreme performansını etkisini ölçme adına birçok çalışma yapıldığını ve farklı sonuçlar elde edildiğini bildirmiş ve bunun sebeplerinden bazılarının; rasyondaki Vit E ve Se oranları, enjekte edilen doz miktarları, zamanlama gibi unsurların çalışmalardaki üreme performanslarında kötüleşmeye veya iyileşmeye yol açtığını bildirmişlerdir. Kandaki düşük miktardaki α-tokoferol miktarı özellikle RS ve erken dönem mastitise neden olmaktadır (LeBlanc ve ark., 2002). Jensen ve ark. (2020), yaptıkları çalışmada intramüsküler olarak uygulanan α-tokoferol stereo izomerleri, tek bir oral dozda uygulanan eşdeğer miktarda Vit E'ye göre daha yüksek ve uzun süreli plazma α-tokoferol stereo izomer konsantrasyonları sağladığını belirtmişlerdir.

Süt sığırlarında özellikle geçiş döneminde kandaki Vit E seviyesinde önemli düşüşler olduğu gözlemlenmektedir (Xiao ve ark., 2021). Fakat Vit E seviyesini ölçmek için pratik erken izleme yöntemlerinin olmamasından dolayı, klinik veya subklinik Vit E eksikliğinin zamanında tespit edilmesi zor olduğu kaydedilmektedir

(Qian ve ark, 2021). Kandelousi ve ark. (2020) kan serumundaki normal Vit E konsantrasyonunun doğum sırasında %47 oranında azaldığını, bu azalmanın en büyük nedeninin doğum sonrası α-tokoferol'ün yüksek miktarda kolostruma geçmesine bağlamaktadır. Beeckman ve ark.'nın (2010) yaptıkları bir çalışmada kuru dönem ve doğum sonrası erken dönemde kan plazma Vit E düzeylerinin %20 ve %21 oranında 3 µg/ml altında tespit edilmiş ve orta laktasyona göre bu dönemlerde Vit E eksikliği daha fazla görülmüştür. Sunulan çalışmada doğumdan 21 gün önce (yakın kuru) her iki grupta alınan kan örneklerinin 3.09 µg/ml'nin üstünde olduğu tespit edilmiştir. Bu durum yukarıda bildirilen Xiao ve ark. (2021) ve Beeckman ve ark. (2010)'nın çalışması ile benzerlik göstermektedir. Fakat çalışmada belirli aralıklarla rutin kan örneklemesi yapılmadığı için artış ve azalışları daha ileri boyutta tespit edilememiştir.

Sütçü ineklerde α-tokoferolün plazmada 2-3 µg/ml arası konsantrasyonları, subklinik Vit E eksikliği olarak tanımlanabilmektedir (Stricklan ve ark. 2021). İneklerde kan plazma α-tokoferol seviyesinin <2 µg/ml olması eksiklik olarak kabul etmektedirler. Beeckman ve ark. (2010) göre, ineklerde kan plazmasındaki Vit E seviyeleri 3 µg/ml sınırlarında olduğunda Vit E düzeyi genellikle yeterli kabul edilmektedir. Baldi (2005)'ye göre ise α-tokoferol plazma seviyeleri 3-3.5 µg/ml'nin üzerinde ise yeterli kabul etmektedir. Buna karşılık Horn ve ark. (2010), kan plazma seviyeleri 2 µg/ml altında ise eksiklik, 4 µg/ml üzerindeki seviyelerin ise yeterli olduğunu bildirmektedirler. Bu çalışmalar değerlendirildiğinde Vit E değerlerinin farklılık gösterdiği anlaşılmaktadır. Sunulan çalışmada yakın kuru dönemde alınan örneklerde ortalama 3.09 µg/ml değeri saptanmıştır. Bu verilere göre sunulan çalışmada elde edilen değer α-tokoferolün yeterli olduğunu göstermektedir. Fakat Horn ve ark.(2010) referans alındığında bu değer Vit E için yetersiz görülmektedir. Uygulanan Vit E enjeksiyonları sonucunda $PP_{VİT\text{-}E}$ grubunda serum α-tokoferol değerinin 4.99 µg/ml düzeyine yükseldiği ve belirtilen çalışmalardaki tüm referans değerlerin üstüne çıktığı tespit edilmiştir. Yani ortalama 1,66 µg/ml artış kaydedilmiştir.

Julien ve ark. (1976)'nın yaptıkları çalışmada Vit E enjeksiyonu uygulanan işletmelerde RS insidansının azaldığı, fakat bu etkilerinin Se eksikliği olan rasyonlarda daha büyük oranda görüldüğünü savunulmaktadır. Pontes ve arkadaşlarına (2015) göre

ise rasyona ilave olarak yapılan Vit E enjeksiyonlarının başta RS olmak üzere üreme parametrelerine olumlu etkisi olduğunu kaydetmektedirler. Bourne ve ark. (2007)'ları da yaptıkları bir analiz çalışmasında, prepartum dönemde herhangi bir yöntemle takviye olarak verilen Vit E'nin aynı şekilde RS'ye yakalanma riskini azalttığını kaydetmişlerdir. Sunulan bu çalışmanın yapıldığı işletmede doğuma yakın dönemde günlük rasyona rutin olarak 2000 mg/gün α-tokoferol ilave edilmiştir. Bunlara ek olarak yapılan Vit E enjeksiyonları sonucunda, Pontes ve ark. (2015) ile Bourne ve ark. (2007)'larının yaptıkları çalışmaları ile sonuçların uyumlu şekilde olduğu ve RS oranının istatiksel olarak azaldığı tespit edilmiştir.

İneklerde RS, normal doğum yapan ineklerde %8, güç doğum yapanlarda ise %25-55 oranında görülebilmektedir (Kaymaz ve ark., 2019). Laven ve Peters (1996)'e göre, sürülerdeki insidansı %3'ten 39'a kadar çıkabilmektedir. Trinder ve ark. (1969) yaptıkları çalışmada doğumdan önce 680 IU Vit E ve 15 mg Se enjeksiyonun RS'yi engellediğini bildirmiştir. Kandelousi-Moghimi ve ark. (2020) yaptıkları araştırma sonucunda, Vit E takviyesinin yapıldığı uygulamalarda; sürülerde RS görülme riskinin ortalama %6,17 oranında azaldığını belirtmişlerdir. Arechiga ve ark. (1998) ise doğumlarına ortalama 21 gün kalan ineklere uyguladıkları 10 ml Vit E ve Se preparatı sonucu deneme grubunda RS oranı %3 iken, kontrol grubunun RS oranının %10,1 olduğunu bildirmişlerdir. Aynı şekilde Erskine ve ark. (1997) da yaptıkları bir çalışmada doğuma 8 veya 14 gün kalan ineklere uyguladıkları 3000 IU Vit E'nin RS oranını %12,5 dan %6,4'e düşürdüğünü kaydetmişlerdir. Bourne ve ark. (2008) doğumdan iki hafta önce bir doz ve doğumdan sonra 24 saat içinde ikinci doz olacak şekilde Vit E enjeksiyonu uyguladıkları ineklerde, RS oranının %6,5'ten %3 oranına düştüğünü ifade etmişlerdir. Yapılan bu çalışmada ise uygulanan Vit E enjeksiyonlarının doğum sonrası RS insidansı $PP_{VİT\text{-}E}$ ve PP_{KONT} gruplarındaki laktasyon ortalamaları 1,6 olan ineklerin RS görülme oranı sırasıyla; %4,9 ve %15,4 olarak bulunmuştur ve bu değerler arasındaki farkın istatistiki açıdan önemli olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak sunulan bu çalışmada da (Arechiga ve ark, 1998; Bourne ve ark, 2008; Erskine ve ark, 1997; Kandelousi-Moghimi ve ark, 2020; Laven ve Peters 1996; Xiao ve ark. 2021) çalışmalarına paralel olarak RS oranı azalmış ve diğer çalışmalarla benzer sonuçlar elde edilmiştir.

