"Research article" **DOI: 10.30495/JVCP.2022.1906232.1277**

Assessment of oxidative stress indices and body condition score in cows with clinical mastitis in comparison to healthy cows

Karimi-Dehkordi, M.[1], Ghasemian, S.O.[2*]

1- Assistant Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.
2- Assistant Professor, Department of Veterinary, Behbahan Branch, Islamic Azad University, Behbahan, Iran.
*Corresponding authors email: ghasemian1249@yahoo.com
(Received: 2021/11/30 Accepted: 2022/4/25)

Abstract

The occurrence of mastitis is associated with the development of immune responses and an increase in the level of reactive oxygen specie (ROS). The aim of this study was to evaluate the status of oxidative stress indices and body condition score (BCS) in cows with clinical mastitis. For this purpose, 76 cows with clinical mastitis and 74 healthy cows without clinical signs of mastitis and with a milk somatic cell count of less than 200000/ml were studied in 2 groups. BCS of the cows was assessed at the time of blood sampling and plasma preparation. The results showed that the total antioxidant capacity and selenium concentration in the plasma of healthy cows were significantly higher than sick cows (p<0.05). Also, activity of glutathione peroxidase and superoxide dismutase enzymes as well as plasma copper levels were higher in healthy cows compared to sick cows, although no significant difference was observed between them. The mean Zn concentration was similar in the two groups. Although healthy cows had lower malondialdehyde concentrations in their plasma than sick cows, this difference was not statistically significant. Also, the amount of glutathione peroxidase in cows with high body scores was significantly lower than the others (p<0.05). The amount of malondialdehyde and the number of milk somatic cells in cows with high and moderate body scores were significantly higher than the other group (p<0.05). It was found that changes in the antioxidant defense of cows with mastitis leads to oxidative damage. Therefore, using antioxidants to control mastitis can be helpful. Obese cows are also more sensitive to oxidative stress.

Conflict of interest: None declared.
Keywords: Antioxidant enzymes, Cinical mastitis, Dairy cow, Oxidative stress.

"مقاله پژوهشی" DOI: 10.30495/JVCP.2022.1906232.1277

بررسی شاخص‌های استرس اکسیداتیو و توده‌بدنی در گاوهای مبتلا به ورم‌پستان بالینی در مقایسه با گاوهای سالم

مریم کریمی‌دهکردی[۱]، سیده‌ام‌البنین قاسمیان[۲*]

۱- استادیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

۲- استادیار گروه دامپزشکی، واحد بهبهان، دانشگاه آزاد اسلامی، بهبهان، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات: ghasemian1249@yahoo.com

(دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۹۹/ پذیرش نهایی: ۱۴۰۱/۲/۵)

چکیده

وقوع ورم‌پستان با بروز پاسخ‌های ایمنی و افزایش گونه‌های فعال اکسیژن همراه است. هدف از مطالعه حاضر، بررسی وضعیت شاخص‌های استرس اکسیداتیو و توده بدنی در گاوهای مبتلا به ورم پستان بالینی بود. بدین منظور، تعداد ۷۶ رأس گاو مبتلا به ورم‌پستان بالینی و تعداد ۷۴ رأس گاو سالم بدون علایم بالینی ورم پستان و با سلول‌های سوماتیک شیر کمتر از ۲۰۰ هزار در میلی‌لیتر، در قالب ۲ گروه بررسی شدند. همزمان با خونگیری و تهیه پلاسما، ارزیابی وضعیت بدنی گاوها نیز انجام گرفت. یافته‌ها نشان داد که ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی و غلظت سلنیوم به طور معنی‌داری در پلاسمای گاوهای سالم نسبت به گاوهای بیمار بیشتر بود ($p<۰/۰۵$). همچنین فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز (glutathione peroxidase; GSH-Px) و سوپراکسید دیسموتاز (superoxide dismutase; SOD) و میزان مس در پلاسمای گاوهای سالم در مقایسه با گاوهای بیمار بالاتر بود، هر چند اختلاف آماری معنی‌داری بین آن‌ها مشاهده نشد. میانگین غلظت Zn پلاسما نیز در ۲ گروه مشابه بود. هرچند گاوهای سالم در پلامسمای خود از غلظت مالون‌دی‌آلدئید کمتری نسبت به گاوهای بیمار برخوردار بودند، اما این اختلاف نیز از نظر آماری معنی‌دار نبود. همچنین میزان گلوتاتیون پراکسیداز در گاوهای با نمره بدنی بالا به‌طور معنی‌داری کمتر از بقیه بود ($p<۰/۰۵$). میزان مالون‌دی‌آلدئید و تعداد سلول‌های سوماتیک شیر هم در گاوهای با نمره بدنی بالا و متوسط به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه دیگر بود ($p<۰/۰۵$). مشخص شد که در دفاع آنتی‌اکسیدانی گاوهای مبتلا به ورم پستان تغییراتی به‌وجود می‌آید که منجر به آسیب اکسیداتیو می‌شود. بنابراین استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها برای کنترل ورم پستان می‌تواند مفید باشد. همچنین گاوهای چاق‌تر بیشتر در معرض استرس اکسیداتیو هستند.

کلیدواژه‌ها: گاو شیری، ورم‌پستان بالینی، استرس اکسیداتیو، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی.

