

T.C
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
İÇ HASTALIKLARI (VETERİNER)
DOKTORA PROGRAMI
VİH – DR – 2018 - 0001

SÜT SIĞIRLARINDA BAZI METABOLİK HASTALIKLARIN
SÜRÜ BAZINDA TEŞHİSİNE YÖNELİK BİYOLOJİK
TESTLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ

SONGÜL ERDOĞAN
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Kerem URAL

AYDIN-2018

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
İÇ HASTALIKLARI (VETERİNER) DOKTORA PROGRAMI

SÜT SIĞIRLARINDA BAZI METABOLİK HASTALIKLARIN
SÜRÜ BAZINDA TEŞHİSİNE YÖNELİK BİYOLOJİK
TESTLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ

SONGÜL ERDOĞAN
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Kerem URAL

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından VTF-17045 proje numarası ile desteklenmiştir

AYDIN-2018

KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İç Hastalıkları Anabilim Dalı Veteriner Programı çerçevesinde Songül ERDOĞAN tarafından hazırlanan “**Süt Sığırlarında Bazı Metabolik Hastalıkların Sürü Bazında Teşhisine Yönelik Biyolojik Testlerin Değerlendirilmesi**” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 28/08/2018

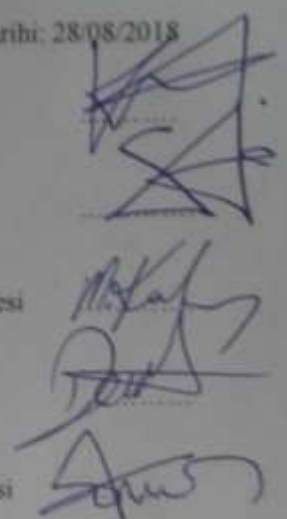
Üye (T.D.): Prof. Dr. Kerem URAL, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi

Üye: Prof. Dr. Serdar PAŞA, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi

Üye: Prof. Dr. Çağrı KARAKURUM, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi

Üye: Doç. Dr. Deniz ALIÇ URAL, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi

Üye: Dr. Ogr. Üyesi Ali Evren HAYDARDEDEOĞLU, Aksaray Üniversitesi



ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsününtarih vesayılı oturumunda alınannolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ahmet CEYLAN
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yaptığımız tüm çalışmalarda her defasında bir basamak daha yükselmemize yardımcı olan ekip lideri, aynı zamanda mesai mevhumu gözetmeksizin bizleri akademik bilgiyle donatmaya çalışan akademik babam, profesyonellik kavramının temel taşı olan ‘‘tecrübenin sesi’’ değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Kerem URAL’ a desteklerinden ve emeklerinden dolayı teşekkür ederken bunun bir son değil her zamanki gibi kaliteli ve çağın ilerisinde öngörülü çalışmalarla Sayın Hocam ve ekip arkadaşlarımızla devam edeceğimizin göstergesi niteliğinde, yüreğinin güzel yansımasıyla ve bilgileriyle yolumuzu aydınlatmaya devam edeceğini umut ederim. Yine danışman Hocam kadar bize sabır ve yol gösteren değerli Sayın Doç. Dr. Deniz ALIÇ URAL’ a ayrıca teşekkür etmek isterim. Bu süreçteki her türlü destek, bilgi ve tecrübesini bize aktaran ve yol gösteren kıymetli Hocam Sayın Prof. Dr. Serdar PAŞA’ ya teşekkür ederim. Yine İç Hastalıkları Ana Bilim Dalındaki diğer hocalarıma ve çalışma arkadaşlarıma hoşgörülerinden dolayı teşekkür ederim.

Zorlu ama bir o kadar mükemmel 4 yıllık süreçteki tüm yorgunluklarımı birlikte göğüslediğimiz, en büyük motivasyon kaynağım olan kıymetli eşim ve saygıdeğer Hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Hasan ERDOĞAN’ a sabrı, güler yüzü, anlayışı ve hayatımdaki varlığından dolayı teşekkürü bir borç bilirim. Akademik hayata yeni yürümeye başlayan bir bebek gibi esas adımlarımı atmaya başlarken çalışma azmi, akademik ve klinik becerisi ve en önemlisi ömür boyu birlikte yürütmeye söz verdiğimiz kutsal yolda kendisini kılavuz olarak benimsediğimi bildirmek isterim.

Varlıklarının ne kadar değerli olduğunu bu süreçlerde bir kez daha anlayarak bizimde yüreğimizin bir o kadar hoşgörü ile dolması temennisinin yanı sıra doktoranın sadece eğitim süreci değil aslında yaşamımızın önemli bir parçası haline geldiğini öğreten ve bu süreçte bize her türlü sabrı sevgiyle gösteren kocaman aileme, varlıklarına şükrederek teşekkür ederim.

Son iki yıldır kendi tabirimle ‘‘harika bir ekip’’ diye tanımlayabileceğim çalışma arkadaşlarım ve kardeşlerim Sayın Veteriner Hekim Tahir ÖZALP ve Sayın Arş. Gör. İsmail GÜNAL’ a özellikle teşekkür ederim. Bu süreçte gece gündüz, yol yağmur, üzerimize sinen mis gibi inek kokuları ve lekeleriyle zorlu çalışma sürecimizi geride mutlu anıların kaldığı

değerli vakitlere dönüştürdükleri ve benim kadar bu tezin tamamlanmasında geçen emekleri için ayrıca teşekkür ederim. Yine çalışmamızda kısa süreli katılma fırsatı bulan ancak her anımızı neşeye dolduran ve yüzümüzü güldüren güzel kalpli kızkardeşlerim sevgili Sayın Veteriner Hekim Sude ATEŞ ve Sayın Veteriner Hekim Pelin KANDEMİR' e teşekkür ederim.

Diğer taraftan bu çalışma sürecinde bize eşlik eden ve yardımlarını esirgemeyen Sayın Selim ACAR, Sayın Veteriner Hekim Eser ÇAKMAKÇI, Sayın Veteriner Hekim Halil İbrahim ADAK, Sayın Veteriner Hekim Burak AKBAŞ, Sayın Veteriner Hekim Burak ANTAKYALIOĞLU, Sayın Mehmet ERDEM ve öğrenci arkadaşlarımıza yardımlarından dolayı çok teşekkür ederim.

Son olarak aslında çalışmamızı şekillendiren ve bir bütün haline getiren kavramın, tek bir kişiyle olmadığını aksine özveri ile çalışan arkadaşlarla ve takım ruhuyla gerçekleştiğini vurgulamak isterim. Bu sebeple çalışma sürecinde değerli tez çalışmamda emeği geçen büyük küçük herkese en içten saygılarımı sunarak teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY.....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	vii
RESİMLER DİZİNİ.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
TABLolar DİZİNİ.....	xii
ÖZET.....	xiv
ABSTRACT.....	xvi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	6
2.1. Geçiş Dönemi.....	6
2.2. Geçiş Dönemdeki Metabolik ve Endokrin Değişimler.....	7
2.3. Negatif Enerji Dengesi.....	15
2.4. Geçiş Dönemindeki Bazı Metabolik Hastalıklar.....	17
2.4.1. Karaciğer Yağlanması.....	17
2.4.1.1. Karaciğer yağlanmasında etiyoloji.....	18
2.4.1.2. Karaciğer yağlanmasında metabolik ve immunolojik değişimler..	19
2.4.1.3. Karaciğer yağlanmasında tanı.....	21
2.4.2. Subklinik Ketozis.....	22
2.4.2.1. Subklinik ketozisin etiyolojisi.....	23
2.4.2.2. Subklinik ketozisin insidansı ve prevalansı.....	25
2.4.2.3. Ketozisin olumsuz etkileri.....	28
2.4.2.4. Subklinik ketozisin ekonomik yansımaları.....	31
2.4.2.5. Ketozisin tiplendirilmesi.....	31
2.4.2.6. Hayvan başı ketozis testleri.....	41
2.4.3. Subklinik Hipokalsemi.....	44
2.4.3.1. Gebeliğin son döneminde kalsiyum metabolizması.....	46
2.4.3.2. Kalsiyum ve laktasyon enerji denge bağıntısı.....	48
2.4.3.3. Kalsiyum immun sistem üzerine etkisi.....	50
2.4.3.4. Subklinik hipokalseminin postpartum hastalıklarla ilişkisi.....	51

2.4.4. Subklinik Hipomagnezemi.....	55
2.4.4.1. Magnezyum emilimini etkileyen faktörler.....	57
2.5. Sürü Bazında Biyolojik Testler.....	59
2.5.1. Sürü Bazında Esterleşmemiş Yağ Asitlerinin Değerlendirilmesi.....	60
2.5.2. Sürü Bazında Betahidroksi Bütirik Asit Değerlendirilmesi.....	66
2.5.3. Sürü Bazında Kalsiyumun Değerlendirilmesi.....	70
2.5.4. Sürü Bazında Magnezyumun Değerlendirilmesi.....	71
2.5.5. Laktatın Değerlendirilmesi.....	72
2.5.5.1. Laktat ölçümünü etkileyen faktörler.....	75
2.5.5.2. Hasta başı laktat analizi.....	76
2.5.6. Sürü Bazında Biyolojik Testler Yapılırken Dikkat Edilmesi Gereken Hususlar.....	77
2.5.6.1. Bireysel ya da grup olarak test sonuçlarının yorumlanması.....	77
2.5.6.2. Oran ya da ortalama yöntemi.....	77
2.5.6.3. Hayvan sayısı.....	79
2.6. Vücut Kondüsyon Skorunun Belirlenmesi.....	81
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	83
3.1. Hayvan Materyali.....	83
3.2. Kan Örneklerinin Alınması.....	85
3.3. Biyolojik Testlerin Yapılışı.....	87
3.3.1. Analiz Aşamaları.....	88
3.3.1.1. Beta hidroksi bütirik asit analizi.....	88
3.3.1.2. Laktat analizi.....	89
3.3.1.3. Esterleşmemiş yağ asitleri analizi.....	90
3.3.1.4. Total kalsiyum analizleri.....	91
3.3.1.5. Magnezyum analizleri.....	92
3.3.2. Testlerin Çalışma Prensipleri.....	93
3.3.2.1. Esterleşmemiş yağ asitleri çalışma prensibi.....	93
3.3.2.2. Laktat çalışma prensibi.....	93
3.3.2.3. Total kalsiyum çalışma prensibi.....	94
3.3.2.4. Magnezyum çalışma prensibi.....	94
3.3.2.5. Beta hidroksi bütirik asit çalışma prensibi.....	95
3.4. Vücut Kondüsyon Skorlaması.....	95

3.5. Verilerin İstatistiki Değerlendirilmesi.....	97
3.5.1. Multivaryant Analizler ile Verilerin Değerlendirilmesi.....	98
3.5.2. İşlem Karakteristik Eğrisi (Receiver Operator Characteristic; ROC) ile Eşik Değerlerin Belirlenmesi.....	100
3.6. Subklinik Bazı Hastalıkların Sürü Bazında Değerlendirilmesi.....	101
4. BULGULAR.....	103
4.1. İşletmelere Yönelik Tanımlayıcı Veriler.....	103
4.2. Biyolojik Testlere Ait Ortalama Değerler.....	105
4.2.1. Beta Hidroksi Bütirik Aside İlişkin Bulgular.....	105
4.2.2. Esterleşmemiş Yağ Asitlerine İlişkin Bulgular.....	107
4.2.3. Laktat Ölçümüne İlişkin Bulgular.....	109
4.2.4. Magnezyum Ölçümüne İlişkin Bulgular.....	110
4.2.5. Kalsiyum Ölçümüne İlişkin Bulgular.....	112
4.3. Biyolojik Testler Arasındaki İlişkiler.....	113
4.4. Çalışma Kapsamında Karşılaşılan Komorbidite Oranları.....	116
4.5. Biyolojik Testlere Ait Eşik Değerler.....	117
4.6. Biyolojik Testlerin Sürü Bazında Değerlendirilmesi.....	120
5. TARTIŞMA.....	125
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	143
KAYNAKLAR.....	146
EKLER.....	185
ÖZGEÇMİŞ.....	194

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

μM	:	Mikromolar
$\mu\text{mol/L}$:	Mikromol/litre
$^{\circ}\text{C}$:	santigrat derece
1,25-(OH) ₂ D	:	1,25 dihidroksi vitamin D
ACTH	:	Adrenokortikotropik hormon
AD	:	Abomazum deplasmanı
AMP	:	Adenozin monofostat
AMPK	:	Adenozin mono fosfat aktive edici protein kinaz
ANGPTL4	:	Anjiyopietin benzeri protein 4
ATP	:	Adenozin trifosfat
BH	:	Büyüme hormonu
BHBA	:	Beta hidroksi bütirik asit
BHR	:	Büyüme hormon reseptörü
Ca ²⁺	:	Kalsiyum
CoA	:	Koenzim A
EDTA	:	Etildiamintetraasetik asit
FGF21	:	Fibroblast büyüme faktörü 21
g	:	Gram
GnRH	:	Gonodotropin salgılatıcı hormon
GEDTA	:	Etilen diamin tetraasetik asit
HP	:	Hamprotein
IBF-I	:	İnsülin benzeri büyüme faktörü
IgG	:	İmmunglobulin G
IgM	:	İmmunglobulin M
K ⁺	:	Potasyum
kg	:	Kilogram
KMT	:	Kuru madde tüketimi
LH	:	Lüteinizan hormon
LOD-PAP	:	Laktat oksidaz-peroksit
Lt	:	Litre

Mcal	:	Megakalori
mEq/L	:	Miliekivalent/litre
mg/dL	:	Miligram/desilitre
Mg ⁺²	:	Magnezyum
mmol/L :	:	Milimol/litre
Na ⁺	:	Sodyum
NaCl	:	Sodyum klorür
NAD ⁺	:	Nikotinamid adenin dinükleotit
NADH	:	İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotit
NaF	:	Sodyumflorür
NH ₄ ⁺	:	Amonyum
NED	:	Negatif enerji dengesi
NEL	:	Laktasyon net enerjisi
NEL/kg	:	Net enerji laktasyon
nm	:	bir metrenin milyarda biri
o-CPC	:	o-cresolphthalein-complexone
pH	:	hidrojenin gücü
PPAR α	:	Peroksizom proliferasyon-aktivasyon reseptörü
PTH	:	Paratiroid hormon
ROS	:	reaktif oksitativ stres metabolitleri
Rpm	:	dakikadaki dönüş sayısı
SARA	:	Subakut Ruminal asidozis
Se	:	Sensitivite
Sp	:	Spesifite
SKH	:	Subklinik Hipokalsemi
SKK	:	Subklinik ketozis
SKM	:	Subklinik hipomagnezemi
TCA	:	Trikarboksilik asit
TKR	:	Total karışım rasyonu
TNF- α	:	Tümör nekrozis faktör- α
UYA	:	Uçucu yağ asitleri
ÜN	:	Üre nitrojen
VKS	:	Vücut kondüsyon skoru
VLDL	:	Çok düşük yoğunluklu lipoprotein

RESİMLER DİZİNİ

Resim 3.1.	Çiftliklere yönelik kayıtların alınması.....	83
Resim 3.2.	Çalışmaya alınan ineklerde <i>V. coccygea</i> 'dan kan örneklerinin alınması.....	85
Resim 3.3.	Çalışmada kullanılan veteriner hasta başı cihazlar.....	87
Resim 3.4.	BHBA analizi yapılış şeması.....	88
Resim 3.5.	Laktat analizi yapılış şeması.....	89
Resim 3.6.	NEFA analizi yapılış şeması.....	90
Resim 3.7.	Ca ⁺² analizi yapılış şeması.....	91
Resim 3.8.	Mg ⁺² analizi yapılış şeması.....	92
Resim 3.9.	Çiftliklerde VKS' nin yapılması.....	96
Resim 4.1.	İşletmelerde bulunan doğum padoklarının görüntüsü.....	101
Resim 4.2.	İşletmelere ait laktasyon padokları.....	102
Resim 4.3.	İşletmelerde karşılaşılan hastalıklı hayvanlara ait görünüm	115

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	İneklerin yaşam siklusuna ait farklı dönemler.....	6
Şekil 2.2.	Lipid metabolizması ile karaciğer ve meme bezi arasındaki ilişki.....	8
Şekil 2.3.	Geçiş dönemindeki sütçü ineklerde bağışıklık, endokrin ve metabolik sistem arasındaki etkileşim.....	15
Şekil 2.4.	BHBA konsantrasyonu 1.2-1.9 mmol/L arasında değişen 1717 sığırdaki SKK prevalansı.....	25
Şekil 2.5.	BHBA konsantrasyonu 1.2-1.9 mmol/L arasında değişen 1717 sığırdaki SKK insidansı.....	26
Şekil 2.6.	Sütçü sürülerde normal glikoz metabolizması.....	32
Şekil 2.7.	Tip I ketoziste glukoz ve keton cisimi oluşma mekanizması.....	33
Şekil 2.8.	Tip II ketoziste glukoz ve keton cisimciği oluşma mekanizması.....	35
Şekil 2.9.	Fazla bütirik asit içeren silajlara bağlı glukoz ve keton cisimciği metabolizması.....	39
Şekil 2.10.	Laktasyonun 6-18. günlerinde günlük aktiviteye bağlı BHBA konsantrasyonu.....	42
Şekil 2.11.	Kan kalsiyum haemostazisinin basit şematize gösterimi.....	45
Şekil 2.12.	Kemik doku ve kalsiyum arasındaki ilişki.....	48
Şekil 2.13.	Hipokalsemi ve postpartum hastalıklarla ilişkisi.....	52
Şekil 2.14.	Vücut kondüsyon skorlaması.....	81
Şekil 3.1.	Çalışma kapsamına alınan işletmelerin uydu harita görünümü ve coğrafik lokalizasyonları.....	82
Şekil 3.2.	İneklerin yaşam siklusuna ait farklı dönemler ve analiz zamanları..	85
Şekil 3.3.	L-Laktat enzimatik-kolorimetrik yöntemi.....	93
Şekil 3.4.	Total kalsiyum çalışma prensibi.....	93
Şekil 3.5.	Magnezyum xylydyl blue ile çalışma prensibi.....	94
Şekil 3.6.	Vücut kondüsyon skorlamasının çizimsel gösterimi.....	95
Şekil 4.1.	ROC eğrisi analizi ile belirlenen prepartum eşik değerleri.....	96
Şekil 4.2.	ROC eğrisi analizi ile belirlenen doğum dönemine ait eşik değerler	97



TABLolar DİZİNİ

Tablo 2.1.	Sütçü sürülerde ketozisin farklı tipleri.....	31
Tablo 2.2.	Tip I ve tip II ketozisli sürü örneği.....	41
Tablo 2.3.	Ketozis tanısında kullanılan hastabaşı testler.....	43
Tablo 2.4.	BHBA test sonuçlarının yorumlanması.....	68
Tablo 2.5.	Sürü bazında yapılan biyolojik testlerin gerçekleştirildiği periyot.....	79
Tablo 2.6.	Laktasyon dönemlerine göre serbest dolaşan ineklerde ideal VKS.....	81
Tablo 3.1.	Biyolojik testler ve laboratuvar yöntemleri.....	86
Tablo 3.2.	Subklinik hastalıkların sürü bazında belirlenmesinde kullanılan eşik değer ve alarm risk seviyeleri.....	
Tablo 4.1.	Çalışma kapsamındaki çiftliklerin bilgileri.....	100
Tablo 4.2.	Modele dahil edilen değişkenlere göre BHBA konsantrasyonlarına ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları.....	103
Tablo 4.3.	Modele dahil edilen değişkenlere göre NEFA konsantrasyonlarına ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları.....	105
Tablo 4.4.	Modele dahil edilen değişkenlere göre laktat konsantrasyonlarına ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları.....	107
Tablo 4.5.	Modele dahil edilen değişkenlere göre Mg ⁺² konsantrasyonlarına ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları.....	108
Tablo 4.6.	Modele dahil edilen değişkenlere göre Ca ⁺² konsantrasyonlarına ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları.....	109
Tablo 4.7.	I. işlemede biyolojik testler arasındaki ilişki.....	112
Tablo 4.8.	II. işlemede biyolojik testler arasındaki ilişki.....	112
Tablo 4.9.	III. işlemede biyolojik testler arasındaki ilişki.....	112

Tablo 4.10.	Prepartum dönemde biyolojik testlerin eşik değerleri ve standart hataları.....	117
Tablo 4.11.	Doğum döneminde biyolojik testlerin eşik değerleri ve standart hataları.....	118
Tablo 4.12.	Postpartum dönem biyolojik testlerin eşik değerleri ve standart hataları.....	119
Tablo 4.13.	I. nolu işletmedeki verilerin sürü bazında yorumlanması.....	122
Tablo 4.14.	II. nolu işletmedeki verilerin sürü bazında yorumlanması.....	123
Tablo 4.15.	III. nolu işletmedeki verilerin sürü bazında yorumlanması.....	124



ÖZET

SÜT SIĞIRLARINDA BAZI METABOLİK HASTALIKLARIN SÜRÜ BAZINDA TEŞHİSİNE YÖNELİK BİYOLOJİK TESTLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Erdoğan S. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner İç Hastalıkları Programı Doktora Tezi, Aydın, 2018.

Bu araştırma ile Aydın ilinde bulunan bazı süt sığırcılığı işletmelerinde, geçiş dönemindeki bazı metabolik hastalıkların sürü bazında teşhisine yönelik biyolojik testlerden olan NEFA, BHBA, laktat, Mg^{+2} ve Ca^{+2} 'un değerlendirilmesi amaçlandı. Çalışma kapsamına Aydın İli'nde yer alan 1) ≥ 250 baş sağmallı, 2) serbest duraklı ahır sistemi olan, 3) TMR ile besleme yapılan ve/veya 4) sürü takibini sağlayan programlara sahip 3 farklı süt sığırcılığı işletmesi dahil edildi. Kuru dönemde olan 50 sağmal inekten oluşturulmuş gruplardan seçilen en az 12 olguda prepartum (-2. hafta ve -1. hafta), doğum (0. gün), postpartum (+1. hafta ve +2. hafta) dönemlerinde sabah yemlemesinden 6-8 saat sonra *V. coccygea*'dan alınan kan örneklerinden hastabasında NEFA, BHBA, laktat, Mg^{+2} ve Ca^{+2} analizleri ile VKS'nin haftalık takibi gerçekleştirildi. Elde edilen verilerin tekrarlayan ölçümlü deneme modeli kullanılarak tanımlayıcı istatistikleri yapıldı. Çalışmaya göre işletme ve rasyon faktörleri ile BHBA, NEFA, Mg^{+2} ve Ca^{+2} arasındaki ilişki istatistiksel olarak önemli bulundu ($P < 0.01$). Modele göre dahil edilen diğer bir değişken olan dönem (prepartum, doğum ve postpartum) ile BHBA ve Ca^{+2} ait en küçük karalar ortalaması ve standart hatalar arasında istatistiksel ($P < 0.01$) önemli olan bir ilişki saptandı. Bunun yanı sıra laktat ile VKS arasında düşük ($P < 0.05$), Ca^{+2} ile laktasyon sayısı (primiparöz ve multiparöz) arasında yüksek ($P < 0.01$) istatistiksel önem tespit edildi. Sürü bazında yapılan değerlendirmede her üç işletmede prepartum NEFA ≥ 0.4 mEq/L ve postpartum BHBA ≥ 1.4 mmol/L eşik değerlerine göre her üç işletmenin postpartum NED yönünden pozitif olduğu ve SKK yönünden I. işletmenin pozitif değerlendirilebileceği görüldü. Ayrıca $Ca^{+2} \leq 2.0$ mmol/L ve $Mg^{+2} < 0.61$ mmol/L'un doğum (0. gün) eşik değerlerine göre SKH yönünden her 3 işletmenin riskli olduğu ve I. ve II. işletmelerde SKM'nin varlığının uygun olmayan rasyon ve beslenme ile de ilişkili olabileceği düşünüldü. Aynı zamanda çalışmada elde edilen ROC eğrisi prepartum NEFA eşik değerinin (0.68 mEq/L) diğer çalışmalarla benzerlik gösterdiği ve postpartum bazı klinik hastalıkların gözlemlenmesinde kullanılabileceği ortaya konuldu. Gerçekleştirilen bu tez çalışmasının, sürü bazında belirtilen parametrelerin birarada incelendiği

başka bir çalışma bulunmamasıyla ve Türkiye’ de sürü bazlı hastalıkların önlenmesine yönelik planlama ve stratejik müdahalelere imkan vermesi yönüyle bir ilk olup ileride yapılacak çalışmalara ve sürü yönetimine emsal oluşturacağı düşünüldü.

Anahtar Kelimeler: Eşik değeri, geçiş dönemi, metabolik hastalık, metabolik profil, süt sığırı



ABSTRACT

INTERPRETATION OF BIOLOGICAL TESTS FOR HERD BASED DIAGNOSIS OF SELECTED METABOLIC DISORDERS IN DAIRY CATTLE

Erdoğan S. Aydın Adnan Menderes University Institute of Health Sciences Veterinary Internal Medicine Programme Doctoral Thesis, Aydın, 2018.

This study aimed to evaluate NEFA, BHBA, lactate, Mg^{+2} and Ca^{+2} as biological tests for the detection of some metabolic diseases during transition period in selected dairy farms located in Aydın province. As a part of the study three different dairy farms located in Aydın province with 1) ≥ 250 dairy cattle, 2) freestall housing, 3) TMR feeding and/or 4) dairy herd improvement programs were enrolled. Weekly cowside NEFA, BHBA, lactate, Mg^{+2} and Ca^{+2} analysis with BCS were performed in at least 12 cases selected from groups formed 50 dairy cattle in the dry period by withdrawal of blood samples from V. coccygea 6-8 hours after early feeding at prefresh (-2nd and -1th week), fresh (0. day), postfresh (+1th and +2nd week) periods. Descriptive statistics were done using the repeatedly measured trial model of the obtained data. According to the study, the relationship between BHBA, NEFA, Mg^{+2} , Ca^{+2} and farm with feed ratio factors were found statistically significant ($P < 0.01$). A statistically significant relationship ($P < 0.01$) was determined among period (prepartum, birth and postpartum) the other variables included in the model with the least squares and standard errors of BHBA and Ca^{+2} ($P < 0.01$). In addition, higher statistical significance was found between lactate and BCS ($P < 0.05$), Ca^{+2} and lactation number (primiparous and multiparous) ($P < 0.01$). According to the prepartum NEFA ≥ 0.4 mEq/L and postpartum BHBA ≥ 1.4 mmol/L levels in herd-based evaluation, it was observed that all farms were positively evaluated for NEB and only Ist farm was found positive for SCK. In addition, it was thought that all 3 farms were at risk for SCH according to the threshold values (0. day) of $Ca^{+2} \leq 2.0$ mmol/L and $Mg^{+2} < 0.61$ mmol/L and the presence of SCM in the Ist and IInd farms may also be related to inappropriate feed ration and nutrition. At the same time, it was concluded that prepartum NEFA threshold (0.68 mEq/L) was obtained similar to other studies for the ROC statical analysis and it could be used for observing some postpartum clinical diseases. It was suggested that this thesis study was the first in terms of the fact that there is no other study in which those parameters were mentioned on herd basis investigated together and that it allows planning and strategic interventions to prevent herd-based diseases in Turkey and it will be a precedent for future studies and herd management.

Keywords: Dairy cattle, metabolic disorders, metabolic profile, threshold value, transition period



1. GİRİŞ

Sütçü sığırlarda geçiş dönemi (periparturient dönem) doğum öncesi (-3) – (-2). haftadan başlayan ve doğum sonrası (+2) – (+3). haftayı kapsayan bir süreçtir (Grummer, 1995). ‘Geçiş’ terimi bu dönemdeki önemli metabolik, fizyolojik ve beslenme değişimlerini vurgulamak üzere tasarlanmıştır. Bu dönem ineklerin bir laktasyondan diğer laktasyona, üretim döngüsündeki kırılma noktalarını vurgulamaktadır. Bu değişimlerin nasıl meydana geldiği ve nasıl yönetilmesi gerektiği karlılığı etkileyen laktasyon performansı, klinik ve subklinik hastalıklar, reproduktif performans ile yakın ilişkilidir.

Geçiş dönemi bozuklukların çoğu, belirli metabolik elementlerin yetersizliğine bağlı gelişmektedir. Gebeliğin son haftalarında hızla büyüyen fötüs ve laktasyondaki yüksek süt verimine (Bell, 1995) karşılık kuru madde tüketiminin (KMT) azalması ve gerekli enerji talebinin karşılanamaması (Bobe ve ark, 2004, Drackley ve ark, 2005) ile negatif enerji dengesini (NED) ortaya çıkmaktadır (Leslie ve ark, 2004; Kehrlı ve ark, 2006; LeBlanc, 2010; Gumen ve ark, 2011). NED ile birlikte oluşan yağ asitlerinin mobilizasyonu ve artan keton cisimcikleri (Nielsen ve Ingvarlsen, 2004; Duffield ve ark, LeBlanc, 2009; LeBlanc 2010; Risco, 2010) postpartum hastalık ve immünolojik değişimleri beraberinde getirmektedir. (Butler ve Smith, 1989; Hammon ve ark, 2006; Van Knegsel, 2007; Duffield ve LeBlanc, 2009; LeBlanc, 2010).

Sürü bazlı işletme sayılarının artışı ve geçiş döneminde meydana gelen hastalıkların takibini yapmak ve olası risklerini azaltmak için sürü bazında metabolik profillerin oluşturulması önem kazanmıştır (Herdt ve ark, 2000a). İncelenen parametreler arasında olan esterleşmemiş yağ asitleri (NEFA) ve beta hidroksi bütirik asit (BHBA) konsantrasyonları, erken laktasyon dönemi adaptasyon mekanizmaları göstermekte olup, NEFA adipoz dokulardan mobilize olan yağ asitleri miktarının büyüklüğünü ve BHBA’ da karaciğerde yağların oksidasyon kapasitesini yansıtan iki önemli parametre olarak görülmektedir (Duffield ve LeBlanc, 2009; Asl ve ark, 2011; Chapinal ve ark, 2012a, 2012b; McArt ve ark, 2013; Chalmeh ve ark, 2015). Gerçekleştirilen çalışmalar ile ortaya konulan bu iki parametre çalışmamıza da konu olduğu üzere sürü bazında bazı postpartum dönem hastalık takibinin (Oetzel, 2003a, 2004, 2007; LeBlanc ve ark, 2006; Ospina ve ark, 2010b; Borchardt ve

Staufenbiel, 2012; Chapinal ve ark, 2012a, 2012b; Nydam ve ark, 2013; Opsomer, 2015) kullanılmaktadır.

Negatif enerji dengesi yanında doğumla birlikte sekteye uğrayan diğer parametreler arasında kalsiyum (Ca^{+2}) homeostazisi de bulunmaktadır (Duffield ve LeBlanc, 2009). Geçiş döneminde Ca^{+2} dengesindeki bozulmalar laktasyondaki ineklerin verim ve refahına zarar veren hastalıklar için risk kaynağı olarak görülmektedir (DeGaris ve Lean, 2008; Oetzel, 2013b). Özellikle klinik bulgu göstermeden seyreden subklinik hipokalsemi (SKH), düşük Ca^{+2} seviyesine bağlı laktasyonun ilk 30 gününde diğer hastalıkların görülme insidansı yüksek bulunmuştur (Chapinal ve ark, 2012a, 2012b; Martinez ve ark, 2012). Geçiş dönemindeki değişimine bağlı olarak Ca^{+2} , doğumdan birkaç gün sonrası için kullanılabilir bir metabolik parametre olmasına rağmen, bu dar aralıktan öncesinde ya da sonrasında ölçümünün sürü bazında metabolik hastalıkların belirlenmesine yönelik spesifik bir etkiye sahip olmadığı belirtilmektedir (Duffield ve LeBlanc, 2009). Ancak geçiş döneminde NEFA, BHBA ve Ca^{+2} değerlendirmelerinin bu dönemde gelişen metabolik bozukluklara karşı oluşan adaptasyonun takibini sağladığı ve NEFA ile BHBA parametrelerinin NED' e olan uyumu yansıtırken serum Ca^{+2} seviyesindeki ölçümün ise rasyonla alınan ve kemiklerden reabsorbe edilen kısmın süt üretimi için kullanılan ekstraselüler kayba olan yeteneğinin göstergesi olduğu düşünülmektedir (Horst ve ark, 1994; Martinez ve ark, 2012; Klevenhusen ve ark, 2015). Planlanan tez çalışmasının Ca^{+2} un geçiş dönemindeki takibi ve diğer alınan biyolojik testler ile olan ilişkisi ile bu alandak, literatür açının da kapatılacağı düşünülmektedir.

Metabolik profil kapsamına alınan diğer element olan magnezyum (Mg^{+2}), metabolik-enzimatik aktivasyon ve adenosin trifosfatın (ATP) kullanıldığı tüm fizyolojik mekanizmalarda yer almaktadır (Rude, 2001; Turgut, 2000; Ağaoğlu ve ark, 2011). Gebe ve laktasyon döneminde olan ineklerde Mg^{+2} ihtiyacı daha fazla olmakla birlikte eksikliğine karşı duyarlılıkları bu kritik dönemlerde daha yüksektir (Piccione ve ark, 2012). Mg^{+2} un yetersiz alınımı verim kaybına ve metabolik hastalıkların artışına neden olabilmektedir (Ellison, 1984; Young ve Rys, 1977; Young ve ark, 1979).

Serum Mg^{+2} seviyesindeki analizlerin hayvanın beslenme durumu göstermede temel belirteç olduğu ifade edilmektedir (Herdt ve ark, 2000b; Goff, 2006). Sürü bazında gerçekleştirilen bir çalışmada serum Mg^{+2} seviyelerinin yönetim, yem maddelerinin yetiştirildiği toprak ve bireysel faktörlerden oldukça etkilendiği, sürülerde Mg^{+2} değerlendirmesinin meranın kimyasal yapısından ziyade yapılan beslemeden yararlanımıyla

daha yakından ilişkili olduğu ve sürü bazında belirlenen ortalama Mg^{+2} seviyesinin rehber olabileceğini ancak bireysel olarak görülen hipomagnezimi maskelenebileceği düşünülmektedir (Feyter ve ark, 1986). Bunun yanı sıra doğum sonrası 12 saat içerisinde sürüde 9-10 hayvanda yapılan analizlerle Mg^{+2} seviyesinin ≤ 2.0 mg/dl olmasının rasyondaki Mg^{+2} eksikliği ya da emilimin engellendiği beslenme tablosunu yansıtacağı belirtilmektedir (Goff, 2006).

Serum laktat seviyesi beşeri alanda, kritik hastalarda mortalitenin gözlemlenmesinde yaygın kullanılan bir parametredir (Husain ve ark, 2003). Benzer şekilde veteriner hekimliği alanında da kullanımı mevcuttur. Kan laktat seviyesi yangısal durumlarda artış göstermesinden dolayı ruminantlarda plazma laktat konsantrasyonu endotoksemilerin şiddetinin belirlenmesinde ve mortalitenin gözlemlenmesinde (Coghe ve ark, 2000), bronkopneumonili ve solunum problemi ile doğan buzağılarda (Coghe ve ark, 2000; Nagy ve ark, 2006), neonatal dönem ishelli buzağılarda tedavi etkinliği ve ölüm riskinin belirlenmesinde (Ewaschuk ve ark, 2004) güvenilir prognostik öneme sahiptir.

Günümüzde D-laktat analizini gerçekleştiren hasta başı cihazlar bulunmamasına rağmen L-laktat seviyesinin belirlenmesinde laboratuvar analizleri dışında farklı hasta başı cihazlar da kullanılmaktadır (Figuereido ve ark, 2006; Delesalle ve ark, 2007; Van Oldruitenborgh-Oosterbaan ve ark, 2008; Burfeind ve Heuwieser, 2012; Boulay ve ark, 2014). Hasta başı cihazların pek çok kullanım avantajı bulunmaktadır (Buczinski ve ark, 2014). Tüm bunların yanı sıra sürü bazında günümüze dek laktat analizlerinin değerlendirildiği herhangi bir çalışmaya rastlanılmamış olması planlanan bu çalışmanın orijinalliğini arttırmaktadır.

Prepartum dönem bakım ve beslemesi de vücut kondüsyonun kontrol altında tutulabilmesi açısından önem taşımaktadır. Doğum zamanında vücut kondüsyon skoru (VKS)'nin 3-3.25 düzeyinde olması tavsiye edilmektedir (Overtone, 2001; Mulligan ve ark, 2006; Roche ve ark, 2009). Doğum zamanı yüksek VKS'ye sahip hayvanlarda doğum sonrası daha fazla vücut ağırlığı kaybedilmekte olup yağ dokudan daha hızlı mobilizasyon şekillenmektedir (Grummer ve ark, 2004; Murondoti ve ark, 2004; Kadokawa ve Martin, 2006; Mulligan ve ark, 2006; Roche ve ark, 2009; Janovick ve ark, 2011; Samanc ve ark, 2011). Postpartum dönemde meydana gelen vücut rezervlerindeki kayıp ile postpartum adipoz dokulardan yağ mobilizasyonu doğru orantılı gelişmektedir. Bu durumda yağlı karaciğer (Samanc ve ark, 2011), ketozis, abomazum deplasmanı (AD) ve hipokalsemi gelişme riskini arttırmaktadır (Gillund ve ark, 2001; Kim ve ark, 2006).

Hastalık tanısı ve metabolik profil değerlendirilmesinde uygulanan metotlar benzer olmasına rağmen sürü bazında yapılan örnekleme ve yorumlamasında farklılıklar bulunmaktadır. Hastalık tanısı konulurken kan analizlerindeki bir ya da birden fazla parametredeki değişimler göz önüne alınırken metabolik profilin uygun yorumlanması ve değerlendirilmesi için fizyolojik olarak sağlıklı görünümlü hayvanlardan toplanan örnekleme kapsamaktadır (Friedrichs ve ark, 2012). Bireysel olarak yapılan değerlendirmelerden yanı sıra sürü bazında yapılan örnekleme hayvan refahını arttırmaya yönelik beslenme ve yönetim stratejilerinde daha makul ve uygulanabilir olduğu belirtilmektedir (Chapinal ve ark, 2012a, 2012b). Sürü bazında incelenen metabolik profiller hastalıkların tanısından ziyade oluşabilecek hastalık risklerinin ortaya konulması ve daha çok subklinik hastalıkların takibinde destekleyici olmaktadır (Oetzel, 2003a; Buczinski ve ark, 2014; Guyot, 2015). Yapılan test sonuçlarının doğruluğu incelenen hayvan sayısına, analizlerin yapılaş biçimlerine ve beslenme sonrası numunelerin toplanma zamanına bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (Oetzel, 2003a). Bu sebeple sürü bazında oluşturulan metabolik profiller diğer tanısal yöntemlerle ve özellikle geçiş dönemi reproduktif ve metabolik hastalıklar, besi durumu (Ingraham ve Kappel, 1998; Bertoni ve Trevisi, 2013), stres profili (Abeni ve ark, 2007; Calamari ve ark, 2013), rasyon, yönetim ve bakım koşulları (Abeni ve ark, 2005; Calamari ve Bertoni, 2009) ile beraber incelenmeli ve değerlendirilmelidir.

Sürü sağlığı kavramının gelişmesi ile birlikte iyi hayvancılık uygulamaları, rasyonların düzenlenmesi, süt veriminin artırılması, sağlık ve aşılama programlarının takibi ile sürü sağlığı kavramı ile örtüşen bir durum tespiti olarak, metabolik hastalıklara yönelik koruyucu hekimlik dolayısıyla da hastalıkların anlık tespiti bazı örnekleme ve testlerin gerçekleştirilmesiyle mümkün olacaktır. Böylelikle memleket ekonomisine, ilgili hastalıkların önlenmesi/sağaltımı ile katkı ve girdi sağlanabilir. Bu yönüyle ele alındığında geçiş döneminde bazı biyokimyasal parametrelerin takip edilmesi sürüde meydana gelebilecek hastalıkların önlenmesi ya da erken müdahalesi bağlamında önem taşımaktadır (Duffield ve LeBlanc, 2009).

Geçiş dönemi adaptasyon sürecinde çeşitli faktörler arasındaki ilişki, adaptasyon kapasitesinde büyük değişkenliklerin oluşmasına ve bu durumda bireysel ve sürü bazında metabolik hastalıkların meydana gelmesinde rol oynamaktadır (Sundrum, 2015). Sonuç olarak geçiş döneminde bazı biyokimyasal parametrelerin takip edilmesi sürüde meydana gelebilecek hastalıkların önlenmesi ya da erken müdahalesi bağlamında önem taşımaktadır.

Bu araştırma ile Aydın ilinde bulunan bazı süt sğırı işletmelerinde, geçiş dönemindeki bazı metabolik hastalıkların sürü bazında teşhisine yönelik biyolojik testlerden olan NEFA, BHBA, laktat, Mg⁺² ve Ca⁺²'un değerlendirilmesi amaçlandı. Eş zamanlı olarak haftalık takibi yapılan VKS ile de bahsi geçen biyolojik testlerle olan bağıntısının ortaya konulması hedeflendi. Gerçekleştirilen bu çalışmanın, sürü bazında belirtilen parametrelerin birarada incelendiği başka bir çalışma bulunmamasıyla ve Türkiye' de sürü bazlı hastalıkların nlenmesine yönelik bir ilk olup ileride yapılacak çalışmalara ve sürü yönetimine emsal oluşturacağı düşünüldü.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Geçiş Dönemi

Sütçü sığırlarda geçiş dönemi (periparturient dönem) doğum öncesi (-3) – (-2). haftadan başlayan ve doğum sonrası (+2) – (+3). haftayı kapsayan süreçtir (**Şekil 2.1.**) (Grummer, 1995). ‘Geçiş’ terimi bu dönemdeki önemli metabolik, fizyolojik ve beslenme değişimlerini vurgulamak üzere tasarlanmıştır. Bu dönem, sütçü ineklerin meydana gelen değişimlere karşı fizyolojik ve metabolik adaptasyonunu kapsamaktadır. Erken laktasyon dönemindeki yüksek enerji talebi genel olarak NED, lipoliz, ketogenezis ve karaciğerde yağ birikimi ile sonuçlanmakta ve böylelikle metabolik refah azalmaktadır (Weber ve ark, 2013).



Şekil 2.1. İneklerin yaşam siklusuna ait farklı dönemler (Grummer, 1995; Ergün ve ark, 2001).

Geçiş döneminde meydana gelen fetal değişimlerle birlikte doğumun yaklaşmasıyla KMT kademeli olarak azalmaktadır (Bell, 1995). Doğumun son üç haftasında fötusun besin gereksinimi en yüksek seviyeye ulaşmakta ancak annenin KMT yaklaşık %30 azalmaktayken doğuma son 5-7 gün kala bu oran %90' lara çıkmaktadır (Ingvartsen ve Anderson, 2000; Hayirli ve ark, 2002; 2003). Postpartum döneme geçildiğinde ise laktasyonun ilk üç haftasında süt verimi, süt yağ, protein ve laktoz miktarının hızla artmasına bağlı gerekli enerji, yem tüketiminin üzerine çıkmaktadır (Bertoni ve ark, 2009). Kuru dönemde yapılan kaba yem ağırlıklı beslemeden buzağılama döneminde gerekli olan konsantre yemden zengin beslenmeye hızlı bir geçiş gerçekleştirilmektedir. Postpartum süt üretimi ve istenilen beslenme adaptasyonu fizyolojik bir durum olan NED' i tetiklemektedir. Bununla birlikte son dönemlerdeki hayvan

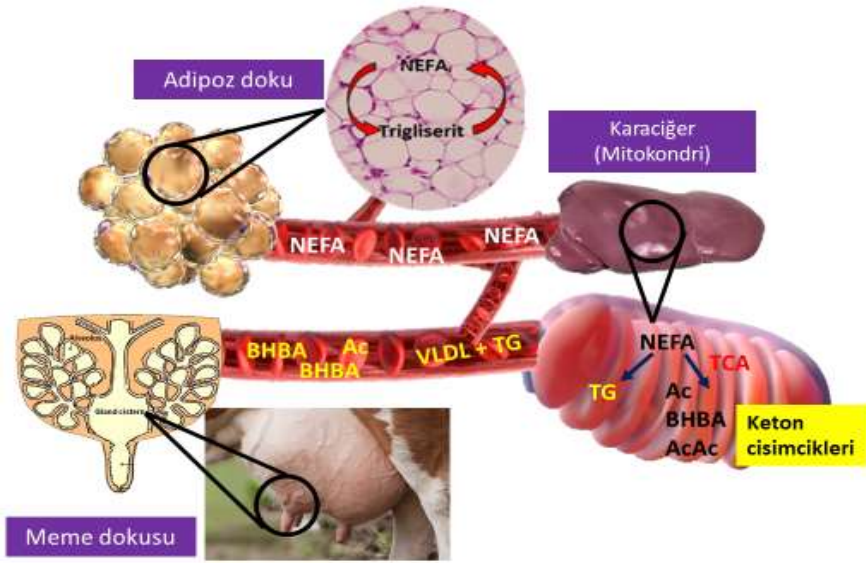
başına düşen süt verimi, gerçekleştirilen genetik seleksiyon ve beslenmeye yönelik ıslah çalışmaları ile daha da artış göstermiştir (Esposito ve ark, 2014). Süt verimindeki artışa karşılık artan enerji gereksinimiyle karşılaştırıldığında ortaya çıkan sorun KMT' nin ve besin kaynağının ihtiyaca göre geride kalmasıdır. Süt sentezi için ihtiyaç duyulan yüksek enerji talebini, ihtiyacı karşılamak için vücut depolarından yağ mobilizasyonu izlemektedir. Bu durumda inekler fiziksel olarak kaçınılmaz olan NED' e giriş yaparlar (Grummer ve ark, 2004; Ingvarsen, 2006). Varolan NED; stres, yönetim ve bakım eksiklikleri gibi bazı faktörlerle KMT daha da azalmasına sebep olacak yönde şiddetlenmektedir (West, 2003; Dobson ve ark, 2007; Rhoads ve ark, 2009).

2.2. Geçiş Dönemdeki Metabolik ve Endokrin Değişimler

Gebeliğe yönelik şekillenen metabolik değişimlere karşı oluşan adaptasyonlar özellikle doğuma yakın zamanlarda meydana gelmektedir. Fötusun büyümesi için gerekli olan besinleri karşıladığı son gelişme safhası kuru dönemin sonuna denk gelmektedir (Leslie ve ark, 2004).

Adipoz dokulardan yağ mobilizasyonu yağ asitlerinin nötrallipitler, fosfolipitler ve NEFA formunda sirkülasyona karışmasını kapsamaktadır. Trigliserit, monogliserit ve kolesterol esterlerini içeren nötral lipitler ve fosfolipitler VLDL, düşük ve yüksek yoğunluklu lipoproteinler gibi lipoproteinler aracılığıyla taşınırlar. NEFA' lar ise suda çözünmeyen formda olup albümin ile karaciğere enerji için kullanılmak üzere taşınır (Contreras ve ark, 2010).

Enerji ihtiyacıyla paralel olarak adipoz dokulardan lipolize olan sirkülasyondaki NEFA konsantrasyonunun artması (McNamara, 1991; Herdt, 2000b; Overtone ve Waldron, 2004) ve artan kan akımına (Lomax ve Baird, 1983) karşılık karaciğerde alım miktarı da aynı paralellikte artmaktadır (Pullen ve ark, 1989; Reynolds ve ark, 2003; Drackley ve Andersen, 2006). Adipoz dokudan salınan NEFA' lar hem süt yağı sentezi için meme dokusunda ve kas gibi diğer dokularda direkt enerji kaynağı olarak kullanılırken hem de karaciğer tarafından alınırlar (Palmquist ve ark, 1969; Herdt, 2000b). Karaciğere gelen NEFA' ların bir kısmı çeşitli organlarda enerji kaynağı olarak kullanılmak üzere β -oksidasyon yoluyla asetil-CoA' ya dönüşerek trikarboksilik asit (TCA) siklusunda karbondioksit kadar okside olurken büyük bir kısmı da keton cisimciklerine (Hanigan, 2004) ve esterleşmiş formu olan trigliseritlere okside olurlar. (Grummer, 1993; Hocquette ve Bauchart, 1999; Knop ve Cernescu, 2009).



Şekil 2.2.: Lipid metabolizması ile karaciğer ve meme bezi arasındaki ilişki (Drackley, 1999' den uyarlanmıştır).

Karaciğere gelen NEFA asetil-CoA sentetaz aktivasyonu ile asetil-CoA' ya çevrilmekte ve sonrasında karnitin açil transferaz ile mitokondriye taşınarak β -oksidasyonda kullanılmaktadır (Zammit, 1984). β -oksidasyon son ürünü olan asetil-CoA TCA siklusunda enerji için okside olmaktadır. Uzun zincirli yağ asitlerinin β -oksidasyonu ayrıca hepatik peroksizomlarda da meydana gelmekte, bu da doğuma yakın zamanlarda artan NEFA' nın uzaklaştırılmasındaki diğer bir oksidatif yoldur (Drackley ve ark, 2001; Douglas ve ark, 2006). Mitokondrilerdeki β -oksidasyona paralel yürüyen peroksizomlardaki oksidasyon ile karaciğerde trigliserit birikimi engellenmeye çalışılmaktadır (Douglas ve ark, 2006). Asetil-CoA' ların TCA siklusunda oksidasyon kapasitesi azaldığında eş zamanlı olarak keton cisimcikleri sentezlenmektedir (Drackley, 1999). Karaciğerden sirkülasyona salınan keton cisimcikleri dokularda kullanılan ve yağda çözünebilir diğer enerji alternatifidir. Ancak keton cisimciklerin üretimi vücuttaki keton kullanım dengesini aştığında kanda birikerek üretim, verim ve sağlık açısından olumsuz etkiler meydana gelmektedir (Ingvarsen ve Andersen, 2000) (**Şekil 2.2.**).

Trigliseritlere esterleşen NEFA' lar özellikle doğumdan sonraki 7-13. günlerde karaciğerde pik seviyeye ulaşacak şekilde birikmekte olup daha sonra kademeli olarak düşüş göstermektedir (Knop ve Cernescu, 2009). Trigliseritlerin karaciğerden taşınması için ruminantlarda üretimi kalıtsal olarak düşük olan VLDL gerekmektedir (Pullen ve ark, 1990; Smith ve ark, 1997; Herdt, 2000a; Van den Top ve ark, 2005). Fazla miktarda oluşan

trigliseritlerin karaciğerde depolanması (Knop ve Cernescu, 2009) ve yetersiz VLDL sekresyonu sonucu yağlı karaciğer gelişmektedir (Bobe ve ark, 2004).

Kurulan hepatik oksidasyon teorisine göre karaciğerde artan yağ asidi oksidasyonu ile birlikte ATP üretimini arttıran çeşitli metabolik süreçler *N. vagus* aracılığıyla beyindeki açlık merkezini baskılayarak KMT'yi azaltmaktadır (Allen ve ark, 2005). Oksidasyon mekanizmasında anahtar rol oynayan ve stresle de aktive olan adenozin mono fosfat aktive edici protein kinaz (AMPK) aktive olduğu zaman ATP tüketimi yanında yağ asidi sentezi azalmakta ve yağ asidi oksidasyonu artış göstermektedir (Hardie ve Carling, 1997). Ayrıca yem alımının kısıtlandığı sığırlarda AMPK enziminin artış gösterdiği bildirilmiştir (Kuhla ve ark, 2009).

İnsanlarda peroksizom proliferasyon-aktivasyon reseptörü (PPAR α) özellikle aşırı beslenme ya da yetersiz beslenmeye bağlı oluşan NED durumlarında karaciğerdeki lipid metabolizmasında rol alan önemli bir enzimdir (Mandard ve ark, 2004; Martinez-Jimenez ve ark, 2010). Benzer şekilde yağ asidi oksidasyonu için gerekli güçlü bir aktivatör olan PPAR α mRNA sentezindeki artış (Nakamura ve ark, 2004) hepatik yağ asidi oksidasyonunda gözlenen durumlar arasındadır (Lor ve ark, 2005). Geçiş döneminde artan NEFA konsantrasyonu uyarıcı olarak hepatositler içerisinde AMPK sentezini aktive etmekte, bu zincir reaksiyonla da PPAR α 'nın da içinde bulunduğu çeşitli lipid metabolik genlerin ekspresyonuna artmaktadır (Jump ve ark, 2005; Li ve ark, 2013). Böylelikle hepatositlerdeki yağ asidi sentezi azalmakta ve oksidasyonu artmaktadır (Li ve ark, 2013).

PPAR α 'nın son dönemlerde ortaya çıkarılan özelliklerinden biri de hepatik ketogenezisin aktivasyonu için gerekli olan fibroblast büyüme faktörü 21 (FGF21)'i aktive etmesidir. İnsanlarda bu hepatokin ve anjiyopietin benzeri protein 4 (ANGPTL4) aşırı beslenme (Potthoff ve ark, 2012) ya da açlık (Carriquiry ve ark, 2009) durumlarında PPAR α 'nın aktive olmasıyla karaciğerden salınmaktadır.

Bu bilgilerden yola çıkarak ruminantlarda doğum öncesi 45. günden itibaren yüksek enerji içeren rasyonla beslenen ineklerde oluşan NED ile birlikte özellikle PPAR α 'nın aktive olmasına bağlı değişime uğrayan hepatik gen değişimleriyle birlikte çeşitli metabolitlerin incelendiği bir çalışmada, enerjice zengin rasyonla beslenen grupta postpartum NED'in daha şiddetli olduğu, serum NEFA, BHBA ve karaciğer trigliserit miktarının yüksek olduğu ve PPAR α 'nın aktivasyonuna bağlı salınan ve lipid metabolizmasında önemli rol alan hepatokin

FGF21, ANGPTL4, apolipoprotein A-V düzeylerinin yükseldiği belirtilmiştir (Khan ve ark, 2014).

Doğumdan önceki birkaç gün içerisinde süt sentezi için gerekli olan yağ asidi, amino asit ve glukoz ihtiyacı oldukça fazla şekilde artmaktadır (Knop ve Cernescu, 2009). Süt sentezinde gerekli enerji sağlamak için devreye giren mekanizmalardan biri de periferel dokulardaki glukoz kullanımının azalmasıdır (Bennink ve ark, 1972). Meydana gelen bu adaptasyon mekanizmalarında amaç kan glukoz seviyesinin devamlılığını sağlamak ve enerji gereksinimini karşılamaktır (Knop ve Cernescu, 2009).

Laktasyonun ilk zamanlarında beslenmeyle meme bezlerindeki glukoz ihtiyacının sadece %65' i karşılanabilmektedir. Postpartum ilk hafta glukoz ihtiyacının 500 g/günlük ihtiyacı giderilememektedir (Bell ve ark, 2000). Glukoz ihtiyaçlarının karşılanmasında önemli mekanizmalardan biri karaciğerde glukoneogenesis yolağıdır (Reynolds ve ark, 2003). Glukoneogenesisin önemli kaynakları arasında rumenden gelen propiyonik asit, kori siklusundan gelen laktat, kas dokudan gelen amino asitler ve yağ dokuda lipolizle oluşan gliseroldür (Seal ve Reynolds, 1993).

Peripartum dönem içerisinde pek çok metabolizmada rol oynayan özellikle birbirine bağlı olan büyüme hormonu (BH) - insülin - insülin benzeri büyüme faktörü (IBF-I)-glukoz aksını kapsayan, hormon ve reseptörler aktivasyon ve inhibisyonu gelişmektedir (Lucy ve ark, 2001). Gebeliğin son dönemindeki enerji talebinin bir kısmı adipoz doku ve kaslardaki insülin direncinin artması yani lipolitik ajanlara olan duyarlılığın da artmasıyla karşılanmaktadır. Bu durumda periferel dokulardaki glukoz alımı azalmakta ve maternal dokulardan plasentaya besin akışı kolaylaşmaktadır (Bell, 1995). Buzağılama sonrası glukozla olan daha fazla ihtiyaç, erken laktasyon döneminde sirkülasyondaki insülin miktarının azalmasına neden olmaktadır (Jaakson ve ark, 2007). Bunun yanı sıra süt üretimindeki genetik oynamalar da insülin seviyesini azaltmaktadır (Taylor ve ark, 2004).

Negatif enerji dengesi sırasında karaciğerdeki büyüme hormonu reseptörlerinin (BHR) azalması, BH-IBF bağlantısı sekteye uğratarak dolaşımında IBF-I' de bir azalma ve BH konsantrasyonunda artmaya neden olmaktadır (Lucy ve ark, 2001). Bu durum düşük insülin konsantrasyonu ile birleştiğinde, erken laktasyonda BH' nun lipoliz ve glukoneogenesisine karşı etkisini arttıran bir endokrin çevre sağlanmasına sebep olmaktadır (Espesito ve ark, 2014). Meme bezinde süt sentezini düzenleyen hormonlardan biri olan IBF-I' in BH' nun süt

üretiminde rol oynayan ana mediyatörü olduğu düşünülmektedir. Normal olarak BH' nun BHR' ine bağlanmasına cevaben karaciğerden IBF-I salınımı uyarılmakta ve kanda IBF-I seviyesinin artması, negatif feed back etkisiyle hipofiz bezinden BH salınımını baskılamaktadır. NED' de karaciğerdeki BHR düzenlenmesindeki azalma BH-IBF arasındaki ilişki sekteye uğratarak IBF-I' in azalmasına ve BH konsantrasyonunun artışına sebep olmaktadır. Bu durumla birlikte insülin varlığının düşük seyretmesi de erken laktasyon döneminde BH' ın lipolizis ve glukoneogenesis etkinliğinde artış meydana getirmektedir. Aynı zamanda IBF-I' in periferel dokularda BH' ın büyüme etkisini yürüttüğü düzen de azalmaktadır. Sonuç olarak bahsi geçen IBF-I ve verim arasındaki ilişki erken laktasyon döneminin başlangıcında negatif olarak etkilenmekte olup laktasyonun ilerleyen dönemlerinde karaciğerdeki iyileşme ve yenilenmeyle birlikte BH ve süt üretimi arasındaki ilişki pozitif yöne kaymaktadır (Kadokawa ve Martin, 2006).

Doğum sonrası pankreastan salınan insülin miktarı azalmaktadır (Drackley ve ark, 2001). Buna bağlı bazı dokularda gelişen insülin direnci laktasyonun başlarında sıkça gözlenmekle olup meme bezlerinde kullanılacak glukoz düzeyini arttırmak amacıyla gerçekleşmektedir (Hayirli ve Grummer, 2004; Komatsu ve ark, 2005; Aschenbach ve ark, 2010). Gelişen insülin direnci özellikle gebeliğin son döneminde glukozun fötusa ve süt bezlerine dağıtılmasıyla ilgili olarak gebelik ve laktasyonun desteklenmesi açısından önemlidir (Bell, 1995). Ayrıca artan insülin direnci adipoz dokuların kateşolaminlere duyarlılığını arttırarak lipolitik aktiviteyi yükseltir (Herdt, 2000b; Holtenius ve ark, 2003). Bu durum NED altında adipoz dokulardan NEFA salınımını arttırarak enerji ihtiyacını ve süt üretimini karşılarken aynı zamanda yükselen NEFA da insülin direnci gelişmesinde rol oynamaktadır (Pires ve ark, 2007; Kokkonen ve ark, 2009).

Postpartum dönem insülin direnci şekillenmesinde genetik faktörlerin yanında VKS' de rol almaktadır. Düşük ve yüksek VKS' ye sahip ineklerde oluşan insülin direncinin sebepleri farklı olup düşük VKS' ye sahip ineklerde besleme ve pankreastan insülin salınımının azalmasına dayandırılırken (Grummer ve ark, 2004; Hayirli, 2006) yüksek VKS' ye sahip yağlı ineklerde prepartum dönem hiperinsülinemi (Flores-Riveros ve ark, 1993) ve hiperleptinemiye bağlı uzun süreli açlığın baskılanması (Ingvarsten ve Boisclair, 2001) olarak gösterilmektedir.

Leptin enerji dengesinde etkili olan diğer bir hormondur. VKS ile leptin arasında kuvvetli bir ilişki varlığıyla beraber gebeliğin son döneminde miktarının azalış gösterdiği ifade edilmektedir (Ehrhardt ve ark, 2000; Wathes ve ark, 2007). Enerji dengesinin sağlandığı

durumlar dahil olmak üzere postpartum dönemde leptin konsantrasyonunun düşük olduğu belirtilmektedir (Ingvarstsen ve Boisclair, 2001; Wathes ve ark, 2007). Leptin doğumu yaklaşan ineklerde yem tüketimi ve periferik insülin direnci gelişimini de etkilemektedir (Blache ve ark, 2001; Ingvarstsen ve Boisclair, 2001).

Gebelik döneminde yüksek seyreden progesteron, doğumla beraber hızla düşmekte ve bu düşüşe karşılık geçici olarak östrojen ve glikokortikoid seviyeleri artış göstermektedir. Peripartum dönemde şekillenen bu hormonal değişimler KMT' de azalma ile beraber adipositlerden yağ mobilizasyonunu destekleyen metabolik değişiklikleri teşvik etmektedir (Drackley ve ark, 2005; Ingvarstsen, 2006).

Gebeliğin son dönemi, doğum ve laktasyonun başlangıcındaki metabolik talepler üretilen reaktif oksijen molekülleri (ROS) artmasına neden olmaktadır (Sordillo, 2005). ROS lipid peroksidasyonu başlatarak dokularda hücrel hasara yol açmaktadır. Bağışıklık sistemi hücreleri, membran yapılarında yoğun olarak bulunan ve peroksidasyon ile yüksek miktarda ROS' u üreten doymamış yağ asitlerinden zengin olmasından dolayı özellikle oksidatif strese karşı oldukça hassastır (Spears ve Weiss, 2008). Geçiş döneminde IgG ve IgM miktarı azalmakta (Herr ve ark, 2011), nötrofil fonksiyonu bozulmakta (Rinaldi ve ark, 2008), nötrofil ve eozinopeni (Meglia ve ark, 2005) meydana gelmektedir. Ayrıca karaciğerdeki yağ mobilizasyonu ve trigliserit birikiminden dolayı azalan karaciğer fonksiyonunun (Turk ve ark, 2004) kandaki paraoksonazın bağlandığı kolesterol ve yüksek dansiteli lipoprotein azalmasına (Turk ve ark, 2005) ve paraoksonaz aktivitesindeki düşüşle ilişkili olarak (Bionaz ve ark, 2007) oksidatif stresin şiddetlenmesine sebep olduğu düşünülmektedir (Espesito ve ark, 2014).

Yangı ve düzensiz immün yanıt, geçiş dönemindeki ineklerde metabolik hastalıkların patofizyolojisinde unutulmuş bir halka olarak düşünülmektedir. Yangı mediatörlerinin direkt olarak metabolik dengesizliği uyardığı sağlam deliller ile ortaya konulmaktadır (Trevisi ve ark, 2010). Gebeliğin son döneminde immün sistem etkinliğinin azalması geçiş döneminde oluşacak hastalıklar ve enfeksiyonlara karşı inekleri daha duyarlı hale getirmektedir (Drackley ve ark, 2001; Goff, 2006).

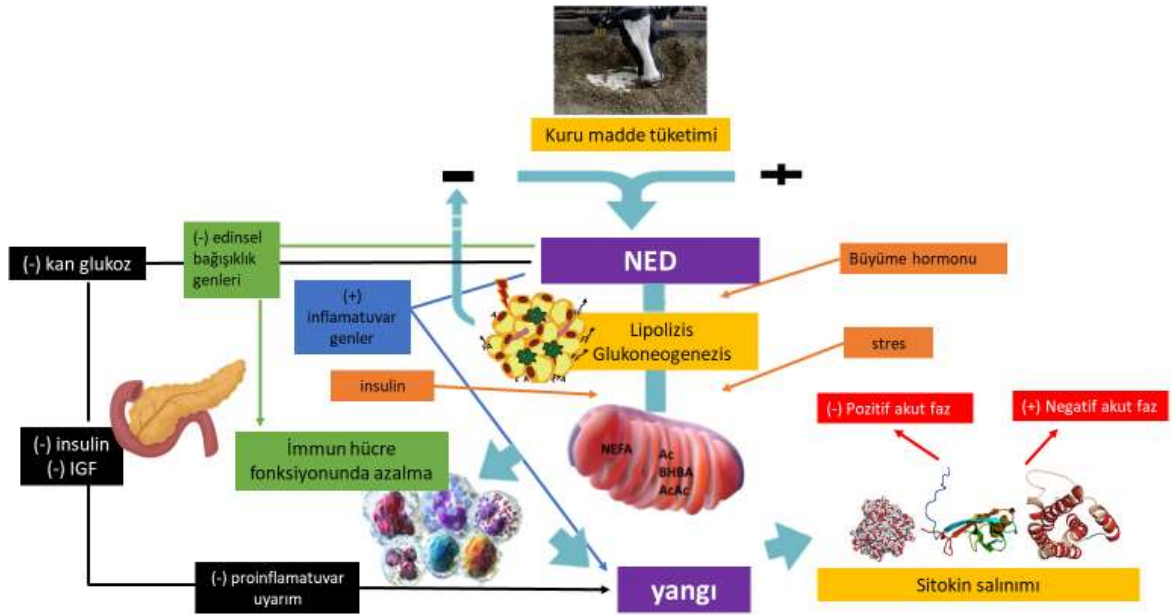
İmmün yanıt, antijenik maddeler ya da patojenlerin çoğalmasına karşı organizmanın verdiği bir reaksiyondur. Doğusal ve edinsel olarak ikiye ayrılan bu yanıtta doğusal bağışıklık spesifik olmayan savunma sistemleri olan fiziko-kimyasal duvar (deri), pagositik

hücreler (makrofaj, nötrofil), plazma proteinler (yangısal mediatörler ve komplementler), çözünebilir faktörleri (diğer hücrelere karşı salınan maddeler; bazı sitokinler) kapsarken hızlı yanıt ile karakterize (stimulasyon sonrası 0-96 saatler arası etki) ve herhangi bir immünolojik hafıza gerektirmeyen yüksek etkili bir durumdur. Edinsel bağışıklık da ise farklı uyarımlara karşı spesifik bir yanıt geliştirmekte, patojenler tanıdıktan sonra spesifik hücreler (T lenfositler) patojenlerle savaşmak üzere programlanmaktadır. İlk yanıt zamanı doğal bağışıklıktan daha ziyade doğal yanıtı göre gecikmekte ancak patojen tanımlandıktan sonra immün hafıza devreye girerek sonsuza dek hafızada kalabilmektedir. Bu organize sistemin geçiş dönemindeki sığırlarda kısmi olarak sekteye uğradığını belirten çalışmalar bulunmaktadır. Progesteron seviyelerindeki değişimin lökosit formasyonunu farklılaştırdığı ve bu tür bir etkinin progesteronun belirgin şekilde azaldığı doğumun hemen öncesi ve sonrası ortaya çıktığı belirtilmiştir (Goff ve Horst, 1997). Aksine immün fonksiyonun hali hazırda doğum öncesi azalmaya başladığı ve doğum sonrası birkaç hafta daha devam ettiğini ve nötrofil ve makrofaj aktivitesinin azaldığını ifade eden veriler mevcuttur (Kehrl ve Goff, 1989). Bu fonksiyon kaybının yaklaşık 30 gende azalan gen ekspresyonu yanı sıra beslenme ve NED ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Burton ve ark, 2001).

Doğal immün sistemin bir parçası olan yangısal durum periparturient ineklerde herhangi bir klinik bulgu meydana getirmeksizin oluşmaktadır (Petersen ve ark, 2004; Bertoni ve ark, 2008; Sordillo ve ark, 2009). Doğuma yakın zamanlarda klinik ya da subklinik yangı durumunu tetikleyen; enfeksiyöz ya da metabolik hastalıklar, parazit, travma, endotoksemi gibi faktörler bulunmaktadır. Bu nedenlerin ortak noktası proinflamatuvar sitokin salınımıdır (Grimble, 1990). Sitokinlerin miktarı ve salınım zamanları tetikleyici mekanizmanın şiddetini belirleyen en önemli faktördür. Proinflamatuvar yanıt ile karaciğerde pozitif akut faz proteinlerin sentezinde artış ve negatif akut faz protein sentezindeki azalma ile uyarılan akut faz yanıtın meydana gelmesidir (Fleck, 1989). Gerek klinik gerekse subklinik yangısal tabloyu ortaya çıkarmada çeşitli pozitif akut faz proteinlerin takibi yapılabilmektedir. Negatif akut faz proteinlerin belirlenmesi ise devam eden yangıya vücudun verdiği cevabı göstermektedir (Grossi, 2012).

Postpartum dönemdeki yangısal durum artan hücresel metabolizma, düzenlenen immün gen ekspresyonu ile birleştiğinde enerji gereksinimi daha da artmaktadır (Puigserver ve ark, 2001; Drackley, 2006; Ingvarstsen, 2006). Bu sebeple postpartum dönemde oluşan yangı NED'ni şiddetlendirirken (Trevisi ve ark, 2007; 2010) karbonhidrat yetersizliğiyle de karaciğerde

NEFA ve keton cisimciklerin oluşumu artış göstermektedir (Duffield, 2000; Drackley ve ark, 2001). NED ve yüksek NEFA konsantrasyonu yağlı karaciğer sendromu gelişmesine katkı sağlamakta bu da erken laktasyon döneminde immun sistemin baskılanması ve diğer hastalıkların ortaya çıkışıyla kendini gösterebilmektedir (Lacetera ve ark, 2005; Kehrlı ve ark, 2006). Yapılan son çalışmalarda NED' ne giren ineklerde yangısal gen ekspresyonlarında artış şekillenirken (Wathes ve ark, 2009), edinsel bağışıklıkla ilişkili genlerin ise baskılandığı belirtilmektedir (Moyes ve ark, 2010). Ayrıca ketozis gelişenlerde de postpartum periyotta immunsupresyon meydana geldiği ve sağlıklı ineklere göre lökositlerin kemotaksis ve diyapedezin azaldığı, keton cisimciklerin bulunduğu bölgelerde şekillenen lökosit infiltrasyonlarında kemotaksis kapasitesinin azaldığı beyan edilmektedir (Holtenius ve ark, 2004). Sirkulasyonda artan NEFA' nın yoğun lipomobilizasyonu gösterdiği ve lökositlerin çoğalmasını ya da IgM ve interferon sekresyonunu değiştirdiği bildirilmektedir (Lacetera ve ark, 2005) Artan NEFA konsantrasyonunun geçiş dönemi bağışıklık sisteminin bozulması ve enfeksiyonlara karşı artan riskin göstergesi olarak değerlendirilebileceği ifade edilmektedir (Moyes ve ark, 2009; Ospina ve ark, 2010a).



Şekil 2.3.: Geçiş dönemindeki sütçü ineklerde bağışıklık, endokrin ve metabolik sistem arasındaki etkileşim (Esposito ve ark, 2014).

Geçiş döneminde doğumu takip eden birkaç gün içerisinde meydana gelen vucüt ısısındaki yükselmenin ($>39.5^{\circ}\text{C}$) yangısal süreç ve çeşitli pro-inflamatuvar sitokinler ($\text{TNF-}\alpha$,

interlöykin-1 ve 6) den kaynaklandığı bilinmektedir (Trevisi ve ark, 2011). Bu sitokinler karaciğerden sentezlenen akut faz proteinlerinden olan haptoglobulin ve seruloplazmin salınımına neden olmaktadır (Chan ve ark, 2004; Huzzey ve ark, 2009). Aynı zamanda bu sitokinler normal karaciğer fonksiyonlarının devam ettirilmesinde etkili olan negatif akut faz proteinlerinin de sentezini olumsuz yönde etkilemektedir (**Şekil 2.3.**) (Espesito ve ark, 2014).

Özetle geçiş döneminde gelişen hastalıklara üç odak noktasının; dengesiz enerji metabolizması, düzensiz mineral kullanımı ve bozulan immun sistem olarak değerlendirmesi gerektiği (Espesito ve ark, 2014) ve metabolik ve endokrin değişimlere bakıldığında; KMT azalması, yağ doku mobilizasyonu, oksidatif stres, immun supresyon ve yangının rol oynadığı bilinmektedir (**Şekil 2.3.**) (Grossi, 2012).

2.3. Negatif Enerji Dengesi

Sütçü ineklerde doğum sonrası oluşan metabolik değişimler erken laktasyon döneminde meydana gelebilecek birçok hastalık ve problem açısından tetikleyici bir unsurdur (Drackley, 1999). Özellikle doğum sonrası olmak üzere gerek prepartum gerekse postpartum dönemde doğru ve yeterli beslemenin yapılamaması, çevresel faktörler, doğumun kendi mekanizması veya yavru gibi çeşitli nedenlere de bağlı olarak yüksek süt verimi için gerekli enerji karşılanamamaktadır. Doğum sonrası süt üretimi, yem tüketimine göre oldukça hızlı bir artış göstermekte olup gıda alımı tek başına gerekli enerjiyi karşılayamamaktadır (Bauman ve Currie, 1980; Baird, 1982).

Doğumla beraber hayvan için gerekli olan enerji ihtiyacı dört kat artış göstermekte olup (Bobe ve ark 2004, Drackley ve ark, 2005), 4.5 kg kolostrum üretimi için gerekli enerji 45.98 MJ olarak belirlenmiştir (Goff ve Horst, 1997). Yüksek süt üretimi için gerekli olan enerji talebinin beslenme ile sağlanamamasının yanı sıra, doğumun son günlerinde KMT' nin azalmasıyla, bahsi geçen enerji ihtiyacındaki artış karşılanamamaktadır (Ingvartsen ve Andersen, 2000; Drackley ve ark, 2001; Allen ve ark, 2009). Enerji ihtiyacı ve tüketimi arasındaki dengesizlik, laktasyonun ilk 10 gününde oldukça ciddi seyretmekte olup, postpartum yaklaşık iki hafta sonra en düşük seviyeye ulaşan (Kim ve ark, 2003) NED' in meydana gelişine neden olmaktadır (Bobe ve ark, 2004).

İneklerin doğumdan önceki 24-48 saat öncesine kadar pozitif enerji dengesi içerisinde olmaları beklenmektedir (Oetzel, 2003a). Doğum sonrası pozitif enerji dengesine geçiş 4-5 haftalık süreci bulmaktadır (Moallem ve ark, 2000; McGuire ve ark, 2004). Bazı çalışmalarda bu sürenin 6-8 haftayı bulduğu ifade edilmektedir (Block ve ark, 2001; Heuer ve ark, 2001a).

