

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ
KOORDİNASYON BİRİMİ

**KOYUNLARDA DOĞUM ÖNCESİ ve SONRASI
HAPTOGLOBİN DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Proje No: TSY-10-2944

Proje Türü
Yüksek Lisans Tezi

SONUÇ RAPORU

Proje Yürütücüsü:
Prof. Dr. Vehbi GÜNEŞ
Veteriner İç Hastalıkları AD/Klinik Bilimleri

Araştırmacının Adı Soyadı
İbrahim ÜNAL

Şubat- 2012
KAYSERİ

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

**KOYUNLARDA DOĞUM ÖNCESİ ve SONRASI
HAPTOGLOBİN DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Hazırlayan
İbrahim ÜNAL

Danışman
Prof. Dr. Vehbi GÜNEŞ

Yüksek Lisans Tezi

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından TSY-10-2944 nolu proje ile desteklenmiştir.**

Şubat 2012
KAYSERİ

TEŞEKKÜR

Veteriner Fakültesi lisans mezunu olarak geldiğim İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda her şeyden önce Anabilim Dalı'na adaptasyonumda, çalışmalarımı yönlendirmesinde, araştırmalarımın her aşamasında bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyerek akademik ortamda olduğu kadar insani ilişkilerde de desteğiyle gelişmeye katkıda bulunan danışman hocam sayın Prof. Dr. Vehbi GÜNEŞ'e, yüksek lisans dersleri ve tezimin analizlerinin yapımı esnasındaki yardımlarından dolayı Yrd. Doç. Dr. Nurhan ERTAŞ'a, İç Hastalıkları Anabilim Dalı Doktora öğrencisi Veteriner Hekim İlknur Karaca BEKDİK'e, karaciğer dokularının histopatolojik çalışmalarını yürüten Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı öğretim Üyesi Yrd. Doç. Ertan ORUÇ'a, tezimin yapılabilmesi için maddi destek sağlayan Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığına, yüksek lisans öğrenimimin ders aşamasında derslerime ve çalışmalarına devam edebilmem için gösterdiğim yoğun gayretlere sağladıkları kolaylıklar için mesai arkadaşlarıma, çalışmalarım süresince birçok fedakârlıklar gösterip beni destekleyerek her an yanımda olan aileme en derin duygularla teşekkür ederim.

İbrahim ÜNAL
Kayseri, Şubat 2012

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
TEŞEKKÜR.....	3
İÇİNDEKİLER.....	4
ÖZET.....	6
ABSTRACT.....	7
1.GİRİŞ/AMAÇ ve KAPSAM.....	8
2.GENEL BİLGİLER.....	9
2.1. Akut Faz Cevap.....	9
2.1.1. Akut Faz Cevabın Başlatılması.....	10
2.1.2. Akut Faz Cevabın Sürdürülmesi.....	14
2.1.3. Akut Faz Cevabın Sonlandırılması.....	15
2.2. Akut Faz Proteinleri.....	15
2.2.1. Akut Faz Proteinlerinin Sentezi.....	18
2.2.2. Negatif Akut Faz Proteinler.....	18
2.2. 2.1. Albumin	18
2.2.2.2. Transferrin.....	19
2.2.3. Pozitif Akut Faz Proteinler	19
2.2.3.1. Serum Amiloid A.....	21
2.2.3.2. Fibrinojen.....	22
2.2.3.3. Alfa 1-Asid Glikoprotein (Orosomucoid).....	24
2.2.3.4. C-Reaktif Protein.....	24
2.2.3.5. Seruloplazmin.....	25
2.2.3.6. Inter Alpha Trypsin Inhibitör Heavy Chain 4(ITIH4).....	27
2.2.4. Akut Faz Proteinlerinin Biyolojik Fonksiyonları.....	27
2.2.5. Akut Faz Proteinlerin Klinik Kullanımı.....	28
2.2.6. Haptoglobin	30
2.3. Gebelik Toksemisi.....	33
2.3.1. Etiyoloji:.....	33

2.3.2. Patogenez:.....	34
2.3.3. Klinik Bulgular:.....	36
2.3.4. Tedavi.....	37
2.3.5. Koruma.....	37
3.GEREÇ VE YÖNTEM	38
3.1. Gereç.....	38
3.1.1. Hayvan Materyali.....	38
3.1.2. Örnek Alımları.....	38
3.1.3. Araştırmada Kullanılan Araç Gereç, Kimyasal Maddeler ve Malzemeler.....	39
3.2. Yöntem.....	40
3.2.1. Anamnezin Alınması.....	40
3.2.2. Klinik Muayene.....	40
3.2.3. Kan Örneklerinin Toplanması.....	41
3.2.4. Kan Örneklerinin İşlenmesi.....	41
3.2.5. Örnek Analizleri.....	41
3.2.5.1. Haptoglobin analizleri.....	41
3.2.5.2. Hematolojik Analizler.....	41
3.2.5.3. Biyokimyasal Analizler.....	41
3.2.5.4. Histopatolojik Analizler.....	41
3.2.6. İstatistik Analizler.....	42
4.BULGULAR.....	42
4.1. Hematolojik Bulgular	42
4.2. Biyokimyasal Bulgular.....	43
4.3. Serum Haptoglobin konsantrasyonları.....	47
4.4. Karaciğer dokularının histopatolojik bulguları.....	48
5.TARTIŞMA VE SONUÇ.....	54
6.KAYNAKLAR.....	61

ÖZET

Bu çalışmada, önemli bir akut faz (AFP) proteini olan Haptogloblin'in (Hp) koyunların karaciğer yağlanmalarında bir belirteç olarak kullanımının belirlenmesi amaçlandı. Bu amaçla normal vücut kondisyon skoru'na (VKS) sahip, ortalama canlı ağırlıkları 65 ± 5.7 kg olan koyunlar bu çalışmaya dahil edildi. Kapalı bir ağılda beslenen 300 başlık bir sürüden 25 adet gebe koyunun verileri çalışmada kullanıldı. Bu koyunlardan, doğumdan yaklaşık 3 hafta önce (prepartum) ve doğum sonrası (postpartum) 3 hafta süresince haftada bir kez olmak üzere gerekli kan örnekleri alındı ve fiziksel muayene bulguları belirlendi. Biyokimya, hematoloji ve Hp analizleri yapıldı. Süt kesiminden sonra 4 koyunun nekropsileri yapılarak karaciğer örneklerinde histopatolojik analizler yapıldı. Buna göre, ortalama Hemoglobin (Hb), Hematokrit (PCV) ve total eritrosit (RBC) değerlerinin özellikle doğum sonrası 2. ve 3. haftalarda doğum öncesine göre istatistiksel olarak önemli oranda ($p < 0.05$) azalma eğiliminde olduğu belirlendi. Ortalama total lökosit (WBC) değerlerinin, ilk değerden itibaren giderek artış gösterdiği belirlendi. Ortalama Glikoz sonuçlarının ise doğum sonrasında artış gösterip, daha sonra istatistiksel olarak anlamlı oranda ($p < 0.05$) tedrici bir azalma gösterdiği belirlendi. Ortalama Trigliserit değerlerinde, doğum sonrasında artış belirlendi. Doğum sonrası ortalama Aspartat amino transferaz (AST) ve Alkalen fosfataz (ALP) değerlerinin doğum öncesi alınan verilere göre istatistiksel açıdan önemli oranda daha yüksek olduğu belirlendi. Ortalama kalsiyum (Ca) değerleri doğumdan sonra önemli oranda düşüktü. Haptogloblin sonuçlarının özellikle doğumdan 1 hafta önce alınan ortalama değer, hem doğum öncesi hem de doğum sonrası düzeylerden istatistiksel açıdan önemli oranda yüksek olduğu belirlendi. Doğum sonrası her üç örnekleme döneminde alınan verilerin de doğum öncesi ilk iki ortalama Hp değerinden önemli oranda daha yüksek olduğu belirlenmiştir ($p < 0.05$). Örnekleme zamanlarındaki ortalama Hp düzeyleri sırasıyla; 2.68 ± 0.44 mmol/L; 1.82 ± 0.23 mmol/L; 1.86 ± 0.26 mmol/L; 2.57 ± 0.50 mmol/L; 2.18 ± 0.57 mmol/L; 2.08 ± 0.20 mmol/L; 2.04 ± 0.38 mmol/L idi. Karaciğer histopatoloji sonuçlarına göre; hafif dereceli nekroz, Kupffer hücre aktivasyonu, hiperemi gibi bulgular ön plana çıkmış, fakat herhangi bir trigliserid birikimine rastlanmamıştır. Sonuçta koyunlarda geç prepartum ve erken postpartum dönemlerde; temel hematolojik ve biyokimyasal parametrelerde önemli değişikliklerin oluşabileceği belirlenmiştir. Haptogloblin düzeylerinde oluşan doğumdan hemen önceki artışların karaciğer yağlanmalarından bağımsız da oluşabileceği, doğumla ilgili diğer nörohormonal mekanizmaların ve doğum sürecinde gelişen stres faktörünün göz önüne alınmasının zorunlu olduğu kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Haptogloblin, gebelik, karaciğer yağlanması, koyun

ABSTRACT

In this study, it was aimed to determinate whether Haptoglobin (Hp), which is an important acute phase protein (AFP) can be used as a marker in fatty liver disease (FLD) of sheep or not. For this purpose, sheep having with the normal body condition score (BCS) were included to this study. The mean live body weight of the sheep used in this study was 65 ± 5.7 kg. A total of 25 pregnant sheep obtained from a flock contained 300 sheep and kept in closed shelter were used. Physical examination findings were recorded and blood samples were collected from these sheep at about 3 weeks before birth (prepartum) and (postpartum) 3 weeks after birth once a week. Biochemical, hematologic parameters and Hp were analyzed after sampling process. Necropsy and histopathological analysis were performed on liver samples collected from 4 sheep liver after they were weaned. The mean hemoglobin (Hb), hematocrit (PCV) and total red blood cell (RBC) values were found to have a decrease tendency and were significant at postpartum the 2nd and 3th weeks compared to the prepartum values ($p < 0.05$). The mean total white blood cell (WBC) values were increased gradually compared to the initial values. On the other hand mean glucose values increased after the gestation and then mean glucose levels gradually declined significantly ($p < 0.05$). Mean triglyceride levels increased after birth. The mean aspartate amino transferase (AST) and alkaline phosphatase (ALP) values during postpartum period were significantly higher than those of prepartum values. The mean calcium (Ca) values were significantly lower at the pospartal period. The mean Hp values determined at first week before birth were significantly higher than those of both prenatal and postnatal mean Hp levels. Mean Hp values at postpartum period were determined to be significantly higher than the mean Hp at the first two weeks values in prenatal period ($p < 0.05$). Mean levels of Hp at pre-postnatal period were 2.68 ± 0.44 mmol / L, 1.82 ± 0.23 mmol / L, 1.86 ± 0.26 mmol / L, 2.57 ± 0.50 mmol / L ; 2.18 ± 0.57 mmol / L, 2.08 ± 0.20 mmol / L, 2.04 ± 0.38 mmol / L, respectively. The result of liver histopathology showed mild rate necrosis, Kuppfer cell activation and hyperemia but no triglyceride accumulation was observed. As a result of basic hematological and biochemical parameters were changed significantly at the late pregnancy and early postpartum periods in sheep. It was concluded that Hp levels at the prepartum period may increase independently from fatty liver and some other factors such as other neurohormonal mechanisms related to birth, stress of pregnancy must be considered together to determine the real causes of the changes in Hp levels in pregnant sheep.

Keywords: Haptoglobin, pregnancy, fatty liver, sheep

1. GİRİŞ/AMAÇ ve KAPSAM

Haptoglobin (Hp), çiftturnaklı hayvanlarda da bulunan ve çeşitli durumlarda primer özellik gösteren önemli bir akut faz (AFP) proteinidir. Akut faz reaksiyon genellikle yangı, enfeksiyon, yanık ve travma sonucu oluşan doku hasarları ve tümörlere karşı organizmanın nonspesifik bir savunma mekanizmasıdır (1). Ayrıca nonenfeksiyöz durumlar, uzun nakiller, hayvanların kapalı alanlarda barındırılması, açlığa maruz kalma gibi stres durumlarında da AFP düzeylerinin artabileceği belirlenmiştir. Araştırmacılar sağlıklı ineklerde doğum öncesi ve sonrası Hp düzeylerini karşılaştırdıkları çalışmalarında, doğum sonrasında doğum öncesine göre Hp düzeylerinin önemli ölçüde arttığını bildirmişlerdir (2,3). Fakat koyunlar üzerinde özellikle doğum öncesi Hp düzeylerinin karaciğer yağlanması ile ilişkilerinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu açıdan projenin ruminantlardaki karaciğer yağlanmalarında Hp düzeylerinin de bir belirleyici olarak kullanılıp kullanılamayacağını belirlemesi projenin özgün değerini oluşturmaktadır. Bu projenin ruminantlardaki karbonhidrat ve yağ metabolizması ile metabolik hastalıklar üzerine yapılacak çalışmalara ışık tutacağı düşünülmektedir. Proje bir saha çalışmasıdır. Farklı vücut kondüsyon skoruna sahip 30 gebe koyun ile 10 gebe olmayan koyun kullanılmıştır. Koç katımından 4 ay sonra gebe koyunlardan doğum zamanına kadar haftada bir kez olmak üzere ve doğum esnasında, doğum sonrasında haftada 1 kez olmak üzere 2 hafta süresince gerekli kan örnekleri alınıp koyunlar takip edilmiştir. Doğumlardan 60 gün sonra kontrol grubu dışındaki diğer gruplardan 4'er adet koyun kesilerek, karaciğer örnekleri yağlanma yönünden histopatolojik işlemlere tabi tutulmuştur. Serum Hp düzeyleri, Karaciğer biyokimya göstergeleri ve karaciğer yağlanma düzeyleri arasındaki ilişkiler belirlenmiştir.

Farklı vücut kondüsyon skoruna sahip gebe koyunlarda gebeliğin son ayı içerisinde gebelik toksemisinin gelişiminde temel rol alan karaciğer yağlanma düzeyleri ve karaciğer bozukluklarının göstergesi olan biyokimyasal parametreler ile akut faz proteinlerinden haptoglobin (Hp) düzeyleri arasındaki ilişkilerin araştırılması bu projenin konusunu teşkil etmiştir.

Bu projenin temel amaçları;

1. Hayvanlarda enfeksiyöz ve patolojik bir çok durumda kandaki düzeyleri arttığı rapor edilen akut faz proteinlerinden özellikle ruminantlar için daha spesifik olan Hp düzeylerinin, gebeliğin son ayı içerisinde bulunan koyunlarda değişimlerini belirlemek,

2. Bu değişimlerin karaciğer yağlanma düzeyleri ile ilişkilerini ortaya koymak,
3. Karaciğer yağlanması ve koyunların önemli bir metabolik hastalığı olan Gebelik toksemilerinde Hp düzeylerinin klinik bir parametre olarak kullanılıp kullanılamayacağını belirlemek,
4. Koyunlarda yağlanma ile bozulan karaciğer fonksiyonlarında Hp değişimlerini saptamaktır.

Sığırlardaki Tip II klinik ketozisin koyunlardaki benzer hastalık formu gebelik toksemisidir (GT). Bir koyun sürüsünde GT salgınları oluştugu zaman morbiditenin % 5-20 arasında olduğu; bununla birlikte özellikle tedavi edilmeyen bireylerde mortalite oranlarının % 80' i aştığı ve önemli ekonomik kayıpların oluştugu bildirilmektedir. Gebelik toksemisinin tedavi planında, zorunlu durumlarda zaman kaybetmeden sezaryan operasyonunun yapılabileceği belirtilse de operasyona rağmen tedavi şansı zayıftır. Herhangi bir enfeksiyöz hastalığı bulunmayan ve gebeliğin son döneminde karaciğer yağlanması gelişen koyunlarda Hp gibi akut faz proteinleri ile bu durumun önceden belirlenmesi ile bu hastalıkta gerekli koruyucu tedbirlerin alınması önemli görölmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Akut Faz Cevap

Akut faz cevap (AFC); immunolojik hastalıklar, neoplastik oluşumlar, travmalar, doku yaralanmaları veya enfeksiyonların sebep olduğu lokal veya sistemik hemostazis bozukluğuna karşı oluşan önemli sistemik bir reaksiyondur (1-3). Diğer bir bakış açısından; AFC terimi, vücuttaki yanıtla ilişkili olarak bir dizi plazma proteinlerinin konsantrasyonlarındaki değişimleri ifade etmektedir. Bu değişimler karaciğerdeki protein sentezinde meydana gelen etkileşimlerin bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır (4). AFC'la bir organın daha fazla hasara uğramasının engellenmesi, enfeksiyöz ajanın izolasyonu ve yok edilmesi, zararlı moleküllerin ve artıkların uzaklaştırılması ve organın normal fonksiyonlarına dönebilmesi için gerekli olan onarım sürecinin başlatılması sağlanmaktadır (5). AFC, gelişen doku hasarı sonrası süreçte fizyolojik homeostazisin sağlanması ve yaşamın sürdürülebilmesi için ilk koşul olarak

değerlendirilmektedir. AFC non-spesifik immun yanıtın bir parçasıdır ve uyarıcı durumların geniş bir dağılım göstermesinden dolayı bazı komponentleri değişken düzeylerde süreklilik arz etmektedir. AFC'ı daha seçici olan sistemik yanıt takip etmektedir. Sistemik AFC'ın karakteristik özellikleri arasında ateş, nötrofili, lipid metabolizmasındaki değişiklikler, demir ve çinko düzeylerinde azalmalar, glukoneogenezisde artma, protein katabolizmasında artış ve kastan karaciğere aminoasit transferi, komplement ve koagulasyon sistemlerinin aktivasyonu, hormonal değişiklikler ve akut faz protein sentezi yer almaktadır (5, 6).

2.1.1. Akut Faz Cevabın Başlatılması

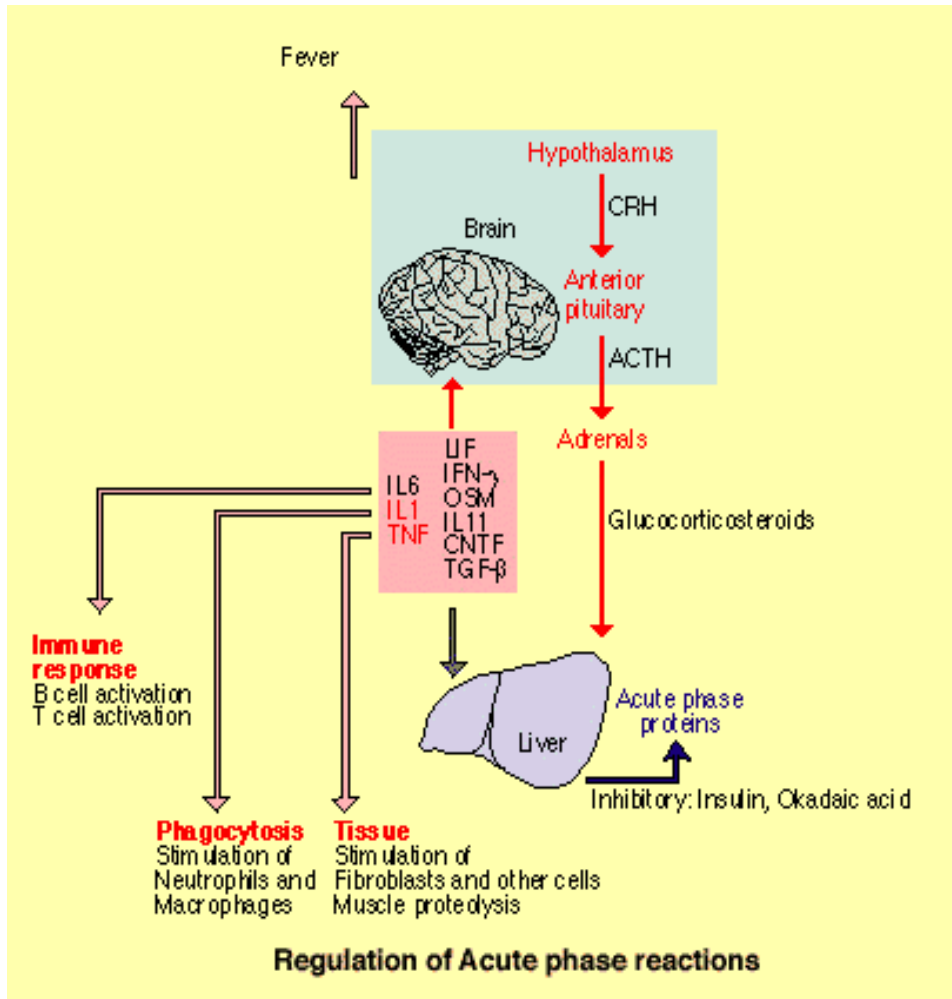
Mikroorganizmalar veya travmalar tarafından etkilenen dokular kendi başına çok sayıda cevap başlatır. Hasara uğrayan dokuda yangısal süreç genellikle doku makrofajları veya kandaki monosit hücreleri gibi mononükleer hücreler tarafından başlatılır. Bu hücreler; sitokinler, lipid mediatörler, vazoaktif aminler, komplement ve pıhtılaşma ürünleri, proteazlar, reaktif oksijen türleri ve nitrik oksit gibi geniş spektrumlu yangısal mediatörleri salarak lokal ve sistemik yangısal reaksiyonları oluştururlar (7).

Lokal reaksiyonlar, kapillar geçirgenlikteki artışı ve yangı bölgesine lökosit infiltrasyonunu kapsar. Artan kapillar geçirgenlik, dolaşım ve hasarlı doku alanı arasında proteinaz inhibitörleri, transport proteinler ve iyonlar gibi birçok farklı moleküllerin geçmesine izin verir. Fagositik hücreler olan nötrofilik granülositler ve makrofajlar yabancı antijenlerin uzaklaştırılmasında anahtar rol oynar. Yangı bölgesine lökosit infiltrasyonu için lökositlerin endotele adhezyonları gerekir. Lökositlerin endotele adhezyonunu diapedez takip eder ve yangısal odağa göçleri, farklı kemotaktik faktörlerin rehberliğinde gerçekleştirilebilir (7).

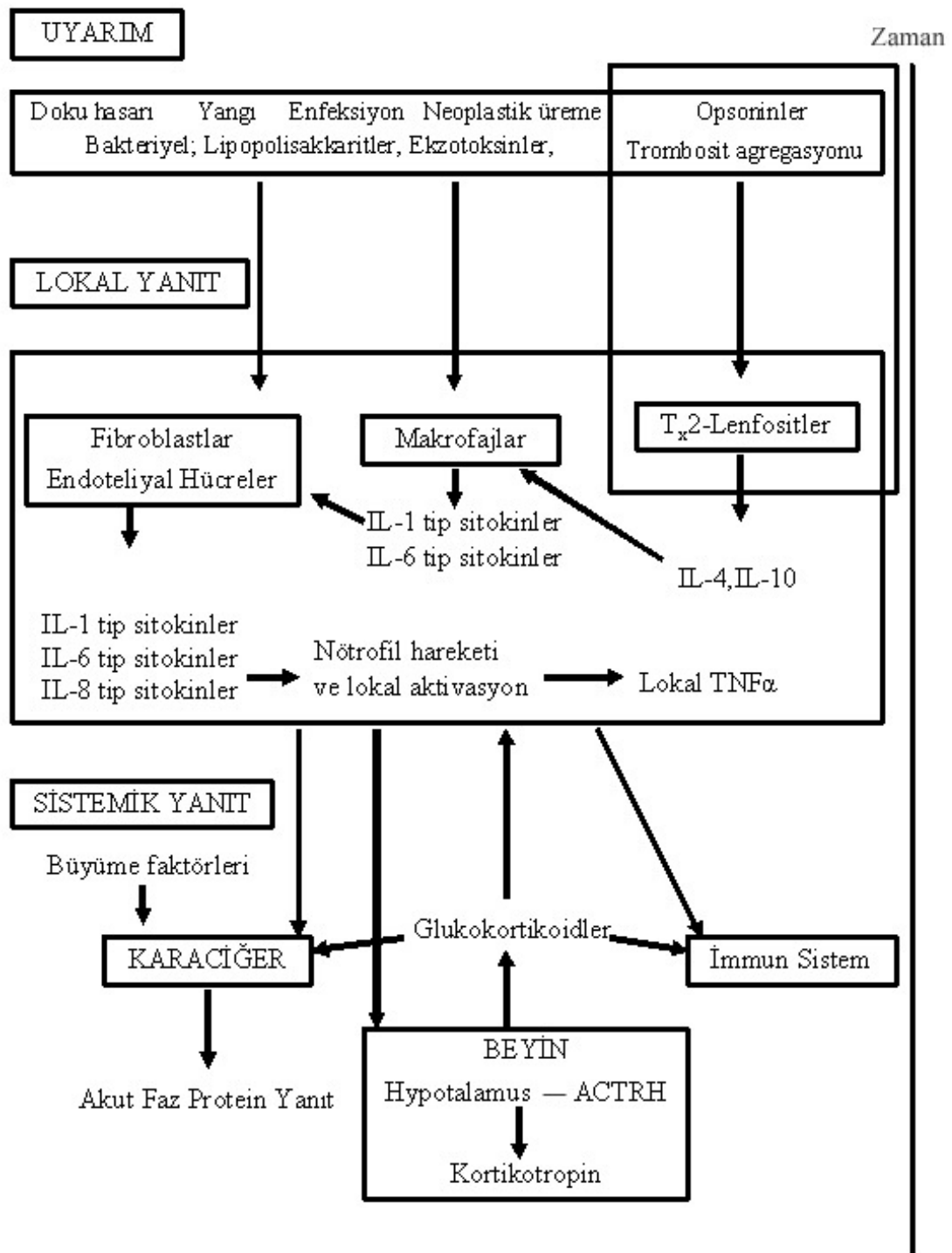
İlk olarak pro-inflamatör sitokinler salınır, vasküler sistem ve yangısal hücreler aktive edilir. Bu cevabın oluşması ile sitokin ve dolaşımdaki diğer yangısal mediatörlerin üretimi artar. Sitokinler, hipofiz bezinin adrenal bölgesini aktive ederek ve büyüme hormon sekresyonunu azaltarak sistemik bir reaksiyona neden olan farklı hedef hücreler üzerindeki reseptörleri aktive eder. Bu aktivasyon sonucu ateş, anoreksi, negatif nitrojen balansı, kas hücrelerinin yıkımlanması, plazma düşük ve yüksek dansiteli kolesterol seviyelerinde azalma, lökositosis, adrenokortikotropin hormonu (ACTH) ve glukokortikoid salınımında artış, komplement sistem ve kan pıhtılaşma sisteminin aktivasyonu, serum Ca, Zn, Fe, vitamin A ve alfa-tokoferol seviyesinde azalmanın yanı sıra akut faz proteinleri olarak bilinen bazı plazma proteinlerinde değişiklikler meydana gelir (1-3).