LeBlanc ve ark. (2002) doğumlarına 4-10 gün kalan ineklere tek doz 3000 IU yapılan Vit E'nin RS üzerine olumlu bir etkisinin olmadığını ifade etmişlerdir. Hıdıroğlu (1989) doğumlarına 21 gün kalan ineklere uyguladığı 2040 IU Vit E enjeksiyonunun RS ve üreme parametreleri üzerine olumlu bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Diğer bir farklı çalışmada da Schingoethe ve ark. (1982) doğuma 21 gün kala uygulanan Vit E enjeksiyonunun RS ve üreme parametrelerine etkisinin olmadığını belirtmişlerdir. Sunulan bu çalışma verileri ise yukarıda bahsedilen çalışmalarla benzerlik göstermemektedir. Bu durumun nedeninin belirtilen çalışmalarda enjeksiyon uygulama günlerinin farklılığından kaynaklanıyor olabileceği tahmin edilmektedir. Schingoethe ve ark. (1982) Vit E enjeksiyonundan 8 gün sonra kandaki α-tokoferol seviyesinin normal seviyelere döndüğünü vurgulamışlardır. Yapılan bu çalışmada 3 doz uygulama bir hafta aralıklarla uygulanmıştır. Bu yüzden bu doz aralıklarının RS insidansının azaltılmasında etkili olabildiği düşünülmektedir.

Son yıllarda özellikle iyi yönetilen işletmeler, geçiş döneminde hayvan besleme ve yönetimine dikkat etseler de çoğu işletmede doğuma yakın dönemde özellikle Vit E olmak üzere diğer vitamin mineral eksiklikleri ile karşılaşılmaktadırlar (Mordak ve ark., 2017). Overton ve Yasui (2014) yaptıkları bir araştırmada rasyondaki mineral Vit E eksikliklerinin hayvansal üretim performansında %20-30 oranında performans düşüklüğü yarattığını bildirmişlerdir. Wilde (2006) ise bu gereksinimlerin son yıllarda ineklerde daha da fazla olduğunu ve tam ihtiyacın karşılanamamasının nedenlerinden birisinin, besleme stratejilerinin değişmesi (daha az mera hayvancılığı, beslemede taze kaba yemin azlığı) olduğunu savunmaktadır. Bu eksiklikler ineklerde başta RS olmak üzere birçok postpartum hastalığın görülmesine ve bunun sonucunda üreme performansında düşüşlere neden olmaktadır (Mordak ve ark., 2017). Ayrıca birçok çalışma RS'nin, postpartum uterus enfeksiyonlarına, doğum-gebe kalma aralığının uzamasına, gebelik başına tohumlama sayısının azalmasına sebep olduğu için, ekonomik açıdan önemli bir sorun olarak ortaya çıkmaktadır (Kaymaz ve ark., 2019; Mordak ve Stewart., 2015; Zahrazadeh ve ark., 2018). Griffiths ve ark. (2007) ineklerde rasyonda yeterli seviyede vitamin mineral takviyesi yapılarak bu hastalıkların oranının azaltılabileceği ve bu sayede döl veriminin arttırılabileceğini ifade etmektedirler.

Doğum sonrası ilk ovulasyon genellikle kızgınlık belirtileri göstermeden olmaktadır ve tespit edilmesi zordur. Doğum sonrası foliküler gelişim ineklerin %30 ila %80'inde meydana gelirken, ineklerin %15 ile %60' ında atreziye uğrar veya ineklerin %1 ile %5'inde kistik hale gelebilmektedir (Sartori et al., 2004; Savio, 1990). Santos ve ark. (2009) postpartum süreçte takip ettikleri 4679 ineğin sadece %41,1'nin doğumdan sonra sağılan gün sayısı 65 güne kadar kızgınlık gösterdiğini bildirmektedirler. Süt ineklerinde doğumdan sonra anöstrus görülmesinin ana sebepleri arasında NED, vücut kondisyon skoru değişimi, kuru madde tüketimi ve postpartum hastalıklar yer almaktadır (Sakaguchi ve ark., 2004). Ayrıca, geç gebelik döneminde ve erken laktasyon sırasında, fetal büyüme ve süt sentezi için besin gereksinimleri artarken, bunun yanında yem tüketiminde ortalama %30 oranında bir azalma meydana gelmektedir. Dolayısıyla çoğu inek, iyileşmesinin haftalar alabileceği bir negatif enerji dengesi NED dönemine girmektedir. Artan metabolitler (NEFA ve keton cisimleri), GH-insülin-IGF-I-glukoz sinyal yolunda birbirine bağlı değişikliklere yol açarak foliküler gelişimin bozulmasına ve doğum sonrası anöstrus görülmesine neden olmaktadır (Khatti ve ark., 2017).

Kuru dönem boyunca oral olarak günlük rasyonda 2000 mg/kg Vit E verilen ineklerin günlük 1000 mg/kg verilenlere göre; doğum sonrası gebe kalma sürelerinin daha kısa ve ayrıca ilk tohumlamada gebe kalma oranlarının daha yüksek olduğu bildirilmektedir (Moyo ve ark., 2004). Swenson ve ark. (1998) mineral ve vitamin ile beslenen ineklerin, mineral ve vitamin içermeyen rasyonlarla beslenenlere kıyasla doğum sonrası 45. günde daha yüksek oranda aktif ovaryum aktivitelerine sahip olduğunu kaydetmektedirler.

Dobbelaar ve ark. (2010). rasyonlarına Vit E takviyesi yaptıkları düvelerin ovaryumlarındaki folikül sıvılarını incelediklerinde, deneme grubunda α-tokoferol seviyelerinin daha fazla olduğunu ve bu sayede üreme performanslarının kontrol grubuna göre daha yüksek oranda olduğunu tespit etmişlerdir. Bunların aksine, Stokes ve ark. (2018) ise düvelerde yaptıkları Se, Vit E enjeksiyonlarının foliküller veya CL üzerine olumlu etkisinin olmadığını, buna benzer olarak Gonzalez-Maldonado ve ark. (2017)'da ineklerde vitamin ve mineral uygulamalarının folikül kalitesi veya CL üzerine etkisinin olmadığını savunmaktadırlar. Doğumdan sonra ineklerin ortalama

%79'u ilk kızgınlıklarını sakin kızgınlık olarak göstermekte ve bu östruslar genellikle gözlemle yakalanamamaktadır (Thatcher ve Wilcox., 1972). Ferguson ve ark. (2000) doğumdan sonra ilk östrus görülme günlerinin ortalama 33,3 gün olduğunu, aynı şekilde Funk ve ark. (1987) da çoğunlukla ineklerin postpartum 30-35. gün aralığında ilk kızgınlıklarını gösterdiklerini ifade etmektedirler. Khatti ve ark. (2017) ise özellikle geçiş döneminde Vit E takviyesi ile oksidatif stresin azaldığını, postpartum ilk östrus gösterme günlerinin daha erken olduğunu bildirmektedirler. Sunulan bu çalışmada, doğumdan sonra senkronizasyonun başladığı SGS 48. güne kadar ineklere östrus takibi yapılmış ve $PP_{VİTE}$ ve $PP_{KONT.}$ grupları, ilk östrus gösterme günleri sırasıyla 36,1 ve 37,0 gün olarak tespit edilmiştir ve benzer çalışmalardan ortalama 4-5 gün sonra ilk kızgınlıklar görülmüştür (Funk ve ark., 1987; Khatti ve ark., 2017). Bu farklılığın başlıca nedenleri arasında çalışmalarda kullanılan ineklerin süt verimliliklerindeki farklılık, kızgınlık takibi farklılıkları, ve önceden de bahsedildiği üzere $PP_{VİTE}$ ve $PP_{KONT.}$ gruplarındaki ineklerin klinik olarak Vit E eksikliğinde olmamalarından kaynaklanabilir. Sonuç olarak çalışmada ineklere ekstra olarak uygulanan Vit E enjeksiyonlarının doğum-ilk östrus aralığına etki etmediği saptanmış ve iki grup arasında da herhangi bir istatistiki fark tespit edilememiştir.

