

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

NEONATAL İSHALLİ BUZAĞILARDA VİTAMİN D₃
KONSANTRASYONLARININ ARAŞTIRILMASI

TAHİR ÖZALP
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi HASAN ERDOĞAN

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından VTF-18023 nolu proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2019

KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İç Hastalıkları Anabilim Dalı Veteriner Programı çerçevesinde Tahir ÖZALP tarafından hazırlanan “**Neonatal İshalli Buzağlarda Vitamin D₃ Konsantrasyonlarının Araştırılması**” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 23/01/2019

Üye (T.D.): Dr. Öğr. Üyesi Hasan ERDOĞAN, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi



Üye: Prof. Dr. Turan CİVELEK, Afyon Kocatepe Üniversitesi



Üye: Prof. Dr. Kerem URAL, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi



ONAY:

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

Prof. Dr. Ahmet CEYLAN

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisansa başlamamda büyük etkisi olan, yüksek lisans dönemi boyunca her aşamada yardımcı olan ve yol gösteren değerli danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Hasan ERDOĞAN' a emeklerinden ve yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca katkı ve yardımlarından dolayı İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Kerem URAL ve Anabilim Dalımız Öğretim Üyeleri Sayın Prof. Dr. Serdar PAŞA, Sayın Prof. Dr. Hüseyin VOYVODA ve Sayın Doç. Dr. Mehmet GÜLTEKİN'e

Yüksek lisans dönemim boyunca hiçbir zaman yardımını esirgemeyen, yol gösteren Sayın Arş. Gör. Dr. Songül ERDOĞAN'a, Sayın Arş. Gör. İsmail GÜNAL'a

Örnek toplamamda yardımcı olan Veteriner Hekim Deniz Sude ATEŞ'e, Veteriner Hekim Pelin KANDEMİR'e ve Veteriner Fakültesi bünyesinde görevli Veteriner Sağlık Teknikeri Sayın Selim AÇAR'a teşekkürü bir borç bilirim.

Bu eseri, Veteriner Hekimliği mesleğini seçmemde en büyük faktör olan, hiçbir zaman yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen aileme ithaf ederim.

İÇİNDEKİLER

KABULVE ONAY.....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
RESİMLER DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
TABLolar DİZİNİ.....	ix
ÖZET.....	x
ABSTRACT.....	xi
1.GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1.Neonatal Buzağı İshalleri.....	3
2.1.1.Buzağı İshalleri Etiyolojisi.....	3
2.1.1.1.Enfeksiyöz buzağı ishalleri.....	4
2.1.1.1.1.Viral kaynaklı buzağı ishalleri.....	4
2.1.1.1.2.Bakteriyal kaynaklı buzağı ishalleri.....	6
2.1.1.1.3.Protozoon kaynaklı buzağı ishalleri.....	7
2.2.İshalde Akut Faz Yanıt.....	8
2.2.1.Akut Faz Yanıt.....	8
2.2.1.1.Ruminantlarda akut faz yanıt.....	10
2.2.1.2.Buzağı ishallerinde akut faz proteinler.....	11
2.3.Vitamin D ve Metabolizması.....	13
2.4.Ruminantların İmmun Sisteminde Vitamin D ve Önemi.....	14
2.4.1.Sığır Bağışıklık Sisteminde Vitamin D Sinyalizasyonu.....	15
2.4.2.Vitamin D ve Doğal İmmunite Üzerine Etkisi.....	16
2.4.3.Vitamin D ve Adaptif İmmunite Üzerine Etkisi.....	17
2.5.İmmun Sistem Tarafından 1,25 (OH) ₂ D ₃ Sentezi.....	19
2.6.Bağışıklık Sisteminde Vitamin D Gereksinimleri.....	21
2.7. Preruminant Buzağılarda Vitamin D.....	22
2.8. Gastrointestinal Hastalıklar Ve Vitamin D İlişkisi.....	24

