

DOĞUM FELÇLİ İNEKLERDE SERUM KALSİYUM, RETİNOL VE BETA KAROTİN DÜZEYLERİ

Serum Calcium, Retinol and Beta Carotene Levels of Cows with the Clinical Signs of Parturient Paresis

Banu ÜNSAL*

Berrin SALMANOĞLU*

ÖZET

Bu çalışmanın amacı, doğum sonrası hipokalsemi ile seyreden doğum felci teşhisi konmuş süt ineklerinde sağtımdan önce kan alınarak, kan serumundaki kalsiyum, retinol ve β -karotin düzeylerinin araştırılmasıdır. Çalışmada, halk elinde bulunan 30 Holstein ırkı süt ineğinden, doğumdan sonra ilk 3 gün içinde hipokalsemi görülen 15 adedi felçli grubu, geri kalan ise sağlıklı grubu oluşturmuştur. Elde edilen serumlardan spektrofotometrik metotla retinol, β -karotin ve Eppendorf Mikroliter sistemle kalsiyum analizi yapılmıştır. Doğum felçli grupta retinol düzeyi $14.94 \pm 4.89 \mu\text{g/dl}$, kontrol grubunda $22.58 \pm 5.56 \mu\text{g/dl}$ bulunmuştur. Aradaki fark istatistik olarak $P < 0.01$ derecesinde önemlidir. Serum β -karotin düzeyi felçli grupta $34.02 \pm 9.81 \mu\text{g/dl}$ ve kontrol grubunda $66.44 \pm 10.92 \mu\text{g/dl}$ olarak belirlenmiş ve $P < 0.01$ derecesinde önemlidir. Serum kalsiyum düzeyi ise felçli grupta $6.95 \pm 0.72 \mu\text{g/dl}$ ve kontrol grupta $8.93 \pm 0.55 \mu\text{g/dl}$ 'dir ve $P < 0.05$ derecesinde önemlidir. Elde edilen sonuçlar, hipokalsemi olaylarında serum kalsiyum düzeyinin yanısıra retinol ve β -karotin düzeylerinde de önemli oranda düşüşler olduğunu göstermiştir.

Anahtar Sözcükler: β -Karotin, Doğum felci, Hipokalsemi, Kalsiyum, Retinol, Süt ineği.

SUMMARY

The aim of this study was to investigate the relation among the serum calcium, retinol and β -carotene levels of dairy cows with parturient paresis before the treatment. In this study 30 Holstein dairy cows were used in the first 3 days after calving. The paretic group was consisted of 15 dairy cows with parturient hypocalcemia, whereas the control group was consisted of 15 healthy dairy cows.

The retinol and β -carotene were analysed in 1-2 days using spectrophotometric method. Subsequently the calcium levels were determined using Eppendorf Mikroliter system. Serum retinol levels of the paretic and the control group were $14.94 \pm 4.59 \mu\text{g/dl}$ and $22.58 \pm 5.56 \mu\text{g/dl}$. The difference was found to be statistically significant ($P < 0.01$). Serum β -carotene levels of the paretic and control groups were $34.02 \pm 9.81 \mu\text{g/dl}$ and $66.44 \pm 10.92 \mu\text{g/dl}$ respectively and the difference was at $P < 0.01$ level of significance. Serum calcium levels of the paretic and the control groups were $6.95 \pm 0.72 \mu\text{g/dl}$ and $8.93 \pm 0.55 \mu\text{g/dl}$. The difference was found statistically significant ($P < 0.05$). The results showed that the serum retinol and β -carotene levels were significantly lower as well as the serum calcium levels in cows with parturient hypocalcemia.

Key Words: β -carotene, Parturient paresis, Hypocalcemia, Calcium, Retinol, Dairy cow.

