

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

115050

SUBKLİNİK MASTİTİSLİ İNEKLERDE KAN VE SÜTTE
LİPİT PEROKSİDASYON VE BAZI ANTIOKSİDANLAR
ÜZERİNE E VİTAMİNİNİN ETKİSİ

115054

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANİSTEN MERKEZİ

DOKTORA TEZİ

Halil ŞİMŞEK

ELAZIĞ-2002

ONAY SAYFASI

T.C. Fırat Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Prof. Dr. Halis OCAK

Bu tez Yüksek Lisans/Doktora Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Mesut Aksakal

Prof. Dr. Mesut AKSAKAL

Fizyoloji. Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans/Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mesut AKSAKAL

Mesut Aksakal

Danışman

Yüksek Lisans/Doktora Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Gıyasettin BAYDAR

Gıyasettin Baydar

Doç. Dr. A. Ziya KARAKILIÇIK

A. Ziya Karakılıçık

Doç. Dr. Mustafa NAZIROĞLU

M. Naziroğlu

Y. Doç. Dr. Mehmet GAY

Mehmet Gay

TEŐEKKÜR

Tez konumun seçilmesi ve çalıŐmalarımın her aŐamasında yakın ilgi ve desteği ile beni yÖnlendiren danışman hocam sayın Prof. Dr. Mesut AKSAKAL'a, teŐekkürü bir borç bilirim.

ÇalıŐmam süresince yardımlarını esirgemeyen Elazığ Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürü Dr. Nurcan ARSLAN'a, Sultan Suyu Tarım İşletmesi Müdürlüğü Sığırcılık Ünitesi personeline, Fizyoloji Anabilim Dalı ve Enstitü elemanlarına teŐekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	2
3. GİRİŞ.....	3
3.1. Mastitis	3
3.1.1. Mastitisin Sınıflandırılması	3
3.1.1.1. Klinik Mastitis.....	3
3.1.1.1.1. Perakut Mastitis.....	3
3.1.1.1.2. Akut Mastitis	4
3.1.1.1.3. Subakut Mastitis.....	4
3.1.1.1.4. Kronik Mastitis.....	4
3.1.1.2. Subklinik Mastitis	4
3.1.2. Mastitisin Meydana Gelmesinde Etkili Bakteriler	5
3.1.3. Memenin Savunma Sistemi.....	5
3.1.3.1. Mekanik Savunma Sistemi.....	5
3.1.3.2. Hücresel Savunma Sistemi.....	6
3.1.3.3. Kimyasal Savunma Sistemi.....	6
3.1.4. Mastitisin Meydana Gelmesini Kolaylaştıran Etkenler.....	6
3.1.4.1. Memenin Anatomik Yapısı	7
3.1.4.2. Meme ve Meme Başı Yaraları.....	7
3.1.4.3. Laktasyon Dönemi	7
3.1.4.4. Sağım Şekli	7
3.1.4.5. Süt Verimi	8
3.1.4.6. Mevsim ve İklim Şartları.....	8
3.1.4.7. Beslenme	8
3.1.4.8. Hormonal Dengesizlik.....	8
3.1.5. Mastitisin Teşhisi	8
3.1.6. Mastitiste Koruma ve Kontrol.....	9
3.2. Serbest Radikaller, Antioksidanlar ve Lipit Peroksidasyon	10
3.2.1. Serbest Radikaller.....	10
3.2.2. Serbest Oksijen Radikalleri ve Reaktif Oksijen Türleri.....	10
3.2.2.1. Süperoksit Radikali	10
3.2.2.2. Hidroksil Radikali	11
3.2.2.3. Hidrojen Peroksit.....	11
3.2.2.4. Singlet Oksijen	12
3.2.3. Antioksidanlar	12
3.2.3.1. Katalaz.....	13
3.2.3.2. Glutasyon Peroksidaz	14
3.2.3.3. Glutasyon	14
3.2.4. Lipit Peroksidasyon.....	15
3.3. E Vitamini	16
3.3.1. Özellikleri ve Yapısı.....	17
3.3.2. Bulunduğu Yerler	17
3.3.3. Emilimi, Taşınması, Depolanması ve Atılımı	17
3.3.4. E Vitamininin Fizyolojik Fonksiyonları	19
3.3.5. E vitamini Yetersizliği.....	20
3.4. Selenyum	21
3.4.1. E Vitamini ve Selenyum Arasındaki İlişki.....	23
3.5. Mastitis, Lipit Peroksidasyon ve Antioksidanlar Arasındaki İlişki	24

4. GEREÇ ve YÖNTEM	30
4.1. Gereç	30
4.1.1. Hayvan Materyali.....	30
4.1.2. Hayvanların Araştırmaya Hazırlanması.....	30
4.1.3. Yem Materyali.....	30
4.1.4. Kullanılan Kimyasal Maddeler	31
4.2. Yöntem	31
4.2.1. Uygulanan Genel Yöntem	31
4.2.2. Plazma ve Süt Örneklerinin Hazırlanması	32
4.2.3. Eritrosit Hemolizatının Hazırlanması.....	32
4.2.4. Lökosit İzolasyonu ve Hemolizatının Hazırlanması	32
4.2.5. Süt Somatik Hücre Sayısının (SHS) Belirlenmesi.....	33
4.2.6. California Mastitis Testi (CMT)	33
4.2.7. Sütün Mikrobiyolojik Muayenesi	33
4.2.8. Plazma ve Süt E Vitamini Tayini.....	33
4.2.9. Plazma ve Süt Selenyum Tayini.....	34
4.2.10. Plazma , Süt ve Lökosit Lipit Peroksidasyon Tayini	34
4.2.11. Eritrosit ve Lökosit Glutasyon Proksidaz Enzim Aktivitesinin Tayini	34
4.2.12. Eritrosit Redükte Glutasyon (GSH) Düzeyinin Belirlenmesi.....	35
4.2.13. Eritrosit Katalaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi.....	35
4.2.14. Protein Konsantrasyonunun Belirlenmesi.....	35
4.2.15. İstatistiksel Değerlendirme.....	35
5. BULGULAR	36
6. TARTIŞMA	45
7. KAYNAKLAR	56
8. ÖZGEÇMİŞ	67

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Günlük İnek Başına Verilen Karma Yem Bileşenleri ve Miktarları.....	30
Tablo 2: İneklere Verilen Kesif Yemin Bileşenleri ve % Değerleri	31
Tablo 3: Süt Somatik Hücre Sayısı, E Vitamini, Se ve MDA Değerleri.....	36
Tablo 4: Plazma E Vitamini, Se ve MDA Değerleri.....	39
Tablo 5: Kan Lökositi GSH-Px ve MDA Değerleri.....	41
Tablo 6: Eritrosit GSH, GSH-Px ve Katalaz Değerler	42

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. E Vitamininin Yapısı	16
Şekil 2. Oksijene Bağımlı Bakteri Öldürme Aktiviteleri.....	24
Şekil 3. Bakteri Ölümü ve Toksinlerinin Yıkımı ile İlişkili Olaylarla Bağlantılı Olarak Eritrosit ve Lökositlerde Oluşan Glutasyon ve Glutasyon Enzimlerinin Yangılı Meme Dokusunda Stokrom P-450'nin İndüklenmesindeki Rolü	27
Şekil 4: Süt Somatik Hücre Sayısı.....	37
Şekil 5: Süt E Vitamini Düzeyi.....	37
Şekil 6: Süt Selenyum Düzeyi	38
Şekil 7: Süt MDA Düzeyi	38
Şekil 8: Plazma E Vitamini Düzeyi	39
Şekil 9: Plazma Selenyum Düzeyi.....	40
Şekil 10: Plazma MDA Düzeyi.....	40
Şekil 11: Kan Lökositi GSH-Px Aktivitesi.....	41
Şekil 12: Kan Lökositi MDA Düzeyi	42
Şekil 13: Eritrosit GSH Düzeyi	43
Şekil 14: Eritrosit GSH-Px Aktivitesi.....	43
Şekil 15: Eritrosit Katalaz Aktivitesi	44

KISALTMALAR LİSTESİ

CMT: California Mastitis Testi

NO[•]: Nitrik Oksit

H₂O₂: Hidrojen Peroksit

•OH: Hidroksil Radikali

O₂^{•-}: Süperoksit Radikali

ONOO⁻: Peroksinitrit

SOD: Süperoksit Dismutaz

GSH : Redükte Glutatyon

GSH-Px: Glutatyon Peroksidaz

¹O₂: Singlet Oksijen

NADPH: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat

GSSG: Okside Glutatyon

ROOH: Peroksit

PUFA (Polyunsaturated Fatty Acid): Çoklu Doymamış Yağ Asidi

MDA: Malondialdehit

ROO[•]: Peroksil Radikali

SHS: Somatik Hücre Sayısı

Se: Selenyum

1. ÖZET

Bu araştırmada, subklinik mastitisli ineklerde E vitamininin lipit peroksidasyon ve bazı antioksidan düzeylerine etkisi araştırıldı.

Araştırmada, 40 adet inek kullanıldı. Kontrol ve uygulama grupları, Kaliforniya Mastitis Testi (CMT) ve somatik hücre sayısı (SHS)'na göre belirlendi. Uygulama grubundaki ineklere 20 gün boyunca gün aşırı 2.000 IU E vitamini kas içi uygulandı.

Kontrol, uygulama öncesi ve sonrası gruplarında sırası ile sütte; SHS 169.60, 1.054.40, 700.80 (ml/süt), E vitamini 2.34, 2.04, 2.15 (mmol/L), Se 0.051, 0.045, 0.048 ($\mu\text{g/ml}$) ve MDA 0.50, 0.66, 0.58 (nmol/ml) olarak saptandı. Plazmada ise, E vitamini 5.79, 4.09, 5.11 (mmol/L), Se 0.099, 0.077, 0.081 ($\mu\text{g/ml}$) ve MDA 0.61, 0.75, 0.68 (nmol/ml) olarak bulundu.

Aynı gruplarda sırası ile lökositte, GSH-Px 34.55, 22.02, 26.40 (IU/gr protein) ve MDA 111.67, 115.82, 113.47 (nmol/mg protein) olarak ölçüldü. Eritrositte ise, GSH 1.59, 1.35, 1.42 ($\mu\text{mol/ml}$), GSH-Px 71.30, 54.90, 59.12 (IU/gr protein) ve Katalaz 52.19, 48.06, 50.32 (kU/gr protein) olarak saptandı.

Kontrol grubu ile uygulama öncesi grup süt SHS, E vitamini ve MDA, plazma E vitamini, Se ve MDA, lökosit GSH-Px, eritrosit GSH, GSH-Px ve katalaz düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulundu. Süt Se ve lökosit MDA ortalamaları ise önemsiz bulundu. Uygulama öncesi ve sonrası gruplar arasında süt SHS ve MDA , plazma E vitamini ve MDA, lökosit GSH-Px, eritrosit GSH ve GSH-Px düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulundu. Süt E vitamini ve Se, plazma Se, lökosit MDA ve eritrosit katalaz ortalamaları farkının ise istatistiksel yönden önemsiz olduğu saptandı.

Bu sonuçlara göre, subklinik mastitisli ineklerde E vitamini uygulamasının lipit peroksidasyonun önlenmesinde ve bazı antioksidanların aktivitelerinde olumlu bir etkiye sahip olduğu görüldü.

2. ABSTRACT

This study was carried out to determine the effects of vitamin E on lipid peroxidation and some antioxidant substances in subclinical mastitic dairy cows.

Forty cows were assigned to two groups by California Mastitis Test (CMT) and somatic cell count (SCC). 2,000 IU vitamin E was injected to cows of treatment group by intramuscular route every other day for twenty days.

SCC in milk samples of control group, pre-treatment and post-treatment was 169.60, 1,054.40, 700.80 (ml/milk), respectively. Vitamin E concentration of milk samples of control group and treatment group before and after treatment was 2.34, 2.04 and 2.15 (mmol/L) and Se levels were 0.051, 0.045, 0.048 ($\mu\text{g/ml}$) and MDA levels were 0.50, 0.66, 0.58 (mmol/ml), respectively. Plasma vitamin E, Se and MDA levels were 5.79, 4.09, 5.11 (mmol/L), 0.099, 0.077, 0.081 ($\mu\text{g/ml}$) and 0.61, 0.75, 0.68 (nmol/ml), respectively.

Leucocyte GSH-Px and MDA levels with the same ordering of groups were 34.55, 22.02, 26.40 (IU/g protein) and 111.67, 115.82, 113.47 (nmol/mg protein), respectively. GSH, GSH-Px and Catalase levels in erythrocytes in control, before and after treatment groups were 1.59, 1.35, 1.42 ($\mu\text{mol/ml}$), 71.30, 54.90, 59.12 (IU/g protein) and 52.19, 48.06, 50.32 (kU/g protein), respectively.

Differences in milk SCC, vitamin E and MDA, plasma vitamin E, Se and MDA; leucocyte GSH-Px; erythrocyte GSH, GSH-Px and catalase levels between control and pre-treatment groups were significantly changed while differences in milk Se and leucocyte MDA levels were not significant. In treatment group, differences between pre- and post-treatment in milk SCC and MDA, plasma vitamin E and MDA; leucocyte GSH-Px; erythrocyte GSH and GSH-Px levels were found as significant statistically whereas differences in milk vitamin E and Se levels; plasma Se; leucocyte MDA and erythrocyte catalase activities were not statistically significant.

The results of the study indicate that vitamin E administration had a significant role in prevention of lipid peroxidation and positively influenced the activity of some antioxidants in subclinical mastitis cows.

3. GİRİŞ

3.1.Mastitis

Meme dokusunu oluşturan tüm yapıların ve bu dokuları saran bağ dokusunun yangısına mastitis adı verilir. Mastitis süt inekçiliğinde ekonomik olarak önemli bir hastalıktır. Meydana gelmesinde çok sayıda mikroorganizmalar ve değişik faktörler etkili olmaktadır (18, 68, 72).

Tüm dünyada olduğu gibi ülkemiz süt sığırcılığı da, yaygın mastitis olguları ile olumsuz yönde etkilenmektedir. Mastitisin birçok formu vardır. Mastitisin formları içinde gözle görülür klinik teşhisin kolayca yapılamadığı subklinik mastitisler ayrı bir öneme sahiptir. Subklinik mastitisler; meme dokusunu, sütün bileşimini ve miktarını etkilemekle birlikte meydana gelen değişiklikler gözle ve klinik muayenelerle tespit edilememektedir. Subklinik mastitisin klinik mastitislere oranla 40-50 defa daha fazla şekillenmesi ve % 3-26 oranında süt kaybına neden olmasından dolayı, ekonomik yönden önem arz etmektedir (7, 53,115).

3.1.1. Mastitislerin Sınıflandırılması

Mastitis enfeksiyonları, hastalığın klinik formuna göre klinik ve subklinik mastitis olmak üzere iki grupta incelenir.

3.1.1.1. Klinik Mastitis

Klinik mastitisler; perakut mastitis, akut mastitis, subakut mastitis ve kronik mastitis olmak üzere dört başlık altında değerlendirilir.

3.1.1.1.1. Perakut Mastitis

Hastalık hayvanlarda ani olarak ortaya çıkar ve hastalarda genel olarak titreme, vücut ısısında yükselme, nabız artışı, çabuk ve yüzeysel soluma, hayvanlarda huzursuzluk, yeme ve içmeden kesilme ve rumen hareketlerinde meydana gelen azalma ile kendini gösterir. Meme bölümlerinden bir veya bir kaçında ani bir şişme, sıcaklık, sertlik, gerginlik, kızarıklık, ağrı ve ödem görülür. Enfeksiyon; ilk saatlerde memede seröz akıntı, ileriki saatlerde ise kanlı ve irinli akıntı ile kendini belli eder. Eğer hastalık zamanında tedavi edilmezse, ölümler şekillenebilir (26, 31, 68).

3.1.1.1.2. Akut Mastitis

Perakut mastitislere nazaran klinik belirtilerin biraz daha hafif olduğu mastitislere dir. Akut mastitislere; memenin dokunmaya karşı hassas olması, ağrı, sıcaklık, şişlik ve kızarıklık gibi belirtilerin yanında süt miktarında azalma yada tamamen kesilmesi gibi belirtilerle karakterize bir mastitis formudur. Hayvanda durgunluk, bitkinlik, yeme ve içmeden kesilme gibi klinik belirtiler görülür (26, 47).

3.1.1.1.3. Subakut Mastitis

Subakut mastitiste, perakut ve akut mastitiste görülen genel ve lokal belirtilere rastlanmaz. Hayvanın yeme ve içmesinde bir değişiklik görülmez, ancak hasta memede sertlik ve ödem görülmektedir. Sağım sırasında sütte pıhtılara rastlanılabılır. Enfeksiyonun ileriki dönemlerinde memede şişmeler, kızarıklık, ısı artışı ve ağrının yanında süt miktarında azalma ile birlikte seröz, purulent bir akıntı görülür (26, 47, 68).

3.1.1.1.4. Kronik Mastitis

Tedavi edilemeyen ve uzun süre devam eden diğer klinik ve subklinik mastitislerin zamanla kronik hale dönüşmesiyle şekillenir. Klinik mastitislerin uzun süre devam etmesi durumlarında memede görülen ağrı, sıcaklık, kızarıklık, hassasiyet, yeme ve içmeden kesilme gibi semptomlar kronik mastitislerde görülmez. Kronik mastitisler; sütün az yada çok tuzlu olması, mavimsi renkte olması ve sulanma gibi belirtilerle kendini gösterir. Memeden zamanla irinli bir içerik salgılanabilir. Hasta memelere zamanında ve etkin bir tedavi uygulanmazsa süt salgısı tamamen durabilir ve memede körelme meydana gelebilir (26, 47, 68).

3.1.1.2. Subklinik Mastitis

Mastitis enfeksiyonlarında yangının şekli; hastalığın şekillenme süresine, enfeksiyonun şiddetine, hastalığı meydana getiren mikroorganizmaların türüne, sayısına, meme dokusunun direncine, hayvanın genel durumuna, yaşına, ırkına, bakım ve besleme şartlarına, çevre ve mevsim durumlarına göre değişmektedir (47, 72).

Subklinik mastitiste memede yangı olduğu halde klinik herhangi bir belirti görülmez. Hastalıkta en önemli klinik belirti süt veriminde görülen sürekli bir azalmadır. Bunun yanında bazen sağım sonunda pıhtı parçaları görülebilir. Subklinik

mastitisler zamanında tedavi edilmezse mastitisin diğerklinik formları oluşur yada meme loplalarında atrofiler şekillenebilir (26, 47).

3.1.2. Mastitisin Meydana Gelmesinde Etkili Bakteriler

Mastitis enfeksiyonlarının meydana gelmesinde birçok bakteriler rol almakla birlikte hastalığın oluşumunda en fazla rol oynayan bakteriler; Stafilokoklar, Streptokoklar ve Koliformlardır (13, 18, 29, 116, 119)

Stafilokoklar, ineklerde perakut mastitisten kronik mastitise kadar değişen bir klinik tabloya neden olurlar. Stafilokoklar sebep olduğu perakut mastitislere genel olarak enfeksiyonun ilk birkaç gününde rastlanabilir. Bu formda Stafilokoklar çok belirgin semptomlara neden olurlar. Belirtilerin görülmesi ani olup, hayvanın ölümüne neden olabilir (104, 116).

Stafilokokların neden olduğu mastitislere, genelde laktasyonun başında rastlanır. Hastalık sonucu hayvanda; ateş, depresyon, iştahsızlık, zayıflama, dehidrasyon gibi genel semptomlar görülür. Memede ödem, kızarıklık, sıcaklık ve ağrı fark edilir. Süt miktarında azalma, memede seröz, irinli, pıhtılı ve kanlı akıntı gözlenir. Ayrıca Stafilokoklar ortama saldıkları toksinlerle toksemi ve gangrenli mastitislere sebep olabilirler (72, 114, 116).

Stafilokokların neden olduğu mastitisler gizli ve yavaş seyirli olup kronik bir formda görülürler. Stafilokoklar genelde kuru dönemde enfeksiyon oluşturmakla beraber, laktasyon döneminde de hastalık görülebilir (72, 80, 114, 116).

Koliformlar ise perakut formdan subklinik forma kadar değişen derecelerde mastitise neden olmasına rağmen, daha çok akut seyirli mastitislere neden olmaktadır. Koliformların sebep olduğu perakut mastitis formlarında; iştahsızlık, ateş, titreme gibi klinik belirtiler görülür. Bu dönemde meme de sertlik, ağrı, ödem, şişlik ve hassasiyet mevcuttur. Koliformların sebep olduğu akut mastitis formu, perakut mastitislerden, belirtilerin hafif seyretmesi ve hastalık süresinin kısa olması ile farklılık arz eder (75, 114, 116)

3.1.3. Memenin Savunma Sistemi

3.1.3.1. Mekanik Savunma Sistemi

Meme başı ve meme deliği kanalını meydana getiren kaslar, meme başı sifinkterleri ile meme başı kanalının iç kısmında bulunan ve mukoza uzantılarının

meydana getirdiği kapak sistemi ve meme derisi, mekanik savunma sistemini oluşturmaktadır. Meme başı kanalının meme enfeksiyonlarını engellemede önemli bir yeri vardır. Düz ve iyi kapanan, çok kısa ve çok uzun olmayan, epitel kısmı deforme olmamış meme başı, mastitisi meydana getiren etkenlerin memeye girmesini engeller (47).

3.1.3.2. Hücresel Savunma Sistemi

Meme dokusu, kan ve lenf damarları ile sarılmış bir yapıdadır. Burada dolaşıma katılan hücrelerden akyuvarlar (lenfositler, monositler) ve histiositler memenin hücresel savunma sistemini oluşturur. Memedeki aktif savunma sistemini makrofajlar, nötrofiller ve lenfositler gibi hücreler meydana getirir. Sütteki bu hücrelerin sayısı genetik bir özellik taşımakta olup sütteki ve meme dokusundaki sayıları hayvandan hayvana değişmekte ve bu durum bazı hayvanları diğerlerine nazaran mastitise daha dayanıklı yada duyarlı kılmaktadır. Hayvanın bağışıklık sistemi mastitise karşı dirençte önemli rol oynamaktadır (47).

3.1.3.3. Kimyasal Savunma Sistemi

Meme başı kanalının, meme enfeksiyonlarını önlemede büyük etkisi olmaktadır. Meme kanalı epitelleri tarafından muma benzer bir madde olan ve serbest yağ asidi ihtiva eden *laktosebum* salgılanmaktadır. Salgılanan bu madde meme içine giren hastalık yapıcı etkenleri önlemektedir. Meme başı ve meme kanalında oluşan dejenerasyon durumlarında epitel dokunun fonksiyonunu yapamaz duruma gelmeleri halinde, bu madde salgılanamamakta bunun sonucu olarak da hastalık yapan etkenlerin meme içine girişleri kolaylaşmaktadır. Süt, içerdii laktoferin ve lizozimden dolayı bakteristatik ve bakterisit özelliğe sahiptir. İnce süt kanallarının epitel hücrelerince salgılanan lizozimden dolayı bakteriler, ince süt kanallarından ziyade meme başı ve meme boşluklarında daha fazla üremektedirler. Laktoferin, süt bezleri tarafından salgılanmakta ve bakterilerin solunum enzimleri için gerekli olan demiri kendisine bağlayarak bakterilerin üremelerini ve beslenmelerini engellediği için, memeyi bakteriyel enfeksiyonlara karşı korumaktadır (47).

