



## Bakteriyel Pnömonili Besi Sığırlarında Oluşan Serbest Radikal Hasarının Antioksidan Aktivite ve Bazı Mineral Maddeler Üzerine Etkisi

Mehtap ÖZÇELİK<sup>1</sup>, Mustafa İSSİ<sup>2</sup>, Yusuf GÜL<sup>2</sup>, Osman GÜLER<sup>3</sup>, Halil ŞİMŞEK<sup>4</sup>,  
Necmi ÖZDEMİR<sup>5</sup>, Ayşe KILIÇ<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Fırat Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu, Elazığ-TÜRKİYE

<sup>2</sup>Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Elazığ-TÜRKİYE

<sup>3</sup>Veteriner Kontrol Enstitüsü, Elazığ-TÜRKİYE

<sup>4</sup>Bingöl Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu, Bingöl-TÜRKİYE

<sup>5</sup>Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Ana Bilim Dalı, Elazığ-TÜRKİYE

<sup>6</sup>Fırat Üniversitesi Sivrice Meslek Yüksek Okulu, Elazığ-TÜRKİYE

**Özet:** Bu çalışmada, besi sığırlarında sık olarak görülen ve büyük ekonomik kayıplara neden olan bakteriyel enzootik pnömoni ile antioksidan savunma arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışma için klinik muayene bulgularına göre enzootik pnömoni teşhisi konan 50 baş pnömonili (hasta grubu) ve 50 baş sağlıklı (kontrol grubu) olmak üzere toplam 100 besi sığırdan usulüne uygun olarak v. jugularis'ten EDTA'lı ve steril jelli cam tüplere kan örnekleri alınmıştır. Kan örneklerinde eritrositte glutatyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktiviteleri ile glutatyon (GSH) düzeyleri; plazmada ise lipid peroksidasyon ürünü olan malondialdehit (MDA); serumda ise A, C, E vitamini ve β-karoten ile bazı mineral düzeyleri çinko (Zn), bakır (Cu), selenyum (Se) tespit edilmiştir. Mikrobiyolojik muayeneler için burun svab örnekleri alınarak genel ve spesifik besi yerlerine ekimleri yapıldıktan sonra uygun şartlarda inkube edilmiştir. Üreme görülen vasatlar enzootik pnömoni etkenleri yönünden identifiye edilmiştir. Pnömonili hayvanlarda, lipid peroksidasyonun göstergesi olan MDA miktarında önemli bir şekilde artış (P<0.001), CAT, GSH-Px, SOD enzim aktiviteleri ile vitamin (A, C, E ve β-karoten) ve Cu düzeylerinde önemli derecede (P<0.001) azalma gözlenmiştir. GSH, Zn ve Se düzeylerinde gruplar arası farkın önemsiz olduğu (P>0.05) görülmüştür. Sonuç olarak, enzootik pnömonili sığırlarda eritrosit antioksidan aktiviteleri (CAT, GSH-Px, SOD), vitamin (A, C, E ve β- karoten) ile Cu düzeylerinin azalması ve MDA miktarlarındaki artışlar hastalıkta oksidatif stresin geliştiğini göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Antioksidan, lipid peroksidasyonu, mineral madde, pnömoni, vitamin

### The Effect of Free Radical Damage Formed in Beef Cattle With Bacterial Pneumonia on Antioxidant Activity and Some Minerals

