



## Repeat Breeder İneklerde Oksidatif Stres ve Çeşitli Biyokimyasal Parametreler

Mehmet GÜVENÇ<sup>1</sup>  
Mustafa CELLAT<sup>1</sup>  
Ece KOLDAŞ ÜRER<sup>2</sup>  
İshak GÖKÇEK<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Mustafa Kemal Üniversitesi,  
Veteriner Fakültesi,  
Fizyoloji Anabilim Dalı,  
Hatay, TÜRKİYE

<sup>2</sup> Mustafa Kemal Üniversitesi,  
Veteriner Fakültesi,  
Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı,  
Hatay, TÜRKİYE

Bu çalışma, repeat breeder ineklerde oksidatif stres ve bazı biyokimyasal parametrelerdeki değişimleri araştırmak amacıyla yapılmıştır. Araştırmada 3–8 yaş arası 20 adet repeat breeder ve 20 adet kontrol grubu olarak döl verimi problemi olmayan toplam 40 adet Holştayn ırkı inek kullanılmıştır. Tüm hayvanlarda plazma malonaldehit (MDA), katalaz (CAT), glutasyon (GSH), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), serum trigliserit, kolesterol, düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL), yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL), alkalin fosfataz (ALP), aspartat aminotransferaz (AST), düzeyleri belirlenmiştir. Araştırma sonucunda, MDA düzeylerinin repeat breeder gruba göre istatistiksel olarak ( $P<0.001$ ) daha yüksek, GSH ( $P<0.01$ ), GSH-Px ( $P<0.001$ ) ve CAT ( $P<0.001$ ) düzeylerinin ise daha düşük olduğu saptanmıştır. Ayrıca, trigliserit ( $P<0.05$ ) ve LDL ( $P<0.01$ ) düzeyleri repeat breeder gruba göre daha yüksek bulunurken, HDL düzeyi ise repeat breeder gruba göre daha yüksek ( $P<0.001$ ) bulunmuştur. AST, ALT ve kolesterol düzeylerinde ise gruplar arası farklılık saptanmamıştır.

Sonuç olarak repeat breeder ineklerde oksidatif stresin şekillendiği ve antioksidan enzim düzeylerinin düştüğü tespit edilmiş, lipit profilinin de gruplar arasında farklılık gösterdiği belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Fertilite, Oksidatif Stres, Biyokimya

### Oxidative Stress and Some Biochemical Parameters in Repeat Breeder Cows

This study was carried out to investigate the changes in oxidative stress and some biochemical parameters in cows that were repeat breeder. A total of 40 Holstein cows were used in the study, 20 of which were repeat breeders between the ages of 3 and 8 and 20 of which were not fertilized. In all animals plasma malonaldehyde (MDA), catalase (CAT), glutathione (GSH), glutathione peroxidase (GSH-Px), serum triglyceride, cholesterol, low density lipoprotein (LDL), high density lipoprotein (HDL), alkaline phosphatase aspartate aminotransferase (AST) levels were determined. As a result, MDA levels were found to be statistically higher ( $P<0.001$ ), GSH ( $P<0.01$ ), GSH-Px ( $P<0.001$ ) and CAT ( $P<0.001$ ) levels were lower in the control group than in the control group. In addition, triglyceride ( $P<0.05$ ) and LDL ( $P<0.01$ ) levels were higher in the control group than in the control group and HDL level was higher in the control group than in the control group ( $P<0.001$ ). AST, ALT and cholesterol levels were not different between the groups.

As a result, it was determined that oxidative stress and antioxidant enzyme levels were decreased in cows repeat breeder, and lipid profile was also different between groups.