Gebeliğin son haftalarında azalan KMT ile paralel olarak son dönemde hızla büyüyen fötüs ve laktasyondaki yüksek süt verimi için gerekli enerji sağlanamamaktadır (Bell, 1995). Süt verimi ve KMT arasındaki bu zıtlık, NED' i ortaya çıkarmaktadır (Leslie ve ark, 2004; Kehrlı ve ark, 2006; LeBlanc, 2010; Gumen ve ark, 2011).

Sütçü ineklerde laktasyonda süt üretimi 3-6. haftalarda pik seviyeye ulaşmaktayken KMT 10-12. haftalarda yükseliş göstermektedir. Fizyolojik olarak gerçekleşen bu süreçten dolayı, özellikle yüksek süt verimine sahip ineklerin NED içerisinde girmeleri kaçınılmaz bir tablodur (Bauman ve Currie, 1980; Baird, 1982; Herdt, 2000b).

Geçiş döneminde oluşan şiddetli NED retensiyonu sekondaryum, hipokalsemi, metritis, mastitis, klinik ketosis, AD gibi postpartum dönem hastalıklarının oluşma riskini arttırmaktadır (Dohoo ve Martin, 1984b; Duffield ve ark, 2009; LeBlanc, 2010). Bu dönemde meydana gelen metabolik ve infeksiyöz hastalıklar sütçü ineklerin sağlık ve verimini olumsuz yönde etkilemektedir (Drackley, 1999; Goff ve Horst, 1997). Yapılan epidemiyolojik çalışmalar sütçü sürülerde bahsedilen hastalıkların tanı ve sağaltım giderleri ile süt verimi ve reproduktif performansın azalmasıyla karakterize ciddi ekonomik kayıpların oluşumuna neden olduğunu göstermektedir (Cameron ve ark, 1998; Drackley, 1999; Duffield, 2000). Şöyle ki gebelik döneminden laktasyon dönemine geçişteki zayıf adaptasyon sonucu pik süt verimindeki 4.5-9.0 kg süt kaybının bir laktasyon boyunca 907-1814 lt kullanılmayan süt kaybına eşit olduğu belirtilmektedir (Wallace ve ark, 1996). Bahsi geçen bu hastalıkların yaklaşık %75' i postpartum ilk ayda, %50' sini oluşturan metabolik ve infeksiyöz hastalıklar ise geçiş döneminde meydana gelmektedir (LeBlanc, 2010). NED' in belirlenmesinde yapılan erken diagnostik tanımlar bu anlamda oldukça yarar sağlamaktadır (Dohoo ve Martin, 1984b; Oetzel, 2004; LeBlanc, 2010). Özellikle sütçü inekler, süt verimindeki artışa oranla KMT' deki azalmaya bağlı olarak erken laktasyon döneminde birçok hastalığa yakalanma riski yanında immun sistemin baskılanması (Hammon ve ark, 2006; Contreras ve ark, 2010; Ster ve ark, 2012) ve birçok reproduktif problemin ortaya çıkması riskini taşımaktadırlar (Leslie ve ark 2004; Kehrlı ve ark 2006).

Son 40 yıldan beri hayvan başına alınan süt miktarı iki katından daha fazla oranlara çıkmış durumdadır (Oltenacu, 2007). Süt verimindeki artışı sağlamak için yapılan genetik seleksiyonlar, yem tüketim potansiyeli ile erken laktasyon dönemi süt üretimi arasındaki uçurumu daha da genişletmekte ve genetik olarak NED oluşumuna predizpozisyonun artış gösterdiği ifade edilmektedir (Patton ve ark, 2006).

Özellikle yüksek süt verimine sahip ırkların yetiştiricilikte kullanılmasıyla erken laktasyon dönemindeki yüksek süt verimini karşılayamaya yetmeyen enerji açığı vücut yağları ve kaslardan giderilmeye çalışılmaktadır. Sonuç olarak organizmada birçok metabolik ve hormonal değişiklikler şekillenmekte olup VKS düşmektedir. Vücut yağ rezervlerinin yaklaşık %60' ı doğumdan sonraki ilk haftada da enerji için mobilize olmaktadır (Kadokawa ve Martin 2006; Knop ve Cernescu 2009).

Sütçü ineklerde NED ile doğum sayısı arasında da ilişki saptanmıştır. İlk doğumunu yapan ineklerde, birden fazla doğum yapanlara oranla buzağılama döneminde NEFA konsantrasyonunun daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bunun yanı sıra ilk doğum yapanlarda doğuma bir hafta kala bile NEFA konsantrasyonun yüksek seyrettiği böylelikle doğum öncesinde multiparözlere kıyasla enerji dengesinin daha kötü olduğu belirtilmektedir (Wathes ve ark, 2007).

2.4. Geçiş Dönemindeki Bazı Metabolik Hastalıklar

2.4.1. Karaciğer Yağlanması

Yağlı karaciğer ya da hepatik lipidozis enerji ihtiyacı için karaciğere gelen lipidlerin karaciğerde oksidasyon ve sekresyon kapasitesini aşmasıyla trigliserit formunda birikmesi olarak tanımlanıp daha çok laktasyonun ilk 4 haftasında yaygın görülen metabolik bir hastalıktır (Grummer, 1993; Goff ve Horst, 1997; Drackley, 1999; Overtone, 2001; Bobe ve ark, 2004; Samanc ve ark, 2010). Lipid metabolizması ve üretim için gerekli enerjinin sağlanmasında karaciğer fonksiyonu özellikle geçiş döneminde önemli role sahiptir. Doğuma yakın zamanlarda adipoz dokularda lipolizis artışı, kanda NEFA oranının artmasına neden olur (Drackley, 2000). Serum NEFA seviyesi hayvanlarda enerji durumunun belirlenmesinde

önemli bir belirteçtir. Kana salınan NEFA diğer dokular tarafından enerji kaynağı olarak kullanılmasına rağmen (Drackley, 1999) karaciğer NEFA' ların uzaklaştırmasında birincil organdır (Bell, 1979). Karaciğerde esterleşen NEFA' lar, meme dokusunda süt yağı sentezine katılma gibi enerji kaynağı oluşturmak üzere diğer dokulara VLDL tarafından trigliserit şeklinde taşınmaktadır (Smith ve ark, 1997; Herdt, 2000a; Van den Top ve ark, 2005). Esterleşme oranı taşıma kapasitesini aştığında metabolik hastalıklardan olan karaciğer yağlanması meydana gelmektedir (Drackley, 1999).

Erken laktasyon döneminde olan sürülerdeki ineklerin yaklaşık yarısında (Jorritsma ve ark, 2000) ve erken laktasyonun ilk ayında olan ineklerin %5-10' unda şiddetli, %30-40' ında orta dereceli karaciğer yağlanması olduğu bildirilmektedir (Bobe ve ark, 2004). Sütçü ineklerde NED sonucu laktasyonun ilk 10 gününde karaciğerde yağ birikiminin günlük 60-125 g/gün olduğu bildirilmiş olup hepatik dokunun %25' inin yağ birikimine maruz kaldığı ifade edilmektedir (Ametaj ve ark, 2002).

2.4.1.1. Karaciğer yağlanmasında etiyoloji

Sütçü ineklerde karaciğer yağlanmasının en büyük nedenini NED oluşturduken (Ametaj, 2005) diğer nedenler arasında artan enerji talebini karşılamak amacıyla yapılan enerjice zengin konsantre yem ağırlıklı besleme yer almaktadır (Ametaj, 2005). Doğuma yakın dönemlerde yapılan enerjice yüksek (>1.65 Mcal NEI/kg KM) besleme ile postpartum yağlı karaciğer gelişme insidansının arttığı belirtilmektedir (Ametaj, 2005; Grummer, 2008). Konsantre yemlerin metabolik hastalıklar üzerindeki etkinliğine ilişkin kuramlardan biri de gram negatif bakteri artışıyla seyreden rumen ortamında artan endotoksemi ve lipopolisakkarit üretimi gösterilmektedir (Dougherty ve ark, 1975). Bu durumla ilgili yapılan çeşitli çalışmalarda, endotoksemi nötralizasyonunu sağlamak üzere kurulan proinlamatuvar madde ve akut faz proteinlerin artışı ve karaciğere daha fazla lipoprotein taşınması ile karaciğer yağlanmasının meydana gelişi desteklenmektedir (Levels ve ark, 2001; Ametaj, 2005; Loores ve ark, 2005; Munford, 2005; Bradford ve ark, 2009; Ametaj ve ark, 2010). Beslenmeyle ilişkili risk faktörleri arasında yer alan obezite de vücut kondüsyonu yüksek olanlarda adipoz dokulardan mobilizasyonun daha yüksek oranda meydana geldiği ve buna bağlı immünolojik ve metabolik değişikliklerin şekillendiği bildirilmektedir (Stockdale, 2001).

Karaciğer yağlanması tetikleyen unsurlar arasında yönetimsel eksiklik ve hatalar da bulunmaktadır. Örneklendirmek gerekirse bütirik asit içeriği yoğun silajla beslemede BHBA seviyesinin artması ve KTM azalması (Stöber ve Scholz, 1991), hareket kısıtlılığına neden olan yetersiz alan, kötü hijyen koşulları, havalandırma yetersizlikleri (Stöber and Scholz, 1991; Gerloff, 2000) ile ilişkili gelişmektedir. Yağ asitlerinin hepatik döngüsünde sorumlu olan çeşitli maddelerin sentez ve salınımında kullanılan metiyonin ve kolin içeriği düşük rasyonlarla yapılan beslemelerde karaciğer yağlanmasında risk faktörleri olarak değerlendirilmektedir (Abbasi ve ark., 2017).

2.4.1.2. Karaciğer yağlanmasında metabolik ve immunolojik değişimler

Karaciğer yağlanması görülen hayvanlarda fazla oranda trigliserit mobilizasyonu görülmektedir. Bu da adipoz dokuların lipojenik maddelere karşı daha az duyarlı olmasına rağmen lipolitik ajanlara karşı artan yanıtın doğan daha yüksek NEFA konsantrasyonunun oluşmasına neden olmaktadır. Karaciğer yağlanmasında artış gösteren çeşitli metabolitlerin (amonyak, NEFA, BHBA ve asetat) toksik etkileriyle organ fonksiyonları etkilenmektedir. Artan NEFA hepatositlerde lipogenezis ve ketogenezisi arttırırken, BHBA ve asetoasetat ise β -oksidasyon, glukoneogenesis ve sitrik asit döngüsünü azaltmaktadır (Bobe ve ark, 2004). Bu durumla paralel karaciğer fonksiyonlarının yetersiz olmasıyla plazma apolipoprotein ve serum lesitin/kolesterol asetiltransferaz aktivitesi azalan diğer biyokimyasal mekanizmalar arasındadır (Bobe ve ark, 2004). Beraberinde glukoz mekanizması da sekteye uğrayarak (Holtenius, 1991) hem periferik glukoz oksidasyonu hem de insülin ve glukagon sekresyonunun azalmasıyla şekillenen glikoneogenesis azalması ile sonuçlanmaktadır. Yani hepatik lipidozis de periferik dokulardaki besin maddelerinden yararlanım daha da düşmektedir (Beitz, 2014).

Laktasyon dönemine girişte başlatılan konsantre yem ağırlıklı besleme (Ametaj, 2005; Grummer, 2008) ile artan ruminal gram negatif yönlü bakteri popülasyonu sonucu endotoksemi ve lipopolisakkarit üretiminin artış gösterdiği bilinmektedir (Dougherty ve ark, 1975). Bu değişimler sonucunda proinflamatuvar yanıt ve akut faz proteinlerin artışı ile karaciğere daha fazla lipoprotein taşınması söz konusu olup karaciğer yağlanması desteklenmektedir (Levels ve ark, 2001; Ametaj, 2005; Loo ve ark, 2005; Munford, 2005; Bradford ve ark, 2009; Ametaj ve ark, 2010).

Karaciğer yağlanmasıdaki metabolik etkiler, kısmi olarak birincil kaynak olarak adipoz dokular, lenfosit ve makrofajlardaki TNF- α , proinflamatuvar sitokin sentezi ile açıklanabilir (Ohtsuka ve ark, 2001; Bradford ve ark, 2009; Trevisi ve ark, 2012). Çeşitli enfeksiyon durumları, travma ve ayrıca doğum büyük oranda glukoz, aminoasit ve lipid kullanımına neden olan immun yanıt mediatörlerinden TNF- α sentezini uyararak karaciğerdeki akut faz protein sentezini, hücrel apoptozis ve nekrozunu artırır (Bradford ve ark, 2009). TNF- α enjeksiyonu sonrası artan lipoliz aktivitesi; artan plazma NEFA konsantrasyonu, azalan lipoprotein sekresyonu ve azalan lipid konsantrasyonu ile kanıtlanmış olup, ayrıca kısa süreli hiperinsülinemik-hiperglukozemik ve uzun süreli hipoinsülinemik-hipoglikozemik yanıt ile insülin direnç gelişimi gösterilmiştir (Holtenius, 1991). Artan sitokin sentezi karaciğerde daha fazla trigliserit birikmesine neden olmaktadır (Bradford ve ark, 2009).

Erken laktasyon döneminde azalan insülin seviyesi (Jaakson ve ark, 2007) yağ asidi oksidasyonundaki artışa, yağ asidi sentezinde prekürsör olan malonil CoA' nın hepatositlerde konsantrasyonunun azalması ve aynı zamanda NEFA' ların sitozolden mitokondriye oksidasyon için geçişinden sorumlu carnitin palmitol transferazın bu reaksiyonu inhibe eden malonil CoA' ya olan duyarlılığının azalması ile neden olabilmektedir (Drackley ve ark, 2001).

Karaciğer yağlanmasında lipid sekresyon ve transportunda görevli olan çeşitli lipid, lipoprotein (apoprotein A-I, B-100, ve C-III), enzim (lesitin-kolesterol açıltransferaz) seviyeleri azalmaktadır. Apoprotein B, VLDL sentezinde kullanılan primer proteinken, apoprotein A-I ve carnitin palmitol transferaz' ın β -oksidasyon ve ketogenezisten sorumludur (Kato, 2002). Apoprotein B konsantrasyonunun erken laktasyon döneminde gebelik ve laktasyonda olmayan ineklere göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir (Gruffat ve ark, 1997). Kolin ve metiyoninden yetersiz rasyonlar ile beslenen ineklerde, apoprotein B' nin hepatic hücrelere sekresyonu için gerekli olan fosfotilkolinin azalması nihayetinde karaciğer yağlanmasına olan yatkınlığın daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Abbasi ve ark, 2017). Karaciğer yetmezliklerindeki VLDL sekresyonundaki bahsi geçen aracı protein ve enzim ilişkili azalma 1) VLDL' nin endoplazmik retikulumdan golgi cisimciğine taşınmasındaki azalma, 2) apoprotein B-100 glikozilasyonunun değişmesi, 3) taşıyıcı elementlerin değişimi ve 4) golgiden hücre membranına taşımada sorumlu maddelerin azalmasına bağlı geliştiği düşünülmektedir (Bobe ve ark, 2004).

2.4.1.3. Karaciğer yağlanmasında tanı

Karaciğerde biriken trigliserit derecesini belirlemenin en kesin yolu noninvaziv bir yöntem olan biyopsidir. Ancak bu yöntem enfeksiyon, kanama ve ölüm gibi riskleri de beraberinde getirmektedir. Karaciğer yağlanması trigliserit birikimine göre hafif, orta ya da şiddetli olarak sınıflandırılmaktadır. Çalışmalara göre kategorizasyonda kullanılan trigliserit sınırları farklılık göstermektedir (Reid, 1980). Genel olarak şiddetli veya klinik karaciğer yağlanmasında karaciğerin yaş ağırlığı baz alınarak >10 trigliserit içermesiyle belirlenmekte ve ayrıca yağlı inek ya da yağlı inek mobilizasyon sendromu olarak da çağrılan bu hastalıkta idrarda artan keton, şiddetli kilo kaybı ve azalan yem tüketimi eşlik eden bulgular arasındadır (Veenhuizen ve ark, 1991; Hippen ve ark, 1999; Jorritsma ve ark, 2001). Orta dereceli karaciğer yağlanmalarında trigliserit miktarı %5-10 arasındayken hafif olgularda bu oran %1-5'e düşmektedir. Hafif ve orta dereceli karaciğer yağlanmalarında idrarda keton cisimcikleri görülmekle birlikte şiddetli karaciğer yağlanmasındaki ile aynı ölçüde seyretmemektedir (Hippen ve ark, 1999).

Yağlı karaciğerin teşhisi için enerji dengesinde önemli bir belirteç olan NEFA'nın da dahil olduğu çeşitli parametrelerden oluşan metabolik profiller oluşturmaya yönelik çalışmalar mevcuttur (Mostafavi ve ark, 2013; Rezaeisaber ve ark, 2013; Mostafavi ve ark, 2015). NEFA ve BHBA'nın hayvan refahı ve sağlığındaki rolü katsınamaz olmasına rağmen (LeBlanc ve ark, 2005; Duffield ve ark, 2009; Ospina ve ark, 2010b; Seifi ve ark, 2011) bu iki parametrenin hepatik lipidozisli ineklerdeki etkinliğini inceleyen az sayıda çalışma bulunmaktadır (Mostafavi ve ark, 2013). Bir çalışmaya göre hepatik lipidozisli ineklerde NEFA, BHBA ve AST aktivitesinde artış görüldüğü, BHBA eşik değerinin (>780 $\mu\text{mol/L}$) hepatik lipidozis belirlenmesinde NEFA'ya göre daha iyi bir belirteç olduğu, eş zamanlı olarak NEFA/kolesterol oranının da işlem karakteristik eğrisine göre hepatik lipidozis doğruluğunda en yüksek karaktere sahip olduğu bulunmuştur (Mostafavi ve ark, 2013). Farklı çalışmalarda ise postpartum NEFA konsantrasyonu ile karaciğerdeki trigliserit birikimin doğru orantılı olduğu bildirilmiştir (Vazquez-Añon ve ark, 1994; Strang ve ark, 1998; McCarthy ve ark, 2015). Karaciğer yağlanmasında metabolik değerlendirmeye alınan diğer bir parametre olan bilirubinin safra akışkanlığındaki problemlerin belirlenmesinde, karaciğer hücrel hasarına göre daha spesifik olduğu ve NEFA ile total kolesterol ile birlikte yorumlanması gerektiği bildirilmektedir (Van Saun, 2004b). Diğer belirteçlerden farklı olarak, yürütülen bir tez çalışmasında plazmada yer

alan lipomlardan fosfotilkolinin karaciğer yağlanmasında noninvaziv bir biyobelirteç olduğu saptanmıştır (Imhasly, 2015).

Karaciğer fonksiyonunun azalması diğer hastalıklara karşı duyarlılığı arttırmakta (Herdt, 1988) ve NED' nin şiddetlenmesine neden olmaktadır (Morrow, 1976). Hafif ya da orta dereceli karaciğer yağlanmasında normal karaciğere sahip ineklere (karaciğer trigliserit konsantrasyonu < %1) göre NED dengesi daha şiddetli bir seyir göstermektedir (Jorritsma ve ark, 2001). Karaciğerde yağlanmaya bağlı birçok metabolik işlev zarar görmekte olup ketozis, mastitis, metritis, retensiyon sekondaryum gibi reproduktif hastalıklar, hipokalsemi ve AD hastalıklarının şiddeti ve kontrol altına alınması güçleşmektedir (Ametaj, 2005). Diğer etkilenen fonksiyonlardan biri olan reproduktif performans ve süt veriminde azalma karaciğer yağlanmasından haftalar sonra karaciğerdeki trigliserit konsantrasyonunun bazal seviyeye düşmesiyle gerçekleşmektedir (Veenhuizen ve ark, 1991; Breukink ve Wensing, 1997). Bu durum karaciğer yağlanmasının uzun süreli histolojik, metabolik ve hormonal değişimlerle ilişkisini göstermektedir (Veenhuizen ve ark, 1991). Olası kısa süreli negatif etkilerde karaciğerin birkaç gün içerisinde kendini yenilemesiyle bağdaştırılabilirken karaciğer yağlanmasının diğer dokular üzerindeki zarar verici etkisi daha uzun süreli ve daha az dönüşümlü meydana gelmektedir (Bobe ve ark, 2004).

2.4.2. Subklinik Ketozis

Subklinik ketozis (SKK), klinik bulguların belirgin olmaksızın, aşırı oluşan keton cisimciklerin sirkülasyona katılması olarak tanımlanmaktadır (Andersson, 1988). SKK erken laktasyon döneminin ilk 2-3 haftasında yüksek insidansla seyreden metabolik bir hastalıktır (Duffield, 2000; Gillund ve ark, 2001; Duffield ve ark, 2009).

Akut oluşan klinik ketozis çoğunlukla veteriner hekim ve çiftlik sahiplerinin farkedebileceği VKS kaybı, süt veriminde azalma, iştah kaybı ve sinirsel bulguları kapsayan klinik görünümü içermektedir (Baird, 1982). Ancak genel olarak ketozis bulguları subklinik seyretmekte olup, rahatlıkla gözden kaçabilmektedir (Berge ve Vertenten, 2014). NED' in yanında geçiş döneminde özellikle belirgin klinik bulgu göstermeksizin gelişimine bağlı gözden kaçabilen (Berge ve Vertenten, 2014) ve postpartum ilk 2-3 haftalık süreçte yüksek insidans ve prevalansa seyreden (McArt ve ark, 2012a; Oetzel, 2013a; Compton ve ark, 2014;

Vanholder ve ark, 2014) subklinik ketozis de bahsi geçen pek çok postpartum dönem hastalıklarının gelişmesinde rol almaktadır (Koller ve ark, 2003; LeBlanc ve ark, 2005; Walsh ve ark, 2007a; Duffield ve ark, 2009; Ospina ve ark, 2010c; Seifi ve ark, 2011; Roberts ve ark, 2012; Suthar ve ark, 2013). Klinik ketozis ve SKK arasında bir farklılık bulunmadığı sadece hastalığın şiddetini tanımlamaya yarayan formları olduğu düşünülmektedir (McArt ve ark, 2013). Ketozisin her iki formunda (klinik ve subklinik) da keton cisimcikleri çeşitli dokularda, kanda ve sütte artış göstermektedir (Bruss, 1997).

SKK birbirini tetikleyen çeşitli hastalıkların oluşma riskini arttırmaktadır. Bu hastalıklar arasında AD (LeBlanc ve ark, 2005; Duffield ve ark, 2009; Suthar ve ark, 2013), metritis (Duffield ve ark, 2009; Suthar ve ark, 2013), klinik ketozis (Duffield ve ark, 2009; Seifi ve ark, 2011; Suthar ve ark, 2013) ve sürü bazında verimi etkileyen diğer bir problem olan laminitisdir (Suthar ve ark, 2013). İlaveten reproduktif performans da olumsuz yönde etkilenmekte olup (Koller ve ark, 2003; Walsh ve ark, 2007a; 2007b; Ospina ve ark, 2010c) süt veriminin azalmasına ve laktasyon dönemi ilk 60 günde sürüden uzaklaşma riskinin artmasına neden olmaktadır (Roberts ve ark, 2012).

Ketozisin değerlendirilmesinde önemli bir parametre olan BHBA, rumende oluşan UYA' den olan butiratın rumen duvarında dönüşümünden ve adipoz dokudan mobilize olan uzun zincirli yağ asitlerinden (hepatositlerde ketogenezis yoluyla) sentezlenmektedir. NEFA' lar karaciğerde kullanım kapasitesini aştığında, yetersiz karbonhidrat alımının sebep olduğu okzalasetat eksikliğinde, TCA' ya giremeyen asetil-CoA' lar ketogenezis yoluna giderler. Ketogenezis aktivitesi karaciğerde artan β -oksidasyona bağlı mitokondriyal enzim ile düzenlenmektedir (Drackley ve Andersen, 2006). Asetoasetat ve BHBA kanda serbest olarak bulunup birçok dokuda görülebilmektedir (Bruss, 1997).

2.4.2.1. Subklinik ketozisin etiyolojisi

Ketozis, hipoglisemi ve hiperketonemiyle karakterize olan ve erken laktasyon dönemindeki ineklerde vücut adipoz dokularının dengesiz kullanımından kaynaklanan yaygın metabolik hastalıktır (Kehrli ve ark, 2006). Negatif enerji dengesine karşı adaptasyonu zayıf olan ineklerde erken laktasyon döneminde hiperketonemi ile karşılaşmaktadır (Goff ve Horst, 1997; Nielsen ve Ingvarsten, 2004; Risco, 2010; Vicente ve ark, 2014). Ketoziste şekillenen yetersiz kan glukoz seviyesi, insülin seviyesinde azalmaya ve trigliseritlerin NEFA olarak

depolanmasına neden olmaktadır (Block, 2010). Ortaya çıkan NEFA' ların oksidasyonu ile krebis döngüsünde enerji üretimi amacıyla kullanılan metaboliti, asetil-CoA oluşmaktadır. Ancak krebis döngüsünün kapasitesini aşan seviyede asetil-CoA' lar keton cisimciklerine dönüşerek seviyelerindeki artışla ilişkili olarak klinik ketozis oluşmasına neden olmaktadır (Block, 2010).

Ayrıca ketojenik silajlarla besleme keton cisimciklerinin oluşmasına ikincil bir sebep olmaktadır (Tveit ve ark, 1992; Vicente ve ark, 2014). Bu bağlamda gerçekleştirilen bir çalışmada 12 ay boyunca gözlemlenen ve rasyonlarına yüksek oranda bütirik asit katılan 20 farklı sürüde incelenen 112 ineğin %16' sında postpartum 7. haftaya kadar olan süreçte SKK ve %4' ünde klinik ketozis gözlemlenmiştir (Vicente ve ark, 2014).

Silolama esnasında bütirik asit fermentasyonu istenilmeyen bir durumdur. Silolanan otların çok ıslak olması, Clostridium türlerinin büyümesine ve oluşumu istenilen laktik asit yerine bütirik asit fermentasyonuna neden olmaktadır (Dinic ve ark, 2010). Tüketilen bu silajlardaki bütirik asit, keton cisimciklerine dönüşmektedir (Tveit ve ark, 1992; Vicente ve ark, 2014).

Erken laktasyon döneminde yüksek protein/ düşük enerji içerikli yemle besleme, doğuma yakın dönemde oluşan NED (Butler ve Smith, 1989; Grummer, 1993; Oetzel, 2004) ile bozuk ve ıslak silajlarda klostridial fermentasyona bağlı oluşan aşırı miktarda bütirik asit sindirimi, SKK' nın yaygın sebepleri arasındadır (Tveit ve ark, 1992; Oetzel, 2003a; Oetzel, 2007; Vicente ve ark, 2014). Besleme dengesindeki bozukluklar erken laktasyon döneminde yüksek süt verimini karşılamada gerekli olan enerjinin sağlanması için BHBA konsantrasyonunun yükselmesine neden olmaktadır. Doğum öncesi yağlı karaciğer mevcudiyeti erken laktasyon döneminde ilk 5-15 günlük periyotta BHBA konsantrasyonunun sütte artmasına neden olmaktadır (Oetzel, 2003a). Bu hayvanlarda SKK' da oluşan semptomların yanında bağışıklık sisteminin zayıflaması ve ketozis sağaltımına yanıtın azalması gibi belirtilerde görülmektedir (Oetzel, 2003a; Duffield ve ark, 2009).

Kuru dönemde yapılan besleme yönetimi postpartum dönem birçok hastalık ve problemin oluşmasını etkilemektedir. Bu dönemde yapılan aşırı beslemenin prepartum NEFA konsantrasyonu, doğum öncesi KMT' deki azalma, postpartum dönem BHBA konsantrasyonunda artışa neden olmaktadır (Douglas ve ark, 2006; Janovick ve ark, 2011).

Doğum esnasında VKS >3.5 olan sığırlarda ketozis oluşma riski doğum esnasında istenilen VKS (3.25)' ye sahip sığırlara göre daha yüksektir (Gillund ve ark, 2001; Roche ve

ark, 2009; Samanc ve ark, 2010). Aynı şekilde doğum öncesi orta (3.25–3.75) ya da yağlı (≥ 4) VKS sahip ineklerde zayıf (≤ 3.0) olanlara göre SKK ve klinik ketozis gelişme riskinin yüksek olduğu tespit edilmiştir (Vanholder ve ark, 2014).

İlk sağımda üretilen kolostrum kalitesindeki artış ve miktarı, laktasyon ve kuru dönem periyotlarının uzaması ve doğum sezonu SKK ve klinik ketozis gelişme riskini arttıran diğer sebepler arasında yer almaktadır (Vanholder ve ark, 2014).

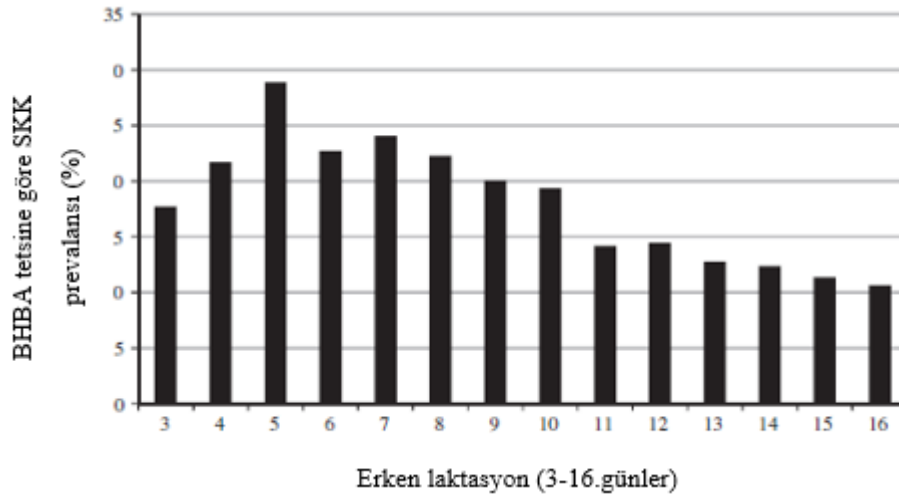
2.4.2.2. Subklinik ketozisin insidansı ve prevalansı

SKK' nın sürü bazında insidansı, sürüde erken laktasyon döneminde BHBA değeri 1.2 ve 2.9 mmol/L olarak ölçülen ve SKK tanısı konulan yeni olguların sayısını, yani yeni vakaların görülme hızını belirtirken; prevalans ise SKK' nın incelenen sürüdeki yaygınlığı göstermektedir. Sürüde oluşan yeni SKK olgularının çoğuyla doğumdan sonraki ilk 2-3 haftalık dönemde, grup halinde TKR ile besleme yapılan sürülerde daha çok karşılaşılmaktadır. Bireysel bokslarda tutulan ve kaba-konsantre yem ile beslemenin ayrı yapıldığı sürülerde ise buzağılamadan 3-6 hafta sonra ortaya çıktığı bildirilmektedir (Oetzel, 2013a).

Büyük işletmelerde erken laktasyon döneminde incelenen ineklerin %28.9' unda BHBA değerleri belirtilen aralıkta olup, SKK prevalansı doğum sonrası 5. günde pik seviyeye ulaşmakta (**Şekil 2.4.**) (McArt ve ark, 2012a) ve laktasyonun ilk iki haftasında SKK prevalansının yüksek olup (Duffield ve ark, 1997; 1998) %6.9-14.1 aralığında olduğu belirtilmiştir (Dohoo ve Martin, 1984a, 1984b; Andersson ve Emanuelson, 1985; Duffield ve ark, 1997). Hollanda sürülerinde yapılan bir çalışma da SKK prevalansı %12-47 (Nielen ve ark, 1994) olarak bulunmuş iken, bazı çalışmalarda %34 gibi yüksek oranlarda da seyrettiği tespit edilmiştir (Duffield ve ark, 1998). Bireysel olarak sürülerde SKK prevalansının laktasyonun 0-65. günlerde %16.9 (%0-33.9) (Dohoo ve Martin, 1984a, 1984b), 7-12. günlerde %16.8 iken 35-40. günlerde %3.2 (Compton ve ark, 2014) arasında seyrettiği dikkat çekmektedir.

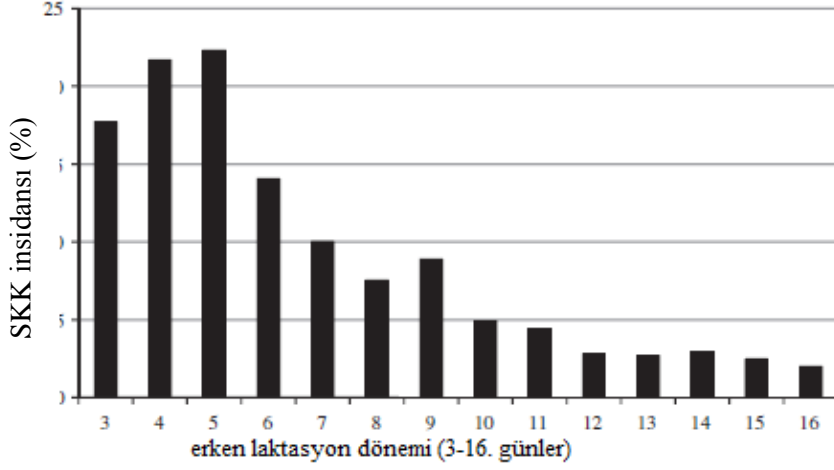
Avrupa'da 10 ülkede 528 çiftliği kapsayan ve SKK prevalansı ile postpartum hastalıklar arasındaki ilişkinin incelendiği farklı bir çalışmada, erken laktasyon döneminin 2-15. günlerinde kan BHBA değeri ≥ 1.2 mmol/L baz alındığında, SKK prevalansı %11.2-36.6 olarak tespit edilmiştir (Suthar ve ark, 2013). Gerçekleştirilen benzer bir çalışmada da farklı Avrupa ülkelerinde (Almanya %43, Fransa %53, İtalya %31, Hollanda %46, Büyük Britanya %31) 131 farklı sürüde erken laktasyon dönemi 7-21. günler arasında KetoTest ile sütte BHBA miktarının

ölçülerek, ketozis prevalansı ve çeşitli besleme tipleri, barınma ve yönetim şekillerine göre dağılımları incelenmiştir. Bu sürülerin %85 (112)'nde ketozis pozitif olup, pozitif olanlarda da ketozis prevalansının %25' den fazla olduğu ayrıca çoğu sürüde klinik ketozise rastlanmadığı, bunun yanı sıra varolanlarda da maksimum %23 prevalansa sahip olduğu belirtilmektedir. Kısmi olarak karışım rasyonuyla besleme yapılan sürülerde TKR ve kaba-konsantre beslemenin ayrı yapıldığı sürülere göre ketozis prevalansının daha yüksek olduğu (sırasıyla %50, 33, 36) tespit edilmiştir (Berge ve Vertenten, 2014).



Şekil 2.4.: BHBA konsantrasyonu 1.2-1.9 mmol/L arasında değişen 1717 sığırdaki SKK prevalansı (McArt ve ark 2012a).

Yapılan çalışmalarda erken laktasyon dönemi SKK insidansının %40-60 olduğu (Duffield ve ark, 1998; Vanholder ve ark, 2014) ve ilk 5 günde pik seviyeye ulaştığı bildirilmiştir (Oetzel, 2013a). Yapılan farklı bir çalışma da bu zaman dilimi doğum sonrası 3. hafta olarak belirtilmiştir (Duffield, 2000). Bu sonuçların günde bir kez BHBA testinin ölçüldüğü araştırmalara göre daha yüksek olduğu ifade edilmektedir. **Şekil 2.5.**'de gösterildiği gibi dört farklı işletmede 1717 ineğin incelendiği çalışmada SKK insidans oranının %43.2 iken (McArt ve ark, 2012a) diğer yapılan çalışmalarda %26.4-55.7 arasında seyrettiği dikkati çekmektedir (Oetzel, 2013a).



Şekil 2.5.: BHBA konsantrasyonu 1.2-1.9 mmol/L arasında değişen 1717 sığırdaki SKK insidansı (McArt ve ark, 2012a).

Sürü bazında SKK prevalansının yaş ve erken laktasyon dönemi farklı aralıklardaki dağılımının incelendiği güncel bir çalışmada erken laktasyonun 7-12. günlerde %14.3, 35-40. günlerde %2.6 SKK prevalansı gözlemlenirken; 2 yaşlı olanlarda %13, 3-4 yaşlılarda %7.2 ve ≥ 8 yaşlı olanlarda %13.1 olduğu ifade edilmektedir (Compton ve ark, 2014).

SKK insidansının doğru şekilde belirlenebilmesi için hafta, ay ya da yıl gibi spesifik zamanların belirtilmesi, bahsedilen riskli dönemlerde haftada iki veya daha fazla sayıda tekrarlayan ölçümlerin yapılması gerektiği ifade edilmektedir. Bunun gerekçesi olarak da SKK'lı ineklerin yaklaşık beş günlük süreçte kendilerini toparladıkları (McArt ve ark, 2011) ve düzelmeye eğilimi göstermelerine bağlı olarak haftada bir kez yapılan ölçümlerin iyileşme sürecine denk gelebileceği belirtilmiştir (McArt ve ark, 2012a). Tekrarlayan ölçümler gerekli olduğundan SKK insidansı genellikle araştırmalar sonucunda ortaya konulmaktadır. SKK prevalansının belirlenmesinde ise erken laktasyon dönemindeki ineklerden oluşan gruplar incelenip tekrarlayan ölçümlerin gerekmediği ve elde edilen sonuçların biriktirilmesi ile hastalığın sürüde belirtilen zamandaki yaygınlığı ortaya konabilmektedir. Sonuçların biriktirilerek incelenmesi prevalansın doğruluğunu arttıran bir yöntem olarak görülmektedir (Oetzel, 2013a).

2.4.2.3. Ketozisin olumsuz etkileri

Süt veriminde azalma: Ketozise bağılı süt veriminde meydana gelen azalma, sağılıklı bir inekte doğum sonrası süt üretim kapasitesinin bilinmemesi nedeniyle tam olarak hesaplanamamakta; sadece sağılıklı ineklere göre daha az olduğu tahmin edilebilmektedir (Oetzel, 2013a).

SKK' nın süt verimine etkisini belirlemek için yapılan birçok çalışma mevcuttur. Sütte keton cisimlerinin belirlendiği bir çalışmada süt verimindeki kaybın 2.2-3.1 kg/gün (%4.4.-6.6) olduğu belirtilmiştir (Dohoo ve Martin, 1984a). Duffield ve ark (2009), Ulusal Sütçü Sürüleri Geliştirme Birliği (DHIA) testine uygun olarak buzağılamadan sonraki ilk haftada kan BHBA değeri ≥ 1.4 mmol/L olan ineklerde süt verimindeki azalmanın 1.8 kg/gün (%5.5) olduğunu bildirirken yapılan benzer bir çalışmada 2.4 kg/gün (%6.9) olarak bulunmuştur (Chapinal ve ark, 2012a, 2012b). Yapılan farklı bir çalışmada da SKK' lı ineklerde ilk 30 günlük laktasyon döneminde 3-7. günlerde SKK pozitif olanlarda, 8. ve daha sonraki günlerde SKK tanısı konulanlara göre süt veriminin 2.2 kg/gün (%3.4) azalış gösterdiği belirtilmiştir (McArt ve ark 2012a). Ospina ve ark (2010a) ise kan BHBA eşik değeri ≥ 1.0 mmol/L olan ve SKK tanısı konulan en az ikinci laktasyonunda olan ineklerde laktasyon dönemi (305 gün) süt verim kaybını 392.7 kg (%7.0) olarak belirtmiştir.

SKK' lı ineklerde meydana gelen süt verimi kaybının şiddeti, kan BHBA seviyesiyle doğru orantılı bulunmuştur (McArt ve ark 2012a). Doğum sonrası ilk 30 gün içerisinde kan BHBA değerinin 1.2 mmol/L üzerinde olduğu durumlarda BHBA değeriindeki her 0.1 mmol/L' lik artışın süt veriminde 0.5 kg azalmaya neden olduğu (Mcart ve ark, 2012a) ve hafif (1.2 mmol/L) ve şiddetli (2.4 mmol/L) SKK arasında da 5.9 kg/gün' lük fark olduğu belirtilmiştir (Oetzel, 2013a).

Erken laktasyon döneminin ilk günlerinde SKK gelişen ineklerdeki süt verim kaybı daha şiddetli seyretmektedir. Bu konuyla ilgili yapılan ilk çalışmada 3-7. günlerde SKK gelişenlerde, ilk 30 günde SKK gelişen ineklere göre 2 kg/gün (%6) daha fazla süt verim kaybının meydana geldiği bildirilmiştir (McArt ve ark, 2012a).

Sürüden uzaklaşma riski: Yapılan sürü çalışmalarında, erken laktasyon döneminde SKK tanısı konulan ineklerin sağlıklı olanlara göre 3 katından daha fazlası satış ya da mortaliteye bağlı sürüden uzaklaştırılmaktadır (McArt ve ark, 2012a).

Erken laktasyon dönemi ilk 2 haftada BHBA eşik değeri 1.1-1.6 mmol/L olduğu durumlarda sürüden uzaklaştırma riskinin arttığı birçok çalışmada belirtilmiştir (Walsh ve ark, 2007a; Duffield ve ark, 2009; Roberts ve ark, 2012).

SKK başlangıcında ketonemisi şiddetli seyreden ineklerde erken laktasyon döneminde sürüden uzaklaşma riski artmaktadır (McArt ve ark, 2012b). Bu risk kan BHBA miktarı >3 mmol/L olanlarda daha fazla olmakla birlikte kan BHBA miktarındaki her 0.1 mmol/L' lik artış laktasyon dönemi ilk 30 günde sürüden uzaklaştırmama riskini 1.4 kat arttırmaktadır (Oetzel, 2013a). Ayrıca yapılan farklı bir çalışma da doğuma bir hafta kala BHBA ≥ 0.7 mmol/L, doğumdan sonraki ilk haftada ≥ 1.2 mmol/L ve doğumdan sonraki 2. haftada ≥ 1.6 mmol/L olanlarda laktasyon döneminin ilk 60 gününde sürüden uzaklaştırılma riskinde artış görüldüğü belirtilmiştir (Roberts ve ark, 2012).

Doğumdan sonraki ilk iki hafta içerisinde normal serum Ca^{+2} konsantrasyonundan (<2.2 mmol/L) daha düşük ve NEFA ≥ 1.0 mmol/L olan ineklerde ilk iki ay içerisinde sürüden uzaklaştırılma riski 3.6 kat artış göstermiştir (Seifi ve ark, 2011). Ayrıca Roberts ve ark (2012) tarafından yapılan çalışma da doğum sonrası Ca^{+2} konsantrasyonundaki azalma ile NEFA ≥ 0.8 mmol/L olması ile doğum sonrası ilk iki ay içerisinde sürüden uzaklaştırma riskinin artış gösterdiğini destekleyen çalışmalar arasındadır.

Abomazum deplasmanı: Duffield ve ark (2009) buzağılama sonrası ilk haftada BHBA değeri ≥ 1.2 mmol/L olan ineklerde AD gelişme riskinde 2.6 kat artış gözlemlenirken BHBA değeri ≥ 1.0 mmol/L olanlarda bu risk 6.9 kat (Ospina ve ark 2010b), ya da 13.6 kat (Seifi ve ark, 2011) artış göstermektedir. Laktasyonun ilk 2-15. günlerinde BHBA değeri ≥ 1.7 mmol/L olarak ölçülenlerde AD oluşma riski 6.9 kat artış göstermektedir (Suthar ve ark, 2013). Yapılan diğer bir çalışmada da postpartum AD' nı diğer çalışmalarla tutarlı olup AD gelişme riskinin çok daha yüksek olduğu ve normale göre 19.3 kat daha fazla şekillendiğini belirtilmiştir. Belirtilen çalışmada AD riski, ketozis gelişmeyen ineklerde %0.3 iken SKK' lı ineklerin %6.5' inde AD geliştiği gözlemlenmiştir (Oetzel, 2013a). Ayrıca Ospina ve ark (2010b)' nin yaptıkları diğer bir çalışmada da postpartum BHBA değeri ≥ 12 mg/dL ve alarm seviyesi %20 olan sürülerde AD ve klinik ketozis gelişme riskinin %1.8 olduğu ifade edilmiştir. Belirtilen çalışmalardan

farklı olarak Chapinal ve ark (2011), postpartum dönemde yükselen BHBA değeri ile AD arasında bir ilişkinin olmadığını ancak kanda yükselen NEFA ve düşük kan Ca^{+2} seviyesinin AD gelişme riskinde etkili olduğunu bildirmiştir.

SKK başlangıcında hiperketoneminin şiddetli seyrettiği ineklerde AD riskinin arttığı belirtilmiştir (McArt ve ark 2012a). SKK başlangıcında kan BHBA değeri ≥ 2.4 mmol/L olan ketozisli sığırlarda kan BHBA değeri ≥ 1.2 mmol/L olan sığırlara göre AD riski 3.1 kat daha fazla olduğu ifade edilmektedir (Oetzel, 2013a).

Erken laktasyon döneminin başlangıcındaki (3-5 DIM) SKK' lı ineklerde ilerleyen zamanda (6-16 DIM) SKK gelişen ineklere göre AD riski 6.1 kat daha fazla bulunmuştur (McArt ve ark, 2012a).

Reproduktif hastalıklar: Postpartum dönemde meydana gelen metritis ile SKK' lı ineklerdeki BHBA seviyeleri arasındaki ilişkinin incelendiği çalışmalarda, buzağılama sonrası birinci haftada kan BHBA değeri ≥ 1.2 mmol/L (Duffield ve ark, 2009) ve ≥ 0.7 mmol/L (Ospina ve ark, 2010b) olan ineklerde metritisin sırasıyla 3.4 ve 2.3 kat bulunmuşken, laktasyonun ilk 2-15. günlerinde BHBA değeri ≥ 1.4 mmol/L olup metritisin 1.7 kat (Suthar ve ark, 2013) daha fazla meydana geldiği belirtilmiştir.

Doğum sonrası fertilizasyon ve SKK arasındaki ilişkiyle ilgili değişik görüşler mevcuttur. Walsh ve ark (2007a) doğum sonrası ilk haftada kan BHBA değeri ≥ 1.0 mmol/L olup SKK tanısı konulan ineklerde ve benzer şekilde ikinci haftada kan BHBA değeri ≥ 1.4 mmol/L olanlarda da ilk servis periyodunda gebe kalma oranının azaldığını bildirirken, Chapinal ve ark (2012a, 2012b) herhangi bir ilişkinin bulunmadığını saptamışlardır. Ospina ve ark (2010a) benzer şekilde SKK ve doğum sonrası gönüllü bekleme periyodunda (I. laktasyon 70 gün) BHBA değeri ≥ 1.0 mmol/L olanlarda gebe kalma oranının düşük olduğunu belirtmiştir. Ancak yapılan diğer bir çalışmada SKK' nın gönüllü bekleme periyodunda gebe kalma oranı üzerine önemli bir etkisi olmadığı belirtilmiştir (McArt ve ark, 2012a). Benzer şekilde erken laktasyon döneminde ilk kez SKK tanısı konulan ineklerde 150 günlük laktasyon döneminde gebe kalma oranının azaldığı belirtilmektedir (Oetzel, 2013a). Bütün bu görüşlerden farklı olarak geçiş döneminde takip edilen NEFA ve BHBA' nın reproduktif hastalıklarla ilişkili olmadığını belirtmektedir (Bicalho ve ark, 2016).

2.4.2.4. Subklinik ketozisin ekonomik yansımaları

SKK' nın yüksek insidansına ilişkin olarak hayvan başına düşen maliyet miktarı orta derecede olsa bile üretici için genel anlamda ciddi ekonomik kayıplarla sonuçlanmaktadır. Sürü bazında görülen değişik insidans varyasyonları (%25-60) önemli ekonomik kayıplarında göstergesi olabilmektedir (Oetzel, 2013a).

SKK' nın ekonomik etkileri belirlenirken tahmin edilen süt verim kaybı, besleme giderleri, yemden yararlanma oranı, postpartum beklenen hastalıklar ve bunların geçmişteki insidansları ile sağaltım giderleri, postpartum sürüden uzaklaştırmak için satılan ya da ölen hayvan sayısı ve maliyeti, hasta hayvanların sağaltım masrafları ve sürüde yer değiştirme sonucu oluşan gider gibi belirli ölçütlerin bilinmesi gerekmektedir (Oetzel, 2007).

SKK olgularında hayvan başına kayıp maliyetin \$50-100 CAD (Kanada doları) (enfasyon ve döviz kuruna göre de yaklaşık 46- 92 USD; Amerikan doları) (Duffield, 2000), başka bir çalışmada \$78 CAD (yaklaşık \$68 USD) (Geishauser ve ark, 2001), \$67 (\$33-109) (Oetzel, 2013a), klinik hiperketonemi için ise olgu başına \$211 (McArt ve ark 2012b) olarak ifade edilmektedir. Kanada, Ontario' da sütçü sürülerde SKK tanısındaki hiperketonemi insidansında mevcut her %1' lik artışın, süt gelirinden yem maliyetinin çıkarılması ile elde edilen ekonomik geri yansıması \$0.015 inek/gün azalış olarak saptanmıştır (McLaren ve ark, 2006).

SKK görülme sıklığı %40 olan sürülerde, bu oran yıllık yaklaşık 1000 sığır olarak görülmekte olup her sığır için haftada iki kez yapılan testleri ve en uygun sağaltım protokolünü kapsayan maliyetin sürü başına \$10,000-25,000 olduğu belirtilmiştir (Nydham ve ark 2013).

2.4.2.5. Ketozisin tiplendirilmesi

Klasik olarak üç tipi bulunan ketozisin katagorize edilmesinin sürü bazında araştırmalar için oldukça yararlı bir uygulama olduğu düşünülmektedir. Her tiplendirmede farklı etiyoloji rol oynasa da, farklı tiplerin bir arada görüldüğü vakalarda mevcuttur (**Tablo 2.1.**). Birçok sınıflandırma ve Holtenius ve Holtenius (1996)' un çalışmasına göre modifiye edilmiş ve Herdt (2000a) tarafından da detaylandırılmıştır (Oetzel 2007a).

Tablo 2.1. : Sütçü sürülerde ketozisin farklı tipleri (Oetzel 2007a).

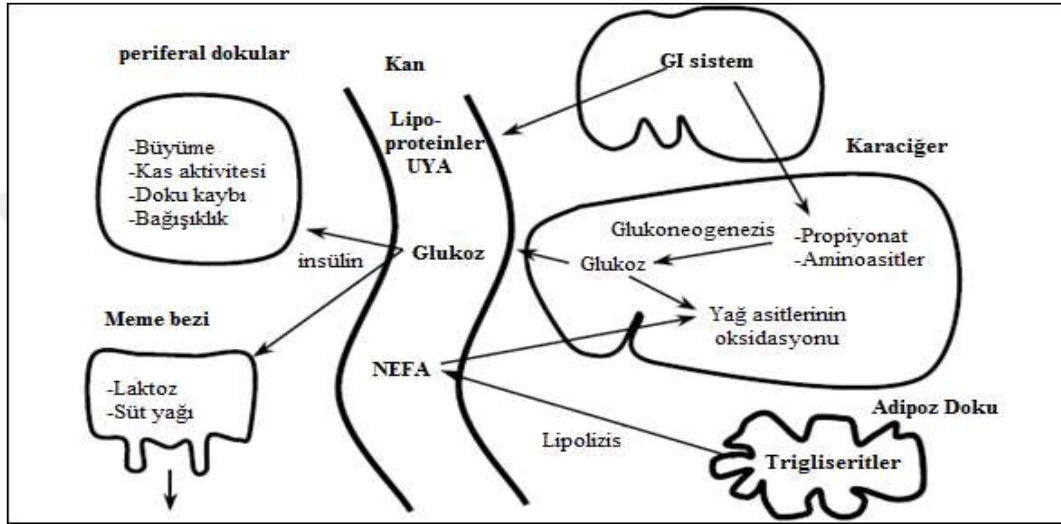
Sonuçlar	Ketozis tipleri		
	Tip I ketozis	Tip II ketozis	Bütirik asitli silaja ilişkin ketozis
	beslenmeye bağlı	yağlanma/yağlı karaciğer	silaj
Kan BHBA	çok yüksek	yüksek	çok yüksek/yüksek
Kan NEFA	yüksek	yüksek	normal/yüksek
Kan glikoz	düşük	düşük (başlangıçta yüksek olabilir)	değişken
Kan insülin	düşük	düşük (başlangıçta yüksek olabilir)	değişken
VKS	zayıf	yağlı	değişken
NEFA kaynağı	keton cisimcikler	başlangıçta karaciğerdeki trigliseritler ilerleyen dönemde keton cisimcikleri	değişken
Karaciğer glukoneogenezis	yüksek	düşük	değişken
Karaciğer patolojisi	–	yağlı karaciğer	değişken
Risk periyodu	doğumdan sonraki 3-6 hafta	doğumdan sonraki ilk iki hafta	değişken
Prognoz	İyi	zayıf	iyi
Diagnostik test	post-fresh BHBA testi	pre-fresh NEFA testi	silajda UYA analizi
Korunma	doğum sonrası doğru bakım ve besleme	doğum öncesi doğru bakım ve besleme	Silajı uzaklaştır, miktarını azalt veya bölerek ver

Tip I ketozis: Doğal olarak ya da beslemeye bağlı doğum sonrası 3-6 hafta içerisinde meydana gelebilen klasik bir formdur. Tip I diabetes metabolik hastalığına benzerliğinden dolayı tip I ketozis olarak adlandırılmaktadır. Her iki hastalıkta da farklı sebepler (tip I diabette pankreatik yetmezlik, tip I ketoziste glukoz ön madde yetersizliği ile gelişen hipoglisemi) sonucu kan insülin konsantrasyonları benzer şekilde düşük seyretmektedir (Oetzel, 2007a).

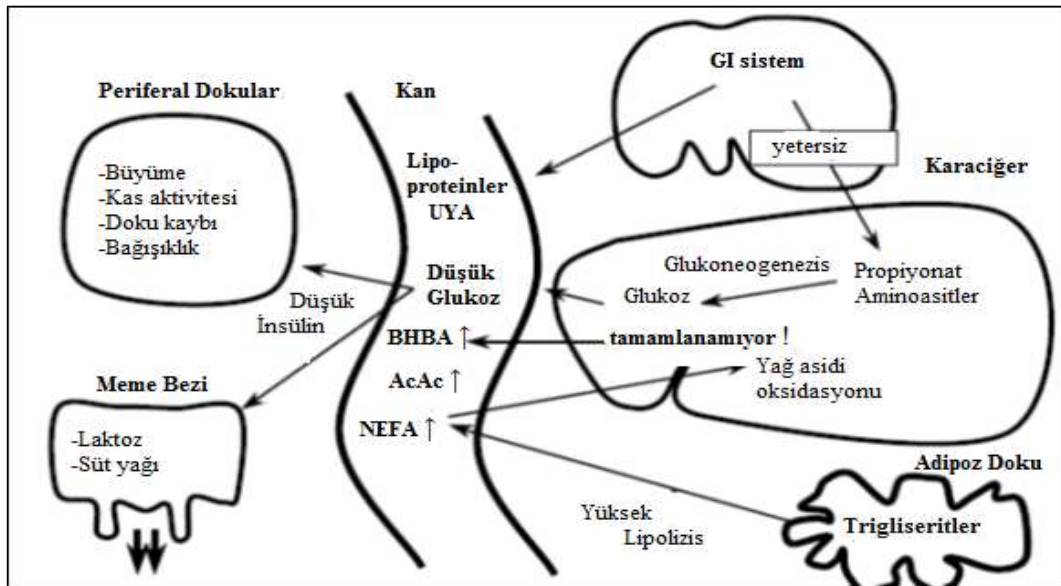
Tip I ketozis doğum sonrası yüksek enerji kaybına sebep olan süt üretimine bağlı olarak postpartum dönemde 3-6. haftalarda daha çok görülmektedir. Erken laktasyon döneminde mevcut olan ve tip I ketozise yakalanan ineklerde beslenme denetiminin yetersizliğinden dolayı gerekli enerji ihtiyacı karşılanamaz bir durum almaktadır. Tip I ketozis özellikle konsantre

yemle beslemenin ağırlıklı yapıldığı ve buna bağlı oluşan ruminal asidozisle birlikte doğum sonrası NED' in minimize edilemediği sürülerde görülmektedir (Oetzel, 2007a).

Tip I ketozisli inekler, glikoz ihtiyacını çoğunlukla rumende oluşan propiyonattan ve ince bağırsaklardan gelen amino asit ile gidermektedir. Bahsi geçen glikoz prekürsörlerinin kısıtlı olması; kan keton konsantrasyonunda artış, glikoz seviyesinde azalmayla sonuçlanmaktadır (Şekil 2.6., 2.7.) (Oetzel, 2007a).



Şekil 2.6. : Sütçü sürülerde normal glikoz metabolizması (Oetzel 2007a).



Şekil 2.7. : Tip I ketozide glukoz ve keton cismi oluşma mekanizması (Oetzel 2007a).

Tip I ketozisin önlenmesinde anahtar rol erken laktasyon döneminde enerji gereksiniminin karşılanmasıdır. Erken laktasyon dönemindeki enerji ihtiyacının giderilmesi, kademeli olarak arttırılan konsantre yem içerikli rasyonlarla yapılabilmekte; aynı zamanda bu durum KMT' de azalmaya neden olan süt verimindeki artışın yanı sıra diğer bir etken olan SARA' nın önlenmesine de yardımcı olmaktadır (Oetzel, 2007).

Farklı bir besleme alternatifi ise erken laktasyon döneminde rasyonlara yağ katılarak, enerjice zengin bir rasyon oluşturmak, ancak bu durum ketozisin önlenmesine yönelik doğru bir uygulama olmamaktadır. Rasyona yağ eklenmesi, glukoneogenezis yolunda glukoz prekürsörü olarak işlev sağlamakdan ziyade erken laktasyon döneminde zaten var olan NED' e bağlı karaciğerdeki oksidasyon işlemine yük olabilecek daha fazla miktarda yağ asidi oluşmasına neden olmaktadır. Doğum sonrası rasyona eklenen yağlar yerine, rasyondaki konsantre yemlerin rumende fermente olması sonucu oluşan propiyonik asit ve karaciğerde oluşan glikozdan elde edilen enerji daha uygun görülmektedir. Yağ katkısı özellikle erken laktasyon döneminde, KM alımını baskılayan bir durumdur. Doğum sonrası rasyona eklenen yemlerden oluşan enerji, rumende oluşan propiyonatin karaciğerde glikoza çevrilmesiyle elde edilebilmekte olup rasyona yağ katılması ayrıca KMT' yi engellemektedir. Dikkate alınması gereken husus rasyondaki total enerji alımının, enerjice zengin yemlerin yanında KMT ile gerçekleştiğidir (Oetzel, 2007).

Aşırı kalabalık ahırlar ve barınma alanındaki yetersizlikler erken laktasyon döneminde KMT' yi olumsuz etkileyen diğer sebepler arasında görülmektedir. Özellikle erken laktasyon dönemindeki barınma sıkıntıları hasta ya da sürü içinde daha korkak olan hayvanların kalabalığa ve hiyerarşiye bağlı olarak yem tüketimini etkilemektedir. Kalabalık barınma alanları erken laktasyon dönemindeki inekleri klinik ketozis, AD gibi hastalıklara da predizpoze hale getirmektedir. Erken laktasyon süresinde hayvan başına yemleme alanınının 76.2 cm olması gerektiği ifade edilmiştir (Oetzel, 2007).

Total karışım rasyonu ile besleme yönteminde yüksek enerji alınımıyla beraber ruminal asidozis oluşması riskinin daha az olduğu ve tip I ketozisin yaygın görülmediği bilinmektedir. Postpartum TKR ile beslemede yüksek protein/düşük enerji içerikli yemleri içeren rasyonlar oluşturulduğunda tip I ketozis görülebilmektedir. Postpartum dönem beslenme hastalıkları net enerji 167.2 Mcal/kg ve HP %19' dan az olduğu rasyonla besleme ve diğer etmenlerin de tetiklemeyle oluşmaktadır. Çalışmalarda sözü geçen faktörler tek başlarına bir hastalık sebebi olabileceği gibi beslenmedeki eksiklik ve hatalar ile beraber hastalığın görülme oranını

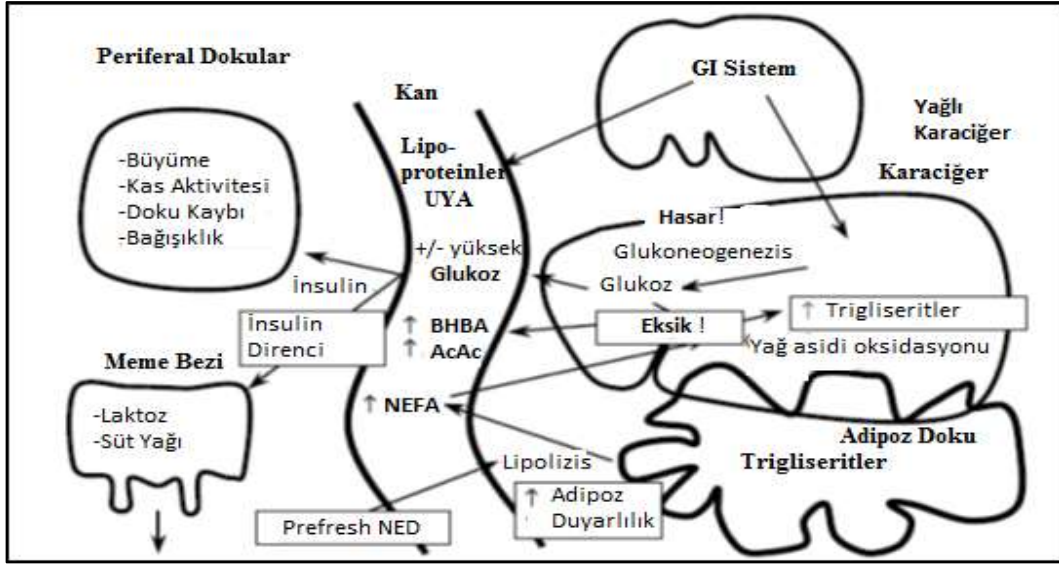
arttırmaktadır. Yüksek protein içerikli rasyonlarda açığa çıkan fazla miktardaki amonyağın detoksifikasyonu içinde enerji gerektiren bir durum ortaya çıkmaktadır. Bu durumun doğum sonrasında SARA oluşumu için TKR ile beslemede hala KM alımının az olmasına bağlı olarak endişe oluşturmadığı belirtilmiştir. SARA için en riskli dönem KMT' nin en yüksek olduğu orta laktasyon dönemi (postpartum 90-120. günler) olarak görülmektedir (Oetzel, 2007).

Tip II ketozis: Eski tanımlamaya göre yağlı inek sendromu olarak bilinmekte ancak kuru dönem aşırı yağlı ineklerden daha da fazlasını kapsamaktadır. Tip II ketozis doğumdan önce ya da hemen sonrasında NED oluşup, adipoz dokulardan yağ mobilizasyonun şekillendiği bütün ineklerde görülebilmektedir. Aşırı yağlı inekler doğuma yakın zamanlarda KMT' deki azalmaya daha meyilli hale geldikleri için bu formun en yüksek riske sahip olguları olarak bilinmektedirler (Treacher ve ark, 1986). Zayıf VKS' ye sahip ineklerde eğer pre-post dönem beslemeleri yetersiz olursa aynı şekilde risk altında bulunmaktadır (Oetzel, 2007).

Doğumdan yaklaşık beş gün önce KMT minimum düzeye indiğinden, doğuma kadar pozitif enerji dengesini oluşturmak güç bir durumdur (Bertics ve ark, 1992). Postpartum dönemde gerekli olan enerji ihtiyacı, enerjice zengin yemlerle ve KMT ile mümkün olmaktadır. Pre-fresh gruptaki ineklerde en düşük KMT göz önüne alınarak rasyonun besin madde içeriği hazırlanmalı ve grubun ortalama tükettiği KM' ye bağlı hazırlanan rasyonların bu ineklerde NED' e yol açabileceği akılda tutulmalıdır (Oetzel, 2007).

Doğumda yakın zamanda ve doğumdan sonra hayvanları başka bir boksa geçirmek ya da kalabalık bir ortamda tutulmaları ya da bu periyottaki hayvanların arasına yeni hayvanların katılması tip II ketozis için bir risk faktörü oluşturmaktadır. Doğum için ayrılan bölümlerin sıkışık, dar, kirli ve yem alınan bölmenin yetersiz olması da tip II ketozis oluşumunu etkilemektedir. Doğum yapılan alanın 125 m²' lik olması ve temiz su ve iyi kaliteli kuru otların her daim bulunması gerekmektedir (Oetzel, 2007).

Tip II ketozise bağlı muhtemel değişim yağlı karaciğer sendromudur (**Şekil 2.8.**). Yağlı karaciğere bağlı klinik semptomlar doğum sonrasında kendini göstermektedir. Enerjinin farklı dokulardan sağlanmasıyla, karaciğerin glukoneogenetik kapasitesinin zarar görmesine bağlı olarak laktasyon başlangıcında ketozis oluşum riski arttırmaktadır. Etkilenen ineklerde doğumdan sonraki ilk 2 hafta içerisinde ketozis görülebilmektedir (Oetzel, 2007).



Şekil 2.8. : Tip II ketoziste glukoz ve keton cisimciği oluşma mekanizması (Oetzel, 2007).

Tip II ketozis ve tip II diabetes mellitus birbirlerinin metabolik ikizleri olarak görülmektedir. Her iki hastalıkta da serum insülin ve glikoz konsantrasyonları yüksek seyretmekte olup insülin direnci de gelişmektedir. Genetik faktörlerin yanında doğumdaki VKS' de postpartum dönem insülin direnci gelişmesinde etkilidir (Jaakson ve ark, 2013). Erken laktasyon döneminde insülin direncinin incelendiği bir araştırmada doğumda yağlı ve zayıf VKS' ye sahip sütçü ineklerde, orta VKS' ye sahip ineklere oranla daha fazla şekillendiği ortaya konulmuştur (Jaakson ve ark, 2013). İnsülin direnci vücutta aşırı yağ birikimini engellemektedir ancak yüksek enerji ihtiyacının olduğu erken laktasyon döneminde dokulara glikoz girişini de engellemektedir (Oetzel, 2007).

Yağlı ineklerde stres ve NED altında oldukları zaman, yağ asitlerinin adipoz dokulardan mobilize olma eğiliminin arttığı bilinmektedir. Yağlı ineklerde meydana gelen değişim karaciğer yağlanması, keton cisimlerin üretimi ve iştahın tamamen ortadan kalkması gibi çeşitli problem ve hastalıkları daha da tetiklediği bilinmektedir. Bu inekler doğum sonrası yüksek mortaliteye sebep olabilen, azalan metabolik döngünün içerisinde dahil olmaktadır (Oetzel, 2007).

Yağlanma yer değişikliği yapılan düvelerde, tip II ketozis doğuran önemli bir sorun olup bunun nedeni olarak yağlı olan bu hayvanların sürü içerisinde yeme ulaşmalarının daha zor olduğu saptanmıştır. Yağlı düvelerde meydana gelebilecek diğer bir problemin de bu hayvanların retensiyon sekondaryum, metritis ve diğer reproduktif hastalıklara erişkin ve yaşlı ineklere göre daha meyilli olduğu belirtilmiştir. Yer değişikliği yapılan düvelerde mortalite

oranı, yağlanma sonucu ve geçiş dönemindeki besleme idaresinin düzgün yapılamamasına bağlı olarak yüksek bulunmuştur (Oetzel, 2007).

Keton cisimciklerinin kandaki konsantrasyonu, tip I ketozise göre daha düşük seyretmesine rağmen sağaltım sonrası nekahat döneminde karaciğerdeki yağ birikiminden dolayı prognoz tip I ketozise göre daha kötüdür. Tip II ketozisli ineklerde kan keton konsantrasyonu 1-3 hafta boyunca devamlılığını sürdürmektedir (Oetzel, 2007).

Yağlı karaciğerde glukoneogenesis yolağının bozulmasının yanında, hepatositlerin immun fonksiyonları da zarar görmektedir. Şiddetli NED aynı zamanda immun sistemi, savunma sisteminde görev alan hücrelerin ve mekanizmaların ciddi anlamda enerji tüketmesinden dolayı baskılanmaktadır (Hammon ve ark, 2006; Contreras ve ark, 2010; Ster ve ark, 2012). Sonuç olarak inekler persiste ketotik olmalarının yanında immun sistemleri de baskılanmaktadır. Tip II ketozisli ineklerin çoğunda immun fonksiyonları tam olarak yerine getirilememesine bağlı metritis, mastitis, pneumoni gibi çeşitli enfeksiyöz bozukluklar ve mortalite gelişebilmektedir (Oetzel, 2007).

Sütçü sürülerde, laktasyonun ilk 2 haftasında ketosisin yüksek insidansla seyretmesi yanında, prefresh dönemde NEFA konsantrasyonunun yüksek prevalansa sahip olması, Tip II ketozisin tanımlanmasında yardımcı olmaktadır. Bunun yanı sıra yağlanma, persiste ketozis, AD' nin görülme sıklığı ve erken laktasyon döneminde yüksek mortalite görülmesi diğer unsurlar arasında yer almaktadır (Oetzel, 2007).

Tip II ketozis geçiş döneminde yapılan uygun beslenme idaresi ve kuru dönemde yağlanmanın engellenip uygun beden skoruna ulaşma ile önlenebilmektedir. NED' in engellenmesi de buzağılama öncesi iyi kaliteli yemlerle yapılan beslemedeki KMT' nin yanında, geçiş dönemindeki rasyonların yüksek enerji içerikleriyle giderilebilmektedir. Doğum sonrası döneme gelindiğinde ise beslenme idaresinde önemli olanın rasyondaki enerji içeriğinin artırılmasından ziyade KMT' yi arttırmanın olduğu ifade edilmektedir. Geçiş dönemindeki aşırı kalabalık boksların yanında yataklık alanların kısıtlı olması, doğum sonrası dönemdeki benzer problemlerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Oetzel, 2007).

Geçiş döneminde oluşturulan rasyonlara kıyılmış saman ya da kıyılmış kuru ot gibi kaba yemlerin eklenmesi Amerika' daki sürülerinin çoğunda gerçekleştirilen bir uygulamadır. Saman geçiş döneminde KMT' yi sağlayan önemli bir yem maddesidir (orta laktasyon ya da geç laktasyonda >13.62 kg/hayvan/gün, düvelerde >11.8 kg/hayvan/gün). Pre-fresh dönemde

süt üretimi için gerekli yemlerden gelen laktasyon net enerjisi (NEL) yaklaşık 17-19 Mcal olmalıdır. Kaba ve konsantre yemlerin birlikte yapıldığı beslemelerde hedeflenen bu değerler elde edilebilmektedir (Oetzel, 2007).

Yemlerin partikül büyüklükleri ile rumende fermentasyon ve mikrobiyolojik popülasyon üzerine etkisinin araştırıldığı pek çok çalışma mevcuttur. Rumenin dorsal ve ventral keselerinde ruminal içerik farklılıklarının yanında mikrobiyal popülasyonu arasında da farklılık olmasına rağmen rumen, hem fiziksel hem de mikrobiyolojik olarak oldukça heterojen bir yapıdadır (Zebeli ve ark, 2007). Dorsal kese partikül boyutu büyük, sindirilebilirliği az, rumen sıvısını bağlama fonksiyonuna sahip yüzebilen ve yüzeyde ince bir tabaka oluşturan içerikten oluşurken, ventral kese de sindirilebilirliği yüksek, küçük partiküllü rumende serbest yüzen sıvı içerik kısmını oluşturmaktadır (Zebeli ve ark, 2006; 2007).

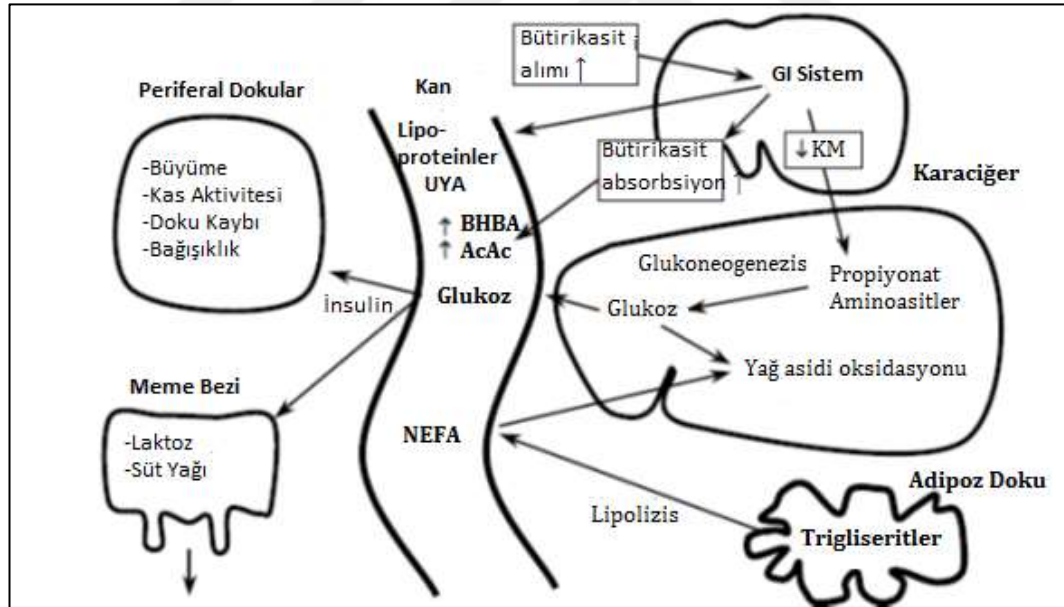
Geçiş dönemi rasyonlarına eklenen saman temiz ve mutlaka uygun boyutta kıyılmış olmalıdır. İnekler 2.54 cm uzunluğunun üzerinde olan samanları seçme eğilimindedirler. Geçiş dönemindeki ineklerde ruminal asidozis oluşma riski KMT' nin daha az olmasına bağlı olarak daha düşük ihtimaller içerisindedir. Bunun yanı sıra saman partiküllerinin sap kısımları 2.54 cm' den daha kısa olsa bile rumende oldukça yüzen ve batmayan bir yapıya sahip olup hasır şeklinde bir tabaka oluşturur ve özellikle konsantre yemlerin sindirilme sürelerini uzatarak ruminal asidozis oluşma riskinin azalmasına katkı sağlamaktadırlar (Oetzel, 2007).