**Summary:** In this study, the relationship between antioxidant defence system and bacterial enzootic pneumonia which cause vast economic losses was aimed to investigate. For this study, blood samples were taken from 50 beef cattle having enzootic pneumonia diagnosed due to clinical finding and blood samples from 50 healthy beef cattle determined clinically were also taken from jugular vein into steril tubes containing EDTA. In whole blood; glutathione peroxidase (GSH-Px), catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) activities were determined. In plasma; malondialdehyde (MDA) which is a product of lipid peroxidation, A, C, E vitamins and β-caroten and some mineral levels (Zn, Cu, Se) were determined. For microbiological examinations nasal swab samples were taken and were plated into general and specific media and incubated under suitable condition. The growth colonies were identified in terms of enzootic pneumonia agents. In pneumonic animals lipid peroxidation indicator, MDA increased significantly (P<0.001), but CAT, GSH-Px, SOD enzyme activities and vitamins (A, C, E and β-caroten) and Cu levels decreased significantly (P<0.001). GSH, Zn, and Se levels were not different when compared between groups (P>0.05). As a result, in enzootic pneumonic cattle decrease in erythrocyte antioxidant activities (CAT, GSH-Px, SOD), vitamins (A, C, E and β-caroten) and Cu levels and increase in MDA amount show the development of oxidative stress.

**Key Words:** Antioxidants, lipid peroxidation, minerals, pneumonia, vitamins

### Giriş

Akciğerler anatomisi ve fonksiyonlarından dolayı oksidatif hasardan kolayca etkilenebilse de solunum yolu epitelleri endojen ve eksojen serbest oksijen radikallerin (SOR) etkisini minimum düzeye indirmek için antioksidanlara sahiptir (40). Antioksidanlar oksidanlar ile reaksiyona girerek bir sistem içindeki toplam oksidan sayısını azaltabilen, dolayısıyla oksidasyonu durdurabilen maddelerdir. Antioksidanların koruyucu etkisiyle oksidan moleküllerinin dokular üzerindeki zarar verici etkisi azalır. Antioksidanlar arasında enzimler (süperoksit

dismutaz (SOD), katalaz (CAT), redüktaz ve glutamin peroksidaz) ve serbest radikal temizleyicileri (vitamin A, karotenoidler, C ve E vitamini ile metal şelatörleri) bulunur (9, 30). Belirli bir düzeye kadar olan SOR artışı organizmada daima belirli bir düzeyde bulunan doğal antioksidan moleküller tarafından etkisiz hale getirilebilmektedir (7, 36, 42). Ancak SOR aşırı üretilir ve belirli bir düzeyin üzerine çıkarsa veya antioksidanlar yetersiz kalırsa proteinlerin, lipidlerin, karbonhidratların, nükleik asitlerin ve yararlı enzimlerin yapısını bozarak zararlı etkilere yol açarlar (7, 36). Oksidatif patlama sırasında reaktif moleküller çevreye yayılarak mutasyonlara, hücre hasarına, inflamasyona, koruyucu enzimlerin inaktivasyonuna ve lenfosit proliferasyonunun inhibisyonuna sebep olurlar. Vitaminler SOR'la etkileşip onlara bir hidrojen

Geliş Tarihi / Submission Date : 18.06.2013

Kabul Tarihi / Accepted Date : 05.03.2014

\* Bu çalışma TAGEM tarafından desteklenmiştir.

aktararak aktivitelerini azaltırlar (12). Mineraller ise SOR'u kendilerine bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engellerler (19).

Bu çalışmada, besi sığırlarında sık olarak görülen ve büyük ekonomik kayıplara neden olan bakteriyel enzootik pnömoni hastalığı ile antioksidan savunma arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

### Gereç ve Yöntem

Çalışma için Elazığ ve çevresinde klinik muayene bulgularına göre enzootik pnömoni teşhisi konan 50 baş pnömonili (hasta grubu) ve 50 baş sağlıklı (kontrol grubu) olmak üzere toplam 100 baş Holştayn besi sığırından usulüne uygun olarak v. jugularis'ten EDTA'lı; vitamin ve mineral analizi için de steril jelli cam tüplere kan örnekleri alındı. Klinik muayene ile pnömoni teşhisi konan hayvanlardan toplanan burun svabı örneklerinin genel ve selektif besi yerlerine ekimleri yapılarak uygun şartlarda inkube edildi. Üreme görülen vasatlar konvansiyonel kültür metotları kullanılarak enzootik pnömoni etkenleri yönünden identifiye edildi.