Enfeksiyondan sonraki ilk saatler içerisinde karaciğerden sentezlenen bazı kan proteinlerinde şiddetli düşüş gözlenir. Bunlar Transthyretin (prealbumin), kortizol binding protein, transferrin ve albumin gibi negatif akut faz proteinlerdir (3). Bazı akut faz proteinler ise bu süre içinde önemli artış gösterirler. C- reaktif protein (CRP), Serum Amiloid-A (SAA), haptoglobin (Hp), seruloplazmin (Cp), fibrinojen, alfa-1 asit glikoprotein (AGP) gibi proteinler pozitif akutfaz proteinlerdir (3, 8).

Sitokinler farklı hücre tipleri tarafından oluşturulan multipotent polipeptidlerdir. Tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6) ve interferon- γ (IFN- γ) gibi proinflamatuvar sitokinler karaciğerden sentezlenen akut faz proteinlerin temel mediatörleridir. sistemik yangısal yanıtın başlatılabilmesi için gerekli olan başlıca maddelerdir (5,9,10). Lokal reaksiyon bölgesinde bu sitokinler fibroblastlar ve endotel hücreleri gibi stromal hücreleri aktive eder ve sitokinlerin ikinci salınımını başlatır (5). İkinci dalga ve bu erken sitokinlerin dolaşımında görülmesi sistemik yangısal yanıtın başlatılmasından sorumludur. Şekil 2 de akut faz cevabın mekanizması gösterilmiştir. IL-6 daha çok hepatik akut faz cevabında etkili olurken IL-1 ve TNF ekstrahepatik akutfaz cevapta etkilidir. Bu sitokinler temel olarak makrofajlardan fakat aynı zamanda internal veya eksternal uyarımlar sonucu diğer hücrelerden de salınır. IL-1 aktive edilmiş monosit ve makrofajlar tarafından üretilirken TNF, lipopolisakkaridlerce stimüle edilen makrofajlardan salınan bir polipeptittir. IL-6 karaciğer kuffer hücrelerinden, keratinositlerden, hipofizden veya mukozal epitelden sentezlenebilir. Yangı, enfeksiyon veya doku hasarında savunmayı organize eden hücreler tarafından sitokinlerin salınması uyarılacaktır. Böylece akutfaz proteinlerin sentezlenmesi de uyarılır. İnsanlar ve deney hayvanlarında fiziksel ve fizyolojik stresin plazma IL-6 ve akut faz proteinleri seviyelerini artırdığı ifade edilmiştir (8,11,12) . Şekil-1'de akut faz proteinlerin üretimi gösterilmiştir.



Şekil 2.1 Akut faz proteinlerin üretimi (8)



Şekil 2.2. Akut Faz Cevabın Mekanizması (13).

2.1.2. Akut Faz Cevabın Sürdürülmesi

Akut faz cevap klinik olarak; yangısal bulgular, ateş, iştahsızlık ve depresyon ile karakterizedir. Bu bulgular hasta hayvanlardaki homeostatik kontrol mekanizmalarındaki değişiklikler sonucu ortaya çıkmaktadır. Bunlar;

a) Endokrinolojik Değişiklikler: AFC süresince hormonal etkileşimler tartışılmakta ve farklı hayvan türlerinden elde edilen sonuçlar farklılıklar göstermektedir (14). AFC'a bağlı olarak adreno-kortikotropik hormon, kortizol, adrenal katekolaminler, glukagon, insulin, büyüme hormonu, aldosteron, vasopressin, ve prolaktin hormonlarının serum konsantrasyonları artış gösterirken (6,15,16) akut dönemde renin, tiroksin ve gonadal steroidlerin serum konsantrasyonlarında azalmalar gözlemlendiği bildirilmektedir (17). AFY'ta gelişen endokrinolojik değişikliklerin temel nedenleri tam anlamıyla açıklığa kavuşturulamamış olmakla birlikte, değişikliklerin vücuttaki enerji metabolizmasının uyarılması sonucunda oluştuğu düşünülmektedir (14).

b) Metabolik Değişiklikler: AFC sürecindeki temel metabolik değişimler protein katabolizmasında artma ve glukoneogenezisdir. Gıda alımının azalmasıyla birlikte kas proteinleri yeni proteinlerin sentezi için gerekli olan aminoasitlere yıkımlanırlar. Aminoasitler, lenfosit ve fibroblastların proliferasyonu ve doku yenilenmesi için gerekli olan kollojenlerin, hepatik akut faz proteinlerinin ve immunoglobulinlerin sentezi için gereklidir. Aminoasitler ayrıca glukoneogenezis ve enerji üretimi için de kullanılmaktadır. Anabolik süreç dışında kas proteinlerinin katabolizması hasta hayvanda kilo kaybı ve negatif azot dengesi ile sonuçlanır. Böbrek, karaciğer ve akciğer gibi bazı merkezi organlar seçici olarak bu katabolizmadan korunmaktadırlar. Bunun nedeni tam olarak açık olmamakla birlikte, bu dokular AFY sürecinde aktiviteleri sıklıkla artış gösteren retikuloendotelial sistemin önemli komponentleri olması ile ilişkilendirilmektedir (18).

AFC boyunca en önemli metabolik değişiklik akut faz proteinlerinin karaciğerdeki sentezinin yüksek düzeyde artışıdır (2,5,6,19-22).

c) Hematolojik ve Biyokimyasal Değişiklikler: AFC'ın ilk saatlerindeki en önemli bulgulardan biri lökopeni ve sola kaymadır. Lökopeni, strese bağlı ortaya çıkan lenfosit azalmasından ve yangısal odağa nötrofil göçünden kaynaklanmaktadır. Erişkin nötrofillerin tükendiği noktada genç nötrofiller dolaşıma geçmekte ve belirgin bir sola kaymaya neden olmaktadır (23,24). Erişkin nötrofillerin azalmasından sonraki birkaç saat içinde kemik iliğinden granulopoesis uyarılmaktadır. Bu durum akut yangının başlangıcından sonraki 1 veya 2. günlere denk gelmekte ve belirgin bir lökositoya neden olmaktadır (24).

AFC sürecinde serumda bazı iz element konsantrasyonlarında değişimler meydana gelmektedir (6). Çinko ve demir düzeyleri azalmalar gösterirken plazma bakır konsantrasyonunda artışlar gözlenebilmektedir (25,26). Bu iyon değişiklikleri katyonların bağlandıkları plazma proteinlerinde meydana gelen değişikliklerden, daha da önemlisi, hücresel mekanizmalardaki değişimlerden kaynaklanmaktadır (26).

d) Nörolojik Değişiklikler: Merkezi sinir sistemini baskılamasına bağlı olarak, AFC süresinde uyku hali gelişebilmektedir. Yangısal alan sıklıkla ağrılıdır. Bradikinin gibi vazoaktif aminler AFY'ta ağrı oluşumundan sorumludur (5).

e) Immunolojik Değişiklikler: AFY'nın lenfosit aktivitesi, nötrofillerin bakterisidal etkiliği ve makrofajların fagositik aktivitelerinde azalma gibi immun sistemi baskılayıcı etkinlikleri bulunmaktadır (6, 27).

2.1.3. Akut Faz Cevabın Sonlandırılması

Akut Faz Yanıtın sonlandırılması için glukokortikoidler, interleukin-4 (IL-4), interleukin-10 (IL-10) ve belirli pro-inflamatuar sitokinler için reseptör antagonistleri gibi birçok yangısal mediatörlere gereksinim duyulmaktadır. AFC'nin sonlanması ve organizmanın normal fonksiyonlarına dönebilmesi 1-2 günü bulabilmektedir. Akut yangı kronikleştiği takdirde AFC da uzayabilmektedir (5). AFC sürecini beslenme bozuklukları gibi birçok fizyolojik veya patofizyolojik olay etkilemektedir (18).

2.2. Akut Faz Proteinleri

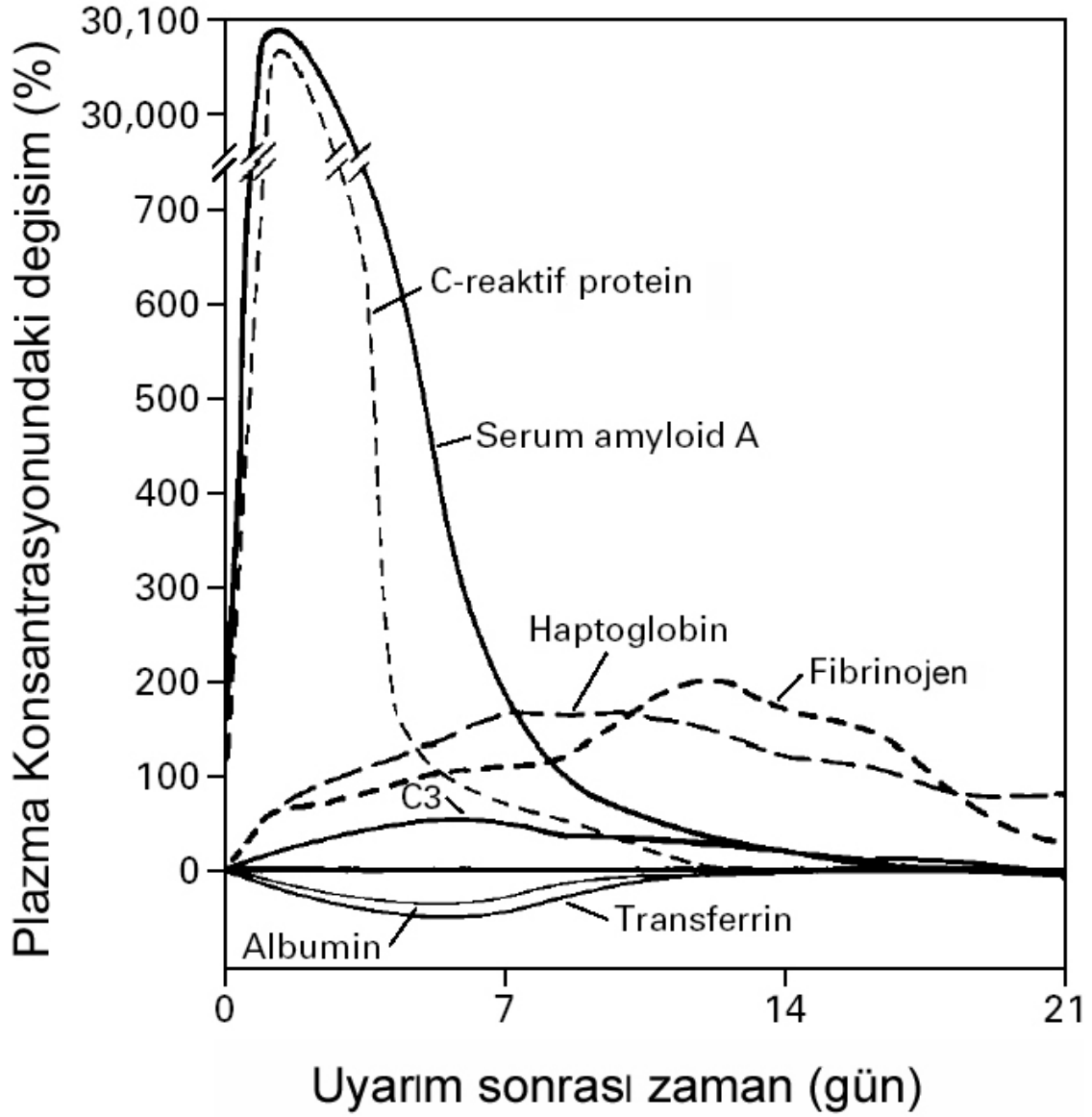
İlk olarak Francis ve Tillet, 1930'lu yıllarda Streptococcus pneumonia enfeksiyonlarında bir proteinin plazma konsantrasyonunun arttığını göstermiş ve akut enfeksiyon anında artan bu proteine bakterinin C polisakkaritine karşı sentez edildiğini düşünerek C-reaktif protein (CRP) adını vermiştir (6). Daha sonraki araştırmacılar CRP ile birlikte bazı proteinlerin de konsantrasyonlarının arttığını bildirmişlerdir. Bunlardan bazıları, plazma amiloid A protein (SAA), α 1-antitripsin (AAT), seruloplazmin (Cp), haptoglobulin (Hp) gibi proteinlerdir. Akut uyarı sonucu konsantrasyonları değişen bu proteinlere Akut faz proteinleri (AFP) denilmiştir. Bu proteinlerin sentezi genellikle karaciğerde olur. Akut faz proteinleri (AFP), immunoglobulinler gibi enfeksiyon ya da travma esnasında oluşan yangıya cevap olarak sentez edilirler. Ancak immunoglobulin değildirler. Konakçı savunma mekanizmasında önemli bazı görevler üstlendikleri bildirilmektedir (28).

Herhangi bir inflamatuvar hastalık süresince plazma miktarları en az % 25 kadar artanlar pozitif AFP ve azalanlar negatif AFP olarak tanımlanır (2). Bu proteinler fagosit kaynaklı proteazların inhibisyonunda, hücrel atıkların temizlenmesinde, inflamatuvar olayın yönlendirilmesi ve inhibisyonu şeklinde fonksiyon görürler (2, 29). AFP miktarında önemli değişikliğe neden olan durumlar ise; enfeksiyonlar, travmalar, cerrahi girişimler, yanıklar, doku infarktları ve çeşitli immünolojik hastalık durumlarıdır (30).

AFP'nin miktarındaki artışın büyüklüğü ise; molekülün büyüklüğüne, yayılım hacmine, uyarının miktarına ve duyarlılığına, katabolizma oranına bağlıdır (30).

Plazma düzeyinde değişiklik görülen akut faz proteinleri, türler arasında farklılıklar olmasına rağmen genel olarak şu şekilde sınıflandırılabilir: (2,29,31).

1. Düzeyi %50 artanlar: Seruloplazmin, kompleman-3 (C-3)
2. Düzeyi 2-4 kat artanlar: Haptoglobin, fibrinojen, α -1 antitripsin, α -1asit glikoprotein
3. Düzeyi 100 kat artanlar: C-Reaktif Protein (CRP), serum amiloid A(SAA)
4. Düzeyi Azalanlar: Transferrin, Albümin, Prealbümin.



Şekil 2.3 İnflamatuvar uyarıyı takiben bazı pozitif ve negatif akut faz proteinlerinin serum konsantrasyonundaki değişiklikler (32).

2.2.1. Akut Faz Proteinlerinin Sentezi

Pek çok pozitif akut faz proteininin karaciğerden sentezi ve kana salınımı proinflatuvar sitokinlerin uyarımı ile başlatılır (33). Sitokinler farklı hücre tipleri tarafından oluşturulan multipotent polipeptitlerdir. Tümör necrosis factor- α (TNF- α), İnterleukin-1 (IL-1), İnterleukin-6 (IL-6) ve interferon - γ (IFN- γ) gibi proinflatuvar sitokinler sistemik yangısal yanıtın başlatılabilmesi için gerekli olan başlıca maddelerdir (5, 10). Lokal reaksiyon bölgesinde bu sitokinler fibroblastlar ve endotel hücreleri gibi stromal hücreleri aktive eder ve sitokinlerin ikinci salınımını başlatır. İkinci dalga ve bu erken sitokinlerin dolaşımında görülmesi sistemik yangısal yanıtın başlatılmasından sorumludur (5). Hedef hücreler üzerine sitokinlerin etkileri; diğer sitokinler, hormonlar, reseptör antagonistleri ve dolaşan reseptörlerle artırılır veya azaltılabilir. Bakteriyel infeksiyonlarındaki AFC'ta makrofajlardan salınan TNF ve sistemik endotoksinlere bağlı IL- 1 ve IL-6 salınımında önemli rol oynar (5).

Akut faz proteinleri konsantrasyonu, üretimlerine ve katabolizmalarına bağlıdır; bu değişiklikler, hepatik mRNA konsantrasyonlarındaki değişimle ilişkilidir ve salgılanma oranında artış görülür. Akut faz proteinleri konsantrasyonlarındaki artış basit inflamatuvar uyarımı takiben 4-5 saat içinde ölçülmeye başlar ve minimum 24 saat içinde anlamlı şekilde yükselme görülür (34,35). İlk yükselmeye başlayan akut faz proteini CRP ve α -1 Antikimotripsindir. CRP 6-8 saat içinde yükselmeye başlar ve 24 saat içinde pik seviyeye ulaşır. α -1 Antikimotripsin ve α -1 Antitripsin pik seviyeye 24 saat içinde ulaşır. Haptogloblin, C4 ve α -1 Asitglikoprotein düzeylerinde artış 3-5 gün içinde ortaya çıkar. Seruloplazmin düzeylerinde artış daha yavaş şekillenir. Pik seviyeye 4-10 gün içinde ulaşır (36).

2.2.2. Negatif Akut Faz Proteinler

Fiziksel veya enfeksiyöz etkenlere bağlı olarak karaciğerden sentezlenmeleri azalan proteinlerdir. Serum albumin, transferrin, kortizol binding globulin, transtretin ve retinol-binding proteinler negatif akut faz proteinler olarak belirlenmiştir (3).

2.2.2.1. Albumin

Başlıca karaciğerde sentezlenen ve plazma proteinlerinin %50'sini oluşturan albuminin plazma yarılanma ömrü hayvan türlerine göre değişmekle birlikte 10-23 gün kadardır. En yüksek oranda depo edilen ve en büyük amino asit taşıyıcısı proteindir. Serum albümin düzeyi sıklıkla beslenme durumunun değerlendirilmesi ve hastalığın ciddiyetinin belirlenmesinde kullanılmaktadır (37). Serum konsantrasyonunun en fazla olması, küçük hacmi ve plazma

ozmotik aktivitesinin ortalama %75'ini sağlaması nedeniyle ozmotik olarak en aktif plazma proteindir. Diğer önemli fonksiyonları bağlayıcılık ve taşımadır. Plazmadaki hemen hemen tüm yapılar (bakır, çinko, kalsiyum, yağ asitleri, ilaçlar) albumine bağlanıp taşınır (38,39). Albumin tiroksin, triiyodotironin, aldesteron ve kortizol gibi hormonları bağlayarak kullanıma hazır depo olarak tutar (40). Plazma albumin konsantrasyonu dehidrasyonda artar. Albumin konsantrasyonu başlıca hepatik sentezin azalması, yıkımlanmasının artması, barsak veya idrar yolu ile aşırı kaybı (ekstrahepatik) ile azalır. (38,39). Eğer hastada bu durumlardan herhangi biri yoksa düşük albümin düzeyinin nedeni muhtemelen yangıdır (37). Albüminin katabolizması doku hasarı ve yangısal durumlarda artar. Yıkılım ile beraber serum albümin oranı %20-50 oranında azalabilir. Akut faz reaksiyon sırasında pozitif akut faz proteinlerinin hepatik mRNA'lerden sentezindeki artışa albüminin serum konsantrasyonundaki azalma eşlik eder (2).

Walker ve ark. (41), *Pasteurella haemolytica* inokulasyonu yaptıkları buzağılarda serum albümin düzeyinin enfeksiyondan sonra düştüğünü göstermişlerdir.

Koyunlarda yapılan bir çalışmada, intratorasik maya enjekte edilen koyunlarda serum albümin konsantrasyonunun enfeksiyonu takiben azaldığı ve enfeksiyondan sonra 10. günden itibaren arttığı bildirilmektedir (42).

2.2.2.2. Transferrin

Birçok hücre yüzeyine bağlanabilen negatif bir AFP olup endositoz ile hücre içine alınır. Lizozim içindeki asit pH nedeniyle demir transferinden ayrılmakta ve apotransferrin reseptörüne bağlı olarak plazmaya geçerek demir taşınmasında yeniden görev almaktadır. Transferin demirin taşınmasında görev yapan en önemli plazma proteindir. Asıl karaciğerde üretilmekle birlikte az olarak da retikulo endotelial sistem hücrelerinde de (RES) üretilmektedir (43). Yapılan çalışmalarda akut enfeksiyonlu sığırlarda konsantrasyonunun azaldığı belirlenmiştir (44). Transferin özellikle kanatlılar için önemli bir akut faz proteindir (8).

2.2.3. Pozitif Akut Faz Proteinler

Evcil hayvanlardaki akut faz proteinler insandakine benzerlik gösterir. Canlı türlerine göre pozitif akut faz proteinleri tabloda verilmiştir(3)

Canlı türlerine göre Pozitif APP'ler

Tür	Temel (Major)	Hafif – Ilımlı (Minör)	Degismeyenler
İnsan	SAA – CRP – LBP	Hp – AGP – Fibrinojen	SAP – 2MG
Sığır	Hp	SAA-Cp- α 2MG-LBP-AGP-CRP	SAP
Koyun	Hp	Cp- Fibrinojen	CRP
Keçi	Hp		CRP
Köpek	CRP- SAA	Hp – AGP – Cp	
Kedi	SAA	CRP – Hp – Cp	
At	SAA – CRP	Hp – Fibrinojen – AGP	
Domuz	MAP – CRP – Hp	SAA – Cp – AGP	
Tavşan	SAA – CRP – LBP	α 2MG	
Fare	SAA – SAP	AGP – LBP – CRP	
Hamster	SAA – CRP		
Tavuk	CRP – SAA –AGP Fibrinojen –CRP- SAA		
Balık	CRP – SAA		

AGP α 1 asid glikoprotein

CRP C-Reaktif protein

Cp Seruloplazmin

LBP Lipopolysaccharide binding protein

SAP Serum amiloid P komponent

α 2MG α 2-makroglobulin

Hp Haptoglobin

MAP Domuz temel akut faz protein

SAA Serum amiloid A

2.2.3.1. Serum Amiloid A

Serum Amiloid A (SAA), plazmada yüksek dansiteli lipoprotein fraksiyonlu bir akut faz apolipoproteindir (3,8,45). Yangı sırasında konakçı savunmasındaki rolü tam olarak anlaşılmamış olup çeşitli etkileri bildirilmektedir. Bu etkiler; endotoksinlerin detoksifikasyonu, lenfosit ve endotelial hücre proliferasyonu, trombosit kümeleşmesini ve ekstrasellüler matriks proteinlere T-lenfosit adhezyonlarını inhibe etmesi olarak sıralanabilir (8). Aynı zamanda fagositlerin göçünü yönlendirmesi ve myeloperoksidaz salınımını inhibe etmesiyle yangısal sürecin regulasyonunu uzatmada da rolü olduğu tespit edilmiştir. TNF- α , IL-6 ve IL-1 β gibi pro-inflamatör mediatörlerin stimulasıyla intstinal epitelial hücreler SAA'yı sentezlerler. SAA'nın endotoksine karşı barsakların lokal savunma meknizmasında rolü olduğu belirtilmektedir. Meme bezi ile ilişkili SAA'nın sekresyonu sağlıklı sığır, at ve koyunda tesspit edilmiştir. Bunun da yeni doğan yavruların ekstrauterin yaşama adaptasyonunda birlişkisinin olabileceği ileri sürülmüştür (3,8,46).

Serum amiloid A'nın etkisi genellikle immunmodülasyondur. SAA, PGE2 üretimini, bazı sitokinlerin pirojenik etkisini, nötrofillerin oksidatif solunumunu ve trombosit aktivitesini azaltır, antikor üretimini baskılar ve fibroblastlardan kollajenaz sekresyonunu indükler. HDL'e bağlı olmayan, serbest SAA, sitokin benzeri nötrofil, T lenfosit ve polimorfonüklear lökosit kemotaksisi yapıcı etkiye sahiptir. Serum amiloid A, merkezi sinir sistemi ve sinovial sıvıda bulunabilir. Sinovial dokuda bulunması nedeniyle pek çok eklem hastalığı ile ilişkilidir. İnflamatuvar artritte SAA seviyesi artarken, noninflamatuvar ya da travmatik artritte SAA seviyesinde artış yoktur. Menenjitli hastalarda enfeksiyon etkeninden bağımsız olarak beyin omurilik sıvısı SAA seviyesi artar. Pek çok çalışma SAA'nın birçok hastalıktaki önemini vurgulamıştır. Akut hastalıklarda, özellikle viral ve bakteriyel olanlarda SAA seviyesi erken dönemde (genellikle klinik belirtiler başlamadan iki gün önce) yükselir ve pik düzeye ulaşır. İnflamatuvar stimulus kesilince Birkaç günde normale döner (47).

Serum Amiloid A ölçümleri veteriner tanıda haptoglobin kadar geniş uygulama alanı bulamamıştır. Bu muhtemelen SAA seviyesinin ölçümünün zorluğundan kaynaklanmaktadır. Mastitisli inek ve koyunlarda SAA'nın serum ve sütteki artışı ile yangının tespiti yapılabilmektedir. SAA seviyesi doğum yapan ve fiziksel strese maruz kalan sığırlarda da artabilir. Bu durum akut faz proteinlerin yangısal olmayan durumlarda da artabileceğini göstermektedir (8,48).

Sağlıklı ineklerde sütte haptoglobin ve Milk Amiloid A (MAA) düzeyleri belirli bir limite (0,5mg/l ve 0,6mg/l) seyreder. Staphhylococcus Aerous ile deneysel oluşturulan akut

ve kronik mastit süresince haptoglobin ve MAA seviyesinde yükselme gözlenmiştir (49). Jacobsen ve ark. (50) E.coli ile deneysel olarak oluşturdıkları mastit vakalarında SAA seviyesini araştırmışlar ve sütte SAA tespit edilemediğini, mastitli sütte SAA konsantrasyonunun (6-12. saat) serumdaki konsantrasyonundan (12-24.saat) önce yükselmeye başladığını belirtmişlerdir. Diğer taraftan deneysel olarak E.coli enfeksiyonlu mastitisli vakalarda çok yüksek plazma ve serum SAA seviyeleri tespit edilmiştir. Sonuç olarak süt SAA seviyesin mastitiste çok güvenilir bir parametre olduğu vurgulanmıştır. Sığırlar üzerinde yapılan çeşitli araştırmalar stresin de akut faz protein konsantrasyonu üzerinde etkili olduğunu göstermiştir. Taşıma sırasında sığırlarda serum haptoglobin konsantrasyonunun arttığı, fiziksel stres (zemin, ahır şartları) altındaki buzağılarda SAA seviyesi artarken haptoglobinin değişmediği tespit edilmiştir (51). Kan parazitleri ve akut faz proteinleri konusunda yapılan bir araştırma (52), yüksek ve düşük dozlarla Theileria annulata ile enfekte edilen sığırlarda SAA seviyesinin yükseldiği tespit edilmiştir. Etken lenf nodüllerinde şizont formundayken ve ateşin yükselmesiyle birlikte SAA seviyesinde de artış gözlemlenmiştir. Bu süre enfeksiyonun yedinci gününden itibaren başlamış ve SAA' nın en yüksek seviyeleri 9-14 günler arasında belirlenmiştir.

