



**T. C.  
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**NEGATİF ENERJİ DENGESİNDEKİ SÜT SIĞIRLARINDA SERUM  
OSTEOKALSİN DÜZEYİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ; SERUM ESTERLEŞMEMİŞ  
YAĞ ASİTİ (NEFA), BETA HİDROKSİBÜTİRİK ASİT (BHBA), GLUKOZ VE  
OSTEOKALSİN DÜZEYLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİLERİN BELİRLENMESİ**

**Serkan ÇATIK**

**(DOKTORA TEZİ)**

**Bursa-2015**



T. C.  
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

NEGATİF ENERJİ DENGESİNDEKİ SÜT SIĞIRLARINDA SERUM OSTEOKALSİN  
DÜZEYİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ; SERUM ESTERLEŞMEMİŞ YAĞ ASİTİ (NEFA),  
BETA HİDROKSİBÜTİRİK ASİT (BHBA), GLUKOZ VE OSTEOKALSİN DÜZEYLERİ  
ARASINDAKİ İLİŞKİLERİN BELİRLENMESİ

Serkan ÇATIK

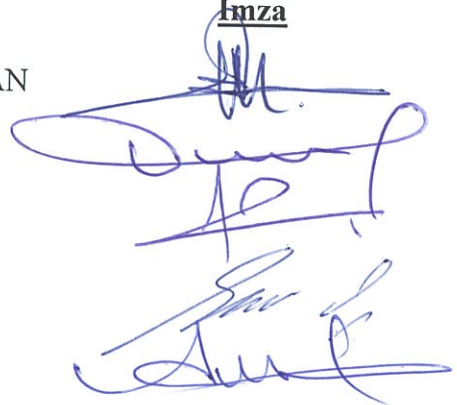
(DOKTORA TEZİ)

Danışman: Prof. Dr. Engin KENNERMAN

Bursa-2015

## SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Veteriner İç Hastalıkları Anabilim Dalı Doktora öğrencisi Serkan ÇATIK tarafından hazırlanan *Negatif Enerji Dengesindeki Süt Sığırlarında Serum Osteokalsin Düzeylerinin Değerlendirilmesi; Serum Esterleşmemiş Yağ Asidi (NEFA) ve Beta Hidroksibütirik Asit (BHBA), Glukoz ve Osteokalsin Düzeyleri Arasındaki İlişkilerin Belirlenmesi* konulu Doktora tezi 27/11/2015 günü, 13:30-14:30 saatleri arasında yapılan tez savunma sınavında jüri tarafından oybirliği/oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

	<u>Adı-Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Tez Danışmanı	Prof. Dr. Engin KENNERMAN	
Üye	Prof. Dr. Hasan BATMAZ	
Üye	Prof. Dr. Sezgin ŞENTÜRK	
Üye	Prof. Dr. M. Erman OR	
Üye	Doç. Dr. İsmail AYTEKİN	

Bu tez Enstitü Yönetim Kurulu'nun ..... tarih ve ..... sayılı toplantısında alınan ..... numaralı kararı ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ülgen GÜNAY

Enstitü Müdürü

## İÇİNDEKİLER

TÜRKÇE ÖZET.....	II
İNGİLİZCE ÖZET.....	III
GİRİŞ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	4
GEREÇ ve YÖNTEM.....	55
Canlı Hayvan Materyali.....	55
Çalışmaya Alınan Hayvanların Seçim Kriterleri ve Tanının Kesinleştirilmesi.....	56
Kan Alım Zamanları ve Numunelerin Saklanması.....	57
Serum Metabolik Profil Testleri.....	57
İstatistiksel değerlendirme.....	58
BULGULAR.....	59
TARTIŞMA ve SONUÇ.....	65
KAYNAKLAR.....	78
TEŞEKKÜR.....	93
ÖZGEÇMİŞ.....	94

## ÖZET

**Negatif enerji dengesindeki süt sığırlarında serum osteokalsin düzeyinin değerlendirilmesi; serum esterleşmemiş yağ asiti (NEFA), beta hidroksibütirik asit (BHBA), glukoz ve osteokalsin düzeyleri arasındaki ilişkilerin belirlenmesi**

Bu araştırmada, negatif enerji dengesindeki süt sığırlarında NEFA, BHBA, osteokalsin ve glukoz düzeylerinin belirlenmesi, bu parametrelerin karşılaştırılması, aralarındaki ilişkinin ortaya konulması, osteokalsinin sığırların enerji metabolizmasındaki rolünün incelenmesi ve gelecekteki çalışmalar için bir katkı sağlaması amaçlanmıştır.

Çalışmada kullanılan hayvanlar klinik ketozis, subklinik ketozis ve kontrol grubu olmak üzere üç gruba ayrılmıştır. Her grup 20 adet süt sığırlarından oluşmak üzere çalışmada toplam 60 adet, erken laktasyonda bulunan sütçü sığır kullanılmıştır. Çalışma grupları BHBA düzeyleri ölçülerek oluşturulmuştur. BHBA düzeyi  $\geq 1,2 - <3$  mmol/L olan hayvanlar subklinik ketozis;  $\geq 3$  mmol/L olanlar klinik ketozis ve  $<1$  mmol/L olanlar da kontrol grubu olarak sınıflandırılmıştır. Çalışmadaki tüm ineklerden klinik muayeneleri yapıldıktan sonra kan numuneleri alınmış ve serum biyokimyasal (NEFA, BHBA, glukoz, osteokalsin, total protein, AST, GGT, ALP, trigliserit, total kolesterol, Ca ve P) parametreleri ölçülmüş ve birbirleri ile karşılaştırılmıştır.

Araştırma sonucunda serum osteokalsin düzeyinin klinik ve subklinik ketozis gruplarında kontrol grubuna göre daha düşük olduğu ve subklinik ketozis grubunda en düşük düzeyde bulunduğu tespit edilmiştir. NEFA, BHBA, glukoz, osteokalsin, AST, GGT, ALP, trigliserit, total kolesterol, Ca parametrelerinde gruplar arasında istatistiksel farklar belirlenmiştir.

Bu araştırmanın sonuçlarına göre, osteokalsin sığırlarda enerji metabolizmasında önemli görevleri olan bir hormondur ve erken laktasyondaki ineklerde osteokalsin düzeylerinin ölçülmesi klinik belirtiler ortaya çıkmadan önce subklinik ketozisin belirlenmesinde kullanılabilecek bir yöntemdir.

**Anahtar Kelimeler:** Süt sığırları, ketozis, osteokalsin, BHBA, NEFA, glukoz

## SUMMARY

### **Evaluation of serum osteocalcine level in dairy cattle with negative energy balance; detection of relationship between serum non esterified fatty acid (NEFA), beta hydroxybutyric acid (BHBA), glucose and osteocalcine levels**

Aim of the presented study was to determine NEFA, BHBA, osteocalcin and glucose levels in dairy cattle with negative energy balance, compare these parameters, determine the relation between them, investigate the role of osteocalcin in energy metabolism of cattle and provide a contribution for subsequent surveys.

Animals in the study were divided into three groups as clinical ketosis, subclinical ketosis and control group. Each group consisted of 20 dairy cattle, in the study totally 60 dairy cattle in early lactation were used. Investigation groups were established by measuring BHBA levels. Animals with serum BHBA levels of  $\geq 1,2 - < 3$  mmol/L were classified as subclinical ketosis, BHBA levels of  $\geq 3$  mmol/L as clinical ketosis and BHBA levels of  $< 1$  mmol/L as control group. After clinical examination blood samples were taken from all cattle in the study and serum biochemical (NEFA, BHBA, glucose, osteocalcin, total protein, AST, GGT, ALP, triglycerides, total cholesterol, Ca and P) parameters were measured and compared with each other.

Result of the study indicated that serum osteocalcin levels of clinical and subclinical ketosis groups were lower than control group and osteocalcin level was lowest in subclinical ketosis group. Statistical differences were determined in NEFA, BHBA, glucose, osteocalcin, AST, GGT, ALP, triglycerides, total kolesterol, Ca parameters.

According to the results of the study, it was concluded that osteocalcin is an important hormone of energy metabolism in cattle and determining the osteocalcin levels in cows in early lactation is a method that can be used to determine subclinical ketosis before the appearance of clinical symptoms.

**Key Words:** Dairy cattle, ketosis, osteocalcin, BHBA, NEFA, glucose

## 1. GİRİŞ

Süt sığırlarında genetik kapasitenin artması, düzenli aşılama ve sürü sağlığı alanındaki gelişmeler sonucu süt veriminde önemli artışlar meydana gelmiştir. Artan süt verimi ile birlikte geçiş dönemindeki ve erken laktasyon dönemindeki süt sığırlarında beslenme ve metabolizma ile ilişkili hastalıklar büyük bir önem kazanmıştır (1, 2). Geçiş dönemi kuru dönemin son üç haftası ile erken laktasyon döneminin ilk üç haftasını kapsamaktadır. Geçiş dönemi hayvanların sağlığı, gelecekteki verim performansı, dölverimi ve karlılık açısından son derece önemli bir süreçtir. Özellikle genetik kapasitesi gelişmiş, yüksek süt verimli sığırlar için bu dönem daha da kritiktir (2).

Geçiş dönemi hayvanlarda birçok endokrin ve metabolik değişikliklerin kısa bir süre içerisinde yaşandığı bir dönemdir. Bu dönemde görülen hastalıklar, yönetim hataları hayvanın gelecekteki süt verimi ve üreme performansını direkt olarak etkilediği uzun zamandır bilinmektedir (3, 4).

Gebeliğin son dönemlerinde buzağı daha da hızlı gelişmekte, rumen kapasitesini ve dolayısıyla annenin kuru madde tüketimini azaltmaktadır. Bu dönemde hormonal dengesizlikler ve doğum stresiyle birlikte artan kortizol miktarı hayvanın yem tüketimini önemli ölçüde azaltmaktadır. Doğum sonrasında kuru madde tüketimi kademeli olarak artış gösterir; fakat laktasyon da başlamış olduğu için hem enerji eksikliği hem de diğer besin ve mineral madde eksiklikleri görülmeye başlar (1, 4).

Kuru dönem boyunca sığırlar kaba yemden zengin ve düşük enerji içerikli yemlerle beslenmektedir. Laktasyonun başlaması ile birlikte süt üretimi için gerekli olan enerjiyi karşılamak için hızla konsantre yem miktarı artırılmalı ve kısa süre içinde rumenin konsantre yeme adapte olması sağlanmalıdır. Bu nedenlerden dolayı süt sığırları hızlı bir metabolik değişimle karşı karşıyadır (5-7). Laktasyonun ilk üç haftası içerisinde hızlı metabolik ve hormonal değişimler, yüksek süt verimi, kuru madde tüketiminin azalması hipokalsemi (süt humması), ketozis, karaciğer yağlanması, abomasum deplasmanı, retensiyo sekundinarum ve metritis gibi metaboik hastalıkların insidansını artırmaktadır. Hem doğum stresi hem de laktasyon stresi ile birlikte kortizol düzeyinin artması hayvanın bağışıklık sistemini zayıflatmakta ve enfeksiyon hastalıklarına daha yatkın hale getirmektedir (8, 9).

Süt sığırlarında laktasyon döneminde negatif enerji dengesi görülmesi hayvanın kısa süre içerisinde vücut kodüsyonunda düşmeye ve geçiş döneminde klinik ve subklinik hastalıkların ortaya çıkmasına neden olur. Klinik - subklinik ketozis ve karaciğer yağlanması bu hastalıkların en önemlilerindedir (6-9).

Yüksek süt verimli sığırlarda ketozisin tanısı klinik bulgular ve kan ya da idrarda keton cisimciklerini tespit eden testler ile koyulmakta ve uygun sağaltım protokolleri ile hastalık kontrol altına alınabilmektedir. Ancak, negatif enerji dengesindeki sığırlarda subklinik ketozis oluşma riski çok yüksektir ve klinik olarak semptom görülme de süt verimindeki düşüşler ve hayvanın diğer hastalıklara yatkınlığının artması gibi sebeplerle oldukça önemli ekonomik kayıplara yol açmaktadır (7).

Sığırlarda süt üretimi ve hayvanın yaşama payını karşılayabilmek için temel enerji kaynağı glukozdur ve var olan glukoz kullanıldıktan sonra enerji açığını kapatmak için vücut yağları mobilize edilmeye başlar. Enerji açığı hala kapatılamazsa yağlarla birlikte proteinler de karaciğerde glukoneogeneziste kullanılmaya başlanmaktadır (6).

Glukoneogenesis sırasında yağ ve proteinlerin bir kısmı enerjiye dönüştürülürken betahidroksi bütirik asit (BHBA), aseto asetik asit ve aseton gibi keton cisimcikleri gibi bir kısım yan ürünler ortaya çıkmakta ve bunların kanda bulunma düzeylerine göre subklinik ve/veya klinik ketozis ortaya çıkmaktadır. Ketozis ve özellikle subklinik ketozisi erken dönemde yakalamak, etiyopatogenezini daha iyi aydınlatmak için çeşitli çalışmalar yapılmış ve günümüzde de yapılmaktadır (6, 7, 10-13).

Son yıllarda insan hekimliğinde insülin direnci, tip 2 diyabet ve karaciğer yağlanması gibi enerji metabolizması ile ilişkili hastalıkların patogenezi açıklanmaya çalışılırken enerji metabolizması ile direkt ilişkili olan çeşitli hormonlar da araştırılmaktadır. Bu hormonlardan biri de osteoblastlardan salınan, insülinin hem salınımını hem de etkinliğini artıran bir hormon olan osteokalsindir. Osteokalsin enerji homeostazisi üzerine direkt etkili olan bir hormon olup metabolik sendrom, insülin direnci, karaciğer yağlanması, tip 2 diyabet gibi hastalıklarda serum osteokalsin düzeyi normal bireylere göre daha düşük bulunmuştur (14-16).

Geçiş dönemindeki stresle birlikte kortizol düzeyinin artması süt sığırlarında insülin direncinin şekillenmesine yol açmakta ve bu durum vücut dokularının glukozdan yeterince yararlanamamasına sebep olmaktadır. Daha fazla glukoz elde edilmesi için öncelikle karaciğer ve kaslardaki glukojen rezervleri tüketilmekte, daha sonra karaciğerde glukoneogenezisle yağ ve proteinlerden glukoz sentezleme yoluna



gidilmektedir. Yağların mobilize olması ile birlikte kan dolaşımında esterleşmemiş yağ asiti (NEFA) konsantrasyonu artmaktadır (6).

Negatif enerji dengesinde bulunan, geçiş dönemindeki süt sığırlarında birçok hormonal ve metabolik değişiklikler gözlenmekte, bu değişikliklerle birlikte metabolik hastalıklar oluşmaktadır. Bu hastalıkların etiyojisi ve patogenezi hakkında birçok bilimsel veri bulunmasına rağmen hala araştırılması gereken konular bulunmaktadır (4, 7).

Bu nedenle bu çalışmada erken laktasyon döneminde negatif enerji dengesindeki süt sığırlarında serum glukoz, Beta Hidroksibutirik Asit (BHBA), Esterleşmemiş Yağ Asitleri (NEFA) ve osteokalsin düzeylerinin ölçülmesi, aralarındaki korelasyonun belirlenmesi ve bunun subklinik – klinik ketozisle ilişkilendirilmesi amaçlanmıştır. Bu çalışmadan elde edilecek sonuçların süt sığırlarının en önemli metabolik hastalıklarından olan klinik ve subklinik ketozisin patogenezinin açıklanması açısından literatüre önemli katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Geçiş Döneminin Önemi ve Negatif Enerji Dengesi

Geçiş dönemi, kuru dönemin son üç haftasını ve laktasyon döneminin ilk üç haftasını kapsayan bir süreçtir. Hayvanların içinde buldukları fizyolojik döneme göre kuru madde tüketimi değişmekte ve en önemli metabolik değişimler geçiş döneminde meydana gelmektedir (1, 17). Kuru dönemde fötüs çok daha hızlı gelişmekte ve annenin karın boşluğunda daha fazla yer kaplayarak rumen hacmini küçültmektedir. Bunun yanı sıra hormonal değişimlerin meydana gelmesi, kuru madde tüketiminin azalmasına neden olmaktadır. İleri gebelikten erken laktasyon dönemine geçiş sürecinde kortizolun artmasıyla birlikte plazma insülin konsantrasyonu azalmakta, somatotropin konsantrasyonu ise artmaktadır. Gebelik boyunca yüksek olan plazma progesteron konsantrasyonu doğumla birlikte hızla düşmekte, plazma östrojen ve kortizol düzeyi yükselmektedir. Bu hormonal değişimler, kuru madde tüketiminin büyük ölçüde azalmasına neden olmaktadır. Bu dönemdeki hormonal değişimlerin çok hızlı bir şekilde gelişmesi ve kuru madde tüketiminin azalması, karaciğer ve iskelet kaslarındaki glikojen rezervlerinin tükenmesine ve yağ dokudan vücut yağlarının mobilizasyonuna sebep olmaktadır (4, 17). Kuru madde tüketimi, kuru dönemin sonlarına doğru gittikçe azalmakta ve doğum zamanında en düşük düzeye inmektedir. Doğuma yakın dönemdeki ortalama kuru madde tüketimi canlı ağırlığın % 1.7-2.0'si arasında olmaktadır. Kuru madde tüketiminin gebeliğin son üç haftası yaklaşık olarak % 32, buzağılamadan önceki 5-7 gün içerisinde de % 89 azalmakta olduğu ve genellikle buzağılama sonrası ilk üç hafta içinde artmaya başladığı belirtilmektedir (18).

Hayvan doğum yaptıktan sonra süt verimi hızlı bir artış göstererek genellikle 4-8. haftalar arası en yüksek düzeye ulaşmaktadır. En geç 10. haftada hayvan laktasyon pikine ulaşmaktadır. Erken laktasyon döneminde kuru madde tüketiminin azalmasına rağmen süt veriminde görülen artış, hayvanın hem negatif enerji dengesine girmesine hem de diğer besin maddeleri ve mineral alımında azalmalara neden olmaktadır. Bu dönemde vücut dokuları ve süt üretimi için gerekli enerji, rasyondan sağlanan enerji miktarından daha fazla olup negatif enerji dengesi ile birlikte ketozis gibi metabolik hastalıkların ortaya çıkmasına yol açmaktadır. İhtiyaç duyulan enerji açığı öncelikle

vücut yağlarının sindirimiyle karşılanmakta, buna bağlı olarak da vücut kondüsyon skorunda düşüş görülmektedir (18, 19).

Vücut yağlarının mobilizasyonunu takiben kan dolaşımında esterleşmemiş yağ asitleri (NEFA) ve trigliseritler artar. Bu yağların bir kısmı lipoproteinlere bağlanarak kan dolaşımında bulunurken lipoprotein kapasitesi tükendiğinde serbest kalan yağ asitleri karaciğerde birikerek karaciğer yağlanması neden olmaktadır. Bu dönemde karaciğer yağlanması ile birlikte klinik - subklinik ketozis, süt humması, abomasum deplasmanı, retensiyon sekundinarum, metritis ve mastitis gibi metabolik hastalıklar da ortaya çıkmakta, bu hastalıklardan herhangi birinin varlığı diğerlerinin de oluşumuna predispozisyon sağlamaktadır (1, 7, 8).

## **2.2. Vücut Kondüsyon Skoru**

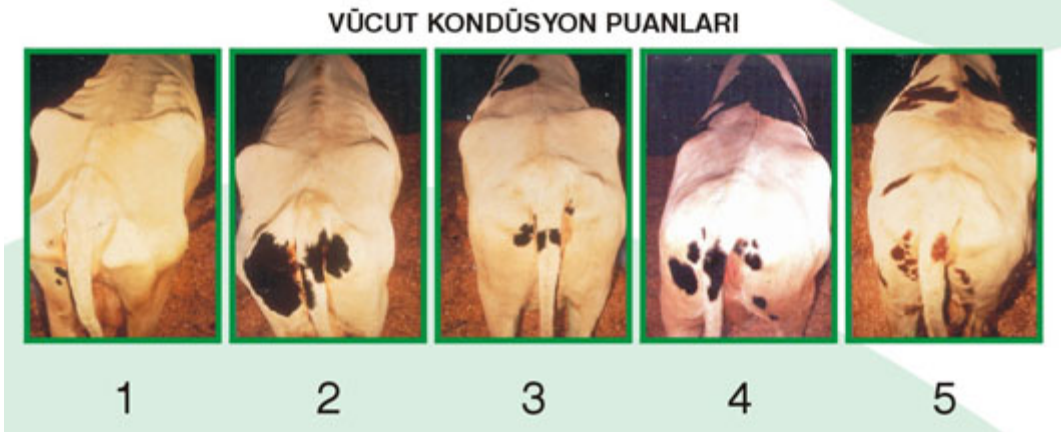
Vücut kondüsyon skorlandırması, süt sığırlarının enerji dengesini ve beslenme durumunu değerlendirmek için oldukça önemli ve pratik bir uygulamadır. Skorlama, 0.25 birimlik aralıklardan oluşan beş puanlık bir skala üzerinden yapılmaktadır. Bir birim vücut kondüsyon puanının yaklaşık olarak 57 kg vücut ağırlığına eş değer olduğu bildirilmiştir (20).

Süt sığırlarının kuruya çıkmadan önce vücut kondüsyon skorlarının 3.00 – 3.50 arasında olması istenen bir özelliktir. Kondüsyon skorunun daha düşük olduğu durumlarda laktasyonun son 3 ayında rasyonun enerji düzeyinde düzenleme yapılmalıdır. Kuru dönemdeki süt sığırlarının kondüsyon kaybetmelerine hiçbir zaman müdahale edilmemelidir (19).



**Şekil-1:** Laktasyon dönemi ve vücut kondüsyon skoru arasındaki ilişki (11).

Hayvanlar kuru döneme uygun bir vücut kondüsyon skoru ile girmişlerse erken kuru dönem boyunca 0.25–0.35 kondüsyon puanı kazanmalıdırlar. Süt sığırları doğuma girecekleri zaman kondüsyon skorları 3.50–3.75, düvelerin ise 3.25–3.50 arasında olmalıdır. Erken laktasyon döneminde (0–70 gün) süt sığırlarının 1 kondüsyon skorundan daha fazla kondüsyon kaybetmesine izin verilmemelidir. Vücut kondüsyon skoru, erken laktasyon dönemi boyunca 2.5’in altına düşmemeli, orta laktasyon dönemi boyunca 2.75– 3.25 ve geç laktasyon dönemi boyunca da 3.00–3.50 arasında olmalıdır (18, 19, 21).



**Şekil-2:** Süt sığırlarında vücut kondüsyon skorlandırması (7).

### 2.3. Geçiş Döneminde Beslenme ve Döl Verimi Arasındaki İlişki

Geçiş döneminde özellikle yüksek verimli süt sığırlarında kuru madde tüketiminin azalması, negatif enerji dengesi ve iz mineral dengesizlikleri döl verimi ile ilgili birçok probleme yol açmaktadır. Geçiş döneminde süt sığırlarının vücut kondüsyon skoru ile döl verimi arasında önemli bir ilişki söz konusudur (22).

Erken laktasyon döneminde vücut kondüsyonu kaybı, negatif enerji dengesinin bir belirtisidir ve ovaryumlarda folikül gelişimini olumsuz etkilemektedir. Enerji dengesi ve vücut kondüsyon skoru, kandaki progesteron hormonu düzeyi arasında pozitif bir ilişki mevcuttur (23, 24).

Negatif enerji dengesi sonucunda meydana gelen subklinik ve klinik ketoziste kanda NEFA ve BHBA düzeyi yükselirken, glukoz düzeyinin düştüğü görülmektedir. Artan NEFA ve BHBA ovaryum aktivitesinde azalmaya neden olmaktadır.

Erken laktasyon dönemindeki süt sığırlarında vücut kondüsyon kaybı istenmediği gibi yüksek kondüsyon skoru da istenmez, bu durumda da döl verimi performansı azalmaktadır. Bunun nedeni yüksek vücut kondüsyonuna sahip sığırların doğumdan sonra daha az kuru madde tüketme eğiliminde olmaları ile ilişkili olduğu belirtilmektedir (23-25).

Erken laktasyon döneminde ileri derecede negatif enerji dengesinin bulunması, doğumdan sonra ilk östrus görölme zamanının uzamasına sebep olmaktadır. Buzağılamadan sonra ilk östrusun görölmesine kadar geçen sürenin uzamasının ilk tohumlamada gebe kalma oranını azalttığı bildirilmektedir (22). Erken laktasyon döneminde sütünde yüksek düzeyde aseton bulunan sığırlarda servis periyodunun uzadığı görülmüştür (26).

Negatif enerji dengesi ile birlikte protein eksikliği veya fazlalığı, enerji/protein dengesizliği, rasyondaki sindirilebilirliği yüksek protein oranı ve vitamin eksiklikleri de döl verimini olumsuz yönde etkilemektedir. Rasyondaki yüksek protein düzeyi aşırı amonyak ve üre oluşumuna neden olarak ovaryum aktivitesinin bozulmasına ve erken embriyonik ölümlere yol açabilir. Rasyonda enerji ve protein arasında dengesizlik olması, amonyağın döl verimi üzerine olumsuz etkilerini arttırmaktadır. Geçiş döneminde meydana gelen negatif enerji dengesi, rumende yıkımlanan proteinden elde edilen amonyağın mikrobiyal protein sentezi için kullanımını engellemektedir (27, 28).

Hem doğum hem de laktasyon süt sığırlarında büyük bir metabolik strese neden olmaktadır. Oluşan stres ve sindirim sisteminin laktasyon beslenmesine adapte olamaması, kuru madde tüketiminde azalmaya neden olmaktadır. Buna bağlı olarak bağışıklık sisteminin fonksiyonunu yerine getirebilmesi için gerekli besin maddeleri alınmadığından hayvanların immun sistemi yetersiz kalmakta ve hayvan enfektif hastalıklara daha dayanıksız hale gelmektedir. Aynı zamanda negatif enerji dengesinden dolayı kanda artış gösteren keton cisimcikleri lenfositlerin fonksiyonunu bozarak immun sistemi zayıflatmaktadır (29).

Ayrıca doğum sonrası ilk günlerde meydana gelen plazma östrojen ve kortizol düzeylerindeki artış, doğum sonrasında bağışıklık sistemini zayıflatan unsurların başında gelmektedir. Bütün bu sebepler döl verimi problemlerine zemin hazırlayan metritis oluşumuna yol açmaktadır (30-32).

#### **2.4. Peripartum dönemdeki Süt İneklerindeki Metabolik Değişiklikler**

Doğum yaklaştığında, plazma progesteron düzeyi düşerken, östrojen konsantrasyonu yükselmekte ve kuru madde alımının düşmesine neden olmaktadır. Doğumdan önce çeşitli stres faktörleri, enfeksiyon ya da besleme hataları nedeniyle rumende gram negatif bakteriler tarafından endotoksinler salınmaktadır. Bu toksinler vücutta yangısal yanıtı uyarak sitokinlerin salınımına neden olmaktadırlar. Tümör nekroz faktör-  $\alpha$  (TNF-  $\alpha$  ), interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6) gibi yangı mediatörleri, kuru madde tüketiminin daha da azalmasına yol açar. Gebeliğin son üç haftalık döneminde, fötüs ve plasentanın besin ihtiyacı en yüksek düzeye ulaşmaktadır. Aynı dönemde, rasyonun içeriğine bağlı olarak kuru madde tüketimi kuru dönemin başlangıcına göre % 10 – 30 arasında azalabilir. Bu düşüşün nedeni fötüsün büyümesi sonucu rumen kapasitesinin azalması ve plasentadan salınan interleukin-8 (IL-8) ve interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) gibi yangısal mediatörlerdir. Bu interlökinler, direkt olarak karaciğerde tümör nekroz faktör –  $\alpha$  (TNF  $\alpha$ ), serum amiloid A1 (SAA1) ve haptogloblin salınımını artırarak iştahı düzenleyen nörofizyolojik mekanizmaları olumsuz etkilemektedirler (11, 33). Plasentadan ve karaciğerden salınan yangısal mediatörler yağ dokularından yağ mobilizasyonunu stimüle ederek kanda belirgin NEFA ve BHBA artışına neden olabilmektedir (34, 35).

Ruminantlarda kan glukoz düzeyi diğerk hayvan türlerinden farklı olarak düzenlenmektedir. İnsanlarda gıda alınmasından sonra insülin salınırken, ruminantlarda farklı olarak glukagon salınır. Ruminantlarda glukoz düzeyini düzenleyen faktörlerden biri kortizoldür ve amino asitlerden glukoz yapımını artırmaktadır. Kuru madde tüketimi yetersiz olan ruminantlarda glukoz sentezlenebilmesi için, glukokortikoid konsantrasyonu yükseltilmektedir (36). Geçiş döneminde metabolizma, endokrin sistem, merkezi sinir sistemi ve bilinmeyen bazı mekanizmalarla düzenlenmektedir (37). Metabolizmanın adaptasyonunun sağlanmasında, çok hassas olan endokrin değışimler ve dokuların buna çok hızlı cevap verme yeteneğı de etkilidir. Hormonal düzenleme, homeostasis ve homeorezis ile sağlanır (11). Somatotropin, insülin ve insülin like growth faktör -1 (IGF-1) sekresyonunda azalma, glukagon ve büyüme hormonu (GH) konsantrasyonundaki artış bu dönemdeki en önemli endokrin değışimlerdenidir. Doğuma geç kuru dönem ve laktasyonun ilk günlerinde büyüme hormonu/insülin oranı artar. Bu oranın artışı, yağ dokudan uzun zincirli yağ asitlerinin mobilizasyonunu uyarır. Ayrıca, norepinefrin gibi lipolitik uyarılara yağ dokularının cevabını hızlandırır ve insülinin hedef dokularda etkinliğı ve hassasiyetini azaltır (10). Bu dönemde, insülin konsantrasyonu negatif enerji dengesinden dolayı düşer ve bu da yağ dokularından NEFA salınımına ve yağ asitlerinin karaciğerde birikmesine ve perifer dokulara oksijen taşınımının azalmasına neden olmaktadır. İnsülin konsantrasyonu düştüğünde, yağ dokulardan yağ mobilizasyonu çoğunlukla sempatik sinir sistemi ile uyarılır. Negatif enerji dengesine girildiğinde yağ dokularından salınan NEFA vücutta glukozdan sonra sekonder enerji kaynağı olarak kullanılmaktadır. Ayrıca NEFA karaciğerde keton cisimlerinin oluşumuna yol açar. Keton cisimcikleri, dokularda glukozu alternatif olabilen suda eriyebilir enerji kaynağı olarak kullanılır ve böylece süt sentezlenebilmesi için glukoz sağlanmış olur (10, 38). Kan dolaşımında bulunan NEFA, karaciğerle birlikte tüm vücut dokularına dağılır ve erken laktasyon döneminde meme bezlerine de giderek süt yağının yapısına katılır. Bu yüzden süt ineklerinde süt yağı konsantrasyonunun artması ya da süt yağ/protein oranının yükselmesi, ketozis indikatörü olarak kabul edilmektedir. Negatif enerji dengesi durumunda yağların enerjiye dönüştürülmesinde karaciğer çok önemli bir rol oynar. Kalpten çıkan kanın yaklaşık 1/3'ü karaciğere gelir ve yüksek düzeyde bulunan NEFA karaciğerde birikir (10). NEFA hepatositlerde tamamen CO<sub>2</sub>'e kadar okside edilebilir veya bir kısmı da

keton cisimcikleri olan BHBA ve aseto asetik asite dönüştürülür. NEFA'nın fazla kısmı tekrar trigliseritlere esterleştirilerek sitozolda depolanır (10).