En kısa zamanda laboratuvara getirilen örneklerden EDTA'lı kanlar 3000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek plazması ayrılan eritrositler serum fizyolojik ile 3 defa yıkandı. Steril cam tüplere alınan kan örnekleri de 3000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı. C vitamini analizleri serumda; A, E ve β-karoten analizi ise plazmada santrifüj işleminin ardından hemen yapıldı. Mineral analizi için serum; MDA analizi için plazma ve diğer analizler için yıkanmış eritrosit örnekleri -30 °C'de muhafaza edildi.

Eritrosit SOD aktivitesi Sun ve ark. (37)'nin metoduyla; eritrosit CAT aktivitesi Aebi'nin (1) yöntemiyle; GSH-Px aktivite düzeyi Lawrance ve ark. (21)'nin yöntemiyle; GSH düzeyi Sedlak ve Lindsay (34)'in tekniğine göre belirlendi. Hemogloblin tayini siyanomethemogloblin yöntemi (40) ile yapıldı. Plazmada MDA düzeyi Matkovics ve ark. (25) tarafından modifiye edilen Placer ve ark. (31)'nin yöntemiyle, plazma protein miktarı ise Lowry (23) metoduyla ölçüldü.

Serum A vitamini ve β-karoten düzeyleri Suzuki ve Katoh'un (38), C vitamini düzeyi Kyaw (20)'in, E vitamini düzeyi ise Kayden ve ark. (16)'nin tarif ettiği yöntemlere kan serumları ayrılır ayrılmaz Schimadzu UV-1208, UV-VIS spektrofotometrede ölçüldü.

Yine serumda AOAC 983.24 metoduyla Cu ve AOAC 991.11 metodu ile Zn düzeylerine Perkin-Elmer 800 atomik absorpsiyon spektrometresinin alevli sisteminde, Se düzeyi ise AOAC 7. analitik metoduna (fluometrik metod) göre aynı AAS'nin hidrür sisteminde analiz edildi.

Verilerin değerlendirmesinde SPSS 12.0 paket programı kapsamında bağımsız T testinden

faydalanıldı ve sonuçlar, ortalama ( $\bar{x}$ ) ± standart hata ( $S_{\bar{x}}$ ) olarak gösterildi. Gruplar arasındaki farklılıklar önem seviyesi p<0.05 esas alınarak değerlendirildi.

### Bulgular

Hasta grubundaki tüm hayvanlarda iştahsızlık, durgunluk, konjunktivalarda hiperemi, öksürük gözlemlendi. Bu gruptaki hayvanların özellikle ayağa kalktığına daha çok öksürdükleri hayvan sahipleri tarafından ifade edildi. Bazılarında seröz, bazılarında ise seromüköz, müköz burun akıntısı gözlemlendi. Akciğerlerin oskültasyonunda özellikle apikal loplarda sert veziküler sesler alınırken bazı hayvanlarda raller işitildi. Bazı hasta hayvanlarda gözyaşı akıntısı ve tüylerde dikleşme dikkati çekti. Her iki gruptaki hayvanların klinik muayene bulguları (vücut sıcaklığı, kalp ve solunum frekansı ile rumen hareketi) ile vitamin (A, C, E vitamini ile β-karoten), antioksidan enzim (MDA, GSH-Px, CAT, SOD, GSH,) ve bazı mineral madde (Zn, Cu, Se) düzeylerinin aritmetik ortalamaları ile gruplar arası farklılığın istatistiksel önemi Tablo 1'de verilmiştir (Tablo 1).

Çalışmaya alınan hasta grubundaki hayvanların mikrobiyolojik muayenesinde *Pseudomonas aeruginosa*, *Actinomyces* spp., *S. epidermidis*, *Corynebacterium* spp., *Mycoplasma* spp., *Pasteurella multocida*, *Manheimia haemolytica*, *S. aureus* ve *Escherichia coli* türü bakteriler izole edilmiştir.