Özellikle sütçü ineklerde artan süt verimi her iki doğum arasındaki süreyi uzatarak üreme performansı üzerine olumsuz etki yapar. Doğumdan ilk östrus gözlenene kadar geçen sürenin uzaması, zayıf östrus belirtileri, hatalı suni tohumlama zamanı gibi pek çok faktör doğumlar arasındaki sürenin uzamasına neden olmakta ve böylelikle sütçü işletmelerin kârlılığını olumsuz etkilemektedir. Sürülerde başarılı bir reproduktif yönetim için ortalama yılda bir buzağı almak hedeflenmektedir. Bu hedef için özellikle geçiş dönemi başarılı şekilde yönetilmelidir (Moyo ve ark., 2004). Sreenan ve Diskin (1986) ideal doğum aralığını 365 gün bildirmişler ve bunun için doğum-ilk tohumlama aralığının 60 ve üzeri olmasını, ineklerin en kısa zamanda tekrar gebe kalmaları gerektiğini bildirmektedirler. Nebel (2009) ise, doğum-ilk tohumlama süresini 60-75 gün aralığında çok iyi, 76-82 gün aralığında yeterli, 83-90 gün aralığını sorunlu, 91-100 gün aralığını kötü, 100 gün üzeri aralığı ise çok kötü olarak tanımlamıştır. Son yıllarda özellikle senkronizasyon yöntemleri ile doğum-ilk tohumlama aralığı 100 günün altına çekilmiştir (Giordano, 2021; Stangaferro ve ark.,

2018). Yapılan bu çalışmada da ineklerin hepsi sabit zamanlı tohumlama ile senkronize edildikleri için doğum- ilk tohumlama aralığı $PP_{VİTE}$ ve $PP_{KONT.}$ grupları için ortalama 77 gün olarak bulunmuştur.

Yapılan çalışmada takip edilen diğer bir önemli parametre; doğum sonrası ilk tohumlama başarılarını arttırmak ve boş geçen gün sayısını azaltmaktı. Bhateshwar ve ark. (2021) β-karoten uyguladıkları ineklerde tekrar gebe kalma aralığının yani boş gün sayısının kontrol grubuna göre 6 gün daha kısa olduğunu belirtmişlerdir. Khatti ve ark. (2017) özellikle geçiş döneminde Vit E ve Se takviyesi ile oksidatif stresin azalacağı, postpartum östrus görülme oranının artarak, gebelik oranlarının yüksek olacağını savunmaktadırlar ve yaptıkları çalışmada Vit E ve Se takviyesi uyguladıkları ineklerin ilk östrus gösterme günlerinin daha erken olduğunu ve gebelik oranlarının (%28 den %41'e) arttığını belirtmektedirler. Kim ve ark. (1997) ise doğumuna yaklaşık 20 gün kalan ineklere enjeksiyon olarak uyguladıkları vitamin mineral kompleksi uygulaması sonucu ilk tohumlama gününü ortalama 60 gün azalttıklarını kaydetmişlerdir. Ayrıca Arechiga ve ark. (1998) postpartum 30. gün yaptıkları Se ve Vit E enjeksiyonunun doğum-ilk tohumlama süresini 14 gün kısalttığını ifade etmişlerdir. Aynı çalışmada doğum tekrar gebe kalma arası günü (84,6 ve 98,1 gün) yaklaşık 14 gün azalttığını bildirmektedirler. Sunulan bu çalışmada $PP_{VİTE}$ ve $PP_{KONT.}$ gruplarındaki ineklerin boş geçen gün sayıları sırası ile 136,0 ve 136,9 olarak tespit edilmiş, ortaya çıkan bu sonuç istatistiki açıdan önemsiz bulunmuş ($P>0,05$) ve her iki $PP_{VİTE}$ ve $PP_{KONT.}$ gruplarında ineklerde boş geçen gün sayısını olumlu yönde etkilenmediği ve ayrıca da herhangi bir istatistiki farkın olmadığı saptanmıştır. Sunulan bu çalışmada diğer çalışmaların aksine (Bhateshwar ve ark., 2021; Khatti ve ark., 2017; Kim ve ark., 1997). göre boş geçen dün sayısının azalmama nedeni olarak $PP_{VİTE}$ ve PP_{KONT} gruplarındaki ineklerin sabit zamanlı tohumlama ile tohumlanması ve ilk tohumlama başarıları (%40; %42) arasında farkın olmamasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Memeli folikülogenezi esas olarak foliküler büyüme ve atrezi olmak üzere iki ana bölümden oluşmaktadır. Foliküler büyüme, granüloza hücrelerinin çoğalması ve farklılaşmasının bir sonucu iken granüloza hücreleri, oositlerin olgunlaşmasında koruyucu ve besleyici roller oynamaktadır. Bu nedenle, granüloza hücrelerinin sayısı

ve morfolojisi, embriyo geliştirme yeteneğini ve gebeliğin sonucunu değerlendirmek için önemlidir. Endoplazmik retikulum stresi dahil olmak üzere oksidatif stres, granüloza hücre ölümünü tetikleyerek foliküler atreziye yol açmaktadır. Bu nedenle, granüloza hücre ölümünü azaltmak, foliküler gelişimi teşvik etmenin etkili bir yoludur, bu da oksidatif stresi azaltmak ile başlamaktadır ve antioksidanlar bu stresi azaltmak için kullanılabilmektedir (Wang ve ark., 2021). İneklerde başarılı fertilite parametreleri elde etmek için etkili ve stressiz bir geçiş dönemi yönetimi şarttır. Doğumdan sonraki süreçte östrusların görülebilmesi ve tohumlama başarılarının artması için kaliteli inekte kaliteli oositlerin olması gerekmektedir. Vücutta fizyolojik sınırından fazla bulunan ROT'lar oosit kalitesi ve sperma kalitesini olumsuz etkilemektedir (Kumar ve ark., 2019). Benzer şekilde Agarwal ve ark. (2005) oosit kalitesinin başarılı bir fertilizasyon için çok önemli bir etken olduğunu, oksidatif stresin embriyo kalitesini ve fertilizasyon oranını etkilediğini, dolayısıyla zayıf kalitedeki oositlerin foliküler sıvıdaki ROT düzeylerinin artışı ile ilişkili olabileceğini ileri sürmektedirler. Das ve ark. (2006) foliküler sıvıdaki yüksek ROT düzeylerinin embriyo şekillenmesi veya fertilizasyonu engelleyebileceğini bildirmektedirler. Benzer şekilde Seino ve ark. (2002) foliküler sıvıda ROT türlerinin artışının embriyo kalitesindeki düşüklüğe bağlı olarak fertilizasyon oranının düştüğünü kaydetmektedirler. Vanegas ve ark. (2004) doğum sonrası görülen RS, mastitis gibi hastalıkların vücuttaki ROT miktarını arttırarak ilk tohumlama başarısı üzerine negatif etkileri olduğunu ifade etmektedirler.

İneklerde başta gebelik oranları olmak üzere reproduktif parametrelerin arttırılmasına yönelik vitamin mineral takviyeleri ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır (Arechiga ve ark., 1998; Khatti ve ark., 2017; Mary ve ark., 2021). Araştırmacılar vitamin mineral takviyeleri üreme performansında olumsuz (Vanegas ve ark., 2004), veya olumlu bir etkiye sahip olabileceğini bildirmişlerdir (Sales ve Koukolova, 2011). Arèchiga ve ark. (1998) yapmış oldukları çalışmada SGS 30. günde verilen Vit E ve Se uygulamasının doğumdan ilk tohumlamaya kadar geçen aralığı ve ilk tohumlamada gebelik oranını etkilemediğini, fakat ikinci tohumlamada kontrol grubuna kıyasla daha yüksek oranda (%69,8 ve %52,1) gebelik başarısı sağladığını, gebelik başına düşen tohumlama sayısını (2,0 ve 1,7) azalttığını tespit ederek Vit E- Se uygulamasının

sığırlarda fertilite oranını arttırdığını ancak, ilk tohumlamadaki gebelik oranını etkilemediğini ifade etmektedirler. Yazlık ve ark. (2021) geçiş döneminde enjekte edilen vitamin-mineral kombinasyonunun birinci ve üçüncü tohumlamadaki gebelik oranlarının, uygulama ve kontrol grupları arasında farklılık göstermezken, ikinci tohumlama ve toplam gebelik oranını önemli ölçüde artırdığını belirtmişlerdir. Khorsandi ve ark. (2016) sodyum selenit, kobalt sülfat, potasyum iyodür, vitamin A, vitamin D3 ve Vit E olmak üzere oral yolla uyguladıkları vitamin-mineral kompleksinin sadece boş geçen gün sayısını kısalttığını ve beşinci suni tohumlama uygulaması sonrasında gebelik oranında önemli farklılık bulunmuştur. Sunulan bu çalışmada $PP_{VİT\text{-}E}$ ve $PP_{KONT.}$ gruplarındaki ineklerin birinci tohumlama, ikinci tohumlama, üçüncü tohumlama, ve 200 SGS gebelik oranları, arasında rakamsal ve istatiksel bir fark görülmemiştir. Sunulan çalışmada uygulanan Vit E enjeksiyonları sonucu fertilite parametrelerinde istatiksel olarak değişiklik görülmemiştir. Belirtilen çalışmalarla kısmen benzerlik göstermektedir. Bu durum çalışmanın yapıldığı işletmede dengeli rasyon programlarının hayvan verimlerine göre standardize ediliyor olması ile açıklanabilir.