3.1.4. Mastitisin Meydana Gelmesini Kolaylaştıran Etkenler

Mastitise neden olan etkenlerin meme içine girmesi her zaman memede hastalığa yol açmaz, çünkü hastalığın meydana gelmesinde hastalık yapan etkenlerin

virulensi, etkenin sayısı, hayvanın ve memenin direnci ve çevresel faktörler etkili olmaktadır (114).

3.1.4.1. Memenin Anatomik Yapısı

Meme ve meme başının normal anatomik yapısı mekanik savunma sisteminin temelini oluşturmakta ve hastalık etkenlerinin memeye girişini engellemektedir. Bazı durumlarda meme başı ve kanalının kusurlu olması memeyi mastitise karşı duyarlı kılmaktadır (47).

3.1.4.2. Meme ve Meme Başı Yaraları

Meme ve meme başında meydana gelen yaralar, memeyi mastitise karşı hassaslaştırarak sağımı zorlaştırmakta ve hastalık etkenlerinin bu kısımlardan memeye girişini kolaylaştırarak hastalığın meydana gelmesine neden olmaktadır. Yaralanmalar sonrası, yaralı bölgenin düzensiz şekilde iyileşmesi ile ortaya çıkan skatriks dokusunun büzülmesine bağlı olarak meme başı kanallarının anormal şekil alması memeyi mastitise karşı duyarlı hale getirmektedir (47, 72, 104).

3.1.4.3. Laktasyon Dönemi

Süt ineklerinde yaş ilerledikçe ve laktasyon sayısı arttıkça memenin ve hayvanın doğal savunma gücü azalmakta ve meme başı sfinkterlerinin gevşemesi nedeniyle hastalık etkenlerinin meme içine girmesi kolay olmaktadır (58, 60, 99).

3.1.4.4. Sağım Şekli

Sağım şekli ile mastitis arasında yakın bir ilişki vardır. Hastalığı oluşturan etkenler memeye sağım sırasında girmektedir. Memelerdeki süt zamanında ve tam olarak boşaltılmazsa sütün memede uzun süre kalmasına bağlı olarak bakterisid ve bakteriostatik özelliği kaybolur. Sonuçta, bakterilerin üremesi için iyi bir besi ortamı oluşur (28, 47).

Sağımın makineli yada elle yapılması sırasında memede meydana gelen mekanik travmalar sonucu sfinkterlerin aşırı gevşemesi memeyi mastitise karşı duyarlı hale getirir. Bu durumlar göz önüne alınarak makineli yada elle yapılan sağımlarda dikkatli olunmalıdır (47, 104). Mastitisi oluşturan mikroorganizmalar, deri, ingunial ve anal bölge, ahır zemini, yemlik ve suluklar, sağım makinaları ve sağım yapanların ellerinde bol miktarda bulunmaktadır. Bu nedenle, enfeksiyonun oluşmasını önlemek için, hijyen kurallarına titizlikle uyulmalıdır (28, 47, 55, 104).

3.1.4.5. Süt Verimi

Mastitis, süt verimi ile yakından ilgili olan bir hastalıktır. Hayvanların yıllık süt verimi arttıkça mastitisin görülme oran da artar. Bundan dolayı yüksek süt verimli hayvanlar, düşük verimlilere nazaran mastitise karşı daha duyarlıdırlar (47).

3.1.4.6. Mevsim ve İklim Şartları

Mevsim ve iklim şartları, mastitisin oluşması ile direkt yada indirekt olarak ilişkilidir. İklim şartlarında meydana gelen ani değişimler özellikle kronik meme enfeksiyonlarının akut yada subklinik hale dönmelerine sebep olabilmektedir (47). Ani iklimsel değişimlere bağlı olarak meydana gelen stres, hayvanı mastitise karşı duyarlı hale getirmektedir. Sıcak ve nemin yüksek olduğu dönemlerde ayrıca yağışlı ve soğuk kış mevsimlerinde mastitisin diğer dönemlere oranla daha fazla görüldüğü bildirilmektedir (33, 80, 95).

3.1.4.7. Beslenme

Mastitisin ortaya çıkmasında yüksek proteinli yemlerle beslenmenin de etkili olduğu bildirilmektedir. Bunun yanında beslenmenin tek başına meme enfeksiyonlarına yol açmadığı ancak kronik mastitislerin zaman zaman akut hale dönüşümünde etkili olabileceği bildirilmektedir. Süt verimini artırmak için uygulanan yoğun ve aşırı beslenme gizli enfeksiyonları ve subklinik mastitislerin akut hale dönüşümünü kolaylaştırmaktadır. Pamuk tohumu küspesi gibi bazı yoğun yemlerle beslenme durumlarında mastitis olaylarının arttığı, mineral madde ve vitaminlerin yemlere ilave edilerek hayvanlara verilmesi durumlarında ise mastitisin azalacağı belirtilmektedir (47).

3.1.4.8. Hormonal Dengesizlik

Ovaryum, plesenta ve böbrek üstü bezlerinden hormonların salgılanma düzensizliği mastitislerin meydana gelmesinde etkili olabilmektedir. Özellikle östrojen hormonu ve kortizonun savunma sistemi üzerindeki olumsuz etkileri mastitise karşı duyarlılığı artırdığı belirtilmektedir (47).

3.1.5. Mastitisin Teşhisi

Mastitisin teşhisi; memenin klinik muayenesi, sütün kimyasal, fiziksel, hücresel ve mikrobiyolojik muayenesi ile yapılabilmektedir (27, 28, 47).

Mastitis meme loplarının inspeksiyonu, palpasyonu, meme başlarının büyüklükleri gibi belirtilere göre teşhis edilebilmektedir. Meme loplarındaki asimetri, memedeki hiperemi, nekroz, ödem gibi belirtiler gözle görülebilir. Meme loplarındaki ısı artışı sertlik ağrı ve ödem palpasyonla fark edilir. Süt miktarında azalma, sütün kanlı, pıhtılı ve irinli olması, memeden seröz, purulent akıntı olması gibi belirtiler mastitisin sütte oluşturduğu değişikliklerdir (74, 76).

Sütte meydana gelen değişikliklerin tespiti için, meme loplarından alınan süt numuneleri kullanılır. Sütün fiziksel muayenesi; sütün rengine, kokusuna ve kıvamına bakılarak yapılır (27, 28, 47).

Sütün kimyasal muayenesinde, meme bezinde şekillenen yangıya bağlı olarak sütün bileşiminde meydana gelen değişiklikler tespit edilir. Sütte, Cl ve Na gibi iyonların, katalaz ve lipaz gibi enzimlerin miktarı artarken, laktoz, kazein, yağ ve K miktarları azalır. Buna bağlı olarak sütün pH'sında değişiklik görülür. Bu değişiklik; pH metre, Bromgreosol purple (BCP) testi, California Mastitis testi (CMT), Brom Thymol Blue testi (BTB) ile tespit edilebilmektedir. Mastitisli sütte kimyasal değişiklikler kloroid testi, Hotis Müler testi, katalaz testi ile yapılabilmektedir. Ayrıca mastitisin teşhisi; kan serumunda albumin, total protein, kreatin, SGOT ve SGPT ve sütte Laktat dehidrogenase, N-acetyl-B-D glucosminidase gibi parametrelerin tespiti ile yapılabilmektedir (107, 125, 138).

Sütte memedeki yangıya bağlı olarak süt bezi kanallarındaki epitel hücre döküntüleri, kandan süte geçen lökosit ve lenfositler somatik hücre sayısını meydana getirmektedir. Sütün ml'sinde hücre miktarının belirlenmesi ile mastitis teşhis edilebilmektedir. Mastitis durumlarında ml'deki hücre sayısı artmakta olup bu durum mastitisin teşhisinde önemli bir kriterdir (80, 125, 138).

Sütün mikrobiyolojik muayenesinde meme loplarından alınan sütlerin değişik besi yerlerine ekimi yapılarak, kültürünün yapılması ile mastitisin teşhisi yapılabilmektedir (18, 54, 107).

3.1.6. Mastitiste Koruma ve Kontrol

Mastitisten ileri gelen zararın büyüklüğü, hastalığın memede meydana getirdiği tahribat ve tedavi masrafları dikkate alındığında, hayvanların hastalığa karşı korunmasını sağlamak daha önemlidir. Diğer hastalıklarda olduğu gibi, bu hastalıkta da koruma ve kontrol tedbirlerinin alınması, erken teşhis ve etkili tedavi mücadelede en önemli noktadır. Hastalığa karşı korunmada; hayvanın barındığı çevrenin ve

sağım materyalinin temizliği, sağım öncesi ve sonrası uygulanacak hijyen kuralları, sağımın zamanında ve düzgün periyotlarla yapılması, bakım ve besleme şartlarının uygunluğu, hastalıkla enfekte hayvanların ortamdan uzaklaştırılması yada hasta hayvanların sürüye katılmaması ve kuru dönem tedavisi gibi yöntemler önemlidir (34, 47, 78).

3.2. Serbest Radikaller, Antioksidanlar ve Lipit Peroksidasyon

3.2.1. Serbest Radikaller

Serbest radikaller; bir yada daha fazla eşleşmemiş elektron içeren kısa ömürlü, reaktif atom veya moleküllerdir. Bu grupta halojen atomları, oksijen metabolizmasının ara ürünleri olan oksijen çeşitleri, Cl, Br gibi atomlar, Na⁻, K⁻ gibi alkali metal atomları, NO, NO₂ gibi atom kombinasyonları radikal olarak isimlendirilir (4, 39, 134).

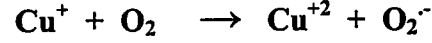
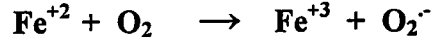
3.2.2. Serbest Oksijen Radikalleri ve Reaktif Oksijen Türleri

Oksijen, canlı organizmaları oluşturan moleküllerin yapısına girmesi, besin kaynağı konumundaki maddelere temel element olması ve aerobik canlılardaki oksidasyon reaksiyonları ve solunumda rol alması nedeni ile, yapısal ve fonksiyonel açıdan önemlidir (85, 90). Serbest radikal reaksiyonlarında oksijenin moleküler formu başta olmak üzere, süperoksit (O₂⁻) hidrojen peroksit (H₂O₂), hidroksil (OH) radikali ve geçiş metali iyonları anahtar konumda olan yapılarıdır (39, 106, 134).

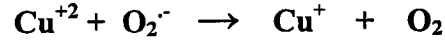
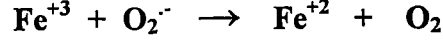
3.2.2.1. Süperoksit Radikali (O₂⁻)

Bu radikalin en önemli kaynağı mitokondri, kloroplast, endoplazmik redikulum ve elektron transport zincirinden sızan küçük elektron sızıntılarıdır. Hemen hemen tüm aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu, serbest O₂⁻ radikal anyonu meydana gelmektedir (4, 24, 85, 90).

Süperoksit, bir serbest radikal olmakla birlikte direk olarak kendisi fazla zarar vermez. Asıl önemi, H₂O₂, kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır (4, 67, 106, 134). İndirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu sonucunda da O₂⁻ meydana gelir (4, 67, 134).



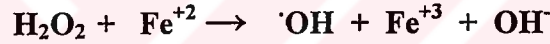
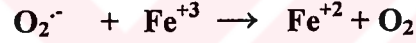
Bu reaksiyonlar geri dönüşümlüdür (34, 36).



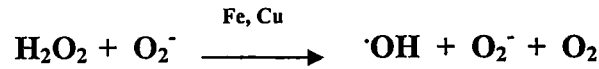
Süperoksit, fizyolojik bir serbest radikal olan nitrikoksit (NO) ile birleşerek reaktif bir oksijen türevi olan peroksinitrit (ONOO⁻)'i meydana getirir ve bunun sonucu olarak da NO' in normal etkisi inhibe edilir (4, 67, 134).

3.2.2.2. Hidroksil Radikali (·OH)

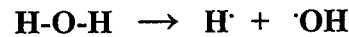
Hidroksil radikali (·OH), H₂O₂'in geçiş metallere bulduğu ortamda indirgenmesiyle (Fenton reaksiyonu);



yada O₂⁻ ve H₂O₂'nin ortamda serbestleşmiş halde bulunan Fe⁺³ veya Cu⁺² katalizörlüğünde birbirleri ile reaksiyona girmesi sonucu meydana gelir (Haber Weiss reaksiyonu) (67).



Hücrelerin en önemli elemanı su olmasından dolayı x veya γ ışınları gibi iyonize edici radyasyonun suya etkisi sonucu ·OH üretimi olmaktadır (4).

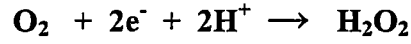


Ayrıca ·OH radikali tioller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak yeni radikallerin meydana gelmesine sebep olur (4).

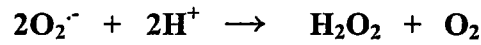
3.2.2.3. Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

Su ile kolayca karışan ve antibakteriyel özelliği bulunan H₂O₂, aerobik hücrelerin çoğunda bulunur. Moleküler oksijenin, çevresindeki moleküllerden iki

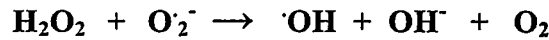
elektron alması sonucu peroksit oluşur. Peroksit molekülü, iki H⁺ atomu ile birleşerek H₂O₂ meydana getirir. H₂O₂ membranlardan kolayca geçebilen uzun ömürlü bir antioksidandır.



Ancak biyolojik sistemlerde H₂O₂ asıl üretimi O₂⁻ in dismutasyonu ile olur. İki O₂⁻ molekülü iki proton alarak H₂O₂'i ve moleküler oksijen oluştururlar. Reaksiyonun sonunda radikal olmayan ürünler meydana geldiğinden bu reaksiyon bir dismutasyon reaksiyonu olarak değerlendirilir (4, 39, 65).



Bu dismutasyon ya kendiliğinden yada süperoksit dismutaz (SOD) tarafından katalizlenir. SOD aktivitesi sonucu ortaya çıkan H₂O₂, katalaz ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzimleriyle su ve oksijene çevrilir. H₂O₂ bir serbest radikal olmadığı için, serbest radikal biyokimyasında önemli rol oynar, çünkü O₂⁻ ile reaksiyona girerek en az zarar verici ·OH oluşturur. Bundan dolayı, canlı organizmada birikmesi kontrol edilir (4, 39, 65).



3.2.2.4. Singlet Oksijen (¹O₂)

Singlet oksijen (¹O₂) ortak elektronu olmadığı için reaktif olmayan oksijen molekülüdür. Serbest radikal reaksiyonları sonucu meydana geldiği gibi serbest radikal reaksiyonların başlamasına da sebep olur. Oksijenin elektronlarından birinin enerji olarak kendi dönüşünün ters yönünde olan başka bir orbitale yer değiştirmesi ile olur. Delta (Δ O₂) ve sigma (Σ O₂) diye iki şekli vardır (4, 147).

3.2.3. Antioksidanlar

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta bir çok savunma mekanizmaları gelişmiştir. Bunlar “antioksidan savunma sistemleri” veya kısaca “antioksidanlar” olarak bilinir (4).

Serbest radikal reaksiyonları normal metabolik yolların işleyişinin doğal bir sonucudur. Normalde serbest radikal molekülleri belirli düzeyde kaldıkları sürece organizmanın yabancı maddelere ve enfeksiyöz ajanlara karşı savunmasında önemli rol oynayan moleküllerdir. Ancak serbest radikaller belirli düzeyin üstünde oluşur ve antioksidanlar yetersiz kalırsa söz konusu serbest radikal molekülleri organizmanın yapı elemanları olan protein, lipid, karbonhidrat, nükleik asit ve yararlı enzimleri bozarak zararlı etkilere yol açarlar (52, 81, 145).

Hücrelerin metabolik fonksiyonları, farklı olmasına bağlı olarak farklı derecelerde radikaller oluşur. Organizmada sürekli serbest radikal oluşumuna rağmen güçlü savunma sistemleri ile bunların lipid peroksidasyona neden olmaları önlenmektedir (38). Biyolojik sistemleri etkileyen çeşitli peroksidatif faktörlerle, bunlara karşı gelen antioksidan sistem kapasitesi arasında bir denge oluşmaktadır (38, 147). Peroksidatif faktörler hızla değişime uğradığından kısa sürede yeterli düzeye erişirse biyolojik sistemin antioksidan sistem kapasitesi yetersiz kalmakta bunun sonucu olarak da patolojik olaylar meydana gelmektedir (52, 81).

Genel olarak doğal antioksidanlar şu şekilde sınıflandırılır.

Enzimatik Antioksidanlar

Katalaz

Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px)

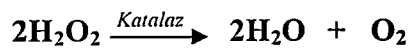
Nonenzimatik Antioksidanlar

Glutatyon (GSH)

α -tokoferol (E vitamini)

3.2.3.1. Katalaz

Katalaz, yapısında dört tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. Peroksizomlarda lokalize olur ve hücre dışında yok yada çok az miktarda bulunmaktadır. Kanda, kemik iliğinde, müköz membranlarda, karaciğer ve böbrek gibi organlarda bulunabilmektedir. Katalazın bilinen en önemli görevi (H_2O_2)'i oksijen ve suya parçalamaktır. Katalazın peroksidaz aktivitesine sahip oluşuna ilave olarak, bir molekül H_2O_2 'i elektron verici bir substrat olarak, diğerinde oksidan veya elektron alıcısı olarak kullanabilir (2, 4, 147).



Bu reaksiyon daha ziyade H₂O₂ konsantrasyonunun arttığı durumlarda büyük önem kazanmaktadır. Düşük H₂O₂ konsantrasyonlarında diğer peroksidler devreye girer. Bunlardan en önemlisi GSH-Px'dır. Katalazın indirgeyici aktivitesi H₂O₂, metil ve etil hidroperoksitleri gibi küçük moleküllere karşı olmaktadır. Büyük moleküllü lipit hidroperoksitlerine ise etkisi yoktur (2, 4, 52).

3.2.3.2. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px)

Glutatyon peroksidaz intraselüler bir enzim olup hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumludur. GSH-Px 4 selenyum atomu içeren sitozolik bir enzimdir. Glutatyon redüktaz enzimi tarafından Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) kullanarak rejenere olması sağlanır. NADPH pentoz fosfat yolu ile elde edildiği için bu yol detoksikasyon mekanizmasını destekleyici bir görünümde olup GSH-Px aşağıdaki reaksiyonları katalizler (1, 81, 149).



Glutatyon peroksidaz, peroksitlerin alkollere dönüşümünü katalize eder, selüler ve subselüler membranların oksidatif etkilerden korunmasını sağlar. Bu enzimin aktivitesi diyetle alınan miktarına bağlı olarak farklılık göstermekte ve böylece eritrositleri okside olmaktan korumaktadır (4, 46).

3.2.3.3. Glutatyon (GSH)

Redükte Glutatyon (GSH), karaciğerde genetik bilgiye ihtiyaç olmadan sentezlenebilen bir tripeptiddir. Glutamik asid, sistein ve glisin amino asitlerinden meydana gelmiştir (4, 91).

GSH, çok önemli bir antioksidan olup serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur. Bundan başka, proteinlerdeki -SH gruplarını redükte halde tutar ve bu grupları oksidasyona karşı korur. Bunun sonucu olarak da fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller. Yabancı bileşiklerin detoksifikasyonunu ve aminoasidlerin membrandan transportunu sağlar. GSH glioksilaz ve insülin transhidrogenaz gibi

bazı enzimlerin koenzimidir. Ayrıca hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşümünü engeller (4, 88, 91).

GSH, reaksiyon sonucu oksitlenerek okside glutatyona (GSSG) dönüşür. GSSG tekrar redükte hale gelmesi NADPH'nin kullanılması sonucu olur (4, 147).

3.2.4. Lipit Peroksidasyon

Lipit peroksidasyonu membranda bulunan fosfolipit, glikolipit, gliserit ve sterol yapısında yer alan poliansature (çoklu doymamış) yağ asitlerinin (PUFA) serbest oksijen radikalleri tarafından peroksidler, alkoller, aldehidler, hidroksid yağ asitleri, etan ve pentan gibi çeşitli ürünlere yıkılma reaksiyonudur (4, 88, 127).

Lipit hidroperoksidasyonu, kendi kendini devam ettiren bir zincir reaksiyonu şeklinde ilerler. Lipit peroksidasyonu sonucu meydana gelen membran harabiyeti geri dönüşümsüzdür (4, 65, 123).

Serbest radikaller hücre membranlarındaki doymamış yağ asitlerine saldırır ve böylece lipit peroksidlerine yol açan lipit radikallerinin oluşumuna sebep olur. Oksijen molékülünün lipitlere karşı yüksek affinitesi bulunmaktadır. Bu molékül, hemoglobinden ayrıldıktan sonra plazmadaki lipoproteinler ile ve eritrosit zarındaki lipitlerle çözünmekte ve daha sonra dokularda kullanılmaktadır. Bu sırada dokularda bulunan doymamış yağ asitlerindeki çift bağlara oksijenin bağlanması sonucu lipit peroksidasyonu meydana gelir. Lipit peroksidasyonu çok zararlı olan bir zincir reaksiyonudur. Reaksiyon sonucu meydana gelen malondialdehit (MDA) direkt olarak membran yapısına ve indirekt olarak da reaktif aldehitler üreterek diğer hücre bileşenlerine zara verir. Bunun sonucu bir çok hastalığa ve doku hasarına sebep olur. Lipit radikallerinin hidrofobik yapıda olmasından dolayı reaksiyonların çoğu membrana bağlı moléküllerde meydana gelir. Membran permeabilitesi ve mikroviskozitesi önemli ölçüde etkilenir. MDA, membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna neden olur. Bundan dolayı deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özelliklerini değiştirir. Bu etkiler MDA mutajenik, genotoksik ve karsinojenik olduğunu göstermektedir (4, 52, 88, 147).

Lipit peroksidasyonu, doymamış yağ asitlerinin serbest radikallerle etkileşmesi sonucu, doymamış yağ asitlerindeki metilen grubundan bir hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlamaktadır. Biyolojik sistemlerde bu radikallerin O^{\cdot} ile OH olduğu kabul edilmektedir. Oluşan O_2^{\cdot} diğer metabolik yollardan oluşan

H₂O₂ ve OH' ne dönüştükten sonra lipit peroksidasyonuna katılmaktadırlar (38, 88, 126).

Radikal lipit moloküllerinden bir H atomunun ayrılması ile karbon merkezli lipit radikali meydana gelir.

