

BİR ANTIOKSİDAN OLARAK E VİTAMİNİ

VITAMIN E AS AN ANTIOXIDANT

Ayşen Altın¹, Hasan Atalay², Tanay Bilal³

ÖZET

¹İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Biyokimya Ana Bilim Dalı, İstanbul

²Balıkesir Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme Ve Beslenme Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Balıkesir

³İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme Ve Beslenme Hastalıkları Ana Bilim Dalı, İstanbul

Yazışma Adresi:

Hasan Atalay

Balıkesir Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Balıkesir–Türkiye

E posta: hasanatalay@balikesir.edu.tr

Kabul Tarihi: 02 Mart 2017

doi: [10.5505/bsbd.2017.47450](https://doi.org/10.5505/bsbd.2017.47450)

Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi

ISSN: 2146-9601

e-ISSN: 2147-2238

bsbd@balikesir.edu.tr

www.bau-sbdergisi.com

Lipit peroksidasyonu bağışıklığı, büyümeyi ve üremeyi de içeren fizyolojik fonksiyonların bozulmasına yol açar. Bazı antioksidan enzimler, E ve C vitamini gibi eksojen vitaminlerle bazı mineraller, hücreleri lipit peroksidasyonuna karşı korurlar. E vitamininin moleküler ve hücresel etkileri, antioksidan olarak reaktif oksijen türlerini ve nitrik oksiti temizlemek yanında spesifik enzimler ve transkripsiyon faktörleriyle de etkileşerek zarlar ve lipit alanları gibi hücresel yapıları korumaktır. E vitamini, hücre zarlarında bulunan uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitlerinin bütünlüğünü korur ve biyoaktivitelerini devam ettirir. E vitamini aynı zamanda, steroid hormon üreten dokularda yoğun olarak bulunur ve bu dokularda sitokrom p-450'nin oldukça duyarlı steroidojenik aktivitelerini lipit peroksidasyonuna karşı korur. Stres, hastalıklar ve immün yanıtın teşviki, vitamin ve esansiyel elementler gibi besin maddelerine olan gereksinimleri artırabilir. Besinsel dengesizlikler, sıcak, soğuk, kalabalık, gürültü ve taşınma gibi stres unsurları, vücudun savunma mekanizmalarını zayıflatarak enfeksiyöz hastalıklara yatkınlığa neden olabilirler. Stres durumlarında vitamin ve minerallere olan gereksinim artar. Hücre zarına bağlı olan E vitamini, immün yanıtı tetikleyen ve düzenleyen kompleks hücre-hücre etkileşimlerinde önemli bir rol oynar. Karaciğer ve serumdaki E vitamini düzeyleri, E vitamini alımı veya vücuttaki durumunun güvenilir göstergeleridir. Bu derlemenin amacı, E vitamininin antioksidan özellikleri ile ilgili bilgileri ve çalışmalarını bir araya getirmektir.

Anahtar Kelimeler: Lipit peroksidasyonu, antioksidan, E vitamini, stres.

SUMMARY

Lipid peroxidation leads to deterioration of physiological functions including growth and reproduction as well as the immunity. Some antioxidant enzymes and the exogenous vitamins such as vitamin C and E, and some minerals protect cells against lipid peroxidation. Molecular and cellular effects of vitamin E as an antioxidant are to clean the reactive oxygen species and nitric oxide synthase and to influence cellular structures such as membranes and lipid domains by interacting with specific enzymes and transcription factors. Vitamin E maintains integrity of the long chain polyunsaturated fatty acids that are present in the cell membranes, and retains their bioactivity. Vitamin E is also intensely present in tissues producing the steroid hormone, and protects the very sensitive steroidogenic activities of cytochrome P-450 against lipid peroxidation in these tissues. Stress, disease and the promotion of the immune response may increase the need for nutrients such as vitamins and essential elements. Stress factors such as nutritional imbalances, hot and cold, crowds, noise and transport cause a susceptibility to infectious diseases by weakening the body's defense mechanisms. The need for these vitamins and minerals increases in stress situations. Vitamin E depending on the cell membrane plays an important role in complex cell-cell interactions triggering and regulating the immune responses. Liver and serum are reliable indicators of the vitamin E intake or status. The purpose of this review was to bring together the information and works about the antioxidant properties of vitamin E.

Keywords: Lipid peroxidation, antioxidant, vitamin E, stress.

GİRİŞ

E vitamini terimi, sadece bitkiler tarafından üretilen ve benzer yapıya sahip olan 8 farklı vitamin formunu

kapsamaktadır. Bunlar trimetil (α), dimetil (β veya γ) ve monometil (δ) tokoferol ve her birine karşılık gelen tokotrienollerdir¹. Tokoferoller yüksek bitkiler gibi fotosentez yapan organizmalarda yoğun olarak

sentezlenirler. Önemli miktarları tüm yeşil dokularda bulunur, fakat çoğunlukla tohumlarda oluşturulurlar. Tek moleküler oksijen ile ($^{1}O_2$) kimyasal reaktivitelerinin çok düşük olduğu saptanmıştır². Ester form, E vitamininin oksidasyonunu önler ve raf ömrünü uzatır³. Emilim bozukluğu sendromuna sahip bireyler hariç, bu esterler bağırsakta kolaylıkla hidroliz edilir ve serbest formda emilirler¹. α -Tokoferol'ün fosforillenmiş formu olan α -tokoferil fosfat, depo molekül, taşınma formu ve sinyal iletimi ile gen ifadesinin düzenlenmesi için haberci olarak, insan dokularında olduğu kadar gıdalarda ve hayvan dokularında da doğal bir şekilde bulunmaktadır⁴. Zeytinyağı ve ayçiçeği yağındaki başlıca E vitamini analogu α -tokoferol'dür. Mısır yağları başlıca γ -tokoferil ve soya fasulyesinden elde edilen yağlar nisbeten yüksek miktarlarda δ -tokoferol içerirler². Tokotrienoller hurma yağının başlıca E vitamini bileşenleridir, önemli miktarları yulaf ve pirinç kepeğinde de bulunur⁵. E vitamininin tüm formları diyetle alındıktan sonra bağırsak hücreleri tarafından emilir ve şilomikronlar içinde dolaşıma salınırlar. Vitaminler şilomikron artıkları vasıtasıyla karaciğere ulaşırlar. Karaciğerde spesifik bir protein olan α -tokoferol transfer protein, seçici olarak α -tokoferol'ü hedefler ve onu çok düşük dansiteli lipoproteinler içine taşır. α -Tokoferol haricindeki diğer tokoferoller ve tokotrienoller karaciğer tarafından alıkonularak safra ve idrar yoluyla karboksietil-hidroksikromanlar halinde atılırlar³. α -Tokotrienol yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu normal hücrel reaksiyonlara müdahale ettiği için, yüksek yapılı organizmalarda sadece α -tokoferol kullanılır².