İneklerde suni tohumlama yöntemi ve senkronizasyon yöntemleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Sabit zamanlı yapılan suni tohumlama olgularında, preovulatör foliküllerin boyutu ve konsepsiyon oranlarının paralel olduğu bildirilmektedir (Lopez ve Denicola, 2007). Keskin ve ark. (2016) 'na göre boyutları 13,5-17,5 mm olan preovule foliküllere sahip ineklerin gebelik oranlarının daha yüksek olduğu bildirilmektedir. Bu önemli faktörlerin dışında bir diğer faktörde tohumlama anındaki ROT ve antioksidanlar arasındaki dengedir. Jowzik ve ark. (1999) ROT'un ovulasyondan önce foliküler sıvıda lokalize olduğunu, preovulatör folikülün antioksidan koruma potansiyeli bulunduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca foliküler sıvıdaki ROT düzeyinin kandaki düzeylerden daha az seviyede olduğunu ve kandaki seviyesinin artmasının preovulatör folikül sıvısındaki seviyesinin artmasına da neden olduğunu ileri sürerek foliküler sıvıdaki ROT düzeyinin oositin kalitesi, fertilizasyon oranı ve embriyo kalitesini etkilediğini de kaydetmektedirler. Özellikle senkronizasyon yöntemleri ile oluşturulacak kızgınlıklar vücutta ROT düzeyinin artışına neden olarak fertilizasyonu dolayısıyla gebeliğin etkilenmesine neden

olabilmektedir (Arechiga ve ark., 1998). Fertilizasyon ve ROT seviyesi arasında negatif bir korelasyon bulunmaktadır. Tohumlama anı antioksidan kullanımı ile ilgili birçok araştırma bulunmaktadır (Aksu, 2010; Khemarach ve ark., 2021; Malinowski ve ark., 2004). Vanegas ve ark. (2004) vitamin mineral enjeksiyonlarının doğum öncesi ve sonrası tek doz yapıldığında gebe kalma oranlarını arttırdığını, sadece doğum sonrası dönemde yapılan vitamin-mineral enjeksiyonlarının ise tohumlama başarısını etkilemediğini bildirmektedirler. Stanton ve ark. (2000) ise tohumlama dönemi öncesi ineklere yüksek seviyede vitamin-mineral takviyesi ile tohumlama başarılarının arttığını bulmuşlardır. Aksu ve ark. (2010) yaptıkları araştırmada PGF2α enjeksiyonları ile senkronize ettikleri deneme hayvanlarında, Vit E enjeksiyonu uyguladıkları deneme grubu ve kontrol grubu inekleri arasındaki gebelik oranlarında sayısal olarak olumlu fark görmelerine rağmen, bu farkın istatistiki açıdan önemsiz olduğunu belirtmişlerdir. Sunulan bu çalışma Aksu ve ark. (2010)'nın çalışması ile benzerlik göstermekteyken Stanton ve ark. (2000)'nın sonuçları ile uyumlu değildir. Uyumlu olmamasının nedeni çalışmamızda kullanılan senkronizasyon yöntemi ve sabit zamanlı suni tohumlama ile ilişkili olabilir.

Jiang ve ark. (2019)'ları yaptıkları bir çalışmada, aflatoksinli ortamda geliştirilen in vitro embriyolarda Vit E takviyesine rağmen, embriyonun blastosist evresine gelişiminin engellendiğini ve embriyonik kayıpların oluştuğunu bildirerek, Vit E takviyesinin embriyonik kayıpları önlemede etkili olmadığını savunmaktadırlar. Bunun aksine Kaçar ve ark. (2008) rasyona ek olarak uygulanan β-karoten, vitamin A-D-E kombinasyonunun embriyoların kalitesini arttırarak gebelik oranlarını yükselttiği belirtilmektedir. Düvelerde yapılan çalışmalarda ise embriyo transferinden 17 gün önce vitamin mineral enjeksiyonunun düvelerin gebelik oranında artış sağladığı ve erken embriyonik ölümleri engelleyebileceği tahmin edilmektedir. Yapılan bu çalışmada da $ST_{VİT\text{-}E}$ ve $ST_{KONT.}$ grupları arasındaki ineklerde embriyonik kayıp oranları sırasıyla (%10) ve (%23,1) olarak tespit edilmiştir. Oksidatif stres sığır embriyolarına zararlı olabilmekte, bunun yanında domuzlarda ise yumurtalık foliküler sıvısındaki antioksidan kapasite oosit kalitesini olumlu yönde etkilemektedir (Dobbelaar ve ark., 2010). Sunulan bu çalışmada da tohumlama sırasında Vit E

enjeksiyonunun fertilize olmuş oositlere, embriyo gelişimi üzerine ve gebeliğin devamlılığı üzerine olumlu etkisinin olduğu düşünülmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sunulan bu çalışma ile sütçü işletmede bulunan Holstein-Friesian ırkı ineklerin antioksidan özellikli Vit E'nin eksojen olarak uygulanması ile başta RS olmak üzere reprodüktif parametreler üzerine etkisi araştırılmıştır. Doğum öncesi ve sonrası dönemde uygulanan Vit E enjeksiyonları ile işletmelerdeki RS oranlarının azaltılabileceği istatiksel olarak ortaya konulmuştur. Fakat bu enjeksiyonların ineklerde doğum-ilk östrus görülme zamanı, ilk tohumlama başarısı, ikinci tohumlama başarısı, üçüncü tohumlama başarısı, 200 günlük gebelik oranı ve boş geçen gün sayısı üzerine herhangi bir olumlu etkisinin bulunmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca ineklerde senkronizasyon ile tohumlama anında Vit E enjeksiyonunun tohumlama başarısı ve embriyonik ölüm üzerine istatiksel olarak önemli bir fark oluşturmadığı da belirlenmiştir.

Bu bilgiler ışığında, ineklerde doğuma yakın dönemde yapılan Vit E enjeksiyonları ile özellikle RS oranlarının düşürülebileceği, fakat bu enjeksiyonların 200 günlük üreme verileri üzerine herhangi bir olumlu etkisinin olmayacağı düşünülebilir. Ayrıca senkronizasyon yöntemi ile tohumlaması yapılacak ineklerde tohumlama anında yapılan Vit E enjeksiyonlarının embriyonik ölümlerin azaltılması üzerine sayısal olarak olumlu etkinliği varken, üreme verileri üzerine herhangi bir olumlu etkisinin olmadığı kanısına varılmıştır. Sonuç olarak, postpartum süreçte veya tohumlama sırasında belli aralıklar ile tekrarlanan dozlarda uygulanan Vit E'nin başta RS olmak üzere bazı fertilite parametreleri üzerine faydalı etkisinin olabileceği kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

Abuelo A, Alves-Nores V, Hernandez J, Muino R, Benedito JL, Castillo C (2016). Effect of paranteral antioxidant supplementation during the dry period on postpartum glucose tolerance in dairy cows. *J. Vet. Intern. Med.,* **30(3),** 892-898.

Agarwal A, Gupta S, Sharma RK (2005). Role of oxidative stress in female reproduction. *Reprod. Biol. Endocrinol*., **3,** 28.