**Key words:** Repeat Breeder, Cow, Oxidative Stress, Biochemical

### Giriş

Son elli yılda süt sığırcılığı endüstrisinde üreme fizyolojisindeki değişiklikler nedeniyle (1), süt verimi artarken gebelik oranları hızla düşmekte (2) ve gebelik başına tohumlama sayısı artmaktadır (3). Süt inekçiliğinde kârlılığın esası sürüdeki her bir hayvanın fizyolojik sınırlar içinde yeterli ve doğru üreme döngüsü göstermesine bağlıdır (4). Kuru dönem süresinin uzaması, buzağı verimi ve laktasyon sayısının düşmesi ciddi ekonomik zararlara neden olmaktadır. Bir sürüdeki infertil hayvanların varlığı doğrudan süt üretiminde kayıp anlamına gelmekle birlikte düşük buzağı verimi sütçü sürülerde uzun vadede seleksiyon etkinliğini azaltmaktadır (5). Endometritis, anöstrüs ve repeat breeder gibi reproduktif sorunlar nedeniyle süt sığırı yetiştiriciliğinde etkinlik azalmakta ve yetiştiriciler için ciddi ekonomik kayıplar şeklinde sonuçlanmaktadır (6). Üreme etkinliğini etkileyen sorunların başında gelen repeat breeder inek sayısı yıllar içinde artmış (7) ve tekrar eden tohumlamalara rağmen üreme performansı oldukça düşmüş durumdadır (8). Repeat breeder hayvanlar normal östrüs siklus düzenine sahiptir. Klinik muayenede gebe kalmaya engel herhangi bir lezyon ya da durum belirlenememesine rağmen tohumlamalar sonrası gebelik elde edilememektedir (9). Repeat breeder inekler 17-25 günlük düzenli östrüs siklusuna sahip ve üç ya da daha fazla sayıda tohumlandığı halde gebe kalmayan inekler olarak tanımlanmaktadır (10, 11). Sütçü inekler arasında %10-14'lük bir yaygınlığa sahip olduğu bildirilmektedir (12, 13). Repeat breederin nedeni birden fazla olmakla birlikte en sık görülen nedenler genetik yatkınlık, üreme organlarındaki anatomik bozukluklar, hormonal yetersizlikler klinik/subklinik endometritis gibi enfeksiyonlar ve yetersiz bakım besleme koşullarıdır (14). Çok sayıda dış faktöre bağlı olabileceği bilinen repeat breeder bireysel olarak içsel içsel faktörlere de bağlı

Geliş Tarihi : 25.09.2017  
Kabul Tarihi : 15.11.2017

### Yazışma Adresi Correspondence

Mehmet GÜVENÇ  
Mustafa Kemal Üniversitesi,  
Veteriner Fakültesi,  
Fizyoloji Anabilim Dalı,  
Hatay - TÜRKİYE

mguvenc@mku.edu.tr

olabilmektedir. Yetersiz östrüs tespiti (15) uzamış östrüs, ertelenmiş LH piki ve ovulasyon sonrası plazma progesteron düzeyindeki gecikme (11, 13) enfeksiyonlar (16), genetik faktörler (17) gibi çok sayıda nedenden bahsedilmiş olsa da özel bir nedenden kaynaklanıp kaynaklanmadığı halen tartışmalı bir konu durumundadır.

Metabolizmanın yaklaşık %1-2'si reaktif oksijen metabolitlerinden oluşur. Bu metabolitler çoğu vücut aktivitesinde önemli rol oynar (18). Reaktif oksijen molekülleri (ROM) düşük düzeyde bulunur ve protein fosforilasyonu, hücre olgunlaşması, apoptozis, oosit olgunlaşması, steroidegenesis, hücresel bağışıklık, ovulasyon, implantasyon, blastosit formasyonu, lüteolizis, akrozom reaksiyonu, fertilizasyon ve gebelik süresince lüteal korunma gibi birçok fonksiyonda önemli rol oynar (18, 19). Ancak ROM büyük miktarda arttığında lipid metabolizması, hücrenin protein ve DNA'sı zarar görür ve hücre fonksiyonlarını kaybeder (18, 20, 21). Çeşitli biyokimyasal bileşenlerin normal kan seviyeleri, üreme sistemi de dâhil olmak üzere vücudun çeşitli sistemlerinin sağlıklı işleyişi için gereklidir. Çeşitli biyokimyasal parametrelerdeki değişiklikler infertilite üzerinde etkili olabilmektedir. Bu nedenle, serum biyokimyasal profili, bu problemlerin tespit edilmesinde yararlı olabilmektedir (20). Bu çalışmada repeat breeder ineklerde kan serumunda ve plazmada oksidatif stres ve bazı biyokimyasal parametrelerin araştırılması amaçlanmıştır.