Geçiş döneminde karbonhidrat ve protein metabolizmasında da değişimler meydana gelmektedir (1, 37). Postpartum dönemde karaciğerde propiyonik asitten glukoz sentezi artar. Doğum zamanında, kuru madde tüketiminin azalması nedeniyle yeterli miktarda propionik asit sağlanamaz ve bu nedenle glukoz açığı alanin gibi aminoasitler ve gliserol kullanılarak kapatılmaya çalışılır. Laktasyonun ilk üç haftasında, süt proteininin ve glukozun sentezlenmesi için gereken aminoasitler, vücudun kendi proteinlerinden mobilizasyonun artması ile sağlanmaktadır. Bu dönemde hayvana mutlaka metabolize edilebilir protein kaynakları sağlanmalıdır, aksi durumlarda, uzun süre hayvanın kendi protein depolarından protein sağlanması hayvanın sağlığı, verim performansı ve üremesinde olumsuzluklara yol açmaktadır (6, 39).

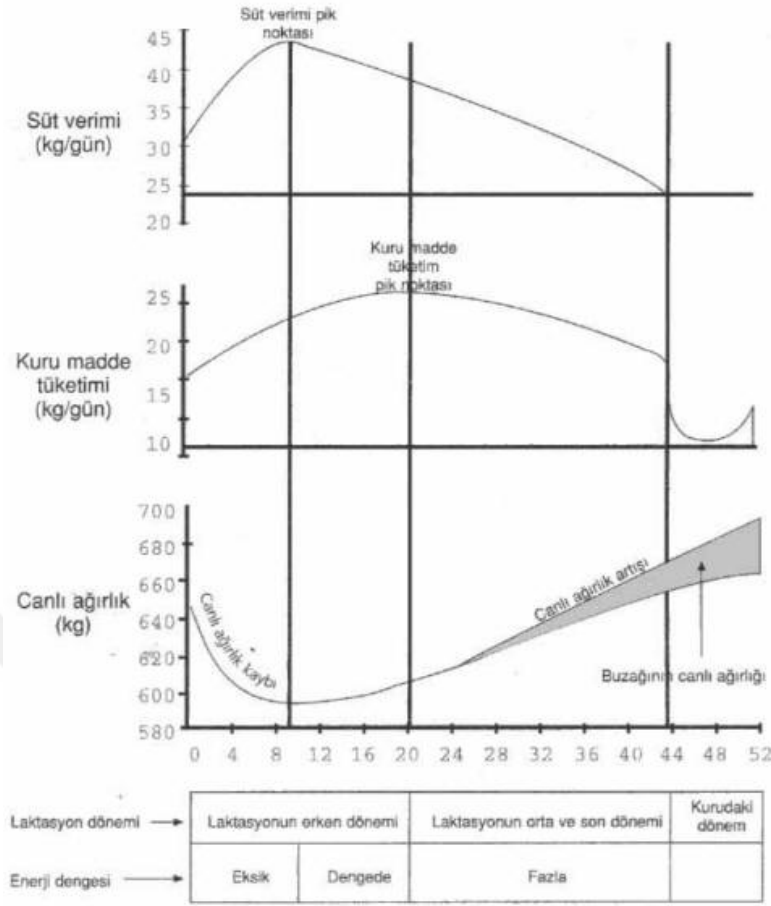
Süt sığırlarının neredeyse tamamı geçiş döneminde çeşitli derecelerde immun supresyona maruz kalmaktadır (6, 40, 41). Bu dönemde çeşitli enfeksiyon hastalıklarının insidansında, stres faktörlerinin direkt etkili olduğu ileri sürülmektedir (37). Doğumdan sonra mastitis ve metritis görülme sıklığının yüksek olması immun sistemin baskılanmasının bir sonucu olarak kabul edilmektedir. Karaciğer yağlanması olan ve vücut kondüsyon skoru aşırı yüksek olan süt sığırlarında immun supresyonun daha şiddetli olduğunu bildirilmektedir. Bu dönemde, nötrofil ve lenfosit fonksiyonlarının her ikisinde de % 25-40 düşüş görülmektedir (33, 34). Aynı zamanda hipokalsemi ve ketozis gibi metabolik hastalıkların bulunması immun supresyonu daha da şiddetlendirmekte ve immun fonksiyonun %60-80'ini kaybetmesine yol açmaktadır. Stres kortizol konsantrasyonunun artmasına ve immunsupresyonun daha da şiddetlenmesine neden olarak geçiş dönemindeki sığırların hastalıklara duyarlı hale gelmelerine sebep olmaktadır. Forslund ve ark. (36) ketozisli sığırlarda kan glukoz düzeyinin normal, kortizol konsantrasyonunun ise düşük olduğunu ve ketozis tedavisinde glukokortikoid kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Sempatik sinir sisteminin uyarılması ve stres hormonlarının (glukokortikoidler ve epinefrin) salınımı, süt üretimini düşürmektedir. Hormonlar ve yangısel mediyatörler süt sentezi için önemli hormonların (büyüme hormonu, insülin, glukagon ve tiroid) salınımını değiştirebilirler. Samanc ve ark. (42) kuru dönemin ortalarında şekillenen hipotiroidizmin postpartum dönemdeki karaciğer yağlanmasının erken bir göstergesi



olabileceğini rapor etmişlerdir. Enfeksiyon ve stres durumunda salgılanan sitokinler, karaciğerde lipid sentezinin artmasına neden olmaktadır. Sitokinlerin bu hepatik etkisinin mekanizması tam olarak açıklanmadığı, ancak sitokinlerin lipid sentezi ile yakından ilgili bir gen olan sterol regulatory element binding transcription factor 1 (SEREBF 1)'in aktivasyonunu hızlandırdığı ve karaciğer triacilgliserol konsantrasyonunu artırdığı bildirilmiştir (37, 43).

Pro-inflamator sitokinler laktasyon dönemindeki normal metabolik dengeyi bozmakta ve kaslarda zayıflama, yağ mobilizasyonunun artması, karaciğer yağlanması ve karaciğerde akut faz cevabın ortaya çıkmasına sebep olmaktadır. Pro- inflamator sitokinler plazmada kolesterol ve albumin, retinol bağlayan protein, apolipoproteinler gibi proteinlerin sentezini azaltırken fibrinojen, globulinler, haptoglobulin, seruloplasmin, c reaktif protein, serum amyloid A, kalsitonin-gen-ilişkili peptid ve lipopolisakkarid bağlayıcı proteinin sentezini artırmaktadır. Bütün bu değişimler direkt olarak hayvanın sağlık durumunu ve üretimini olumsuz etkileyebilmektedir (35).

Laktasyonun başlamasıyla beraber kalsiyum depolarından önemli miktarlarda iyonize kalsiyum çekilmektedir. Bunun yanı sıra endotoksinler ya da yangı mediatörlerinin de hipokalseminin oluşumunda rol aldığı ve düz kas fonksiyonlarında zalmaya neden olduğu bildirilmektedir (37). Bu nedenle rumen ve abomasum motilitesinin sayısında ve gücünde azalma olmaktadır. Abomasum motilitesinde azalma olması abomasum deplasmanı oluşma riskini arttırmaktadır. Ayrıca hipokalsemiye bağlı olarak meme başı sfinkterinin kontraksiyon gücünün azalması mastitis riskini, yem tüketiminin azalması ketozis ve karaciğer yağlanması riskini ve immun sistem aktivasyonu bakımından nötrofil ve lenfositlerin fonksiyon kaybını arttırmaktadır (44).



**Şekil-3:** Süt Sığırlarında Laktasyondan İtibaren Süt Verimi, Kuru Madde Tüketimi ve Canlı Ağırlıklarının Değişimi (26).

#### 2.4.1. Hormonal Dengedeki Değişimler

Geçiş dönemi sırasında süt sığırlarının doğum sonrasında laktasyona hazır hale gelebilmeleri için endokrin sisteminde, sindirim sisteminde ve metabolizmasında önemli değişiklikler meydana gelmektedir. Bu değişimler üreme sistemi, sindirim sistemi, bağışıklık sistemi ve meme bezlerinin laktasyona hazırlanması üzerine hızlı ve belirgin bir şekilde etki göstermektedir. Doğuma yakın dönemde annede meydana gelen endokrin değişiklikler hem anayı doğuma hazırlamakta hem de memelerin gelişimi ve sütün sentezlenmesine yardımcı olmaktadır. Doğumdan önceki günlerde kandaki prolaktin düzeyi hızlı bir şekilde yükselir ve bu sırada kolostrum sentezlenmeye başlar (45).

Gebelik süresince progesteron hormonu yüksek düzeyde bulunurken doğumdan hemen önce düşmektedir. Bu sırada plazmada östrojen konsantrasyonu ile birlikte fötüstan salınan kortizol düzeyi hızla yükselmektedir. Doğum sırasında prostaglandin  $F_2 \alpha$  (PGF 2  $\alpha$ ) konsantrasyonu en yüksek düzeyine ulaşır, corpus luteumun hızla lize olmasına neden olmaktadır. Bu durum progesteron sentezinin inhibisyonuna yol açmaktadır. Doğuma yakın zamanda plazma östrojen düzeyindeki yükselme hayvanda kuru madde tüketiminin azalmasına neden olmaktadır (17, 45, 46). Hatta bu dönemde kuru madde tüketiminin %30 - 40 azaldığı bildirilmiştir. Kuru madde tüketimindeki aşırı azalma metabolizma hastalıklarını da beraberinde getirmektedir (1). Gebeliğin son döneminden laktasyon dönemine kadar plazma insülin düzeyi azalırken büyüme hormonu düzeyi artmaktadır. Doğum sırasında her iki hormon düzeyinde dalgalanma gözlenmektedir (47). İnsülin düzeyindeki azalmaya karşın büyüme hormonundaki artış, adrenalin ve noradrenalin gibi lipolizi artıran katekolaminlerde artışa neden olmakta ve sonuç olarak yağ dokusu mobilizasyona predispoze hale gelmektedir (1).

#### **2.4.2. Glukoz Metabolizmasındaki Değişimler**

Ruminantlarda glukoz yaşama payının karşılanması ve süt sentezlenmesi amacıyla kullanılması bakımından oldukça önemlidir. Gebeliğin sonlarında fötüsteki hızlı büyüme, meme bezlerinin gelişimi ve süt şekeri olarak da bilinen laktoz sentezlenmesi açısından glukozu olan ihtiyaç artmaktadır (48). Geçiş döneminde süt sığırlarında kan glukoz düzeyi genellikle sabittir, ancak doğumla birlikte glukagon ve glukokortikoidlerin karaciğerde glikojen rezervlerini yıkımlaması, doğum stresi ile plazma kortizolünün artışı gibi sebeplerle kan glukoz düzeyi yükselmekte, laktasyonun başlamasıyla da hızlı bir şekilde düşmektedir. Glukagon insülin üretimini, glukoneogenezi ve glukogenolizi sitümüle etmektedir. Ruminantlarada glukagonun lipolitik etkisi de bulunmaktadır (34).

Kan glukozunun meme bezlerinde laktoz sentezi için kullanılması önemli miktarda glukoz açığına sebep olur; fakat karaciğerin tam glikoneogenezis kapasitesine ulaşması 14 günü bulmaktadır (49).

Geçiş döneminde meme bezlerindeki glukoz ihtiyacı maksimum düzeye çıkmakta, kan glukozunun hemen hemen tamamı laktoz sentezi için kullanılmaktadır. Negatif enerji dengesindeki süt sığırları süt sentezleyebilmek için glukozun çoğunu meme

bezlerine ayırdığı için diğer doku ve organlarda daha az miktarda glukoz kullanılabilir. Doğumdan 2 hafta önce kolostrogeniz başlaması nedeniyle doğum öncesi son hafta memede glukoz kullanımı hızla artmakta ve doğum sonrasındaki ilk günlerde maksimuma çıkmaktadır (45).

Ruminantlarda tüketilen karbonhidratların çok azı glukoz şeklinde emilir, rumende fermente edilen karbonhidratların büyük bir kısmı uçucu yağ asitlerine (UYA) dönüştürülmektedir. Ruminantlarda glukozun çoğu propiyonik asitin karaciğerde glukozla dönüştürülmesi ile elde edilmektedir. Geçiş döneminde kuru madde tüketiminin azalmasına bağlı olarak propiyonik asit miktarı azalmaktadır. Bu durumda glukoz sentezi için laktat, gliserol, yağ ve proteinlerden glukoz sentezlenmeye çalışılmaktadır. Ruminantlarda glukoz eksikliğini kapatmak için ya glukozun hücre içine girişi hızlandırılmakta ya da vücuttaki oksidasyon azaltılmalıdır (50).

### **2.4.3. Lipid Metabolizmasındaki Değişiklikler**

Geçiş döneminde süt sığırlarında lipid metabolizması en kritik metabolik olayların başında gelmektedir. Süt sığırlarında geçiş döneminde değişen derecelerde enerji eksikliğine maruz kaldıkları için negatif enerji dengesi gelişecek ve vücut yağları mobilize olacaktır (45). Vücut yağlarının mobilize olmasıyla birlikte kanda NEFA düzeyi artmaktadır. NEFA'lar vücudun değişik dokularında enerji kaynağı olarak, meme bezlerinde ise süt yağı sentezlenmesi için kullanılmaktadır (50). Karaciğer tarafından alınan NEFA okside edilerek enerji sağlanır ya da keton cisimciklerine dönüştürülür. Geriye kalan yağ asitleri de esterleştirilerek triasil gliserol (TAG) ve fosfolipidlere dönüştürülmektedir. Serbest kalan yağlar için karaciğerde çok düşük dansiteli lipoproteinler (VLDL) sentezlenir ve bu lipidler VLDL' lere bağlanarak kan dolaşımına verilmektedir (1).

Negatif enerji dengesinde mobilize olan yağ asitleri doku ve organlarda enerji kaynağı olarak kullanılmaları yanısıra bazı istenmeyen, patolojik etkileri de bulunmaktadır. Kan dolaşımında NEFA'nın uzun süre yüksek kalması karaciğerde ve kas hücrelerinde yağ birikimine neden olmakta buna bağlı olarak ketozis ve karaciğer yağlanması yol açmaktadır (9).

Geçiş döneminde ruminantlarda peroksizomlarda da yağ asitleri okside olmaktadır. Bu metabolik yol geçiş döneminde NEFA'nın yüksek seyretmesinden dolayı karaciğerde aşırı yağ birikmesinin engellenmesine yardımcı olmaktadır (51). Süt

sığırlarında optimum verimin devam ettirilebilmesi için karaciğerin korunmasına mümkün olduğu kadar fazla dikkat edilmelidir. Karaciğerde aşırı miktarda yağ birikimi amonyak başta olmak üzere azotlu bileşiklerin üreye dönüştürülmesini engellemektedir (52). Drackley ve ark. (1) amonyağın karaciğerde glukoneogenezisi engellediğini ve hayvanda zaten var olan negatif enerji dengesini şiddetlendirdiğini bildirmiştir.

#### **2.4.4. Kalsiyum Metabolizmasındaki Değişiklikler**

Doğumdan bir hafta öncesinde meme bezi kolostrum sentezlenmeye başlar ve kalsiyum hızlı bir şekilde kullanılmaya başladığı için kan Ca düzeyi düşer, hipokalsemi şekillenir ve bu durum yaşlı hayvanlarda daha şiddetli seyreder. Laktasyonun başlaması ile birlikte hızlı bir şekilde meme bezlerinden kalsiyum atılımı olur. Bu dönemde Ca ihtiyacı dört kata kadar artmaktadır. Sindirim sisteminin kalsiyum emilimine adapte olmasına kadar geçen süre içinde Ca kemiklerden mobilize edilerek kan Ca düzeyi dengelenmeye çalışır (53). Kalsiyumun vücutta işlevini yerine getirebilmesi için iyonize kalsiyum haline gelmesi gerekmektedir. Laktasyonun başlamasıyla iyonize kalsiyumun çoğu süt sentezi sırasında kullanılır ve dolaşımdaki iyonize kalsiyum düzeyi hızlı bir şekilde düşer. Parathormon kalsiyumun kemikten kana mobilizasyonu sağlar; fakat geçiş döneminde hormonlardaki dengenin değişken olması nedeniyle kalsiyum mobilizasyonu yavaşlar ve hipokalsemi meydana gelebilir (44, 53).

#### **2.5. Geçiş Döneminde Görülen Önemli Metabolizma Hastalıkları**

Süt sığırlarında geç gebelikten erken laktasyona geçerken negatif enerji dengesi (NED) oluşması normal bir durumdur. Geçiş dönemi doğum öncesi üç ve doğum sonrası üç haftayı kapsar, bu süreçte ineğin doğum ve laktasyona hazırlanabilmesi için metabolik düzenlemeler vücudun bu döneme uyum sağlaması gereklidir (1, 17).

Süt sığırlarında geçiş döneminde karaciğer yağlanması, doğumdan sonra ortaya çıkan ketozis, subklinik ketozis, abomazum deplasmanları, hipokalsemi, retensiyon secundinarum, metritis ve mastitis en önemli metabolik hastalıklar arasında yer almaktadır (54, 55).

### 2.5.1. Karaciğer Yağlanması

Karaciğer yağlanması veya hepatik lipidozis erken laktasyondaki süt sığırlarının en önemli metabolik hastalıklarından biridir. Karaciğer yağlanması hayvanın genel sağlık durumunun bozulması yanısıra verim ve reproduktif performansın azalmasına da neden olur (56). Kuru dönem veya doğumdan sonraki ilk iki ayda negatif enerji dengesinde bulunan yüksek verimli süt sığırlarında görülme olasılığı daha fazladır. Laktasyon başladıktan sonra enerji ihtiyacını yemden karşılayamayan sığırlarda enerji açığını kapatmak için vücut yağları aşırı miktarda mobilize olur ve bu yağların karaciğer parankim hücrelerinde (hepatositlerde) yaygın olarak birikmesiyle karaciğer yağlanması başlar (57, 58).

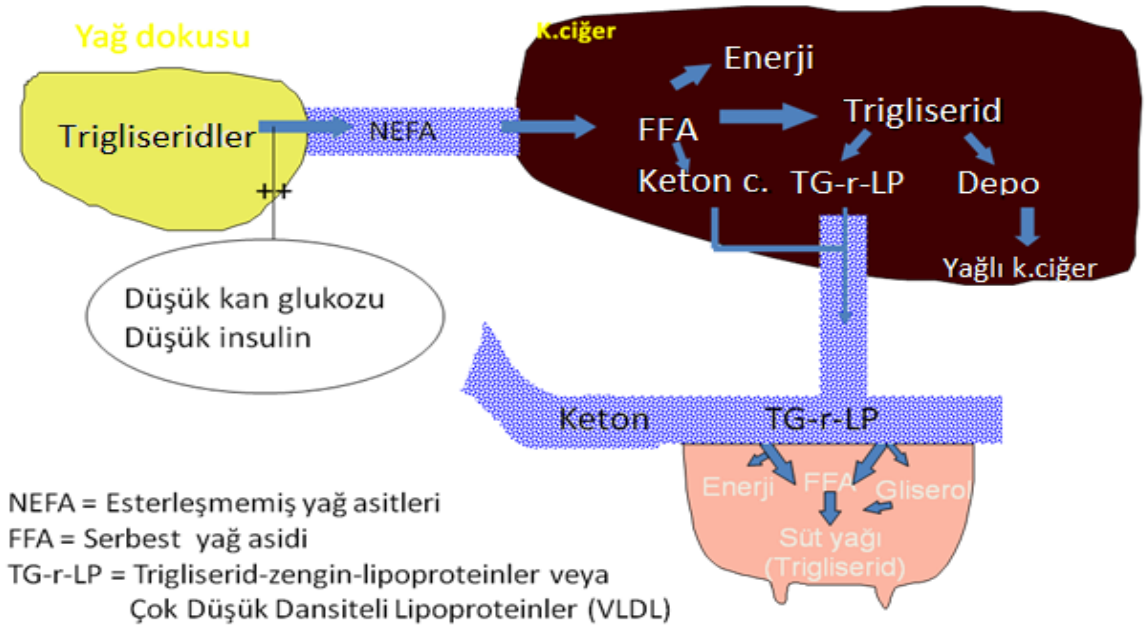
Karaciğer yağlanmasının erken laktasyon döneminde bulunan ve klinik olarak normal görünen sığırlarda da görüldüğü bildirilmiştir. Yağ mobilizasyonunun artışı karaciğere gelen NEFA miktarının artarak hepatositlerde yaygın bir şekilde birikmesine neden olur. Bu durum enfeksiyon hastalıklarının insidansının artışına, tedavi sürelerinin uzamasına ve hatta ölümlere yol açabilir (59, 60). Çoğunlukla erken laktasyon döneminde ortaya çıkan karaciğer yağlanması hayvanlarda sonun atılamamasına (retensiyo sekundaryum), ketozis, abomasum deplasmanları, ve hipokalsemi gibi metabolizma hastalıklarının ortaya çıkmasına predispozisyon sağlar (54, 61, 62). Karaciğer yağlanması sığırlarda verimin düşmesine ve infertilite probleminin artmasına da neden olur (63, 64).

Karaciğer yağlanması doğum sonrasında çoğunlukla subklinik olarak seyretse de bazı sığırlarda orta derecede ya da şiddetli derecede klinik bulgular görülebilir. Bu hastalık hepatik lipidozis, fatty liver sendrom, fat cow sendrom ve lipomobilizasyon sendrom gibi isimlerle de bilinmektedir (11, 34).

Negatif enerji dengesine yanıt olarak adipoz dokulardan mobilize olan NEFA'nın hepatositlerde aşırı miktarda birikimi karaciğer yağlanmasına sebep olur. Hastalık sütçü sığırlarda doğum sonrası ilk dört haftada görülür. İştahın azalması, kilo kaybı ve depresyon şeklinde klinik bulgularla seyreder. Rumen hareketlerinin azalması, güçsüzleşmesi ve süt veriminin düşmesi gibi non spesifik belirtiler de gözlenir. Bu hastalık süt sığırcılığı yapılan dünyanın her yerinde yaygın olarak gözükmektedir (10, 11, 34, 65).

Kuru dönem ve gebeliğin son döneminde vücut kondüsyon skoru yüksek olan ya da doğuma yakın dönemde yetersiz beslenen sığırlarda vücut yağlarının fazla miktarda mobilize olması karaciğer yağlanması açısından risk oluşturmaktadır (34, 66). Rasyondaki enerji eksikliği bir risk faktörü olarak kabul edilir; ancak bunun yanında protein içeriğinin düşük olması ya da rasyondaki enerji/protein dengesizliği de karaciğer yağlanmasına sebep olabilmektedir (11, 67).

Karaciğerde sentezlenen triasilgliserol'ün (TAG) aşırı miktarda artması ve ihtiyaç duyulan organlara yeterince gönderilmeyip karaciğerde depolanması sonucu karaciğer yağlanması şekillenir. Kanda NEFA konsantrasyonunun yükselmesi, yağ asitlerinin karaciğerdeki peroksizom ve mitokondrilerdeki metabolizması, keton cisimlerinin üretimi ve lipoproteinlerin salınması karaciğer yağlanması oluşumunda önemli faktörlerdir (1). Periparturient dönemde kanda NEFA düzeyi ne kadar artarsa karaciğerde yağ birikimi de o kadar artmaktadır. Adipoz dokudaki mobilizasyon hormonların aktivitesiyle düzenlenmektedir. Plazmada insülin konsantrasyonunun düşmesi adipoz dokulardan NEFA salınımının artmasına neden olarak karaciğere gelen yağ asidi miktarını artırır. Kuru döneme oranla laktasyonun erken döneminde karaciğere akan kan miktarı önemli ölçüde arttığı için karaciğerde biriken NEFA miktarı da artar. Ruminantlarda karaciğerde trigliserit üretimi diğer türlere benzer ve üretilen trigliseritler karaciğerden dışarıya çok düşük dansiteli lipoproteinler (VLDL) ile taşınır. Lipoprotein sentezi karaciğer yağlanmasının oluşumunda önemli role sahiptir. Lipoproteinler genellikle lipid taşıyıcısı olarak bilinse de, endotoksin bağlama ve bu toksinleri nötralize etme yeteneğine de sahiptirler. Lipoproteinler endotoksinlerle bağlandıkları zaman karaciğer hücreleri tarafından temizlenirler. Bu komplekslerin karaciğerde temizlenmesi immun cevapları aktive ederek karaciğerde lipid birikiminin artmasına sebep olur (35). Sığırlarda peripartum dönemde VLDL sentezi bilinmeyen bir şekilde azaldığı ve bu durum karaciğere biriken yağ miktarının daha da artmasına yol açtığı bildirilmektedir (10, 34, 35). Karaciğer yağlanması çoğunlukla geri dönüşümlü bir durum olup VLDL sekresyonunun düzene girmesiyle birlikte ortadan kalkar. Ancak, VLDL sentezinin uzun sürmesi karaciğer fonksiyonlarının azalmasına ve diğer metabolizma hastalıklarının insidansının artmasına predispozisyon sağlamaktadır (34, 35).



**Şekil-4:** Negatif enerji dengesi ve karaciğer yağlanması ilişkisi (34).

### 2.5.2. Subklinik ve Klinik Ketozis

Ketozis enerji yetersizliğine bağlı olarak hipoglisemi ve keton cisimciklerinin kandaki konsantrasyonunun yükselmesi ile karakterize bir metabolizma hastalığıdır. Keton cisimciklerinin kandaki konsantrasyonuna ve klinik bulgulara göre klinik veya subklinik ketozis olarak adlandırılır. Hastalık laktasyonun ilk 3-4 haftasında sıklıkla görülmekle birlikte daha sonraki dönemlerde de ortaya çıkabilir. Klinik belirti gösteren hayvan sayısı düşük olabilir; ancak subklinik düzeydeki hayvanların sayısı daha fazladır ve hastalığın sürüdeki insidansı % 70 e kadar ulaşabilir (11, 68). Bazı hayvanların ketozise predispoze oldukları ve hastalığı geçirmiş hayvanların bir sonraki laktasyonda da ketozis oluşma olasılığının fazla olduğu bildirilmiştir. Kuru dönemde kondüsyon skoru yüksek olan sığırlarda hastalık riski daha da artmaktadır. Hastalığın primer ketozis (verimsel ketozis), sekonder ketozis, alimenter ketozis, açlık ketozisi ve



beslenme yetersizliğine bağlı ketozis gibi tipleri vardır; ayrıca Tip I ve Tip II ketozis olarak da sınıflandırma yapılmaktadır. Bir sığırdaki hastalığın birkaç tipi aynı anda bulunabilir (10, 11, 56, 68). Erken gebelik döneminde negatif enerji dengesindeki birçok inek, klinik bulgu göstermez, ancak bu hayvanlarda kan idrar ve süt keton düzeyleri yüksektir ayrıca süt verimi ve döl veriminde düşüşler gözlenir (56). Subklinik ketozisli ineklerde süt veriminde günde 1-2 lt verim kaybı olduğu bildirilmektedir. Laven (69) subklinik ketoziste süt veriminin %17.20 oranında düştüğünü saptamıştır. Yapılan bir çalışmada (70) 219 sürüden alınan yıllık ortalamalar 100 yetişkin hayvan başına 0.5 bulunmuş, ancak kanında yüksek düzeyde BHBA ve NEFA bulunan subklinik ketozis gösteren hayvanların yüzdesi çok daha yüksek olarak belirlenmiştir. Ketozis pozitif hayvanların prevalansının süt verimi pike ulaştıktan sonra azaldığı ve hiperketonemi ile yüksek süt verimi arasında pozitif korrelasyon olduğu belirtilmektedir (71). Ketozisli ineklerde ketonemiye bağlı olarak infertilite, ovaryum bozuklukları, uzayan servis periyodu ve ilk tohumlamadaki gebelik oranında düşüş ortaya çıkmaktadır (56).

Tip I ketozis negatif enerji dengesine bağlı olarak ortaya çıkar ve kandaki insülin konsantrasyonu düşüktür. Tip I ketoziste glukoz prekürsörleri kullanılarak (propiyonik asit, yağlar, amino asitler vb.) glukoz sentezlenmeye çalışılır, bu durumda kan glukozu oldukça düşüktür ve kandaki keton cisimciklerinin konsantrasyonu yükselmiştir. Tip I ketozisin prognozu tedavi edildiği takdirde iyidir ve tedaviye etkili bir yanıt alınır. Tedavinin yanı sıra rasyonda enerji miktarı artırılarak da koruma sağlanabilir (10, 68).

Tip II ketozis ise metabolik olarak tip II diyabete benzerlik gösterir, her iki hastalıkta da kan glukoz ve insülin düzeyleri yüksektir. Her iki durumda da insülin direnci şekillenmiştir. Kuru dönemde vücut kondüsyon skoru yüksek olan sığırlarda tip II ketozis riski daha fazla olmasına rağmen zayıf ineklerde de ortaya çıkabilir.

İnsülin direnci oluşumundaki en önemli nedenlerden biri de hayvanın vücudunda aşırı yağ birikimidir. Erken laktasyon döneminde dokularda glukoz ihtiyacı oldukça fazladır, buna rağmen dokularda insülin direncinin oluşması enerji eksikliğini daha da şiddetlendirmektedir. Postpartum dönemde strese maruz kalan ve negatif enerji dengesindeki obez sığırlarda vücut yağları hızlı bir şekilde mobilize olur ve mobilize olan yağlar karaciğer yağlanması sebepleri olur. Bu durumda keton cisimciklerinin de oluşmasıyla birlikte iştah daha da azalır.

Vücuttaki aşırı yağ birikimi ve tip II ketozis bütün sığırlarda ciddi metabolik hastalıkların (karaciğer yağlanması, metritis, retensio secundinarum, hipokalsemi vb)

ortaya çıkmasına neden olur; ancak düvelerde daha da tehlikelidir ve hayvanların iyileşme süresi daha uzundur. Tip II ketozisli sığırlarda kanda keton cisimciklerinin konsantrasyonu Tip I ketozise göre daha düşük olmasına rağmen tedavisi Tip I ketozisten daha zordur. Bu tip hayvanlarda karaciğer yağlanması daha şiddetli olup karaciğerin glukoz sentezleme kapasitesi daha da azalmıştır. İyileşme süresi daha uzun olduğu gibi NED ile birlikte hayvanlar immunsupresif hale gelir. Enerji yetersizliği durumunda immun sistem hücreleri yeteri kadar fonksiyonunu yerine getiremez (55).

Şiddetli immun supresyon oluşan ketozisli sığırlar enfeksiyon hastalıklarından çok daha fazla etkilenip ölebilirler (68). Vücut kondüsyon skorunun aşırı yüksek olması, abomasum deplasmanı, ketozis, enfektif hastalıkların insidansının artması ve yüksek mortalite gözlenmesi durumunda sürüde Tip II ketozisten şüphe edilmelidir. Kuru dönem rasyonlarında düzenleme yapıp hayvanlarda aşırı yağlanmanın önlenmesi ve immun sistem desteği ile verim kayıpları azaltılabilir (10, 55, 68).