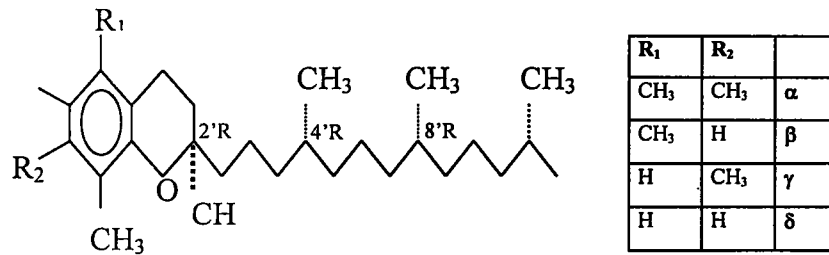


H atomunun koparılmasıyla oluşan serbest yağ asidi radikali, moleküler oksijen ile reaksiyona girerek ROO meydana gelmektedir. Oluşan ROO' yüksek reaksiyon yeteneğine sahip olup başka bir yağ asidi molekülü ile yeni bir ROOH ve yeni bir R oluşturacak şekilde reaksiyona girer. Oluşan bu R yeniden oksijen ile birleşir ve RH dan bir H⁺ ayrılmasını sağlar. Bir çok olayda bu şekilde oluşan ROOH, ROO ve 'OH'le parçalanır ve bu oluşan radikaller hemen substrat ile reaksiyona girerek yeni zincir reaksiyonlarını başlatacak olan R radikallerini oluştururlar. Böylece oluşan bir radikal sürekli olarak yeni radikallerin oluşmasına neden olur (38, 88, 126).

3.3. E Vitamini

İnsan ve hayvanlarda organizmanın canlılığını devam ettirebilmesi için vitaminlerin yeterli düzeyde alınması gerekir. Vitaminlerin önemli bir kısmı organizmada sentezlenemediğinden dışarıdan besinlerle alınması gereklidir. E vitamini yağda eriyen bir vitamin olup vücutta yağ dokusu, kas, karaciğer kalp ve testis gibi organlarda depo edilmektedir (11, 20, 56).

E vitamini, ilk olarak keşfedildiği yıllarda faktör x olarak belirtilmiş olup, Sure (1924) ve Evans (1925) tarafından E vitamini olarak tanımlanmıştır (50).



Şekil 1. E Vitamininin Yapısı.

Günümüzde E vitamininin doğada; dördü tokoferol, dördüde tokotrienol (α , β , γ , δ) olmak üzere sekiz adet bileşiği tanımlanmıştır. Ayrıca bunlara benzer yapıda olan sentetik bileşiklerde üretilmektedir (50, 98, 110).

3.3.1. Özellikleri ve Yapısı

Tokoferol oda ısısında açık kahve rengi veya sarı renkte yapışkan bir kıvamdadır. Suda çözünmezler, ancak alkol, hekzan, benzen ve kloroform gibi organik çözücülerde rahatlıkla çözünebilmektedirler. Tokoferoller, alkali ortamda 200°C ve daha yukarısında ultraviyole ışınlarına karşı dayanıksızdır. Buna karşılık asitlerden etkilenmezler (50, 83).

Önemli bir doğal antioksidant vitamin olan α - tokoferol vücutta ve gıdalarda karoten ve diğer okside olabilen maddeleri oksidasyona karşı korur (50). Oksijenli ortam, ısı, ışık, nem, yağların acılaşması, alkaliler, demir ve bakır gibi bazı metaller E vitamininin oksidasyonunu hızlandırır, buna karşılık ortamda oksijen yoksa ısı, ışık ve alkalilere karşı kısmen stabilitesi artar (40).

3.3.2. Bulunduğu Yerler

E vitamini, bitkisel yağlar, karaciğer, baklagil türü bitkilerin tohumları ve özellikle yeşil bitkilerin çoğunluğunda bulunur (50). Bitkiler tarafından tokoferol ve tokotrienoller fazla miktarda sentez edilmekte olup, tohumların ve yeşil yaprakların lipid içeren bölümlerinde serbest alkol formu olarak oluşmaktadırlar (50, 98, 137).

Hayvansal ürünlerin, yeşil bitkilere nazaran çok az bir kısmı E vitamini içermektedir (50). Tokoferollerin ve tokotrienollerin bitkilerdeki dağılım oranları bitki türlerine, olgunlaşma dönemi, depolama şekli, depolama süresi, harmanlama ve iklim şartları gibi durumlara bağlı olarak değişebilmektedir (40, 50, 137). Yemlerin yapay yöntemlerle kurutulması yada slaj yapmak suretiyle konserve edilmeleri durumunda E vitamini kaybı düşük düzeyde olmakta, bunun yanında güneşte kurutulan otlarda meydana gelen kayıp ise % 90 kadar olabilmektedir (105).

3.3.3. Emilimi, Taşınması, Depolanması ve Atılımı

E vitamininin Emilimi yağların sindirimi ile ilişkilidir (50). Yağlar ve yağda eriyen (A, D, K) gibi diğer vitaminlerin Emilimi ince barsaklarda özellikle duodenum ve jejunum'un proksimal kısmında olmaktadır. Emilimin ince barsakta pasif difüzyonla meydana geldiği sanılmaktadır (11, 40, 144).

Yağlar ve safra tuzları E vitamininin emilimini kolaylaştırmaktadır. Safra tuzları emilimdeki etkisini deterjan özelliği ile sağlamaktadır. E vitamini esterlerinin hidrolizi pankreas enzimi (lipaz) ile olmaktadır. Hidroliz sonucu oluşan ürün serbest tokoferoldür (40, 50, 144).

E vitamini, gerek serbest alkol ve gerekse ester formuyla alınsın, sonuçta alkol formuyla emilir ve barsak kanalında bulunan lenf damarlarına geçerek lenf dolaşımı yoluyla genel dolaşıma karışır (50, 137).

Tokoferoller, şilomikronlarla ve spesifik olmayan düşük dansiteli lipoproteinlere (LDL, VLDL; trigliserit) bağlı olarak lenf dolaşımı yoluyla kan dolaşımına girerler. Ancak genel dolaşıma yalnızca serbest formda giren tokoferoller plazma proteinlerine (β - lipoproteinlere ve globulinlere) bağlanarak karaciğere ve oradan da ekstrahepatik dokulara taşınırlar (4, 56, 137).

E vitamini tüm dokularda depo edilmekle birlikte en fazla karaciğer, dalak, böbrek üstü bezi, hipofiz, lenf bezleri, testisler, pankreas, akciğer, böbrekler, kas dokusu, tiroid bezi gibi organlarda depo edilir (98). E vitamini kan dolaşımı ile vücudun tüm doku ve organlarına taşınır ve mitokondri, mikrozoim, nükleus, plazma membranı gibi hücreyel komponentlerde yoğunlaşır (59). Eritrositlerin membranlarında bulunan E vitamini ile plazma proteinlerine bağlı E vitamini arasında hızlı bir yer değişimi olmaktadır (124).

E vitamininin oral yolla alındıktan 6 saat sonra plazma ve karaciğer konsantrasyonlarında maksimum düzeye ulaşarak bu düzeyde kaldığı belirtilmektedir (40, 144). E vitamininin fagositik hücrelerden olan nötrofillerdeki miktarı, trombositlerden 10, eritrositlerden 35 misli daha fazla olduğu bildirilmektedir (40).

Besinlerle alınan tokoferolün % 20-30 kadarı emilmektedir. Bunun yanında E vitamini yetersizliği mevcutsa, alınan E vitamininin % 50-75 kadarının değerlendirildiği ifade edilmektedir (40).

Diyetsel E vitamini ile plazma E vitamini arasında, karaciğer E vitamini yoğunluğu ile plazma E vitamini yoğunluğu arasında doğrusal ve pozitif bir ilişki vardır. (137).

E vitamini meme bezlerine ve dolayısıyla süte de aktarılabilmektedir. Bunun yanında besinlerle alınan E vitamininin toplam miktarının ancak % 1-2 kadarı süte geçebilmektedir (50, 103, 110).

Kalp ve karaciğerde depolanan tokoferolün iki hafta içinde başlangıç değerinin yarısına düştüğü, diğer yarısının ise uzun bir zaman periyodunda yavaş

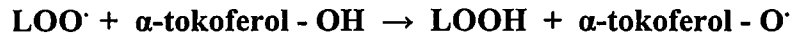
yavaş azaldığı belirtilmiştir. Karaciğer α - tokoferolünün 1-labil, 2-nonlabil olmak üzere iki bölümden meydana geldiği bildirilmiştir. E vitamininin karaciğerde α - tokoferilquinon'a dönüştükten sonra bir kısmının glukuronik asitle konjuge olduğu ve daha sonra safra yardımıyla feçesle atıldığı, α - tokoferilquinonun geri kalan kısmında böbreklerde β -oksidasyonla α - tokoferonik aside dönüşerek idrarla atıldığı bildirilmektedir (40).

3.3.4. E Vitamininin Fizyolojik Fonsiyonları

E vitamininin bilinen en önemli özelliklerinden biri antioksidan veya serbest radikal giderici olmasıdır. Bu özelliğinden dolayı biyolojik sistemlerde özellikle hücre membranlarında doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu önlemektedir (50, 98, 110, 113, 137). E vitamini özellikle fagositik ve diğer hücre membranlarının korunması için, gerekli olduğu da belirtilmektedir (98, 137).

Doymamış yağ asitleri çift bağa sahip olduklarından dolayı oksijen ile hızlı bir reaksiyona girerek mitokondri, mikrozom ve intrasellüler membranların yapısını ve metabolizmasını bozan peroksit ve hidroperoksitleri doyurarak peroksit radikallerinin reaktivitelerini azaltır ve böylece peroksit oluşumu önlenmiş olur (4, 56).

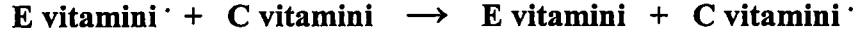
E vitamininin bir diğer özelliği de, zincir kırıcı bir antioksidan olmasına bağlı olarak lipit peroksid radikallerini (LOO^{\cdot}) parçalayarak lipit peroksidasyon zincir reaksiyonlarını sonlandırmasıdır (59, 144).



Reaksiyon sonucu oluşan tokoferoksil radikali nisbeten stabil olup ve lipit peroksidasyonun kendi kendine başlaması için yeterince reaktif değildir. Meydana gelen oksidasyon ürünü, glukuronik asit ile konjugasyona uğrayarak safra yolu ile atılmaktadır. Tokoferolün antioksidan etkisi, yüksek orandaki oksijen konsantrasyonlarında etkili olmaktadır. En yüksek düzeyde oksijen kısmi basıncına maruz kalan lipit yapılarında, örneğin eritrosit mebranlarında ve solunum mebranlarında yoğunlaşmaktadır (3, 4, 49).

E vitamini okside olduktan sonra askorbik asit ve GSH tarafından yeniden indirgenebilmektedir. C vitamini, zayıf oksidan olan E vitaminini tekrar aktif E vitaminine dönüştürmektedir. Kendisi ise zayıf oksidan olan radikal C vitaminine

dönüşür. Radikal olan C vitamini $2 H^+$ ile reaksiyona girerek tekrar aktif forma dönüşür (4).



Eritrositlerde bulunan tokoferolün tümü hücre membranlarında lokalize olmuştur. Buna bağlı olarak α -tokoferolün eritrosit membranlarının stabilizasyonunda önemli bir görev üstlendiği belirtilmiştir (40). E vitamininin serumda yetersiz düzeyde olması eritrositlerin yaşam süresini kısaltarak hemolitik anemiye neden olmaktadır. Bunun yanında *invivo* ve *invitro* E vitamini ilavesinin eritrositlerin hemoliz olmasını azalttığı belirtilmektedir (11, 40, 110, 113, 124).

E vitaminin prostoglandin sentezlenmesinde rol aldığı bildirilmektedir (50). Ayrıca E vitamini trombositlerin agregasyonunu uyarıcı ve (PMN) lökositlerin, periton ve alveolar makrofajların fagositik aktivitesini artırıcı yönde etkilediği belirtilmektedir (6, 40, 50, 137).

3.3.5. E Vitamini Yetersizliği

Çeşitli hayvan türlerinde ve insanlarda E vitamini eksikliğine bağlı bozukluklar farklılık gösterir. Laboratuvar hayvanlarında E vitamini eksikliği, üreme sistemlerinde bozukluklar meydana getirmektedir. Erkek farelerde testis atrofisine, testikular dejenerasyona ve steriliteye sebep olmaktadır. Dişilerde, fetal rezorbsiyon ya da ölü yavru doğurmalara neden olmaktadır (3, 4, 40). Ayrıca karaciğerde nekroza, gelişmede yavaşlamaya, kas distrofiye, böbreklerde tubuler dejenerasyona ve embriyoda vasküler dejenerasyonlara neden olduğu belirtilmektedir (98, 110, 113).

E vitamini yetersizliği görülen ratlarda, lizozomların fragilitelerinde meydana gelen artıştan dolayı serbest kalan hidrolitik enzimlerin dokularda farklı substratlara etkiyerek nükleik asit, protein, karbonhidrat, mukopolisakkarit ve öteki hücre komponentlerinin genel bir yıkımına neden olduğu ve sonuçta da tipik bir kas distrofisi şekillendiği bildirilmektedir (4, 137).

E vitamini yönünden yetersiz rasyonlarla beslenen ruminantların sık sık zayıf yavru doğurdukları ve bu yavruların nutrisiyonel müküler distrofiye (NMD) eğilimli

oldukları, bundan dolayı da özellikle genç hayvanlarda zayıflık ve anormal duruş görüldüğü belirtilmektedir (56).

Hayvanlarda, mastitis olguları ile plazmada bulunan E vitamini arasında doğrudan bir ilişki bulunmaktadır. Hayvanlarda beslenme bozukluğuna bağlı olarak E vitamininin düşük düzeyde ölçüldüğü durumlarda, mastitis olguları daha sık görülmektedir. E vitamininin, meme dokusu enfeksiyonlarına karşı direncin oluşmasında ve doku dejenerasyonuna karşı korunmada önemli görevi vardır (36, 55, 141).

3.4. Selenyum (Se)

Selenyum insan ve hayvanların normal gelişimini sürdürebilmeleri için, gerekli olan esansiyel iz elementlerden biridir (112).

Selenyumun asıl kaynağı toprak ve buna bağlı olarak bitkilerdir. Besin ve yemlerdeki Se'un konsantrasyonu, topraktaki miktar ile doğru orantılı olarak değişmektedir. Eğer topraktaki Se miktarı yeterli düzeyde ise bu toprakta yetişen bitki ve yemler ile beslenen hayvan ve insanlarda Se düzeyi yeterli olmaktadır. Se'dan fakir bölgelerdeki hayvanlarda Se yetersizliği belirtileri görülmektedir. Se, bitkilerde selenometionin, selenyum-metil-selenometionin, selenosistin ve selenosistein şeklinde bulunmaktadır (43).

Bitkilerin başak kısımları yapraklarından, kırlarda büyüyen bitkiler yaylada büyüyen bitkilerden, kuru ve sıcak mevsimlerde büyüyen bitkilerin, soğuk ve yağışlı mevsimlerde büyüyenlere oranla daha fazla Se içerdikleri bildirilmiştir (92).

Selenyumun emilimi, büyük çoğunluğu ince barsaklarda olmaktadır. İnce barsaklarda meydana gelen emilim barsağın duodenum-ilium ve ilium-sekum arasında bulunan bölgede olmaktadır. Buna ilave olarak abomasum ve rumende de çok az miktarda emilim olmaktadır (9, 42).

Çeşitli evcil hayvanlarda Se'un organik formları olan selenomethionin ve selenosistin inorganik formu olan Na- selenite nazaran daha iyi emilmektedir (42). Bunun yanında inorganik form olan Na- selenit ruminantlara kıyasla tek midelilerde daha iyi emilmektedir (5, 9, 42).

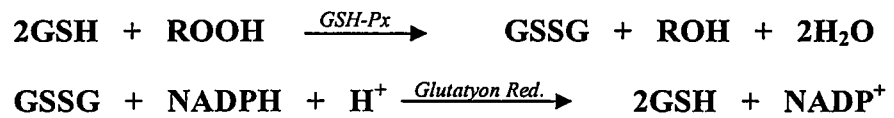
Selenyumun emilimi üzerine, diyetdeki E vitamini, A vitamini ve askorbik asit yoğunluğunun olumlu yönde etkisi vardır. Emilen selenyum vücutta özellikle

plazma proteinlerine bağlı olarak bulunur. Örneğin; farelerde albuminlere, insanlarda LDL'ye bağlı olarak taşınır ve daha sonra çeşitli hücre ve dokularda depolanır. Bu doku ve organlarda Se selenomethionin ve selenosistin formunda bulunur. Selenyum başta karaciğer ve böbrekler olmak üzere, eritrositlerde, lökositlerde, myoglobülinlerde, nükleoproteinlerde, myozinlerde, stokrom ve aldolaz içeren çeşitli enzimlerde bulunabilmektedir (42).

Selenyum tek mideli hayvanlarda idrarla, ruminantlarda ise dışkı ile atılmaktadır. Vücuttaki atılım oranları ise, veriliş yoluna, besinlerdeki miktarına ve hayvan türüne göre değişiklik gösterir (48). Se'un toksik dozlarda alındığı durumlarda ise atılımı daha ziyade solunum yolu ile olmaktadır. Se'un ağız yolu ile alındığında dışkı ile, enjeksiyon seklinde verildiği zaman ise idrarla atıldığı bildirilmektedir (130). Ayrıca Se, vücuttan sütle de atılmaktadır (150).

Selenyumun gerek diyetle, gerekse parenteral ve oral veriliş şekillerinde vücutta tutulması sülfür, demir ve bakırla birlikte bulunduğunda olumsuz yönde, E vitamini ile bulunduğunda ise olumlu yönde etkilenmektedir (9, 139).

Selenyumun bilinen en iyi fonksiyonu, yapısına girdiği GSH-Px enzimi tarafından lipit peroksidasyonu sonucu oluşan peroksit ve hidroperoksitlerin katabolize edilerek su ve alkollere dönüşmesinde önemli rol oynamasıdır. Böylelikle hücrelerin membran bütünlüğü korunmuş olur. Bundan dolayı hücrelerin fizyolojik fonksiyonlarını sürdürebilmesinde etkin bir rol oynar (4, 108).



Selenyumun bazı enzimlerin yapısında bulunduğu (GSH-Px, 5' deidonaz), bazı enzimlerin ise (SGOT gibi) sentez ve aktivitelerinde önemli görev üstlendiği bildirilmektedir (136, 150). Fakat yüksek dozdaki Se'un (10 ppm) enzim inhibitörü olduğu bildirilmektedir (42).

Selenyumun, eritrositlerin hemolizini ve hemoglobinin serbest radikaller tarafından oksidasyonunu önlediği, üreme fonksiyonları üzerinde olumlu yönde aktivite gösterdiği, bunun yanında hormonal aktiviteye katılarak plazma proteinlerinde taşıma görevi yaptığı da bildirilmektedir (43). Se immun sistemde

önemli rol oynamaktadır. Besinlerdeki Se miktarındaki meydana gelen değişiklikler nötrofil ve makrofaj gibi fagositik hücrelerin fonksiyonlarını artırdığı, yetersizliğinde ise sığır, rat ve farelerde bakterileri öldürme yeteneklerinde azalma olduğu bildirilmektedir (35).

Selenyum yetersizliği olan hayvanlar üzerinde oluşturulan deneysel enfeksiyonlarda bu hayvanların enfeksiyonlara karşı duyarlılıklarının arttığı, hayvanlara Se verilmesi halinde ise enfeksiyonlara karşı daha dirençli oldukları bildirilmektedir (135).

Selenyumun klinik ve subklinik mastitise karşı olumlu rolü olduğu, bu rolünün PMN lökositlerin sayısında, immün fonksiyonlarda ve antikor üretiminde uyarıcı etkisinden kaynaklandığı belirtilmektedir (111).

3.4.1. E Vitamini ve Selenyum Arasındaki İlişki

Glutasyon peroksidaz (GSH-Px); her molekülü dört atom Se içeren bir selenoproteindir. GSH-Px'ın yağ asitleri peroksidlerinin alkollere dönüşümünü katalize ederek hücre membranlarını oksidatif haraplanmalara karşı koruduğu ifade edilmektedir (5).

Dokularda E vitamini ile Se arasında dolaylı yönde bir ilişki vardır. E vitamini ve Se'ca yetersiz beslenen hayvanlarda, peroksidasyonla birlikte çeşitli doku ve hücrelerde haraplanmalar görülür. Buna bağlı olarak da hastalıkların ortaya çıkmasında iyi bir ortam oluşur. E vitamini hücreiçi ve hücrelerarası lipitlerin metabolize oluncaya kadar peroksidasyona karşı korunmasında; peroksid ve hidroperoksidleri doyumak suretiyle etkisini göstermektedir. Se ise yapısına girdiği GSH-Px enzimi ile onları parçalayarak etkisini göstermektedir (12, 40, 92).

E vitamininin en az iki yolla Se ihtiyacını azalttığına inanılmaktadır. Bunlardan birisi, vücutta bulunan Se'un korunmasını sağlamak yada vücuttan atılmasını önlemektir. İkincisi peroksid ve hidroperoksidleri doyumarak daha sonra meydana gelecek olan reaksiyonlarda GSH-Px kullanımının azaltılmasıdır (50).

Selenyumun en az üç yolla E vitamini ihtiyacını olumlu yönde etkilediği belirtilmiştir. Birincisi, pankreasın bütünlüğü korunarak yağ sindiriminin normal bir şekilde oluşmasını sağlamak suretiyle E vitamininin emilimini sağlamasıdır. İkincisi, GSH-Px enzimi vasıtasıyla H_2O_2 ve lipit peroksid gibi serbest radikalleri suya

Fagositoz “Respiratory burst” ismi verilen bir reaksiyonla ilişkilidir. Bu reaksiyon vücutta oksijen ve glikoz tüketiminin artmasıyla süperoksit radikalleri ve diğer oksijen metabolitleri şekillenir. Meydana gelen bu radikaller fagosite edilmiş mikroorganizmaları öldürmede veya hücre içi bakteri öldürücü reaksiyonlarda kullanılır. Bu oksidan molekülleri, belirli bir düzeyde bulduklarında organizmanın yabancı maddelere ve enfeksiyöz ajanlara karşı önemli savunma moleküllerini oluştururlar. Bunlar, fagositoz da nötrofil ve makrofajlar tarafından salınarak bakteri öldürücü etki gösterirler. Ancak, belirli düzeyin üzerinde oluşur veya E vitamini gibi antioksidanlar yetersiz olursa bu radikaller hücrenin yada organizmanın yapı elemanları olan protein, lipit, karbonhidrat, nükleik asit ve yararlı enzimlerini bozup zararlı etkilere yol açarlar (45).

E vitamini bulunduğu biyolojik ortamlardaki serbest radikal türlerini toplayarak peroksidasyonun erken dönemlerinde zar fosfolipitlerindeki çoklu doymamış yağ asitlerini korumada oksidatif sitrese karşı savunma hattını oluşturur. Birdiğer yolda 1O_2 , O_2^- ve daha çok $^{\cdot}OH$ radikallerini indirger. Bu işlevini peroksidasyon reaksiyon zincirini sonlandırarak gerçekleştirir (132).