SAA konsantrasyonunun artışı doku zedelenmesinden sonraki 4.saatte başlarken yaklaşık 18. saatte en üst seviyesine ulaşır. Bakteriyel endotoksinler SAA 'nın yangıdaki seyrini belirlemede sıklıkla kullanılmıştır.(53). Akut ve kronik yangıların ayrımı için haptoglobin ile birlikte değerlendirildiğinde hematolojik testlerden daha kullanışlı olduğu belirtilmiştir (54).

2.2.3.2. Fibrinojen

Karaciger mikrozomlarında sentezlenen fibrinojen, fibrin formasyonu için bir substrat sağlaması ve yangısal hücrelerin göçü için bir matriks oluşturarak doku tamirinde rol almasından dolayı hemostaziste önemli rolü olduğu belirtilmiştir (55,56). Spesifik olarak fibrinojen, göç eden fagositlerin hücre yüzeyindeki CD11/CD18'lere bağlanır ve apoptozisin gecikmesine, antikora bağlı hücre sel sitotoksiteye, fagositozis ve granülasyonun artmasına neden olan intraselüler mekanizmaları başlatır (8,39,57). Estravasküler bölgeye geçerek hastalık gelişimini lokalize etmeye yardımcı olur (38).

Fibrinojen eritrosit sedimentasyon hızı ile birlikte, enflamasyon ve doku hasarının takibinde nonspesifik bir belirleyicidir. Disülfid bağlarıyla kovalent olarak bağlanmıştır ve

birbirinden farklı üç çift polipeptit zincirinden oluşmaktadır. Glikoprotein yapıda bir hekzamerdir. Fibrinojenin artış nedenleri arasında; kanser, yanıklar, myokard infarktüsü, artrit ve bakteriyel enfeksiyonlar yer alır (39). Fibrinojen konsantrasyonu, hepatik yetmezliklerde ve fibrinojenin kullanıldığı intravasküler koagülasyon hastalıklarında azalır. Bununla birlikte akut yangının pozitif göstergesi olarak kabul edilir (58). Yangı ya da travmayı takiben düzeyinin %100 ' e yakın arttığı gösterilmiştir (49, 58).

Fibrinojen yüzeysel fagositozu artırarak fibrinöz eksudatların antibakteriyel savunmasına katkıda bulunur. Ayrıca ekstrasvasküler bölgeye geçerek hastalık gelişimini lokalize etmeye yardımcı olur (37). Fibrinojenin artış nedenleri arasında kanser, yanıklar, myokard infarktüsü, artrit ve bakteriyel enfeksiyonlar vardır (39).

Fibrinojen (Fb), sığır ve koyunlarda bakteriyel enfeksiyonlar veya cerrahi travmalara bağlı oluşan yangının varlığını belirlemek amacıyla kullanılan güvenilir bir akut faz proteindir (8). Genellikle enfeksiyöz, irinli, travmatik ve neoplastik hastalıklarda artış gösterir. Aktif kronik hastalıklarda yüksek seviyesi devamlı olurken, akut doku hasarında 3-4 gün içinde en yüksek seviyelerine çıkar ve sonra düşer. Artışındaki derece ile hastalığın şiddeti arasında her zaman direkt bir ilişki yoktur. Hafif ve orta dereceli yangılarda Fb konsantrasyonundaki artış ile lökositazis ve nötrofili arasında ilişki yoktur. Sığırlarda 800 mg/dl üzerindeki artışlar yangıyı gösterirken, 1000 mg/dl üzerinde olması prognozun iyi olmadığını gösterir(38). Bronşiyal obstrüksiyon oluşturulan ve bunun sonucu pneumoni gelişen koyunlarda akut faz proteinleri ile akciğer hasarının izlendiği bir çalışmada fibrinojen konsantrasyonunun istatistiki olarak önemli düzeyde arttığı bildirilmiştir (49). Operasyon yapılan koyunlarda kan örnekleri 14 gün boyunca toplanmış, fibrinojen konsantrasyonun 3. günde kontrol grubundan % 250-400 daha yüksek olduğu bulunmuş ve bu parametrenin koyunlarda enfeksiyon ve yangının izlenmesinde potansiyel kullanım alanı olduğu gösterilmiştir (49). Pfeffer ve ark. (42), koyunlara intratorasik maya enjekte ettikleri bir çalışmada fibrinojen konsantrasyonunun uygulamanın 5. gününde anlamlı derecede yükseldiğini ve bu artışın kontrol grubundan %130 fazla olduğunu göstermişlerdir. Conner ve ark. (57) buzağılarda; *Pasteurella haemolytica*, *Ostertagia ostertagi* ve endotoxin verilmesinden sonra akut faz cevabı belirlemişlerdir. Ok ve Aslan (58) retikuloepitoniitis travmatikalı sığırlarda yapmış oldukları çalışmada fibrinojen seviyesinin 1000 mg/dl veya daha üzerinde olduğunu tespit etmişlerdir. Ganheim ve ark (59) buzağılarda *Dictyocaulus viviparus* ile deneysel oluşturulan enfestasyonlarda, serum Fb, haptoglobin ve SAA düzeylerinde önemli yükselmelerin olduğunu tespit etmişlerdir. Yüksek akut faz protein ile beraber eozinofil sayısındaki artış birlikte değerlendirildiğinde, akut faz proteinlerin akciğer kurtlarının bir göstergesi olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (8).

Buzağılarda Fb seviyesinin prognostik önemi olduğu ve bronkopneumonili buzağılarda plazma Fb seviyesi 800 mg/dl'den yüksek ise prognozun kötü olduğu belirtilmektedir (38).

2.2.3.3. Alfa 1-Asid Glikoprotein (Orosomucoid)

Alfa 1-asid glikoprotein (α 1-AGP), çoğunlukla hepatositler tarafından sentezlenmekle birlikte ekstrahepatik olarak da sentezlenebilmektedir. Lokal AGP'ler ekstrahepatik hücrelerde meydana gelen yangısal süreçle ilgili doku hasarlarını azaltan hemostazisin sürdürülmesine katkı sağlayabilir. Sistemik AGP ilaca bağlanma ve immunmodulasyon gibi iki önemli fizyolojik fonksiyona sahiptir. Serumda heparin, histamin, serotonin ve steroidler gibi endojen veya eksojen maddelerin taşınmasını sağlayan AGP'ler doğal antienflamatuar ajandır. AGP nötrofil aktivasyonunu inhibe eder ve makrofajlar tarafından IL-1 reseptör antagonistlerin sekresyonunu artırır. Alfa 1-asid glikoprotein LPS'ye direkt bağlanarak lipopolisakkaritlerin temizlenmesine ve toksisitenin nötralizasyonuna katkı sağlar (8,60,61).

Alfa 1- asid glikoprotein sığırlarda klinik önemi olan bir akut faz proteini olup yangısal sürecin gözlenmesinde kullanılır (8,61). Sığırlarda deneysel olarak *Theileria annulata* enfeksiyonu oluşturulan bir çalışmada, SAA ve α 1- AGP seviyeleri ile hastalığın şiddeti arasında ilişki ortaya konmaya çalışılmış, sadece α 1-AGP seviyesinin klinik semptomların şiddetiyle ilişkili olduğu belirtilmiştir. Akut faz proteinlerin üretimi ile klinik, hematolojik ve parazitolojik parametreler arasındaki en tutarlı korelasyonun vücut ısısının 39,5 °C'ye yükseldiği ve şizontların tespit edildiği dönemde gözlemlendiği belirtilmiştir (54).

2.2.3.4. C-Reaktif Protein

Karaciğerde sentezlenen bu protein akut hastalıklarda hücre duvarındaki C-polisakkaride bağlandığı için bu ismi olamıştır. C-reaktif proteinin (CRP) şemotaksi ve nötrofillerin yıkımlanmasını engellediği, yangısal cevabın düzenlenmesinde, otoimmunizasyonun önlenmesinde, hasarlı dokuların temizlenmesinde, toksik otojen maddelerin tetoksifiye edilip uzaklaştırılmasında ve enfeksiyonlardan korunmada önemli rol oynadığı belirtilmektedir (62).

C-reaktif protein diğer türlerde kullanıldığı gibi sığırlarda da yaygın olarak kullanılmakla birlikte sığırlarda akut faz proteini olup olmadığı tam olarak aydınlatılmamıştır. Sığırdaki CRP'in karaciğerde sentezlenmesinden ziyade laktasyonla ilişkili olduğu

belirtilmektedir (8). Domuzlarda subkutan terebentin enjeksiyonu sonrasında CRP seviyesinin 48 saat içinde 6-8 kat artmış olduğu belirtilmiştir (63). Sağlıklı hayvanlarda CRP düzeyinin araştırıldığı bir çalışmada (64); ahır şartları, beslenme gibi yönetim sisteminin en iyi olduğu çiftliklerde CRP düzeyi en alt sınırdan tespit edilirken, ahır şartlarının kötü olduğu çiftliklerde ise CRP düzeyinde artma görülmüştür. Aynı çalışmada CRP seviyesinin stres, laktasyon dönemi, gebelik süreci, mastitis ve akut enfeksiyonlarda çeşitli derecelerde yükseldiği belirtilmiştir. Laktasyondaki sağlıklı ineklerde CRP seviyesi 3-4 kat, mastitis vakalarında 100 kat, akut enfeksiyonlarda 295 kata kadar yükseldiği ifade edilmiştir. CRP sığırlar için bir akut faz protein olarak bildirilmemesine rağmen mastitis indikatörü olarak test edilmiştir (65). Enfeksiyöz hastalıkların klinik semptomları ortaya çıkmadan önce, enfeksiyöz faktörlerin varlığında CRP düzeyinin arttığı belirlenmiştir. Bu yüzden CRP'in sürü sağlığının değerlendirilmesinde ve hastalıkların erken izlenmesinde kullanışlı olabileceği belirtilmiştir (64). Kolostrumla beslenen yeni doğan buzağılarda, kolostrum almadan önce ve kolostrum aldıktan sonra CRP düzeyleri araştırılmış ve kolostrum aldıktan bir gün sonra serum CRP düzeyinin kolostrum almadan önceki düzeyden önemli derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir. CRP bireysel dirençte etkili bir komponent olarak değerlendirilmiştir. Sığırlarda özellikle de yeni doğan buzağılarda bazı mikroorganizmaların elimine edilmesinde ve immün savunmada CRP'in yardımcı bir faktör olduğu belirtilmiştir (66).

2.2.3.5. Seruloplazmin

Seruloplazmin (Cp), bakır içeren bir ferrokسيدaz olup, demir orjinli serbest radikallere karşı dokuları korumada görev alır. Tek bir polipeptid zincirinden oluşan ve bir α_2 -globulin olan seruloplazmin molekül başına altı bakır atomu bağlamaktadır (19). Yapısındaki bakır atomlarından dolayı saf protein mavi renklidir ve adını bu özelliğinden alır (67). Seruloplazmin toksik ferro demirin, toksik olmayan ferri demire oksitlenmesini sağlar (33). Seruloplazmin demirle ilişkili serbest radikal yaralanmalardan dokuları korumakta, çeşitli antioksidatif ve sitoprotektif olaylarda da görev almaktadır (8). Seruloplazmin plazmada antioksidan olarak görev yapmaktadır. Organik bileşiklerin oksijen ile kendiliğinden oksidasyonu sonucu oluşan, yaşam için tehlike oluşturan bileşikler, plazma ve dokularda bulunan antioksidanlar tarafından ortadan kaldırılmaktadır. Seruloplazmin'in sentezi bakır atomları tarafından stimule edildiği gibi akut faz protein olarak bazı hastalıklarda seruloplazmin seviyesi yükselmektedir (33). Pek çok antioksidan maddenin yapısında ve sitoprotektif aktivitelerde görev alan Cp, büyük ölçüde karaciğer tarafından sentezlenmekle

beraber ekstrahepatik olarak da sentezlenebilmektedir. Akciğerdeki temel kaynağının hava yolu epitelyumları olduğu ve endotelyuma bağlanan nötrofil sayısını azaltarak antienflamatuvar etkinlik gösterdiği belirtilmektedir (68,69).

Seruloplazminin, plazmada bakır taşıyan bir protein olup olmadığı tartışmalıdır. En önemli görevinin bakır vericisi olduğu düşünülmektedir (29,60,70). Plazma bakır içeriğinin %95'i diyalizle ayrılamayan bir formda seruloplazmine bağlı şekilde, kalan %5'lik kısım ise diyalizle ayrılabilir formda albümin ve histidin ile bağlı şekilde bulunur. Bakırın karaciğer ve barsak arasındaki taşınmasında bu diyalizle ayrılabilen formunun rol oynadığına inanılır (29,60).

Seruloplazmin organizmada bir antioksidan olarak görev yapar. Spontan olarak oluşan oksidasyon ürünleri pek çok organik madde ile reaksiyona girer ve yaşam için tehlikeli olabilir, fakat dokularda ve plazmada bulunan antioksidanlar bu zararı engeller. Seruloplazmin serbest oksijen radikallerinin oluşumunu ve lipid peroksidasyonunu engeller (19,60,70).

Seruloplazmin, diğer akut faz proteinlere göre daha yaygın olarak teşhiste kullanılmaktadır. Seruloplazminin akut faz yanıt sırasında konsantrasyonu artar ve bu artış % 50'ye ulaşmaktadır (34,60,70). Yangıyı izleyen 3. günden itibaren yükselmeye başlar ve 4. günde pik seviyeye ulaşır (71, 72). Bazı araştırmalarda (19, 73), bu feroksidaz sığırlarda enfeksiyonun bir belirteci olarak değerlendirilmiştir. Conner ve ark. (59), sığırlarda yaptıkları bir çalışmada deri altı turbentin enjekte ederek lokal yangı oluşturmuşlar ve serum seruloplazmin düzeylerini belirlemişlerdir ve 72. saatten itibaren seruloplazmin konsantrasyonunun arttığını bildirmişlerdir. Buzağılarda Salmonellosis enfeksiyonunda Cp düzeyinin ilk üç gün arttığı ve dördüncü günde en yüksek seviyesine ulaştığı belirtilmektedir (8). Koyunlarda maya enfeksiyonlarında da seruloplazminin dört kat arttığı belirtilmiştir (61). Pfefer ve ark. (42), intratorasik maya enjekte ettikleri koyunlarda akut faz proteinlerini inceledikleri bir çalışmada serum seruloplazmin konsantrasyonunun uygulamayı takiben 1. günde anlamlı derecede yükseldiğini ve bu yüksekliğin uygulamadan sonraki 5. günde serum haptoglobin ve fibrinojen düzeyinden daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Bronşiyal obstruksiyon oluşturulan ve bunun sonucu pneumoni gelişen koyunlarda akut faz proteinleri ile akciğer hasarının izlendiği bir çalışmada serum seruloplazmin konsantrasyonunun istatistikî olarak önemli düzeyde arttığı bildirilmiştir (74).

Auer ve ark. (75) atlarda yaptıkları bir çalışmada lokalize doku hasarını takiben plazma akut faz proteinleri konsantrasyonlarını incelemişler ve plazma seruloplazmin

konsantrasyonunun doku hasarı oluşumundan sonra maksimum 24 saatte anlamlı derecede yükseldiğini göstermişlerdir. Atlarda yapılan bir başka çalışmada deri altı yolla turbentin injekte edilmiş ve üç haftalık dönem boyunca kan örnekleri toplanarak seruloplazmin düzeyleri belirlenmiştir. Serum seruloplazmin düzeylerindeki artış kontrol grubuna göre istatistikî anlamda önemli bulunmuştur (76).

2.2.3.6. Inter Alpha Trypsin Inhibitör Heavy Chain 4 (ITIH4)

Bu protein son yıllarda sığırlarda belirlenmiş olup 120 kda moleküler ağırlığında olan bir AFP'dir. Sığırlarda *F. Necrophorum* ve *A. pyogenes* gibi bakteriler ve BRSV virusu ile yapılan deneysel infeksiyonlarda kan konsantrasyonunun önemli derecede arttığı saptanmıştır (77).

2.2.4. Akut Faz Proteinlerinin Biyolojik Fonksiyonları

Akut faz proteinlerinin bilinen fonksiyonları ile ilgili bilgiler gün geçtikçe artmakta ve yeni fonksiyonları keşfedilmektedir (13, 33).

Serum amiloid A ailesi üyeleri yüksek dansiteli lipoproteinlerin bir foksionuna bağlı olarak bulunan küçük apolipoproteinlerdir (13,78). SAA ailesi üyesi proteinlerin yangısal durumlarda kolesterol metabolizmasının düzenlenmesinde görevli olduğu düşünülmektedir (13).

Akut faz yanıt sırasında plazma konsantrasyonları artan ve metal bağlayan proteinler arasında haptoglobin ve seruloplazmin bulunmaktadır (4). Haptoglobin demiri bağlamakta ve böylece demir kaybını önlemektedir. Demir kullanımındaki bu azalma, mikrobiyel gelişim için demirin gerekli olması nedeniyle dirençli bakteriyel enfeksiyonların engellenmesi açısından önemli bir durumdur (4). Bakır Cp'in önemli bir kısmıdır, bakır yetmezliği durumlarında Cp konsantrasyonları artış göstermektedir (79).

Hp temel fonksiyonu Hb bağlayabilme yeteneği ve Hp-Hb kompleksini karaciğere taşıma özelliği olduğu düşünülmektedir. Bundan dolayı intravasküler hemolizde AFC'ın devam etmesine rağmen Hp düzeyleri belirgin derecelerde düşebilmektedir (80). Bu nedenle Hp gösterdiği reaksiyon intravasküler hemoliz durumlarında diğer yangısal durumlardan farklıdır. Hp'in immunolojik fonksiyonlarda immun sistemi baskılayıcı görevleri bulunduğu da düşünülmektedir (81). Hp ayrıca eritrosit agregasyonunda (82) ve sinirsel depresyonda (83) da görev almaktadır.

2.2.5. Akut Faz Proteinlerin Klinik Kullanımı

İnsan hekimliğinde sık kullanılan ve veteriner hekimlikte giderek artan oranda kullanılan bu proteinlerin düzeylerinin izlenmesi infeksiyonların ve yangı lezyonların belirlenmesinde değerli katkılar sağlar (35). Sağlıklı hayvanlarda AFP'lerin konsantrasyonu çok düşük konsantrasyonlarda olup yangı, infeksiyon veya neoplastik büyüme durumunda konsantrasyonları hızlı bir şekilde yükselmektedir. Bununla birlikte bazı AFP'lerin konsantrasyonlarının çevre faktörleri ve stresten de etkilendiği bildirilmektedir (2,13,84). Doku hasarında artan akut faz proteinlerinin belirlenmesi yangının tanısının yapılmasına yardımcı olur (2,45,51,59,85,86). Akut faz proteinleri kanın hücresel bileşenlerinden daha stabildir ve geçici fizyolojik değişikliklerden az etkilenir. Deneyler dondurulmuş serum örneklerinden yapılabilir. Akut faz proteinlerinin belirlenmesi doku travmalı ya da yangılı hayvanın izlenmesi kadar tedaviye verilen yanıtın izlenmesinde de kullanılabilir (80). Ayrıca akut faz proteinlerinin, et kontrolü açısından kesimden önce ölçülmesi infekte karkasın ortaya çıkarılmasında yarar sağlar (2,85).

AFP'lerin plazma veya serum düzeylerinin saptanması hastalıkların teşhisi ve izlenmesi yanında hastaların prognozunun belirlenmesi açısından da oldukça faydalıdır (8,87). Özellikle AFP'lerin ölçülmesi infeksiyonun bakteriyel veya viral ayrımının yapılması ve uygulanacak antimikrobiyel tedavinin yönlendirilmesi bakımından önemlidir. Ayrıca AFP'ler nonspesik markırlar olarak bireysel veya sürü taramalarında klinik ve subklinik hastalıkların, akut ve kronik hastalıkların ayırıcı tanısında, aşılardan etkinliğinin araştırılmasında kullanılmaktadır (2,13,85,88-90). Bu amaçla kullanıldığında tanıyı güçlendirmekte ve hasta hayvanların prognozunu belirlemede daha doğru bilgiler sunmaktadır. AFP'ler aynı zamanda yangıların ve yangı süreçlerinin belirlenmesi, takibi ve ayrımında da kullanılmaktadır (2,13,88). Ayrıca AFP'ler süt kalitesinin belirlenmesinde de kullanılabileceği (91) gibi AFP'lerin bir kısmı stresin belirlenmesinde, bakım, beslenme ve barınmadan kaynaklanabilecek sürü ve hayvan sağlığı problemlerinin saptanmasında kullanılabilmektedir (92). Bunlara ek olarak yapılan çalışmalarda hayvanlar arasında AFP'lerin bireysel farklılık gösterdiği ve bununla infeksiyona karşı gelişen dirençten kaynaklanabileceği bildirilmektedir. Dirençli olan hayvanların daha yüksek düzeyde AFP ürettiği belirlenmiş olup bu nedenle de AFP'lerin nonspesifik direnç markırı olarak kullanılabileceği ifade edilmiştir (93). İlave olarak son yıllarda pozitif ve negatif AFP'ler kullanılarak çeşitli indeksler hazırlanmış olup bu indekslerin hayvanların beslenme durumları, normal ve hasta hayvanların ayrımı, hastalıkların tanısı, süreci ve hasta hayvanların iyileşme süreçlerinin takibinde kullanılabileceği öne sürülmektedir (94-98).

Akut Faz Proteinlerinin kullanım alanları türlere göre değişmekle beraber, veteriner hekimlikte; pet hekimliğinde, çiftlik hayvan hekimliğinde, araştırma yapmak amacıyla deney hayvanlarında kullanılırlar. Türler özgül temel AFP'lerin ölçülmesiyle teşhiste, prognozda ve uygulanan tedavinin etkinliğinin gözlenmesinde önemli bilgiler sağlayacaktır. Fakat hastalığın dönemi (akut veya kronik) birden fazla AFP'lerin ölçülmesiyle daha iyi değerlendirilebileceği vurgulanır (99). Son 10 yıldır yapılan araştırmalar plazma veya serumdaki AFP konsantrasyon seviyelerinin hastalığın gözlenmesinde, prognozunda ve tespitinde önemli diagnostik bilgiler sağlandığı gözlenmiştir (53). AFP'lerin veteriner sahada kullanım alanları Tablo 4'de kısaca özetlenmiştir.

Tablo: Akut faz proteinlerin veteriner sahada kullanım alanları (100)

Klinik diagnostik önemi	Subklinik infeksiyonların belirlenmesi Hastalığın şiddetinin belirlenmesi Bakteriyel ve viral hastalıkların ayırıcı tanısı
Prognostik önemi	Antiinflamatorik tedavisi, Antimikrobial tedavi Antiparasiter tedavi, Cerrahi tedavi takibi
Et muayenesindeki önemi	Latent ve subklinik infeksiyonların belirlenmesi Hastalık şiddetinin belirlenmesinde markır olarak kullanılması
Medikal çalışmalarda önemi	Patogenetik çalışmalar, Patofizyolojik çalışmalar Farmakolojik çalışmalarda kullanılması
Hayvan sağlığının belirlenmesindeki önemi	Stres indikatörü olarak kullanılması
Direnç belirlemede nonspesifik markır olarak Önemi	Malarya, Babesiosis, Trypanosomiasis, Streptokokkal infeksiyonlarda direnç Belirleme

2.2.6. Haptoglobin

Kan dolaşımında serbest olarak bulunan hemoglobini taşımakla görevli alfa 2-globülin grubundan serum proteindir. Haptoglobin ilk kez Polonovski ve Jayle tarafından (101-103) 1938'de saptanarak isimlendirilmiştir. Hp serum protein elektroforezinde α -2 bandında yer alan ve güçlü hemoglobin bağlama kapasitesi olan bir glikoproteindir.

Haptoglobin, immunoglobulinlere benzer şekilde disülfid bağı ile bağlı iki hafif- α ve iki ağır β zinciri içeren simetrik yapıda bir sialoglikoproteindir (103-105)

Haptoglobin 125 kDa molekül ağırlığında α 2- globin yapısında olup α zinciri (16-23 kDa) ve β zinciri (35-40 kDa) olmak üzere 2 alt ünitelerden oluşan bir AFP'dir. Sığır serumunda Hp ile Albumin birlikte 1000 ile 2000 kDa moleküler ağırlığında bir polimer şeklinde bulunur (106). Yarı ömrü dört gün olup Hb ile bağlandığında retiküloendotelial sistem tarafından yakalanır (107). Hp sağlıklı sığırların serumunda bulunmamakta veya çok az düzeyde (< 0.1mg/ml) bulunmaktadır (19). Haptoglobinin birçok fonksiyonu bulunmakla beraber esas fonksiyonu kandaki serbest Hb ile stabil kompleksler oluşturarak dolaşımdan temizlenmesi (108) suretiyle Fe kaybının önlenmesidir. Hp-Hb kompleksi retikuloendotelial sistem hücreleri tarafından karaciğere taşınıp kuppfer yıldız hücreleri tarafından metabolize edilmektedir. Hp serbest demirin karaciğere taşınmasını sağladığından bakterilerin serbest Fe'i kullanmasını da engelleyerek bakteriyostatik etki göstermektedir (109). Bununla birlikte Hp yangı bölgesindeki nötrofillerden salınan peroksitleri hidrolize ederek zararsız hale gelmesini sağlar. Sığırdaki Hp lipid metabolizmasının regülasyonunda ve lenfosit fonksiyonlarında immunomodülatör olarak görev yapmaktadır. Bu özelliğinden dolayı Hp konsantrasyonu buzağuların immun fonksiyonlarını izlemeye kullanılabileceği bildirilmektedir (83, 110). Ayrıca Hp'in prostaglandin sentezini de düzenlediği rapor edilmiştir (46).