#### **2.5.2.1.1. Ruminantlarda Glukoz Metabolizması**

Enerji metabolizmasının düzenlenmesi açısından, kanda yeterli düzeyde glukoz konsantrasyonunun olması önemlidir. Ruminantlarda rasyonla alınan karbonhidratlar rumende fermentasyona uğrayarak %70 oranında asetat, %20 oranında propiyonat ve %10 oranında bütirik aside dönüştükleri için, heksoz şekerlerin emilimi çok düşüktür. Bundan dolayı glukoz ihtiyacı büyük ölçüde glukoneogenezisle sağlanmak zorundadır. Propiyonat ve amino asitler; büyük ölçüde glukoneogenezis kaynağı iken, laktat ve gliserol ise daha az öneme sahiptir (72). Propiyonat rumende nişasta, lif ve proteinden üretilmektedir. Bu besin maddeleri portal dolaşıma katılırlar ve birinci derecede glukoz üretiminden sorumlu organ olan karaciğer tarafından uzaklaştırılırlar. Propiyonat en önemli glukoz prekürsürüdür ve artan oranlarda kullanımı, karaciğerin diğer glukoz prekürsörlerinden yararlanımını erteler (71). Propiyonat üretimi rasyonda yüksek oranda tahıl kullanımı ile artar (10). Amino asitlerin çoğunluğu glukoz prekürsürüdür ve aynı zamanda glukoneogenezis için önemli kaynaklardır. Rasyondaki proteinlerin yanısıra vücuttaki protein depoları da aynı zamanda önemli bir kaynaktır ve ikisi birlikte süt proteinin oluşumu, süt laktozu sentezi ve enerji sentezine yardımcı olurlar.

Rasyonla alınan asetat periferel dokulara taşınarak meme dokusuna gelir ve burada uzun zincirli yağ asitlerine çevrilerek depo edilir ya da süt yağının yapısına katılır (72).

### **2.5.2.1.2. Enerji Dengesi**

Yüksek süt verimli ineklerde, laktasyonun ilk haftalarında genellikle negatif enerji dengesinden bahsedilir. Kuru madde tüketimi doğumdan sonraki 8-10. haftaya kadar pik seviyeye çıkamaz ancak süt verimi piki doğumdan sonraki 4-6. haftalarda gerçekleşir. Böyle bir durumda enerji alımı, gereksinimleri karşılayamaz hale gelir. Negatif enerji dengesine ve kan serumundaki düşük glukoz ve insülin düzeylerine yanıt olarak adipoz dokudan yağ mobilizasyonu başlar, serumda NEFA ve devamında BHBA düzeyi artar. Yağ asitlerinin hepatic mitokondrial aktivitesi, hem glukoneogenezisi hem de ketogenezisi aktive eder. Erken laktasyon dönemindeki inekler lipolitik fazdadırlar ve bu durum ketozis için önemli bir risk oluşturmaktadır (72).

### **2.5.2.1.3. Ketoziste Karaciğer Yetmezliği**

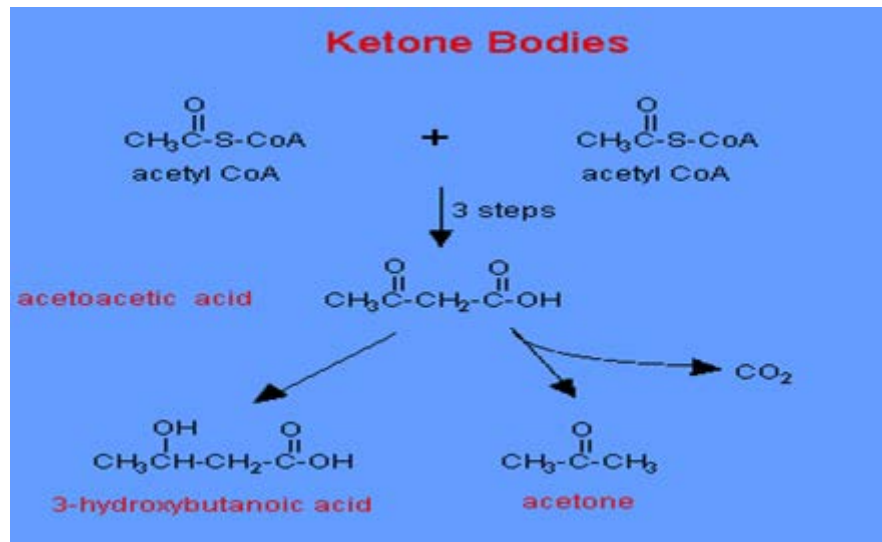
Ketozis olgularında karaciğer olumsuz yönde etkilenmekle birlikte bütün olgularda bu durum gözlenmeyebilir (10, 59, 73). Tip I veya spontan ketoziste; karaciğerde maksimum düzeyde glukoneogenezis uyarımı vardır ancak; glukoz prekürsörlerinin yetersiz alınımı durumunda karaciğerin glukoneogenezis kapasitesi, glukoz gereksinimini karşılayamaz ve bu durumda ketozis şekillenir. Non-esterifiye yağ asitlerinin hızlı bir şekilde hepatic mitokondrialara girişi gerçekleşir, devamında yüksek ketogenesis ile seyreden hastalıklar şekillenir ve kandaki keton cisimciklerinin düzeyi artar. Karaciğerde NEFA'lar çok az miktarda trigliseridlere dönüştürülür ve bu durumun sonucunda karaciğerde yağ birikimi şekillenir. Karaciğer yağlanması ile birlikte gözlenen Tip 2 ketoziste ise, karaciğerde yeterli düzeyde glukoneogenezis uyarımı yoktur, bu durumda mitokondrialar aktif şekilde NEFA alımı yapamazlar ve NEFA'lar sitosolde esterifiye edilerek trigliserid formuna çevrilir. Sığırların trigliseridleri karaciğerden transport etme yetenekleri düşüktür (10). Karaciğer yağlanmasının şekillenmesi karaciğerde glukoneogenezisi daha çok baskılar. Karaciğer yetmezliği özellikle kuru dönemde aşırı beslenen ineklerde daha yaygın olarak meydana gelir ve bu inekler yağlı karaciğer hastalığına predispozisyon gösterirler (59).

#### 2.5.2.1.4. Keton Cisimciklerinin Oluşması

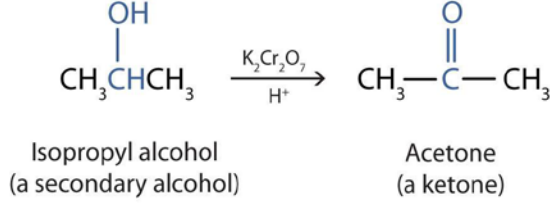
Keton cisimcikleri iki büyük kaynaktan köken alırlar:

- Rumende üretilen bütirat,
- Yağ mobilizasyonu.

Rumende üretilen bütiratın büyük bir kısmı, rumen epitellerinde 1-3 hidroksibütirat (BHBA) formuna çevrilerek emilir. Yağ mobilizasyonu sonucu üretilen serbest yağ asitleri karaciğere taşınır ve asetil-CoA ve NADH'a okside edilir. Asetil-CoA trikarboksilikasit (TCA) ile okside edilir ya da asetoasetil CoA'ya metabolize edilir. TCA yoluyla gerçekleşecek olan oksidasyon propiyonattan sağlanan okzaloasetat varlığının ortamda yeterli düzeyde olmasına bağlıdır. Eğer ki ortamda propiyonat dolayısıyla okzaloasetat yetersiz ise; asetil-CoA'nın TCA yoluyla oksidasyonu sınırlanır ve asetil-CoA; asetoasetil-CoA'ya ve sonrasında da BHBA'ya metabolize olur (47, 72). Keton cisimciklerinden olan BHBA ve asetoasetattan enerji kaynağı olarak yararlanılabilir. Normal şartlar altında, bu moleküller kanda bulunurlar ve kandaki konsantrasyonları karaciğerdeki üretim miktarları ile periferel dokularda kullanımları arasındaki dengenin sonucudur. Asetoasetat ve BHBA'nın dekarboksilasyonu ile aseton ile birlikte isopropanol de oluşur. İsoopropanol enerji eksikliğinin çok şiddetli olduğu durumlarda ortaya çıkar ve ketozisin sinirsel formunun oluşmasında önemli bir etkisi vardır (71, 72).



Şekil-5: Keton cisimciklerinin oluşumu (47)



**Şekil-6:** İsopropil alkol ve aseton ilişkisi (47)

### 2.5.2.1.5. İnsülin ve Glukogonun Rolü

Ruminantlarda enerji metabolizmasının düzenlenmesi; öncelikli olarak insülin ve glukagon tarafından yönetilir. İnsülin, glukozun hücreler tarafından kullanılmasını uyaran glukoregulator hormon olarak rol oynar ve hepatik glukoneogenezisi düşürür. Kan insülin konsantrasyonu kandaki glukoz ve propiyonat düzeylerinin düşmesi ile azalır. İnsülin ayrıca lipogenesisi uyararak ve lipolisisi inhibe ederek, liporegulator hormon olarak da görev yapar. Glukagon ise öncelikli olarak; insülin karşıtı etkiler yapan bir hormondur. Bu karşıt etki özellikle glukoz homeostasisinin sağlanmasında temel bir role sahiptir. Düşük insülin/glukagon oranı adipoz dokuda lipolizisi ve karaciğerde ketogenezisi stimüle eder. Erken laktasyon dönemindeki inekler; katabolik fazda olmaları ve düşük kan insülin düzeyine sahip olmalarından dolayı, bu ineklerde insülin/glukagon oranı düşüktür (59). Keton cisimciklerinin kandaki oranının yükselmesi, insülin üretimini stimüle eder ve negatif feedback etkisi gösterir (10, 59). Bu düzenleme, süt verimi için büyük bir belirleyici olan ve lipolitik etkilere sahip olan somatotropin tarafından yönetilir. Enerji alınımını azaltan, glukoz gereksinimlerini arttıran ve vücut yağlarının enerji kaynağı olarak kullanımını arttıran faktörler, keton cisimciklerinin üretimini ve ketonemiye arttırabilir. Klinik ketosis için risk faktörü oluşmasında, inekler arasında dikkate değer bir farklılık bulunmadığı bildirilmiştir (59).

### 2.5.2.2. İneklerde Ketozis Etiyolojisi

Doğum sonrasında yüksek verimli süt ineklerinde, ketozis bir dizi metabolik düzensizlikler sonucu ortaya çıkmaktadır. Çünkü; erken laktasyon döneminde yüksek süt verimli ineklerde negatif enerji dengesi oluşur ve sonuç olarak subklinik

ketozis meydana gelir. Bu duruma kuru dönemdeki yetersiz beslenme predispozisyon oluşturabilir. Ruminantlar ketosize karşı korunmasızdırlar ve az miktardaki glukoz emilimine rağmen; dokular için, özellikle de laktoz üretimi için glukoz gereksinim vardır. Ketozis, özellikle ineklerde artan glukoz ihtiyacından dolayı daha da şiddetlenir (9). Doğum ile laktasyon piki arasındaki süreçte glukoz ihtiyacı giderek artar ve tam anlamıyla karşılanamaz. Enerji alımındaki düşüşe bir yanıt olarak ineklerde süt veriminde düşme gözlenir, ancak bu durum; süt veriminin hormonal stimülasyonu yem tüketimindeki düşüşe baskın geldiği için, otomatik olarak gerçekleşmez. Bu şartlar altında, düşük kan glukoz düzeyi kan insülin düzeyinin düşmesine neden olur. Vücut depolarından mobilize olan uzun zincirli yağ asitleri hem düşük insülin/glukagon oranıyla hem de yüksek somatotropinin düzeyi ile ilişkilidir ve bu durum ketogenezin artışına neden olmaktadır (6).

Modern süt sığırcılığında laktasyon potansiyelindeki artıştan ötürü, negatif enerji dengesinde ve klinik olaylarda son yıllarda bireysel farklılıklarda bir artış söz konusudur. Birçok inekte, enerji ihtiyacı kuru madde tüketimi kapasitesinden fazladır ve aynı beslenme stresi altında hayvanlar arasında farklılıklar bulunmaktadır (10, 59, 71). Klinik ketozis olguları, doğumunu yeni gerçekleştiren hayvanlarda gözlenir ve bu hayvanlarda kuru madde tüketimi %15 - %20 oranında düşmektedir; bu kayıp butanediol ketojenik substratı ile kapatılmaya çalışılmaktadır (10, 72). Ketozisin hepatic glukojen miktarındaki azalma, trigliserid miktarındaki artış ve keton cisimciklerinin üretimi ile karakterizedir ve ketozis sadece bu hastalığa predispozisyon gösteren hayvanlarda şekillenmektedir (74).

#### **2.5.2.2.1. İneklerde Ketozis Tipleri**

Ketozisin biyokimyasal ve hormonal patogenezi ile predispozisyon faktörleri hakkında birçok teori bulunmaktadır. Genellikle ruminantlarda glukoz ve glikojen kaynakları hayvanların sindirim ve metabolik aktivitelerini karşılayamadığında klinik ketozis meydana gelir. Entansif ve ekstansif sürülerde hastalığın patogenezinde; glukoz gereksinimi, yetersiz propiyonat prekürsörü takviyesi ve lipid mobilizasyonu rol oynamaktadır. Böyle bir klasifikasyon, ketozisin şu formlarını içermektedir:

- Primer ketozis (Verimsel Ketozis)
- Sekonder ketozis
- Alimenter ketozis

- Açlık ketozisi
- Beslenme yetersizliklerine bağlı ketozis (56).

#### **2.5.2.2.1.1. Primer Ketozis ( Verimsel Ketozis )**

Asetonemi olarak da adlandırılan bu ketozis tipi birçok sürüde gözlenmektedir. Yüksek kondüsyona ve yüksek süt verimi potansiyeline sahip, dengeli rasyonlar ile beslenen ancak negatif enerji dengesi gösteren ineklerde meydana gelmektedir. Bireysel olarak ineklerde nüks etme eğilimi bulunmakla birlikte büyük olasılıkla hayvanlar arasındaki sindirim kapasitesi ve metabolik yararlanımdaki farklılıkların bir yansımasıdır. Olguların bir kısmı klinik ketosis olarak gözlenirken, daha büyük bir kısmı kanda keton cisimciklerinin bulunması ile karakterize ancak herhangi bir klinik semptomun gözükmediği subklinik ketozis şeklinde ortaya çıkmaktadır. Klinik ketozisin sürülerdeki insidansının %0,2 – 10 iken subklinik ketozis insidansının % 40'a kadar ulaşabildiği bildirilmektedir (56, 75 ).

#### **2.5.2.2.1.2. Sekonder Ketozis**

Yem tüketimindeki düşmeye bağlı olarak şekillenir. Yem tüketimindeki düşme, postpartum dönemde gözlemlenen abomasum deplasmanı, travmatik retikulitis, metritis, mastitis ve diğer hastalıkların bir sonucudur. Florozis görülen sürülerde ketozis olguları gözlenmektedir. Düşük düzeyde (9.5ppm) linkomisin ile kontamine rasyonları tüketen bir sürüdeki ineklerde rumendeki fonksiyon bozukluğuna bağlı olarak, kandaki asetonemi düzeyinde belirgin artış gözlendiği bildirilmiştir. Sekonder ketozis, ketozis olgularının önemli bir kısmını oluşturmaktadır (56, 75).

#### **2.5.2.2.1.3. Alimenter Ketozis**

Ketozisin bu formu silajdaki bütirik asit düzeyinin yüksek olması ve bütiratın lezzetsiz olması nedeniyle, yem tüketiminin azalması sonucu oluşur. Sulu ham maddelerden yapılan silajlar, yüksek bütirik asit düzeylerinden dolayı diğer silaj tiplerine göre daha fazla ketojenik etkiye sahiptir. Bozulmuş silajlar; putresin gibi toksik biyojenik aminler içermesi bakımından alimenter ketozise yol açabilmektedir.

Ketozisin bu formu çoğunlukla subklinik seyretmekte ve primer ketozisin gelişiminde predispozisyon oluşturmaktadır (75).

#### **2.5.2.2.1.4. Açlık Ketozisi**

Ketozisin bu formu düşük kondüsyonlu ve düşük kaliteli yem maddeleriyle beslenen hayvanlarda gözlenir. Çoğunlukla rasyonda propiyonat ve protein düzeyleri yetersizdir ve vücut rezervlerinden sağlanan glukoneogenesis kapasitesi düşüktür. Etkilenen inekler doğru besleme programı ile iyileşebilirler (56).

#### **2.5.2.2.1.5. Spesifik Beslenme Yetersizliğine Bağlı Ketozis**

Rasyonda kobalt ve fosforun yetersiz olması, ketozis insidansının artmasına neden olmaktadır. Bu durum kısmen total sindirilebilir besin maddelerindeki (TDN) düşmeye bağlı olabilir, ancak kobalt yetersizliğinde propiyonik asit trikarboksilik asit (TCA) siklusunda metabolize edilemez. Bu problem dünyada kobaltın yetersiz düzeyde bulunduğu bölgelerle sınırlı olmakla birlikte, kobaltın yeterli düzeyde bulunduğu bölgelerdeki yüksek süt verimli sürülerde de görüldüğü bildirilmiştir (56). Peripartum dönemde kuru madde tüketiminde azalma gözlenir ve yüksek süt verimli inekler laktasyonun ilk 2 haftasında negatif enerji dengesine girerler. Bu durum inekler arasında çoğu zaman farklılıklar göstermektedir, ancak vakaların büyük çoğunluğunda süt verimi ile paralel bir artış gözlenmez (76).

#### **2.5.2.3. Epidemiyoloji**

Ketozis; entansif süt inekçiliğinin yapıldığı birçok ülkede süt ineklerinde gözlenen bir hastalıktır. Genellikle kış ve bahar aylarında ahırda bakılan hayvanlarda rastlanır ve merada doğum yapan ineklerde nadiren gözlenir. Ahırda bakılan ve serbest bölmeli ineklerde yıl boyunca gözlenebilir. Hastalığın yaygınlığı yönetim ve beslenme faktörlerinden etkilenmektedir ve sürüler arasında varyasyon gösterir. Bilindiği gibi, laktasyonel insidans sürüler arasında farklılık gösterir ve son zamanlarda yapılan çalışmalarda ketozis için laktasyon insidans oranının % 0.2 ile %10 arasında değişim gösterdiği bildirilmiştir. Subklinik ketozis görülme oranının özellikle yetersiz beslenen sürülerde %40 düzeyine ulaştığı rapor edilmiştir (71, 77).



#### 2.5.2.4. Ekonomik Önemi

Klinik ve subklinik ketozis çiftliklerde ekonomik kayıpların önemli nedenlerinden biridir (71). Nadiren ölümler gözlenmekle beraber asıl ekonomik kayıplar üretim kayıplarına bağlı olarak şekillenir. Etkilenen hayvanların tekrar eski performanslarına dönmeleri pek mümkün değildir ve ayrıca perpartum hastalıklarda artış yaşanır (71, 72). Süt verimi - süt proteini ve süt laktoz düzeylerinde azalma, subklinik ve klinik mastitis, östrusun gecikmesi, buzağılama aralığının uzaması, kistik ovaryum ve metritis riski artar. ABD’de ketozis kaynaklı ekonomik kayıplar yıllık 145.199 US\$’dır (56, 71, 72).

#### 2.5.2.5. Patogenezis

Süt sığırları aldıkları yemlerden enerji üreterek büyüme, yaşama payı, üreme ihtiyacını karşılayıp aynı zamanda enerjiyi süt üretimi için de kullanırlar. Ruminantlarda enerji dengesi insülin ve glukagon başta olmak üzere esas olarak hormonlar tarafından düzenlenir. Kuru dönemin sonu ve laktasyonun başında kortikosteroidler, growth hormon, katekolaminler ve leptinlerin de enerji metabolizmasında önemli rolleri olduğu bilinmektedir. Keton cisimciklerinin ruminantlarda normal enerji metabolizmasının bir parçası olduğu unutulmaması gereken bir noktadır ve sığırlarda sadece negatif enerji dengesi şekillendiğinde keton cisimcikleri enerji sağlamak amacıyla kullanılmaktadır (39, 55).

Ruminantlarda glukoz metabolizması temel olarak glukozun hücrelere girişini sağlayan, lipoliz ve hepatik glukoneogenezisi azaltarak lipogenez ve glikojen sentezini düzenleyen insülinin kontrolü altındadır. Ruminantlarda diğer türlere göre insülin direncinin daha fazla olduğu kabul edilir; ancak erken laktasyonda insülin konsantrasyonu düşük olsa da dokulardaki insülin duyarlılığı yüksektir. Glukagon ise zıt etki yaparak lipoliz ve hepatik glukoneogenezisi artırır, lipogenezisi azaltır (37). Katekolaminler de lipolizi artırıp lipogenezisi azaltarak enerji metabolizmasını düzenlerler. Growth hormon düzeyleri normalde erken laktasyon döneminde yüksektir, yağ dokusunda lipogenezisi engellerken karaciğerde glukoneogenezisi artırır. Adipoz dokudan IL-6, leptin, TNF- $\alpha$ , adiponektin gibi çeşitli endokrin faktörler salgılanmaktadır. Leptinin yem tüketimi ve obez hayvanlarda insülin direnci oluşumunda etkili olduğu bilinmektedir (33, 39).

Laktasyondaki normal sığırlarda uçucu yağ asitleri (UYA), bakteriyel proteinler, rumenden sindirilmeden geçen az miktarda glukoz ve proteini karaciğere ulaştırarak enerji sağlarlar. Asetat, propiyonat ve bütirattan oluşan UYA rumende sentezlenerek kan dolaşımına geçerler. Asetat acetyl coenzim A (CoA)'nın yapısına katılarak glukoz üretimine az bir katkısı olsa da esas olarak süt yağı sentezinde kullanılır. Bütirat acetoacyl CoA ya dönüştürülerek okside olur ve keton formasyonuna dönüşüp trikarboksilik asit (TCA) siklusuna girer; fakat glukoz kazancı sağlamaz. Propiyonat ise direkt TCA siklusuna girerek süksinil CoA'ya dönüşüp glukoz üretiminde kullanılır. Asetat ve bütirat ketojenikken, propiyonat glukojeniktir (11). Keton cisimcikleri temel olarak karaciğerde üretildiği gibi rumen epiteli ve meme bezlerinde de üretilirler. Normalde keton cisimcikleri acetyl CoA geçişiyle kalpte, böbreklerde, iskelet kaslarında ve meme bezlerinde TCA siklusunda kullanılırlar. Acetyl CoA'nın etkili bir şekilde oksidasyonu için yeterli oksaloasetat sağlanmalıdır. İskelet kasları da ayrıca glukoneogenezis için amino asit sağlar. Süt sığırları propiyonat ve laktatın çoğunu laktoz sentezi için süt üretiminde kullanırlar. Oksaloasetat miktarı azaldığında TCA siklusunu ve acetyl CoA kullanımını yavaşlar. Acetyl CoA biriktikten sonra NED nin şiddetine göre beta hidroksi bütirat (BHBA), asetoasetat, aseton ve isopropil alkol gibi keton cisimlerine dönüşür (8, 39).

Yağ dokusu enerjiyi trigliserit şeklinde depolar ve gerektiğinde trigliseridler mobilize olarak NEFA'ya dönüşüp TCA siklusuna girer, acetyl CoA'ya dönüşür ve keton cisimcikleri meydana gelir veya trigliserit veya triasilgliserole reesterifiye edilirler. Ruminantların karaciğeri NEFA'yı trigliseritlere dönüştürüp lipoproteinlere bağlayarak kan dolaşımına dağıtma konusunda yeterli değildir (59). Bu nedenle trigliseritler karaciğerde birikerek karaciğer yağlanması neden olur ve fazla miktarda keton cisimciği oluşur. Klinik ketoziste keton cisimciklerinin temel kaynağı karaciğerde biriken NEFA ve acetyl CoA'dır. Bundan sonra ketonemi, ketonüri ve ketolaktik şekillenmesi ile klinik ketozis tablosu meydana gelir (8, 78, 79).

#### **2.5.2.6. Klinik Bulgular**

Sığırların ketozisinin alimenter (sindirim) form ve sinirsel form olmak üzere iki önemli klinik formu vardır (10). İştah ve süt üretiminde 2-4 gün içerisinde derece derece düşme ile karakterize sindirim formu daha sık olarak gözlenir. Kaba yem ve konsantre yemlerin ayrı ayrı verildiği sürülerde, hayvanlarda öncelikle konsantre

yemlere karşı ve sonrasında silaja karşı bir isteksizliğin olması ve devamında saman tüketimine hala devam ediyor olması ile karakterizedir. İştah kaybolabilir. Canlı ağırlıkta tahmin edilenden daha hızlı bir düşme yaşanır. Çiftlik sahipleri etkilenen hayvanları tarif ederken, deri altı yağ dokusu kaybından ötürü ‘’odunsu görünüş’’ tanımını kullanırlar (68).

Dışkı katı formdadır ancak ciddi bir konstipasyon gözlenmez. Hayvanlar depresiftir ve yeme gitme isteksizliği abdominal ağrıyı işaret edebilir. Ateş, pulzasyon ve solunum sayıları normal sınırlar içerisinde. Rumen hareketlerinin sayısı ve sıklığında bir azalma gözlenir ancak çok ciddi olgular dışında normal sınırlar içerisinde. Ketoziste solunum havasında ve sütte aseton kokusu olması karakteristiktir. Mortalitesi çok düşüktür, ancak tedavi edilmezse süt verimi düşer (10). Tedavi ile yem tüketimi ve süt verimi artmasına rağmen, süt verimi asla tam anlamıyla geri kazanılamaz. Süt veriminde %25 bir kayıp gözlenir ve sütteki yağsız kuru madde oranında keskin bir düşme söz konusudur.

Sindirim formundaki çok az olguda sinirsel bulgular göze çarpar. Bulgular anlamsızdır ve spontan gelişir. Sinirsel formda çoğunlukla gözlemlenen bulgular:

- Daire şeklinde yürüme
- Ayakları açıp durma ya da çapraz hale getirme
- Cisimleri ve deriyi yalama
- Başı dayama ve yaslama
- Körlük
- İştah kaybı
- Tükürüklü çiğneme hareketleridir (34).

Hiperestezi bir bulgu olabilir, hayvan stres altındadır. Orta derecede tremor ve tetani görülebilir. Sinirsel bulgular; kısa aralıklarla ortaya çıkar, 1-2 saat sürer ve 8-12 saatte tekrarlanır. Etkilenen hayvanlar sinirsel bulguların olduğu bu dönemlerde kendilerini yaralayabilirler (10, 34, 56).

## **2.5.2.7. Tanı ve Laboratuvar Bulguları**

### **2.5.2.7.1. Süt ve İdrar Testleri**

Süt ve idrarda keton cisimciği tayini; sodyum nitroprussit ile aseton ve asetoasetatın reaksiyonu prensibine dayanan, kimyasal yoğunluğunu temel alan bir test ile yapılır. Toz ve strip şeklinde birçok ticari test bulunmaktadır. Bu testlerde temel ilke, reaksiyonun aldığı renk konsantrasyonunun negatif, eser miktarda, az, orta, çok ve yoğun olarak değerlendirilmesine dayanır. Bu testler maliyet açısından düşünüldüğünde pahalı değildir. Hızlı ve doğrudan sonuç alınabilir.

Konsantrasyonda oluşabilecek çok küçük bir hata ise sadece kandaki konsantrasyonla ilgili olmamakla beraber, süt ve idrar ile de ekskrete edilen miktara bağlı olarak şekillenir. Sütteki konsantrasyon daha az değişkendir ve süt daha kolay toplanabilir. Ayrıca, subklinik ketoziste süttten yapılan testlerde yanlış negatiflik oranı daha azdır (71).

Sütte yapılan toz testlerinde sensitivite ve spesifitenin belirlendiği birçok çalışmada sensitivitenin %28-%90, spesifitenin ise %96-%100 arasında değişkenlik gösterdiği bildirilmiştir. Sütte BHBA belirleyen strip testler ise süttekiki BHBA konsantrasyonunun ortaya koyulması açısından daha uygundur. Farklı çalışmalarda sensitivitenin %73-%96, spesifitenin %69-%96 olduğu belirtilmiştir. Bu değişkenlik çoğunlukla farklı BHBA referans değerlerine bağlıdır (1200 ve 1400 flmol/L). Sütteki somatik hücre sayısının 1 milyonu geçmesi hem sodyum nitroprussit hem de strip testte keton konsantrasyonda yükselmeye sebep olmaktadır (80).

Carrier ve ark. (80) nitroprussit idrar strip testleri ile BHBA süt strip testlerinin sürüdeki ortalama ile beraber değerlendirildiğinde ketozis için en iyi sonuçları verdiğini ancak nitroprussit toz testlerinin sahada daha az uygulandığını belirtmiştir.

### **2.5.2.7.2. Süt Yağı/Süt Proteini Oranı**

Postpartum dönemde negatif enerji dengesindeki hayvanlarda süt yağında artış, süt proteininde azalma gözlenmektedir. İlk gün için süt yağı/protein oranının 1.5' ten büyük olması, ketozis için bir risk faktörü olduğu belirtilmektedir (56).

### **2.5.2.7.3. Hematoloji**

Hematolojik muayene sonuçları değişkendir ve ketozis için spesifik değildir (56).

### **2.5.2.7.4. Glukoz**

Glukoz beyin hücreleri başta olmak üzere diğer vücut hücrelerinin de normal fonksiyonunu devam ettirebilmesi için sıkı bir homeostatik kontrol altında tutulan temel bir besin kaynağıdır. Ruminantlarda yenilen karbonhidratlar rumendeki mikroorganizmalar tarafından kısa zincirli yağ asitlerine (uçucu yağ asitleri) dönüştürülür ve böylece glukozun çoğu karaciğer tarafından sentezlenir (48). Laktoz sütün ana bileşeni olduğu gibi sütün bileşimini ve miktarını mevcut glukoz belirler ve laktogenez glukoneogenez ile yakınan ilişkilidir (56).

Doğumdan sonra pankreas tarafından insülin üretiminde düşüş olmaktadır ve bu durum yağ ve kas doku gibi insüline duyarlı dokularda glukoz yararlanımını düşürmektedir (9). Geçiş döneminde insülin rezistansının artması ile birlikte yağ dokuda katekolaminlere duyarlılığın artması ve artan lipolitik yanıt sonucu meme bezlerinde süt üretimi için ekstra glukoz sağlanmaktadır (10, 59). Böylece dokularda normal fonksiyonların devam ettirilebilmesi için alternatif enerji kaynaklarına ihtiyaç duyulmaktadır. Mevcut glukozun düşmesine yanıt olarak vücudun her tarafında dolaşan non-esterifiye yağ asitlerinin (NEFA) lipolizi başlar (10).

Kan glukozu gün içerisinde dalgalanma gösterdiğinden ve çeşitli hormonlardan etkilendiği için ketozis tanısında yalnız başına güvenilir bir parametre değildir. Süt sığırlarında normal kan glukoz değeri 45-75 mg/dl dir. Erken laktasyondaki sığırlarda kan glukoz değerinin düşük olması negatif enerji dengesi ya da ketozis riski olduğunu göstermektedir (81).