Bütirik asite bağlı ketozis: Bazı sürülerde ketotik silajlarla besleme sonucu gelişen ketozis tipidir (Tveit ve ark, 1992). Silajlık yemlerin yeterli soldurma (kurutma) işlemi yapılmadan, su oranları yüksek iken biçilmeleri ya da kolay eriyebilir karbonhidrat içerikli otların düşük olması *Clostridial* türlerin üremesi için uygun ortamı sağlamaktadır. Bu bakteriler bazı karbonhidrat türlerini silajda oluşması istenilen laktik asit yerine bütirik asite fermente edebilme özelliklerine sahiptirler (Dinic ve ark, 2010). Mısır silajları kolay eriyebilir karbonhidrat içeriğinin yüksek olmasından dolayı *Clostridial* üremeyi kısıtlarken benzer şekilde bazı yeşil ot silajları da aynı işleve sahiptir (Stadhouders ve Spoelstra, 1990; Dinic ve ark, 2010). Yeşil bitkilerin gün içerisinde biçilme zamanları da kolay eriyebilir karbonhidrat içeriğini etkilemekte olup günün en sıcak zamanı yapılan biçimde en yüksek konsantrasyona ulaşılmaktadır (Oetzel, 2007).

Klostridyal fermentasyona maruz kalan silajlar, bütirik asitin kendisine has kokusu ve protein yıkılma ürünleriyle birlikte ayırt edilebilmektedir. Silaj fermentasyon analizi, var olan bütirik asit miktarını ve yoğunluğunu ortaya koymaya yarayan bir metottur (Oetzel, 2007).

Yapılan çalışmalar sonucu silajdan günlük alınan 50-100 g bütirik asidin, ketozise sebep olabileceği ve yaklaşık 200 g bütirik asidin ise direkt olarak ketozisi şiddetlendirebileceği belirtilmiştir (Lingaas ve Tveit, 1992). Modern sütçü sürülerde, erken laktasyon dönemi yüksek süt verimine sahip ineklerde genetik yatkınlığın, geçmişinde ketozis geçiren ineklere göre daha fazla risk taşıdığı düşünülmektedir (Oetzel, 2007).

Sığırlar ruminal fermentasyon ile günde ürettikleri yaklaşık 750 g bütiratı rumen, kas sisteminin çalışmasında gerekli enerjiyi sağlamak için kullanmaktadırlar. Fermentasyon ile fazlaca oluşan bütirik asidin yaklaşık %75' i BHBA' ya dönüştürülerek ketozisin temel sebebinin oluşturmaktadır (Şekil 2.9.). şekillenen BHBA, karaciğer tarafından asetoasetik asite vb. asitlere dönüştürür (Stadhouders ve Spoelstra, 1990; Sakha ve ark, 2007). Rasyona eklenen bütirik asidin ne kadarının ketozise sebep olacağı ve erken laktasyon, yüksek verim, düşük enerji içerikli ve yüksek protein içerikli yemler ve ruminal asidozis gibi diğer çeşitli risk faktörlerinin rasyona eklenen bütirik asit ve ketozis arasındaki ilişkiyi ne düzeyde etkilediği bilinmemektedir (Oetzel, 2007).



Şekil 2.9.: Fazla bütirik asit içeren silajlara bağlı glukoz ve keton cisimciği metabolizması (Oetzel, 2007).

İşletmelerde stoklanan yüksek miktarda bütirik asit içeren kaba yemleri değerlendirmenin 3 temel yolu olan farklı şekilde kullanma, bütirik asit yoğunluğunu azaltma ve imha edilmesi bulunmaktadır. İlk olarak bu yemler erken laktasyon döneminde olan ineklere

verilmemeli; bunun yerine düvelere, geç laktasyon dönemindeki ineklere ve kuru dönemdeki ineklere verilerek değerlendirilmelidir (Oetzel, 2007).

Besleme zamanlarında silajda bulunan bütirik asit miktarı düzenli olarak takip edilmeli ve günlük belirlenen 50 g/hayvan/gün miktarının aşılmasına dikkat edilmelidir. Ancak bu husus dikkate alınsa bile bütirik asit ile besleme yapılan silajlardan dolayı ketozis oluşmaksızın da KM alımının etkileneceği ifade edilmektedir (**Şekil 2.9.**) (Oetzel, 2007).

Günlük belirtilen 50 g bütirik asit miktarının altında kalabilmesi için yalnızca ot silajıyla yapılan beslemede (10 kg kaba yem KM/inek/gün) ot silajının içerdiği bütirik asit miktarı KM bazında %0.5' i, KM ihtiyacının 5 kg' nın ot silajından diğer yarısında mısır silajı, kuru ot gibi yem kaynaklarından sağlandığı durumlarda da %1'i aşmamalıdır (Oetzel, 2007).

Besleme öncesinde silajın havalandırılmasıyla bütirik asitin bir kısmının uçurulması ve beslemenin bu yolda daha güvenli olabileceğine dair görüşler mevcuttur. Havalandırma işleminden sonra silajın, bütirik asit miktarının ve aerobik bozulmaya karşı ısisının mutlaka takip edilmesi gerektiği belirtilmiştir (Oetzel, 2007). Ayrıca aerobik bozulmayı engelleyen *Lactobacillus buchneri*' nin silaja eklenmesi ya da silolanmadan önce silajın soldurulmasının, bütirik asit fermentasyonunu önleme de uygulanabileceği belirtilmektedir (Martinez-Fernandez ve ark, 2012).

Silajlar, yapımları esnasında uygun şekilde hazırlansa bile bütirik asit oluşan silajlar kontrollü besleme altında bütirik asit miktarı 50 g/hayvan/gün geçmeyecek şekilde geçiş döneminde hayvanlara verilmelidir. Bu tip durumlarda özellikle besleme esnasında erken laktasyon dönemindeki hayvanlar ketozis yönünden devamlı olarak izlenilmeli ve gerektiğinde medikal olarak müdahale edilebilmelidir (Oetzel, 2007).

KM' sinde %2' den daha fazla bütirik asit içeren silajların hayvan tüketimine sunulması yerine iyi bir gübre işlevi görmesi bakımından uygun bir şekilde tarlalara dağıtılarak değerlendirilebileceği bilinmelidir (Oetzel, 2007).

Ketozisin sürülerde ileriye yönelik ortadan kaldırılması ve önlenmesinde, bütirik asit oranı belirtilen değerlere uygun olmayan silajların görülmesi, ileriye yönelik yapılan silaj hazırlama açısından uyarıcı bir etkiye sahiptir. Ekinin tarlada hasat sonrası uygun soldurma zamanına tabi tutulması (Martinez-Fernandez ve ark, 2012), silolama sırasında yağmur gibi silajda sulu ve aerobik ortamı etkileyen etmenlere karşı silo çukurlarının kapatılması, bütirik

asit oluşturan klostridial fermentasyonun meydana geldiği ve laktik asit bakterilerinin silaj pH' sını daha aşağıya çekerek oluşumunu engellediği terminal pH' nın bilinmesi alınabilecek tedbirler arasındadır (Oetzel, 2007).

Oetzel (2007b)' in sütçü sürülerde yapmış olduğu araştırma verileri üç farklı ketozisin meydana geldiği olası zamanları ortaya çıkarırken, laktasyon döneminde BHBA değerinin yüksek seyrettiği günlerin belirleyici olduğu ifade edilmiştir. Aşağıdaki **Tablo 2.2.**' de özetlendiği gibi; doğum sonrası ilk 14 günde BHBA konsantrasyonu yüksek bulunan ineklerde tip II ketozisin görüldüğü ve bu ketozis tipinde doğum sonrası bir ay boyunca da sütteki BHBA yüksekliğinin sürebileceği ancak ketozis belirtilerinin ilk 14 günde daha belirgin olduğunu ifade edilmiştir. Belirlenen bu zaman dilimleri tip II ketozisin önlenmesinde pre-fresh ve doğum dönemindeki besleme ve barınmaya dikkat edilmesi gerektiği konusunda aydınlatıcı bulunmuştur. BHBA konsantrasyonu yüksek bulunan doğum sonrası 14-21 günlük dilimden sonraki günlerde ise tip I ketozisin görüldüğü ve doğum sonrası besleme yönetimine odaklanılmasının önemli olduğu vurgulanmıştır (Oetzel, 2007).

Tablo 2.2. : Tip I ve tip II ketozisli sürü örneği (Oetzel 2007a)

Tip II ketozis			Tip I ketozis		
Hayvan sayısı	Laktasyon günü	BHBA mg/dL	Hayvan sayısı	Laktasyon günü	BHBA mg/dL
8/18	5-14	14.5-43.3	6/18	19-38	15.7-30.6

2.4.2.6. Hayvan başı ketozis testleri

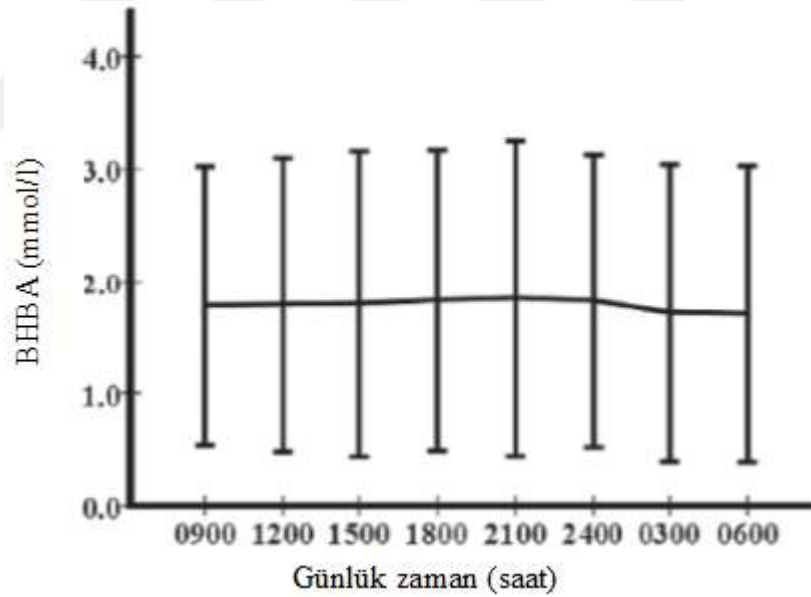
Son dönemlerde ketozis tanısına yönelik olarak hasta başında yapılabilen, kullanımı kolay ve ucuz olan birçok test bulunmaktadır (**Tablo 2.3.**). Bu testler hem bireysel hasta hayvanlarda tanı, hem de doğumu yaklaşan hayvanlarda gözlem yapılmasını sağlamaktadır (Townsend, 2011).

Sürü bazında ketozisin varlığını ortaya koymak için hayvan başında yapılabilecek idrar, kan ve sütte asetoasetat ve BHBA konsantrasyonlarını ölçen (Townsend, 2011) çeşitli hastabaşı testler (Cowside) mevcut olup, spesifite ve sensitivite açısından kıyaslandığında BHBA testi

daha uygun görülmektedir. Ayrıca sürülerin izlenmesi ve olası ketozisin varlığını belirlemek için BHBA testi, diğerlerine göre altın standart niteliği taşımaktadır (Oetzel ,2007a).

SKK' yı değerlendirmek için gerekli ve diğer keton cisimciklerine göre kanda daha kararlı yapıda olan BHBA' nın laboratuvar ortamında enzimatik ölçümlerle (kinetic enzymatic assay) belirlenebilmesinin (Tyopponen ve Kauppinen, 1980) yanında daha da pratik olan hasta başı kitleri mevcuttur (Oetzel, 2007).

BHBA keton cisimciğinin günlük aktivite ve beslenmeyle ilişkili olarak değişkenlik gösterebilmekte olduğu bildirilse de (Eicher ve ark, 1998), sürekli beslemenin yapıldığı sürülerde kan alım zamanının BHBA konsantrasyonunu etkilemediği saptanmıştır (**Şekil 2.10.**) (Mahrt ve ark, 2014). İdrarla atılan keton cisimcikleri, serum konsantrasyonlarına göre daha yüksek konsantrasyonda saptanmaktadır. Bu sebeple seruma oranla idrarda yapılan analiz sonuçlarında spesifite daha azdır. Sütte ise seruma oranla %10-15 daha yüksek seyreden değerlerle BHBA konsantrasyonu saptanabilmektedir (Duffield, 2000).



Şekil 2.10.: Laktasyonun 6-18. günlerinde günlük aktiviteye bağlı BHBA konsantrasyonu (Mahrt ve ark 2014).

BHBA değerini ölçen testlerden bir tanesi olan KetoTest (Sanwa Kagaku Kenkyusho Co. Ltd, Nagoya, Japan; distribütör by ELANCO Animal Health, Greenfield, IN) ile sütte varolan BHBA, asetoasete dönüşerek mor renk verir. Stripte oluşan renk skalasına göre de sütteki

BHBA konsantrasyonu ölçülmektedir (Geishauser ve ark, 1998; Carrier ve ark, 2004). KetoTest %83 sensitivite ve %82 spesifite ile sütte BHBA eşik değeri (kan serum 1000-1400 $\mu\text{mol/L}$ karşılık gelen) 100 $\mu\text{mol/L}$ baz alınarak ölçülmektedir (Oetzel, 2004). Ketotest stribi ve sütteki sıcaklık değişikliklerin (sağımdan hemen sonra, oda sıcaklığında olan süt ile oda sıcaklığında ya da düşük sıcaklıkta sütte test stribi ile yapılan kombinasyonlar) BHBA konsantrasyonunu üzerine etkili olmadığı ile ilgili de çalışmalar gerçekleştirilmiştir (Shire ve ark, 2013).

Laboratuvar analizlerindeki BHBA 1.4 mmol/L konsantrasyonları ile kıyaslandığında, Ketostix (Bayer) idrarda asetoasetik asit miktarını ≥ 15 mg/dL olarak okuduğunda, %78 sensitivite ve %96 spesifite göstermekte ≥ 40 mg/dL olduğunda ise %49 sensitivite ve %99 spesifiteye sahiptir (Carrier ve ark, 2004). PortaBHB test (PortaCheck, Inc, Moorestown, NJ) ise KetoTest' e benzer sensitivite ve spesifiteyle sütte BHBA konsantrasyonunu belirlemeye yarayan hastabaşı testlerdendir (Townsend, 2011). 100 $\mu\text{mol/L}$ eşik değeri alındığında %89, %80 iken 200 $\mu\text{mol/L}$ olduğunda sırasıyla %40 ve %100 spesifite ve sensitiviteye göstermiştir (Denis-Robichaud ve ark, 2011).

Son yıllarda SKK tanısında sıklıkla kullanımı tercih edilen diğer bir test ise Precision Xtra™ meter (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL) olan kan keton test stribidir. Yapılan çeşitli çalışmalarda bu test stribinin, kan BHBA konsantrasyonlarına yönelik doğruluğu oldukça yüksek bulunmuştur (Caldwell ve Martineu, 2007; Burke ve ark, 2008; Oetzel ve McGuirk, 2008; Iwersen ve ark, 2009; Konkol ve ark, 2009; Voyvoda ve Erdogan, 2010).

Tablo 2.3. : Ketozis tanısında kullanılan hastabaşı testler (Townsend, 2011).

Ürün	Bulunan seviye	Sensivite	Spesifite	Maliyet
Ketochek powder (süt, idrar)	İz miktarda	%41	%99	\$13.95/50 g (~\$0.28/test)
Ketostix (idrar) (asetoasetat)	1470 $\mu\text{mol/L}$	%78	%96	\$0.24/strip
Ketotest (süt)	100-200 $\mu\text{mol/L}$	%27-59	%76-99	~\$2.00/strip
portaBHB(süt)	200 $\mu\text{mol/L}$	%75	%91	\$1.75/strip
Precision Xtra (kan)	1400 $\mu\text{mol/L}$	%91	%94	Meter: ~\$15 to 20 Ketone Test Strips: ~\$1.30/strip

Hayvan başında yapılan testler maliyetinin ve iş yükünün daha az olmasının yanı sıra, sonuçların hızlı bir şekilde elde edilmesine olanak sağlamaktadır. Bu durum bireysel hastaların ketozis yönünden incelenmesine fayda sağlarken sürü bazında diyagnostik bir önem taşımamaktadır (Oetzel 2007a, Townsend 2011).

2.4.3. Subklinik Hipokalsemi

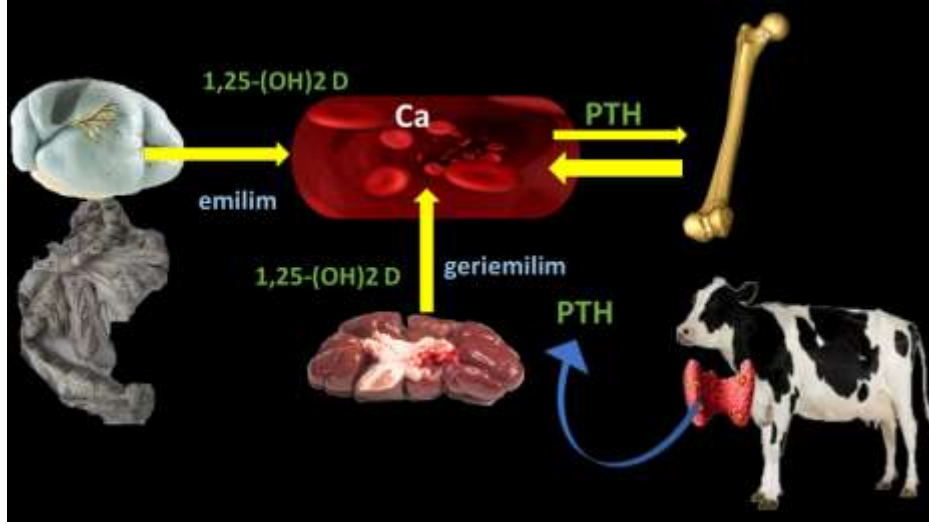
Laktasyon başlangıcında sütçü ineklerin Ca^{+2} dengesini sürdürebilme yetenekleri tamamen geçiş dönemindeki kolostrum ve süt sentezindeki artış ve KMT' deki kademeli azalışa bağlı olup dengesizlik durumu geçici hipokalsemi ile sonuçlanabilmektedir (Goff ve ark, 1996; Tsioulpas ve ark, 2007). Ayrıca primiparöz ve multiparöz ineklerin geçiş dönemindeki artan enerji ihtiyacı ve Ca^{+2} talebi arasında fizyolojik bir farklılık söz konusudur. SKH, primiparousların %25' ini multiparuslarında %47' sini etkilemektedir (Reinhardt ve ark, 2011). SKH' lerde klinik bulgular gözlenmezken bu ineklerde postpartum hastalıklarına karşı ilave bir risk ortaya çıkmaktadır (Martinez ve ark, 2012).

İyonize kalsiyum, canlının vital fonksiyonlarından olan sinirsel ileti, kas kontraksiyonu, metabolizma, büyüme ve çoğalma, pıhtılaşma, pek çok enzim aktivasyonu, immun cevabın oluşması gibi farklı işlevler için gereklidir (Saris ve Carafoli, 2005; Parekh, 2006; Vig ve Kinet, 2009). Bahsi geçen bu hücrel fonksiyonların meydana gelebilmesi için total kalsiyum seviyesinin 8.5-10 mg/dL arasındaki dengede sürdürülmesi gerekmektedir (Goff ve ark, 1996).

İneklerde prepartum Ca^{+2} ihtiyacının yaklaşık 30 g/gün olduğu ve bunun 15 g' ının dışkı ve idrarla kaybedildiği, geri kalanında doğum için hazırlıkta kullanıldığı belirtilmektedir (DeGaris ve Lean, 2008). Beklenildiği gibi doğumdan birkaç gün önce kayıpla beraber azalmaya başlayan Ca^{+2} seviyesinin doğum sonraki 12-24 saat içerisinde oldukça azaldığı ve 4. laktasyon gününde artış gösterdiği belirtilmektedir (Kimura ve ark, 2006; Goff, 2008; Melendez ve ark, 2002; Chapinal ve ark, 2012a, 2012b). Ca^{+2} alımı metabolizmadaki ihtiyacı karşılamadığı zaman da hipokalsemi baş göstermektedir. Hipokalsemik olaylarda dolaşımdaki total kalsiyumun yaklaşık %50' si kaybedilmektedir (DeGaris ve Lean, 2008). Hipokalsemide barsaklardan Ca^{+2} emiliminin artması, renal tubul ve kemiklerden Ca^{+2} ' un mobilizasyonuna dayanan sirkülasyondaki mevcut denge bozulmaktadır (**Şekil 2.11.**). Canlıdaki Ca^{+2} kaybı;

dışkıyla atılması, glomeruler filtrasyon ile kaybı, fetusa plasental yolla taşınması, kemiklerde depolanması ve süt salgısı ile meydana gelmektedir (El-Samad ve ark, 2002). Postpartum dönemdeki ineklerde, özellikle Ca^{+2} ihtiyacı artmış olanlarda, Ca^{+2} dengesini korumak için metabolik işlevler üzerinde sıkı endokrin kontrol gerekmektedir (Hunter, 2015).

Serum Ca^{+2} seviyesinin düzenlenmesinde iki potansiyel kalsitropik hormon olan paratiroid bezinden salgılanan paratiroid hormon ve böbreklerde üretilen vitamin D formunun metaboliti olan 1,25 dihidroksi vitamin D [$1,25-(OH)_2 D$] sorumludur (Goff, 2008). Serum Ca^{+2} seviyesindeki ani düşmeye karşı alınan yanıt, kademeli olarak azalmasına göre daha şiddetlidir. PTH idrardan Ca^{+2} atılımını azaltarak ve kemiklerden mobilizasyonu arttırarak kısa süreli de olsa serum Ca^{+2} seviyesini korumaya çalışmaktadır. PTH konsantrasyonunun artmaya başlaması beraberinde kemik matriksinden Ca^{+2} ' un uzaklaştırılmasına neden olan ve osteositik osteolizis olarak adlandırılan süreci de başlatır (El-Samad ve ark, 2002). Bu süreç kan Ca^{+2} seviyesinin hızlı bir şekilde dengelenmesi amacıyla birkaç dakika içerisinde gerçekleşebilmektedir. Kan PTH seviyesinin yükselmesi birkaç saatten fazla sürede gerçekleştiğinde ise kemik matriksinde erimeler başlar ve bu süreç $1,25-(OH)_2D_3$ ' ün $1,25-(OH)D_2$ ' ye hidroksilasyonu yani aktivasyonu ile sonuçlanmaktadır (MacDonald ve ark, 2001). Vitamin D' nin aktive olmasıyla barsak enterositlerinden Ca^{+2} ' un etkin bir şekilde emilimi meydana gelmektedir (**Şekil 2.11.**). Bu mekanizma barsak epitel hücrelerindeki Ca^{+2} bağlayıcı protein miktarındaki artış ile gerçekleşmektedir (Duke, 1993). Kalsitropik hormonların iş birliği doğumdan laktasyona geçişte 4-5 kat artış gösteren kan Ca^{+2} klirensinin desteklenmesini kolaylaştırmaktadır (Anderson, 1970). Bunun dışında Ca^{+2} seviyesindeki yükselmeye karşılık da kalsitonin hormonu salgılanmaktadır (DeGaris ve Lean, 2008). Kalsitonin böbreklerden Ca^{+2} atılımını arttırarak ve kemiklerde depolanmasını sağlayarak kan Ca^{+2} seviyesini azaltmaktadır (Rosol ve ark, 1995). Kalsitonin daha çok oluşan hiperkalseminin mükemmel bir geri dönüşüm kolu olup intravenöz Ca^{+2} uygulamalarından sonra kan Ca^{+2} konsantrasyonunun kontrolünde etkilidir (El-Samad ve ark, 2002). Kan Ca^{+2} seviyesi 9.5 mg/dL' yi aştığında kalsitonin salınarak (Goff ve ark, 2000) PTH hormon sekresyonunu da azaltmaktadır. Bu Ca^{+2} düzenleyici hormonların hepsi kandaki iyonize Ca^{+2} seviyesini "ayarlamak" için kendi kendini sınırlayan bir negatif geribildirim ilişkisinden sorumludur (MacDonald ve ark, 2001).



Şekil 2.11.: Kan kalsiyum haemostazisinin basit şematize gösterimi (Goff, 2008' den uyarlanmıştır).

2.4.3.1. Gebeliğin son döneminde kalsiyum metabolizması

Fötal büyüme oranı gebeliğin 230. günlerinde en yüksek seviyedeysen gebeliğin son dönemlerinde %50 oranında büyüme hızı yavaşlamaktadır (Eley, 1978; Prior, 1979). Gebelerdeki enerji ihtiyacı son trimesterde artış göstermektedir (Rattray ve ark, 1975). Kuru dönemde olan ineklerde gebeliğin son dönemlerinde fötal büyüme için gerekli enerji ihtiyacını karşılamak ve mineral dengesini sürdürebilmek amacıyla vücuttaki Ca^{+2} ' un %85' i, Mg^{+2} ' un %81' i, fosforun %84' ü, K' un %71' i ve Na^{+} ' un da %71' in vücutta biriktiği belirtilmektedir (House ve Bell, 1993). NRC' ye göre gebelik gereksinimi, ‘’gebeliğin 190. gününden sonra gebeliğin her bir günü için üreme organlarında biriken mineral madde miktarı kadardır’’ ifadesi kullanılmaktadır (NRC, 2001). Gebeliğin 190. gününden sonra fetal iskelet kalsifiye olmaya başlayana kadar fötusun daha az ihtiyaç duyduğu Ca^{+2} için bu durum geçerli olarak görülmektedir. Ca^{+2} un fötusdaki birikme oranının 2.3 g/gün olan 190. gebelik gününde, 280. günde 10.3 g/gün oranına çıktığı ifade edilmektedir (House ve Bell, 1993).

Bir Hostein ırkı ineğin kesim canlı ağırlığı (714 kg) baz alındığında yavru ve annenin mineral ihtiyacı için tahmini olarak 11 g Ca^{+2} ve 10 g fosfor emilimine ihtiyaç duyduğu (House ve Bell, 1993) ancak fötusun büyümesinde maksimum ihtiyacı karşılamak için ilave olarak 10.3 g Ca^{+2} ve 5.4 g fosfor gerektiği belirtilmektedir (House ve Bell, 1993). Süt sığırları için mevcut rasyon ile tavsiye edilen Ca^{+2} ve fosfor miktarının devam eden ve fötusun büyüme gereksinimlerini kolayca karşılayabileceği bildirilmekle birlikte NRC tarafından kullanılan

üstel denklem ile doğumdan önceki son haftalardaki Ca^{+2} gereksinimlerinin hesaplanabileceği bildirilmektedir (House ve Bell, 1993; NRC, 2001).

NRC tarafından laktasyondaki süt sığırları için belirlenen Ca^{+2} ihtiyacı, ırklara göre sütteki protein içeriğine bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Holstein ırkı ineklerde 1 kg süt için gerekli Ca^{+2} 1.22 g olup kolostrum üretiminde ilave olarak 2.1 g Ca^{+2} daha gerekmektedir (NRC, 2001). Daha önce de belirtildiği gibi, ineklerin Ca^{+2} dengesini düzenleyen etkili bir mekanizma varolmasına rağmen bazı durumlarda bu mekanizma etkisiz kalmaktadır. Doğumla birlikte bir süt ineğinin 23 g ya da daha fazla Ca^{+2} içeren 10 lt kolostrum üretiminde normal Ca^{+2} havuzundaki oran 6 kat daha fazla seyretmektedir (Goff ve ark, 2000).

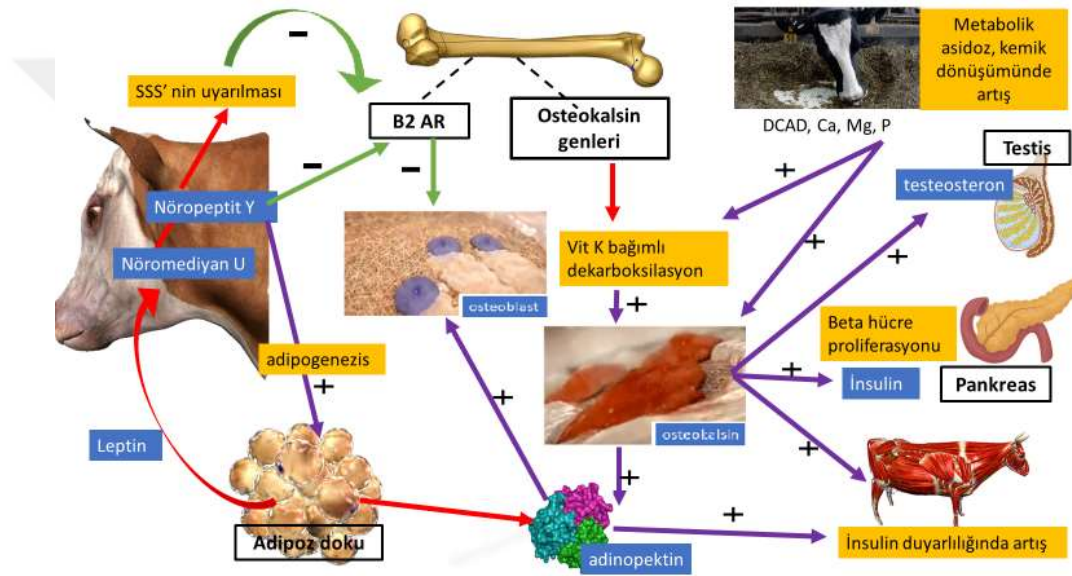
Gebeliğin sonlarında fötustaki Mg^{+2} 0.2 g/gün, K^{+} 1 g/gün ve Na^{+} artışı 1.4 g/gün olup bu durum demir 18 mg/gün, çinko 11.7 mg/gün, bakır 1.6 mg/gün ve mangan 0.3 g/gün olarak değişmektedir (House ve Bell, 1993). Belirtilen bu günlük miktarlar gebeliğin son döneminde olan erişkin bir Holstein inekteki fetal büyüme için gerekli mineral ihtiyacını temsil etmektedir. Bu minerallerin büyük oranını da Ca^{+2} ve fosfor birikimi oluşturmaktadır (Hunter, 2015).

Doğumun yaklaşmasıyla beraber buzağının hipofiz bezinden salınan adrenokortikotropik hormon (ACTH) adrenal bezlerden kortizol salınımını uyararak prostaglandin sentezlenmesine ve doğum kaskadının başlatılmasına neden olmaktadır (Kindahl ve ark, 2004). Prostaglandin miktarındaki artış progesteron seviyesinin azalmaya başlamasına ve eş doğrultuda östrojen seviyesinin artmasına neden olmaktadır (Goff ve Horst, 1997). Kalsiyum seviyesiyle ilgili dikkat çekici noktalardan biri de hipokalsemilerde serum kortizol seviyelerinin SKH' de 2 kat, doğumdaki kortizol seviyesine göre de 3 kat daha yüksek seyrettiğinin ortaya konulmuş olmasıdır (Horst ve Jorgensen, 1982). Buzağılamadaki yüksek kortizol seviyesi geçiş dönemdeki immun sistemi kötüleştirerek postpartum dönem hastalık risklerini de arttırabilmektedir (Hunter, 2015).

2.4.3.2. Kalsiyum ve laktasyon enerji denge bağıntısı

İskelet sisteminin enerji dengesindeki olası rolü ilk olarak obez insanlarda osteoporozis görülme oranının düşüklüğü ile farkedilmiştir (Felson ve ark, 1993). Fareler üzerinde ardışık yürütülen çalışmalar ile erişkin osteoblastlar tarafından üretilen osteoklastların hemostatik dengenin düzenlenmesinde başrol oyuncusu olduğu ve kemik ile enerji metabolizması arasındaki negatif geri bildirim mekanizmasını tamamladığı ortaya çıkarılmıştır (Lee ve ark,

2007). Osteokalsinlerin biyolojik olarak inaktif olan karboksile formu kemiklerde yüksek afiniteye sahipken biyolojik olarak aktif olan ankarboksile formu pankreatik beta hücre proliferizasyonu, insülin sekresyonu ve periferel dokularda insülin duyarlılığını arttırmanın yanı sıra adiposit dokulardan adinopektin sanımına neden olmaktadır (Lee ve ark, 2007). Adinopektin osteoblast aktivitesini uyararak (Berner ve ark, 2004) kemik oluşumunu etkilemektedir (Kanazawa ve ark, 2007). Ayrıca adinopektin iskelet kaslarında glukoz kullanımında artma ve hepatik glukoneogenezisin baskılanmasına neden olmaktadır (Yamauchi ve ark, 2002). **Şekil 2.12.**' de iskelet, enerji ve protein metabolizması arasındaki ilişki açıklanmaya çalışılmıştır.



Şekil 2.12.: Kemik dokusu ve kalsiyum arasındaki ilişki (Wolf, 2008; Lean ve ark, 2014' den uyarlanmıştır)

İnsülin osteblast aktivitesini baskılayarak kemik rezorpsiyonunu arttırmaya çalışmaktadır (Lee ve ark, 2007). Bu etkileşim sonucunda kemik matriksinde yeralan lakün içerisindeki ekstraselüler alanın asitleşmesine ve kemik matriksinden vitamin K bağımlı osteokalsin dekarboksilasyonunun artmasını sağlamaktadır. Sonuç olarak osteoklastlar osteoblastlar tarafından üretilmesine rağmen osteoklastların dekarboksilasyonu ile oluşan aktif formu osteoklast aktivitesine bağlıdır. Bu durumun kemik ile enerji metabolizması arasındaki ana bağlantıyı gösterebileceği düşünülmektedir. Kemik metabolitlerine yönelik plazma ve idrardaki değişimlerle ilişkili olarak kemik yenilenmesinin orta ve geç laktasyon, kemik mobilizasyonun ise gebeliğin son dönemleri ve erken laktasyonda meydana geldiği ifade edilmektedir (McNeill ve ark, 2002; Bhanugopan ve ark, 2010).

Yağ doku-kemik metabolizmasını etkileyen diğer bir yolak ise adipositlerden üretilen leptinin kemik kütlesindeki artış inhibisyonunu neden olan, sentral sinir sisteminde yer alan nöropeptit Y ile nöromediyan U' nun osteblastlarda yer alan $\beta 2$ adrenerjik reseptörlerini ($\beta 2$ -AR) uyarması ile sonuçlanan osteoblast aktivitesini engellenmesiyle oluştuğu düşünülmektedir (Takeda ve ark, 2002). Nöropeptit Y direkt olarak osteoblast aktivitesini baskılamakta ve hipotalamusa bağlı olmayan Y1 reseptörleri aracılığıyla adipogenezisi uyarmaktadır (Baldock ve ark, 2007). Diğer bir yandan adipositlerden salınan leptin hormonu gıda alımını azaltmaktadır. Bunun yanı sıra reproduktif performansı yükseltmek amacıyla Kiss1 ekspresyonunu arttırarak GnRH salınımına nedn olmaktadır (Popa ve ark, 2008). Vucut kondüsyonu yüksek olan inek ve koyunlarda leptin LH salınımını uyarmaktadır. Tam tersi durumun söz konusu olduğu nöropeptit Y ise iştah merkezini uyarak GnRH ve LH salınımını azaltmaktadır. İlginç olarak östrojen hem nöropeptit Y salınımını uyarmakta aynı zamanda ise iştah merkezini baskılayıcı etkisi ile gıda alımını azaltmaktadır (Bonavera ve ark, 1994).

Sığırlarda enerji ile kemik dokusu arasında varolan ilişkiyi ispatlamaya yönelik az çalışma mevcut olsa da bahsi geçen hipotezlerin durumu açıklamada yeterli olacağı düşünülmektedir (Lean ve ark, 2014). VKS $>4.5/5$ olan obez ineklerde bilindiği gibi hipokalsemi gelişme riski yüksek bulunmuştur (DeGaris ve ark, 2010). Martinez ve ark (2014)' nin selektif iyonize kalsiyum şelatörü olan %5' lik etilen glikol tetraasetik asit ile laktasyonda olmayan ineklerde oluşturdukları SKH' de izotonik %0.9' luk NaCl uygulanan ve 43 g kalsiyum sülfat ve klorid ile beslenenlere göre KM tüketimin azaldığı, kan glikoz ve NEFA konsantrasyonunun arttığı görülmüştür. Fizyolojik kan Ca^{+2} konsantrasyonunun pankreatik beta hücrelerinden salınan insülinin glukoz stimülasyonu için gerekli olduğu düşünülürse (Capen ve Rosol, 1997) belirtilen çalışmada SKH oluşturulan ineklerde insülin seviyesinin daha düşük olduğu görülmektedir (Martinez ve ark, 2014).

Adinopektin konsantrasyonunun prepartum ve erken laktasyon döneminde rasyon kısıtlaması ile NED oluşturulan ineklerde düşük olduğu ancak benzer rasyon uygulamasının yapıldığı orta ve geç laktasyon döneminde olan ineklerde konsantrasyonundaki değişikliğin önemli olmadığı belirtilmektedir (Singh ve ark, 2014). Ayrıca aynı çalışmada adinopektin ile VKS arasında pozitif yönlü plazma insülin ile negatif yönlü bir ilişki bulunmuştur (Singh ve ark, 2014).

Kalsiyum ile reproduktif sistem arasındaki bağıntıyı bildiren çalışmalara bakıldığında (Erb ve ark, 1985; Martinez ve ark, 2012) kalsiyum ile zenginleştirilmiş melas ve merada

beslenen ineklerde ilk tohumlamada gebe kalma oranının %12 arttığı farklı bir çalışmada da bildirilmiştir (Mckay, 1994). Farklı bir çalışmada katyon-anyon farkının uygulandığı rasyon ile beslenenlerde 510 inekte gebe kalma oranının %17 arttığı belirtilmiştir (Wang ve ark, 1991). SKH' lere bağlı görülen klinik bulgular KMT' deki azalma ya da enerji dengesinin bozulmasının ötesinde immun sisteme olan fagositik aktivitedeki azalma ve nötrofil fonksiyonunun bozulmasına kadar uzanmaktadır (Martinez ve ark, 2014).

Kemik doku ve enerji sistemindeki ilişki pankreatik beta hücre aktivasyonunun 30 günlük yaşta yüksek osteokalsin aktivitesine sahip farelerde %60-300 oranında daha yüksek olmasıyla görülebilmektedir (Lee ve ark, 2007). Ruminantlarda ise zamana bağlı BHBA, glukoz, kolestrol ve NEFA bağıntısı net enerji dengesi ve süt üretimindeki dengeyi açıklayıcı niteliktedir (Lean ve ark, 1992).

2.4.3.3. Kalsiyum immun sistem üzerine etkisi

Kalsiyum organizmada pek çok hücre aktivasyonu için gereklidir. Lenfositlerin aktivasyon ve fonksiyonunda transmembran kalsiyum akışı önemli bir role sahip olup T lenfosit reseptörlerinin lektin ve antijenle etkileşiminden sonraki saniyeler içerisinde kalsiyumun 100 nM bazal seviyeden 1.0 μ M' den daha yüksek seviyeye ulaşmaktadır (Oettgen ve ark, 1985; Lewis, 2001). T lenfosit yüzey reseptörlerine bağlanan antijenler intraselüler enzim olan fosfolipaz C' nin aktive olmasına neden olmaktadır. Aktive olan fosfolipaz C membran fosfolipitlerinin fosfotidilinositol 45-bifosfattan ayrıştırır. İnositol 1,4,5-trifosfat ve 1,2-diaçilgliserol formülasyonları sonucu endoplasmik retikulumdan salınan Ca^{+2} protein kinaz aktivasyonunu başlatır (Weiss, 1989).

Proliferasyon sonrası düzenleyici protein olan kalmodulinin kalsiyum bağımlı kinaz aktivasyonunu sağlayabilmesi için kalsiyumun ile bağlanması gerekmektedir. Ca^{+2} seviyesindeki artış ve proteinkinaz-C aktivasyonu fizyolojik olarak intraselüler IL-2 gen transkripsiyonu için ana unsurlardır (Abbas ve ark, 1991).

Kalsiyumun ikincil haberci sistem ile T lenfositlere olan etkisi beşeri hekimlikte bilinmesine rağmen ekstraselüler Ca^{+2} ile immun hücrelerin laktasyondaki süt ineklerinde olan etkisini belirleyen çok az çalışma bulunmaktadır (Kimura ve ark, 2006). *İn vivo* çalışmada ekstraselüler kalsiyum seviyesinin intraselüler kalsiyum seviyesini gösteren bir belirteç olması ile intraselüler Ca^{+2} seviyesindeki azalmanın hepatositlerdeki hormonal aktivasyona yanıt olan

intraselüler Ca^{+2} artışını kestiği ortaya çıkarılmıştır (Mailhot ve ark, 2000). Bu durum intraselüler Ca^{+2} seviyesinin immun hücre aktivasyonu için gerekliliğinden kaynaklanmaktadır (Oettgen ve ark, 1985; Lewis, 2001; Kimura ve ark, 2006). Çalışmalara göre sütçü ineklerde de azalm ekstraselüler Ca^{+2} seviyesi mononükleer hücrelerin duyarsızlığına neden olmaktadır (Kimura ve ark, 2006).

Kalsiyum erken laktasyonda başka nötrofiller olmak üzere doğum sonrası uterusdaki bakteriyel yükün azaltılabilmesi için immun hücre aktivasyonunu sağlamaktadır. Bu hücrel aktivasyon intraselüler iyonize Ca^{+2} seviyesindeki artışla beraber Ca^{+2} un sinyal iletimindeki sekonder mesajcı olmasıyla sağlanmaktadır (Lewis, 2001). Kimura (2006)' ya göre doğum öncesi mononükleer hücrelerde intraselüler Ca^{+2} depolarındaki azalma peripartum immunsupresyon nedenlerinden biri olarak belirtilmektedir. Ayrıca hipokalsemi gelişenlerde uterus enfeksiyon riskinde artış olduğu ifade edilmektedir (Martinez ve ark, 2012).

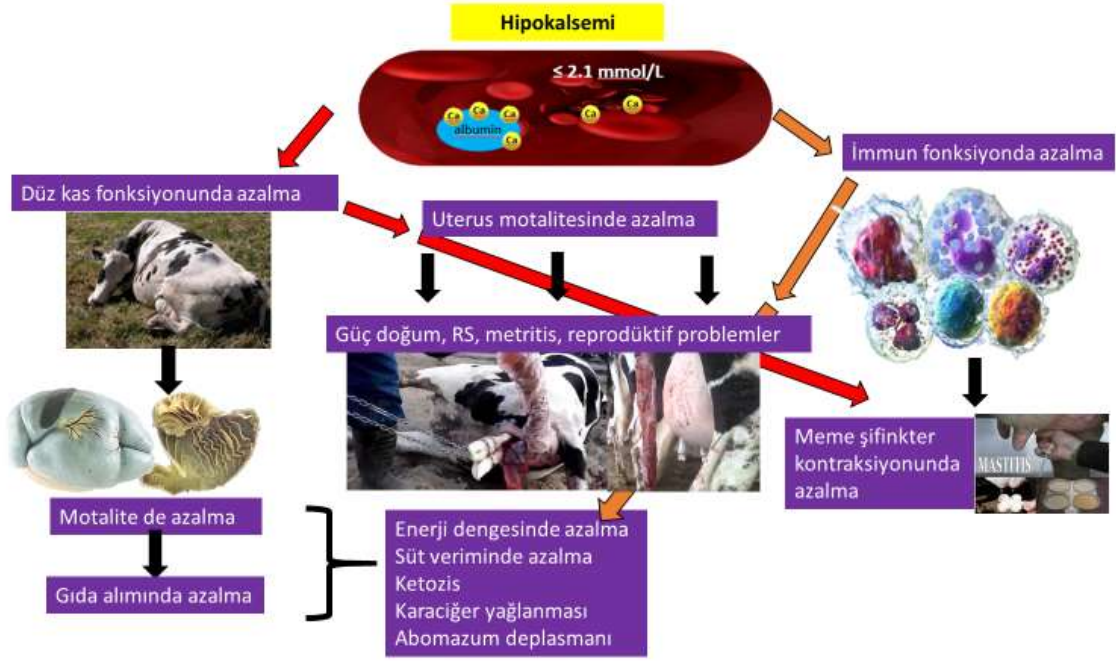
2.4.3.4. Subklinik hipokalseminin postpartum hastalıklarla ilişkisi

Laktasyonun başlamasıyla negatif Ca^{+2} dengesi oluşabilmekte (Reinhardt ve ark, 2011) ve laktasyondaki ilk 6-8 hafta boyunca yem tüketimindeki artış ve barsaklardaki Ca^{+2} emilimi artırılarak bu denge korunmaya çalışılmaktadır (Huzzey ve ark, 2007). Laktasyondaki ineklerde artan Ca^{+2} talebine karşılık çeşitli mekanizmalarla normal Ca^{+2} seviyesi korunabilmekte ve bununla birlikte çoğu inekte meydana gelen postpartum geçici hipokalsemiden sonra normokalsemiye dönüş ve iyileşme sağlanmaktadır (Goff, 2008; Reinhardt ve ark, 2011). Kan Ca^{+2} seviyesinin en düşük seyrettiği zaman dilimi doğumdan yaklaşık 12-24 saat meydana gelmekte olup (Goff, 2008) 48 saate kadar da devam etmektedir (Martinez ve ark, 2012). Normal Ca^{+2} dengesini sağlayamayan ineklerde, süt humması olarak da bilinen klinik hipokalsemi bulguları gelişebilmektedir. Laktasyon başlangıcında görülen hipokalsemi, multiparöz ineklerde primiparlara göre daha şiddetli seyretmektedir (Reinhardt ve ark, 2011). Klinik hipokalsemi, geçiren ineklerde ayağa kalkamama ve spesifik semptomlarıyla en kolay tanınan hipokalsemi formu (Goff, 2008) olmasına rağmen SKH' de Ca^{+2} seviyesindeki değişimlerin şiddetli olmaması dışı dönük klinik bulguların yansımaya engel olmaktadır. SKH' lerde, kan Ca^{+2} konsantrasyonu 5.5-8.0 mg/dL arasında değişkenlik göstermektedir (Goff, 2008). Hastalığın başlangıcında klinik bulgular görülmediği halde, bağışıklık sisteminin bozulması (Kimura ve ark, 2006) ve daha sonra artan hastalık riski nedeniyle genel performans ve verim önemli derecede etkilenebilmektedir (Curtis ve ark, 1983). Ayrıca BHBA ve NEFA

gibi negatif etkileri nedeniyle enerji dengesindeki yetersizlik, enfeksiyöz, reproduktif hastalıklarında da göstergesi olarak görülmektedir (Martinez ve ark, 2012; Chamberlin ve ark, 2013).

Amerika Birleşik Devletleri'nde hipokalsemi insidansının yaklaşık %3,5 düzeyinde olduğu tahmin edilmektedir (DeGaris ve Lean, 2008). Ekonomik kayıplara neden olan hipokalsemide klinik formun hayvan başına kaybın \$300, subklinik formda \$125 olduğu bildirilmektedir. Daha geniş kapsamda ele alındığında 1000 başlık süt sığırcı işletmesinde sürü bazında giderin klinik hipokalsemide \$6,000 iken tahmini %2-3 insidansla seyreden subklinik formda \$37,500 olduğu ve böylelikle SKH'lerde önleyici tedbirlerin alınması gerektiğinin önemi vurgulanmıştır (Hunter, 2015).

SKH'ye bağlı yem tüketimi, rumen ve abomazum motilitatesinde azalma ile abomazum deplasmanı gelişme riskindeki artış olası sonuçları arasında gösterilmektedir (Goff, 2008). Azalan KMT ile birlikte süt üretimi de azalmakta ve postpartum dönem hastalıklarına yakalanma ve sürüden uzaklaştırılma riski artmaktadır (Curtis ve ark, 1983; Seifi ve ark, 2011). Hatta SKH gelişen vakalarda klinik hipokalsemi görülere göre sürüden uzaklaştırılma oranının daha yüksek olduğu belirtilmiştir (Duffield ve ark, 2009). Farklı bir çalışmada da hipokalsemi gelişmeyen ineklerde SKH gelişenlere göre abomazum deplasmanı gelişme riskinin 5 kat artış gösterdiği ifade edilmesine rağmen (Massey ve ark, 1993) SKH ve sol abomazum deplasman insidansı arasında ilişki olmadığını belirten çalışmada mevcuttur (LeBlanc ve ark, 2005). Benzer şekilde reproduktif hastalıklar (mastitis, metritis, retensiyon sekondaryum, güç doğum) ve sürüden uzaklaştırılma oranının daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Erb ve ark, 1985; Martinez ve ark, 2012). Ayrıca azalan Ca^{+2} seviyesi immunsupresyona neden olarak postpartum enfeksiyon riskini arttırmaktadır (**Şekil 2.13.**) (Kimura ve ark, 2006).



Şekil 2.13.: Hipokalsemi ve postpartum hastalıklarla ilişkisi

Subklinik hipokalsemi ve süt verimi arasındaki ilişki çalışmalarda farklılık göstermektedir. Süt verimi sağlıklılara göre daha yüksek bulunan çalışmalar mevcuttur (Rajala-Schultz ve ark, 1999; Østergaard ve Larsen, 2000; Jawor ve ark, 2012). Hipokalsemiyle birlikte sütteki protein miktarının azaldığı ancak diğer kompozisyon belirteçlerinde değişim olmadığı ifade edilmiştir (Chamberlin ve ark, 2013).

Holstein ırkı ineklerde 1 kg süt üretimi için gerekli olan Ca^{+2} miktarı 1.2 g' dır (NRC, 2001). Laktasyon döneminde bu talebin karşılanmasında çeşitli endokrin mekanizmalar görev almaktadır. Kan Ca^{+2} seviyesindeki değişimler sonucunda bağırsaklardan Ca^{+2} emilimi, kemiklerden de reabsorpsiyonu artmakta ve renal atımı azalmaktadır. Bu mekanizmada yer alan 1,25-(OH)₂D₃ ve paratiroid hormon ile bahsi geçen Ca^{+2} hemostazına yönelik değişimler gerçekleşmektedir (Goff ve ark, 1996)

Geçiş döneminde doğum sonrası süt üretimi için gerekli mineral ve enerji talebindeki hızlı artışa karşılık (Bell, 1995; DeGaris ve Lean, 2008) gelişen fizyolojik hemostatik denge mekanizmalarına (Bauman ve Currie, 1980) rağmen postpartum dönemde hastalık gelişme riski oldukça yüksektir (LeBlanc ve ark, 2005). Bu dönemde gelişen NED yanında doğumla birlikte sekteye uğrayan diğer parametreler arasında Ca^{+2} hemostazisi de bulunmaktadır (Duffield ve LeBlanc, 2009). Postpartum serum Ca^{+2} seviyesinin istenilen aralıklarda tutulabilme ve

laktasyondaki ihtiyacı karşılayabilme adaptasyonu yaş ilerledikçe azalmaktadır (Horst ve ark, 1994).

Klinik hipokalseminin insidansı primiparöz ineklerde (%1) multiparöz ineklere (%6) göre daha düşük seyretmekteyken SKH' de bu oran ciddi anlamda artış gösterirken benzer şekilde ilk laktasyon dönemindeki ineklerde (%25) ilerleyen laktasyonlara (%48) göre düşük seyretmektedir (Reinhardt ve ark, 2011). SKH' de klinik bulguların görülmemesiyle birlikte laktasyonun ilk 30 gününde düşük kalsiyum seviyesine bağlı diğer hastalıkların görülme insidansı artış göstermektedir (Chapinal ve ark, 2012a, 2012b; Martinez ve ark, 2012).

Subklinik ketozisle seyreden hastalıklarla beraber laktasyon süt üretimi için gerekli enerjiyi sağlamak üzere yağ dokudan mobilizasyon ile giderilmeye çalışan enerjiye karşı adaptasyon ve KMT azalması, postpartum hayvan refahı ve süt üretimi için önemli bir durumdur (Ospina ve ark, 2010a). Yağ dokulardan mobilize NEFA hem süt bezi hem de diğer dokularda enerji kaynağı oluşturmaktadır (Bell, 1995). Ayrıca NEFA karaciğerde en fazla enerji talebinde kullanılan ve kanda ağırlıklı form olan keton cisimciklerinden BHBA' ya okside olmaktadır (Drackley ve ark, 2001). Bu sebeple iki parametre değerlerindeki artış ile hayvan refahı ve verimindeki bozulma arasında kuvvetli bir ilişki söz konusudur (Ospina ve ark, 2010a; 2010b; Chapinal ve ark, 2012a; 2012b). Ayrıca bu parametrelerdeki değişim yüksek süt verimine sahip ineklerde vücut ağırlığı ve VKS' deki değişimleri de etkilemektedir (Weber ve ark, 2013).

Serum Ca^{+2} konsantrasyonunun postpartum 48 saat içerisinde yüksek seyrettiği ve bu süreçten sonra azaldığı belirtilmektedir (Goff, 2008; Reinhardt ve ark, 2011; Martinez ve ark, 2012; Caixeta ve ark, 2015). Erken laktasyon dönemi Ca^{+2} değerleri, bahsi geçen mekanizmaların yetersiz kalmasıyla ilişkili olarak genellikle düşük seyretmekte ve hipokalsemi sınıflandırmasında klinik hipokalsemide $Ca^{+2} < 5.6$ mg/dL (DeGaris ve Lean, 2008), SKH de doğumdan sonraki 48 saat içerisinde Ca^{+2} 6-8 mg/dL (Oetzel, 2004; Reinhardt ve ark, 2011; Chapinal ve ark, 2012a, 2012b; Caixeta ve ark, 2015) düzeylerine göre yapılabilmektedir. Ancak SKH eşik değeri yapılan çalışmalarda farklılık göstermekle birlikte genellikle 8.0-8.8 mg/dL arasında değişkenlik göstermektedir (Goff, 2008; Chapinal ve ark, 2011; Martinez ve ark, 2012). Bununla birlikte oldukça geniş aralıkta (5.5–8 mg/dL) değerlendirildiği çalışmalar da mevcuttur (Horst ve ark, 2003). Serum Ca^{+2} konsantrasyonunun beklenildiği gibi doğum sonrası azaldığı ve 4. laktasyon gününde artış gösterdiği belirtilmektedir (Melendez ve ark, 2002; Chapinal ve ark, 2012a, 2012b).

2.4.4. Subklinik Hipomagnezemi

Metabolik profil kapsamına alınan diğer element olan Mg^{+2} , K^{+} dan sonra en önemli intraselüler katyon olup pek çok metabolik olayda enzimlerin aktivasyonunda ve ATP' nin kullanıldığı tüm fizyolojik mekanizmalarda yer almaktadır (Rude, 2001; Turgut, 2000; Ağaoğlu ve ark, 2011). Mg^{+2} un organizmadaki kontrolünde tam olarak hormonal bir mekanizma bulunmamasına (Radostits ve ark, 2008) rağmen Ca^{+2} ve fosforda olduğu gibi organizmada düzenlenmesinde PTH, kalsitonin ve D vitamini rol oynamaktadır (Turgut, 2000; Başoğlu ve Sevinç, 2004). Ayrıca insülin (Günther, 2010) ve son dönemlerde epidermal büyüme faktörünün de renal ve intestinal Mg^{+2} emiliminde etkili olduğu ortaya çıkarılmıştır (Groenestege ve ark, 2007).

Magnezyumun Ca^{+2} ile benzer olarak %63' ü kemik, %36' sı deri, kıl, iskelet kasları ve iç organlarda ve sadece %1' lik kısmı da vücut sıvılarında yer almaktadır (Rook ve Storry, 1962). Kandaki Mg^{+2} un %58-72' si aktif form olan ultrafiltrasyon kısmını, geriye kalan %27-42 ise geçirgen olmayan kısmı oluşturmaktadır. Geçirgen formun %50' si iyonize halde ve %50' den daha az kısmı da sitrat ve fosfata bağlı halde bulunmaktadır. Geçirgen olmayan formun yaklaşık %83' ü albümine bağlı iken geriye kalan kısmı diğer bir kan proteini olan globüline bağlıdır (Kleczkowski ve ark, 2013).

Genel olarak 350-700 kg ağırlığında olan bir inekte günlük Mg^{+2} ihtiyacı 5.5-10.5 g olup gebelerde bu miktar 22 g' a kadar çıkabilmektedir. Laktasyonda ise 1 lt süt için 0.63 g Mg^{+2} gereklidir. Ayrıca sütçü ineklerde 1 kg/KM çayır otunda %0,2' den daha az, konsantre yemde ise %0,4' den daha az Mg^{+2} bulunmaması gerektiği bildirilmektedir (Rauch ve ark, 2012; Kleczkowski ve ark, 2013). Ruminantlarda rasyon ya da gıda ile alınan Mg^{+2} un sadece %35' i emilebildiğinden diğer türlere göre yetersizlikleri ile daha sık karşılaşılmaktadır (Ellison, 1984). Ayrıca süt sığırlarında Mg^{+2} talebi beslenme, bulunduğu dönem, kilo ve verime göre değişiklik göstermektedir. Vücutta kan Mg^{+2} miktarı, rasyon ile alınıp bağırsaklardan emilen ve süt üretimi, dokulardaki kullanımı ve böbreklerden atılımı arasındaki dengeye bağlıdır (Radostits ve ark, 2008). Pratik olarak bu ihtiyaçların karşılanamaması ineklerde Mg^{+2} yetersizliğini doğurmaktadır (Kleczkowski ve ark, 2013).

Magnezyumun etkilediği en önemli mineral dengesi Ca^{+2} hemoztazisidir (Rosol ve Capen, 1997; Rude, 2001; Goff, 2008; 2014). Yemlerle alınan Mg^{+2} un ana emilim yeri erişkin

ruminantlarda rumen olup vücut rezervlerindeki miktarı oldukça az olduğundan sürekli rasyon ile alımı gerekmektedir (Rude, 2001). Gebe ve laktasyon döneminde olan ineklerde Mg^{+2} ihtiyacı daha fazla olmakla birlikte eksikliğine karşı duyarlılıkları bu kritik dönemlerde daha yüksektir (Piccione ve ark, 2012). Mg^{+2} ' un yetersiz alınımı verim kaybına ve metabolik hastalıkların artışına neden olabilmektedir (Young ve Rys, 1977; Young ve ark, 1979; Ellison, 1984).

Serum Mg^{+2} seviyesinin azalmasıyla birlikte presnaptik uyarım ve salınımlarda etkili olmasına bağlı olarak pareliz ve tetani meydana gelmektedir (Rosol ve Capen, 1997). Subklinik seyreden hipomagnezemilerde halsizlik, huzursuzluk, yem tüketiminin azalması, immun sistemin baskılanması ve süt veriminde azalma görülen klinik bulgular arasındadır (Kronqvist, 2011; Zhang ve ark, 2012). Hastalığın insidansı Ca^{+2} ile benzer olarak yaşla birlikte artış göstermektedir (Başoğlu ve Sevinç, 2004). Ayrıca kış aylarındaki besleme de hastalığın görülmesini etkilemektedir (Odette, 2005).

Serum Mg^{+2} seviyesindeki analizlerin hayvanın beslenme durumu göstermede temel belirteç olduğu ifade edilmektedir (Herdt ve ark, 2000b; Goff, 2006). Ayrıca geçiş döneminde Ca^{+2} metabolizmasında da rolü bulunmaktadır (DeGaris ve Lean, 2009). Hipomagnezemi klinik hipokalsemiler için en iyi bilinen risk faktörleri arasındadır (Lean ve ark, 2006). Prepartum rasyonlarda yetersiz olan Mg^{+2} doğum zamanı düşük oranda Ca^{+2} mobilizasyonuna neden olabildiği (van de Braak ve ark, 1987) gibi hem PTH sekresyonunda azalmaya (Littledike ve ark, 1983) hem de dokularda PTH' a karşı yanıtın azalmasına (Rude, 2001) neden olarak etki göstermektedir.

Fizyolojik olarak hipokalsemi sonucu salınan PTH kemik ve böbrek hücrelerinde yeralan reseptörlere bağlanarak G protein aktivasyonu GDP molekülü $Mg-GTP$ ' ye dönüşür. Bu işlem sonrasında PTH reseptörlerinden ayrılan G proteini adenilat siklaza bağlanarak adenilat siklazın $Mg-ATP$ ' yi siklik AMP' ye dönüştürmesini sağlar. Son olarak da siklik AMP kan Ca^{+2} seviyesinin normale döndürülme sürecindeki çeşitli kinaz, protein ve enzimlerin aktivasyonunu sağlar. Hipomagnezemilerde oluşan düşük intraselüler Mg^{+2} seviyesi kofaktör eşliğinde oluşan adenilat siklaz aktivasyonunun tam olarak gerçekleşmemesine ve intraselüler $Mg-GTP$ ve $Mg-ATP$ seviyesinin düşmesine neden olmaktadır. Bu durum hipomagnezeminin Ca^{+2} olan etkilerinden biridir (Goff, 2014).

Hipomagnezimin hipokalsemiyi şiddetlendirdiği mekanizmalardan biri dokuların PTH duyarlılığındaki azalmadır (Rude, 2001). Uzun süreli hipomagnezemilerde intraselüler ve ekstraselüler Mg^{+2} seviyesi azalmaktadır (Resnick ve ark, 1993). Adenilat siklaz enzimi Mg^{+2} ile bağımlı kısma sahiptir. İnvitro çalışmada Mg^{+2} yetersizliklerinin adenilat siklaz enziminin Mg -ATP' yi siklik AMP' da dönüşümüne izin vermediği açıkça ortaya konulmuştur (Goff, 2014). ATP ve GTP' nin yapısal stabilizasyonları için katalitik kısımlarında mutlaka Mg^{+2} iyonuna ihtiyaçları vardır. İnsanlarda kabul görmüş uzun süreli hipomagnezemilerin hipokalsemiye sebep olması ile Ca^{+2} ve Vitamin D sağaltımına yanıtız kalan hipokalsemilerde tek başına Mg^{+2} sağaltımının etkin olduğu bilinmektedir (Rude, 2001). Aynı şekilde kan Mg^{+2} seviyesi <1.6 mg/dl olan geçiş dönemindeki ineklerde klinik ve SKH gelişme riski yüksek bulunmuştur (van de Braak ve ark, 1987).

İkincil mekanizma ise hipokalsemilerde PTH sekresyonun azalmasıdır. Hipokalsemilerdeki paratiroid bezi üzerindeki kalsiyum duyarlı reseptörler G-proteinine bağlıdır. Böbrek ve kemik dokudaki benzer mekanizma ile yetersiz Mg^{+2} siklik AMP oluşumunu engelleyerek PTH salınımını azaltmaktadır (Rude, 2001). Sığırlarda PTH salınımının engellenmesi için serum Mg^{+2} seviyesinin 1.4 mg/dL' nin altında seyretmesi gerektiği bildirilmiştir (Goff, 2014). Etçi sığırlarda yapılan bir çalışmada çayır otu ile beslemeye bağlı hipomagnezemi gelişiminin yavaş ve haftalar içerisinde gerçekleştiği ve serum Mg^{+2} seviyesi $0.8 - 1.4$ mg/dL ($0.3-0.5$ mmol/L) arasında seyreden ineklerde klinik bulgu şekillenmediği belirtilmiştir. Aynı hayvanlarda klinik bulguların kan Ca^{+2} seviyesi <5 mg/dL olduğunda görülmesine bağlı olarak tetani gelişimlerinde Mg^{+2} ve Ca^{+2} seviyelerinin birlikte azalması gerektiği ifade edilmiştir (Littledike ve ark, 1983).

İneklerde plazma Mg^{+2} seviyesi genellikle $0.75-1.0$ mmol/L ($1.8-2.4$ mg/dL) referans aralığında olup hipomagnezemi durumlarında $0.5-0.8$ mmol/L ($1.15-1.8$ mg/dL) iştahta ve süt veriminde azalma benzeri az sayıda ve belirgin olmayan klinik bulguyla seyrettiği belirtilmektedir (Goff, 2008).

2.4.4.1. Magnezyum emilimini etkileyen faktörler

Bütün canlılar için gerekli olan Mg^{+2} ihtiyacı ruminantlarda daha fazla olmakla birlikte özellikle ineklerde erken laktasyon dönemindeki etkileri daha fazladır. Magnezyum emilimini ve metabolizmasını etkileyen farklı faktörler ile karşılaşılmaktadır (Kleczkowski ve ark, 2013).

Potasyum ve sodyum: Yüksek K^+ ve nitrojen ile düşük Na^+ oranına sahip çayırlarda beslenen hayvanlarda çayır tetanisi gelişme riskinin daha yüksek olduğu bilinmektedir (Head ve Rook, 1995). Ayrıca kaba ve konsantre yem beslemeden çayır beslemesine geçildiğinde de hipomagnezemi ile karşılaşmaktadır (Care ve ark, 1967). Rasyondaki yüksek K^+ konsantrasyonunun Mg^{+2} elimini etkilediği kabul edilen bir durumdur (Newton ve ark, 1972; Fisher ve ark, 1994). Ancak aksi yönde K^+ un rumendeki Mg^{+2} emilimine olan etkisinin rasyondaki K^+ içeriğinden ziyade rasyonda yetersiz Mg^{+2} seviyesiyle ilişkili olduğu ve K^+ un rumendeki elektiriksel aktiviteyi değiştirerek emilimini etkilediğine dair de çalışmalar mevcuttur (Leonhard-Marek ve Martens, 1996; Schonewille ve ark, 1997; Holtenius ve ark, 2008; Kronqvist, 2011).

Magnezyumun rumenden emiliminde aktif Na^+ bağımlı süreç, ikincil bir etkidir (Etschmann ve ark, 2009). Na^+ yetersizliğinde tükrükteki K^+ miktarı 100 mmol/L ' yi aşmakta ve Mg^{+2} emilimini etkilemektedir. Na^+ yetersizliklerinin klinik bulguların farkedilememesine bağlı göz ardı edilebilmesinin yanı sıra rumendeki 200 g gibi yüksek Na^+ havuzu uzun süreli olarak yetersizliğini kompanze etmektedir (Kemp ve Geurink, 1996). Diğer bir faktör ise yüksek oranda K^+ alınmasıyla rumende Na^+ emilimi stimule edilerek idrarla atılımı artmakta ve ruminal Na^+ kapasitesi azalmaktadır (Lang ve Martens, 1999). Rasyondaki $Na^+ : K^+$ oranı rumeno-retiküler Mg^{+2} emilimini özellikle rumen içeriğinde yer alan düşük konsantrasyondaki çözünebilir Mg^{+2} bulunduğunda olumsuz yönde etkilemektedir (Johnson ve Jones, 1989).

Körpe çayır otları düşük Na^+ ve yüksek K^+ içeriğinden dolayı rumendeki $Na^+ : K^+$ oranının azalmasına, K^+ seviyesinin artmasına ve sonuç olarak Mg^{+2} un emilimini azaltmasına neden olmaktadır (Martens ve Schweigel, 2000).

Nitrojen ve amonyum: İneklerde yüksek miktarda amonyum asetatın rumene verilmesiyle artan ruminal amonyum (NH_4^+) konsantrasyona bağlı olarak Mg^{+2} miktarının azaldığı belirtilmiştir (Head ve Rock, 1995; Martens ve Schweigel, 2000). Diğer taraftan yüksek protein içerikli rasyon ile besleme ya da artan ruminal NH_4^+ içeriğin Mg^{+2} elimini ya da idrarda atılımını etkilemediğinin düşünüldüğü çalışma da bulunmaktadır (Fentenot ve ark, 1973). Bu farklılığın olası nedeni olarak da ani NH_4^+ artışıyla Mg^{+2} emiliminin azalabileceği ancak uzun süreli artışlarda fermentasyon mekanizmalarının uyarılmasıyla adaptasyonun sağlanacağı belirtilmektedir (Martens ve Schweigel, 2000).

Ruminal pH: Rumen sıvısındaki çözünebilir Mg^{+2} seviyesi besleme ile bağıntılı rumen pH' sı arttığında 6,0 mmol/L' den <0.5 mmol/L' ye kadar düşebilmektedir (Johnson ve ark, 1998). Rumen ortamındaki Mg^{+2} çözünürlüğü hemen her zaman çayır otuyla beslemede yükselen rumen pH değişiminden etkilenmekle (Dalley ve ark, 1997) birlikte rumen sıvısının ani bir şekilde >6.0' ya düşmesiyle Mg^{+2} çözünürlüğü azalmakta (Johnson ve Jones, 1989) ve beraberinde idrardan Mg^{+2} atılımı da değişmektedir (Dalley ve ark, 1997). Bunun yanı sıra rumen epitellerinde Mg^{+2} Emilimini etkilediği düşünülen TRPM7 reseptörlerinin rumendeki varlığı (Schweigel ve ark, 2008), beşeri alanda yürütülen çalışmada pH' nın <7.0 düşmesiyle bu reseptörlerin aktive olmasıyla desteklenmektedir (Li ve ark, 2007).

Fermente Karbonhidratlar: Karbonhidrat fermente ürünleri olan uçucu yağ asitlerinin kalın bağırsak ve rumenden Mg^{+2} Emilimi üzerine etkisi olduğu bilinmektedir. Epitel hücrelerinin apikal membranlarında yer alan Na^+/H^+ değişimi için intraselüler proton etkisi oluşturan uçucu yağ asitleri benzer şekilde kolon ve rumenin apikal epitel membranında bulunan Mg^{+2}/H^+ değişiminde uyarıcı etkisiyle Mg^{+2} Emilimini sağlamaktadır (Scharrer ve Lutz, 1992). Aynı şekilde koyunlarda yapılan çalışmada Mg^{+2} Emilimini arttırdığı görülmüştür (Leonhard-Marek ve Martens, 1996).

Hayvan ırkları: Sığır ırkları arasında rumenden Mg^{+2} Emilimleri arasında farklılıkların olduğu, Brahman ırkı sığırlarda Jersey, Holstein ya da Hereford ırkına göre daha fazla olduğu bildirilmiştir (Greene ve ark, 1989). Koyunlarda yürütülen çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir (Leonhard-Marek ve Martens, 1996). Fare ve domuzda plazma Mg^{+2} seviyesinin düzenlenmesinde genetik faktörlerin etkili olduğu belirtilmektedir (Özgo ve ark, 2007; Robak ve ark, 2016). Mg^{+2} Emiliminde etkili olan reseptör (TRPM) mutasyonunun domuzlarda (Robak ve ark, 2016) ortaya çıkarılması söz konusu ırka bağlı değişimin diğer türlerde olabileceğini de göstermektedir.

2.5. Sürü Bazında Biyolojik Testler

Sürü bazlı işletme sayılarının artışı ve geçiş dönemde meydana gelen hastalıkların takibini yapmak ve olası risklerini azaltmak için sürü bazında metabolik profillerin oluşturulması önem kazanmıştır (Herdt ve ark, 2000a). Kanda yer alan çeşitli biyokimyasal maddeler şüpheli tanıda destekleyici bir kanıt görevi üstlenerek prognostik indikatör ve

tedaviye alınan yanıtın takip edilmesinde kullanılmaktadır (Calamari ve ark, 2016). Sürü sağlığı kapsamında, metabolik profilin tanısal amaçlı kullanımı (Ingraham ve Kappel, 1988) ilk olarak 1970' lerde İngiltere' nin Compton eyaletinde, bir seri analitik testlerin bir arada yürütülmesi ile oluşturulmuştur (Payne ve ark, 1970). Sürülerde metabolik profil terimi 'beslenme problemleri ve metabolik hastalıkların önlenmesi ve değerlendirilmesinde yararlı olan kandaki biyokimyasal maddelerin analizi olarak ifade edilebilmektedir (Rossata ve ark, 2001). Sütçü sürülerde gerçekleştirilen kan testlerinde metabolik profil değerlendirmesi ile sürdürülebilir hemostazis yeteneğinin anormal değer gösteren parametreler yardımıyla belirlenebileceği bildirilmektedir (Payne ve ark, 1970). Son dönemlerde yapılan çalışmalar ile metabolik profilin anlamlılığı, ölçülen parametrelerin fizyolojik, patofizyolojik ve genetik modifikasyona alınan dinamik yanıtı yansıtabilme yeteneği ile genişletilmeye çalışılmıştır (Clarke ve Haselden, 2008).

Sürü bazında metabolik profilin oluşturulmasına yönelik Payne ve ark (1970) tarafından glukoz, üre, inorganik fosfor, magnezyum, sodyum (Na⁺), potasyum (K⁺), albümin, globülin, hemoglobin ve bakır parametrelerini kapsayan The Compton Metabolic Profile Test' i dizayn edilmiştir. Kida (2002)' nin metabolik profilin oluşturulmasına yönelik yaptığı çalışmada, Payne ve ark (1970)' larından farklı olarak BHBA, NEFA, trigliserit, total protein, kolesterol, AST, GGT ve Ca⁺² yer almaktadır. Geçiş döneminde sığırlarda, beslenme durumunu yansıtan birçok parametre incelenmektedir. NED yanında doğumla birlikte sekteye uğrayan diğer parametreler arasında nitrojen dengesi ve Ca⁺² hemostazıda bulunmaktadır (Duffield ve LeBlanc, 2009).

2.5.1. Sürü Bazında Esterleşmemiş Yağ Asitlerinin Değerlendirilmesi

NED belirlenmesinde NEFA adipoz dokulardan mobilize olan yağ miktarının büyüklüğünü ve BHBA' da karaciğerde yağların oksidasyon kapasitesini yansıtan iki önemli parametre olarak görülmektedir (Duffield ve ark, 2009). Geçiş döneminde NED' i belirlemek için ölçülen parametreler arasında NEFA daha duyarlı (Ospina ve ark, 2010b; 2010c) olmasına rağmen BHBA testi de bu anlamda sıklıkla kullanılmaktadır (Ospina ve ark, 2010b). Bunun sebebi olarakta NEFA kitlerinin ve ölçümlerinin daha pahalı olması ve NEFA için dondurularak saklanan serum ve plazma örneklerinin sonuçları etkilemesi olarak düşünülmektedir (Samach ve ark, 2011). Ancak hem prepartum hem de postpartum dönem NEFA değerlerinin (Chapinal

ve ark, 2011) BHBA testine göre NED' i daha iyi yansıttığı ifade edilmektedir (Ospina ve ark, 2010b; 2010c). Bu sebeple NEFA testi parturum döneminde şekillenen NED' in belirlenmesinde önemli bir parametredir (Herdt, 2000a).