### Gereç ve Yöntem

Çalışmamızda Hatay İli içerisinde bulunan işletmelerden yaşları 3–8 arası değişen toplam 40 adet Holştayn ırkı inek kullanıldı. En az bir kez doğum yapmış, postpartum 120-150. gün aralığında bulunan, anamnezde düzenli östrüs gösterdiği, östrüs klinik bulgularının yeterli düzeyde olduğu ve yetiştirici tarafından belirlenebildiği, östrüs ilk belirlendiği andan itibaren en çok 12 saat içinde suni tohumlama yapıldığı ancak gebelik elde edilemediği bilgilendirilmiş ineklere yapılan jinekolojik muayene sonrası uygulama grubu (Repeat breeder, n=20) oluşturuldu. Rektal palpasyon yoluyla yapılan jinekolojik muayenede hayvanlarda ovaryum tümörleri gibi edinsel anomaliler, piyometra gibi enfeksiyöz infertilite nedenleri, ovaryum kistleri gibi fonksiyonel infertilite nedenlerinin bulunmadığı ortaya koyuldu. Kontrol grubu (n=20) postpartum 60-120. günler arasında bulunan, klinik olarak sağlıklı, düzenli östrüs gösterdiği, östrüs sırasında şeffaf mukoid çara akıntısı gözlemlendiği bilgilendirilmiş hayvanlara yapılan rektal muayene sonrası oluşturuldu. Kontrol grubunda yapılan rektal muayenede, uygulama grubunda incelenen rektal muayene bulgularının aynıları araştırıldı. Her iki grupta da yapılmış geçmiş tohumlamalara ait bilgiler ve kayıtları suni tohumlamayı yapmış aynı serbest klinisyen hekim tarafından doğrulandı.

Belirlenen gruplardaki hayvanlardan tekniğine uygun olarak jugular venden 10'ar ml kan EDTA'lı ve antikoagülsüz tüplere alındı. Bütün kan örnekleri 3000 devirde 15 dakika boyunca santrifüj edildikten sonra

plazma ve serumları çıkartılıp epondor tüplere alındı ve analizler yapıncaya kadar –20 °C'de saklandı.

Elde edilen serumlardan biyokimyasal parametreler ticari test kitleri yardımıyla otomatik biyokimya analizatörü ile ölçüldü (Gesam 200). Plazmada oksidatif stres ve antioksidan etkinlik için kullanılan parametrelerin tayini spektrofotometre (2R / Ultraviyole görünür; Shimadzu, Tokyo, Japonya) yardımıyla tespit edildi. Lipit peroksidasyon seviyesi, tiyobarbitürik asit reaktif maddeler konsantrasyonuna göre ölçüldü ve üretilen MDA miktarı, lipit peroksidasyonunun bir indeksi olarak kullanıldı. MDA seviyesi 532 nm'de nanomol cinsinden ifade edildi (22). GSH düzeyi, Sedlak ve Lindsay tarafından tanımlanan yöntem kullanılarak ölçülmüştür (23). Örnekler %50 TCA (triklorasetik asit) ile çöktürüldü. Çöktürülen örneğin üst fazından 0.5 mL alınarak 2 mL Tris-EDTA tamponu (0.2 M, pH=8.9) ve 0.1 mL 0.01 M 5,5'-ditiyo-bis-2-nitrobenzoik asit ilave edildi. Bu karışım oda sıcaklığında 5 dakika bekletildi ve spektrofotometrede 412 nm de absorbansları ölçülerek ml protein başına nanomol olarak ifade edildi. Glutatyon-peroksidaz (GSH-Px) aktivitesi, Lawrence ve Burk (24) tarafından tanımlanan metoda göre belirlendi. Reaksiyon karışımında 50 mm potasyum fosfat tamponu; 1 mM EDTA, 1 mM sodyum azide, 0.2 mM redükte NADPH, 1 IU/mL okside glutatyon reduktaz (GSSG), 1 mM GSH, 0.2 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içermektedir. Enzim kaynağından 0.1 mL alınarak, 0.8 mL bahsedilen karışımdan ilave edildi. Bu ilave karışıma 0.1 mL peroksit solüsyonu ilave edilerek reaksiyon başlatılmadan önce 25 °C de inkube edildi. 5 dakika içerisinde 340 nm de absorbansları ölçülerek alınarak ml protein başına IU/L olarak ifade edildi. Katalaz aktivitesi Goth'in açıklamış olduğu metoda göre yapıldı. 0.2 mL serum plazma örneği alınarak 1.0 mL substratta 37 °C'de 60 saniye inkube edildi, bu enzimatik reaksiyon 32.4 mM amonyum molibdat ile sona erdirilerek spektrofotometrede 405 nm'de örneğin köre karşı ölçümü yapıldı. Katalaz aktivitesi ku/L olarak ifade edildi (25).