3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	29
3.1.Hayvan Materyali ve Gruplarının Dizaynı.....	29
3.2.Kan Örneklerinin Alınması ve Klinik Değerlendirilmesi.....	30
3.3.Laboratuvar Örneklerinin İşlenmesi.....	32
3.3.1.Vitamin D Analizleri.....	32
3.3.2.Fibrinojen Analizleri.....	33
3.3.3.Hematolojik Analizler.....	34
3.4.İstatistiksel Analizler.....	34
4. BULGULAR.....	36
4.1.Klinik Bulgular.....	36
4.2.Laboratuvar Bulguları.....	37
5.TARTIŞMA.....	43
6.SONUÇ VE ÖNERİLER.....	51
KAYNAKLAR.....	52
EKLER.....	72
ÖZGEÇMİŞ.....	73

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

25 (OH) D	:	25-hidroksivitamin D
1,25 (OH)2D	:	1,25-dihidroksivitamin D
AFP	:	Akut faz protein
BVDV	:	<i>Bovine viral diyare</i> virusu
Ca	:	Kalsiyum
CD	:	Crohn dieases
DEFB4	:	Defensin β 4
ETEC	:	Enterotoksijenik <i>E. coli</i>
Fb	:	Fibrinojen
HE	:	Hemaglutinin-esteraz
Hp	:	Haptoglobin
IBH	:	İnflamatuar Bağırsak Hastalığı
IFN-γ	:	İnterferon gama
IL-1	:	İnterlökin-1
IL-6	:	İnterlökin-6
LBP	:	Lipopolisakkarit bağlayıcı proteinler
LPS	:	Lipopolisakkarid
MKP-1	:	MAPK Fosfataz-1
NO	:	Nitrik oksit
NRC	:	Ulusal Araştırma Konseyi
PBMC	:	Perivasküler kan mononükleer hücreler
PTH	:	Parathormonu
RANTES	:	Normal T hücre ekspresyonu, salgılanması ve aktivasyonun düzenlenmesi
RSV	:	Respiratuar Sinsityal Virus
SAA	:	Serum amiloid A
TLR4	:	Toll-like reseptör 4
TNF-α	:	Tümör nekroz faktör- α
UC	:	Ülseratif kolitis
USDA	:	Amerika Ulusal Hayvan Sağlığı Monitorizasyon sistemi

VDRE : Potansiyel vitamin D-tepki elementleri



RESİMLER DİZİNİ

Resim 3.1.	Hızlı test kitleri ile tanı konulan ishal ajanları	30
Resim 3.2.	<i>Vena jugularis</i> 'ten kan alma işlemi	30
Resim 3.3.	İshalli buzağuların klinik muayenesi ve değerlendirilmesi.....	31
Resim 3.4.	İshalli buzağıda dışkı görünümü (kan) ve etiyolojik değerlendirme.....	31
Resim 3.5.	25(OH)D ₃ analizi için kullanılan Savant marka flöresan immunoassey cihaz ve 25-OH-D (Florasın immuno kromotografi, Savant, Beijing) test kiti.....	33
Resim 3.6.	Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları ABD'da mevcut santrifüj cihazı (a) yarı otomatik koagülometre (b) ve (c) araştırmacı tarafından fibrinojen ölçümlerinin gerçekleştirilmesi.....	34

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1.	Etken teşhisi yapılan buzağuların gruplandırılması.....	29
Şekil 4.1.	Neonatal dönemdeki ishallerli buzağuların etkenlere göre ve sağlıklı buzağuların dağılım grafiği	36
Şekil 4.2.	Enfeksiyon gruplarında (Monoenfekte ve Koenfekte) ve sağlıklı grupta Vitamin D ve Fibrinojen düzeyleri.....	41