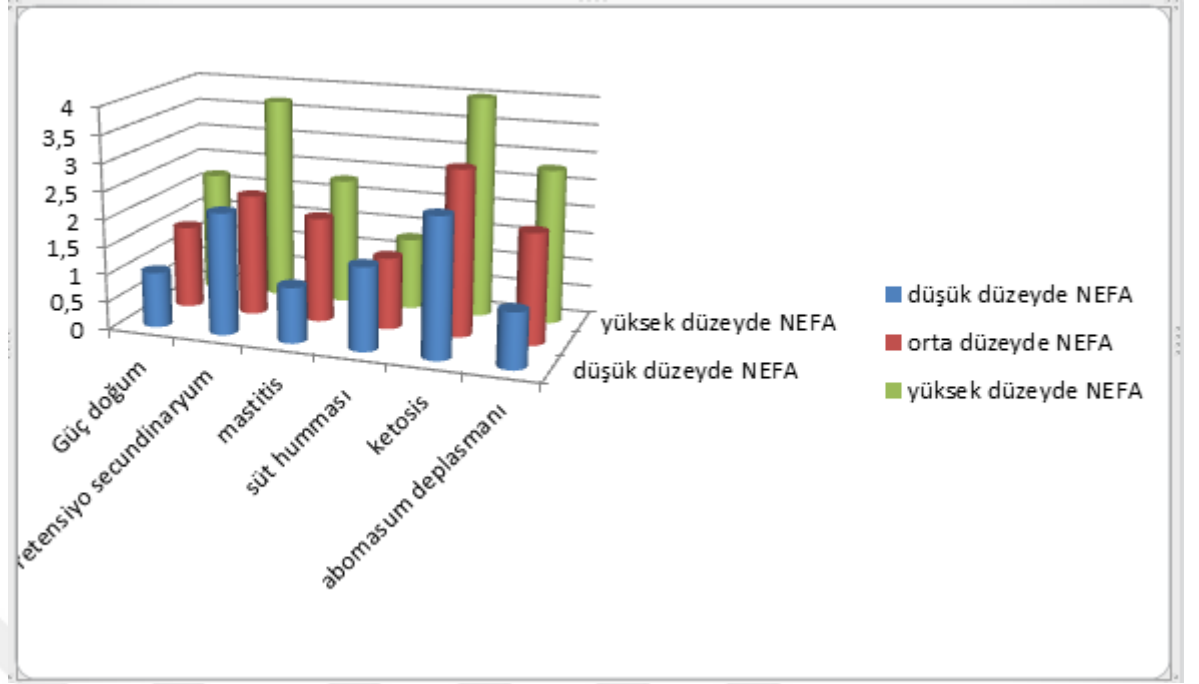
### **2.5.2.7.5. NEFA**

Negatif enerji dengesindeki sığırlarda kanda glukozun azalmasına cevap olarak yağlar mobilize olup esterleşmemiş yağ asitleri (NEFA) şeklinde kan dolaşımına girmektedir (82). NEFA kas dokusu ve karaciğer gibi çeşitli dokularda direkt bir yakıt olarak kullanılmakta veya meme bezinde süt sentezi için kullanılmaktadır (10). Karaciğer NEFA'nın % 15-20'sini kan dolaşımından alır ve burada tamamen

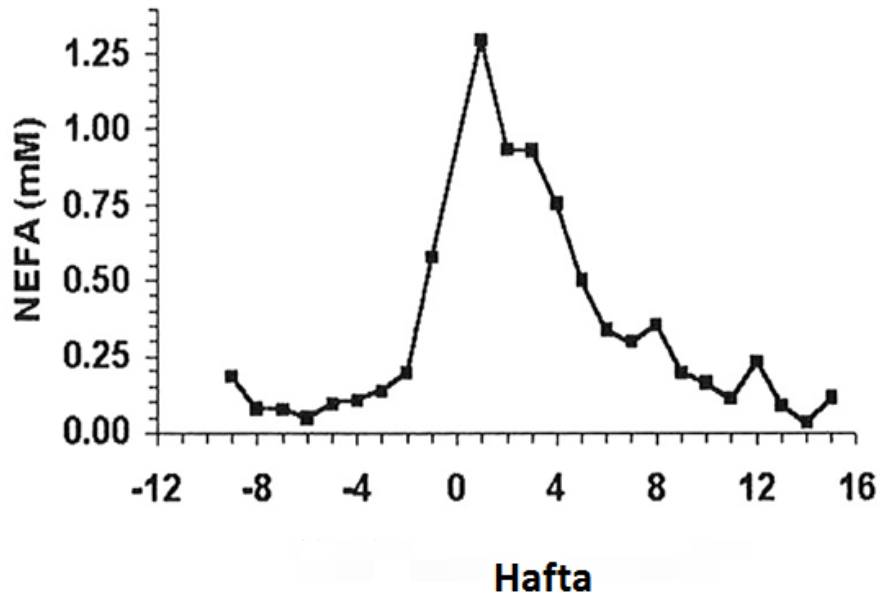
oksidasyona uğrayarak karaciğer için enerji sağlanır, kısmen de keton cisimleri (aseton, asetoasetik asit ve betahidroksibütirik asit [BHBA]) üretmek için okside edilir, triasilgliserole (TAG) çevrilir, yağ dokusuna tekrar gönderilmek için çok düşük dansiteli lipoproteinlere (VLDL) bağlanır veya TAG olarak depolanır. Keton cisimcikleri karaciğerden salınıp beyin ve kalp gibi dokularda alternatif enerji kaynağı olarak çalışır. Böylece kanda belirli konsantrasyonda NEFA ve BHBA erken laktasyonda NED'e adaptasyonun bir parçasıdır. Ancak yoğun konsantrasyondaki NEFA ve BHBA negatif enerji dengesinin çok şiddetli olduğunu gösterebilir; bu durum hem hayvanın sağlığı hem de süt verimi için zararlıdır (37).

Ayrıca artan NEFA ve BHBA konsantrasyonu direkt olarak immun fonksiyonlara zararlıdır ve iştahı da azaltır. Sonra gıda alımı karaciğerden beyine gönderilen sinyallerden etkilenebilir (83). Yoğun miktarda NEFA karaciğere girdiğinde karaciğerin oksidasyon kapasitesini aşmaktadır ve böylece bir kısım NEFA karaciğerde TAG'a re-esterifiye edilmektedir. TAG'ları karaciğerden uzaklaştıran çok düşük dansiteli lipoproteinler ruminantlarda sınırlıdır, bu re-esterifikasyon karaciğerde yağ birikimi (hepatik lipidosis) ile sonuçlanır. Karaciğerde aşırı yağ birikimi normal karaciğer fonksiyonunu engeller ve bu durum hiperketonemiye yol açabilir (10).

Doğumdan önce karaciğer yağlanması kontrolü için doğum öncesi 2-14. günler arasında NEFA ölçümleri yapılmalıdır ve bu dönemde serum NEFA düzeyinin en fazla 0,4 mmol/l olması normal kabul edilmektedir (84). NEFA doğum sonrası dönemde klinik ve subklinik ketozis, karaciğer yağlanması ve negatif enerji dengesinin tanısında BHBA ile birlikte kullanılan en önemli parametrelerden biridir. Laktasyondaki sığırlarda serum NEFA düzeyinin en fazla 0,7 mmol/l olması istenmektedir. Bu değer üzerindeki NEFA düzeyi negatif enerji dengesi, ketozis ve karaciğer yağlanmasını işaret edebilir (81, 82).



Şekil-7: NEFA düzeyleri ve geçiş dönemindeki metabolizma hastalıkları ilişkisi (71).



Şekil-8: Doğumdan önceki ve sonraki haftalarda NEFA düzeyleri (71).

### 2.5.2.7.6. Keton Cisimcikleri

Subklinik ve klinik ketoziste hiperketonemi mevcuttur ve aslında ikisi de birbirinden farklı hastalıklar değildir, subklinik ketozisle klinik ketozisin ayrımı pratikte BHBA ölçümünden çok klinik bulgulara göre yapılmaktadır. Klinik ketoziste BHBA konsantrasyonu genellikle subklinik ketozisten daha yüksektir (85).

Ketozisli süt sığırlarında BHBA'nın yanı sıra asetoasetik asit, aseton ve son olarak ta izopropil alkol üretilmekte ve bunların düzeyine göre hastanın klinik durumunda değişimler görülmektedir. Ancak pratik olarak BHBA düzeylerine bakılarak ketozisin ya da negatif enerji dengesinin şiddeti yorumlanmaktadır.

BHBA ketozis teşhisinde altın standart olarak kabul edilmektedir. BHBA'nın laktasyon başlangıcından itibaren ilk 7 haftada subklinik ketozisin tanısında oldukça önemli bir parametre olduğu belirtilmektedir (84). Serum BHBA düzeyinin kuru dönemdeki süt sığırlarında 0,6 mmol/l'nin laktasyondakilerde ise 1 mmol/l'nin altında olması istenmektedir. Serum BHBA düzeyi 1,4 mmol/l nin üzerine çıktığı durumlarda genellikle klinik ketozis şekillenmektedir (86).

Erken laktasyon döneminde sığırlarda BHBA düzeyi sürünün % 10 dan fazlasında 1,4 mmol/l' nin üzerinde olması istenmeyen bir durumdur. Seifi ve ark. (87) laktasyonun ilk haftası içerisinde serum BHBA düzeyi 1 mmol/l' nin üzerinde olan sığırlarda abomasum deplasmanı oluşma riskinin BHBA düzeyi düşük olanlara göre 13,6 kat daha yüksek olduğunu bildirmiştir. Aynı zamanda Walsh ve ark. (88) da bu hayvanlarda doğumdan sonra gebe kalma oranının % 20 oranında azaldığını bildirmiştir.



**Şekil-9:** Ketozis taramasında kullanılan BHBA ölçüm cihazı



#### **2.5.2.7.7. Trigliseritler**

Trigliseritler yağların ya da besin maddelerinin sindirilmesi ve bağırsaklardan emilmesi sonrasında karaciğerde sentezlenmektedir. Şilomikronlar halinde bağırsaklardan lenf damarları vasıtasıyla emilen trigliseritler kalpte kan dolaşımına karışmaktadır (89, 90). Negatif enerji dengesi ve karaciğer yağlanması durumunda yağ dokulardan yağlar mobilize olduğunda kanda serbest yağ asitlerinin konsantrasyonu yükselmektedir. Serbest yağ asitlerinin kandaki miktarının yükselmesi karaciğerdeki trigliserit sentezini artırmaktadır. Sentezlenen trigliseritlerin bir kısmı VLDL'lere bağlanıp dolaşıma salınır, fakat ruminantlarda VLDL üretimi diğer hayvan türlerine göre daha düşük miktarda olduğu için sığırlarda karaciğer yağlanması daha sık oluşmaktadır. Katoh ve ark. (91) yüksek süt verimli sığırlarda karaciğer yağlanması, ketozis ve abomasum deplasmanları meydana gelme olasılığının daha fazla olduğunu ve bu hastalıkların varlığında trigliserit ve total kolesterol değerlerinin düştüğünü belirtmiştir. Sığırlarda normal trigliserit düzeyi 0 – 14 mg/dl'dir (89).

#### **2.5.2.7.8. Kolesterol**

Kolesterol gıdalarla alınabildiği gibi karaciğerde de sentezlenmektedir. Kan dolaşımında serbest kolesterol ve serbest kolesterol esterleri olmak üzere iki şekilde bulunabilir. Metabolik profil testlerinde her ikisinin toplamı yani total kolesterol değeri ölçülmektedir. Süt sığırlarında normal serum total kolesterol değeri 80 - 180 mg/dl olup kolesterolün fazası safra ile birlikte bağırsaklara boşaltılır (89). Sığırlarda çoğunlukla karaciğer yağlanması olmak üzere karaciğer hücrelerinin etkilendiği hastalıklarda kolesterol sentezinin azalması nedeniyle serum kolesterol düzeyi düşmektedir. İştahın azaldığı durumlarda da serum kolesterol düzeyi düşebilir. Sığırlarda doğumdan önceki dönemde serum kolesterol düzeyinin yükseldiği; fakat doğum sonrasında meydana gelen ketozis, karaciğer yağlanması, abomasum deplasmanı, retensiyo sekundinarum gibi metabolizma hastalıklarının varlığında serum kolesterol düzeyinin düştüğü bildirilmiştir (92). Süt sığırlarında total kolesterol özellikle karaciğer yağlanması tanısında kullanılan önemli bir parametredir; çünkü karaciğer yağlanmasının şiddeti ile serum kolesterol düzeyindeki düşüş paralellik göstermektedir (86, 92).

### 2.5.2.7.9. Albumin, Globülin ve Total Protein

Proteinler vücutta hem yapı taşı olarak kullanılmaları hem de çeşitli hormon ve enzimlerin yapısına katılarak vücudun fizyolojik işleyişinde rol almaları nedeniyle süt sığırları için önemli organik maddelerdir. Pratikte albumin ile birlikte globülin de ölçülmekte ikisinin toplamı total protein olarak ifade edilmektedir. Sığırlarda serum total protein değeri 6.7-7.5 mg/dl arasında olup bunun 3-3.6 g/dl si albuminden oluşmaktadır (89, 90). Kronik karaciğer yetmezlikleri, rasyonla yeterli düzeyde protein alınmaması, protein kayıplı enteropatiler ya da nefropatiler, sindirim ve emilim bozuklukları albumin düzeyinde düşüşe neden olmaktadır (89).

Globülinlerin ise büyük çoğunluğunu immunglobülinler oluşturmaktadır ve sığırlarda serum globülin düzeyi 3-3.5 mg/dl civarındadır. Yetişkin sığırlarda hipoglobülinemiden daha çok hiperglobülinemi görülmektedir ve bu durum genellikle kronik yangısal hastalıklarla ilişkilidir (39).

### 2.5.2.7.10. Karaciğer Enzimleri

Karaciğer enzimleri çoğunlukla karaciğer yağlanması belirlenmesi amacıyla değerlendirilmesi yanı sıra hepatik hasara yol açan hastalıklarda da ölçülmektedir. Süt sığırlarında karaciğer yağlanmasında enzim aktiviteleri artabilir, ancak karaciğer yağlanmasının kesin kanıtı değildir (93). Hepatositlerdeki hasar ile ilişkili olarak Glutamat dehidrojenaz (GLDH), sorbitol dehidrojenaz (SDH), ornitin dekarboksilaz (OCT) ve Aspartat Aminotransferaz (AST) enzim aktiviteleri yükselmektedir. AST karaciğer yağlanmasında anlamlı bir enzim olmasına rağmen kas dokusundaki dejenerasyonlarda da aktivitesinin yükselmesi nedeniyle karaciğer yağlanması tanısı için tek başına değerlendirilmemelidir (61). AST aktivitesinin karaciğerde yağ birikimi ile paralellik gösterdiği; ancak diğer enzimlerde böyle bir durumun olmadığı bildirilmiştir (61, 94). Ölçülmesi diğerlerine göre daha kolay olan AST enzim aktivitesi karaciğer yetmezliği veya hepatositlerde hasar durumlarında diğer karaciğer enzimleriyle birlikte önemli ölçüde artmaktadır (73).

GGT karaciğer ve özellikle safra kanallarına daha spesifik bir enzim olmasına rağmen karaciğer yağlanması ve serum GGT aktivitesi arasında güçlü bir korelasyon gözlenmemiştir. Buna rağmen karaciğerdeki dejenerasyon durumunda AST ile birlikte GGT enzim aktivitesi de artmaktadır. AST ile beraber değerlendirildiğinde GGT

aktivitesinin artışı karaciğer yağlanmasını göstermektedir ve pratikte yaygın olarak kullanılmaktadır (73, 94).

#### **2.5.2.7.11. Bilirubin**

Eritrositler dalakta ve karaciğerde kuppfer hücrelerinde yıkımlandıklarında hemoglobinin parçalanması sonucu bilirubin oluşur. Karaciğerden safra ile barsaklara verilir. Karaciğer hasarı ve yağlanmasında serum bilirubin konsantrasyonu önemli ölçüde yükselmekte ve karaciğer yağlanmasının şiddeti ile doğru orantılı olarak artmaktadır (73). Total bilirubin ile plazma safra asitlerinin konsantrasyonu beraber değerlendirildiğinde karaciğer yağlanmasının şiddeti konusunda daha spesifik sonuçlar ortaya çıkabilmektedir (58). Serum bilirubin konsantrasyonu aspartat aminotransferaz (AST), alkalin fosfataz, laktat dehidrojenaz ve serum trigliserit konsantrasyonu ile beraber değerlendirildiğinde daha anlamlı sonuçlar verebilir (95). Sığırlarda normal bilirubin düzeyi 0,1 – 0,5 mg/dL'dir (89).

#### **2.5.2.7.12. Kalsiyum, Fosfor ve Magnezyum**

Kalsiyum, fosfor ve magnezyum metabolik profil testlerinde mineral dengesinin değerlendirilmesinde kullanılan ve hayvanların yaşamsal faaliyetleri için hayati önemi olan minerallerdir (81).

Kalsiyum, kasların kasılması, kemik bütünlüğünün korunması, kanın pıhtılaşması, sinirsel uyarıların iletimi, çeşitli hormon ve enzimlerin salınmasında üstlendiği görevlerden dolayı metabolizma için kilit bir rol oynamaktadır. Geçiş döneminde kalsiyum dengesi bozulduğu takdirde süt humması başta olmak üzere abomasum deplasmanı, ketozis, karaciğer yağlanması, retensiyon secundinarum, mastitis ve metritis gibi hastalıkların insidansı artmaktadır (55). Süt sığırlarında normal serum kalsiyum düzeyi 8 – 12 mg/dl arasındadır (89).

Fosfor vücutta özellikle kemik hücrelerinin yapısına katılıp birçok metabolik, sinirsel ve hücre fonksiyonların yerine getirilmesinde görev almaktadır. Vücutta enerji dengesinin sağlanmasında, nükleik asitlerin oluşumunda, hücre duvarının korunmasında ve ruminantlarda rumende mikrobiyal selüloz sindiriminde önemli roller üstlenmektedir. Sığırlarda serum fosfor düzeyi 5,6 – 6,5 mg/dl olmalıdır. Sığırlarda fosfor eksikliğinin nedeni genellikle rasyonla yeterli miktarda alınmamasıdır ve

hipermagnezeni ya da D vitamini eksikliklerinde de sekonder olarak fosfor eksikliği görülebilir (90).

Magnezyum ise hücre içinde enzimatik reaksiyonlarda, sinir impulslarının iletiminde, kasların kasılıp gevşemesinde ve kemik yapısına katılması nedeniyle önemli fonksiyonları olan bir mineraldir. Sığırlarda serum magnezyum düzeyi 1,4 – 2,3 mg/dl arasındadır. Magnezyum sığır vücudunda depo edilemediği için merada beslenen sığırlarda hipomagnezemi gelişme ihtimali daha yüksektir (39).

## **2.6. Geçiş Döneminde Görülen Diğer Hastalıklar**

Genel olarak geçiş döneminde hipokalsemi, ketozis, karaciğer yağlanması ve abomasum deplasmanları en önemli metabolizma hastalıklarıdır. Bu hastalıkların oluşumunda beslenme hataları NED'in önemli olduğu ortaya koyulmuştur. Peripartum dönemdeki metabolizma hastalıkları tek başlarına ortaya çıkabilirse de hepsi beraber de şekillenebilir. Bu nedenle geçiş döneminde bu hastalıklara karşı önlem almak bu dönemi problemsiz atlarmaya yardımcı olmakta ve ekonomik kayıpları azaltmaktadır (11-13).

### **2.6.1. Abomasum Deplasmanları**

Abomasum deplasmanları, süt sığırlarında yaygın görülen metabolik hastalıklardan biridir. Yaşlı hayvanlarda özellikle 4-7 yaşlı sığırlarda daha fazla meydana gelmektedir (13, 96). Abomasum deplasmanları çoğunlukla postpartum 1 aylık dönemde görülse de bazen doğum öncesi dönemde de görülebildiği bildirilmektedir (13). Hastalığın etiyolojisi ve patogenezi ile ilgili çok sayıda araştırma yapılmış olmasına rağmen etiyo-patogenezi henüz kesin olarak aydınlatılamamıştır. Bununla birlikte uzun yıllardır hastalığın oluşumu ile ilgili birçok risk faktörünün bulunduğu rapor edilmiştir (6, 11). Süt sığırlarının hastalığa genetik yatkınlığı, ilerleyen yaş, negatif enerji dengesi, stres oluşturan durumlar, mevsim, rasyon, vücut kondüsyonu ve yönetim hataları risk faktörleri arasında sayılabilir (13, 96). Geçiş döneminde kuru madde tüketiminin azalması, kortizol artışı ve diğer hormonlardaki değişiklikler hayvanda stresin artmasına neden olur. Kuru dönemin sonlarında yem tüketimindeki düşüş hastalığın ortaya çıkma riskini daha da arttırmaktadır. Kış aylarında ve ilkbaharın erken dönemlerinde özellikle kötü kaliteli kaba yemlerle beslenen sığırlarda aynı zamanda yem tüketiminin de azalması

nedeniyle abomasum deplasmanları ile daha fazla karşılaşılmaktadır (96). Yüksek oranda konsantre yem ve düşük lifli yemlerle beslenen sığırlarda hastalığın insidansı artmaktadır. Konsantre yem miktarı artırıldığında abomasum motilitesinin azaldığı bu nedenle de abomasum deplasmanı riskinin arttığı belirlenmiştir (12, 13 ). Ek olarak yemlerde nötral deterjan fiberin (NDF), deplasman oluşumunda konsantre yemden daha riskli olabileceği rapor edilmiştir. Vücut kondüsyon skoru yüksek hayvanlar, bakım besleme şartlarının kötü olması, kuru dönemde hayvanların aşırı beslenmesi ve yağlandırılmasının hastalığın oluşumunda önemli risk faktörleri olduğu bildirilmektedir (13).

Total miks rasyon (TMR) hazırlanması sırasında bazı hususlara dikkat edilmesi hastalık riskini azaltabilir. Burada en önemli hususlardan biri kaba yem ve konsantre yem oranının dikkatli bir şekilde ayarlanmasıdır. Peripartum dönemde konsantre yem oranının kaba yem oranına göre daha fazla olması hastalık için predispozisyon yaratmaktadır. Bu nedenle, kuru dönemin son 3 haftasında laktasyon dönemindeki rasyona adaptasyon için düzenlemeler yapılması hastalıktan koruma konusunda önerilen bir yöntemdir. Bu dönemde kaba yem konsantre yem oranının iyi ayarlanması, erken laktasyonda kaliteli kaba yemlerin kullanılması rumen hareketlerinin sağlıklı bir şekilde devam ettirilmesi ve deplasmanlardan korunma konusunda oldukça önemlidir. Hastalığın oluşum riskini en aza indirmek için rasyondaki kaba lif içeriğinin en az % 16-25 olması gerektiği belirtilmektedir ( 11, 13). Kötü kaliteli ve partikül uzunluğu kısa olan silajla beslenen sığırlarda kuru ot tüketenlere göre abomasum deplasmanı oluşum riski üç kat daha fazla olduğu bildirilmiştir. Aynı şekilde partikül uzunluğu az olan diğer yemler de abomasum deplasmanlarına predispozisyon oluşturmaktadır (13).

Abomasumun motilitesinin azaldığı durumlarda deplasman oluşumu riski artmaktadır. Abomasum deplasmanlarının oluşumunda barsakları innerve eden sinir sisteminin de etiyolojide önem taşıdığı düşünülmektedir (13, 97). Olası risk faktörlerinden biri de geçiş dönemindeki hipokalsemidir. Peripartum dönemde kalsiyum konsantrasyonunun düşmesi abomasum peristaltisinin azalmasına ve bu durumda abomasal atoni ve dilatasyon şekillendiği düşünülmektedir (12, 17). Sığırların Ca düzeyinin dengelenmesinin abomasum deplasmanlarının oluşum riskini azaltacağı ileri sürülmüştür (6). Hipokalsemide olduğu gibi, kandaki uçucu yağ asitleri de abomasum motilitesinin azalmasına yol açmaktadır (97). Kanda artan

endotoksinlerin de abomasumda atoniye neden olabileceği düşünülmektedir ancak bu konuda da bir kesinlik bulunmamaktadır (13).

Bazı çalışmalarda geçiş dönemindeki NED oluşumunun abomasum deplasmanları ile yakından ilişkili olduğu bildirilmiştir (11, 13). Ayrıca, ketozisin de abomasum deplasmanlarının etiolojisinde önemli ölçüde etkili olduğu rapor edilmiştir (10, 12, 98). İnsülin direncinin hastalığın patogeneziindeki rolü henüz tartışmalı bir konudur. Plazma insülin düzeyindeki yükselmenin abomasumun boşalma süresini artırdığı bildirilmiştir (13). Van Winden ve ark. (12) yaptıkları çalışmada abomasum deplasmanlı olgularda insülin ve glukoz konsantrasyonlarının düşük olduğunu gözlemlemişler ve bu durumun doğum sonrası dönemdeki enerji eksikliği ile uyumlu olduğunu ifade etmişlerdir (12). Itoh ve ark. (98) yaptıkları bir çalışmada abomasum deplasmanlı sığırlarda primer ketozisli sığırlara göre kan glukoz düzeyini daha yüksek bulmuşlardır.

### **2.6.2. Süt Humması**

Süt sığırı rasyonlarında kuru madde oranı, enerji ve protein dengesinin sağlanması oldukça önemlidir; aynı zamanda mineral ve iz elementlerin rasyonda yeterli ve dengeli miktarda bulunması da dikkat edilmesi gereken bir konudur. Geçiş dönemi mineral eksikliklerinin ya da mineral dengesizliğine bağlı metabolik hastalıkların sıkça görüldüğü bir dönemdir. Bu mineraller arasında özellikle Ca ve P önemli bir yere sahiptir (21).

Süt humması sıklıkla postpartum dönemde bazen de doğum öncesinde ortaya çıkabilen kan  $Ca^{++}$  düzeyinde düşüş, parezis, kas titremeleri, terminal dönemde lateral yatış bilinç kaybı ve koma ile karakterize bir hastalıktır. Burada esas önemli olan faktör dolaşımdaki iyonize kalsiyum düzeyinin ani ve şiddetli düşüşüdür; bu durumda kas tellerine yeteri kadar sinirsel iletim yapılamamakta ve kasların kasılma gücü azalmaktadır. Normal koşullarda ihtiyaç duyulan iyonize kalsiyum hormonal mekanizmaların da etkinliğiyle kemiklerden kana mobilize olmaktadır. Ancak vücut her zaman bu değişime hızla ayak uyduramaz ve böylece hipokalsemi oluşma ihtimali artar. Yüksek süt verimi, hayvanın yaşlı olması, rasyondaki mineral dengesizliği, beslenme bozuklukları da hastalığın oluşumunda önemli risk faktörleridir (53, 75).

Hastalığın klinik formları kalsiyum düzeyine göre değişmektedir. Semptomlar genellikle doğum sonrası 24 – 48. saatlerde ortaya çıkmaktadır. Erken dönemde

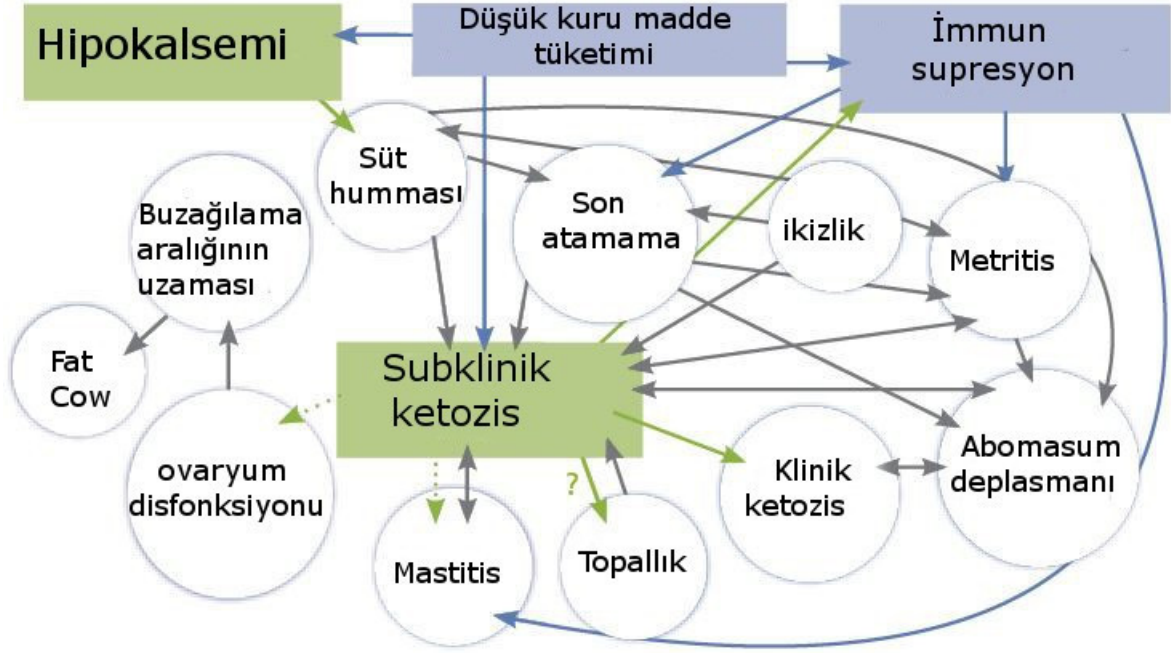
kalsiyum tedavisiyle hastalığın sağaltımı yapılabilir; fakat daha önce hipokalsemi geçiren ineklerde bir sonraki laktasyonda tekrar hipokalsemi meydana gelebilir (39).

Kalsiyumun azalmasıyla birlikte düz kasların aktivitesi azalmakta ve sindirim sistemi de bu durumdan olumsuz etkilenmektedir. Rumen hareketlerinde ve kasılma gücünde azalma, hayvanın kuru madde tüketiminin azaltmakta ve abomasum deplasmanı oluşum riskini artırmaktadır. Yem tüketiminin azalması NED oluşmasına, bu da ketozis ve karaciğer yağlanması riskini artırmaktadır. Meme başlarındaki sfinkterler mikroorganizmaların meme loblarına girmesini engelleyen bariyerlerdir. Hipokalsemi nedeniyle bu sfinkterlerin tam olarak kapanmaması ineklerde mastitis şekillenmesine neden olmaktadır (6, 67).

Goff ve ark. (6) hipokalsemi ile birlikte plazma kortizol düzeyinin yükseldiğini, aynı zamanda doğum stresinin de bulunmasıyla immun supresyonun daha da arttığını bildirmişlerdir. Hipokalsemi durumunda uterus kaslarının tam olarak kasılmaması ve yavru zarlarının atılamamasından dolayı dölverimini de etkilediği bilinmektedir. Uterusta involüsyonun gecikmesi, eksudatın tam olarak boşaltılamaması, kronik metritis gibi nedenlerle tekrar gebe kalma süresi uzamaktadır (99).

### **2.6.3. Retensiyo Sekundinarum**

Retensiyo sekundinarum (RS) doğum sonrasında yavru zarlarının atılamaması durumudur. Normalde doğum sonrasında 12 saate kadar yavru zarlarının atılması gerekir. Atılamadığı zaman metritis ve diğer infertilite problemleri ortaya çıkmaktadır. Eicker ve ark. (99), RS görülen ineklerde %14 daha az gebelik elde edildiğini ve doğum sonrası gebe kalma süresinin uzadığını (ortalama 108 gün) rapor etmişlerdir. RS oluşumu A ve E vitamini, karoten eksikliği, iyot, selenyum eksikliği gibi mineral madde noksanlıkları ve Ca-P dengesizliği birçok faktörün etkilediği bir durumdur. Ek olarak hipokalsemi kortizol düzeyinin artmasına sebep olmakta ve bu da RS insidansını artırmaktadır. Güç doğumlardan sonra RS daha fazla meydana gelmektedir; ancak süt sığırlarında % 10'a kadar RS görülmesi normal kabul edilmektedir (100).



**Şekil-10:** Geçiş döneminde karşılaşılan metabolik hastalıkların birbirleri ile ilişkisi (55).

#### 2.6.4. Metritis

Genel olarak uterusun yangısı metritis olarak tanımlanır. Doğum sonrası dönemde çoğunlukla ilk 3 hafta içerisinde meydana gelmektedir. Doğuma yakın dönemde ve laktasyonun ilk günlerinde artan kortizol düzeyi immün sistemin zayıflamasına neden olmakta ve bu da metritis oluşma riskini artırmaktadır. RS sonrasında uterusu salınan histamin, prostaglandin ve diğer yangı mediatörlerinden dolayı damar geçirgenliği artar ve metritis şekillenir (100, 101).

Oluşan yangı ve immün supresyon uterus involüsyonunda gecikmeye, gebelik oranının düşmesine, infertilite problemlerinin artmasına ve süt veriminin düşmesine neden olmaktadır (100, 102).