Elde edilen verilerin istatistiksel analizleri SPSS 22.0 programında Student's t testi ile yapılmıştır.

### Bulgular

Repeat breeder ve kontrol grubu ineklerdeki oksidatif stres ve çeşitli biyokimyasal değerlere ait istatistiksel veriler Tablo 1'de verilmiştir.

Elde edilen verilere bakıldığında lipit peroksidasyonun göstergesi olan plazma MDA düzeyleri repeat breeder ineklerde kontrol grubu hayvanlara göre yüksek olduğu (P<0.001), yine plazmada antioksidan etkinlikte rol oynayan GSH (P<0.01), GSH.Px (P<0.001) ve CAT (P<0.001) düzeylerinin kontrol grubuna göre düşük olduğu gözlemlendi.

Serum biyokimyasal parametrelerinden trigliserit (P<0.05) ve LDL'nin (P<0.01) repeat breeder hayvanlarda kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu, HDL'nin kontrol grubunda repeat breeder gruba göre yüksek olduğu (P<0.001), kolesterol, AST, ALT ve glukoz değerleri arasında bir fark bulunmadığı tespit edildi.

**Tablo 1.** Repeat breeder ve kontrol grubu ineklerde saptanan çeşitli biyokimyasal parametreler ve istatistiksel farklılık dereceleri

Parametreler	Kontrol Grubu (Ort±Sth)	Repeat Breeder Grubu (Ort±Sth)	P
MDA (nmol/mL)	2.91±0.45	4.07±0.51	***
GSH (nmol/mL)	0.14±0.55	0.09±0.38	**
GSH.Px (IU/L)	55.70±11.58	36.61±14.39	***
Katalaz (ku/L)	49.64±15.03	32.39±10.19	***
Trigliserit (mg/dL)	7.75±2.86	15.50±8.05	*
Kolesterol (mg/dL)	152.01±15.46	178.25±54.75	-
HDL (mg/dL)	23.66±6.61	7.87±2.64	***
LDL (mg/dL)	36,01±7.24	71.25±21.23	**
AST (U/L)	69.65±11.86	61.02±6.11	-
ALT (mg/dL)	35.11±3.91	28.83±5.91	-

\*: P>0.05. \*\*: P<0.01. \*\*\*: P<0.001

### Tartışma

Bu çalışmada repeat breeder ineklerde oksidatif stres ve bazı biyokimyasal değerlerde meydana gelen değişimler incelenmiştir.