NEFA başta olmak üzere BHBA testleri yardımıyla NED belirlenerek metabolik hastalıkların %75' inin meydana geldiği düşünülen (LeBlanc ve ark, 2006) geçiş dönemi hastalıkları, reproduktif performans ve süt veriminde azalma gibi önemli durumların tespiti yapılabilmektedir (Dyk ve ark, 1995; Nydam ve ark, 2013; Opsomer, 2015). Doğum öncesi yükselen NEFA konsantrasyonu parturum dönem AD (Cameron ve ark, 1998), yağlı karaciğer, ketozis ve diğer hastalıklar içinde hazırlayıcı bir faktör olarak görülmekte olup (Kaneene ve ark, 1997) doğum öncesinde oluşan NED' in tolere edilemeyeceği ifade edilmektedir (Oetzel, 2003a).

Pozitif enerji dengesinde ve sağlıklı olan ineklerde kan NEFA konsantrasyonu 200 μM dir. Doğuma son üç hafta kala bu değer artış göstermekte olup son hafta da 300 μM ' ye ulaşmaktadır. Doğumun son ki gününde hayvanın fizyolojik olarak NED içerisine girdiği dönemde NEFA 800-1200 μM ' ye varan değerler göstermektedir. Doğum sonrası azalma göstermekle birlikte 3. günde pik seviyeye ulaşmakta ve doğumdan üç hafta sonra normal değerlere dönüş göstermektedir (Drackley, 2000; LeBlanc ve ark, 2005).

Sürü bazında parturum dönem hastalıkların tahmin edilmesinde kullanılan yüksek sensitivite ve spesifiteye sahip NEFA eşik değeri 0.3 mEq/L ile 0.5 mEq/L arasında değişiklik göstermektedir (Cameron ve ark, 1998; LeBlanc ve ark, 2005; Ospina ve ark, 2010b; 2010c; Chapinal ve ark, 2011; Roberts ve ark, 2012). Michigan da yapılan çalışmalara göre doğumuna 14 günden daha fazla süre kalanlarda NEFA eşik değeri 0.325 mEq/L, doğumuna 2-14 gün kalanlarda bu değer 0.4 mEq/L olduğu belirtilmektedir. 6 yıl boyunca 18 sürüde gerçekleştirilen çalışmalar ışığında, doğuma kalan günler de göz önünde bulundurularak 272 örnek incelenmiş ve bunların %13' unde NEFA konsantrasyonlarının yüksek bulunduğu belirtilmiştir (Oetzel, 2003a).

Yapılan çalışmalar ışığında parturum NEFA eşik değerleri 0.70 mEq/L ile 1.0 mEq/L arasında değişiklik göstermektedir (LeBlanc ve ark, 2005; Ospina ve ark, 2010b; 2010c; Chapinal ve ark, 2011; Roberts ve ark, 2012; Ospina ve ark, 2013).

Ketozis ile NED arasındaki ilişkiye bağlı olarak parturum SKK varlığının belirlenmesinde NEFA testi kan BHBA parametresinden sonra ikincil önemli testtir. NEFA

testi SKK' nın doğum öncesi NED ve yağlı karaciğer hastalığına bağlı şekillendiğinin göstergesidir (Oetzel, 2003a). Doğuma bir hafta kala NEFA konsantrasyonunun 0.7 mEq/L' den fazla olmasının SKK riskini 5 kat daha fazla arttırdığı ifade edilmektedir (Osborne, 2003).

Yapılan çalışmalar ışığında prepartum dönemde NEFA eşik değeri sahip incelenen ineklerin oranı %15 alarm seviyesi olan sürülerde AD ve klinik ketozis oluşma riskinin %3.6 artış gösterdiği ve ayrıca gönüllü bekleme periyodunda gebe kalma oranının %19 azaldığı (Ospina ve ark, 2010c) ve 305 günlük laktasyon döneminde 128 kg/hayvan başı süt üretiminde azalmaya neden olduğu belirtilmiştir (Ospina ve ark, 2010a). Farklı bir çalışmada NEFA ≥ 0.33 mEq/L olan sürülerde 305 günlük laktasyon sürecinde ortalama 310 kg süt veriminde azalma meydana geldiği belirtilmiştir (Ospina ve ark, 2010c).

Sürü bazında belirlenen NEFA eşik değerini geçen ineklerin prevalansı ve belirlenen prevalansın sürü üzerindeki etkilerinin araştırıldığı 55 farklı sürüden elde edilen veriler ışığında, prepartum son haftada NEFA eşik değeri ≥ 0.5 mmol/L olan ineklerin oranlarından belirlenen prevalans dağılımları %6.5-75 arasında değişkenlik gösterdiği ve %25 oranı sürü bazında risk sınırı olarak belirtilmiştir. Ancak sürülerde risk sınırı (alarm seviyesi) baz alınarak, sürüler düşük riskli (<%25) ve yüksek riskli (\geq %25) olarak sınıflandırıldığında süt verimi ve proteinindeki azalma, AD gelişme riski farklılıklar göstermektedir. Ancak yüksek riskli grupta belirlenen sürülerde çok önemli sürü problemi olmadığı da ifade edilmiştir (Duffield ve LeBlanc, 2009).

Prepartum dönem doğumuna son 6 gün kalan ineklerin incelendiği sürülerde NEFA ≥ 0.5 mEq/L olanlarda postpartum 11. güne kadar sol AD gelişme riski 3.6 kat artış göstermiştir. Ayrıca postpartum 1-7. günlerde meydana gelen retensiyo sekondaryum, metritis, yükselen NEFA ve BHBA konsantrasyonunun sol AD ile ilişkili olduğu belirtilmiştir. (Ospina ve ark, 2010a). Benzer olarak incelenen 56 farklı sürüdeki 2149 inekte, doğumdan bir hafta önce NEFA ≥ 0.5 mEq/L değere sahip olan ineklerin %23' nde sol AD gelişme riski eşik değerinin altında olan ineklere göre 2.8 kat artış göstermiş olup postpartum NEFA > 1.0 mEq/L olanların %20.5' inde, 1. haftada sol AD gelişme riski 4.4, 2. haftada ise 3.6 kat artış göstermiştir (Carson ve ark, 2008).

Doğumuna bir hafta kalan ineklerde NEFA ≥ 0.4 mmol/L (%95 güvenilirlik, CI=1.4-2.2), doğumdan sonraki ilk hafta NEFA ≥ 0.8 mmol/L (%95 güvenilirlik, CI=1.5-2.6) ve doğumdan

sonraki 2. haftada NEFA ≥ 0.8 mmol/L olanlarda laktasyonun ilk 60 gününde sürüden uzaklaştırılma riskinde artış görüldüğü ifade edilmektedir (Roberts ve ark, 2012).

Postpartum dönem yükselen NEFA konsantrasyonunun geçiş dönemde meydana gelebilecek hastalıklarla ilişkili olduğu düşünülmektedir. Postpartum NEFA ≥ 1.2 mmol/L (Melendez ve ark, 2009), postpartum 3-14. günlerde NEFA ≥ 0.6 mmol/L (Ospina ve ark, 2010a; 2010b) olan sürülerde geçiş dönem hastalıklarının oluşma riskinin arttığı bildirilmiştir. Ancak küçük ölçekli Thai sürülerinde NED' i değerlendirmek için yapılan çalışmada belirtilen NEFA değerlerinde geçiş dönem hastalıklarının şekillenmediği belirtilmiştir (Hoekstra, 2014).

Postpartum yükselen NEFA konsantrasyonunun da ise sol AD riskini 2-4 kat (Cameron ve ark, 1998; LeBlanc ve ark, 2005), retensiyon sekondaryum riskini 1.8 kat (LeBlanc ve ark, 2004), laktasyonun ilk 60 gününden önce sürüden uzaklaştırılmayı 2 kat ve bütün laktasyon boyunca sürüden uzaklaştırılma riskini 1.5 kat (Duffield ve ark, 2009) artışla, laktasyonun ilk 120 gününde süt veriminde 0.54 kg/gün azalışla (Carson, 2008) ilişkili bulunmuştur. Postpartum NEFA ≥ 0.72 mEq/L olan sürülerde gönüllü bekleme periyodunda gebe kalma oranının %16 azaldığı ifade edilmiştir (Ospina ve ark, 2010c).

Doğumdan 48 saat önce NEFA konsantrasyon artışının normal olmasıyla ilişkili olarak bu süreç içerisinde toplanan örnek analiz sonuçlarının doğum öncesinde şekillenen NED' e bağlı oluştuğunu söylemek güç bir durum olup son iki günde toplanan örneklerin çalışma dışında bırakılmasının tavsiye edilmesinin yanında eğer bu örnekler değerlendirilmek istenirse de BHBA testinin yorumlara eşlik etmesinin daha doğru olduğu belirtilen diğer ifadeler arasında yer almaktadır. Kuru dönemde bulunan ineklerde SKK görülme olasılığı çok düşük olmasına rağmen SKK gelişme riskinin doğumun son 48 saatinde artabileceği ifade edilmektedir (Oetzel, 2003a; 2004).

Yükselen NEFA konsantrasyonuna sahip grup içerisindeki ineklerin oranları için risk sınırı (alarm seviyesi) kesin olarak tanımlanamamıştır. Michigan' da yürütülen çalışmalarda yedi hayvandan üçünde yükselen NEFA değerinin normal olabileceği belirtilmektedir. Ancak devam eden uzun süreli çalışmalar ışığında doğum öncesi ciddi rasyon sıkıntısı yaşanan sürülerde grup içerisinde değerlendirilen hayvanların %10' ndan (Oetzel, 2003a), farklı bir çalışmada da %25' den (Duffield ve LeBlanc, 2009) daha fazlasında NEFA' nın yüksek olmasının risk sınırını temsil edebileceği bilinmektedir.

Küçük sürülerde NED incelenirken pre-fresh ineklerin sayısının sürü bazında yorumlama için yeterli olmadığı ve pre-fresh dönemde olan bütün ineklerin örnekleme alınması gerektiği belirtilmiştir. Gerekirse örneklerin dondurulup yaklaşık 12 ya da daha fazla uygun örnek biriktirildikten sonra analizler gerçekleştirilip yorumlanabileceği ifade edilmektedir (Oetzel, 2003a; Oetzel ve McGuirk, 2008). Bununla ilişkili 110 farklı işletmede SKK' in sürü bazında taranmasında işletme başına 10 ineğin yeterli olduğu ve bireysel örnekleme göre laboratuvar maliyetinin % 90 azaldığı belirtilmiştir (Borchardt ve Staufenbiel, 2012).

Büyük sürülerde ise pre-fresh ineklere ulaşmak daha kolay olup NEFA için alt gruplar oluşturulabilmektedir. Bu grupların oluşturulmasında ve elde edilen sonuçların NED' e yönelik değerlendirilmesinde önceliğin doğumu yakınlaşan hayvanlara verilmesi gerektiği ancak bu işlem esnasında doğumuna iki günü kalanların fizyolojik olarak NED içerisine girmelerinden dolayı çalışmaya dahil edilmemeleri gerektiği ifade edilmektedir (Oetzel, 2003a). Geçiş dönemi prepartum ölçümlerde, NEFA testlerinin uygulanabileceği zaman dilimi yaklaşık 12 gün olup bu zaman diliminde de doğum gerçekleşene kadar testin yapılabilirliği tahmin edilememektedir (Oetzel ve McGuirk, 2008). Klinik tecrübelerle dayanılarak prefresh dönemde NEFA testi için seçilen ineklerin %75' nin 2-14 gün sonra gerçek anlamda doğumlarının gerçekleştiği bildirilmiş, hedeflenen 12 ya da daha fazla sayıda hayvanı yakalayabilmek için en az 16 örneklemenin yapılması gerektiği belirtilmiştir (Oetzel ve McGuirk, 2008).

Çalışmalar yapılırken örnekleme dahil edilen inekler arasında doğumuna çok yakın zaman kalanların hem pre-fresh bokslarında hem de doğum bokslarında serumlarının toplanmasının yararlı olabileceği dikkat edilmesi gereken hususlar arasında görülmektedir. Doğumuna kısa zaman kalan ineklerde yer değişimi ve fizyolojik etkilere bağlı doğum birkaç gün gecikebilmektedir. Bu durum bakım ve besleme hatalarının yanı sıra NEFA konsantrasyonunda artış oluşturabilmektedir (Oetzel, 2003a).

NEFA konsantrasyonu besleme sonrası 4-5 saat sonra en düşük seviyede iken (Eicher ve ark, 1998) gün içerisinde yapılacak diğer besleme öncesinde de pik seviyeye ulaşmaktadır. TKR ile beslemenin yapıldığı sürülerde ilk beslemeden 1 saat öncesi yükselen NEFA konsantrasyonunun besleme sonrası 4 ya da 10 saat sonrasına göre daha yüksek prevalansa sahip olduğu belirtilmiştir (LeBlanc, 2010) Bu sebeple NEFA konsantrasyonunun pik yaptığı hemen besleme öncesi zaman en uygun örnekleme zamanı olarak düşünülmektedir (Herdt, 2000b). Gün içerisinde oluşan NEFA değerindeki oynamaların yapılan besleme ve göreceli

olarak da yemin partikül büyüklüğünden etkilenmesine bağlı oluşabileceği varsayılmaktadır (Oetzel, 2003a).

Sonuç olarak sürülerde yürütülen son derlemeye göre bakım ve besleme yönetiminin yanı sıra meydana gelebilecek hastalıkları ve azalan reproduktif performansın olumsuz etkilerini ortadan kaldırmaya yönelik stratejiler geliştirilmesi gerektiği ve bu amaçla yapılan çalışmalar ışığında kullanılan NEFA ve BHBA testinde; prepartum 2-14. günlerde NEFA ≥ 0.3 mEq/L ve postpartum 3-14. günlerde NEFA ≥ 0.6 mEq/L, BHBA ≥ 12 mg/dL (1.2 mmol/L) konsantrasyonuna sahip ineklerin oranının %15' den fazla olması ve bunun için en az 15 hayvanın incelenmesi, incelenen sürülerde TKR ile besleme, serbest besi, 250 baştan fazla sağmal olması, süt veriminin takibini sağlayan DHIA ya da Dairy Comp 305 (Valley Ag. Software, 2009) yazılım programının kullanılmış olması gerektiği ifade edilmiştir (Nydam ve ark, 2013).

Sürü bazında NEFA konsantrasyonlarının oldukça yüksek gözlendiği durumlarda pre-fresh gruptaki ineklerin KMT arttırılmaya çalışılmalıdır. Pre-fresh diyetleri iyileştirme yoluna gidilmeli bunun içinde rasyondaki enerji ve yapısal etkili kaba lifli yem içeriği, lezzetlilik oranı ve besleme sıklığı arttırılmalı, bunun yanı sıra hayvanların yataklık alanları genişletilerek refah düzeyleri yükseltilmelidir (Oetzel, 2003a).

NEFA ölçümünde laboratuvar ortamı gerektiren ölçüm metotlarından biri olan DVM NEFA testi, serum örneklerinden spektrofotometrik yöntem ile NEFA konsantrasyonun belirlenmesine dayanmakta olup günümüzde kullanım alanı bulmamaktadır. Çiftliklerde kullanım kolaylığı açısından daha çok tercih edilen NEFA-C kiti (Wako Chemicals, Richmond, VA) NEFA konsantrasyonunu belirlemeye yarayan hastabaşı kitlerden biridir (Rollin, 2006; Townsend, 2011). Son verilere göre New York State Animal Health Diagnostic Center' da örnek başına yapılan NEFA testinin US \$11 olduğu belirtilmiştir (Quiroz-Rocha ve ark, 2010).

Marshfield Laboratuvarları ve Michigan Hayvan Sağlığı Tanısal Laboratuvarı NEFA ölçümü için toplanan plazma örneklerinin numunelerde bulunan esterleşmiş yağların enzimatik hidrolize uğrayabilmesi bakımından laboratuvara getirilene kadar soğuk tutulması ya da dondurulması gerektiğini bildirmiştir (Oetzel, 2003a).

BHBA konsantrasyonu serum örneklerinden ölçülebilirken NEFA konsantrasyonu EDTA' lı plazma ya da serum örneklerinden yapılmaktadır. İnsanlarda yapılan çalışmalarda antikoagulantlı tüplerin kullanımı, analiz zamanının uzatılması ve ortam sıcaklığının NEFA

değerini etkilediği bildirilmiştir (Rogiers, 1978; McGann ve Hodson, 1991; Menendez ve ark, 2001).

Örneklerin dondurulmasıyla ilgili toplanan kan örneklerinden serumlarının 12-24 saat sonra çıkarılmasının ya da toplanan örneklerinin daha sonra yapılacak işlemler için dondurulmamasının NEFA sonuçlarını yükselttiği belirtilmiştir (Stokol ve Nydam, 2004; Ehsani ve ark, 2008).

Brookes ve ark (1984)' nın 8-10 inekten EDTA' lı tüplere alınan kan örnekleri plazmalarına ayrıştırıldıktan sonra incelenen NEFA değerlerinin serumlardan yapılan incelemelere göre çok az yükseldiği ifade edilmiştir. Çeşitli antikoagulantlı tüplere (EDTA, heparin) ve antikoagulant içermeyen serum tüplerine (boş tüp ve serum separatör (SST) alınan kan örneklerinin serum ve plazmalarına ayrılmış ve ayrılmamış haliyle beraber farklı saklama koşulları ile saklama sürelerinin, NEFA değerleri üzerine olan etkilerinin incelendiği çalışmada, plazma ve serumları ayrılmadan tüm olarak saklanan kan örneklerinin +4°C ile +24°C' de 24 saat saklandıktan sonra yapılan incelemelerinde, NEFA konsantrasyonlarında önemli farklılıkların olmadığı belirtilmiştir. Aynı zamanda farklı metotlarda incelenen örneklerin +4°C stabil olduğu +24°C' de 24-48-72 saatlerde ise artış gösterdiği belirtilmiştir. SST içeren ve heparinli tüplerde yapılan incelemelerinde NEFA değerini etkilediği belirtilmiştir. Sonuç olarak sığırlarda yapılan NEFA testlerinde EDTA' lı ya da SST içermeyen antikoagulantsız serum tüplerine alınan kan örneklerinin serum ve plazmalarına ayrıştırıldıktan sonra +4°C' de analizler yapılana kadar ya da en fazla 24 saat içerisinde serum ve plazmalarına ayrıldıktan sonra saklanması gerektiği ifade edilmiştir (Stokol ve Nydam, 2005).

Çeşitli stres faktörlerinin (Uetake ve ark, 2006), günlük hareketlerin ve yemlemenin (Bitman ve ark, 1990) kan glukoz ve NEFA değerlerini etkilediği belirtilmiştir. Laktasyondaki ineklerde yürüme aktivitesi ile kan NEFA konsantrasyonu arasında negatif bir ilişki olduğu ifade edilmiştir (Adewuyi ve ark, 2006). Ayrıca kanın toplanması esnasında hayvanlarda oluşan stresinde NEFA değerlerini etkilediği belirtilmiştir (Leroy ve ark, 2011). Postpartum 11-46. günler arasında olan ineklerde stres üzerine yapılan bir diğer çalışmada da günlük yapılan işlemlerin, yer değiştirme ve işletmelerde yer alan kilitleme sistemlerinin de kan glukoz ve NEFA değerlerini arttırdığı belirtilmektedir (Leroy ve ark, 2011).

Yapılan farklı bir çalışmada hemolizin NEFA konsantrasyonu üzerine olan etkisi incelenmiş olup orta dereceli şekillenen hemolizin bile NEFA konsantrasyonunu etkilediği ifade edilmiştir. (Stokol ve Nydam, 2006).

2.5.2. Sürü Bazında Betahidroksi Bütirik Asit Değerlendirilmesi

Laktasyonun ilk aylarında sütçü ineklerin en az %50' sinin SKK' ya yakalandığı görülmektedir (Knop ve Cernescu, 2009). Günümüzde ketozisin tanımlanmasında veteriner hekimlere olanak sağlayabilen ve saha şartlarında kullanılabilen diyagnostik testler mevcuttur (Oetzel, 2007).

Kanda ve sütte aseton, asetoasetikasit ve BHBA konsantrasyonlarının yükselmesi ketozis tanısında kullanılmaktadır. Keton cisimciklerinin kan ve süt konsantrasyonları arasındaki pozitif ilişkiye bağlı olarak SKK tanısında sütte keton cisimciklerinin daha kolay belirlenebileceği belirtilmektedir (Enjalbert ve ark, 2001). Sütte keton cisimciklerinin varlığını belirleyen farklı sensitivite ve spesifiteye sahip çeşitli laboratuvar ve hastabaşı testler de mevcuttur (**Tablo 2.3.**) (Geishauser ve ark, 1998).

Sütte aseton (Heuer ve ark, 200b) ve BHBA (Roos ve ark, 2007) miktarını belirlemeye yarayan metotlardan biri Fourier dönüşümlü infrared spektrofotometresi (FTIR)' dir. Bu metot ile sütte belirlenen keton cisimcikleri ve diğer indikatörlerle beraber sürüde meydana gelen SKK' nın gözlemlenebileceği belirtilmektedir (Roos ve ark, 2007).

Ketozis analiz yöntemlerinde, sütte BHBA testinin tercih edilme nedenleri arasında asetonun daha uçucu yapıda olması (Kaneko, 1989), asetoasetikasitin kararsız yapısı (Bruss, 1989) ve TKR ile beslenen ineklerde BHBA' nın günlük aktivitelerden çok az etkilenmesi (Nielsen ve ark, 2003) olarak görülmektedir.

SKK için BHBA testi altın diyagnostik değerinde bir ölçüttür. BHBA, SKK tanısında yaygın kullanılan, yağ oksidasyonunun belirteci olan ve keton cisimciklerinin kanda ağırlıklı bulunan formudur (Tyopponen ve Kauppinen, 1980; Knop ve Cernescu, 2009).

Hastalıkların tanı ve önlenmesinde kullanılan postpartum BHBA eşik değeri 0.9-1.6 mmol/L ve çoğunlukla da 1.2-1.4 mmol/L arasında değişkenlik göstermektedir (LeBlanc ve ark, 2005; Walsh ve ark, 2007a; Duffield ve ark, 2009; Ospina ve ark, 2010b; 2010c; Chapinal

ve ark, 2011; Seifi ve ark, 2011; Roberts ve ark, 2012; Suthar ve ark, 2013; Compton ve ark, 2014).

Sürü bazında bireysel hayvanların SKK tanısı bağlamında BHBA referans değeri, sağlıklı hayvanlarda tespit edilen değerlerden oldukça farklıdır (Oetzel, 2007; McArt ve ark, 2011; 2012c). Kanadalı araştırmacı Duffield (1997) SKK tanısında kullanılan BHBA eşik değerini 1.4 mmol/L (14.4 mg/dL=1400 µmol/L) olarak belirtmiştir. Daha düşük olan ≥ 1.2 mmol/L (12.4 mg/dL=1200 µmol/L) BHBA eşik değerleri hem bireysel (Geishauser ve ark, 1998) hem de sürü bazında (Ospina ve ark, 2010a) SKK tanısı için kullanılmıştır. Çalışmalar içerisinde klinik ketozis için ifade edilen yüksek BHBA konsantrasyonlarına sahip ineklerin çoğunda klinik bulgular görülmemiştir (Ospina ve ark, 2010a; McArt ve ark, 2012a; 2013). Bu bağlamda elde edilen ve baz alınan eşik değerdeki oynamaların sürü bazında sonuçların yorumlanmasına çok etkisinin olmadığı belirtilmektedir (Oetzel, 2007).

Belirtilen bu değerlerin üç katı seviyelere sahip sığırlar AD, klinik ketozis (Oetzel, 2007) ve 19.4 mg/dL (yaklaşık 2000 µmol/L) değere sahip olanlar ise süt veriminde azalma (Duffield, 1997) gibi bozukluklara predispoze hale gelmektedir. Klinik ketozis için BHBA çok daha yüksek seviyededir (3 mmol/L) (Oetzel, 2004). Ancak bazı ineklerde iştahsızlık ve durgunluk dışında yüksek BHBA değerine rağmen klinik bulgular gözlenmediği belirtilmiştir (Oetzel, 2013a). Ayrıca büyük ölçekli sürülerde bireysel yem alımının tespit edilememesine bağlı olarak çoğu sürüde klinik ketozis varlığını belirlemek güçtür. Bu sebeple SKK' nın sürü bazında aranmasına ilişkin yapılan çalışmalarda BHBA konsantrasyonu 30 mg/dL' den yüksek ineklere rastlanıldığı belirtilmiştir (Oetzel, 2003a).

Sürü bazında BHBA eşik değeri ≥ 14.4 mg/dL olarak belirtilmektedir. Yapılan çalışmalar doğrultusunda laktasyonun 5-50. gün aralığında özellikle de erken laktasyon dönemi ilk 2 hafta içerisinde (SKK oluşma riskinin, prepartum-doğum ve erken laktasyon döneminde gerçekleştirilen bakım ve beslenme ile yakından ilişkili olmasına bağlı olarak) (Duffield ve ark, 1998) bulunan inekleri içeren grupların oluşturulması ve bu gruptan rastgele seçilen 12 ya da daha fazla sayıda inekte örnekleme yapılması gerektiği belirtilmektedir (Oetzel, 2007). Analiz sonuçlarına göre 12 ineğin % 15' inde BHBA eşik değerinin ≥ 14.4 mg/dL olması, sürünün SKK yönünden risk taşıdığı anlamına gelmekte olup bu oranın %10 olmasının ise sürünün risk sınırında bulunduğunu ve SKK' ya yönelik yapılan diğer diyagnostik testlerle desteklenmesi gerektiği ifade edilmektedir (**Tablo 2.4.**) (Oetzel, 2003a; Duffield ve LeBlanc, 2009).

Tablo 2.4. : BHBA test sonuçlarının yorumlanması (Oetzel, 2003a).

Grup sayısı: 50, Örnek sayısı:12, Güvenilirlik: %75, Risk değeri: %10		
Sonuçlar	Yüzdeleri	Yorumları
0/12	%0	Negatif
1/12	%8.3	Sınırdadır
2/12	%16.7	Sınırdadır
3/12	%25.0	Pozitif
4/12	%33.3	Pozitif
5/12	%41.7	Pozitif
6/12	%50	Pozitif

Değerlendirilen minimum hayvan sayısının sürü başına 12 ya da daha fazla sayıda, laktasyonun 5-50. günleri arasında olmasının önemli olduğu ifade edilmektedir. Orta (yaklaşık 10-50 baş) ya da küçük ölçekli (yaklaşık 1-10 baş) sürülerde SKK yönünden değerlendirmede, erken laktasyon dönemindeki ineklerin tamamının ya da çoğunluğun incelenmesinin çalışmanın güvenilirliğini arttırdığı, ancak ekonomik yansımaları göz önüne alındığında belirtilen örneklemelerin yeterli olduğu ifade edilmektedir. Büyük ölçekli sürülerde ise sürüyü yansıtabilecek sayıda hayvanın örnekleme katılmasının gerektiği bildirilmektedir (**Tablo 2.4.**) (Oetzel, 2007).

BHBA testi, serum örneklerinden yapılabilen ve başka herhangi özel bir örnek alma işlemi gerektirmemektedir. Ancak BHBA değeri, asetoasetata göre *mamariale vena*' da daha düşük seviyede olduğu için kan örneklerinin bu damardan alınmaması önerilmektedir (Kronfeld ve ark, 1968).

Kan BHBA konsantrasyonu besleme sonrası artış göstermektedir (Eicher ve ark, 1998; Manston ve ark, 1981). En yüksek BHBA konsantrasyonunu elde etmek için örnekler beslemeden 4-5 saat sonra toplanmalıdır (Eicher ve ark, 1998). Besleme sonrası BHBA konsantrasyonu silajda ve rumende oluşan fazla miktardaki bütirik asitin, rumen duvarında kolay bir şekilde bütirik asite dönüşmesiyle pik seviyeye ulaşmaktadır (Oetzel, 2003a).

Sürüde SKK' nın yüksek ya da düşük oranda var olup olmadığının değerlendirilmesi, hastalığa ait klinik bulguların spesifik olmayışı ve subklinik seyretmesinden dolayı zor bir durum olarak görülmektedir (Oetzel, 2003a). BHBA testi, ketozis için altın diyagnostik önem taşımaktadır (Tyopponen ve Kauppinen, 1980; Knop ve Cernescu, 2009). Ancak ketozis gelişmeden önce çeşitli belirteçlerin değerlendirilmesiyle hastalığın oluşma riski bulunan hayvanların belirlenebileceği düşünülmektedir. Bu amaçla yapılan bir çalışmada postpartum

dönemde, ketozis gelişme riskine sahip ineklerin saptanmasında hangi kriterlerin göz önünde bulundurulması gerektiği belirtilmektedir. Özellikle ilerleyen gebeliğin önemli bir belirteç olduğu, ikincil olarak da ketozis insidansının değerlendirilmesi gerektiği bildirilmektedir. Prepartum dönemde artan VKS ve NEFA konsantrasyonu ile doğum esnasında oluşan komplikasyonların (güç doğum ve anomaliler) postpartum dönemde gelişmesi muhtemel ketozis riskine karşı dikkate alınması gerektiği ifade edilmiştir (McArt ve ark, 2012b).

Gün içerisinde sürekli beslemenin yapıldığı işletmelerde kan alım zamanının BHBA konsantrasyonu üzerine etkisi olmadığı ve gün içerisinde yapılan tek ölçümün SKK tanısı için yeterli olduğu belirtilmiştir (Mahrt ve ark, 2014).

Mamarial vena' dan alınan kanda BHBA değeri, jugular ya da kuyruk venasından alınan örneklere göre daha düşük (0.3-0.4 mmol/L) konsantrasyonda olup (Redetzky ve ark, 2003; Wilhelm ve ark, 2013), süt yağı sentezi için BHBA'nın meme bezleri tarafından kullanımına bağlı arterio-venöz farklılıkların oluştuğu ifade edilmektedir (Kronfeld ve ark, 1968; Guinard-Flament ve ark, 2011). Sonuç olarak BHBA için yapılan örneklemelerde hem pratik olması hem de belirtilen sebeplerden dolayı jugular ya da kuyruk venasının tercih edilebileceği bildirilmektedir (Redetzky ve ark, 2003; Oetzel, 2004; Wilhelm ve ark, 2013; Mahrt ve ark, 2014).

İki farklı hasta başı BHBA cihazının altın laboratuvar testi ile kıyaslandığı ve dondurulmuş plazma örneğinin farklı sıcaklıklara getirildikten sonra [oda sıcaklığında (20-22 °C) ve 37 °C] ölçüldüğü çalışmada her iki cihazın güvenle kullanılabilceği belirtilmiştir (Leal Yepes ve ark, 2018).

2.5.3. Sürü Bazında Kalsiyumun Değerlendirilmesi

Erken laktasyon döneminde enerji dengesini sağlamak amacıyla meydana gelen adaptasyon mekanizmalarına (Bauman ve Currie, 1980; LeBlanc ve ark, 2005) rağmen ineklerde kalsiyum konsantrasyonu azalmaktadır (Caixeta ve ark, 2015).

Hipokalseminin olası sonuçları negatif enerji dengesiyle açıklanmaktadır. Hipokalsemi şekillenmeyen ineklerde serum NEFA konsantrasyonunun hipokalsemili olanlara göre oldukça

düşük olduğu (Reinhardt ve ark, 2011) benzer etkinin SKH ile de ilişkili olduğu çalışmalarla ortaya konulmuştur (Martinez ve ark, 2012; Chamberlin ve ark, 2013).

Yapılan bir çalışmada prepartum dönemdeki Ca^{+2} ölçümün postpartum hipokalsemiyi belirlemede daha öncül belirteç olduğu bildirilmektedir (Kimura ve ark, 2006).

Kısmi karışım rasyonuyla beslenen üç farklı sürüde gerçekleştirilen çalışmada postpartum ilk üç gün içerisinde belirlenen SKH (6-8 mg/dL= 1,5-2 mmol/L), NED' sinin NEFA >0.7 mEq/L ve BHBA \geq 1.2 mmol/L değerine göre belirlendiği doğum sayılarına göre gruplandırılan 92 ineğin tümünde postpartum ilk 30 gündeki kilo kaybı görülürken, kilo kaybetme oranının SKH, NED ve postpartum hastalıkların ortaya çıkmasına göre değişkenlik gösterdiği bildirilmiştir (Caixeta ve ark, 2015). Farklı bir çalışmada ise sürü bazında postpartum +1. haftada da NEFA ve BHBA ile birlikte $Ca^{+2} \leq$ 2.1 mmol/L birlikte değerlendirildiğinde farklı oranlarda abomazum deplasmanı, süt veriminde azalma, gebe kalma oranında azalmanın meydana geldiği görülmüştür (Chapinal ve ark, 2012b).

2.5.4. Sürü Bazında Magnezyumun Değerlendirilmesi

Subklinik hastalıkların sütçü sığırlarda verim ve performansını etkilediği açıkça bilinmektedir. Laktasyon başlangıcı ve kuru dönemdeki hormonal ve metabolik adaptasyona makromineral dengedeki değişimler de eşlik etmektedir (Neves ve ark, 2017).

Sürü bazında serum Mg^{+2} seviyelerinin yönetim, yem maddelerinin yetiştirildiği toprak ve bireysel faktörlerden oldukça etkilendiği, sürülerde Mg^{+2} değerlendirmesinin meranın kimyasal yapısından ziyade yapılan beslemeden yararlanmasıyla daha yakından ilişkili olduğu ve sürü bazında belirlenen ortalama Mg^{+2} seviyesinin rehber olabileceğini ancak bireysel olarak görülen hipomagnezimiye maskeleyebileceği düşünülmektedir (Feyter ve ark, 1986). Bunun yanı sıra doğum sonrası 12 saat içerisinde sürüde 9-10 hayvanda yapılan analizlerle Mg^{+2} seviyesinin \leq 2.0 mg/dl (0,8 mmol/L) (Goff, 2006) veya <0,6 mmol/L (<1,5 mg/dL) (Feyter ve ark, 1986) olmasının rasyondaki Mg^{+2} eksikliği ya da emilimin engellendiği beslenme tablosunu yansıtacağı belirtilmektedir.

Sürü bazında değerlendirmenin gerçekleştirildiği çalışmada Feyter ve ark (1986)' na göre Mg^{+2} konsantrasyonunun yaşla birlikte azalırken vücut kondüsyonunun iyileştirilmesiyle arttığı

bildirilmektedir. Ayrıca eş zamanlı toprak analizlerinin de gerçekleştirildiği çalışmada sürü bazında Mg^{+2} değerinin, Mg^{+2} supplementi uygulananlarda daha yüksek seyrettiği ifade edilmektedir. Bu sebeple sürülerde Mg^{+2} seviyesinin bulunulan coğrafya, rasyondaki kaba yem ve K^+ oranı ve ırka bağlı olduğu bildirilmiştir (Feyter ve ark, 1986)

Magnezyumun sürü içerisindeki büyük değişimi sürü bazında seviyesinin yalnızca rehber olabileceği, sürü içerisindeki ortalama seviyesinin sürü içerisinde bireysel hipomagnezemi gösterenleri maskeleyebileceği, bunun da sürü içerisinde pek çok hayvanın Mg^{+2} katkısına yanıt verirken bir kısmında hipomagnezemik tetani olmasına bağlanmaktadır (Feyter ve ark, 1986).

2.5.5. Laktatın Değerlendirilmesi

Laktat, basit hidroksikarboksilik asit olup asimetric C2 atomundan dolayı 2 stereoizomere sahiptir. Tipik olarak ışığın saat yönünde kırılması ile ilişkili olarak D-izomer (sağ rotasyon) ve saat yönünün tersinde kırılması sonucu da L-izomer (sol rotasyon) olarak isimlendirilmektedir. Laktatın klasik sınıflandırılmasında kullanılan + (D-izomer) ve - (L-izomer) laktat, gliseraldehitin 2 kiral formunun moleküler benzerliğinden kaynaklanmaktadır. Ancak iki izomerinde kimyasal ve fiziksel özellikleri benzerdir (Wright ve Jamali, 1993).

Memeli hücrelerinde endojen serum laktat konsantrasyonunun büyük çoğunluğunu L-laktat oluştururken D-laktat metilglioksal yolla oluşmasına bağlı normal serumda nanomolar düzeyde bulunmakta olup milimolar seviyeye ulaşması daha çok bakteriyel üretim sonucunda gelişmektedir. D-laktatın mitondriyal membrandan geçişi okzalasetat ve malatın sitozole çıkışıyla gerçekleşmektedir. Mitokondriyal matrikse giren D-laktat mitokondriyal iç yüzde bulunan D-laktat dehidrojenaz tarafından okside olmaktadır (Bari ve ark, 2002). Ancak ruminant ve diğer memelilerde D-laktat dehidrojenaz enzim eksikliği söz konusudur (Halperin ve Kamel, 1996).

D-laktat, L-laktat' a göre çoğunlukla bakteriyel fermentasyonla oluşmaktadır (Haschke-Becher ve ark, 2000; Connolly ve ark, 2005; Petersen, 2005). D-laktatın esas üretim yeri rumen, sekum ve kolonda bulunan laktobasil (*L. acidophilus*, *L. buchneri* and *L. fermenti* and *Escherichia coli*) ve bifidobakterlerden oluşan bakteriyel popülasyonun fermentasyonu ile gerçekleşmektedir. Normal şartlarda oluşan D-laktatın üretimi diğer mikroorganizmalar tarafından asetat ve uçucu yağ asitlerine parçalanmalarından dolayı asidoz tehdidine neden olacak düzeyde olmamaktadır (Halperin ve Kamel, 1996). Oluşan organik asitlerden

propiyonat, karaciğer tarafından glikoz, trigliserit ya da karbondioksit ve bütirata dönüştürülerek enerji metabolizmasında kullanılmaktadır (Dunlop ve Hammond, 1985).

L-laktatın majör endojen üretim kaynağı iskelet kasları ve bağırsaklar (Arieff ve Graf, 1987) olmakla birlikte dokularda oluşan hipoperfüzyon ya da dokulardaki bakteriyel fermentasyon sonucu da oluşmaktadır (Hove ve ark, 1999). L-laktat üretimi NADH kofaktör eşliğinde laktat dehidrojenaz enzimi aracılığıyla pruvattan sentezlenmektedir. Bu mekanizma özellikle kas doku, eritrositler ve sekonder olarak hipoperfüzyon gelişen dokularda NAD açığa çıkararak glikolizin devam etmesinin sağlanmasıyla gerçekleşmektedir (McClendon ve ark, 2005). L-laktata bağlı hiperlaktatemi dehidrasyon, şok, endotoksemi (Weil ve Afifi, 1970; Mizock ve Falk, 1992), splenik işemi ya da abomazal volvulus ile şekillenen abomazal nekrozun meydana getirdiği lokal hipoperfüzyon (Lange ve Jackel, 1994; Wittek ve ark, 2004a; 2004b) gibi pek çok durumdan doğan zayıf sistemik ya da lokal doku perfüzyonunun göstergesidir. Laktat üretimindeki artış, özellikle karaciğer ve daha az olarak böbreklerin klerens seviyesini aştığında serumda hiperlaktatemi şeklinde kendini göstermektedir (Omole ve ark, 2001; Wittek ve ark, 2004a).

Serum laktat seviyesi beşeri alanda, kritik hastalarda mortalitenin gözlemlenmesinde yaygın kullanılan bir parametredir (Husain ve ark, 2003). Benzer şekilde veteriner hekimliği alanında da kullanımı mevcuttur. Kan laktat seviyesi yangısal durumlarda artış göstermesinden dolayı ruminantlarda plazma laktat konsantrasyonu endotoksemilerin şiddetinin belirlenmesinde ve mortalitenin gözlemlenmesinde güvenilir prognostik öneme sahiptir (Coghe ve ark, 2000). Gerçekleştirilen bir çalışmada multiparöz gebe kontrol grubunu oluşturan ineklerde doğum öncesi 4. günden itibaren postpartum 3. güne kadar artış gösterdiği ve ardından hızlı bir şekilde azalma ile seyrettiği belirtilirken aynı çalışmada hepatik lipidozisli ineklerde aynı süreçte laktat seviyelerinin daha düşük seviyede stabil seyrettiği bildirilmiştir (Ametaj ve ark, 2005). Yapılan farklı çalışmalarda müdahale ile gerçekleştirilen buzağı doğumlarında spontan doğuma göre laktat seviyesinin doğum sonrası daha yüksek olduğu ortaya konulmuştur (Diesch ve ark, 2004; Sorge ve ark, 2009). Solunum sistemi problemi olan buzağılarda serum laktat konsantrasyonunun özellikle 24 saat içerisinde ölen buzağılarda artış gösterdiği ve prognostik değerlendirme de kullanılabileceği belirtilmektedir (Coghe ve ark, 2000; Nagy ve ark, 2006). Gene ishali buzağılarda dehidrasyon ve asidozis ilişkisinde L-laktatın öneminin incelendiği bir çalışmada, sekiz günlükten daha küçük ishali buzağılarda hiperlaktatemiden doğan metabolik asidozisin sekiz günden büyük olanlara göre daha şiddetli

olduğu ve bu durumun genç buzağıllarda olası laktat klerensinin daha düşük ve glikojen depolarının daha az olmasından kaynaklanabileceği belirtilmiştir. Aynı çalışmada sıvı tedavisinden sonraki ilk altı saatte hemotokrit oranındaki değişim ile laktat arasında pozitif bir ilişkinin olduğu gözlemlenmiştir (Naylor, 1987). Ancak ishalde D-laktatın daha fazla oranda üretim ve birikiminden dolayı L-laktat değerlendirilmesinin yardımcı olmayacağı belirtilmektedir (Ewaschuk ve ark, 2004).

İnsan ve diğer evcil memelilerde serum L-laktat seviyesi genellikle 0.5 to 3 mmol/L arasında seyretmektedir (Kreisberg 1980). Dinlenme halinde llen L-laktat seviyesinin <1.5 mmol/L olması normal olarak belirtilmektedir (Guyot, 2015). Erken laktasyon döneminde (postpartum 1-38. gün), farklı laktasyon sayıları içerisinde (1-5. laktasyon) bulunan sağlıklı sütçü sığırılarda, hasta başı cihaz ile yapılan serum L-laktat analizlerinde ortalama L-laktat konsantrasyonunun 0.54 mmol/L (0.42–0.72 mmol/L) olarak bulunmasına karşın sağ abomazum deplasmanı bulunan çalışma grubunda, operasyon sonrası 30 gün içerisinde ölen ya da sürüden uzaklaştırılanların ortalama laktat konsantrasyonlarının 5.88 mmol/L olup kontrol ve operasyon sonrası 30 gün içerisinde iyileşenlere (3.23 mmol/L) göre daha yüksek olduğu ve sağ abomazum deplasmanlarında L-laktat seviyesinin hastalığın etkisi hakkında gsterge olabileceği düşünülmektedir (Figueiredo ve ark, 2006). Benzer bir çalışmada da abomazum deplasmanı ve abomazal volvulus bulunan ineklerde operasyon öncesi <2 mmol/L olan L-laktat seviyesinin postoperatif olarak pozitif sonuçları doğurabileceği, 2-6 mmol/L olan ölçümlerde hasta sahibi ve ekonomik duruma bağlı olduğu ve >6 mmol/L ile karşılaşılan durumlarda ise postoperatif sürecin negatif geliştiği bildirilmektedir (Boulay ve ark, 2014). Bronkopneumonili buzağıllarda prognostik açıdan 24 saat içerisinde ölen buzağıllarda, hasta başı L-laktat eşik değerinin >4 mmol/L olduğu belirtilmiştir (Coghe ve ark, 2000; Nagy ve ark, 2006).

Ruminantlarda glukoz sentezinde kullanılan kaynaklardan biri de laktat olup glukoneogeneziste karbon kaynağının %10-15' ini oluşturmaktadır (Huntington, 1990). Geçiş dönemindeki ineklerde her iki laktat formu ile oksidatif durum arasındaki ilişkinin incelendiği çalışmada prepartum D ve L-laktat ile oksidant ajanlar ve postpartum L-laktat konsantrasyonu ile antioksidant bariyer arasında bir ilişkinin olduğu ortaya konulmuştur (Abuelo ve ark, 2011). Geçiş döneminde laktatın benzer şekilde her iki formunun araştırıldığı diğer bir çalışmada ise ticari spektrofotometrik yöntemle belirlenen L-laktatın doğum öncesi iki ay ve doğum sonrası iki buçuk ayı kapsayan süreçte stabil seyrettiği ifade edilmektedir (Hernndez ve ark, 2011).

Sütçü sığırlarda doğum sonrası rumen epitellerinin absorpsiyon kapasitesinin azalması, ruminal floranın adaptasyon yeteneğinin azalması ve yüksek enerji içerikli rasyona geçişle ilişkili olarak postpartum ilk üç hafta içerisinde ruminal asidozis gelişme riski daha yüksektir (Nordlund ve ark, 1995). Akut, subakut ve kronik ruminal asidozis teşhisi konulan 100 sütçü sığırdaki rumen içerik pH' sı ve L-laktat seviyesi arasında önemli negatif bir korelasyonun ($p=0.001$; $r=0.495$) bulunduğu bildirilmiştir (Chehreh ve Fartashvand, 2014). Ancak geçiş döneminde laktat izomer seviyeleri, ruminal asidozis ve oksidatif stres arasındaki ilişkinin incelendiği bir çalışmada bu süreçte her iki izomer ile rumen içerik pH' sı arasında negatif bir ilişki bulunmakla birlikte D-laktat seviyesinin L-laktata göre prepartum ($P=0.004$) ve postpartum ($P=0.001$) dönemde daha yüksek seyrettiği belirtilmektedir. Bu durum diğer memeli canlılarda olduğu gibi sütçü ineklerde de L-laktatın L-laktat dehidrojenaz varlığında pruvata hızla hidrojenize olması ve D-laktat dehidrojenaz enzim yetersizliği ile D-laktatın renal yolla uzaklaştırılmasının daha uzun sürmesi, ruminal asidozisle birlikte L-laktata göre daha yüksek seyreden D-laktat seviyesini açıklanabilmektedir (Abuelo ve ark, 2015).

2.5.5.1. Laktat ölçümünü etkileyen faktörler

Rasyon içeriği ve besleme zamanı, laktat konsantrasyonunu etkileyebilmektedir. Bu konuyla ilişkili olarak besi sığırlarında besleme sonrası 2. saatte serum laktat konsantrasyonunun önemli derecede artış gösterdiği ancak bu durumun klinik olarak verim kaybına neden olmadığı belirtilmektedir (Leedle ve ark, 1995). Besi sığırlarından farklı olarak sütçü sığırlarda genel olarak 24 saat boyunca TMR ile besleme yapılmakta olup tüm günlük periyodu kapsayan laktat analizlerinde farklılıkların olmadığı bildirilmiştir (Figueiredo ve ark, 2006). Yine geleneksel ve organik besleme yapılan Holstein ve Jersey ırkı sütçü sığırlarda kış ve yaz uygulamalarında değerlendirilen laktat seviyelerinde; organik beslenen sütçü ineklerde geleneksel yöntemlere göre, Holstein ırkında Jerseyye göre ve kışın yazın göre daha yüksek laktat seviyesi belirlenmiştir. Kışın beslemesinin ve Holsteinlerin genetik olarak kilogram vücut ağırlığı başına daha fazla yem tüketmesinin serum laktat seviyesini etkileyebileceği ifade edilmektedir (Odhiambo ve ark, 2013).

Kan alım işleminin ardından devam eden glikolizis ile artan serum laktat seviyesi, sonuçların yanlış yorumlanmasına neden olabilmektedir (Astles ve ark, 1994). Bu sebeple çeşitli antikoagulant maddeler içeren tüplerin kullanılması ve antikoagulant madde farklılıklarının laktat seviyesi üzerine etkisini kapsayan çalışmalar mevcuttur. Bu amaçla alınan

kanın taşınması esnasında, sodyum florid (NaF) ve/veya potasyum oksalat kombinasyonları gibi koruyucu maddelerle glikolizisin engellendiği belirtilirken (Astles ve ark, 1994) lityum heparin içeren tüplerde NaF' ye göre L-laktat seviyesinin 0.3 mmol/L daha yüksek olduğu laboratuvar testleriyle ortaya çıkarılmıştır (Burfeind ve Heuwieser, 2012). Glikolizisin engellenmesinde diğer bir yöntem de kan alımının hemen ardından hasta başı cihazlarla laktat seviyesinin belirlenmesidir (Castagnetti ve ark, 2010). Hasta başı farklı cihaz ve laboratuvar metotlarıyla gerçekleştirilen çalışmada analiz sürecinin uzayacağı durumlarda NaF içeren antikoagülanlı tüplerin kullanımı tavsiye edilirken (Astles ve ark, 1994; Burfeind ve Heuwieser, 2012) Hasta başı Lactate Scout ile gerçekleştirilen ölçümlerde NaF içeren tüplerin kullanımında, laboratuvar analizlerine göre sonuçların oldukça yüksek olduğu belirtilmiştir. Oluşan farklılığın NaF' nin, hasta başı cihazlarda gerçekleşen elektrokimyasal reaksiyonu etkilemesiyle ortaya çıktığı düşünülmektedir (Burfeind ve Heuwieser, 2012).

2.5.5.2. Hasta başı laktat analizi

Günümüzde D-laktat analizini gerçekleştiren hasta başı cihazlar bulunmamaktadır. L-laktat seviyesinin belirlenmesinde laboratuvar analizleri dışında farklı hasta başı cihazlar da kullanılmaktadır (Figueredo ve ark, 2006; Delesalle ve ark, 2007; Van Oldruitenborgh-Oosterbaan ve ark, 2008; Burfeind ve Heuwieser, 2012; Boulay ve ark, 2014). Hasta başı cihazların pek çok kullanım avantajı bulunmaktadır. Çiftlik ortamında analizlerin hızlı bir şekilde değerlendirilmesi ve daha fazla sayıda hasta da fazla analiz gerçekleştirme olanağı sağlamaktadır (Buczinski ve ark, 2014). Hasta başı L-laktat ölçümü yapan cihazların güvenilirliği köpek (Thorneloe ve ark, 2007; Tas ve ark, 2008), kedi (Acierno ve ark, 2008) tay (Castagnetti ve ark, 2010) ve buzağılarda (Coghe ve ark, 2000; Burfeind ve Heuwieser, 2012) yapılan çalışmalarla kanıtlanmışken benzer şekilde sütçü sığırlarda hasta başı cihazların laboratuvar referans değerlerine göre güvenilirliklerinin belirlendiği çalışmalar (Burfeind ve Heuwieser, 2012; Karapinar ve ark, 2013; Buczinski ve ark, 2014) da mevcuttur. Bu konu kapsamında yapılan bir çalışmada farklı iki hasta başı cihaz ile belirlenen laktat seviyesinin laboratuvar referans değerlerine göre farklılığın gözardı edilebilecek kadar düşük seviyede olduğu ve laboratuvar değerlerinde daha yüksek belirlenen L-laktat seviyelerinin ise laboratuvara götürme esnasında ve plazma ayırmak için gerçekleştirilen santrifüj işleminden doğabileceği belirtilmektedir. Aynı çalışmada buzağılarda hasta başı cihazlar ile yapılan ölçümlerin buzağılarda daha güvenilir olduğu ifade edilmektedir (Burfeind ve Heuwieser, 2012). Farklı bir çalışmada ise hasta başı laktat cihazının [LactatePro (Arkay, Kyoto, Japan)]

laktat analizinde altın standart olarak görülen StatProfile Critical Care Xpress (StatP) laboratuvar referansı ile kıyaslandığında (($r = 0.9736$ [95% güven aralığı [CI]: 0.9562–0.9841]) ineklerde kullanımının güvenilir ve uygun olduğu belirtilmiştir (Buczinski ve ark, 2014). StatP laboratuvar cihazı ile laktat ölçümü, 130 µL tam kan örneği ile laktat oksidaz ile kaplanmış elektrotlarda kandaki laktatın pruvat ve hidrojen peroksit dönüştürülmesiyle açığa çıkan hidrojen peroksit oranının belirlenmesiyle gerçekleşmektedir. Bu cihazda ölçüm aralığı 0.3–20.0 mmol/L olarak ifade edilmektedir (Jensen ve Kjelgaard-Hansen, 2006; Thorneloe ve ark, 2007). LacPro (Arkray, Kyoto, Japan) hasta başı laktat cihazında ise amperometrik metot ile ölçüm yapılmaktadır. Lityum heparinli kandan alınan bir damla örnek ile 60 saniyede L-laktat ile laktat oksidaz arasındaki reaksiyon ile potasyum ferrosiyanid, potasyum ferrosiyanide indirgenir. Potasyum ferrosiyanide bağlı oluşan elektriksel akım ile laktat seviyesi belirlenmektedir (Buczinski ve ark, 2014).

2.5.6. Sürü Bazında Biyolojik Testler Yapılırken Dikkat Edilmesi Gereken Hususlar

Hastalık tanısı ve metabolik profil değerlendirilmesinde metabolik metotlar benzer olmasına rağmen sürü bazında yapılan örnekleme ve yorumlamasında farklılıklar bulunmaktadır. Hastalık tanısı konulurken kan analizlerindeki bir ya da birden fazla parametredeki değişimler göz önüne alınırken metabolik profilin uygun yorumlanması ve değerlendirilmesi için fizyolojik olarak sağlıklı görünümlü hayvanlardan toplanan örnekleme kapsamaktadır (Friedrichs ve ark, 2012). Sürü bazında incelenen metabolik profiller hastalıkların tanısından ziyade oluşabilecek hastalık risklerinin ortaya konulmasında kullanılmaktadır. Bu sebeple özellikle geçiş dönemi reproduktif ve metabolik hastalıklar, besi durumu (Ingraham ve ark, 1998; Bertoni ve Trevisi, 2013), stres profili (Abeni ve ark, 2007; Calamari ve ark, 2013) ve sağlık durumunun belirlenmesinde ve önlenmesinde, gözlemlenen metabolik profil rasyon, yönetim ve bakım koşulları (Abeni ve ark, 2005; Calamari ve Bertoni, 2009) ile beraber incelenmelidir.

2.5.6.1. Bireysel ya da grup olarak test sonuçlarının yorumlanması

Sürü bazında yapılan test sonuçlarının yorumlanması bireysel olarak yapılanlardan oldukça farklıdır. Bireysel olarak gerçekleştirilen testler genellikle 100 sağlıklı hayvanda ve %95 güvenilirliği olan laboratuvar sonuçlarına göre belirlenen referans aralıkları göz önünde bulundurularak yorumlandığı için kolay bulunmaktadır. Ancak grup, yani fazla sayıda hayvanın

bulunduğu sürüler üzerinde yapılan testler farklı şekilde yorumlanmalıdır. Bireysel hayvanlarda belirlenen referans aralıkları grup değerlendirilmelerinde uygun bulunmamaktadır. Sürü için referans aralığı belirlenirken gruplar oluşturulmalı ve bu gruplardaki hayvan sayısı göz önüne alınmalıdır. Alınan örnek sayısı sürünün tamamını yansıtabilecek şekilde oluşturulmalıdır (Oetzel, 2003a, 2004, 2005).

2.5.6.2. Oran ya da ortalama yöntemi

Test sonuçları yorumlanırken cevaplanması gereken sorulardan biride elde edilen test sonuçlarının ortalamasının mı yoksa belirlenen referans aralığının aşağısında ve yukarısında değerlere sahip hayvanlarının oranının mı kullanılması gerektiğidir. Teşhis edilmeye çalışılan hastalıkta, hangi yöntemin uygun olduğu bilinmelidir. BHBA ve NEFA testlerinde, referans değerlerin altında ya da üstünde olan hayvanların gruptaki hayvanlara oranı kullanılmalıdır. BHBA testi; subklinik ketozis (SKK) tanısında yardımcıdır. Sürü bazında yapılan çalışmalarda BHBA eşik değeri 14.4 mg/dL (1400 µmol/l) olarak belirlenmiştir (Duffield, 2000). Serum BHBA değeri 14.4 mg/dL' nin üzerinde olması SKK' nın göz önünde bulundurulmasına olanak sağlamaktadır. Sürü bazında BHBA referans değerleri bireysel olarak incelenen ineklerden oldukça fazladır. Farklı kaynaklardan elde edilen sağlıklı bir sığırdaki BHBA değeri ortalama 2.1-6.9 mg/dL (1.25-8.9 mg/dL) arasında seyretmektedir (Lager ve Jordan, 2012). NEFA testi, NED ve devamında oluşabilen yağlı karaciğer sendromu, ketozis, DA, retensiyon sekondaryum ve infertilite problemleri ve hastalıkların tanısı yönünden yardımcı bir parametredir. NEFA 'pre-fresh cow' olarak adlandırılan ve doğum öncesi üç haftalık periyodu kapsayan, geçiş dönemi içerisinde yer alan ineklerde önemlidir. Doğumuna 2-14 gün kalan ineklerde NEFA eşik değeri ≥ 0.4 mEq/L iken geriye dönük olarak doğumuna 14 günden fazla süre kalan ineklerde bu değer ≥ 0.325 mEq /L bulunmuştur (Oetzel, 2003a).

Yapılan testlerin eşik değerlerinin belirlenmesi yanında bu değerlerin altında ve üstünde olan ineklerin belirlenmesi de önemlidir. Sürülerde bu testler için eşik değerlerinin belirlenmesi ve incelenen grubun ne kadarında hastalıkların şekillendiğinin ortaya konulması araştırma ve klinik deneyler sonucunda yapılmalıdır (Oetzel, 2003a).

2.5.6.3. Hayvan sayısı

Çiftliklerdeki ineklerin tamamını yansıtan sonuçların elde edilebilmesi için incelenen grupta, yeterli sayıda inekten örnekleme yapılmalıdır. Ancak test sonuçlarının %95 oranında güvenilir olabilmesi için grubu oluşturan ineklerin tamamında testlerin yapılmasına ihtiyaç vardır. Sürülerde biyolojik testler değerlendirilirken %75 oranında güvenilirlik yeterli bulunmaktadır. Bu sebeple de araştırmacılar tarafından çalışma grubuna katılan ineklerin tamamının örneklenmesi gerekmemektedir. Örnekleme sayısının artırılması güvenilirliği arttırdığı için çalışmalarda istenilen bir durumdur. Ancak pratikliği kısıtlaması ve fazla maliyete neden olmasından dolayı bütün sürüyü yansıtabilecek optimal hayvan sayısının belirlenmesi uygun bulunmuştur (Nordlund ve ark, 1995, Oetzel, 2003a).

Çalışmaya katılacak hayvan sayısı belirlenirken dikkat edilmesi gereken diğer bir hususta incelenen hastalıktan etkilenen hayvanların prevalansıdır (Dohoo ve ark, 2009). Genel olarak doğum öncesi NEFA >0.4 mmol/L olan ve %18-35 prevalansa sahip sürülerde en az 5, genellikle 10-12 hayvanın incelenmesi gerektiği belirtilmiştir (LeBlanc ve ark, 2005; Oetzel, 2003a, 2004).

Genel olarak sonuçların yorumlanmasında oranlama metodun uygun görüldüğü rumen içerik pH' sı, BHBA ve NEFA testleri için en az 12 hayvan yeterli olup; ortalama metodun kullanıldığı idrar pH' sı ve ÜN testleri için minimum 8 hayvandan alınan örneklerin incelenmesi yeterli bulunmaktadır (Oetzel, 2003a, 2004). Uygulanan metodlar ile elde edilen sonuçlarda her test için belirlenen risk değerlerine yakın oranlara sahip olmayıp sınırda olan sürülerde incelemeye ek örneklerin katılması önerilmektedir. Sürü bazında yapılan biyolojik testler için uygun olan hayvanların testlere göre değişiklik gösteren dönemleri **Şekil 2.1.** ve **Tablo 2.5.'** de gösterilmiştir (Oetzel, 2003a).

Tablo 1. Sürü bazında yapılan biyolojik testlerin gerçekleştirildiği periyot (Oetzel, 2003a; Goff, 2006).

Testler	Uygun grup
BHBA	Laktasyonun 5-50. günlerinde olan inekler
NEFA	Doğumuna 2-14 ya da >14 gün kalan prefresh dönemdeki inekler
Magnezyum	Postpartum 12 saat içerisinde
Kalsiyum	Laktasyonun 24-48. saatinde olan olan inekler

Büyük işletmelerde örnekleme yapılan gruplarda fazla sayıda ineğin incelenmesinin, sonuçları istatistiksel olarak iz seviyede etkilediği ve maliyeti daha da fazla arttırdığı, yukarıda bahsi geçen sayılarda ve **Tablo 2.5'** de belirtilen dönemde olan ineklerden elde edilen sonuçların değerlendirilmesinin yeterli olduğu ifade edilmektedir. Ancak küçük ölçekli sürüler için aynı durum söz konusu olmayıp, uygun dönemde yeterli ineğin sağlanamayacağı göz önüne alınarak, elde edilen sonuçların biriktirilip yorumlanması önerilmektedir. Bu sebeple küçük sürülerde doğum öncesi minimum örneklenecek hayvan sayısını sağlamak güç bir durum olacağından örneklerin yeterli sayıyı (12) sağlayana kadar toplanıp dondurulması ve NEFA analizlerinin toplu yapılması tavsiye edilmektedir (Oetzel, 2003a, 2004; Oetzel ve McGuirk, 2008). Bu durumun sonuçları olumsuz yönde etkilemediği belirtilmiştir (Tornquist ve Van Saun, 1999). Örneğin; uygun periyotta olan ve gruptan rastgele seçilen 4 hayvan incelenebilmektedir. Ancak çalışma sonuçlarının doğruluğu için en az 8 ya da daha fazla sayıda, her test için belirtilen referans aralığında ya da optimal değerde olan örnekler, biriktirildikten sonra sürü bazında hastalık yönünden değerlendirilmelidir (Oetzel, 2003a). Bir çalışmada ise 110 farklı çiftikten toplanan ve depolanan örneklerden sürü bazında 10' ar hayvan olacak şekilde yapılan ölçümlerde NEFA ve BHBA parametrelerinin geçiş dönemindeki ineklerde, sürü bazında SKK değerlendirmesi için uygun ve güvenilirliği yüksek bildirilmiştir (Borchardt ve Staufenbiel, 2012). Buna karşın buzağılamadan bir hafta öncesine kadar alınan örneklerin bekletilmeksizin değerlendirilmesinin daha doğru olacağı ve pratik sonuçlar doğuracağını belirtilmektedir (LeBlanc ve ark, 2005).

Büyük ölçekli sürülerde yalnızca NEFA testi için prepartum gruplarında alt grupların oluşturulabileceği ve hayvanların seçiminde görünüş ve tohumlama tarihlerine göre yakın kuru dönemde olanlardan ancak doğumu oldukça yakın olan hayvanlardan örnekleme yapılmasından sakınılması gerektiği ifade edilmektedir. Bu amaçla da yapılan saha çalışması tecrübelerine dayanarak NEFA testi için seçilen prepartum grubundaki hayvanların %75' nde analiz kriterleri olan doğumuna 2-14 gün kalan gün sayısının yakalanabildiği ve doğum zamanı tahminlenebile 12 ya da daha fazla geçerli örneği yakalayabilmek için çalışmaya 16 hayvanın eklenmesinin daha uygun olacağı söylenmektedir (Oetzel, 2007).

Doğumu yaklaşan ineklerde NEFA ve idrar analizleri birden fazla kere tekrarlandığında doğum öncesi yapılan en son test sonucu değerlendirmeye alınmalıdır. Sürüde hastalığa yönelik klinik bulgular daha az sayıda inekte görüldüğünde, tavsiye edilen inek sayısının daha fazla

tutulması yararlı bulunmuştur. Büyük sürülerde sürünün tamamına göre maliyetin daha az ve pratik açıdan daha kolay olması nedeniyle gruplarda hayvan sayısı fazla tutulabilmektedir (Oetzel, 2003a).

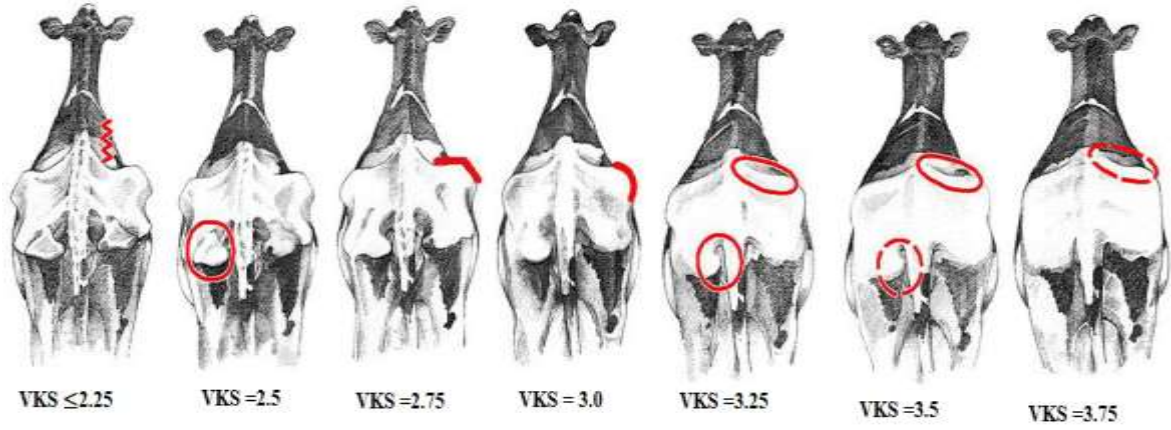
2.6. Vücut Kondüsyon Skorunun Belirlenmesi

Postpartum dönemde şiddetli NED' in etkisi altında kalan inekler ilerleyen laktasyon dönemine göre daha yüksek yağ mobilizasyon metabolitleriyle laktasyona giriş yapmaktadırlar. Bu sebeple postpartum azalan yağ kütlesi erken laktasyon dönemi enerji eksikliğinin belirteci olarak kullanılabilir (De Vries ve Veerkamp, 2000).

Tablo 2.6. : Laktasyon dönemlerine göre serbest dolaşan ineklerde ideal VKS (Kellogg, 1914).

Laktasyon dönemleri	Skorlama
Kuru dönem	3.5-4.0
Buzağılama zamanı (multiparous)	3.5-4.0
Buzağılama zamanı (primarous)	3.5
erken laktasyon dönemi (ilk 30 gün)	2.5-3.0
Orta laktasyon dönemi	3.0

Prepartum dönem bakım ve beslemesi de vücut kondüsyonun kontrol altında tutulabilmesi açısından önem taşımaktadır. Doğum zamanında VKS' nin 3-3.25 düzeyinde olması tavsiye edilmektedir (**Tablo 2.6.**) (Overtone, 2001; Mulligan ve ark, 2006; Roche ve ark, 2009). Geçiş döneminde yapılan uygun besleme sonucu orta VKS ile laktasyon dönemine giren hayvanların yüksek VKS' li olanlara göre laktasyon döneminde KMT' deki artışın daha fazla olduğu bilinmektedir (Overton ve Waldron 2004). Doğum zamanı yüksek VKS' na sahip hayvanlarda doğum sonrası daha fazla vücut ağırlığı kaybedilmekte olup yağ dokudan daha hızlı mobilizasyon şekillenmektedir (Grummer ve ark, 2004; Murondoti ve ark, 2004; Kadokawa ve Martin, 2006; Mulligan ve ark, 2006; Roche ve ark, 2009; Samanc ve ark, 2010; Janovick ve ark, 2011).



Şekil 2.14.: Vücut kondüsyon skorlaması (Ferguson, 1996)' dan uyarlanmıştır.

Erken laktasyon döneminde enerji dengesinin değerlendirilmesinde, VKS tek başına yeterli bir belirteç olarak görülmemektedir (Şekil 2.14.). VKS değerlendirilirken kas ve abdominal dokulardan ziyade deri altı dokulardaki değişimler gözlemlenmelidir. Erken laktasyon döneminde gerekli enerjiyi sağlamak için yararlanılan kas ve abdominal yağ dokuları (Butler ve Smith, 1989), deri altı dokulara göre daha önce toparlanmaktadır. Bu nedenle hayvan kaybettiği dokuları kazanıp, pozitif enerji dengesinde olsa bile VKS' nin laktasyonun ilerleyen dönemlerinden önce bu tabloyu yansıtmadığı belirtilmektedir (MaGuire ve ark, 2004). Vücut yağ depolarındaki yıkımlanmaların sona erdiği laktasyon sonrası süreç ve VKS arasındaki ilişkinin incelendiği farklı çalışmalar mevcut olup laktasyonun 8. haftasında (Gibb ve ark, 1992), vücut kompozisyonun belirlendiği özel bir tekniğe göre laktasyonun 15. haftasında vücut yağ kompozisyonlarının yerine geldiği ve yağ mobilizasyonunun durduğu belirtilmektedir (Komaragiri ve ark, 1998).

Postpartum dönemde meydana gelen vücut rezervlerindeki kayıp ile postpartum adipoz dokulardan yağ mobilizasyonu doğru orantılı gelişmektedir. Bu durumda yağlı karaciğer (Samanc ve ark, 2010), ketozis, AD ve hipokalsemi gelişme riskini arttırmaktadır (Gillund ve ark 2001, Kim ve ark 2006).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hayvan Materyali

Çalışma kapsamına Aydın İli'nde farklı ilçelerde yer alan 1) ≥ 250 baş sağmallı, 2) serbest duraklı ahır sistemi olan, 3) TMR ile besleme yapılan ve/veya 4) sürü takibini sağlayan programlara (Ospina ve ark, 2010a) sahip üç farklı süt sığırcılığı işletmesi dahil edildi. Bu ana kriterlerin yanında ayrıca klinik olarak hasta olmayan, sağlıklı görüntüye sahip ve herhangi bir medikal sağıltıma maruz kalmayan ineklerin arasından seçim yapılmasına da dikkat edildi.

Çalışmaya dahil edilen her üç işletme aydın merkeze yakın ilçelerde yer almakla birlikte harita üzerindeki lokalizasyonları **Şekil 3.1.**'de gösterildi.



Şekil 3.1.: Çalışma kapsamına alınan işletmelerin uydu harita görünümü ve coğrafik lokalizasyonları.

Hayvanlar çalışma kapsamına alınmadan önce her işletme için **Tablo 2.5'**te belirtilen dönemler dikkate alınmaya çalışılarak biyolojik testler için uygun olan prepartum dönemdeki 50 ineği içeren gruplar Ek 1'de ki forma göre oluşturuldu. Bu aşamada çalışmaya dahil edilecek hayvan sayısı belirlenirken Dohoo ve ark (2009) tarafından %10 prevalansla seyreden sürülerde %95 güvenilirlik için 1000 başlı sürüde 29 hayvan iken, bizim çalışmamızda da %75

güvenilirlik için 10-12 hayvanının uygun görüldüğü çalışmalar (LeBlanc ve ark, 2005; Oetzel, 2003a, 2004) baz alındı. Sürüyü temsil edecek şekilde I. işletmeden 13, II. işletmeden 12 ve III. işletmeden 12 yeter sayıda olgu Ek 1' e göre oluşturulan grup içerisinde rastgele seçildi. Çalışmada farklı yaş (2-8), ırk (I. ve II. işletmede Holstein, III. işletmede Simental) ve canlı ağırlıkta olan toplamda 37 inek kullanıldı.

Çalışma süresince çalışmaya dahil edilen ineklerin haftada bir kez (prepartum -2. hafta ve -1. hafta, doğum 0. gün, postpartum +1. hafta ve +2. hafta) işletme ziyaretleri ile takibi gerçekleştirildi. Çiftliklerin takip ve analizleri esnasında çalışma takip formu (Ek 2) ve çalışmaya alınan hayvanların bilgilendirme formları (Ek 3) doldurularak çiftliklerin takibi sağlandı. Çiftliklerin ilk ziyaretinde Ek 4' de belirtilen sürü bilgilendirme formu (**Resim 3.1.**) ve geçiş dönemindeki 50 ineği kapsayan grup bilgilendirme formu (Ek 1) doldurulduktan sonra çalışmaya alınacak hayvanlar, oluşturulan gruptan rastgele seçilerek (Oetzel, 2003a, 2004, 2005) belirlendi ve hayvana ait bilgiler Ek 3' e göre dolduruldu.



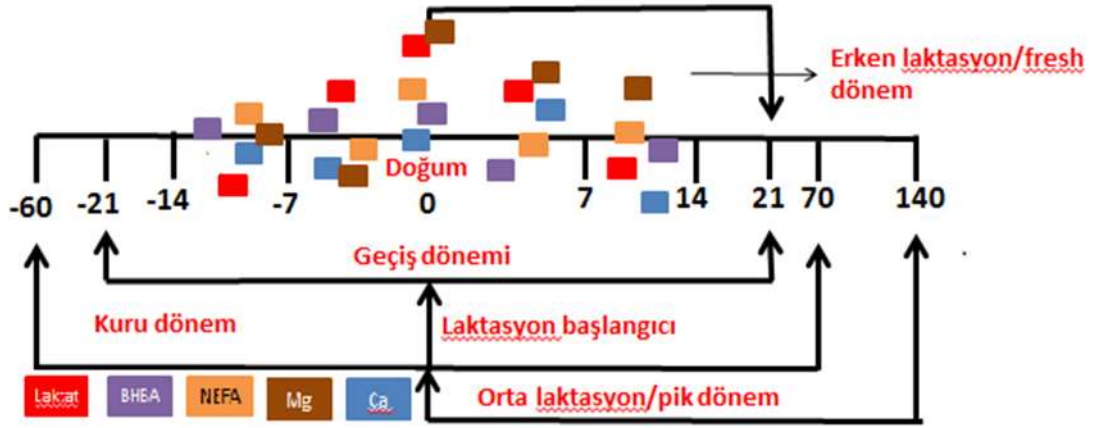
Resim 3.1.: Çiftliklere yönelik kayıtların alınması

Postpartum dönem hastalıkların takibi her çiftliğin Veteriner Hekimi tarafından uygulanan standart hastalık tanımlamalarına göre gerçekleştirildi. Hastalıkların standardizasyonu aşağıdaki tanımlamalara göre yapıldı. Abomazum deplasmanı [sol ve sağ açlık çukurluğunun oskültasyonunda ping sesinin alınması], klinik ketozis [iştahta ve süt veriminde azalmayla seyreden idrarda keton testinin pozitif olması yanı sıra çalışma kapsamında değerlendirilen BHBA seviyesi takibi], metritis [doğum sonrası 21 gün içerisinde iştahta azalma, halsizlik, süt veriminde azalma klinik bulgularına ilaveten vücut ısısının >39.5 °C ve vulvadan purulent ya da kırmızıdan kahverengi renkte değişim gösteren akıntının gelmesi (Sheldon ve ark, 2006)], retensiyon sekondaryum [föetal membran kalıntılarının doğum sonrası 24 saat içerisinde atılamaması], mastitis [anormal süt yapısı, meme dokusundaki sertleşme ya da yangısal değişim], topallık [duruş bozukluğu, tırnak yapısındaki değişim, kalkış ve hareket esnasında zorlanma] şeklinde belirlendi (LeBlanc ve ark, 2002). Hayvanların klinik hastalık takipleri postpartum çalışma sürecinin tamamlandığı +2. haftaya kadar yapıldı.