Aksu EH, Bozkurt T, Türk G (2010). Farklı senkronizasyon uygulamaları ile senkronize edilen ineklerde üreme performansı üzerine Vit E'nin etkisi. *Fırat Üniversitesi Sağ. Bil. Vet. Derg.,* **24 (2)**, 71-76.

Allison RD, Laven RA (2000). Effect of Vit E supplementation on the health and fertility of dairy cows: a review. *Vet. Rec.*, **147(25)**, 703-708.

Altıner A, Atalay H, Bilal T (2017). Bir antioksidan olarak E vitamini. *Balıkesir Sağ. Bil. Derg.,* **6(3),** 149-156.

Arechiga CF, Ortiz O, Hansen PJ (1994). Effect of prepartum injection of Vit E and Selenium on postpartum reproductive function of dairy cattle. *Theriogenology,* **41(6)**, 1251-1258.

Arechiga CF, Vazquez-Flores S, Ortiz O, Hernandez-Ceron J, Porras A, McDowell LR, Hansen PJ (1998). Effect of injection of β-carotene or Vit E and selenium on fertility of lactating dairy cows. *Theriogenology,* **50(1),** 65-76.

Aslankoç R, Demirci D, İnan Ü, Yıldız M, Öztürk A, Çetin M, Savran EŞ, Yılmaz B (2019). Oksidatif stres durumunda antioksidan enzimlerin rolü- süperoksit dismutaz (SOD), Katalaz (CAT) ve Glutatyon Peroksidaz (GPx). *SDÜ Tıp. Fak. Derg.,* **26(3),** 362-369.

Baldi A (2005). Vit E in dairy cows. *Livest. Prod. Sci.,* **98(1-2),** 117-122.

Baldi A, Savoini G, Pinotti L, Monfardini E, Cheli F, Dell'Orto V (2000). Effects of Vit E and different energy sources on Vit E status, milk quality and reproduction in transition cows. *J. Vet. Med. A. Phy. Path. Clin. Med.*, **47(10),** 599-608.

Beeckman A, Vicca J, Van Ranst G, Janssens GPJ, Fievez V (2010). Monitoring of Vit E status of dry, early and mid-late lactating organic dairy cows fed conserved roughages during the indoor period and factors influencing forage Vit E levels. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.,* **94(6),** 736-746.

Bhateshwar V, Rai DC, Duary RK (2021). Effect of Beta-carotene supplementation on plasma carotene content and fertility of lactating crossbred sahiwal cows. *Indian J. Anim. Sci.,* **55(8),** 905-909.

Bourne N, Laven R, Wathes DC, Martinez T, McGowan M (2007). A meta-analysis of the effects of Vit E supplementation on the incidence of retained foetal membranes in dairy cows. *Theriogenology*, **67(3),** 494-501.

Bourne N, Wathes DC, Lawrence KE, McGowan M, Laven RA (2008). The effect of parenteral supplementation of Vit E with selenium on the health and productivity of dairy cattle in the UK. *Vet. J.*, **177(3),** 381-387.

Bouwstra RJ, Goselink RMA, Dobbelaar P, Nielen M, Newbold JR, Van Werven T (2008). The relationship between oxidative damage and Vit E concentration in blood, milk, and liver tissue from Vit E supplemented and nonsupplemented periparturient heifers. *J. Dairy Sci.*, **91(3)**, 977-987.

Bouwstra RJ, Nielen M, Stegeman JA, Dobbelaar P, Newbold JR, Jansen EHJM, Van Werven T (2010). Vit E supplementation during the dry period in dairy cattle. Part I: adverse effect on incidence of mastitis postpartum in a double-blind randomized field trial. *J. Dairy Sci.*, **93(12)**, 5684-5695.

Burken DB, Hicks RB, VanOverbeke DL, Hilton GG, Wahrmund JL, Holland BP, Krehbiel CR, Camfield PK, Richards CJ (2012). Vit E supplementation in beef finishing diets containing 35% wet distillers grains with solubles: feedlot performance and carcass characteristics. *J. Dairy Sci.*, **90(4)**, 1349-1355.

Calderon F, Chauveau-Duriot B, Pradel P, Martin B, Graulet B, Doreau M, Noziere P (2007). Variations in carotenoids, vitamins A and E, and color in cow's plasma and milk following a shift from hay diet to diets containing increasing levels of carotenoids and Vit E. *J. Dairy Sci.*, **90(12)**, 5651-5664.

Carter JN, Gill DR, Krehbiel CR, Confer AW, Smith RA, Lalman DL, Claypool PL, McDowell LR (2005). Vit E supplementation of newly arrived feedlot calves. *J. Anim.Sci.*, **83(8)**, 1924–1932.

Castillo C, Hernandez J, Bravo A, Lopez-Alonso M, Pereira V, Benedito JL (2005). Oxidative status during late pregnancy and early lactation in dairy cows. *Vet. J.*, **169(2),** 286-292.

Chalmeh A, Pourjafar M, Badiei K, Mirzaei A, Jalali M, Mazrouei Sebdani M (2021). Effects of dietary antioxidants on glucose and insulin responses to glucose tolerance in transition dairy cows. *Domest. Anim. Endocrinol.*, **75,** 106602.

Chandra G, Aggarwal A, Kumar M, Singh AK (2018). Effect of zinc and Vit E supplementation on hormones and blood biochemicals in peri-partum Sahiwal cows. *J. Trace Elem.Med.Biol.*, **50,** 489-497.

Chandra G, Aggarwal A, Kumar M, Singh AK, Sharma VK, Upadhyay RC (2014). Effect of additional Vit E and zinc supplementation on immunological changes in peripartum Sahiwal cows. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, **98(6),** 1166-1175.

Choonkham W, Intanon M, Chewonarin T, Bernard JK, Suriyasathaporn W (2021). Effects of supplemental Bacillus subtilis, injectable Vit E plus selenium, or

both on health parameters during the transition period in dairy cows in a tropical environment. *Trop. Anim. Health Prod.,* **53(2),** 298.

Das S, Chattopadhyay R, Ghosh S, Ghosh S, Goswami SK, Chakravarty BN, Chaudhury K (2006). Reactive oxygen species level in follicular fluid-embryo quality marker in IVF? *Hum. Reprod.,* **21(9),** 2403–2407.

Deters EL, Hansen SL (2019). Vit E supplementation strategies during feedlot receiving: effects on beef steer performance, antibody response to vaccination and antioxidant defense. *J. Dairy Sci.*, **97(10)**, 4362-4369.

Dobbelaar P, Bouwstra RJ, Goselink RMA, Jorritsma R, van den Borne JJGC, Jansen EHJM (2010). Effects of Vit E supplementation on and the association of body condition score with changes in peroxidative biomarkers and antioxidants around calving in dairy heifers. *J. Dairy Sci.,* **93(7),** 3103-3113.

Eiler H, Hopkins FM (1993). Successful treatment of retained placenta with umbilical cord injections of collogenase in cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc*., **203(3),** 436-443.

Erskine RJ, Bartlett PC, Herdt T, Gaston P (1997). Effects of parenteral administration of vitamin E on health of periparturient dairy cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.,* **211(4),** 466-469.

Fang J, Xie S, Chen Z, Wang F, Chen K, Zuo Z, Cui H, Guo H, Ouyang P, Chen Z, Huang C, Liu W, Geng Y (2021). Protective effect of Vit E on cadmium–induced renal oxidative damage and apoptosis in rats. *Biol. Trace Elem. Res.*, **199(12)**, 4675-4687.

Ferguson JD, Galligan DT (2000). Assessment of Reproductive Efficiency in Dairy Herds. *Compendium,* **22(11)**, 150-158.

Funk DA, Freeman AE, Berger PJ (1987). Effects of previous days open, previous days dry, and present days open on lactation yield. *J. Dairy Sci.,* **70(11),** 2366-2373.

Gaál T, Ribiczeyne-Szabo PR, Stadler K, Jakus J, Reiczigel J, Köver P, Mezes M, Sümeghy L (2006). Free radicals, lipid peroxidation and the antioxidant system in the blood of cows and newborn calves around calving. *Comp. Biochem. Physiol.,* **143(4),** 391-396.