Lipit peroksidasyonu, genel olarak, doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu ifade etmektedir. Bu reaksiyon sonrasında başlıca lipit peroksitler ve serbest radikaller gibi zararlı ara ürünler oluşmaktadır (26, 27). Canlı yapısında reaktif oksijen bileşiklerinin üretimi fizyolojik bir olay olup antioksidan sistem tarafından dengede tutulur. Bu bileşiklerin belirli seviyeleri üreme yönünden üreme hormonlarının üretimi, oosit olgunlaşması ve fertilizasyonun gerçekleşmesi gibi çeşitli fizyolojik olaylarda önemli görevler üstlenirler (28). Bununla birlikte, reaktif oksijen türlerinin aşırı üretimi sonucu meydana gelen oksidatif stres ise lipit peroksidasyona yol açar (29). Çalışmada repeat breeder ineklerde MDA düzeyleri kontrol grubuna oranla yüksek olduğu görülmektedir. Elde edilen verilere göre hayvanların barınma koşulları göz önüne alındığında farklı patojenler tarafından indüklenen iltihaplanma sürecinin mevcut bulunduğu veya yangılı bir hastalığın varlığından bahsedilebilir (30, 31). Gilbert (32) endometritis ya da mastitis gibi enfeksiyonların varlığı halinde doğrudan ya da dolaylı etkiler ile üremenin birkaç kritik aşamasında bozukluk şekillendirdiğini bildirmektedir. Peroksitler için detoksifiye edici olarak CAT ve GSH gibi önemli yapılarıdır. CAT bir katalizör işleviyle OH oluşturarak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi yok edebilen bir enzimdir. Glutasyon ise redoks siklusunda GSH-Px ile birlikte GSH, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve lipit peroksitleri zararsız bileşenlere dönüştürür. Bu oksidan/antioksidan dengesi bozulduğunda oksidatif stres gerçekleşmektedir (33). Postpartum akut endometritis olgularında antioksidan dengenin oksidanlar lehine bozulduğu çeşitli çalışmalarla bildirilmiştir (34, 35). Çalışmanın sonuçları incelendiğinde repeat breeder sığırlarda kontrol grubuna göre daha yüksek MDA düzeyleri artan oksidatif stresin ve antioksidan enzimlerden GSH, GSH-Px ve CAT seviyelerinde kontrol grubuna göre belirlenen azalmaların ise oksidatif strese yanıt olarak artan

kullanımlarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu açıdan değerlendirildiğinde gerek MDA düzeylerindeki artış ve gerekse de GSH, GSH-Px ve CAT seviyelerindeki düşüşler başta endometritis gibi doğum kanalında meydana gelen enfeksiyonlar ve oosit gelişiminin önüne geçen durumlar, hücresel hasara neden olabilen oksidatif stresin göstergesi olarak kabul edilebilirler. Endometritis bulunan ineklerde gebe kalma oranının düşük olması, steroidogenezis ve ovulasyon mekanizması aksaklıkları şekillenmesi, embriyonun blastosist aşamasındaki bozukluklar ya da embriyonik kayıpların görülmesi (36) bu görüşü destekler niteliktedir. İneklerde