GİRİŞ

İneklerde doğum felci, genellikle doğum ve yeni başlayan laktasyonla birlikte ortaya çıkan ve hipokalsemi ile seyreden bir olgudur. Çoğunlukla kalsiyum metabolizmasındaki akut bir bozukluk sonucu doğumdan önceki birkaç günde, doğum sırasında veya daha sık olarak doğumu izleyen 1-3 gün içinde şekillenen ve sağıtılmadığı taktirde ölümle sonuçlanabilen bir hastalıktır (1,2). İneklerde, normalde kanın 100 ml'sinde 9-11 mg olan kalsiyum düzeyi 7 mg

dan aşağı düzeye düştüğünde hastalığın klinik semptomları görülmeye başlar. Kalsiyum düzeyi düştükçe hastalık belirtileri daha belirginleşir (3). Felcin görülmesi 5-6 mg'ın altına düşüncü ortaya çıkar. Bunun sebebi motorik uyarımların, nöromuskular iletimin azalmasından kaynaklanır (4). Kandaki biyokimyasal parametrelerin değişimi, hastalığın ciddiyeti hakkında bilgi vermesi bakımından çok önemlidir (5,6). Laktasyonun ilk gününde

çok büyük boyutlara ulaşan kalsiyum kaybını karşılamak ve kalsiyum homeostazını sağlayan hormonlar ancak 24-72 saat süresinde yeniden dengeyi sağlarlar. Bu süre, hipokalseminin oluşumu için yeterlidir (7). Vitamin A (retinol), in vivo olarak kemik rezorbsiyonunu uyardığı gösterilen ilk etkindir (8). Retinoik asit, kemik hücreleri için farklılaştırıcı bir etkiye sahip olması bakımından önem taşımaktadır. Fakat osteoklastik aktivitenin uyarılmasında 1.25 (OH)₂ D₃ kadar etkili değildir (9). Retinoik asit ayrıca osteoblastlarda bulunan bir protein olan osteokalsin üretimini uyarıcı bir etkiye sahiptir. Hem retinol, hem de retinoik asit osteoklastik aktivitenin uyarılmasında direkt olarak etkili olmaktadır (10). Stabel ve Goff (11) yaptıkları bir çalışmada, doğumdan 2 hafta önce ve doğumdan 2 hafta sonraki dönemde kalsiyumla plazma retinol düzeyi arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Çalışmada, doğumdan 1 gün sonra, plazma retinol düzeyinin yaklaşık olarak % 38 oranında düştüğü görülmüş ve bu hayvanların bir kısmında hipokalsemi tanısı konmuştur. Plazma retinol düzeyindeki düşüş, doğum sırasındaki kolostrum üretiminden kaynaklanmaktadır (11). Kolostrum yaklaşık olarak 4300 ng retinol/ml içermekte ve 10 kg kolostrumla 43 mg retinol atılmaktadır. Laktasyonun 3. gününde plazma retinol düzeyinin normale döndüğü veya daha fazla düşmediği görülmüştür. Bunun sebebi, meme bezlerinden süt salgılanmaya başlaması ve sütün bileşimi üzerinde diyetin 1/3 oranında etkili olduğu şeklinde açıklanmıştır (12). Plazma retinol düzeyinin yüksek oranda düşmesi bazı ciddi sağlık problemlerine ve immün fonksiyonun kaybolmasına sebep olmaktadır (13).

Bir mol β-karotin, 2 mol vitamin A'ya dönüştürebilmektedir. β-karotinin tam ortasındaki çift bağ, dioksijenaz (+O₂) etkisiyle oksidasyona uğrayarak 2 aldehit (retinal) oluşturmaktadır. Bu aldehitler de, retinaldehit redüktaz yardımıyla NADH'a bağlı bir redüksiyonla primer alkol haline geçerler ve vitamin A meydana gelir. Bu olay hayvanlarda bağırsak hücrelerinde gerçekleşir (14).

Kuru dönemde günde 100g'dan fazla kalsiyum alan ineklerde hipokalsemi vakaları artmaktadır. 500 kg ağırlığındaki bir inek ve gebeliğin son zamanlarında fetus için gerekli olan günlük kalsiyum miktarı yaklaşık 30 g'dır.