Galano A, Tan DX, Reiter RJ (2014). Cyclic 3-hydroxymelatonin, a key metabolite enhancing the peroxyl radical scavenging activity of melatonin. *R. Soc. Chem.*, **10(4),** 5220-5227.

Galarza ME, Lizarraga MR, Mattioli AG, Parker AJ, Relling AE (2021). Effect of preshipment preconditioning and injectable antioxidant trace elements (Cu, Mn, Se, Zn) and vitamins (A, E) on plasma metabolite and hormone concentrations and growth in weaned beef cattle. *Transl. Anim. Sci.*, **5(1),** 1-11.

Ganaie BA, Sultan F, Kumar S, Pathak P, Nayak V (2018). Effect of uterine infection on milk production and reproductive performance in dairy animals- A review. *J. Pharmacogn. Phytochem.,* **7(1),** 200-202.

Giordano OJ (2021). Impact of voluntary waiting period and first-service management strategies on the reproductive performance and profitability of dairy cows. *Int. J. Dairy Technol.,* **33**, 121-130.

Gobert M, Martin B, Ferlay A, Chilliard Y, Graulet B, Pradel P, Bauchart D, Durand D (2009). Plant polyphenols associated with Vit E can reduce plasma lipoperoxidation in dairy cows given n-3 polyunsaturated fatty acids. *J. Dairy Sci.,* **92(12),** 6095-6104.

Gouvea VM, Colli MHA, Junior WAG, Motta JCL, Acedo TS, Vasconcellos GSFM, Tamassia LFM, Elliff FM, Mingoti RD, Baruselli PS (2018). The combination of β-carotene and vitamins improve the pregnancy rate at first fixed-time artificial insemination in grazing beef cows. *Livest. Sci.,* **217**, 30-36.

Griffiths LM, Loeffler SH, Socha MT, Tomlinson DJ, Johnson AB (2007). Effects of supplementing complexed zinc, manganese, copper and cobalt on lactation and reproductive performance of intensively grazed lactating dairy cattle on the South Island of New Zealand. *Anim. Feed Sci. and Technol.,* **137(1-2),** 69-83.

Gutteridge JMC (1994). Biological origin of free radicals, and mechanisms of antioxidant protection. *Chem. Biol. Interact.,* **91(2-3)**, 133-140.

Günay A, Günay U, Orman A (2011). Effects of retained placenta on the fertility in treated dairy cows. *Bulg. J. Agric. Sci.,* **17(1)**, 126-131.

Haga S, Ishizaki H, Roh S (2021). The physiological roles of Vit E and hypovitaminosis E in the transition period of high-yielding dairy cows. *Animals,* **11(4),** 1088.

Harrison JH, Hancock DD, Conrad HR (1984). Vit E and selenium for reproduction of the dairy cow. *J. Dairy Sci.,* **67(1)**, 123-132.

Harsh BN, Dilger AC, Boler DD, Shike DW (2018). Effects of a multielement trace mineral injection and Vit E supplementation on performance, carcass characteristics, and color stability of strip steaks from feedlot heifers. *J. Anim. Sci.,* **96(5),** 1745-1756.

Hayes K, Pronczuk A, Perlman D (2001). Vit E in fortified cow milk uniquely enriches human plasma lipoproteins. *The American Journal of Clinical Nutrition,* **74(2),** 211–218.

Hogan JS, Weiss WP, Todhunter DA, Smith KL, Schoenberger PS (1992). Bovine neutrophil responses to parenteral Vit E. *J. Dairy Sci.,* **75(2)**, 399-405.

Hoque MN, Das ZC, Rahman ANMA, Hoque MM (2016). Effect of administration of Vit E, selenium and antimicrobial therapy on incidence of mastitis, productive and reproductive performances in dairy cows. *Int. J. Vet. Sci. and Med.,* **4(2)**, 63-70.

Horn M, Gunn P, Van Emon M, Lemenager R, Burgess J, Pyatt NA, Lake SL (2010). Effects of natural (RRR α-tocopherol acetate) or synthetic (all-rac α-tocopherol acetate) Vit E supplementation on reproductive efficiency in beef cows. *J. Dairy Sci.,* **88(9),** 3121-3127.

Inaba H, Ichikawa YSM, Kabir AR, Iwasaki T, Shigematsu H, Kakugo A, Sada K, Tsukazaki T, Matsuura K (2022). Generation of stable microtubule superstructures by binding of peptide-fused tetrameric proteins to inside and outside. *Sci. Adv.,* **8(36),** 345-360.

Jensen SK, Lashkari S, Kristensen NB (2020). Pharmacokinetics of α-tocopherol stereoisomers in plasma and milk of cows following a single dose injection of all-rac-α-tocopheryl acetate. *Food Chem.*, **310**, 125931.

Jiang D, Liang J, Noble PW (2011). Hyaluronan as an immune regulator in human diseases. *Physiol. Rev.,* **91(1),** 221-264.

Jiang Y, Hansen PJ, Xiao Y, Amaral TD, Vyas D, Adesogan AT (2019). Aflatoxin compromises development of the preimplantation bovine embryo through mechanisms independent of reactive oxygen production. *J. Dairy Sci.,* **102(11),** 10506-10513.

Julien WE, Conrad HR, Jones JE, Moxon AL (1976). Selenium and Vit E and incidence of retained placenta in parturient dairy cows. *J. Dairy Sci.*, **59(11)**, 1954-1959.

Kaçar C, Kamiloğlu NN, Uçar Ö, Arı UÇ, Pancarcı Ş, Güngör Ö (2008). İneklerde β-karoten + Vit E uygulamasıyla kombine edilen ovysnch ve cosynch senkronizasyon programlarının gebelik oranı üzerine etkisi. *Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg.,* **14(1),** 45-50.

Kafilzadeh F, Kheirmanesh H, Shabankareh HK, Targhibi MZ, Maleki E, Ebrahimi M, Meng GY (2014). Comparing the effect of oral supplementation of Vit E, injective Vit E and selenium or both during late pregnancy on production and reproductive performance and immune function of dairy cows and calves. *Sci. World J.*, **2014**, 1-5.

Kandelousi-Moghimi M, Alamouti AA, Imani M, Zebeli Q (2020). A meta-analysis and meta-regression of the effects of Vit E supplementation on serum enrichment, udder health, milk yield, and reproductive performance of transition cows. *J. Dairy Sci.,* **103(7),** 6157-6166.

Karabulut H, Gülay MŞ (2016). Serbest Radikaller. *MAKÜ Sağ. Bil. Enst. Derg.,* **4(1),** 50-59.

Kaymaz M, Semacan A, Fındık M, Rişvanlı A, Köker A (2019). *Çiftlik hayvanlarında doğum ve jinekoloji*. 2. Baskı, Malatya: Medipres s: 360-362.

Keskin A, Mecitoğlu G, Bilen E (2016). The effect of ovulatory follicle size at the time of insemination on pregnancy rate in lactating dairy cows. *Turkish J. Vet. Anim. Sci.,* **40**, 68-74.

Khatti A, Mehrotra S, Patel PK, Singh G, Maurya VP, Mahla AS, Chaudhari RK, Narayanan K, Das GK, Singh M, Sarkar M, Gupta HK (2017). Supplementation of Vit E, selenium and increased energy allowance mitigates the transition stress and improves postpartum reproductive performance in the crossbred cow. *Theriogenology,* **104,** 142-148.

Khemarach S, Yammuen-Art S, Punyapornwithaya V, Nithithanasilp S, Jaipolsaen N, Sangsritavong S (2021). Improved reproductive performance achieved in tropical dairy cows by dietary beta-carotene supplementation. *Sci. Rep.,* **11(1),** 23171.

Khorsandi S, Riasi A, Khorvash M, Mahyari SA, Mohammadpanah F, Ahmadi F (2016). Lactation and reproductive performance of high producing dairy cows given sustained-release multi-trace element/vitamin ruminal bolus under heat stress condition. *Livest. Sci.,* **187,** 146-150.