مقدمه

ورم‌پستان به عنوان یکی از مهم‌ترین بیماری‌های غدد پستانی عامل بیشترین ضرر اقتصادی، مصرف وسیع آنتی‌بیوتیک‌ها و حذف زود هنگام از گله در اکثر واحدهای صنعتی پرورش گاو شیری می‌باشد (Martins *et al.*, 2019). بالغ بر ۱۴۰ گونه مختلف میکروارگانیسم شناخته شده‌اند که قابلیت ایجاد ورم پستان را دارند که در این میان نقش اصلی باکتری‌ها، در ۹۵ درصد از موارد شیوع ورم پستان مشاهده شده‌است (Vasil' *et al.*, 2009). بعد از هجوم باکتری‌ها به غدد پستان و موضعی شدن آن‌ها، مهاجرت نوتروفیل‌ها از خون، تحت تاثیر مواد کموتاکسیک، به کارتیه‌های عفونی افزایش می‌یابد (Malik *et al.*, 2018). فعالیت ضدباکتریائی نوتروفیل‌ها تا حدودی از طریق تولید گونه‌های فعال اکسیژن (reactive oxygen species; ROS) نظیر پراکسیدهیدروژن، هیدروکسیل و رادیکال‌های آزاد پراکسید می‌باشد (Zigo *et al.*, 2019). علی‌رغم نقش باکتری‌کشی و اثرات مثبت نوتروفیل‌ها در بهبود التهاب، تولید مقادیر بالای ROS و نبود مقادیر بهینه ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌تواند تعادل اکسیدان‌آنتی‌اکسیدان را مختل کرده و علاوه بر ایجاد آسیب‌های بافتی، منجر به بروز استرس اکسیداتیو گردد (Rehman *et al.*, 2017; Zigo *et al.*, 2019). اخیراً اندازه‌گیری غلظت پارامترهای استرس اکسیداتیو در بررسی و مدیریت سلامت حیوان مورد توجه فراوان قرار گرفته‌است. ارزیابی پارامترهای استرس اکسیداتیو شاخص‌های سریع و حساسی بوده و می‌توانند اطلاعات ارزشمندی را در خصوص وسعت آسیب در حال پیشرفت و ارزیابی درمانی بدهند. با استفاده از اطلاعات به‌دست آمده از بالا بودن پارامترهای استرس اکسیداتیو در موارد شیوع عفونت‌های بالینی و تحت‌بالینی در حال پیشرفت، بسته به شدت و مدت پاسخ مرحله حاد، می‌توان شدت عفونت را پیش‌بینی کرد (Atakisi *et al.*, 2010). براین اساس گزارش شده که ارتباط بسیار نزدیکی بین وقوع ورم پستان با بروز استرس اکسیداتیو وجود دارد (Ellah, 2013). شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد همزمان با وقوع ورم پستان، سطح ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و اکسیداتیو در شیر دچار تغییر می‌شود. در این راستا، در مطالعه انجام گرفته توسط ماتئی و همکاران در سال ۲۰۱۱ کاهش سطح فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در شیر گاوهای مبتلا به ورم پستان مشاهده شده‌است (Matei *et al.*, 2011). الدیب هم در سال ۲۰۱۳ در مطالعه خود بر روی گاوهای مبتلا به ورم پستان تحت‌بالینی، کاهش فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز را گزارش کرده‌است (El-Deeb, 2013). همچنین در تحقیقی که توسط زیگو و همکاران در سال ۲۰۱۹ انجام گرفته، افزایش مالون‌دی‌آلدئید و کاهش فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دسموتاز در گاوهای مبتلا به ورم‌پستان بالینی و تحت‌بالینی در مقایسه با گاوهای سالم مشاهده گردیده‌است (Zigo *et al.*, 2019).

بالانس منفی انرژی که در گاوهای شیری پس از زایمان رخ می‌دهد، با استفاده از تعیین نمره وضعیت بدنی (body condition score; BCS) به عنوان شاخص بالانس انرژی در گاوهای شیری مورد بررسی قرار می‌گیرد (Omur *et al.*, 2016). گزارش شده‌است که گاوهای دارای BCS بالاتر، نسبت به استرس اکسیداتیو حساس‌تر هستند (Bernabucci *et al.*, 2005;

Laubenthal *et al*., 2017). همچنین غلظت برخی از شاخص‌های وضعیت اکسیداتیو مانند مالون‌دی‌آلدئید در گاوهای دارای BCS بالاتر در قبل از زایمان بیشتر بوده است (Bernabucci *et al*., 2005). اما علی‌رغم مطالب فوق، تاثیرات BCS بر بروز استرس اکسیداتیو در گاوهای شیری کمتر مورد توجه بوده‌است. بنابراین ارزیابی ارتباط BCS با شاخص‌های استرس اکسیداتیو لازم به‌نظر می‌رسد. همچنین مطالعات محدودی تاثیر ورم پستان بالینی را روی شاخص‌های استرس اکسیداتیو و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی خون مورد بررسی قرار داده‌اند. لذا بر اساس موارد مذکور، در تحقیق حاضر، در کنار بررسی شاخص توده بدنی، به بررسی مالون‌دی‌آلدئید (malondialdehyde; MDA) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (total antioxidant status; TAS) در پلاسما، آنزیم آنتی‌اکسیدانی گلوتاتیون پراکسیداز اریتروسیتی (glutathione peroxidase; GSH-Px) و جزء عملکردی آن، سلنیوم (Se) و آنزیم سوپراکسید دیسموتاز اریتروسیتی (superoxide dismutase; SOD) و اجزاء عملکردی آن، مس (Cu) و روی (Zn)، در گاوهای شیرده سالم و مبتلا به ورم پستان بالینی، پرداخته‌شد.

مواد و روش کار

- **جمعیت مورد مطالعه و توزیع گروه‌ها:** مطالعه حاضر از نوع مشاهده‌ای مقطعی بود که در یک بازه زمانی ۳ ماهه، در تابستان سال ۱۳۹۷، روی تعداد ۱۵۰ رأس از گاوهای شیری نژاد هلشتاین ۳ تا ۵ شکم زایش و با میانگین سنی ۳/۱±۶۹/۴۶ ماه مربوط به یک گاوداری صنعتی اطراف تهران انجام شد. میانگین تولید شیر روزانه هم ۶/۴±۴۹/۱۳ کیلوگرم برای هر گاو بود. غذای گاوهای گاوداری مورد مطالعه، از سیلوی ذرت، کنسانتره، کاه و یونجه تامین می‌گردید و نحوه تغذیه آن‌ها هم به روش TMR (total mixed ration) بود که ۳ بار در روز انجام می‌شد.

جهت انجام مطالعه، ۲ گروه حیوان مورد بررسی قرار گرفتند. گروه اول شامل گاوهای مبتلا به ورم پستان بالینی (گروه بیمار) و گروه دوم شامل گاوهای گروه کنترل (گروه سالم) بودند که به ورم پستان بالینی و حتی تحت‌بالینی مبتلا نبودند. لازم به ذکر است که قبل از نمونه‌گیری، در مورد هرگاو معاینات بالینی کامل، از لحاظ ضربان قلب، درجه حرارت بدن و تعداد تنفس به عمل می‌آمد و گاوهایی برای مطالعه انتخاب می‌شدند که فاقد هر گونه علایم بالینی مربوط به بیماری‌های انگلی و دیگر بیماری‌های عفونی به غیر از ورم پستان بودند. نمره بدنی گاوها هم در زمان نمونه‌گیری ثبت می‌گردید. ارزیابی وضعیت بدنی با روش ۵ نمره ای انجام گرفت. در این روش به وضعیت بدنی گاوها نمره‌ای بین ۱ تا ۵ (با افزایش ۰/۲۵ واحد) تعلق می گرفت که درآن نمره ۱ لاغری شدید و ۵ چاقی شدید در نظر گرفته می‌شد (Karimi-Dehkordi *et al*., 2016).