Bu derlemenin amacı, E vitamininin antioksidan özellikleri ile ilgili bilgileri ve çalışmalarını bir araya getirmektir.

E Vitamininin etkileri

Vitaminler, su ve lipit hücre bileşenlerini oksidatif reaksiyonlar sırasında üretilen reaktif oksijen radikallerinin saldırısından direkt olarak korurlar veya süperoksit dismutaz/glutatyon peroksidaz sistemi tarafından bu radikallerin eliminasyonu artırılır⁶. Günümüzde E vitamininin moleküler ve hücrel etkileri; zarlara veya proteinlere zarar vermelerini önlemek amacıyla spesifik olarak reaktif oksijen türlerini ve nitrik oksiti, temizlemek, sadece bir antioksidan olarak etki etmek⁷ ya da spesifik enzimler ve transkripsiyon faktörleri ile etkileşerek ve onları düzenleyerek, zarlar ve

lipit kısımları gibi hücrel yapıları korumak (8) şeklinde açıklanmıştır.

Membran akışkanlığındaki veya spesifik lipitlerdeki değişimler, α -tokoferol konsantrasyonları tarafından düzenlenir. E vitamini trombositlerde membran akışkanlığını azaltır. Membranlardaki arahidonik asitle E vitamininin yakın ilişkisi ve membrana bağlı selenyum içeren glutatyon peroksidazın varlığı, hücre-hücre etkileşimlerinde E vitamininin rolünü gösterir⁹. α -Tokoferol'ün antioksidan etkisi hücre membranındaki yağ asitlerini korumaktadır⁷. Tokoferoller oksitlenebilen lipitleri koruyarak membran özelliklerini, spesifik membran bölgelerinde yerleşen reseptörleri ve sinyal yollarını değiştirebilirler⁹.

Numakawa ve ark.¹⁰ kültüre edilmiş kortikal nöronlar peroksitle uyarıldıklarında, hücre ölümünün meydana geldiğini saptamışlardır. Bu durum α -tokoferol, α -tokotrienol, γ -tokoferol ve γ -tokotrienol gibi E vitamini analoglarıyla 24 saat süren bir ön uygulama ile önlenmiştir. İnsanlarda artmış lipofusinozis gibi E vitamini yetersizliği belirtilerinin bazıları, muhtemelen lipit fazda reaktif oksijen türlerinin temizlenmesinin eksikliğinden kaynaklanmaktadır¹¹.

Oksidatif uyarıya maruz kalmayı takiben reaktif oksijen türlerinin miktarını ölçerek, hücre içinde E vitamininin serbest radikalleri ortadan kaldırmadaki yeteneği saptanabilir¹². E vitamininin hücrel etkileri, antioksidan etkisinin ötesine geçebilir¹³. Selenyum ve E vitamininin en önemli etkisi doku rejenerasyonudur¹⁴. E vitamini, yaşlanma sırasında oksidatif strese karşı beyindeki sinir sistemini korur ve dolayısıyla bilişsel işlevlerin azalmasını önler¹⁵.

E vitamininin lipit peroksidasyonu üzerindeki koruyucu etkisinden başka, humoral ve hücre aracılı bağışıklık üzerinde de düzenleyici etkileri bulunmaktadır¹⁶. Protein kinaz C enzimi, büyüme ve farklılaşmanın düzenlenmesinde anahtar sinyal moleküldür. α -Tokoferol'ün çeşitli hücre tiplerinde protein kinaz C'yi inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu da trombosit agregasyonunun, endotel hücrelerde nitrik oksit üretiminin, ayrıca nötrofil ve makrofajlarda süperoksit üretiminin inhibisyonuna yol açar. Bu durum, protein kinaz C fonksiyonlarının aktive edilmiş formunun bulunduğu membranlarda antioksidan bir olaydır⁷.

Diyetle E vitamininin az alınışı ya da vücutta oksidasyonun artması organizmayı, spesifik enzimler veya

transkripsiyon faktörleri için gerekli bu esansiyel kofaktörden yoksun bırakır¹⁷. E vitamini eksikliğinin, çupra balığının kan dolaşımındaki nötrofiller tarafından süperoksit anyonu üretiminde azalmaya neden olduğu gösterilmiştir. Süperoksit anyonu fagositozla hücre içine alınan bakterinin yok edilmesi için gereklidir¹⁸. E vitamininin düşük dozları lökositlerdeki lipoksijenasyonu uyarılmış, yüksek dozları ise bastırmıştır⁹.

E Vitamininin görevleri

E vitamini çift fonksiyonlu olarak görev yapar. Birincisi, redoksa bağımlı veya bağımsız bir şekilde proteine bağlı bir molekül olarak hareket eden esansiyel bir kofaktör olarak. İkincisi de, diğer tüm redoks aktif moleküller ortadan kaldırıldığı veya diyetle fazla E vitamini alındığı zaman, L-askorbik asit tarafından devamlı geri dönüşüme uğratılmak suretiyle lipitlerin oksidasyonunu ve onların zararlı etkilerinin yayılmasını önleyerek. Böylece okside lipitlerin E vitamini/C vitamini sistemi ile devamlı olarak temizlenmesi, membranda birikimlerini ve sonuçta da esansiyel bir kofaktör olan E vitamininin hızlı tükenmesini önler. E vitamini yetersizliği durumunda artan lipit peroksidasyonu, E vitamininin esansiyel kofaktör fonksiyonlarının bozulduğu düzeylere kadar tüketilmesine yol açabilir². Başlıca yağda çözünebilir bir antioksidan olan E vitamini, dokularda lipoperoksitlerin sentezi ve birikimine karşı korunmanın önemli bir bileşeni olarak, demir birikiminden dolayı meydana gelebilecek doku patolojisini de azaltır¹⁹.