Hp birçok türde çalışılan önemli bir AFP olmakla birlikte serum konsantrasyonu AFC dışında diğer faktörlerden de etkilenmektedir. Örneğin dolaşımdaki serbest Hb düzeyinin arttığı durumlarda Hb, Hp'yi bağlar ve oluşan kompleks karaciğere taşınarak burada ortadan kaldırılır. Bu durumda Hp üretimi yangı ile uyarılsa bile mevcut Hp'i Hb bağladığı için dolaşımdaki düzeyi düşük olarak görülecektir. Bu nedenle serumda serbest Hb konsantrasyonu arttığı durumlarda serum Hp miktarı azalmaktadır. Buna en iyi örnek sığırdaki babeziozis'de oluşan akut hemolitik kriz esnasında ve atta post şırıjikal hematomda Hp'nin dolaşımda bulunmamasıdır. Renal hastalıklar ve tıkanma sarılığı gibi durumlarda ise serumdaki Hp düzeyi artmaktadır (13).

Sığırdada doğal ya da deneysel olarak oluşturulan yangı, infeksiyon veya travmadan sonra serum veya plazma Hp konsantrasyonu artmaktadır (111-113). Yapılan çalışmalarda sığır Hp'nin bakteriyel (50) ve viral (113) hastalıkların tanısında oldukça önemli bir bulgu olduğu ve bu hastalıklarda plazma düzeylerinin önemli derecede arttığı ortaya çıkarılmıştır. Örneğin, sığırlarda Hp düzeyinin *bovine respiratorik sinsityal virus* (111) ve şap virusu (113), *herpes virus 1* ve *P. hemolytica* serotip A1 (114) ve *P. multocida* (115) ile enfekte hayvanlarda arttığı belirlenmiştir. Bu artış ile klinik semptomların şiddeti, semptomların görüldüğü süre ve ateş arasında bir ilişki belirlenmiş olup antibiyotik uygulanan hayvanlarda Hp seviyesinin ise düştüğü saptanmıştır (13). Ayrıca Hp'nin sığırlarda metritisin erken teşhisinde yararlı bir AFP olduğu bildirilmektedir (116). Yapılan çalışmalarda Hp'in SAA ile birlikte değerlendirildiği durumlarda akut ve kronik yangıların ayırıcı tanısının yapılabileceği belirlenmiş ve ayrıca bu proteinin viral ve bakteriyel hastalıkların ayırımında önemli bir markır olduğu rapor edilmiştir (76). Bunlara ek olarak doğum sırasında (117,118), kastrasyondan sonra (119), travmatik retikülitis ve travmatik peritonitislerde (120,121) rumenotomi operasyonundan sonra (108), solunum yolu infeksiyonlarında (117) ve mastitisde (122) Hp düzeyinin arttığı belirlenmiştir.

Yapılan çalışmalarda ayrıca Hp'nin karaciğer yağlanmasında (46) arttığı ve bu nedenle hepatik lipidozis için indikatör olabileceği bildirilmektedir. Deignan ve ark. (65) tarafından yapılan bir araştırmada Hp konsantrasyonun hastalığın şiddetiyle orantılı olarak değiştiği ve bu nedenle Salmonella'lı buzağılarda infeksiyon şiddetinin belirlenmesinde yararlı bir indikatör olarak kullanılabileceği rapor edilmiştir. Bununla birlikte Skinner (50) tarafından yapılan bir başka araştırmada ise Hp'nin sığırlarda hipokalsemi ve ketozis olgularında konsantrasyonun değişmediği bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarda Hp kan konsantrasyonunun hastaların prognozu ve yangı şiddetiyle ilişkilendirilebileceği öne sürülmüştür (50). Örneğin Eckersall (19) sığırlarda Hp düzeyinin 0,1-1,0 g/L olduğunda prognozun iyi, konsantrasyonun >1,0/g/L olduğu durumlarda ise olumsuz olduğunu belirtmiştir. Skinner ve ark (97) tarafından yapılan bir başka çalışmada ise Hp konsantrasyonunun > 0,4 g/L olduğunda şiddetli akut bakteriyel infeksiyonu, konsantrasyonun > 0.2 g/L ise orta veya hafif şiddette infeksiyonu gösterdiği rapor edilmiştir . Ayrıca yavaş kilo alan hayvanlarda Hp konsantrasyonun daha hızlı kilo alanlara göre yüksek olduğu belirlenmiş ve bu proteinin sürülerin sağlık taramalarında faydalı olabileceği bildirilmiştir (90). Bununla birlikte sığırlarda bağırsak parazit enfestasyonlarında Hp konsantrasyonunun değişken olduğu belirlenmiştir. Sığırlarda doğal parazit enfestasyonlarda

Hp konsantrasyonunda artışın olmadığı buna karşın deneysel parazit enfestasyonlarında ise sınırlı bir artışın olduğu saptanmıştır (50).

Atlarda doğal (123-124) ve deneysel (125) oluşturulan hastalıklarda, kastrasyon gibi cerrahi operasyonlarda (123), non-enfeksiyöz yangıyla seyreden arthritis (124) ve aşırı karbonhidrat alınımlı sonucu oluşan laminitiste (125) Hp konsantrasyonunun arttığı belirlenmiştir. Ayrıca yapılan çalışmalarda Hp'in çayır tetanisinde (126) arttığı halde atlarda influenza ve tetanoza karşı yapılan aşı uygulamalarından sonra (13) ise konsantrasyonunun artmadığı bildirilmektedir. Hp'nin ahırda beslenen saf kan atların viral infeksiyonlarının belirlenmesinde bir indikatör olabileceği saptanmıştır (123). Ayrıca *Strongylus vulgaris* infeksiyonun göç evresinde Hp konsantrasyonu arttığı bildirilmiştir (87). Kastrasyonun komplikasyonu olarak gelişen skrotum infeksiyonunda (123) Hp konsantrasyonu pik yaptığı saptanırken kolikli atlarda (126) ise Hp konsantrasyonunun değişmediği rapor edilmiştir.

Koyunlarda yapılan çeşitli çalışmalarda Hp'nin bakteriyel infeksiyonlarda (51) ve dystocia olgularında (127) yararlı ve duyarlı bir indikatör olduğu öne sürülmüştür. Skinner ve ark.'nın (51) yaptığı bir çalışmada enteritis, arthritis, listeriozis, pastörellozis, paratüberkülozis ve *Actinomyces pyogenes* infeksiyonunda Hp konsantrasyonunun yükseldiği ve koyunlarda bu proteindeki artışın akut infeksiyon ve yangının belirlenmesinde duyarlı bir indikatör olduğu bildirilmiştir. Ayrıca Hp'nin koyunlarda yapılan deneysel intratorasik mantar infeksiyonlarından dolayı oluşan üretim kaybının belirlenmesinde yararlı bir indikatörü olduğu saptanmıştır (42). Ulutaş ve ark. (128)'da yaptıkları bir çalışmada miks helmint infeksiyonlu keçilerde Hp, SAA ve Cp konsantrasyonunun arttığı bildirilmiştir.

İn vivo hemoliz tanısında kullanılan bir akut faz proteinidir. Akut ve kronik inflamasyonlar, neoplastik hastalıklar, kortikosteroid tedavisi ve bilier obstrüksiyonlarda serum Hp seviyesi artarken, in vivo hemoliz (hemoglobinopatiler, eritrosit membran defektleri, otoimmün hemolitik hastalıklar, mekanik hemoliz, hipersplenizm), karaciğer hastalıkları, östrojen tedavisi, gebelik ve oral kontraseptif kullanımı ile Hp seviyesi düşer

Eritrositlerin parçalanması sonucu açığa çıkan hemoglobin'le birleşme yeteneği taşıyan, bir grup serum alfa, globulini; haptoglobin (Birkac tipi bulunan haptoglobin, serbest hemoglobin ile bağlanma sonucu hemoglobin haptoglobin kompleksi oluşur. Bu kompleks, iriliği nedeniyle böbrek glomerullerinden geçemez; sonuçta hemoglobin'in içerdiği demir, vücut tarafından korunmuş olur).

Haptoglobin, çifttırnaklı hayvanlarda da bulunan ve çeşitli durumlarda primer özellik gösteren önemli bir akut faz (AFP) proteinidir. Akut faz reaksiyon genellikle yangı, enfeksiyon, yanık ve travma sonucu oluşan doku hasarları ve tümörlere karşı organizmanın nonspesifik bir savunma mekanizmasıdır (76,129-132). Sağlıklı hayvanların serumlarında Hp düzeyleri çok düşük veya hiç bulunmazken, yangısal süreçte önemli miktarlarda artar (133). Sığırlarda mastitis, karaciğer apseleri pyometra, travmatik retikülitis, travmatik perikarditis, paraziter, viral ve bakteriyel enfeksiyonlarda arttığı bildirilmiştir (134,135). Koyunlarda ise viral ve bakteriyel enfeksiyonlar için önemli bir parametre olduğu bildirilmiş (13), aynı zamanda yangısal hastalıklara bağlı üretim kayıplarının belirlenmesinde kullanılabileceği ortaya konulmuştur (42). Ayrıca nonenfeksiyöz durumlar, uzun nakiller, hayvanların kapalı alanlarda barındırılması, açlığa maruz kalma gibi stres durumlarında da AFP düzeylerinin artabileceği belirlenmiştir (13,134,135). Uchida ve ark. (135) sağlıklı ineklerde doğum öncesi ve sonrası Hp düzeylerini karşılaştırdıkları çalışmalarında, doğum sonrasında doğum öncesine göre Hp düzeylerinin önemli ölçüde arttığını bildirmişlerdir. Fakat koyunlar üzerinde özellikle doğum öncesi Hp düzeylerinin karaciğer yağlanması ile ilişkilerinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır.

2.3. Gebelik Toksemisi

2.3.1. Etiyoloji:

Gebelik Toksemisi koyunlarda çoğunlukla gebeliğin son döneminde olduğu bildirilen metabolik bir bozukluktur (136-138). Geç gebelik, şişmanlık, ikiz veya tekli büyük gebelikler koyunlar için önemli risk faktörleridir. Ayrıca; dar ve kapalı alanlarda uzun süre kapalı bırakılma, gebelik döneminde ketojenik etkili silaj ile besleme, yaşlılık, ani yem değişiklikleri, rumen volümünde azalma gibi faktörler de diğer risk faktörleri arasında belirtilmektedir (136). Fırat ve Özpınar (136) dengeli rasyonla beslenen gebe koyunlarda GT gibi metabolik bozuklukların oluşmayacağını rapor etmişlerdir. Bu bozukluk entansif koyun yetiştiriciliği yapılan yerlerde görülmektedir. Mera koyunculuğunda görülmez. Ayrıca ani gıda değişimleri ile hava şartlarındaki değişikliklerde hastalığı tetikler. Bu problem birkaç hayvanda birkaç hafta süresince görülen bir sürü problemi olarak da ortaya çıkabilir. Sürülerdeki salgınlar rapor edilmiştir (139). Ferris ve ark. (140) çevre şartlarının değiştirilmesi sonucu oluşturulan stres ve gıdanın azaltılması ile gebeliğin son döneminde gebelik toksemisini indükleyebilmişlerdir. Lacetera ve ark. (141) subklinik GT vakalarında

immun sistemin de olumsuz yönde etkilendiğini, hücrel ve humoral bağışıklığın engellenebildiğini belirlemişlerdir.

2.3.2. Patogenezi:

Ruminantlar da laktasyona adaptasyonu yağ dokularından NEFA (Esterleşmemiş Yağ Asitleri) mobilizasyonunu artırarak sağlarlar. Dolaşımdaki NEFA'lar özellikle enerji temini için ve meme bezleri tarafından yağ sentezinin prekürsörü olarak kullanılırlar (142,143). Ruminantlarda gebeliğin devamı ve laktoz üretimi için glukoneogenezis mekanizmasına bağlı olarak NEFA'ların artırılmış kullanımı oldukça önemlidir. Plazma NEFA düzeyindeki artış; Büyüme Hormonu (GH), İnsülin, glukokortikoid ve kateşolaminler gibi steroid hormonlarındaki değişikliklerle ve bu hormonlara hedef hücrelerinin verdiği yanıtta değişikliklerle ilişkilidir (144,145). Gebeliğin sonlarında İnsülin konsantrasyonunda tedrici bir azalma (146) ve periferik dokularda kısmen büyüme hormonu konsantrasyonunun artması nedeniyle gelişen İnsülin direnci (İD) söz konusudur (144). Wallace ve ark (147), Büyüme hormonu enjekte ettikleri gebe koyunlarda; insulin, insulin-like growth factor (IGF-1), glucose, ve esterleşmemiş yağ asitlerinin daha yüksek olduğunu ortaya koymuşlardır. İnsülin direnci dokunun İnsuline karşı cevabının değişmesi (sensitivite) ya da İnsulinin glukoza karşı cevabının değişmesi (hassasiyet) olarak tanımlanmaktadır. Sığırlarda İnsülin direnci yıllardır belirtilmektedir (148). Sığırlarda serbest yağ asitleri ve insülin direnci arasındaki ilişkiyi belirlemek amacıyla intravenöz trigliserid infüzyonunun etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, TG miktarında artış, NEFA miktarında artış, glikoz kullanımında azalma ve İnsülin direnci ile sonuçlanmıştır (143). Glikoz infüzyonuna insülinin cevabı postpartum dönemde prepartuma göre daha küçüktür. Postpartum dönemde gözlenen azalmış glikoz klirensi intravenöz glikoz tolerans testi (IVGTT) esnasında plazmada çok düşük seyreden insülin nedeniyle veya diğer bazı muhtemel faktörlerin ID gelişmesindeki rollerinden kaynaklanabilir. ID glikozun idareli kullanımını, adipoz dokularından lipolizisin artışını, oksidasyon ve süt yağının sentezi için artmış NEFA kullanımını teşvik eder (132). Plazma NEFA düzeyi gebeliğin son 2 haftası esnasında tedrici olarak artar ve buzağılama esnasında pik düzeyine ulaşır (149). Geç gebelik esnasında özellikle son hafta esnasında gıda alımındaki azalma, buzağılamada negatif enerji dengesine (NED) yol açar (146). Ruminant olmayan türlerde hem kısa hem de uzun süreli plazma NEFA düzeyindeki artışlar karaciğer ve kaslarında ID ne neden olur. Çünkü NEFA ve Triasilgliserol metabolizması, uzun zincirli asil-koenzim A'nın ve diasilgliserolün hücre içi kullanımını artırdığı için bu metabolitler insulin reseptör sinyal akışını engeller (150). Böylece İnsülinin hormona duyarlı lipazı inhibe etme ve

yağ dokularından NEFA salınımını baskılama etkileri engellenmiş olur. Adipoz dokularının (3T3-L1 cell line) sadece 300 $\mu\text{Eq/L}$ palmitat ile 4 saat inkübasyonu İD indüklemek için yeterlidir (151). Aynı şekilde 300 $\mu\text{Eq/L}$ linoleik asitte İD ni indüklemiştir (152). Periparturient süt ineklerinde NEFA lar 1000 $\mu\text{Eq/L}$ den daha fazla artar. Daha fazla İD, daha fazla oranda vücut rezervlerinin tüketilmesine ve metabolik hastalıkların oluşmasına zemin hazırlar. Prepartal dönemde aşırı besili olan ve buzağılamada vücut kondüsyon skoru yüksek olan (> 4) ineklerde; İV glikoz infüzyonlarına daha büyük oranda İnsülin cevabı göstermelerine rağmen yüksek NEFA düzeylerini sürdürmüştür (153). Bu sonuçlar aşırı vücut kondüsyon skoru, yükseltilmiş NEFA ve ID arasında çok sıkı bir ilişkiyi işaret etmektedir (154).

Koyunların GT'nin patofizyolojisinde sığırlardan farklı olarak, İD ve glikoz metabolizmasının yeterince tanımlanmadığı belirtilmektedir (137). Klinisyenler ve hayvan besleme uzmanları; ortak bir yargı olarak; gebeliğin sonlarındaki koyunların glikoz homeostatik mekanizmalarının bozulması ile gebelik hastalıklarını başlatan metabolik olayların oluşabileceği teorisini ortaya koymuşlardır (140). Buna rağmen bu teori yalnız başına geç gebelik esnasındaki koyunlarda neden çok düşük kan glikoz düzeylerinin geliştiğini açıklamakta yetersiz bulunmaktadır. Bazen ketonemi ve ketonüri ile klinik belirtiler ilişkilendirilebilmektedir. Aynı zamanda basit hipoglisemi, iğdiş edilmiş koçlarda ve gebe olmayan koyunlarda deneysel oluşturulan gebelik toksemisi benzeri belirtileri açıklamakta da başarısız olmaktadır (155). Glikoz dengesindeki bireysel farklılıklardan dolayı gebelik toksemisine duyarlı ve dirençli hayvanların olabileceği belirtilmektedir. Araştırmacılar duyarlı hayvanların insülin direnci formunda engellenmiş insülin fonksiyonuna sahip olabileceğini belirtmişlerdir. İnsülin dirençli hayvanlar, insüline duyarlı hayvanlara göre glikoz dengesini tam olarak düzenleyemedikleri için, özellikle gebeliğin sonlarına doğru gebelik toksemisine daha yatgın olmaktadır. Gebelik toksemisine duyarlı bireylerde engellenmiş intravenöz glukoz tolerans testleri, insanlardaki diyabetes mellitus ve süt ineklerindeki Tip II ketozis ile benzerlik olabileceğini göstermiştir (156). Ayrıca İnsülin direnci veya duyarlılığındaki genetik farklılıkta sürülerdeki geniş varyasyonları açıklayabilir.

Yukarıdaki literatürler ışığında açıklanmaya çalışılan insülin direnci kavramı sığırlarda uzun yıllardır bilinmekte ve üzerinde hala çalışılmaktadır. Bununla birlikte koyunların gebelik toksemisi ve İD arasındaki ilişki hakkındaki bilgiler sınırlıdır (157,158). Gebeliğin son bir ayı süresince ve gebelikten sonraki dönemde İD koyunlarda belirlenmemiştir. Hastalığın tedavi bölümünde bahsedildiği gibi tedaviye çoğu zaman yanıt alınmaması, sezaryan operasyonu

yapılsa dahi tedavi oranlarının düşük olması elektrolit dengesizliği ve metabolik asidozisin yanısıra ID'ne de bağlanabileceğini düşündürmektedir.

2.3.3. Klinik Bulgular:

Klinik Bulgular; sinirsel ve diğer bulgular şeklinde ikiye ayrılır. Sinirsel belirtiler sığırlardaki ketozisin sinirsel belirtilerine benzerdir, körlük ve tavır-davranış bozuklukları oluşur. Kafa düşük ve dönme hareketleri ile otururken yıldız sayma hareketleri yapabilir. Tremor ve konvülsiyonlar oluşabilir. Depresyon, ataksi ve inkoordinasyon tabloları da bulunabilir (158,159). Diğer belirtiler ise koyunlarda konstipasyon, dış gıcırdatma, nefeste keton-aseton kokusu. Son dönemlerde koyunlar yatar ve koma hali alırlar ve 4-7 gün içinde ölüme sürüklenirler. Jeffrey ve Higgins (160) koyunlarda doğal olarak oluşan Gebelik toksemisi vakalarında beyin lezyonları içerisinde astrositik nükleer şişme, hipertrofi proliferasyon, serebrokortikal nekroz, Purkinje hücre nekrozisi, serebral and serebellar sub-kortikal beyaz maddenin vakuolleşmesini belirlemişlerdir. Kuzulama dönemindeki koyunlar için güç doğumlar bir göstergedir. Gebe koyunlarda fötusun ölmesi ve kokuşması sonucunda toksemi nedeniyle ölümler oluşabilir (161). Koyunlarda karaciğer fonksiyonları da oluşan lipidozis nedeniyle şekillenebilmektedir. Kronfeld ve Raggi (162) aç gebe koyunlar ile doğal gebelik toksemisi vakalarında karaciğerdeki nicotinamide koenzimlerinin azaldığını belirlemişlerdir. Wastney ve ark. (163) gebelik toksemisinin azalmış hepatik glukoneogenezis ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir. Ani gıda değişimi gibi nedenlerle oluşan anoreksi veya açlık periyodları yan nedenlerdir. Gebelik döneminde beslenme planlarındaki kademeli geçişler önde gelen sebepleri oluşturur. Bu bozukluk kötü beslenen hayvanların bir bozukluğu değildir, fakat sıklıkla iyi besili ve son dönemlerde gıda tüketiminde bir azalma oluşan koyunların bir hastalığıdır (157). Anoreksi ve açlık sonucunda bir hipoglisemi ve hiperketonemi tablosu oluşur. Klinik görüntü hipoglisemik ensefalopatiyi işaret eder. Son dönemlerde üremi gelişir ve durumu daha da kötüleştirir. Etkilenen hayvanların büyük çoğunluğunun gebeliğin son 2 veya 3. haftalarında oldukları görülmektedir. Bir koyun sürüsünde salgınlar olduğu zaman morbiditenin % 5-20 arasında olduğu; bununla birlikte özellikle tedavi edilmeyen bireylerde mortalite oranlarının % 80' i aştığı ve önemli ekonomik kayıpların olduğu bildirilmektedir (164). Hastalığın ortaya çıkışı, fötüsün gelişimine bağlı olarak artan enerji ihtiyacını gebe koyunun tam anlamıyla karşılayamamasına bağlıdır. Gebeliğin sonlarına doğru büyüyen iki ve daha fazla kuzu taşıyan koyunlarda, tek kuzu taşıyanlardan daha yüksek Keton cisimleri ile düşük plazma glikoz ve insülin oranları rapor edilmiştir (158,159,165,166).

Hastalığın gelişiminde hiperketonemi ile birlikte bulunan hipokalseminin de etkili olduğu belirlenmiştir (167). Bütün ikiz gebeliklerde oluşmadığı gibi, tek kuzu taşıyanlarda da oluşabilmektedir. Ayrıca, sadece çok besili ve çoğul gebeliklerde görülmemektedir. Kötü sürü yönetimi, yetersiz besleme ve yoğun yağışların etkisi ile oldukça zayıf koyunlarda da bu hastalık görülmektedir. Bu nedenle bazı araştırmacılar hastalığın formları içerisinde “açlık gebelik toksemisi” kavramını ortaya koymuşlardır (156).

Bununla birlikte sığırlarda olduğu gibi koyunlarda da erken laktasyonel dönemde negatif enerji dengesinin, geç gebelik döneminden daha büyük olduğu ve mobilizasyon oranlarının bu dönemde daha yüksek olduğu da belirtilmektedir (160,161). Hastalığın erken tanısında idrar keton cisimleri, kanda beta hidroksi bütirik asit düzeyi ve fruktozamin düzeylerinden faydalanılabilmektedir (154,162). Scott ve ark. (165) doğal GT li koyunların serebrospinal sıvılarında ve plazmalarında glikoz düzeylerinin belirgin oranda düştüğünü belirlemişlerdir.

2.3.4. Tedavi:

Standart tedavilerde etkilenen hayvanlara İV glikoz solusyonları ve oral propilen glikol verilmelidir. Kortikosteroidler de verilebilir. Düzelen hayvanlara takiben kaliteli lezzetli kolay sindirilen gıdaların verilmesi tavsiye edilmektedir. Ayrıca buzağı ishallerinde kullanılan oral rehidrasyon sıvılarının da tedavide etkili olduğu rapor edilmiştir (166). Hafif vakalarda trenbolone acetate ve propilen glikol tedavi edici bazı faydaları olduğu bildirilmiştir (167). Hastalığın tedavi planında, zorunlu durumlarda zaman kaybetmeden sezaryan operasyonu yapılmalıdır. Doğumun başlatılması ile tedaviden iyi sonuçlar alındığı rapor edilmiştir (168). Fakat bu durum ekonomik olmadığı için çoğu zaman hayvan sahiplerince tercih edilmemektedir. Ayrıca tedavide recombinant sığır somatotropininin etkili olabileceği de gösterilmiştir (169). Sezaryan olmaksızın medikal tedaviye güç yanıt alınmaktadır. Fakat gebelik toksemisinde operasyona rağmen bile tedavi şansı zayıftır (170)

Ayrıca sığır ketozisine göre, koyunlarda bu uygulanan tedavi stratejilerine neden çok iyi cevap alınamadığı sorusunu açıklamanın da güç olduğu ifade edilmektedir (171, 172).

2.3.5. Koruma:

Korunma amacıyla, sürüler dinlenme esnasında erken klinik belirtiler için mutlaka muayene edilmelidir. Şüphelenilen hayvanlara propilen glikol oral verilir. İlave besinlerle karbonhidrat kaynağı artırılmalıdır. Gebeliğin son iki ayı süresince beslenmeye dikkat edilir. Aşırı yağlanmadan kaçınılmalıdır. Ani gıda değişimi ve stres faktörlerinden kaçınılmalıdır. Egzersiz tavsiye edilir (162-169).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Hayvan Materyali

Bir saha çalışması olan bu projede Boğazlıyan/Yozgat yöresinde bulunan bir koyunculuk işletmesinden temin edilen en az 1 doğum yapmış sağlıklı Akkaraman ırkı koyunlar kullanılmıştır. Bu kapsamda gözlem, bel ve sırt bölgesinin palpasyonu yöntemiyle normal vücut kondisyon skoru'na (VKS=3) sahip olduğu belirlenen koyunlar bu çalışmaya dahil edildi. Gebeliğin son bir ayı içerisinde olan koyunlar bu projede kullanıldı. Bunlar ortalama canlı ağırlıkları arasında istatistiksel fark olmayan ($65 \pm 5,7$ kg), halk elinde geleneksel usullerle yetiştirilmekte olan koyunlardı. Kulak numaraları yazılıp bir protokole kaydedildiler. Yaptığımız klinik muayene ile sağlıklı olduğu belirlenen ve koç katımından önce antiparaziter (Devormec ve Okzan) ve koruyucu ası (Enterotoksemi, çiçek) uygulamaları yapılan koyunlar çalışmaya dâhil edildiler. Kapalı bir ağılda beslenen (% 15 ham protein ve 2800 kcal/kg metabolik enerjili besi yemi, hayvan basına; Buğdaygil otu: 1 kg; kuru yonca 150 gr, Fabrika yemi 750 gram) koyunlara adlibitum su verildi. Yaklaşık 3 yaşlarında 300 adet koyun içerisinde başlangıçta 40 koyun gebe olmama ihtimaline karşı gözlem altına alındı, sonuçta doğum yapan 25 adet koyunun verileri çalışmada kullanıldı. Koç katımından 4 ay sonra gebe koyunlardan doğum zamanına kadar haftada bir kez olmak üzere gerekli kan örnekleri alındı ve fiziksel muayene bulguları kaydedildi. Sürüdeki ikizlik oranının % 70 (210/300) olduğu görüldü. Kan örnekleri alınan koyunların ise 20 tanesinde ikizlik belirlendi. Bu koyunlardan, doğumdan yaklaşık 3 hafta önce (prepartum) ve doğum sonrası (postpartum) 3 hafta süresince haftada bir kez kan örnekleri her gün aynı saatte ve yem alımından sonraki 1 saat içinde alındı.