Doğum öncesi dönemde bir inek fazla kalsiyumla beslendiği zaman (>100 gCa/gün), günlük kalsiyum ihtiyacı pasif emilimle karşılanmaktadır. PTH etkisiyle kemik dokudan serbest bırakılan kalsiyum miktarı da düşer (15). Bunun sonucunda doğum sırasında kemiklerdeki kalsiyum depolarından ve bağırsakların kalsiyum mekanizmasından yeteri kadar yararlanılamaz. Bu mekanizmaların tekrar faaliyete geçmesi birkaç gün alır ve bu süre zarfında şiddetli hipokalsemi olaylarına rastlanabilir. Gebeliğin son dönemlerinde diyetteki kalsiyum miktarının düşük olması (<20 gCa/gün) ve bunu takiben laktasyon döneminde ise yüksek olması, doğum sonrası görülen hipokalsemi olaylarını azaltmaktadır (16). inekler ihtiyaç duyduklarından daha az miktarda kalsiyumla besleniyorlarsa negatif bir kalsiyum dengesi görülür. PTH ve 1.25 (OH)₂ D₃ üretimi ve bundan dolayı da kalsiyum homeostatik mekanizması doğumdan önce uyarılmış olur. Doğum sonrası laktasyon diyetinden yeterli miktarda kalsiyum alınarak kemiklerde depolanır. Doğum öncesi düşük miktarda kalsiyumla beslenen ineklerde, böbreklerin daha çok 1.25 (OH)₂ D₃ üretmesiyle hipokalsemi olaylarının önlenmediği, fakat 1.25 (OH)₂ D₃ reseptör konsantrasyonunun değişmediği görülmüştür (1).

Yine doğum öncesi diyetteki fosfor miktarının yüksek olması (>80 g P/gün) hipokalsemi vakalarında bir artış görülmesine neden olmaktadır. Diyetle alınan fosfor miktarı fazla olunca, kandaki fosfor düzeyi de yükselerek böbreklerde 1.25 (OH)₂ D₃ üretimini katalize eden enzimleri baskılar. 1.25 (OH)₂ D₃ üretiminin azalması ile bağırsaklardan kalsiyum emilimi azalmaktadır (1). Doğumdan önce düşük miktarda fosfor içeren bir diyetle beslenen ineklerde, doğum sonrası plazma kalsiyum düzeyinin yükseldiği ve hipokalsemi riskinin azaldığı görülmektedir (17).

Doğum öncesi diyetteki anyon-kasyon dengesinin hipokalsemi vakalarında etkili olduğu görülmüştür (18). Diyetle bulunan kasyon [özellikle sodyum (Na) ve potasyum (K)] miktarı arttıkça hipokalsemi vakalarının arttığı, anyon [özellikle klor (Cl) ve kükürt (S)] miktarı arttıkça ise bu vakaların önlenmediği görülmüştür. Doğum öncesi kasyon (özellikle K) bakımından zengin olan samanla beslenen

hayvanlarda, metabolik alkaloz görülür. Na ve K gibi katyonlar proton (H) kaybına, dolayısıyla pH'nın yükselmesine sebep olur.

MATERYAL ve METOT

Aralık-Nisan döneminde yürütülen bu çalışmada doğum gelçli grubu oluşturan 15 baş Holstein ırkı süt ineği, Ankara Üniversitesi Vete-riner Fakültesi Kliniklerine getirilen, doğum sonrası hipokalsemi ile seyreden doğum felci tanısı konmuş hayvanlardır. Kontrol grubunda bulunan 15 baş Holstein ırkı inek normal doğum yapmış sağlıklı hayvanlardan oluşmaktadır.

Her iki grubu oluşturan 4-8 yaş arasında olan 30 hayvanın ortak yanı halkın uyguladığı rasyonla beslenmeleridir. Rasyonda dolgu maddesi olarak saman kullanılmaktadır. Kullanılan konsantre yem (C.P. yem fabrikasından alınan süt ineklerinde kullanılan yem) oranı kısıtlı ve mineral denge açısından herhangi bir ilave söz konusu değildir. V. jugularisten kan alınmıştır ve kalsiyum kaybının önlenmesi amacıyla ilk 4 saat içinde serum ayrılmıştır.

Serum örneklerinde retinol ve β -karotin analizlerinde Shimadzu UV-1202 spektrometre kullanılmıştır. Aynı örneklerin kalsiyum analizinde ise Jürgens Eppendorf fotometre 1101 M kullanılmıştır. Serum örneklerinde retinol ve β -karotin analizleri, sırası ile 453 ve 325 nm'de maksimum ışık absorpsiyonu esasına dayanan spektrofotometrik metotla gerçekleştirilmiştir (19).

Serum örneklerinde kalsiyum analizi ise, Eppendorf Mikroliter sistemle gerçekleştirilmiştir (20). Kalsiyum iyonları alkali ve metanol ihtiva eden çözeltide Glyoxal bis (2-hidroksianil) ile 520 nm'de azami absorpsiyon gösteren kırmızı renkli bir kompleks oluşturur. Bu şartlar altında reaksiyon kalsiyum için spesifiktir.