E vitamini büyüme, üreme, çeşitli hastalıkların önlenmesi ve dokuların bütünlüğünün korunması gibi vücut fonksiyonları için gereklidir. E vitamini ile ilgili yoğun araştırmalar, serbest radikal kaynaklı doku hasarını ve sonuç olarak bazı dejeneratif ve yangısal hastalıkların gelişimini önleyebilen ya da geciktirebilen bir antioksidan olarak E vitamininin güçlü rolünü göstermiştir¹². E vitamininin en önemli rolü, hücrelerin ve hücre içi organellerin membranlarının lipit fazında zincir kıran bir antioksidan ve serbest radikal temizleyicisi olmasıdır¹⁶. E vitamini, sabit bir lipit hidroperoksit vermek amacıyla, membran fosfolipitlerinden veya lipoproteinlerde bulunan çoklu doymamış yağ asitlerinden üretilen peroksil radikalleri ile reaksiyona girer. E vitamini bu biyokimyasal reaksiyon vasıtasıyla, zararlı lipit serbest radikallerini etkin olarak azaltır ve böylece dokuları serbest radikal saldırısından korur. E vitamininin lipit

peroksidasyonunu önlemedeki bu antioksidan aktivitesi, immün yanıtı da arttırmaktadır²⁰.

Tokotrienoller, membranlarda tokoferollerden daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olmalarının yanında çoğunlukla tokoferollerin sahip olmadığı sinir koruyucu, antikanser ve kolesterol düşürücü özelliklere de sahiptirler². Tokotrienollerin memeli hücrelerindeki bu ilave etkileri, sinyal iletimi ve gen ifadesi üzerindeki etkileri yanında, özellikle antioksidan olmayan bir şekilde mevalonat-kolesterol biyosentezi geçidini etkilemeleri ile de açıklanabilir²¹. Yapılan bir çalışmada diyetteki α -tokoferol de tavşanlarda hipokolesterolemik bir etkiye yol açmıştır²². E vitamini steroid hormon üreten dokularda yoğun olarak bulunur ve bu dokularda sitokrom p-450'nin oldukça duyarlı steroidojenik aktivitelerini, lipit peroksidasyonuna karşı korur¹⁹.

Lipoprotein reseptörlerinin sentezinin α -tokoferol tarafından düzenlendiği bildirilmiştir⁹. α -Tokoferol, plazma ve düşük dansiteli lipoproteinlerdeki başlıca ve en güçlü yağda çözünebilir antioksidandır³. Yapılan *in vitro* çalışmalar, α -tokoferol'un yağda çözünebilirliğinden ve öncelikle lipoproteinlere dahil edilmesinden dolayı, düşük dansiteli lipoproteinlerin lipit peroksidasyonunu önlemedeki üstün antioksidan özelliklerini kanıtlamışlardır²³. Aynı zamanda E vitamini, düşük dansiteli lipoproteinlerin oksidasyonunu ve arteriyel hasara neden olmasını önleyerek ateroskleroza da azaltabilir¹⁴.

E vitamini tedavisi, glutatyon sentetazın kalıtsal yetersizliğinden dolayı anormal polimorfonükleer lökosit fonksiyonuna sahip bir bebekte, hidrojen peroksitin fazla üretimini ve bakterileri öldürmedeki azalan yeteneğini düzeltmiştir⁹. Baldi ve ark.²⁴ okratoksin A sitotoksitesine hassas olan sığır meme epitelyal hücrelerinde, α -tokoferol'un koruyucu etkisini kanıtlamışlardır. Antioksidan ile 3 saat ön inkübasyon, okratoksin A ile teşvik edilen hücre yaşayabilirliğindeki azalmayı anlamlı ölçüde arttırmıştır ve reaktif oksijen türleri üretimini anlamlı ölçüde azaltmıştır. Bu bulgular, oksidatif stresin okratoksin A sitotoksitesinde önemli bir faktör olduğunu ve E vitamini gibi antioksidan moleküllerin verilmesinin, bu mikotoksinin kısa süreli toksitesine karşı geldiğini göstermiştir. Çalışmada ayrıca α -tokoferol'un, diğer hücrelerde de okratoksin A'nın teşvik ettiği reaktif oksijen türleri üretimini anlamlı ölçüde

inhibe ettiği ve inhibisyonun konsantrasyona bağımlı olduğu bulunmuştur.

Oksidatif stres ve E vitamini

Oksidatif stres, ya serbest radikallerin aşırı üretiminden ya da antioksidanların yetersiz temininden ya da her ikisinin kombinasyonundan meydana gelir²⁵. Meydana gelen serbest radikaller vücudun antioksidan savunma kapasitesini geçtiği zaman, oksidatif stres oluşur²⁶. Oksidatif stres, reaktif oksijen metabolitleri etkili ve güvenilir olarak ortadan kaldırılmadığı zaman, hem direkt hem de indirekt olarak sağlığı etkileyebilir. Oksidatif stres bağışıklık baskılanmasının gelişimine de katkıda bulunur²⁵.

Lipit peroksidasyonu, enfeksiyöz hastalıklara yüksek hassasiyete yol açacak şekilde bağışıklığı ve büyüme ile üremeyi de içeren fizyolojik fonksiyonların bozulmasına yol açar²⁷. Steroid sentezinde görevli enzimlerin peroksidatif inaktivasyonu üremeyi bozabilir. Normal üreme, uygun zamanlarda sentezlenen progesteron ve östrojenin uygun konsantrasyonlarına bağlıdır¹⁹. Oksidatif stres altında sitokrom P-450'ye bağlı steroidojenik enzimlerin lipit peroksidasyona hassasiyeti, steroid hormonların sentezini azaltabilir⁷. Meme ödemi, süt humması, plasentanın atılmaması, mastitis ve döl verimi düşüklüğü gibi bozukluklar süt ineği yetiştiricilerinin karnı azaltır. Oksidatif stres bu bozuklukların hepsine katkıda bulunabilir. Yüksek verimli ineklerde performansı arttırmak için oksidatif stres, bilinen tüm antioksidan maddelerin temin edilmesiyle ve reaktif oksijen moleküllerinin oluşumunu uyarıcı maddelerden uzak durulmasıyla kontrol altına alınmalıdır¹⁹. Oksidatif stres, çeşitli hastalıkların ve yaşlanmanın başlaması ve gelişmesinin sorumlusudur²⁸. Oksidatif stres ve lipit peroksidasyonu ateroskleroz ve karaciğer yağlanması gibi hastalıkların patogenezinde de rol oynar. Bu nedenle redoks dengesini korumak üzere kronik hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde antioksidanların kullanımı çok dikkati çeken bir konudur²⁹.