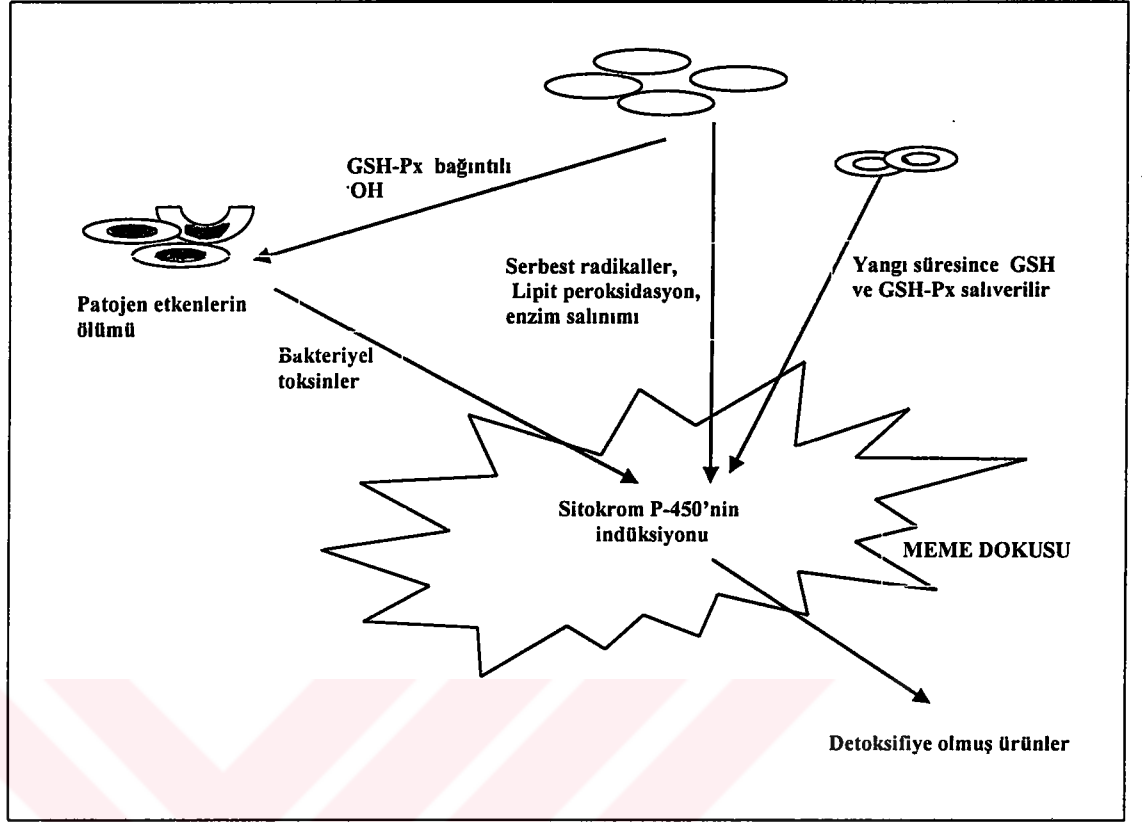
Nötrofillerdeki α -tokoferol, hücre membranlarında oksidasyonu engellemektedir. Hücre membranlarında bulunan α -tokoferol, serbest radikaller tarafından üretilen oksidaz enzimlerinin fonksiyonlarını sonlandırır (70).

Süt ineklerinde plazma E vitamini seviyesinin düşük düzeyde olmasına bağlı olarak, meme epitel hücrelerinin fonksiyonunda bozulma ve immun savunma sisteminde düşüş ve bunun sonucunda da meme bezi hastalıkları ve özellikle mastitler daha fazla şekillenmektedir (25).

Sağlıklı sütteki SHS’ında normalde makrofajlar daha fazla bulunur ancak, yangı derecesine bağlı olarak yangı bölgesine nötrofillerin invazyonu sonucu nötrofil sayısı artmaktadır. Enfeksiyon ve doku yıkımlanmaları sırasında yangı reaksiyonu ve hipoksi gibi durumlarda, dokularda lipit peroksidasyonu ve serbest radikaller artmaktadır. Hücrelerin aktivitesi ile lipit peroksidasyon arasında yakınlık vardır. Nötrofillerin aktivite değişikliğine bağlı olarak endotel hücrelerde meydana gelen yangıya karşı E vitamini bu hücreleri korurken aynı zamanda eritrositleri hemolizden ve oksidatif hasardan muhafaza eder. Mastitiste E vitamininin kan ve sütteki miktarına bağlı olarak, meydana gelen lipit peroksidasyona ve serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı organizma korunmaktadır. GSH-Px enzimi nötrofiller ve makrofajların aktivitelerinde olumlu yönde etkide bulunmaktadır (16).

Hem E vitamininin ve hem de Se'un biyolojik membranların korunmasında çok önemli fonksiyonları vardır. Peroksidaz, oksijen radikalleri ve kötü huylu hücrelerin toksik etkilerine bağlı olarak, biyolojik membranlarda meydana gelecek hasara karşı, E vitamini önemli koruyucu görev yapmaktadır. Uçucu yağ asitlerinin yıkımı sonucunda lipit peroksidasyon üretimi meydana gelmektedir. E vitamini ise bu gibi reaksiyonlar sonucu oluşan doku yıkımlarını engellemektedir. E vitamini hücre membranlarında biyolojik bir antioksidan olarak lokalize olmakta ve bu membranlarda lipit peroksidasyonun meydana gelmesine engel olmaktadır. GSH-Px enzimi ise hücrelerin stoplazmalarında bulunur ve zararlı hidroksit asitlerinin olumsuz etkilerini azaltır. Başka bir ifade ile E vitamini ve seleno enzim olan GSH-Px yetersizliği sonucu, biyolojik membranlarda serbest radikallerin miktarına bağlı olarak lipit peroksidasyon oluşmakta ve bunun sonucunda biyolojik membranlarda büyük hasarlar ve hücrelerde ölümler meydana gelmektedir. Bundan dolayıdır ki enfeksiyöz hastalıklara karşı korunmada E vitamini ve GSH-Px enziminin önemli görevleri vardır (36).

Redükte glutatyonun dokulardaki miktarı normalde çok yüksektir. Bazı dokularda 5 mmolar düzeyine kadar çıkmaktadır. GSH'un görevleri daha çok dokuları serbest radikallere karşı korumaktır. Bir ko faktör olarak GSH'un merkezi bir rol oynadığı çok sayıda enzim vardır. Tipik GSH enzimlerinden olan GSH-Px, eritrositlerde bol miktarda bulunmaktadır. Bir diğeri ise GSH transferazdır. Bu enzim GSH-Px gibi aktiviteye sahiptir. Bir başka enzim de δ Glutamin transferazdır, bunun görevi de hücre membranlarında aminoasitlerin geçişini sağlamaktır. GSH bazı sitokromlar tarafından ve özellikle sitokrom P-450 tarafından kullanılmaktadır. Son zamanlarda şiddetli olarak görülen meme dokusu yangılarında sitokrom P-450'nin varlığı görülmüştür. GSH-Px sitokrom P-450 ile birlikte konakçı savunmasında serbest oksijen radikallerinin uzaklaştırılmasında önemli görev üstlenir. GSH metabolizması, oluşan aşırı miktardaki lipit peroksidasyonunu sınırlandırarak dokuların korunmasında önemli rol oynar. GSH ve GSH-Px enzimi araşidonik asit metabolizması ile ilişkili olup bunlar yangılı bölgedeki dokuların korunmasında görev alırlar (15).



Şekil 3. Bakteri Ölümü ve Toksinlerinin Yıkımı ile İlişkili Olaylarla Bağlantılı Olarak Eritrosit ve Lökositlerde Oluşan Glutatyon ve Glutatyon Enzimlerinin Yanğılı Meme Dokusunda Stokrom P-450'nin İndüklenmesindeki Rolü [*Atroschi ve ark. (15)'den alınmıştır*].

GSH-Px lökositlerin savunma mekanizmasında önemli role sahip olduğu ve lökositlerin bakteriyel klirensi ve fagositik fonksiyonu ile ilişkili olduğu ifade edilmektedir. GSH-Px enziminin düşük düzeyde olması lökositlerin fagositoz fonksiyonunda azalmaya yol açtığı belirtilmektedir (122).

Hayvan deneyleri ve epidemiyolojik çalışmalar; antioksidan düzeylerindeki oluşan azalmanın mastitis riskini artırabileceği ve antioksidan takviyesinin bu hastalığın önlenmesinde önemli bir role sahip olabileceği belirtilmektedir (16, 44).

Süt ineklerinde rasyonla E vitamini verilmesinin, klinik mastitis insidensini azalttığı belirtilmektedir (8, 129). Lipit peroksidasyon, E vitamini ve somatik hücre sayısı (SHS) arasında yakın bir ilişki bulunmaktadır (55). E vitamini seviyesi düşük olan hayvanlarda SHS fazla olurken, E vitamini seviyesi yüksek olanlarda bu durum tersine dönmektedir (141). E vitamininin lökositler üzerindeki bu etkisi onun lipit

peroksidasyon enzimi üzerindeki inhibitör etkisine bağlıdır (16, 23). Subklinik mastitisli ineklerde süt SHS'nın büyük oranda arttığı ve artan hücrelerden PMN lökositlerin en fazla düzeyde olduğu belirtilmektedir (61, 96). SHS normal olan hayvanlarda E vitamini değerinin normal, SHS artmış olanlarda ise düşük seviyede olduğu belirtilirken (55, 77), bazılarında göre ise bu azalmanın beslenmeye bağlı olarak şekillenebileceği bildirilmektedir (97).

İneklerde eritrosit GSH-Px seviyesi ile kan Se konsantrasyonu arasında pozitif bir ilişkinin olduğu bildirilmektedir (22, 117, 143). GSH-Px hidroperoksitlerin fonksiyonunu redükte etmektedir. Kan lökositleri için GSH-Px aktivitesi eritrositlerden daha önemlidir, çünkü GSH-Px immun sistem için gerekli olan bir enzimdir (117).

Sütte SHS ile GSH-Px aktivitesi arasında negatif bir ilişkinin bulunduğunu belirtenler ile bu ilişkinin önemli olmadığını bildirenlerde vardır (97).

Subklinik mastitislerin teşhisi ile ilgili yapılan araştırmalarda SHS'nın sağlıklı ve subklinik mastitisli inekler arasındaki ortalama yüksek bulunmuştur (96, 100, 102, 118, 138).

Yapılan bir araştırmada mastitisli ve sağlıklı ineklerden bir kısmına laktasyonun ilk üç ayı sonuna kadar E vitamini yeme ilave edilerek verilmiş bir kısım sağlıklı ve mastitisli ineklere ise normal rasyon verilmiştir. Normal rasyon verilenlerde, sağlıklılarda plazma E vitamini düzeyi mastitisli ineklerden daha yüksek bulunmuştur. Süt E vitamini düzeyi bakımından hem normal rasyon verilenlerde ve hem de E vitamini verilen sağlıklı ve mastitisli inekler arasında fazla bir farklılık saptanmamıştır. Yine aynı araştırmacılar (25), süt SHS'nı normal rasyon verilenlerde, E vitamini verilenlere oranla sağlıklı ve mastitisli inekler arasında ortalama farkı yüksek bulmuşlardır (25).

Mastitisli ve sağlıklı ineklerde plazma E vitamini, eritrosit GSH ve GSH-Px enzim düzeyleri sağlıklılarda mastitisli ineklere nazaran daha yüksek bulunmuştur. Yangı boyunca meydana gelen serbest radikallerin etkisine bağlı olarak dokuda antioksidan kullanımı artırmaktadır (16).

Yapılan bir araştırmada plazma E vitamini düzeyi subklinik mastitisli ineklerde sağlıklılara nazaran daha düşük düzeyde bulunmuştur (100).

Beslenme yetersizliğinin neden olduğu mastitis olgularında E vitamini ve Se önemli etkenlerdendir (141).

Hayvanlarda mastitis görülmesi plazma E vitamini değeri ile ilişkili olduğu belirtilmektedir. Özellikle beslenme yetersizliği sonucu, E vitamini gibi antioksidan vitaminlerin düşük düzeyde tespit edildiği hayvanlarda, klinik mastitis daha fazla görülmektedir. Çünkü E vitamini gibi antioksidanlar; meme dokusunun enfeksiyonlara karşı direncinin artmasında ve dejenerasyonlara karşı korunmasında etkili olmaktadır. Bunun yanında düşük seviyede E vitamini tespit edilen hayvanlarda süt SHS'nın diğerlerine nazaran daha fazla tespit edildiği belirtilmektedir (36, 55, 141).

Subklinik mastitisli koyunlarda plazma E vitamini düzeyi sağlıklı koyunlara kıyasla düşük saptanmıştır (101). Sağlıklı süt ineklerinde kan Se ve GSH-Px düzeyi mastitisli olanlara kıyasla daha yüksek bulunmuştur (55).

Kandaki MDA düzeyi subklinik mastitisli ineklerde, sağlıklı olanlara nazaran daha yüksek bulunmuştur (51).

İnekler üzerinde yapılan bir araştırmada oluşturulan gruplara farklı dozlarda E vitamini parenteral ve diyetle ilave olarak verilmiştir. E vitamininin, diyetle ve parenteral olarak verilen ineklerde plazma E vitamini düzeyi normal diyetle beslenenlere oranla yüksek bulunmuştur (71).

E vitamini yetersizliğinde meme bezi enfeksiyonlarına bağlı olarak oluşan serbest radikallerin lipid peroksidasyonu oluşturması sonucu hücreler tahrip olmakta ve fonksiyonlarını yitirmektedirler. Artan lipid peroksidasyon sonucu antioksidan enzim aktivitelerinde bir azalma meydana gelmektedir. Bu nedenle, meme bezi yangısında lipid peroksidasyonunun önlenmesinde E vitamininin antioksidan etkinliği büyük önem arz etmektedir.

Bu noktadan hareketle yaptığımız bu araştırmada, E vitamininin subklinik mastitisli ineklerde, plazma ve süt E vitamini, Se ve lipid peroksidasyon, süt SHS, eritrosit GSH, GSH-Px ve katalaz, lökosit GSH-Px ve lipid peroksidasyon düzeyine etkisinin araştırılması amaçlandı.

4. GEREÇ VE YÖNTEM

4.1. Gereç

4.1.1. Hayvan Materyali

Bu araştırmada, hayvan materyali olarak Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Sultan Suyu Tarım İşletmesi Sığırcılık Ünitelerinde laktasyon döneminde olan ve ortalama 3-6 yaş arasında değişen 40 adet Esmir ırkı inek kullanıldı.

4.1.2. Hayvanların Araştırmaya Hazırlanması

Araştırma için, sistematik muayeneleri yapılmış, iç ve dış parazitlere karşı ilaçlamaları, şap ve brusella gibi hastalıklara karşı aşılamaları yapılmış olan hayvanlar seçildi.

Araştırmada kullanılan hayvanlar, Kaliforniya mastitis testi (CMT), Somatik hücre sayısı (SHS) ve mikrobiyolojik muayene sonuçlarına göre belirlendi. CMT (-) , SHS < 400.000/ml süt ve mikrobiyolojik muayenede herhangi bir mikrop izole edilemeyen 20 inek kontrol grubunu, CMT (+1, +2, +3), SHS > 400.000/ml süt ve mikrobiyolojik muayenede çeşitli mikropların izole edildiği 20 inek ise uygulama grubunu oluşturdu.

Araştırmanın analiz kısımları, Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü ile F.Ü. Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında gerçekteştirildi.

4.1.3. Yem Materyali

Yem olarak hayvanlara, Tablo 1 ve Tablo 2’de gösterilen yem karması ve su ad-libitum olarak verildi.

Tablo 1: Günlük İnek Başına Verilen Karma Yem Bileşenleri ve Miktarları.

Yem Maddeleri	(Kg)
Kesif Yem	8.5
Mısır Slajı	12
Kuru Yonca Otu	4
Bugday Sapı	1

Tablo 2: İneklere Verilen Kesif Yemin Bileşenleri ve % Değerleri (1 Ton Yem).

Yem Maddeleri	Yüzdesi (%)
Bugday	25
Arpa	20
Mısır	10
Ayçiçeği Küspesi	20
Pamuk Tohumu Küspesi	12
Mısır Tohumu	10
Mineral Karması*	0.1
Vitamin Karması**	0.1
Sodyum Bikarbonat	1.3
Tuz	0.5

***Mineral Karması (1000 gr):** Mineral karması; Mangane (50.000 IU), Demir (50.000 IU), Çinko (30.000 IU), Bakır (10.000 IU), Kobalt (150 mg), İyot (800 mg) ve Selenyum (150 mg)'dan oluşmuştur.

****Vitamin Karması (1000 gr):** Vitamin karması, Vitamin A (15.000.000 IU), Vitamin D3 (4.000.000 IU), Vitamin E (20.000 mg), Vitamin B1 (4.000 mg), Vitamin B2 (10.000 mg), Vitamin B6 (5.000 mg), Niasin (20.000 mg), Cal D Pantothenate (15.000 mg), Vitamin B12 (20 mg), D-Biotin (50 mg) ve Choline Chloride (200.000 mg)'dan oluşmuştur.

4.1.4. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Araştırmada kullanılan bütün kimyasal maddeler analitik saflıkta olup, Merck (Almanya), Sigma (A.B.D) ve Carlo Erba Reagenti (İtalya) firmalarından sağlandı.

Araştırmada kullanılan vitamin ve mineral karmaları ile dl α - tokoferol asetat Roche Müstahzarları A.Ş. (İstanbul) firmasından temin edildi.

4.2. Yöntem

4.2.1. Uygulanan Genel Yöntem

Araştırma iki grup üzerinde yürütüldü ve ineklere yem ve su ad-libitum olarak verildi.

1. Grup (Kontrol Grubu n= 20): Kontrol grubu olan ineklere, deneme grubundaki ineklere yapılan uygulama ile eşitlik sağlanması için 20 gün boyunca gün aşırı 1 ml serum fizyolojik kas içi uygulandı.

2. Grup (Uygulama Grubu n= 20): Subklinik mastitisli ineklerden oluşan gruba, mg'da 1 IU E vitamini içeren α - tokoferol asetat 1/1 oranında saf zeytin yağı (Sigma) ile aseptik şartlarda karıştırıldı. Karışım 20 gün boyunca gün aşırı 2.000 IU kas içi uygulandı.

Kontrol grubundaki ineklerden uygulama sonrası, uygulama grubundaki ineklerden ise uygulama öncesi ve uygulama sonrası her inekten vena jugularisten EDTA'lı vakumlu tüplere 40 ml kan alındı.

Süt örnekleri, kontrol grubundaki ineklerden uygulama sonrası herhangi bir meme lobundan bir defa, uygulama grubundaki ineklerden ise hasta meme lobundan uygulama öncesi ve uygulama sonrasında steril tüplere 30 ml alındı.

4.2.2. Plazma ve Süt Örneklerinin Hazırlanması

EDTA'lı tüplere alınan kan örnekleri, 1500 g'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra plazma kısmı kapaklı polipropilen tüplere alındı ve analizler yapılmaya kadar -20°C'de derin dondurucuda saklandı.

4.2.3. Eritrosit Hemolizatının Hazırlanması

Plazması alınan kan örnekleri, % 0,9'luk Serum fizyolojik ile üç kez yıkandı ve 1/9 oranında distile su ile hazırlanan eritrosit hemolizatı analiz edilinceye kadar -20 °C'de derin dondurucuda saklandı.

4.2.4. Lökosit İzolasyonu ve Hemolizatının Hazırlanması

Plazması alınan kan örneklerinde, tüpte bulunan peltenin iki katı kadar % 0,85'lik NaCl ilave edildi ve karışım 1500 g'de 5 dakika santrifüj edildi ve süpernatant atıldı. Bu işlem iki kez tekrarlandı. Tüplere peltenin üç katı kadar % 0,87'lik NH₄Cl ilave edilerek karıştırıldı ve eritrositlerin hemoliz olması için 15-20 dakika beklenildi. Tüpler 1500 g'de 5 dakika santrifüj edildi ve süpernatant atıldı. Tüplerin taban kısmında toplanan lökosit peltesi üzerine 1 ml % 0,85'lik NaCl ilave

edilerek hemolizat hazırlandı ve analiz edilinceye kadar -20°C’de derin dondurucuda saklandı (117).

4.2.5. Süt Somatik Hücre Sayısının (SHS) Belirlenmesi

Memeden, içerisinde 40 mg potasyum bikromat içeren tüplere steril olarak alınan 10 ml süt örneklerinden pipetle 0,01 ml alındı ve 1 cm²’lik alanlar çizilmiş olan lam üzerine iyice yayıldı. Lam oda sıcaklığında 1 saat kurumaya bırakıldı ve üç kez alevden geçirilerek tespit edildi. Yağların giderilmesi için AXG (% 52 Absolut Ethanol, % 44 Xylol ve % 4 Glasial Asetik Asit) çözeltisinde 7 dakika bekletildi ve % 0,1’lik Nötral red boyası ile 15 saniye boyandı. Daha sonra distile su ile yıkandı ve oda sıcaklığında kurutularak SHS’sı immersiyon (x100) objektifli mikroskopta sayıldı (17).

4.2.6. California Mastitis Testi (CMT)

California mastitis testi Schalm (116), tarif ettiği şekilde yapıldı. CMT kabına muayenesi yapılacak olan meme loblarından yaklaşık 2 ml kadar alındı. Bölmelerdeki süt miktarlarının eşit olmalarını sağlamak için CMT kabı 45° eğik tutuldu ve bölmelere süt miktarı kadar CMT ayracından ilave edildi, dairevi hareket yapılarak karışım sağlandı ve reaksiyon okundu. Sonuç (-, +1, +2 ve +3) şeklinde değerlendirildi.

4.2.7. Sütün Mikrobiyolojik Muayenesi

Aseptik şartlarda alınan süt örnekleri homojenize edildikten sonra % 7 lik koyun kanlı agar ve MacConkey agarlara ekilerek aerobik, anaerobik etüvde 37°C’de 24-72 saat inkübe edildi. Üreyen mikroorganizmaların klasik yöntemlere göre identifikasyonu sağlandı (32. 82)

4.2.8. Plazma ve Süt E Vitamini Tayini

Süt ve plazmada E vitamini Kayden ve ark. (79) metoduna göre (Shimadzu UV-120-01 Spektrophotometer Japan) spektrofotometresi ile ölçüldü.

Prensip: Askorbik asit ile oksidasyonu önlenen örnek KOH ile saponifiye edilir. Bathofenonrolin substratı ile Fe²⁺'nin reaksiyonu sonucu meydana gelen renk değişimi önce 460 nm'de β-Karoten ve 535 nm'de E vitamini spektrofotometre ile ölçülür.

4.2.9. Plazma ve Süt Selenyum Tayini

Plazma ve süt Se düzeyi Stocchini ve ark. (131) tarif ettiği şekilde (Shimadzu A.A.-660 Japan) atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile ölçüldü.