### Tartışma

Sığır yetiştiriciliğinin en önemli sorunlarından biri olan enzootik pnömoni dünyada ve ülkemizde yaygın olarak görülmekte olup verim kaybı ve ölümler büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bakteriyel, viral veya mikoplazmal etkenlerle birlikte dispozisyon yaratan faktörlerin (ani iklim değişikliği, tozlu havanın solunması, üşütme, taşıma sonrası yorgunluk, yetersiz aktif veya pasif bağışıklık, kötü ahır havası, yer ve yem değişikliği, sıkışık barındırma ile kötü bakım ve besleme hataları gibi) etkisiyle oluşmakta ve klinik bulguların görülmesiyle kolayca tanınabilmektedir (14, 35). Ancak tedavinin etkinliği ve gerekli koruyucu tedbirlerin uygulanabilmesi için burun svabı, trakeobronşial lavaj sıvısı veya akciğer doku örneklerinden bakteriyolojik muayenelerin yapılması yanında virolojik muayenelerinde önemli olduğu bildirilmektedir (35). Hasta grubundaki sığırlar özellikle klinik bulgulara göre teşhis edilmiş ve burun svablarından alınan örneklerin bakteriyolojik muayeneleriyle teyit edilmiştir. Laboratuvar imkanların yetersiz olması nedeniyle virolojik taramalar yapılamamıştır. Respiratorik hastalıklara yol açan değişik türde mikroorganizmaların bulunduğu bildirilmektedir (3, 8, 39). Bu çalışmada da hasta grubundaki hayvanların mikrobiyolojik muayenesinde *Pseudomonas aeruginosa*, *Actinomyces* spp., *Staph. epidermidis*, *Corynebacterium* spp., *Mycoplasma*

spp., *Pasteurella multocida*, *Manheimia haemolytica*, *S. aureus* ve *Escherichia coli* türü bakteriler üretilmiştir.

Kontrol grubundaki hayvanların klinik ve laboratuvar bulgularının tamamının sağlıklı hayvanlar için bildirilen fizyolojik sınırlar içerisinde olduğu görülmüştür. Hasta grubunda bulunan sığırların klinik muayenesinde tespit edilen iştahsızlık, durgunluk, öksürük, gözyaşı akıntısı, konjunktivalarda hiperemi, vücut sıcaklığı, kalp ve solunum frekansında artış, rumen hareketlerinde azalma, burun akıntısı (seröz, seromüköz, müköz veya mükopulent), akciğerlerin oskültasyonunda patolojik seslerin alınması hastalıkta benzer bulguların görülebileceğini belirten literatür bildirimleriyle uyum içerisinde (2, 3, 4, 8, 29, 32, 35).

MDA kan plazmasında SOR'un hücre membranına verdiği hasar sonucu ortaya çıkmakta ve kan değerlerindeki artışı oksidatif stresin arttığının bir göstergesidir (29). Normal akciğerler SOR etkisini önlemek ve kompanse etmek için güçlü bir antioksidan mekanizmaya sahiptir. Kronik obstruktif pulmoner diseases (COPD)'li hastalarda lipid peroksidasyon yan ürünü olan 1-hydroxynonenol ile MDA miktarında artış tespit etmişlerdir. Bu artışın akciğer fonksiyonuyla negatif bir ilişki içerisinde olabileceğini açıklamışlardır (33). Bu çalışmada da hasta grubunda tespit edilen MDA düzeyinin kontrol grubunda tespit edilen

düzeiden istatistiksel olarak önemli derecede yüksek ( $P<0.001$ ) olduğu belirlenmiştir.