Lipit hidroperoksitler, lipit peroksidasyonunun başka bir göstergesidir. Oksidatif stres, membranlardaki lipit hidroperoksitlerin düzeyleri yani thiobarbitürik asite reaktif maddeler (TBARS)'deki artışlara benzer şekilde, E vitamini yetersizliği ve yaşlanma tarafından anlamlı ölçüde arttırılmıştır¹⁵. Lipit peroksidasyonunun bir indeksi olan TBARS, antioksidan koruma azalırken lipit peroksidasyonu arttığında, plazma total antioksidanlar ve

α -tokoferol ile negatif korelasyonlu olmuştur¹⁹. Malonaldehid gibi sitotoksik aldehytler, lipit peroksidasyonunun sonlanmasından sonra da kalmaya devam ederler. Malonaldehid, vücut sıvılarında lipit peroksidasyonunun son ürünlerinin ölçülmesi amacıyla, thiobarbitürik asit testi için temel oluşturur. Oksidatif stresin hücrelerde yol açtığı hasarın belirlenmesinde malonaldehid gibi TBARS, konjuge dienler ve lipit hidroperoksitlerin ölçümü yaygın olarak kullanılmaktadır³⁰. Cheng ve ark.³¹ siklofosomid ile bağışıklığı baskılanan broylerde doğal E vitamini total antioksidan kapasiteyi arttırarak karaciğerdeki malonaldehid konsantrasyonunu azalttığını saptamışlardır.

Reaktif oksijen türlerinin fazla üretimini apoptoza neden olan bir faktör olduğu düşünülmektedir. E vitamini tarafından reaktif oksijen türleri üretimini inhibisyonu, bu işlemi geciktirebilir¹². Hücrenin kanserli olup olmaması veya oksidatif stres yapıcının kimliği, bazı durumlarda apoptozis ile sonuçlanacak şekilde α -tokoferol'un hücre sel yanıtını değiştirebilir³². Colitti ve ark.³³ koyunların meme bezindeki α -tokoferol'un, reaktif oksijen türlerinin teşvik ettiği lipit peroksidasyonunun önlenmesi yoluyla, apoptozun inhibisyonu ile ilgili bir faktör olan Bcl-2'nin sentezini kontrol ettiğini saptamışlardır.

Oksidatif stres artarsa α -tokoferol gibi bir antioksidanın, hücre membranı ile ilişkili proteaz, protein kinaz C ve sitozolik fosfolipaz A₂ enzimlerinin aktivitelerini azaltması gerekir⁷. Oksidatif stresin miktarı, muhtemelen E vitamini doku tarafından tüketimini de etkiler¹². Psoroptik uyuz olan koyunların kanındaki yükselmiş lipit peroksit düzeyleri ile azalmış askorbik asit ve α -tokoferol konsantrasyonları, bu hayvanlarda artan oksidatif stresin kanıtı olmuştur²⁵. F₂-izoprostan konsantrasyonları, yarış sonrasında oksidatif stres maksimum olduğunda hem α -tokoferol ile hem de askorbik asit ile negatif korelasyonlu bulunmuştur⁷.

Diğer antioksidanlar ve E vitamini ile ilişkileri

Normal olarak vücut, bir arada çalışan antioksidan sistemlerin geniş bir aralığı tarafından korunmaktadır¹⁹. Antioksidanlar lipit peroksidasyonunu önlemeden sorumludurlar ve diğer koruyucu etkilere ise pek sahip olmadıkları görülmektedir⁷. Antioksidanlar, hücreler ile hücre membranlarındaki lipitleri peroksidasyon hasarından korurlar ve önemli hücre düzenleyicilerinin,

prostaglandinlerin, tromboksan ve lökotrienlerin biyosentezini düzenlerler⁹.

Süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve katalaz, serbest radikallerin birikimini ve lipit peroksidasyonunun başlamasını önleyen en önemli enzimatik antioksidanlardandır. Hücre içindeki bu enzimler, süperoksit ve peroksitleri daha reaktif türler oluşturmak için metal katalizörler ile reaksiyona girmeden önce yok ederler. Son olarak, enzimatik yıkımdan kaçan reaktif türler tarafından başlatılan peroksidatif zincir reaksiyonları, suda çözünen askorbat, glutatyon ve ürat ile yağda çözünen E vitamini, ubikinon ve β -karoten gibi zincir kırıcı antioksidanlar tarafından ortadan kaldırırlar. Zincir kırıcı antioksidanlar, zincir reaksiyonun başlamasından sonra antioksidan enzimler için gerekli olan ve diyetle alınan esansiyel iz elementler, süperoksit dismutaz için mangan, bakır ve çinko, glutatyon peroksidaz için selenyum, katalaz için demir ile aldehit dehidrojenazlar için demir ve molibden'dir¹⁹. Süperoksit dismutaz ve katalaz gibi antioksidan enzim aktivitelerinin ölçümü, organizmanın antioksidan savunma durumunu anlayabilmek için uygun olan indirekt yollardır. Bunlardan süperoksit dismutaz, peroksinitrit oluşumunu önleyici ve süperoksit radikalini daha az zararlı olan hidrojen peroksite dönüştürücü etkisiyle, organizmayı oksidanların zararlı etkilerinden korumaktadır³⁴. Süperoksit dismutaz, reaktif oksijen türlerinden O_2 oluşumunu kataliz eder²⁵. Süperoksit dismutaz aktivitesinin ikinci ürünü, katalaz tarafından suya dönüştürülen hidrojen peroksittir²⁶. Katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimleri, hücre içinde hidrojen peroksidin ortadan kaldırılmasında rol oynarlar. Katalazın dokulardaki dağılımı geniştir. Karaciğer, böbrek ve eritrositlerde yüksek düzeylerde bulunur. Katalaz özellikle hidrojen peroksidin arttığı durumlarda etki gösterir ve hidrojen peroksidi su ile oksijene dönüştürerek yok eder.