نمونه شیر و همچنین نمونه خون (با استفاده از ماده ضد انعقاد هپارینه (Exir, Iran)، جداگانه، از ۷۴ رأس گاو سالم و ۷۶ رأس گاو مبتلا به ورم پستان بالینی از میان گاوهایی که در پیک تولید شیر (۷۰ تا ۱۰۰ روز پس از زایمان) به‌سر می‌بردند و سه مرتبه در روز (۴ صبح، ۱۲ ظهر و ۷ شب) مورد دوشش قرار می‌گرفتند، جمع‌آوری شد. لازم به ذکر است که هر کدام از گاوها که دارای شیر غیرطبیعی از نظر رنگ و شکل و در ملاسمه، دارای

تورم پستان بودند به عنوان گاوهای مبتلا به ورم پستان بالینی و گاوهایی که از نظر بالینی درگیری غده پستان را نداشتند و از سلامت ظاهری پستان و شیر برخوردار بودند و همچنین میزان شمارش سلول‌های سوماتیک (somatic cell count; SCC) در شیر آن‌ها کمتر از ۲۰۰ هزار سلول در میلی‌لیتر بود، در گروه کنترل یعنی گاوهای سالم (فاقد ورم پستان بالینی و تحت‌بالینی) تقسیم‌بندی شدند. بدین منظور، نمونه‌های شیر قبل از دوشش ظهر به طریق استریل جمع‌آوری و تا زمان رسیدن به آزمایشگاه در مجاورت کیسه یخ در ظرف یونولیتی سربسته نگه‌داری و حداکثر ظرف مدت یک ساعت به آزمایشگاه، جهت شمارش سلول‌های سوماتیک منتقل می‌شدند. شمارش یاخته‌های پیکری موجود در شیر هر دو گروه با استفاده از دستگاه شمارشگر الکترونیکی فوزوماتیک (Fossomatic 90, FOSS Electric Hillerod, Denmark) انجام و میزان SCC بیش از ۲۰۰ هزار سلول در میلی‌لیتر شیر به عنوان شاخص تشخیص ورم پستان بالینی و تحت بالینی در نظر گرفته شد (Bolourchi *et al*., 2008).

- اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز اریتروسیتی (SOD): فعالیت ویژه آنزیم SOD اریتروسیتی، پس از شستشو و آماده‌سازی گلبول‌های قرمز در گویچه‌های قرمز اندازه‌گیری شد. این آزمون بر اساس روش مک‌کورد و فریدوویچ در سال ۱۹۶۹ توسط کیت رانسود ساخت شرکت رنداکس انگلستان (RANSOD Kit, Cat. No. 125; Randox Lablatories, Crumlin, UK) انجام گردید (Karimi-Dehkordi *et al*., 2021).

- اندازه‌گیری فعالیت ویژه آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز اریتروسیتی (GSH-Px): فعالیت ویژه آنزیم GSH-Px بر اساس روش پاگلیا و والنتین در سال ۱۹۶۷، توسط کیت رنسل ساخت شرکت رنداکس انگلستان (RANSEL Kit (Cat. No. RS 504, RS 505; Randox Lablatoris, crumlin, UK) در گویچه‌های قرمز اندازه‌گیری شد (Karimi-Dehkordi *et al*., 2021).

- اندازه‌گیری عناصر کمیاب پلاسما: بعد از اندازه‌گیری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی اریتروسیتی سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز، نمونه‌های خون هپارینه در دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ (Mpw 260r, Poland) و نمونه‌های پلاسمای هر کدام به صورت جداگانه در میکروتیوپ جمع‌آوری شد.

سلنیوم، مس و روی موجود در پلاسمای نمونه‌های خون، به روش جذب اتمی در آزمایشگاه مرکزی سازمان انرژی اتمی اندازه‌گیری شد. به‌طوری‌که میزان عناصر مس و روی برحسب µg/dl در پلاسما با تکنیک جذب اتمی با شعله توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر جذب اتمی شعله‌ای (SpectrAA 220, Varian, Australia) مجهز به تصحیح زمینه از نوع لامپ دوتریوم، جهت برطرف کردن ملکول‌ها و عناصر مداخله‌کننده در اندازه‌گیری جذب اتمی عناصر مورد نظر و میزان عنصر سلنیوم پلاسما هم برحسب µg/dl با تکنیک جذب اتمی با کوره گرافیتی توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (UNICO 2150-UV Spectrophotometer, China) جذب اتمی کوره‌ای (SpectrAA 220, GTA 110, Varian, Australia) با جدار داخلی از پوشش پیرولایتیکی و از جنس تیوب‌های کربن گرافیتی و تصحیح زمینه با لامپ

دوتریوم، به‌منظور جلوگیری از پوسته‌اندازی کربن و از بین بردن اثر تداخل اتم‌های سلنیوم قبلی، تعیین گردید.

- **اندازه‌گیری وضعیت تام آنتی‌اکسیدان پلاسما (TAS)**: وضعیت تام آنتی‌اکسیدان پلاسما براساس روش میلر در سال ۱۹۹۳ و با استفاده از کیت شرکت رنداکس انگلستان (Cat. No. NX 2332; Randox Lablatoris, Crumlin, UK)، برحسب mmol/l اندازه‌گیری گردید (Miller *et al*., 1993). بدین منظور از دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل (Chemistry analyzer HERA, REF 1803050, spain version 1.1 e) در طول موج ۶۰۰ نانومتر و با کووت یک سانتی‌متری، در دمای ۳۷ درجه سلسیوس استفاده گردید.

- **اندازه‌گیری میزان مالون‌دی‌آلدئید پلاسما (MDA)**: برای اندازه‌گیری سطح مالون‌دی‌آلدئید پلاسما برحسب µmol/l (محصول نهایی پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع)، به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی، از روش دستی که همان روشِ TBARS (thiobarbituric acid reactive substance) یا ترکیبات واکنش‌دهنده با تیوباربیتوریک اسید می‌باشند، استفاده‌شد. طبق این روش، مالون‌دی‌آلدئید پلاسما با اسید تیوباربیتوریک ترکیب شده و در طول موج ۵۳۲ نانومتر جذب نوری ترکیب حاصله، اندازه‌گیری می‌شود (Kuloglu *et al*., 2002).

- **تحلیل آماری داده‌ها**: بعد از جمع‌آوری اطلاعات، نتایج با استفاده از نرم افزار SPSS ویرایش ۱۹ آنالیز شدند. مقایسه میانگین فعالیت آنزیم‌ها و سایر پارامترهای مورد بررسی در دو گروه گاوهای سالم و مبتلا به ورم پستان بالینی با استفاده از آنالیز آماری t-test صورت پذیرفت. نرمالیتهٔ توزیع داده‌ها توسط آزمون کولموگروف اسمیرنف (Kolmogorov Smirnov Test) ارزیابی گردید. قابل ذکر است که برای مقایسه میانگین دو گروه با توزیع نرمال، از آزمون Independent Sample T-test و در مواردی که توزیع داده‌ها نرمال نبود از آزمون Mann-Whitney U-Test استفاده شد. همچنین سطح اطمینان ۹۵ درصد از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته‌شد ($p\leq$۰/۰۵).