3.1.2. Örnek Alımları

Doğum öncesi ve sonrası dönemlerde koyunların vena jugularisten serum analizleri için 10 ml ve hematolojik analizler için 5'er ml kan örnekleri alındı. Koç katımından 4 ay sonra gebe koyunlardan doğum zamanına kadar haftada bir kez olmak üzere gerekli kan örnekleri alınıp, fiziksel muayene bulguları kaydedildi. Doğum esnasında ve doğum sonrası haftada 1 kez olmak üzere 2 hafta süresince koyunların takibi yapıldı ve numuneler toplandı. Tüm koyunlardan Kan örnekleri holder ve uygun iğne ile vakumlu tüplere toplandı. Glikoz analizi amacıyla plazma örnekleri için glikolitik inhibitör olarak 15 mg Na-Florid içeren cam tüpler kullanıldı. Serum örnekleri için boş cam tüpler kullanıldı. Plazma için kan alınan tüpler

santrifüj işlemine kadar ($920 \times g$) 20 dakika süresince $+4^{\circ}\text{C}$ de buzda tutuldu Serum örnekleri için alınan kanlar oda ısısında pıhtılaşma için bekletildikten sonra $2.050 \times g$ de 20°C de santrifüj işlemine tabi tutuldu. Serumlar ve analiz işlemlerine kadar -20°C de derin dondurucuda saklandı.

Bu örneklerde glikoz, trigliserid, alkalen fosfataz (ALP), aspartat aminotransferaz AST) düzeyleri ile kalsiyum (Ca) düzeyleri bir spektrofotometrede (UV Mini 1240, Shimadzu, spechtofotometer) belirlendi. Haptoglobin ve diger serum analizleri ile tam kan örneklerinde ise günlük alınan kanlardan lökosit sayımları yapıldı. Her hafta alınan serum örnekleri düzenli olarak Haptoglobin analizleri için soğuk zincirde en kısa sürede laboratuara iletilmiş ve analizler kayıplardan kaçınmak için süratle analizleri yapılmıştır. Doğum esnasında ve doğum sonrası haftada 1 kez olmak üzere 2 hafta süresince koyunların takibi yapıp, numuneler toplandıktan sonra, doğum yapan koyunlardan dört adeti kesilerek, karaciğer örnekleri öncelikle yağlanma ve diğer değişiklikler yönünden histopatolojik işlemlere tabi tutulmuştur.

3.1.3. Araştırmada Kullanılan Araç Gereç, Kimyasal Maddeler ve Malzemeler

Multisample kan toplama iğnesi: Çalışmada kullanılan koyunlardan kan almak için kullanıldı.

Vakutainer cam tüp (Pıhtılaşma aktivatörlü Antikoagulantsız, 10 ml, 100'lük) : Çalışmada kullanılan koyunlarda biyokimyasal analizleri yapmak amacıyla toplanan kan örneklerini saklamak için kullanıldı.

Vakutainer cam tüp (EDTA'lı) : Çalışmada incelenen koyunlardan hematolojik analizleri yapmak amacıyla alınan kanları saklamak için kullanıldı.

Enjektör 2 cc'lik: Çalışmada incelenen koyunlardan kan almak için kullanıldı.

Enjektör 10 cc'lik: Çalışmada kullanılan koyunlardan kan almak için kullanıldı.

Glikoz spektrofotometrik kit (Spinreact, Spain): Koyunlarda serum glikoz parametrelerinin ölçümü için kullanıldı.

Trigliserid spektrofotometrik kit (Spinreact, Spain): Koyunlarda serum albumin parametrelerinin ölçümü için kullanıldı.

Aspartat Aminotransferaz (AST), spektrofotometrik kit (Spinreact, Spain): Koyunlarda serum AST parametrelerinin ölçümü için kullanıldı.

Alkalen Fosfataz (ALP), spektrofotometrik kit (Spinreact, Spain): Koyunlarda serum ALP parametrelerinin ölçümü için kullanıldı.

Kalsiyum (Ca) spektrofotometrik kit (Spinreact, Spain) : Koyunlarda serum Ca parametrelerinin ölçümü için kullanıldı.

UV Mini 1240, Shimadzu, spektrofotometer: Çalışma gruplarından elde edilen serumlarda biyokimyasal analizler için kullanıldı.

100 ve 1000 µl'lik Otomatik Pipetler: Çalışmadaki biyokimyasal analizlerde kullanıldı.

Ependorf Tüpü (1,5 ml): Serum ve heparinli kan örneklerinin analiz işlemlerine kadar saklandıkları tüpler.

Santrifüj (10 mlx20 Tüplük): Antikoagulantsız kan örneklerinde serum çıkarılması için kullanılan santrifüj.

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Anamnezin Alınması

Hayvan sahiplerinden koyunlar ve yetiştirme yönleri hakkında anamnez bilgileri alındı. Anamnez bilgilerinde, hayvanların yaşı, ırkı, barınma koşulları, yeme içme davranışları, hayvanların yakın bir zamanda hastalık geçirip geçirmediği, ateş ve kronik zayıflama olup olmadığı belirlendi.

3.2.2. Klinik Muayene

Klinik muayene amacıyla hayvanların genel görünümü,

Hayvanlarda vücudun tutuluşu,

Yapağı örtüsünün muayenesi,

Lenf yumrularının muayenesi,

Mukozaların muayenesi (ağız, konjunktiva) yapıldı.

3.2.3. Kan Örneklerinin Toplanması

Hayvanların *vena jugularis*'lerinden serum analizleri için vakumlu antikoagulansız cam tüplere holder ve uygun iğne yardımı ile 9 ml, hematolojik analizler için EDTA'lı tüplere 4 ml kan örnekleri alındı.

3.2.4. Kan Örneklerinin İşlenmesi

Vakumlu antikoagulansız tüplere alınan kan örnekleri 1 saat oda sıcaklığında bekletildikten sonra 3000 devirde 15 dakika santrifüj edilerek serumları çıkarıldı. Daha sonra örneklerin

biyokimyasal ve pıhtılaşma faktör analizleri yapılana kadar -20°C ' de derin dondurucuda saklandı.

3.2.5. Örnek Analizleri

3.2.5.1. Haptogloblin analizleri

Haptogloblin analizleri, Haptogloblin (HP)-Undiluted Sample (BEN Biochemical Enterprise) marka 80 testlik kitlerle analiz edildi. Testin prensibi; belirlenen uygun oranlarda, spesifik antikor içeren bir solüsyona belirli bir Antijenli örneğin karıştırılması ve bu reaksiyon sonucunda oluşacak antijen-antikor reaksiyonuna dayanır. Bir multipoint kalibratör kullanarak oluşacak bulanıklığın kalibrasyon kurvelerin hazırlamak mümkündür. Genellikle düz çizgi değildir ve orjini kesmez. Absorbans değerlerini grafikte noktalamak ve her bir kalibratör için konsantrasyonları belirleyerek her bir örneğin konsantrasyonunu ifade eden kalibrasyon kurveleri belirlendi.

Reagent; Cod. HP3222 , Reagent 1 (Sıvı) 2x20 ml, PBS solusyonunda Anti-Haptogloblin (Keçi) $> 25 \text{ mmol/L}$

Spesifik Proteinler için Kalibratör, 5x1 ml Cod. CALPRO1

Spesifik Proteinler için yüksek kontrol, Cod. PROEL

Spesifik Proteinler için normal kontrol, Cod. PRONOR

Analizlerde dalga boyu Bichrom. 340 nm (prim.) 700 nm (sec.), 1cm lik küvetlerde, Blank ayırıcına karşı, 37°C 'de, 5 dakikalık reaksiyon ile end-point olarak analizler yapıldı.

3.2.5.2. Hematolojik Analizler

Çalışmada kullanılan köpeklerden alınan EDTA'lı kan örneklerinde manuel yöntemlerle ve uygun hesaplamalarla Hemogloblin, Hematokrit, WBC ve RBC analizleri yapıldı.

3.2.5.3. Biyokimyasal Analizler

Konvansiyonel biyokimya analizlerinden Glikoz, Trigliserit (TG), Aspartat Aminotransferaz (AST), Alkalen Fosfataz (ALP), Kalsiyum (Ca) düzeyleri spektrofotometrik yöntemle UV Mini 1240, Shimadzu, spechtrofotometer marka spektrofotometre cihazı kullanılarak belirlendi.

3.2.5.4. Histopatolojik Analizler

Doğum sonrasında 1 aylık süt kesme döneminden hemen sonra karaciğer histopatolojik analizlerinin yapılabilmesi için 4 adet koyunun nekropsileri yapıldı. Koyunlarda makroskopik

ve karaciğer mikroskopik analizleri tekniğine uygun olarak gerçekleştirildi. Karaciğer kesitleri Hematoksilen Eozin ile boyandı.

3.2.6. İstatistik Analizler

İstatistiksel analizler için SPSS 17.0 programı kullanıldı. Bu programda tek yönlü ANOVA testi ile örneklemelerin birbirlerine göre farklılıklarını belirlemek için Tuckey testi uygulandı. Veriler aritmetik ortalama ve standart sapma şeklinde ifade edildi. Gruplar arasındaki farklılığın önem derecesi $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

4.1. HEMATOLOJİK BULGULAR

Hematolojik bulgular için gerekli örneklemeler doğum öncesi birer hafta arayla iki kez doğum sonrası ise üç kez alınmıştır. Ortalama hemoglobin (Hb), hematokrit (PCV), total lökosit (WBC) ve eritrosit (RBC) değerlerinden oluşan hematoloji bulgularındaki zamana bağlı değişimler Tablo 4.1 de verilmiştir. Buna göre, ortalama Hb konsantrasyonu doğum öncesinde sabit kalırken doğumdan hemen sonraki haftada diğerlerinden istatistiksel açıdan önemli oranda ($p < 0.05$) en yüksek düzeyine ulaşmıştır. Doğum sonrası 2. ve 3. haftalarda ise azalma eğiliminde olduğu belirlenmiştir.

Ortalama PCV değerleri ise doğum öncesi ve doğumdan sonraki ilk haftada farklılık göstermiştir, doğumdan hemen sonra ve diğer haftalarda alınan değerler doğum öncesine göre istatistiksel olarak daha düşük belirlenmiştir.

Ortalama RBC değerlerinin ise ilk iki örneklemede farklılık göstermediği, doğum sonrası ilk iki değer istatistiksel olarak önemli oranda düşük olduğu, fakat son alınan ortalama değer tüm değerlerden daha anlamlı oranda daha düşük olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.1)

Ortalama WBC değerleri incelendiğinde, en düşük değer ilk alınan değer olduğu (doğumdan iki hafta önce) görülmüş, daha sonra alınan tüm ortalama WBC değerlerinin giderek artış gösterdiği belirlenmiştir.

Tablo 4.1. Koyunlarda Doğum Öncesi ve Sonrası Hematolojik Değerler ($X \pm Sd$), (n=25)

PARAMETRELER	ZAMAN				
	DÖ 2. Hafta	DÖ 1. Hafta	DS 1. Hafta	DS 2. Hafta	DS 3. Hafta
Hemoglobin (g/dl)	11,51 $\pm$ 2,15 a	10,50 $\pm$ 2,76 a	15,18 $\pm$ 3,22 b	9,63 $\pm$ 3,54 a	9,50 $\pm$ 2,18 a
Hematokrit (%)	28,72 $\pm$ 5,60 a	29,15 $\pm$ 5,68 a	26,87 $\pm$ 4,37 b	26,75 $\pm$ 1,50 b	25,56 $\pm$ 3,71 b
WBC $\times 10^3/\mu l$	7,55 $\pm$ 1,70 a	9,01 $\pm$ 2,65 b	9,13 $\pm$ 2,60 b	9,25 $\pm$ 2,29 b	12,82 $\pm$ 2,76 c
RBC $\times 10^6/\mu l$	7,43 $\pm$ 1,01 a	7,32 $\pm$ 1,17 a	6,65 $\pm$ 1,95 b	6,45 $\pm$ 2,32 b	5,09 $\pm$ 1,36 c

DÖ: Doğum Öncesi, **DS:** Doğum Sonrası

4.2. BİYOKİMYASAL BULGULAR

Çalışmada incelenen koyunlardan, 10 ml kan örneği alınarak 6000 devirde 10 dakika santrifüj işleminden sonra serumlarda ticari kitler ile spektrofotometrik (UV-Mini 1240 UV –VIS Spectrophotometer) olarak; Glikoz, Trigliserit, Aspartat Aminotransferaz (AST), Alkalen Fosfataz (ALP), kalsiyum (Ca) düzeyleri analiz edilmiştir. Belirlenen biyokimyasal parametrelerin ortalama değerleri Tablo 4.2’de verilmiştir.

Ortalama Glikoz değerlerinin doğumdan hemen önce diğer verilere göre oldukça azaldığı, doğum sonrasında ilk hafta artış gösterip, daha sonra ilerleyen haftalarda istatistiksel olarak anlamlı oranda tedrici bir azalma gösterdiği belirlenmiştir.

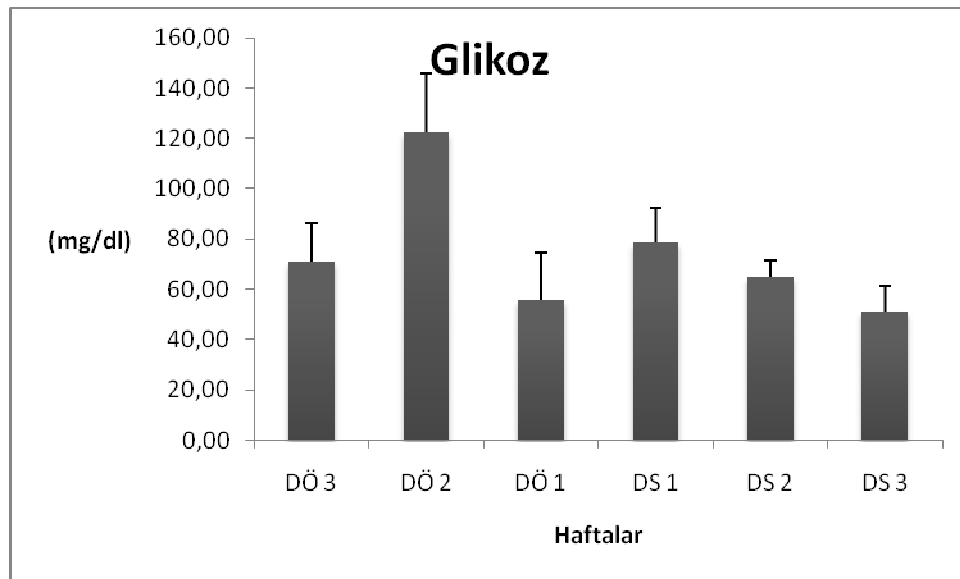
Ortalama Trigliserit değerleri incelendiğinde, sadece doğumdan hemen önceki ortalama değer diğer verilere göre istatistikî açıdan anlamlı oranda daha yüksek olduğu, diğer değerlerin ise birbirine paralel seyrettiği belirlenmiştir.

Karaciğer spesifik enzimlerden AST ve ALP değerleri, karaciğer fonksiyonlarını belirlemek için analiz edildi. Bu iki parametre örnekleme zamanlarında paralellik göstermedi. Doğum sonrası ortalama AST değerleri, doğum öncesi alınan verilere göre istatistiksel açıdan önemli oranda daha yüksek olduğu belirlendi. Ortalama ALP değerlerinin ise doğum sonrası son iki değerinin diğerlerine oranla daha yüksek olduğu görüldü. Ortalama Ca değerlerinin doğum öncesi ve sonrasında farklılıklar gösterdiği belirlendi. Doğum öncesi tüm değerler doğum sonrası tüm değerlerden istatistiksel açıdan anlamlı oranda yüksek belirlendi (Tablo 4.2).

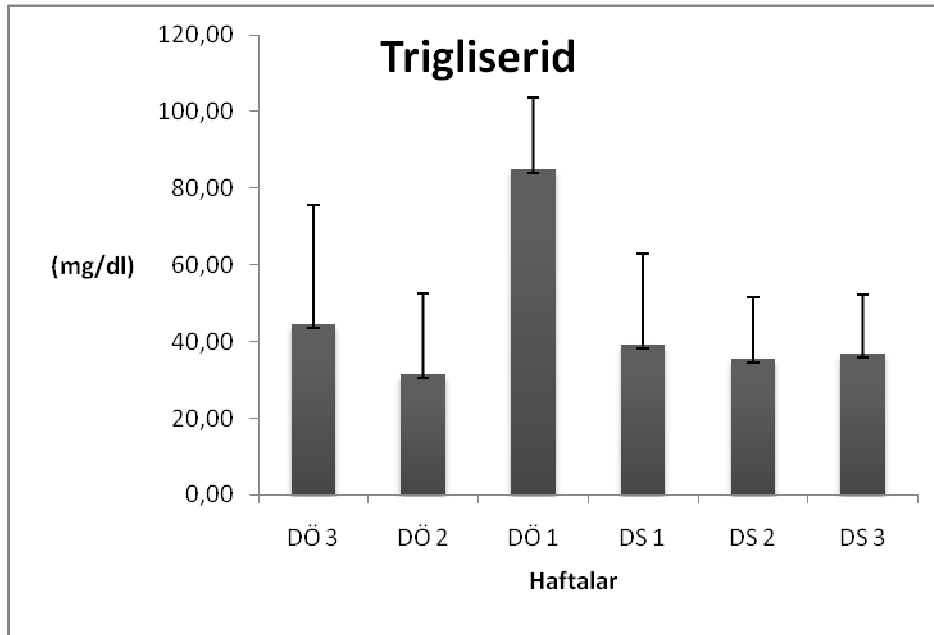
Tablo 4.2. Doğum öncesi ve sonrası koyunlarda biyokimyasal parametrelerin ortalama değerleri ($X \pm Sd$), (n=25).

PARAMETRELER	HAFTALAR					
	DÖ3	DÖ2	DÖ1	DS1	DS2	DS3
Glikoz (mg/dl)	70,87±15,26 a	122,27±23,66 b	55,86±18,74 c	78,63±13,81 a	65,06±6,29 d	51,27±10,02 c
Trigliserid (mg/dl)	44,39±31,35 a	31,56±20,98 a	84,90±18,71 b	39,21±23,76 a	35,67±15,81 a	36,77±15,34 a
AST (U/L)	31,17±8,67 a	30,07±10,23 a	30,38±7,45 a	42,53±16,18 b	50,05±14,36 b	52,96±17,40 b
ALP (U/L)	117,94±50,30 a	173,91±50,42 b	160,96±59,74 a	159,86±37,35 a	176,48±54,64 b	170,19±49,54 b
Kalsiyum (mg/dl)	13,92±2,92 A	14,88±2,38 a	14,19±2,54 a	9,74±2,10 b	11,28±2,34 b	9,64±3,60 b

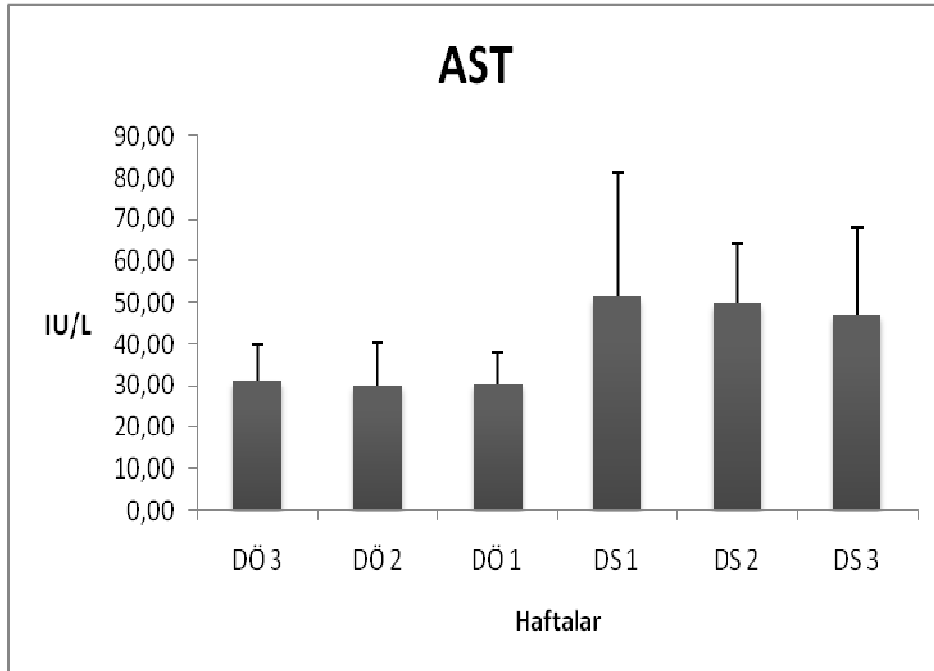
AST: Aspartat Amino transferaz, ALP: Alkalen Fosfataz



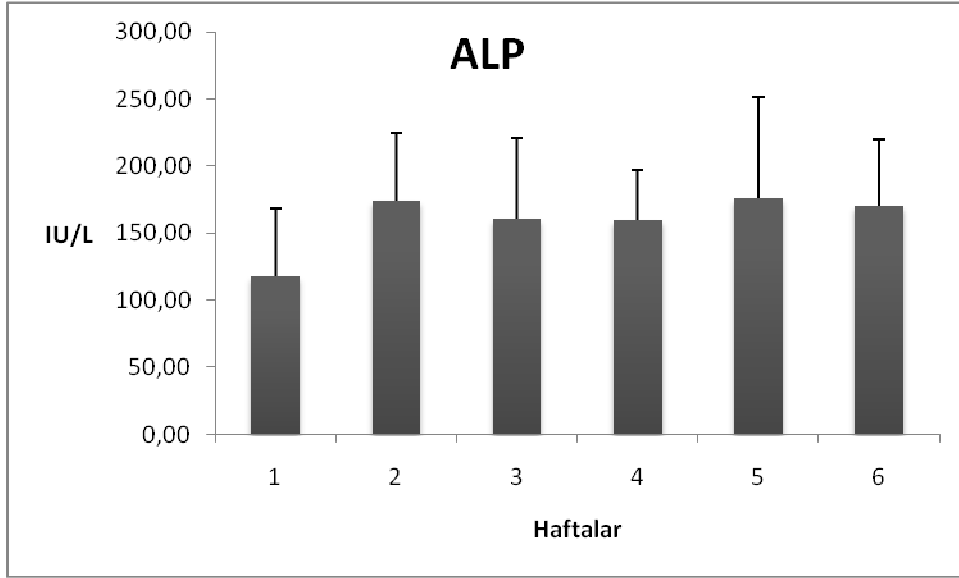
Şekil 4.1. Koyunlarda doğum öncesi (DÖ) ve doğum sonrası (DS) haftalık Glikoz düzeyleri



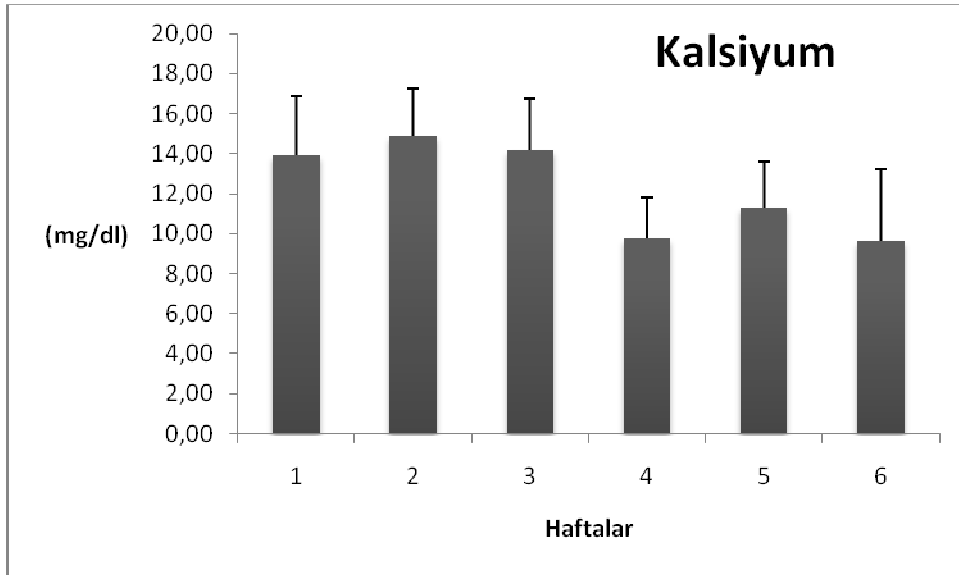
Şekil 4.2. Koyunlarda doğum öncesi (DÖ) ve doğum sonrası (DS) haftalık Trigliserid düzeyleri



Şekil 4.3. Koyunlarda doğum öncesi (DÖ) ve doğum sonrası (DS) haftalık Aspartat Amino Transferaz (AST) düzeyleri



Şekil 4.4. Koyunlarda doğum öncesi (DÖ) ve doğum sonrası (DS) haftalık Alkalen Fosfataz (ALP) düzeyleri



Şekil 4.5. Koyunlarda doğum öncesi (DÖ) ve doğum sonrası (DS) haftalık Kalsiyum düzeyleri

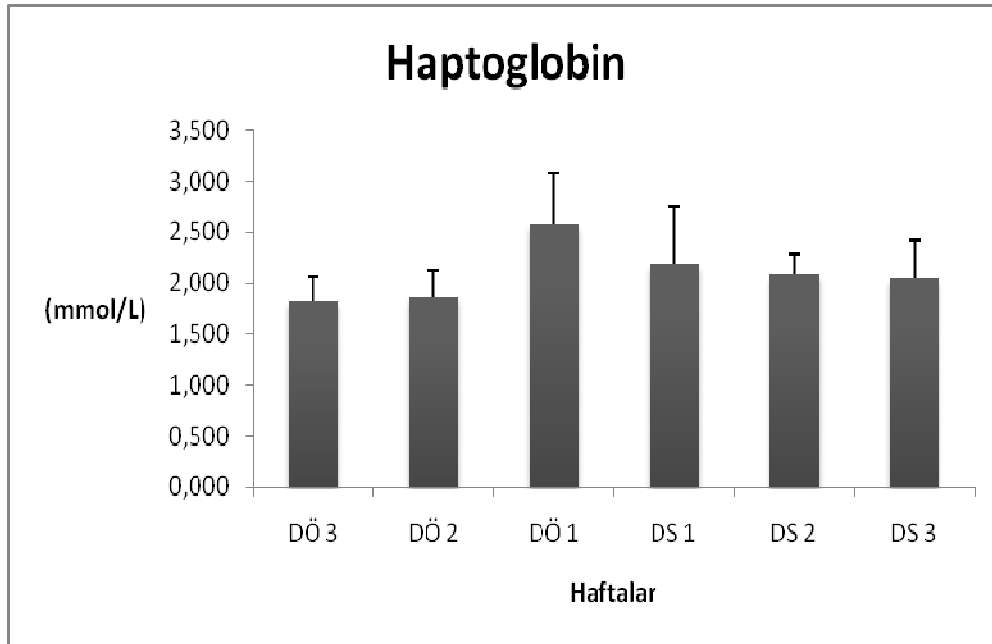
4.3. Serum Haptoglobin konsantrasyonları

Bu projede gebe koyunlarda doğumdan yaklaşık 3 hafta önce ve doğumdan 3 hafta sonra toplanan serum örneklerinde haptoglobin analizleri yapılmıştır. Bu sonuçlara göre doğumdan 3 ve 2 hafta önce alınan değerler birbirinden farklı bulunmazken, doğumdan 1 hafta önce alınan ortalama değerin, hem doğum öncesi hem de doğum sonrası Haptoglobin düzeylerinden istatistiksel açıdan önemli oranda yüksek olduğu belirlenmiştir. Doğum sonrası her üç örnekleme döneminde alınan verilerin de birbirinden farklı olmadığı, ancak doğum öncesi ilk iki ortalama Hp değerinden önemli oranda farklı ve daha yüksek olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$) (Tablo 4.3).