Sonuçların istatistik yönden değerlendirilmesi

Doğumdan sonra hipokalsemi görülen ineklerin oluşturduğu doğum felçli grup ile sağlıklı ineklerin oluşturduğu kontrol grubunda ölçülen kalsiyum, retinol ve β -karotin değerleri arasında istatistik önemi belirlemek amacı ile varyans analizi uygulanmıştır. Ayrıca doğum

felçli ve kontrol gruplarının kendi içlerinde kalsiyum, retinol ve β -karotin değerlerinin ilişkilerini belirlemek için korelasyon (r) analizi yapılmıştır (21).

BULGULAR

Halk elinde bulunan ve hipokalsemi teşhisi konulan doğum felçli grup ile sağlıklı süt ineklerinden oluşan kontrol grubunun kan örneklerinde belirlenen kalsiyum, retinol ve β -karotin ortalama değerleri, standart sapmaları ve varyans analizi sonuçları olarak F değerleri Çizelge 1'de gösterilmiştir.

Kalsiyum ortalama değerlerinin doğum felçli grupta 6.95 ± 0.72 mg, kontrol grubunda ise 8.93 ± 0.55 mg olduğu görülmektedir. İki değer varyans analizi ile karşılaştırıldığında F değeri 10.75 olarak $P < 0.05$ düzeyinde önemli bulunmuştur.

Retinol ortalama değerleri doğum felçli grupta 14.94 ± 4.89 $\mu\text{g/dl}$ ve kontrol grubunda 22.58 ± 5.56 $\mu\text{g/dl}$ olarak belirlenmiştir. Varyans analizinde ise F değeri 15.97 olarak bulunmuş ve istatistik önemi $P < 0.01$ olarak ifade edilmektedir.

β -karotin ortalama değerleri doğum felçli grupta 34.02 ± 9.81 $\mu\text{g/dl}$ ve kontrol grubunda 66.44 ± 10.92 $\mu\text{g/dl}$ olarak belirlenmiştir. Varyans analizinde ise F değeri 73.77 olarak bulunmuş ve istatistik önemi $P < 0.01$ olarak ifade edilmektedir.

Bu açıklamalar sonucunda anlaşılacağı üzere, doğum felçli grubun retinol ve β -karotin değerlerinde görülen düşüş istatistik olarak önemli bulunmuştur.

Doğum sonrası metabolik bir bozukluk olan hipokalseminin en belirleyici biyokimyasal parametresi olan kalsiyum değerinin doğum felçli grupta kontrol grubuna göre önemli derecede ($P < 0.05$) azalmış olması ve bunun yanında retinol ve β -karotin değerlerinde de önemli bir azalma belirlenmesi ($P < 0.01$) dikkat çekici bir tespittir.

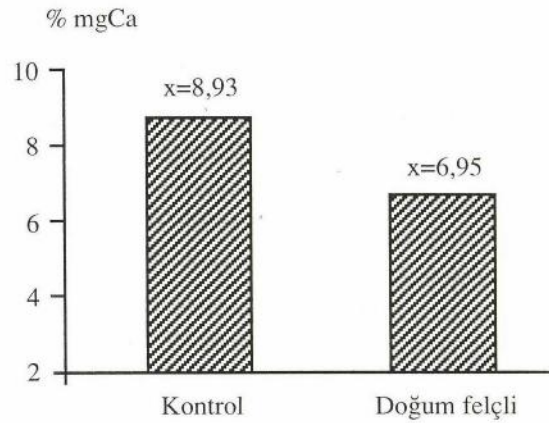
Uygulanan diğer bir istatistik analiz korelasyon analizidir. Buradaki amaç aynı grup içinde ölçülen farklı parametrelerin (kalsiyum,

retinol, β -karotin) ilişkisini incelemektir. Çizelge 2'de görüldüğü gibi doğum felçli grupta serum kalsiyum, retinol ve β -karotin düzeylerinin birbirleriyle olan ilişkileri incelenmiştir. β -karotin ve retinol arasında belirlenen pozitif ilişki $r=0.984$ olarak hesaplanmıştır. Aynı şekilde pozitif bir ilişki olduğu kalsiyum ve retinol arasında $r=0.821$, kalsiyum ve β -karotin arasında $r=0.795$ olarak belirlenmiştir. Karşılaştırılan ikişer parametreler arasındaki ilişki istatistik olarak $P<0.01$ düzeyinde önemlidir.