یافته‌ها

- **نتایج مربوط به شرایط فیزیولوژیک دام‌ها**: مقایسه دام‌های دو گروه از نظر متغیرهای زمینه‌ای، شامل شاخص تولیدی (تولید شیر)، وضعیت بدنی و سن در جدول ۱ ارائه شده‌است. همانطور که مشاهده می‌شود، گاوهای بیمار به‌طور معنی‌داری میانگین تولید شیر پائین‌تری (۷/۰۳±۴۴/۳۴ کیلوگرم در روز) نسبت به گاوهای سالم (۵/۸۹±۵۰/۱۷ کیلوگرم در روز) داشتند (p=۰/۰۰۶). اما اختلاف آماری معنی‌داری، بین میانگین سن گاوهای بیمار (۴/۷±۷۰/۳ ماه) در مقایسه با میانگین سن گاوهای سالم (۶/۸±۶۸/۷۲ ماه) و همچنین شاخص BCS گاوهای دو گروه مشاهده نشد (p>۰/۰۵).

جدول ۱- مقایسه تاثیر متغیرهای زمینه‌ای بر وقوع ورم پستان بالینی در گاوهای مورد آزمایش

آزمایش‌شده متغیرهای زمینه‌ای سنجیده شده	دام‌های سالم (۷٤ رأس)	گاوهای مبتلا به ورم پستان بالینی (۷٦ رأس)	*P*-value
میزان تولید شیر (کیلوگرم در روز)	۵۰/۵±۱۷/۸۹	٤٤/۷±۳٤/۰۳	۰/۰۰٦
نمره وضعیت بدنی	۲/۰±٦۸/۳٦	۲/۰±۷۱/۲۵	۰/۵
سن (ماه)	٦۸/٦±۷۲/۸	۷۰/٤±۳/۷	۰/۳

- نتایج مربوط به شمارش سلول‌های سوماتیک شیر و شاخص‌های استرس اکسیداتیو و آنتی‌اکسیدانی: مقایسه میانگین شمارش سلول‌های سوماتیک شیر در دو گروه گاوهای سالم و بیمار در جدول ۲ ارائه شده‌است که نشان می‌دهد میانگین تعداد سلول‌های سوماتیک در گاوهای بیمار به طور معنی‌داری بیشتر از گاوهای سالم بوده‌است (p=۰). در مورد مقایسه میانگین شاخص‌های اکسیداتیو در دو گروه گاوهای سالم و بیمار، همان‌طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، اختلاف آماری معنی‌داری در غلظت MDA پلاسمای گاوهای دو گروه وجود ندارد (p=۰/۱۹)، هر چند گاوهای سالم از مقادیر MDA کمتری نسبت به گاوهای بیمار برخوردار بودند. نتایج ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام هم نشان داد که غلظت شاخص مذکور در گاوهای سالم به‌طور معنی‌داری (p=۰) بیشتر از گاوهای بیمار می‌باشد. همچنین در گاوهای سالم فعالیت آنزیم‌های GSH-Px و SOD در مقایسه با گاوهای بیمار بالاتر بود، با این‌حال اختلاف آماری معنی‌داری بین آنها مشاهده نشد. نتایج ارزیابی فراسنجه‌های خونی عناصر معدنی هم نشان داد که غلظت روی و مس، اختلاف آماری معنی‌داری در دو گروه با یکدیگر نداشت، درحالی‌که غلظت سلنیوم در گاوهای سالم به‌طور معنی‌داری بیشتر از مقدار آن در پلاسمای گاوهای مبتلا به ورم پستان بالینی بود (p=۰/۰٤۹).

جدول ۲- میانگین تعداد سلول‌های سوماتیک شیر و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی، مالون‌دی‌آلدئید و غلظت عناصر روی، مس و سلنیوم در گاوهای مورد آزمایش

دام‌های آزمایش‌شده پارامترهای سنجیده‌شده	گاوهای سالم (۷۴ رأس)	گاوهای مبتلا به ورم پستان بالینی (۷۶ رأس)	P-value
تعداد سلول‌های سوماتیک × ۱۰۰۰ (سلول در میلی‌لیتر شیر)	۱۱۴/۵۷±۶۴/۷۸	۶۸۰/۱۱۷±۶/۵۱	۰
گلوتاتیون پراکسیداز اریتروسیتی (واحد در گرم هموگلوبین)	۱۵۵۲۷/۷۵۴۵±۴۴/۱۳	۱۵۲۰۷/۹۴۶۱±۶۳/۷	۰/۸
سوپراکسید دسموتاز اریتروسیتی (واحد در گرم هموگلوبین)	۱۷۷۰/۸۱۴±۰۸/۷۱	۱۷۵۳/۸۰۹±۹/۸۱	۰/۹
روی (میکروگرم بر دسی‌لیتر)	۱۳۱/۳۵±۲۲	۱۳۱/۳۱±۴	۰/۹
مس (میکروگرم بر دسی‌لیتر)	۶۷/۱۱±۶۱	۶۲/۱۲±۸۷	۰/۱
سلنیوم (میکروگرم بر دسی‌لیتر)	۴/۱±۴۱/۳۲	۳/۰±۷۲/۶۴	۰/۰۴۹
مالون دی‌آلدئید (میکرومول بر لیتر)	۱/۰±۶۹/۶۱	۲/۰±۰۸/۹۹	۰/۱۹
وضعیت آنتی‌اکسیدانی تام (میلی‌مول بر لیتر)	۱/۰±۰۳/۱۶	۰/۰±۸۱/۰۹	۰

- نتایج مربوط به نمره وضعیت بدنی (BCS) گاوهای مورد آزمایش: گاوهای مورد آزمایش بر اساس نمره وضعیت بدنی به سه گروه تقسیم شدند: ۱- گاوهای با نمره بدنی کمتر از ۲/۵ (low body condition score; LBCS) (n=۲۵)، ۲- گاوهای با نمره بدنی بین ۳-۲/۵ (mean body condition score; MBCS) (n=۵۳)، ۳- گاوهای با نمره بدنی بیشتر از ۳ (high body condition score; HBCS) (n=۱۲). براین اساس میانگین پارامترهای مورد مطالعه، در سه گروه مذکور هم مقایسه آماری شدند (جدول ۳) که نتایج نشان داد، مقدار آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در گاوهای HBCS به‌طور معنی‌داری بیشتر از میزان آن در گاوهای دو گروه دیگر بود. همچنین مقادیر MDA و SCC در گاوهای گروه‌های HBCS و MBCS بالاتر از گاوهای گروه LBCS مشاهده شد. میانگین دیگر پارامترها بین سه گروه گاو با مقادیر متفاوت BCS، اختلاف آماری معنی‌داری نداشت.