TABLolar DİZİNİ

Tablo 2.1.	Buzağı ishallerinde etiyolojik faktörler.....	4
Tablo 2.2.	Vitamin D'nin farklı türlerde immun sistem üzerine etkisi.....	16
Tablo 4.1.	Enfeksiyon gruplarında etkenlere göre klinik bulguların değerlendirilmesi.....	37
Tablo 4.2.	Enfekte gruplarda (Monoenfekte ve Koenfekte) ve sağlıklı grupta hematolojik	38
Tablo 4.3.	değerlendirmeler.....	
	Enfekte gruplarda (Monoenfekte ve Koenfekte) ve sağlıklı grupta	39
Tablo 4.4.	kan gazı değerlendirmeleri.....	
	Enfeksiyon gruplarında etkenlere göre ve sağlıklı grupta kan gazı	40
Tablo 4.5.	değerlendirmeleri.....	
	Enfeksiyon (Monoenfekte ve Koenfekte) ve sağlıklı gruplarda	41
Tablo 4.6.	Vitamin D ve Fibrinojen düzeyleri.....	
	Enfeksiyon alt gruplarına göre ve sağlıklı grupta Vitamin D ve	42
	Fibrinojen konsantrasyonları.....	

ÖZET

NEONATAL İSHALLİ BUZAĞILARDA VİTAMİN D₃ KONSANTRASYONLARININ ARAŞTIRILMASI

Özalp T. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İç Hastalıkları Programı Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2019.

Bu araştırma ile neonatal dönemde ishal semptomu gösteren buzağuların plazma vitamin D₃ ve fibrinojen konsantrasyonları arasındaki ilişkinin belirlenmesi amaçlandı. Bu kapsamda neonatal ishalleri (n=100) ve sağlıklı (n=20) buzağulara araştırılmaya dahil edildi. İshalleri buzağular kendi içerisinde mono enfekte ve ko enfeksiyon gruplarına göre iki ana gruba, mono-enfekte buzağular kendi içerisinde *E. coli*, Rotavirus, Coronavirus, *Cryptosporidium sp.*, ve *Giardia sp.*, ko-enfekte buzağular ise Rotavirus + *Cryptosporidium sp.* ve *E. coli* + *Cryptosporidium sp.* olacak şekilde alt gruplara ayrıldı. Buzağuların %6'sının *E. coli*, %19'u *Cryptosporidium sp.*, %13'ü Rotavirus, %6'sı Coronavirus, %6'sı *Giardia* ile mono-enfekte, ko-enfekte buzağuların ise %11'i *E. coli* + *Cryptosporidium sp.*, ve %22'sinin Rotavirüs + *Cryptosporidium sp.*, ile enfekte olduğu belirlendi. Sağlıklı buzağulara göre mono enfekte ve ko-enfekte buzağuların fibrinojen konsantrasyonlarının anlamlı düzeyde yüksek olduğu buna karşın vitamin D₃ seviyelerinin ise her iki grupta sağlıklı buzağulara göre anlamlı derecede düşük olduğu belirlendi. İshalleri buzağularda fibrinojen ve Vitamin D₃ konsantrasyonları arasında ($r = -0,403$, $p < 0,05$) negatif korelasyon bulunduğu belirlendi. Sonuç olarak Vitamin D₃ konsantrasyonlarının ishalleri buzağularda enfeksiyonun varlığı ve şiddetine bağlı olarak azaldığı tespit edildi.

Anahtar kelimeler: Akut faz protein, Buzağı, Fibrinojen, İshal, Vitamin D₃

ABSTRACT

EVALUATION OF VITAMIN D₃ CONCENTRATIONS IN NEONATAL CALVES WITH DIARRHEA

Özalp T. Aydın Adnan Menderes University Health Science Institutes Internal Medicine Program, Master of Science Thesis, Aydın,2019