Tablo 4.3 Doğum öncesi ve sonrası koyunlarda Haptoglobin değerleri ($X\pm Sd$), (n=25).

PARAMETRE	HAFTALAR					
	DÖ 3	DÖ 2	DÖ 1	DS 1	DS 2	DS 3
HAPTOGLOBİN (mmol/L)	1,82±0,23 b	1,86±0,26 b	2,57±0,50 a	2,18±0,57 c	2,08±0,20 c	2,04±0,38 c

DÖ: Doğum Öncesi, **DS:** Doğum Sonrası



4.4. Karaciğer dokularının histopatolojik bulguları

1. Koyun: Vena sentralis ve sinüzoidlerde hiperemi, portal aralıklarda sınırlı mononükleer hücre ve bağ doku proliferasyonu, hepatosit dizilerinde bozulma görüldü. Hepatositler oldukça pembe boyanmış ve zaman zaman hidropik dejenerasyona uğramış hepatositler görüldü. Midzonal alanlarda az sayıda kahverengi pigment içeren hücrelerle birlikte nadiren nötrofil lökositler görüldü.

2. Koyun: Vena sentralisler orta şiddette hiperemik, çoğu hepatositte hidropik dejenerasyon vardı. Midzonal hepatositlerde önemli oranda nekroz şekillenmiş olup periasiner hepatositlerde kahverengi pigmentasyon dikkati çekti. Remark kordonlarında bozulma ile portal aralıklarda sınırlı derecede fibrozis vardı.

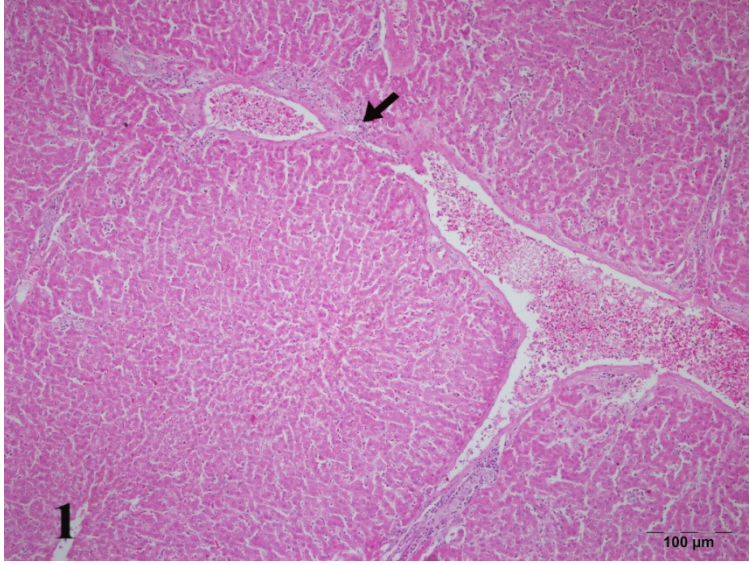
3. Koyun: Periasiner ve midzonal bölgedeki hepatositlerde dejenerasyon ve nekroz belirgin olup, hepatosit dizilerinde bozulma vardı. Portal bölgelerde ise şiddetli bağ doku proliferasyonu ile damarlarda hiperemi görüldü.

4. Koyun: Periasiner ve midzonal bölgedeki hepatositler şişkin olup çekirdekler bir kenara kaymıştı. Sitoplazmada belirgin granüler görünüm dikkati çekti. Bazı bölgelerde hepatosit

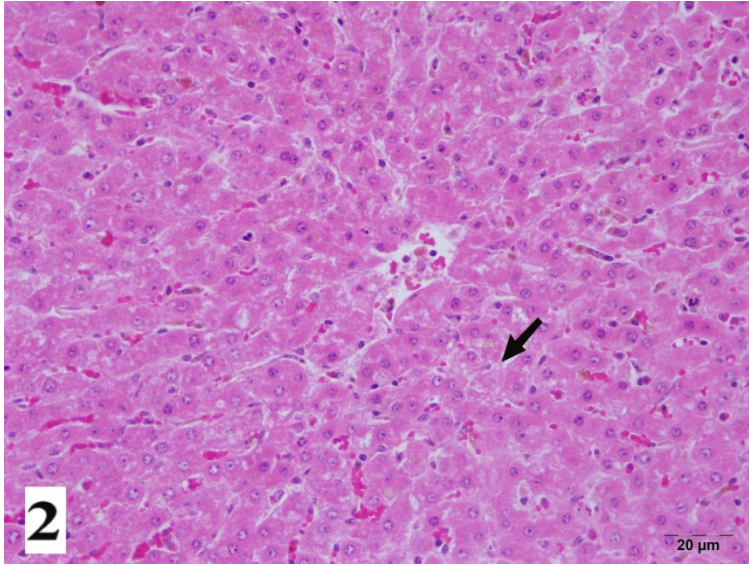
dizileri bozulmuş olup portal bölgelerde fibrozis bu grupta da belirgindi. Diğer gruplara oranla bu grupta kupffer hücre aktivasyonu dikkat çekti (Tablo 4.4).

Tablo 4.4 Karaciğerde görülen histopatolojik lezyonların koyunlar arasında karşılaştırılması

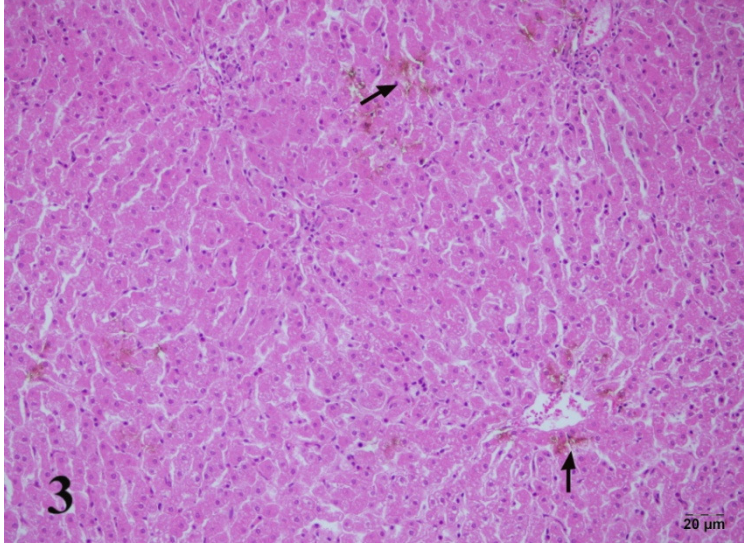
Histopatolojik lezyon	Gruplar			
	1. koyun	2. koyun	3. koyun	4. koyun
Vena sentralislerde hiperemi	++	+	-	-
Sinüzoidlerde hiperemi	++	+	-	+
Periasiner hepatositlerde				
<i>Şişkinlik</i>	-	-	-	++
<i>Hidropik dejenerasyon</i>	+	+	-	+
<i>nekroz</i>	-	+	+	+
<i>Koyu boyanma</i>	++	++	++	+
<i>pigmentasyon</i>	-	++	-	-
Midzonal hepatositlerde				
<i>Şişkinlik</i>	-	+	+	+++
<i>Hidropik dejenerasyon</i>	+	+	++	+++
<i>nekroz</i>	-	+	+	+++
<i>Koyu boyanma</i>	++	++	+	-
<i>pigmentasyon</i>	+	++	-	-
Periportal hepatositlerde				
<i>Şişkinlik</i>	-	-	+	++
<i>Hidropik dejenerasyon</i>	+	-	+	++
<i>nekroz</i>	-	-	+	+
<i>Koyu boyanma</i>	+	+++	++	-
<i>pigmentasyon</i>	-	-	-	-
Remark kordonlarında bozulma	+	+	+++	++
Kupffer hücre aktivasyonu	-	+	++	++
portal aralık lezyonları				
<i>damarlarda hiperemi</i>	-	+	+++	+++
<i>Mononükleer hücre infiltrasyonu</i>	++	+	+	+
<i>fibrozis</i>	++	-	+++	++



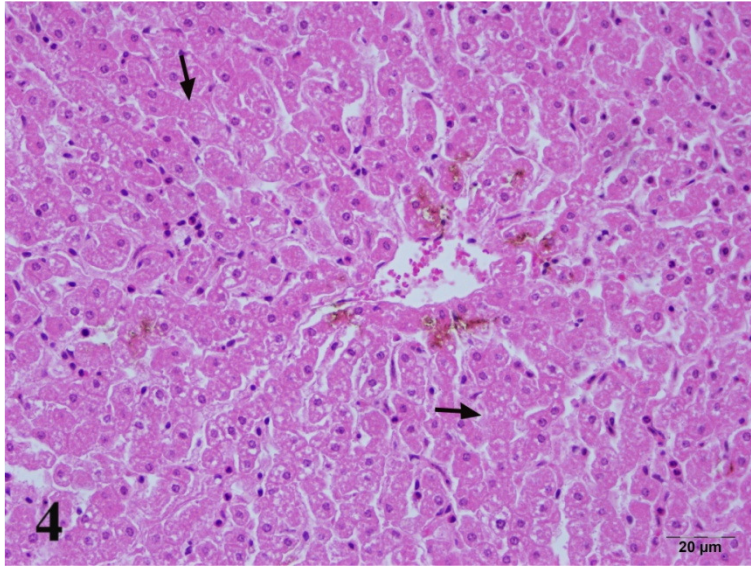
Şekil 4.6. 1 nolu koyun karaciğeri: Vena sentralislerde hiperemi ve portal bölgelerde sınırlı fibrozis ve mononükleer hücre infiltrasyonları (ok). H-E.



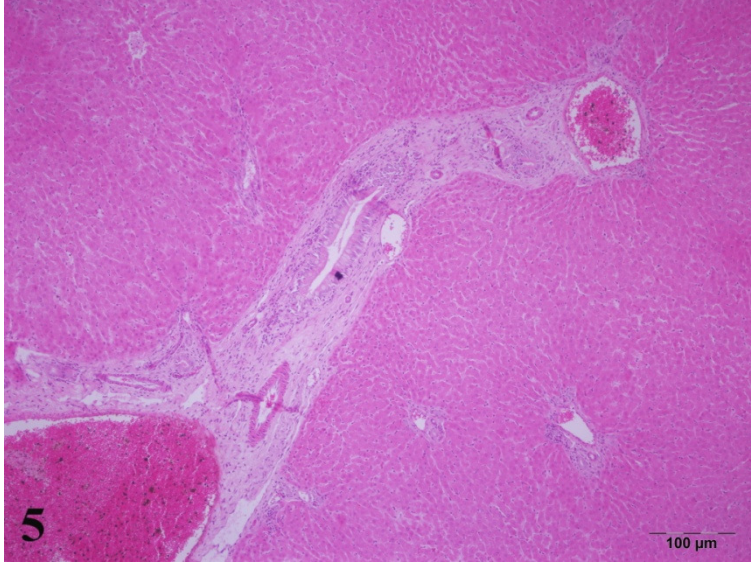
Şekil 4.7 1 nolu koyun karaciğeri: Sinüzoidlerde hiperemi, az sayıda kahverengi pigmentasyon ve bazı hepatositlerde dejenerasyon ve nekroz (ok). H-E.



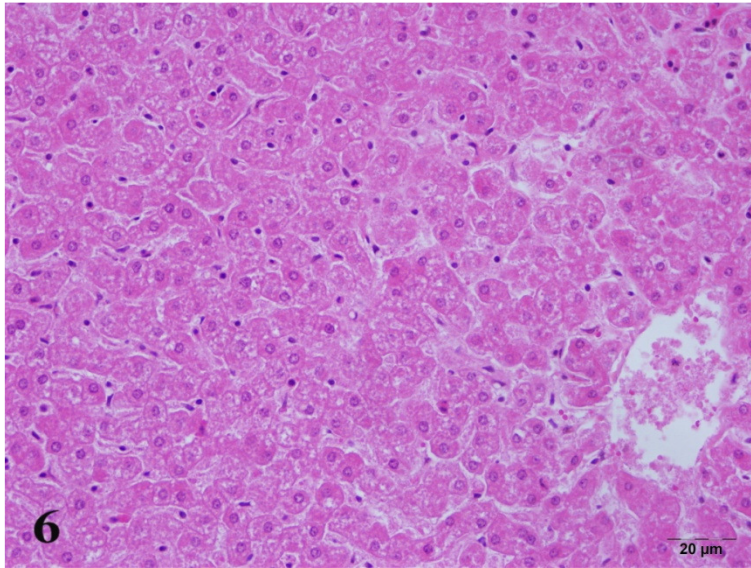
Şekil 4.8 2 Nolu koyun. Remark kordonlarında bozulma, periasiner midzonal ve periportal hepatositlerde pigmentasyon (oklar). H-E.



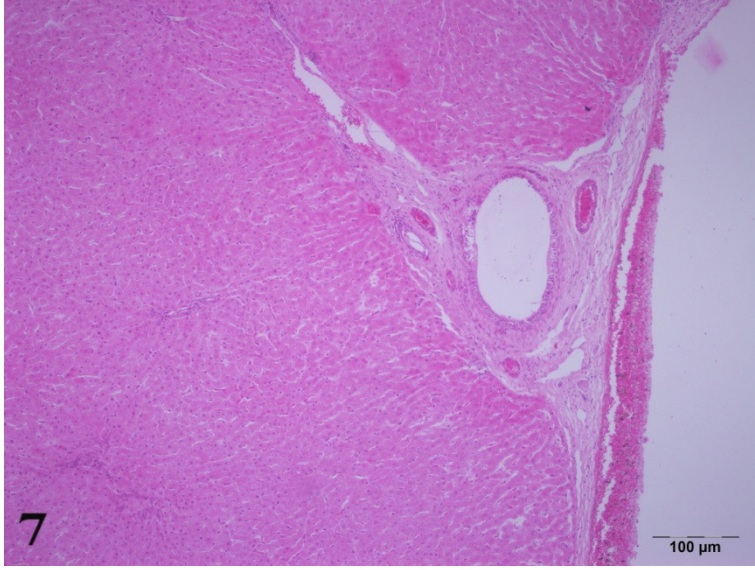
Şekil 4.9 2 nolu koyun. Remark kordonlarında bozulma, pigmentasyon ve midzonal hepatositlerde nekroz (oklar). H-E.



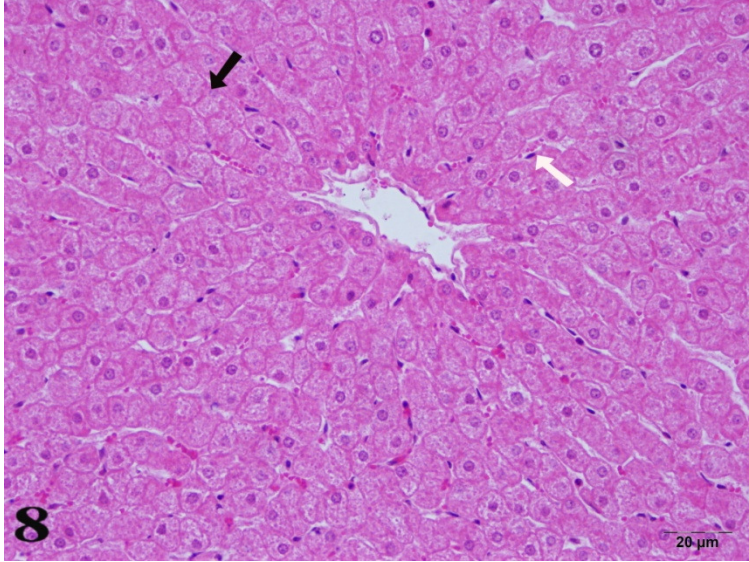
Şekil 4.10 3 nolu koyun. Portal aralıklarda şiddetli fibrozis ve damarlarda hiperemi. H-E.



Şekil 4.11 3. Nolu koyun. periasiner midzonal ve periportal hepatositlerde dejenerasyon ve nekrozlar. H-E.



Şekil 4.12. 4. Nolu koyun. Portal aralıklarda fibrozis. H-E.



Şekil 4.13. 4 nolu koyun. Midzonal hepatositlerde daha şiddetli olmak üzere (ok) hepatositlerde dejenerasyon ve nekroz. Kupffer hücre aktivasyonu. H-E.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Gebelik Toksemisi (GT) koyunlarda daha çok gebeliğin son döneminde oluşan metabolik bir bozukluktur (136-138). Bu bozukluğun patogenezisinde akut faz proteinlerinden haptoglobinin (Hp) rol alıp almadığı, GT vakalarında bir diyagnostik belirteç olarak kullanılıp kullanılamayacağı bu proje ile araştırılmıştır. Gebe koyunlarda doğumdan üç hafta önce ve üç hafta sonra; Hp düzeyleri, biyokimyasal, hematolojik ve histopatolojik analizler yapılmıştır. Özellikle karaciğer fonksiyonları ve Hp arasındaki ilişkinin ortaya konulması için karaciğer yağlanması ve diğer karaciğer bozukluklarında Hp analizleri ile birlikte laboratuvar bulguları ve histopatolojik bulguların önemi ortaya konulmuştur. Bu nedenle söz konusu projede halk elinde kapalı barınaklarda barındırılan Akkaraman ırkı gebe koyunlarda gebelik öncesi ve gebelik sonrası dönem incelenmiştir.

Doğum sürecinin insanlarda ve diğer memelilerde bazı önemli nöroendokrin sistem nöroimmun sistem, biyokimyasal ve hematolojik birçok mekanizmayı etkilediği bilinmektedir. Bu çalışmada da doğum öncesi ve sonrası elde edilen başta hematolojik olmak üzere diğer analizlerde de önemli değişiklikler belirlenmiştir. Buna göre, ortalama Hb konsantrasyonu doğum öncesinde, doğum sonrasına göre düşük ve sabit kalırken doğumdan hemen sonraki haftada istatistiksel açıdan önemli oranda ($p<0,05$) en yüksek düzeyine ulaşmıştır. Doğum sonrası 2. ve 3. haftalarda ise sayısal olarak tekrar azalma eğiliminde olduğu belirlenmiştir. Ortalama PCV değerleri ise doğum öncesi ve doğumdan sonraki ilk haftada farklılık göstermiştir, doğumdan hemen sonra ve diğer haftalarda alınan değerler doğum öncesine göre istatistiksel olarak daha düşük belirlenmiştir. Bu değişimin Hb değerlerindeki değişimler ile uyumlu olduğu görülmüştür.

Doğumdan hemen sonra Hb değerlerinde artış şeklinde oluşan bu değişiklik, gebelik döneminde görülen serum demir (Fe) düzeyi farklılıklarına bağlanabilir. Bu çalışmada Fe düzeyleri belirlenmemiştir, ancak yapılan önceki çalışmalarda Tanrıtanır ve ark. (173) ihtiyaçtan dolayı total demir bağlama kapasitesi (TDBK) ve Fe düzeyinin doğumdan önce azaldığını ve doğum sonrası ise arttığını bildirmişlerdir. Koyunlarda yapılan çalışmalarda gebelik süresince bir anemi tablosunun oluştuğu da rapor edilmektedir (174). Keçiler üzerinde yürütülen bir çalışmada; fötusun Fe'e ihtiyaç duymasından veya ACTH artışından dolayı TDBK ve Fe düzeyinin gebeliğin sonuna doğru belirgin şekilde düştüğü bildirilmiştir (175). Retiküloendotelial sistem (RES) depolarının tükenmesiyle de gebelik döneminde serum Fe ve

Total Demir (TD) düzeyleri düşerken TDBK yükselir (176). Merhan ve Özcan'ın (2010) Tujırkı koyunlar üzerinde yürüttükleri bir çalışmada; doğum öncesi Fe ve TD düzeyi düşerken doğum sonrası yükselmeye, TDBK ise doğum öncesi artarken doğum sonrası düşmeye başlamıştır. Gebelik dönemlerinde Fe düzeylerinin araştırıldığı çalışmalarda Akkaraman ırkı koyunlarda gebeliğin son döneminde serum Fe konsantrasyonunun belirgin olarak azaldığı ($115,26 \pm 4,63 \mu\text{g/dl}$) ve doğum sonrasında arttığı ($136,13 \pm 3,96 \mu\text{g/dl}$) bildirilmiştir (177-179). Gebelik ilişkili Fe düzeylerindeki bu azalmanın gebeliğin ilerlemesi ile fetusun Fe'e daha fazla oranda ihtiyaç duyması ve fötüs karaciğerinde Fe'in daha fazla depolanmasından kaynaklanabileceği belirtilmektedir. Vücut Fe düzeyinde gerçekleşen bu değişimlerin de Hb ve PCV gibi hematolojik parametreleri etkilemesi mümkündür (174).

Bu çalışmada hem doğum öncesi hem de sonrası elde edilen ortalama RBC değerlerinin sağlıklı koyunlarda bildirilen ortalama değer olan $12 (8,0-15,0) \times 10^6/\text{mm}^3$ den daha düşük olduğu belirlenmiştir. İlk iki örneklemede farklılık görülmediği, doğum sonrası ilk iki değer ise istatistiki olarak önemli oranda düşük olduğu, fakat son alınan ortalama değer tüm değerlerden önemli oranda daha düşük olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.1). Bu sonuçlar gebelik döneminde koyunlarda bir anemi tablosunun gelişebildiğini belirten çalışmaların bulgularıyla uyumlu bulunmuştur. (174, 180). Serum Fe düzeyi değişimlerinde burada rol alabileceği düşünülebilir.

Ortalama WBC değerleri incelendiğinde, en düşük değer ilk alınan değer olduğu (doğumdan iki hafta önce) görülmüş, daha sonra alınan tüm ortalama WBC değerlerinin giderek artış gösterdiği belirlenmiştir. Bu artışların daha önceki çalışmaların bulgularıyla uyumlu artışlar olduğu ve gebeliğe bağlı olarak şekillenebileceğine karar verilmiştir (174). Ancak bazı çalışmalarda gebelik süresince periferik kanda nötrofil yüzdesinde azalmaların olduğu rapor edilmiştir (174). Gebelikte birlikte koyunlarda nötrofillerin uterus serviksine hareket ettiği bildirilmiş ve uterus invazyonuna bağlı nötrofil sayısında dolayısıyla WBC sayısında periferik kanda azalma olabileceği belirtilmiştir. Total lökosit artışının dört temel nedeni vardır. Bunlar: yangı, stres/steroidler, ekzersiz/epinefrin ve lökemidir (181). Bu çalışmada bir lökositosis tablosundan söz edilmemekle birlikte, doğuma bir hafta kala alınan örneklerden itibaren giderek artışın olması strese bağlı kortikosteroid cevabının bir sonucu olarak düşünülebilir. Zira gebelik ve özellikle ileri gebelik dönemi çiftlik hayvanları için önemli bir stres durumudur. Endojen kortikosteroidler özellikle stres sonucu salınırlar. Kortikosteroidler marjinal depolardaki nötrofillerin periferik dolaşıma geçmelerini sağlayarak nötrofiliye neden olurlar. Ayrıca kemik iliği nötrofil salınım oranları artar ve nötrofil yarı

ömürü uzar (181). Bu çalışmada elde edilen özellikle WBC ve RBC bulgularının, Sarıpınar ve ark. (2004)'nın Sakız koyunlarında gebelik süresince elde ettikleri düşük RBC ve Hb ile yüksek WBC oranları ile paralellik gösterdiği belirlenmiştir. Aynı araştırmacılar RBC ve Hb değerlerindeki düşüşü gebelik dönemindeki yetersiz beslemeye bağlamışlardır (174).

Ortalama Glikoz değerlerinin doğumdan hemen önce diğer verilere göre oldukça azaldığı, doğum sonrasında artış gösterip, daha sonra istatistiksel olarak anlamlı oranda tedrici bir azalma gösterdiği belirlenmiştir (182).

Gebelikte artan enerji ihtiyacının karşılanabilmesi için kan glikoz düzeyi yaklaşık % 40 oranında azalma gösterir. Gebelik toksemisi, ketozis ve karaciğer yağlanması gibi, ruminantların yağ ve karbonhidrat metabolizması bozukluklarında kan glikoz ve trigliserid değişimlerinin belirlenmesi önemlidir (136-138-139-143-148). Glikoz koyunlarda fetal ve plasental oksidatif metabolizma ile doku gelişiminde hayati rol oynar. İleri gebelikte maternal glikozun % 30 ile 50'si utero-plasental dokular tarafından alınır (148). Gebe koyunlarda glikoz düzeyleri hakkında farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bir çalışmada gebelik süresince değişim belirlenmezken (140), başka bir çalışmada ise gebelik döneminde, gebe olmayan koyunlara göre serum glikoz düzeyleri önemli oranda düşük belirlenmiştir (137- 142). Gebelikte glikoz düzeyinin değişmediğini belirten çalışmaların gerekçesi; kullanılan koyunların beslenme koşulları yeterli olduğundan ve gebeliklerin de çoğunlukla tek yavru doğumu ile sonuçlandığından glikoz açısından böyle bir farklılığın oluşmayabileceği şeklinde açıklanmaktadır (179). Ayrıca laktasyon döneminde de glikozun, gebelik dönemine göre daha düşük olduğunu belirten çalışmalar da vardır (144, 149, 150).