## 2.7. Osteokalsin Metabolizması

Osteokalsin (OC) kemik matriks proteinlerinin önemli bir bileşenidir. Karboksiglutamik asit içeren ve fonksiyonu tam olarak bilinmeyen nonkollajen yapıda ve K vitamini bağımlı kalsiyum bağlayıcı bir proteindir. Osteokalsin kemiklerin mineralizasyon ve farklılaşma döneminin sonlarında, yalnızca olgun osteoblastlar tarafından sentezlenir ve salgılanır. Bu yüzden kemik formasyonunun bir markırı ve osteoblastik hücrelerin olgunlaşmasının bir indikatörü olarak kullanılabilir (103, 104). Osteokalsin üretimi parathormon (PTH), 1,25 dihidroksi vitamin D<sub>3</sub>, östrojenler, glukokortikoidler, büyüme faktörleri ve cAMP gibi çeşitli faktörler tarafından düzenlenir. Osteokalsin yapımını düzenleyen gen bölgesi bu faktörlerden sorumlu olabilecek birtakım potansiyel düzenleyici zincirler içerir. Bu zincirler türlere ve dokulara spesifik olabilmektedir (103). Osteokalsinin fonksiyonu bu güne kadar tam olarak açıklanamamıştır; ancak kan dolaşımında bulunması, ELISA ile ölçülebilmesi ve kemik hastalıklarında artış göstermesi, osteokalsin araştırmalarına ilgiyi artırmıştır (105, 106).

### 2.7.1. Osteokalsin Sentezi ve Katabolizması

Osteokalsin uzun zamandır osteospesifik bir ürün olarak kabul edilmiştir. Son zamanlarda magekaryositler ve adipozitlerden de salındığı rapor edilmiştir. Osteokalsin hidroksiapati ve kalsiyuma afinite duyması nedeniyle kemiğin ekstraselüler matriksine katılır (107, 108). Osteokalsinin gerçek fonksiyonu tam olarak bilinmemektedir. Osteokalsin yıkımı 6 aylık yaşa kadar olan farelerde görülmemiştir, bu durum osteoblast fonksiyonunu düzenlenmesinde osteokalsinin bir rolü olabileceğini göstermektedir. Osteokalsinin çoğu osteoblastlar tarafından sentezlenir ve ekstra selüler kemik matriksinde depolanır. Serum osteokalsin hidroksiapatite bağlanmayan total osteokalsin kısmını ifade eder (105).

Dolaşımdaki osteokalsinin heterojenitesi ilk olarak 1985'te bildirilmiştir. Serum osteokalsinin kısa bir yarılanma ömrü vardır ve böbrek ile karaciğerde hidrolize edilir.

Değişik meabolik kemik hasalıklarında osteokalsinin değişik karakterde immunoreaktif formları görülebilir (105).

### **2.7.2. Osteokalsinin Yaş ve Cinsiyet ile İlişkisi**

Osteokalsin çoğunlukla osteoblast spesifik bir proteindir. Buna rağmen kemik oluşumu için osteokalsin gerekli değildir, osteoblast fonksiyonunu yansıtabilir ve bir kemik metabolik markırı olarak rol oynar (104-106). Kasai ve ark. (109) insanlarda serum osteokalsin düzeyinin yaş ve cinsiyet ile ilişkisini belirlemişlerdir. Reiichiro ve ark. (106) serum osteokalsin düzeyinin 9 – 14 yaşlarda pik yaptığını ve daha sonra aniden yetişkin düzeylerine düştüğünü, otuzlu yaşlarına kadar kadınların serum osteokalsin düzeyleri erkeklerden daha düşük olduğunu ve menapozdan sonra hafifçe yükselme eğiliminde olduğunu bildirmişlerdir.

Normal kemik metabolizması kemik resorpsiyonu ve formasyonu arasındaki karmaşık ilişkinin bir sonucudur. Yaşla birlikte diğer organ sistemlerinde de olduğu gibi iskeletin bütünlüğü ve fonksiyonu azalmaya başlar. Kemik kütlesi yaşın ilerlemesiyle dişi ve erkeklerde düşmesine rağmen kemik kaybı dişilerde erkeklerden daha fazladır (108).

Süt ineklerinde hipokalseminin parturient parezis, koliform mastitis, abomasum deplasmanı gibi bazı hastalıkları tetiklediği bilinmektedir; bu nedenle peripartum hipokalsemiden korunmak son derece önemlidir (110). Yüksek süt verimi nedeniyle süt sığırlarında peripartum hipokalsemiyi önlemek zordur. Serum osteokalsin konsantrasyonları aynı zamanda süt sığırlarında peripartum değişiklikleri yansıtmaktadır. Reiichiro ve ark. (106) serum osteokalsin düzeyinin buzağılarda en yüksek olduğu ve ilk buzağılamaya kadar sürekli olarak düştüğünü; daha sonra peripartum dönem hariç serum osteokalsin konsantrasyonunun düşük kaldığını ortaya koymuşlardır. Davicco ve ark. (111) en yüksek osteokalsin düzeyinin fötal buzağılarda, en düşük düzeyin ise 9 yaşında gebe ve laktasyondaki ineklerde olduğunu bildirmişlerdir. Reiichiro ve ark. (106) ilk doğumunu yapmış ineklerde osteokalsin konsantrasyonunun çok doğum yapmış yaşlı ineklerden daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Bu eğilim bu periyotta düvelerin büyüüklerini ve kemik formasyonundaki aktifliği ile ilişkili olabilir (107). Geç gebelik döneminde serum osteokalsin düzeyinin hem tek doğuran hem de çok doğum yapmış ineklerde önemli

ölçüde düşük olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle doğum sonrası dönemde ineklerde mineral dengesizliğini tespit etmek için serum osteokalsin düzeyinin ölçülmesi faydalı olabilir. Son zamanlarda osteokalsin bir sitokin ve hormon olarak kabul edilmektedir; çünkü adiponektin ve insülin salınımını uyararak glukoz metabolizmasını da etkilemektedir (106). Süt sığırlarında peripartum dönemdeki hastalıklar sadece kalsiyum dengesizliğinden kaynaklanmaz; aynı zamanda glukoz ve lipid metabolizmasındaki bozukluklar da çok önemlidir. Bundan sonraki süreçte osteokalsinle ilgili klinik çalışmalarda osteokalsin sadece kemik dokusuyla ilişkili bir metabolik marker olarak değil, süt sığırlarının genel metabolizmasını etkileme potansiyeline sahip endokrin bir madde olarak kabul edilmelidir (16).

### **2.7.3. Geçiş Dönemindeki Süt Sığırlarında Osteokalsin, D vitamini, Kalsiyum ve Fosfor İlişkisi**

Osteokalsin osteoblastlar tarafından sentezlenen bir protein olduğundan plazma osteokalsin düzeyi klinik çalışmalarda spesifik bir kemik markeri olarak kabul edilir. Farrugia ve ark. (104) gebelik öncesi, gebelik sırası ve sonrasında osteokalsin ölçümlerinin osteoblast aktivitesini değerlendirmede faydalı olacağını bildirmişlerdir. Peripartum dönemde sığırların osteokalsin düzeylerindeki değişiklikler hakkında hala araştırılması gereken noktalar mevcuttur (112, 113). Naito ve ark. (112) yaptıkları bir çalışmada doğumdan önceki 3. günde  $22.1 \pm 2.5$  ng/ml olan plazma osteokalsin düzeyinin doğum öncesi 1. günde  $18.8 \pm 2.6$  ng/ml'ye düştüğünü gözlemişlerdir. Bu çalışmada plazma osteokalsin düzeyinin doğum öncesi 1. günden doğum sonrası 1. güne kadar hızlı bir şekilde düştüğü ve doğum sonrası 15. güne kadar giderek yükseldiğini bildirmişlerdir. Osteokalsin düzeyi doğum sonrası ilk 5 gün, doğum öncesi 3-5. günlere kıyasla daha düşük ölçülmüştür. Aynı çalışmada gebe olmayan ve laktasyonda olmayan ineklerde plazma osteokalsin düzeyini  $29.1 \pm 1.5$  ng/ml olduğu belirlenmiş ve bu gruptaki hayvanların osteokalsin düzeylerinin peripartum dönemdeki ineklere göre önemli ölçüde yüksek olduğu gözlenmiştir. Aynı çalışmada plazma Ca konsantrasyonunun doğum öncesi 3. günde  $9.3 \pm .1$  mg/dl, doğum sırasında  $8.3 \pm .2$  mg /dl ve doğumdan 1 gün sonrasında  $8.0 \pm .2$  mg/dl olduğu belirlenmiştir. Aynı şekilde plazma fosfor düzeyinde de düşüş gözlenmiş, plazma osteokalsin

konsantrasyonu ile kalsiyum ve fosfor konsantrasyonları arasında doğru bir orantı olduğu saptanmıştır (112).

Plazma osteokalsin konsantrasyonunun doğumda yükselen 1,25 dihidroksikolekalsiferol ve parat hormon gibi birkaç faktörden etkilendiği düşünülmektedir (113).

#### **2.7.4. Osteokalsin ve Fosfor İlişkisi**

Fosfor homeostazisinin hormonal kontrolü kalsiyum homeostazisi ile yakından ilişkili olduğu bildirilmektedir (113). Süt sığırlarında kalsiyum metabolizması parat hormon (PTH) ve D vitamini metabolitleri ile sıkı bir şekilde düzenlenmektedir. Sığırlar rasyonla beraber yeterli miktarda mineral aldıklarında Ca ve P primer olarak barsaklardan pasif difüzyonla emilmektedir (106).

Hipofosfatem ve hipokalsemiyle birlikte PTH bağımsız olarak 25-hidroksikolekalsiferolu renal hidroksilasyonla 1,25 dihidroksikolekalsiferole indirgeyebilir. D vitamini metabolitleri Ca ve P'un barsak epitellerinden emilimini arttırmaktadır (106, 114).

Serum osteokalsin düzeyinin rasyondaki Ca veya P düzeylerinden etkilenmediği; ancak zamanla birlikte değiştiği gözlenmiştir. Serum osteokalsin konsantrasyonunun buzağılamadan hemen sonra en düşük düzeyde olduğu; doğum öncesi düzeyine (~30 ng/mL) doğumdan 15 gün sonra döndüğü ve 30. gününe kadar artmaya devam ettiği bildirilmektedir. Plazma osteokalsin konsantrasyonundaki azalma doğum döneminde kan dolaşımındaki PTH düzeyinin artması ile ilişkili olabilir (113). Peterson ve ark. (115) prepartum dönemde değişik fosfor içeriğiyle beslenen multiparus süt sığırlarında OC düzeyinin hemen hemen aynı olduğunu bildirmişlerdir. Liesang ve ark. (114) multiparus ineklerde yapılan bir çalışmada serum osteokalsin içeriğinin diğer çalışmaların aksine rasyondaki Ca ve P miktarlarından etkilendiğini bildirmişlerdir. Fosfor eksikliğinin kandaki kalsiyum ve fosfor açığını sağlamak için kemik yıkımlanmasını artırabileceği ileri sürülmektedir (115). Kemiklerden kalsiyum ve fosfor mobilizasyonu sonucunda serum osteokalsin düzeyinin düşmesi beklenmektedir. Süt verimi pik yaptığı ve kuru madde tüketiminin maksimuma ulaştığı dönemlerde OC düzeyinde de yükselme olacağı düşünülmektedir (113, 114).

### 2.7.5. Osteokalsin ve Hipokalsemi

Subklinik hipokalsemi (serum Ca düzeyi < 8 mg/dl) insidansının laktasyon sayısına göre değişmekle birlikte % 25-54 arasında olduğu bildirilmiştir. Hipokalsemide süt humması belirtileri görülme bile birçok fizyolojik fonksiyon etkilenmektedir, bunlar arasında abomasum ve rumen motilitesinin azalması, düz kas fonksiyonlarının bozulması ve kanda NEFA konsantrasyonunun artışı yer almaktadır (116).

Kan kalsiyum düzeyinin istenilen aralıkta (8-10 mg/dl) tutulabilmesi için, yaşama ve süt üretimi için gerekli kalsiyum homeostatik mekanizmalar tarafından ayarlanmaktadır. Kan kalsiyum düzeyi 5 mg/dl'nin altına düştüğü zaman çoğunlukla süt humması olarak bilinen parturient parezisle sonuçlanır (107). Hipokalsemi ayrıca güç doğum, retensio sekundinarum, mastitis, abomasum deplasmanı ve ketozis gibi hastalıkların oluşum riskini de arttırmaktadır. Hayvanın yaşı ilerledikçe gereksinimi olan kalsiyumu karşılamak için çalışan homeostatik mekanizmalar daha yavaş çalışır. Süt hummasından inekleri korumak için araştırmacılar çoğunlukla doğumdan 2 hafta önce D vitamini enjeksiyonu veya yemlerine D vitamini katılmasını önermektedirler (114). Bu uygulama kalsiyumun intestinal absorpsiyonunu artırır ve süt hummasından korumaya yardımcı olur, ancak fazlası yumuşak dokularda geri dönüşümsüz metastatik kalsifikasyona neden olabilir. D vitamini Ca düzenleyici 1,25-dihydroxyvitamin D3 (DHVD) hormonunun üretimi için gerekli bir prekürsördür. D vitamini birçok memelinin derisinde fotokimyasal olarak aktif formuna dönüştürülür. Karaciğerin dolaşımdaki D vitaminine yüksek bir afinitesi ve mikrozomal enzimlerin etkinliğiyle D vitamini karaciğerde 25-hydroxyvitamin D3'e dönüştürülür (107, 114). Daha sonra 25-OH sistemik dolaşıma girer ve sonrasında böbreklerde DHVD'ye dönüştürülür. DHVD hormonu kalsiyum ve fosforun barsak epitellerinden aktif transportunu uyarır ve bu hormonun üretimi paratiroid hormonu (PTH) tarafından sıkı bir şekilde düzenlenir. Paratiroid hormonun ineklerde 3 temel fonksiyonu vardır:

- kemikten kalsiyumu mobilize etmek,
- DHVD konsantrasyonunu artırarak sindirim sisteminden Ca Emilimini artırmak,
- Ca' u tutmak için fazla fosforun böbreklerden ekskresyonunu uyarmak (116).

Kan Ca düzeyi düştüğünde PTH konsantrasyonu yükselir. Artan PTH konsantrasyonu böbreklerde 1- $\alpha$ -hidroksilaz üretimini uyarır, bu enzim de 25-OH'ı

DHVD'ye dönüştürür. Kan kalsiyumu normal düzeye geldiğinde PTH sekresyonu azalır ve negatif feedback mekanizmasıyla DHVD katabolize edilir. 25-OH DHVD'den çok inaktif bileşenlerine dönüştürülür (114). DHVD veya PTH osteoblastlara bağlandığında, osteoblastlar kemik minerallerini rezorbe etmek için osteoklastları aktive eden bileşikler salgırlar ve tekrar kana dönerler. Serum osteokalsin düzeyinin ölçülmesi kemik ve kalsiyum metabolizmasını değerlendirmek için en sık kullanılan biyokimyasal markerlerden biridir (107, 116).

### **2.7.6. Osteokalsin ve Doğum Sayısı İlişkisi**

Süt ineklerinde laktasyondaki kalsiyum ihtiyacını karşılamak için değişen derecelerde hipokalsemi oluşmaktadır (116). Hipokalsemide kalsiyum dengesini sağlamak için kemiklerden Ca salınımı ve intestinal kalsiyum emilimi artmaktadır. Ancak doğum sonrasında kemikten kalsiyum salınımı bir hafta veya daha fazla gecikir, bu nedenle kalsiyum homeostazisi sadece intestinal kalsiyum emilimine bağlıdır (110). Gebelikten laktasyona kadar geçen süre içerisinde kemik metabolizmasındaki değişiklikleri incelemek için birçok çalışma yapılmış, kanda ve idrarda kemik metabolik markırları rapor edilmiştir (106). Çok doğum yapan ineklerde plazma Ca konsantrasyonu tek doğum yapmış ineklere göre postpartum bir hafta haricinde peripartum dönemde daha düşük bulunmuştur (110).

Peripartum ineklerde kemik resorpsiyonu doğumda aktive edilmektedir. Paratiroid bezinden salınan parat hormon buzağılamadan sonra kalsiyum gereksinimini karşılamak için kemikten kalsiyum resorpsiyonunu hızlandırmaktadır (106). Ek olarak kortikosteroidlerin osteoklastların ömrünü ve aktivitesini artırması hem multipar hem de primipar ineklerde kemik resorpsiyonunu hızlandırmaktadır, çünkü ineklerde doğum sırasında plazma kortizol konsantrasyonu artar (114). Kurosaki ve ark. (117) primipar ineklerde multipar ineklere göre doğumdan 40 gün öncesinden 7 gün sonrasına kadar olan sürede osteokalsin düzeyinin daha yüksek olduğunu bildirirken; Iwama ve ark. (118) postpartum 14 günde bir farklılık olmadığını rapor etmişlerdir.

### **2.7.7. Osteokalsin ve Diğer Kemik Markırlar**

Tip I kollajen kemik dokusunun organik matriksinde en çok bulunan bileşendir ve tüm kemik proteinlerinin %85-90'ını oluşturur. Kemiğin mineralizasyon işlemi

kollajen aracılığıyla olur ve mineraller kollajene bağlanır. Osteokalsin ise kemikte %2-5 oranıyla en çok bulunan ikinci proteindir (119). Osteokalsin konsantrasyonunun belirlenmesi hem in vivo hem de in vitro çalışmalarda osteoblast aktivitesi ve hastalarda kemik aktivitesinin değerlendirmesinde bir marker olarak kullanılmaktadır (114). Bununla birlikte, çözünürlüğü, katı hal yapıları, fonksiyonları ve kemik dokusu içindeki etki bölgeleri hala tam olarak bilinmemektedir. Çözeltilerde osteokalsinin yapı olarak son derece esnek bir polipeptid şeklinde görüldüğü ve belki de sadece kalsiyum fosfata veya tip I kollajene bağlandığında spesifik yapısına kavuştuğu ileri sürülmektedir (119).

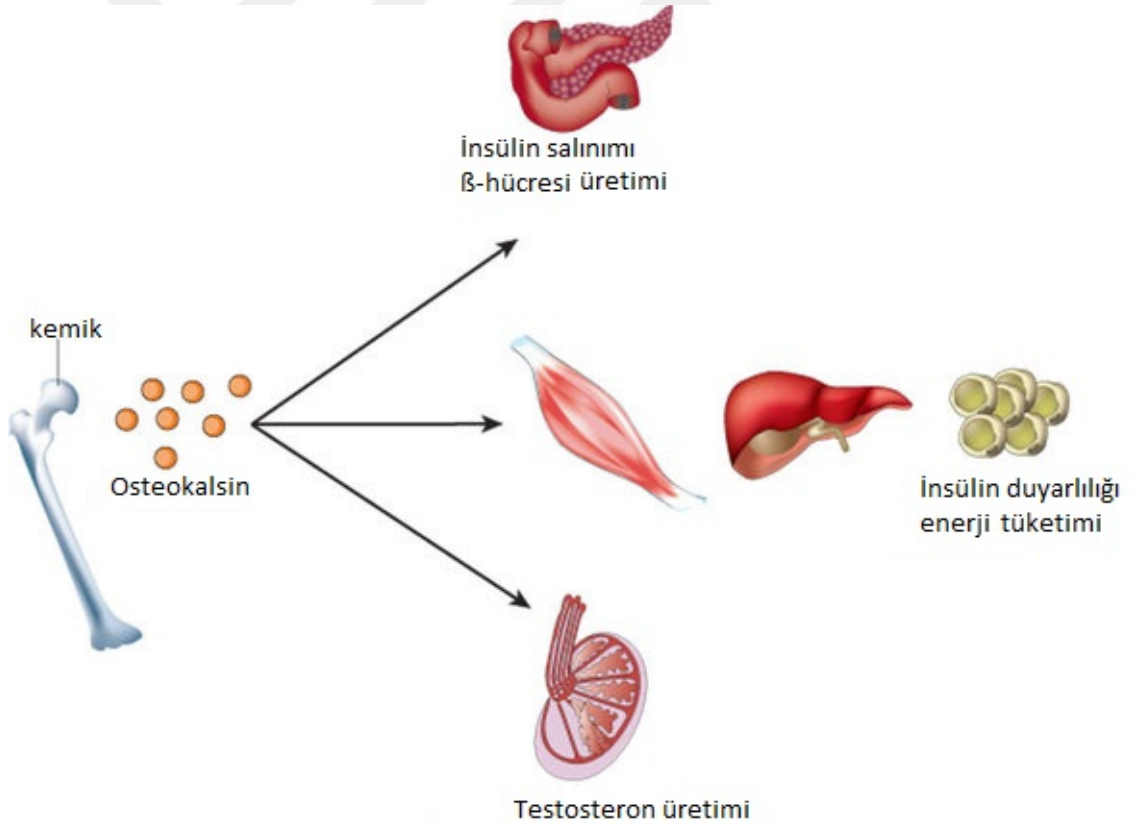
Metabolik kemik hastalığı, kemiklerin zayıflaması ya da kemik metabolizmasını düzenleyici mekanizmaların bozulması şeklinde ortaya çıkmaktadır. Bunun nedeni süt ineklerinde genellikle rasyonda kalsiyum ve fosforun dengesiz olmasıdır (120). Süt ineklerinde kemik metabolizması, kalsiyum ve fosfor gereksinimi laktasyon, gebelik durumu ve rasyona göre zamanla değişim göstermektedir. Rasyonda kalsiyum ve fosfor eksikliği ya da aniden ve hızlı bir şekilde gereksinimin artması kemik metabolizmasını bozabilir ve kemik bozukluklarına yol açabilir (110, 120). Özellikle yüksek süt verimli sığırlarda bu durum daha fazla görülmektedir. Çin holsteinlarında morbiditenin % 9,5-20 arasında olduğu rapor edilmiştir. Sonradan kalsiyum ve fosfor takviyesi yapılsa bile tedavinin etkili olmadığı bildirilmiştir (120). Kemik metabolizması osteoklast ve osteoblastlar tarafından düzenlenen kompleks bir mekanizmadır. Metabolik kemik hastalıkları için çeşitli sensitif ve spesifik markerler vardır. Bunlar arasında en önemlileri osteokalsin olmak üzere alkalin fosfat ve tip I kollajendir. Aynı zamanda insülin-like growth faktör 1'in kemik üzerine anabolizan etkisinin olduğu, osteoblastların proliferasyonu, farklılaşması ve mineralizasyonuna katkıda bulunduğu bildirilmiştir (119, 121).

### **2.7.8. Osteokalsin ve Glukoz Metabolizması İlişkisi**

Son yıllarda yapılan çalışmalarda kemik dokusunun glukoz ve enerji metabolizmasının düzenlenmesinde fonksiyonları olan endokrin bir organ olduğu ortaya konulmuştur (122). Bu fonksiyonlardan sorumlu hormon osteokalsindir. Osteokalsin karboksillenmemiş formda pankreasta  $\beta$ -hücre proliferasyonunu, insülin salınımını ve periferik dokuların insüline duyarlılığını artırır (123). Çeşitli klinik araştırmalar insanlarda glukoz metabolizması ile osteokalsin arasında bir ilişki olduğu

görüşünü desteklemektedir (122-124). Bazı farelerde osteokalsinin hedef hücrelerde yeni identifiye edilen reseptörler aracılığı ile fonksiyon yaptığı ortaya konmuştur (122). Bu hormonun biyolojik önemini araştırmak amacıyla genetik olarak modifiye edilmiş farelerde osteokalsin aktivitesi artırıldığında farelerin diyet kaynaklı obeziteden ve tip 2 diyabetten korundukları ortaya çıkmıştır (122, 124). Osteokalsin enjeksiyonları ile yağlı diyetle beslenen farelerde özellikle glukoz intoleransının düzeldiği ve farelerin karaciğer yağlanması korunduğu gözlenmiştir. Bu veriler tip 2 diyabetin tedavisinde osteokalsin kullanılabilirliğini düşündürmüştür (124).

Beş hafta boyunca 3 ng/canlı ağırlık/gün osteokalsin verilen farelerde glukoz düzeyinin önemli ölçüde düştüğü ve bu durumun geçici olduğu, 5 hafta boyunca 30 ng/canlı ağırlık/gün osteokalsin enjekte edilen farelerde ise glukoz düzeyinin kalıcı olarak düştüğü bildirilmiştir. Sonuç olarak insülin tolerans testiyle belirlenen farelerde her iki doz da insülin duyarlılığının arttığı belirtilmiştir (122).



**Şekil-11:** Osteokalsinin insülin salınımı ve etkinliğini artırmasıyla dokularda gösterdiği etki (121).



### 2.7.9. Osteokalsin ve İnsülin İlişkisi

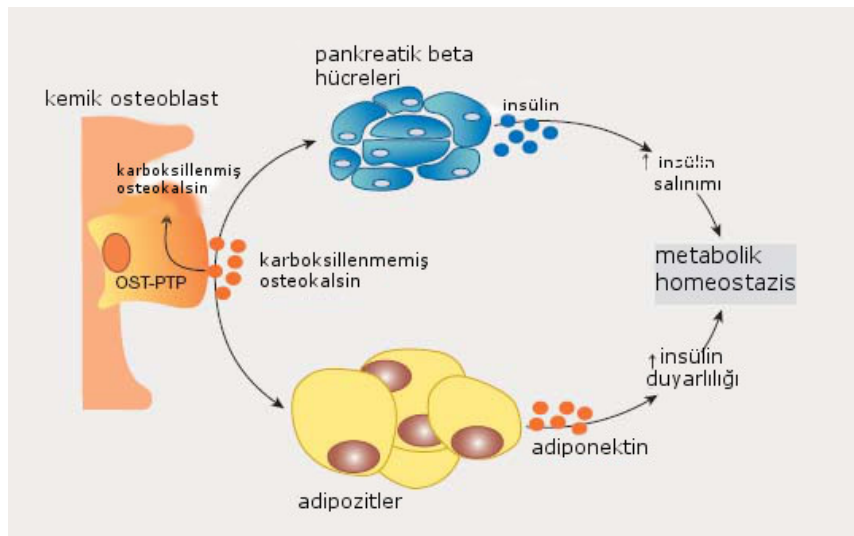
Osteoblastlar kemik formasyonundan sorumludur. Esasen osteoblastlar fibroblastlardan özelleşmiştir. İnsülin growth faktör 1R (IGF-1R) geni vasıtasıyla osteoblastlardan kemik sialoproteini ve osteokalsin de üretilmektedir. Osteokalsin kemik gamma-karboksiglutamik asit içeren non kollajenöz bir protein olarak bilinir ve insanlarda total matriks proteinlerinin %1-2'sini oluşturur. Osteokalsin BGLAP geni tarafından kodlanır, genellikle osteoblastlardan salınır ve in vitro osteositlerin üremesinde bir indikatör olarak kullanılır. IGF-1R insülin stimülasyonuna cevap vermeye başladıktan sonra osteoblast üretiminin arttığı ve insülin uyarımlarından sonra osteokalsin miktarında da artışlar görüldüğü bildirilmiştir (121).

Glukoz metabolizmasının düzenlenmesi kompleks bir fizyolojiye sahip olup çok değişik hedef hücreleri olan birçok hormon tarafından etkilenmektedir (16). Bu hormonların başında insülin gelmektedir. İnsülin pankreatik hücrelerden salınmaya başladıktan sonra beyaz adipoz dokuda ve kaslarda glukoz alımını artırır ve karaciğerde glukoneogenesisi baskılar (15). Tüm bunların sonucunda kan glukoz düzeyini düşürür. İnsülin fonksiyonunu yerine getirebilmek için uygun reseptöre bağlanmak zorundadır, adipozitlerde, myoblastlarda, karaciğerde ve aynı zamanda birçok hücreye tirozin kinaz adı verilen bir reseptöre bağlanır (16). Farelerde yapılan araştırmalarda kemiklerdeki insülin direncinin dolaşımında, kemikte üretilen osteokalsin hormonunda düşüşe neden olduğu ve bu hormonun kaslarda optimal insülin duyarlılığı için gerekli olduğunu göstermiştir. Adipoz dokuda insülin sinyalini oluşturması için gereken osteokalsin miktarı insülin sekresyonu için gerekenden daha fazladır (14). Kanında yüksek derecede yağ bulunan hayvanlarda insülin bağımlı osteokalsin aktivitesi azalır ve bir kısır döngü başlar. İnsanlarda yapılan çalışmalarda (14-16) osteokalsin sinyalinin engellendiği durumlarda glukoz intoleransı şekillenmiştir, bu bulgular memelilerde kemiğin glukoz hemoastazisinin düzenlenmesinde etkili olduğunu göstermiştir.

Düşük düzeydeki kronik yangıların insülin direncini artırdığı ve sonrasında tip 2 diyabeti başlattığı görülmüştür. Hatta interleukin-6 (IL-6) ve C reaktif protein subklinik sistemik yangı için iki duyarlı fizyolojik markerdir ve kemik metabolizmasını bozdukları ortaya konulmuştur (125). Ancak, osteokalsin ve yangısal

sitokinler ile ilgili sınırlı sayıda araştırma yapılmıştır. Bu çalışmalarda C reaktif proteinle osteokalsin arasında negatif bir ilişki olduğu rapor edilmiştir. İn vivo ve in vitro çalışmalar hipergliseminin osteoblast fonksiyonunu baskıladığı, dolayısıyla tip 2 diyabette osteokalsin üretimini ve sekresyonunun azaldığını göstermektedir. Hiperglisemi aynı zamanda reaktif oksijen türlerini uyararak kemik iliğinin yaşlanmasından sorumludur. Ancak, artan glukoz konsantrasyonunun da osteoblastlar için direkt olarak toksik olabileceği bildirilmiştir (16, 125).

Ferron ve ark. (122) yaptıkları bir çalışmada osteokalsin verilen farelerde  $\beta$ - hücrelerinin ve adiponektin salınımı yapan adipozitlerin üretimini düzenlendiğini ve farelerde metabolik hastalıklar, obezite ve tip 2 diyabet gelişimini etkilediğini rapor etmişlerdir. İnsanlarda da osteokalsin aktivitesinin kemik metabolizması, glukoz/yağ metabolizması üzerinde etkili olduğu bulunmuştur (16, 125). Serum osteokalsin düzeyi ile açlık kan şekeri arasında önemli ölçüde ve negatif bir korelasyon gözlenmiştir. Diyabetli erkeklerde yağ yüzdesi ile serum osteokalsin düzeyi arasında negatif korelasyon, diyabetli kadınlarda da osteokalsin ve serum total adiponektin arasında pozitif korelasyon bulunmuştur. Sonuç olarak serum osteokalsin düzeyi glukoz ve total adiponektin düzeyi ile ilişkilidir ve aynı zamanda osteokalsin düzeyi düşük olan diyabetli hastalarda ateroskleroz oluşumu da gözlenmiştir. Bu bulgulara göre osteokalsinin kemik metabolizması, glukoz metabolizması ve yağ kütlesi üzerine etkili olduğu belirlenmiştir (123).