İşletmelerden gerekli yasal izin belgeleri alınan bu çalışma, Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Denepleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı' nın (ADÜ-HADYEK) 64583101/2016/169 sayılı kararı ile yürütüldü (Ek 5).

3.2. Kan Örneklerinin Alınması

Her işletmede **Tablo 2.5. ve Şekil 3.2.**' de belirtilen dönem ve zamana uygun seçilen yeter sayıda olgudan (n=12/13) prepartum -2. hafta ve -1. hafta, doğum (0. gün), postpartum +1. hafta ve +2. hafta olacak şekilde, sabah yemlemesinden 6-8 saat sonra kan örnekleri toplandı. Dönemlere göre doğum grubundan kan örnekleri doğum sonrası 24 saatlik süreç tamamlanmadan önce gerçekleştirildi. Kan örneklerinin toplanması amacıyla kuyruk venasından (*V. coccygea*) lityum heparinli (4 ml) ve K₃EDTAlı (3 ml) antikoagülanlı tüplere kan örnekleri alındı. Her inekten çalışma süresince (prepartum -2. hafta ve -1. hafta, doğum, postpartum +1. hafta ve +2. hafta) haftada bir kez, toplamda 5 kez kan alım işlemi gerçekleştirildi (**Resim 3.2.**).



Şekil 3.2.: İneklerin yaşam siklusuna ait farklı dönemler ve analiz zamanları (Grummer, 1995; Ergün ve ark, 2001' den uyarlanmıştır)

Kan alım işleminden hemen sonra çiftlik içerisinde uygun sıcaklığın sağlandığı (+25°C) ortamda, alınan lityum heparinli kan örnekleri bekletilmeksizin ependorflara aktarılarak 6.000 rpm'de 5 dakika mini santrifüj cihazı (Sprout, Healthrow Scientific, USA) yardımıyla serum ve plazmalarına ayrıştırıldı.



Resim 3.2.: Çalışmaya alınan ineklerde *V. coccygea*'dan kan örneklerinin alınması

3.3. Biyolojik Testlerin Yapılışı

Alınan kan örneklerinden sürü bazlı metabolik profil değerlendirilmesi maksatlı BHBA, NEFA, Laktat, Mg⁺² ve Ca⁺² analizleri gerçekleştirildi. Anılan parametreler **Tablo 3.1.**' de gösterilen yöntemlerle, veteriner hasta başı cihazlar [Vet Photometer 700 DP (Diaglobal, Germany; distribütör; Genartek, İzmir, Türkiye), Vet TD-4235 β-Keton cihazı (Antalya, Türkiye)] aracılığıyla gerçekleştirildi.

Tablo 3.1.: Biyolojik testler ve laboratuvar yöntemleri

Örnek	Parametre/Ölçüm	Yöntem/Cihaz
Lityum heparinli plazma	NEFA	Asetilkolin sentetaz-asetilkolin oksidaz yöntemi/enzimatik-kolorimetrik yöntem /hasta başı fotometre cihazı
	Laktat	LOD-PAP/enzimatik-kolorimetrik yöntemi/ hasta başı fotometre cihazı
	Magnezyum	Xylidyl blue/ enzimatik-kolorimetrik yöntem/ hasta başı fotometre cihazı
	Kalsiyum	Cresolphthalein-complexone /enzimatik-kolorimetrik yöntem/hasta başı fotometre cihazı
K ₃ EDTA'lı tam kan	BHBA	Amperometrik yöntem/ hasta başı hızlı test kiti

Santrifüj işlemi esnasında K₃EDTA' lı kan örneğinden Vet TD-4235 β-Keton cihazı (Antalya, Türkiye) cihazı yardımıyla BHBA analizleri yapıldı. Diğer analizlerden olan NEFA (NEFA 013 ve NEFA ST), laktat (LAC 142), Mg⁺² (MG 013 ve CA ST), Ca⁺² (CA 15 ve CA ST) ticari test kitleri kullanılarak veteriner hasta başı cihaz (Vet Photometer 700 DP (Diaglobal, Germany; distribütör; Genartek, İzmir, Türkiye) ile gerçekleştirildi (**Resim 3.3.**).



Resim 3.3.: Çalışmada kullanılan veteriner hasta başı cihazlar; a) β -Keton cihazı, b) Vet Photometer 700 DP cihazı, c) Mini santrifüj cihazı

3.3.1. Analiz Aşamaları

3.3.1.1. Beta hidroksi bütirik asit analizi

Beta hidroksi bütirik asit testi için Vet TD-4235 β -Keton cihazına (Antalya, Türkiye) test kiti yerleştirildikten sonra alınan K_3EDTA ' lı kan örneği mikropipet yardımıyla hazneye damlatıldı ve 5 saniye içerisinde BHBA değeri mmol/L cinsinden cihaz tarafından otomatik olarak okundu (**Resim 3.4.**).



Resim 3.4.: BHBA analizi yapılış şeması

3.3.1.2. Laktat analizi

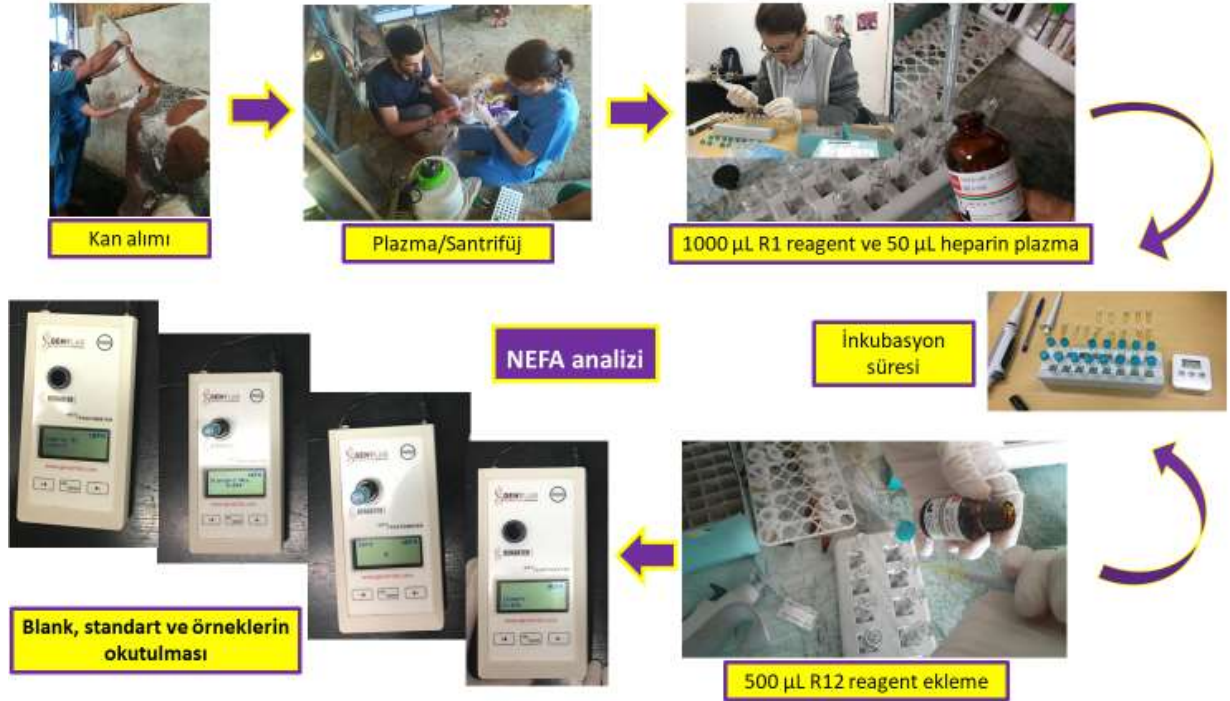
Hasta başı laktat analizlerinin vakit kaybetmeksizin gerçekleştirilmesi için heparinli plazma örnekleri mini santrifüj cihazında öncelikli olarak ayrıştırıldı. Örnek sayısı kadar hazır tüpler halinde bulunan buffer solüsyonları küvetlere yerleştirildi. Tüplerin içerisine 10 µL heparinli plazma örnekleri katılarak tüpler küvetle birlikte toplu şekilde birkaç kez alt üst edildi. Cihaz açılarak uygun test seçeneği (LAC) seçildi. Örnekler talimatlar doğrultusunda sırasıyla cihazın haznesine yerleştirilerek blank ayarlaması yapıldı ve cihaz tarafından sırasıyla tüm örneklerin blankleri hafızaya alındı. Son tüpün haznedan çıkarılmasıyla tüplerin kapakları starter reagent içeren kapaklarla (sarı-yeşil) değiştirildi ve ilk basamaktaki ile benzer şekilde kapaklar kapatıldıktan sonra toplu şekilde küvetle birlikte birkaç kez alt üst edildi. Bu işlem sonrasında bekletilen cihazın 'on' tuşuna basılarak ilk örnek tüpü cihazın haznesine yerleştirildi ve zaman göstergesinin ekranda belirdiği görülerek LAC seviyesinin okunması beklendi. Sonuç ekranda görüldükten sonra 1. örnek tüpü haznedan uzaklaştırılarak aynı şekilde diğer tüpler sırasıyla örnek okundukça hazneye yerleştirildi. Laktat ölçümü esnasında doğru tüplerin doğru sırayla yerleştirildiğine dikkat edildi (**Resim 3.5.**).



Resim 3.5.: Laktat analizi yapılış şeması

3.3.1.3. Esterleşmemiş yağ asitleri analizi

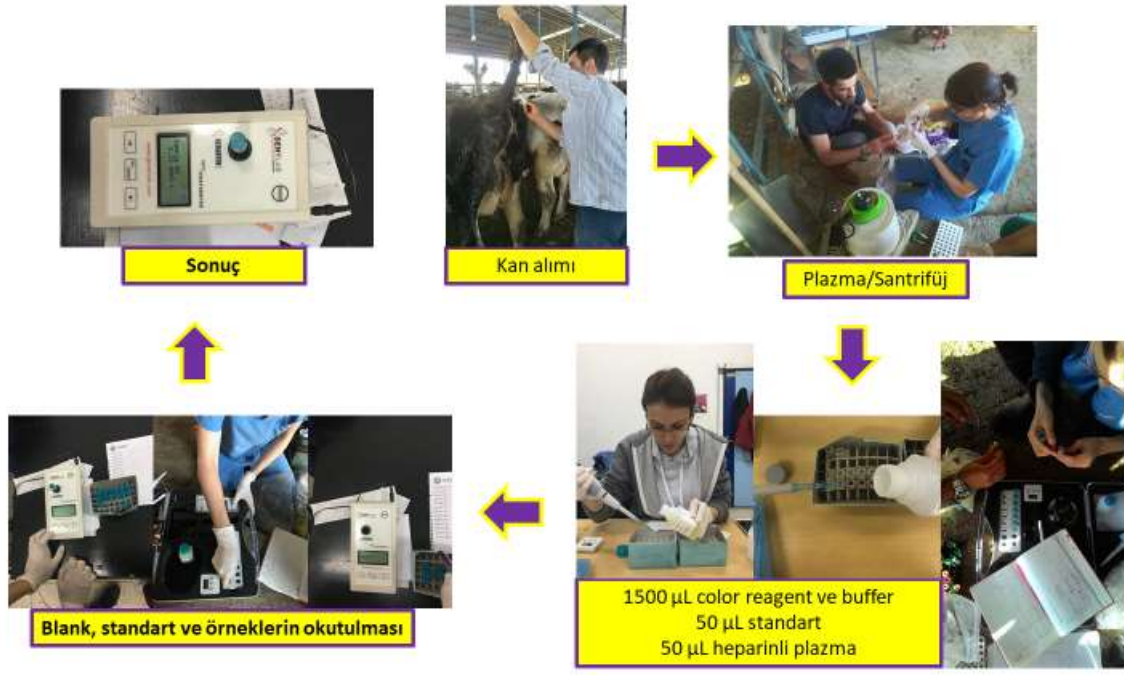
Hasta başı NEFA analizleri için Reagent R1, R1a içeriğiyle ve R2, R2a solüsyonları ile R1 ve R2 solüsyonları içerisinde karıştırıldı. Kan alım işleminin hemen ardından mini endodorflara (1ml) aktarılan lityum heparinli örnekler mini santrifüj cihazıyla plazmalarına ayrıştırıldı. Küvet içerisine blank, standart ve örnekleme sayısı kadar tüp yerleştirildi. Her bir tüpün içerisine 1000 µL karıştırılan R1 solüsyonu eklendi. Ardından 50 µL standart solüsyonu sadece standart tüpüne eklendi. Daha sonra 50 µL serum örnekleri blank ve standart tüpleri hariç küvetlerdeki kodlanmış (kodlanmış) örnek tüplerine uygun sırasıyla eklenerek tüm tüpler alt üst edildi ve zaman sayacı ayarlanarak 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Süre tamamlandıktan sonra blank ve standart tüpü de dahil tüm tüplere 500 µL önceden hazırlanmış R2 solüsyonu eklenip alt üst edildi ve tekrar zaman sayacı 10 dakikaya ayarlanarak oda sıcaklığında bekletildi. Sürenin sonunda cihazdan NEFA seçeneği seçildi. Talimatlar doğrultusunda ilk olarak blank tüpü hazneye yerleştirilerek hafızaya alındı ve sonra standart tüpü hazneye yerleştirildi. Cihaz tarafından standart absorpsiyonun okunması ve uyarı ikazıyla standart tüpü haznedan uzaklaştırıldı. Ardından talimatlar doğrultusunda örnek tüpleri sırasıyla hazneye yerleştirilip sonuçlar elde edildi (**Resim 3.6.**).



Resim 3.6.: NEFA analizi yapılış şeması

3.3.1.4. Total kalsiyum analizi

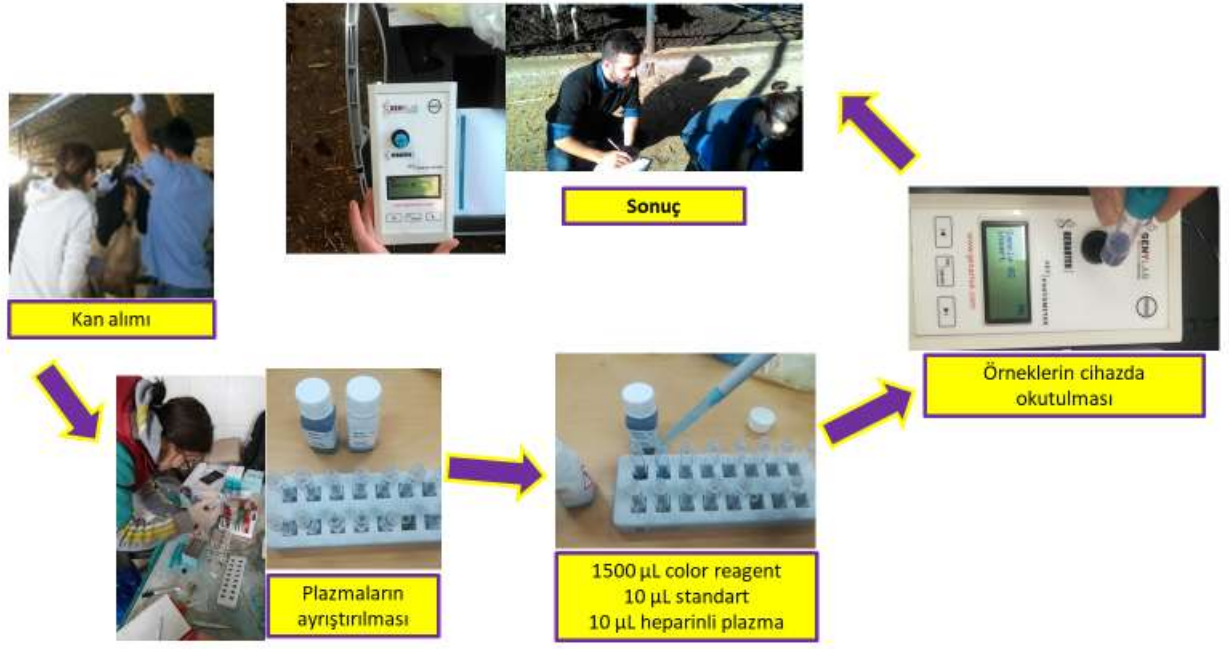
Total Ca^{+2} seviyesinin belirlenmesi için heparinli plazma örnekleri ayrıştırıldıktan sonra blank, standart ve örnekleme sayısı kadar tüp küvete yerleştirildi. Her bir tüpün içerisine sırasıyla 1500 µL color reagent ve buffer solüsyonu eklenerek karıştırıldı. Ardından 50 µL standart solüsyonu sadece standart tüpüne eklendi ve karıştırıldı. En son olarak 50 µL heparinli plazma örneği blank ve standart tüpleri hariç örnek tüplerine eklendi ve karıştırıldı. Örneklerin eklenme işleminin hemen sonrasında cihaz açılarak Ca^{+2} örnekleme seçildi. Talimatlar doğrultusunda ilk olarak blank tüpü hazneye yerleştirilerek hafızaya alındıktan sonra standart tüpü hazneye yerleştirildi. Cihaz tarafından standart absorpsiyonun okunmasıyla standart tüpü haznedan uzaklaştırıldı ve talimatlar doğrultusunda örnek tüpleri sırasıyla hazneye yerleştirilip sonuçlar okundu (**Resim 3.7.**).



Resim 3.7.: Ca²⁺ analizi yapılış şeması

3.3.1.5. Magnezyum analizi

Magnezyum seviyesinin belirlenmesi amacıyla Ca²⁺ örneklemesine benzer şekilde küvetlere blank, standart ve örnekleme sayısı kadar tüp yerleştirildi. Her bir tüpün içerisine sırasıyla 1500 µL color reagent eklendi. Ardından 10 µL standart solüsyonu sadece standart tüpüne eklendi ve karıştırıldı. En son olarak 10 µL heparinli plazma örneği blank ve standart tüpleri hariç örnek tüplerine eklendi ve karıştırıldıktan sonra 5 dakika beklendi. Cihaz açılarak Mg²⁺ örnekleme seçildi. Talimatlar doğrultusunda ilk olarak blank tüpü hazneye yerleştirilerek hafızaya alındıktan sonra cihazın uyarı ikazı ile haznedan uzaklaştırıldı ve sonrasında standart tüpü hazneye yerleştirildi. Cihaz tarafından standart absorpsiyonun okunmasıyla standart tüpü haznedan uzaklaştırıldı ve talimatlar doğrultusunda örnek tüpleri değerler okundukça ardışık olarak hazneye yerleştirildi ve sonuçlar elde edildi (**Resim 3.8.**).



Resim 3.8.: Mg²⁺ analizi yapılış şeması

3.3.2. Testlerin Çalışma Prensipleri

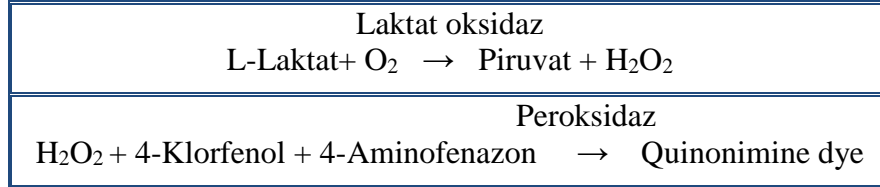
3.3.2.1. Esterleşmemiş yağ asitleri çalışma prensibi

Çalışmadaki NEFA analizleri enzimatik kolorimetrik yöntem olan asetilkolin sentetaz-asetil kolin oksidaz enzim reaksiyonuna dayalı analiz ile gerçekleştirildi. Plazmadaki NEFA' lar ATP ve koenzim varlığında asetilkolin sentetaz enzim reaksiyonu ile asetil-CoA' ya indirgenmekte ve oluşan asetil-CoA' larda asetilkolin oksidaz enzimi ile hidrojen peroksit'e dönüşmektedir. Açığa çıkan hidrojen peroksitlerin mavi-mor renk yoğunluğu plazma da bulunan NEFA konsantrasyonunu göstermektedir. Açığa çıkan renk yoğunluğu Diaglobal VetPhotometer DP 700 (Diaglobal, Genartek, Germany, Turkey) cihazında, 520nm dalgaboyunda spektrometrik ölçüm ile okutulmaktadır.

3.3.2.2. Laktat çalışma prensibi

Laktat analizi enzimatik-kolorimetrik yöntem olan LOD-PAP metodu ile gerçekleştirildi. LODPAP metoduyla laktat oksidaz (LOD) varlığında pirüvata dönüşen laktatın ara ürünlerinden olan hidrojen peroksitin oluşturduğu yoğunluk Quinonimine boya ile boyanarak

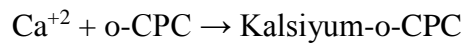
kanda ve plazmada bulunan laktat konsantrasyonunu yansıtmaktadır. LOD tarafından piruvat ve hidrojen peroksit ayırılan L-laktat seviyesinin ölçümü enzimatik ve kolorimetrik tepkimeler (**Şekil 3.3.**) sonucunda oluşan kırmızı rengin Diaglobal VetPhotometer DP 700 (Diaglobal, Genartek, Germany, Turkey) cihazında, 520 nm dalgaboyunda spektrometrik olarak absorpsiyonuna dayanmaktadır.



Şekil 3.3.: L-Laktat enzimatik-kolorimetrik yöntemi

3.3.2.3. Total kalsiyum çalışma prensibi

Total kalsiyum analizi o-CPC (o-cresolphthalein-complexone) metodu ile gerçekleştirildi. Testin çalışma prensibinde alkali buffer solüsyonlarında kalsiyum o-cresolphthalein-complexone ile birleşerek menekşe rengi oluşturmaktadır. Plazmadaki kalsiyum konsantrasyonu ile paralel olarak oluşan kalsiyum-o-CPC renk yoğunluğu ile VetPhotometer DP 700 (Diaglobal, Genartek, Germany, Turkey) cihazı tarafından otomatik olarak yapıp mmol/L cinsinden okunmaktadır (**Şekil 3.4.**).



Şekil 3.4.: Total kalsiyum çalışma prensibi

3.3.2.4. Magnezyum çalışma prensibi

Magnezyum analizi çalışma prensibinde xylydyl blue boyası ve Mg^{+2} , alkali ortamda renk veren bir şelat oluşturarak meydana gelen renk kompleksi 520 nm' da VetPhotometer DP 700 (Diaglobal, Genartek, Germany, Turkey) tarafından okunmaktadır. Şelat oluşumunun engellenmesini ortadan kaldırmak için ortamdaki Ca^{+2} iyonlarının color reagentte yer alan GEDTA (etilendiamintetraasetik asit) ile bağlanması sağlanmaktadır (**Şekil 3.5.**).



Şekil 3.5.: Magnezyum xylidyl blue ile çalışma prensibi





















3.3.2.5. Beta hidroksi bütirik asit çalışma prensibi

Beta hidroksi bütirik asit testi amperometrik yöntem olan enzimatik analizle gerçekleştirildi. Test striplerinde yer alan BHBA dehidrojenaz enzimi NAD^{+} ın NADH a indirgenmesiyle birlikte BHBA' nın asetoasetata dönüşmesi sonucu ortama çıkan NADH elektron transfer mediyatörü olan molekül ile NAD^{+} a tekrar okside olarak bir elektrik akımının oluşmasına neden olmaktadır. Oluşan bu akım kandaki BHBA ile doğru orantılı olarak cihaz tarafından otomatik olarak ölçülmektedir.

3.4. Vücut Kondüsyon Skorlaması

Örnekleme işlemlerinden sonra çalışmaya dahil edilen ineklerin klasik VKS, Edmonson ve ark (1989) tarafından belirtilen 5' lik skorlama sistemi yanında Ferguson ve ark (1994) tarafından geliştirilen 0.25 puan aralıklı skorlama kombinasyonu kullanılarak gerçekleştirildi (**Resim 3.9.**).

Manual yapılan ve vücuttaki yağ düzeylerini ölçmeyi hedefleyen klasik yöntemde çalışmaya alınan hayvanların bel, kalça ve kuyruk sokumu bölgeleri **Şekil 2.14.**' de gösterildiği gibi 1' den 5' e kadar puanlandı. Bu yöntemde 1) Processus transversusların üzerinde yağ dokusunun olmaması, kemik dokulara ait keskinliklerin hissedilmesi ve hayvanın aşırı derecede zayıf olması, 2) Processus transversusların üzerinde 1 nolu skorlamaya göre daha fazla ancak yeterli olmayan yağ dokusunun varlığı ile kemik çıkıntılarının palpasyonla hissedilmesi, 3) Processus transversuslara yapılan basınç ile yağ dokusunun hissedilmesi ve kondisyonun iyi olması, 4) Processus transversuslar ile pelvisin yalnızca güçlü bir palpasyonla hissedilmesi ve vücut kondisyonunun yağlı olarak sınıflandırılması, 5) Processus transversusların üstündeki yağ tabakalarından dolayı kemik yapısının farkedilememesi ve hayvanın aşırı yağlı olması şeklinde kısaca özetlenebilir.

VKS	Proc. transversus görünümü	T. coxae' nın arkadan görünümü	T. coxae ve T. İschii' nin lateral görünümü	
1 aşırı zayıf				
2 zayıf				
3 iyi				
4 yağlı				
5 aşırı yağlı				

Şekil 3.6.: Vücut kondüsyon skorlamasının çizimsel gösterimi (Kellogg, 1914; Edmonson ve ark, 1989)' dan uyarlanmıştır.

Ferguson ve ark (1994)' na göre ise 3.0 ve daha yukarisında belirlenen iki grubun alt sınıflandırmalarına göre 0.25 aralıklı değerlendirme gerçekleştirildi. Bu yöntemde VKS<2.50 T. ischii üzerinde yağ yastığının hissedilmemesi, VKS=2.75 T. ischii üzerinde yağ yastığının hissedilmesi, VKS=3.25 sakral ligamentleri görünebilir durumda olması, VKS=3.5 sakral ve kuyruk sokumu ligamentlerinin görünebilirliğinin güç olması, VKS=3.75 sakral ligamentin görölme güçlüğüünün yanında kuyruk sokumu ligamenti görülemiyor durumda olması, VKS=4.25 proscoccus transversusların uç noktaları arka bakıda güçlölkle görünür durumda olması, VKS=4.5 kalçanın düz ve T. ischii' nin gömülü olması, VKS=4.75 T. coxae' nın güçlölkle zorlukla görölmesi sınıflandırmada yardımcı metot olarak kullanıldı (Şekil 3.6).



Resim 3.9.: Çiftliklerde VKS' nın yapılması

3.5. Verilerin İstatistikî Değerlendirilmesi

Postpartum hastalıkların belirlenmesinde ve klinik değerlendirmesinde gerekli olan biyolojik testlerden olan BHBA, NEFA, Laktat, Mg⁺² ve Ca⁺² ana risk faktörleri arasında olup sürekli değişken olarak ele alındı. Çalışmadan elde edilen verilerin değerlendirme aşamasında, üzerinde durulan özellikler arasında hem olası ilişkilerin hem de farklılıkların ortaya

konulmasında uygun istatistik metotlardan yararlanıldı. Bu amaçla çalışmadan elde edilen verilerin analize hazırlanmasında MS Excel (Microsoft Excel, 1985-2001), ele alınan özelliklere ait tanımlayıcı istatistiklerin belirlenmesinde ve varyans analizlerinde SPSS 18 (SSRIC, 2009) isimli programlardan, alt grupların çoklu karşılaştırmalarında ise Duncan Testinden yararlanıldı (Duncan, 1995). Çalışmaya dahil edilen parametreler arasındaki korelasyonlar Pearson Korelasyon Testi yardımıyla hesaplandı.

Ayrıca bahsi geçen biyolojik testlerin hastalıklara yönelik eşik değerlerinin tanımlanması amacıyla ROC eğrisi yöntemi ve eşik değerin yorumlanmasında da işlem karakteristik eğrisi altında kalan alan (AUC) kullanıldı.

3.5.1. Multivaryant Analizler ile Verilerin Değerlendirilmesi

Çalışmaya dahil edilen biyolojik testler (BHBA, NEFA, Laktat, Mg^{+2} ve Ca^{+2}) sürekli değişken ana risk faktörleri olarak ele alınmıştır. Olası ilişki ve farklılıkların ortaya konulabilmesi için modellemeler oluşturulmuştur. Söz konusu modellerin oluşturulması esnasında üzerinde durulan özelliğe etki eden faktörler kendi aralarında gruplandırılmıştır. Çalışmaya dahil edilen hayvanlar 2' den 8 yaş aralığına kadar değişmekte olup, her yaş bir grup olarak ele alınmıştır. Söz konusu çalışmada primiparöz (1. laktasyondaki hayvanlar) ile multiparöz (2 ile 5 arasında laktasyona sahip olan hayvanlar) laktasyon sayısı faktörü altında incelenmiştir. Çalışma kapsamındaki işletmelerde 3 farklı rasyon içeriğinin kullanılmasından ve ele alınan özelliklere etki edebileceği düşünülmesinden ötürü modellerde bir faktör olarak değerlendirilmiştir. Bu noktadan hareketle;

Çalışmada elde edilen verilerin analizi tekrarlanan ölçümlü deneme modeli kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Söz konusu model aynı birey üzerinde belirli bir zaman içerisinde, bağımsız değişkenler için birçok kez ölçüm alınması durumunda söz konusudur (Göncü, 2000). Buna ilişkin istatistik modeller aşağıdaki gibidir:

Model 3.5.1:

$$Y_{ijklmn} = \mu + a_i + b_j + ls_k + d_m + r_n + Vks d_{lm} + \pi_{o(l)} + d\pi_{mo(l)} + e_{ijklmno}$$

Yijklmn: i. işletmedeki, j. yaş grubundaki, k. laktasyon sayısındaki, VKS'nin l. halindeki, m. dönemindeki, n. rasyon uygulamasındaki, o. ineğin geçiş dönemi BHBA konsantrasyonu,

Model 3.5.2:

$$Y_{ijklmn} = \mu + a_i + b_j + ls_k + d_m + r_n + Vks d_{lm} + \pi_{o(l)} + d\pi_{mo(l)} + e_{ijklmno}$$

Yijklmn: i. işletmedeki, j. yaş grubundaki, k. laktasyon sayısındaki, VKS'nin l. halindeki, m. dönemindeki, n. rasyon uygulamasındaki, o. ineğin geçiş dönemi NEFA konsantrasyonu,

Model 3.5.3:

$$Y_{ijklmn} = \mu + a_i + b_j + ls_k + d_m + r_n + Vks d_{lm} + \pi_{o(l)} + d\pi_{mo(l)} + e_{ijklmno}$$

Yijklmn: i. işletmedeki, j. yaş grubundaki, k. laktasyon sayısındaki, VKS'nin l. halindeki, m. dönemindeki, n. rasyon uygulamasındaki, o. ineğin geçiş dönemi laktat konsantrasyonu,

Model 3.5.4:

$$Y_{ijklmn} = \mu + a_i + b_j + ls_k + d_m + r_n + Vks d_{lm} + \pi_{o(l)} + d\pi_{mo(l)} + e_{ijklmno}$$

Yijklmn: i. işletmedeki, j. yaş grubundaki, k. laktasyon sayısındaki, VKS'nin l. halindeki, m. dönemindeki, n. rasyon uygulamasındaki, o. ineğin geçiş dönemi Mg⁺² konsantrasyonu,

Model 3.5.5:

$$Y_{ijklmn} = \mu + a_i + b_j + ls_k + d_m + r_n + Vks d_{lm} + \pi_{o(l)} + d\pi_{mo(l)} + e_{ijklmno}$$

Yijklmn: i. işletmedeki, j. yaş grubundaki, k. laktasyon sayısındaki, VKS'nin l. halindeki, m. dönemindeki, n. rasyon uygulamasındaki, o. ineğin geçiş dönemi Ca⁺² konsantrasyonu,

μ : populasyon ortalaması,

a_i : i. işletmenin etkisi (i: 1, 2, 3)

b_j : j. yaş grubunun etkisini (j: 2, 3, 4, 5, 6,7, 8),

l_{sk} : k. laktasyon sayısının etkisini [k:primiparöz (laktasyon sayısı =1), multiparöz (laktasyon sayısı >1 ve 2 ile 5 arasında olanlar)],

VKS_i: l. vücut kondisyonu sınıfının etkisi (1: 2<VKS<3, 2: 3<VKS<4, 3: 4≥VKS),

d_m : m. dönemin etkisi [m:1 (prepartum -2. hafta ve -1. hafta), 2 (doğum), 3 (postpartum +1. hafta ve +2. hafta)],

r_n : n. rasyon uygulamasının etkisi [n: 1(silaj, samanı, kuru yonca, soya samanı, çığıt, tam yağlı soya, tane buğday, arpa ve mısır, küspe), 2 (yonca, saman, arpa posası, silaj, karma yem), 3(silaj, kuru çayır otu, saman, yonca)]

$\pi_{o(i)}$: Vks faktörünün l. seviyesindeki yer alan deney ünitesinin rastgele etkisi,

$vks d_{lm}$: interaksiyon etkisi,

$d\pi_{mo(i)}$: vks faktörünün l. seviyesinde yer alan d faktörü ile deney ünitesi arasındaki interaksiyon etkisini, $e_{ijklmno}$: hata terimini ifade etmektedir

3.5.2. İşlem Karakteristik Eğrisi (Receiver Operator Characteristic; ROC) ile Bazı Klinik Hastalıklara Yönelik Eşik Değerlerin Belirlenmesi

Çalışmada yeralan biyolojik testler; NEFA, BHBA, Mg^{+2} ve Ca^{+2} ile VKS eşik değerleri ROC eğrisi yöntemi ile belirlendi. Sensitivite (Se) biyolojik testlere göre verilen eşik değer üzerinde pozitif sonuçlara sahip hasta hayvanların oranı iken, spesifite (Sp) ise verilen eşik değerin altında kalan ve hastalık yönünden negatif olan hayvanların oranı olarak değerlendirildi (Greiner ve ark, 2000). ROC eğrisinde en yüksek Se ve Sp kombinasyonu eşik değer olarak belirlendi. ROC eğrisi yöntemine göre belirlenen her bir biyolojik parametrenin eşik değerlerine göre postpartum klinik ketozis, metritis, retensiyon sekondaryum, mastitis ve topallık görülme olasılıkları değerlendirildi.

İşlem karakteristik eğrisi altında kalan alan (AUC) optimum eşik değerinin yorumlanmasında kullanıldı. AUC = 0.5 bilgilendirici (uninformative) olmayan, $0.5 < AUC \leq 0.7$; iyi, $0.7 < AUC \leq 0.9$ çok iyi, $0.9 < AUC < 1$ oldukça iyi ve AUC = 1 mükemmel hastalık tahminlemesi olarak yorumlanabilmektedir (Swets, 1988).

3.6. Subklinik Bazı Hastalıkların Sürü Bazında Değerlendirilmesi

Negatif enerji dengesi ve subklinik hastalıklardan SKK, SKH ve SKM eşik değer ve sürü bazında alarm risk seviyesi çalışmamızda belirlenen eşik değerlerden farklı olarak bazı literatür verilere göre belirlendi (**Tablo 3.2.**). Bu amaçla NED' sinin belirlenmesinde prepartum NEFA eşik değeri ≥ 0.400 mEq/L ve sürü bazında alarm seviyesi eşik değeri $> \%10$ olarak değerlendirildi (Oetzel, 2003a; Cook ve ark, 2006). NEFA' ya yönelik postpartum eşik değer ise ≥ 0.70 mEq/L, alarm risk seviyesi $> \%15$ şeklinde ele alındı (Ospina ve ark, 2013). Subklinik hastalıklardan SKK' in sürü bazında belirlenmesinde ise NEFA değeri ile birlikte altın standart ölçüm olan postpartum BHBA ≥ 1.4 mmol/L, sürü bazında alarm risk değeri ise $> \%10$ göz önünde bulunduruldu (Oetzel, 2003a; Cook ve ark, 2006). Diğer subklinik hastalıklardan olan SKH için Ca^{+2} eşik değeri ≤ 2.0 mmol/L (Oetzel, 2003a; Cook ve ark, 2006) iken SKM için Mg^{+2} eşik değeri < 0.61 mmol/L (Feyter ve ark, 1986; Goff, 2006) olarak, literatürlerde belirtilen Ca^{+2} için doğum sonrası ilk 24-48 saat, Mg^{+2} için ilk 12-24 saat içerisindeki veriler çalışmamıza göre haftalık ölçümlerin yapılmasından dolayı belirtilen aralıklarda elimizde mevcut olmadığından ayrıca çalışmamız kapsamında doğum dönemindeki grupta kan örneklemelerinin doğum sonrası ilk 24 saati kapsamından dolayı bu döneme göre gerçekleştirildi. Laktatın sürü bazında geçiş dönemindeki hastalıklara yönelik değerlendirilen literatür verilerinin bulunmaması ve örnekleme sayısının subklinik hastalıklarla olan ilişkisini belirlemede yetersiz olmasından dolayı bu bağlamda subklinik hastalıkların değerlendirilmesinde laktat gözardı edildi.

Negatif enerji dengesi ve subklinik hastalıklardan SKK, SKH ve SKM sürü bazında değerlendirilmesinde yukarıda bahsedilen eşik değerlere göre alarm-risk değerini geçen olgular dikkate alınarak negatif, sınırdaki ve pozitif olarak oranlama yöntemi (Oetzel, 2003a, 2004; Cook ve ark, 2006) temele dayandırılarak gerçekleştirildi .

Tablo 3.2.: Subklinik hastalıkların sürü bazında belirlenmesinde kullanılan eşik değer ve alarm risk seviyeleri (Feyter ve ark, 1986; Oetzel, 2003a; Cook ve ark, 2006; Ospina ve ark, 2013)' den uyarlanmıştır.

Testler	Eşik değer	Alarm risk değeri (%)
NEFA (mEq/L)	≥ 0.400 mEq/L (prepartum)	10
	≥ 0.70 mEq/L (postpartum)	15
BHBA (mmol/L)	≥ 1.4 mmol/L (postpartum)	10
Ca ⁺² (mmol/L)	≤ 2.0 mmol/L (postpartum)	30
Mg ⁺² (mmol/L)	< 0.61 mmol/L (postpartum)	20
Laktat	*	*

*Herhangi bir literatür verisi bulunmamaktadır.

4. BULGULAR

4.1. İşletmelere Yönelik Tanımlayıcı Veriler

İşletmelere ait bilgiler **Tablo 4.1.**' da belirtildiği gibi olup kısaca bahsetmek gerekirse işletmelerde serbest duraklı sistem uygulanmakla birlikte sabah ve akşam saatlerini kapsayan günde iki kez sağım ve sonrasında laktasyon ve verime göre gruplandırılan hayvanlara uygun şekilde hazırlanan TKR ile besleme yapılmaktaydı. Yalnızca II. nolu işletmede laktasyon gruplandırması yerine yüksek verimli olan ve olmayan şeklinde 2 adet sınıflandırma mevcut idi. Her üç işletmede yem tedarikini kendileri sağlamaktaydı. İşletmelerin rasyon bilgileri işletme sahiplerince tarafımıza yalnızca yem içeriklerine yönelik bilgilendirmeye izin verilmiş olup I. işletmede silaj, samanı, kuru yonca, soya samanı, çığit, tam yağlı soya, tane buğday, arpa ve mısır, küspe, II. işletmede yonca, saman, arpa posası, silaj ve III. işletmede ise silaj, kuru çayır otu, saman, yonca rasyon içeriği olarak kullanılan kaba yem malzemelerinin yanı sıra ticari karma yemler ile rasyon hazırlanmaktaydı. İşletmelerden yalnızca ilk ikisinde sabit çiftlik Veteriner Hekimi mevcut iken her üç işletmede zooteknist mevcut değildi. Yalnızca I. işletmede çalışan sayısı >10 iken diğer iki işletmede çalışan sayısı I. işletmeye göre daha az sayıdaydı.

Tablo 4.1.: Çalışma kapsamındaki çiftliklerin bilgileri

I. çiftlik	Rasyon İçeriği	silaj, samanı, kuru yonca, soya samanı, çığit, tam yağlı soya, tane buğday, arpa ve mısır, küspe, CaCO ₃ , MgO	
	Yemleme Tipi	TKR (kaba+konsantre birlikte)	
	Yemleme Saatleri	Sabah (6:30)	Akşam (15:30)
II. çiftlik	Rasyon İçeriği	Yonca, saman, arpa posası, silaj, karma yem	
	Yemleme Tipi	TKR (kaba+konsantre birlikte)	
	Yemleme Saatleri	Sabah (5:00)	Akşam (16:00)
III. çiftlik	Rasyon İçeriği	Silaj, bahar otu, saman, yonca, hazır palet yem	
	Yemleme Tipi	TKR (kaba+konsantre birlikte)	
	Yemleme Saatleri	Sabah (7:00)	Akşam (7:00)

Doğumu yaklaşan inekler doğum padoklarına alınarak doğum sonrası buzağılar annelerin ayrılmakta ve buzağılar bireysel kafeslere alınmaktaydı. I. çiftlikte doğum padoğuna alınan ineklerde doğum sonrası iki haftaya kadar bakım ve besleme revir bölümünde gerçekleştirilirken, II. nolu işletmede doğumdan sonraki gün anneler karma laktasyon padoklarına transfer edilmekte ve III. nolu çiftlikte bu süreç üç-beş gün olup inekler daha sonra yüksek süt verimine sahip I. laktasyon grubuna alınmaktaydı (**Resim 4.1.**). İşletmelerde doğum takibi yalnızca III. nolu işletmede kamera ile gerçekleştirilirken diğer iki işletmede günde 2 defa hayvanların davranış, kıl örtüsü, dışkılama sıklığı ve dışkı karakteri, geviş getirme ve yeme yeme durumları gözlemlenerek doğum takibi yapılmaktaydı. İşletme ile ilişkili bilgiler hazırlanan sürü bilgilendirme formlarına Ek 4' ye göre gerçekleştirildi.



Resim 4.1.: İşletmelerde bulunan doğum padoklarının görüntüsü; a) I. işletme, b) II. işletme, c) III. İşletme

İşletmelerdeki sağmal hayvan sayısı I. işletmede 500, II. işletmede 450 ve III. işletmede 350 adet olarak kayıt edildi. İncelenen ineklerin 11 tanesi primiparöz, 26 tanesi multiparöz karakterdeydi. Çalışma kapsamında I. işletmeden 6, II. işletmeden 2 ve III. işletmeden 3 primiparöz inek çalışmaya dahil edildi. Çalışmamızda ortalama sürü başına düşen hayvan sayısı 12.3 olmakla birlikte bunların % 30.5' i birinci laktasyonda olan primiparöz (laktasyon sayısı =1) ineklerden oluşurken % 69.5' ni multiparöz (laktasyon sayısı >1) ineklerden oluştu. (**Resim 4.2.**)



Resim 4.2.: İşletmelere ait laktasyon padokları; a) I. işletme, b) II. işletme, c) III. İşletme

4.2. Biyolojik Testlere Ait Ortalama Değerler

4.2.1. Beta Hidroksi Bütirik Aside İlişkin Bulgular

Çalışmaya dahil edilen hayvanların kan örneklerinden elde edilen BHBA konsantrasyonlarına ilişkin bulgulara **Tablo 4.2.**'de yer verilmiştir.

Tablo 4.2.'ye bakıldığında BHBA konsantrasyonlarının I. işletmeden III. işletmeye doğru bir azalma eğiliminde olduğu görülmekte olup, ortalama değerler sırasıyla 2.51 mmol/L, 1.15 mmol/L ve 0.77 mmol/L olarak elde edilmiştir. BHBA konsantrasyonları bakımında işletmelerde görülen bu farklılığın üzerinde durulduğunda ise, işletmeler bakımından BHBA konsantrasyonları arasında görülen farklılık istatistik olarak önemli bulunmuştur ($P < 0.01$).

Tablo 4.2.: Modele dahil edilen değişkenlere göre BHBA konsantrasyonlarına ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları

Faktörler	N	BHBA mmol/L		
		$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	En düşük	En yüksek
İşletme		**		
1	13	2.51 ^a ± 0.159	1.75	4.55
2	12	1.15 ^b ± 0.165	0.66	2.98
3	12	0.77 ^b ± 0.62	0.62	1.16
Yaş		Ö.D.		
2	4	1.47 ± 0.431	0.70	2.45
3	4	1.91 ± 0.642	0.62	3.25
4	9	1.27 ± 0.215	0.66	2.45
5	5	1.92 ± 0.394	1.00	2.98
6	8	1.01 ± 0.193	0.64	2.30
7	5	1.32 ± 0.383	0.66	2.70
8	2	3.30 ± 1.250	2.05	4.55
Laktasyon Sayısı		Ö.D.		
Primiparöz	11	1.72 ± 0.287	0.62	3.25
Multiparöz	26	1.42 ± 0.187	0.64	4.55
VKS		Ö.D.		
1: 2<VKS<3	3	1.50 ± 0.540	0.70	2.98
2: 3<VKS<4	30	1.61 ± 0.171	0.64	4.55
3: 4≥VKS	4	0.74 ± 0.467	0.62	0.90
Dönem		**		
Prepartum -2. hafta ve -1. hafta	37	0.82 ^a ± 0.088	0.50	1.6
Doğum	37	0.84 ^b ± 0.088	0.50	1.6
Postpartum +1. hafta ve +2. hafta	37	1.20 ^b ± 0.088	0.55	1.60
Rasyon		**		
1	13	2.51 ^a ± 0.159	1.75	4.55
2	12	1.15 ^b ± 0.165	0.66	2.98
3	12	0.77 ^b ± 0.165	0.62	1.16

a,b: Her değişkene ait alt gruplar arasında aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arası farklar önemlidir: *: P<0.05; **: P<0.01, Ö.D.: Önemli Değil, BHBA: Beta hidroksi bütirik asit, VKS: Vücut kondisyon skoru

Çalışma kapsamındaki ineklerin yaş aralığı 2 ile 8 arasında değişmekte olup, yaşa göre BHBA konsantrasyonlarının bir artış ve azalış şeklinde değişkenlik gösterdiği tespit edilmiştir. BHBA konsantrasyonu üzerine yaş faktörünün etkisi değerlendirildiğinde ise istatistik bakımdan önemli bir ilişkiye rastlanmamıştır (P>0.05).

Laktasyon sayılarını ifade eden primiparöz ve multiparöz gruplar ele alındığında, BHBA konsantrasyonlarının primiparöz grupta daha yüksek olduğu (1.72 mmol/L) göze çarpmaktadır.

Yapılan değerlendirmeler sonucunda laktasyon sayısının da BHBA konsantrasyonu üzerine etkisi istatistik bakımdan önemli bulunmamıştır ($P>0.05$).

Vücut kondisyon skoru sınıflarına göre BHBA ortalamalarındaki değişimler incelendiğinde, 1. grup olan $2<VKS<3$ aralığı ile 2. gruba karşılık gelen $3<VKS<4$ aralığına karşılık gelen ortalama değerlerin birbirine yakın olduğu, $VKS \geq 4$ ve yukarisına çıktığında ise BHBA ortalamasında bir azalma meydana geldiği saptanmıştır. BHBA üzerine VKS etkisi değerlendirildiğinde ise istatistik bakımdan önemli bir ilişkiye rastlanmamıştır ($P>0.05$). Aynı durum Dönem X Grup interaksyonu için de geçerli olmuştur ($P>0.05$).

Dönemlere göre (prepartum -2. hafta ve -1. hafta, doğum ve postpartum +1. hafta ve +2. hafta) BHBA konsantrasyonların postpartuma doğru bir artış gösterdiği tespit edilmiştir. Çalışmada ele alınan üç dönemde BHBA konsantrasyonları bakımından görülen farklılığın istatistik olarak da önemli olduğu bulunmuştur ($P<0.01$).

Son olarak, muamele gruplarına işletme bazında ayrı rasyonlar uygulanmasından ötürü rasyon bir faktör olarak modele dahil edilmiştir. Bu bağlamda, rasyon faktörünün BHBA konsantrasyonuna etkisi incelendiğinde, istatistik bakımdan önemli olduğu tespit edilmiştir ($P<0.01$).

4.2.2. Esterleşmemiş Yağ Asitlerine İlişkin Bulgular

Esterleşmemiş yağ asitleri konsantrasyonlarına ilişkin tanımlayıcı istatistikler **Tablo 4.3.**'de verilmiştir. **Tablo 4.3.** incelendiğinde BHBA'da olduğu gibi işletme faktörünün NEFA konsantrasyonuna da önemli derecede etki ettiği görülmektedir ($P<0.01$). Öyle ki, I. işletme ile III. işletmede birbirine yakın NEFA ortalamaları elde edilirken, II. işletme de daha yüksek bir ortalama olduğu göze çarpmaktadır.

Yaş dağılımlarına göre NEFA ortalamaları da BHBA'ya benzer şekilde yükselen ve düşen bir dağılım göstermektedir. Yaş gruplarında bu değişimin NEFA konsantrasyonua etkisi değerlendirildiğinde de istatistik bir öneme haiz olmadığı görülmektedir ($P>0.05$).

Primiparöz ve multiparöz gruplarda NEFA ilişkin ortalamalar birbirine yakın değerler almış olup, gruplar bakımından ortalamalar arasında istatistik bakımdan bir önem tespit edilmemiştir ($P>0.05$).

Tablo 4.3.: Modele dahil edilen değişkenlere göre NEFA konsantrasyonlarına ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları

Faktörler	N	NEFA mEq/l		
		$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	En düşük	En yüksek
İşletme		**		
1	13	0.65 ^a ± 0.108	0.25	1.34
2	12	1.22 ^b ± 0.112	0.41	1.94
3	12	0.87 ^a ± 0.112	0.46	1.72
Yaş		Ö.D.		
2	4	0.97 ± 0.273	0.41	1.87
3	4	1.01 ± 0.270	0.58	1.72
4	9	1.10 ± 0.185	0.28	1.94
5	5	0.50 ± 0.089	0.25	0.65
6	8	0.81 ± 0.102	0.46	1.29
7	5	0.99 ± 0.105	0.72	1.29
8	2	0.62 ± 0.125	0.50	0.75
Laktasyon Sayısı		Ö.D.		
Primiparöz	11	0.80 ± 0.314	0.51	1.72
Multiparöz	26	0.95 ± 0.087	0.50	1.87
VKS		Ö.D.		
1: 2<VKS<3	3	1.26 ± 0.245	0.51	1.87
2: 3<VKS<4	30	0.83 ± 0.077	0.28	1.94
3: 4≤VKS	4	1.23 ± 0.212	0.81	1.72
Dönem		Ö.D.		
Prepartum -2. hafta ve -1. hafta	37	0.71 ± 0.12	0.07	1.45
Doğum	37	1.09 ± 0.128	0.15	3.16
Postpartum +1. hafta ve +2. hafta	37	1.01 ± 0.128	0.2	3.17
Rasyon		**		
1	13	0.65 ^a ± 0.108	0.25	1.34
2	12	1.22 ^b ± 0.112	0.41	1.94
3	12	0.87 ^a ± 0.112	0.46	1.72

a,b: Her değişkene ait alt gruplar arasında aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arası farklar önemlidir: *: P<0.05; **: P<0.01, Ö.D.: Önemli Değil, NEFA: Esterleşmemiş yağ asitleri, VKS: Vücut kondisyon skoru

Vücut kondisyon skoru grupları bakımından bir inceleme yapıldığında 2<VKS<3 ile 4≤VKS gruplarına karşılık gelen hayvanlardan elde edilen NEFA ortalamaları birbirine oldukça yakın değerler alırken, 3<VKS<4 aralığında kondisyona sahip olan hayvanlarda daha düşük bir NEFA konsantrasyonu elde edilmiştir. NEFA konsantrasyonları üzerine VKS etkisi değerlendirildiğinde ise istatistik bakımdan önemli bir ilişkiye rastlanmamış olup, Dönem X Grup interaksiyonunda da aynı durum söz konusu olmuştur (P>0.05).

Dönemlere göre NEFA ortalamalarına bakıldığında doğuma doğru bir yükselme, doğum sonrasında postpartum +1. hafta ve +2. haftalarda da düşme eğiliminde olduğu gözlenmiştir.

NEFA üzerine dönem etkisi araştırıldığında, istatistik bakımdan önemli olmadığı görülmüştür ($P>0.05$).

Rasyon gruplarının NEFA konsantrasyonuna ilişkisine bakıldığında, istatistik bakımdan önemli olduğu göze çarpmaktadır ($P<0.01$). I. ve III. işletmelerde ortalamalar daha düşük olup (sırasıyla, 0.65 ve 0.87 mmol/L), II. işletmede daha yüksek (1.22 mmol/L) bir ortalama söz konusu olmuştur.

4.2.3. Laktat Ölçümüne İlişkin Bulgular

Çalışmada modele dahil edilen değişkenlere göre laktat konsantrasyonlarına ilişkin en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları **Tablo 4.4.**'de verilmiştir.

İşletmelere göre laktat ortalamaları NEFA ortalamalarında olduğu gibi II. işletmeye ait ortalamalar diğer işletmelere göre daha yüksek çıkmış olmasına rağmen, söz konusu farklılıkta işletme etkisi istatistik bakımdan önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$).

Tablo 4.4.'e bakıldığında yaş gruplarına göre laktat ortalamalarının 3. yaştan 5. yaşa kadar arttığı ve daha sonra düştüğü izlenmektedir. Yine yaşın laktat üzerine etkisini tespit etmek üzere yapılan analizler sonucunda istatistik bakımdan bir önemi olmadığı saptanmıştır ($P>0.05$).

Primiparöz ve multiparöz gruplara ait laktat ortalamaları BHBA'nın tersine NEFA'daki gibi multiparöz grupta daha yüksek çıkmış olmasına rağmen bu farklılık istatistik bakımdan bir öneme sahip değildir ($P>0.05$).

Vücut kondisyon skoru grupları laktat ortalamaları bakımından değerlendirildiğinde $2<VKS<3$ aralığındaki hayvanlarda daha yüksek, diğer gruplarda ise daha düşüktür. Bu farklılık değerlendirildiğinde istatistik bakımdan önemli olduğu tespit edilmiştir ($P<0.05$).

Dönemlere göre laktat ortalamaları sırasıyla 2.03 mmol/L, 1.87 mmol/L ve 1.69 mmol/L olarak hesaplanmıştır. Laktat üzerine dönem etkisi yapılan analizlerde istatistik bakımdan önemli bulunmamıştır ($P>0.05$).

Rasyon da benzer şekilde laktat üzerine istatistik bakımdan önemlilik arz etmemektedir ($P>0.05$).

Tablo 4.4.: Modele dahil edilen değişkenlere göre laktat konsantrasyonlarına ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları

Faktörler	N	Laktat mmol/L		
		$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	En düşük	En yüksek
İşletme		Ö.D.		
1	13	1.95 ± 0.316	0.88	5.50
2	12	2.33 ± 0.329	1.32	6.85
3	12	1.30 ± 0.329	0.60	1.79
Yaş		Ö.D.		
2	4	1.64 ± 0.167	1.34	2.05
3	4	1.45 ± 0.304	0.85	2.30
4	9	1.57 ± 0.144	0.95	2.44
5	5	2.82 ± 1.02	1.42	6.85
6	8	2.00 ± 0.524	0.60	5.50
7	5	1.89 ± 0.460	0.98	3.55
8	2	1.42 ± 0.550	0.88	1.98
Laktasyon Sayısı		Ö.D.		
Primiparöz	11	1.52 ± 0.357	0.85	2.30
Multiparöz	26	2.01 ± 0.232	0.60	6.85
VKS		*		
1: 2<VKS<3	3	3.40 ^a ± 0.64	1.58	6.85
2: 3<VKS<4	30	1.80 ^b ± 0.202	0.60	3.55
3: 4≤VKS	4	1.183 ^b ± 0.554	0.85	1.72
Dönem		Ö.D.		
Prepartum -2. hafta ve -1. hafta	37	2.03 ± 0.279	0.58	3.86
Doğum	37	1.87 ± 0.279	0.20	6.43
Postpartum +1. hafta ve +2. hafta	37	1.69 ± 0.279	0.57	4.28
Rasyon		Ö.D.		
1	13	1.95 ± 0.316	0.88	5.50
2	12	2.33 ± 0.329	1.32	6.85
3	12	1.30 ± 0.329	0.60	1.79

a,b: Her değişkene ait alt gruplar arasında aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arası farklar önemlidir: *: P<0.05; **: P<0.01, Ö.D.: Önemli Değil, VKS: Vücut kondisyon skoru

4.2.4. Magnezyum Ölçümüne İlişkin Bulgular

Araştırmada Mg⁺² ölçümüne ilişkin en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları **Tablo 4.5.**'de yer almaktadır. **Tablo 4.5.** incelendiğinde Mg⁺² ortalamaları üzerine işletme ve rasyon faktörünün etkileri istatistik bakımdan önemli bulunurken (P<0.01), diğer faktör etkileri önemsiz bulunmuştur (P>0.05).

Çalışmaya dahil edilen I. ve II. işletmeler ile 1. ve 3. rasyon gruplarında Mg^{+2} ortalamalarının aynı çıktığı görülmektedir. Yaş gruplarında ise BHBA ve NEFA bulgularında görüldüğü gibi dalgalanmalar göze çarpmaktadır ($P>0.05$). Laktasyon sayısı bir faktör olarak ele alındığında da aynı BHBA konsantrasyonlarında olduğu gibi primiparöz grupta Mg^{+2} ortalamasının daha yüksek olduğu yapılan tespitler arasındadır ($P>0.05$).

Tablo 4.5.: Modele dahil edilen değişkenlere göre Mg^{+2} konsantrasyonlarına ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları

Faktörler	N	Mg mmol/L		
		$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	En düşük	En yüksek
İşletme			**	
1	13	0.73 ^a ± 0.043	0.55	1.11
2	12	0.51 ^b ± 0.045	0.30	0.88
3	12	0.73 ^a ± 0.045	0.59	0.94
Yaş			Ö.D.	
2	4	0.72 ± 0.075	0.60	0.94
3	4	0.62 ± 0.020	0.58	0.67
4	9	0.61 ± 0.069	0.30	0.92
5	5	0.70 ± 0.165	0.35	1.11
6	8	0.72 ± 0.041	0.56	0.88
7	5	0.59 ± 0.040	0.47	0.72
8	2	0.68 ± 0.010	0.68	0.70
Laktasyon Sayısı			Ö.D.	
Primiparöz	11	0.70 ± 0.055	0.55	0.94
Multiparöz	26	0.64 ± 0.036	0.30	1.11
VKS			Ö.D.	
1: 2<VKS<3	3	0.58 ± 0.108	0.35	0.94
2: 3<VKS<4	30	0.67 ± 0.034	0.30	1.11
3: 4≤VKS	4	0.67 ± 0.093	0.59	0.79
Dönem			Ö.D.	
Prepartum -2. hafta ve -1. hafta	37	0.68 ± 0.048	0.43	1.10
Doğum	37	0.65 ± 0.048	0.22	1.77
Postpartum +1. hafta ve +2. hafta	37	0.64 ± 0.048	0.27	1.60
Rasyon			**	
1	13	0.73 ^a ± 0.043	0.55	1.11
2	12	0.51 ^b ± 0.045	0.30	0.88
3	12	0.73 ^a ± 0.04	0.59	0.94

a,b: Her değişkene ait alt gruplar arasında aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arası farklar önemlidir: *: $P<0.05$; **: $P<0.01$, Ö.D.: Önemli Değil, Mg^{+2} : Magnezyum, VKS: Vücut kondisyon skoru

Vücut kondisyon skoru grupları incelendiğinde ise Mg^{+2} ortalamaları bakımından gruplar arasında çok büyük farklılıklar görülmemektedir ($P>0.05$). Benzer şekilde, dönem Mg^{+2} ortalamaları da VKS gruplarında olduğu gibi diğer ölçümlere göre 3 dönem ortalamasının

birbirine daha yakın olduğu dikkati çekmektedir. Beklenildiği üzere, ortalamalar arasındaki fark da istatistik bakımından önemli değildir ($P>0.05$).

4.2.5. Kalsiyum Ölçümüne İlişkin Bulgular

Son olarak, yapılan kan analizlerinden Ca^{+2} konsantrasyonlarına ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hatalarına **Tablo 4.6.**'de yer verilmiştir.

Tablo 4.6.'de görüdüğü gibi, I. işletmede yapılan Ca^{+2} ölçümleri diğer işletmelere göre yüksek çıkmış olmakla beraber, Ca^{+2} ortalamaları bakımından görülen farklılık üzerine işletme faktörünün etkisi istatistik açıdan önemli çıkmıştır ($P<0.01$).

Kalsiyum ortalamaları yaş grupları arasında değerlendirildiğinde de diğer ölçümlerdeki gibi değişimler göze çarpmakta ve yaşın Ca^{+2} konsantrasyonu üzerine etkisi istatistik olarak önemli olmamaktadır ($P>0.05$).

Laktasyon sayısı ve VKS bakımından genel bir değerlendirme yapıldığında da Ca^{+2} üzerine önemli bir etkisi olmadığı görülmektedir ($P>0.05$).

Son olarak dönem ve rasyon faktörlerinin Ca^{+2} üzerine etkisi istatistik olarak önemli çıkmış olmakla birlikte ($P<0.01$), Ca^{+2} ortalamaları bakımından söz konusu gruplarlar arasındaki değişimler de **Tablo 4.6.**'da net bir şekilde görülmektedir.

Tablo 4.6.: Modele dahil edilen değişkenlere göre Ca⁺² konsantrasyonlarına ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları

Faktörler	N	Ca ⁺² mmol/L		
		$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	En düşük	En yüksek
İşletme			**	
1	13	2.35 ^a ± 0.122	1.18	3.14
2	12	1.95 ^b ± 0.127	1.66	2.43
3	12	1.83 ^b ± 0.127	0.76	2.46
Yaş			Ö.D.	
2	4	2.32 ± 0.280	1.91	3.14
3	4	2.36 ± 0.102	2.06	2.51
4	9	2.11 ± 0.147	1.66	2.94
5	5	1.82 ± 0.168	1.18	2.07
6	8	1.74 ± 0.218	0.76	2.67
7	5	2.11 ± 0.171	1.72	2.73
8	2	2.30 ± 0.268	2.04	2.58
Laktasyon Sayısı			**	
Primiparöz	11	2.37 ± 0.134	1.73	3.14
Multiparöz	26	1.91 ± 0.087	0.76	2.73
VKS			Ö.D.	
1: 2<VKS<3	3	1.97 ± 0.272	1.91	2.07
2: 3<VKS<4	30	2.12 ± 0.086	1.18	3.14
3: 4≤VKS	4	1.60 ± 0.236	0.76	2.46
Dönem			**	
Prepartum -2. hafta ve -1. hafta	37	1.79 ^a ± 0.127	0.63	3.32
Doğum	37	1.83 ^a ± 0.127	0.10	3.96
Postpartum +1. hafta ve +2. hafta	37	2.42 ^b ± 0.127	0.57	3.71
Rasyon			**	
1	13	2.35 ^a ± 0.122	1.18	3.14
2	12	1.95 ^b ± 0.127	1.66	2.43
3	12	1.83 ^b ± 0.127	0.76	2.46

a,b: Her değişkene ait alt gruplar arasında aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arası farklar önemlidir: *: P<0.05; **: P<0.01, Ö.D.: Önemli Değil, Ca⁺²: Kalsiyum, VKS: Vücut kondisyon skoru

4.3. Biyolojik Testler Arasındaki İlişkiler

Çalışma kapsamında incelenen biyolojik parametreler arasındaki ilişkiler Pearson Korelasyon testi yardımıyla hesaplanmıştır (SPSS, 2010). Parametreler arasındaki korelasyonlar üç işletme için sırasıyla **Tablo 4.7**, **Tablo 4.8**. ve **Tablo 4.9**.’da verilmiştir.

I nolu işletmede parametreler arasındaki korelasyonların genellikle küçük ve sıfırın altında olduğu görülmektedir. Biyokimyasal parametrelerden sadece Mg^{+2} ile NEFA arasındaki korelasyonun istatistik bakımdan önemli olduğu (0.55) tespit edilmiştir ($P<0.05$).

II nolu işletmede de korelasyonların bir önceki işletmede olduğu gibi sayısal olarak küçük ve negatif olduğu göze çarpmaktadır. Ancak, II nolu işletmede BHBA-Laktat (0.965, $P<0.01$), BHBA-VKS (0.703, $P<0.05$) ve VKS-Laktat (-0.672, $P<0.05$) arasındaki korelasyonların istatistik olarak önemli olduğu tespit edilmiştir. II nolu işletmede VKS ile laktatın birbirini olumsuz yönde, BHBA ile pozitif yönde etkilediği söylenebilir.

III nolu işletmede ise parametreler arasındaki ilişkiler diğer işletmelerde olduğu gibi sayısal olarak küçük ve sıfırın altında olmakla beraber NEFA-VKS (0.772, $P<0.01$), Mg-Laktat (0.611, $P<0.05$) ve Mg-VKS (-0.582, $P<0.05$) olduğu saptanmıştır. Söz konusu işletmede aralarında önemli ilişkiler olduğu tespit edilen parametrelerin aksine VKS ile Mg^{+2} arasında negatif yönde bir ilişkinin varlığı söz konusudur.

Tablo 4.7.: I. işlemede biyolojik testler arasındaki ilişki

Ölçümler	NEFA (mEq/L)	BHBA(mmol/L)	Laktat (mmol/L)	Mg (mmol/L)	Ca (mmol/L)	VKS
NEFA (mEq/L)	1					
BHBA (mmol/L)	0.99	1				
Laktat (mmol/L)	0.190	0.098	1			
Mg (mmol/L)	0.552*	0.273	-0.149	1		
Ca (mmol/L)	-0.221	-0.067	0.190	-0.551	1	
VKS	-0.140	0.375	0.219	0.044	-0.360	1

*: p<0.05, ** p<0.01, NEFA: Esterleşmemiş yağ asidi, BHBA: Beta hidroksi bütirik asit, Mg: Magnezyum, Ca: Kalsiyum, VKS: Vücut kondisyon Skoru

Tablo 4.8.: II. işlemede biyolojik testler arasındaki ilişki

Ölçümler	NEFA (mEq/L)	BHBA(mmol/L)	Laktat (mmol/L)	Mg (mmol/L)	Ca (mmol/L)	VKS
NEFA (mEq/L)	1					
BHBA (mmol/L)	0.232	1				
Laktat (mmol/L)	0.315	0.965**	1			
Mg (mmol/L)	-0.298	-0.300	-0.378	1		
Ca (mmol/L)	-0.112	0.272	0.152	-0.211	1	
VKS	0.162	0.703*	-0.672*	0.097	0.078	1

*: p<0.05, ** p<0.01, NEFA: Esterleşmemiş yağ asidi, BHBA: Beta hidroksi bütirik asit, Mg: Magnezyum, Ca: Kalsiyum, VKS: Vücut kondisyon Skoru

Tablo 4.9.: III. işlemede biyolojik testler arasındaki ilişki

Ölçümler	NEFA (mEq/L)	BHBA(mmol/L)	Laktat (mmol/L)	Mg (mmol/L)	Ca (mmol/L)	VKS
NEFA (mEq/L)	1					
BHBA (mmol/L)	0.242	1				
Laktat (mmol/L)	-0.237	0.368	1			
Mg (mmol/L)	-0.375	0.333	0.611*	1		
Ca (mmol/L)	0.140	-0.185	-0.068	-0.192	1	
VKS	0.772**	-0.037	-0.364	-0.582*	-0.148	1

*: p<0.05, ** p<0.01, NEFA: Esterleşmemiş yağ asidi, BHBA: Beta hidroksi bütirik asit, Mg: Magnezyum, Ca: Kalsiyum, VKS: Vücut kondisyon Skoru

4.4. Çalışma Kapsamında Karşılaşılan Komorbidite Oranları

Çiftlik Veteriner Hekimlerinin gözlemleri ve çalışma süresince gerçekleştirilen ziyaretler esnasında çalışma kapsamında elde edilen hastalık verileri Ek 3' deki forma kayıt edildi. I. işletmede klinik ketozis ve mastitis en sık karşılaştığımız hastalıklar iken çalışma öncesi alınan bilgilerde işletmenin idrarda keton testi ve Veteriner Hekim muayenesi ile belirlendiği ketozis, retensiyo sekundaryum, abort, mastitis ve metritisin işletmenin temel postpartum problemleri olduğu bilgisi elde edildi. Bu durumu II. işletmede topallık, ketozis, reproduktif problemler izlenmekte. Bunun yanı sıra doğum padoğuna alınan ineklerin bazılarında diğer ineklerin idrarını ve dışkısını yalama gözlemlendi (**Resim 4.3.**). Gene çalışma öncesi alınan işletme bilgilerine göre topallık ve çeşitli reproduktif hastalıkların işletmenin temel problemleri arasında yer aldığı bildirildi. Simental yetiştiriciliğinin gerçekleştirildiği III. işletmeye baktığımızda ise topallık, mastitis, klinik hipokalsemi, abort ve güç doğum gözlemlenen hastalık ve problemler arasındayken işletme sahibinden alınan bilgilerde güç doğum ve topallık ile sıklıkla karşılaşıldığı, topallığa bağlı yılda yaklaşık laktasyondaki 10 hayvanın kesime sevk edildiği bilgisi verildi.

İşletmelerde karşılaşılan hastalıkları sürü bazında değerlendirmek gerekirse I. işletmede 2 inekte klinik ketozis, 7' sinde mastitis görüldü. Bu işletmede mastitise bağlı 4, süt verimindeki azalmaya bağlı 2 inek çalışma sonrası sürüden uzaklaştırıldı. Yalnızca bir inekte mastitisten kaynaklanan düşük süt verimi elde edilmesiyle laktasyon padoğunun II. gruptan başlatıldığı belirtildi. I. işletmeden çalışmaya dahil edilen hayvanlardan sadece iki inekte herhangi bir hastalık şikayeti görülmedi. İdrarda keton sribi ile takibi yapılan ineklerden postpartum 1. hafta BHBA değerleri 0.6 ve 2.8 mmol/L iken 2. hafta BHBA değerleri 1.2 ve 3.7 mmol/L olarak belirlendi.

II. işletmede 1 inekte ketozis, 5 inekte topallık, 2 inekte retensiyo sekundaryum ve 1 inekte metritis gözlemlendi. Metritis görülen inekte pis kokulu akıntı dikkati çekti (**Resim 4.3.**). Ketozis görülen inekte postpartum BHBA değerleri oldukça yüksek (4,5 ve 5.5 mmol/L) seyretmesine rağmen bu inekte şiddetli klinik ketozis bulguları ile karşılaşılmadı. Çiftlik Veteriner Hekimi tarafından verilen bilgiye göre bir önceki laktasyona göre süt verimindeki azalma dışında klinik bir bulgu ile karşılaşılmadığı beyan edildi.



Resim 4.3.: İşletmelerde karşılaşılan hastalıklı hayvanlara ait görünüm; a) idrar yalama, b) topallık, c) mastitis, d) retensiyon sekondaryum, e) metritis

III. işletmede 2 inekte topallık ve mastitis, 2 inekte abort ve 1 tanesinde eşlik eden topallık, 1 inekte güç doğum olmak üzere 10 inekte topallık tespit edildi. Çalışma boyunca çalışma grubu dışında sürünün genelinde topallık dikkati çekti (**Resim 4.3.**).

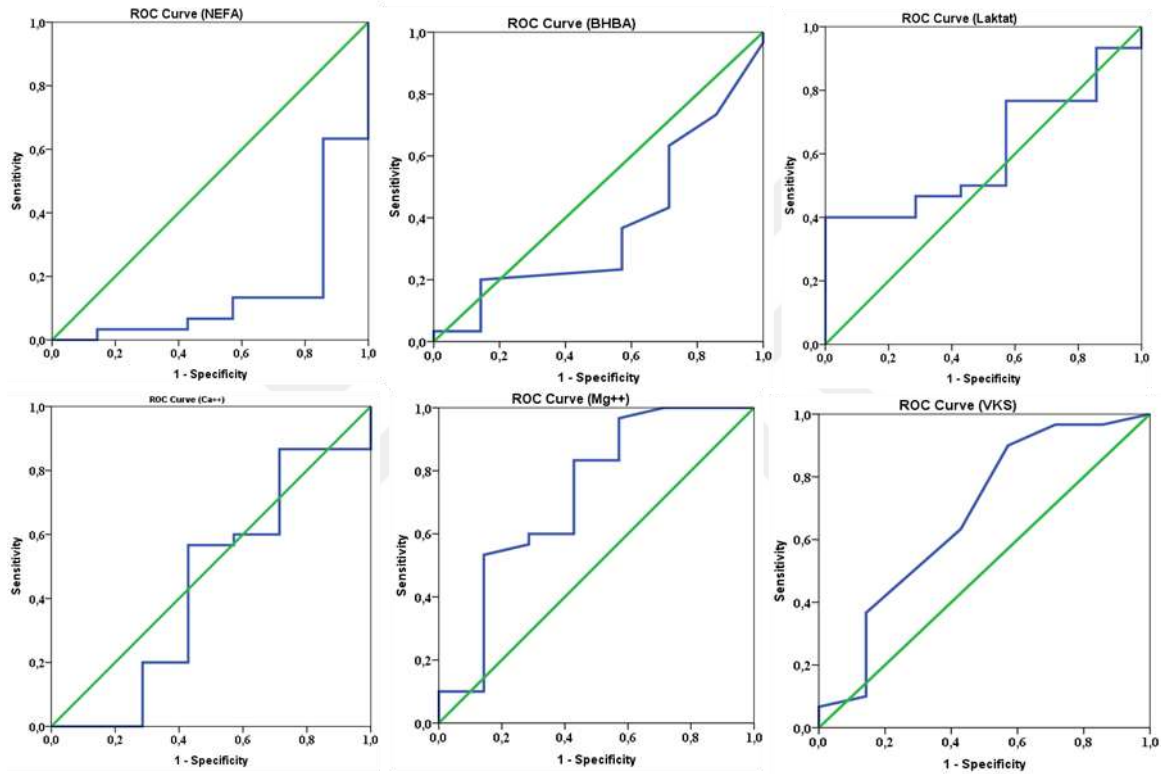
4.5. Biyolojik Testlere Ait Eşik Değerler

Bu çalışma kapsamına alınan olgularda değerlendirilen biyolojik testlerin (NEFA, BHBA, laktat, Mg^{+2} , Ca^{+2} ve VKS) postpartum bazı klinik hastalıklara yönelik eşik değerlerine bakıldığında, prepartum son iki hafta ortalama verilerine göre elde edilen sonuçlar **Tablo 4.10.**' da, doğuma ait eşik değer verileri **Tablo 4.11.**' de ve postpartum ilk iki hafta ortalama verilerine göre elde edilen ROC eşik değerleri ve standart hataları **Tablo 4.12.**' de verildi. Biyolojik testlerin eşik değerlerin belirlendiği ROC analizine ait grafikler ise **Şekil 4.1.**, **Şekil 4.2.** ve **Şekil 4.3**'de dönemlere göre izah edildi.