Prensip: Örnek materyalin, H₂SO₄, Perklorik asit ve HNO₃'dan oluşturulan asit karışımı ile karıştırılıp teflon bombalarda 60 °C, 100 °C ve 120 °C'lerde belirli sürelerde inkübe edilir. Teflon bombalardan cam tüplere alınan örneklerin üzerine misli kadar HCl ilave edilerek 80 °C'de etüvde inkübasyona bırakılır ve Se standartlarına göre atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile belirlenir.

4.2.10. Plazma , Süt ve Lökosit Lipit Peroksidasyon Tayini

Plazma, Süt ve lökosit hemolizatında lipit peroksidasyonun son ürünü olan malondialdehid (MDA) Matkovics ve ark. (87) tarafından modifiye edilen Placer ve ark. (109) yöntemine göre spektrofotometre ile ölçüldü.

Prensip: Plazma, süt ve lökosit hemolizatında lipit peroksidasyonu sekonder ürünü olan MDA, asidik (pH 3.4) bir ortamda, 100 °C'de tiyobarbutirik asit (TBA) ile inkubasyonu sonucu meydana gelen pembe renkli kompleksin 532 nm'de spektrofotometrik olarak ölçümü ile belirlenir.

4.2.11. Eritrosit ve Lökosit Glutatyon Proksidaz (GSH-Px) Enzim Aktivitesinin Tayini

Eritrosit ve lökosit GSH-Px aktivitesi düzeyi Lawrence ve ark. (84) tarif ettiği şekilde belirlendi.

Prensip: Hemolizattaki GSH-Px, GSH Cumenehidroperoksit (CHPO₄) ile oksidasyona uğratılır. Renk ajanı olarak 5.5-ditiyo-bis [2-nitrobenzoik asit] (DTNB) solusyonu ile karıştırılması sonucu hem kör ve hemde örneklerde meydana gelen sarı renk kompleksinin 412 nm'de spektrofotometre ile okunması sonucu belirlenir.

4.2.12. Eritrosit Redükte Glutatyon (GSH) Düzeyinin Belirlenmesi

Eritrosit GSH düzeyi Sedlak ve Lindsay (120) tarif ettiği şekilde belirlendi.

Prensip: Eritrositlerin bütün nonprotein sülfidril grupları, GSH şeklinde bulunur. Renk ajanı olarak 5.5-ditiyo-bis [2-nitrobenzoik asit] (DTNB)'nin, sülfidril bileşiği ile reaksiyonu sonucu sarı renkli kompleks meydana gelir. Meydana gelen renk değişiminin köre karşı 412 nm'de spektrofotometre ile okunması sonucu belirlenir.

4.2.13. Eritrosit Katalaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi:

Eritrosit katalaz enzimi tayini Goth (63) tarif ettiği şekilde yapıldı.

Prensip: Eritrosit Hemolizatın, hidrojen peroksit (H_2O_2) içeren substrat ile inkübe edilir. H_2O_2 katalaz aktivitesi ile H_2O ve O 'e parçalanır. Ortama ilave edilen Amonyum molibdat H_2O_2 ile birleşerek reaksiyon sonlandırılır. Bu süre içerisinde meydana gelen renk değişimi 405 nm'de köre karşı spektrofotometre ile okunur.

4.2.14. Protein Konsantrasyonunun Belirlenmesi

Plazma, süt, lökosit ve eritrosit protein konsantrasyonu Gornal ve ark. (62) tarif ettiği şekilde biüret yöntemi ile belirlendi.

Prensip: İki veya daha fazla peptid bağı içeren proteinlerin alkali ortamda bakır iyonları ile reaksiyonu sonucu meydana gelen mor rengin 540 nm'de spektrofotometre ile okunması sonucu belirlenir.

4.2.15. İstatistiksel Değerlendirme

Bu çalışmada istatistiksel analizler, SPSS 10.0 istatistik programı ile yapıldı. Deneysel çalışmalar sonucu elde edilen veriler, ortalama \pm standart sapma olarak gösterildi. Söz konusu parametreler için, kontrol ile uygulama öncesi grup ortalamaları bağımsız t testi, uygulama öncesi ile uygulama sonrası grup ortalamaları ise student t testi ile karşılaştırıldı. Anlamlılıklar, $p < 0.05$ esas alınarak değerlendirildi (133).

5. BULGULAR

Araştırma neticesinde elde edilen bulgular şu şekilde değerlendirildi;

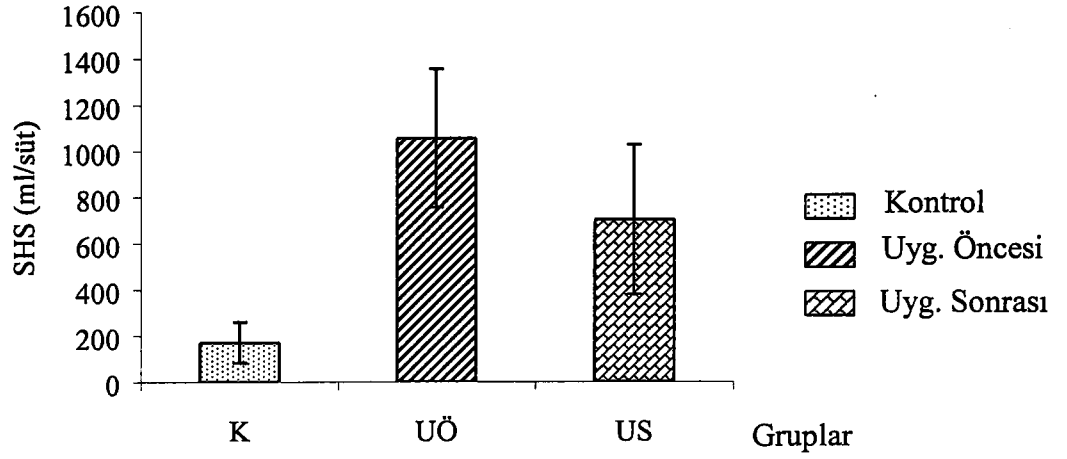
Süt somatik hücre sayısı, E vitamini, Selenyum ve MDA değerleri Tablo 3 ve Şekil 4-7’de gösterilmiştir. Plazma E vitamini, Selenyum ve MDA değerleri Tablo 4 ve Şekil 8-10’da verilmiştir. Kan lökosit GSH-Px ve MDA değerleri Tablo 5 ve Şekil 11-12’de belirtilmiştir. Eritrosit GSH, GSH-Px ve Katalaz değerleri Tablo 6 ve Şekil 13-15’de verilmiştir.

İstatistiksel değerlendirmeler şekiller üzerinde belirtilmiştir.

Tablo 3: Süt Somatik Hücre Sayısı, E Vitamini, Se ve MDA Değerleri.

	Kontrol (n:20) X ± SD	Uygulama Öncesi (n:20) X ± SD	Uygulama Sonrası (n:20) X ± SD
SHS (ml/süt)	169.60 ± 88.61	1.054.40 ± 299.82	700.80 ± 323.42
Süt E Vit. (mmol/L)	2.34 ± 0.33	2.04 ± 0.38	2.15 ± 0.31
Süt Se (µg/ml)	0.051 ± 0.010	0.045 ± 0.010	0.048 ± 0.009
Süt MDA (nmol/ml)	0.50 ± 0.07	0.66 ± 0.07	0.58 ± 0.06

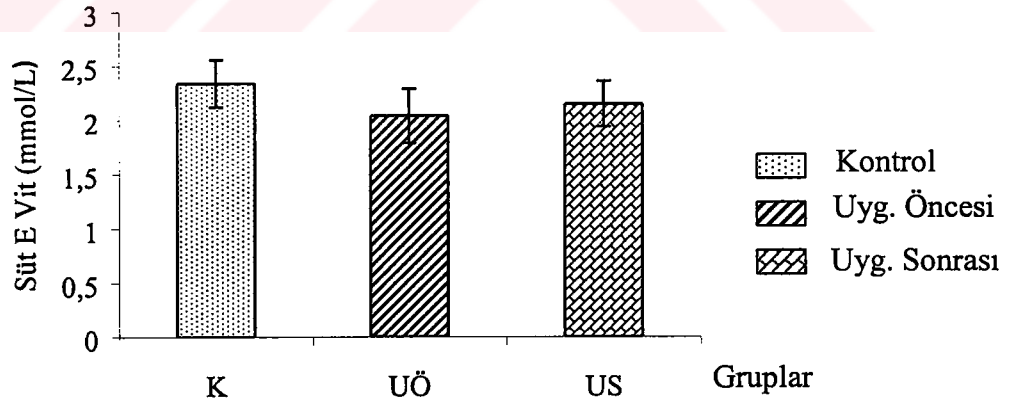
Süt SHS değerleri, kontrol grubu ile uygulama öncesi grup karşılaştırıldığında, uygulama öncesinde meydana gelen artma, uygulama öncesi ile uygulama sonrası grup karşılaştırıldığında uygulama sonrasında meydana gelen azalma istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.001$) bulundu (Tablo 3 ve Şekil 4).



Şekil 4: Süt Somatik Hücre Sayısı.

K↔UÖ: (p<0.001), UÖ↔US: (p<0.001).

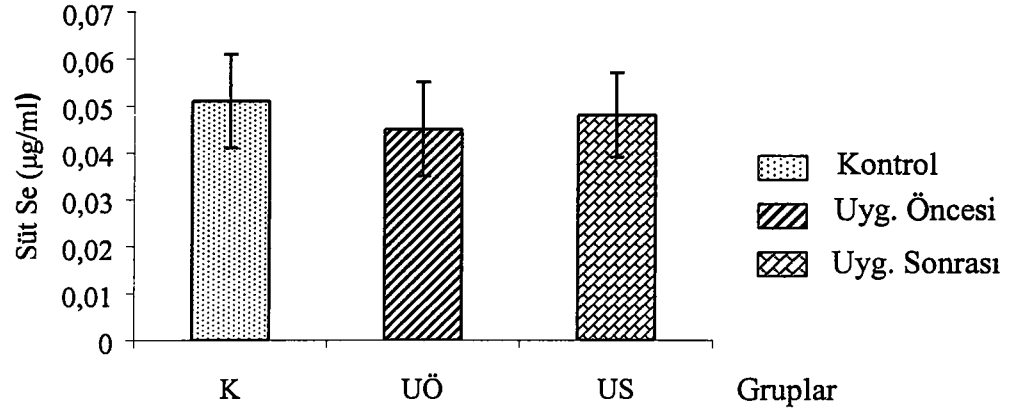
Süt E vitamini düzeyi, kontrol grubu ile uygulama öncesi grup karşılaştırıldığında, uygulama öncesindeki azalma istatistiksel olarak anlamlı (p<0.01) bulundu. Uygulama öncesi ile uygulama sonrası grup karşılaştırıldığında ise uygulama sonrasındaki artma istatistiksel olarak önemsiz bulundu (Tablo 3 ve Şekil 5).



Şekil 5: Süt E Vitamini Düzeyi.

K↔UÖ: (p<0.01), UÖ↔US: (p>0.05).

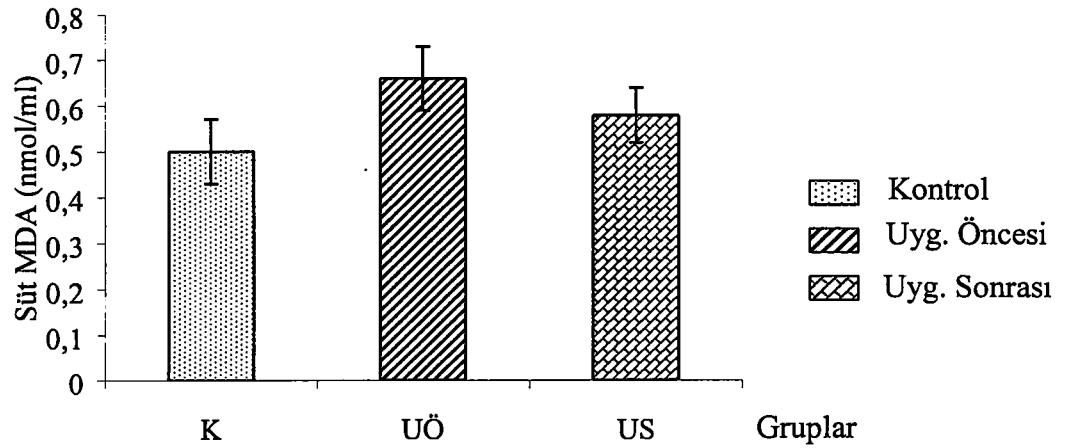
Süt Se düzeyi, kontrol grubu ile uygulama öncesi grup karşılaştırıldığında, uygulama öncesinde meydana gelen azalma, uygulama öncesi ile uygulama sonrası grup karşılaştırıldığında uygulama sonrası artma istatistiksel olarak önemsiz bulundu (Tablo 3 ve Şekil 6).



Şekil 6: Süt Selenyum Düzeyi.

K↔UÖ: (p>0.05), UÖ↔US: (p>0.05).

Süt MDA düzeyi, kontrol grubu ile uygulama öncesi grup karşılaştırıldığında, uygulama öncesinde meydana gelen artma, uygulama öncesi ile uygulama sonrası grup karşılaştırıldığında uygulama sonrası azalma istatistiksel olarak anlamlı (p<0.001) bulundu (Tablo 3 ve Şekil 7).



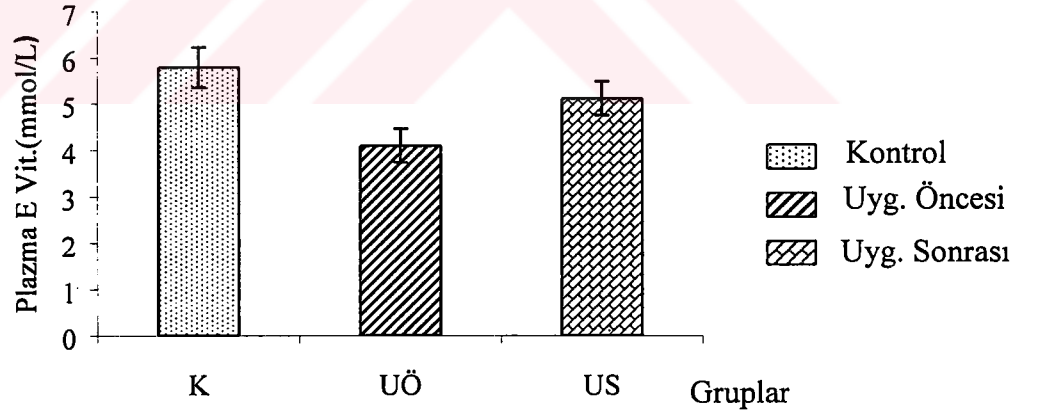
Şekil 7: Süt MDA Düzeyi.

K↔UÖ: (p<0.001), UÖ↔US: (p<0.001).

Tablo 4: Plazma E Vitamini, Se ve MDA Değerleri.

	Kontrol (n:20) X ± SD	Uygulama Öncesi (n:20) X ± SD	Uygulama Sonrası (n:20) X ± SD
Plazma E Vit. (mmol/L)	5.79 ± 1.34	4.09 ± 0.90	5.11 ± 0.77
Plazma Se (µg/ml)	0,099 ± 0,021	0,077 ± 0,012	0,081 ± 0,013
Plazma MDA (nmol/ml)	0.61 ± 0.06	0.75 ± 0.07	0.68 ± 0.06

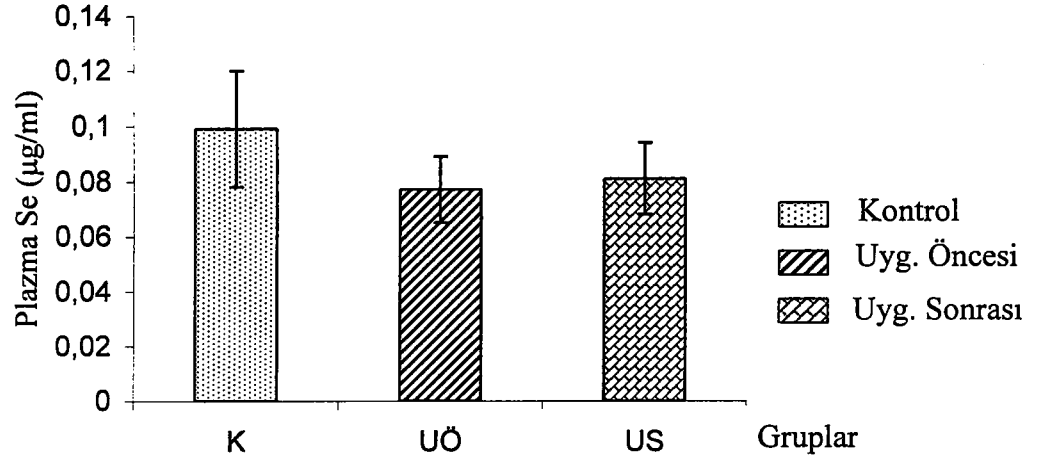
Plazma E vitamini düzeyi, kontrol grubu ile uygulama öncesi grup karşılaştırıldığında, uygulama öncesinde meydana gelen azalma, uygulama öncesi ile uygulama sonrası grup karşılaştırıldığında ise uygulama sonrası artma istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.001$) bulundu (Tablo 4 ve Şekil 8).



Şekil 8: Plazma E Vitamini Düzeyi.

K↔UÖ: ($p < 0.001$), UÖ↔US: ($p < 0.001$).

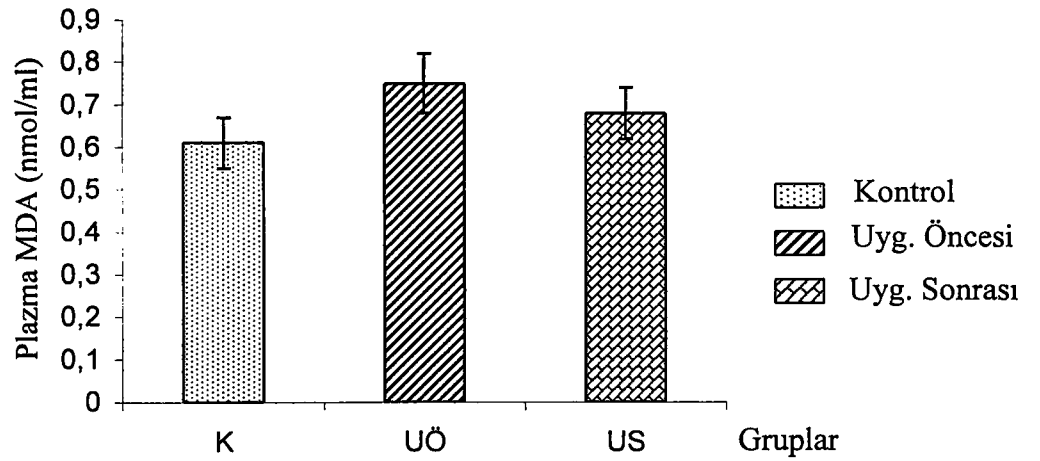
Plazma Se düzeyi, kontrol grubu ile uygulama öncesi grup karşılaştırıldığında, uygulama öncesindeki azalma istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.001$) bulundu. Bunun yanında uygulama öncesi ile uygulama sonrası grup karşılaştırıldığında ise uygulama sonrası artma istatistiksel olarak önemsiz bulundu (Tablo 4 ve Şekil 9).



Şekil 9: Plazma Selenyum Düzeyi.

K↔UÖ: (p<0.001), UÖ↔US: (p>0.05).

Plazma MDA düzeyi, kontrol grubu ile uygulama öncesi grup karşılaştırıldığında, uygulama öncesi meydana gelen artma, uygulama öncesi ile uygulama sonrası grup karşılaştırıldığında uygulama sonrası oluşan azalma istatistiksel olarak anlamlı (p<0.001) bulundu (Tablo 4 ve Şekil 10).



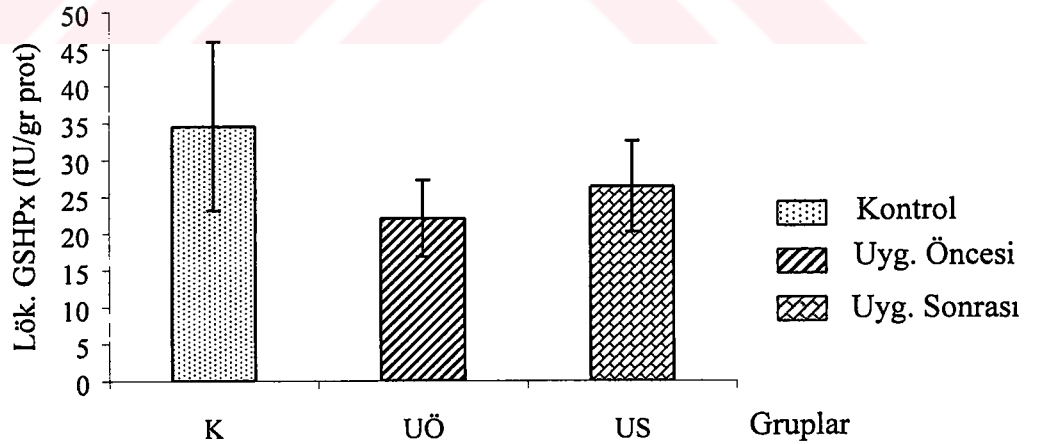
Şekil 10: Plazma MDA Düzeyi.

K↔UÖ: (p<0.001), UÖ↔US: (p<0.001).

Tablo 5: Kan Lökositi GSH-Px ve MDA Değerleri.

	Kontrol (n:20) X ± SD	Uygulama Öncesi (n:20) X ± SD	Uygulama Sonrası (n:20) X ± SD
Lök. GSH-Px (IU/gr prot.)	34.55 ± 11.44	22.02 ± 5.23	26.40 ± 6.18
Lök. MDA (nmol/mg prot.)	111.67 ± 24.78	115.82 ± 30.73	113.47 ± 23.67

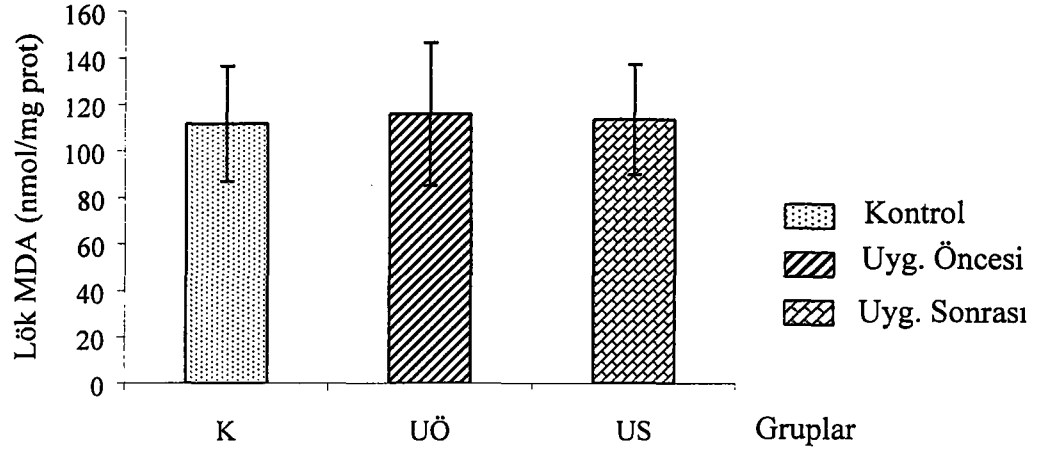
Lökosit GSH-Px aktivitesi, kontrol grubu ile uygulama öncesi grup karşılaştırıldığında, uygulama öncesi azalma istatistiksel olarak önemli ($p < 0.001$) bulundu. Uygulama öncesi ile uygulama sonrası grup karşılaştırıldığında ise uygulama sonrası oluşan artma istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) bulundu (Tablo 5 ve Şekil 11).