Eritrositlerde oksidan strese karşı en etkili antioksidan enzim glutatyon peroksidaz'dır. Bu enzim hidrojen peroksidin ve organik hidroperoksitlerin indirgenmesini sağlar. Glutatyon peroksidaz aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksidin artmasına ve şiddetli hücre hasarına neden olur³⁴. Karaciğer ve plazma glutatyon peroksidaz aktiviteleri, selenyumun çokluğu veya tükenmesine paralel olarak hızla artar veya azalır. Bu nedenle bu enzimin konsantrasyonları, diyetdeki selenyum yetersizliğinin nisbeten doğru bir göstergesidir. E vitamini

ve selenyum içeren glutatyon peroksidaz, tüm hücrelerde mevcut olan antioksidan sistemin ayrılmaz bir parçasıdır. E vitamini ve glutatyon peroksidaz optimum hücre fonksiyonu için önemlidir. Çünkü, reaktif oksijen molekülleri ile lipit hidroperoksitlerin hücrel ve doku konsantrasyonlarını ortadan kaldırmaya yardım ederler. E vitamini ve glutatyon peroksidaz, hücre içerisinde 2 farklı düzeyde fonksiyon yaparlar. Glutatyon peroksidaz hücrenin sitoplazmasında fonksiyon yaparken, E vitamini lipit membranların ayrılmaz bir bileşenidir¹⁴. E vitamini ve glutatyon peroksidaz fagositik hücreleri ve çevresindeki dokuları, fagositoz esnasında nötrofiller ve makrofajların solunumu ile üretilen serbest radikaller tarafından yapılan oksidatif saldırıdan koruyan antioksidanlardır¹⁴. Serüloplazmin plazmadaki bakır içeren başlıca proteindir ve ferritin depolarından salınan ferröz demirin transferrine bağlanmak için ferrik duruma oksidasyonunda önemlidir (25). Ürat, suda çözünen etkili bir antioksidandır. İlave olarak ksantin dehidrojenaz, E vitamini korumak amacıyla demiri az reaktif okside formda tutmaya yardımcı olur. Reaktif oksijen metabolitlerine karşı savunmanın başka bir hattını, elektronları NAD^+ ya transfer ederek sitotoksik aldehitleri oksitleyen aldehit dehidrojenazlar oluşturur¹⁹.

Önleyici ve zincir kırıcı antioksidanlar bir arada çalıştıkları için, bir veya daha fazla bileşen yetersiz olduğu zaman sistemin tüm etkinliği bozulur. Bu nedenle eğer sistemin diğer bileşeni azsa sadece bir maddenin ilavesi pek yarar sağlamaz¹⁹. Normal şartlar altında çeşitli antioksidanların etkileşimi ile oluşturulan antioksidan koruma düzeyinin etkili olduğuna ve böylece okside lipitlerin miktarlarının kontrol altında tutulduğuna inanılmaktadır. E ve C vitaminlerinden oluşan iki antioksidan sistemin tükenmesi, günler içerisinde hızlı bir sistem yetersizliği ile birlikte ölüme yol açar⁷.

E ve C vitaminleri gibi antioksidan vitaminler, tekli oksijeni ortadan kaldırmak üzere etki ederler ve serbest radikal oluşumunu önlerler²⁵. Oksidatif stresle ilişkili hastalıklarda bunların diyetle ilavesi, klinik iyileşmeyi hızlandırır³⁵. E vitamini hücre membranlarında antioksidan etki gösterdiği için, membranlardaki çoklu doymamış yağ asitleri, tükenmiş E vitamini durumlarında peroksidasyona hassas hale gelir¹⁸. Diyetle E vitamini ilaveleri, oksidatif stresli bireylerde lipit peroksidasyonunun ölçüsünü azaltabilir. Yüksek verimli süt ineklerinin antioksidan gereksinimleri, genellikle

tahmin edilenden daha yüksek olur. Reaktif oksijen metabolitleri dengesini etkin olarak kontrol altında tutmak için ihtiyaç duyulan antioksidan miktarı, standart yemlerle sağlanan miktarları geçebilir. Bu nedenle, antioksidan savunma için gerekli olduğu bilinen tüm besin maddelerinin rasyona yeterli ve dengeli miktarlarda ilavesi yararlıdır. Bununla birlikte, E vitamini ilavesinin oksidatif stres altında olmayan normal bireylerde, oksidatif hasarın göstergeleri üzerinde etkili olmadığı bildirilmiştir. Sonuç olarak hem yemlerine yağ ilave edilen hayvanların sağlığını, hem de bu hayvanların ürünlerinin oksidatif dayanıklılığını korumak için antioksidanların sağlanması tavsiye edilmektedir³⁶.

Antioksidatif işlemlerle ilişkili olan C vitamini, glutatyon ve selenyum, E vitamini durumunu, fonksiyonunu ve hücresel düzeyde elde edilebilirliğini sürdürmede önemlidirler¹². Okside glutatyonun ziyade E vitamini zincir kırıcı olarak iş gördüğü zaman, indirgeme ekivalanları korunmuş olur. E vitamini yetersiz olduğu zaman glutatyon-S-transferazlar, peroksi radikaller ile indirgenmiş glutatyon konjugatları oluşturur. Bu durum indirgenmiş glutatyonun tüketimine yol açar. Reaktif oksijen metabolitleri ortadan kaldırılırken E vitamini oksitlenir, fakat C vitamini tarafından tekrar rejenere edilebilir¹⁹. C vitamini E vitamini rejenere etmeye ilave olarak, suda çözünebilir bir antioksidan şeklinde direkt olarak da etki gösterebilir. Yapılan bir çalışmada diyetle E vitamini ile C vitamini birlikte ilavesi, egzersizle teşvik edilen lipid peroksidasyonunu tamamen inhibe etmiştir⁷. E vitamini direkt olarak çeşitli organik peroksi radikaller ile reaksiyona girer ve peroksidatif zincirleri sonlandırır. Hücre düzeyinde α - tokoferol, fenolik hidrojenini lipid peroksil radikallerini yayan zincire vererek, oksidatif işlemler zincirini sonlandıran bir antioksidan olarak görev yapar. Bu durum reaktif α - tokoferoksil radikalinin üretiminin artmasıyla sonuçlanır³⁷. Fakat bu radikal oksidatif zincir reaksiyonunu devam ettirmeye yetenekli ve reaktif değildir³⁸. α -Tokoferol'ün geçici oksidasyon ürünü olan bu tokoferoksil radikali daha sonra diğer antioksidanlar tarafından bir ara forma indirgenir ve buradan E vitamini tekrar rejenere edilir⁷.