**Şekil-12:** Osteokalsinin metabolik homeostazisteki rolü (121).

## 2.7.10. Osteokalsin ve Metabolik Sendrom

İskelet her ne kadar durgun bir yapı gibi görünse de son yıllarda kemiklerin enerji homeostazisinde önemli roller üstlendiği ortaya konmuştur (124). Kemikler, adipoz doku ve beyin vücut ağırlığının kontrolü, enerji dengesinin düzenlenmesi ve spesifik olarak osteoblastlardan salınan osteokalsin adı verilen hormonun etkinliğiyle glukoz metabolizmasında etkili olmaktadır. Deney hayvanı kullanılan çalışmalarda osteokalsinin glukoz ve yağ metabolizmasının düzenlenmesine katıldığı gözlenmiştir (14). Osteokalsin  $\beta$ -hücreleri üzerine direkt etkili olup proliferasyonunu ve kütesini artırır ve böylece insülin sekresyonu artar. Daha da ötesi adipoz dokuyu uyararak adiponektin salınımını artırır ve bu hormon da insülin duyarlılığını artırmaktadır. Böylece osteokalsinin artması hem kaslarda hem de kemiklerde insülin sensitivitesini artırır. Serum osteokalsin miktarı ile HDL-kolesterol düzeyi arasında önemli bir korelasyon varken serum trigliserit düzeyi ve serum osteokalsini arasında önemli ve negatif bir korelasyon bulunmuştur. Obezite, kan basıncının artışı, kanda yağ miktarının artışı ve kan şekerindeki düzensizlikler metabolik sendrom denilen hastalığa yol açmaktadır (14, 124).

## 2.7.11. Osteokalsinin Yağ dokusu ve Karaciğer Üzerine Etkileri

Osteokalsin bir reseptör olan GPCR proteinine bağlanarak etki gösterir. Bu protein birçok dokudan bol miktarda salınır ve osteokalsine ek olarak L-amino asitler, katyonlar ve anabolik steroidlere bağlanır. Osteokalsin pankreatik beta hücrelerine bağlanarak hücre içi cAMP'yi ve  $\beta$  hücre proliferasyonunu artırır. Hem direkt olarak hem de glukagon like peptid 1 düzeyini yükselterek ve normal  $\beta$  hücre fonksiyonunu düzenleyerek insülin sekresyonunu arttırmaktadır (14).

Deneysel ve epidemiyolojik çalışmalarda pankreatik insülin sekresyonunu artırması osteokalsinin bu güne kadar bilinen en önemli metabolik etkisidir (124). Pankreatik insülin salınımını artırmasının ötesinde, deneysel çalışmalar insanlarda osteokalsinin kandaki yüksek yağlanmanın neden olduğu obezite, insülin direnci ve karaciğer yağlanmasına karşı korumada etkili olduğunu göstermiştir. Ancak, bu konuda daha fazla çalışma yapılması gerektiği bildirilmiştir (123, 124). Osteokalsinin insülin duyarlılığını artıran, antiobezojenik ve karaciğer yağlanmasına karşı koruyucu olan çeşitli potansiyel mekanizmaları adipozitlerde, hepatositlerde ve iskelet kaslarında

tanımlanmıştır. Ayrıca adipozitlerden adiponektin salınımını artırarak endoplazmik retikulum stres cevabını ve nükleer faktör ilişkili yangıyı azalttığı mitokondriyal biyogenez ve fonksiyonunu artırarak karaciğer yağlanması riskini düşürdüğü bildirilmiştir (14).

Sonuç olarak osteokalsin enerji homeostazisinde, çeşitli dokularda glukoz metabolizmasında önemli bir modülatör olarak ortaya çıkmıştır. Kemikte üretilen bu hormonun gelecekte insanların metabolik hastalıklarının tedavisinde kullanılabileceği rapor edilmiş ve bu konuda çalışmalar devam etmektedir (14, 123, 124).

Bu çalışmada subklinik ve klinik ketozisli süt sığırlarında osteokalsin, NEFA, BHBA ve glukoz düzeylerini karşılaştırarak osteokalsinin sığırlardaki enerji metabolizmasındaki işlevinin incelenmesi amaçlanmıştır.



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Canlı Hayvan Materyali

Çalışmanın canlı hayvan materyalini 1500 başlık bir süt sığırı işletmesine ait laktasyonun ilk 3 haftasında bulunan 3 – 6 yaş aralığındaki 20 adet klinik ketozisli, 20 adet subklinik ketozisli ve 20 adet de sağlıklı kontrol grubu olmak üzere toplam 60 adet Holstein ırkı süt ineği oluşturdu. Çalışma ve kontrol grubundaki hayvanların tamamı işletmenin erken laktasyon grubunda olup aynı bakım, besleme ve çevre şartlarında barındırıldılar. Tüm gruplarda yaş ortalamaları birbirine yakın olan doğum sonrası 1-3 hafta arasındaki hayvanlar seçilmiştir.

Çalışmaya dahil edilen hayvanların klinik muayeneleri (pulzasyon ve respirasyon sayısı, beden sıcaklığı, kapillar dolun zamanı, mukoz membranların muayenesi, lenf yumrusu muayenesi, akciğer oskültasyonu ve perküsyonu, tracheal palpasyon, rumen hareketi) ayrıntılı olarak muayene edildi. Erken laktasyon döneminde sıklıkla karşılaşılan süt humması, abomasum deplasmanı, RPT, mastitis, metritis ve retensiyon sekondinarum gibi hastalıkları bulunan sığırlarda sekonder ketozis gelişebileceği ihtimaline karşı hasta olan sığırlar çalışma kapsamına alınmadı.

**Tablo-1:** Çalışma yapılan işletmede erken laktasyon grubunda hayvan başına kullanılan rasyon

Mısır silajı	10 kg
Tritikale silajı	11 kg
Kuru yonca	5 kg
Konsantre yem	8 kg
Mısır flake	4 kg
Soya küspesi	1,3 kg
By-Pass Yağ	0,5 kg

## **3.2. Çalışmaya Alınan Hayvanların Seçim Kriterleri ve Tanının Kesinleştirilmesi**

### **3.2.1. Klinik Ketozisli Hayvanların Belirlenmesi**

Doğumdan sonraki ilk 3 haftada vücut kondüsyon skorunda 0,5 den daha fazla düşüş olan hayvanlar takibe alındı ve süt verimleri takip edildi. Bunlardan süt veriminde düşüş ve iştahsızlık gözlenen hayvanlar klinik muayeneleri yapıldıktan sonra idrar stripleri ile ketonüri (asetonüri) kontrolü yapıldı ve muayenelerden sonra da kan alınıp BHBA ve kan glukoz düzeyleri değerlendirildi. Ketonüri görülen ve serum BHBA düzeyi 2,9 mmol/L'den daha yüksek olan hayvanlar klinik ketozis olarak çalışmaya dahil edildi (82, 126).

### **3.2.2. Subklinik Ketozisli Hayvanların Belirlenmesi**

Doğum sonrasında ineklerin süt verimleri günlük olarak takip edildi, süt veriminde düşüş olan ya da beklenen verim performansına ulaşamayan ve aynı zamanda vücut kondüsyon skorunda düşüş olan sığırlardan idrar alınarak ketonüri takibi yapıldı. Ketonüri olmamasına rağmen kondüsyon kaybeden ve süt verimi düşen hayvanlar subklinik ketozis açısından incelemeye alındı. İşletmede hayvandan alınan kandan direkt olarak BHBA değeri ölçüldü ve BHBA düzeyi  $\geq 1,2 - < 3$  mmol/L olan hayvanlar subklinik ketozisli gruba dahil edildi (82, 126). Bu hayvanların da klinik muayeneleri yapıldı, sekonder ketozise neden olabilecek diğer hastalıkların bulunmadığına karar verildikten sonra hayvanlar çalışma grubuna dahil edildi ve subklinik ketozis haricinde başka bir hastalığı bulunan hayvanlar çalışmaya alınmadı.

### **3.2.3. Sağlıklı Hayvanların Belirlenmesi (Kontrol Grubu )**

Yem tüketimi ve süt verimi istenen düzeyde olan, vücut kondüsyon skoru 0,5 ten daha fazla düşmeyen, genel klinik muayenelerde (pulzasyon ve respirasyon sayısı, beden sıcaklığı, kapillar dolum zamanı, mukoz membranların muayenesi, lenf yumrusu muayenesi, akciğer oskültasyonu ve perküsyonu, tracheal palpasyon, rumen hareketi) herhangi bir hastalığa rastlanmayan sağlıklı sığırlar incelendi. Klinik muayenelerden sonra bu hayvanlarda BHBA değerleri ölçüldü; 1,0 mmol/L'nin altında olan sığırlar kontrol grubuna dahil edildi (82, 126).

### **3.3. Kan Alım Zamanları ve Numunelerin Saklanması**

Hayvanların klinik muayeneleri yapıldıktan sonra akşam yemelemeden önce NEFA analizi ve yemlemeden 4 saat sonra BHBA analizi için steril ve tek kullanımlık iğnelerle vena jugularisten usulüne uygun olarak 10 ml lik vakumlu serumluk tüplere kan alındı. Alınan kan numuneleri derhal 1000 devir/dakika hızında 5 dakika santrifüj edildi, serumlar çıkartıldı, elde edilen her bir serumdan üç örnek alınıp ependorf tüplere konuldu ve - 20 °C de analiz yapılacak zamana kadar muhafaza edildi.

### **3.4. Serum Metabolik Profil Testleri**

Elde edilen her serumun bir örneğinde, kan alımını takiben portatif bir cihazla (STAT – Site® M<sup>B-HB</sup>) ( $\beta$ -Hidroksi bütirik asit) BHBA analizleri yapıldı. Serum Ca, P, trigliserit ve total kolesterol düzeyleri, fotometrik yöntemle belirlendi.

Her bir serum için alınan diğer iki örnek, serum NEFA ve diğer parametrelerin düzeylerinin belirlenmesi için analize kadar -20 C°de derin dondurucuda muhafaza edildi.

Glukoz, ALP, AST ve GGT biyokimyasal analiz cihazı (Reflotron), NEFA (esterleşmemiş yağ asidi), Bovine NEFA ELISA kiti (SHANGHAI YEHUA Biological Technology Co., Ltd., CHINA) ile ölçüldü.

Osteokalsin düzeyleri Bovin Osteokalsin ELISA kiti (SHANGHAI YEHUA Biological Technology Co., Ltd., CHINA) ile ölçüldü. Serum total protein değerleri ise el refraktometresi (Atago Sur-Ne, JAPAN) ile ölçüldü.

### **3.5. İstatistiksel Değerlendirme**

Serum biyokimyasal parametreleri arasındaki ilişki SPSS 13.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) programında, Tek yönlü varyans analizi kullanılarak istatistiksel olarak analiz edilmiştir.

Çalışmada yer alan normal dağılım gösteren ve varyans homojenliği varsayımlarını sağlayan değişkenler için gruplar arası karşılaştırma Tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile yapıldı. Farklılığın anlamlı çıktığı değişkenler için grupların ikili olarak karşılaştırılması Duncan testi ile yapıldı. İlgili değişkenler için tanımlayıcı istatistikler ortalama ± standart hata olarak belirtildi. Normal dağılım göstermeyen değişkenler için Kruskal-Wallis ve farklılık varsa Mann whitney U testi yapılmıştır. Değişkenler arasındaki ilişki için Pearson korelasyon analizi yapıldı. İstatistiksel yorumlar için  $P < 0,05$  değer anlamlı kabul edildi.



## 4. BULGULAR

### 4.1. Çalışmaya alınan hayvanların genel muayene bulguları

Çalışmaya alınan hayvanların genel muayene bulguları **Tablo-2'**de verilmiştir. Tablo 2 de görüldüğü gibi kalp frekansı, solunum frekansı, beden sıcaklığı ve kapillar dolum süresi bakımından gruplar arasında önemli bir farklılık tespit edilmemiştir. Çalışmaya hasta hayvanlar dahil edilmediği için kontrol grubu ve diğer gruplardaki hayvanların mukoz membranları, rumen hareketleri, lenf yumruları, akciğer oskültasyon - perküsyon sesleri ve tracheal palpasyon bulguları normal sınırlar içerisinde bulunmuştur.

**Tablo-2:** Araştırmaya alınan hayvanların genel muayene bulguları

Parametre	Kontrol n:20 (Ort. ± SH)	Subklinik Ketozis n:20 (Ort. ± SH)	Klinik Ketozis n:20 (Ort. ± SH)	Referans Aralıkları
<b>Beden Sıcaklığı (°C)</b>	38,57±0,06	38,58±0,06	38,48±0,07	37,5-38,5
<b>Kalp Frekansı (dk)</b>	73,2±1,23	72,2±1,28	72,4±1,36	36- 80
<b>Solunum Frekansı (dk)</b>	26,2±1,37	26,0±1,21	25,2±1,20	10-30
<b>Kapillar Dolum Süresi (sn)</b>	1,25±0,10	1,30±0,11	1,30±0,11	1-2

#### 4.2. Serum Örneklerinde Enerji Dengesi ile İlişkili Parametrelerin İncelenmesi

Araştırma boyunca elde edilen ve enerji dengesinin belirlenmesinde kullanılan kan örnekleri üzerinde yapılan analizlerin sonuçları **Tablo-3**'de, diğer serum biyokimyasal parametrelerin sonuçları ise **Tablo-4**'de verilmiştir.

**Tablo-3:** Enerji dengesi ile ilişkili olan kan parametrelerinin sonuçları

Parametre	Kontrol (Ort. ± SH)	Subklinik Ketozis (Ort. ± SH)	Klinik Ketozis (Ort. ± SH)	Referans Aralıkları
NEFA (mmol/l)	0,37 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,72 ± 0,05 <sup>b</sup>	0,65 ± 0,05 <sup>b***</sup>	< 0,7
BHBA (mmol/l)	0,73±0,04 <sup>a</sup>	1,64±0,06 <sup>b</sup>	3,75±0,11 <sup>c***</sup>	< 1,2
Glukoz (mg/dl)	65,70±2,99 <sup>a</sup>	60,00±2,69 <sup>a</sup>	31,60±4,29 <sup>b***</sup>	45 – 75
Osteokalsin (ng/ml)	17,89±1,32 <sup>a</sup>	11,64±1,15 <sup>b</sup>	16,57±3,87 <sup>ab*</sup>	–

Farklı üst simgelere sahip olan değerler arasında anlamlı farklılık bulunmaktadır (\*\*P<0,001, \*P<0,05)

Araştırma sırasında elde edilen serum örneklerinden yapılan analizler sonucunda enerji dengesi ile ilişkili olarak incelenen tüm kan parametrelerinde anlamlı farklılıklar bulunmuştur. Subklinik ve klinik ketozis gruplarında bulunan hayvanların serum NEFA düzeyleri kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olarak belirlenmiştir (P<0,001). Tüm araştırma gruplarının serum BHBA düzeyleri her grup için farklılık göstermiştir (P<0,001). Serum BHBA düzeyi en yüksek olan grup klinik ketozis grubu iken bunu sırasıyla subklinik ketozis ve kontrol grupları izlemiştir. Serum glukoz düzeyleri bakımından kontrol ve subklinik ketozis grupları arasında fark gözlenmezken, klinik ketozis grubundaki hayvanların serum glukoz düzeyleri belirtilen gruplara kıyasla

önemli derecede düşük ( $P<0,001$ ) olarak belirlenmiştir. Serum osteokalsin düzeyleri karşılaştırıldığında klinik ketozis grubu, subklinik ketozis ve kontrol grupları ile farklılık göstermezken subklinik ketozis grubunun serum osteokalsin düzeyi kontrol grubuna göre önemli düzeyde düşük olarak bulunmuştur ( $P<0,05$ ).

**Tablo-4:** Diğer serum biyokimyasal parametrelerin sonuçları

Parametre	Kontrol (Ort. $\pm$ SH)	Subklinik Ketozis (Ort. $\pm$ SH)	Klinik Ketozis (Ort. $\pm$ SH)	Referans Aralıkları
AST (U/L)	135.95 $\pm$ 7.59 <sup>a</sup>	91.69 $\pm$ 7.22 <sup>b</sup>	98.34 $\pm$ 19.22 <sup>b*</sup>	78 – 132
GGT (U/L)	26.11 $\pm$ 1.72 <sup>a</sup>	33.76 $\pm$ 2.25 <sup>a</sup>	48.49 $\pm$ 6.94 <sup>b**</sup>	11 – 24
ALP (U/L)	101.81 $\pm$ 7.75 <sup>a</sup>	56.08 $\pm$ 5.11 <sup>b</sup>	57.67 $\pm$ 3.47 <sup>b***</sup>	90 – 170
TP (g/dl)	7.39 $\pm$ 0.20	8.11 $\pm$ 0.28	7.56 $\pm$ 0.20	6.7 – 7.5
Kolesterol (mg/dl)	119.64 $\pm$ 8.85 <sup>a</sup>	159.50 $\pm$ 11.96 <sup>b</sup>	112.20 $\pm$ 9.45 <sup>a**</sup>	80 – 180
Trigliserid (mg/dl)	22.84 $\pm$ 1.28	27.42 $\pm$ 2.43	26.19 $\pm$ 2.30	0 – 14
Ca (mg/dl)	9.52 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>	9.42 $\pm$ 0.22 <sup>a</sup>	8.54 $\pm$ 0.17 <sup>b***</sup>	9.7 – 12.4
P (mg/dl)	6.04 $\pm$ 0.14	5.69 $\pm$ 0.25	5.77 $\pm$ 0.27	5.6 – 6.5

Farklı üst simgelere sahip olan değerler arasında anlamlı farklılık bulunmaktadır (\*\* $P<0,001$ , \* $P<0,01$ ,  $P<0,05$ )

Araştırma boyunca elde edilen serum örneklerinde TP, Trigliserit ve P düzeyleri bakımından gruplar arasında önemli bir farklılık saptanmamıştır ( $P>0,05$ ). Serum AST düzeyi ile serum ALP düzeyi bakımından subklinik ve klinik ketozis grupları arasında farklılık gözlenmezken kontrol grubundaki hayvanların serum AST düzeyleri belirtilen gruplara kıyasla yüksek olarak belirlenmiştir ( $P<0,05$ ). Kontrol grubunda serum ALP düzeyinin diğer gruplara göre daha yüksek olduğu ortaya koyulmuştur ( $P<0,001$ ). Klinik ketozis grubundaki hayvanların serum GGT ( $P<0,01$ ) düzeyi diğer gruplara göre daha yüksek olarak belirlenirken Ca ( $P<0,001$ ) düzeyi kontrol ve subklinik grubuna kıyasla önemli düzeyde düşük olarak ölçülmüştür. Araştırmadaki subklinik ketozis grubundaki hayvanların diğer araştırma gruplarına kıyasla daha yüksek serum kolesterol düzeyine sahip olduğu saptanmıştır ( $P<0,01$ ).

Araştırma boyunca bakılan tüm kan parametrelerinin birbirleri ile ilişkileri gruplar bazında incelenmiştir. Kontrol, subklinik ketozis, klinik ketozis grupları için kan parametreleri arasındaki korelasyon kat sayıları sırasıyla **Tablo-5**, **Tablo-6** ve **Tablo-7** de verilmiştir.

**Tablo-5:** Kontrol grubu için kan parametrelerinin korelasyon katsayıları

	NEFA	OsteoC	BHBA	Glukoz	AST	GGT	TP	Chol	Trig	Ca	P	ALP
NEFA	1	.219	-.170	.075	.037	-.249	.367	.819**	.694**	.389	.248	-.183
OsteoC	.219	1	-.507*	.195	-.013	-.553*	.147	.077	.205	-.191	.148	-.341
BHBA	-.170	-.507*	1	-.098	-.229	.435	.014	.001	-.241	.199	-.093	-.072
Glukoz	.075	.195	-.098	1	.229	.239	.050	-.014	.261	.013	.100	-.028
AST	.037	-.013	-.229	.229	1	.497*	-.023	.062	.036	-.161	-.080	-.393
GGT	-.249	-.553*	.435	.239	.497*	1	.008	.003	-.268	.039	-.146	-.123
TP	.367	.147	.014	.050	-.023	.008	1	.356	.584**	.221	.301	-.181
Chol	.819**	.077	.001	-.014	.062	.003	.356	1	.379	.560*	.017	-.329
Trig	.694**	.205	-.241	.261	.036	-.268	.584**	.379	1	.035	.469*	.030
Ca	.389	-.191	.199	.013	-.161	.039	.221	.560*	.035	1	-.075	.102
P	.248	.148	-.093	.100	-.080	-.146	.301	.017	.469*	-.075	1	.186
ALP	-.183	-.341	-.072	-.028	-.393	-.123	-.181	-.329	.030	.102	.186	1

\*\* İlişki önemlilik düzeyi 0.01 düzeyindedir.

\* İlişki önemlilik düzeyi 0.05 düzeyindedir.

Kontrol grubunda serum NEFA ile kolesterol ( $P<0,01$ ) ve trigliserit ( $P<0,01$ ); AST ile GGT ( $P<0,05$ ); TP ile trigliserit ( $P<0,01$ ); kolesterol ile Ca ( $P=0,01$ ); trigliserit ile P ( $P<0,05$ ) arasında pozitif anlamlı, osteokalsin ile BHBA ( $P<0,05$ ) ve GGT ( $P<0,05$ ) arasında negatif anlamlı ilişkiler belirlenmiştir.

**Tablo-6:** Subklinik ketozis grubu için kan parametrelerinin korelasyon katsayıları

	NEFA	OsteoC	BHBA	Glukoz	AST	GGT	TP	Chol	Trig	Ca	P	ALP
NEFA	1	-.197	-.251	.138	-.317	.116	.190	.460*	.645**	.089	.141	-.484* (P=0.030)
OsteoC	-.197	1	-.110	-.367	-.007	.194	.120	-.151	.259	.232	-.111	.056
BHBA	-.251	-.110	1	.370	.183	-.036	-.206	-.121	-.090	.073	-.585**	-.001
Glukoz	.138	-.367	.370	1	.210	.243	-.096	.203	.077	-.088	-.063	.178
AST	-.317	-.007	.183	.210	1	.045	-.357	-.451*	-.209	-.191	-.177	.597** (P=0.005)
GGT	.116	.194	-.036	.243	.045	1	.126	-.368	.272	-.329	-.191	.168
TP	.190	.120	-.206	-.096	-.357	.126	1	.028	.299	.653**	.118	-.411
Chol	.460*	-.151	-.121	.203	-.451*	-.368	.028	1	.113	.135	.271	-.468* (P=0.037)
Trig	.645**	.259	-.090	.077	-.209	.272	.299	.113	1	.308	-.035	-.272
Ca	.089	.232	.073	-.088	-.191	-.329	.653**	.135	.308	1	.207	-.470* (P=0.037)
P	.141	-.111	-.585**	-.063	-.177	-.191	.118	.271	-.035	.207	1	-.070
ALP	-.484* (P=0.030)	.056	-.001	.178	.597** (P=0.005)	.168	-.411	-.468* (P=0.037)	-.272	-.470* (P=0.037)	-.070	1

Subklinik ketozis grubunda serum NEFA ile kolesterol ( $P<0,05$ ) ve trigliserit ( $P<0,01$ ); TP ile Ca ( $P<0,01$ ) arasında pozitif anlamlı, BHBA ile P ( $P<0,01$ ); AST ile kolesterol ( $P<0,05$ ) arasında negatif anlamlı, Serum ALP ile NEFA ( $P<0,05$ ), kolesterol ( $P<0,05$ ) ve Ca ( $P<0,05$ ) ile negatif anlamlı, AST ( $P=0,005$ ) ile pozitif anlamlı ilişki olduğu tespit edilmiştir.

\*\* İlişki önemlilik düzeyi 0.01 düzeyindedir.

\* İlişki önemlilik düzeyi 0.05 düzeyindedir.

**Tablo-7:** Klinik ketozis grubu için kan parametrelerinin korelasyon katsayıları

	NEFA	OsteoC	BHBA	Glukoz	AST	GGT	TP	Chol	Trig	Ca	P	ALP
NEFA	1	-0.009	.273	-.162	-.324	.134	.012	.362	.425	.231	.109	-.108
OsteoC	-0.009	1	-.377	.551*	.062	-.222	-.224	.171	.192	.251	.010	-.179
BHBA	.273	-.377	1	-.406	-.109	-.054	-.169	-.534*	-.167	-.122	-.443	.026
Glukoz	-.162	.551*	-.406	1	.087	-.372	.129	.287	.047	.185	.179	.149
AST	-.324	.062	-.109	.087	1	.367	-.019	-.101	.075	-.019	-.445*	.230
GGT	.134	-.222	-.054	-.372	.367	1	.420	-.067	-.191	.207	-.056	.488** (P=0.029)
TP	.012	-.224	-.169	.129	-.019	.420	1	.263	-.278	.641**	.436	.480* (P=0.032)
Chol	.362	.171	-.534*	.287	-.101	-.067	.263	1	.467*	.476*	.513*	-.241
Trig	.425	.192	-.167	.047	.075	-.191	-.278	.467*	1	-.011	.167	-.253
Ca	.231	.251	-.122	.185	-.019	.207	.641**	.476*	-.011	1	.214	-.135
P	.109	.010	-.443	.179	-.445*	-.056	.436	.513*	.167	.214	1	-.236
ALP	-.108	-.179	.026	.149	.230	.488* (P=0.029)	.480* (P=0.032)	-.241	-.253	-.135	-.236	1

\*\* İlişki önemlilik düzeyi 0.01 düzeyindedir.

\* İlişki önemlilik düzeyi 0.05 düzeyindedir.

Klinik ketozis grubunda serum osteokalsin ile glukoz (P<0.05); kolesterol ile trigliserit (P<0.05), Ca (P<0.05) ve P (P<0.05); TP ile Ca (P<0.01) arasında pozitif anlamlı, AST ile P (P<0.05) ve kolesterol ile BHBA (P<0.05) arasında negatif anlamlı ilişki olduğu belirlenmiştir Serum ALP ile GGT (P<0.05) ve TP (P<0,05) ile pozitif anlamlı ilişki tespit edilmiştir.

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Ketozis, yüksek süt verimli ineklerde negatif enerji dengesi şekillenmesi sonucu hipoglisemi ve keton cisimcikleri konsantrasyonunun yükselmesi ile karakterize bir metabolizma hastalığıdır. Keton cisimciklerinin kandaki konsantrasyonuna ve klinik bulgulara göre klinik veya subklinik ketozis olarak sınıflandırılır (56). Hiperketonemi; iştahta azalma, kilo kaybı, süt veriminde düşüş ile karakterizedir; ancak klinik ketozis tanısındaki sorun belirtilerin büyük ölçüde sübjektif olmasıdır. Klinik ketoziste iştah ve süt verimi kısa bir sürede azalmakta ve süt veriminde de kademeli bir düşüş gözlenmektedir. İneklerde iştah azalmasının yanı sıra konsantre yeme karşı isteksizlik görülürken kaba yem tüketme eğiliminin daha fazla olduğu, rumen hareketlerinde azalma ve dışkının daha kuru kıvamda olduğu bildirilmiştir (10, 68 ). Hızlı bir canlı ağırlık kaybı şekillenirken ketonürinin yanısıra sütte, idrarda, solunum havası ve hayvanın derisinde aseton kokusu bulunması klinik ketoziste sık karşılaşılan bulgulardır. Ketozisin sinirsel formunun ortaya görüldüğü ineklerde kendi derisini ve ahırdaki cisimleri yalama, körlük, tremorlar ve başını bir yerlere dayama isteği gibi bulgular gözlenebilir (10, 34, 56).

Vücuttaki enerji açığını kapatmak amacıyla sığırlar öncelikli olarak kendi vücut yağlarını kullanarak enerji elde etmeye çalışırlar. Erken laktasyon döneminde yağ dokusundan mobilize olan esterleşmemiş yağ asitleri (NEFA) kan dolaşımında bol miktarda bulunarak çeşitli dokularda, özellikle de karaciğerde birikir (11, 68). Karaciğere yoğun miktarda NEFA girdiğinde tamamen oksidize edemez ve böylece bir kısım NEFA karaciğerde TAG lere re-esterifiye edilir. TAG' leri taşıyan VLDL' ler sığırlarda daha az üretildiği için karaciğerde fazla miktarda yağ birikerek hepatik lipidozis meydana gelir (94). Karaciğerde aşırı miktarda yağ birikimi karaciğerin normal fonksiyonunu engelleyerek hiperketonemiye yol açar (10). Subklinik ketoziste klinik belirtiler açıkça görülme bile dolaşımda yoğun miktarda keton cisimcikleri bulunabilir. Postpartum metabolik problemlerin ortaya çıkma riski açısından BHBA değerinin 0,9 mmol/L ile 1.6 mmol/L arasında değiştiği bildirilmiş, çalışmalarda çoğunlukla 1,2 mmol/L BHBA için eşik değer olarak kabul edilmiştir (82, 87, 88, 127-130). Klinik ve subklinik ketozisin ayrımı pratikte sübjektif olarak klinik bulgular temelinde yapılabilir; ancak daha objektif bir değerlendirme için BHBA düzeyleri

ölçülmelidir. Klinik ketoziste BHBA düzeyi genellikle subklinik ketozisten daha yüksektir (85). Klinik ketozis tanısı koyulan ineklerde BHBA düzeyi genellikle 3 mmol/L ve üzerindedir, bu değer subklinik ketozis için belirlenen eşik değerinden oldukça yüksektir (82).

Birçok hiperketonemik inek klinik belirti göstermemektedir; Duffield ve ark. (128) postpartum 1. haftada BHBA düzeyi 1,2 mmol/L ve üzerinde olan 264 inekten sadece 13 tanesinin klinik belirti gösterdiğini bildirirken; Ospina ve ark (129) ve McArt ve ark. (82) hiperketonemi görülen sığırların % 20 sinden daha azında 3 mmol/L ve üzerinde BHBA ölçüldüğünü rapor etmişlerdir. Son yıllarda ketozis ile ilgili yapılan çalışmalarda BHBA 1,2 mmol/L ve üzerindeki klinik belirti göstermeyen inekler subklinik ketozisli olarak, 3 mmol/L ve üzerinde BHBA ölçülen inekler de klinik ketozisli olarak kabul edilmektedir (82, 128, 129).

Çalışmamız sırasında klinik ve subklinik ketozisli hayvanların belirlenmesi için hayvanların klinik muayeneleri yapılmış, süt verimleri günlük olarak takip edilmiş ve idrarda ketonüri olup olmadığı incelenmiştir. Vücut kondüsyon skorları da takip edilerek muayenelerin yanı sıra serum BHBA düzeyleri de ölçülerek klinik / subklinik ketozis ayırımı yapılmıştır. Sınıflandırmada herhangi bir karışıklık ya da belirsizlik oluşmaması için Duffield (128), Ospina (129) ve McArt (82)'in çalışmalarında belirttiği gibi 3 mmol/L ve üzerinde BHBA tespit edilen ve klinik belirti gösteren inekler ketozis grubuna alınmıştır.

Bazı çalışmalarda kan NEFA konsantrasyonları negatif enerji dengesinin (NED) belirlenmesinde daha doğru bir yöntem olduğu ileri sürülmüştür (129). Ospina ve ark. (129) postpartum metabolizma hastalıklarının ve verimin değerlendirilmesi açısından NEFA'nın BHBA'dan daha duyarlı ve spesifik olduğunu bildirmişlerdir. Chapinal ve ark. (130) da bu teoriye ek olarak NEFA konsantrasyonlarının sadece postpartum dönemde değil, prepartum dönemde de NED ile ilgili olarak BHBA'dan daha fazla bilgi verebileceğini rapor etmişlerdir. Ancak kesin ve doğru NEFA ölçümleri için günümüzdeki teknoloji ile sahada kan numunelerinin toplanması, bu numunelerin işlenmeleri nispeten zor ve daha pahalı olabilir. Ek olarak numune alınması sırasında hayvanda stres oluşması NEFA konsantrasyonunu yükseltebilir (131).