Çizelge 3'de görüldüğü üzere kontrol grubuna ait kalsiyum, retinol ve β -karotin değerlerinin birbiriyle olan karşılaştırılması sonucu r değerleri istatistik açıdan önemli bulunmamıştır.

Şekil 1,2, 3'te kontrol ve doğum felçli grupların sırası ile kalsiyum, retinol ve β -karotin ortalama değerlerinin grafiksel karşılaştırmaları görülmektedir.

Şekil 1. Kontrol ve doğum felçli grupların serum kalsiyum ortalama değerlerinin grafiksel karşılaştırması
Comparison of serum calcium levels in control and paretic group



Çizelge 1. Doğum felçli ve kontrol grubunda bulunan ineklerin serum kalsiyum, retinol ve β -karotin değerleri
Serum calcium, retinol and β -carotene levels of paretic and control groups

	Kalsiyum (% mg)			F	Retinol (mg/dl)			F	B-Karotin (μ /mg)			F
	n	\bar{x}	S.D.		n	\bar{x}	S.D.		n	\bar{x}	S.D.	
Doğum felçli Grup	15	6,95	0.72	10.75*	15	14,94	4.89	15.97**	15	34,02	9.81	73.17**
Kontrol Grubu	15	8,93	0.55		15	22.58	5.56		15	66.44	10.92	

* : $P<0.05$ ** : $P<0.01$

Çizelge 2. Doğum felçli grupta serum kalsiyum, retinol ve β -karotin düzeylerinin birbiriyle olan ilişkileri (r değerleri)
Correlation of serum calcium, retinol and β -carotene levels of paretic group.

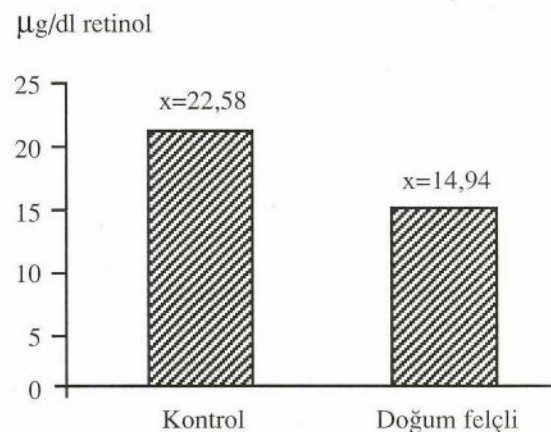
Parametreler	Retinol	β -Karotin
β -Karotin	0.984**	
Kalsiyum	0.821**	0.795**

** : $P<0.01$

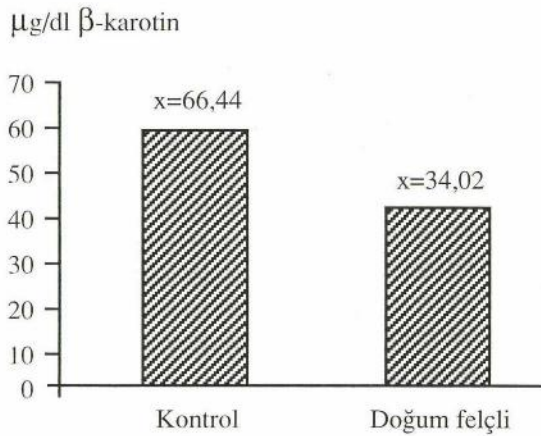
Çizelge 3. Kontrol grubunda serum kalsiyum, retinol ve β -karotin düzeylerinin birbiriyle olan ilişkileri (r değerleri)
Correlation of serum calcium, retinol and β -carotene levels of control group.