E vitamini ve diğer antioksidanlar polimorfonükleer lökositlerin proliferasyonunu, yönelimini ve bakteri öldürme gücünü arttırırlar. Bir antioksidan olarak E vitamini, polimorfonükleer lökositleri peroksidatif hasardan korur fakat aşırı doz, hidrojen peroksit

tarafından fagosite edilen bakterilere verilen peroksidatif hasarın azalması nedeniyle, polimorfonükleer lökositlerin hücre içi bakteri veya kanser hücresi gibi zararlı hücreleri öldürme gücünü azaltabilir⁹.

Serum veya plazmada E vitamini

α -Tokoferol'ün plazma ve karaciğer düzeyleri arasında ve aynı zamanda diyetle verilen α -tokoferol miktarı ile plazma düzeyleri arasında, nisbeten yüksek bir korelasyon vardır. E vitamini açısından beslenme durumu, genellikle plazma veya serumdaki E vitamini konsantrasyonundan hesaplanır. Kan serumu veya plazmasındaki α -tokoferol konsantrasyonu, muhtemelen E vitamini diyetle son alımının bir yansımasıdır. Plazma E vitamini konsantrasyonu, E vitamini yetersizliğinin teşhisi için sınırlı bir değere sahip olabilir. E vitamini eritrosit veya trombositlerdeki konsantrasyonu, vücuttaki durumunu daha kesin olarak yansıtabilir. Serum veya trombositlerdeki α -tokoferol düzeyleri, serumdaki lipid fraksiyonlarından etkilenmemiştir¹⁴.

Plazma tokoferol'ün en düşük olduğu zaman olan doğum periyodunda, süt ineklerinin rasyonuna antioksidanların ilavesi özellikle önemlidir. Yapılan bir çalışmada, rasyona E vitamini ilave edilmeyen ineklerde gebeliğin son 6 haftasında serum tokoferol düzeyi, zaman ile doğru orantılı olarak azalmıştır ve buzağılamada en düşük düzeyde bulunmuştur. Yeme 1000 IU/gün E vitamini ilavesine, serum tokoferol ve plazma total antioksidanlarda artış ile eritrositlerde TBARS'ın azalışı eşlik etmiştir¹⁹.

Birçok hayvan türünde 0.5-1 μ g/ml düzeyindeki plazma tokoferol konsantrasyonlarının düşük olduğu ve 0.5 μ g/ml'den az düzeylerin de genellikle yetersiz E vitamini olarak değerlendirildiği bildirilmiştir. Erişkin sığırlarda 4 μ g/ml'den düşük serum α -tokoferol konsantrasyonlarının, E vitamini yetersizliğini gösterdiği düşünülmektedir. Benzer şekilde, erişkin sığırlarda sınırdaki E vitamini durumunun, 2 ve 3 μ g/ml arasındaki plazma tokoferol konsantrasyonları ile ilişkili olduğu bulunmuştur¹⁴.

E Vitamini ve stres arasındaki ilişkiler

Hayvan refahı acı, ızdırap ve stres gibi istenmeyen duygulardan uzak bir yaşamı hedeflerken, hayvanlarda strese karşı herhangi bir yanıtın oluşmaması, refahın bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. Hayvanlarda oluşan stresin şiddetine bağlı olarak metabolizmada değişimler olmaktadır³⁰. Koyunlarda humoral immun yanıtlar, hem

fiziksel hem de duygusal değişimlerin neden olduğu nisbi streslilik durumunun göstergesidir³⁹. Stresin canlı yaşamı ve verimliliğini etkileyerek, hücrelerde lipit peroksidasyonu, protein denatürasyonu ve DNA mutasyonları gibi olumsuzluklara yol açabildiği ve et kalitesinde düşmeye neden olduğu belirtilmektedir³⁰. Diğer taraftan strese bağlı olarak epinefrin ve diğer katekolaminlerin artışı ile birlikte laktik asit, laktat dehidrojenaz ve kreatin fosfokinaz gibi enzim aktivitelerinin yükselmesi sonucu, oksidan-antioksidan denge serbest radikaller lehine bozulabilir³⁴. Evcil hayvanlarda stresin fizyolojik ve biyokimyasal etkilerini azaltmak amacıyla sedatifler, dopamin, opioidler, merkezi sinir sistemi depresanları, hormonal ilaçlar, vitaminler, mineraller ve amino asitler geniş ölçüde kullanılmaktadır³⁰.

Besinsel dengesizlikler, sıcak ve soğuk, kalabalık, gürültü ve taşınma gibi stres unsurları, vücudun savunma mekanizmalarını zayıflatarak enfeksiyöz hastalıklara yatkınlığa neden olabilirler. Stresin teşvik ettiği bir enfeksiyon olan diyare, yem tüketiminde azalmaya ve böylece hastalık hassasiyetinin daha fazla artmasına neden olabilir⁹. Kortikosteroidler gibi stresin kimyasal düzenleyicileri, yükselen prostaglandin düzeyleri ile ilişkili olarak, belirgin bağışıklık bastırıcı etkiye sahiptir ve aynı zamanda besin maddelerinin biyoyararlılığını da etkileyebilir. Bağışıklık uyarıcılar arasında bulunan antioksidan C ve E vitaminleri, düşük maliyette yüksek dozlarda oral olarak alınabilirler ve çoğunlukla birlikte kullanılmaktadırlar⁴⁰. A ve C vitaminleri ile birlikte E vitamini, tümörlere karşı bağışıklık yanıtını güçlendirerek, kanseri önlemeye de katkıda bulunabilir⁹.