kolesterol ve trigliserit gibi çeşitli biyokimyasal parametrelerin canlının laktasyon ve gebelik durumlarına göre farklılık gösterebileceği ve buna bağlı olarak doğurganlığı etkileyebileceği bildirilmiştir (37). Kolesterol, ovaryum steroid sentezinde öncü durumundadır ve parçalanmasıyla pregnenolone sentezlenmektedir (38). Trigliserit, total kolesterol, HDL ve LDL konsantrasyonlarının negatif enerji dengesi ve hepatik lipidoz halinde düşmeye meyilli oldukları (39, 40) ayrıca retensiyo sekundinarum (41), Brusella (42), Theileria (43) gibi enfeksiyonlarda değişkenlik gösterdiği bildirilmektedir. Senosy ve Hussein (44) mandalarda yaptıkları bir çalışmada endometritis grubunda endometritis olmayan gruba göre HDL ve total kolesterol düzeyinin düşük, trigliserit düzeyinin yüksek bulunduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada gruplarda kolesterol düzeyi farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır. Bunun yanında repeat breeder hayvanlarda trigliserit seviyesinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Yapılan çeşitli çalışmalarda hayvanlar arasındaki trigliserit farklılıklarının beslenme, enfeksiyon ve çevre koşulları gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak değişiklik gösterebileceği bildirilmiştir (43-45). Sığırlarda laktasyon sırasında HDL'nin aşırı yüksek bulunabileceği (46), HDL düzeylerindeki azalmanın steroid hormon sentezi için ester kolesterol kaynağı konumunda olduğundan, infertilite problemlerine neden olabileceği bildirilmiştir (47). Lipit metabolitlerinin serum konsantrasyonunda meydana gelen artışı yüksek miktarda trigliserit içerikli lipoproteinlerin artmış bağırsak sekresyonuna bağlıdır. Koyun ya da inek diyetlerine yağ ilave edilmesi muhtemelen bağırsak tarafından lipoprotein kolesterol taşınması sürecini teşvik ederek dolaşımdaki plazma kolesterolü, LDL ve HDL düzeylerini artırmaktadır (48). Bu çalışmada kontrol grubu HDL düzeyinin repeat breeder gruba göre daha yüksek olduğu, LDL düzeyinin ise repeat breeder grupta kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Gruplar arasındaki bu farklılığın laktasyon ya da beslenmeden kaynaklanan değişiklikler sonucu meydana geldiği düşünülebilir. Elde edilen verilerde AST ve ALT enzim düzeylerinde farklılık tespit edilmemiştir. Karaciğer enzimlerinin subklinik endometritis gibi enfeksiyöz durumlarda arttığı (48), AST ve ALT düzeylerinde farklılık olmamasının genital organlarda bir inflamasyon olmadığının göstergesi olabileceği (49) bildirilmektedir. Ancak Akbar ve ark. subklinik endometritis ve sağlıklı hayvanlarda karaciğer enzimlerinde farklılık olmadığını bildirmiştir (50). Yapmış olduğumuz çalışmada ALT ve AST düzeylerinin gruplar