Bu çalışmada ise, doğumdan hemen önceki glikoz düzeyindeki belirlenen azalmanın fetal ve plasental ihtiyaçtan dolayı bir değişim gösterdiği, laktasyon dönemindeki tedrici azalmanın ise meme dokusuna geçen glikoz nedeniyle oluşabileceğini belirten açıklamalara katılmaktayız (144).

Ortalama Trigliserit değerleri incelendiğinde, sadece doğumdan hemen önceki ortalama değer diğer verilere göre istatistikî açıdan anlamlı oranda daha yüksek olduğu, diğer değerlerin ise birbirine paralel seyrettiği belirlenmiştir. Bu sonuçların ileri gebelikte doğum öncesi trigliserid düzeyinin arttığını rapor eden çalışmaların bulgularına paralel olduğu görülmüştür (182,183-184). Ayrıca laktasyon döneminde de trigliserid düzeyi artabilmektedir (145). Bu farklılığın sebebi ise alınan fazla glikozun trigliseride çevrilmesi olarak açıklanmaktadır (182). Fakat biz, özellikle ileri gebeliklerde şekillenebilen negatif enerji balansına bağlı olarak yetersiz glikoz ile birlikte artan glukagon, adrenokortikotropin ve

stresin katkıda bulunduğu hormonların (kortikosteroid, epinefrin) düzeyindeki artış ve hormona duyarlı lipazın etkisiyle vucut rezervlerindeki yağların mobilizasyonu sonucu trigliseridlerin düzeyinin yükselmesini açıklayan görüşe daha çok katılmaktayız. Zira azalan glikoz düzeyleri de bu görüşü destekler niteliktedir (Tablo 4.2).

Bu çalışmada ruminantlar için karaciğer spesifik enzimlerden AST ve ALP değerleri, karaciğer fonksiyonlarını belirlemek için analiz edildi. Bu iki parametre örnekleme zamanlarında paralellik göstermedi. Doğum sonrası ortalama AST değerleri, doğum öncesi alınan verilere göre istatistiksel açıdan önemli oranda daha yüksek olduğu belirlendi. Ortalama ALP değerlerinin ise doğum sonrası son iki değerinin diğerlerine oranla daha yüksek olduğu görüldü. Bu iki enzim aktivitesinin hem mevsimsel hem de reproduktif dönemlere göre değişebileceği bildirilmektedir (177-179). İneklerde yapılan bir çalışmada (19) doğumdan sonra AST aktivitelerinin önemli oranda artabildiği gösterilmiştir. Özyurtlu ve arkadaşlarının Sakız-ivesi melezi koyunlarda yaptıkları bir çalışmada doğum sonrasında, doğum öncesine göre bu her iki enzim aktivitesinde de önemli artışlar oluştuğunu bildirmişleridir. Bu çalışmadan elde edilen doğum sonrası her iki enzim aktivitesindeki artışlar, önceki çalışmaların bulgularıyla örtüşmektedir. Özellikle ortalama AST aktivitesindeki doğum sonrası artışların, ALP aktivitelerine göre istatistikel açıdan daha önemli düzeyde değişim gösterdiği saptandı. Canlılarda AST aktiviteleri karaciğer sellüler hasarının bir göstergesidir. Karaciğer dışında kalp kası, iskelet kası, böbrekler ve bazı dokularda da bulunmasına rağmen artışları genellikle karaciğer ve nadiren de kas dokusundan orjin alır (38).

Ortalama Ca değerlerinin doğum öncesi ve sonrasında farklılıklar gösterdiği belirlendi. Doğum öncesi tüm değerler doğum sonrası tüm değerlerden istatistiksel açıdan anlamlı oranda yüksek belirlendi (Tablo 4.2). Akut faz reaksiyon sırasında aktive olmuş dokularda salgılanan sitokinler beyin, karaciğer ve diğer dokuları etkileyerek Ca, Zn ve Fe gibi minerallerin seviyelerinde azalmaya neden olmaktadır (38). Bu çalışmada elde edilen doğum sonrası düşük Ca değerlerinin belirlenmesi, yukarıdaki görüşü desteklemektedir. Özellikle doğumdan sonra sürekli düşük Ca düzeylerinin belirlenmesi; laktasyon döneminde sütle çıkarılan Ca oranlarına bağlı olduğunu da düşündürmektedir (179).

Bu çalışmada elde edilen Haptoglobin sonuçları incelendiğinde, doğumdan 3 ve 2 hafta önce alınan değerlerin birbirinden farklı olmadığı, doğumdan 1 hafta önce alınan ortalama değer, hem doğum öncesi hem de doğum sonrası Haptoglobin düzeylerinden istatistiksel açıdan önemli oranda yüksek olduğu belirlenmiştir. Doğum sonrası her üç örnekleme döneminde

alınan verilerin de birbirinden farklı olmadığı, ancak doğum öncesi ilk iki ortalama Hp değerinden önemli oranda farklı ve daha yüksek olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$) (Tablo 4.3).

Haptoglobin, α_2 -globülinlerin $\frac{1}{4}$ 'ünü oluşturur. Organizmada haptoglobin, işlevleri birbirinin aynı olan üç polimorfik şekilde bulunur. Karaciğerde sentezlenen bir plazma glikoproteini olan Hp'in temel görevi eritrosit dışındaki serbest hemoglobini bağlamak ve serbest hemoglobinin glomeruluslarda çökmesini önlemektir (185). Bir molekül haptoglobin iki molekül serbest hemoglobinle irreversibl olarak bağlanıp RES hücreleri tarafından hızla tutularak yıkıldığından plazma haptoglobin düzeyi hemolitik anemide düşmektedir. Yıkıma uğrayan eritrositlerden açığa çıkan hemoglobinin yaklaşık %10'u dolaşıma verilmekte geri kalan %90'ı ise retiküloendoteliyal sistem (RES) hücrelerinde yıkılmaktadır. Plazmada bulunan ve moleküler ağırlığı 65 kDa civarında olan serbest hemoglobin, glomerüllerden geçerek tübülüslerde çökme eğilimi göstermektedir. Moleküler ağırlığı 155 kDa civarında olan hemoglobin-haptoglobin kompleksi ise glomerüllerden geçemez, RES tarafından hızla alınarak yıkılır ve böylece hemoglobinin yapısındaki demirin böbrekler yoluyla atılımı engellenir (186).

Bir akut faz reaktantı olan Hp'in; karsinom, iltihabi hastalıklar, kollajen doku hastalıkları, travma, glomerülonefrit durumlarında serumdaki düzeyi artır (186). Damar içi hemoliz ve yaygın karaciğer harabiyeti durumlarında serum haptoglobin düzeyi azalır. Bu nedenle hemolitik olayla birlikte olan inflamasyonların tanısı için akut faz reaktantı olarak plazma haptoglobin düzeyi tayini yanıltıcı olabilir ki bu durumlarda serbest "hem" i bağlayan fakat akut faz reaktantı olmayan hemopeksinin plazma düzeyinin ölçülmesi yararlı olmaktadır. Karaciğer dejenerasyonlarında azaldığı rapor edilmesine rağmen; Hp düzeylerinin karaciğer yağlanması arttığı ve bu nedenle hepatik lipidozis için bir gösterge olabileceği de bildirilmektedir. (187). Bu nedenle, bu projede karaciğer yağlanması ile Hp arasındaki ilişki araştırılmış, bu nedenle özellikle doğum yapan ve Hp düzeyi belirlenen koyunlarda Karaciğer histopatolojik verileri de ortaya konulmuştur.

Haptoglobin çifttırnaklı hayvanlarda da bulunan ve çeşitli durumlarda primer özellik gösteren önemli bir AFP'dir. Akut faz reaksiyon genellikle yangı, enfeksiyon, yanık ve travma sonucu oluşan doku hasarları ve tümörlere karşı organizmanın nonspesifik bir savunma mekanizmasıdır (186,186). Sağlıklı hayvanların serumlarında Hp düzeyleri çok düşük veya hiç bulunmazken, yangısal süreçte önemli miktarlarda artar (186). Sığırlarda mastitis, karaciğer apseleri pyometra, travmatik retikülitis, travmatik perikarditis, paraziter, viral ve bakteriyel enfeksiyonlarda arttığı bildirilmiştir (186). Koyunlarda ise viral ve bakteriyel

enfeksiyonlar için önemli bir parametre olduğu bildirilmiş (4-6). Aynı zamanda yangısal hastalıklara bağlı üretim kayıplarının belirlenmesinde kullanılabileceği ortaya konulmuştur (10). Ayrıca nonenfeksiyöz durumlar, uzun nakiller, hayvanların kapalı alanlarda barındırılması, açlığa maruz kalma gibi stres durumlarında da AFP düzeylerinin artabileceği belirlenmiştir (7-9). Uchida ve ark. (139) sağlıklı ineklerde doğum öncesi ve sonrası Hp düzeylerini karşılaştırdıkları çalışmalarında, doğum sonrasında doğum öncesine göre Hp düzeylerinin doğumda şekillenen kortizol artışına bağlı olarak önemli ölçüde arttığını bildirmişlerdir (139). Sığırlarda yapılan diğer bir çalışmada da peripartum dönem Hp konsantrasyonunun doğumdaki fizyolojik değişiklikler nedeniyle önemli ölçüde artabileceğini bildirmişlerdir (187). Doğumda en üst düzeylere çıkan Hp konsantrasyonunun doğum esnasında oluşan doğum kanalı hasarına ve doğumun karmaşık komplikasyonlarına bağlı olabileceği görüşü çeşitli araştırmacılar tarafından ileri sürülmektedir (182).

Fakat koyunlar üzerinde özellikle doğum öncesi Hp düzeylerinin karaciğer yağlanması ile ilişkilerinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bununla birlikte Hp'nin karaciğer yağlanmasında (17, 182) arttığı ve bu nedenle hepatik lipidozis için gösterge olabileceği bildirilmektedir (182). Ancak Skinner ve ark. (188) tarafından yapılan bir başka araştırmada ise Hp'nin sığırlarda karaciğer yağlanması ile benzer bir patojeniteye sahip ketozis ve hipokalsemi olgularında konsantrasyonun değişmediği gibi farklı görüşler de bildirilmiştir. Koyunlarda Hp düzeyleri çeşitli çalışmalarla ortaya konulmuştur. Merhan ve Özcan'ın (177) Tuj ırkı sağlıklı gebe koyunlarda yaptıkları bir çalışmada doğumdan önceki 14., 7. Günler ile doğum ve doğumdan sonraki 7. ve 14. Günlerde Hp düzeylerini sırasıyla ortalama: 0.171 ± 0.01 g/L, 0.276 ± 0.02 g/L ile 0.355 ± 0.02 g/L, 0.293 ± 0.02 g/L ve 0.193 ± 0.02 g/L olarak belirlemişlerdir. Ve doğumdan hemen sonra alınan örneklerde (0.355 ± 0.02 g/L) en yüksek düzeyde olduğu görülmüştür. Nowroozi-Asl ve ark.'nın (189) yağlı kuyruklu sağlıklı İran koyunlarında yaptıkları bir çalışmada ise Ortalama Hp düzeylerini en düşük ortalama 0.099 ± 0.062 g/L en yüksek ortalama 0.122 ± 0.104 g/L düzeyinde belirlemişlerdir. Ulutaş ve ark. (128) ise miks helmint enfeksiyonlu keçilerde Hp düzeylerini ortalama 0.520 ± 0.11 mg/ml ve sağlıklı kontrollarda ise 0.120 ± 0.05 mg/ml belirlemişlerdir. Arslan ve ark da (190) küçük ruminant vebalı koyunlarda Hp düzeylerini 3.13 ± 0.94 mmol/L ve sağlıklı kontrollarda ise 1.54 ± 0.20 mmol/L olarak analiz etmişlerdir. Bu çalışmada elde edilen gerek gebelik esnasında, gerekse gebelikten sonraki laktasyon döneminde elde edilen ortalama Hp değerleri ise en düşük 1.82 ± 0.23 mmol/L ve en yüksek 2.57 ± 0.50 mmol/L ve yukarıda her üç

çalışmada özellikle sağlıklı bireylerin ortalama değerlerine benzediği ve paralellik gösterdiği değerlendirilmiştir.

Bu çalışmanın nekropsi sonuçlarına göre; karaciğerde hafif dereceli nekroz, Kupffer hücre aktivasyonu, hiperemi gibi bulgular ön plana çıkmış, fakat herhangi bir trigliserid birikimine rastlanmamıştır. Bu durumun çalışma kapsamındaki koyunların normal kondüsyonda olmaları ve gebelik süresince karaciğerde yağlanma ve gebelik toksemisi oluşturacak düzeyde bir beslenme ve yönetim bozukluğuna maruz kalmadığını göstermektedir. Bu nedenle haptoglobindeki doğumdan hemen önceki artışın bu bozukluğa bağlanması mümkün değildir. Karaciğer yağlanması ve Hp arasındaki ilişki konusunda farklı görüşler vardır (191). Özellikle hepatositlerdeki yaygın yıkımlanmalarda yağlanma ile birlikte Hp sentezinin azalacağı da ifade edilmektedir (184). Ayrıca Hp'nin karaciğer yağlanmasında (152) arttığı ve bu nedenle hepatik lipidozis için indikatör olabileceği bildirilmektedir (152,187). Gebelik toksemisinde bir belirteç olarak kullanılıp kullanılmayacağı hala bir soru işareti olarak durmaktadır. Bu durum yeniden değerlendirilmesi için özellikle deneysel gebelik toksemisi ve/veya saha şartlarındaki GT vakalarında tekrarlayan örneklerde Hp analizlerinin yapılması zorunludur.

Sonuçta, bu çalışmada normal VKS'na sahip, halk elinde yetiştirilen koyunlarda geç prepartum ve erken postpartum dönemlerde; temel hematolojik ve biyokimyasal parametrelerde önemli değişikliklerin oluşabileceği görülmüştür. Özellikle bu değişikliklerin Hb, PCV ve RBC üzerinde azalma ile WBC açısından da artma tarzında olabildiği belirlenmiştir.

Haptoglobin düzeylerinde doğumdan hemen önce ve sonra bir takım değişikliklerin oluşacağı görülmüş ve doğumdan hemen önceki artışların oldukça önemli olduğu değerlendirilmiştir. Bununla birlikte doğumdan hemen önce artan Hp düzeylerinin sadece karaciğer hepatositlerindeki yağlanma düzeylerine bağlanamayacağı, doğumla ilgili diğer nörohormonal mekanizmaların ve doğum sürecinde gelişen stres faktörünün göz önüne alınmasının zorunlu olduğu, ayrıca metrit, doğum kanalı travmasının yol açtığı diğer yangısal gelişimlerinde göz önünde tutulmasının gerekli olduğu kanısına varılmıştır.

6. KAYNAKLAR

1. Dinarello CA. Interleukin-1 and its biologically related cytokinees. *Adv Immunol* 1989; 44:153-205.
2. Gruys E, Obwolo MJ, Toussaint MJM. Diagnostic significance of major acute phase proteins in veterinary clinical chemistry. a review, *Vet Bull* 1994; 64:1009-1018.
3. Niewold TA, Tousaint MJM, Gruys E. Monitoring health by acute phase proteins. Fourth European Colloquim on acute phase proteins, Segova, İspanya, 2003, 57-67.
4. Pannen BHJ, Robotham JL The acute phase response. *New horizons The Science and Practice of Acute Medicine* 1995; 3: 183-197.
5. Baumann H, Gauldie J. The acute phase response. *Immunology Today* 1994; 15: 74-80.
6. Kushner I . The phenomenon of the acute phase respons. *Ann NY Acad Sci* 1982; 389: 39-48.
7. Olson NC, Hellyer PW, Dodam JR. Mediators and vascular effects in response to endotoxin. *Br Vet J* 1995; 151: 489-522.
8. Murata H, Shimada N, Yoshioka M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis. *Vet J* 2004; 168: 28-40.
9. Kushner I, Mackiewicz A . The acute phase response: an overview 1993.
10. Murtaugh MP, Baarsch MJ, Zhou Y, Scamurra RW, G, Lin . Inflammatory cytokines in animal health and disease. *Vet Immunol Immunopathol* 1996; 54:45-55.
11. Nukina H, Sudo N, Aiba Y, et al. Restraint stress elevates the plazma interleukin-6 levels in germ-free mice. *J Neuroimmunol* 2001; 115: 46-52.
12. Yoshioka M, Watanabe A, Shimada N, et al. Regulation of haptoglobin secretion by recombinant bovine cytokines in primary cultured bovine hepatocytes. *Domestic Animal Endocrinology* 2002; 234: 425-433.
13. Petersen HH, Neilsen JP, Heegaard PMH. Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. *J Vet Res* 2003; 35:163-187.
14. Hirvonen J .Acute phase response in dairy cattle. PhD Thesis. University of Helsinki 2000.
15. Paape MJ, Schultze WD, Desjardins C, Miller RH . Plasma corticosteroid, circulating

- leucocyte and milk somatic cell responses to *Escherichia coli* endotoxin-induced mastitis. *Proceedings of Society for Experimental Biology and Medicine* 1974; 3(2):183-197.
16. Boosman R, Mutsaers CWAAM, Dieleman SJ. Sympathicoadrenal effects of endotoxaemia in cattle. *Vet Rec* 1990; 127:11-14.
 17. Mandrup-Poulsen T, Nerup J, Reimers JJ, et al. Cytokines and the endocrine system. I. The immunoendocrine network. *Eur J Endocrinol* 1995; 133: 660-671.
 18. Jennings G, Elia M. Changes in protein distribution in normal and protein deficient rats during an acute-phase "injury" response. *British Journal of Nutrition* 1996; 76: 123-132.
 19. Conner JG, Eckersall PD. Bovine acute phase response following turpentine injection, *Res Vet Sci* 1988; 44: 82 – 88.
 20. Mackiewicz A, Kushner I, Baumann H. *Acute Phase Proteins: Molecular Biology, Biochemistry and Clinical Applications*, London: CRC Press 1993; 3-19.
 21. Raynes JG. The acute phase response. *Biochemical Society Transactions* 1994; 22 (1): 69-74.
 22. Eckersall PD. Acute phase proteins as markers of inflammatory lesions. *Comp Haematol Int* 1995; 5: 93-97.
 23. Kidd R. Interpreting neutrophil numbers. *Veterinary Medicine* 1991; 86: 975-982.
 24. Jain NC. *Essentials of veterinary hematology*. Inc. Lea & Febiger, Philadelphia 1993; 349-380.
 25. Lohuis JACM, Verheijden JHM, Burvenich C, Vanmiert ASJPAM. Pathophysiological effects of endotoxins in ruminants. 2. Metabolic aspects. *Veterinary Quarterly* 1988; 10(2): 117-125.
 26. Otabe K, Ito T, Sugimoto T, Yamamoto S. C-reactive protein (CRP) measurement in canine serum following experimentally-induced acute gastric mucosal injury. *Laboratory Animal* 2000; 34 (4): 434-438.
 27. Kohler W, Prokop O. Relationship between haptoglobin and *Streptococcus pyogenes* T4 antigens. *Nature* 1978; 271:373.
 28. McGrotty YL, Knottenbelt, Ramsey IK, Reid AWJ, Eckersall PD. Haptoglobin in a canine hospital population. *Vet Rec* . 2003;152: 562-564.

29. Krüger M, Schrödl W, Lindner A, Kunze R .C-reaktives protein akute phase protein mit labormedizinischer bedeutung in der veterinarmedizin. Tierarztl Prax 1995; 23: 236–240.
30. Habif S. İnflamatuvar Yanıtta Akut Faz Proteinleri. İzmir Atatürk Eğitim Hastanesi Tıp Dergisi 2005; 43 (2): 55-65.
31. Diker S. İmmunoloji. Medisan Tıp Kitabevi. Ankara. 1998
32. Clayes R, Vinken S, Spapen H, et al. Plasma paracalsitonin and C-reactive protein acute septic shock: clinical and biological correlates. Crit Care Med 2002; 30: 757–762.
33. Ceron JJ, Eckersall PD, Martinez-Subiela S. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. Vet Clin Pathol. 2005; 34 (2): 85-99.
34. Regessa F, Noakes DE . Acute phase protein response of ewes and the release of PGFM in relation to uterine involution and the presence of intrauterine bacteria. Vet Rec 1999; 144: 502 – 509.
35. Subiela SM, Tecles F, Eckersall PD, Ceron JJ . Serum concentrations of acute phase proteins in dogs with leishmaniasis. Vet Rec 2002; February ; 23: 241–244.
36. Burtis CA, Ashwood ER .Tietz Textbook of Clinical Chemistry (3rd Ed) WB. Saunders Company, 1999; 477- 507.
37. Kaneko JJ . Clinical Biochemistry of Domestic Animals (3rd Ed), Academic Press. New York, 1980; p:166-169
38. Turgut K. Veteriner Klinik Laboratuvar Teşhis ,Bahçıvanlar Basım Sanayi, Konya 2000;157-158.
39. Thomas JS. Overwiev plasma proteins. Schalm's Veterinary Hematology Lippincott Williams, Wilkins, Philadelphia. 2000
40. Tiftik AM. Klinik Biyokimya , Mimoza AŞ, Konya.1996
41. Walker JL, Clarke CR, Lessley BA, Hague CM . Effect of Pasteurella haemolytica infection on α -1 acid glikoprotein and albumin concentration in serum and subcutaneous tissue chamber fluid of calves. Res Vet Sci 1994; 56: 158 –163.
42. Pfeffer A, Rogers KM, O'Keeffe L, Osborn PJ .Acute phase protein response, food intake, liveweight change and lesions following intrathoracic injection of yeast in sheep. Res Vet Sci 1993; 55: 300–306.

43. Kaneko J.J, Harvey J.W, Bruss M.L. Clinical Biochemistry of Domestic Animals (6 th Edition) Academic press London 2008.
44. McNair J, Elliott C, Bryson D.G, Mackie D.P. Bovine serum transferrin concentration during acute infection with *Haemophilus somnus*. *Vet J* 1998; 155: 155-251.
45. Young CR, Wittum TE, Stanker LH, et al. Serum haptoglobin concentrations in a population of feedlot cattle. *Am J Vet Res* 1996; 2 (57): 138 –141.
46. Nakagawa H .Detection of serum haptoglobin by enzyme linked immunosorbent assay in cows with fatty liver. *Res Vet Sci* 1997; 62: 137– 41.
47. Petersen HH, Diderikson D, Christiansen BM, Nielsen JP. Serum haptoglobin concentration as a marker of clinical signs in finishing pigs. *Vet Rec* 2002; 151: 85 – 82.
48. Eckersall PD, Safi S, Weber A, et al . The acute phase protein response of haptoglobin, serum amyloid A and α 1-acid glycoprotein in dairy cows with mastitis, 4. European comparative clinic pathology meeting, 1999, Verona, Italy.
49. Grönlund U, Hultén C, Eckersall PD, et al . Haptoglobin and serum amyloid A in milk and serum during acute and chronic experimentally induced *Staphylococcus aureus* mastitis. *J Dairy Res* 2003; 70: 379-386.
50. Jacobsen S, Niewold TA, Kornalijslijper E, Toussaint MJM, Gruys E, the kinetics of serum amyloid A accumulation in milk from cows with experimentally induced *E. Coli* mastitis, Fourth European Colloquim on acute phase proteins, 2003, Segova, İspanya.
51. Alsemgeest SPM, Lamboy IE, Wierenga HK, et al. Influence of physical stress on the plasma concentration of serum amyloid A and haptoglobin in calves. *Veterinary Quarterly* 1995;17: 9-12.
52. Glass EJ, Craigmile SC, Springbett A, et al . The protozoan parasite, *Theileria annulata*, induces a distinct acute phase protein response in cattle that is associated with pathology. *Int J Parasitol* 2003; 33: 1409-1418.
53. Boosman R, Niewold TA, Mutsaers CWAAM, Gruys E. Serum amyloid A concentrations in cows given endotoxin as an acute phase stimulant. *Am J Vet Res* 1989; 50(10):1690-1694.
54. Horadagoda NU, Knox KMG, Gibbs HA, et al . Acute phase proteins in cattle: discrimination between acute and cronic inflamation. *Vet Rec* 1999;144: 437-441 .

55. Rubel C, Fernandez GC, Dran G, et al. Fibrinogen promotes neutrophil activation and delays apoptosis. *J Immunol* 2001; 166: 2002-2010.
56. Tamzali Y, Guelfi JF, Braun JP .Plasma fibrinogen measurement in the horse:comparison of Millar's technique with a chronometric technique and the QBC-Vet Autereader. *Res Vet Sci* 2001; 71: 213 – 217.
57. Conner JG, Eckersall PD, Wiseman A, et al. Acute phase response in calves following infection with *Pasteurella haemolytica*, *Ostertagia ostertagi* and endotoxin administration. *Res Vet Sci* 1989; 47: 203 – 207.
58. Ok M, Aslan V. Retikuloperitonitis travmatikalı sığırların teşhis ve prognozunda kan proteinleri ve glutraldehit testinin önemi. *Vet Bil Derg* 1994; 10(1):2:90-95.
59. Ganheim C, Hoglund J, Waller KP. Acute phase protein in response *Dictyocaulus viviparus* infection in calves. *Acta Vet Scand* 2004; 45(1-2): 79-86.
60. Moore DF, Rosenfeld MR, Gribbon PM, et al. Alpha-1 acid glycoprotein: interaction with bacterial lipopolisaccharide and protection from sepsis. *Inflammation* 1997; 21: 69-82.
61. Fournier T, Medjoubi-N N, Porquet D. Alpha-1 asid glicoprotein. *Biochimica et Biophysica Acta* 2000; 14(82):157-171.
62. Mold C, Rogriguez W, Rodic-Polic B, Du Clos TW. CRP mediates protection from lipopolysaccharide through interactions with Fc-gammaR. *J Immunol* 2002; 169: 7019-7025.
63. Lampreave F, Gonzalez-Ramon N, Martinez-Ayensa S.Characterization of the acute phase serum protein response in pigs. *Electrophoresis* 1994;15: 672-676.
64. Lee WC, Hsiao HC, Wu YL, et al . Serum C-reactive protein in dairy herds.The Canadian Journal of Veterinary Research 2003; 67: 102-107.
65. Pyorala S. Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. *Vet Res* 2003; 34: 565-578.
66. Schroedl W, Jaekel L, Krueger M. C-reactive protein and antibacterial acrivity in blood plasma of colostrum-fed calves and the effect of lactulose. *J Dairy Sci* 2003; 86: 3313-3320.
67. Burtis CA, Ashwood ER. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry* (3rd Ed.). WB.