Tablo 4.10.: Prepartum dönemde biyolojik testlerin eşik değerleri ve standart hataları

Parametre	NEFA	BHBA	Laktat	Ca ⁺²	Mg ⁺²	VKS
Eşik değer	0,36	0,63	0,66	1,10	0,31	3,19
AUC (P değeri)	0,004*	0,304	0,394	0,642	0,068	0,151

AUC= İşlem karakteristik eğrisi altında kalan alan, *P<0.01.



Şekil 4.1.: ROC eğrisi analizi ile belirlenen prepartum eşik değerleri

Prepartum dönem eşik değerlere ilişkin **Şekil 4.1.** ve **Tablo 4.10.**' u incelediğimizde NEFA 0,36 mEq/L (P=0,004), BHBA 0,63 mmol/L (P=0,304), laktat 0,66 mmol/L (P=0,394), Mg⁺² 0,31 mmol/L (P=0,068) ve Ca⁺² 1,10 mmol/L (P=0,642) şeklinde saptanırken, VKS için bu değer 3,19 (P=0,151) olarak görülmektedir. Postpartum belirtilen klinik hastalıkların takibinde prepartum NEFA değerinin diğerlerine göre istatistiki öneme sahip olduğu (P<0.01) bulundu.

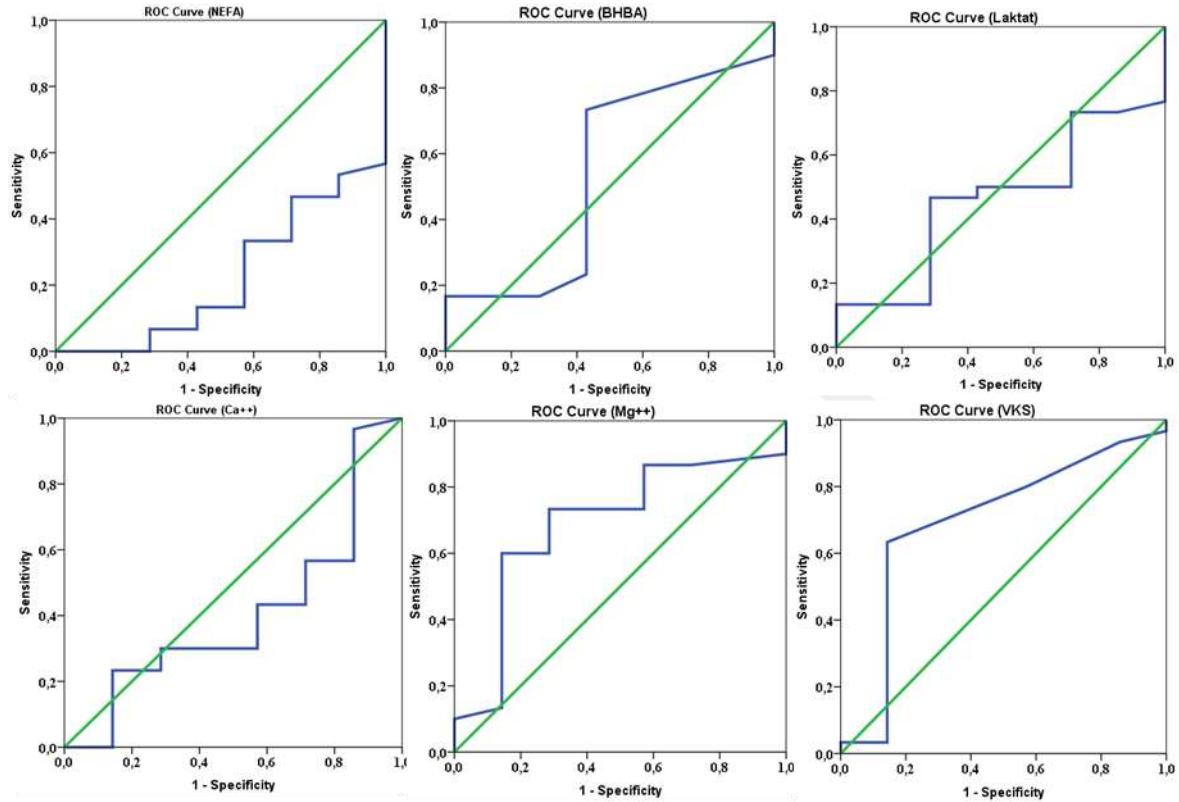
Doğum döneminde biyolojik testlerin postpartum hastalıkların tanımlanmasında **Şekil 4.2.** ve **Tablo 4.11.** incelendiğinde prepartum dönemle benzer şekilde 0,54 mEq/L bulunan NEFA' nın güvenilir olduğu (P=0,023) görüldü. Diğer biyobelirteçler olan BHBA 0,65 mmol/L

($P=0,727$), laktat $0,71$ mmol/L ($P=0,742$), Ca^{+2} $0,12$ mmol/L ($P=0,427$), Mg^{+2} $0,34$ mmol/L ($P=0,126$) ve VKS $2,88$ ($P=0,112$) şeklinde tespit edildi.

Tablo 4.11.: Doğum döneminde biyolojik testlerin eşik değerleri ve standart hataları

Parametre	NEFA	BHBA	Laktat	Ca^{+2}	Mg^{+2}	VKS
Eşik değer	0,54	0,65	0,71	0,12	0,34	2,88
AUC (P değeri)	0,023*	0,727	0,742	0,427	0,126	0,112

AUC= İşlem karakteristik eğrisi altında kalan alan, * $P<0.05$



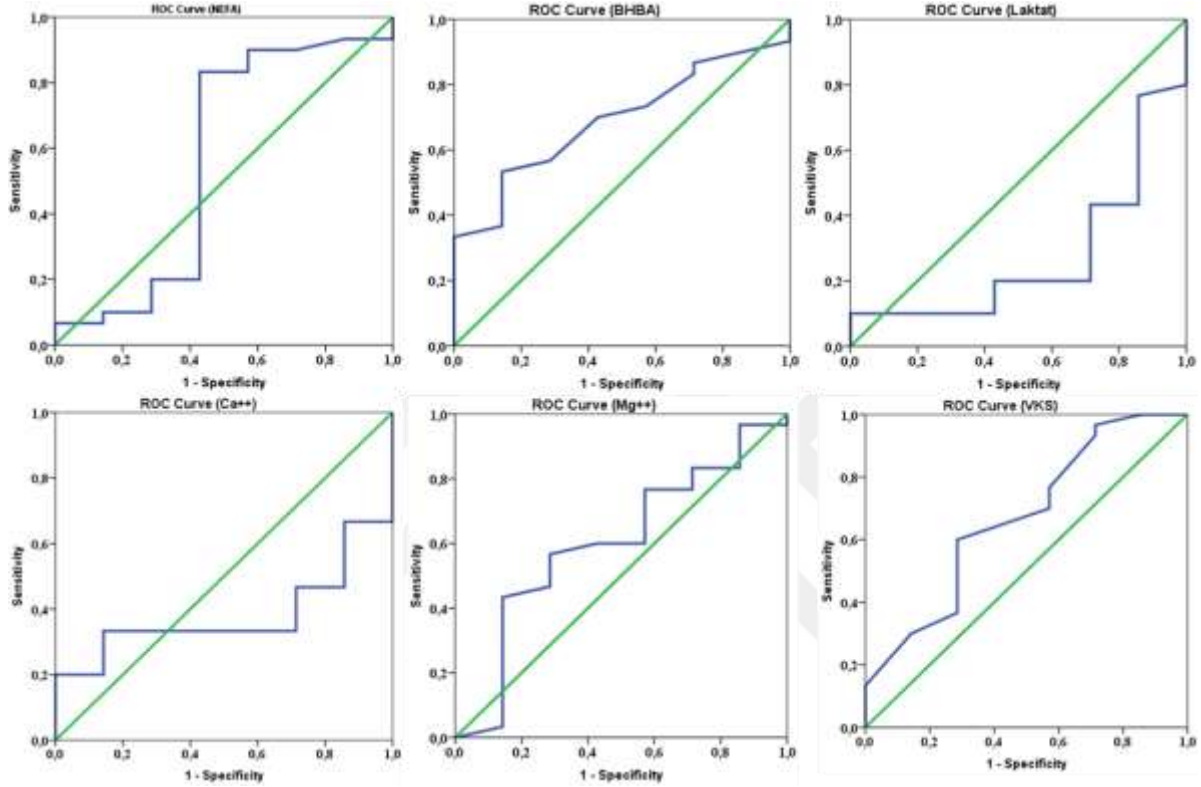
Şekil 4.2.: ROC eğrisi analizi ile belirlenen doğum dönemine ait eşik değerler

Postpartum eşik değerlerde NEFA $0,27$ mEq/L ($P=0,601$), BHBA $0,68$ mmol/L ($P=0,121$), laktat $0,74$ mmol/L ($P=0,065$), Mg^{+2} $0,30$ mmol/L ($P=0,404$), Ca^{+2} $2,17$ mmol/L ($P=0,332$) ve VKS $2,69$ ($P=0,169$) şeklinde bulunmasına rağmen postpartum bazı klinik hastalıkların tahminlenmesinde postpartum eşik değerlerin istatistiki öneme sahip olmadığı bulundu (Şekil 4.3., Tablo 4.12).

Tablo 4.12.: Postpartum dönem biyolojik testlerin eşik değerleri ve standart hataları

Parametre	NEFA	BHBA	Laktat	Ca ²⁺	Mg ²⁺	VKS
Eşik değer	0,27	0,68	0,74	2,17	0,30	2,69
AUC (P değeri)	0,601	0,121	0,065	0,332	0,404	0,169

AUC= İşlem karakteristik eğrisi altında kalan alan



Şekil 4.3.: ROC eğrisi analizi ile belirlenen postpartum dönem eşik değerleri

4.6. Biyolojik Testlerin Sürü Bazında Değerlendirilmesi

Sürü bazında NED ve subklinik hastalıklardan SKK, SKH ve SKM' ye yönelik eşik değer ve alarm risk seviyeleri literatür verine (Oetzel, 2003a, 2004; Duffield ve LeBlanc, 2009; Chapinal ve ark, 2012a, 2012b) dayandırılarak gerçekleştirildi (**Tablo 3.2.**). Sürü bazında subklinik hastalıkların değerlendirilmesine bakıldığında prepartum NEFA eşik değeri ≥ 0.4 mEq/L (Oetzel, 2003a; Cook ve ark, 2006) baz alındığında prepartum (-2)-(-14). günlerde çalışmaya dahil edilen 12-15 hayvanda %10 alarm seviyesine göre eşik değeri geçen hayvan sayısının 2 olması sürünün hastalık yönünden sınırdaki, ikiden fazla olması da sürü bazında negatif enerji dengesinin varlığını ve olası postpartum hastalıkların riskini göstermektedir

(Oetzel, 2003a). Bu değerlendirmelere göre çalışmamızda prepartum -2. haftada I. işletmede 12, II. işletmede 3, III. işletmede 5 hayvanda pozitif olduğu aynı zamanda prepartum -1. haftada I. işletmede 9, II. işletmede 8, III. işletmede 4 hayvanda NEFA değerinin eşik değerin üzerinde seyrettiği tespit edildi (**Tablo 4.13, Tablo 4.14., Tablo 4.15.**). NEFA için ortalama prepartum değerlere bakıldığında ise I. işletmede 10, II. işletmede 7, III. işletmede 3 hayvanda eşik değerin üzerinde veriler elde edildi.

Postpartum NEFA için %15 alarm risk değerine göre eşik değer ≥ 0.7 mEq/L baz alındığında, postpartum +1. haftada I. işletmede 5, II. işletmede 7, III. işletmede 9 hayvanda, pozitif olduğu, postpartum +2. haftada I. işletmede 4, II. işletmede 4, III. işletmede 8 hayvanda pozitif bulundu (**Tablo 4.13, Tablo 4.14., Tablo 4.15.**). Ortalama postpartum NEFA değerlerinde ise I. işletmede 4, II. işletmede 6, III. işletmede 8 hayvanda yüksek seyrettiği görüldü.

Subklinik ketozisin tanısında altın standart olarak belirtilen postpartum BHBA değerinde (Tyopponen ve Kauppinen, 1980; Knop ve Cernescu, 2009) eşik değer %10 alarm risk seviyesine göre 1.4 mmol/L olarak baz alındığında postpartum +1. haftada I. işletmede 2, II. işletmede 4, III. işletmede 1 hayvanda ve postpartum +2. haftada I. işletmede 5, II. işletmede 4, III. işletmede 1 hayvanda pozitif bulundu (**Tablo 4.13, Tablo 4.14., Tablo 4.15.**). Postpartum ilk iki hafta ortalama verilerine bakıldığında I. işletmede 3, II. işletmede 1, III. işletmede 1 hayvanda BHBA ≥ 1.4 mmol/L şeklinde seyretmekteydi.

Subklinik hipokalsemi yönünden çalışmadaki sürüler değerlendirildiğinde postpartum 24-48 saat içerisinde olan en az 12 hayvanda 4 inekte (%30) eşik değerin ≤ 2.0 mmol/L olmasıyla sürünün SKH yönünden riskli olduğu bildirilmektedir (Oetzel, 2003a; Cook ve ark, 2006; Caixeta ve ark, 2015). Çalışmamızda verilerin haftalık ölçümler şeklinde gerçekleştirilmesi ve postpartum ilk 3 gün içerisindeki analizlerin bulunmamasından dolayı ilk 24 saati kapsayan doğum (0. gün) verileri göz önünde bulunduruldu. Bu bağlamda I. işletmede 8 inekte II. işletmede 8, III. işletmede 7 hayvanda Ca^{+2} değeri ≤ 2.0 mmol/L düşük seyrederken işletmelerde **Tablo 3.2.**' ye göre SKM değerlendirildiğinde I. işletmede 6, II. işletmede 11, III. işletmede 1 hayvanda Mg^{+2} seviyeleri düşük seyretmekteydi (**Tablo 4.13, Tablo 4.14., Tablo 4.15.**).

Tablo 4.13.: I. nolu işletmedeki verilerin sürü bazında yorumlanması

	Prepartum (-2. hafta)	Prepartum (-1. hafta)	Postpartum (+ 1. hafta)	Postpartum (+ 2. hafta)	Postpartum (+ 1. hafta)	Postpartum (+ 2. hafta)	Doğum (0. gün) Ca ⁺²	Doğum (0. gün) Mg ⁺²
Biyotik testler	NEFA				BHBA			
Eşik değeri	(≥0.4 mEq/L) #		(≥0.7 mEq/L) &		(≥1.4 mmol/L) β		(≤2.0 mmol/L) *	(<0.61 mmol/L) †
	Hayvan sayıları							
Pozitif	13	13	13	13	13	13	13	13
	12	12	12	12	12	12	12	12
	11	11	11	11	11	11	11	11
	10	10	10	10	10	10	10	10
	9	9	9	9	9	9	9	9
	8	8	8	8	8	8	8	8
	7	7	7	7	7	7	7	7
	6	6	6	6	6	6	6	6
	5	5	5	5	5	5	5	5
	4	4	4	4	4	4	4	4
	3	3	3	3	3	3	3	3
	2	2	2	2	2	2	2	2
Negatif	1	1	1	1	1	1	1	1
Alarm-risk seviyesi (%)	10	10	15	15	10	10	30	20

Oetzel, 2003; Cook ve ark, 2006, & Ospina ve ark, 2013, β Oetzel, 2003; Cook ve ark, 2006, * Oetzel, 2003; Cook ve ark, 2006, † Feyter ve ark, 1986

Tablo 4.14.: II. nolu işletmedeki verilerin sürü bazında yorumlanması

	Prepartum (-2. hafta)	Prepartum (-1. hafta)	Postpartum (+ 1. hafta)	Postpartum (+ 2. hafta)	Postpartum (+ 1. hafta)	Postpartum (+ 2. hafta)	Doğum (0. gün)	Doğum (0. gün)
Testler	NEFA				BHBA		Ca ⁺²	Mg ⁺²
Eşik değeri	(≥0.4 mEq/L) [#]		(≥0.7 mEq/L) ^{&}		(≥1.4 mmol/L) ^β		(≤2.0 mmol/L) [*]	(<0.61 mmol/L) [¥]
	Hayvan sayıları							
Pozitif	12	12	12	12	12	12	12	12
	11	11	11	11	11	11	11	11
	10	10	10	10	10	10	10	10
	9	9	9	9	9	9	9	9
	8	8	8	8	8	8	8	8
	7	7	7	7	7	7	7	7
	6	6	6	6	6	6	6	6
	5	5	5	5	5	5	5	5
	4	4	4	4	4	4	4	4
	3	3	3	3	3	3	3	3
	2	2	2	2	2	2	2	2
Negatif	1	1	1	1	1	1	1	1
Alarm-risk seviyesi (%)	10	10	15	15	10	10	30	20

[#] Oetzel, 2003; Cook ve ark, 2006, [&] Ospina ve ark, 2013, ^β Oetzel, 2003; Cook ve ark, 2006, ^{*} Oetzel, 2003; Cook ve ark, 2006, [¥] Feyter ve ark, 1986

Tablo 4.15.: III. nolu işletmedeki verilerin sürü bazında yorumlanması

	Prepartum (-2. hafta)	Prepartum (-1. hafta)	Postpartum (+ 1. hafta)	Postpartum (+ 2. hafta)	Postpartum (+ 1. hafta)	Postpartum (+ 2. hafta)	Doğum (0. gün) Ca ⁺²	Doğum (0. gün) Mg ⁺²
Testler	NEFA				BHBA			
Eşik değeri	(≥ 0.4 mEq/L) [#]		(≥ 0.7 mEq/L) ^{&}		(≥ 1.4 mmol/L) ^β		(≤ 2.0 mmol/L) [*]	(<0.61 mmol/L) [¥]
	Hayvan sayıları							
Pozitif	12	12	12	12	12	12	12	12
	11	11	11	11	11	11	11	11
	10	10	10	10	10	10	10	10
	9	9	9	9	9	9	9	9
	8	8	8	8	8	8	8	8
	7	7	7	7	7	7	7	7
	6	6	6	6	6	6	6	6
	5	5	5	5	5	5	5	5
	4	4	4	4	4	4	4	4
	3	3	3	3	3	3	3	3
	2	2	2	2	2	2	2	2
Negatif	1	1	1	1	1	1	1	1
Alarm-risk seviyesi (%)	10	10	15	15	10	10	30	20

[#] Oetzel, 2003; Cook ve ark, 2006, [&] Ospina ve ark, 2013, ^β Oetzel, 2003; Cook ve ark, 2006, ^{*}Oetzel, 2003; Cook ve ark, 2006, [¥] Feyter ve ark, 1986

5. TARTIŞMA

Sunulan çalışma ile Aydın ilinde bulunan bazı süt sığırı işletmelerinde, geçiş dönemindeki seçilmiş metabolik hastalıkların sürü bazında teşhisine yönelik biyolojik testlerden olan NEFA, BHBA, laktat, Mg^{+2} ve Ca^{+2} seviyelerinin değerlendirilmesi amaçlandı.

Sürülerde hasta başı cihazların kullanımı elzem bir ihtiyaç olup uzun yıllar boyunca gerekli olan analizler laboratuvar ortamlarında gerçekleştirilmekteydi. Son zamanlara kadar saha şartlarında zaman gerektiren ve pahalı olan birkaç analiz gerçekleştirilebilirken günümüzde geniş pazar yelpazesi sayesinde daha düşük maliyetli yeni cihazların varlığı ile hasta başı yapılan analizler, hem hasta sahibi hem de veteriner hekimlere fayda sağlamakla birlikte bireysel ya da sürü bazında özellikle subklinik hastalıkların incelenmesinde ve takibinde bunun yanı sıra sürü yönetimi için kullanılabilir (Buczinski ve ark, 2014; Guyot, 2015). Kullanılan çoğu hasta başı cihazlar insan sağlığına yönelik geliştirilmiştir. Bu sebeple bu cihazların veteriner sahada kullanımının güvenilirliği ve doğruluğunun belirlenmesi gerekmektedir (Buczinski ve ark, 2014). Çalışmamızda kullanılan her iki hasta başı cihazda [Vet Photometer 700 DP (Diaglobal, Germany; distribütör; Genartek, İzmir, Türkiye), Vet TD-4235 β -Keton cihazı (Antalya, Türkiye)] yalnızca veteriner sahada kullanılmak üzere geliştirilmiştir. İlerki zaman diliminde anılan cihazın kalibrasyon çalışmalarının da gerçekleştirileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda elde edilen BHBA değerlerinin işletme ve rasyon faktörlerine göre istatistik bağlamında farklı bulunması; bizim çalışmamızda değerlendirilen plazma BHBA' dan farklı olarak süt BHBA konsantrasyonu üzerinde etkisi olduğu belirlenen çiftlik yönetim koşulları ve ırksal faktörler (Barth ve ark, 2011) ile ilişkide olabilir. Bunu destekler mahiyette Charolais x Holstein melezi ırklarda yüksek süt verimi ile ilişkisi bulunan genetik yapının BHBA seviyesi üzerinde etkili olduğu ve bu ırklarda BHBA konsantrasyonlarının daha yüksek seyrettiği bildirilmektedir (Hammon ve ark, 2010). Çalışmamızda BHBA konsantrasyonları Holstein süt sığırı yetiştiriciliğinin yapıldığı I. (2.51 ± 0.159 mmol/L) ile II. (1.15 ± 0.165 mmol/L) işletmelerde, Simental yetiştiriciliğinin yapıldığı işletmeye (0.77 ± 0.62 mmol/L) göre daha yüksek seyretilmektedir. Bu durum Holstein ırkı ineklerde süt veriminin Simentallere göre daha yüksek olması (Bendelja ve ark, 2011) ve BHBA'nın yüksek süt verimiyle olan ilişkisiyle (Hammon ve ark, 2010) açıklanabilir.

Benzer şekilde BHBA'da olduğu gibi çalışmamızda işletme faktörünün NEFA konsantrasyonunu da önemli derecede etkilediği görülmüştür. Öyle ki, I. işletme ile III. işletmede birbirine yakın NEFA ortalamaları elde edilirken, II. işletme de daha yüksek bir ortalama olduğu göze çarpmaktadır. II. nolu işletmede çalışma boyunca yapılan gözlemler ele alındığında diğer iki işletmeye göre hayvan sayısına oranla yetersiz alan ve buna bağlı laktasyon gruplandırmasının yapılmadığı sıkışık yerleşme, yetersiz çalışan sayısının yanı sıra hayvanların genel kondüsyonlarının daha düşük olduğu görülmüştür. Nitekim işletmelerin çalışma boyunca elde edilen VKS' sine bakıldığında $2 < VKS < 3$ aralığı olarak belirttiğimiz 1. VKS grubundaki hayvanların tamamı II. işletmeden alınan veriler olup genel olarak diğer işletmelere göre VKS' nin daha düşük olduğu dikkat çekmiştir. İşletmelerden tarafımıza verilmeyen rasyon değerleri gözardı edildiğinde VKS' nin işletmeye yönelik kötü bakım ve beslemenin yanı sıra KMT' deki azalma (Grummer ve ark, 2004; Hayirli, 2006; Roche ve ark, 2009) ve NEFA değerindeki artışla tutarlı NED' i yansıttığı düşünülebilir (Bell, 1995; Herdt, 2000a; Overton, 2003). Çolakoğlu ve Küplülü (2016) tarafından yapılan çalışmada düvelerde düşük VKS değeri ile (kalitatif olarak), yüksek NEFA ve BHBA (kantitatif olarak) konsantrasyonlarının sürülerde beslenme yönetimiyle ilişkili olabileceği sonucu çalışmamızdaki verilerle ilişkilendirilebilmiştir. Ayrıca benzer Hostein yetiştiriciliğinin yapıldığı I. işletmeye göre NEFA değerlerinin daha yüksek seyretmesi bu artışın ırk predispozisyonundan daha ziyade işletmedeki koşullarla ilişkili olduğunu destekler niteliktedir.

Aynı koşullar altında yetiştirilen Alman kırmızı başlı (çift amaçlı yetiştirme) ve Alman Holsteinlerinin metabolik durumlarının laktasyonun ilk beş haftada araştırıldığı bir çalışmada gerek örnekleme haftasının gerekse bireysel bazda çiftliklerin sütte BHBA ve kanda NEFA üzerine etkisi olduğu belirtilmektedir. Aynı çalışmada süt verimi için yüksek genetik ihtiyacı bulunan ırkların daha fazla metabolik yük ile karşılaştıkları, bunun periparturient dönemde besleme koşullarıyla ilişkide olduğu ve organik süt ineği yetiştiriciliğinde çift yönlü yetiştirmenin uygun olmadığı kanısını uyandırmıştır. Yine aynı çalışmada kandaki NEFA seviyelerinin aksine sütteki BHBA seviyelerinin tüm çiftliklerde işletme koşulları ve ırka dayalı olarak etkilendiği ortaya konulmuştur (Barth ve ark, 2011). Süt ve kandaki BHBA kaynakları olarak yağ mobilizasyonu ile ilişkili hepatik metabolizma (Nielsen ve ark, 2003), yemleme (Ingvarsen, 2006) ve rumen epitelial hücreleri (Nielsen ve ark, 2003) göstermektedir. Yine de sütte BHBA ölçümleri dikkatli değerlendirilmesi göz önünde bulundurulsa da SKK tanısında BHBA' nın bu çalışmada olduğu gibi elle ölçülen cihazlarla yapılması önem arz etmektedir (Iwersen ve ark, 2009).

Geçiş dönemindeki multiparöz ineklerde laktasyon sayısındaki artışa paralel olarak (Andersson ve Emanuelson, 1985; Duffield ve ark, 1997) BHBA konsantrasyonunda artış meydana geldiği ifade edilmektedir (Wathes ve ark, 2007; Bicalho ve ark, 2017). Farklı olarak bir çalışmada primiparöz ineklerde düşük yem tüketimi ve verime rağmen plazma kolestrol, BHBA ve BUN değerinin daha yüksek olduğu görülmektedir (Nasrollahi ve ark, 2017). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde primiparöz grupta BHBA seviyesi daha yüksek (1.72 ± 0.287 mmol/L) bulunmakla birlikte bu artış istatistiksel bir öneme haiz değildi. Primiparöz ineklerin geçiş döneminde metabolik strese daha duyarlı olduğu ve multiparöz ineklere göre daha dengesiz endokrin ve metabolik profile sahip oldukları belirtilmektedir (Folnožić ve ark, 2016). İlk laktasyona girecek ineklerin doğumdan sonraki zamana kadar yüksek konsantrasyonda yem ile beslemeye maruz kalmaması (Penner ve ark, 2007) sonucunda kanda biriken metabolitlerin vücuttan uzaklaştırılmasında yetersiz kaldığının belirtilmesi (Nasrollahi ve ark, 2017) de göz önüne alındığında primiparöz olanlarda BHBA seviyesinin neden daha yüksek seyredebileceği sorusu cevaplanabilir.

Negatif enerji dengesinin yanı sıra periparturient metabolik ve enfeksiyöz hastalıklar ile ilişkili olan BHBA konsantrasyonuna (Butler ve Smith, 1989; Grummer, 1993; Oetzel, 2004) yönelik yapılan çalışmalarda daha çok postpartum dönemde artan değerler göz önüne alınmaktadır (Ospina ve ark, 2010a; 2010b; 2010c; Seifi ve ark, 2011; Suthar ve ark, 2013). Her ne kadar prepartum ve postpartum dönemlerdeki BHBA analizini kapsayan çalışmalar mevcut olsa da bu çalışmalarda daha çok BHBA'nın postpartum dönem hastalıklarla olan ilişkisi incelenmiştir (Nydam ve ark, 2013; Tatone ve ark, 2015; Bicalho ve ark, 2017). Bicalho ve ark (2017) tarafından yürütülen çalışmada prepartum son haftada artış gösterdiği ve bu artışın postpartum ilk haftada pik seviyeye ulaşmasıyla birlikte postpartum diğer haftalarda giderek azaldığı görülmektedir. Ancak bu veriler arasındaki istatistiksel farklılık çalışmada bildirilmemektedir. Bizim çalışmamızda ise prepartum (-2. ve -1. haftalar), doğum (0. gün) ve postpartum (+1. ve +2. haftalar) dönemlerdeki BHBA konsantrasyonlarının postpartum döneme doğru istatistiksel öneme sahip olan bir artış gösterdiği görülmüştür. Postpartum ilk haftalara doğru giderek artış gösteren BHBA konsantrasyonu, doğuma yakın zamanda azalan DMI (Bobe ve ark, 2004, Drackley ve ark, 2005) ile birlikte karaciğerde NEFA'ların TCA siklusuna girmesine neden olan ve rumenden gelen okzalasetat miktarının azalmasıyla (Grummer, 1993; Drackley ve Andersen, 2006) ilişkilendirilebilir. Bunun yanı sıra karaciğerdeki okzalasetat:asetil-CoA dengesinin anaplerotik yolak olan okside asetil-CoA'ların TCA siklusu kapasitesini aşması ya da tam tersi olarak kataplerotik yolak olan artan asetil-

CoA' ların trigliseritlere esterleşmesine ya da keton cisimciklerine okside olmasına neden olan hepatik mekanizma (van Kneysel ve ark, 2005) ile izah edilebilir. İlerleyen postpartum dönemlerde BHBA konsantrasyonunun azalması da laktasyonla birlikte yüksek enerjili rasyonla beslemeye bağlı KMT' nin artması ve NED' in ortadan kalkmaya başlaması ile desteklenmektedir (Moallem ve ark, 2000; McGuire ve ark, 2004).

Çalışmamızda elde edilen veriler değerlendirildiğinde VKS' ye göre laktat ortalamaları $2 < \text{VKS} < 3$ aralığındaki hayvanlarda daha yüksek (3.40 ± 0.64) iken, $3 < \text{VKS} < 4$ grupta 1.80 ± 0.202 , $4 \leq \text{VKS}$ grupta 1.183 ± 0.554 şeklinde tespit edilmiştir ($P < 0.01$). Düşük VKS' ye sahip ineklerde tırnaklarda incelme ve tırnak kornularında erezyonların meydana geldiği bildirilmektedir (Toholj ve ark, 2014). Holstein ırkında olduğu gibi süt üretiminin yüksek olduğu hayvanlarda vücut rezervlerinin kullanımı sonucu tırnak problemlerinin oluşmasıyla VKS ile topallık arasındaki etkileşim desteklenmektedir (Green ve ark, 2002; Bicalho ve ark, 2008). Bunun yanı sıra topallık görülen ineklerdeki yüksek laktat dehidrojenez enzim aktivasyonu ile geçiş döneminde NED' sini yansıtan yüksek BHBA (Butler ve Smith, 1989; Grummer, 1993; Oetzel, 2004) konsantrasyonu arasında bir ilişki olduğu belirtilmektedir (Ristevski ve ark, 2017). Diğer taraftan kandaki laktat dehidrojenaz aktivasyonunun karaciğerdeki yağ infiltrasyonu ile bağıntılı olduğu bilinmektedir (Rezaeisaber ve ark, 2013). Organ spesifik olmayan ve çeşitli organlarda bulunan laktat dehidrojenaz aktivitesinin eşlik ettiği hücresel glikolizisin son ürünü olan laktat (Rogatzki ve ark, 2015), karaciğere taşınıp glukoneogenezis aşamasında tekrar glikoz sentezi için kullanılarak (Kori siklusu) diğer doku ve organlar için enerji oluşturmaktadır (Seal ve Reynolds, 1993). Ayrıca laktat dehidrojenaz enzim aktivitesindeki artışın (Ristevski ve ark, 2017) yanı sıra laktat seviyesindeki artışında topallıkla ilişkili olduğunu bildirilmektedir (Zhang ve ark, 2015). Enerji açığının kapatılması yönünde artan BHBA konsantrasyonunun yüksek laktat dehidrojenaz aktivitesi ile sonuçlandığı dahası uzun süreli topallık sonucunda aşırı kas yüklemesinin şekillendiği ve dokularda laktat üretiminin arttığı ifade edilmektedir (Zhang ve ark, 2015; Ristevski ve ark, 2017). Benzer olarak bizim çalışmamızda da düşük VKS' nin gözlemlendiği olguların yer aldığı II. nolu işletmede BHBA ile laktat ve VKS arasında pozitif yönlü, VKS ile laktat arasında negatif yönlü bir korelasyon saptandı. Buradan da yola çıkılarak ifade edilen çalışmalarla benzer olarak II. işletmede karşımıza çıkan ve bireysel olarak da ele alınan vakalarda görülen topallık bulgusu, $2 < \text{VKS} < 3$ grubundaki hayvanlarda görülen yüksek laktat konsantrasyonu ile alakalı olabilir. Diğer taraftan yüksek VKS' ye sahip hayvanlarda da topallık gelişme riski VKS düşük olanlarla benzer görülmektedir (Ristevski ve ark, 2017). Çalışma kapsamına alınan Simental

işletmesinde VKS' nın genel olarak yüksek olduğu ve topallık varlığı düşünüldüğünde $2 < \text{VKS} < 3$ grubundaki yalnızca üç hayvanda görülen yüksek laktat konsantrasyonların hayvan sayısının azlığına bağlı ortalama değer artışından kaynaklanabileceği de söylenebilir. Her iki durum da gözönüne alındığında olası laktat ve VKS arasındaki ilişkinin ayrıntılı bir şekilde ortaya konulabilmesi için örnekleme sayının yeterli olduğu daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulduğu aşikardır.

Beklenildiği gibi doğumdan birkaç gün önce azalmaya başlayan Ca^{+2} seviyesi doğum sonraki 12-24 saat içerisinde oldukça azalmaktadır (Melendez ve ark, 2002; Kimura ve ark, 2006; Goff, 2008; Quiroz- Rocha ve ark, 2009; Chapinal ve ark, 2012a, 2012b). Postpartum birkaç gün sonrasında ise prepartum seviyeye döndüğü bildirilmektedir (Martinez ve ark, 2012). Bizim çalışmamızda çiftlik bazında ortalama total Ca^{+2} seviyeleri I. işletmede 2.35 ± 0.122 mmol/L, II. işletmede 1.95 ± 0.127 mmol/L ve III. işletmede 1.83 ± 0.127 mmol/L şeklinde bulunmuştur. Ayrıca dönemlere göre (prepartum -2. ve -1. hafta, doğum, postpartum +1. ve +2. hafta) ortalama Ca^{+2} değerleri sırasıyla 1.79 ± 0.127 mmol/L, 1.83 ± 0.127 mmol/L ve 2.42 ± 0.127 mmol/L şeklinde elde edilmiştir. Prepartum döneme kıyasla her üç çiftlikte genel değerlendirme yapıldığında ortalama total Ca^{+2} seviyelerinin artış gösterdiği belirlenmiştir. Her üç çiftlikte de Ca^{+2} - Mg^{+2} dengesi gözetilmeksizin elde edilen verilerin dış kaynaklı rasyona mineral takviyelerinin yapılmasıyla ilişkili olabileceği düşünüldü. Bununla birlikte her üç çiftlik kendi içinde kıyaslandığında I nolu işletmede Ca^{+2} değerleri diğer gruplara göre daha yüksek seviyelerde bulunmuş olup rasyona CaCO_3 - MgO takviyesinin eklendiği öğrenildi. Diğer iki işletmedeki vitamin-mineral yem katkısıyla ilişkili bilgi tarafımıza verilmemiştir. Bir diğer husus ise literatürlerde bildirilen postpartum ilk iki günde Ca^{+2} seviyelerinin düşük seyretmesi (Melendez ve ark, 2002; Kimura ve ark, 2006; Goff, 2008; Quiroz- Rocha ve ark, 2009; Chapinal ve ark, 2012a, 2012b) ve postpartum 3. günden sonra giderek artması (Martinez ve ark, 2012) da gözönünde bulundurulduğunda çalışmamızda doğum sonrası kan analizlerinin 1. ve 2. haftalarda gerçekleştirilmiş olması da hipokalsemideki risk faktörünü arttıran postpartum Ca^{+2} seviyelerinin azalmasından ziyade giderek artış gösteren postpartum Ca^{+2} un nedenlerinden biri olarak izah edilebilir.

Yukarıda bahsi geçen ifadeleri destekler mahiyette Mg^{+2} seviyelerine ilişkin değişimlerin tam da bu noktada tartışılması gerektiğinin önemli olduğunu düşünmekteyiz. Bu bağlamda çalışmamızda işletmelere göre Mg^{+2} seviyeleri arasındaki farklılık istatistik anlamında önemli olup I. işletmede 0.73 ± 0.043 mmol/L, II. işletmede 0.51 ± 0.045 mmol/L ve III. işletmede

0.73 ± 0.045 mmol/L şeklinde seyretmektedir. Dönemlere göre Mg⁺² seviyeleri incelendiğinde ise (prepartum -2. ve -1. hafta, doğum, postpartum +1. ve +2. hafta) ortalama Mg⁺² değerleri sırasıyla 0.68 ± 0.048 mmol/L, 0.65 ± 0.048 mmol/L ve 0.64 ± 0.048 mmol/L şeklinde elde edilmiş olup istatistik önemi olmayan azalma saptanmıştır. Ortalama Ca⁺² değerlerindeki postpartum döneme doğru beliren artışa kıyasla Mg⁺² seviyelerinde görülen azalma, uygun olmayan rasyon ve beslenme (Kronqvist, 2011) ile ilişkilendirilebilir.

Şöyle ki laktasyondaki ineklerde Mg⁺² alımının diyetteki Mg⁺² seviyesiyle ilişkide olduğu ancak K⁺ ile herhangi bir ilişkisinin olmadığı belirtilmekle birlikte (Leonhard-Marek ve Martens, 1996; Holtenius ve ark, 2008; Kronqvist, 2011) tam tersi yönde çalışmalara da rastlanılmaktadır (Newton ve ark, 1972; Fisher ve ark, 1994). Diyetteki Ca⁺² miktarının buzağılama esnasında hipokalsemi üzerine herhangi bir etkisinin bulunmadığı ve yine hipokalsemi insidansının yüksek olduğu sürüler ile hipokalseminin bulunmadığı sürüler ile arasında herhangi bir fark görülmediği belirlenmiştir (Kronqvist, 2011). Tüm bunlara karşın diyetle yüksek oranda Ca⁺² bulunması Mg⁺² absorpsiyonunun azalmasına neden olmaktadır. İlgili literatür bilgisi dikkate alındığında çalışmamızda saptanan Mg⁺² ve Ca⁺², a yönelik değişiklikler açıklanabilir. Bir diğer noktada diyetle yer alan yüksek oranda K⁺, hipokalsemi insidansını arttırırken yine diyetle yüksek oranda Mg⁺² tam tersine hipokalsemi insidansını azaltmaktadır (Kronqvist, 2011). Bölgemizde yaptığımız saha taramalarında yayılımında olmayan ineklerin bulunduğu işletmelerde yenidoğan buzağılarda neonatal dönemde sıklıkla hipomagnezemi belirlenmesi diyetlerde Mg⁺² dengesinin iyi sağlanamadığının bir göstergesidir.

Bu çalışmada işletmelere göre Mg⁺², un diğer parametrelerle ortaya çıkan korelasyonlarına bakıldığında I. işletmede Mg⁺² ile NEFA (0.552, P<0.05), III. işletmede Mg-Laktat (0.611, P<0.05) ve Mg-VKS (-0.582, P<0.05) arasında bir ilişki saptanmıştır. Tam da bu noktada Mg⁺², un fizyolojik rolünü derinlemesine tartışmak gerektiği kanaatindeyiz. Mg⁺² intraselüler ortamda en yüksek seviyede ikinci, vücutta katyonlar içerisinde ise dördüncü sırada gelen iyondur (Cowan, 1995). Anılan iyon Ca⁺² ve K⁺ iyonlarının transportundan, sinyal iletişimi, enerji metabolizmasından (ki çalışmamıza konu olduğu üzere en mühim tespit) hücre üremesine birçok hücresel işlemde önemli rol oynamaktadır. İntraselüler Mg⁺² seviyesi ekstraselüler kompartmandan neredeyse 10 kat fazladır ki, bu sebeple serum total Mg⁺² analizi vücut rezervinin aslında kati olarak göstermemektedir. Diğer yandan serbest formda olan Mg⁺²,un iyonize formu ölçüldüğünde gerek hücre içine basit diffüzyonu gerekse vücutta rol

oynayan aktif formu olması münasebetiyle oldukça anlamlıdır (Özgür ve Kutluay, 2002). Mg^{+2} kofaktör vaziyette 300'den fazla enzimatik organizasyonda rol teşkil etmekte (Cowan, 2002), özellikle hücre içerisinde yer aldığı reaksiyonlara yönelik enerji metabolizmasına dair fosfat gruplarının ve tepkimelerinin yanı sıra protein sentezi, glikoliz/oksidatif fosforilasyon, nükleotid metabolizması regülasyonunda rol oynamaktadır (Wacker ve Parisi, 1968; Rude, 2001; Cowan, 2002; Barbagallo ve ark, 2003). Aslında Mg^{+2} hücre seviyede ATP' nin kullanıldığı tüm fizyolojik mekanizmalarda yer almaktadır (Rude, 2001; Turgut, 2000; Ağaoğlu ve ark, 2011). Mg hücre içi nükleus, mitokondri ve endoplazmik retikulumda homojen dağılmış, hücre içine giriş ve çıkışı hücre içi cAMP aracılığında olmaktadır (Bogucka ve Wojtczak, 1976). Hücre içi cAMP seviyesinde artış Mg^{+2} 'u hücre dışına çıkarırken, azalışı hücre içine Mg^{+2} girişine neden olmaktadır (Romani ve Scarpa, 1992)

Karaciğer hepatositlerinde Mg^{+2} rolüne baktığımızda, kontrolünde ATP üretimi ve ATP' nin ATPaz enziminin rol aldığı Na^{+}/K^{+} -ATPaz, Ca^{+2} -ATPaz gibi enzim aktivitelerinde iletişimi sağlamaktadır (Romani ve Scarpa, 1992). Bu sebeple de sitoplazmik ATP' lerin %90' ını Mg^{+2} ile kompleks halinde bulunmaktadır (Luthi ve ark, 1999). Ayrıca hepatositlerdeki Mg^{+2} ' un çoğu enerji metabolizmasının kapsadığı glikolizis, glukoneogenezis ve krep döngüsünde kullanılan enzimlerin kofaktörünü oluşturmaktadır (Cowan, 2002). Mg^{+2} ' un kullanıldığı çeşitli glikolitik enzimler arasında hekzookinaz, fosfofruktokinaz, aldolaz, fosfogliserat kinaz, purivat karboksilaz ve purivat kinaz yer almaktadır (McNeill ve ark, 1982).

Enerji açığı/eksikliği esnasında serbest yağ asitlerinden sentezlenen BHBA, keton cisimciklerinin ana komponentini oluşturmakta (Tyopponen ve Kauppinen, 1980), BHBA konsantrasyonlarında artış NED esnasında NEFA'nın TCA siklusunda yetersiz oksidasyonunu işaret etmektedir (Herdt ve ark, 2000a). Mg^{+2} yetersizlikleri yağ asitlerinin oksidasyonunda görevli olan ve yukarıda da bahsi geçen enzim ve protein sentezini azaltarak karaciğerde trigliserit birikimine neden olmaktadır (Etwebi, 2011). Keçilerde yem kısıtlamasına (Kouakou ve ark, 1999) bağlı olarak plazma NEFA seviyelerinde meydana gelen artış, deneysel yolla oluşturulan stres koşullarına bağlı olarak NEFA konsantrasyonlarının 199.5 mEq/L'den 752.5 mEq/L seviyelerine yükselmeye neden olmuştur (Kannan ve ark, 2003). Gerek inek (Holtenius ve ark, 2003) gerekse koyun (Steel ve Torrie, 1980) ve keçilerde (Azab ve Abdel-Maksoud, 1999) gebelik ve laktasyonun metabolik strese neden olarak hematolojik değişikliklerle sonuçlandığı bildirimler dikkate alındığında NEFA seviyeleri ile Mg^{+2} arasındaki ilişki yukarıdaki tüm bilgiler ışığında enerji dengesi ve/veya stres ile ilişkilendirilebilir. Mg^{+2}

yetersizliği saptanan farelerde karaciğer kesitleri incelendiğinde oksijen alımının ve protein sentezinin azaldığı, mitokondrilerin şiştiği belirlenmiştir (Geroge ve Heaten, 1978). Bunu destekler mahiyette diabetik farelerde Mg^{+2} ca zengin beslenmenin kardiyoprotektif etkileri saptanmış, total kolesterol, trigliserit seviyeleri ile oksidatif stresin azaldığı belirlenmiştir (Olatunji ve Soladoye, 2007).

Magnezyumun geçiş dönemindeki ineklerde enerji metabolizması ve NED' e olan direkt etkisinin yanı sıra NEFA ile olan ilişkisine yönelik bir çalışma bulunmamasına rağmen Mg^{+2} un karaciğer yağ asiti oksidasyonuna olan etkisine bakıldığında bu iki parametre arasında negatif yönlü bir ilişki olasılığı düşünülebilir. Ancak aksi yönde akut karaciğer hastalıklarında bilirubin seviyesindeki artışla paralel olarak akut hepatoselüler hasarda intraselüler bir iyon olan Mg^{+2} un hasarlı hücreden olası sızıntısına bağlı Mg^{+2} seviyelerinin yüksek seyrettiği bildirilmiştir (Gowda ve ark, 2015). Geçiş dönemindeki ineklerde karaciğer yağlanma derecesi ve hepatik metabolik değişimler sonucunda hepatositlerde Mg^{+2} un yoğun olduğu (Bogucka ve Wojtczak, 1976) mitokondriyal hasarın yanı sıra hücrenel düzeyde de değişimler meydana gelmektedir (Johannsen ve ark, 1993). Yukarıda bahsi geçen hipomagnezemi durumlarında meydana gelen oksidatif strese bağlı mitokondrilerin şişmesi (Geroge ve Heaten, 1978) olası hücrenel hasarla intraselüler Mg^{+2} un hücre dışına sızmasına neden olabilir. Postpartum NEFA, BHBA ve total bilirubin ile karaciğer yağlanmasıyla pozitif yönlü bağıntısının olduğu bildirilmektedir (Kirovski ve Sladojevic, 2017). Çalışmamızdaki ilk grupta NEFA seviyeleri ile Mg^{+2} arasında şekillenen pozitif korelasyon yukarıdaki bilgiler ışığında açıklanabilmekle birlikte Mg^{+2} un NEFA ile bulunan olası kompleks ilişkilerinin ilerleyen çalışmalarla aydınlatılması gerektiği kanaatindeyiz.

Kuru dönem beslemesinde yeme katılan magnezyum sülfatın vücut kondüsyonuna etkisi olmadığı belirtilirken (Stockdale, 2004) diğer bir çalışmada VKS' ndaki her bir birimlik artışta Mg^{+2} seviyesinin 0.04 mM artış gösterdiğini bildiren çalışmalar mevcuttur (Stockdale, 2004). Diğer taraftan diyetdeki Mg^{+2} seviyesinin azalmasıyla hücrenel sodyum ve potasyumun uğradığı anormal artışın hücre tipine bağlı olarak insulin salınımı ve metabolik fonksiyonları değiştirmesiyle insulin direncinin geliştiği ve buna bağlı obezite ile Mg^{+2} arasında birbirini etkileyen negatif yönlü bir ilişkinin olduğu bildirilmektedir (Resnick, 1993; Huerta ve ark, 2005). Diğer taraftan Schimitt ve ark. (2016) tarafından gerçekteştirilen çalışmada geçiş dönemindeki SKM' li sığırlarda incelenen hormonal ve metabolik değişimlere bakıldığında hipomagnezemiyle beraber glukagon/insulin oranının arttığı bildirilmiştir. Yüksek süt verimine

sahip ineklerde laktogenezis ve NED ile artan enerji talebi beraberinde farklı mekanizmalar aracılığıyla insulin direncini de getirmektedir (Chalmeh ve ark, 2014). Yüksek VKS' ye sahip ineklerde insülin direncinin de doğru orantılı olarak yüksek seyrettiği görülmektedir (De Koster ve Opsomer, 2013). Çalışmamızda III. İşletmede elde edilen Mg-VKS arasındaki negatif yönlü bağlantı bu şekilde açıklanabilir. Ayrıca Mg^{+2} ' un insulin direncinin de bir parçası olduğu enerji metabolizmasındaki rolü yukarıda ayrıntılı bir şekilde açıklanmıştır. Buradan yola çıkarak Mg^{+2} ' un VKS üzerine olan etkisi diğer bir görüş ile de aydınlatılmaya çalışılabilir. Nitekim aynı işletmede VKS ve NEFA arasındaki pozitif yönlü ilişki de bu savı destekler niteliktedir.

Magnezyum ile laktat arasındaki ilişkiye bakıldığında Mg^{+2} anaerobik glikolizde yeralan enzimlerin de kofaktörü olarak görev almaktadır. Tiyamin, Mg^{+2} varlığında aktif formu olan tiyamin fosfota dönüşerek pruvat dehidrojenaz ile birlikte pruvatın asetil-CoA' ya metabolize olmasıyla sitrik asit siklusuna girişine yardımcı olmaktadır (Manzanares ve Hardy, 2011). Mg^{+2} eksikliğinde sekteye uğrayan oksidatif fosforilasyon anaerobik metabolizmaya kayarak laktik asit üretimi ile sonuçlanmaktadır. Buna bağlı Mg^{+2} yetersizliklerinde serum laktat seviyesinin artış gösterdiği bildirilmektedir (Moskowitz ve ark, 2016). Bunu destekler mahiyette 18-22 yaş arası 30 sağlıklı insanda Mg^{+2} takviyesi yapılarak önce ve sonra laktat seviyeleri ölçülmüş, laktatın yorgunlukla birlikte arttığı buna karşın Mg^{+2} takviyesinin sporcularda laktat seviyelerini etkin şekilde düşürerek performansı arttırdığı belirlenmiştir (Çınar ve ark., 2006). Laktat konsantrasyonlarındaki negatif yönlü azalmaya eşlik etmesi gereken Mg^{+2} seviyelerinin çalışmamızda bu bilginin tam tersine prepartum dönemden postpartal döneme kadar azalan konsantrasyonlarda seyretmesi ve pozitif korele olması farklı literatürlerle açıklanabilir. Şöyle ki yüksek içerikli anaerobik egzersiz sonrası kompartmanlar arası Mg^{+2} seviyelerinin kanda hızla değiştiği ve egzersiz önceki seviyelerine iki saatte ulaştığı ve egzersiz esnasında idrarla kaybedilen Mg^{+2} seviyelerinin bazal seviyeye ancak egzersizden bir gün sonra döndüğü ve normal seviyelere ulaştığı anlaşılmaktadır. Egzersiz kaynaklı olarak Mg^{+2} ekskresyonundaki artış anaerobik metabolizma ile ilişkili olabilmektedir (Deuster ve ark, 1987). Gebe olmayan laktasyondaki sütçü ineklerde (5/9) Mg^{+2} ' un idrarda azalan fraksiyonel ekskresyonu, intraselüler serbest Mg^{+2} ' un hücre ve doku fonksiyonlarını bozması (Scweigel ve ark, 2009) neticesinde meydana gelen anaerobik kapasiteyle açıklanabilir. Çalışmamızda tekrarlayan ölçüm (saatlik bazda) ile fraksiyonel Mg^{+2} ekskresyonu (idrarda) teknik sebeplerle gerçekleştirilemediğinden Mg^{+2} ' un kanda kompartmanlar arasındaki değişimi tam anlamıyla anlık akışta değerlendirilememiştir. Yine de tüm bu ilişkili literatür bilgisi göz önünde

bulduğunda genel geçer literatür bilgisinin aksine Mg^{+2} ile laktat arasındaki pozitif korelasyonu açıklar mahiyettedir.

Hepatik lipidozis gelişen geçiş dönemindeki ineklerde aynı süreçte laktat seviyelerinin hasta olmayanlara göre daha düşük olduğu bildirilmiştir (Ametaj ve ark, 2005). Laktatın karaciğer disfonksiyonlarında üretiminin artması ancak karaciğer tarafından klirensinin azalması beklenmektedir (Andersen ve ark, 2013). Beslenme sonrası kan laktat seviyesinin artış gösterdiği (Leedle ve ark, 1995) bilinmekle birlikte TMR ile gün boyu besleme yapılan sürülerde laktat seviyesinin farklılık göstermediği (Figueiredo ve ark, 2006) ancak ırklara ve mevsimlere göre farklılık gösterebileceği belirtilmektedir. Özellikle organik beslenmeye tabi tutulan ineklerin laktat konsantrasyonunun konvensiyonel yolla beslenenlere oranla daha yüksek ($P < 0.0001$) seyrettiği de saptanmış olup kış beslemesinin ve Hosteinlerin genetik olarak kilogram vücut ağırlığı başına daha fazla yem tüketmesinin serum laktat seviyesini etkileyebileceği ifade edilmektedir (Odhiambo ve ark, 2013). Çalışmamızda örneklenen çiftlik ve hayvanlar bireysel olarak değerlendirildiğinde hem kış hem de yazın analizler gerçekleştirilmiş olup laktat analizlerinin hasta başı analizi için kan örnekleri sabah beslemesinden 6-8 saat sonra gerçekleştirilmiştir. Benzer şekilde bizim çalışmamızda da TMR ile besleme yapılmakta olup mevcut hayvan popülasyonu prospektif değerlendirme için sınırlı kaldığından mevsime bağlı değişimin laktat seviyeleri üzerine etkinliği yorumlanamamıştır.

Sürü bazında biyolojik testler değerlendirilirken belirlenen eşik değer, sürünün durumu ve örnekleme zamanından etkilenebilmektedir (Chapinal ve ark, 2012b). Pratik uygulama açısından sürü bazında farklı hastalıkların belirlenmesinde kullanılacak biyolojik testlerin eşik değerlerine yönelik çalışmalarda bireysel eşik değerler kullanılabilir. Bununla birlikte gerek sürü bazında gerekse bireysel olarak farklı sonuçlar elde edilebilmektedir (Chapinal ve ark, 2011; 2012a, 2012b). Biyolojik değişimlere bağlı olarak bazı hayvanlardaki değerler eşik değerinin altında ya da üzerinde seyredebilmektedir. Bu sebeple de sürü bazında yapılan değerlendirmelerde normal sürü seviyesindeki değişimleri aşan ineklerin oranlamasına göre sürü bazında seyreden sağlık problemleri göz önünde bulundurulmaktadır (Oetzel, 2003a; Cook ve ark, 2006). Bu sebeple de subklinik hastalıklar için alarm seviyelerinin belirlenmesi gerektiği, alarm seviyelerinin de ineklerin tolerans seviyesini temsil eden araştırma ve klinik tecrübelerden doğduğu bildirilmektedir (Cook ve ark, 2006). Sürü bazındaki değerlendirmede yeter sayıda örnekleminin gerçekleştirilmesine yönelik olarak uygun istatistiksel metotlarla sürüyü yansıtabilecek güven aralığı elde edilmeye çalışılmaktadır. Araştırma denemeleri tipik

olarak güven aralığı %95 olan yüksek güvenilirliğe ihtiyaç duymaktadır. Ancak saha şartlarında daha düşük güven aralığında sonuçları yansıtan popülasyonların kullanılabilirliğinin uzun çalışma ve klinik deneyimler sonucunda ortaya konulduğu bildirilmektedir (Oetzel, 2003a;2004; Duffield ve LeBlanc, 2009; Caixeita ve ark, 2015). Bu sebeple çalışmamızda eşik değerlerin tespit edilmesinde ROC eğrisi yöntemi ile postpartum bazı klinik hastalıkların yorumlanmasına yönelik eşik değerler belirlenmesine rağmen hayvan popülasyonunun (37 inek) kısıtlı sayıda oluşuna bağlı olarak subklinik hastalıkların yorumlanmasında sürü bazında gerçekleştirilen literatür verileri dikkate alındı (Oetzel, 2003a, Cook ve ark, 2006; Goff, 2006; Ospina ve ark, 2013; Caixeta ve ark, 2015). Parametrelerin eşik değeri belirlenirken gerçek doğum zamanı dikkate alınmaksızın haftalık alınan kan örneklerine göre değerlendirildi. Böylelikle çalışmadan elde edilen sonuçlar haftalık örnekleme yapılabilen sürü gözlem programına uygulanabilir hale getirildi. Bizim çalışmamızdaki örnekleme programına bakıldığında bu sürülerin tüm yıldaki hastalık insidansını yansıtmamakla birlikte sürüler arası hastalık insidanslarındaki küçük farklılıkların belirlenmesine imkan vermemektedir.

Prepartum dönem sığırlarda NED'nin iyi bilindiği üzere önemli bir biyobelirteci olan NEFA konsantrasyonlarındaki artış, buzağılama sonrası farklı hastalıkların görülme sıklığına yönelik önemli bilgiler verirken, azalmış olan NEFA konsantrasyonlarının biyolojik öneme sahip olmadığı tespit edilmiştir. Bu bağlamda 0.4 mEq/L'nin üzerinde [buzağılamadan sonraki 2 ila 14. günler] artışların (Oetzel, 2003a; Cook ve ark, 2006) uygun eşik değeri olacağı bildiri göz önünde bulundurulduğunda, çalışmamızda elde edilen prepartum NEFA eşik değeri (0,36 mEq/L, 0,004) sürü bazında değerlendirilen eşik değeri ile uyumlu olup çalışmamıza göre istatistiksel anlamlılık göstermiştir. Ülkemiz şartlarında sürü bazında daha geniş popülasyonlarla sürü bazında değerlendirmede bir arada kullanılacak farklı biyolojik parametrelerin, ROC analizleriyle ilk kez değerlendirildiği bu araştırma ile postpartum bazı hastalıklara yönelik eşik değerlerin tespiti yapıldı. Analizlerimizin BHBA dışındaki tamamının yapıldığı Vet Photometer DP 700 (Diaglobal, Germany; distribütör; Genartek, İzmir, Türkiye) cihazında böylelikle subklinik hastalıklara yönelik eşik değeri ve alarm risk seviyelerinin belirlendiği önceki çalışmalara (Oetzel, 2003a, 2004; Duffield ve LeBlanc, 2009; Chapinal ve ark, 2012a, 2012b) benzer olarak ROC analizi sayesinde ikili sınıflandırmayla (bu çalışmada analiz ve klinik bulgular dahilinde) ayırım eşik değerinin farklılık gösterdiği durumların tespitine olanak sağlamıştır. Dolayısıyla da, hassasiyetin kesinliğe olan oranıyla ortaya çıkarılmıştır. Ancak bir önceki paragrafta da bahsi geçen sebepler gözönüne alınarak NED ve subklinik hastalıkların sürü bazında takibinde literatür eşik değeri verilerinden yararlanılmıştır.

Yüksek NEFA' ya sahip ineklerin oranlanmasıyla belirlenen sürü bazındaki eşik değer ile postpartum metritis ve retensiyon sekondaryum arasında bir ilişki belirlenmezken doğum öncesi baz alınan NEFA ≥ 0.3 mEq/L eşik değerinin her iki hastalığın bireysel olarak görülmesinde kullanılabileceği belirtilmiştir (Chapinal ve ark, 2011). Diğer taraftan postpartum artmış NEFA değerine sahip ineklerin oranlanmasıyla elde edilen eşik değerin sürü bazlı ilk tohumlamada gebe kalma oranındaki azalma ile bağlantılı olduğu ancak bireysel olarak ilişkili olmadığı görülmüştür (Ospina ve ark, 2010a; Chapinal ve ark, 2011). Bizim çalışmamızda yöntem kısmında da bahis edildiği üzere çalışma kapsamına alınan üç çiftlikten ikisinde düzenli veteriner hekim çalıştırılmasına karşın, ilk tohumlamada gebe kalma oranlarıyla ilişkili bilgi elde edilemediğinden buna yönelik bir değerlendirme yapılamamıştır. Yine de çalışmamızda elde edilen prepartum ve doğum (0. gün) esnasındaki NEFA değerleri sırasıyla 0,36 mEq/L ile 0,54 mEq/L şeklinde saptanmış olup, istatistiksel açıdan postpartum bazı reproduktif hastalıklar, klinik ketozis ve topallık ile ilişkide bulunmuştur. Her ne kadar kısıtlı örnekleme sayısından dolayı birebir hastalık eşleştirilmesi yapılamasa da prepartum NED' nin belirlenmesi ve postpartum hastalıklar yönünden sürü takibinde önemli görülen NEFA değeri diğer çalışmamalarla (Oetzel, 2003a; 2004; Cook ve ark, 2006; Chapinal ve ark, 2011; 2012a, 2012b; Robert ve ark, 2012) benzer eşik seviyelerde bulunmuştur.

Esterleşmemiş yağ asitlerinin yanında postpartum dönemde metabolik hastalıklardan SKK tanısına yönelik laktasyonda 5-50. günlerinde ≥ 1.4 mmol/L üzerindeki BHBA değerlerinin %10 alarm seviyesinde eşik değer olarak kullanılabileceğini belirtse de (Oetzel, 2003a, 2004; Cook ve ark, 2006) bizim çalışmamızda postpartum dönemdeki ineklerde ROC analizleri dahilinde 0,68 mmol/L BHBA eşik düzeyi belirlenmiş olup muhtemelen alanında ilk kez ülkemizde belirlenen ilgili cihaza ait bu eşik değerin ileride gerçekleştirilecek olan çalışmalara rol model olabileceğinin emareleri oluşmuştur. Mamafih daha yüksek popülasyonda yine çalışmamıza benzer şekilde tekrarlayan ölçümlerle ROC analizlerince desteklenen araştırmalara ihtiyaç duyulacağı muhakkaktır. Filhakika bir sonraki çalışmamızın amaçlarından biri de bu olacaktır.

Klinik tecrübeler dayalı literatür verilerinde doğum öncesi NEFA değeri ≥ 0.4 mEq/L ve doğum sonrası BHBA değeri ≥ 1.4 mmol/L baz alınarak grup içerisinde %10' unun eşik değeri geçmesinin sürüde NED ve SKK yatkınlık oluşturacağı belirlenmiştir. Postpartum örneklemelerin %30' unda postpartum Ca^{+2} değerinin < 2.0 mmol/L olmasıyla sürü bazında hipokalsemi problemlerinin gelişebileceği ifade edilmektedir (Oetzel, 2003a, 2004). Farklı bir

çalışmada ise sürü bazında prepartum NEFA eşik değeri ≥ 0.27 mEq/L, postpartum $\geq 0.60 - 0.70$ mEq/L ve postpartum BHBA eşik değeri $\geq 1,000$ ya da $1,2$ μ mmol/L olanların oranının %15-20 olmasıyla sürü bazında abomazum deplasmanı, klinik ketozis, süt üretiminde azalma ve gebe kalma oranında azalma riskinde artış meydana geldiği belirtilmiştir. Prepartum NEFA ve postpartum NEFA ile BHBA seviyesindeki artışların hastalık insidansındaki artışla ilişkili olduğu bildirilmektedir (Ospina ve ark, 2010a). Eşik değer ve örnekleme oranının farklı olduğu diğer bir çalışmada ise postpartum 1. haftada BHBA eşik değeri $\geq 1,4$ mmol/L olanların örnekleme oranı %25 olarak belirlendiğinde postpartum abomazum deplasmanı gelişme riskinin arttığı belirtilmiştir (Chapinal ve ark, 2012b). Bildirilen çalışmada elde edilen BHBA eşik değeri Oetzel (2004)' de belirtilen ile benzer olmasına rağmen oranın daha yüksek olmasıyla farklılık göstermektedir. Bunun nedeni olarak her iki çalışmadaki farklı örnekleme zaman dilimleri ve örnekleme sayıları neden gösterilmektedir.

Bahsi geçen çalışmalar içerisinde araştırmamızın temelini Oetzel (2003a)' in yaptığı çalışma oluşturmuş olup her üç işletmenin prepartum NEFA ≥ 0.4 mEq/L eşik değerini aşan hayvan sayısının %10 alarm-risk seviyesinden oldukça yüksek olduğu görülmüştür. Aynı çalışmaya göre bir işletmede prepartum (-14)-(-2) günlerde olan 12 hayvandan ikisinin NEFA' nın belirtilen eşik değerin üzerinde seyretmesiyle sürünün NED içerisinde olduğu belirtilmektedir (Oetzel, 2003a). Çalışmamızdaki gerek prepartum (-1). haftada gerekse de (-2). haftada elde edilen NEFA değerlerine ait oranlamanın yüksek olduğu görülmektedir. Bu verilere göre her üç işletmenin postpartum NED içerisinde olduğu ifade edilebilir.

Gene prepartum NEFA ≥ 0.4 mEq/L, postpartum BHBA değeri $\geq 1,4$ mmol/L eşik değeri geçen hayvan sayısı %10 eşik değere göre değerlendirildiğinde I. işletmede 8 ve II. işletmede 4 inekte birlikte yüksek seyrettiği dikkate alındığında her iki Holstein işletmesinde NED' sine eşlik eden SKK varlığının söz konusu olduğu söylenebilir. Nitekim I. işletmede 2 inekte idrarda keton sribi ve çalışmadaki BHBA takibiyle görülen klinik ketozis olgusu bu durumu desteklemektedir. III. işletmede postpartum dönemde 4 olguda BHBA değeri $\geq 1,4$ mmol/L eşik değerinin üzerinde seyrederken prepartum NEFA ve postpartum BHBA yalnızca bir olguda eşik değerin üzerinde görülmektedir. İşletmenin subklinik ketozis yönünden değerlendirilmesinde sınırda olması sebebiyle ek örnekleme ihtiyacı duyulmaktadır. Simental ırkı ineklerde metabolik hastalıkların gözlemlendiği bir çalışmada subklinik ketozis kriteri olarak süttteki yağ/protein oranının ≥ 1.5 ve süt veriminin 33-50 kg/gün olarak kriter alındığında en yüksek ketozis riskinin 20. laktasyon gününde meydana geldiği ve Holstein

ırkı ineklere göre daha az süt verimi olan bu ırklarda metabolik hastalık gözlemlenmelerinde Holstein ırklarından farklı modellemelere ihtiyaç duyulduğu bildirilmektedir (Gantner ve ark, 2018). Buradan yola çıkılarak subklinik ketozis prevalansının Simental ırklarında da yüksek seyrettiği önemsenerak sürü bazında yapılacak değerlendirme için fazla sayıda hayvan ve postpartum daha uzun sürelerde yapılan örneklemler ile eşik değerlerin belirlenmesi gerektiği kanaatindeyiz.

Tüm keton cisimcikleri arasında BHBA tam kan, serum ve plazmada diğerlerine göre nispeten daha stabil (Geishauser ve ark, 1998) olmakla birlikte BHBA ölçümlerinin genellikle serumdan yapılması tavsiye edilmektedir (Kronfeld ve ark, 1968). Çalışmamızda belirlenen postpartum BHBA eşik değerinin (0,68 mmol/L) diğer çalışmalara göre daha düşük bulunmasında tam kan kullanımı sonuçları etkileyebileceği düşünülmektedir. Bunun sebebi olarak enzimatik reaksiyonla belirlenen BHBA'nın antikoagulantlar tarafından etkilenebileceği yapılan bir çalışma olan serumda plazmaya göre daha yüksek bulunmasıyla desteklenmektedir (Custer ve ark, 1983).

Artan keton cisimciklerinin sebep olduğu hiperketonemi (Herdt, 2000b) iştahın azalması, kilo kaybı, süt veriminde azalma gibi semptomların ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Oetzel (2004) klinik ketozis için BHBA konsantrasyonu alt sınırını 3.0 mmol/L olarak belirtmektedir. Duffield ve ark (2009)' nın yaptıkları çalışmada çoğu hiperketonemik ineklerde klinik bulguların şekillenmediği, postpartum ilk haftada BHBA değeri ≥ 1.2 mmol/L olan 264 inekten yalnızca 13 tanesinde klinik ketozis gözlemlenmesiyle açıklanmaktadır. Benzer şekilde Ospina ve ark (2010b) ve McArt ve ark (2012a)' da incelenen ineklerin %20' sinden daha azında BHBA değerini 3 mmol/L olarak bulduklarını belirtmişlerdir. Çalışmamızda benzer şekilde II. işletmede postpartum BHBA değeri 1 hayvanda ≥ 3 mmol/L olmasına rağmen klinik ketozise yönelik klinik bulgulara rastlanılmamıştır.

Sürü bazında postpartum dönem eşik NEFA değeri Ospina ve ark (2010a) tarafından 0.7 mEq/L olarak belirlenmiş olup, bu değerlere sahip sürülerde DA ve klinik ketozis riskinin %1.7 oranında arttığı belirtilmişken; NEFA ≥ 0.60 mEq/L olan sürülerde ise gebe kalma oranının %0.9 olduğu ve 305 günlük süt üretiminde hayvan başına 269 kg azalma meydana geldiği belirtilmiştir. Ancak sürü bazında postpartum hastalıkların ve metabolik değişimlerin sürü sağlığı bazında gözlemlenmesinde BHBA değerinin postpartum NEFA değerlerine göre daha doğru değerlendirme ölçütü olduğu beyan edilmiştir (Ospina ve ark, 2010a). Bu bağlamda postpartum 3 haftalık sürecin izlendiği 16 farklı çiflikte bireysel olarak incelenen 149 inekte,

doğum sonrası ilk haftada serum NEFA ≥ 1.0 mmol/L, BHBA ≥ 1200 $\mu\text{mol/L}$ olanlarda klinik ketozis gelişme riskinin sırasıyla 6.3, 4.7 kat artış gösterdiği belirtilmiştir (Seifi ve ark, 2011). İran’ da SKK prevalansına yönelik yapılan bir çalışmada 16 sürüden seçilen farklı yaştaki 100 tane sağlıklı görünen 100 inekten postpartum 2, 4, ve 6, haftalarda sabah yemlemesinden 3-4 saat sonra alınan kan örneklerinde, ROC analizine dayanan sonuçlara göre NEFA eşik değeri >0.26 mmol/L ve >1200 $\mu\text{mol/L}$ olarak belirlenmiştir (Asl ve ark, 2011). Gerek sürü bazında gerekse bireysel olarak biyobelirteçlerin prognostik önemine yönelik gerçekleştirilen pek çok çalışmada NEFA ve BHBA’ ya yönelik farklı eşik değerleri elde edilmiştir. Bizim çalışmamızda da ROC analizlerine göre belirlenen eşik değerlerin postpartum bazı hastalıklarla olan ilişkisine yönelik NEFA değeri dışında öneme rastlanılmamıştır.

Ülkemizde NED’ in sığırlarda tespitine yönelik olarak gerçekleştirilen bazı çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalardan birisinde negatif enerji dengesindeki süt sığırlarında NEFA, BHBA ve diğer bazı parametreler karşılaştırmalı olarak irdelenmiş, erken laktasyonda bulunan toplam 60 olgu klinik ketozis (BHBA düzeyi ≥ 3 mmol/L), subklinik ketozis (BHBA düzeyi $\geq 1,2 - <3$ mmol/L) ve kontrol grubu (BHBA düzeyi <1 mmol/L) olarak 3 farklı grupta ele alınmıştır. NEFA ve BHBA parametrelerinde gruplar arasında istatistiksel farklar saptandığı bildirilmiştir (Çatık, 2015). Yakın zamanda gerçekleştirilen diğer bir çalışmada toplam 45 adet [her grupta $n=15$ olacak şekilde; klinik (BHBA düzeyi $1,4$ mmol/ L) ve subklinik ketozisli (BHBA düzeyi $1,0-1,4$ mmol/L) ve kontrol grubu (serum BHBA düzeyi $>1,0$ mmol/L) sütçü inekte NEFA, BHBA ve adiponektin düzeyleri karşılaştırılmış; klinik ketozis grubu ile kontrol grubu arasında NEFA ve adiponektin değerlerin de, subklinik ketozis ile kontrol grubu arasında istatistiksel farklılıklar görüldüğü ifade edilmiştir (Akgül, 2014). Özdamar (2016) tarafından gerçekleştirilen araştırmada ise geçiş dönemindeki 40 inekten oluşturulan 4 farklı grupta ($n=10$) çeşitli vitaminlerin metabolik profil, akut faz proteinleri ve oksidatif stres üzerine etkileri araştırılmış, herhangi bir uygulamanın yapılmadığı kontrol grubu ve yalnızca AD_3E vitaminlerinin uygulandığı I. grup serum glukoz seviyeleri arasında farklılık bulunduğu anlaşılmıştır. Ayrıca tüm gruplardaki NEFA konsantrasyonunun kontrol grubuna göre önemli derecede azaldığı belirtilmiştir. BHBA konsantrasyonlarının ise gruplar arası ve haftalara göre doğum sonrası artış gösterdiği ifade edilmiştir. Gerçekleştirilen diğer benzer bir araştırmada ise geçiş dönemindeki kontrol ($n=10$) ve deney ($n=10$) grubunda doğum öncesi uygulanan minerallerin çeşitli metabolik parametreler üzerindeki etkisi incelenmiş ve NEFA, BHBA ve lipid konsantrasyonlarında doğum sonrası 3. haftada istatistiksel farklılıklar elde edildiği görülmüştür (Avcı, 2012). Marmara, Ege ve Akdeniz Bölgelerinden seçilen ikişer çiftlikte

toplamda 980 hayvanda yapılan postpartum ketozis taramasında BHBA >1.2 mmol/L ile idrarda keton testi pozitif ve çeşitli klinik bulguların gözlemlenmesi ile Akdeniz Bölgesi'nde 315 olgudan 12 tanesinde klinik ketozis, 46 tanesinde SKK; Marmara Bölgesi'nde 340 inekten 33 tanesinde klinik ketozis, 76 tanesinde SKK ve Ege Bölgesi'nde ise 325 inekten 24 tanesinde klinik ketozis, 54 tanesinde SKK tespit edilmiştir. Klinik ketozis insidansı daha yüksek bulunmakla birlikte Marmara Bölgesi'nde önemli yönetim ve bakım hatalarının mevcut olduğu ifade edilmektedir (Şentürk ve ark, 2016). Bu çalışmalar daha çok ketozisin insidans ve prevalansına yönelik görülmekle birlikte son belirtilen bölgesel değerlendirmeyle de hastalığın çalışmamızın gerçekleştirildiği coğrafyada yaygın seyrettiği söylenebilir. Bununla birlikte bahsi geçen çalışmaların hepsi bireysel verilere tabi olup sürü bazında yorumlamaları ele alınmamıştır. Bu sebeptendir ki çalışmamızda ele alınan verilerin daha önce de bahsedildiği gibi sürü bazında yapılacak hastalık ve risk faktörlerinin belirlenmesinde öncü olabileceği görülmektedir.