arasında farklı bulunmaması doku hasarı şekillenmemiş olmasından ya da bir enfeksiyon olsa dahi karaciğer fonksiyonlarını etkilemeyecek şiddette olmasından kaynaklanıyor olabilir.

Sonuç olarak, repeat breeder ineklerde saptanan plazma MDA düzeylerindeki artışlar ile plazma GSH, GSH-Px ve CAT düzeylerinde şekillenen azalmalar döl tutmama tablosunda oksidatif stresin geliştiğinin önemli göstergeleridir. Ayrıca hastalıkta serum lipit profilinin de etkilendiğine dair biyokimyasal verilere ulaşılmıştır.

### Kaynaklar

1. Wiltbank M, Lopez H, Sartori R, Sangsritavong S, Gumen A. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. *Theriogenology* 2006; 65: 17-19.
2. Walsh SW, Williams EJ, Evans ACO. A review of the causes of poor fertility in high milk producing dairy cows. *Anim. Reprod Sci* 2011; 123: 127-138.
3. Lucy MC. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: Where will it end. *J Dairy Sci* 2001; 84: 1277-1293.
4. Baghel RPS. Reproductive disorders in relation to malnutrition in dairy animals. In XXII Annual Convention of ISSAR and National Symposium, Veterinary College, Mhow, India: 2006; 94-104.
5. Dhaliwal GS. Managing dairy herds for optimal reproductive efficiency. Recent concepts in physio-pathology of animal reproduction In: Centre of Advanced studies in Veterinary Gynaecology and Reproduction Ludhiana: India Punjab Agricultural University 2005; 1-9.
6. Dutta JC, Baruah RN, Dutta L, Talukdar SC. Blood biochemical studies in anoestrous and normal cyclic cattle. *Indian Vet J* 1988; 65: 239-241.
7. Dochi O, Takahashi K, Hirai T, et al. The use of embryo transfer to produce pregnancies in repeat-breeding dairy cattle. *Theriogenology* 2008; 69: 124-128.
8. Yusuf M, Nakao T, Ranasinghe RMS, et al. Reproductive performance of repeat breeders in dairy herds. *Theriogenology* 2010; 73: 1220-1229.
9. Roberts SJ. *Veterinary Obstetrics and Genital Diseases*. 2nd Edition, New Delhi: CBS Publishers and Distributors, 1971.
10. Kendall NR, Flint APF, Mann GE. Incidence and treatment of inadequate postovulatory progesterone concentrations in repeat breeder cows. *Vet J* 2009; 181: 58-162.
11. Moss N, Lean IJ, Reid SWJ, Hodgson DR. Risk factors for repeat-breeder syndrome in New South Wales dairy cows. *Prev Vet Med* 2002; 54: 91-103.
12. Casida LE. Present status of the repeat-breeder cow problem. *J Dairy Sci* 1961; 44: 2323-2329.
13. Bage R, Gustafsson H, Larsson B, Forsberg M, Rodríguez-Martínez H. Repeat breeding in dairy heifers: Follicular dynamics and estrous cycle characteristics in relation to sexual hormone patterns. *Theriogenology* 2002; 57: 2257-2269.
14. El-Khadrawy HH, Ahmed WM, Emtenan HM, Hanafi EM. Observations on repeat breeding in farm animals with emphasis on its control. *J Reprod. Fertil* 2011; 2: 01-07.
15. López-Gatius F, Yáñez JL, Santolaria P, et al. Béjar reproductive performance of lactating dairy cows treated with cloprostenol at the time of insemination. *Theriogenology* 2004; 62: 677-689.
16. Pérez-Marín C, España F. Oestrus expression and ovarian function in repeat breeder cows, monitored by ultrasonography and progesterone assay *Reprod Domest Anim* 2007; 42: 449-456.
17. Kendall NR, Flint APF, Mann GE. Incidence and treatment of inadequate postovulatory progesterone concentrations in repeat breeder cows *Vet J* 2009; 181: 158-162.
18. Celi P. Oxidative stress in ruminants. In, Mandelker L, Vajdovich P (Editors). *Studies on Veterinary Medicine*. New York: Humana Press, 2011: 191-231.
19. Celi P, Merlo M, Barbato O, Gabai G. Relationship between oxidative stress and the success of artificial insemination in dairy cows in a pasture based system. *Vet J* 2012; 193: 498-502.
20. Park, M. S, Yang YX, Shinde PL, et al. Effects of dietary glucose inclusion on reproductive performance, milk compositions and blood profiles in lactating sows. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 2010; 94: 677-684.
21. Hekimoglu A, Bilgin HM, Kurcer Z, Ocak AR. Effects of increasing ratio of progesterone in estrogen / progesterone combination on total oxidant/ antioxidant status in rat uterus and plasma. *Arch Gynecol Obstet* 2010; 281: 23-28.
22. Placer ZA, Cushman LL, Johnson BC. Estimation of product of lipid peroxidation (malonyldialdehyde) in biochemical systems. *Anal Biochem* 1966; 16: 359-364.
23. Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein bound and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem* 1968; 25: 192-205.
24. Lawrence RA, Burk RF. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem Biophys Res Commun* 1976; 71: 952-958.
25. Goth L.A. simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clin Chim Acta* 1991; 196: 143-152.
26. Gutteridge JMC, Halliwell B. The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. *Trends Biochem Sci* 1990; 15: 129-135.
27. Kohen R, Nyska A. Oxidation of biological systems: Oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicol Pathol* 2002; 30: 620-650.
28. Agarwal A, Allamaneni SS. Role of free radicals in female reproductive diseases and assisted reproduction. *Reprod Biomed* 2004; 9: 338-347.
29. Agarwal A, Gupta S, Sharma RK. Role of oxidative stress in female reproduction. *Reprod Biol Endocrinol* 2005; 3: 28.