Şekil 11: Kan Lökositi GSH-Px Aktivitesi.

K↔UÖ: ($p < 0.001$), UÖ↔US: ($p < 0.05$).

Lökosit MDA düzeyi, kontrol grubu ile uygulama öncesi grup karşılaştırıldığında, uygulama öncesi meydana gelen artma, uygulama öncesi ile uygulama sonrası grup karşılaştırıldığında ise uygulama sonrası meydana gelen azalma istatistiksel olarak önemsiz bulundu (Tablo 5 ve Şekil 12).



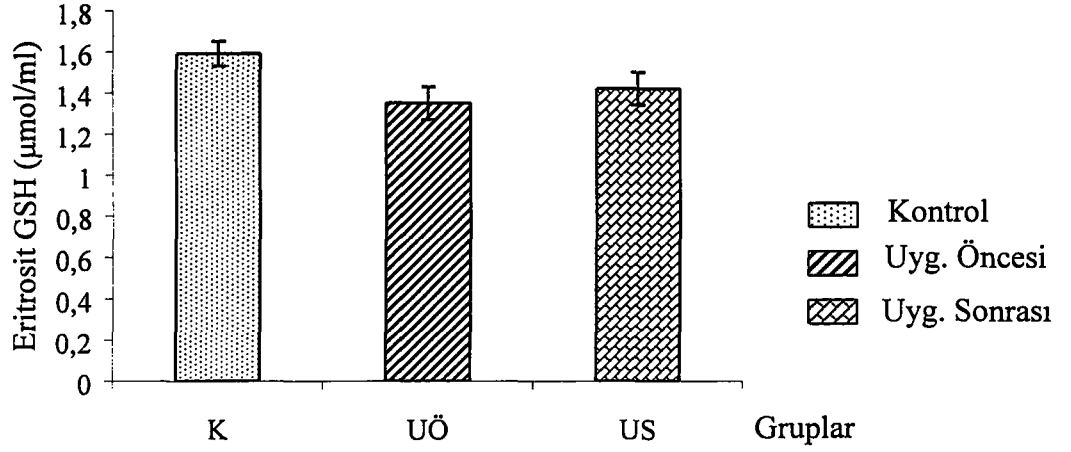
Şekil 12: Kan Lökositi MDA Düzeyi.

K↔UÖ: (p>0.05), UÖ↔US: (p>0.05).

Tablo 6: Eritrosit GSH, GSH-Px ve Katalaz Değerleri.

	Kontrol (n:20) X ± SD	Uygulama Öncesi (n:20) X ± SD	Uygulama Sonrası (n:20) X ± SD
Erit. GSH (µmol/ml)	1.59 ± 0.06	1.35 ± 0.08	1.42 ± 0.08
Erit. GSH-Px (IU/gr prot)	71.30 ± 6.77	54.90 ± 7.28	59.12 ± 5.25
Erit. Katalaz (kU/gr prot)	52.19 ± 6.26	48.06 ± 4.77	50.32 ± 6.35

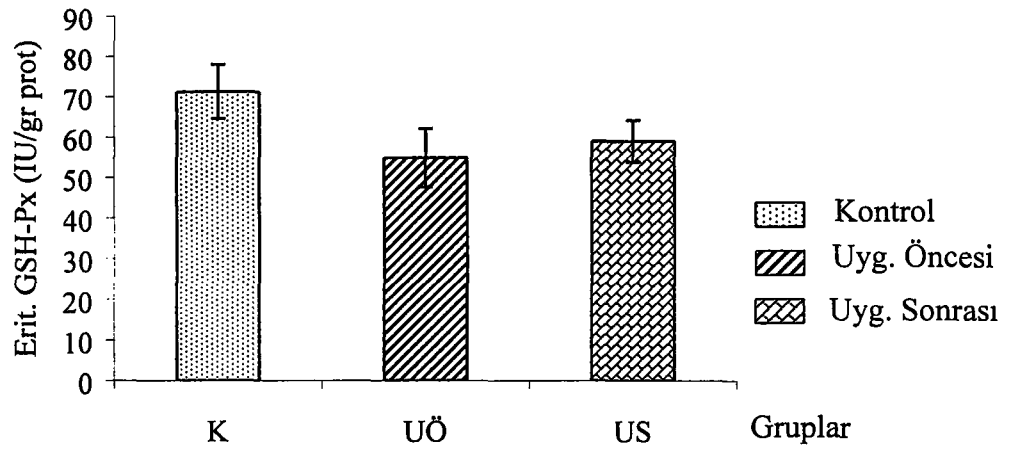
Eritrosit GSH düzeyi, kontrol grubu ile uygulama öncesi grup karşılaştırıldığında, uygulama öncesi azalma istatistiksel olarak anlamlı (p<0.001) bulundu. Uygulama öncesi ile uygulama sonrası grup karşılaştırıldığında ise uygulama sonrası meydana gelen artma istatistiksel olarak önemli (p<0.05) bulundu (Tablo 6 ve Şekil 13).



Şekil 13: Eritrosit GSH Düzeyi.

K↔UÖ: (p<0.001), UÖ↔US: (p<0.05).

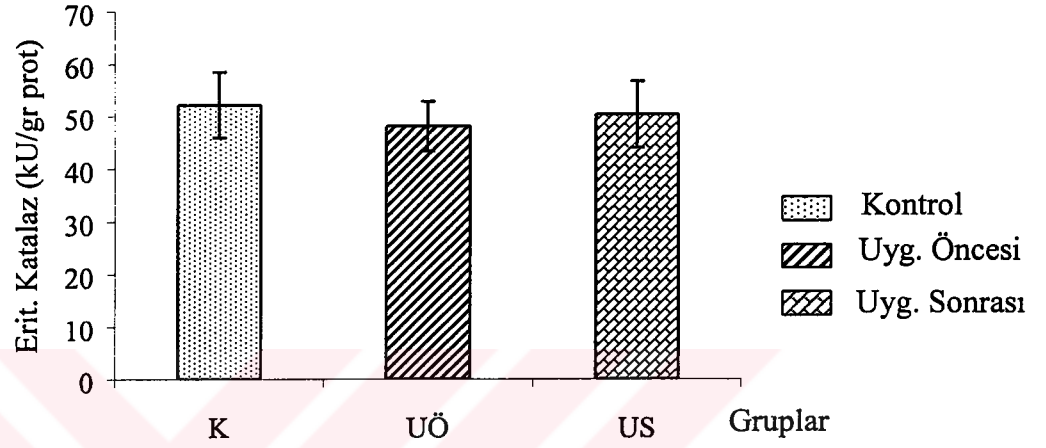
Eritrosit GSH-Px aktivitesi, kontrol grubu ile uygulama öncesi grup karşılaştırıldığında, uygulama öncesi azalma istatistiksel olarak anlamlı (p<0.001) bulundu. Uygulama öncesi ile uygulama sonrası grup karşılaştırıldığında ise uygulama sonrası oluşan artma istatistiksel olarak önemli (p<0.05) bulundu (Tablo 6 ve Şekil 14).



Şekil 14: Eritrosit GSH-Px Aktivitesi.

K↔UÖ: (p<0.001), UÖ↔US: (p<0.05).

Eritrosit Katalaz düzeyi, kontrol grubu ile uygulama öncesi grup karşılaştırıldığında, uygulama öncesi azalma istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) bulundu. Uygulama öncesi ile uygulama sonrası grup karşılaştırıldığında ise uygulama sonrası meydana gelen artma istatistiksel olarak önemsiz bulundu (Tablo 6 ve Şekil 15).



Şekil 15: Eritrosit Katalaz Aktivitesi.

K↔UÖ: ($p<0.05$), UÖ↔US: ($p>0.05$).

6. TARTIŞMA

E vitamini önemli bir antioksidan vitamin olduğundan hücre membranlarını serbest radikallere karşı korumaktadır. Bundan dolayıdır ki biyolojik sistemlerde ve özellikle hücre membranlarında fosfolipitlerde bulunan doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonunu önlemekte ve serbest radikallerin meydana getireceği zararı engellemekte önemli bir göreve sahiptir (30, 37, 94).

E vitamini fagositik hücrelerin fonksiyonunu artırmak sureti ile enfeksiyonlara karşı vücudun savunma sistemini güçlendirmektedir. Fagositik hücrelerden nötrofil ve makrofajlar respiratory burst yolu ile meydana gelen serbest radikallerin oksidatif etkilerinden hücreleri ve buldukları dokuları korumaktadır (21, 23).

Mastitisli ineklerde plazma ve sütte E vitamini düzeyinin azalmasına bağlı olarak SHS yüksek oranda bulunmakta ve meme bezinin immunolojik savunmasında azalma ve meme epitellerinin fonksiyonunda bozulmalar görülmektedir (25).

Hayvanlarda görülen mastitis enfeksiyonlarının plazma E vitamini değeri ile ilişkili olduğu belirtilmektedir. Özellikle beslenme yetersizliğine bağlı olarak E vitamini gibi antioksidan vitaminlerin düşük düzeyde tespit edildiği hayvanlarda klinik mastitis enfeksiyonları daha fazla görülmektedir. Çünkü E vitamini gibi antioksidanların meme dokusunun enfeksiyonlara karşı direncinin artmasında ve dejenerasyonlardan korunmasında etkili olmaktadır (36, 55, 141).

Batra ve ark. (25) mastitisli ve sağlıklı ineklerden oluşturulan gruplardan herbir gruba farklı miktarlarda E vitamini rasyona ilave vermişler. E vitamini verilen gruplar ile verilmeyen gruplar arasında plazma ve süt E vitamini düzeyi istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bulunmuş, ayrıca bu önemliliği mastitisli ve sağlıklı gruplar arasındada saptamışlardır. Atroshi ve ark.(16) sağlıklı ve mastitisli ineklerdeki plazma ve süt E vitamini düzeyini istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) bulmuşlardır.

Braun ve ark. (36) 91 çiftlikteki 287 süt ineğinde bir yıl boyunca ve her ay yapılan analizlerinde mastitisli ve sağlıklı olanlar arasında serum E vitamini düzeylerinin ortalama farkının istatistiksel olarak önemli olmadığını saptamışlar. Aynı araştırmacılar 5 farklı işletmede 3-4 sığırdan oluşan gruplardaki ineklere E vitamini ve Na- selenit içeren mineral karmasını yeme ilave ederek vermişler ve araştırma sonunda bazı işletmelerde uygulama öncesi ve uygulama sonrası kan

serumu E vitamini düzeyi farkı istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$), bazılarında ise meydana gelen farkın istatistiksel olarak önemsiz olduğunu gözlemişlerdir.

Hogan ve ark. (70) *Escherichia coli* 727 ile süt ineklerinde yapılan deneysel mastitis enfeksiyonunda bu hayvanları α -tokoferol içeren yemlerle beslemişler ve bu hayvanlardan uygulama öncesi, uygulamadan 24, 48 ve 168 saat sonra aldıkları örneklerde plazma α -tokoferol düzeylerinde meydana gelen farkı istatistiksel olarak önemsiz bulmuşlardır. Ndiweni ve ark. (97) Sağlıklı ve klinik mastitisli süt ineklerinde plazma E vitamini düzeyinde meydana gelen farkın istatistiksel olarak önemsiz olduğunu saptamışlardır.

Nizamlioğlu ve ark. (100) Subklinik mastitisli ve sağlıklı ineklerde plazma E vitamini düzeyinde gruplar arasında meydana gelen ortalama farkı istatistiksel olarak önemsiz bulmuşlardır. Yapılan bir başka çalışmada subklinik mastitisli ve sağlıklı ineklerde plazma E vitamini düzeyinde meydana gelen gruplar arası ortalama farkın istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) olduğu gözlenmiştir (101). Erskine ve ark. (55) sağlıklı ve mastitisli süt inekleri üzerinde yaptıkları araştırmada serum E vitamini düzeyi farkını istatistiksel olarak önemsiz bulmuşlardır.

Hogan ve ark. (71) inekler üzerinde yaptıkları araştırmada oluşturdukları gruplardan 4 gruptan ikisine değişik dozlarda E vitamini parenteral, gruplardan birine E vitamini diyetle ilave edilerek verilmiş diğerine ise uygulama yapmamışlar ve normal diyetle beslemişlerdir. Plazma E vitamini düzeyinin diyetinde E vitamini bulunduran ineklerle normal diyetle beslenenler arasındaki ortalama farkı istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bulurlarken, E vitamini parenteral verilenler ile normal diyetle beslenenler arasındaki ortalama farkın istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) olduğunu saptamışlardır. Wuryastuti ve ark. (146) araştırmalarında kontrol diyet, normal diyetle 3 mg/kg Se ilaveli, normal diyetle 60 mg/kg E vitamini ilaveli ve bunların kombinasyonu ilaveli diyetlerle beslenen domuzlarda, normal E vitamini ilaveli beslenenlerde kontrol grubuna kıyasla serum E vitamini düzeyi farkını istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bulmuşlardır.

Colitti ve ark. (41) araştırmada kullanılan koyunlardan bir kısmının yemine α -tokoferol ve Na-selenit içeren premiks ilave etmişler bir kısmını ise normal rasyonla kuzulama sonrasına kadar beslemişler. Uygulama sonunda kontrol ve uygulama grubu arasında plazma α -tokoferol düzeyi farkı istatistiksel olarak önemli ($p<0.01$) bulunmuştur. Hogan ve ark. (69) inekler üzerinde yaptıkları araştırmada, 0.3 ppm Se ve 400-600 mg/inek E vitamini olacak şekilde rasyon ile hayvanları laktasyonun 21

gün öncesi ve 21 gün sonrasına kadar beslemişler. Bu ineklerden 4 tanesine 30 gün boyunca 50 mg Na- selenit ve 680 IU E vitamini S.C. uygulanmış. Yalnız E vitamini uygulaması yapılan grupla uygulama yapılamayan diğer grup arasında uygulamanın 21 ve 51. günler arasında plazma E vitamini düzeyinin istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) olduğunu saptamışlardır.

Anne Marie ve ark. (10) inekler üzerinde yaptıkları araştırmada üçerli inekten oluşan dört gruptan 1. gruba normal diyet, 2. gruba normal diyet ve α - tokoferol içermeyen premix, 3. gruba kontrol diyete ilave olarak 700 IU α - tokoferol içeren premix ve 4. gruba kontroldiyet ile 3000 IU α - tokoferol içeren premix ilaveli rasyon 7 hafta boyunca uygulanmış kan ve süt örnekleri her hafta alınmış ve yapılan analizlerde süt E vitamini düzeyi 700 ve 3000 IU α - tokoferol ilaveli rasyonla beslenen ineklerde uygulama öncesine göre istatistiksel olarak önemli ($P<0.05$) bulunmuştur. Bunun yanında plazma E vitamini düzeyi rasyonlarında α - tokoferol içeren gruplarda 1, 5 ve 7. haftalarda uygulama öncesine göre oluşan yükselme oranının istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) olduğu gözlenmiştir. Weiss ve ark. (142) inekler üzerindeki araştırmada, oluşturulan üç gruptan tümüne temel diyete ilave olarak 1. gruba 100 IU, 2. gruba 1000 IU ve 3. gruba 4000 IU/gün E vitamini doğumdan 60 gün öncesinden doğuma kadar uygulanmış. Örnekler doğumdan 60 gün önce 14 gün önce, doğumda ve doğumdan 30 gün sonra alınmıştır. Yapılan analizlerde yalnızca 4000 IU E vitamini verilen grupta plazma E vitamini düzeyi uygulama öncesine göre istatistiksel olarak önemli ($p<0.01$) bulunurken diğer uygulama gruplarında ise plazma E vitamini düzeyinin uygulama öncesine göre meydana gelen yükselme oranının önemsiz olduğu gözlenmiştir. Ayrıca tüm uygulama gruplarında kan nötrofillerin E vitamini düzeyi uygulama öncesine göre istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bulunmuştur.

Rasyonda yeterli düzeyde E vitamini bulunması durumlarında hayvanlar mastitis enfeksiyonlarına karşı dirençli olurlar. Hayvanların diyetine günlük 1000 IU E vitamini ilave edilerek laktasyon boyunca beslenmeleri durumunda mastitis enfeksiyonlarının insidensinin azaldığı ifade edilmektedir. Çünkü diyetten verilen ve antioksidan bir vitamin olan E vitamini hayvanların immun sistemini aktive etmekte bunun sonucunda hastalıklara karşı koymada daha etkin olabileceği belirtilmektedir (8).

Bu çalışmada plazma E vitamini düzeyi, kontrol grubu ile uygulama öncesi grup karşılaştırıldığında, uygulama öncesinde meydana gelen azalma, uygulama

öncesi ile uygulama sonrası grup karşılaştırıldığında uygulama sonrası artma istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.001$) bulundu (Tablo 4 ve Şekil 8). Kontrol grubu ile uygulama öncesi grup arasındaki bulgular (16, 101) araştırmacıların bulguları ile benzerlik göstermektedir. Uygulama öncesi ve uygulama sonrası plazma E vitamini sonuçları (10, 25, 36, 41, 69, 71, 142, 146) araştırmacıların bildirimleri ile uygunluk göstermektedir. Buna karşın bulgularımız (55, 70, 97, 100) araştırmacıların bildirimleri ile uygunluk göstermemektedir. E vitamini mastitisli hayvanlarda makrofaj ve nötrofillerin aktiviteleri sırasında meydana gelen lipid peroksidasyona karşı kullanılması sonucu plazma ve sütte düzeyi azalmaktadır (73).

Süt E vitamini düzeyi, kontrol grubu ile uygulama öncesi grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.01$) bulundu. Uygulama öncesi ile uygulama sonrası grup arasındaki fark ise istatistiksel olarak önemsiz bulundu (Tablo 3 ve Şekil 5). Kontrol grubu ile uygulama öncesi grup arasındaki bulgular (16) bildirimleri ile benzerlik göstermektedir. Bunun yanında uygulama öncesi ile uygulama sonrası grup arasındaki sonuç Anne Marie ve ark. (10) bildirimleri ile benzerlik göstermemektedir.

Subklinik mastitis olgularında, sütte SHS'nın artması, plazma proteinlerinin süte geçmesi, sütün iyon kompozisyonunun değişmesi, lokal hücrelerin yıkımı sonucu intraselüler bileşenlerin süte geçmesi, meme bezi epitelinin sentez kapasitesinin azalması gibi değişiklikler meydana gelmektedir (115). Sağlıklı sütteki SHS'ında normalde makrofajlar daha yoğun bulunurken ancak yangının derecesine bağlı olarak yangı bölgesine nötrofillerin invazyonu sonucu nötrofil sayısı daha fazla olmaktadır. Yine hücrelerin aktivitesi sırasında meydana gelen lipid peroksidasyon ile E vitamini arasında ilişki vardır. Nötrofillerin aktivite değişikliğine bağlı olarak endotel hücrelerdeki meydana gelen yangıya karşı hücreleri E vitamini korumaktadır (16). Yapılan bir çok araştırmada subklinik mastitisli ineklerle sağlıklı inekler arasında süt SHS artışını anlamlı ($p<0.001$) bulunmuştur (16, 96). Yapılan başka araştırmalarda sağlıklı ve mastitisli inekler arasında SHS farkını istatistiksel olarak önemli ($p<0,05$) bulunmuştur (25, 70, 100, 102). Ünal ve ark. (138) sağlıklı ve subklinik mastitisli ineklerde süt SHS'sı arasındaki ortalama farkın istatistiksel olarak önemli ($p<0.01$) olduğunu gözlemişlerdir. Yapılan diğer bir araştırmada ise sağlıklı ve hasta hayvanlar arasında süt SHS'sı istatistiksel yönden önemli ($p<0.01$) olduğu saptanmıştır (118). Morgante ve ark. (93) koyunlarda yaptıkları araştırmada

klirik mastitisli ve sağlıklılar arasında süt SHS'sı farkını istatistiksel olarak önemli (p<0.01) bulmuşlardır.

Yapılan bu çalışmada süt SHS, kontrol grubu ile uygulama öncesi grup karşılaştırıldığında, uygulama öncesinde meydana gelen artma ve uygulama öncesi ile uygulama sonrası grup karşılaştırıldığında uygulama sonrasında meydana gelen azalma oranı istatistiksel olarak anlamlı (p<0.001) bulundu (Tablo 3 ve Şekil 4). Kontrol grubu ile uygulama öncesi grup arasındaki bulgular (16, 25, 70, 93, 96, 100, 102, 118, 138) araştırmacıların bulguları ile benzerlik göstermektedir. Meme enfeksiyonu sırasında sütte somatik hücre sayısında büyük oranda artış meydana gelmektedir. SHS'ında meydana gelen artma ise yangı sırasında fagositik hücrelerin bu bölgede yoğunlaşması sonucu olmaktadır. E vitamini verilmesi ile somatik hücre sayısında azalma görülmektedir. Burada hücre sayısındaki azalma nötrofil membranlarındaki PUFA toksikasyonunu engellemesinden kaynaklanmaktadır (128).

Selenyumun fonksiyonel rolü, yapısına girdiği GSH-Px enzimi aktivitesi ile orantılıdır. GSH-Px enzimi, enfeksiyon etkenlerinin fagositozu sırasında respiratory burst yolu ile meydana gelen H₂O₂'i suya dönüştürerek organizmadaki tahrip edici etkisini önlemektedir (35, 42, 110).

Besinlerdeki Se düzeyindeki meydana gelen değişiklikler lökositlerden nötrofil ve makrofajların fonksiyonlarına olumlu ya da olumsuz yönde etkide bulunduğu belirtilmiştir. Bunun yanında makrofajların lizozom membranları içinde GSH-Px'in yerleştiği ve Se'dan yetersiz diyetle beslenmeye bağlı olarak makrofajlara da GSH-Px düzeyinde azalma görldği belirtilmektedir (42).