Hayvan sağlığı üzerine E vitamininin koruyucu etkileri, bağışıklık baskılayıcı olduğu bilinen glikokortikoidlerin indirgenmesindeki rolü ile de ilgili olabilir¹⁴. E vitamini, stresin teşvik ettiği kortikosteroid düzeylerini azaltabilir⁹. E vitamininin, sentetik bir antioksidana kıyasla bağışıklık artırıcı etkisi kanıtlanmıştır. E vitamini, aynı zamanda değişen arahidonik asit metabolizması ve prostaglandinler, tromboksanlar ve lökotrienlerin takip eden sentezleri nedeniyle de bağışıklığı arttıran bir etkiye sahiptir¹⁴. Hücre zarına bağlı olan E vitamini, immun yanıtları tetikleyen ve düzenleyen kompleks hücre-hücre etkileşimlerinde önemli bir rol oynar⁹. Hem bağışıklık hem de antioksidan savunma için gerekli besin maddelerinin yetersizlikleri, bu sistemlerin fonksiyonunu

bozabilir. Stres kaynaklı nötrofil aktivasyonu, düşük E vitamini içeren bir diyet ile beslenen balıkların nötrofil membranlarında oto-oksidatif hasara neden olabilir ve nötrofillerin süperoksit anyonu üretimi düşer. Diyette düşük E vitamini bulunmasının, akut ve kronik stres altındaki balığın strese direncini azalttığı ve mortaliteyi arttırdığı görülmüştür¹⁸.

Yapılan bir çalışmada E vitamini ilaveli yemleri tüketen kuzular, kontrol grubuna kıyasla taşınma stresinden önce daha düşük TBARS değerleri göstermişlerdir. Veriler, lipoperoksidasyonun taşınma periyodundan önce E vitamini tarafından baskılandığını kanıtlamıştır. Taşınma stresini takiben E vitamini ilaveleri, düşük plazma TBARS konsantrasyonlarını sürdürmeyi sağlayamamıştır. Tüm gruplar stresi takiben total antioksidan kapasitede azalma göstermişler, değerler 4 saat sonra tekrar yükselmiştir³⁶. Stres şartları altındaki hayvanın sağlığını korumak için E vitamini ilavesi, karayolu taşımacılığı sırasında kandaki doku hasarı göstergelerinin artışlarını azaltmaya eğilimli olmuştur. Bu duruma göre E vitamini ilavesi ile karayolu taşımacılığı sırasında hayvanların refahı saęlanabilir⁴¹. E vitamininin oksidasyona hassasiyeti azaltması, lipitleri ve proteinleri oksidasyon ve renk bozukluğundan koruyarak etin özelliklerini iyileştirebilir⁴².

Çevresel streslere yanıt olarak yükselen tokoferol düzeyleri, enzimatik olmayan lipit peroksidasyonunu sınırlayarak, strese karşı verilen yanıtların teşvik edilmesini önleyebilir⁷. Stresli hayvanlara, laktasyondaki ineklere ve taşınan ya da fazla beslenen sığırlara E vitamini verilmesinin nedeni oksidan ve antioksidan durumu birbirine kenetlemeye çalışan erken müdahaledir. Stres altındaki çiftlik hayvanları için en etkili yeme E vitamini ilavesidir⁹. Sigara içenlerde α -tokoferol'un fraksiyonel olarak ortadan kıkış oranlarının, sigara içmeyenlerden % 13 oranında daha yüksek olduğu bulunmuştur. C vitamini E vitaminini yenilediğinden dolayı, en düşük plazma askorbik asit konsantrasyonlarına sahip sigara içicileri, α -tokoferol'un en hızlı ortadan kalkış oranlarına sahip olmuşlardır⁷.

SONUÇ

Hayvanlarda yetersiz beslenme, sıcak ve soğuk hava, bir arada tutulma sıklığı, taşınma, bakıcının davranışları, hastalıklar gibi birçok faktör strese neden olabilmektedir. Fiziksel stres bir süre sonra hücrelerde oksidatif strese dönüşmekte ve bunun sonucu olarak normal olarak

hücrelerde bulunan serbest radikallerin miktarları çoğalmaktadır. Böylece bağışıklık azalmakta ve hücre zarlarında bulunan çoklu doymamış yağ asitlerinin lipid peroksidasyonu başlamaktadır. Bazı antioksidan enzimler, E ve C vitamini gibi eksojen vitaminler ile bazı mineraller, hücreleri lipid peroksidasyonuna karşı korurlar, fakat stres durumlarında bu vitamin ve minerallere olan gereksinim artar. Antioksidan vitaminler ve mineraller bir arada çalıştıkları için, bunlardan sadece bir veya ikisinin yüksek oranda ilavesi çok işe yaramaz. Stres durumlarında hücrelerin serbest radikallerden korunmaları için bunların hepsinin daha yüksek miktarlarda tüketimi önemlidir. Stres altında olmayan hayvanlara yüksek dozlarda antioksidan vitamin ve minerallerin verilmesi ise, fagositoz yapan bağışıklık hücrelerinde bakteri ve diğer zararlı hücrelerin ortadan kaldırılması için gerekli olan az miktarda serbest radikalın oluşumunu önleyerek, bu patojen hücrelerin yok edilmesini engeller ve zıt bir şekilde bağışıklık düşürücü etki gösterir.