Parametreler	Retinol	β -Karotin
β -Karotin	0.437	
Kalsiyum	0.405	0.519

Şekil 2. Kontrol ve doğum felçli grupların serum retinol ortalama değerlerinin grafiksel karşılaştırması
Comparison of serum retinol levels in paretic and control group



Şekil 3. Kontrol ve doğum felçli grupların serum β -karotin ortalama değerlerinin grafiksel karşılaştırması
Comparison of serum β -carotene levels in control and parietic groups



TARTIŞMA

Doğum felci hipokalsemi ile seyreden ve büyük ekonomik kayıplara sebep olan bir hastalıktır. Kan kalsiyum düzeyinin 7 mg/dl'nin altına düşmesiyle farklı derecelerde felç ortaya çıkmaktadır. Hastalık teşhisi konulmuş 15 baş Holstein ırkı inekte hipokalsemi sağıtımından önce alınan kanda kalsiyum ortalama düzeyi 6.95 ± 0.72 mg/dl, kontrol grubunda ise 8.93 ± 0.55 mg/dl olarak ölçülmüştür. Her iki değer varyans analiziyle karşılaştırıldığında $F=10.75$ bulunmuş ve $P<0.05$ düzeyinde istatistik olarak önemli bulunmuştur. Bu değer, sığırdaki normal kabul edilen 9.7 ± 1.24 mg/dl (21) değerinin alt sınırında olduğu görülmektedir. Ankara çevresinde, hipokalsemiyle seyreden doğum felci olgularında en düşük düzey 4.17 ± 0.38 mg/dl olarak belirlenmiştir (22).

Bu çalışmada, kontrol grubunun kalsiyum düzeyinde tespit edilen düşük ortalama değer iki şekilde açıklanabilir:

1- Aralık-Nisan döneminde halk elinde bulunan hayvanların güneşe çıkarılmayıp ahırda tutulmaları sonucunda vitamin D sentezinde yetersizlik söz konusudur. Yetersiz vitamin D sentezi ise kalsiyumun kemik dokudan kana geçmesinde ve bağırsaklardan kalsiyum emilmesinde azalmaya yol açar (23).

2- Doğumdan sonra laktasyonun başlamasıyla birlikte süt ile atılan kalsiyum miktarı serum kalsiyum düzeyinin yaklaşık 6 kat fazlasıdır. Tamamen fizyolojik olan bu durum 24-72 saat içinde kalsiyum homeostazını sağlayan hormonlar tarafından sona erdirilir (24).

Doğum sonrası hipokalsemi olayının ortaya çıkışında etkili olduğunu düşündüren diğer bir faktör rasyonun etkisidir (26). Halk elinde bulunan hayvanların tükettiği rasyonlarda dolgu maddesi olarak saman, az miktarda konsantre yem (C.P. yem fabrikası süt ineği yemi) ve buğday kepeği kullanılmıştır. Rasyonda yüksek oranda bulunan samanın katyon bakımından (özellikle K) zengin olması, hayvanlarda metabolik alkaloz oluşumunu destekleyici bir faktör olarak düşünülebilir. Gaynor ve ark (25), yaptıkları çalışmada katyondan zengin diyetle beslenen ineklerde hipokalsemi olaylarının daha şiddetli geçtiğini bildirmişlerdir.

Bu nedenle, rasyonda doğumdan en az 2 hafta öncesinde kalsiyum düzeyinin düşük olmasının yanısıra, katyondan fakir dolayısıyla asit karakterli olması, doğum sonrası bozulan kalsiyum dengesini olumlu yönde etkiler. Dolgu maddesi olarak yüksek oranda tüketilen saman, bağırsaklarda yarattığı alkali ortam dolayısıyla kalsiyum emilimini olumsuz olarak etkiler.

Çalışmada doğum sonrası hipokalsemiyle seyreden doğum felcinin en belirgin özelliği olan düşük serum kalsiyum düzeyinin retinol ve β -karotin ile ilişkisi de incelenmiştir (Çizelge 2 ve 3).

β -karotin, karotinaz enzimiyle retinole dönüşmektedir. Retinolün organizmada kalsiyum düzeyiyle olan ilişkisi osteoblastları uyarılmasıyla açıklanabilir. Retinoik asit tarafından uyarılan osteoblastlar osteokalsin sentezini gerçekleştirirler (27). Özellikle doğum sonrası şiddetli hipokalsemi olaylarında osteo-kalsin düzeyinin düşmesi kemik metabolizma-sının zayıflığı olarak yorumlanmaktadır (28).

Kanda belirlenen β -karotin düzeyi, rasyonda bulunan yeşil yem oranı ile doğrudan ilgilidir. Kriter olarak çok belirgin bir parametre niteliği taşımaya bile doğum felçli grupta 34.02 ± 9.81 mg/dl ve kontrol grubunda 66.44 ± 10.92 mg/dl değeri ile yaklaşık 2 kat fazlasıdır. İstatistik olarak $P<0.01$ derecesinde önemli olduğu belirlenmiştir. Konya bölgesinde yapılan çalışmalarda, halka ait buzağı ve ineklerde, yetersiz

beslenme sonucunda vitamin A ve β -karotin düzeylerinin düşük olduğu bildirilmiştir (29).