30. Kullisaar T, Turk S, Kilk K, et al. Increased levels of hydrogen peroxide and nitric oxide in male partners of infertile couples. *Andrology* 2013; 1: 850-858.
31. Ali F, Lodhi L, Hussain R, Sufyan M. Oxidative status and some serum macro minerals during estrus, anestrus and repeat breeding in cholistani cattle. *Pakistan Veterinary Journal* 2014; 34: 532-534.
32. Gilbert RO. The effects of endometritis on the establishment of pregnancy in cattle. *Reproduction Fertility and Development* 2011; 24: 252-257.
33. Ahmed WM, El-Khadrawy HH, Emtenan M, Ali AH, Shalaby SA. Clinical perspective of repeat breeding syndrome in buffaloes *J Am Sci* 2010; 6: 11.
34. Bliznetsova GN, Retskii MI, Nezhdanov AG, Safonov VA. Antioxidant status and nitrogen oxide production in cows in health and obstetric/gynecologic disease *Russian Agricultural Sciences* 2008; 34: 61.
35. Pande M, Das GK, Khan FA. Endometritis impairs luteal development, functions and nitric oxide and ascorbic acid concentrations in buffalo (*Bubalus bubalis*). *Trop Anim Health Prod* 2013; 45: 805-810.
36. Çetin M, Doğan İ, Polat Ü, Yalçın A, Türkyılmaz Ö. Blood biochemical parameters in fertile and repeat breeder cows. *Indian J Anim Sci* 2002; 72: 865-866.
37. Akbar H, Cardoso F, Meier C, et al. Postpartal subclinical endometritis alters transcriptome profiles in liver and adipose tissue of dairy cows. *Bioinformatics and Biology insights* 2014; 8: 45.
38. Bobe G, Young JW, Beitz DC. Invited review: Pathology, etiology, prevention, and treatment of fatty liver in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2004; 87: 3105-3124.
39. Rayssiguier Y, Mazur A, Gueux E, et al. Plasma lipoproteins and fatty liver in dairy cows. *Research in Veterinary Science* 1998; 45: 389-393.
40. Semacan A, Sevinç, M. Liver function in cows with retained placenta. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 2005; 29: 775-778.
41. Merhan O, Bozukluhan K, Kuru M, et al. Investigation of oxidative stress index and lipid profile in cattle with brucellosis. *health. Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2017; 1: 4.
42. Tunç V, Konaş Aşkar T. The determination of oxidative stress by paraoxonase activity, heat shock protein and lipid profile levels in cattle. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2012; 18: 647-651.
43. Wehrman ME, Welsh TH, Williams GL. Diet-induced hyperlipidemia in cattle modifies the intrafollicular cholesterol environment, modulates ovarian follicular dynamics, and hastens the onset of postpartum luteal activity. *Biol Reprod* 1991; 45: 541-552.
44. Senosy W, Hussein HA. Association among energy status, subclinical endometritis postpartum and subsequent reproductive performance in Egyptian buffaloes. *Animal reproduction science* 2013; 140: 40-46.
45. Ceylan A, Serin I, Aksit H, Seyrek K, Gökbülüt C. Döl tutmayan ve anöstruslü süt ineklerinde vitamin A, E, beta-karoten, kolesterol ve trigliserid düzeylerinin araştırılması. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg* 2007; 13:43-147.
46. Kaneko JJ. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 4. Edition, London: San Diego, 1989.
47. Katoh N, Nakagawa H. Detection of haptoglobin in the high-density lipoprotein and the very high-density lipoprotein fractions from sera of calves with experimental pneumonia and cows with naturally occurring fatty liver. *J Vet Med Sci* 1999; 61: 119-124.
48. Burke CR, Meier S, McDougall S, et al. Relationships between endometritis and metabolic state during the transition period in pasture-grazed dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2010; 93: 5363-5373.
49. Cetin M, Dogan I, Polat U, Yalcin A, Turkyilmaz O. Blood biochemical parameters in fertile and repeat breeder cows. *Indian journal of animal sciences* 2002; 72: 865-866.
50. Akbar H, Cardoso FC, Meier S, et al. Postpartal subclinical endometritis alters transcriptome profiles in liver and adipose tissue of dairy cows. *Bioinformatics and Biology insights* 2014; 8: 45.