جدول ۳- پارامترهای مورد مطالعه در سه گروه گاو مورد آزمایش، بر اساس میزان نمره وضعیت بدنی

دام‌های آزمایش‌شده پارامترهای سنجیده‌شده	گاوهای با نمره بدنی پائین	گاوهای با نمره بدنی متوسط	گاوهای با نمره بدنی بالا
تعداد سلول‌های سوماتیک × ۱۰۰۰ (سلول در میلی‌لیتر شیر)	۲۹۲/۴۱۳±۴[a]	۷۳۶/۱۲۷۹±۰۹[b]	۹۷۵/۱۷۹۸±۳۳[b]
گلوتاتیون پراکسیداز اریتروسیتی (واحد در گرم هموگلوبین)	۱۶۷۴۷/۷۵۳۱±۰۱[a]	۱۶۷۷۰/۸۱۷۹±۹۳[a]	۱۳۳۱۸/۶۳۲۸±۱۹[b]
سوپراکسید دسموتاز اریتروسیتی (واحد در گرم هموگلوبین)	۱۶۷۸/۹۰۲±۱۶	۱۷۸۰/۷۲۶±۷۵	۱۸۹۲/۹۹۵±۸۷
روی (میکروگرم بر دسی‌لیتر)	۱۳۲/۳۴±۵۸	۱۳۳/۳۵±۰۲	۱۲۰/۳۴±۶۶
مس (میکروگرم بر دسی‌لیتر)	۶۵/۱۲±۲۲	۶۷/۱۱±۸۱	۶۵/۱۴±۴۱
سلنیوم (میکروگرم بر دسی‌لیتر)	۴/۱±۴۹/۶۵	۴/۱±۱۴/۰۹	۴/۰±۵۲/۹۵
مالون دی‌آلدئید (میکرومول بر لیتر)	۱/۱±۸/۰۴[a]	۲/۰±۰۵/۸۷[b]	۲/۱±۲۴[b]
وضعیت آنتی‌اکسیدانی تام (میلی‌مول بر لیتر)	۰/۰±۹۷/۱۷	۰±۱/۱۷	۱/۰±۰۱/۱۸

در هر سطر، میانگین‌هایی که دارای حروف متفاوت هستند تفاوت آماری معنی‌دار دارند ($p<۰/۰۵$).

بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر، در گاوهای مبتلا به ورم پستان بالینی میزان تولید شیر به‌طور معنی‌داری کمتر از گاوهای سالم بود (جدول ۱). افت تولید شیر از جمله اثرات منفی ورم پستان می‌باشد که این موضوع ناشی از درگیر شدن بافت پستان با عفونت است (Martins *et al.*, 2019). سن و نمره وضعیت بدنی بین دو گروه اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (جدول ۱).

مقایسه دام‌های مورد آزمایش از نظر شاخص SCC هم نشان داد که در گاوهای گروه بیمار، شاخص مذکور به‌طور معنی‌داری بیشتر از گاوهای سالم می‌باشد (جدول ۲). از آنجائی‌که بخش اعظم سلول‌های سوماتیک را نوتروفیل‌ها شامل می‌شوند و یکی از مکانسم‌های باکتری‌کشی نوتروفیل‌ها تولید ROS می‌باشد، لذا افزایش SCC می‌تواند ارتباط مستقیم با تولید مقادیر بالای رادیکال‌های آزاد داشته باشد که متعاقباً استرس اکسیداتیو را به همراه خواهدداشت (Zigo *et al.*, 2019). بر این مبنا انتظار داشتیم که گاوهای مبتلا به ورم پستان بالینی در مقایسه با گاوهای سالم بیشتر در معرض استرس اکسیداتیو باشند. بدین منظور در تحقیق حاضر غلظت MAD که شاخصی از وقوع استرس اکسیداتیو می‌باشد، مورد سنجش قرارگرفت و مشخص شد که غلظت خونی شاخص مذکور در گاوهای بیمار بالاتر از گاوهای سالم می‌باشد (جدول ۲)، هر چند که این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود. در مطالعه جم و همکاران در سال ۲۰۱۳ که با هدف پایش فراسنجه‌های آنتی‌اکسیدانی خون در گاوهای شیری مبتلا به ورم پستان صورت گرفت، غلظت MAD اریتروسیتی در گاوهای مبتلا به ورم پستان بالینی در مقایسه با گاوهای سالم به‌طور معنی‌داری بیشتر بود (Jhambh *et al.*, 2013). در مطالعه دیگری کیزیل و همکاران در سال ۲۰۰۷، افزایش غلظت MAD پلاسمائی را در گاوهای مبتلا به ورم پستان بالینی گزارش کردند (Kizil *et al.*, 2007).

از طرف دیگر در مطالعه حاضر کاهش معنی‌دار و قابل ملاحظه‌ای در میزان میانگین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام خون (TAS) در گاوهای مبتلا به ورم پستان بالینی مشاهده شد (جدول ۲) که می‌تواند ناشی از مصرف و تخلیه آن‌ها در مبارزه با ROS باشد که در بیماری ورم پستان، در مقادیر بالا تولید می‌شود (O'Boyle *et al.*, 2006). به عبارت دیگر کاهش TAS در گاوهای بیمار نشان دهنده افزایش تولید رادیکال های آزاد فعال اکسیژن در نتیجه استرس اکسیداتیو ناشی از وضعیت التهابی موجود در کارتیه‌های عفونی و افزایش حضور سلول‌های نوتروفیل در پستان، آپوپتوز چشم‌گیر این سلول‌ها و متعاقب آن تخریب بافت اپیتلیال پستان و افزایش تقاضای آنتی‌اکسیدانی پستان و مصرف و تخلیه آن‌ها به موازات افزایش سطح MDA خون می‌باشد (Kizil *et al.*, 2007). کاهش معنی‌دار میزان TAS شیر در گاوهای مبتلا به ورم پستان تحت‌بالینی توسط اتاکیسی و همکاران در سال ۲۰۱۰ و آندره و همکاران در سال ۲۰۱۶ نیز گزارش شده است (Atakisi *et al.*, 2010; Andrei *et al.*, 2016).

از طرف دیگر گزارش شده که ارتباط مستقیم بین وضعیت کل آنتی‌اکسیدانی و حدت عفونت ناشی از ورم پستان وجود دارد که آن‌هم منعکس‌کننده تعداد سلول‌های سوماتیک در شیر می‌باشد و براین اساس، کاهش غلظت آنتی‌اکسیدان‌ها و افزایش غلظت

MDA نشان دهنده وقوع استرس اکسیداتیو در التهاب غدد پستانی در طی ورم پستان بالینی و تحت‌بالینی است (Kizil *et al*., 2007). در مطالعه حاضر گاوهای مبتلا از مقادیر بالای SCC در شیر برخوردار بودند (جدول ۳). در این خصوص آندره و همکاران در سال ۲۰۱۶، نشان دادند که در شیر گاوهای مبتلا به ورم پستان تحت‌بالینی (با SCC خیلی بالا) نسبت به گاوهای سالم، میزان کمتری TAS و MDA بیشتری بود. در مطالعه مذکور، مشخص شد که فعالیت این دو پارامتر با افزایش میزان SCC در شیر همبستگی مثبت و مستقیمی دارد که با نتایج مطالعه حاضر هم هم‌خوانی دارد (Andrei *et al*., 2016).

بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی GSH-Px و SOD بین گاوهای دو گروه هم نشان داد که اختلاف آماری معنی‌داری بین آن‌ها وجود ندارد (جدول ۲). در این ارتباط قاسمیان و همکاران نیز در سال ۲۰۱۱ اختلاف آماری معنی‌داری در فعالیت آنزیم‌های GSH-Px و SOD بین گاوهای سالم و مبتلا به ورم پستان تحت‌بالینی مشاهده نکردند (Ghasemian *et al*., 2011). در مطالعه زیگو و همکاران در سال ۲۰۱۹ هم، میزان فعالیت آنزیم GSH-Px اریتروسیتی تفاوت آماری معنی‌داری در بین گاوهای سالم و گاوهای مبتلا به ورم پستان تحت‌بالینی نداشت، در حالی‌که میزان فعالیت آنزیم مذکور در گاوهای مبتلا به ورم پستان بالینی به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گاوهای سالم کاهش نشان داد (Zigo *et al*., 2019). جم و همکاران نیز در مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۳، کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های GSH-Px و SOD اریتروسیتی را در گاوهای مبتلا به فرم بالینی ورم‌پستان در مقایسه با گاوهای سالم گزارش کردند (Jhambh *et al*., 2013).

با توجه به این‌که مطالعات زیادی وجود دارند که در آن‌ها ارتباط معنی‌داری بین وقوع ورم پستان بالینی و تغییر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گزارش شده‌است (Kizil *et al*., 2007) ولی با این حال در مطالعه حاضر وقوع ورم پستان بالینی تاثیر معنی‌داری در فعالیت آنزیم‌های GSH-Px و SOD نداشت (جدول ۲). لذا به‌نظر می‌رسد که تفاوت در محل سنجش فعالیت آنزیم از جمله دلایل این اختلاف می‌تواند باشد. همچنین در مطالعه حاضر فعالیت آنزیم‌های مورد بحث، در سطح اریتروسیت‌های خونی مورد سنجش قرار گرفته در حالی‌که در بیشتر سایر مطالعات، جایگاه سنجش، شیر بوده‌است. همچنین این تفاوت و تنوع در گزارش‌های مختلف می‌تواند به دلیل تفاوت‌های بیولوژیک گاوها، تفاوت در شدت (پاتوژنیسیته) و نوع عامل مسبب ورم پستان و تفاوت در روش‌های اندازه‌گیری در مطالعات مختلف نیز باشد.

عنصر سلنیوم نقش کلیدی در ساختار آنزیم GSH-Px دارد به‌طوری‌که کمبود آن منجر به کاهش فعالیت آنزیم و بعضاً عدم فعالیت آن خواهد شد (Darbaz *et al*., 2019). در مطالعه حاضر هم غلظت سلنیوم گاوهای مبتلا به ورم‌پستان بالینی به‌طور معنی‌داری، پائین‌تر از میزان آن در گاوهای سالم بود و علی‌رغم مشاهده اختلاف آماری معنی‌دار در این خصوص، اختلاف آماری معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم GSH-Px بین گاوهای مذکور مشاهده نشد (جدول ۲). در توجیه این موضوع، به‌نظر می‌رسد که میزان پاسخ‌دهی عنصر سلنیوم نسبت به اثرات التهابی ورم‌پستان بسیار

بیشتر از آنزیم GSH-Px می‌باشد (Ghasemian *et al.*, 2011). اما از طرف دیگر، ارتباط معنی‌داری بین مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش شیوع ورم پستان گزارش شده‌است (Allison and Laven, 2000). در مطالعه خلیلی و همکاران هم در سال ۲۰۲۰ تاثیر ٤ نوع جیره حاوی فرم‌های مختلف سلنیوم بر تولیدمثل و سلامت گاوهای شیری دوره انتقال بررسی و مشخص شده که استفاده از مکمل سلنیوم در دوره انتقال هیچ تاثیری بر بروز تب‌شیر، اسیدوز، کتوز و جابجایی شیردان و کیست‌های تخمدانی نداشته، در حالی‌که بروز جفت ماندگی و ورم پستان در گاوهای تغذیه شده با سلنیوم در مقایسه با گروه کنترل کمتر بوده‌است (Khalili *et al.*, 2020). در واقع مشابه نتایج مطالعه حاضر، یافته‌های تحقیقات دیگر هم نشان داده‌اند که مکمل سلنیوم باعث کاهش ورم پستان (Mehdi and Dufrasne, 2016) در گاوهای شیری شده‌است. از طرف دیگر، در پژوهش حاضر، غلظت پلاسمایی عناصر روی و مس، اختلاف آماری معنی‌داری در گاوهای مورد مطالعه نداشت (جدول ۲). در تحقیق انجام‌شده توسط قاسمیان و همکاران در سال۲۰۱۱ نیز غلظت عناصر مذکور، تحت تاثیر وقوع ورم پستان تحت‌بالینی قرار نگرفت در حالی‌که در گاوهای مبتلا به ورم پستان تحت‌بالینی غلظت سلنیوم به‌طور معنی‌داری کاهش نشان داد که بین نتایج مطالعه حاضر با یافته مذکور هم همخوانی مشاهده می‌شود. در این خصوص عقیده براین است که به‌نظر می‌رسد برخلاف عنصر سلنیوم، پاسخ‌دهی عناصر مذکور به اثرات التهابی ورم‌پستان، بسیار آهسته می‌باشد (Ghasemian *et al.*, 2011).

در قسمت دیگری از نتایج مطالعه حاضر، تعداد سلول‌های سوماتیک شیر و غلظت MDA در نمونه‌های مربوط به گاوهای با BCS بالا و متوسط (HBCS و MBCS)، بیشتر از نمونه‌های مربوط به گاوهای با BCS پایین ثبت شد (جدول ۳). علاوه بر این مقدار GSH-Px در گاوهای با BCS بالاتر (HBCS) به‌طور معنی‌داری بیشتر از مقدار آن در خون گاوهای با نمره بدنی متوسط و پائین بود. لذا در کل می‌توان گفت که گاوهای دارای BCS بالاتر نسبت به استرس اکسیداتیو حساس‌تر هستند، که این یافته با نتایج مطالعات قبلی هماهنگی دارد (Bernabucci *et al.*, 2005; Laubentha *et al.*, 2017). قدرت آنتی‌اکسیدانی پایین‌تر گاوهای با نمره بدنی بالاتر را می‌توان به متابولیسم بیشتر لیپوپروتئین‌ها نسبت داد (Laubentha *et al.*, 2017).