Sounders Company, 1999: 477- 507

68. Inoue K, Akaike T, Miyamoto Y, et al. Nitrosothiol formation catalyzed by ceruloplasmin implication for cytoprotective mechanism invivo. *Journal of Biological Chemistry* 1999; 274: 27069-27075.
69. Patel BN, Dunn RJ, Jeong SY, et al. Ceruloplasmin regulates iron levels in the CNS and prevents free radical injury. *J Neurosci* 2002; 22: 6578-6586.
70. Silverman LM, Christenson RH Aminoacid and proteins. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry* (second edition), Edited by Burtis CA, Ashwood ER, Saunders Company, Philedelphia. 1994
71. Yamamoto S, Tagata K, Nagahata H, et al . Isolation of canine C reaktive protein and characterization of its properties .*Vet immunol Immunopathol* 1996; 30: 329-339.
72. Kluve-Beckerman B, Yamada T, Hardwick J, et al . Differential plasma clearance of murine acute-phase serum amyloid A proteins SAA1 and SAA2. *Biochemical Journal* 1997; 322: 663-669.
73. Conner JG, Eckersall PD, Doherty M, Douglas TA. Acute phase response and mastitis in the cow. *Res Vet Sci* 1986; 41(1): 126-128.
74. Sasaki K, Ma Z, Khatlani TS, et al .Evalvation of feline serum amyloid A (SAA) as a inflamotoloj marker. *J Vet Med Sci* 2003; 64(4): 545-548.
75. Auer DE, Thompson HL, Inglis S, Sea wright AA. Acute phase response in horses: changes in plasma cation concentrations after localised tissue injur. *Vet Rec* 1989; 124: 235 – 239.
76. Smith JE, Cipriano JE. Inflammation-induced changes in serum iron analyses and ceruloplasmin of Shetland ponies. *Vet Pathol* 1987; 24: 354 – 356.
77. Pineiro M, Andres M, Iturralde M. ITIH4 (Inter Alpha Trypsin Inhibitor Heavy Chain 4) is a new acute phase protein isolated from cattle during experimental infection. *Infec and Immun* 2004;72: 3777-3782.
78. Sellar GC, Debeer MC, Leilas JM, et al. Dog serum amyloid A protein. *J Biol Chem.*1991; 266 (6): 3505-3510.
79. Mulhern SA, Koller LD. Severe or marginal copper deficiency results in a graded reduction in immune status in mice. *Journal of Nutrition* 1988; 118:1041-1047.

80. Thompson D, Milford-Ward A, Whicher JT. The value of acute phase protein measurments in clinical practice. *Ann Clin Biochem* 1992; 26: 123-31.
81. Murata H, Miyamoto T. Bovine haptoglobin as apossible immunomodulator in the sera of transported calves. *Br Vet J* 1993; 149:277-283.
82. Weng X, Cloutier G, Beaulieu R, Roederer GO. Influence of acute phase proteins on erythrocyte aggregation. *Am J Physiol* 1997; 271: 2346-2352.
83. Maes M .A review on the acute phase response in majör depression. *Reviews in the Neurosciences* 1993; 4(4): 407-416.
84. Lomborg S.R, Nielsen L.R, Heegard P.M, Jacobsen S. Acute phase proteins in cattle after exposure to complex stress. *Vet Res Commun* 2008; 32 (7): 575-82.
85. Kent J . Acute phase proteins: Their use in veterinary diagnosis. *Br Vet J* 1992; 148: 279 – 282.
86. Horadogada A, Eckersall PD. İmmediate responses in serum TNF α and acute phase protein concentrations to infection with *Pasteurella haemolytica* A1 in calves. *Res Vet Sci* 1994; 57: 129 – 132.
87. Sekin S, Elitok ÖM, Elitok B. Akut faz proteinlerden haptoglobinin hastalıkların tanı ve ayırıcı tanısındaki önemi. *Yüzüncü Yıl Üniv Vet. Fak Derg* 1999; 10 (1-2): 113-17.
88. Gruys E, Toussaint MJM and Niewald TA. Acute phase reaction and acute phase proteins. *J Zhejiang Univ Sci* 2005a; 11: 1045-1056.
89. Gruys, E, Toussaint, M.J.M, Upragarin, N, et al. Acute phase reactants, challenge in the near future of animal production and veterinary medicine. *J Zhejiang univ Sci* 2005b; 10: 941-947.
90. Ganheim C. Alenius S, Waller K.P. Acute phase proteins as indicator of calf herd health. *Vet J* 2007; 173: 645-51.
91. Akerstedt M, Waller K.P, Larsen L.B, et al. Relationship between haptoglobin and serum amyloid A in milk and milk quality. *Int. Dairy Journal* 2008; 18: 669-74.
92. Alsemgeest S.P.M, Gruys E, Van der Kolk J.H, et al. The plasma concentration of bovine SAA in health and disease, after surgery and endotoxin administration. In: Ubaldi A (Ed) *Vth Congrees of the ISACB Proceeding*,121-123, 1992, Parma, Italy
93. Shapiro S.Z. and Black S.J. Identification of an acute phase reactant in murine infections

- with *Trypanosoma brucei*. *Infect Immun* 1992; 60: 3921-24.
94. Martinez-Subiella S, Ceron J.J. Evaluation of acute phase protein indexes in dogs with leishmaniasis at diagnosis, during and after short-term treatment. *Vet Med Czech* 2005; 50: 39-46.
 95. Gruys E, Toussaint M.J.M, Niewold T.A, et al. Monitoring health by values of acute phase proteins. *Acta histochemica* 2006;108: 229-32.
 96. Toussaint M.J.M, van Ederen A.M. and Gruys E. Implication of clinical pathology in assessment of animal health and in animal production and meat inspection. *Comp Haematol Internat* 1995; 5: 149-57.
 97. Skinner J.G. International standardization of acute phase proteins. *Vet Clin Pathol* 2001; 30: 2-7.
 98. Toussaint J.M.M, Hogart J.C, Nguyen T.K.A, Gruys E. Acute phase variables to assess health in various species. *Int Soc For Anim Hygiene Saint malo*, 2004.
 99. Eckersall PD. The time is right for acute phase protein assay, *The veterinary journal* 2004;168: 3-5.
 100. Pyörola S. Hirvonen's thesis on acute phase response in dairy cattle. University of Helsinki, Faculty of Veterinary Medicine, 2000, Helsinki.
 101. Erslev AJ: Haptoglobin assay. In: Williams WJ, Beutler E, Lichtman MA, Erslev AJ, TJ (Eds.) *Hematology* (4th ed.), McGraw-Hill Publ, 1737-1738. 1991, New York.
 102. Aksoy M: Türkiye'nin bazı bölgelerinde haptoglobin dağılımı incelenmesi. *Klinik Gelişim* 1991; 4:1440-1441.
 103. Langlois MR, Delanghe JR: Biological and clinical significance of haptoglobin polymorphism in human. *Clin Chem* 1996; 42 (10): 1589-1700.
 104. Alper CA: The plasma proteins. In: Williams WJ, Beutler E, Lichtman MA, Erslev AJ, TJ (Eds.) *Hematology* (4th ed.), McGraw-Hill Publ, 1616-1627. 1991, New York.
 105. Dessypris EN: The life span of the erythrocyte. In: Lee GR, Foerster J, Lukens J, Araskevass F, Greer JP, Rodgers GM (Eds.). *Wintrobe's Clinical Hematology* (10th ed.), Williams & Wilkins: 280-286. 1999, Philadelphia.
 106. Morimatsu M, Sarikaputi M, Syuto B. Bovine haptoglobin: Single radial immunodiffusion assay of its polymeric forms and dramatic rise in acute phase sera.

- Vet Immunol Immunopathol 1992; 33: 365-72.
107. Onat T, Emerk K, Sözmen EY. İnsan Biyokimyası, Palme Yayıncılık ,2002,Ankara.
 108. Isaac KQ. Haptoglobin, inflammation and disease. Trans Royal Soc Trop Med And Hygiene 2008; 102: 735-42.
 109. Bullen JJ. The significance of iron in infection. Rev Infect Dis 1981; 3:1127-38.
 110. Alsemgeest SPM, Kalsbeek HC, Wensing Th, et al. Concentrations of SAA (SAA) and haptoglobin (Hp) as parameters of inflammatory diseases in cattle. Vet Quart 1994; 16: 21-23.
 111. Heegard PMH, Godson DL, Toussaint MJM. The acute phase response of haptoglobin and Serum Amyloid A in cattle undergoing experimental infection with bovine respiratory syncytial virus. Vet Immunol Immunopathol 2000; 77: 151-159.
 112. Fisher AD, Knight TW, Cosgrove GP, Death AF. Effects of surgical or banding castration on stress responses and behaviour of bulls. Aust Vet J 2001; 79: 279-84.
 113. Höfner MC, Fosbery MW, Eckersall PD, Donaldson AL. Haptoglobin response of cattle infected with foot-mouth disease virus. Res Vet Sci 1994; 57: 125-128.
 114. Godson DL, Campos M, Attah-Poku S. K. Serum haptoglobin as an indicator of the acute phase response in bovine respiratory disease. Vet Immunol Immunopathol 1996; 51: 292- 299.
 115. Nikunen S, Hartel H, Orro T. Association of bovine respiratory disease with clinical status and acute phase proteins in calves. Comp Immunol Microbiol Infectious Disease 2007; 30: 143-51.
 116. Huzzey JM, Duffield TF, Leblanc SJ, et al. Short communication: Haptoglobin as an early indicator of metritis. J Dairy Sci 2009; 92 (2): 621-5.
 117. Uchida E, Katoh N, Takahashi K. Induction of serum haptoglobin by administration of ethionine to cows. J Vet Med Sci 1993; 55: 501-502.
 118. Orro T, Jacobsen S, Lepage J. P. Temporal changes in serum concentrations of acute phase proteins in newborn dairy calves. Vet J 2008; 176: 182-87.
 119. Fisher AD, Crove MA, Onuallain EM. Effects of cortisol on in vitro interferon γ production, acute phase proteins growth and feed intake in a calf castration model. J Anim Sci 1997; 75: 1041-1047.

120. Bozukluhan K. Retikulooperitonitis travmatikalı sığırlarda hematolojik, biyokimyasal ve bazı akut faz proteinlerin araştırılması. (Doktora tezi) Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enst. Kars. 2008
121. Nazifi S, Ansari-Lari M, Asadi-Fardagi J, Rezaei M. The use of receiver operating characteristic (ROC) analysis to assess the diagnostic value of serum amyloid A, haptoglobin and fibrinogen in reticulooperitonitis in cattle. *Vet J.* 2008
122. Hirvonen J, Pyörala S. and Jousmies-Somer H. Acute phase response in heifers with experimentally induced mastitis. *J Dairy Res* 1996; 63: 351-360.
123. Kent JE, Goodal J. Assessment of an immunoturbidimetric method for measuring equine serum haptoglobin concentration. *Equine Vet J* 1991; 23 (1): 59-66.
124. Hulten C, Demmers S. Serum amyloid A (SAA) as an aid in the management of infectious disease in the foal: comparison with total leucocyte count, neutrophil count and fibrinogen. *Equine Vet. J* 2002; 34: 693-98.
125. Fagliari JJ, Mcclenahan D, Evanson OA, Weiss DJ. Changes in plasma protein concentrations in ponies with experimentally induced alimentary laminitis. *Am J Vet Res* 1998; 59: 1234-37.
126. Milne EM, Doxey DL, Kent JE. Acute phase proteins in grass sickness (equine dysautonomia) *ResVet Sci* 1991; 50: 273-78.
127. Scott PR, Murray LD, Penny CD. A preliminary study of serum haptoglobin concentration as a prognostic indicator of ovine dystocia cases. *Br Vet J* 1992; 148: 351.
128. Ulutaş PA, Voyvoda H, Ulutaş B, Aypak S. Miks helmint enfeksiyonlu keçilerde haptoglobin, serum amyloid A ve seruloplazmin konsantrasyonları. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2008;32 (3): 229-233.
129. Citil M. Puerperal enfeksiyonlu ve Abomasum Deplasmanli ineklerde Serum Amiloid A ve Haptoglobin Düzeyleri. *Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg.* 2003; 9 (2): 147-151.
130. Kushner I, Mackiewicz A. Acute phase proteins as disease markers. *Dis Markers.* Mar. 1987;5(1):1–11.
131. Heinrich PC, Castell JV, Andus T. Interleukin-6 and the acute phase response. *Biochem J.* Feb 1. 1990;265(3):621–636.
132. Mackiewicz A, Kushner I, Baumann H, eds. Acute phase proteins. *Molecular biology,*

- biochemistry and clinical applications. Boca Raton, FL: CRC Press.1993:21–37.
133. Eckersall P.D. ve Conner, J.G. Bovine and canine acute phase proteins. *Vet. Res. Commun.* 1988;12: 169–178.
 134. Maksimura, S. ve Suzuki, N: Quantitative determination of bovine serum haptoglobin and its elevation in some inflammatory diseases. *Jpn. J. Vet. Sci.*1982; 44: 15–21
 135. Uchida E, Katoh N, Takahashi K. Appearance of haptoglobin in serum from cows at parturition. *J Vet Med Sci.*1993; 55(5): 893-4.
 136. Firat A, Ozpinar A. Metabolic profile of pre-pregnancy, pregnancy and early lactation in multiple lambing Sakiz ewes. 1. Changes in plasma glucose, 3-hydroxybutyrate and cortisol levels. *Ann Nutr Metab.*2002; 46 (2): 57-61.
 137. Everts H., Kuiper H. Energy intake and pregnancy toxemia in prolific ewes. Fifth International Conference on Production Diseases in Farm Animals, Uppsala, Sweden.1983; 133-136.
 138. Scott PR, Woodman MP. An outbreak of pregnancy toxemia in a flock of Scottish blackface sheep. *Vet Rec.*1993; 133 (24):597-8.
 139. Van Saun RJ. Pregnancy toxemia in a flock of sheep *J Am Vet Med Assoc.* Nov 15, 2000 ;217 (10): 1536-9.
 140. Ferris TF, Herdson PB, Dunnill MS, Lee MR. Toxemia of pregnancy in sheep: a clinical, physiological, and pathological study. *J Clin Invest.* 1969 ; 48(9):1643-55.
 141. Lacetera N, Bernabucci U, Ronchi B, Nardone A. Effects of subclinical pregnancy toxemia on immune responses in sheep. *Am J Vet Res.*Jul 2001;62(7):1020-4. *Am J Vet Res Sep*;62 (9):1446.
 142. Oftedal OT. Use of maternal reserves as a lactation strategy in large mammals. *Proc Nutr Soc.* 2000 Feb; 59(1): 99-106.
 143. Pires JA, Souza AH, Grummer RR. Induction of hyperlipidemia by intravenous infusion of tallow emulsion causes insulin resistance in Holstein cows. *J Dairy Sci.* Jun 2007;90 (6):2735-44.
 144. Bell AW, Bauman DE. Adaptations of glucose metabolism during pregnancy and lactation *J Mammary Gland Biol Neoplasia.* Jul 1997; 2 (3):265-78.
 145. Regnault TR, Oddy HV, Nancarrow C, Sriskandarajah N, Scaramuzzi RJ. Glucose-

- stimulated insulin response in pregnant sheep following acute suppression of plasma non-esterified fatty acid concentrations. *Reprod Biol Endocrinol*. Sep , 2004;7(2):64.
146. Doepel L, Lapierre H, Kennelly JJ. Peripartum performance and metabolism of dairy cows in response to prepartum energy and protein intake. *J Dairy Sci*. Sep 2002 ;85(9):2315-34.
 147. Wallace JM, Milne JS, Aitken RP. Maternal growth hormone treatment from day 35 to 80 of gestation alters nutrient partitioning in favor of uteroplacental growth in the overnourished adolescent sheep. *Biol Reprod*. 2004 May;70 (5):1277-85. Epub Dec 26.
 148. Kahn CR. Insulin resistance, insulin insensitivity, and insulin unresponsiveness: a necessary distinction. *Metabolism*.1978 Dec;27(12 Suppl 2):1893-902.
 149. Grummer RR. Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows. *J Dairy Sci*. Dec 1993;76(12):3882-96.
 150. Lewis MR, Tracy RP. The role of the immune system in the insulin resistance syndrome. *Curr Diab Rep*. Feb 2002 ;2(1):96-9.
 151. Van Epps-Fung M, Williford J, Wells A, Hardy RW. Fatty acid-induced insulin resistance in adipocytes. *Endocrinology*. Oct 1997 ;138(10):4338-45.
 152. Gao Z, Zhang X, Zuberi A, et al. Inhibition of insulin sensitivity by free fatty acids requires activation of multiple serine kinases in 3T3-L1 adipocytes. *Mol Endocrinol*. Aug 2004 ;18(8):2024-34.
 153. Holtenius K, Agenäs S, Delavaud C, Chilliard Y. Effects of feeding intensity during the dry period. 2. Metabolic and hormonal responses. *J Dairy Sci*. Mar 2003;86(3):883-91.
 154. Van den Top AM, Van Tol A, Jansen H, Geelen MJ, 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. *J Dairy Res*. May 2005;72(2):129-37.
 155. Procos J, Gilchrist FMC. Ovine ketosis: Ketone body and blood glucose levels of merino ewes during the preclinical and postclinical stages of pregnancy diseases. *Onderstepoort J Vet Res* .1966; 33:161-168.
 156. Kronfeld DS. Ketosis in pregnant sheep and lactating cows. A review. *Aust Vet J*. Dec;48(12):680-7. Andrews AH. 1982, Effects of glucose and propylene glycol on

- pregnancy toxaemia in ewes *Vet Rec.* Jan 1972; 23:110 (4): 84-5.
157. Poore KR, Cleal JK, Newman JP, Boullin JP, Noakes DE, Hanson MA, Green LR. Nutritional challenges during development induce sex-specific changes in glucose homeostasis in the adult sheep. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* Jan 2007;292(1):E32-9. Epub 2006 Jul 25.
 158. Owens JA, Thavaneswaran P, De Blasio MJ, McMillen IC, Robinson JS, Gatford KL. Sex-specific effects of placental restriction on components of the metabolic syndrome in young adult sheep. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* Jun 2007; 292(6): 1879-89.
 159. Marteniuk JV, Herdt TH. Pregnancy toxemia and ketosis of ewes and does. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 1988; 4(2):307-15.
 160. Jeffrey M, Higgins RJ: Brain lesions of naturally occurring pregnancy toxemia of sheep. *Vet Pathol.* 1992; 29(4):301-7.
 161. Tontis A, Zwahlen R.: Pregnancy toxemia of small ruminants with special reference to pathomorphology *Tierarztl Prax.*1987; 15 (1):25-9.
 162. Kronfeld DS, Raggi F. Irregular plasma glucose concentrations, elevated plasma non-esterified fatty acid concentrations and unchanged glucokinase activities in brain, muscle and liver during pregnancy toxaemia in sheep. *Res Vet Sci.* 1966;7(4):493-8.
 163. Wastney ME, Wolff JE. Bickerstaffe R. Glucose turnover and hepatocyte glucose production of starved and toxaemic pregnant sheep. *Aust J Biol Sci.*1983; 36(3):271-84.
 164. Cantley CE, Ford CM, Heath MF. Serum fructosamine in ovine pregnancy toxaemia: a possible prognostic index. *Vet Rec.* Jun 1; 1991; 128 (22):525-6.
 165. Scott PR, Sargison ND, Penny CD, Pirie RS, Kelly JM. Cerebrospinal fluid and plasma glucose concentrations of ovine pregnancy toxaemia cases, inappetant ewes and normal ewes during late gestation. *Br Vet J.* Jan-Feb 1995;151 (1): 39-44.
 166. Buswell JF, Haddy JP, Bywater RJ. Treatment of pregnancy toxaemia in sheep using a concentrated oral rehydration solution *Vet Rec.*1986; Feb 22; 118 (8): 208-9.
 167. Wierda A, Verhoeff J, van Dijk S, Dorresteyn J, Wensing T. Effects of trenbolone acetate and propylene glycol on pregnancy toxaemia in ewes. *Vet Rec.* 1985. Mar 16;116(11):284-7
 168. Hunt ER. Treatment of pregnancy toxaemia in ewes by induction of parturition. *Aust Vet*

- J. 1976, Nov;52(11):540.
169. Scott PR, Sargison ND, Penny CD. Evaluation of recombinant bovine somatotropin in the tre J Dairy Sci. 2003 Jun; 86(6):1953-62. atment of ovine pregnancy toxaemia. Vet J. 1998, Mar; 155 (2):197-9.
 170. Bickhardt K., Henze, P., Sallmann HP. Glucose-Stoffwechselstörungen bei erwachsenen Schafen und ihre Behandlungen. DVG Tagung "Krankheiten der Kleinen Wiederkaurer", Giessen. 1993;92-100.
 171. Henze P., Pickhardt, K., Fuhrmann, H., Salman HP. Spontaneous pregnancy toxemia (ketosis) in sheep and the role of insulin. J. Vet. Med. 1998;A 45: 255-266.
 172. Maine D. Role of nutrition in the prevention of toxemia. Am J Clin Nutr. Jul;72(1 Suppl):298S-300S. Am J Clin Nutr Nov 2000 ;72(5):1242.
 173. Tanritanir P, Dede S, Ceylan E, Changes in some macro minerals and biochemical parameters in female healthy siirhair goats before and after parturation. J Anim Vet Adv, 2009; 8(3): 530-533.
 174. Sarıpınar D, Karadeniz A, Şireli M, Sulu N, Sakız koyunlarında gebelik ve doğum sonrası belirlenen bazı hematolojik parametreler. Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg. 2004. 10 (1): 53-57.
 175. Azab ME, Abdel-Maksoud HA, 1999. Changes in some haematological and biochemical parameters during prepartum and postpartum periods in female baladi goats. Small Rum Res, 34: 77-85.
 176. Maureen PM, 2003. Medical and surgical complications of pregnancy. Scott JR. Ed. Danforth's Obstetrics and Gynecology. 9th ed., Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, pp. 273-312.
 177. Merhan O., Ozcan A. Peripartum Dönemdeki Koyunlarda Seruloplazmin, Haptoglobin, Fibrinojen, Albümin ve Transferrin Düzeylerinin Araştırılması. Erciyes Üniv Vet Fak Derg. 2010, 7: 13-20.
 178. Yokuş B, Cakır DU, Kurt D. Effects of seasonal and physiological variations on the serum major and trace element levels in sheep. Biol Trac Elem Res 2004;101:241-255.
 179. Ası T. Elazığ ve yöresinde koyun ve sığırlarda normal ve sağlıklı durumlarda kan serumlarında bakır, kalsiyum, magnezyum ve anorganik fosfat değerleri üzerinde

- araştırmalar. Doğa Bilim Dergisi 1983; D1,7,3: 219-231.
180. Mostello D, Chalk C, Khoury J, Mack CE, Siddiqi TA, Clark KE, Chronic anemia in pregnant ewes: Maternal and fetal effects. *Am J Physiol*, 261 (5 Pt 2): R1075-1083, 1991.
 181. Özyurtlu N., Gürgöze SY., Bademkıran S., şimşek A., Çelik R., İvesi Koyunlarda Doğum Öncesi ve Sonrası Dönemdeki Bazı Biyokimyasal Parametreler ve Mineral Madde Düzeylerinin Araştırılması. *F.Ü. Sağ. Bil. Derg.* 2007: 21 (1): 33 – 36.
 182. Atakişi E., Atakişi O., Merhan O., Öğünç M., Özcan A., Maraşlıoğlu ř., Koyunlarda Gebelik Öncesi, Gebelik ve Doğum sonrası β -hidroksi Bütirik Asit, Glukoz ve Trigliserid Düzeylerinin Araştırılması. *Erciyes Üniv. Vet. Fak. Derg.* 2009. 6(1): 37-41.
 183. Balıkçı E., Yıldız A., Gurdoğan F., Blood metabolite concentrations during pregnancy and postpartum in Akkaraman ewes. *Small. Rumin. Res.* 1983. 67:247-251.
 184. Hamadeh ME., Bostedt H., Failing K., Concentration of metabolic parametres in the blood heavily pregnant and nonpregnant ewes. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.* 109: 81-86.
 185. Gruys E, Obwolo MJ, Toussaint MJM, Diagnostic significance of the major acute phase proteins in veterinary clinical chemistry: A review. *Vet Bull*, 1994: 64(11): 1009-1018.
 186. Gökce H.I., Bozukluhan K., Çiftlik Hayvanlarında Önemli Akut Faz Proteinleri ve Bunların Veteriner Hekimlik Alanındaki Kullanımı. *Dicle Üniv Vet Fak Derg* 2009: 1 (1): 1- 14).
 187. Humblet MF, Guyot H, Boudry B, Mbayahi F, Hanzen C, Rollin F, Godeau JM, .Relationship between haptoglobin, serum amyloid A, and clinical status in a survey of dairy herds during a 6-month period. *Vet Clin Pathol*, 2006: 35(2): 188-193.
 188. Skinner J.G., Brown RA, Roberts L., 1991. Bovine haptoglobin response in clinically defined field conditions. *Vet Rec*, 1991: 128: 147-149).
 189. Nowroozi-Asl, A.; Nazifi, S., Bahari, A. Determination of serum haptoglobin reference value in clinically healthy Iranian fat-tailed sheep. *Iranian Journal of Veterinary Research*, Shiraz University, 2008, Vol. 9, 171-173.
 190. Arslan, H. H., Çenesiz, S., Nisbet C., Yazıcı Z., Serum haptoglobin and amyloid a concentrations And clinical findings in sheep With peste des petits ruminants. *Bull Vet*

- Inst Pulawy. 2007, 51: 471-474,
191. Nakagawa H, Yamamoto O, Oikawa S. Detection of serum haptoglobin by enzymelinked Immunosorbent assay in cows with fatty liver. Res Vet Sci. 1997, 62: 137-141.