Doğum sonrası ilk 48 saat içerisinde oluşabilecek SKH' nin sürü bazında tanımlanmasında kullanılan Ca^{+2} eşik değeri ≤ 2.1 mmol/L (Chapinal ve ark, 2012b; Martinez ve ark, 2012) ve ≤ 2.0 mmol/L (Oetzel, 2003a, 2004; Reinhardt ve ark, 2011; Ospina ve ark, 2013) olarak farklılık göstermektedir. Oetzel (2003a) ve Cook ve ark. (2006) SKH için %30 alarm-risk seviyesi baz alındığında 12 hayvan içerisinde eşik değeri geçen 2-5 hayvan sürü bazında SKH' nin sınırdaki, beşten fazla hayvanda pozitif değerlendirilebileceği belirtilmektedir. I. işletmede 13 hayvanın çalışmaya dahil edilmesine bağlı olarak 4 hayvan sınırdaki kabul edildiğinde her üç işletmeninde doğum (0. gün) Ca^{+2} verilerinin oranlamasına göre 5 inekten fazla sayıda olgunun eşik değeri aştığı, bununla birlikte her 3 işletmenin SKH yönünden pozitif değerlendirilebileceği ön görülmüştür. Postpartum I. haftadaki Ca^{+2} değerlerine bakıldığında ise eşik değeri geçen hayvan sayısının azaldığı dikkat çekmektedir. Bu durum Ca^{+2} ' un postpartum 4. günden sonra normal değerlere dönmesiyle de ilişkili olabilir (Melendez ve ark, 2002; 2012). Diğer taraftan haftalık ölçümler ile sürü bazında hastalık değerlendirmesinin yapıldığı bir çalışmada postpartum +1. haftada Ca^{+2} eşik değerinin ≤ 2.1 mmol/L olmasıyla klinik hastalıklarla ilişkili verilerin elde edilmediğini belirten çalışmanın (Melendez ve ark, 2002) aksine postpartum ilk tohumlamada gebe kalma oranında azalma, postpartum hastalık insidansında artış ve süt veriminde azalma ile ilişkili olduğu da bildirilmektedir (Chapinal ve ark, 2012b). Ancak çalışmamızda örnek sayısının azlığından kaynaklı bahsi geçen ilişkiler tam olarak değerlendirilemediği gibi Ca^{+2} parametrelerine yönelik ilk 12-48 saat içerisinde ölçümlerin olmayışı, sürülerde işletme sahipleri tarafından rasyon bilgilerinin verilmemesi ile

katyonik-anyonik farklılığın belirlenememesinin yanı sıra prepartum idrar pH takibinin gerçekleştirilememesi, SKH' nin sürü bazında yorumlamasındaki eksiklikleri de beraberinde getirdiği görülmüştür.

Hipokalseminin sütün kompozisyonuna olan etkisine bakıldığında postpartum 21 ve 35. günlerde süt proteininde azalma meydana getirdiği ancak somatik hücre sayısı, süt yağı ve süt verimine etkisi olmadığı bildirilmiştir (Chamberlin ve ark, 2013). Ancak bu sonuçlar buzağılama sonrası görülen yüksek insidansa sahip mastitisi açıklayamamaktadır (Erb ve ark, 1985). Bunun olası nedeni olarak da peripartum dönemde zayıflayan immun sistem gösterilmektedir (Goff, 2008). Bu çalışmada bir sonraki laktasyon süt verimleri takip edilmediğinden gelişen subklinik ve klinik hipokalseminin süt verimine olan etkisi belirlenememiştir. Hipokalsemi belirlenen sürülerde tespit edilen mastitisin olası etkisi azalan kalsiyum seviyesinin immun sistemi baskılaması (Goff, 2008) olarak açıklanabilir. Diğer bir yaklaşımda meme uçlarındaki düz kaslardan oluşan sfinkterler, sağım sonrası meme uçlarının kapanmasından sorumludur. Azalan Ca^{+2} seviyesine bağlı olarak düz kas kontraksiyonlarındaki yetersizlik mastitis gelişim riskiyle ilişkilendirilebilir (Goff, 2008). Bunun yanı sıra NED' sinin immun sistem üzerine olumsuz etkileri (Esposito ve ark, 2014) ve gelişen hiperketonemi meme dokusunun savunmasız hale getirmektedir (Leslie ve ark, 2000). Her üç sürüdeki SKH riski ile iki işletmenin temel problemleri arasında yer alan mastitis bireysel bazda düşük seyreden Ca^{+2} ' un yanı sıra NED ve SKK ile ilişkili olabilir.

Çalışmamız kapsamında ele alınan diğer bir subklinik hastalık olan SKM, postpartum 12 saat içerisinde Mg^{+2} eşik değerinin (<0.61 mmol/L) altında seyreden olgu sayısının sürü bazında 10-12 hayvanda %20 alarm-risk seviyesini aşmasıyla sürü bazında tanımlanmasının (Feyter ve ark, 1986; Goff, 2006) yanı sıra rasyondaki Mg^{+2} eksikliği ya da emilimin engellendiği beslenme tablosunu yansıtacağı belirtilmektedir (Herdt, 2000b; Goff, 2006). Bu bağlamda çalışmamızdaki veriler sürü bazında yorumlandığında I. ve II. işletmelerde SKM varlığından bahsedilebilmektedir. I. işletmede rasyona katılan MgO ' te rağmen SKM varlığının görülmesi azalan KMT (Bell, 1995; Grossi, 2012) ile birlikte geçiş döneminde ruminal adaptasyonun tam olarak sağlanamamasına bağlı papillar gelişimin yetersiz oluşuyla UYA' lerinin yetersiz emilimi ve ruminal pH' daki azalma (Oetzel, 2003b), geçiş döneminde ihtiyacın arttığı (Piccione ve ark, 2012) Mg^{+2} emilimini olumsuz yönde etkileyerek (Dalley ve ark, 1997; Scharrer ve Lutz, 1992) seviyesinin daha düşük seyretmesine neden olabileceği ile

açıklanabilir. Ayrıca her iki Holstein işletmesinde varolan SKM, uygun olmayan rasyon ve beslenme ile de ilişkilendirilebilir (Kronqvist, 2011).

Genel olarak prepartum dönem için doğumuna 2-14 gün kalan hayvanlardan %75 güvenilirlik aralığını yakalayabilmek için 12 ya da daha fazla geçerli örneği eklenmesinin uygun olacağı bildirilmektedir (Oetzel, 2003a; 2004; 2007). Chapinal ve ark (2012b) tarafından yapılan çalışmada Batı Amerika’ da farklı bölgelerde yer alan 55 sürüdeki ineklerin büyük bir çoğunluğundan yapılan örnekleme ile sürünün tamamında oluşabilecek yıllık hastalık riskindeki düşük tahminleme oranına rağmen tahmini hastalık insidansı ve bu bölgede kullanılabilir sürü bazlı eşik değerlerin elde edilmesine olanak sağlandığı ifade edilmektedir. Benzer şekilde yapılan bu çalışmada da daha düşük güvenilirlik aralığına sahip olduğu ifade edilen örnekleme (10-12) ile bölgede yürütülen hem sürü bazlı hem de farklı metabolitlerin bir arada irdelendiği ilk çalışma olması göz önüne alındığında bu parametrelerin geçiş dönemindeki hastalıkların olası takibi ve korunmasında fayda sağlayacağı düşünüldü. Yine farklı bir çalışmada beklenen örneklerde sürü bazlı SKK tanısı için sürü başına 10 örneklemenin yeterli olduğu görülmüştür (Borchardt ve Staufenbiel, 2012). Bizim çalışmamızda diğer çalışmalar ile benzer örnekleme sayısı ele alınmıştır.

Geçiş dönemi prepartum ölçümlerde, NEFA testlerinin uygulanabileceği zaman dilimi yaklaşık 12 gün olup bu zaman diliminde de doğum gerçekleşene kadar testin yapılabilirliği tahmin edilememektedir (Oetzel ve McGuirk, 2008). Bu durumun doğumuna 48 saat kalanlarda NEFA konsantrasyonunun NED ile ilişkili olarak artış göstermesinin yanında pre-fresh dönemde NEFA testi için alınan ineklerden yalnızca %75’ nin doğum zamanının doğru olarak tahminlenebildiği ve doğuma son 2-14 gün kalan zaman diliminin yakalanabildiği söylenmektedir (Oetzel ve McGuirk, 2008). Bu sebeple küçük ölçekli sürülerde yeter sayıda olgu elde edene kadar örneklerin toplanıp saklanması ve birarada analiz yapılması, büyük ölçekli sürülerde de doğum öncesi yeterli sayıya (en az 12) ulaşabilmek için en az 16 örneğin incelenmesi gerektiği açıklanmıştır (Oetzel ve McGuirk, 2008).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Geleneksel metabolik profil yorumlamaları maliyeti yüksek araştırmalarla birlikte bireysel bağlamda pek çok faktör metabolik değişimleri etkileyerek yorumlamaların sürü bazında yanlış değerlendirilmesine nedne olabilmekteydi. Metabolik değerlendirmeye yeni yaklaşım ile belli dönemlerdeki spesifik hayvanların seçimi, metabolik değişimlerin sürü bazında daha iyi değerlendirilmesine olanak sağlamaktadır.

Günümüz teknolojisi ve tüketim eşiğinin artması hayvancılık sektöründe giderek büyüyen problemleri de beraberinde getirerek günümüz sürü yönetimini, potansiyel bir problem olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu bağlamda sütçü sürülerde görülen metabolik ve beslenme hastalıklarının klinik etkileri sürü bazında gerçekleştirilen testler ile kuvvetlendirilmelidir. Neredeyse tüm sütçü sürüler kan BHBA ölçümü ile SKK prevalansının belirlenmesine iyi bir adaydır. Prepartum dönemdeki ineklerde yapılan NEFA testi, NED içerisindeki sürülerde oluşabilecek SKK şüphesini desteklemek için düşünülebilir. Doğum zamanı ineklerin hipokalsemi için gözlemlenmesi süt hummasına neden olabilecek beslenme kaynaklı etkilerin erken teşhisini sağlayabilir. Pre-fresh dönemde anyonik beslemeye rağmen görülen hipokalsemilerde prepartum dönemdeki ineklerde doğum sonrası kalsiyum takibi ile sağlanabilir. İstatistiksel analizlere dayanan kalitatif test stratejileri tüm testlerin yorumlanmasında rehberlik etmekle birlikte minimum örnek sayısının kullanılmasına olanak sağlamaktadır.

Ülkemiz şartlarında sürü bazında daha geniş popülasyonlarla sürü bazında değerlendirmede bir arada kullanılacak farklı biyolojik parametrelerin, ROC analizleriyle ilk kez değerlendirildiği bu araştırma ile postpartum bazı hastalıklara yönelik eşik değerlerin tespiti gerçekleştirildi.

Özellikle geçiş dönemi meydana gelen NED' sinin emarelerini yansıtan NEFA ve BHBA enerji metabolitlerinin takibi ve bu parametrelere yönelik belirlenen eşik değerler ortaya çıkan negatif postpartum etkilerin yansımada bir belirteç olarak kullanılabilirliği bir kez daha vurgulanmış oldu. Özellikle çalışmamızda belirlenen prepartum NEFA eşik değeri diğer çalışmalarla tutarlılık göstermiş olup bahsi geçen parametrelerin takibi ile postpartum hastalık risklerinin azaltılmasının sürü bazında sağlanabileceği düşünüldü.

Farklı bir bakış açısıyla çalışmamızı kısıtlayan en önemli durumlar arasında diğer sürü bazlı çalışmalarla kıyaslandığında yetersiz örnek sayısına bağlı olarak bu farklı metabolitlerin geçiş dönemine ait etkinliklerinin tam olarak ortaya konulamaması yer almaktadır. Nitekim ilk kez sürü bazında metabolik profil kapsamına alınan laktatın hastalıklarla olan bağıntısı örnek sayısına bağlı tahmini rölatif riskleri belirlenememiş olup bu parametrelerin hasta başında kullanılarak daha geniş kapsamlı çiftlik ve örnek sayısı ile değerlendirilebileceği düşünüldü.

Gerçekleştirilen bu tez çalışmasının, sürü bazında belirtilen parametrelerin birarada incelendiği başka bir çalışma bulunmamasıyla ve Türkiye’ de sürü bazlı hastalıkların önlenmesine yönelik planlama ve stratejik müdahalelere imkan vermesi yönüyle orjinallik arz etmekte olup ileride yapılacak çalışmalara ve sürü yönetimine emsal oluşturacağı düşünüldü.



KAYNAKLAR

- Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS.** Cellular and molecular immunology. WB Saunders, Philadelphia, 1991, 138-167.
- Abbasi I, Abbasi F, Soomro RN, El-Hack, M, Abdel-Latif MA, Li W, Yao J.** Considering choline as methionine precursor, lipoproteins transporter, hepatic promoter and antioxidant agent in dairy cows. *AMB Express* 2017, 7(1), 214.
- Abeni F, Calamari L, Calza F, Speroni M, Bertoni G, Pirlo G.** Welfare assessment based on metabolic and endocrine aspects in primiparous cows milked in a parlor or with an automatic milking system. *Journal of Dairy Science* 2005, 88, 3542–3552.
- Abeni F, Calamari L, Stefanini L.** Metabolic conditions of lactating Friesian cows during the hot season in the Po valley. 1. Blood indicators of heat stress. *International Journal of Biometeorology* 2007, 52, 87–96.
- Abuelo A, Castillo C, Hernández J, Pereira V, García-Vaquero M, López-Alonso, M, Benedito JL.** Relationship between the levels of D and L lactate and the oxidative status in dairy cattle in the transition period: preliminary observations. XIV Jornadas sobre Producción Animal, p804-806, 17 y 18 de mayo de 2011, Zaragoza, España.
- Abuelo Á, Hernández J, Benedito JL, Castillo C.** The connexion between serum redox balance and concentration of lactic acid enantiomers in dairy cows around the time of calving. *Comparative Clinical Pathology* 2015, 24(2), 465-468.
- Acierno MJ, Johnson ME, Eddleman LA, Mitchell MA.** Measuring statistical agreement between four point of care (POC) lactate meters and a laboratory blood analyzer in cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 2008, 10(2), 110-114.
- Ağaoğlu ZT, Yüksek N, Başbuğan AGY.** Magnezyum Metabolizması ve Bozuklukları. *Türkiye Klinikleri Journal of Veterinary Sciences* 2011, 2(2), 162-167.
- Akgül G.** Subklinik ve klinik ketozisli ineklerde adiponektin düzeyinin ölçülmesi, NEFA, BHBA ve adiponektin düzeyleri aralarındaki ilişkinin belirlenmesi, Doktora Tezi, Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bursa 2014, 71.
- Allen MS, Bradford BJ, Harvatine KJ.** The cow as a model to study food intake regulation. *Annual Review of Nutrition* 2005, 25, 523-547.

- Allen MS, Bradford BJ, Oba M.** Board invited review: the hepatic oxidation theory of the control of feed intake and its application to ruminants. *Journal of Animal Science* 2009, 87(10), 3317–3334.
- Ametaj BN, Bradford BJ, Bobe G, Lu Y, Nafikov R, Sonon RN, Young JW, Beitz DC.** Acute phase response indicates inflammatory conditions may play a role in the pathogenesis of fatty liver in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2002, 85(1), 189.
- Ametaj BN.** A new understanding of the causes of fatty liver in dairy cows. *Advanced Dairy Science and Technology* 2005, 17, 97-112.
- Ametaj BN, Bradford BJ, Bobe G, Nafikov R. A, Lu Y, Young JW, Beitz DC.** Strong relationships between mediators of the acute phase response and fatty liver in dairy cows. *Canadian Journal of Animal Science* 2005, 85(2), 165-175.
- Ametaj BN, Zebeli Q, Iqbal S.** Nutrition, microbiota, and endotoxin-related diseases in dairy cows. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 2010, 39, 433-444.
- Andersen LW, Mackenhauer J, Roberts JC, Berg KM, Cocchi MN, Donnino MW.** Etiology and therapeutic approach to elevated lactate levels. *Mayo Clinic Proceedings* 2013, 88(10), 1127-1140.
- Anderson JB.** Parturient Hypocalcemia. New York, Academic Press, 1970, 276.
- Andersson L, Emanuelson U.** An epidemiological study of hyperketonaemia in Swedish dairy cows; determinants and the relation to fertility. *Preventive Veterinary Medicine* 1985, 3(5), 449-462.
- Arieff AI, Graf H.** Pathophysiology of type A hypoxic lactic acidosis in dogs. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 1987, 253(3), 271-276.
- Aschenbach JR, Kristensen NB, Donkin SS, Hammon HM, Penner GB.** Gluconeogenesis in dairy cows: The secret of making sweet milk from sour dough. *IUBMB Life* 2010, 62(12), 869-877.
- Asl AN, Nazifi S, Ghasrodashti AR, Olyaei A.** Prevalence of subclinical ketosis in dairy cattle in the Southwestern Iran and detection of cutoff point for NEFA and glucose concentrations for diagnosis of subclinical ketosis. *Preventive Veterinary Medicine* 2011, 100(1), 38-43.
- Astles R, Williams CP, Sedor F.** Stability of plasma lactate in vitro in the presence of antiglycolytic agents. *Clinical Chemistry* 1994, 40(7), 1327-1330.
- Avcı C.** Enjektabl iz elementlerin geçiş dönemindeki ineklerde metabolik profil üzerine etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Elazığ 2012, 52.

- Azab ME, Abdel-Maksoud HA.** Changes in some hematological and biochemical parameters during prepartum and postpartum periods in female Baladi goats. *Small Ruminant Research* 1999, 34, 77–85.
- Baird GD.** Primary ketosis in the high-producing dairy cow: Clinical and subclinical disorders, treatment, prevention and outlook. *Journal of Dairy Science* 1982, 65, 1-10.
- Baldock PA, Allison SJ, Lundberg P, Lee NJ, Slack K, Lin EJ, Enriquez DRF, McDonald MM, Zhang L, During MJ, Little DG, Eisman JA, Gardiner EM, Yulyaningsih E, Lin S, Sainsbury A, Herzog H.** Novel role of Y1 receptors in the coordinated regulation of bone and energy homeostasis. *The Journal of Biological Chemistry* 2007, 282, 19 092–19 102.
- Barbagallo M, Dominguez LJ, Galioto A, Ferlisi A, Cani C, Malfa L, Pineo A, Busardo A, Paolisso G.** Role of magnesium in insulin action, diabetes and cardio-metabolic syndrome X. *Molecular Aspects of Medicine* 2003, 24, 39-52.
- Bari L, Atlante A, Guaragnella N, Principato G Passarella S.** D-Lactate transport and metabolism in rat liver mitochondria. *Biochemical Journal* 2002, 365, 391–403.
- Barth K, Aulrich K, Haufe HC, Müller U, Schaub D, Schulz F.** Metabolic status in early lactating dairy cows of two breeds kept under conditions of organic farming-a case study. *Landbauforschung* 2011, 61, 307-316.
- Baçoğlu A, Sevinç M.** Evcil Hayvanlarda Metabolizma ve Endokrin Hastalıklar (1. Baskı), Pozitif Matbaa, Konya, 2004, 129-34.
- Bauman DE, Currie WB.** Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: A review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *Journal of Dairy Science* 1980, 63, 1514-1529.
- Beitz DC.** Etiology and prevention of fatty liver and ketosis in dairy cattle. Proceedings of the 25th Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium, p41, February 4 - 5, 2014, Florida.
- Bell AW.** Lipid metabolism in liver and selected tissues and in the whole body of ruminant animals. *Progress in Lipid Research* 1979, 18(3), 117-164.
- Bell AW.** Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *Journal of Dairy Science* 1995, 73(9), 2804-2819.
- Bell AW, Burhans WS, Overton TR.** Protein nutrition in late pregnancy, maternal protein reserves and lactation performance in dairy cows. *Proceeding of the Nutrition Society* 2000, 59, 119-126.
- Bendelja D, Prpić Z, Mikulec, N, Ivkić Z, Havranek J, Antunac N.** Milk urea concentration in Holstein and Simmental cows. *Mljekarstvo: časopis za unaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka* 2011, 61(1), 45-55.

- Bennink MR, Mellenberger RW, Frobish RA, Bauman DE.** Glucose oxidation and entry rate as affected by the initiation of lactation. *Journal of Dairy Science* 1972, 55,712.
- Berge AC, Vertenten G.** A field study to determine the prevalence, dairy herd management systems, and fresh cow clinical conditions associated with ketosis in western European dairy herds. *Journal of Dairy Science* 2014, 97, 2145–2154.
- Berner HS, Lyngstadass SP, Spahr A, Monjo M, Thommesen L, Drevon CA, Syversen U, Reseland JE.** Adiponectin and its receptors are expressed in bone-forming cells. *Bone* 2004, 35, 842–849.
- Bertics SJ, Grummer RR, Cadorniga-Valino C, Stoddard EE.** Effect of prepartum dry matter intake on liver triglyceride concentration and early lactation. *Journal of Dairy Science* 1992,75, 1914–1922.
- Bertoni G, Trevisi, E, Han X, Bionaz M.** Effects of inflammatory conditions on liver activity in puerperium period and consequences for performance in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2008, 91(9), 3300-10
- Bertoni G, Trevisi E, Lombardelli R.** Some new aspects of nutrition, health conditions and fertility of intensively reared dairy cows. *Italian Journal of Animal Science* 2009, 8(4), 491-518.
- Bertoni G, Trevisi E.** Use of the liver activity index and other metabolic variables in the assessment of metabolic health in dairy herds. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 2013, 29, 413–31
- Bhanugopan MS, Fulkerson W, Hyde ML, Fraser DR, McNeill DM.** Carryover effects of potassium supplementation on calcium metabolism in dairy cows at parturition. *Journal of Dairy Science* 2010, 93, 2119–2129.
- Bicalho RC, Warnick LD, Guard CL.** Strategies to analyze milk losses caused by diseases with potential incidence throughout the lactation: A lameness example. *Journal of Dairy Science* 2008, 91, 2653 2661.
- Bicalho M, Marques EC, Gilbert RO, Bicalho RC.** The association of plasma glucose, BHBA, and NEFA with postpartum uterine diseases, fertility, and milk production of Holstein dairy cows. *Theriogenology* 2017, 88, 270-282.
- Bionaz M, Trevisi E, Calamari L, Librandi F, Ferrari A, Bertoni G.** Plasma paraoxonase, health, inflammatory conditions, and liver function in transition dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2007, 90, 1740-1750.
- Bitman J, Wood DL, Lefcourt AM.** Rhythms in cholestrol, cholesteryl esters, free fatty acids, and triglycerides in blood of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1990, 73, 948-955.

- Blache D, Celi P, Blackberry MA, Dynes RA, Martin GB.** Decrease in voluntary feed intake and pulsatile luteinizing hormone secretion after intracerebroventricular infusion of recombinant bovine leptin in mature male sheep. *Reproduction Fertility and Development* 2001, 12, 373-381.
- Block E.** Transition cow research—what makes sense today?. Proceedings of the High Plains Dairy Conference, p 75-98, 2010, Armarillo, Texas.
- Block SS, Butler WR, Ehrhardt RA, Bell AW, Van Amburgh ME, Boisclair YR.** Decreased concentration of plasma leptin in periparturient dairy cows is caused by negative energy balance. *Journal of Endocrinology* 2001, 171, 339-348.
- Bobe G, Young JW, Beitz DC.** Invited review: pathology, etiology, prevention, and treatment of fatty liver in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2004, 87, 3105-3124.
- Bonavera JJ, Dube MG, Kalra PS, Kalra SP.** Anorectic effects of estrogen may be mediated by decreased neuropeptide-Y release in the hypothalamic paraventricular nucleus. *Endocrinology* 1994, 134, 2367–2370.
- Borchardt S, Staufenbiel R.** Evaluation of the use of nonesterified fatty acids and β -hydroxybutyrate concentrations in pooled serum samples for herd-based detection of subclinical ketosis in dairy cows during the first week after parturition. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 2012, 240(8), 1003-1011.
- Bogucka K, Wojtczak L.** Binding of magnesium by proteins of the mitochondrial intermembrane compartment. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1976, 71(1), 161-167.
- Boulay G, Francoz D, Doré E, Dufour S, Veillette M, Badillo M, Buczinski S.** Preoperative cow-side lactatemia measurement predicts negative outcome in Holstein dairy cattle with right abomasal disorders. *Journal of Dairy Science* 2014, 97(1), 212-221.
- Bradford BJ, Mamedova LK, Minton JE, Drouillard JS, Johnson BJ.** Daily injection of tumor necrosis factor- α increases hepatic triglycerides and alters transcript abundance of metabolic genes in lactating dairy cattle. *The Journal of Nutrition*, 2009, 139(8), 1451-1456.
- Bruss ML.** Lipids and ketones. In: Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML (eds). *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 5th ed. Academic Press, London, 1997, s 83–113.
- Buczinski S, Doré E, Boulay G, Francoz D.** Validation of the handheld Lactate- Pro analyzer for measurement of blood L- lactate concentration in cattle. *Veterinary Clinical Pathology* 2014, 43(4), 567-572.
- Burfeind O, Heuwieser W.** Validation of handheld meters to measure blood l-lactate concentration in dairy cows and calves. *Journal of Dairy Science* 2012, 95(11), 6449-6456.

Burton J, Weber P, Madsen S, Coussens P. Immunogenomics and the periparturient dairy cow: letting leukocytes tell us their own story about disease susceptibility. American Dairy Science Association's Symposium on Genetics of Disease Resistance s236, 24-28 July 2001, Indianapolis.

Butler WR, Smith RD. Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 1989, 72, 767-783.

Caixeta LS, Ospina PA, Capel MB, Nydam DV. The association of subclinical hypocalcemia, negative energy balance and disease with bodyweight change during the first 30 days postpartum in dairy cows milked with automatic milking systems. *The Veterinary Journal*, 2015, 204(2), 150-156.

Calamari L, Bertoni G. Model to evaluate welfare in dairy cow farms. *Journal of Animal Science* 2009, 8, 301–23.

Calamari L, Ferrari A, Minuti A, Trevisi E. Assessment of the main plasma parameters included in a metabolic profile of dairy cow based on Fourier Transform mid-infrared spectroscopy: preliminary results. *BMC Veterinary Research* 2016, 12 (1), 1.

Calamari L, Petrera F, Stefanini L, Abeni F. Effects of different feeding time and frequency on metabolic conditions and milk production in heat-stressed dairy cows. *International Journal of Biometeorology* 2013, 57, 785–96.

Caldwell V, Martineau R. Relationship between KetoTest results and health and reproduction variables: A retrospective study using data from herd health visits in private practice. Proceedings of the 40th Conference of the American Association of Bovine Practitioners. p254, 20-22 September 2007, Vancouver, British, Columbia.

Cameron REB, Dyk PB, Herdt TH, Kaneene JB, Miller R, Bucholtz HF, Liesman JS, Vandehaar MJ, Emery RS. Dry cow diet, management, and energy balance as risk factors for displaced abomasum in high producing dairy herds. *Journal of Dairy Science* 1998, 81, 132-139.

Care A, Vowles L, Mann S, Ross D. Factors affecting magnesium absorption in relation to the aetiology of acute hypomagnesaemia. *The Journal of Agricultural Science* 1967, 68, 195-204.

Carrier J, Stewart S, Godden S, Fetrow J, Rapnicki P. Evaluation and use of three cow-side tests for detection of subclinical ketosis in early postpartum cows. *Journal of Dairy Science* 2004, 87, 3725-3735.

Carriquiry M, Weber WJ, Fahrenkrug SC, Crooker BA. Hepatic gene expression in multiparous Holstein cows treated with bovine somatotropin and fed n-3 fatty acids in early lactation. *Journal of Dairy Science* 2009, 92(10), 4889–4900.

- Carson M.** The association of selected metabolites in peripartum dairy cattle with health and production. MSc dissertation, University of Guelph, Ontario, Canada, 2008.
- Carson M, LeBlanc S, Godden S, Capel M, Overton M, Santos J, Leslie K, Duffield T.** Serum Non-Esterified Fatty Acid and Beta-Hydroxybutyrate in the Transition Period and their Associations with Disease in Dairy Cows. XXV. Jubilee World Buiatrics Congress. 6-11 July 2008, Budapest, Hungary.
- Castagnetti C, Pirrone A, Mariella J, Mari G.** Venous blood lactate evaluation in equine neonatal intensive care. *Theriogenology* 2010, 73(3), 343-357.
- Chalmeh A, Pourjafar M, Nazifi S, Momenifar F, Mohamadi M.** Circulating Metabolic Profile of High Producing Holstein Dairy Cows. *Veterinarski Arhiv* 2014, 85(6), 621-633.
- Chalmeh A, Pourjafar M, Nazifi S, Momenifar F, Mohamadi M.** Insulin resistance in different physiological states of high producing Holstein dairy cows. *Acta Scientiae Veterinariae* 2015, 43, 1-7.
- Chamberlin W, Middleton J, Spain J, Johnson G, Eilersieck MR, Pithua P.** Subclinical hypocalcemia, plasma biochemical parameters, lipid metabolism, postpartum disease, and fertility in postparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2013, 96(11), 7001-7013.
- Chan JPW, Chu CC, Fung HP, Chuang ST, Lin YC, Chu RM, Lee SL.** Serum haptoglobin concentration in cattle. *The Journal of Veterinary Medical Science* 2004, 66, 43-46.
- Chapinal N, Carson ME, Duffield TF, Capel M, Godden S, Overton MW, Santos JE, LeBlanc SJ.** The association of serum metabolites with clinical disease during the transition period. *Journal of Dairy Science* 2011, 94(10), 4897-4903.
- Chapinal N, Carson ME, LeBlanc SJ, Leslie KE, Godden S, Capel M, Santos JE, Overton MW, Duffield TF.** The association of serum metabolites in the transition period with milk production and early-lactation reproductive performance. *Journal of Dairy Science* 2012a, 95(3), 1301-1309.
- Chapinal N, LeBlanc SJ, Carson ME, Leslie KE, Godden S, Capel M, Duffield TF.** Herd-level association of serum metabolites in the transition period with disease, milk production, and early lactation reproductive performance. *Journal of Dairy Science* 2012b, 95(10), 5676-5682.
- Chehreh H. and Fartashvand M.** Evaluation of hepatic function markers of serum in dairy cattle with lactic acidosis. *Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences* 2014, 4(3), 455-460.
- Clarke CJ, Haselden JN.** Metabolic Profiling as a Tool for Understanding Mechanisms of Toxicity. *Toxicologic Pathology* 2008, 36, 140-7.

Coghe J, Uystepruyst CH, Bureau F, Detilleux J, Art T, Lekeux P. Validation and prognostic value of plasma lactate measurement in bovine respiratory disease. *The Veterinary Journal* 2000, 160(2), 139-146.

Compton CWR, McDougalla S, Young L, Bryanc MA. Prevalence of subclinical ketosis in mainly pasturegrazed dairy cows in New Zealand in early lactation. *New Zealand Veterinary Journal* 2014, 62, (1)30-37.

Connolly E, Abrahamsson T, Björkstén B. Safety of D (-)-lactic acid producing bacteria in the human infant. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2005, 41(4), 489-492.

Contreras GA, O'Boyle NJ, Herdt TH, Sordillo LM. Lipomobilization in periparturient dairy cows influences the composition of plasma nonesterified fatty acids and leukocyte phospholipid fatty acids. *Journal of Dairy Science* 2010, 93, 2508-2516.

Cook N, Oetzel G, Nordlund K. Modern techniques for monitoring high-producing dairy cows 1. Principles of herd-level diagnoses. *In Practice-London-British Veterinary Association* 2006, 28(9), 510.

Cowan JA. Introduction to the biological chemistry of magnesium ion. In: Cowan JA (ed), *The Biological Chemistry of Magnesium*. VCH Publisher, USA, 1995 p 1–23.

Cowan JA. Structural and catalytic chemistry of magnesium-dependent enzymes. *Biometals* 2002, 15, 225-235.

Curtis CR, Erb HN, Sniffen CJ, Smith RD, Powers PA, Smith MC, Pearson EJ. Association of parturient hypocalcemia with eight periparturient disorders in Holstein cows. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1983, 183(5), 559-561.

Custer EM, Myers JL, Poffengarger PL, Schoen I. The storage stability of 3-hydroxybutyrate in serum, plasma, and whole blood. *American Journal of Clinical Pathology* 1983, 80, 375–380

Çatık S. 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, Doktora Tezi, Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bursa 2015, 101.

Çınar V, Nizamhoğlu M, Moğulkoç R. The effect of magnesium supplementation on lactate levels of sportsmen and sedanter. *Acta Physiologica Hungarica* 2006, 93(2-3), 137-144.

- Çolakoğlu HE, Küplülü Ş.** İnek ve Düvelerde Vücut Kondisyon Skoru Değişiminin Postpartum Döneme ve Fertilitate Parametrelerine Etkisi. *Kocatepe Veteriner Dergisi* 2016, 9(3), 146-158.
- Dalley D, Isherwood P, Sykes A, Robson A.** Effect of in vitro manipulation of pH on magnesium solubility in ruminal and caecal digesta of sheep. *The Journal of Agricultural Science* 1997, 129, 107- 111.
- De Koster J, Opsomer G.** Effect of body condition score on insulin sensitivity of precalving dairy cows. 15th International conference on Production Diseases in Farm Animals, p67, 24-28 May 2013, Belgium.
- De Vries JM, Veerkamp RF.** Energy balance of dairy cattle in relation to milk production variables and fertility. *Journal of Dairy Science* 2000, 83, 62-69.
- DeGaris PJ, Lean IJ.** Milk fever in dairy cows: A review of pathophysiology and control principles. *The Veterinary Journal* 2008, 176(1), 58-69.
- DeGaris PJ, Lean IJ, Rabiee AR, Stevenson MA.** Effects of increasing days of exposure to a pre-partum diet on the concentration of certain blood metabolites in dairy cows. *Australian Veterinary Journal* 2010, 88, 137–145.
- Delesalle C, Dewulf J, Lefebvre RA, Schuurkes JA, Proot J, Lefere L, Deprez P.** Determination of lactate concentrations in blood plasma and peritoneal fluid in horses with colic by an Accusport analyzer. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2007, 21(2), 293-301.
- Denis-Robichaud J, DesCôteaux L, Dubuc J.** Accuracy of a new milk strip cow-side test for diagnosis of hyperketonemia. *Bovine Practitioner* 2011, 45, 97–100.
- Deuster PA, Dolev E, Kyle SB, Anderson RA, Schoomaker EB.** Magnesium homeostasis during high-intensity anaerobic exercise in men. *Journal of Applied Physiology* 1987, 62(2), 545-550.
- Diesch TJ, Mellor DJ, Stafford KJ, Ward RN.** The physiological and physical status of single calves at birth in a dairy herd in New Zealand. *New Zealand Veterinary Journal* 2004, 52(5), 250-255.
- Dinic B, Dordevic N, Andelkovic B, Sokolovic D, Terzic D.** Management of fermentation process in ensilaged livestock feed. *Biotechnology in Animal Husbandry* 2010, 26(1-2), 105–115.
- Dobson H, Smith RF, Royal MD, Knight CH, Sheldon IM.** The High- producing Dairy Cow and its Reproductive Performance. *Reproduction in Domestic Animals* 2007, 42(2) 17-23.
- Dohoo IR, Martin SW.** Subclinical ketosis: prevalence and associations with production and disease. *The Canadian Journal of Comparative Medicine* 1984a, 48, 1-5.

- Dohoo IR, Martin SW.** Disease, production and culling in Holstein–Friesian cows. II. Age, season and sire effects. *Preventive Veterinary Medicine* 1984b, 2, 665–670.
- Dohoo IR, Martin W, Stryhn H.** Veterinary epidemiologic research (2nd ed), Prince Edward Island, Canada, 2009, 865.
- Dougherty RW, Coburn KS, Cook HM, Allison MJ.** Preliminary study of appearance of endotoxin in circulatory system of sheep and cattle after induced grain engorgement. *American Journal of Veterinary Research*, 1975, 36(6), 831-832.
- Douglas GN, Overton TR, Bateman HG, Dann HM, Drackley JK.** Prepartal plan of nutrition, regardless of dietary energy source, affects periparturient metabolism and dry matter intake in Holstein cows. *Journal of Dairy Science* 2006, 89, 2141-2157.
- Drackley JK.** Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? *Journal of Dairy Science* 1999, 82, 2259-2273.
- Drackley JK.** (4 December 2000) Use of NEFA as a tool to monitor energy balance in transition dairy cows. Dairy Cattle Illinois Livestock Trail, <http://livestocktrail.illinois.edu>. (22.04.2015).
- 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* 2001, 84, 100–112.
- Drackley JK, Douglas GN, Guretzky N, Litherland NB, Underwood JP, Loor J.** Physiological and pathological adaptations in dairy cows that may increase susceptibility to periparturient diseases and disorders. *Italian Journal of Animal Science* 2005, 4(4), 323-344.
- Drackley JK, Andersen JB.** Splanchnic metabolism of long-chain fatty acids in ruminants. In: Sejrsen K, Hvelplund T, Nielsen MO (Eds), *Ruminant Physiology: Digestion, metabolism and impact of nutrition on gene expression, immunology and stress*. Wageningen, Academic Publishers, 2006. p 199-217.
- Duffield TF.** Effects of a monensin controlled release capsule on energy metabolism, health, and production in lactating dairy cattle. Doctor of Veterinary Science, University of Guelph, Guelph, Ontario, 1997.
- Duffield TF, Kelton DF, Leslie KE, Lissemore KD, Lumsden JH.** Use of test day milk fat and milk protein to detect subclinical ketosis in dairy cattle in Ontario. *The Canadian Veterinary Journal* 1997, 38, 713–718.
- Duffield TF, Sandals D, Leslie KE, Lissemore K, McBride BW, Lumsden JH, Dick P, Bagg R.** Efficacy of monensin for the prevention of subclinical ketosis in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1998, 81, 2866-2873.

- Duffield T.** Subclinical ketosis in lactating dairy cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 2000, 16, 231- 253.
- Duffield TF, LeBlanc SJ.** Interpretation of serum metabolic parameters around the transition period. Southwest Nutrition and Management Conference, p106-114, 26 February 2009, Tempe.
- Duffield TF, Lissemore KD, McBride BW, Leslie KE.** Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. *Journal of Dairy Science* 2009, 92(2), 571-580.
- Duke HH.** Dukes Physiology of Domestic Animals. Cornell University Press, Ithaca, New York, 1993, 800.
- Duncan DB.** Multiple range and multiple F test. *Biometrics* 1995, 11, 42.
- Dunlop R, Hammond P.** D-Lactic acidosis of ruminants. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1965, 119, 1109–1132.
- Dyk PB, Emery RS, Liesman JL.** Prepartum nonesterified fatty acids in plasma are higher in cows developing periparturient health problems. *Journal of Dairy Science* 1995, 78(1), 264.
- Edmonson AJ, Lean IJ, Weaver LD, Farver T, Webster G.** A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1989, 72(1), 68-78.
- Ehrhardt R, Slepatis R, Siegal-Willott J, Van Amburgh M, Bell A, Boisclair Y.** Development of a specific radioimmunoassay to measure physiological changes of circulating leptin in cattle and sheep. *Journal of Endocrinology* 2000, 166, 519-528.
- Eicher R, Liesegang A, Bouchard E, Tremblay A.** Influence of concentrate feeding frequency and intrinsic factors on diurnal variations of blood metabolites in dairy cows. Proceeding of American Association Bovine Practitioner, p 198-202, Rome, 1998.
- Eley RM, Thatcher WW, Bazer FW, Wilcox CJ, Becker RB, Head HH, Adkinson RW.** Development of the conceptus in the bovine. *Journal of Dairy Science* 1978, 61, 467-473.
- Ellison RS.** Bovine hypomagnesemia. *Spring* 1984, 11, 5-6.
- El-Samad H, Goff JP, Khammash M.** Calcium homeostasis and parturient hypocalcemia: an integral feedback perspective. *Journal of Theoretical Biology* 2002, 214, 17-29.
- Enjalbert F, Nicot MC, Bayourthe C, Moncoulon R.** Ketone bodies in milk and blood of dairy cows: Relationship between concentrations and utilization for detection of subclinical ketosis. *Journal of Dairy Science* 2001, 84, 583–589.
- Erb HN, Smith RD, Oltenacu PA, Guard CL, Hillman RB, Powers PA, Smith MC, White ME.** Path model of reproductive disorders and performance, milk fever, mastitis, milk yield and culling in holstein cows. *Journal of Dairy Science* 1985, 68, 3337–3349.

Ergün A, Tuncer ŞD, Çolpan İ, Yalçın S, Yıldız G, Küçükersan MK, Küçükersan S, Şehu A. Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları I. In: Ergün A, Tuncer ŞD (eds), Medipress, Ankara, 2001.

Esposito G, Irons PC, Webb EC, Chapwanya A. Interactions between negative energy balance, metabolic diseases, uterine health and immune response in transition dairy cows. *Animal Reproduction Science* 2014, 144(3), 60-71.

Esposito G, Irons PC, Webb EC, Chapwanya A. Interactions between negative energy balance, metabolic diseases, uterine health and immune response in transition dairy cows. *Animal Reproduction Science* 2014, 144(3), 60-71.

Etwebi Z. Magnesium Regulation of Glucose and Fatty Acid Metabolism in HEPG2 Cells. Doctoral dissertation, Case Western Reserve University, Cleveland 2011, 89.

Etschmann B, Suplie A, Martens H. Change of ruminal sodium transport in sheep during dietary adaptation. *Journal Archives of Animal Nutrition* 2009, 63, 26-38.

Ewaschuk J B, Naylor JM, Palmer R, Whiting SJ, Zello GA. D- Lactate Production and Excretion in Diarrheic Calves. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2004, 18(5), 744-747.

Felson DT, Zhang Y, Hannan MT, Anderson JJ. Effects of weight and body mass index on bone mineral density in men and women: the Framington study. *Journal of Bone and Mineral Research* 1993, 8, 567-573.

Ferguson JD. Implementation of a body condition scoring program in dairy herds. The Penn Annual Conference, Center for Animal Health and Productivity. University of Pennsylvania, 1996.

Feyter C, Young PW, O'Connor MB, Dyson CB. Magnesium status of dairy herds in Matamata County, New Zealand 1. Associations of serum magnesium and animal, management, pasture, and soil factors. *New Zealand Journal of Experimental Agriculture* 1986, 14(2), 183-190.

Figueiredo MD, Nydam DV, Perkins GA, Mitchell HM, Divers TJ. Prognostic Value of Plasma L- Lactate Concentration Measured Cow- Side with a Portable Clinical Analyzer in Holstein Dairy Cattle with Abomasal Disorders. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2006, 20(6), 1463-1470.

Fisher LJ, Dinn N, Tait RM, Shelford JA. Effect of level of dietary potassium on the absorption and excretion of calcium and magnesium by lactating cows. *Canadian Journal of Animal Science* 1994, 74(3), 503-509.

Fleck A. Clinical and nutritional aspects of changes in acute-phase proteins during inflammation. *Proceedings of the Nutrition Society* 1989, 48(3), 347-354.

- Flores-Riveros JR, McLenithan JC, Ezaki O, Lane MD.** Insulin down-regulates expression of the insulin-responsive glucose transporter (GLUT4) gene: effects on transcription and mRNA turnover. *Proceedings of National Academy of Science of the United States of America* 1993, 90, 512–516.
- Folnožić I, Turk R, Đuričić D, Vince S, Flegar-Meštrić Z, Sobiech P, Samardžija M.** The effect of parity on metabolic profile and resumption of ovarian cyclicity in dairy cows. *Veterinarski Arhiv* 2016, 86(5), 641-653.
- Friedrichs KR, Harr KE, Freeman KP, Szladovits B, Walton RM, Barnhart KF.** ASVCP reference interval guidelines: determination of de novo reference intervals in veterinary species and other related topics. *Veterinary Clinical Pathology* 2012, 41, 441–53.
- Gantner V, Bobić T, Potočnik K, Kučević D, Gregić M.** Metabolic disorders in dairy Simmentals-prevalence risk and effect on subsequent daily milk traits. *Mljekarstvo/Dairy* 2018, 68(2), 77-84.
- Geishauser T, Leslie K, Kelton D, Duffield T.** Evaluation of five cowside tests for use with milk to detect subclinical ketosis in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1998, 81, 438–443.
- Geishauser T, Leslie K, Kelton D, Duffield T.** Monitoring for subclinical ketosis in dairy herds. *Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian* 2001, 23, 65–71.
- George GA, Heaton FW.** Effect of magnesium deficiency on energy metabolism and protein synthesis by liver. *International Journal of Biochemistry* 1978, 9(6), 421-425.
- Gerloff BJ.** Dry cow management for the prevention of ketosis and fatty liver in dairy cows. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 2000, 16(2), 283-292.
- Gillund P, Reksen O, Gröhn YT, Karlberg K.** Body condition related to ketosis and reproductive performance in Norwegian dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2001, 84, 1390-1396.
- Goff JP, Horst RL, Jardon PW, Borelli C, Wedam J.** Field trials of oral calcium propionate as an aid to prevent milk fever in preparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1996, 3, 378-383.
- Goff JP, Horst RL.** Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *Journal of Dairy Science* 1997, 80, 1260–1268.
- Goff J, El-Samad H, Khammash M.** Calcium homeostasis: A feedback control point of view. *Proceedings of the American Control Conference*, s 2962-2966, 28-30 June 2000, Chicago.
- Goff JP.** Mineral disorders of the transition period: origin and control. 24th Proceedings of the World Buiatrics Congress, 15-19 October 2006, Nice, France.

- Goff JP.** The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. *The Veterinary Journal* 2008, 176(1), 50-57.
- Goff JP.** Calcium and magnesium disorders. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice* 2014, 30(2), 359-381.
- Gowda P, Tembad MM.** Study of serum magnesium in liver diseases. *Journal of Evolution of Medical and Dental Sciences-Jemds* 2015, 4(18), 3047-3056.
- Green LE, Hedges VJ, Schukken YH, Blowey RW, Packington AJ.** The impact of clinical lameness on the milk yield of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2002, 85, 2250-2256.
- Greene LW, Baker JF, Hardt PF.** Use of animal breeds and breeding to overcome the incidence of grass tetany: a review. *Journal of Animal Science* 1989, 67, 3463–3469.
- Greiner M, Pfeiffer D, Smith RD.** Principles and practical application of the receiver-operating characteristic analysis for diagnostic tests. *Preventive Veterinary Medicine* 2000, 45, 23–41.
- Grimble RF.** Nutrition and cytokine action. *Nutrition Research Reviews* 1990, 3(1), 193-210.
- Groenestege WM, Thebault S, van der Wijst J.** Impaired basolateral sorting of pro-EGF causes isolated recessive renal hypomagnesemia. *The Journal of Clinical Investigation* 2007, 117, 2260–2267.
- Grossi P.** Transition period of dairy cows and inflammation: a novel index to assess the individual response, pre-calving treatments aiming to mitigate it and consequences on productive and reproductive performances, Doctoral School on the Agro-Food System, Scuola di Dottorato per il Sistema Agro-alimentare, Italia 2012, 165.
- Gruffat D, Durand D, Chilliard Y, Williams P, Bauchart D.** Hepatic gene expression of apolipoprotein B100 during early lactation in underfed, high producing dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1997, 80, 657-666.
- Grummer RR.** Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1993, 76, 3882–3896.
- Grummer RR.** Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. *Journal of Animal Science* 1995, 73, 2820-2833.
- Grummer RR, Mashek DG, Hayirli A.** Dry matter intake and energy balance in the transition period. *Veterinary Clinics Food Animal Practice* 2004, 20, 447-470.
- Grummer RR.** Nutritional and management strategies for the prevention of fatty liver in dairy cattle. *The Veterinary Journal*, 2008, 176 (1) 10-20.

- Guinard-Flament J, Lemosquet S, Delamaire E, Le Bris G, Lamberton P, Hurtaud C.** Alteration of the nutrient uptake by the udder over an extended milking interval in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2011, 94, 5458–5468.
- Gumen A, Keskin A, Yilmazbas-Mecitoglu G, Karakaya E, Wiltbank MC.** Dry period management and optimization of postpartum reproductive management in dairy cattle. *Reproduction of Domestic Animals* 2011, 46, 11–17.
- Guyot H.** Cow-Side test: What is useful and cost-effective in cattle practice?. XX Congreso Internacional ANEMBE de Medicina Bovina: 20 encuentros en la evolucion de la medicina bovina, p50-57, 6-8 May 2015, Santiago.
- Günther T.** The biochemical function of Mg²⁺ in insulin secretion, insulin signal transduction and insulin resistance. *Magnesium Research* 2010, 23(1), 5-18.
- Halperin ML, Kamel KS. D-lactic acidosis: turning sugar into acids in the gastrointestinal tract. *Kidney International* 1996, 49(1), 1-8.
- Halperin M, Kamel K.** D-Lactic acidosis: turning sugar into acids in the gastrointestinal tract. *Kidney International* 1996, 49, 1–8.
- Hammon DS, Evjen IM, Dhiman TR, Goff JP, Walters JL.** Neutrophil function and energy status in Holstein cows with uterine health disorders. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2006, 113, 21–29.
- Hammon HM, Metges CC, Schulz A, Junghans P, Steinhoff J, Schneider F, Kühn C.** Differences in milk production, glucose metabolism, and carcass composition of 2 Charolais× Holstein F2 families derived from reciprocal paternal and maternal grandsire crosses1. *Journal of Dairy Science* 2010, 93(7), 3007-3018.
- Hanigan MD.** A model of net amino acid absorption and utilization by the portal-drained viscera of the lactating dairy cow, *Journal of Dairy Science* 2004, 87, 4247-68.
- Hardie DG, Carling D.** The AMP-activated protein kinase. Fuel gauge of the mammalian cell? *Eurasian Journal of Biochemistry* 1997, 246(2), 259–273.
- Haschke-Becher E, Baumgartner M, Bachmann C.** Assay of D-lactate in urine of infants and children with reference values taking into account data below detection limit. *Clinica Chimica Acta* 2000, 298(1), 99-109.
- Hayirli A, Grummer RR, Nordheim E, Crump PM.** Animal and dietary factors affecting feed intake during the prefresh transition period in Holsteins. *Journal of Dairy Science* 2002, 85(12), 3430-43.

- Hayirli A, Grummer RR, Nordheim EV, Crump PM.** Models for predicting dry matter intake of Holsteins during the prefresh transition period. *Journal of Dairy Science* 2003, 86(5), 1771–1779.
- Hayirli A.** The role of exogenous insulin in the complex of hepatic lipidosis and ketosis associated with insulin resistance phenomenon in postpartum dairy cattle. *Veterinary Research Communications* 2006, 30, 749–774.
- Head J, Rook J.** Hypomagnesaemia in dairy cattle and its relation to ruminal ammonia production. *Nature* 1995, 176, 262-263.
- Herdth TH.** Fatty liver in dairy cows. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 1988, 4(2), 269-287.
- Herdth TH.** Ruminant adaptation to negative energy balance. Influences on the Etiology of Ketosis and Fatty Liver. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 2000b, 16, 215-230.
- Herdth TH.** Variability characteristics and test selection in herd-level nutritional metabolic profile testing. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 2000a, 16, 387-403.
- Herdth TH, Rumbeilha W, Braselton WE.** The use of blood analyses to evaluate mineral status in livestock. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 2000, 16(3), 423-444.
- Hernández J, Benedito JL, Abuelo A, Pereira, V, López-Alonso M, Castitto C.** Changes in serum values of lactic acid enantiomers from gestation to lactation in high yielding dairy cows. 6th European Congress of Bovine Health Management, p81, 7-9 September 2011, Belgium.
- Herr M, Bostedt H, Failing K.** IgG and IgM levels in dairy cows during the periparturient period. *Theriogenology* 2011, 75, 377-385.
- Heuer C, Van Straalen WM, Schukken YH, Dirkwager A, Noordhuizen JPTM.** Prediction of energy balance in high yielding dairy cows with test-day information. *Journal of Dairy Science* 2001a, 84, 471-481.
- Heuer C, Luinge HJ, Lutz ETG, Schukken YH, Van der Maas JH, Wilmink H, Noordhuizen JPTM.** Determination of acetone in cow milk by Fourier transform infrared spectroscopy for the detection of subclinical ketosis. *Journal of Dairy Science* 2001b, 84, 575–582.
- Hippen AR, She P, Young JW, Beitz DC, Lindberg GL, Richardson LF, Tucker RW.** Alleviation of Fatty Liver in Dairy Cows with 14-Day Intravenous Infusions of Glucagon. *Journal of Dairy Science* 1999, 82(6), 1139-1152.

Hocquette JF, Bauchart D. Intestinal absorption, blood transport and hepatic and muscle metabolism of fatty acids in preruminant and ruminant animals. *Reproduction Nutrition Development* 1999, 39, 27–48.

Hoekstra J. Negative energy balance in periparturient Thai dairy cows raised in small-holder farms. Master thesis, Faculty of Veterinary Medicine Theses, Thai 2014, 54.

Holtenius P. Disturbances in the regulation of energy metabolism around parturition in cows. *Journal of Veterinary Medicine* 1991, 46, 795-797.

Holtenius P, Holtenius K. New aspects of ketone bodies in energy metabolism of dairy cows: a review. *Transboundary and Emerging Diseases* 1996, 43(1- 10), 579-587.

Holtenius K, Agenas S, Delavaud C, Chilliard Y. Effects of feeding intensity during the dry period. 2. Metabolic and hormonal responses. *Journal of Dairy Science* 2003, 86(3), 883–891.

Holtenius K, Persson Waller K, Essén-Gustavsson B, Holtenius P, Hallén Sandgren C. Metabolic parameters and blood leukocyte profiles in cows from herds with high or low mastitis incidence. *The Veterinary Journal* 2004, 168, 65-73.

Holtenius K, Kronqvist C, Briland E, Spörndly R. Magnesium absorption by lactating dairy cows on a grass silage-based diet supplied with different potassium and magnesium levels. *Journal of Dairy Science* 2008, 91(2), 743-748.

Horst RL, Jorgensen NA. Elevated plasma cortisol during induced and spontaneous hypocalcemia in ruminants. *Journal of Dairy Science* 1982, 65, 2332-2337.

Horst RL, Goff JP, Reinhardt TA. Calcium and vitamin D metabolism in the dairy cow. *Journal of Dairy Science* 1994, 77(7), 1936-1951.

Horst RL, Goff JP, Reinhardt TA. Role of vitamin D in calcium homeostasis and its use in prevention of bovine periparturient paresis. *Acta Veterinaria Scandinavica* 2003, 97, 35–50.

House WA, Bell AW. Mineral accretion in the fetus and adnexa during late gestation in Holstein cows. *Journal of Dairy Science* 1993, 76, 2999-3010.

Hove H, Nørgaard H, Mortensen PB. Lactic acid bacteria and the human gastrointestinal tract. *European Journal of Clinical Nutrition* 1999, 53(5), 339-350.

Huerta MG, Roemmich JN, Kington ML, Bovbjerg VE, Weltman AL, Holmes VF, Nadler JL. Magnesium deficiency is associated with insulin resistance in obese children. *Diabetes Care* 2005, 28(5), 1175-1181.

Hunter AL. Association of Serum Calcium Status at Calving on Survival, Health, and Performance of Post-partum Holstein Cows and Calves, Doctoral dissertation, The Ohio State University, Columbus 2015, 81.

- Huntington GB.** Energy metabolism in the digestive tract and liver of cattle: influence of physiological state and nutrition. *Reproduction Nutrition Development* 1990, 30(1), 35-47.
- Husain FA, Martin MJ, Mullenix PS, Steele SR, Elliott DC.** Serum lactate and base deficit as predictors of mortality and morbidity. *The American Journal of Surgery* 2003, 185, 485–491.
- Huzzey JM, Veira DM, Weary DM, von Keyserlingk MAG.** Prepartum behavior and dry matter intake identify dairy cows at risk for metritis. *Journal of Dairy Science* 2007, 90(7), 3220-3233.
- Huzzey JM, Duffield TF, LeBlanc SJ, Veira DM, Weary DM, von Keyserlingk MA.** Short communication: Haptoglobin as an early indicator of metritis. *Journal of Dairy Science* 2009, 92(2), 621-625.
- Imhasly S.** Blood plasma biomarkers correlating with hepatic lipidosis in dairy cows Doctoral dissertation, ETH Zurich Switzerland 2015, 133.
- Ingraham RH, Kappel LC.** Metabolic profile testing. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 1988, 4, 391–411.
- Ingvartsen KL, Andersen JB.** Integration of metabolism and intake regulation: a review focusing on periparturient animals. *Journal of Dairy Science* 2000, 83, 1573-1597.
- Ingvartsen KL, Boisclair YR.** Leptin and the regulation of food intake, energy homeostasis and immunity with special focus on periparturient ruminants. *Domestic Animal Endocrinology* 2001, 21, 215–250.
- Iwersen M, Falkenberg U, Voigtsberger R, Forderung D, Heuwieser W.** Evaluation of an electronic cowside test to detect subclinical ketosis in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2009, 92, 2618–2624.
- Jaakson H, Ling K, Kaldmäe H, Samarütel J, Kaart T, Kärt O.** Influence of pre-partum feeding on periparturient metabolic status in Estonian Holstein cows. *Veterinarija ir Zootechnika* 2007, 40, 14–21.
- Jaakson H, Ling K, Samarütel J, Ilves A, Kaart T, Kärt O, Ots M.** Blood glucose and insulin responses during the glucose tolerance test in relation to dairy cow body condition and milk yield. *Veterinarija ir Zootechnika* 2013, 62(84),1392-2130.
- Janovick NA, Boisclair YR, Drackley JK.** Prepartum dietary energy intake affects metabolism and health during the periparturient period in primiparous and multiparous Holstein cows. *Journal of Dairy Science* 2011, 94, 1385-1400

- Jawor PE, Huzzey JM, LeBlanc SJ, von Keyserlingk M.** Associations of subclinical hypocalcemia at calving with milk yield, and feeding, drinking, and standing behaviors around parturition in Holstein cows. *Journal of Dairy Science* 2012, 95(3), 1240- 1248.
- Jensen AL, Kjelgaard- Hansen M.** Method comparison in the clinical laboratory. *Veterinary Clinical Pathology* 2006, 35(3), 276-286.
- Johannsen U, Menger S, Staufenbiel R, Klukas H.** The morphology and function of the liver in high performance cows 2 weeks post partum. *Deutsche tierärztliche Wochenschrift* 1993; 100: 177-181.
- Johnson C, Helliwell S, Jones A.** Magnesium metabolism in the rumen of lactating cows fed on spring grass. *Quarterly Journal of Experimental Physiology* 1998, 73, 23-31.
- Johnson C, Jones A.** Effect of change of diet on the mineral composition of rumen fluid, on magnesium metabolism and water balance in sheep. *British Journal of Nutrition* 1989, 61, 583-594.
- Jorritsma R, Jorritsma H, Schukken YH, Wentink GH.** Relationships between fatty liver and fertility and some periparturient diseases in commercial Dutch dairy herds. *Theriogenology*, 2000, 54, 1065–1074.
- Jorritsma R, Jorritsma H, Schukken YH, Bartlett PC, Wensing T, Wentink GH.** Prevalence and indicators of post partum fatty infiltration of the liver in nine commercial dairy herds in The Netherlands. *Livestock Production Science* 2001, 68(1), 53-60.
- Jump D Botolin D, Wang Y, Xu J, Christian B, Demeure O.** Fatty acid regulation of hepatic gene transcription. *Journal of Nutrition* 2005, 135(11), 2503–2506.
- Kadokawa H, Martin BG.** A new perspective on management of reproduction in dairy cows: the need for detailed metabolic information, an improved selection index and extended lactation. *Journal of Reproduction and Development* 2006, 52(1), 61-168.
- Kanazawa I, Yamaguchi T, Yano S, Yamauchi M, Yamamoto M, Sugimoto T.** Adiponectin and AMP kinase activator stimulate proliferation, differentiation, and mineralization of osteoblastic MC3T3-E1 cells. *BMC Cell Biology* 2007, 8, 51.
- Kaneko JJ. Clinical biochemistry of domestic animals. 4th Ed. Academic Press: London; 1989. p. 612-647.
- Kaneko JJ.** Clinical biochemistry of domestic animals (4th Ed). Academic Press, London 1989, 612-647.
- Kannan G, Kouakou B, Terrill TH, Gelaye S.** Endocrine, blood metabolite, and meat quality changes in goats as influenced by short-term, preslaughter stress. *Journal of Animal Science* 2003, 81(6), 1499-1507.

Karapinar T, Kaynar O, Hayirli A, Kom M. Evaluation of 4 point- of- care units for the determination of blood L- lactate concentration in cattle. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2013, 27(6), 1596-1603.

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* 2002, 64, 293–307.

Kehrli ME, Goff JP. Periparturient hypocalcemia in cows: effects on peripheral blood neutrophil and lymphocyte function. *Journal of Dairy Science* 1989, 72(5), 1188-1196.

Kehrli ME Jr, Neill JD, Burvenich C, Goff JP, Lippolis JD, Reinhardt TA, Nonnecke BJ. Energy and protein effects on the immune system. In: Sejrsen K, Hvelplund T, Nielsen M.O. (eds). *Ruminant physiology: Digestion, metabolism and impact of nutrition on gene expression, immunology, and stress*, 1st ed. Wageningen, Academic Publishers, 2006, p459-461.

Kellogg W. Body condition scoring with dairy cattle. Agriculture and Natural Resources, FSA-4008, <https://www.uaex.edu/publications/PDF/FSA-4008>. (10.04.2015).

Kelly EF, Leaver JD. Lameness in dairy cattle and the type of concentrate given. *Animal Production* 1990;51:221–227.

Kemp A, Geurink J. Further information on sodium requirement and sodium supply of lactating cows. *Tydschrift Voor Diergeneskunde* 1996, 91, 580-613.

Khan MJ, Jacometo JB, Graugnard DE, Corrêa MN, Schmitt E, Cardoso F, Loor JJ. Overfeeding dairy cattle during late-pregnancy alters hepatic PPARA-regulated pathways including hepatokines: impact on metabolism and peripheral insulin sensitivity. *Gene Regulation And Systems Biology* 2014, 8, 97-111.

Kida K. The metabolic profile test: its practicability in assessing feeding management and periparturient diseases in high yielding commercial dairy herds. *Journal of Veterinary Medical Science* 2002, 64(7), 557-563

Kimura K, Reinhardt TA, Goff JP. Parturition and hypocalcemia blunts calcium signals in immune cells of dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 2006, 89(7), 2588-2595.

Kindahl H, Kommatitsuk B, Gustafsson H. The cow in endocrine focus before and after calving. *Reproduction in Domestic Animals* 2004, 39, 217-222.

Kirovski D, Sladojevic Z. Prediction and Diagnosis of Fatty Liver in Dairy Cows. *Journal of Gastroenterology* 2017, 3(1), 1005.

Kleczkowski M, Klucinski W, Lutnicki K, Jasinski T, Jakubowski T, Cegielkowska M, Pietrzykowska E. Effect of magnesium on its blood concentration in dairy cows transition period. XIII Middle European Buiatrics Congress, pp. 350-358, 5-8 June, 2013, Belgrade, Serbia.

Klevenhusen F, Humer E, Metzler-Zebeli B, Podstatzky-Lichtenstein L, Wittek T, Zebeli Q. Metabolic profile and inflammatory responses in dairy cows with left displaced abomasum kept under small-scaled farm conditions. *Animals* 2015, 5(4), 1021-1033.

Knop R, Cernescu H. Effects of negative energy balance on reproduction in dairy cows. *Lucrări Științifice Medicină Veterinară* 2009, 2, 198-205.

Kokkonen T, Salin S, Taponen J, Vanhatalo A, Elo K. Effects of abomasal infusion of tallow and camelina oil on responses to glucose and insulin in dairy cows during late pregnancy. In: Chilliard Y, Glasser F, Faulconnier Y, Bocquier F, Veissier I, Doreau M. (Eds). Ruminant physiology: digestion, metabolism, and effects of nutrition on reproduction and welfare. Clermont-Ferrand, Wageningen Academic Publishers, 2009. p 440–441.

Koller A, Reist M, JW Blum, Kupfer U. Time empty and ketone body status in the early postpartum period of dairy cows. *Reproduction in Domestic Animals* 2003, 38, 41–49.

Komatsu T, Itoh F, Kushibiki S, Hodate K. Changes in gene expression of glucose transporters in lactating and nonlactating cows. *Journal of Animal Science* 2005, 83, 557–564.

Kouakou B, Gazal OS, Terrill TH, Kannan G, Gelaye S, Amoah EA. Effects of plane of nutrition on blood metabolites and hormone concentration in goats. *J Anim Sci*, 1999, 77(1), 267.

Kreisberg RA. Lactate homeostasis and lactic acidosis. *Annals of Internal Medicine* 1980, 92(2), 227-237.

Kronfeld DS, Raggi F, Jr. Ramberg CF. Mammary blood flow and ketone metabolism in normal, fasted, and ketotic cows. *American Journal of Physiology* 1968, 215, 218-227.

Kronqvist C. Minerals to dairy cows with focus on calcium and magnesium balance, Doctoral Thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala 2011, 78.

Kuhla B, Albrecht D, Kuhla S, Metges CC. Proteome analysis of fatty liver in feed-deprived dairy cows reveals interaction of fuel sensing, calcium, fatty acid, and glycogen metabolism. *Physiological Genomics* 2009, 37(2), 88–98.

Lacetera N, Scalia D, Bernabucci U, Ronchi B, Pirazzi D, Nardone A. Lymphocyte functions in overconditioned cows around parturition. *Journal of Dairy Science* 2005, 88, 2010-2016.

Lager K ve Jordan E. The Metabolic Profile for the Modern Transition Dairy Cow. Mid-South Ruminant Nutrition Conference, s9, 25-26 April 2012, Grapevine, Texas.

Lamosquet S, Delamaire E, Lapierre H, Blum JW, Peyraud JL. Effects of glucose, propionic acid, and nonessential amino acids on glucose metabolism and milk yield in Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2009, 92, 3244-3257.

Lang I, Martens H. Na transport in sheep rumen is modulated by a voltage dependent cation conductance in the luminal membrane. *American Journal of Physiology* 1999, 277, 609-617.

Lange H, Jackel R. Usefulness of plasma lactate concentration in the diagnosis of acute abdominal disease. *European Journal of Surgery* 1994, 160, 381-384.

Leal Yepes FA, Nydam DV, Heuwieser W, Mann S. Technical note: Evaluation of the diagnostic accuracy of 2 point-of-care β -hydroxybutyrate devices in stored bovine plasma at room temperature and at 37°C. *Journal of Dairy Science* 2018 (abstract). DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13960>

Lean IJ, Farver TB, Trout HF, Bruss ML, Galland JC, Baldwin RL, Holmberg CA, Weaver LD. Time series cross-correlation analysis of postparturient relationships among serum metabolites and yield variables in Holstein cows. *Journal of Dairy Science* 1992, 75, 1891-1900.

Lean IJ, DeGaris PJ, Celi P, McNeill DM, Rodney RM, Fraser DR. Influencing the future: interactions of skeleton, energy, protein and calcium during late gestation and early lactation. *Animal Production Science* 2014, 54(9), 1177-1189.

Lean IJ, DeGaris PJ, McNeil DM, Block E. Hypocalcemia in dairy cows: Meta-analysis and dietary cation anion difference theory revisited. *Journal of Dairy Science* 2006, 89, 669-684.

LeBlanc SJ, Duffield TF, Leslie KE, Bateman KG, TenHag J, Walton JS, Johnson WH. The effect of prepartum injection of vitamin E on health in transition dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2002, 85(6), 1416-1426.

LeBlanc SJ, Herdt TH, Seymour WM, Duffield TF, Leslie KE. Factors associated with peripartum serum concentrations of vitamin E, retinol, and β -carotene in Holstein dairy cattle and their associations with periparturient disease. *Journal of Dairy Science* 2004, 87, 607-619.

LeBlanc SJ, Leslie KE, Duffield TF. Metabolic predictors of displaced abomasum in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 2005, 88(1), 159-170.

LeBlanc SJ, Lissemore DD, Kelton DF, Duffield TF, Leslie KE. Major advances in disease prevention in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 2006, 94(1), 181.

LeBlanc S. Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period. *Journal of Reproduction and Development* 2010, 56, 29-35.

Lee NK, Sowa H, Hinoi E, Ferron M, Ahn JD, Confavreux C, Dacquin R, Mee PJ, McKee MD, Jung DY, Zhang Z, Kim JK, Mauvais-Jarvis F, Ducy P, Karsenty G. Endocrine regulation of energy metabolism by the skeleton. *Cell* 2007, 130, 456-469.

- Leedle JA, Coe ML, Frey RA.** Evaluation of health and ruminal variables during adaptation to grain-based diets in beef cattle. *American Journal of Veterinary Research* 1995, 56, 885–892.
- Leonhard-Marek S, Martens H.** Effects of potassium on magnesium transport across rumen epithelium. *American Journal of Physiology* 1996, 271(6), 1034-1038.
- Leroy JL, Bossaert P, Opsomer G, Bols PE.** The effect of animal handling procedures on the blood non-esterified fatty acid and glucose concentrations of lactating dairy cows. *The Veterinary Journal* 2011, 187, 81–84.
- Leslie KE, Duffield TF, Schukken YH, LeBlanc SJ.** The influence of negative energy balance on udder health. National Mastitis Council Regional Meeting Proceedings. p25-33, August 2000, Atlanta.
- Leslie K, Duffield T, LeBlanc S.** Monitoring and managing energy balance in the transition dairy cow. Minnesota Dairy Health Conference, 18 May 2004, Bloomington, Minnesota.
- Levels JH, Abraham PR, van den Ende A, van Deventer SJ.** Distribution and kinetics of lipoprotein-bound endotoxin. *Infection and Immunity* 2001, 69(5), 2821-2828.
- Lewis RS.** Calcium signaling mechanisms in T lymphocytes. *Annual Review of Immunology* 2001, 19, 497–521.
- Li M, Du J, Jiang J, Ratzan W, Su LT.** Molecular determinants of Mg²⁺ and Ca²⁺ permeability and pH sensitivity in TRPM6 and TRPM7. *The Journal of Biological Chemistry* 2007, 282, 25817-25830.
- Li X, Li X, Chen H, Lei L, Liu J, Guan Y, Fu S.** Non-esterified fatty acids activate the AMP-activated protein kinase signaling pathway to regulate lipid metabolism in bovine hepatocytes. *Cell Biochemistry and Biophysics* 2013, 67(3), 1157.
- Lingaas F, Tveit B.** Etiology of acetonemia in Norwegian cattle. 2. Effect of butyric acid, valeric acid, and putrescine. *Journal of Dairy Science* 1992, 75(9), 2433–2439.
- Littledike ET, Stuedemann JA, Wilkinson SR, Horst RL.** Grass tetany syndrome. In: Fontenot JP, Bunce GE, Webb Jr KE, Allen VG (eds), Proceedings of John Lee Pratt International Symposium on the Role of Magnesium in Animal Nutrition, Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, USA, 1983 p 173-178.
- Lomax MA, Baird GD.** Blood flow and nutrient exchange across the liver and gut of the dairy cow: effects of lactation and fasting. *British Journal of Nutrition* 1983, 49(3), 481-496.
- Loor JJ, Dann HM, Everts RE, Oliveira R, Green CA, Guretzky NA, Rodriguez-Zas SL, Lewin HA, Drackley JK.** Temporal gene expression profiling of liver from periparturient dairy

cows reveals complex adaptive mechanisms in hepatic function. *Physiological Genomics* 2005, 23(2), 217–226.

Lucy MC, Jiang H, Kobayashi Y. Changes in the somatotrophic axis associated with the initiation of lactation. *Journal of Dairy Science* 2001, 84, 113-119.

Luthi D, Günzel D, McGuigan JA. Mg-ATP binding: its modification by spermine, the relevance to cytosolic Mg²⁺-buffering, changes in the intracellular ionized Mg²⁺-concentration and the estimation of Mg²⁺-by 31P-NMR. *Experimental Physiology* 1999, 84(2), 231-52.

MacDonald PN, Kraichely DM, Brown AJ. The vitamin D receptor Nuclear Receptors and Genetic Disease. In: Burris T, McCabe E (Eds), Nuclear Receptors and Genetic Disease. Academic Press, London, 2001, s 197–243.