Yapılan bir çalışmada (24), ileri derecede bronşit olan çocuklarda antioksidan enzimlerden GSH-Px aktivitesinde önemli artış olduğu, katalaz enzim aktivitesinin ise normal seviyede kaldığı saptanmıştır. Oksidatif stres, artmış oksidana maruz kalma ya da azalmış antioksidan kapasite olarak tanımlanabilir (9). Kanda ölçülen GSH-Px ve SOD enzimleri vücudun SOR'a karşı koruyucu savunma sistemini oluşturan ve canlılarda stres göstergesi olarak bilinen enzimlerdir (29). GSH-Px düzeyi hasta grubunda, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli derecede düşük bulunmuştur. Oksidatif strese karşı etkili antioksidan olan GSH-Px aktivitesindeki bu azalma, hidrojen peroksidin arttığının ve şiddetli hücre hasarına yol açtığına göstergesi olarak açıklanabilir. Ayrıca oksidatif stres direk olmasa da birçok olayda hastalığın şiddetini artıran sekonder faktör olarak etkilediğinden bu tip hastalıklarda tedavi planlanırken oksidatif stresin göz ardı edilmemesinin gerektiği düşünülmektedir.

Vitaminler serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltıp inaktif hale getirirler. Askorbik asit düzeyinin düşük olması tüm kronik yangısal hastalıklarda ve lipid peroksidasyonunun artmış olduğu durumlarda önemli

**Tablo 1.** Çalışmaya alınan hayvanların genel klinik muayene bulguları, MDA, glutatyon bazı antioksidan enzim, vitamin ve mineral madde düzeylerinin aritmetik ortalamaları ve gruplar arasındaki farkın önemi

Parametre	n	Kontrol Grubu ( $\bar{x} \pm S\bar{x}$ )	n	Hasta Grubu ( $\bar{x} \pm S\bar{x}$ )	istatistik önem kontrolü (T Testi)
<b>Klinik Muayene Bulguları</b>					
Vücut sıcaklığı (oC)	50	38.30 ±0.05	50	40.01 ±0.069	P<0.001
Kalp frekansı (adet/dakika)	50	72.12 ±0.66	50	95.76 ±1.87	P<0.001
Solunum frekansı (adet/dakika)	50	24.56 ±0.54	50	42.24 ±1.11	P<0.001
Rumen hareketi (adet/5 dakika)	50	8.84 ±0.072	50	3.34 ±0.14	P<0.001
<b>Antioksidan Enzim Düzeyleri</b>					
Malondialdehit (nmol/mL)	50	7.52 ±0.49	50	18.61 ±1.28	P<0.001
Glutatyon peroksidaz (U/g Hb)	50	25.49 ±1.78	50	18.29 ±1.62	P<0.001
Katalaz (K/g Hb)	50	24.84 ±0.59	50	18.15 ±0.69	P<0.001
Süperoksit dismutaz (U/g Hb mL-1)	50	0.20 ±0.012	50	0.33 ±0.017	P<0.001
Glutatyon (nmol/g Hb)	50	3.70 ±0.22	50	3.80 ±0.31	P>0.05
<b>Vitamin Düzeyleri</b>					
Vitamin A (µg/dL)	50	22.66 ±0.72	50	12.77 ±0.53	P<0.001
β-karoten (µg/dL)	50	14.62 ±1.16	50	3.59 ±0.48	P<0.001
Vitamin C (mg/dL)	50	1.37 ±0.08	50	0.91 ±0.044	P<0.001
Vitamin E (mg/dL)	50	0.26 ±0.076	50	0.16 ±0.055	P<0.001
<b>Mineral Madde Düzeyleri</b>					
Çinko (ppm)	50	0.56 ±0.04	50	0.47 ±0.05	P>0.05
Bakır (ppm)	50	2.2 ±0.08	50	1.12 ±0.04	P<0.001
Selenyum (ppb)	50	111.60 ±3.51	50	114.34 ±5.32	P>0.05

rol oynar (11). Evcil hayvanların enfeksiyöz hastalıkları ve stres durumlarında (sıcak ve soğuk hava, transport, yetersiz beslenme, aşılama, parazitözler ile narkoz gibi cerrahi müdahaleler) vücut direncinin artırılması ve immun sistemin uyarılması için vitamin A ve E ile birlikte vitamin C uygulaması tavsiye edilmektedir. Akciğer ve gastrointestinal kanal enfeksiyonlarının kan plazması vitamin C düzeyinde azalmaya neden olabileceği bildirilmiştir (13, 17). Bu çalışmada A, C ve E vitamini ile  $\beta$ -karoten düzeylerinde kontrol grubu ile hasta grubu arasında istatistiksel olarak önemli azalmaların olduğunun ( $P < 0.001$ ) tespit edilmesi literatür (11, 13, 17) bildirimleri ile uyum içerisinde.