Güncel çalışmalarda prepartum dönemde sağlıklı hayvanlar için NEFA değerinin 0,3 mEq/L ile 0,5 mEq/L arasında olduğu, NEFA değerinin 0,5 mEq/L den yüksek



olan düve ve ineklerde postpartum hastalıkların ortaya çıktığı bildirilmektedir. Post partum dönemde ise 0,7 mEq/L'nin NEFA değeri için üst sınır kabul edildiği ve en çok hastalığın görüldüğü NEFA düzeyinin 0,70 ile 1,0 mEq/L arasında değiştiği belirtilmiştir (127, 129, 130).

Yaptığımız çalışmada subklinik ketozis grubunda serum NEFA ortalamasının diğer gruplardan daha yüksek olduğu görülmüştür. Klinik ketozis grubunda ise NEFA ortalaması 0,7 mEq/L'nin altında bulunmuştur. Buna rağmen subklinik ketozis ve klinik ketozis grubu arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır. LeBlanc ve ark. (127), Ospina ve ark. (129) ve Chapinal ve ark. (130) laktasyondaki ketozisli sığırlarda serum NEFA konsantrasyonunun genellikle 0,7 mEq/L'nin üzerinde bulunmasına rağmen daha düşük değerlerde de ketozis şekillenebileceğini bildirmişlerdir. Klinik ketozis grubunda NEFA'nın subklinik ketozis grubuna göre daha düşük olması NEFA'nın uzun süre enerji eksikliği bulunan durumlarda TCA siklusunda enerji kaynağı olarak kullanılması olabilir (82, 129, 130). Kontrol ve subklinik ketozis grubunda NEFA ile kolesterol ve trigliserit arasında pozitif korelasyon olup, subklinik ketozis grubunda NEFA ile ALP arasında negatif anlamlı bir korelasyon bulunmuştur. Bunun olası nedeni erken dönemde karaciğer yağlanması tam olarak şekillenmediği durumlarda NEFA'dan trigliserit sentezinin artması ve karaciğerde lipoprotein ve kolesterol sentezinde artış eğiliminin olmasıdır (132).

Kolesterol, serbest kolesterol ve kolesterol esterlerinin toplamından oluşan total kolesterol olarak adlandırılır. Vücuttaki en büyük lipid olan kolesterol glukokortikoidler ve cinsiyet hormonlarının yapısına katılır. Süt sığırlarında kolesterol hem rasyonla birlikte alınır hem de karaciğer tarafından sentezlenir (89). Sığırlarda normal kolesterol düzeyi 80 – 180 mg/dl'dir. Kolesterolün fazlası safra yolları aracılığı ile barsaklara boşaltılır. Kronik karaciğer yetmezlikleri, siroz, diabetes mellitus, ve kuru madde tüketiminin aşırı miktarda azaldığı durumlarda serum kolesterol düzeyi düşmektedir. Sığırlarda karaciğer yağlanması durumunda da serum kolesterol düzeyinin önemli ölçüde düştüğü bildirilmiştir. Hepatositlerle ilişkili bir patolojinin şekillendiği hastalıklarda kolesterol düzeyi düşmeye başlarken, kolestazis durumlarında safra yolu ile atılmadığından yükselmektedir (89, 90, 92). Stres ve sürekli kortikosteroid uygulanan hayvanlarda serum kolesterol düzeyinin yükseldiği bildirilmiştir (89, 90).

Çalışmamızda tüm gruplarda serum kolesterol düzeyi normal referans aralıklarında olmakla birlikte klinik ketozis grubunda subklinik ketozis grubuna göre kolesterolün önemli düzeyde ( $p < 0.01$ ) düşük olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada elde edilen bu bulgu klinik ketozis olgularında serum kolesterol düzeyinin düştüğünü saptayan Nakagawa ve ark.(92) larının bulguları ile benzerlik göstermektedir. Negatif enerji dengesindeki sığırlarda normal koşullarda karaciğer yağlanmasına bağlı olarak kolesterol düzeyinin düşmesi beklenirken subklinik ketozis grubunda normal sınırlar içerisinde olmakla birlikte daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Bu durumun subklinik ketozis sırasında artan metabolik stres ve kortizol ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür (89, 92).

Kontrol grubunda kolesterol ile NEFA ve Ca arasında pozitif bir korelasyon varken subklinik ketozis grubunda kolesterol ile NEFA arasında pozitif, kolesterol ile AST arasında negatif bir korelasyon olduğu tespit edilmiştir. Klinik ketozis grubunda kolesterol ile BHBA arasında negatif, trigliserit ile pozitif korelasyonun bulunması ketoziste kuru madde tüketiminin azaldığını ve vücut yağlarından mobilizasyonun devam ettiğini göstermektedir. Klinik ketozis grubunda kalsiyum ve fosfor arasında pozitif korelasyon bulunmuş, bu da kuru madde tüketimine bağlı olarak serum Ca ve P düzeylerinin değişebileceğini düşündürmüştür (39, 56).

Trigliseritler gastrointestinal sistemde rasyonla alınan yağların sindirilmesiyle ve karaciğerde diğer gıdai yağlardan sentezlenirler. Trigliseritler kanda VLDL'lere bağlanarak dolaşırlar. Sığırlarda şiddetli karaciğer yağlanmasında lipoprotein (VLDL) oluşumu ve yağların mobilizasyonu bozulduğu için trigliserit düzeyi düşmektedir (89, 91). NED'deki sığırlarda kan dolaşımında serbest yağ asitlerinin artması karaciğerde trigliserit konsantrasyonunun artmasına neden olur. Trigliseritlerin bir kısmı karaciğerde depolanırken bir kısmı da VLDL'lere bağlanarak taşınır. Karaciğerde trigliserit sentezi VLDL sentezinden daha fazlaysa biriken trigliseritler karaciğer yağlanmasına yol açar (86). Karaciğer yağlanması ketozis ve abomasum deplasmanlarına da neden olabilmektedir. Bu nedenle ketozis durumunda genellikle trigliserid düzeyi azalır (86, 90, 133). Şiddetli karaciğer yağlanması bulunan sığırlarda serum trigliserit düzeyi 5 mg/dL'nin altına düşebilir (89). Çalışmada gruplar arasındaki serum trigliserit düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte ketozis ve subklinik ketozis gruplarında serum trigliserit düzeyinin kontrol grubuna göre yüksek olduğu

belirlenmiştir. Kessler ve ark. (132), doğumdan sonra ilk 1 haftada trigliserit düzeyinin önemli ölçüde düşük olduğunu, postpartum birinci haftadan sonra trigliserit konsantrasyonunun hızla yükseldiğini rapor etmişlerdir. Klinik ve subklinik ketozis gruplarındaki ineklerin genellikle laktasyonun birinci haftasından daha ileriki dönemlerinde oldukları için serum trigliserit ortalamalarının yüksek çıkmasında bu durumun katkısı olabilir (89).

Kontrol grubunda serum trigliserit ile NEFA, TP ve P arasında pozitif korelasyon bulunmuştur. Subklinik ketozis grubunda da aynı şekilde NEFA ile trigliserit arasında pozitif bir korelasyon gözlenmiştir. Ketozis grubunda ise trigliserit ile sadece kolesterol arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir. Ketozis ve karaciğer yağlanması gibi durumlarda trigliserit ve kolesterol arasında pozitif korelasyon olduğu diğer çalışmalarda da bildirilmiştir (90, 92, 94, 95, 133). Rukkwamsuk ve ark. (95) da yaptıkları bir çalışmada ketozisli sığırlarda serum NEFA artışı ile birlikte trigliserit ve kolesterolün azaldığını, serum trigliserit ve kolesterol arasında pozitif bir korelasyon olduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmamızda subklinik ketozis grubunda NEFA'nın yükseldiği, klinik ketozis grubunda ise NEFA düzeyinin düştüğü belirlenmiştir. Negatif enerji dengesinin devam etmesiyle birlikte NEFA'nın enerji kaynağı olarak kullanıldığı ve bundan sonra keton cisimciklerinin daha da artmasıyla birlikte serum BHBA düzeyinin arttığı düşünülmüştür. Klinik ketozis grubunda serum kolesterol ve trigliserit düzeylerinde düşüş ve GGT düzeyilerindeki artış bu grupta karaciğer yağlanması şekillendiğini gösterebilir ve bu durum Katoh (133), Quiroz-Rocha (90) ve Rukkwamsuk (95)'un bulguları ile uyum göstermektedir.

Sığırlarda metabolik profil testleri sırasında karaciğer yağlanmasını değerlendirmek amacıyla aspartat aminotransferaz (AST), gamma glutamil transferaz (GGT) ve alkalen fosfataz (ALP) en çok kullanılan karaciğer enzimleridir (86, 97, 133).

AST vücutta birçok yumuşak dokuda bulunur ve yumuşak dokuyla ilişkili hasarlarda kandaki düzeyi yükselir. Sığırlarda kas dokusu ve karaciğerle ilişkili hasarlarda AST düzeyi yükselmektedir; ancak karaciğerle ilişkili dejenerasyonu belirlemek için tek başına yeterli değildir ve genellikle GGT ile beraber değerlendirilmektedir (94). Bogin ve ark. (61) ve Cebra ve ark. (58) yaptıkları

çalışmalarda serum AST düzeyinin karaciğerde yağ birikimi ile doğru orantılı olduğunu rapor etmişlerdir. AST'nin diğer kas enzimlerine göre yarılanma ömrü biraz daha uzundur, sığırlarda AST'nin yarılanma ömrü 7-10 gün kadardır. Sığırlarda AST referans değeri 78 – 132 IU/L'dir (89).

GGT aktivitesinde artışın en önemli nedenleri karaciğer hastalıkları ile safra kanallarında daralma ve tıkanmalardır. Sığırlarda GGT'nin referans değeri 11-24 IU/L'dir (89). GGT, AST'ye göre karaciğere daha spesifiktir ve Steen ve ark. (73) karaciğer hasarlarında AST ile birlikte GGT aktivitesinde önemli artışlar olduğunu bildirmişlerdir. Bununla birlikte AST aktivitesinin kas harabiyetlerine bağlı olarak arttığı da unutulmamalıdır ve karaciğer hasarının belirlenmeinde kullanılacaksa GGT ile birlikte değerlendirilmelidir. Her iki parametrede de artış olması ineklerde karaciğer yağlaması olduğunu göstermektedir (94, 97). Çalışmamızda serum GGT düzeylerinin klinik ketozis grubunda önemli düzeyde ( $p<0.01$ ) yüksek olduğu görülmektedir. Bu bulgu karaciğer yağlanmasında serum GGT düzeyinin artış gösterdiğini belirten ve Steen ve ark. (73)'nin bulguları ile uyum göstermektedir.

ALP vücutta yaygın olarak bulunan bir enzimdir. Özellikle osteoblastlarda, barsak mukozasında, böbreklerde ve karaciğerde yüksek düzeyde bulunur. Kortikosteroidler ALP sentezinin artmasına yol açar. Plazma ALP düzeyindeki artış diğer enzimlerde olduğu gibi zarar görmüş hücrelerden salınmaz, hücre hasarı durumunda ALP sentezi artar. ALP düzeyi genç hayvanlarda yaşlılara göre daha yüksek olup osteogenezis ile ilgili bir enzim olduğu düşünülmektedir (14). Yetişkin ve yaşlı hayvanlarda hepatik ALP daha baskındır. Karaciğer hücrelerinin hasar gördüğü durumlarda serum ALP düzeyi artsa da kolestazis durumundan daha düşüktür ve kolestazis şekillenmişse ALP ile birlikte GGT de önemli ölçüde yükselir. Bununla birlikte ruminantlarda karaciğer hastalıklarında ALP'nin referans aralığının geniş olması tanıda ALP'nin önemini azaltmaktadır (89) Serum ALP düzeyi kontrol grubunda diğer gruplara göre daha yüksek düzeyde bulunmasına rağmen kontrol grubundaki hayvanlarda bu yükseliş neden olabilecek herhangi bir klinik bulguya rastlanmamıştır.

Kontrol grubunda serum ALP düzeyi ile diğer parametreler arasında anlamlı bir ilişki bulunamamışken, subklinik ketozis grubunda ALP ile NEFA, kolesterol ve kalsiyum arasında negatif korelasyon bulunmuştur. Klinik ketozis grubunda ise serum ALP ile GGT ve total protein arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir. Subklinik

ketozis grubundaki durumun nedeni subklinik hipokalsemi ve hafif düzeyde karaciğer yağlanması olabilir (6, 9). Klinik ketozis grubunda ALP ile GGT ve total protein arasında pozitif ve anlamlı korelasyon korelasyon görülmesi klinik ketozis grubunda karaciğer yağlanmasının daha şiddetli olduğunu düşündürmüştür (73, 89).

Osteokalsin, kemik Gla proteini olarak bilinen, osteoblastlar tarafından üretilen, K ve D vitaminlerine bağlı bir proteindir ve kemikteki kollajen olmayan proteinlerden en yaygın olarak inceleneni ve en çok bulunanıdır. Geçmişte çoğunlukla kemik hücrelerinin aktivitesi ve formasyonunun bir belirteci olarak incelenmiştir (114, 124). Osteokalsin çoğunlukla osteoblast spesifik bir proteindir. Osteoblastların fonksiyonunu yansıtabilir ve bir kemik metabolik markırı olarak rol oynar (104-106).

Süt sığırlarında serum osteokalsin konsantrasyonları aynı zamanda peripartum değişiklikleri yansıtmaktadır ve peripartum dönemde serum osteokalsin düzeyinin düştüğü belirlenmiştir (106). Naito ve arkadaşları (112) plazma osteokalsin düzeyinin doğumdan önceki 3. günden itibaren, doğum öncesi 1. güne kadar giderek azaldığını ve 22.1 ng/ml'den 18.8 ng/ml'ye düştüğünü bildirmişlerdir. Yine aynı çalışmada plazma osteokalsin düzeyinin doğum öncesi 1. günden doğum sonrası 1. güne kadar 8.0 ng/ml'ye kadar hızlı bir şekilde düştüğünü ve doğum sonrası 15. güne kadar giderek 17.8 ng/ml'ye yükseldiğini belirtmişlerdir. Doğum sonrası ilk 5 gün, osteokalsin düzeyinin, doğum öncesi 3-5. güne kıyasla daha düşük olduğu belirlenmiştir. Aynı çalışmada gebe olmayan ve laktasyonda olmayan ineklerde plazma osteokalsin düzeyinin 29.1 ng/ml olduğu belirlenmiş ve bu gruptaki hayvanların osteokalsin düzeyinin peripartum dönemdeki ineklere göre önemli ölçüde yüksek olduğu gözlenmiştir (112). Reiichiro ve ark.(106) yaptıkları çalışmalarda serum osteokalsin düzeyinin buzağılarda en yüksek olduğunu ve genç sığırlarda yaşlılara göre daha yüksek düzeylerde bulunduğunu bildirilmişlerdir (106). Kurosaki ve ark. (117) düvelerde daha fazla doğum yapmış ineklere göre, doğumdan 40 gün öncesinden 7 gün sonrasına kadar olan sürede osteokalsin düzeyinin daha yüksek olduğunu bildirirken; Iwama ve arkadaşları (118) postpartum 14 günde bir farklılık olmadığını ileri sürmüşlerdir. Peripartum dönemde sığırların osteokalsin düzeyilerindeki değişimlerin nedenleri tam olarak aydınlatılmış değildir ve bu konuda daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir (112, 113).

Serum osteokalsin kısa bir yarılanma ömrüne sahiptir, böbrek ve karaciğerde hidrolize edilir (104). Osteomalazi şekillenen durumlarda, serum osteokalsin düzeyi önemli ölçüde yükselir. Bunun nedeni, sekonder hiperparatiroidizm ve osteomalazide mineralizasyon defektlerinin oluşmasıdır. Dolaşımdaki osteokalsin düzeyinin hiperparatiroidizmde arttığı, hipoparatiroidizmde ise azaldığı ortaya konulmuştur (107). Çalışmadaki verilerin etkilenmemesi açısından işletmedeki sığırlar osteomalazi, hipokalsemi, abomasum deplasmanı, metritis gibi hastalıklar yönünden muayene edilmiş, ketozis dışında herhangi bir hastalığı bulunmayan sığırlar çalışma kapsamına alınmıştır.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda kemik dokusunda üretilen osteokalsinin glukoz ve enerji metabolizmasının düzenlenmesinde önemli fonksiyonları olan endokrin bir madde olduğu ortaya konulmuştur (122, 123, 124). Kanazawa ve arkadaşlarının (123) yaptığı bir çalışmada osteokalsinin insanlarda pankreasta  $\beta$ -hücrelerinin sayısını artırarak, insülin salınımını ve vücuttaki diğer dokuların insüline duyarlılığını arttırdığı ortaya konulmuştur. Benzer şekilde diğer klinik araştırmalarda insanlarda glukoz metabolizması ile osteokalsin arasında bir ilişki olduğu belirlenmiştir (122-124).

Çalışmada serum osteokalsin düzeyinin kontrol grubunda en yüksek düzeyde, subklinik ketoziste ise en düşük düzeyde olduğu tespit edilmiştir. Klinik ketozis grubunda osteokalsin düzeyi yükselse de kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur. Klinik ketozis genellikle negatif enerji dengesinin uzun sürdüğü durumlarda ortaya çıkmaktadır ve bu süreden osteokalsin seviyeleri de etkilenebilir. Osteokalsin seviyesinin 2 haftadan itibaren normal seviyeye ulaştığı bildirilmektedir (112, 113, 117, 118). Doğum sonrasında geçen gün sayısının osteokalsin ortalamalarını etkilememesi için hayvanların postpartum kaçınıcı günde oldukları kaydedilmiş ve gruplardaki hayvanların postpartum gün ortalamalarının yakın olmasına dikkat edilmiştir. Klinik ketoziste osteokalsin seviyesinin subklinik ketozis grubuna göre daha yüksek bulunmasının nedeni NEFA düzeyi ile ilişkili olabilir. Beşeri çalışmalarda kanda yağ düzeyinin yükseldiği durumlarda osteokalsin seviyesinin düştüğü bildirilmiştir (123, 124). Subklinik ketozis grubunda serum NEFA düzeyinin klinik ketozis grubuna göre daha yüksek bulunmuştur ve subklinik ketozis grubunda osteokalsin düzeyinin daha düşük bulunması yükselen NEFA ile ilişkili olabilir. Bu durum osteokalsinin negatif enerji dengesinde hızlı bir şekilde düştüğünü ve sonrasında NED devam etse bile giderek yükselerek normal düzeye doğru ulaştığını

göstermektedir. Çalışmadaki bulgular insanlarda olduğu gibi ineklerde de osteokalsinin glukoz metabolizmasında ve enerji dengesinde aktif bir rolü olabileceğini ortaya koymaktadır (15, 16, 106). Yaşlı hayvanlarda serum osteokalsin düzeyi gençlere göre daha düşük seviyede bulunduğu ve gruplardaki osteokalsin ortalamasının yaş faktöründen etkilenmemesi için tüm çalışma gruplarında yaş ortalaması birbirine yakın olan hayvanlar seçilmiştir.

Çalışmada ayrıca, hem kontrol hem de klinik ketozis grubunda osteokalsin ile BHBA ve GGT arasında negatif korelasyon tespit edilmiştir. Klinik ketozis grubunda osteokalsin ile glukoz arasında pozitif korelasyon bulunurken osteokalsin ile TP arasında negatif korelasyon bulunmuştur. Osteokalsinin BHBA ile negatif, glukoz ile pozitif korelasyon vermesi osteokalsinin enerji dengesinde önemli bir madde olduğunu ortaya koymaktadır. Serum GGT ve TP ile negatif korelasyon bulunması osteokalsinin karaciğer yağlanması bulunan ineklerde daha düşük düzeyde bulunabileceğini düşündürmüştür. Fernandez-Real ve ark. (134) karaciğer yağlanması bulunan insanlarda serum osteokalsin düzeyinin önemli ölçüde düştüğünü bildirmişlerdir. Aynı şekilde Yılmaz ve ark.(135) yaptıkları bir çalışmada alkolizme bağlı olmaksızın karaciğer yağlanması bulunan insanlarda serum osteokalsin düzeyinin önemli düzeyde düştüğünü rapor etmişlerdir. Çalışmadaki bulgular bu araştırmalar ile uyumlu bulunmuştur. Ancak, karaciğer yağlanması bulunan sığırlardaki osteokalsin düzeylerinin incelenmesi için daha detaylı araştırmalara gereksinim duyulmaktadır.

Glukoz sığırlarda süt verimi ve yaşama payı için gerekli olan en önemli enerji kaynaklarından biridir. Glukoz eksikliği sığırlarda NED'in ortaya çıkmasına neden olur (48, 72). Ruminantlarda alınan karbonhidratlar rumendeki bakteriler tarafından kullanıldığı için glukozun çoğu karaciğerde sentezlenir. Primer ketozis ve karaciğer yağlanması sığırlarda hipoglisemiye neden olan hastalıkların başında gelmektedir (89). Erken laktasyon döneminde insülin üretiminde düşüş olmaktadır ve bu durum yağ ve kas doku gibi insüline duyarlı dokularda glukoz yararlanımını düşürmektedir. Böylece glukoz üretimi için alternatif enerji kaynaklarına ihtiyaç ortaya çıkar ve öncelikli olarak vücut yağları mobilize olur ve NEFA düzeyi yükselir (9).

Kan glukozu gün içerisinde birçok endokrin ve çevresel sebeplere bağlı olarak dalgalanma gösterdiği için ketozis tanısında yalnız başına güvenilir bir parametre değildir. Süt sığırlarında normal kan glukoz değeri 45-75 mg/dl'dir. Postpartum

dönemdeki sığırlarda kan glukoz düzeyinin düşük olması negatif enerji dengesi ya da ketozis riski olduğunu göstermektedir (81). Gilbert (136) ve Katoh (91) yaptıkları çalışmalarda karaciğer yağlanması bulunan sığırlarda kan glukoz düzeyinin düştüğünü ifade etmişlerdir.

Kontrol grubundaki hayvanların kan glukoz düzeyi diğer gruplara göre daha yüksek bulunmuştur. Subklinik ketozisli hayvanların ortalama glukoz düzeyi normal referans değeri içerisinde olmasına rağmen kontrol grubuna göre düşük olduğu tespit edilmiştir. Klinik ketozis grubunda ise diğer gruplara göre serum glukoz düzeyinde önemli bir düşüş gözlenmiştir. Subklinik ketozis grubunda önemli düşüş görülmemesinin nedeni, sığırların diğer hayvan türlerine göre daha yağlı olmaları ve kendi yağlarını enerji kaynağı olarak kullandıkları için kısa süreli açlık ya da enerji eksikliği olan durumlarda hipoglisemi oluşmamasıdır (89). Klinik ketozis grubunda serum glukoz ile osteokalsin arasında pozitif, anlamlı bir korelasyon bulunmuş, glukoz ile BHBA, NEFA ve GGT arasında negatif korelasyon tespit edilmiştir. Buradan çıkan sonuçlara göre de osteokalsinin glukoz metabolizmasında bir etkinliği olduğundan bahsedilebilir (15, 16). Gilbert (136), Katoh (91) ve LeBlanc (81)'in belirttiği gibi ketozis ve karaciğer yağlanması bulunan hayvanlarda hipoglisemi bulunduğu görülmüştür.

Sığırlarda protein dengesinin değerlendirilmesinde total protein en önemli parametrelerden biridir. Total proteinin yanı sıra albümin, globülin, üre ve süt üre nitrojen ölçümü de yapılabilir; ancak total protein ölçümü en ucuz ve pratik bir yöntemdir. Proteinler vücutta yapı taşı olarak kullanıldıkları gibi birçok fizyolojik olayda da önemli görevleri bulunmaktadır. Proteinler çeşitli hormon ve enzimlerin yapısına katılması nedeniyle vücuttaki birçok kimyasal reaksiyonda da önemli görevler üstlenmektedir. Total protein değeri serum albümin ve globülin değerinin toplamı olup sığırlarda normal TP değeri 6,7 -7,5 g/dl'dir (86, 89, 90).

Total protein değeri karaciğer yetmezlikleri, proteinden fakir rasyonla besleme, sindirim ve emilim bozuklukları, protein kayıplı enteropati ve nefropatilerde, iç parazit invazyonlarında, kanamalarda ve ishalle seyreden enfeksiyon hastalıklarında azalmaktadır. Dehidrasyon, kronik RPT, kronik pnömoni ve karaciğer apseleri gibi kronik yangısal hastalıklar da serum total protein değerinin yükselmesine neden olmaktadır (56, 89).



Çalışmadaki gruplarda TP değerlerinin normal sınırlar içerisinde bulunduğu gözlenmiş ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir. Kontrol grubunda TP ile trigliserit arasında, subklinik ve klinik ketozis gruplarında TP ile Ca arasında pozitif korelasyon bulunmuştur. Klinik ketozis grubunda ise ALP ile pozitif korelasyon saptanmıştır. TP normalde şiddetli karaciğer yağlanmasında azalan, ALP ise karaciğer yağlanmasında artan bir parametredir; ancak klinik ketozis grubunda şiddetli karaciğer yağlanması görülmemiş ve ALP'nin ruminantlarda referans aralığı geniş olduğu için bu durumun karaciğer yağlanması ile ilişkili olmadığı düşünülmüştür. Öte yandan Le Blanc ve ark. (81) postpartum dönemde subklinik endometritis gibi yangısal hastalıklarda akut faz proteinlerinin üretiminin artmasına bağlı olarak TP düzeyinin yükselebileceğini bildirmiştir. Sağlıklı karaciğere sahip olan ineklerde TP ve trigliserit normal düzeyde iken, karaciğer yağlanmasında ise her ikisi de düşmektedir. Bu nedenle TP ve trigliserit arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir (56, 89). Hanai ve ark. (137) kalsiyumun yaklaşık % 45'inin kanda plazma proteinlerine bağlı olarak dolaştığını bildirmiştir. Ca ile TP arasındaki pozitif korelasyonun sebebi Ca'un kan dolaşımında tutulması için proteine ihtiyaç duyulması olabilir (56, 89).

Kalsiyum metabolik profil testlerinde fosfor ile birlikte en çok üzerinde durulan elementtir (81). Kalsiyum kemik dokusunun en önemli yapı taşı olup iskelet ve kalp kasların kasılması, kanın pıhtılaşması, sinirsel iletim, enzim ve hormonların aktivitelerinde ve hücrelerde membran geçirgenliğinin düzenlenmesinde önemli görevleri vardır. Sığırlarda kalsiyumun referans aralığı 9,7 -12,4 mg/dl'dir (89, 138).

İneklerin kuru dönemde aşırı yağlandırılması ve postpartum dönemdeki karaciğer yağlanması doğumdan sonra hipokalsemiye yatkınlık sağlar. Ca, P ile birlikte rasyonda 2/1 oranında bulunur ve fosfor eksikliğine neden olan durumlar Ca düzeyinin de düşmesine yol açar. Hipokalsemi de süt sığırlarında ketozis, abomasum deplasmanları, retensiyon sekondinarum ve mastitise yol açabilir (81, 95).

Çalışmamızda kontrol ve subklinik ketozis gruplarında serum Ca düzeyi referans değerleri içerisindeyken, klinik ketozis grubunda düşük düzeyde bulunmuştur. Şekillenen hipokalseminin rumen ve barsak hareketlerinin azalmasına ve dolayısıyla NED ve ketozis gelişimiyle ilişkili olduğu söylenebilir (97). Kontrol grubunda ve klinik ketozis grubunda Ca ile kolesterol arasında pozitif bir korelasyon tespit

edilmiştir. Subklinik ve klinik ketozis grubunda da TP ile Ca arasında pozitif bir korelasyon bulunmuştur. Bütün bu veriler ve korelasyonlar Ca ile karaciğerin protein ve kolesterol sentezleme kapasitesi arasında bir ilişki olduğunu işaret edebilir (56, 89).

Fosfor, kemiğin yapısında kalsiyumdan sonra en fazla bulunan elementtir. Vücuttaki birçok metabolik olayda görevlidir ve ayrıca rumendeki mikroorganizmaların protein ve karbonhidrat sentezi için gereklidir. Fosfor vücutta yüksek enerjili bağların (adenozin trifosfat) oluşumunda ve yıkılmasında görev alır. Fosfolipit, fosfoprotein ve nükleik asitlerin yapısına da katılarak hücre bütünlüğünün korunmasına yardımcı olur (89). Sığırlarda serum fosfor düzeyi 5.6-6.5 mg/dl'dir (90). Sığırlarda hipofosfateminin en önemli nedenlerinden biri rasyonda fosfor düzeyinin düşük olması ya da kuru madde tüketiminin azalmasıyla birlikte vücuda giren fosforun azalmasıdır. Peripartum dönemde iştahın azalması ve bunun yanı sıra hipokalsemi ve abomasum deplasmanları gibi durumlar da iştahın azalmasına ve dolayısıyla fosfor alımının azalmasına yol açmaktadır. Ayrıca laktasyonun başlamasıyla sütle birlikte önemli miktarda fosforun dışarı atılması da hipofosfatemi oluşumuna katkı sağlamaktadır (56, 86, 138).

Çalışmamızda subklinik ketozis ve klinik ketozis gruplarında serum fosfor düzeyinin kontrol grubuna göre daha düşük düzeyde olduğu tespit edilmiştir. Kontrol grubunda serum P ile trigliserit düzeyleri arasında pozitif bir korelasyon, subklinik ketozis ve klinik ketozis grubunda P ile BHBA arasında negatif anlamlı bir korelasyon tespit edilmiştir. Klinik ketozis grubunda ayrıca kolesterol ile P arasında pozitif, P ile AST arasında negatif bir korelasyon bulunduğu görülmektedir. BHBA artışı enerji eksikliğini gösterdiği için subklinik ve klinik ketozis gruplarında P ile negatif korelasyon göstermiştir. AST ile negatif, trigliserit ve kolesterol ile pozitif korelasyon görülmesi de karaciğer yağlanması ile serum P düzeyinin ters orantılı olduğunu işaret edebilir; çünkü karaciğer yağlanmalarında genellikle AST artmakta, trigliserit ve kolesterol düzeyleri azalmaktadır (58, 61, 89-91).

Sonuç olarak erken laktasyon döneminde süt üretimi ile birlikte enerji açığının artması subklinik ve klinik ketozisin ortaya çıkmasına zemin hazırlamaktadır. Ketozis glukoz metabolizması ile doğrudan ilişkili bir hastalıktır ve glukoz metabolizması birçok biyokimyasal ve endokrin mekanizmaların etkisi altındadır. Sunulan çalışmada insanlarda enerji metabolizmasında önemli görevleri bulunduğu saptanan

osteokalsinin, subklinik ve klinik ketozisli sığırlarda enerji dengesi ile ilişkisi araştırılmıştır. İstatistiksel olarak BHBA ile osteokalsin arasında anlamlı bir korelasyon bulunmamasına rağmen BHBA ile osteokalsin arasında negatif bir ilişki bulunduğu gözlenmiştir. Klinik ketozis grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmasa da kontrol grubuna göre osteokalsin düzeyi daha düşük bulunmuştur. Subklinik ketozis grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olup, subklinik ketozis grubunda osteokalsin düzeyi önemli ölçüde düşük bulunmuştur. Ayrıca subklinik ketozisli sığırlarda osteokalsin en düşük düzeyde ölçülmüştür. Osteokalsinin hem klinik hem de subklinik ketozis grubunda düşük düzeyde bulunması sığırlarda enerji dengesinde osteokalsinin önemli görevleri olabileceğini düşündürmüştür; ancak sığırlarda enerji dengesinin ayarlanmasında osteokalsinin çalışma mekanizması henüz tam olarak bilinmemektedir ve bu konuda daha fazla araştırmaya gereksinim bulunmaktadır.