Braun ve ark. (36) mastitisli ve sağlıklı inekler arasındaki serum selenyum farkını istatistiksel olarak önemli (p<0.05) bulmuşlardır. İnekler üzerinde yapılan başka bir araştırmada ise kan Se düzeyinin sağlıklı ve mastitisli inekler arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz olduğu saptanmıştır (16). Erskine ve ark. (55) sağlıklı ve mastitisli süt inekleri üzerinde yaptıkları araştırmada kan Se düzeyi farkını istatistiksel yönden önemli (p<0.01) olduğunu gözlemişlerdir. Wuryastuti ve ark. (146) kontrol diyet ile kontrol diyete Se ile E vitamini ilaveli diyetlerle beslenen domuzlarda serum Se düzeyi farkını istatistiksel olarak önemli (p<0.05) bulmuşlardır. Hogan ve ark. (69) inekler üzerinde yaptıkları araştırmada normal diyet ve normal diyete E vitamini ve Se ilave edilerek beslenen inekler arasında kan Se düzeyi farkını istatistiksel yönden önemli (p<0.05) olduğunu saptamışlardır. Anne Marie ve ark. (10) inekler üzerinde yaptıkları araştırmada normal diyet ve normal

diyete ilave E vitamini ile beslenen sığırlarada süt Se düzeyini uygulama öncesi ile uygulama sonrası arasındaki farkı istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bulmuşlardır.

Bu çalışmada plazma Se düzeyi, kontrol grubu ile uygulama öncesi grup karşılaştırıldığında, uygulama öncesindeki azalma istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.001$) bulundu. Bunun yanında uygulama öncesi ile uygulama sonrası grup karşılaştırıldığında ise uygulama sonrası artmanın istatistiksel olarak önemsiz olduğu gözlemlendi (Tablo 4 ve Şekil 9). Kontrol grubu ile uygulama öncesi grup arasındaki bulgular (36, 55) araştırmacıların bulguları ile benzerlik göstermektedir. Uygulama öncesi ile uygulama sonrası gruplar arası bulgular (69, 146) araştırmacıların bulguları ile paralellik göstermektedir. Fagositoz yapan lökositlerin aktiviteleri için gerekli olan GSH-Px bir seleno enzimdir. Enfeksiyona bağlı olarak şekillenen fagositozda lökositler tarafından kullanılması sonucu GSH-Px ve buna bağlı olarakta Se miktarı azalmaktadır (122). Süt Se düzeyi kontrol grubu ile uygulama öncesi grup, uygulama öncesi ile uygulama sonrası grup arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulundu (Tablo 3 ve Şekil 6). Ancak bulgularımız Anne Marie ve ark. (10) bulguları ile ters düşmektedir.

Lipit peoksidasyon, membranlarda bulunan (fosfolipit, glikolipit, gliserit ve sterol) PUFA'lerinin, serbest oksijen radikalleri tarafından peroksitler, alkoller, aldehitler, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi çeşitli ürünlere yıkılması reaksiyonudur (57, 66).

Meme bezi yangılarında süt oksijen düzeyinde normal süte göre % 10'luk bir azalma meydana gelmektedir. Oksijen düzeyindeki bu azalma yangılı meme lobuna gelen nötrofillerin sayısına paralel olarak dokuda oksijen kullanımının artması ile ilişkilidir (89). Süt ineklerinde plazma E vitamini seviyesinin düşük düzeyde olmasına bağlı olarak meme epitel hücrelerinin fonksiyonunda bozulmaya ve immun savunma sisteminde düşüşe sebep olması sonucu meme bezi hastalıkları ve özellikle mastitisler daha fazla şekillenmektedir (25).

Dündar ve ark. (51) sağlıklı ve subklinik mastitisli ineklerde kanda MDA düzeyi farkını istatistiksel olarak önemli ($p<0.001$) bulmuşlar. Bunun yanında süt MDA düzeyinin ise sağlıklı ve subklinik mastitisli ineklerde istatistiksel olarak önemsiz olarak saptamışlardır. Yapılan başka bir araştırmada ise koyunlarda sağlıklı ve mastitisliiler arasında plazma MDA düzeyi farkı istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur (41).

Bu çalışmada plazma MDA düzeyi, kontrol grubu ile uygulama öncesi grup karşılaştırıldığında, uygulama öncesi meydana gelen artma, uygulama öncesi ile uygulama sonrası grup karşılaştırıldığında uygulama sonrası oluşan azalma istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.001$) bulundu (Tablo 4 ve Şekil 10). Kontrol grubu ile uygulama öncesi grup arasındaki bulgular (51) araştırmacıların bulguları ile benzerlik göstermektedir. Bunun aksine bulgularımız (41) araştırmacıların bildirimleri ile uygunluk göstermemektedir. Meme bezi yangılarında fagositik hücrelerin yangı bölgesine hücumu sonucu aktivitelere bağlı olarak oksijen kullanımı artmakta ve bunun sonucunda lipit peroksidasyon meydana gelmektedir (89). E vitamini kan ve sütteki düzeyine bağlı olarak lipit peroksidasyonu ve serbest radikallerin zararlı etkilerini azaltmaktadır (16). Süt MDA düzeyi ise kontrol grubu ile uygulama öncesi, uygulama öncesi ile uygulama sonrası gruplar arası fark istatistiksel olarak önemli ($p < 0.001$) bulundu (Tablo 3 ve Şekil 7). Kontrol grubu ile uygulama öncesi grup arası bulgular (51) araştırmacıların bildirimleri ile benzerlik göstermemektedir. Ancak yapılan literatür taramalarında konu ile ilgili yeterli sayıda literatüre rastlanmadı. Lökosit MDA düzeyi kontrol grubu ile uygulama öncesi grup, uygulama öncesi ile uygulama sonrası grup arasında meydana gelen fark istatistiksel olarak önemsiz bulundu. (Tablo 5 ve Şekil 12). Literatür taramalarında konu ile ilgili literatüre rastlanmadı.

Mastitiste E vitamininin GSH-Px enzim aktivitesinde olumlu yönde etkide bulunmaktadır. Bir selenoenzim olan GSH-Px mastitis enfeksiyonlarında meydana gelen lipit peroksidasyonun önlenmesinde önemli göreve sahiptir. Düşük düzeyde bulunan GSH-Px enzimi yangı reaksiyonu sonucu oluşan lipit peroksidasyonu önleyememekte ve bunun sonucunda da dokularda önemli hasarlar meydana gelmektedir. Yangı boyunca meydana gelen serbest radikallerin etkisine bağlı olarak dokuda antioksidan kullanımı artmakta ve sonuçta yangı bölgesine miktarı azalmaktadır (14).

Hem E vitamininin ve hem de Se'un biyolojik membranların korunmasında çok önemli fonksiyonları vardır. Peroksidaz, oksijen radikalleri kötü huylu hücrelerin toksik etkilerine bağlı olarak biyolojik membranlarda meydana gelecek hasara karşı E vitamininin önemli fonksiyonu vardır. Uçucu yağ asitlerinin yıkımı sonucunda lipit peroksidasyon üretimi meydana gelmektedir. E vitamini ise bu gibi reaksiyonlar sonucu oluşan doku yıkımlarını engellemektedir. E vitamini hücre membranlarında biyolojik bir antioksidan olarak lokalize olmakta ve bu

membranlarda lipit peroksidasyonun meydana gelmesine engel olmaktadır. GSH-Px enzimi ise hücrelerin sitoplazmalarında lokalize olarak zararlı hidroksit asitlerinin olumsuz etkilerini azaltmaktadır. Bundan dolayı E vitamini ve seleno enzim olan GSH-Px'in yetersizliği sonucu biyolojik membranlarda serbest radikallerin miktarına bağlı olarak şekillenen lipit peroksidasyonun etkisi ile biyolojik membranlarda büyük hasarlar ve hücrelerde ölümler meydana gelmektedir. Bundan dolayıdır ki enfeksiyöz hastalıklara karşı korunmada E vitamini ve GSH-Px enziminin önemli görevi vardır (36).

Hayvanların rasyonlarında Se bulunmasına bağlı olarak şekillenen GSH-Px enzimi aktivitesi doğrultusunda PMN lokositlerin aktivitelerinde olumlu yönde artma meydana gelmektedir. Biyolojik membranlarda şekillenen organik hidroperoksit, hidrojen peroksitlerin bulunmasına bağlı olarak seleno enzim olan ve hücrelerin sitoplazmasında lokalize olan GSH-Px'in azlığı durumlarında PMN lökositlerin aktivitelerinde azalmalara neden olmaktadır ve bunun sonucunda da bu fagositik hücrelerin mikrobiyal etkenlere karşı fagositoz yeteneklerinde azalmalar şekillenmektedir (121).

Mastitise maruz kalan süt ineklerinde eritrosit GSH-Px enzim aktivitesinde sağlıklılara oranla önemli derecede azalma olduğu belirtilmektedir (19). Yapılan diğer bir araştırmada eritrosit GSH-Px ve GSH enzim düzeyleri sağlıklı ve mastitisli ineklerde istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) olduğu saptanmıştır (16). Başka bir araştırmada ise sağlıklı ve klinik mastitisli süt ineklerinde eritrosit GSH-Px enzim aktivitesi farkının istatistiksel olarak önemsiz olduğu gözlenmiştir (97). Yine buna benzer bir araştırmada kan GSH-Px enzim aktivitesi farkının sağlıklı ve mastitisli inekler arasında istatistiksel olarak önemli ($p<0.01$) olduğu saptanmıştır (55). Hogan ve ark. (71) inekler üzerindeki yaptıkları araştırmada oluşturdukları gruplardan 1. gruba diyetle 300 IU, 2. gruba 3000 IU E vitamini parenteral 3. gruba her iki uygulamayı beraber ve 4. gruba ise kontrol diyet uygulamışlardır. Kan GSH-Px enzimi aktivitesinin tüm gruplardaki hayvanlarda yeterli düzeyde olduğu ve gerek diyetle ve gerekse parenteral olarak E vitamini verilen gruplar arasında meydana gelen fark önemsiz bulunmuştur. E vitamini ilaveli diyetlerle beslenen domuzlarda, serum GSH-Px enzim aktivitesi farkını kontrol diyetle beslenenlere nazaran istatistiksel olarak önemli olmadığını gözlemişlerdir. Ancak kontrol diyet ile kontrol diyete Se ile E vitamini ilaveli diyetlerle beslenen hayvanlarda serum GSH-Px enzim aktivitesi farkı istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bulunmuştur (146).

Koyunlar üzerinde yapılan bir araştırmada kontrol ve uygulama grubu arasında eritrosit GSH-Px enzim aktivitesi arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur (41). Yine koyunlarda yapılan başka bir araştırmada klinik belirtilere göre sağlıklı ve mastitisli olarak belirledikleri hayvanlardan bir kısmı kontrol rasyonla bir kısmı da Se ve E vitamini ilavelirasyonla beslenmiş. Uygulama grubu ile kontrol grubu arasında eritrosit GSH-Px enzim aktivitesi arasındaki fark istatistiksel olarak önemli ($p<0.01$) bulunmuştur (93). İneklerde yapılan bir başka araştırmada ise Se ve E vitamini rasyona ilave edilerek diğer gruba ise E vitamini prenteral olarak uygulanmıştır. Uygulama yapılan grupla diğer grup arasında uygulamanın 21 ve 51. günler arasında kan GSH-Px enzim aktivitesi farkı istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bulunmuştur (69).

Yarım ve Salmanoğlu (148) yaptıkları araştırmada subkilinik mastitisli inekler ile sağlıklı inekler arasında kan GSH-Px enzim düzeyinin istatistiksel olarak önemli ($p<0.001$) olduğunu saptamışlardır. Atroshi ve ark. (14) mastitisli ve sağlıklı ineklerde eritrosit GSH düzeyinin, gruplar arasındaki farkını istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bulmuşlardır.

Bu çalışmada eritrosit GSH düzeyi, kontrol grubu ile uygulama öncesi grup karşılaştırıldığında, uygulama öncesi azalma istatistiksel olarak önemli ($p<0.001$) bulundu. Uygulama öncesi ile uygulama sonrası grup arasındaki farkın ise istatistiksel olarak anlamlı ($P<0.05$) düzeyde olduğu saptandı (Tablo 6 ve Şekil 13). Kontrol grubu ile uygulama öncesi grup arasındaki bulgular (14, 16) araştırmacıların bulguları ile benzerlik göstermektedir. Ancak literatür taramalarında konu ile ilgili yeterli sayıda literatüre rastlanmadı.

Eritrosit GSH-Px aktivitesi, kontrol grubu ile uygulama öncesi grup karşılaştırıldığında, uygulama öncesi azalma oranı istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.001$) bulundu. Uygulama öncesi ile uygulama sonrası grup karşılaştırıldığında ise uygulama sonrası oluşan artma istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bulundu (Tablo 6 ve Şekil 14). Kontrol grubu ile uygulama öncesi grup arasındaki bulgular (16, 19, 55, 148) araştırmacıların bulguları ile benzerlik göstermektedir. Ancak kontrol grubu ile uygulama öncesi grup arasındaki bulgular (97) araştırmacıların bildirimleri ile benzerlik göstermemektedir. Uygulama öncesi ve uygulama sonrası gruplar arası bulgular ise (69, 93, 146) araştırmacıların bulguları ile uygunluk arz etmektedir. Bunun yanında uygulama öncesi ile uygulama sonrası gruplar arasındaki önemlilik (125, 135) araştırmacıların bulguları ile uygunluk

göstermemektedir. Mastitis olgularında yangıya bağılı olarak meydana gelen serbest radikallerin etkisi sonucu antioksidan kullanımı artmakta bunun sonucunda da bu enzimlerin düzeyleri azalmaktadır (16). E vitamini, peroksit ve hidroperoksitleri doyurarak meydana gelecek reaksiyonlarda GSH-Px'in kullanımını azaltır (50).

Lökosit GSH-Px aktivitesi, kontrol grubu ile uygulama öncesi grup karşılaştırıldığında, uygulama öncesi azalma istatistiksel olarak önemli ($p<0.001$) bulundu. Uygulama öncesi ile uygulama sonrası grup karşılaştırıldığında ise uygulama sonrası oluşan artma istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) bulundu (Tablo 5 ve Şekil 11). Ancak literatür taramalarında konu ile ilgili literatüre rastlanmadı.

Katalaz; kanser, diabet, katarakt, arterosklerozis, iskemik-reperfüzyon hasarı, artrit, nörodejeneratif hastalıklar, beslenme bozuklukları ve yaşlanmayı içine alan çok sayıda patolojik şartlarla ilgili olarak ortaya çıkan oksidatif sitrese karşı savunmada antioksidan sistemin öncelikli komponentidir (86, 140).

Yapılan bu çalışmada eritrosit katalaz aktivitesi, kontrol grubu ile uygulama öncesi grup karşılaştırıldığında, uygulama öncesi azalma istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) bulundu. Uygulama öncesi ile uygulama sonrası grup karşılaştırıldığında ise uygulama sonrası meydana gelen artma istatistiksel olarak önemsiz bulundu (Tablo 6 ve Şekil 15). Ancak literatür taramalarında konu ile ilgili literatüre rastlanmadı.

Sonuç olarak bu araştırmada, subklinik mastitisli ineklerde sağlıklı olanlara kıyasla süt SHS'ında yükselme, E vitamini düzeyinde azalma ve MDA seviyesinde yükselme görülmüş olup Se düzeyinde ise önemli bir azalma görülmemiştir. Plazma E vitamin ve Se düzeyinde azalma, MDA seviyesinde ise yükselme gözlenmiştir. Lökosit GSH-Px enzimi seviyesine azalma tespit edilmiş ancak MDA düzeyinde önemli bir azalma saptanmamıştır. Eritrosit GSH, GSH-Px ve katalaz enzimi düzeylerinde azalma görülmüştür.

E vitamini uygulaması sonunda uygulama öncesine kıyasla, süt SHS'ında ve MDA seviyesinde azalma görülmüş olup Se ve E vitamini düzeyinde ise önemli bir değişiklik gözlenmemiştir. Plazma E vitamin düzeyinde artma, MDA seviyesinde ise azalma saptanırken Se düzeyinde ise önemli bir değişiklik tespit edilmemiştir. Lökosit GSH-Px enzimi seviyesinde artma tespit edilmiş ancak MDA düzeyinde önemli bir değişiklik saptanmamıştır. Eritrosit GSH düzeyi ve GSH-Px enzim aktivitesinde artma saptanmış buna karşılık katalaz aktivitesinde önemli bir değişiklik görülmemiştir.

E vitamininin, antioksidan sistemde olumlu yönde etkide bulunmasına bağlı olarak lökositlerin fagositik fonksiyonlarında artışa neden olmaktadır.

E vitamini uygulamasından sonra kanda, eritrositlerde, sütte ve lökositlerde GSH, GSH-Px ve Katalaz enzim düzeylerindeki artışların görülməsi, lipit peroksidasyonun ve serbest radikallerin zararlı etkilerinin önlenmesinde olumlu bir rol oynadığını göstermektedir. Bunun aynı zamanda mastitise neden olan enfeksiyonların önlenmesinde önemli bir etki oluşturduğu anlamını taşımaktadır.

Bundan dolayı süt sığırcılığının önemli problemlerinden olan mastitisin önlenmesinde E vitamini kullanılmasının faydalı olabileceği kanaatine varılmıştır.



7. KAYNAKLAR

1. Aan N. L. ve Tezcan E. F. (1992). Glutasyon redüktaz. *Biyokimya Derg.* 17: 2, 67-83.
2. Agar N. S., Sadrzadeh S. M. H. and Eaton J. W. (1986). Eryocyte catalase; a somatic oxidant defense. *Clin. Invest.* 77: 319-321.
3. Ak H., Dingiloğlu T., Habif N., Kültürsay S., Bayındır O. ve Onat T. (1994). Plasma lipid peroxidation, vit. E, superoxide dismutase and glutathione peroxidase alterations in coronary atherosclerosis. *Tr. J. Med. Sci.* 26: 11-15.
4. Akkuş İ. (1995). Serbest Radikaller ve Fiziopatolojik Etkileri. 2. Baskı, Mimoza Yayınları, Konya.
5. Akkuş İ., Şekercioğlu R. Üner A. (1991). Selenyum; dağılışı, metabolizması ve fiziopatolojisi. *S.Ü. Tıp Fak. Derg.* 7: 4, 547-551.
6. Aksakal M., ay M., Nazıroğlu M. (1997). Ratlarda E vitamininin alveolar ve peritonal makrofajların fagositik aktivitesi üzerindeki etkisi. *F.Ü. Sağ. Bil. Derg.* 11: 2, 183-189.
7. Alaçam E. (1991). Meme Hastalıkları, “Sığır Hastalıkları”, 2. Baskı. Teknoğrafik Matbaası, Ankara. Sayfa 575-593.
8. Allison R. D. and Laven R. A. (2000). Effect of vitamin E supplementation on the health and fertility of dairy cows: A review. *Vet. Rec.* 147: 25, 703-708.
9. Ammerman C. B. and Miller S. M. (1974). Selenium in ruminant nutrition: A review. *J. Dairy Sci.* 58: 10, 1567-1577.
10. Anne Marie S. T. L., Hıdıroğlu M., Snoddon M. and Nicholson J. W. G. (1990). Effect of α -tocopherol supplementation to dairy cows on milk and plasma α -tocopherol concentrations and on spontaneous oxidized flavor in milk. *Canad. J. Anim. Sci.* 70: 561-570.
11. Aras K., Erşan G. ve Karahan S. (1976). Vitaminler “Tıbbi Biyokimya” A. Ü. Basımevi. Ankara. Sayfa 161-169.
12. Arthur J. R. (1982). Nutritional inter-relationships between selenium and vitamin E. *Rep. Rowelt. Ins.* 38: 124-135.
13. Ateş M., Erganiş O., Çorlu M. ve Serpek M. (1991). Konya yöresinde mastitis’li ineklerden elde edilen süt örneklerinin mikrobiyel florası ve LDL aktivitesi. *Tr. J. Vet. Anim. Sci.* 16: 19-29.
14. Atroschi F., Parantainen J., Sankari S. and Osterman T. (1986). Prostaglandins and glutathione peroxidase in bovine mastitis. *Res. Vet. Sci.* 40: 361-366.

15. Atroshi F., Sankari S., Rizzo A., Westermarck T. and Parantainen J. (1990). Prostaglandins, Glutathione Metabolism and Lipid Peroxidation in Relation to Inflammation in Bovine Mastitis. Antioxidants in Therapy and Preventive Medicine Plenam Press. New York Sayfa 203-207.
16. Atroshi F., Työppönen J., Sankari S., Kangasniemi R., and Parantainen, J. (1986). Possible roles of vitamin E and glutathione metabolism in bovine mastitis. Internat. J. Vit. Nutr. Res. 57: 37-43.
17. Aydın F., Leloğlu N., Çolak A. ve Otlı S. (1995). Kars yöresi süt ineklerinde klinik ve subklinik mastitislere neden olan mikroorganizmaların identifikasyonları ve antibiyotiklere duyarlılıkları üzerine araştırmalar. Pendik Vet. Mikrob. Derg. 26: 1, 55-65.
18. Aydın N. (1989). T.C. Tarım Orman ve Köyişleri Bakanlığı, Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü. Mastitis Projesi. MPDH-HH-113 T No: 22. ANKARA.
19. Aziz E. S., Klesius P. H. and Frandsen J. C. (1984). Effects of selenium on polymorphonuclear leukocyte function in goats. Am. J. Vet. Res. 45: 1715-1718.
20. Babior B. M. (1978). Oxygen-dependent microbial killing by phagocytes. New Eng. J. Med. 298: 12, 659-667.
21. Babior B. M. (1984). The respiratory burst of phagocytes. J. Clin. Invest. 8: 599-601.
22. Backall K. A. and Scholz R. W. (1979). Reference values for afield test to estimate inadequate glutathione peroxidase activity and selenium status in the blood of cattle. Am. J. Vet. Res. 40: 733-738.
23. Baker S. S. and Cohen H. J. (1983). Altered oxidative metabolism in selenium-deficient ratgranulocytes. J. Immunol. 130: 6, 2856-2865.
24. Bast A., Haenen G. R. M. and Doelman C. J. A. (1991). Oxidants and antioxidants state of art. Am. J. Med. 91: 3, 2-13.
25. Batra T. R., Singh K., Ho S. K. and Hıdıroğlu M. (1991). Concantration of plasma and milk vitamin E and plasma β -carotene of mastitic and healthy cows. J. Vit. Nutr. Res. 62: 233-237.
26. Batu A. (1978). Sığır mastitisi. Pendik Vet. Bakt. ve Serol. Ens. Derg. 11: 1, 80-122.
27. Batu A. (1979). Sığır mastitisi, hastalığın laboratuvar teşhisi, tedavisi ve korunması. Pendik Vet. Bakt. Serol. Enst. Derg. 11: 1, 80-122.
28. Batu A. (1991). Hayvanlarda Meme Hastalıkları ve Mastitis. 1. Baskı, Kuşak Ofset, İstanbul.