برنابوچی و همکاران در سال ۲۰۰۵ طی مطالعه‌ای تأثیر امتیاز وضعیت بدنی بر روابط بین وضعیت متابولیک و استرس اکسیداتیو در گاوهای شیری را بررسی و اعلام کردند که گاوهایی که در یک‌ماه قبل از زایمان BCS بالاتر و پس از زایمان کاهش بیشتری در نمره بدنی داشتند، از مقادیر بالاتری از متابولیت‌های فعال اکسیژن و MDA و مقدار پایین‌تری ازSOD در دوره پس از زایمان برخوردار بودند (Bernabucci *et al.*, 2005). ال-شاراوی و همکاران در سال ۲۰۱۹، تاثیرات نمره بدنی را بر وضعیت اکسیداتیو ۹۰ رأس گاوهای شیری در دوره انتقال (از دو ماه قبل تا دو ماه بعد از زایمان) بررسی کردند که نتایج کاهش معنی‌دار نمره وضعیت بدنی را در طول دوره آزمایش همراه با افزایش MDA نشان داد (El-Sharawi *et al.*, 2019). گزارشات نشان می‌دهد که کاهش نمره بدنی بعد از زایمان ممکن است

تاثیرات قابل توجهی بر استرس اکسیداتیو در گاوهای شیری داشته باشد. بطوری‌که کاهش ظرفیت آنتی اکسیدانی و افزایش استرس اکسیداتیو در گاوهای با نمره بدنی بالا (BCS ≥ ۳/۷۵) نسبت به گاوهای با نمره بدنی پایین‌تر در دوره انتقال و در دوره اواسط شیرواری نشان داده شده‌است (O'Boyle *et al*., 2006; Alharthi *et al*., 2018). همچنین در مطالعه وو و همکاران در سال ۲۰۲۰، مشخص شده که فعالیت سرولوپلاسمین در گاوهای MBCS و HBCS نسبت به گاوهای LBCS بیشتر بوده، اما میزان آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز در بین ۳ گروه گاو با BCS متفاوت، اختلافی نداشت (Wu *et al*., 2020). بر اساس نتایج تحقیق حاضر، وجود ارتباط بین BCS و تغییر وضعیت اکسیداتیو در گاوهای شیری یافته‌ای جدید محسوب می‌شود. گاوهایی که دارای BCS بالاتر هستند به دلیل بالابودن میزان MDA و پایین بودن مقدار گلوتاتیون پراکسیداز، بیشتر در معرض استرس اکسیداتیو هستند (جدول ۳).

از طرف دیگر مطالعات اخیر رابطه بین چاقی و استرس اکسیداتیو را در انسان نشان داده‌است. گزارش شده که چاقی، شاخص توده بدنی بالاتر و کاهش وزن زیاد، با افزایش استرس اکسیداتیو سیستمیک و بالا رفتن التهاب سیستمیک و فعال شدن آبشار انعقادی همراه بوده‌است (Morrow, 2003). برخی از محققان هم افزایش اکسیدان‌ها و کاهش آنتی‌اکسیدان‌ها را در زنان و مردان چاق مشاهده کرده و نتیجه گرفته‌اند که چاقی و شاخص توده بدنی با استرس اکسیداتیو همراه بوده و ممکن است با بیماری‌های چاقی و مقاومت به انسولین مرتبط باشد (Keaney *et al*., 2003). در این ارتباط داندونا و همکاران در سال ۲۰۰٤، دو نوع سازوکار را پیشنهاد کردند که ممکن است در چگونگی پیوند چاقی و استرس اکسیداتیو نقش داشته باشد. اول، مصرف زیاد ریزمغذی‌ها و دوم، افزایش ترشح سیتوکین‌های پیش‌التهابی (اینترلوکین ٦ و فاکتور نکروز توموری آلفا) توسط بافت چربی در افراد چاق (Dandona *et al*., 2004). یانگ و همکاران هم در سال ۲۰۰۰ نشان دادند که میتوکندری کبدهای چرب، O_2^- و H_2O_2 بیشتری تولید می‌کند و این امر نشان می‌دهد که استرس اکسیداتیو مزمن در افزایش نکروز کبدی نقش دارد (Yang *et al*., 2000). همچنین گزارش شده که عدم تعادل وضعیت اکسیداتیو ممکن است عملکرد کبد را مختل کرده و به افزایش خطر بیماری‌ها و اختلالات متابولیکی در گاوهای چاق در دوره پس از زایمان کمک نماید(Vendemiale *et al*., 2001).

نتیجه نهائی این‌که دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن در گاوهای شیری مبتلا به ورم‌پستان بالینی به خطر می‌افتد که این مشکل ممکن است ناشی از تولید بیش از حد گونه‌های اکسیژن واکنشی در غده پستانی ملتهب باشد و باعث ایجاد استرس اکسیداتیو و آسیب‌های ناشی از آن شود. بنابراین استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها و سایر ترکیبات محافظ به همراه درمان معمول در تقویت آسیب به سلول‌های ترشحی و در نتیجه جلوگیری از کاهش تولید شیر متعاقب آن ضروری به‌نظر می‌رسد. گاوهای با نمره بدنی بالا هم ممکن است که پتانسیل آنتی‌اکسیدانی کمتری نسبت به گاوهای دیگر داشته‌باشند. در واقع یافته‌های تحقیق حاضر به این نکته مهم تاکید می‌کند که در اواخر شیردهی به‌منظور حفظ وضعیت سالم‌تر برای گاوهای شیری، بهتر است، از بالا بودن نمره بدنی در

گاوهای شیری جلوگیری شود. حتی اگر گاوها در تعادل منفی انرژی یا استرس اکسیداتیو شدید نباشند.

نویسندگان از آزمایشگاه مرکزی سازمان انرژی اتمی، به جهت همکاری در انجام آزمایشات مطالعه حاضر، تقدیر و تشکر می‌نمایند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافعی ندارند.

سپاسگزاری

منابع

- Alharthi, A., Zhou, Z., Lopreiato, V., Trevisi, E. and Loor, J.J. (2018). Body condition score prior to parturition is associated with plasma and adipose tissue biomarkers of lipid metabolism and inflammation in Holstein cows. Journal of Animal Science and Biotechnology, 9(1): 1-12.
- Allison, R.D. and Laven, R.A. (2000). Effect of vitamin E supplementation on the health and fertility of dairy cows: a review. Veterinary Record, 147(25): 703-708.
- Andrei, S.M.S.R.D., Matei, S., Rugină, D., Bogdan, L. and Ştefănuț, C. (2016). Interrelationships between the content of oxidative markers, antioxidative status, and somatic cell count in cow's milk. Czech Journal of Animal Science, 61(9): 407-413.
- Atakisi, O., Oral, H., Atakisi, E., Merhan, O., Pancarci, S.M., Ozcan, A., *et al*. (2010). Subclinical mastitis causes alterations in nitric oxide, total oxidant and antioxidant capacity in cow milk. Research in Veterinary Science, 89(1): 10-13.
- Bernabucci, U., Ronchi, B., Lacetera, N. and Nardone, A. (2005). Influence of body condition score on relationships between metabolic status and oxidative stress in periparturient dairy cows. Journal of Dairy Science, 88(6): 2017-2026.
- Dandona, P., Aljada, A. and Bandyopadhyay, A. (2004). Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes. Trends in Immunology, 25(1): 4-7.
- Darbaz, I., Salar, S., Sayiner, S., Baştan, İ., Ergene, O. and Baştan, A. (2019). Evaluation of milk glutathione peroxidase and superoxide dismutase levels in subclinical mastitis in Damascus goats. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 43(2): 259-263.
- El-Deeb, W.M. (2013). Clinicobiochemical investigations of gangrenous mastitis in does: immunological responses and oxidative stress biomarkers. Journal of Zhejiang University Science B, 14(1): 33-39.
- Ellah, M.R.A. (2013). Role of free radicals and antioxidants in mastitis. Journal of Advanced Veterinary Research, 3(1): 1-7.
- El-Sharawy, M.E., Mashaly, I.M., Atta, M.S., Kotb, M. and El-Shamaa, I.S. (2019). Influence of body condition score on blood metabolites and oxidative stress in pre-and post-calving of Friesian dairy cows in Egypt. Slovenian Veterinary Research, 56(Suppl. 22): 209-217.
- Ghasemian, K.O., Safi, S., Rahimi froushani, A. and Bolourchi, M. (2011). Study of the relationship between oxidative stress and subclinical mastitis in dairy cattle; short paper. Iranian Journal of Veterinary Research, Shiraz University, 12(4): 37
- Jhambh, R., Dimri, U., Gupta, V.K. and Rathore, R. (2013). Blood antioxidant profile and lipid peroxides in dairy cows with clinical mastitis. Veterinary World, 6(5): 271.