Çalışmada, doğum felcinin en belirgin özelliği olan düşük serum kalsiyum düzeyinin retinol ve β -karotin ile ilişkisi incelenmiştir (Çizelge 2). Kalsiyum ve retinolün korelasyon sayısı 0.854 ($P<0.01$), kalsiyum ve β -karotin korelasyon sayısı 0.819 ($P<0.01$) olarak hesaplanmıştır. Doğum felçli grupta görülen pozitif ilişki kontrol grubunda belirlenmemiştir (Çizelge 3). Lappetelainen ve ark (30), yaptıkları çalışmada, doğum sonrası hipokalsemili ineklerde retinol düzeyinde % 18 oranında bir düşüş belirlemişlerdir. Bu oran $P<0.05$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Ankara çevresinde yapılan bu çalışmada ise doğum felçli grupta retinol düzeyinde belirlenen düşüş, istatistik açıdan incelendiğinde $P<0.01$ olarak tespit edilmiştir.

Sonuç olarak doğum felci olayında en belirgin gösterge kabul edilen düşük kalsiyum düzeyinin kalsiyum homeostazı ile ilişkili olduğu bilinen retinol ve β -karotin düzeylerine yansıtıldığı söylenebilir.

KAYNAKLAR

- Goff JP, Reinhardt TA, Beckman MJ, Horst RL: Contrasting Effects of Exogenous 1,25-dihydroxycalcitriol D [1,25-(OH)₂ D] Versus Endogenous 1,25-(OH)₂ D, Induced by Dietary Calcium Restriction on Vitamin D Receptors. *Endocrinology*, 126: 1031-1035, 1990.
- Rajora VS, Pachauri SP: Blood Profiles in Preparturient and Postparturient Cows and in Milk-Fever Cases. *Indian J An Sci*, 64: 31-34, 1994.
- Ergun H, Mert N: Sütte Mastitis Nedeni ile Meydana Gelen Biyokimyasal Değişmeler. I. Mastitis Semineri Ankara, 1984.
- Littledike ET, Young JW, Beitz DC: Common Metabolic Disease of Cattle Ketosis, Milk Fever, Grass Tetany and Downer Cow Complex. *J Dairy Sci*, 64: 1465-1482, 1981.
- Nizamhoğlu M, Kalaycıoğlu L, Dinç DA, Erganiş O, Özeren F: Determination of N-acetyl- β -D-glucosaminidase, enzyme activity in bovine milk for the early diagnosis of subclinical mastitis. *SÜ Vet Fak Derg*, 8: 60-63, 1992.
- Cote JF, Hoff B: Interpretation of Blood Profiles in Problem Dairy Herds. *Bovine Pract*, 26: 7-10, 1991.
- Hove K, Kristiansen T: Oral 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in Prevention of Milk Fever. *Scand*, 25: 510-525, 1984.
- Madoni KA: Retinoic Acid: A General Overview. *Nutr Res*, 6: 107-118, 1986.
- Scheven BA, Hamilton NJ: Retinoic Acid and 1,25-dihydroxyvitamin D Stimulate Osteoclast Formation by Different Mechanisms. *Bone*, 11: 53-59, 1990.
- Pirskanen A, Mahonen A, Maenpaa PH: Modulation of 1,25(OH)₂ D₃-Induced Osteocalcin Synthesis in Human Osteosarcoma Cells by Other Steroidal Hormones. *Mol Cell Endoc*, 76: 149-159, 1991.
- Stabel JR, Goff JP: Effect of Parturient Stress on Plasma Retinol Alpha Tocopherol and Zinc Concentrations in Dairy Cows. *J Dairy Sci*, 73: Supl. 1: 247, 1990.
- Johnston LA, Chew BP: Peripartum Changes of Plas-

ma and Vitamin A and β -Carotene Among Dairy Cows with or without Mastitis. *J Dairy Sci*, 67: 1832-1836, 1984.