Kim HS, Lee JM, Park SB, Jeong SG, Jung JK, Im KS (1997). Effect of Vit E and selenium administration on the reproductive performance in dairy cows. *Asian-Australasian J. Anim. Sci.,* **10(3)**, 308-312.

Knapen MF, Zusterzeel PL, Peters WH, Steegers EA (1999). Glutathione and glutathione-related enzymes in reproduction: a review. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Repro. Bio.,* **82(2)**, 171-184.

Koca N, Karadeniz F (2005). Gıdalardaki doğal antioksidan bileşikler. *Gıda,* **30,** 4-9.

Kocaarslan F (2013). *Sığırlarda gebeliğin son döneminde uygulanan vitamin e ve selenyumun postpartum dönem sorunları üzerine etkisi.* Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Aydın/Türkiye

Kohen R, Nyska A (2002). Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicol. Pathol.,* **30(6),** 620-650.

Kumar D, Kumar R, Paswan VK, Kumari S, Singh G, Raj B (2019). Effect of beta-carotene incorporated mineral-vitamin premix on infertility in infertile crossbred cattle. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.,* **8(12),** 2738-2743.

Kurum A, Deprem T, Kocamış H, Karahan S (2016). Immunohistochemical expression of anti-oxidants in bovine oviduct epithelial cells of estral and luteal phases. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.,* **63(2)**, 103-110.

Laven RA, Peters AR (1996). Bovine retained placenta: aetiology, pathogenesis and economic loss. *Vet. Rec.,* **139(19),** 465–471.

LeBlanc SJ, Duffield TF, Leslie KE, Bateman KG, TenHag J, Walton JS, Johnson WH (2002). The effect of prepartum injection of Vit E on health in transition dairy cows. *J. Dairy Sci.,* **85(6),** 1416–1426.

Lopez-Alarcon C, Denicola A (2013). Evaluating the antioxidant capacity of natural products: A review on chemical and cellular-based assays. *Anal. Chim. Acta.,* **763**, 1-10.

Losano JDA, Angrimani DSR, Dalmazzo A, Rocha CC, Brito MM, Perez EGA, Tsunoda RH, Goes PAA, Mendes CM, Assumpçao MEOA, Barnabe VH, Nichi M (2018). Effect of Vit E and polyunsatured fatty acids on cryopreserved sperm quality in bos taurus bulls under testicular heat stress. *Anim. Biotechnol.,* **29(2),** 100-109.

Maas J, Hoar BR, Myres DM, Tindall J, Puschner B (2008). Vit E and selenium concentrations in month-old beef calves. *J. Vet. Diagn. Invest.,* **20(1)**, 86-89.

Malinowski E, Smulski S, Markiewicz H, Kaczmarowski M (2004). The effect of some drugs injection to pregnant heifers on blood antioxidant status. *Pol.J. Vet. Sci.,* **7(2),** 91-95.

Mary AEP, Mora JIA, Bornoze PAR, Richards SE, Kies AK (2021). Vit E and beta-carotene status of dairy cows: a survey of plasma levels and supplementation practices. *Anim. Biosci.,* **15(8),** 100303.

Matsui T (2012). Vitamin C nutrition in cattle. *Asian-Australasian J. Anim. Sci.,* **25(5),** 597-605.

Matthew CL (2012). Resynchronization programs for dairy cows. *Int. J. Dairy Technol.,* **24**, 95-109.

Mckay ZC, Mulligan FJ, Lynch MB, Rajauria G, Miller C, Pierce KM (2019). The effects of cereal type and α-tocopherol level on milk production, milk composition, rumen fermentation, and nitrogen excretion of spring-calving dairy cows in late lactation. *J. Dairy Sci.,***102,** 7118-7133.

Meister A, Anderson ME (1983). Glutathione. *Annu. Rev. of Biochem.,* **52,** 711-760.

Miller JK, Brzezinska-Slebodzinska E, Madsen FC (1993). Oxidative stress, antioxidants and animal function. *J. Dairy Sci.,* **76(9),** 2812-2823.

Mirshafiey A, Mohsenzadegan M (2008). The role of reactive oxygen species in immunopathogenesis of rheumatoid arthritis. *IJAA.,* **7(4),** 195-202.

Mordak R, Nicpon J, Illek J (2017). Metabolic and mineral conditions of retained placenta in highly productive dairy cows: pathogenesis, diagnostics and prevention. *Acta Vet. Brno,* **86,** 239-248.

Mordak R, Stewart PA (2015). Periparturient stress and immune suppression as a potential cause of retained placenta in highly productive dairy cows: examples of prevention. *Acta Vet. Scand.*, **57,** 84.

Moyo N, Nielen M, Kruitwagen C, Beynen AC (2005). Vit E supplementation and udder health: a meta-analysis. *J. Dairy Sci.*, **93,** 5684–5695.

Mudron P, Rehage J (2018). Effects of Vit E and selenium supplementation on blood lipid peroxidation and cortisol concentration in dairy cows undergoing omentopexy. *J.Anim. Physiol.Anim. Nutr.,* **102(4),** 837-842.

Müller HC, van Bibber-Krueger CL, Drouillard JS (2018). Effect of alpha tocopherol acetate and ascorbic acid on performance, carcass traits and incidence and severity of liver abscesses in feedlot cattle. *J. Anim. Sci.*, **96(9),** 3878-3883.

Nebel RL (2009). Your Herd's Reproductive Status. *Virginia Cooperative Extension.*

Necasova A, Pechova A, Bodor R, Masar M (2021). Evaluation of the glutathione concentration in whole blood of dairy Holstein cows. *Vet. Med.,* **66,** 179-188.

NRC (2001). *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. Seventh Revised Edition, Washington: Academies Press.

Omur A, Kırbaş A, Aksu E, Kandemir F, Dorman E, Kaynar O, Ucar O (2016). Effects of antioxidant vitamins (A, D, E) and trace elements (Cu, Mn, Se, Zn) on some metabolic and reproductive profiles in dairy cows during transition period. *Pol. J. Vet. Sci.*, **19(4),** 697-706.

Otomaru K, Saito S, Endo K, Kohiruimaki M, Fukuyama S, Ohtsuka H (2013). Effect of supplementation Vit E on antibody titer in Japanese black calves vaccinated against bovine herpersvirus-1. *J. Vet. Med. Sci.*, **75(12),** 1671-1673.

Overton TR, Yasui T (2014). Practical applications of trace minerals for dairy cattle. *J. Anim. Sci.,* **92(2)**, 416-426.

Paiva SA, Russell RM (1999). β-carotene and other carotenoids as antioxidants. *J. Am. Coll. Nutr.*, **18(5),** 426–433.

Pisoschi AM, Pop A (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *Eur. J. Med. Chem.,* **97,** 55-74.

Politis I (2012). Reevaluation of Vit E supplementation of dairy cows: bioavailability, animal health and milk quality. *Animal*, **6(9)**, 1427-1434.

Pontes GCS, Monteiro Jr PLJ, Prata AB, Guardierio MM, Pinto DAM, Fernandes GO, Wiltbank MC, Santos JEP, Sartori R (2015). Effect of injectable Vit E on incidence of retained fetal membranes and reproductive performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, **98(4),** 2437-2449.

Qian W, Yu H, Zhang C, Zhang H, Fu S, Xia C (2021). Plasma proteomics characteristics of subclinical Vit E deficiency of dairy cows during early lactation. *Front. Vet. Sci.,* **8,** 723-898.

Ratchamak R, Thananurak P, Boonkum W, Semaming Y, Chankitisakul V (2022). The melatonin treatment improves the ovarian responses after superstimulation in Thai-Holstein crossbreeds under heat stress conditions. *Front. Vet. Sci.*, **9,** 800-839.

Reddy PG, Morrill JL, Minocha HC, Stevenson JS (1987). Vit E is immunostimulatory in calves. *J. Dairy Sci.,* **70(5),** 993-999.

Reece WO (2017). *Dukes' Physiology of domestic animals (Dukes Veteriner Fizyoloji).* Çev: Yıldız S, 12. Baskı, Malatya: Medipres Yayıncılık, s: 559-560.