Ruminantlarda eritrosit GSH-Px aktivitesinin kan Se düzeyinin iyi bir göstergesi olduğu ve GSH-Px aktivitesi ile kan selenyum konsantrasyonları arasında linear ilişki olduğu ifade edilmektedir (18). Se yetersizliğinde musküler dejenerasyon, üreme ve kan bozuklukları (Heinz-cisimciği anemisi) ile hastalıklara karşı direnç azalması görüldüğü bildirilmektedir (5, 26). Selenyumun beslenmedeki etkisi GSH-Px enziminin yapısında yer almasıyla izah edilebilmektedir (37). GSH-Px enzimi membran lipidlerinin bütünlüğünü korumak için hücrede peroksidlerin parçalanmasını kolaylaştırarak doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonunu önlemede rol oynar. Peroksidlerin parçalanmasındaki bozukluk dokuların tahribatına sebep olmakta ve eğer antioksidan olan vitamin E yetersizse yıkım daha fazla olmaktadır (16). Hoshino ve ark. (10)'ları beyaz kas hastalıklı buzağılarda serum selenyum düzeyleri ile kan GSH-Px aktivitesinin düşük olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada da hasta grubundaki hayvanların E vitamini ve Se değerleri ile birlikte GSH-Px enzim aktivitesinin düşük bulunması E vitamini ve Se değerleri arasında ilişki olduğunu göstermektedir. Selenyum ve vitamin E'nin doku homojenatlarında, mitokondri ve mikrozomlarda lipid peroksidasyonunu engellediği bildirilmiştir (6). Selenyum, hücre membranlarında yer alan doymamış yağ asitleri ve sülfidril gruplarının oksidasyonuna neden olan hidrojen peroksidin katabolizmasında görev alan GSH-Px enziminin yapısına girer (27, 41). Vitamin E zincir şeklinde devam eden lipid peroksidasyonunu önlediğinden zincir kırıcı antioksidan olarak tanımlanmaktadır (15, 22). Vitamin C, vitamin E'nin antioksidan etkisini artırırken organizmada düzeylerinin azalmasını da önlemektedir (22, 28).

Bu çalışmada, eritrosit antioksidanları (CAT, GSH-Px, SOD), vitamin (A, C, E ve  $\beta$ -karoten) ile Cu mineralinin azalması ve plazmadaki MDA düzeylerindeki artışlar enzootik pnömonili sığırlarda oksidatif stresin geliştiğini göstermektedir. Bu enzimlerin aktivitelerinin azalması yüksek miktardaki SOR tarafından inaktivasyonundan ve yetersiz kalmasından kaynaklanmış olabileceği kanatine varılmıştır. Ayrıca zincir kırıcı antioksidanlardan

olan vitamin A, C, E ve  $\beta$ -karoten düzeylerindeki önemli azalmanın nedeni olarak bozulmuş olan oksidan dengeyi düzeltmek için yoğun kullanımları ve serum Cu düzeyindeki azalmanın ise antioksidan enzimlerin kofaktörü olarak kullanılması ile ilgili olabileceği düşünülmektedir. Sonuç olarak, oksidatif stresin geliştiği enzootik pnömonili sığırlarda lipid peroksidasyon ve serbest radikallerin zararlı etkilerini önlemek için A, C, E vitaminleri ve  $\beta$ -karoten ile Se ve Cu içeren yem katkı maddelerinin ilavesinin faydalı olacağı düşünülmektedir.

Sonuç olarak, oksidatif stresin geliştiği enzootik pnömonili sığırlarda lipid peroksidasyon ve serbest radikallerin zararlı etkilerini önlemek için A, C, E vitaminleri ve  $\beta$ -karoten ile Se ve Cu içeren yem katkı maddelerinin ilavesinin faydalı olacağı düşünülmektedir.