- Karimi-Dehkordi, M., Kadivar, A. and Taktaz Hafshejani, T. (2016). Critical Thresholds of Nonesterified Fatty Acids and β-hydroxybutyrate in Transition Dairy Cows for Prediction of First Service Conception Rate. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 22(2): 191-195.
- Karimi-Dehkordi, M., Salehi, N. and Banimehdi, P. (2021). Comparison of serum oxidative status in healthy Arabian and Dareshoor horses. Journal of Veterinary Clinical Pathology, 15(1): 29-39. [In Persian]
- Keaney Jr, J.F., Larson, M.G., Vasan, R.S., Wilson, P.W., Lipinska, I., Corey, D., *et al*. (2003). Obesity and systemic oxidative stress: clinical correlates of oxidative stress in the Framingham Study. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology, 23(3): 434-439.
- Khalili, M., Chamani, M., Amanlou, H., Nikkhah, A., Sadeghi, A.A., Dehkordi, F.K., *et al*. (2020). The effect of feeding inorganic and organic selenium sources on the hematological blood parameters, reproduction and health of dairy cows in the transition period. Acta Scientiarum. Animal Sciences, 42(1): 1-10.
- Kizil, O., Akar, Y.A.Ş.A.R., Saat, N., Kizil, M. and Yuksel, M. (2007). The plasma lipid peroxidation intensity (MDA) and chain-breaking antioxidant concentrations in the cows with clinic or subclinic mastitis. Revue de Medecine Veterinaire, 158(11): 529-533.
- Kuloglu, M., Atmaca, M., Tezcan, E., Ustundag, B. and Bulut, S. (2002). Antioxidant enzyme and malondialdehyde levels in patients with panic disorder. Neuropsychobiology, 46(4): 186-189.
- Laubenthal, L., Ruda, L., Sultana, N., Winkler, J., Rehage, J., Meyer, U., *et al*. (2017). Effect of increasing body condition on oxidative stress and mitochondrial biogenesis in subcutaneous adipose tissue depot of nonlactating dairy cows. Journal of Dairy Science, 100(6): 4976-4986.
- Malik, T.A., Mohini, M., Mir, S.H., Ganaie, B.A., Singh, D., Varun, T.K., *et al*. (2018). Somatic cells in relation to udder health and milk quality-a review. Journal of Animal Health and Production, 6(1): 18-26.
- Martins, S.A.M., Martins, V.C., Cardoso, F.A., Germano, J.H., Rodrigues, M.C., Duarte, C.M., *et al*. (2019). Biosensors for on-farm diagnosis of mastitis. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 7 (1): 186.
- Matei, S.T., Groza, I., Bogdan, L., Ciupe, S., Fiț, N. and Andrei, S. (2011). Correlation between mastitis pathogenic bacteria and Glutathione peroxidase activity in cows' milk. Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Veterinary Medicine, 1(68): 221-225.
- Mehdi, Y. and Dufrasne, I. (2016). Selenium in cattle: a review. Molecules, 21(4): 1-14.
- Miller, N.J., Rice-Evans, C., Davies, M.J., Gopinathan, V. and Milner, A. (1993). A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. Clinical Science, 84(4): 407-412.
- Morrow, J.D. (2003). Is oxidant stress a connection between obesity and atherosclerosis? Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology, 23(3): 368-370.
- O'Boyle, N., Corl, C.M., Gandy, J.C. and Sordillo, L.M. (2006). Relationship of body condition score and oxidant stress to tumor necrosis factor expression in dairy cattle. Veterinary Immunology and Immunopathology, 113(3-4): 297-304.
- Omur, A., Kirbas, A., Aksu, E., Kandemir, F., Dorman, E., Kaynar, O., *et al*. (2016). Effects of antioxidant vitamins (A, D, E) and trace elements (Cu, Mn, Se, Zn) on some metabolic and reproductive profiles in dairy cows during transition period. Polish Journal of Veterinary Sciences, 19(4): 697-706.
- Rehman, S.B., Hussain, I. and Rashid, S.M. (2017). Assessment of antioxidant profile in subclinical and clinical mastitis in dairy cattle. Journal of Entomology and Zoology Studies, 5(6): 1022-1025.
- Vasiľ, M., Elečko, J., Farkašová, Z. and Bíreš, J. (2009). The reduction on the occurrence of mastitis in dairy herd using the innovation of housing conditions, sanitary of milk storage and applying the therapy of mastitis during the lactation. Folia Veterinaria, 53(2): 186-189.

- Vendemiale, G., Grattagliano, I., Caraceni, P., Caraccio, G., Domenicali, M., Dall'Agata, M., *et al*. (2001). Mitochondrial oxidative injury and energy metabolism alteration in rat fatty liver: effect of the nutritional status. Hepatology, 33(4): 808-815.
- Wu, J., Liu, J. and Wang, D. (2020). Effects of body condition on the insulin resistance, lipid metabolism and oxidative stress of lactating dairy cows. Lipids in Health and Disease, 19(1): 1-7.
- Yang, S., Zhu, H., Li, Y., Lin, H., Gabrielson, K. and Trush, M.A. (2000). Mitochondrial adaptations to obesity-related oxidant stress. Archives of Biochemistry and Biophysics, 378(2): 259-268.
- Zigo, F., Elecko, J., Vasil, M., Ondrasovicova, S., Farkasova, Z. and Malova, J. (2019). The occurrence of mastitis and its effect on the milk malondialdehyde concentrations and blood enzymatic antioxidants in dairy cows. Veterinární Medicína, 64(10): 423-432.