## KAYNAKLAR

1. DRACKLEY JK. Biology of dairy cows during transition period: the final frontier? *Journal of Dairy Science*, 82: 2259-2273, 1999.
2. OVERTON TR, PIEPENBRINK MS, WALDRON MR. Interactions of liver metabolism and health in transition dairy cows. *Proceedings of Cornell Nutrition Conference, Rochester*, pages 251-261, 2000.
3. DEFRAIN JM, HIPPEN AR, KALSCHEUR KF, PATTON RS. Effects of Feeding Propionate and Calcium Salts of Long-Chain Fatty Acids on Transition Dairy Cow Performance. *Journal of Dairy Science*, 88: 983-993, 2005.
4. INGVARTSEN KL, ANDERSEN JB. Integration of metabolism and intake regulation: A review focusing on periparturient animals. *Journal of Dairy Science*, 83: 1573-1597, 2000.
5. OLIVEIRA PG, PIRES AV, MEYER PM, SUSIN I, VILLARRETA ET, RODRIGUES PHM, SANTOS FAP. Gluconeogenic supplements do not affect production, reproductive traits and blood metabolite of holstein cows during the transition period. *Scientia Agricola (Piracicaba, Braz.)*, 61: 376-385, 2004.
6. GOFF JP, HORST RL. Physiological changes at parturition and the relationship to metabolic disorders. *Journal of Dairy Science*, 80: 1260-8, 1997.
7. OETZEL GR. Nutritional management of dry dairy cows. *Compendium Continuing Education Practicing Veterinarian*, 20: 391-396, 1998.
8. MANDEBVU P, BALLARD CS, SNIFFEN CJ, TSANG DS, VALDEZ F, MIYOSHI S, SCHLATTER L. Effect of feeding an energy supplement prepartum and postpartum on milk yield and composition, and incidence of ketosis in dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*, 105: 81-93, 2003.
9. DRACKLEY JK, OVERTON TR, DOUGLAS GN. Adaptations of glucose and long-chain fatty acid metabolism in liver of dairy cows during the periparturient period. *Journal of Dairy Science*, 84: 100-112, 2001.

10. HERDT HT. Ruminant adaptation to negative energy balance: Influences on the etiology of ketosis and fatty liver. *Veterinary Clinics of North America-Food Animal Practice*, 16: 215-29, 2000.
11. INGVARTSEN KL. Feeding and management related diseases in the transition cow. Physiological adaptations around calving and strategies to reduce feeding-related diseases. *Animal Feed Science and Technology*, 126: 175-213, 2006.
12. VAN WINDEN SC, KUIPER R. Left displacement of abomasum in dairy cattle: recent development in epidemiological and etiological aspects. *Veterinary Research*, 34: 47-56, 2003.
13. DOLL K, SICKINGER M, SEEGER T. New aspects in the pathogenesis of abomasal displacement. *The Veterinary Journal*, 181: 90-96, 2009.
14. MUSSO G, PASCHETTA E, GAMBINO R, CASSADER M, MOLIRANO F. Interactions among bone, liver, and adipose tissue predisposing to diabesity and fatty liver. *Trends in Molecular Medicine*, 19: 522-535, 2013.
15. HONG SH, KOOL JW, HWANG JK, HWANG YC, JEONG IK, AHN KJ, CHUNG HY, KIM DY. Changes in Serum Osteocalcin are Not Associated with Changes in Glucose or Insulin for Osteoporotic Patients Treated with Bisphosphonate. *Journal of Bone Metabolism*, 20: 37-41, 2013.
16. WEI J, FERRON M, CLARKE CJ, HANNUN YA, JIANG H, BLANER WS, KARSENTY G. Bone-specific insulin resistance disrupts whole-body glucose homeostasis via decreased osteocalcin activation. *Journal of Clinical Investigation*, 124: 1-13, 2014.
17. GRUMMER RR. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. *Journal of Animal Science*, 73: 2820-33, 1995.
18. MELENDEZ P. Nutritional Management of the Transition Period to Optimize Fertility in Dairy Cattle. *Proceedings of 3rd Florida & Georgia Dairy Road Show, Florida*, pages 1-50, 2006.
19. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. Seventh edition, National Academy Press, Washington, D.C., 2001.

20. WILDMAN EE, JONES GM, WAGNER PE, BOMAN RL, TROUTT HF, LESCH TN. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. *Journal of Dairy Science*, 65: 495-501, 1982.
21. BEEDE DK. Nutritional management of transition and fresh cows for optimal performance. *Proceedings of 34th Annual Florida Dairy Production Conference*, Gainesville, pages 19-25, 1997.
22. BUTLER WR, SMITH RD. Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 72: 767-783, 1989.
23. MACMILLAN KL, LEAN IJ, WESTWOOD CT. The effects of lactation on the fertility of dairy cows. *Australian Veterinary Journal*, 73: 141-147, 1996.
24. LEROY JL, VANHOLDER T, MATEUSEN B, CHRISTOPHE A, OPSOMER G, DEKRUIF A, GENICOT G, VANSOOM A. Non-esterified fatty acids in follicular fluid of dairy cows and their effect on developmental capacity of bovine oocytes in vitro. *Reproduction*, 130: 485-495, 2005.
25. LEROY JL, VANHOLDER T, OPSOMER G, VANSOOM A, DEKRUIF A. The in vitro development of bovine oocytes after maturation in glucose and betahydroxybutyrate concentrations associated with negative energy balance in dairy cows. *Reproduction in Domestic Animals*, 41: 119-123, 2006.
26. COOK NB, WARD WR, DOBSON H. Concentrations of ketones in milk in early lactation, and reproductive performance of dairy cows. *Veterinary Record*, 148: 769-772, 2001.
27. WESTWOOD CT, LEAN IJ, GARVAN JK, WYNN P. Effects of genetic merit and varying dietary protein degradability on lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 85: 3225-3237, 2000.
28. RHOADS ML, RHOADS RP, GILBERT RO, TOOLE R, BUTLER WR. Detrimental effects of high plasma urea nitrogen levels on viability of embryos from lactating dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 91: 1-10, 2006.

29. FRANKLIN ST, YOUNG JW, NONNECKE BJ. Effects of ketones, acetate, butyrate, and glucose on bovine lymphocyte proliferation. *Journal of Dairy Science*, 74: 2507-2514, 1991.
30. CLEMENS LE, SIITERI PK, STITES DP. Mechanism of immunosuppression of progesterone on maternal lymphocyte activation during pregnancy. *Journal of Immunology*, 122: 1978-1985, 1979.
31. TRAWICK DR, BAHR JM. Modulation of the primary and secondary antiferesceyl antibody response in rats by 17  $\beta$ -estradiol. *Endocrinology*, 118: 2324-2330, 1986.
32. WEINBERG ED. Pregnancy-associated immune suppression: risks and mechanisms. *Microbial Pathogenesis*, 3: 393-397, 1987.
33. LACETERA N, SCALIA D, BERNABUCCI U, RONCHI B, PIRAZZI D, NARDONE A. Lymphocyte functions in overconditioned cows around parturition. *Journal of Dairy Science*, 88: 2010-6, 2005.
34. BOBE G, YOUNG JW, BEITZ DC. Invited review: pathology, etiology, prevention, and treatment of fatty liver in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 87: 3105-24, 2004.
35. AMETAJ BN. A new understanding of the causes of fatty liver in dairy cows. *Advanced Dairy Science and Technology*, 17: 97-112, 2005.
36. FORSLUND KB, LJUNGVALL OA, JONES BV. Low cortisol levels in blood from dairy cows with ketosis: a field study. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 52: 31, 2010.
37. DRACKLEY KJ, DANN MH, DOUGLAS NG, GURETZKY NAJ, LITHERLAND BN, UNDERWOOD PJ. Physiological and pathological adaptations in dairy cows that may increase susceptibility to periparturient diseases and disorders. *Italian Journal of Animal Science*, 4: 323-44, 2005.
38. CHENG X, ZHE W, YAN-FEI L, SHU-LING N, CHUANG X, CAI Z. Effect on hypoglycemia on performances, metabolites and hormones in periparturient dairy cows. *Agricultural Sciences in China*, 6: 505-12, 2007.

39. SMITH BP. Large Animal Internal Medicine. 4th Ed. St. Louis, MO, Mosby Elsevier. Page 1364-1369, 2009.
40. HOPSTER H, JOOP TN, VAN DER WERF BLOKHUIS JH. Stress enhanced reduction in peripheral blood lymphocyte numbers in dairy cows during endotoxin-induced mastitis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 66: 83-97, 1998.
41. MALLARD BA, DEKKERS CJ, IRELAND JM, LESLIE EK, SHARIF S, VANKAMPEN LC. Alteration in immune responsiveness during the peripartum period and its ramification on dairy cow and calf health. *Journal of Dairy Science*, 81: 585-95, 1998.
42. SAMANC H, SITOLOJIC V, KIROSKI D, JOVANNOVIC M, CERNESCU H, VUJANAC I. Thyroid Hormones Concentrations during the Mid-Dry Period: An early indicator of fatty liver in holstein-friesian dairy cows. *Journal of Thyroid Research*, 2010: 897602, 2010.
43. LOOR JJ, DANN HM, EVERTS RE, OLIVEIRA R, GREEN CA, GURETZKY NA. Temporal gene expression profiling of liver from periparturient dairy cows reveals complex adaptive mechanism in hepatic function. *Physiological Genomics* 23: 217-26, 2005.
44. KIMURA K, REINHARDT AT, GOFF PJ. Parturition and hypocalcemia blunts calcium signals in immune cells of dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 89: 2588-95, 2006.
45. BELL AW. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *Journal of Animal Science*, 73: 2804-2819, 1995.
46. KINDAHL H, KOMMATITSUK B, GUSTAFFSON H. The cow in endocrine focus before and after calving. *Reproduction in Domestic Animals*, 39: 217-21, 2004.
47. KUNZ PL, BLUM JW, HART IC, BICKEL H, LANDIS J. Effects of different energy intakes before and after calving on food intake, performance and blood hormones and metabolites in dairy cows. *Journal of Animal Production*, 40: 219-231, 1985.
48. REYNOLDS CK, AIKMAN PC, HUMPIRES DJ, BEEVER DE. Splanchnic metabolism in transition dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 83: 257-266, 2000.



49. VAZQUEZ-ANON M, BERTICS S, LUCK M, GRUMMER RR. Peripartum liver triglyceride and plasma metabolites in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 77: 1521, 1994.
50. OVERTON TR, DRACKLEY JK, OTTEMANN-ABBAMONTE CJ, BEAULIEU AD, EMMERT LS, CLARK JH. Substrate utilization for hepatic gluconeogenesis is altered by increased glucose demand in ruminants. *Journal of Animal Science*, 77: 1940-1951, 1999.
51. EMMISON N, AGIUS L, ZAMMIT VA. Regulation of fatty acid metabolism and gluconeogenesis by growth hormone and insulin in sheep hepatocyte cultures. Effects of lactation and pregnancy. *Biochemical Journal*, 274: 21-26, 1991.
52. STRANG BD, BERTICS SJ, GRUMMER RR, ARMENTANO LE. Effect of long-chain fatty acids on triglyceride accumulation, gluconeogenesis, and ureagenesis in bovine hepatocytes. *Journal of Dairy Science* 81: 728-739, 1998.
53. HORST RL, GOFF JP, REINHARDT TA, BUXTON DR. Strategies for preventing milk fever in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 80: 1269-1280, 1997.
54. OIKAWA S, KATOH N. Reduced concentrations of apolipoproteins B-100 and A-I in serum from cows with retained placenta. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 61: 312-4, 1997.
55. GOFF JP. The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. *The Veterinary Journal*, 176: 50-7, 2008.
56. RADOSTITS OM, GAY CC, HINCHCLIFF KW, CONSTABLE PD. *Veterinary Medicine A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats* 10th edition. Saunders co., London, page 1661-1668, 2006.
57. GAAL T, REID IM, COLLINS RA, ROBERTS CJ, PIKE BV. Comparison of biochemical and histological methods of estimating fat content of liver of dairy cows. *Research in Veterinary Science*, 34: 245-8, 1983.
58. CEBRA CK, GARRY FB, GETZY DM, FETTMAN J. Hepatic lipidosis in anorectic, lactating holstein cattle: A retrospective study serum biochemical abnormalities. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 11: 231-7, 1997.

59. HOLTENIUS P. Hormonal regulation related to the development of fatty liver and ketosis. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 89: 55-60, 1993.
60. GRUMMER RR, BERTICS SJ, LACOUNT DW, SNOW JA, DENTINE MR, STAUFFACHER RH. Estrogen induction of fatty liver in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 73: 1537-43, 1990.
61. BOGIN E, AVIDAR Y, MEROM M, SOBACK S, BRENNER G. Biochemical changes associated with the fatty liver syndrome in cows. *Journal of Comparative Pathology*, 98: 338-47, 1988.
62. SENATORE EM, BUTLER WR, OLTANACU PA. Relationships between energy balance and postpartum ovarian activity and fertility in first lactation dairy cows. *Journal of Animal Science*, 62: 17-23, 1996.
63. ANDREWS AH, LAVEN R, MAISEY I. Treatment and control of an outbreak of fat cow syndrome in a large dairy herd. *Veterinary Record*, 129: 216-9, 1991.
64. YOSHINO K, KATOH N, TAKAHASHI K, YUASA A. Purification of a protein from serum of cattle with hepatic lipidosis, and identification of the protein as haptoglobin. *American Journal of Veterinary Research*, 53: 951-6, 1992.
65. GRUMMER RR. Etiology of lipid related metabolic disorders in periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 76: 3882-96, 1993.
66. GRUMMER RR. Nutritional and management strategies for the prevention of fatty liver in dairy cattle. *The Veterinary Journal*, 176: 10-20, 2008.
67. MULLIGAN FJ, DOHERTY ML. Production diseases of the transition cow. *The Veterinary Journal*, 176: 3-9, 2008.
68. OETZEL GR. Herds level ketosis-Diagnosis and risk factors. *American Association of Bovine Practitioner. 40 th Annual Conference, Canada*, 67-91, 2007.
69. LAVEN R, HOWE M. Acetonaemia and displaced abomasum. *Veterinary Record*, 155: 63-4, 2004.
70. WHITAKER DA, MACRAE AI, BURROUGH E. Disposal and disease rates in British dairy herds between April 1998 and March 2002. *Veterinary Record*, 155: 43-47, 2004.

71. DUFFIELD TF. Subclinical ketosis in lactating dairy cattle: Metabolic disorders of ruminants. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 16: 231-253, 2000.
72. LEAN IJ, BRUSS ML, BALDWIN RL, TROUT HF. Bovine ketosis: a review II. Biochemistry and prevention. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 62: 1-13, 1992.
73. STEEN A. Field Study of Dairy Cows with Reduced Appetite in Early Lactation: Clinical Examinations, Blood and Rumen Fluid Analyses. *Acta veterinaria Scandinavica*, 42: 219-228, 2001.
74. DRACKLEY JK. Metabolic changes in blood and liver of dairy cows during either feed restriction or administration of 1,3-butanediol. *Journal of Dairy Science*, 74: 4254, 1991.
75. BATMAZ H. Sığırların İç Hastalıkları, 2. baskı F. Özsan Matbaacılık ve Sanayi ve Ticaret Limited Şirketi, Bursa, sayfa 226-232, 2010.
76. KNIGHT CH. Lactation and gestation in dairy cows: Flexibility avoids nutritional extremes. *Proceedings of the Nutrition Society*, 60: 527-537, 2001.
77. INGVARTSEN KL, DEWHURST RJ, FRIGGENS NC. On the relationship between lactational performance and health: Is it yield or metabolic imbalance that cause production diseases in dairy cattle? A position paper. *Livestock Production Science*, 83: 277-308, 2003.
78. SMITH TR, HIPPEN AR, BEIZ DC, YOUNG JW. Metabolic characteristics of induced ketosis in normal and obese dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 80: 1569-1581, 1997.
79. AYTUĞ CN. Metabolizma Hastalıkları. ALAÇAM E. Puerperal Dönem Hastalıkları. Editörler: AYTUĞ CN, ALAÇAM E, GÖRGÜL S. Sığır Hastalıkları, 2. Baskı, Teknografik Matbaası, İstanbul, sayfa 401, 415, 429, 431, 432, 433, 436, 437, 541, 1991.
80. CARRIER JS, STEWART S, GODDEN S, FETROW J, RAPNICKI P. Evaluation and Use of Three Cowside Tests for Detection of Subclinical Ketosis in Early Postpartum Cows. *Journal of Dairy Science*, 87: 3725-3735, 2004.

81. LEBLANC S. Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period  
Monitoring metabolic health. *Journal of Reproduction and Development*, 56: 29-35, 2010.
82. MCART JAA, NYDAM DV, OETZEL GR, OVERTON TR, OSPINA PA. Elevated non esterified fatty acids and b-hydroxybutyrate and their association with transition dairy cow performance. *The Veterinary Journal*, 198: 560-570, 2013.
83. STER C, LOISELLE MC, LACASSE P. 2012. Effect of postcalving serum nonesterified fatty acids concentration on the functionality of bovine immune cells. *Journal of Dairy Science*, 95: 708-717, 2012.
84. DUFFIELD TF, LEBLANC S, BAGG R, LESLIE K, TEN HAG J, DICK P. Effect of a monensin controlled release capsule on metabolic parameters in transition dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 86: 1171-6, 2003.
85. OETZEL GR. Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease. *Veterinary Clinics of North America-Food Animal Practice* 20: 651-674, 2004.
86. KENNERMAN E. Süt Sığırlarında Metabolik Profil Test. *Türkiye Klinikleri Journal of Veterinary Science*, 2: 96-101, 2011.
87. SEIFI HA, LEBLANC SJ, LESLIE KE, DUFFIELD TF. Metabolic predictors of post-partum disease and culling risk in dairy cattle.. *The Veterinary Journal*, 188: 216-20, 2011.
88. WALSH RB, WALTON JS, KELTON DF, LEBLANC SJ, LESLIE KE, DUFFIELD TF. The effect of sub-clinical ketosis in early lactation on reproductive performance of post-partum dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 90: 2788–2796, 2007.
89. TURGUT K. *Veteriner Klinik Laboratuvar Teşhis*, 2. baskı, Bahçıvanlar Basım Sanayi Anonim Şirketi, Konya, sayfa 339-350, 2000.
90. QUIROZ-ROCHA GF, LEBLANC S, DUFFIELD T, WOOD D, LESLIE KE, JACOBS RM. Evaluation of prepartum serum cholesterol and fatty acids concentrations as predictors of postpartum retention of the placenta in dairy cows. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 234: 790-3, 2009.
91. KATOH N. Relevance of apolipoproteins in the development of fatty liver and fatty liver-related peripartum diseases in dairy cows. *Journal of Veterinary Medical Science*, 64: 293-307, 2002.

92. NAKAGAWA H, KATOH N. Reduced activity of lecithin: cholesterol acyltransferase in the serum of cows with ketosis and left displacement of the abomasum. *Veterinary Research Communication*, 22: 517-24, 1998.
93. SEVİNÇ M, BAŞOĞLU A, BİRDANE F, GÖKÇEN M, KÜÇÜKFINDIK M. Sütçü sığırlarda kuru dönem doğum ve doğum sonrası metabolik profildeki değişiklikler. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 23: 475-8, 1999.
94. CİVELEK T. Süt sığırlarında periparturient dönem hastalıklar ve karaciğer fonksiyonu üzerine etkileri. *Türkiye Klinikleri Journal of Veterinary Sciences*, 2: 131-9, 2011.
95. RUKKWAMSUK T, KRUIP TA, WENSING T. Relationship between overfeeding and overconditioning in the dry period and the problems of high producing dairy cows during the postparturient period. *Veterinary Quarterly*, 21: 71-7, 1999
96. CONSTABLE PD, ST-JEAN G, KOENIG GR, HULL BL, RINGS DM. Abomasal luminal pressure in cattle with abomasal volvulus or left displaced abomasum. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 201:1564-8, 1992.
97. SEVİNÇ M, BAŞOĞLU A. Sütçü sığırlarda ketozis ve karaciğer yağlanması etiyopatogenezi ve abomasum deplasmanları ile ilişkisi. *Türkiye Klinikleri Journal of Veterinary Science*, 2: 123-30, 2011
98. ITOH N, KOIWA M, HATSUGAYA A, YOKOTA H, TANIYAMA H, OKADA H, Comparative analysis of blood chemical values in primary ketosis and abomasal displacement in cows. *Journal of Veterinary Medicine A*, 45: 293-298, 1998.
99. EICKER SW, GROHN YT, HERTL JA. The association between cumulative milk yield, days open, and days to first breeding in New York Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 79: 235-41, 1996.
100. ALAÇAM E. Sütçü İneklerde Geçiş Dönemi ve Önemli Sorunları. *Türkiye Klinikleri Journal of Veterinary Science*, 2: 85-95, 2011.
101. EILER H. Retained placenta. In: Youngquist RS, ed. *Current Therapy in Large animal Theriogenology*. WB saunders 1st ed, Philadelphia, pages 340-348, 1997.

102. ASLAN S, ARBEITER K, DICKIE MB. İnekte puerperal dönemde düzenli kontrollerin fertilité üzerine etkileri. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakóltesi Dergisi, 42: 307-15, 1995.
103. BOGUSLAWSKI G, HALE LV, YU XP, MILES RR, ONYIA JE, SANTERRE RF, CHANDRASEKHAR S. Activation of Osteocalcin Transcription Involves Interaction of Protein Kinase A- and Protein Kinase C-dependent Pathways. The Journal of Biological Chemistry, 275: 999–1006, 2000.
104. FARRUGIA W, MELICK RA. Metabolism of Osteocalcin. Calcified Tissue International, 39: 234-238, 1986.
105. LEE AJ, HODGES S, EASTELL R. Measurement of osteocalcin. Annals of Clinical Biochemistry, 37: 432-446, 2000.
106. SATO R, ONDA K, OCHIAI H, IRIKI T, YAMAZAKI Y, WADA Y. Serum osteocalcin in dairy cows: Age-related changes and periparturient variation Research in Veterinary Science 91: 196-198, 2011.
107. TAYLOR MS, KNOWLTON KF, MCGILLIARD ML, SEYMOUR WM, HERBEIN JH. Blood Mineral, Hormone, and Osteocalcin Responses of Multiparous Jersey Cows to an Oral Dose of 25-Hydroxyvitamin D3 or Vitamin D3 Before Parturition. Journal of Dairy Science, 91: 2408-2416, 2008.
108. INGRAM RT, PARK YK, BART L. CLARKE BL, LORRAINE A, FITZPATRICK J. Age- and Gender-related Changes in the Distribution of Osteocalcin in the Extracellular Matrix of Normal Male and Female Bone Possible Involvement of Osteocalcin in Bone Remodeling Journal of Clinical Investigation, 93: 989-997, 1994.
109. KASAI R, YAMAMURO T, OKUMURA H, IGUCHI H. Statistical analysis of age- and sex-related changes of serum osteocalcin. Journal of Bone and Mineral Metabolism, 11: 7-16, 1993.
110. YAMAGISHI N, UEKI A, MIURA M, SAITO F, SATO S, FURUHAMA K. Changes in Plasma Bone Metabolic Markers in Periparturient Dairy Cows. Journal of Veterinary Medical Science, 72: 773-776, 2010.

111. DAVICCO MJ, COXAM V, ROUX R, BARLET JP. Plasma osteocalcin concentrations in cattle under various pathophysiological conditions. *Journal of Bone and Mineral Research*, 10: 131-7, 1990.
112. NAITO Y, SOHINDO N, SATO R, MURKAMI D. Plasma Osteocalcin in Preparturient and Postparturient Cows: Correlation with Plasma 1,25-Dihydroxyvitamin D, Calcium, and Inorganic Phosphorus. *Journal of Dairy Science*, 73: 3481-3484, 1990.
113. MOREIRA VR, ZERINGUE LK, WILLIAMS CC, LEONARDI C, MCCORMICK M. Influence of calcium and phosphorus feeding on markers of bone metabolism in transition cows. *Journal of Dairy Science*, 92: 5189-5198, 2009.
114. LIESEGANG A, R. EICHER R, SASSI ML, RISTELI J, KRAENZLIN M, RIOND JL, WANNER M. Biochemical Markers of Bone Formation and Resorption Around Parturition and During Lactation in Dairy Cows with High and Low Standard Milk Yields. *Journal of Dairy Science*, 83: 1773-1781, 2000.
115. PETERSON AB, ORTH MW, GOFF JP, BEEDE DK. Periparturient responses of multiparous Holstein cows fed different dietary phosphorus concentrations prepartum. *Journal of Dairy Science*, 88: 3582-94, 2005.
116. WILKENS MR, OBERHEIDE I, SCHRODER B, STEINBERG W, BREVES G. Influence of the combination of 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> and a diet negative in cation-anion difference on periparturient calcium homeostasis of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 95: 151-164, 2012.
117. KUROSAKI N, YAMATO O, SATO J, NAITO Y, MORI F, IMOTO S, MAEDE Y. Biomarkers for the activation of calcium metabolism in dairy cows: elevation of tartrate resistant acid phosphatase activity by lowering dietary cation-anion difference is associated with the prevention of milk fever. *Journal of Veterinary Medical Science*, 69: 265-270, 2007.
118. IWAMA Y, KAMIYA M, TANAKA M, SHIOYA S. The change of dry matter intake, milk yield and bone turnover in primiparous cows compared to multiparous cows during early lactation. *Journal of Animal Science*, 75: 213-218, 2004

119. PRIGODICH RV, VESELY MR. Characterization of the Complex between Bovine Osteocalcin and Type I Collagen1. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 345: 339-341, 1997.
120. LI SH, GUO DZ, LI B, YIN HB, LI JK, XIANG JM, DENG GZ. The stimulatory effect of insulin-like growth factor-1 on the proliferation, differentiation, and mineralisation of osteoblastic cells from Holstein cattle. *The Veterinary Journal*, 179: 430-436, 2009.
121. WANG L, WANG H, XU X, WANG D, LIU H. Insulin facilitates osteoblast differentiation. *Cell Biology International*, 37: 1157-1161, 2013.
122. FERRON M, MCKEE MD, LEVINE RL, DUCY P, KARSENTY G. Intermittent Injections of Osteocalcin Improve Glucose Metabolism and Prevent Type 2 Diabetes in Mice. *Bone*, 50: 568-575, 2012.
123. KANAZAWA I, YAMAGUCHI T, YAMAMOTO M, YAMAUCHI M, KURIOKA S, YANO S, SUGIMOTO T. Serum Osteocalcin Level Is Associated with Glucose Metabolism and Atherosclerosis Parameters in Type 2 Diabetes Mellitus. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 94: 45-49, 2009
124. ALFADDA AA, MASOOD A, SHAIK SA, DEKHIL H, GORAN M. Association between Osteocalcin, Metabolic Syndrome, and Cardiovascular Risk Factors: Role of Total and Undercarboxylated Osteocalcin in Patients with Type 2 Diabetes. *International Journal of Endocrinology Volume 2013*: 1-6, 2013.
125. SARKAR PD, CHOUDHURY AB. Relationships between serum osteocalcin levels versus blood glucose, insulin resistance and markers of systemic inflammation in central Indian type 2 diabetic patients. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 17: 1631-1635, 2013.
126. COMPTON CW, MCDUGALL S, YOUNG L, BRYAN MA. Prevalence of subclinical ketosis in mainly pasture-grazed dairy cows in New Zealand in early lactation. *New Zealand Veterinary Journal*, 62: 30-7, 2014.
127. LEBLANC S, LESLIE KE, DUFFIELD TF. Metabolic predictors of displaced abomasum in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 88: 159-170, 2005.



128. DUFFIELD TF, LISSEMORE KD, MCBRIDE BW, LESLIE KE. Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. *Journal of Dairy Science*, 92: 571-80, 2009
129. OSPINA PA, NYDAM DV, STOKOL T, OVERTON TR. Association between the proportion of sampled transition cows with increased nonesterified fatty acids and beta-hydroxybutyrate and disease incidence, pregnancy rate, and milk production at the herd level. *Journal of Dairy Science*, 93: 3595–3601, 2010.
130. CHAPINAL N, CARSON M, DUFFIELD TF, CAPEL M, GODDEN S, OVERTON M, SANTOS JE, LEBLANC SJ. The association of serum metabolites with clinical disease during the transition period. *Journal of Dairy Science*, 94: 4897–4903, 2011.
131. LEROY JL, BOSSAERT P, OPSOMER G, BOLLS PE. The effect of animal handling procedures on the blood non-esterified fatty acid and glucose concentrations of lactating dairy cows. *The Veterinary Journal* 187: 81–84, 2011.
132. KESSLER C, GROSS JJ, BRUCKMAIER RM, ALBRECHT C. Cholesterol metabolism, transport, and hepatic regulation in dairy cows during transition and early lactation. *Journal of Dairy Science*, 97: 5481–5490, 2014.
133. KATOH N, NAKAGAWA-UETA H. Concentrations of apolipoprotein C-III in healthy cows during the peripartum period and cows with milk fever. *Journal of Veterinary Medical Science*, 63: 597-601, 2001.
134. FERNÁNDEZ-REAL JM, IZQUIERDO M, ORTEGA F, GOROSTIAGA E, GÓMEZ-AMBROSI J, MORENO-NAVARRETE JM, FRUHBECK G, MARTINEZ C, IDOATE F, SALVADOR J, FORGA L, RICART W, IBAÑEZ J. The relationship of serum osteocalcin concentration to insulin secretion, sensitivity, and disposal with hypocaloric diet and resistance training. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 94: 237-45, 2009.
135. YILMAZ Y, KURT R, EREN F, IMERYUZ N. Serum osteocalcin levels in patients with nonalcoholic fatty liver disease: association with ballooning degeneration. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 71: 631-6, 2011
136. GILBERT OR, GYLES CL, PERRY TW. *Metabolic disorders*, 8th edition, *The Veterinary Merck Manual*, USA, page 723-47, 1998

137. HANAI H, BRENNAN DP, CHENG L, GOLDMAN ME, CHOREV M, LEVINE MA. Downregulation of parathyroid hormone receptors in renal membranes from aged rats. American Journal of Physiology, 259: 444-50, 1990.

138. DABAK M. Kalsiyum ve fosfor metabolizması bozukluklarının etiyopatogenezi. Türkiye Klinikleri Journal of Veterinary Sciences, 2: 102-9, 2011.



## TEŞEKKÜR

Tez çalıőmamın tüm aőamalarında destek olan ve benden yardımını esirgemeyen doktora danışman hocam Sayın Prof. Dr. Engin KENNERMAN'a, yardımını hiçbir zaman esirgemeyen Dr. Zafer MECİTOĞLU'na, laboratuvar çalıőmalarımnda yardımcı olan Yrd. Doç. Dr. Duygu UDUM KKŐŐEN'e, doktora eğitimim sırasında mesleki geliőimimde çok önemli katkıları olan İç Hastalıkları Anabilim Dalı'ndaki tüm hocalarıma ve çalışma arkadaşlarıma, manevi desteği ile her zaman yanımda olan kıymetli eőim Sevinç UYUMAZ ÇATIK'a, sevgisi ile bana g veren sevgili oğlum Güney Can'a ve bu günlere gelmemde büyük emekleri bulunan aileme teőekkürlerimi bir borç bilirim.

## ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında Manisa'nın Salihli ilçesinde doğdum. İlkokul ve Ortaokulu Kabazlı İlköğretim Okulunda, liseyi Salihli Sekine Evren Anadolu Lisesi'nde bitirdim. 2003 yılında girdiğim Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesinde 1 yılı İngilizce hazırlık sınıfı olmak üzere 6 yıllık üniversite öğrenimi tamamladım ve 2009 yılında mezun oldum. Aynı yılın Eylül ayında Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda, Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'ne bağlı olarak doktora eğitimine başladım. Evli ve bir çocuk babasıyım.