Rocha-Quiroz GF, Leblanc S, Duffield T, Wood D, Leslie KE, Jacobs MB (2009). Evaluation of prepartum serum cholesterol and fatty acids concentrations as predictors of postpartum retention of the placenta in dairy cows. *JAVMA,* **234(6),** 790-793.

Sakaguchi M, Sasamoto Y, Suzuki T, Takahashi Y, Yamada Y (2004). Postpartum ovarian follicular dynamics and estrous activity in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.,* **87(7),** 2114–2121.

Sales J, Koukolova V (2011). Dietary Vit E and lipid and color stability of beef and pork: modeling of relationships. *J. Anim. Sci.,* **89(9),** 2836-2848.

Salles MSV, Samora TS, Della Libera AMMP, Netto AS, Roma Junior LC, Blagitz MG, El Faro L, Souza FN, Batista CF, Salles FA, de Freitas JE (2022). Selenium and Vit E supplementation ameliorates the oxidative stress of lactating cows. *Livest. Sci.,* **225,** 104807.

Santos JEP, Rutigliano HM, Sa Filho MF (2009). Risk factors for resumption of postpartum estrous cycles and embryonic survival in lactating dairy cows. *Anim. Repro. Sci.*, **110(3-4)**, 207-221.

Sartori R, Haughian JM, Shaver RD, Rosa GJM, Wiltbank MC (2004). Comparison of ovarian function and circulating steroids in estrous cycles of Holstein heifers and lactating cows. *J. Dairy Sci.*, **87(4),** 905–920.

Schafers S, Meyer U, Soosten DV, Hüther L, Drong C, Eder K, Most E, Tröscher A, Pelletier W, Zeyner A, Danicke S (2018). Influence of conjugated linoleic acids and Vit E on milk fatty acid composition and concentrations of vitamin A and α-tocopherol in blood and milk of dairy cows. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.,* **102(1)**, 431-441.

Schafers S, Meyer U, von Soosten D, Krey B, Hüther L, Tröscher A, Pelletier W, Kienberger H, Rychlik M, Danicke S (2017). Influence of Vit E on organic matter fermentation, ruminal protein and fatty acid metabolism, protozoa concentrations and transfer of fatty acids. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.,* **102(5)**, 1111-1119.

Schingoethe DJ, Kirkbride CA, Palmer IS, Owens MJ, Tucker WL (1982). Response of cows consuming adequate selenium to Vit E and selenium supplementation prepartum. *J. Dairy Sci.*, **65(12),** 2338-2344.

Schmidt N, Luhmann T, Hüther L, Meyer U, Barth SA, Geue L, Menge C, Frahm J, Danicke S (2018). Effect of Vit E supplementation in milk replacer and Shiga toxoid vaccination on serum α-tocopherol, performance, haematology and blood chemistry in male Holstein calves. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, **102(5)**, 1167-1180.

Seino T, Saito H, Kaneko T, Takahashi T, Kawachiya S, Kurachi H (2002). Eight-hydroxy-2'-deoxyguanosine in granulosa cells is correlated with the quality of oocytes and embryos in an in vitro fertilization-embryo transfer program. *Fertil and Steril.*, **77(6),** 1184– 1190.

Sordillo LM, Aitken SL (2009). Impact of oxidative stress on the health and immune function of dairy cattle. *Vet. Immunol. Immuno.,* **128(1-3),** 104 – 109.

Sönmez M, Bozkurt T, Türk G, Gür S, Kızıl M, Yüce A (2009). The effect of Vit E treatment during preovulatory period on reproductive performance of goats following estrous synchronization using intravaginal sponges. *Anim. Repro. Sci.,* **114(1-3),** 183-192.

Sreenan J, Diskin M (1986). The extent and timing of embryonic mortality in the cow. In: Sreenan J, Diskin M. (Eds), Embryonic mortality in farm animals. *CTVM,* **34**, 1-11.

Stangaferro ML, Wijima R, Masello M, Thomas MJ, Giordano JO (2018). Extending the duration of the voluntary waiting period from 60 to 88 days in cows that recieved timed artificial insemination after the Double-Ovsynch protocol affected the reproductive performance, herd exit dynamics, and lactation performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.,* **101(1),** 717-735.

Stanton TL, Whittier JC, Geary TW, Kimberling CV, Johnson AB (2000). Effects of trace mineral supplementation on cow-calf performance, reproduction, and immune function. *Prof. Anim. Sci.,* **16(2),** 121-127.

Staples CR, Gomes GC, Zungia JE, Greco LF, Sinedino LDP, Karadaya E, Riberio ES, Martinez N, Bisinotto RS, Lima FS, Engstrom MA, Santos JEP (2016). Effect of increased supplementation of Vit E during heat stress. 27th Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium, Gainsville/USA p:55-62.

Swecker Jr WS, Hunter KH, Shanklin RK, Scaglia G, Fiske DA, Fontenot JP (2008). Paranteral selenium and Vit E supplementation of weaned beef calves. *J. Vet. Int. Med.,* **22(2),** 443-449.

Swenson CK, Anstoegui P, Swenson EJ, Paterson JA, Johnson AB (1998). Trace mineral supplementation effects on first-calf beef heifers reproduction, milk production and calf performance. *Proc. West. Sec. Amer. Soc. Anim. Sci.* **49:** 327-331.

Temel Y, Bozkuş T, Karagözoğlu Y, Çiftçi M (2017). Glutatyon redüktaz (GR) enziminin Japon bıldırcın (Coturnix coturnix japanica) eritrositlerinden saflaştırılması ve karakterizasyonu**.** *Iğdır Üni. Fen Bilimleri Enst. Der.,* **7(3)**, 143-150.

Thatcher WW, Wilcox CJ (1973). Postpartum estrus as an indicator of reproductive status in the dairy cow. *J. Dairy Sci.,* **56(5),** 608-610.

Torsein M, Lindberg A, Svensson C, Jensen S.K, Bera C, Waller KP (2018). α-Tocopherol and β-carotene concentrations in feed, colostrum, cow and calf serum in Swedish dairy herds with high or low calf mortality. *Acta Vet. Scand.,* **60(1)**, 7.

Trinder N, Woodhouse CD, Renton CP (1969). The effect of Vit E and selenium on the incidence of retained placenta in dairy cows. *Vet. Rec.,* **85**, 550-553.

Tucho TT (2017). Review on retention of placenta in dairy cows and it is economic and reproductive impacts. *J. Nat. Sci. Res.,* **7(7)**.

Vanegas JA, Reynolds J, Atwill ER (2004). Effect of an injectable trace mineral supplement on first-service conception rate of dairy cows. *J. Dairy Sci.,* **87(11)**, 3665-3671.

Von Elbe, J.H, Schwartz, S.J (1996). *Colorants*. In: Fennema OR (Ed), Food Chemistry. Marcel Dekker, New York. p: 651–722.

Wang M, Li Y, Molenaar A, Li Q, Cao Y, Shen Y, Chen P, Yan J, Gao Y, Li J (2021). Vit E and selenium supplementation synergistically alleviate the injury induced by hydrogen peroxide in bovine granulosa cells. *Theriogenology,* **170,** 91-106.

Xiao J, Khan MZ, Ma Y, Alugongo GM, Ma J, Chen T, Khan A, Cao Z (2021). The antioxidant properties of selenium and Vit E; their role in periparturient dairy cattle health regulation. *Antioxidants,* **10(10),** 1555.

Yazlık MO, Çolakoğlu HE, Pekcan M, Kaya U, Küplülü Ş, Kaçar C, Polat M, Vural MF (2021). Effects of injectable trace element and vitamin supplementation during the gestational, peri-parturient, or early lactational periods on neutrophil functions and pregnancy rate in dair cows. *Anim. Reprod. Sci.,* **225,** 106686.

Yüzügüllü Y, Ögel ZB (2013). Çift aktiviteli katalaz-fenol oksidazının ve diğer katalazların gıda sanayisindeki önemi. *GIDA,* **38(2),** 111-118.

Zahrazadeh M, Riasi A, Farhangfar H, Mahyari SA (2018). Effects of close-up body condition score and selenium-Vit E injection on lactation performance, blood metabolites, and oxidative status in high-producing dairy cows. *J. Dairy Sci.,* **101(11)**, 10495-10504.