### Kaynaklar

1. Aebi H. Catalase in vitro. *Meth Enzym* 1984; 105: 121-6.
2. Aiello SE, Mays A. The Merck Veterinary Manual, Eighth Edition. Philadelphia: Merck and Company, 1998;17.
3. Aytuğ CN, Alaçam E, Görgül S. Sığır Hastalıkları, 2. Baskı. İstanbul: 1989; 179-84.
4. Batmaz H. Sığırların İç Hastalıkları. 2. Baskı. Bursa: F Özsan Mat San ve Tic Ltd Şti, 2010; 415.
5. Beck MA, Levander O, Handy J. Selenium deficiency and viral infection. *J Nutr* 2003; 133: 1463-7.
6. Combs GF, Noguchi T, Scott ML. Mechanisms of action of selenium and vitamin E in protection of biological membrans. *Federation Proc* 1975; 34: 11.
7. Cross CE, Halliwell B, Borish ET, Pryor WA, Ames BN, Saul RL, Mccord JM, Harman D. Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med* 1987; 107: 526- 45.
8. Gül Y, Dabak M, Kalender H, Kızıl O, Issi M. Enzootik pnömonili dana ve kuzularda amoksisilinle tedavi denemeleri. *Bültendif* 1999; 12: 12-5.
9. Horvath I, Donnelly L, Kiss A. Combined use of exhaled hydrogen peroxide and nitric oxide in monitoring asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 1042-6.
10. Hoshino Y, Ichijo S, Osame S, Takahashi E. Studies on serum tocopherol, selenium levels and blood glutathione peroxidase activities in calves with white muscle disease. *The Japanese Journal of Veteriner Science* 1989; 51(4): 741-8.