McNeill DA, Herbein JH, Ritchey SJ. Hepatic Gluconeogenic enzymes, plasma insulin and glucagon response to magnesium deficiency and fasting. *The Journal of Nutrition* 1982; 112(4), 736-743.

Mahrt A, Burfeind O, Heuwieser W. Effects of time and sampling location on concentrations β-Hydroxybutyric acid in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2014, 97, 291–298.

Mandard S, Muller M, Kersten S. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha target genes. *Cellular and Molecular Life* 2004, 61(4), 393–416.

Manzanares W, Hardy G. Thiamine supplementation in the critically ill. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care* 2011, 14(6), 610–617.

Martens H, Schweigel M. Pathophysiology of grass tetany and other hypomagnesaemia implications for clinical management. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 2000, 16, 339-368.

Martinez N, Risco CA, Lima FS, Bisinotto RS, Greco LF, Ribeiro ES, Santos JEP. Evaluation of peripartal calcium status, energetic profile, and neutrophil function in dairy cows at low or high risk of developing uterine disease. *Journal of Dairy Science* 2012, 95(12), 7158-7172.

Martinez N, Sinedino LDP, Bisinotto RS, Ribeiro ES, Gomes GS, Lima FS, Greco LF, Risco CA, Galvão KN, Taylor-Rodriguez D. Effect of induced subclinical hypocalcemia on physiological responses and neutrophil function in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2014, 97, 874–887.

Martinez-Fernandez A, Soldado A, Vicente F, Martinez A, de la Roza-Delgado B. Wilting and inoculation of *Lactobacillus buchneri* on intercropped triticale-fava silage: effects on

nutritive, fermentative and aerobic stability characteristics. *Agricultural and Food Science* 2012, 19(4), 302–312.

Martinez-Jimenez CP, Kyrmizi I, Cardot P, Gonzalez FJ, Talianidis I. Hepatocyte nuclear factor 4 α coordinates a transcription factor network regulating hepatic fatty acid metabolism. *Molecular and Cellular Biology* 2010, 30(3), 565–77.

Massey CD, Wang C, Donovan GA, Beede DK. Hypocalcemia at parturition as a risk factor for left displacement of the abomasum in dairy cows. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1993, 203(6), 852-853.

McArt JAA, Nydam DV, Ospina PA, Oetzel GR. A field trial on the effect of propylene glycol on milk yield and resolution of ketosis in fresh cows diagnosed with subclinical ketosis. *Journal of Dairy Science* 2011, 94, 6011-6020.

McArt JAA, Nydam DV, Oetzel GR. Epidemiology of subclinical ketosis in early lactation dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 2012a, 95, 5056-5066.

McArt JAA, Nydam DV, Oetzel GR. Dry period and parturient predictors of early lactation hyperketonemia in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 2012b, 96(1), 198–209.

McArt JAA, Nydam DV, Oetzel GR. A field trial on the effect of propylene glycol on displaced abomasum, removal from herd, and reproduction in fresh cows diagnosed with subclinical ketosis. *Journal of Dairy Science* 2012c, 95, 2505-2512.

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* 2013, 198, 560–570.

McClendon S, Zhadin N, Callender R. The approach to the Michaelis complex in lactate dehydrogenase: the substrate binding pathway. *Biophysical Journal* 2005, 89(3), 2024-2032.

McGann AM, Hodson AW. Delay in cell separation, storage and anticoagulants induced inaccuracies in measuring plasma non-esterified fatty acids. *Clinica Chimica Acta* 1991, 197, 265–270.

McGuire MA, Theurer M, Vicini JL, Crooker B. Controlling Energy Balance in Early Lactation. *Advances in Dairy Technology* 2004, 16, 241.

McKay B. Subclinical hypocalcaemia: a possible effect on fertility. Proceedings of the 11th seminar of The Society of Dairy Cattle Veterinarians of the New Zealand Veterinary Association, pp89–98, 1994, New Zealand.

McLaren C J, Lissemore KD, Duffield TF, Leslie KE, Kelton DF, Grexton B. The relationship between herd level disease incidence and a return over feed index in Ontario dairy herds. *The Canadian Veterinary Journal* 2006, 47, 767-773.

- McNamara JP.** Regulation of adipose tissue metabolism in support of lactation. *Journal of Dairy Science* 1991, 74, 706–719.
- McNeill DM, Roche JR, McLachlan BP, Stockdale CR.** Nutritional strategies for the prevention of hypocalcaemia at calving for dairy cows in pasture-based systems. *Australian Journal of Agricultural Research* 2002, 53, 755–770.
- Meglia G, Johannisson A, Agenäs S, Holtenius K, Waller KP.** Effects of feeding intensity during the dry period on leukocyte and lymphocyte sub-populations, neutrophil function and health in periparturient dairy cows. *The Veterinary Journal* 2005, 169(3), 376-384.
- Melendez P, Donovan A, Risco CA, Hall MB, Littell R, Goff J.** Metabolic responses of transition Holstein cows fed anionic salts and supplemented at calving with calcium and energy. *Journal of Dairy Science* 2002, 85(5), 1085-1092.
- Melendez P, Marin MP, Robles J, Rios C, Duchens M, Archbald L.** Relationship between serum nonesterified fatty acids at calving and the incidence of periparturient diseases in Holstein dairy cows. *Theriogenology* 2009, 72, 26-833.
- Menendez LG, Fernandez AL, Enguix A, Ciriza C, Amador J.** Effect of storage of plasma and serum on enzymatic determination of non-esterified fatty acids. *Annals of Clinical Biochemistry* 2001, 38, 252–255.
- Mizock B, Falk J.** Lactic acidosis in critical illness. *Critical Care Medicine* 1992, 20, 80–93.
- Moallem U, Folman Y, Sklan D.** Effects of somatotropin and dietary calcium soaps of fatty acids in early lactation on milk production, dry matter intake, and energy balance of high-yielding dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2000, 83, 2085-2094.
- Morrow DA.** Fat cow syndrome. *Journal of Dairy Science*, 1976, 59(9), 1625-1629.
- Moskowitz A, Lee J, Donnino MW, Mark R, Celi L, Danziger J.** The association between admission magnesium concentrations and lactic acidosis in critical illness. *Journal of Intensive Care Medicine* 2016, 31(3), 187-192.
- Mostafavi M, Seifi HA, Mohril M, Jamshidi A.** Optimal thresholds of metabolic indicators of hepatic lipidosis in dairy cows *Revue de Médecine Vétérinaire* 2013, 164(12), 564-571.
- Mostafavi M, Seifi HA, Mohri M, Jamshidi A.** Evaluation of fructosamine as a new biomarker for diagnosis of hepatic lipidosis in dairy cows. *Animal Production Science* [2015, 55, 1005-1010.](#)

- Moyes K, Larsen T, Friggens N, Drackley J, Ingvarlsen KL.** Identification of potential markers in blood for the development of subclinical and clinical mastitis in dairy cattle at parturition and during early lactation. *Journal of Dairy Science* 2009, 92, 5419-5428.
- Moyes KM, Drackley JK, Morin DE, Rodriguez-Zas SL, Everts RE, Lewin HA, Loor JJ.** Mammary gene expression profiles during an intramammary challenge reveal potential mechanisms linking negative energy balance with impaired immune response. *Physiological Genomics* 2010, 41, 161-170.
- Mulligan F, O'Grady L, Rice D, Doherty M.** Production disease of the transition cow; body condition score and energy balance. *Irish Veterinary Journal* 2006, 59, 505-510.
- Munford RS, Hall CL, Dietschy JM.** Binding of *Salmonella typhimurium* lipopolysaccharides to rat high-density lipoproteins. *Infection and Immunity*, 1981, 34(3), 835-843.
- Murondoti A, Jorritsma R, Beynen AC, Wensing T, Geelen JH.** Unrestricted feed intake during the dry period impair the postpartum oxidation and synthesis of fatty acids in the liver of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2004, 87, 672-679.
- Nagy O, Seidel H, Paulikova I, Mudron P, Kovac G.** Use of blood gases and lactic acid analyses in diagnosis and prognosis of respiratory diseases in calves. *Bulletin-Veterinary Institute in Pulawy* 2006, 50(2), 149.
- Nakamura MT, Cheon Y, Li Y, Nara TY.** Mechanisms of regulation of gene expression by fatty acids. *Lipids* 2004, 39(11), 1077-1083.
- Nasrollahi SM, Ghorbani GR, Zali A, Kahyani A.** Feeding behaviors, metabolism, and performance of primiparous and multiparous dairy cows fed high-concentrate diets. *Livestock Science* 2017, 198, 115-119.
- NRC.** Nutrient Requirements of Dairy Cattle (7th ed). National Academy Press, Washington, DC, 2001, 381.
- Naylor JM.** Severity and nature of acidosis in diarrheic calves over and under one week of age. *The Canadian Veterinary Journal* 1987, 28(4), 168.
- Neves RC, Leno BM, Stokol T, Overton TR, McArt JAA.** Risk factors associated with postpartum subclinical hypocalcemia in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2017, 100 (5), 3796-3804.
- Newton GL, Fontenot FC, Tucker RE, Polan CE.** Effects of high dietary potassium intake on the metabolism of magnesium by sheep. *Journal of Animal Science* 1972, 35, 440-445.

- Nielen M, Aarts MGA, Jonkers AGM, Wensing T, Schukken YH.** Evaluation of two cow side tests for the detection of subclinical ketosis in dairy cows. *The Canadian Veterinary Journal* 1994, 35, 229–232.
- Nielsen N, Ingvarstsen, KL, Larsen T.** Diurnal variation and the effect of feed restriction on plasma and milk metabolites in TMR- fed dairy cows. *Journal of Veterinary Medicine Series A* 2003, 50(2), 88-97.
- Nielsen NI, Ingvarstsen KL.** Propylene glycol for dairy cows. A review of the metabolism of propylene glycol and its effects on physiological parameters, feed intake, milk production and risk of ketosis. *Animal Feed Science and Technology* 2004, 115, 191–213.
- Nydam DV, Ospina PA, McArt JA, Oetzel G, Overton TR.** Monitoring negative energy balance in transition dairy cows for herd results. Tri-State Dairy Nutrition Conference, 23-24 April 2013, Indiana.
- Odette O.** Grass tetany in a herd of beef cows. *The Canadian Veterinary Journal* 2005, 46(8), 732.
- Odhiambo JF, Farooq U, Iqbal S, Mansmann D, Zebeli Q, Dunn SM, Ametaj BN.** Profiles of energy metabolites and haptoglobin in dairy cows under organic management in Alberta farms. *Open Journal of Animal Sciences* 2013, 3(2), 105.
- Oettgen HC, Terhorst C, Cantley LC, Rosoff PM.** Stimulation of the T3-T cell receptor complex induces a membrane-potentialsensitive calcium influx. *Cell* 1985, 40, 583-90.
- Oetzel GR.** Herd based biological testing for metabolic disorders. 36th Annual Conference, Preconvention Seminar 7: Dairy Herd Problem Investigation Strategies, 15-17 September 2003a, Columbus.
- Oetzel GR.** Subacute ruminal asidosis in dairy cattle. *Advances in Dairy Technology* 2003b, 15, 307.
- Oetzel GR.** Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 2004, 20, 651-674.
- Oetzel GR.** Herd-based testing for the preventive medicine practice. *American Association of Bovine Practitioners* 2005, 38, 133-138.
- Oetzel GR.** Herd-Level Ketosis – Diagnosis and Risk Factors. 40th Annual Conference. Preconference Seminar 7C: Dairy Herd Problem Investigation Strategies, 19 September 2007, Canada.
- Oetzel GR, McGuirk SM.** Evaluation of a hand-held meter for cowside evaluation of blood beta-hydroxybutyrate and glucose concentrations. Proceedings of the 41st Conference of the American Association of Bovine Practitioners, p234, 25-27 September 2008, North Carolina.

- Oetzel GR.** Understanding the impact of subclinical ketosis. 24th Florida Ruminant Nutrition Symposium, 5-6 February 2013a, Florida.
- Oetzel GR.** Minimizing hypocalcemia during early lactation. Tri-State Dairy Nutrition Conference, p23-32, 23-24 April 2013b, Fort Wayne, USA.
- Ohtsuka HM, Koiwa A, Hatsugaya K, Kudo F, Hoshi F, Itoh N, Kawamura S.** Relationship between serum TNF activity and insulin resistance in dairy cows affected with naturally occurring fatty liver *The Journal of Veterinary Medical Science* 2001, 63(9), 1021-1025.
- Olatunji L, Soladoye AO.** Effect of increased magnesium intake on plasma cholesterol, triglyceride and oxidative stress in alloxan-diabetic rats. *African Journal of Medicine and Medical Sciences* 2007, 36(2), 155-161.
- Oltenacu PA.** Health and welfare in genetically high producing dairy cows and its economical implications. XIII ISAH Congress, 17-21 June 2007, Tortu, Estonia.
- Omole OO, Nappert G, Naylor JM.** Both L- and D lactate contribute to metabolic acidosis in diarrheic calves. *Journal of Nutrition* 2001, 131, 2128–2131.
- Opsomer G.** Interaction between metabolic challenges and productivity in high yielding dairy cows. *Japanese Journal of Veterinary Research* 2015, 63(1), 1-15.
- 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* 2010a, 93, 3595-3601.
- Ospina PA, Nydam DV, Stokol T, Overton TR.** Evaluation of nonesterified fatty acids and beta-hydroxybutyrate in transition dairy cattle in the northeastern United States: Critical thresholds for prediction of clinical diseases. *Journal of Dairy Science* 2010b, 93, 546-554.
- Ospina PA, Nydam DV, Stokol T, Overton TR.** Associations of elevated nonesterified fatty acids and β -hydroxybutyrate concentrations with early lactation reproductive performance and milk production in transition dairy cattle in the northeastern United States. *Journal of Dairy Science* 2010c, 93, 1596–1603.
- Ospina PA, McArt JA, Overton TR, Stokol T, Nydam DV.** Using nonesterified fatty acids and β -hydroxybutyrate concentrations during the transition period for herd-level monitoring of increased risk of disease and decreased reproductive and milking performance. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice* 2013, 29(2), 387-412.
- Østergaard S, Larsen T.** Associations between blood calcium status at calving and milk yield in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2000, 83(11), 2438-2440.

- Overtone TR.** Transition cow programs – the good, the bad and how it gets ugly. Pro-Dairy Winter management series. 2001, Cornell University, Ithaca.
- Overtone TR, Waldron MR.** Nutritional management of transition dairy cows: strategies to optimize metabolic health. *Journal of Dairy Science* 2004, 87, 105-119.
- Ozgo M, Bayle D, Zimowska W, Mazur A.** Effect of a low magnesium diet on magnesium status and gene expression in the kidneys of mice selected for high and low magnesium erythrocyte levels. *Magnesium Research* 2007, 20(2), 148-153.
- Özdamar N.** Geçiş dönemindeki ineklerde vitamin A, D, E ve B12'nin metabolik profil, akut faz proteinleri ve oksidatif strese etkisinin araştırılması, Doktora Tezi, Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bursa 2016, 139.
- Özgürtaş T, Kutluay T.** Magnezyumun Metabolizması ve Ölçümü. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences* 2002, 22(5), 530-534.
- Palmquist DL, Davis CL, Brown RE, Sachan DS.** Availability and metabolism of various substrates in ruminants. V. Entry rate into the body incorporation into milk fat of D(-) b-hydroxybutyrate. *Journal of Dairy Science* 1969, 52, 633–638.
- Parekh AB.** Cell biology: Cracking the calcium entry code. *Nature* 2006, 441, 163-165.
- Payne JM, Dew SM, Manston R, Faulks M.** The use of a metabolic profile test in dairy herds. *Veterinary Record* 1970, 87, 150–158.
- Penner GB, Beauchemin KA, Mutsvangwa T.** Severity of ruminal acidosis in primiparous Holstein cows during the periparturient period. *Journal of Dairy Science* 2007, 90(1), 365-375.
- Petersen H, Nielsen JP, Heegaard P.** Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. *Veterinary Research* 2004, 35(2), 163-87.
- Petersen C.** D-lactic acidosis. *Nutrition in Clinical Practice* 2005, 20(6), 634-645.
- Piccione G, Messina V, Marafioti S, Casella S, Giannetto C, Fazio F.** Changes of some haematochemical parameters in dairy cows during late gestation, post partum, lactation and dry periods. *Veterinary Medicine and Zootechnics* 2012, 58, 59-64.
- Pires JAA, Souza AH, Grummer RR.** Induction of hyperlipidemia by intravenous infusion of tallow emulsion causes insulin resistance in Holstein cows. *Journal of Dairy Science* 2007, 90, 2735–2744.
- Popa SM, Clifton DK, Steiner RA.** The role of kisspeptins and GPR54 in the neuroendocrine regulation of reproduction. *Annual Review of Physiology* 2008, 70, 213–238.
- Prior RL, Laster DB.** Development of the bovine fetus. *Journal of Animal Science* 1979, 48, 1546-1553.

- Puigserver P, Rhee J, Lin J, Wu Z, Yoon JC, Zhang CY, Krauss S, Mootha VK, Lowell BB, Spiegelman BM.** Cytokine stimulation of energy expenditure through p38 MAP kinase activation of PPAR [gamma] coactivator-1. *Molecules and Cells* 2001, 8, 971-982.
- Pullen DL, Palmquist DL, Emery RS.** Effect on days of lactation and methionine hydroxy analog on incorporation of plasma fatty acids into plasma triglycerides. *Journal of Dairy Science*, 1989, 72, 49-58.
- Pullen DL, Liesman JS, Emery RS.** A species comparison of liver slice synthesis and secretion of triacylglycerol from nonesterified fatty acids in media. *Journal of Animal Science*, 1990, 68(5), 1395-1399.
- Quiroz-Rocha GF, LeBlanc SJ, Duffield TF, Jefferson B, Wood D, Leslie KE, Jacobs RM.** Reference limits for biochemical and hematological analytes of dairy cows one week before and one week after parturition. *The Canadian Veterinary Journal* 2009, 50(4), 383-388.
- Quiroz-Rocha GF, LeBlanc SJ, Duffield TF, Jefferson B, Wood D, Leslie KE, Jacobs RM.** Short communication: Effect of sampling time relative to the first daily feeding on interpretation of serum fatty acid and betahydroxybutyrate concentrations in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 2010, 93(5), 2030–2033.
- Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW.** Diseases associated with protozoa. In: Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW, Constable PD (eds), *Veterinary Medicine: A Textbook of Diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and goats*. 10th Ed., WB. Saunders, Philadelphia, 2008, p1483 -1540.
- Rajala-Schultz PJ, Gröhn Y, McCulloch CE.** Effects of milk fever, ketosis, and lameness on milk yield in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1999, 82(2), 288-294.
- Rattray PV, Robinson DW, Garrett WN, Ashmore RC.** Cellular changes in the tissues of lambs during fetal growth. *Journal of Animal Science* 1975, 40, 783.
- Rauch RE, Robinson PH, Erasmus LJ.** Effects of sodium bicarbonate and calcium magnesium carbonate supplementation on performance of high producing dairy cows. *Animal Feed Science and Technology* 2012, 177, 180-93.
- Redetzky R, Hamann J, Krömker V.** Zum einfluss des blutentnahmeortes auf parameter des blutprofils bei hochleistenden kühen. *Tierärztliche Praxis* 2003, 31, 308–313.
- Reid IM.** Incidence and severity of fatty liver in dairy cows. *Veterinary Record* 1980, 107(12), 281–284.
- Reinhardt TA, Lippolis JD, McCluskey BJ, Goff JP, Horst RL.** Prevalence of subclinical hypocalcemia in dairy herds. *The Veterinary Journal* 2011, 188(1), 122-124.

Resnick LM. Ionic Basis of Hypertension, Insulin Resistance, Vascular Disease, and Related Disorders The Mechanism of “Syndrome X”. *American Journal of Hypertension* 1993, 6(4), 123-134.

Resnick LM, Altura BT, Gupta RK. Intracellular and extracellular magnesium depletion in type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 1993, 36(8), 767–70.

Reynolds CK, Aikman PC, Lupoli B, Humphries DJ, Beever DE. Splanchnic metabolism of dairy cows during the transition from late gestation through early lactation. *Journal of Dairy Science* 2003, 86, 1201-17.

Rezaeisaber A, Abdili D, Noii F, Khanzadeh J, Dehghan H, Akhondi F. BHBA, NEFA and LDH have changed in fatty liver syndrome: An Abattoir-based study. *European Journal of Experimental Biology* 2013, 3 (1), 572-575.

Rhoads ML, Rhoads RP, VanBaale MJ, Collier RJ, Sanders SR, Weber WJ, Baumgard LH. Effects of heat stress and plane of nutrition on lactating Holstein cows: I. Production, metabolism, and aspects of circulating somatotropin. *Journal of Dairy Science* 2009, 92(5) 1986-1997.

Rinaldi M, Moroni P, Paape MJ, Bannerman DD. Differential alterations in the ability of bovine neutrophils to generate extracellular and intracellular reactive oxygen species during the periparturient period. *The Veterinary Journal* 2008, 178, 208-213.

Risco CA. Management of hypocalcemia and negative energy balance in dairy cattle. 82nd Western Veterinary Conference, 14-18 February, Las Vegas.

Ristevski M, Toholj B, Cincović M, Trojačanec P, Starič J, Smolec O. Milk Production, Body Condition Score and Metabolic Parameters at the Peak of Lactation as Risk Factors for Chronic Lameness in Dairy Cows. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2017, 23(5), 721-727.

Robak P, Ożgo M, Michalek K, Kolasa-Wołoskiuk A, Taciak M, Barszcz M, Marynowska M. Identification of TRPM6 and TRPM7 expression changes in response to a diet supplemented with inulin in porcine kidney. *Archives Animal Breeding* 2016, 59(2), 267-274.

Roberts T, Chapinal N, LeBlanc SJ, Kelton DF, Dubuc J, Duffield TF. Metabolic parameters in transition cows as indicators for early-lactation culling risk. *Journal of Dairy Science* 2012, 95, 3057–3063.

Roche JR, Friggens NC, Kay JK, Fisher MW, Stafford KJ, Berry DP. Invited review: body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare. *Journal of Dairy Science* 2009, 92, 5769-5801.

- Rogatzki M, Ferguson B, Goodwin L, Gladden B.** Lactate is always the end product of glycolysis. *Frontiers in Neuroscience* 2015, 9, 1-7.
- Rogiers V.** Stability of the long chain non-esterified fatty acid pattern in plasma and blood during different storage conditions. *Clinica Chimica Acta* 1978, 84, 49–54.
- Rollin F.** Tools for a prompt cowside diagnosis: what can be implemented by the bovine practitioner?. World Buiatrics Congress, 15-19 October 2006, Nice, France.
- Romani A, Scarpa A.** Regulation of cell magnesium. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 1992, 298(1), 1-12.
- Rook JAF, Storry JE.** Magnesium in the nutrition of farm animals. *Nutrition Abstracts and Reviews* 1962, 32, 1055–1077.
- Roos APW, Van den Bijgaart HJCM, Hørlyk J, de Jong G.** Screening for subclinical ketosis in dairy cattle by fourier transform infrared spectrometry. *Journal of Dairy Science* 2007, 90, 1761–1766.
- Rosol TJ, Chew DJ, Nagode LA, Capen CC.** Pathophysiology of calcium metabolism. *Veterinary Clinical Pathology* 1995, 24, 49.
- Rosol TJ, Capen CC.** Calcium-regulating hormones and diseases of abnormal mineral (calcium, phosphorus, magnesium) metabolism. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals* 1997, 5, 619-702.
- Rude RK.** Magnesium deficiency in parathyroid function. In: Bilezikian JP (ed), *The Parathyroids*. 2nd ed. Raven Press, USA, 2001, p763-777.
- Sakha M, Ameri M, Sharifi M, Taheri I.** Bovine subclinical ketosis in dairy herds in Iran. *Veterinary Research Communications* 2007, 31(6), 673–679.
- Samanc H, Kirovski D, Jovanović M, Vujanac I, Bojković-Kovačević S, Jakić-Dimić D, Stajković S.** New insights into body condition score and its association with fatty liver in Holstein dairy cows. *Acta Veterinaria* 60(5-6), 525-540.
- Samanc H, Danjela K, Stojic V, Dragica S, Vujanac I, Prodanovic R, Bojković-Kovacevic Slavica B.** Application of the metabolic profile test in the prediction and diagnosis of fatty liver in holstein cows. *Acta Veterinaria* 2011, 61(5-6), 543-553.
- Saris NE, Carafoli E.** A historical review of cellular calcium handling, with emphasis on mitochondria. *Biochemistry* 2005, 70, 187-194.
- Scharrer E, Lutz T.** Relationship between volatile fatty acids and magnesium absorption in mono-and polygastric species. *Magnesium Research* 1992, 5(1), 53-60.

Schmitt E, Pereira RA, Hoffmann D, Vendramin L, Lima ME, dos Santos Farofa T, Corrêa, MN. Hipomagnesemia subclínica em vacas leiteiras durante o período de transição: ocorrências hormonais e metabólicas. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária* 2016, 23(1-2).

Schweigel M, Kolisek M, Nikolic Z, Kuzinski J. Expression and functional activity of the Na/Mg exchanger, TRPM7 and MagT1 are changed to regulate Mg homeostasis and transport in rumen epithelial cells. *Magnesium Research* 2008, 21(2), 118-123.

Schweigel M, Voigt J, Mohr E. Indication of intracellular magnesium deficiency in lactating dairy cows revealed by magnesium loading and renal fractional excretion. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 2009, 93(1), 105-112.

Seal CJ, Reynolds CK. Nutritional implications of gastrointestinal and liver metabolism in ruminants. *Nutrition Research Reviews* 1993, 6, 185-208.

Seifi HA, LeBlanc SJ, Leslie KE, Duffield TF. Metabolic predictors of post-partum disease and culling risk in dairy cattle. *The Veterinary Journal* 2011, 188(2), 216–220.

Shire J, Gordon JL, Karcher EL. Short communication: The effect of temperature on performance of milk ketone test strips *Journal of Dairy Science* 2012, 96, 1677–1680.

Singh SP, Haussler S, Gross JJ, Schwarz FJ, Bruckmaier RM, Sauerwein H. Short communication: Circulating and milk adiponectin change differently during energy deficiency at different stages of lactation in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2014, 97, 1535–1542.

Smith TR, Hippen AR, Beitz DC, Young JW. Metabolic Characteristics of Induced Ketosis in Normal and Obese Dairy Cows1. *Journal of Dairy Science*, 1997, 80(8), 1569-1581.

Sordillo LM. Factors affecting mammary gland immunity and mastitis susceptibility. *Livestock Production Science* 2005, 98, 89-99.

Sordillo L, Contreras G, Aitken SL. Metabolic factors affecting the inflammatory response of periparturient dairy cows. *Animal health research reviews/Conference of Research Workers in Animal Diseases* 2009, 10(1), 53-63.

Sorge U, Kelton D, Staufenbiel R. Neonatal blood lactate concentration and calf morbidity. *Veterinary Record* 2009, 164(17), 533-534.

Spears JW, Weiss WP. Role of antioxidants and trace elements in health and immunity of transition dairy cows. *The Veterinary Journal* 2008, 176, 70-76.

Stadhouders J, Spoelstra SF. Prevention of the contamination of raw milk by making a good silage. *Bulletin of the International Dairy Federation* 1990, 251, 40–46.

Steel RG, Torrie JH. Principles and Procedures of Statistics (2nd ed), McDonald Book Co, New York, USA, 1980.

- Stengärde L, Tråvén M, Emanuelson U, Holtenius K, Hultgren J, Niskanen R.** Metabolic profiles in five high-producing Swedish dairy herds with a history of abomasal displacement and ketosis. *Acta Veterinaria Scandinavica* 2008, 50, 31-42.
- Ster C, Loisel MC, Lacasse P.** Effect of postcalving serum nonesterified fatty acids concentration on the functionality of bovine immune cells. *Journal of Dairy Science* 2012, 95, 708-717.
- Stockdale CR.** Body condition at calving and the performance of dairy cows in early lactation under Australian conditions: a review. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 2001, 41(6), 823-839.
- Stockdale CR.** Effects of feeding magnesium sulfate to dry pregnant dairy cows with different body condition scores on intake in late gestation, periparturient blood calcium concentrations and production in early lactation. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 2004, 44(6), 539-546
- Stokol T, Nydam DV.** Effect of anticoagulant, storage temperature, and time on non-esterified fatty acid and beta-hydroxybutyrate concentrations in dairy cows. *Veterinary Clinical Pathology* 2004, 33, 190.
- Stokol T, Nydam DV.** Effect of anticoagulant and storage conditions on bovine nonesterified fatty acid and β -hydroxybutyrate concentrations in blood. *Journal of Dairy Science* 2005, 88, 3139–3144.
- Stokol T, Nydam DV.** Effect of hemolysis on nonesterified fatty acid and b-hydroxybutyrate concentrations in bovine blood. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 2006, 18, 466–469.
- Stöber M, Scholz H.** Treatment of dairy cow for lipomobilisation syndrome. *Monatshefte fuer Veterinaermedizin* 1991, 46, 563–566.
- Strang BD, Bertics SJ, Grummer RR, Armentano LE.** Effect of Long-Chain Fatty Acids on Triglyceride Accumulation, Gluconeogenesis, and Ureagenesis in Bovine Hepatocytes1. *Journal of Dairy Science* 1998, 81(3), 728-739.
- Sundrum A.** Metabolic disorders in the transition period indicate that the dairy cows' ability to adapt is overstressed. *Animals* 2015, 5(4), 978-1020.
- Suthar VS, Canelas-Raposo J, Deniz A, Heuwieser W.** Prevalence of subclinical ketosis and relationships with postpartum diseases in European dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2013, 96, 2925–2938.
- Swets JA.** Measuring the accuracy of diagnostic systems. *Science* 1988, 240(4857), 1285-1293.

- Şentürk S, Cihan H, Mecitoğlu Z, Catik S, Akgül GD, Kasap S, Topal O.** Prevalence of ketosis in dairy herds in Marmara, Aegean and Mediterranean regions of Turkey. *Veterinary Journal of Ankara University* 2016, 63, 283-288.
- Takeda S, Elefteriou F, Levasseur R, Liu X, Shao L, Parker KL, Armstrong D, Ducy P, Karsenty G.** Leptin regulates bone formation via the sympathetic nervous system. *Cell* 2002, 111, 305–317.
- Tas O, De Rooster H, Baert E, Doom MH, Duchateau L.** The accuracy of the Lactate Pro hand- held analyser to determine blood lactate in healthy dogs. *Journal of Small Animal Practice* 2008, 49(10), 504-508.
- Tatone EH, Gordon, JL, LeBlanc SJ, Duffield TF.** Evaluation of a handheld device for measurement of β -hydroxybutyrate concentration to identify prepartum dairy cattle at risk of developing postpartum hyperketonemia. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 2015, 246(10), 1112-1117.
- Taylor VJ, Beever DE, Wathes DC.** Physiological adaptations to milk production that affect the fertility of high yielding dairy cows. In: Kebreab E, Mills J, Beever D. (eds), *Dairying: using science to meet consumers' needs*, Nottingham University Press, Nottingham, England, 2004, s37–71.
- Thorneloe C, Bédard C, Boysen S.** Evaluation of a hand-held lactate analyzer in dogs. *Canadian Veterinary Journal* 2007, 48(3), 283.
- Toholj B, Cincović M, Stevančević M, Spasojevic J, Ivetić V, Potkonjak A.** Evaluation of ultrasonography for measuring solar soft tissue thickness as a predictor of sole ulcer formation in Holstein–Friesian dairy cows. *The Veterinary Journal* 2014, 199(2), 290-294.
- Tornquist SJ, Van Saun RJ.** Comparison of biochemical parameters in individual and pooled bovine sera. *Veterinary Pathology* 1999, 36(5), 487.
- Townsend J.** Cowside Tests for Monitoring Metabolic Disease. Tri-State Dairy Nutrition Conference, 19-20 April 2011, Indiana.
- Trevisi E, Gubbiotti A, Bertoni.** Effects of inflammation in peripartum dairy cows on milk yield, energy balance and efficiency. *Publication-European Association For Animal Production* 2007, 124, 395.
- Trevisi E, Ferrari A, Piccioli-Cappelli, F, Grossi P, Bertoni G.** An additional study on the relationship between the inflammatory condition at calving time and net energy efficiency in dairy cows. 3rd EAAP International Symposium on Energy and Protein Metabolism and Nutrition, p489-490, 6-10 September 2010, Parma, Italy.

- Trevisi E, Amadori M, Archetti I, Lacetera N, Bertoni G.** Inflammatory Response and Acute Phase Proteins in the Transition Period of High-Yielding Dairy Cows. In: Veas F (Ed), Acute Phase Proteins as Early Non-Specific Biomarkers of Human and Veterinary Diseases. InTech, 2011, p 355-379.
- Trevisi E, Amadori M, Cogrossi S, Razzuoli E, Bertoni G.** Metabolic stress and inflammatory response in high-yielding, periparturient dairy cows. *Research in Veterinary Science* 2012, 93(2), 695-704.
- Tsioulpas A, Grandison AS, Lewis MJ.** Changes in physical properties of bovine milk from the colostrum period to early lactation. *Journal of Dairy Science* 2007, 90(11), 5012-5017.
- Turgut K.** Veteriner Klinik Laboratuvar Teşhis (2. Baskı), Bahçivanlar Basın, Konya, 2000.
- Turk R, Juretic D, Geres D, Turk N, Rekić B, Simeon-Rudolf V, Svetina A.** Serum paraoxonase activity and lipid parameters in the early postpartum period of dairy cows. *Research in Veterinary Science* 2004, 76, 57-61.
- Turk R, Juretic D, Geres D, Turk N, Rekić B, Simeon-Rudolf V, Robić M, Svetina A.** Serum paraoxonase activity in dairy cows during pregnancy. *Research in Veterinary Science* 2005, 79, 15-18.
- Tveit B, Lingaas F, Svendsen M, Sjaastad ØV.** Etiology of acetonemia in Norwegian cattle. 1. Effect of ketogenic silage, season, energy level, and genetic factors. *Journal of Dairy Science* 1992, 75(9), 2421-2432.
- Työppönen J, Kauppinen K.** The stability and automatic determination of ketone bodies in blood samples taken in field conditions. *Acta Veterinaria Scandinavica* 1980, 21, 55-61.
- Uetake K, Ishiwata T, Abe N, Eguchi Y, Tanaka T.** Hormonal and metabolic relation to restraint and human handling in growing-fattening steers. *Animal Science Journal* 2006, 77, 370-374.
- van de Braak A., van't Klooster AT, Malestein A.** Influence of a deficient supply of magnesium during the dry period on the rate of calcium mobilisation by dairy cows at parturition. *Research in Veterinary Science* 1987, 42, 101-108.
- Van den Top AM, Van Tol A, Jansen H, Geelen MJH, Beynen AC.** Fatty liver in dairy cows post partum is associated with decreased concentration of plasma triacylglycerols and decreased activity of lipoprotein lipase in adipocytes. *Journal of Dairy Research* 2005, 72, 129-137.
- van Kneegsel AT, Van den Brand H, Dijkstra J, Tamminga S, Kemp B.** Effect of dietary energy source on energy balance, production, metabolic disorders and reproduction in lactating dairy cattle. *Reproduction Nutrition Development* 2005, 45(6), 665-688.

Van Oldruijtenborgh-Oosterbaan MMS, Van den Broek ET, Spienburg AJ. Evaluation of the usefulness of the portable device Lactate Pro for measurement of lactate concentrations in equine whole blood. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 2008, 20(1), 83-85.

Vanholder T, Papen J, Bemers R, Vertenten G, Berge ACB. Risk factors for subclinical and clinical ketosis and association with production parameters in dairy cows in the Netherlands. *Journal of Dairy Science* 2014, 98(2), 880-888.

Vazquez-Anon M, Bertics S, Luck M, Grummer RR, Pinheiro J. Peripartum liver triglyceride and plasma metabolites in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1994, 77(6), 1521-1528.

Veenhuizen JJ, Drackley JK, Richard MJ, Sanderson TP, Miller LD, Young JW. Metabolic Changes in Blood and Liver During Development and Early Treatment of Experimental Fatty Liver and Ketosis in Cows. *Journal of Dairy Science* 1991, 74(12), 4238-4253.

Vicente F, Rodríguez ML, Martínez-Fernández A, Soldado A, Argamentería A, Peláez M, de la Roza-Delgado B. Subclinical ketosis on dairy cows in transition period in farms with contrasting butyric acid contents in silages. *Hindawi Publishing Corporation* 2014, ([Article ID 279614](#)).

Vig M, Kinet JP. Calcium signaling in immune cells. *Nature Immunology* 2009, 10(1), 21-27.

Wacker W, Parisi A. Magnesium metabolism. *The New England Journal of Medicine* 1968, 278, 658-63.

Wallace RL, McCoy GC, Overton TR, Clark JH. Effect of adverse health events on dry matter consumption, milk production, and body weight loss of dairy cows during early lactation. *Journal of Dairy Science* 1996, 79(1), 205.

Walsh RB, Walton JS, Kelton DF, LeBlanc SJ, Leslie KE, Duffield TF. The effect of subclinical ketosis in early lactation on reproductive performance of postpartum dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2007a, 90, 2788-2796.

Walsh RB, Kelton DF, Duffield TF, Leslie KE, Walton JS, LeBlanc SJ. Prevalence and risk factors for postpartum anovulatory condition in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2007b, 90, 315–324.

Wang C, Beede DK, Donovan GA, Archbald LF, DeLorenzo MA, Sanchez WK. Effects of dietary negative cation-anion difference and high calcium content prepartum on calcium metabolism, health. Lactational and reproductive performance of Holstein cows. *Journal of Dairy Science* 1991, 74(1), 275.

- Wathes DC, Cheng Z, Bourne N, Taylor VJ, Coffey MP, Brotherstone S.** Differences between primiparous and multiparous dairy cows in the inter-relationships between metabolic traits, milk yield and body condition score in the periparturient period. *Domestic Animal Endocrinology* 2007, 33(2), 203-225.
- Wathes DC, Cheng Z, Chowdhury W, Fenwick MA, Fitzpatrick R, Morris DG, Patton J, Murphy JJ.** Negative energy balance alters global gene expression and immune responses in the uterus of postpartum dairy cows *Physiological Genomics* 2009, 39, 1-13.
- Weber C, Hametner C, Tuschscherer A, Losand B, Kanitz E, Otten W, Singh SP, Bruckmaier RM, Becker F, Kanitz W.** Variation in fat mobilization during early lactation differently affects feed intake, body condition, and lipid and glucose metabolism in high-yielding dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2013, 96, 165–180.
- Weil MH, Afifi AA.** Experimental and clinical studies on lactate and pyruvate as indicators of the severity of acute circulatory failure (shock). *Circulation* 1970, 41, 989–1001.
- Weiss A.** T lymphocyte activation. In: Paul WE, (ed), *Fundamental immunology*. Raven Press, New York. 1989, p 359-84.
- West JW.** Effects of heat-stress on production in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 2003, 86(6), 2131-2144.
- Whitaker DA, Kelly JM, Smith EJ.** Subclinical ketosis and serum b-hydroxybutyrate levels in dairy cattle. *British Veterinary Journal* 1983, 139, 462–463.
- Wilhelm K, Wilhelm J, Fürll M.** Vergleichende Betrachtung ausgewählter Blutparameter von Hochleistungskühen bei unterschiedlichen Entnahmestellen. *Tierärztl. Tierärztliche Praxis* 2013, 41, 7–14.
- Wittek T, Constable PD, Furll M.** Comparison of abomasal luminal gas pressure and volume and perfusion of the abomasum in dairy cows with left displaced abomasum or abomasal volvulus. *American Journal of Veterinary Research* 2004a, 65, 597–603.
- Wittek T, Furll M, Constable PD.** Prevalence of endotoxemia in healthy postparturient dairy cows and cows with abomasal volvulus or left displaced abomasum. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2004b, 18, 574–580.
- Wolf G.** Energy regulation by the skeleton. *Nutrition Reviews* 2008, 66, 229–233.
- Wright M, Jamali F.** Methods for the analysis of enantiomers of racemic drugs—application to pharmacological and pharmacokinetic studies. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods* 1993, 29, 1–9.

- Yamauchi T, Kamon J, Minokoshi YA, Ito Y, Waki H, Uchida S, Yamashita S, Noda M, Kita S, Ueki K.** Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nature Medicine* 2002, 8, 1288–1295.
- Young PW, Rys G.** Milk production responses from magnesium. Proceedings-Ruakura Farmers' Conference, p30-33, 1977, New Zealand.
- Young PW, O'Connor MB, Feyter C.** Importance of magnesium in dairy production. Proceedings-Ruakura Farmers' Conference, 1979, New Zealand.
- Zammit VA.** Mechanisms of regulation of the partition of fatty acids between oxidation and esterification in the liver. *Progress in Lipid Research*, 1984, 23(1), 39-67.
- Zhang Z, Liu G, Wang H, Li X, Wang Z.** Detection of subclinical ketosis in dairy cows. *Pakistan Veterinary Journal* 2012, 32(2), 156-160.
- Zhang G, Hailemariam D, Dervishi E, Deng Q, Goldansaz SA, Dunn SM, Ametaj BN.** Alterations of innate immunity reactants in transition dairy cows before clinical signs of lameness. *Animals* 2015, 5(3), 717-747.

7. EKLER

Ek 1. Çalışmada kullanılan grup bilgilendirme formu

GRUP BİLGİLENDİRME FORMU				
İŞLETME NO İnek Sayısı	İşletme No	İrk	Yaş	Doğum Sayısı
1.				
2.				
3.				
4.				
5.				
6.				
7.				
8.				
9.				
10.				
11.				
12.				
13.				
14.				
15.				
16.				
17.				
18.				
19.				
20.				
21.				
22.				
23.				
24.				
25.				
26.				
27.				
28.				
29.				
30.				
31.				
32.				
33.				
34.				
35.				
36.				

37.				
38.				
39.				
40.				
41.				
42.				
43.				
44.				
45.				
46.				
47.				
48.				
49.				
50.				



Ek 2. Çalışma takip formu

ÇALIŞMA TAKİP FORMU											
İŞLETME ADI											
Hayvan No	İşletme No	Prepartum (-2. Hafta)					Prepartum (-1. Hafta)				
		NEFA (mEq/L)	BHBA (mmol/L)	Laktat (mmol/L)	Ca (mmol/L)	Mg (mmol/L)	NEFA (mEq/L)	BHBA (mmol/L)	Laktat (mmol/L)	Ca (mmol/L)	Mg (mmol/L)
1											
2											
3											
4											
5											
6											
7											
8											
9											
10											
11											
12											
13											
14											
15											

Hayvan No	İşletme No	Doğum (0. Gün)				
		NEFA (mEq/L)	BHBA (mmol/L)	Laktat (mmol/L)	Ca (mmol/L)	Mg (mmol/L)
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						
13						
14						
15						

Hayvan No	İşletme No	Postpartum (+1. Hafta)					Postpartum (+2. Hafta)				
		NEFA (mEq/L)	BHBA (mmol/L)	Laktat (mmol/L)	Ca (mmol/L)	Mg (mmol/L)	NEFA (mEq/L)	BHBA (mmol/L)	Laktat (mmol/L)	Ca (mmol/L)	Mg (mmol/L)
1											
2											
3											
4											
5											
6											
7											
8											
9											
10											
11											
12											
13											
14											
15											

Ek 3. Çalışmaya grup içerisinde rastgele seçilen hayvanların bilgilendirme formu

ÇALIŞMAYA ALINAN HAYVANLARIN BİLGİLENDİRME FORMU					
İŞLETME NO :					
İnek Sayısı	İşletme Kayıt No	İrk	Yaş	Doğum Sayısı	Eş zamanlı/Önceki hastalık(lar)
1.					
2.					
3.					
4.					
5.					
6.					
7.					
8.					
9.					
10.					
11.					
12.					
13.					
14.					
15.					

Ek 4. Çalışmada kullanılan sürü bilgilendirme formu

SÜRÜ BİLGİLENDİRME FORMU							
İşletme Adı/No							
Adres/Lokalizasyon							
Tel							
Çalışan sayısı		<10	10-20	20-30	>30		
Çiftlik Veteriner Hekimi		<input type="checkbox"/> Var	<input type="checkbox"/> Yok		<input type="checkbox"/> Dışarıdan		
Çiftlik Zootekniği		<input type="checkbox"/> Var	<input type="checkbox"/> Yok		<input type="checkbox"/> Dışarıdan		
Sürü takip programları :		<input type="checkbox"/> Var (.....)		<input type="checkbox"/> Yok			
SÜRÜDE DÜZENLİ YAPILAN AŞILAMALAR ve ANTI-PARAZİTER MÜCADELE							
Tarım Bakanlığı Aşıları		<input type="checkbox"/> Şap <input type="checkbox"/> Brucella <input type="checkbox"/> Sığır vebası		<input type="checkbox"/> Sığırların nodüler ekzantemi <input type="checkbox"/> Antraks		<input type="checkbox"/> Kuduz <input type="checkbox"/> Tüberkülin testi	
Diğer Aşılar		<input type="checkbox"/> Kombine ishal aşısı (Scouguard 3k, Rotavec Corona, VBR k 99+C, Colivac) <input type="checkbox"/> Pnömoni Aşısı (Pasteuralla Bacterin, Hemopast-B, One Shot Ultra, Bovilis Bovipast) <input type="checkbox"/> Karma clostridal aşılar (enterotoksemi, yanıkara, botilismus, <input type="checkbox"/> Leptospirosis (Leptovac 5, Leptoferm 5, Lepto 5) <input type="checkbox"/> Mastitis aşısı (Mastivac, Mastivac TT) <input type="checkbox"/> IBR (Rispoval, Hipra bovis 3, Bovilis IBR Marker, Vira Shield 6+Somnus) <input type="checkbox"/> BVD (Bovilus BVD, Vira Shield 6+Somnus) <input type="checkbox"/> Theleria (Pentay, Teylovac, Tayledoll) <input type="checkbox"/> Trikofit (Trichoben, Trichovac LTF 130, Mantarvac)					
Sürüde Anti-Paraziter Mücadele		<input type="checkbox"/> Var (.....)		<input type="checkbox"/> Yok			
İşletmede mevcut hayvan sayıları	Buzağı	Düve	Kuru Dönem	Geçiş Dönemi (-3_+3 hafta)	I. laktasyon	II. Laktasyon	III. Laktasyon
Doğumu yaklaşan hayvanların gözetlenmesi		<input type="checkbox"/> Hergün 3 defa <input type="checkbox"/> Hergün 2 defa <input type="checkbox"/> Diğer		<input type="checkbox"/> Davranış <input type="checkbox"/> Kıl örtüsü <input type="checkbox"/> Dışkılama/dışkı niteliği		<input type="checkbox"/> Vücut kondüsyonu <input type="checkbox"/> Geviş getirme <input type="checkbox"/> Yem yeme	

Doğum sonrası hayvanların gözetlenmesi	<input type="checkbox"/> Hergün 3 defa <input type="checkbox"/> Hergün 2 defa <input type="checkbox"/> Diğer.....	<input type="checkbox"/> Davranış <input type="checkbox"/> Kıl örtüsü <input type="checkbox"/> Dışkılama/dışkı niteliği	<input type="checkbox"/> Vücut kondüsyonu <input type="checkbox"/> Geviş getirme <input type="checkbox"/> Yem yeme	
Rasyon içeriği				
Yem madde tedariki	<input type="checkbox"/> Kendi üretimi <input type="checkbox"/> Tamamen dışarıdan <input type="checkbox"/> Kısmi olarak dışarıdan (.....)			
Yemleme tipi	<input type="checkbox"/> TKR (kaba+konsantre birlikte) <input type="checkbox"/> KKR (kaba+konsantre birlikte ilave konsantre) <input type="checkbox"/> Komponent (kaba - konsantre ayrı besleme) <input type="checkbox"/> Diğer			
Yemleme saatleri	<input type="checkbox"/> Sabah ()	<input type="checkbox"/> Öğle ()	<input type="checkbox"/> Akşam ()	
Sağım sayısı				
Sağım zamanı/zamanları				
Doğum	<input type="checkbox"/> Doğuma yardım girişimiyle (anaya ve fütusa bağlı güç doğum) <input type="checkbox"/> Normal doğum (yardım gerektirmeksizin)			
Sürüde doğum sonrası en sık görülen hastalıklar	<input type="checkbox"/> Ketozis <input type="checkbox"/> Abomazum deplasmanı <input type="checkbox"/> Hipokalsemi <input type="checkbox"/> Retensiyon sekondaryum	<input type="checkbox"/> Metritis <input type="checkbox"/> Mastitis <input type="checkbox"/> Diğer.....		
SÜRÜDE GERÇEKLEŞTİRİLEN ANALİZLER				
Sublinik Hastalık Takibi		Evet	Hayır	Yöntem (Dış lab.)
	✓ BHBA	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	✓ NEFA	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	✓ Ruminal pH	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	✓ Kalsiyum	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
✓ Diğer				

Ek 1. Etik kurul raporu



T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
(ADÜ-HADYEK)



Aydın, 26 Ekim 2016

Oturum : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 2016 Yılı IX. Oturumu
Sayı : 64583101/2016/169
Proje Başlığı : Süt sığırında bazı metabolik hastalıkların sürü bazında teşhisine yönelik biyolojik testlerin değerlendirilmesi
Proje Yürütücüsü : Kerem URAL
Proje Ekibi : Songül TOPLU

Bu çalışmanın hiçbir bölümünde:

İnsan embriyosu ve fötüsü kullanılması
İnsan embriyosu ve fötüsü dokularının kullanılması
Diğer insan doku ve hücrelerinin kullanılması

Hayvan Çalışması İnsanlarda araştırma
İnsan olmayan primatların kullanılması
Transgenik hayvanların kullanılması
Hayvanlarda genetik modifikasyon öngörülmemiştir.

Bu çalışmanın yapılmasında etik açıdan bir sakınca bulunmamaktadır.

Prof. Dr. M. Dinçer BİLGİN
Başkan

Prof. Dr. Tolhan DOST
Başkan Yardımcısı

Prof. Dr. Işıl SÖNMEZ
Üye

Prof. Dr. Deniz COBAN
Üye

Prof. Dr. Yücel KOCA
Üye

Yrd. Doç. Dr. Evrim DERELİ FİDAN
Üye

Vet. Hek. Serdar AKTAŞ
Üye

(Toplantıya Katılmadı)
Vet. Hek. Atilla M. UÇMAKLIOĞLU
Üye

Yurdagül ALTINBAŞ
Üye

Bu rapor, sadece Adnan Menderes Üniversitesi'nde yapılacak çalışmalar için geçerlidir.

8. ÖZGEÇMİŞ



Adı ve Soyadı : Songül ERDOĞAN
T.C. Kimlik No : 19804941624
Doğum yeri ve yılı : Ankara-Yenimahalle/27.07.1987
Adres : Efeler Mh, Girne Blv, Yunus Emre Sitesi, A2 Blok, Kat:2, daire: 5, AYDIN
Telefon numarası : 05543774918
Email adresi : songultp.09@hotmail.com
Yabancı dil : İngilizce
Bölüm : Veteriner/İç Hastalıkları (Tezli Doktora)
Doktora yaptığı üniversite : Adnan Menderes Üniversitesi
Doktora dönemi : VII. dönem
Ales Notu : 75,73254
Yabancı Di Notu : 85,00
Transkript Notu :

Eğitim Bilgileri

1993 – 2001	Hamdi Bulgurlu İ.Ö.O		İlkokul
2001 – 2005	Ankara Gazi Lisesi		Lise
2007 – 2012	Adnan Menderes Üniversitesi	Veteriner Fakültesi	Lisans
2011-2012	Gießen Justus-Liebig-Universität	Klinik für Geburtshilfe/ Gynäkologie und Andrologie der Groß- und Kleintiere mit Tierärztlicher Ambulanz	Staj (erasmus, 3 ay 10 gün)
2013-2018**	Dicle Üniversitesi	Veteriner Fakültesi/ İç Hastalıkları	*Doktora (ÖYP)
2014-2018	Adnan Menderes Üniversitesi	Sağlık Bilimleri Enstitüsü/ Veteriner Fakültesi/İç Hastalıkları	

2018	Adnan Menderes Üniversitesi	Veteriner Fakültesi/ İç Hastalıkları	**Araştırma Görevlisi
2018	Universidad de la Republica	la Facultad de Veterinaria El Departamento de Fisiologia	Mef0392017 proje kapsamında (3 ay)
*Yüksek Öğretim Kurumu' nun 2547 sayılı Kanunu' nun 35. Maddesine istinaden görevlendirme			
**İstifa-Adnan Menderes Üniversitesi İç Hastalıkları A.B.D. Araştırma görevlisi kadrosu			

Doktora Eğitim Durumu

I.seminer	:	Sığırlarda Sürü Bazında Belirli Metabolik Hastalıkların Tanısına Yönelik Kullanılan Biyolojik Testler
II.seminer	:	Ruminantlarda Önmide ve Abomazumun Veteriner İç Hastalıkları Yönünden Ultrasonografik Muayenesi
Tez konusu	:	Süt Sığırlarında Bazı Metabolik Hastalıkların Sürü Bazında Teşhisine Yönelik Biyolojik Testlerin Değerlendirilmesi
Danışman	:	Prof. Dr. Kerem URAL

Bilimsel Faaliyetler

1)Yayınlar ve Bidiriler

A. Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

A1. Ayan Adnan, Ural Kerem, Aysul Nuran, Gültekin Mehmet, Erdoğan Hasan, Balıkçı Canberk, **Toplu Songül**, Toros Göktuğ (2016). *Giardia Duodenalis* ile Infekte Buzagalarda Dogal Kist Saçılımı. Journal of Advances on VetBio Sciences and Tecniques, 1(1), 14-19. (Yayın No: 3655742)

A2. Karademir Ümit, Ural Kerem, Aysul Nuran, Ayan Adnan, **Toplu Songül**, Örtlek Onur, Balıkçı Canberk, Künyeli Ahmet, Erdoğan Hasan (2016). The efficacy of chloroquine treatment against naturally occuring *Giardia duodenalis* infection in lambs. Revista MVZ Córdoba, 21(2), 5328-5335. (Yayın No: 3426418)

A3. Ural Kerem, **Toplu Songül**, Doğan Sezen (2017). Radyografide Her Buzlu Cam Manzarası Asites midir?. Journal of Advances in VetBio Science and Tecniques, 2(1), 26-28. (Editöre Mektup) (Yayın No: 3619770)

A4. Gültekin Mehmet, Ural Kerem, Aysul Nuran, Ayan Adnan, Balıkçı Canberk, **Toplu Songül**, Akyıldız Gürkan (2017). Prevalence and Molecular Characterization of *Giardia duodenalis* in Calves in Turkey. *Acta Scientiae Veterinariae*, 45(1), 1450-1450. (Yayın No: 3633075)

B. Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında (proceedings) basılan bildiriler

B1. Erdoğan Hasan, Paşa Serdar, Ural Kerem, Parlatur Yasin, **Toplu Songül** (2016). Yeni Doğan Develerde (*Camelus Dromedarius*) Pasif Transfer Yetmezliği. I.Uluslararası Devecilik Kültürü ve Deve Güreşleri Sempozyumu (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No:3426429)

B2. Gazyağcı Serkal, Gazyağcı Aycan Nuriye, Alıç Ural Deniz, Ural Kerem, Erdoğan Hasan, **Toplu Songül** (2017). The role of point of care rapid diagnostic test kits for prediagnosis of cryptosporidiosis in neonatal calves. XVII. Middle European Buiatrics Congress, 84-84. (Özet Bildiri/Poster) (Yayın No:3654079)

B3. **Toplu Songül**, Erdoğan Hasan, Alıç Ural Deniz, Ural Kerem (2017). Correlation between lactate and NEFA concentrations in transtion cows. XVII. Middle European Buiatrics Congress, 81-81. (Özet Bildiri/Poster) (Yayın No:3654077)

B4. Gazyağcı Serkal, Gazyağcı Aycan Nuriye, Alıç Ural Deniz, Ural Kerem, Erdoğan Hasan, **Toplu Songül** (2017). Spatial distribution of naturally occurring *Giardia duodenalis* infections in Kirikkale region, Turkey. XVII. Middle European Buiatrics Congress, 85-85. (Özet Bildiri/Poster) (Yayın No:3654080)

B5. Ural Kerem, Alıç Ural Deniz, **Toplu Songül**, Erdoğan Hasan (2017). Magnesium deficiency in calves: the good, the bad and ugly sides of its metabolism. XVII. Middle European Buiatrics Congress, 19-19. (Özet Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No:3654075)

B6. **Toplu Songül**, Erdoğan Hasan, Alıç Ural Deniz, Ural Kerem (2017). Hyper or hypofibrinogenemia in calves with cryptosporidiosis and giardiasis. XVII. Middle European Buiatrics Congress, 82-82. (Özet Bildiri/Poster) (Yayın No:3654078)

B7. Ural Kerem, Alıç Ural Deniz, Gültekin Mehmet, **Toplu Songül**, Erdoğan Hasan (2017). Combatting against naturally occurring *Giardia duodenalis* assemblage A infections in goat

kids. XVII. Middle European Buiatrics Congress, 21 (Özet Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No:3654076)

B8. Toplu Songül, Karaoğlan Gamze, Ulutaş Bülent (2017). Clinical effect of desmopressin in a dog with diabetes mellitus related to pituitary adenoma. I.Internal Medicine Congress, 287-287. (Özet Bildiri/Poster) (Yayın No:3654081)

B9. Çamkerten İlker, Ural Kerem, Paşa Serdar, Alıç Ural Deniz, Haydardedeoğlu Ali Evren, Erdoğan Hasan, **Erdoğan Songül** (2017). Low Grade Systemic Coagulation in *E.coli* Induced Neonatal Diarrhea Among Calves II International Congress on Advances in Veterinary Sciences Technics,120 (Özet Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No:3655634)

B10. Paşa Serdar, Ural Kerem, Kılıç Nuh, Erdoğan Hasan, Gültekin Mehmet, **Erdoğan Songül**, Parlatır Yasin (2017). Microalbuminuria due to different diseases among dogs. II International Congress on Advances in Veterinary Sciences Technics,164 (Özet Bildiri/Poster) (Yayın No:3655707)

B11. Erdoğan Hasan, Paşa Serdar, Ural Kerem, Gültekin Mehmet, Parlatır Yasin, **Erdoğan Songül**, Canberk Balıkçı (2017). D-Dimer / Fibrinogen Ratio in Dogs with Ehrlichiosis. II International Congress on Advances in Veterinary Sciences Technics,161 (Özet Bildiri/Poster) (Yayın No:3655703)

B12. Aysul Nuran, Ural Kerem, Gültekin Mehmet, Ayan Adnan, Hacılarlıoğlu Selin, **Erdoğan Songül**, Pekağırbaş Metin, Akyıldız Gürkan (2017). β -giardin analysis and molecular typing of *Giardia duodenalis* isolates among dogs and calves in Aegean Region of Turkey: Preliminary Results. II International Congress on Advances in Veterinary Sciences Technics,113 (Özet Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No:3655698)

B13. Ayan Adnan, Ural Kerem, Alıç Ural Deniz, Erdoğan Hasan, **Erdoğan Songül**, Gültekin Mehmet (2017). Spatial distrubition of coccidiosis among goats in Aydın province, Turkey. II International Congress on Advances in Veterinary Sciences Technics,187 (Özet Bildiri/Poster) (Yayın No:3655709)

B14. Ural Kerem, Türk Çağatay, Paşa Serdar, Çamkerten İlker, Haydardedeoğlu Ali Evren, Erdoğan Hasan, Gültekin Mehmet, **Erdoğan Songül** (2017). *Dermatophagoides Farina* or *Dermatophagoides Pteronyssinus*-Specific Ig E Levels in Atopic Dogs. II International

Congress on Advances in Veterinary Sciences Technics,204 (Özet Bildiri/Poster) (Yayın No:3655712)

B15. Aysul Nuran, Ural Kerem, Hacılarlıoğlu Selin, Pekağırbaş Metin, Ayan Adnan, **Erdoğan Songül**, Parlatur Yasin (2017). Molecular Typing of Acute and Active Ehrlichia Canis Infected Dogs in Aydın Region. II International Congress on Advances in Veterinary Sciences Technics, 117 (Özet Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No:3655623)

B16. Ural Kerem, Paşa Serdar, Erdoğan Hasan, Gültekin Mehmet, **Erdoğan Songül** (2017). Melatonin for Treatment of the Good, the Bad and the Ugly Dermatological Disorders in Dogs and Cats: Pratical Clues. II International Congress on Advances in Veterinary Sciences Technics, 124 (Özet Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No:3655642)

B17. Paşa Serdar, Ural Kerem, Gültekin Mehmet, Erdoğan Hasan, Balıkçı Canberk, Ertabaklar Hatice, **Erdoğan Songül**, Parlatur Yasin (2017). A Clinical Perspective to Visceral Leishmaniasis in Dogs in Aegean Region in Turkey. II International Congress on Advances in Veterinary Sciences Technics, 52 (Özet Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No:3654717)

B18. Ayan Adnan, Ural Kerem, Aysul Nuran, Erdoğan Hasan, Alıç Ural Deniz, Gültekin Mehmet, **Erdoğan Songül**, Küçük Ece (2017). Prevalence and diagnosis of *Giardia duodenalis* in goats in Aydın province of Turkey. II International Congress on Advances in Veterinary Sciences Technics, 119 (Özet Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No:3655632)

B19. Erdoğan Hasan, Ural Kerem, Alıç Ural Deniz, Paşa Serdar, Çamkerten İlker, Gültekin Mehmet, **Erdoğan Songül**, Canberk Balıkçı (2017). Low vitamin D levels in association with neonatal diarrhea in calves. II International Congress on Advances in Veterinary Sciences Technics, 118 (Özet Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No:3655627)

B20. Ural Kerem, Çamkerten İlker, Paşa Serdar, Alıç Ural Deniz, Gültekin Mehmet, Haydardedeoğlu Ali Evren, Erdoğan Hasan, Canberk Balıkçı, **Erdoğan Songül**, Budak Gözde (2017). P wave dispersion in canine monocytic ehrlichiosis. II International Congress on Advances in Veterinary Sciences Technics, 106 (Özet Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No:3655607)

B21. Ayan Adnan, Gültekin Mehmet, Ural Kerem, Aysul Nuran, **Erdoğan Songül**, Tutun Hidayet (2017). Molecular diagnosis of *Giardia duodenalis* in dogs and calves in izmir

provİnce: preliminary study. II International Congress on Advances in Veterinary Sciences Technİcs, 59 (Özet Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No:3654740)

B22. Erdoğan Songül, Erdoğan Hasan, Ural Kerem, Günal İsmail, Tahir Özalp (2017). Hemolacria and more: spectacular case of bleeding in a calf. II International Congress on Advances in Veterinary Sciences Technİcs,125 (Özet Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No:3655685)

B23. Erdoğan Songül, Ural Kerem, Çamkerten İlker, Çamkerten Güzin, Erdoğan Hasan, Alıç Ural Deniz, Haydardedeoğlu Ali Evren (2017). Postpartum 25-OH-D3 and NEFA correlations among cattle and offspring. II International Congress on Advances in Veterinary Sciences Technİcs,122 (Özet Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No:3655637)

C. Ulusal hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

C1. Toplu Songül, Ural Kerem, Aysul Nuran, Ayan Adnan, Gültekin Mehmet, Balıkçı Canberk (2016). *Giardia spp.* İle Doğal İnfekte Buzağıllarda Hipomagnezemi. Kocatepe Veterinary Journal, 9(4), 386-390, Doi: 10.5578/kvj.37335 (Ulusal) (Hakemli) (Vaka Takdimi) (Yayın No: 3426422)

C2. Alıç Ural Deniz, Erdoğan Hasan, **Toplu Songül**, Ayan Adnan (2017). Oğlaklarda Giardiazis Kontrolüne Yönelik Oral Klinoptilolit Uygulaması. Kocatepe Veterinary Journal, 10(3), 158-163, Doi: 10.5578/kvj.57512 (Kontrol No: 3619758)

C3. Alıç Ural Deniz, **Erdoğan Songül** (2017). Sığırlarda Süt Verimini Arttırmada Probiyotiklerin Kullanımı. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 2(2), 153-162.

C4. Alıç Deniz Ural, **Erdoğan Songül** (2018). Aydın İlinde Yetiştirilen Siyah Alaca İneklerde Karşılaştırmalı Vücut Kondisyon Skoru İle NEFA Düzeyleri Arasındaki İlişkinin Araştırılması. Journal of Advances in VetBio Science and Techniques, 3(1), 23-34.

C5. Ural Kerem, Tunca Recai, Alıç Ural Deniz, Çamkerten İlker, Erdoğan Hasan, Ayan Adnan, Gültekin Mehmet, Haydardedeoğlu Ali Evren, Aysul Nuran, **Erdoğan Songül.** (2018). Interpretation of Serum 25-Hydroxy Vitamin D3 Concentrations in Sheep with Naturally Occuring Sarcoptic Mange. Journal of Advances in VetBio Science and Techniques, 3(1), 35-40.

C6. Erdoğan Songül, Paşa Serdar, Erdoğan Hasan, Alıç Deniz Ural, Haydardedeoğlu Ali Evren, Ural Kerem. (2018). 29(2).

D. Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler

D1. Ural Kerem, Aysul Nuran, Karademir Ümit, Gültekin Mehmet, Balıkçı Canberk, Künyeli Ahmet, **Toplu Songül** (2015). Koyunlarda Sarkoptik Uyuzda Haftalık Topikal Eprinomektin Sağaltımı. 11. Veteriner İç Hastalıkları Kongresi, 188-188. (Özet Bildiri/Poster) (Yayın No:3619813).

D2. Özkaptan İsmail, Hadi Alihosseini, Ural Kerem, **Toplu Songül** (2016). Köpeklerde Sağaltıma Direnç Gösteren Dermatozlar-Çinko Eksikliği Rol Oynar mı?. 11. Küçük Hayvan Veteriner Hekimleri Derneği Sürekli Eğitim Kongresi, 318-319. (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:3654087)

D3. Ayan Adnan, Ural Kerem, Aysul Nuran, Gültekin Mehmet, Erdoğan Hasan, Balıkçı Canberk, **Toplu Songül**, Toros Göktuğ (2016). *G. duodenalis* ile infekte buzağılarda doğal kist saçılımı. 4. Sürü Sağlığı ve Yönetimi Sempozyumu, 280 (Özet Bildiri/Poster) (Yayın No:3654086)

D4. Toplu Songül, Ural Kerem, Aysul Nuran, Ayan Adnan, Gültekin Mehmet, Balıkçı Canberk (2016). *Giardia sp.* ile doğal infekte buzağılarda hipomagnezemi. 4. Sürü Sağlığı ve Yönetimi Sempozyumu, 272-272. (Özet Bildiri/Poster) (Yayın No:3654082)

D5. Alıç Ural Deniz, Erdoğan Hasan, Akın İbrahim, **Toplu Songül**, Karademir Ümit, Ural Kerem (2016). Sağmal ineklerde topallık skoru, süt verimi ve laktasyon süresi arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi. 4. Sürü Sağlığı ve Yönetimi Sempozyumu, 279 (Özet Bildiri/Poster) (Yayın No:3654085)

D6. Akın İbrahim, Erdoğan Hasan, Alıç Ural Deniz, **Toplu Songül**, Karademir Ümit, Ural Kerem (2016). Sağmal ineklerde topallık skoru ile esterleşmemiş yağ asitleri ve beta hidroksibütirik asit konsantrasyonları arasındaki ilişki. 4. Sürü Sağlığı ve Yönetimi Sempozyumu, 274-274. (Özet Bildiri/Poster) (Yayın No:3654084)

E. Diğer Yayınlar

E1. Gültekin Mehmet, Balıkçı Canberk, **Toplu Songül**, Ural Kerem (2016). Kafes Kuşlarında Hipofiz ve Epifiz Bezi Bozuklukları. Türkiye Klinikleri Veteriner Bilimleri İç Hastalıkları, 2(3), 57-60. (Ulusal) (Hakemli) (Derleme Makale) (Yayın No: 3426427)

E2. Ural Kerem, Gültekin Mehmet, Karademir Ümit, **Toplu Songül**, Balıkçı Canberk (2016). Kafes Kuşlarında Mineral ve İz Element Yetersizlikleri. Türkiye Klinikleri Veteriner Bilimleri İç Hastalıkları, 2(3), 10-15. (Ulusal) (Hakemli) (Derleme Makale) (Yayın No: 3426424)

E3. Gültekin Mehmet, Erdoğan Hasan, **Erdoğan Songül**, Ural Kerem (2018). Vektör Aracılıklı Enfeksiyöz Hastalıklar. Türkiye Klinikleri J Vet Sci Intern Med-Special Topics. 4(1), 57-62.

E4. Erdoğan Hasan, Gültekin Mehmet, **Erdoğan Songül**, Ayan Adnan, Ural Kerem. Veteriner İlaçlarının Hayvanlarda İstenmeyen Etkileri. Sekkin S, editör. Veteriner Farmakovijilans. Ankara: Türkiye Klinikleri; 2018. p.40-4.

2) Kongre Katılımı ve Sertifika

2.1. I. Uluslararası Türkiye Veteriner İç Hastalıkları Kongresi, Veteriner İç Hastalıkları, Club Sera Hotel-Antalya, Sertifika, 10.10.2017 -13.10.2017 (Uluslararası)

2.2. II. International Congress on Advances in Veterinary Sciences and Technics, Veteriner Hekimliği kongresi, Üsküp-MAkedonya, Sertifika, 04.10.2017 -08.10.2017 (Uluslararası)

2.3. XVII. Middle European Buatrics Congress, Mini Avrupa Büyük hayvan kongresi, Hotel Patria, Strbske Pleso, Hgh Tatras, Slovakia, Sertifika, 03.05.2017 -06.05.2017 (Uluslararası)

2.4. 4. Sürü Sağlığı Yönetimi Sempozyumu, Veteriner Büyük Hayvan Sürü Sağlığı, Antalya, Sertifika, 25.05.2016 -28.05.2016 (Ulusal)

2.5. 11. Küçük Hayvan Veteriner Hekimleri Derneği Sürekli Eğitim Kongresi, 11. Küçük Hayvan Veteriner Hekimleri Derneği Sürekli Eğitim Kongresi, Grand Cevahir Hotel, Sertifika, 04.05.2016 -05.05.2016 (Uluslararası)

2.6. Veteriner Gastroenteroloji Çalıştayı, Veteriner Gastroenteroloji Derneği ve Afyon Kocatepe Üniversitesi işbirliğince organize edilen Veteriner Gastroenteroloji Çalıştayı, Afyonkocatepe, Sertifika, 17.04.2016 -17.04.2016 (Ulusal)

2.7. 11. Veteriner İç Hastalıkları Kongresi, 11. Veteriner İç Hastalıkları Kongresi, Samsun Anemon Otel, Sertifika, 21.05.2015 -24.05.2015 (Ulusal)

3) Kurslar

3.1. Muğla Veteriner Hekimler Odası ve Klinisyen Veteriner Hekimler Derneği Meslek içi eğitim semineri, hematolojik ve serum biyokimyasal belirteçlerin klinisyen gözüyle yorumlanması, farklı klinik olgularla örneklemeler, Muğla, Gökova, Sertifika, 24.04.2016 - 24.04.2016 (Ulusal)

3.2. Veteriner Gastroenteroloji Çalıştayı, Ruminantlarda Laparoskopi uygulamalı eğitim Workshop, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Sertifika, 17.04.2016 - 17.04.2016 (Ulusal)

3.3. Veteriner Gastroenteroloji Çalıştayı, Köpeklerde abdominal USG adlı eğitim sertifikası Workshop, Afyonkarahisar, Sertifika, 17.04.2016 -17.04.2016 (Ulusal)

3.4. Türk Veteriner Hekimleri Birliği Meslek İçi Eğitim, Karaciğer ve Böbrek Hastalıkları, Ankara-VETA D eğitim danışmanlık binası, Sertifika, 09.04.2016 -09.04.2016 (Ulusal)

3.5. Türk Veteriner Hekimleri Birliği Meslek İçi Eğitim Programı, Kedi ve Köpeklerde Dermatolojik Hastalıklar, Ankara-Veta D eğitim binası, Sertifika, 13.02.2016 -13.02.2016 (Ulusal)

3.6. İş Sağlığı ve Güvenliği Temel Eğitimi, İş sağlığı ve güvenliği, Adnan Menderes Üniversitesi, Sertifika, 25.01.2016 -25.01.2016 (Ulusal)

3.7. ISO 22000:2005 GIDA GÜVENLİĞİ YÖNETİM SİSTEMLERİ (HACCP), Gıda güvenliği ve hijyeni, Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığı' nın öğrenci CV destek organizasyonu kapsamında, Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Sertifika, 24.03.2012 -25.03.2012 (Ulusal)

3.8. Adnan Menderes Üniversitesi, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu, Deney hayvanları kullanım sertifikası, Adnan Menderes Üniversitesi, Kurs, 30.05.2016 -08.06.2016 (Ulusal)

3.9. Konya Üniversitesi, Yabancı Diller Yüksek Okulu, ÖYP İngilizce eğitimi (6 ay süreli)

4. Projeler

- 4.1.** Süt sığırlarında bazı metabolik hastalıkların sürü bazında teşhisine yönelik biyolojik testlerin değerlendirilmesi. ADÜ BAP, Proje No: VTF-17045 (Devam ediyor)
- 4.2.** Koyunlarda doğal yolla oluşan sarkoptik uyuzda serum 25 hidroksi vitamin D3 düzeylerinin belirlenmesi. ADÜ BAP, Proje No: VTF-17040 (Tamamlandı)
- 4.3.** Aydın İlinde Yetiştirilen Siyah Alaca İneklerde Karşılaştırmalı Vücut Kondüsyon Skoru ile NEFA Düzeyleri Arasındaki İlişkinin Araştırılması. ADÜ BAP, Proje No: BOMYO-17001 (Tamamlandı)
- 4.4.** Holştayn Neonatal Buzağılarda Probiyotik Katkısının Serum Leptin Düzeyi ve Canlı Ağırlık Artışı Üzerine Etkisi. ADÜ BAP (2018 yeni proje)
- 4.5.** El Departamento de Fisiologia de la Facultad de Veterinaria, Universidad de la Republica, Proje Tabanlı Mevlana Değişim Programı kapsamında 3 ay süreyle. Proje kodu: Mef0392017.