KAYNAKLAR

1. Traber MG, Arai H: Molecular mechanism of vitamin E transport. *Annual Review of Nutrition*. 1999;19:343-355.
2. Zingg JM: Vitamin E: An overview of major research directions. *Molecular Aspects of Medicine*. 2007;28:400-422.
3. Singh U, Devaraj S, Jialal I: Vitamin E, oxidative stress, and inflammation. *Annual Review of Nutrition*. 2005;25:151-174.
4. Negis Y, Zingg JM, Ogru E, Gianello R, Libinaki R, Azzi A: On the existence of cellular tocopheryl phosphate, its synthesis, degradation and cellular roles: a hypothesis. *IUBMB Life*. 2005;57:23-25
5. Sen CK, Khanna S, Roy S: Tocotrienols in health and disease: the other half of the natural vitamin E family. *Molecular Aspects of Medicine*. 2007;28:692-728.
6. Ortuno J, Esteban MA, Cuesta A, Meseguer J: Effect of oral administration of high vitamin C and E dosages on the gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate immune system. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 2001;79:167-180.
7. Traber MG, Atkinson J: Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free Radical Biology and Medicine*. 2007;43:4-15.
8. Zingg JM, Azzi A: Non-antioxidant activities of vitamin E. *Current Medicinal Chemistry*. 2004;11:1113-1133.
9. Tengerdy RP: Vitamin E, immune response, and disease resistance. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1990;587:24-33.
10. Numakawa Y, Numakawa T, Matsumoto T, et al.: Vitamin E protected cultured cortical neurons from oxidative stress-induced cell death through the activation of mitogen-activated protein kinase and phosphatidylinositol 3-kinase. *Journal of Neurochemistry*. 2006;97:1191-1202.
11. Porta EA: Dietary factors in lipofuscinogenesis and ceroidogenesis. *Archives of Gerontology and Geriatrics*. 2002;34:319-327.
12. Baldi A: Vitamin E in dairy cows. *Livestock Production Science*. 2005;98:117-122.
13. Azzi A: Molecular mechanism of α -tocopherol action. *Free Radical Biology and Medicine*. 2007;43:16-21.
14. McDowell LR, Williams SN, Hidirolou N, et al.: Vitamin E supplementation for the ruminant. *Animal Feed Science Technology*. 1996;60:273-296.
15. Fukui K, Omoi NO, Hayasaka T, et al.: Cognitive impairment of rats caused by oxidative stress and aging, and its prevention by vitamin E. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2002;959:275-284.
16. Niu ZY, Liu FZ, Yan L, Li WC: Effects of different levels of vitamin E on growth performance and immune responses of broilers under heat stress. *Poultry Science*. 2009;88:2101-2107.
17. Azzi A, Ricciarelli R, Zingg JM: Non-antioxidant molecular functions of α -tocopherol (vitamin E). *FEBS Letters*. 2002;519:8-10.
18. Montero D, Tort L, Robaina L, Vergara JM, Izquierdo MS: Low vitamin E in diet reduces stress resistance of gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. *Fish and Shellfish Immunology*. 2001;11:473-490.
19. Infante JP: A function for the vitamin E metabolite α -tocopherol quinone as an essential enzyme cofactor for the mitochondrial fatty acid desaturases. *FEBS Letters*. 1999;446:1-5.
20. Chew BP: Importance of antioxidant vitamins in immunity and health in animals. *Animal Feed Science and Technology*. 1996;59:103-114.
21. Sen CK, Khanna S, Roy S: Tocotrienols: Vitamin E beyond tocopherols. *Life Sciences*. 2006;78:2088-2098.
22. Schwenke DC, Rudel LL, Sorci-Thomas MG, Thomas MJ: Alpha-tocopherol protects against diet-induced atherosclerosis in New Zealand white rabbits. *Journal of Lipid Research*. 2002;43:1927-1938.
23. Thomas SR, Stocker R: Molecular action of vitamin E in lipoprotein oxidation: implications for atherosclerosis. *Free Radical Biology and Medicine*. 2000;28:1795-1805.
24. Baldi A, Losio MN, Cheli F, et al.: Evaluation of the protective effects of α -tocopherol and retinal against ochratoxin A cytotoxicity. *British Journal of Nutrition*. 2004;91:507-512.
25. Dimri U, Sharma MC, Yamdagni A, Ranjan R, Zama MMS: Ranjan psoroptic mange infestation increases oxidative stress and decreases antioxidant status in sheep. *Veterinary Parasitology*. 2010;168:318-322.
26. Fang YZ, Yang S, Wu G: Free radicals, antioxidants and nutrition. *Nutrition*. 2002;18:872-879.
27. Gladine C, Rock E, Morand C, Bauchart D, Durand D: Bioavailability and antioxidant capacity of plant extracts rich in polyphenols, given as a single acute dose, in sheep made highly susceptible to lipoperoxidation. *British Journal of Nutrition*. 2007;98:691-701.
28. Nimalaratne C, Wu J: Hen Egg as an Antioxidant Food Commodity: A Review. *Nutrients*. 2015;7(10):8274-8293.

29. Niki E: Evidence for beneficial effects of vitamin E. *The Korean Journal of Internal Medicine*. 2015;30(5):571-579.
30. Avcı G, Küçükkurt İ, Fidan F, Eryavuz A, Aslan R, Dündar Y: Nakil işlemine tabi tutulan koyunlarda vitamin C ve ksilazin uygulamasının kortizol ve lipid peroksidasyon ile bazı biyokimyasal parametrelere etkisi. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*. 2008;22:147-152.
31. Cheng K, Song ZH, Zheng XC, et al.: Effects of dietary vitamin E type on the growth performance and antioxidant capacity in cyclophosphamide immunosuppressed broilers. *Poultry Science*. 2016;Sep.24:1-8.
32. Piga R, Saito Y, Yoshida Y, Niki E: Cytotoxic effects of various stressors on PC12 cells: Involvement of oxidative stress and effect of antioxidants. *Neurotoxicology*. 2007;28:67-75.
33. Colitti M, Stradaoli G, Stefanon B: Effect of α -tocopherol deprivation on the involution of mammary gland in sheep. *Journal of Dairy Science*. 2000;83:345-350.
34. Çetin E, Çetin N, Küçük O: Toklularda Karayolu ile Taşımının Oksidan-Antioksidan Sistem Üzerine Etkisi. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*. 2011;6:103-109.
35. Morita N, Shimoda K, Traber MK, et al.: Vitamin E attenuates acute lung injury in sheep with burn and smoke inhalation injury. Redox Report: *Communications in Free Radical Research*. 2006;11: 61-70.
36. Bodas R, Prieto N, Lopez-Campos O, Giraldez FJ, Andres S: Naringin and vitamin E influence the oxidative stability and lipid profile of plasma in lambs fed fish oil. *Research in Veterinary Science*. 2011;91:98-102.
37. Zhang P, Omaye ST: β -carotene: interactions with α -tocopherol and ascorbic acid in microsomal lipid peroxidation. *Journal of Nutrition and Biochemistry*. 2001;12:38-45.
38. Carocho M, Ferreira IC. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology*. 2013;51:15-25.
39. Caroprese M, Albenzio M, Annicchiarico G, Sevi A: Changes occurring in immune responsiveness of single- and twin-bearing Comisana ewes during the transition period. *Journal of Dairy Science*. 2006;89:562-568.
40. Ortuno J, Esteban MA, Meseguer J: High dietary intake of α -tocopherol acetate enhances the non-specific immune response of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Fish and Shellfish Immunology*. 2000;10:293-307.
41. Young JF, Stagsted J, Jensen SK, Karlsson AH, Henckel P: Ascorbic acid, α -tocopherol, and oregano supplements reduce stress-induced deterioration of chicken meat quality. *Poultry Science*. 2003;82:1343-1351.
42. Morán L, Andrés S, Bodas R et al.: Antioxidants included in the diet of fattening lambs: Effects on immune response, stress, welfare and distal gut microbiota. *Animal Feed Science and Technology*. 7(10):8274-8293.