11. Issi M, Gül Y. Evcil hayvanlarda vitamin C'nin önemi ve metabolizması. *FU Sağ Bil Derg* 2001; 15 (2): 423-30.
12. Issi M, Gül Y, Yılmaz S. Clinical, haematological and antioxidant status in naturally poxvirus infected sheep. *Rev Med Vet* 2008; 159 (1): 54-8.
13. Jagos P, Bouda J, Dvorak R. Ascorbic acid levels in cases of bronchopneumonia in calves. *Vet Med Paraha* 1977; 22 (3): 133-6.
14. Jensen R, Mockey DR. *Disease of Feedlot Cattle*. Third Edition: Philadelphia, Lea and Febiger, 1979; 65.
15. Karataş F, Tuğ T, Konar V. Aerosole maruz kalan işçilerde, serum antioksidan vitaminler (A, E, C), selenyum ve malondialdehit düzeyleri. *Torax Dergisi* 2008; 9 (1): 13-6.
16. Kayden HJ, Chow CK, Bjarnson LK. Spectrophotometric method for determination of tocopherol in red blood cells. *J Lip Res* 1973; 14: 533-40.
17. Kold E. Neuere Erkenntnisse zur bedeutung der askorbinsaeure für Haustiere und zu ihrer Anwendung in der Veterinaermedizin. *Tieraerztl Umschau* 1992; 47: 163-75.
18. Koller LD, South PJ, Exon JH, Whitbeck GA, Maas J. Comparison of selenium levels and glutathione peroxidase activity in bovine whole blood. *Canadian J Comp Med* 1984; 48(4): 431-3.
19. Kozat S. Geviş getiren hayvanlarda iz elementlerin önemi, gerekliliği ve noksanlıklarının etkileri. *YYU Sağ Bil Derg* 2006; 9 (2): 58-67.
20. Kyaw A. A simple colorimetric method for ascorbic acid determination in blood plasma. *Clin Chim Act* 1978; 86: 153-7.
21. Lawrence RA, Burk RF. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Bioch Bioph Res Com* 1976; 71 (4): 952-8.
22. Leung HW, Vang MJ, Mavis RD. The cooperative interaction between vitamin E and vitamin C in suppression of peroxidation of membrane phospholipids. *Bioch Bioph Acta* 1981; 664: 266-72.
23. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193 (1): 265-75.
24. Mallol J, Aguirre V, Espinosa V. Increased oxidative stres in children with post infectious bronchiolitis obliterans. *Aller Immunopathol* 2011; 39 (5): 253-8.
25. Matkovics B, Szabo I, Varga IS. Determination of enzyme activities in lipid peroxidation and glutathione pathways (in Hungarian). *Lab Diag* 1988; 15: 248-9.
26. Mckenzie RC, Rafferty TS, Beckett GJ. Selenium: an essential element for immune function. *Immunol* 1998; 19: 342-5.
27. Miller JK, Brzezinska-Slebodziska E, Madsen FC. Oxidative stress, antioxidants, and animal function. *J. Dair Sci* 1993; 76(9): 2812-23.
28. Niki E, Saito T, Kawakami A, Kamiya Y. Inhibition of oxidation of methyl linoleate in solution by vitamin E and vitamin C. *J Biol Chem* 1984; 259: 4177-82.
29. Ozyurt B, Iraz M, Koca K, Ozyurt H, Sahin S. Protective effects of caffeic acid phenethyl ester on skeletal muscle ischemia-reperfusion injury in rats. *Mol Cel Bioch* 2006; 292: 197-203.
30. Ozyurt H, Pekmez H, Parlaktas BH, Kus I, Ozyurt B, Sarsılmaz M. Oxidative stres in testicular tissues of rats exposed to cigarette smoke and protective effects of caffeic acid phenethyl ester. *Assian J Androl* 2006; 8 (2): 189-93.
31. Placer ZA, Cushman LL, Johnson BC. Estimation of products of lipid peroxidation in biochemical systems. *Anal Biochem* 1966; 16: 359-64.
32. Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW, Constable PD. *Veterinary Medicine*. Tenth Edition: London, New York, Oxford, Philadelphia, St Louis, Sydney, Toronto, 2008; 1017-44.
33. Rahman I, Van Schadewijk AA, Crowther AJ, Hiemstra PS, Stolk J, Macneew DE, Boer WI. 4-Hydroxy-2-nonenal, a specific lipid peroxidation product is elevated in lung of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 166: 490-5.
34. Sedlak J, Lindsay RHC. Estimation of total protein bound and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellmann's reagent. *Anal Biochem* 1968; 25: 192-205.
35. Smith BP. *Large Animal Internal Medicine*. Fourth Edition: St Louis, Missouri: Mosby Elsevier, 2009; 160.
36. Southorn P. Free radicals in medicine II. Involvement in human disease. *Mayo Clin Proc* 1988; 63: 390-408.
37. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988; 34 (3): 497- 500.

38. Suzuki J, Katoh NA. Simple and cheap methods for measuring serum vitamin A in cattle using only a spectrophotometer. Jpn Vet Sci 1990; 52 (6): 1282-4.
39. Tietz NW. Fundamentals of Clinical Chemistry. Second Edition. Philadelphia: W.B. Saunders Co, 1976; 411.
40. Unlü M, Akkaya A. Reaktif oksijen metabolitleri ve akciğer hastalıkları. Sol Hast Derg 1999; 10: 207- 11.
41. Van Metre DC. Selenium and vitamin E. Food Animals Practice 2001; 17(2): 373-402.
42. Vural H, Uzun K, Erel U. Antioxidant status and lipid peroxidation in asthma. Sol Hast Derg 1999; 10 (1): 77-83.

**Yazışma Adresi:**

Yrd. Doç. Dr. Mehtap ÖZÇELİK  
Fırat Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek  
Yüksekokulu, PK 23119, Elazığ-TÜRKİYE  
Tel: +90 424 237 00 00  
Fax: +90 424 241 55 54  
e-posta: mehtapyo@hotmail.com,  
mozcelik@firat.edu.tr