29. Batu A., Durak Ö. ve Fırat G. (1979). Marmara ve trakya bölgesi süt ineklerinde klinik ve subklinik mastitisler ve etkenleri ile bu etkenlerin antibiyotiklere duyarlılıkları üzerinde araştırma. Pendik Vet. Mikrob. Ens. Derg. 11: 1, 25-40.
30. Bendich A. (1993). Physiological role of antioksidants in the immun system. J. Dairy Sci. 587: 2789-2794.
31. Berry E. A. (1998). Mastitis incidence in straw yards. Vet. Rec. 142: 517-518.
32. Beşe M. (1974). Mikrobiyolojide Kullanılan Biyokimyasal Testler ve Besi Yerleri. A. Ü. Vet. Fak. Yay. 298. A.Ü. Basımevi. Ankara.
33. Bishop J. R., Bodine A. B. and Janzen J. J . (1980). Sensivities to antibiotics and seasonal occurrence of mastitis pathogenes J. Dairy Sci. 63: 7, 1134-1137.
34. Blowey R. W. (1984). Mastitis monitoring in general practice. Vet. Rec. 114: 259-261.
35. Boyne R., Arthur J. R. and Wilson A. B. (1986). An *in vivo* and study of selenium deficiency and infection in rats. J. Comp. Path. 96: 380-386.
36. Braun U., Forrer W. F. and Lutz H. (1991). Selenium and vitamin E in blood sera of cows from farms with increased incidence of disease. Vet. Rec.128: 543-547.
37. Burton G. W. and Traber M. G. (1990). Vitamin E: Antioksidant activity. Biokin. and Bioav. 10: 357-382.
38. Cheseman K. H. (1993). An indroduction to free radical biochemistry. Eds; Cheseman K. H. Slater T. F. Free Radicals in Med. British Med. Bull. London. Sayfa 481-493.
39. Cheseman K. H. and Slater T. F. (1993). An Introduction to free radical biochemistry. Br. Med. Bull. 49: 3, 479-481.
40. Chow C. K. (1985). Vitamin E and blood Wld. Rew. Nutr. Diet. 45: 133-166.
41. Colitti M., Stradaidi G. and Stefanon B. (2000). Effect of α -tocopherol deprivation on the involution of mammary gland in sheep. J. Dairy Sci. 83: 345-350.
42. Combs G. F. and Combs B. S. (1986). The Role of Selenium Nutrition Academic Press. Inc. London. Ltd. Sayfa 206-312.
43. Cousin F. B. and Cairney I. M. (1961). Some effect of selenium in sheep. Aust. J. Agric. Res. 12: 927-943.

44. Craven N. and Williams M. R. (1985) Defense of bovine mammary gland against infection and prospect for their enhancements. *Vet. Immunol. Immunopat.* 2: 71-78.
45. Çay M. (1996). Ratlarda Selenyum ve Vitamin E'nin Alveolar ve Paritonal Makrofajların Fagositik Aktivitesi Üzerindeki Etkisi. F.Ü. Sağ. Bil. Ens. Doktora Tezi, Elazığ.
46. Çelik S., Yılmaz Ö., Nazıroğlu M., Çay M. ve Aksakal M. (1996). Kuzularda eritrosit ve serum yağ asitleri bileşimine diyetik E vitamini ve Selenyumun etkisinin araştırılması. *Biy. Derg.* 21: 1, 69-79.
47. Devenci H., Apaydın A. M., Kalkan C. ve Öcal H. (1994). Evcil Hayvanlarda Meme Hastalıkları. 1. Baskı, F.Ü. Basımevi, Elazığ.
48. Dhur A., Galon P. and Hercberg S. (1990). Relationship between selenium and resistance against infection. *Comp. Biochem. Physiol.* 96: 2, 271-280.
49. Dinçer C. (1985). Egzersizde oluşan lipidperksidasyonu ve E vitamininin koruyucu etkisi. *Spor ve Tıp Derg.* 7: 8, 20-23.
50. Dowel L. R. M. (1989). Vitamins in Animal Nutrition Comparative Aspects to Human Nutrition. Vitamin E. Academic Press. London Ltd. Sayfa 93-131.
51. DüNDAR Y., ERYAVUZ A., ASLAN R. ve UÇAR M. (2001). Sağlıklı ve subklinik mastitisli ineklerde malondialdehit ve glikoz-6-fosfat dehidrogenaz düzeyleri. *Y.Y. Ü. Vet. Fak. Derg.*
52. Erenel G., Erbaş D. ve Akıcıoğlu A. (1992). Serbest radikaller ve antioksidan sistemler. *Gazi Tıp Derg.* 3: 243-250.
53. Ergun H. ve Mert N. (1984). Sütte mastitis nedeniyle meydana gelen biyokimyasal değişimler. 1.Mastitis Semineri. 24-Kasım, A.Ü. Vet. Fak. Ankara. Sayfa 49-61.
54. Erskine R. J. and Eberhart R. J. (1988). Comparison of duplicate and single quarter milk samples for the identification of intramammary infections. *J.Dairy Sci.* 71:3, 854-857.
55. Erskine R. J., Eberhart R. J., Hutchinson L. J. and Spencer S. B. (1987). Herd management and prevalence of mastitis in dairy herds with high and low somatic cell counts. *JAVMA.* 190: 11, 1417-1421.
56. Faulder C. G. Pamela A. H. (1990). Vitamin E in biological systems. *Antox. Ther. Preven. Med.* 3: 234.
57. Freeman B. A. and Crapo J. D. (1982). Biology of disease free radicals and tissue injury. *Lab. Invest.* 47: 412-426.

58. Funk D. A., Freeman A. E. and Berger P. J. (1982). Environmental and physiological factors affecting mastitis at drying off postcalving. *J. Dairy Sci.* 65: 7, 1258-1268.
59. Gallo-Teres, H. E. (1980). Absorption Ed. J.M. Lavrence. In *Vitamin E: A Comprehensive Treatise*. Marchel Dukker Inc. New York. Sayfa 170-267.
60. Gonzales R. N., Jasper D. E., Kronlund N. C., Farber T. B., Cullor J. S., Bushnell R. B. and Dellinger J. D. (1990). Clinical mastitis in two California dairy herds participating in contagious mastitis control programs. *J. Dairy Sci.* 73: 3, 648-660.
61. Gonzalez M. C. and Canmenes P. (1996). Evaluation of the California mastitis test as discriminant method to detect subclinical mastitis in ewes. *Amal Ruminant Res.* 21: 3, 245-250.
62. Gornal A. G., Bardawill C. J and David M. M. (1975). Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J. Biol. Chem.* 177: 751.
63. Goth L. (1991). A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clin. Chim. Acta.* 196: 143-152.
64. Gross A. R., Higson F. K., Jones O. T. G. and Harper A. M. (1982). The enzymic reduction and kinetics of oxidation of cytochrome B-245 of neutrophils. *Bioc. J.* 204: 479-485.
65. Gutteridge J. M. C. (1995). Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin. Chem.* 41: 12, 1819-1828.
66. Gutteridge J. M. C. and Helliwell B. (1990). The measurement and mechanism of lipid peroxidation during the *in vivo* aging of human erythrocytes. *Bioc. Biophys. Acta.* 937: 480-489.
67. Halliwell B. (1991). Reactive oxygen species in living systems: Source, biochemistry and role in human disease. *Am. J. Med.* 91: 3, 14-21.
68. Harmon R. J. (1994). Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. *J. Dairy Sci.* 77: 7, 2103-2112.
69. Hogan J. S., Smith K. L., Weiss W. P., Todhunter D. A. and Schockey W. L. (1990). Relationships among vitamin E, selenium and bovine blood neutrophils. *J. Dairy Sci.* 73: 2372-2378.
70. Hogan J. S., Weiss W. P., Smith K. L., Soridillo L. M. and Williams S. N. (1996). α -tocopherol concentrations in milk and plasma during clinical *Escherichia coli* mastitis. *J. Dairy Sci.* 79: 71-75.
71. Hogan J. S., Weiss W. P., Todhunter D. A. and Smith K. L. (1992). Bovine neutrophil responses to parenteral vitamin E. *J. Dairy Sci.* 75: 399-405.

72. Jain N. C. (1979). Common mammary pathogens and factors in infection and mastitis. *J. Dairy Sci.* 62: 1, 128-134.
73. Johnston L. A. and Chew B. P. (1984). Peripartum of plasma and milk vitamin A and β -carotene among dairy cows with or without mastitis *J. Dairy Sci.* 67: 1832-1840.
74. Jones G. F. and Ward G. E. (1989). Cause, occurrence and clinical signs of mastitis and anorexia in cows in Wisconsin study. *JAVMA.* 195: 8, 1108-1113.
75. Jones T. O. (1986). A review of teat factors in bovine *Escherichia coli* mastitis. *Vet. Rec.* 118: 507-509.
76. Jones T. O. (1990). *Escherichia coli* mastitis in dairy cattle- a review of the literature. *Vet. Bull.* 60: 3, 205-231.
77. Jukola E., Hakkarainen J., Saloniemi H. and Sankari, S. (1996). Blood selenium, vitamin E, vitamin A and β - carotene concentrations and udder, fertility treatments and fertility. *J. Dairy Sci.* 79: 838-845.
78. Kalkan C. ve Rişvanlı A. (1996). İneklerde mastitiste koruma ve kontrol. *Bültendif* 7: 6-10.
79. Kayden H. J., Chow C. K. and Bjarnson L. K. (1973). Spectrophotometric method for determination of tocopherol in red blood cells. *J. Lip. Res.* 14: 533-540.
80. Keefe G. P. (1997). *Streptococcus agalactiae* mastitis: A review. *Can vet. J.* 38: 429-437.
81. Kılıç K. (1985). Oksijen radikalleri, üretilmeleri, fonksiyonları ve toksik etkileri. *Biy. Derg.* 10: 2, 59-89.
82. Koneman E. W., Allen S. D., Wowel W. R. and Sommers H. M. (1983). *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology.* 2 nd ed, J.D. Lippon Cott. Philadelphia.
83. Kutsky R. J. (1981). *Handbook of Vitamins, Minerals and Hormones.* 2 nd ed, VNR, New York. Sayfa 157-207.
84. Lawrence R. A. and Burk R. F. (1976). Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Bioch. Bioph. Res Commun.* 71: 4, 952-958.
85. Lehninger A. (1982). *Principles of Biochemistry.* Worth Publishers Inc. New York. Sayfa 46-220.
86. Mates J. M. and Sanchez-Jimenes F. (1999). Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiologic processes. *Front. Biosci.* 15: 339-345.

87. Matkovics B., Szabo I. and Varga I. S. (1988). Determination of enzyme activities in lipid Peroxidation and Glutathione Pathways (in Hungarian). *Lab. Diag.* 15, 248-249.
88. Matsubara L. S., Ferreira A. L. A., Torrero, M. T. T. and Machado P. E. A. (1992). Influence of diabetes mellitus on the glutathione redox system of human red blood cells. *Braz. J. M. Biol. Res.* 25: 331-335.
89. Mayer S. J. Wterman A. E., Keen P. M. and Craven N. (1988). Oxygen concentration in milk of healthy and mastitic cows and implications of oxygen tension. *J. Dairy Sci.* 55: 513-519.
90. Mccord J. M., keele B. B. and Fridowich I. (1981). An enzyme based theory of obligate anaerobiosis: The physiological function of superoxide dismutase. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 68: 1024-1027.
91. Meister A. (1983). Selective modification of glutathione metabolism. *Sci.* 220: 472-477.
92. Minson D. J. (1990). *Forage in Ruminant Nutrition.* Academic Press. Inc. London.
93. Morigante M., Beghelli D., Pausellim M., Dallara P., Capucella M. and Ranucci S. (1999). Effect of administration of vitamin E and selenium during the dary period on mammaray health and milk cell counts in dairy ewes. *J. Dairy Sci.* 82: 623-631.
94. Moriguchi S., Kobayashi N. and Kishino Y. (1990). High diatoery intakes of vitamin E and celluler immun functions in rats. *J. Nutr.* 120: 1096-1102.
95. Morse D., Delorenzo M. A., Natzke R. P. and Bray D. R. (1988). Characterization of clinical mastitis recorts from one herd in a subtropical enviromental. *J. Dairy Sci.* 71: 5, 1396-1405.
96. Nak D. (1999). Subkinik mastitislerin teşhis yöntemleri üzerine çalışmalar. *U. Ü. Vet. Fak. Derg.* 18: 3, 15-27.
97. Ndiweni N., Field T. R., Williams M. R., Booth J. M. and Finc J. M. (1991). Studies on the incidence of clinical mastitis and blood levels of vitamin E and selenium in dairy herds in England. *Vet. Rec.* 129: 86-88.
98. Nevberne P. M. and Corner M. W. (1989). The Vitamins. Ed. Koneko J.J. In: "Clinical Biochemistry of Domestic Animals" 4 th ed, Academic Press Inc New York. Sayfa 796-834.
99. Niclerson S. C., Owens W. E. and Boddie R. L. (1995). Mastitis in dairy heifers: Initial studies on prevalance and control. *J. Dairy Sci.* 78: 7, 1607-1618.

100. Nizamlıoğlu M., Dinç D. A., Erganiş O., Özeren F. ve Ok Ü. (1993). İneklerin subklinik mastitislerinde sütte N- asetil B-D glikozaminidaz (NAG ase) enzimi ile kan plazması vitamin A ve vitamin E değerlerinin araştırılması. Hay. Araş. Derg. 3: 1, 20-22.
101. Nizamlıoğlu M., Dinç D. A., Erganiş O., Özeren F. ve Uçan S. (1992). Subklinik mastitisli koyunlarda N- asetil B-D glikozaminidaz (NAG ase) enzimi ve bazı biyokimyasal değerlerin araştırılması. Veterinarium. 3: 2, 12-16.
102. Nizamlıoğlu M., Kalaycıoğlu L., Dinç D. A., Erganiş O. ve Özeren F. (1992). İneklerde subklinik mastitislerin erken teşhisi amacıyla sütte N- asetil B-D glikozaminidaz (NAG ase) enzim aktivitesinin tayini. S.Ü. Vet Fak. Derg. 8: 2, 60-63.
103. Njeru C. A. and Mcdowel L. R. (1994). Pre- and postpartum supplemental DL- α tocopheryl acetate effects on placental and mammary vitamin E transfer in sheep. J. Anim. Sci. 72: 1636-1640.
104. Oz H. H., Farnsworth R. J. and Larson V. L. (1985). Enviromental mastitis. Vet. Bull. 55: 11, 829-839.
105. Özgen H. (1986). Hayvan Besleme. Yök Basımevi. Ankara.
106. Pal Yu B. (1994). Celluler defenses against damage from reactive species. Physiolo. Rev.. 74: 1, 139-162.
107. Pearson J. K. L. and Greer D. O. (1974). Relationship between somatic cell counts and bacterial infections of udder. Vet. Rec. 95: 252-257.
108. Pehrson B. and Johnson S. (1985). Selenium and glutathione peroxidase in blood and tissues and growth and feed efficiency in young bullsof different dietary selenium levels. Zbl. Vet. Med. A. 32: 492-501.
109. Placer Z. A., Cushmann L. L. and Johnson B. C. (1966). Estimation of Products of lipid peroxidation in biochemical systems. Anal. Biochem. 16: 359-364.
110. Putnam M. E. Comben N. (1987). Vitamin E. Vet. Rec. 121: 541-545.
111. Rabior B. M. (1978). Oxygen-dependent microbial killing by phagocytes. New Eng. J. Med. 298: 12, 659-667.
112. Raymond J. S. (1986). Selenium metabolism and function. 4: 42-49.
113. Rice D. and Kendy S. (1988). Vitamin E; function and effects of deficiency. Br. Vet. J. 144: 482-496.
114. Rişvanlı A. (2001). Elazığ yöresi sığırlarda mastitis enfeksiyonlarının araştırılması. F. Ü. Sağ. Bil. Ens, Doktora Tezi, Elazığ.

115. Sandholm M. and Mattila T. (1986). Biochemical aspects of bovine mastitis. *Isr. J. Vet. Med.* 42: 4, 405-415.
116. Schalm O. W., Carrol E. J. and Jain N. C. (1971). *Bovine Mastitis*. First Ed-Lea-Febriger. London.
117. Scholz R. W. and Hutchinson L. J. (1979). Distribution of glutathione peroxidase activity and selenium in the blood of dairy cows. *Am. J. Vet. Res.* 40: 2, 245-249.
118. Schukken Y. H., Grommers F. J., Geer D. and Brand A. (1989). Incidence of clinical mastitis on farms with low somatic cell counts in bulk milk. *Vet. Rec.* 125: 60-63.
119. Schukken Y. H., Grommers, F. J., Van de Geer D., Erb H. N. and Brand A. (1990). Risk factors for clinical mastitis in herds with a low bulk milk somatic cell count. 1. Data and risk factors for all cases. *J. Dairy Sci.* 73: 12, 3463-3471.
120. Sedlak J. and Lindsay R. H. C. (1968). Estimation of total protein bound and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellmann's reagent. *Anal Biochem.* 25: 192-205.
121. Serfass R. E. and Gauthier H. E. (1975). Defective micobicidal activity in glutathione peroxidase- deficient neutrophils of selenium-deficient rats. *Natur.* 255: 640-664.
122. Serfass R.E. Ganther H.E. (1976). Effects of dietary selenium and tocopherol on glutathione peroxidase and superoxide dismutase activities in Rat. *Phago.-Life Sci.* 19, 1139-1144.
123. Sevanian A. and Hochstein P. (1985). Mechanism and consequences lipid peroxidation in biological systems. *Ann. Rev. Nutr.* 5: 365-390.
124. Siddons R. C. and Mills C. F. (1981). Glutathione peroxidase activity and eryocyte stability in calves differing in selenium and vitamin E status. *Brit. J. Nutr.* 46: 345-355.
125. Simpson, R. B., Wesen D. P., Anderson K. L. Armstrong J. D. and Harvey R. W. (1995). Subclinical mastitis and milk production in primiparous simental cows. *J. Anim. Sci.* 73: 1552-1558.
126. Slater T. F. (1984). Free-radical mechanisms in tissue injury. *Biochem. J.* 222: 1-15.
127. Slater T. F. (1984). Overview of methods used for detecting lipid peroxidation. *Meth. Enzymol.* 105: 33, 283-293.

128. Smith K. L., Conrad H. R., Amiet B. A. and Todhunter D. A. (1985). Incidence of enviromental mastitis as influenced by dietary vitamin E and selenium. *Kieler Milch. Forsc. Benic.* 37: 482-486.
129. Smith K. L., Harrison J. H., Hancock D. D., Tethunter D. A. and Conrad H. R. (1984). Effect of vitamin E duration of clinical symptoms. *J. Dairy Sci.* 67: 1293-1300.
130. Spallholz J. E. (1990). Selenium and glutathione peroxidase: Essential nutrient and antioxidant comparent of the immune system. *Adv. Exp. Med. Biol.* 1 M: 58, 145-262.
131. Stocchini A., Coni E., Baldini M. Beccalno E. and Caroli S. (1989). Selenium intake with diet in Italy. A plat study. *J. Trace Elem. Electrol. Health Dis.* 3: 4, 193-198.
132. Stratton S. P. and Liebler D. C. (1997). Determination of siglet oxygen-specific versus radical-mediated lipid peroxidation in photosensitized oxidation of lipid bilayers; effect of β -carotene and α -tocopherol. *Biochem.* 36: 42, 12911-12920.
133. Sümbüloğlu K. ve Sümbüloğlu V. (1995). *Biyoistatistik. Özdemir Basım Yayım ve Dağıtım. LTD. Şti.* 6. Baskı. Ankara.
134. Thomas M. J. (1995). The role of free radicals and antioxidants. How do we know that they are working. *Critical Rev. Food Sci. Nut.* 35: 21-29.
135. Türker H. (1988). *Bilimsel Yönleriyle Tavuk Besleme.* 1. Baskı. İstanbul.
136. Ullery D. E. (1992). Basis for regulation of selenium suplements in animal diets. *J. Anim. Sci.* 70: 3922-3927.
137. Ullrey D. E. (1981). Vitamin E for swine. *J. Anim. Sci.* 53: 4, 1039-1055.
138. Ünal E. F., Nak Y., Nak D. ve Tavukçuoğlu F. (1995). Sublinik mastitislerin teşhisinde farklı analiz metotlarının kullanım olanakları. *U.Ü. Vet. Fak. Derg.* 14: 1-2-3, 67-73.
139. Van Saun R. J. (1990). Rational approach to selenium supplementation essential. *Feed Stuffs.* 15:15.
140. Vendemiale G., Grattogliano I. and Altomare E. (1999). An update on the role of free radicals and antioxidant defense in human disease. *Int. J. Clin. Lab. Res.* 29: 49-55.
141. Weiss W. P., Hogan J. S., Smitsh K. L. and Hoblet K. H. (1990). Relationships among selenium, vitamin E and mammary gland health in commercial dairy herds. *J. Dairy Sci.* 73: 381-390.

142. Weiss W. P., Hogan J. S., Todhunter D. A. and Smith K. L. (1997). Effect of vitamin E supplementation in diets with a low concentration of selenium on mammary gland of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 80: 1728-1737.
143. Wilson P. S. and Judson G. J. (1976). Glutathione peroxidase activity in bovine and ovine erythrocytes in relation to blood selenium concentration. *Br. Vet. J.* 132: 428-434.
144. Wiss O., Bunnell R. H. and Gloor U. (1965). Absorption and distribution of vitamin E in the tissues. *Vitam. Horm.* 20: 441-445.
145. Wolff S. P., Garner A. and Dean R.T. (1986). Free radicals, lipids and protein degradation. Elsevier Science Pub. Amsterdam. 11: 27-31.
146. Wuryastuti H., Stowe H. D., Bull R. W. and Miller E. R. (1993). Effects of vitamin E and selenium on immune responses of peripheral blood, colostrum and milk leukocytes of sows. *J. Anim. Sci.* 71: 2464-2472.
147. Yaprak M. (1998). Akut Myocard Enfarktüsünde Biyokimyasal Parametreler ve Antioksidan Sistemle ilişkisi. Ç.Ü. Tıp Fak. Biyokimya A.B.D. Doktora Tezi, Adana.
148. Yarım G. ve Salmanoğlu B. (2002). Subklinik mastitisli süt ineklerinde meme içi levamizol uygulanmasında süt ve kanda glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz, alkalin fosfat ve immunoglobulin G düzeyleri. *A.Ü. Vet. Fak Derg.* 49: 89-94.
149. Yöntem M., Akkuş İ., Şekeroğlu M. R., Vural H., Öztok İ., Kalak S. ve Koçyiğit A. (1993). Erkeklerde orta derecede alkol alımının eritrosit glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitesi üzerine olan etkisi. *S.Ü. Tıp Fak. Derg.* 9: 3, 339-344.
150. Zintzen H. (1978). A Summary of Vitamin E/Selenium Problem in Ruminants. *News and Reviews. Roche.* Sayfa 1-18.

8. ÖZGEÇMİŞ

1969 yılında Kahramanmaraş'ın Elbistan ilçesinde doğdum. İlk ve ortaokulu Elbistan'da, liseyi Malatya'da tamamladım. 1989 yılında Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesine başladım ve 1994 yılında başarı ile mezun oldum. Bir yıl serbest Veteriner Hekim olarak çalıştım. 1995-1996 öğretim yılında Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsünde Veteriner Fizyoloji programında doktora başladım. Haziran 1996'da Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalına Asistan olarak atandım. Aralık 1998 yılında Tarım ve Köyişleri Bakanlığına geçiş yaptım. Halen Elazığ Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsünde Veteriner Hekim olarak çalışmaktayım. Evli ve bir çocuk babasıyım.