- Tijoeiker LW, Chev BP, Tanaka TS, Daniel LR: Bovine Vitamin A and β -Carotene Intake and Lactational Status I. Responsiveness of Peripheral Blood Polymorphonuclear Leukocytes to Vitamin A and β -Carotene Challenge in Vitro. *J Dairy Sci*, 71: 3112-3120, 1988.
- Chew BP: Symposium: Immune Function: Relationship of Nutrition and Disease Control. Vitamin A and β -Carotene and Host Defense. *J Dairy Sci*, 70: 2732-2743, 1987.
- Goff JP, Reinhardt TA, Horst RL: Enzymes and Factors Controlling Vitamin D Metabolism and Action in Normal and Milk Fever Cows. *J Dairy Sci*, 74:4022-4032, 1991.
- Green HB, Horst RL, Beitz DC, Littledike ET: Vitamin D Metabolites in Plasma of Cows Fed a Prepartum Low-Calcium Diet for Prevention of Parturient Hypocalcemia. *Dairy Sci*, 64: 217-226, 1981.
- Barnouin J: Components of the Diet in the Dry Period as Risk Factors for Milk Fever in Dairy Herds in France. *Prev Vet Med*, 10: 185-194, 1991.
- Block E: Manipulating Dietary Anions and Cations for Prepartum Dairy Cows to Reduce Incidence of Milk Fever. *J Dairy Sci*, 67: 2939-2948, 1984.
- Suzuki JP, Katoh NA: A Simple and Cheap Method for Measuring Serum Vitamin A in Cattle Using Only Spectrophotometer. *Jpn J Vet Sci*, 52:1281-1283, 1990.
- Anonim: Calcium in Serum Mikroliter. System Eppendorf Photometrische Methoden. Medizin Av. 300 MV 1-3 Eppendorf-feratenbau. Netheler+Hinz GmbH, 1968.
- Düzgüneş O, Kesici T, Gürbüz F: İstatistik Metodları I. Ders Kitabı. 229 Ankara, Ankara Üniv Basımevi, 1983.
- Montgomery R, Conway TW, Spektor AA: Biochemistry. A Case Oriented Approach. The CV Mosby Co, St Louis, 1990.
- Çamaş H, Ertürk M, Tekeli T, Arif Ş: İneklerde Hipokalsemi ile Seyreden Doğum Felcinde Kan Serum Esterleşmemiş (Serbest) Yağ Asitleri Üzerinde Çalışmalar. *AÜ Vet Fak Derg* 31: 498-507, 1984.
- Abu Damir H, Phillippo M, Thorp BH, Milne JS, Dick L, Nevison IM: Effects of Dietary Acidity on Calcium Balance and Mobilisation, Bone Morphology and 1,25-dihydroxyvitamin D in Prepartal Dairy Cows. *Res Vet Sci* 56:310-318, 1994.
- Bar A, Striem S, Perlman R, Sachs M: Use of 1 α -hydroxyvitamin D₃ in Prevention of Bovine Parturient Paresis. 8. Maternal and Neonatal Plasma Calcium, Parathyroid Hormone and Vitamin D Metabolites Concentrations. *J Dairy Sci*, 71: 2723-2729, 1988.
- Gaynor PJ, Mueller FJ, Miller JK, Ramsey N, Goff JP, Horst RL: Parturient Hypocalcemia in Jersey Cows Fed alfalfa haylage Based Diets with Different Cation to Anion Ratios. *J Dairy Sci*, 72: 2525-2531, 1989.
- Lian JB, Gundberg CM: Osteocalcin: Biochemical Considerations and Clinical applications. *J Clin Orthop Relat Res*, 226: 267-291, 1988.
- Van Mosel M, Corlett SC: Assessment of Bone Turnover in the Dry Period of Dairy Cows by Measurement of Plasma Bone Gla-protein, Total Plasma alkaline phosphatase Activity and Urinary Hydroxyproline. *Exp Physiol*, 75: 827-837, 1990.
- Tiftik AM: Neonatal Enfeksiyonlu Buzağlarda Plazma Vitamin A ve β -Kartotin Düzeyleri. *Doğa-Tr J Vet Animal Sci*, 16: 457-464, 1992.
- Lappetelainen R, Lappetelainen E, Hassinen T, Hahl M, Pirskanen A, Maenpaa PH: Biochemical Indicators of Bone Metabolic Activity in Bovine Periparturient Hypocalcemia. *J Vet Med A*, 40: 67-72, 1993.