In the present study the aim was to determine the relationship between plasma vitamin D₃ and fibrinogen concentrations of calves with diarrhea. In this context, calves neonatal diarrhea (n = 100) and healthy (n = 20) ones were enrolled. Diarrheic calves were enrolled into two intra-groups of mono and co-infected, then mono-infected calves and co-infected calves were divided into subgroups according to *E. coli*, Rotavirus, Coronavirus, *Cryptosporidium* sp., and Giardia sp., and Rotavirus + *Cryptosporidium* sp. and *E. Coli* + *Cryptosporidium* sp. It was determined that 6% of the calves were infected with and *E.coli*, 13% Rotavirus, 6% Coronavirus, 6% Giardia in mono-infected ones and 11% *E.coli* + *Cryptosporidium* sp., and 22% Rotavirus + *Cryptosporidium* sp., with co-infection. According to healthy calves, mono-infected and co-infected calves had significantly higher fibrinogen concentrations, whereas vitamin D₃ levels were significantly lower in both groups than healthy calves. There was a negative correlation between fibrinogen and Vitamin D₃ concentrations ($r = - 403$, $p < 0.05$) in calves with diarrhea. As a result, vitamin D₃ concentrations decreased in diarrhea calves due to the presence and severity of the infection.

Keywords: Acute phase protein, calf, fibrinogen, diarrhea, vitamin D₃

1. GİRİŞ

Neonatal buzağı ishalleri sığırcılık işletmeleri en önemli problemlerinden biri olduğu , yüksek mortalite ve morbidite oranlarına sahip olması, ishallerin sağaltımı ve ishalden korunma için yapılan çalışmalar, hastalık sebebi dolayısıyla büyüme gelişmede yavaşlama durma ve bunlarla beraber ölümlerin olması nedeni ile ülkemiz ve dünyada ciddi ekonomik kayıplara yol açan bir problem olduğu bilinmektedir (Ok ve ark, 2009; House ve ark, 2011). Ölüm nedenleri arasında ishal, pnömoni ve sepsis gibi hastalıkların olduğu bilinmektedir. Ölümün hastalıklara bağlı bakteriyemi-viremi ve endotoksemi ile ilişkilendirildiği belirlenmiştir (Lofstedt ve ark, 1999). Enfeksiyona bağlı küçük işletmelerde ölümler %10-15 (%50'ye çıkabilir) iken koruma yapılan işletmelerde bu oran %1-8 arasında değiştiği bildirilmiştir. Hastalıkla ilgili tedavi girişiminde bulunulmaması halinde hastalık hızla ilerler ve ölüm kaçınılmazdır (Gay ve Besser, 1994). Ekonomik kayıpların buzağı ishallerine neden olan etmenlerin hızlı bir şekilde teşhisinin yanı sıra oluşturdukları klinikopatolojik değişikliklerin belirlenmesiyle en aza indirilebileceği belirtilmektedir. Buzağılarda ishalin etyolojisinde; bakteriyel (*E. coli*, *Salmonella spp.*, *Cl. perfringens*, *Camphylobacter jejuni*, *Chlamydia spp.*), viral (Rotavirus, Coronavirus, Adenovirus, bovin viral diyare), paraziter (*Coccidia*, *Cryptosporidium*, *Giardia*, *Neoascaris vitulorum*) gibi etkenler rol oynamaktadır.

25-hidroksivitamin D (25 (OH) D) hastalıklar için bir biyobelirteç olması konusu halen tartışma konusu olmakla birlikte hastalık risklerinin tanımlanmasında eşik değerlerinin tam olarak ortaya konulamamasına bağlı olarak araştırmalar devam etmektedir (Cashman ve Kiely, 2011). Söz konusu tartışmaların temel sebebinin vitamin D ölçümlerinde metodolojilerinin standartlaşmasında oluşan eksiklikler yer almaktadır (Lai JKC ve ark, 2010). Ancak beşeri hekimlikte yapılan çalışmalar influenza ve toplum kökenli pnömonilerde mevsimsel değişimlere bağlı olarak vitamin D' nin antimikrobiyal, anti-inflamatuar ve/veya immün modülatör etkileri yoluyla hastalık riskinde önemli bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte akut solunum yolları hastalığına yakalanan bireylerin vitamin D seviyelerinin 10 ng/ml seviyelerinde olduğu belirtilmektedir (Cannell ve ark, 2006; White ve ark, 2009). Yine beşeri hekimlikte yapılan çalışmalarda düşük vitamin D seviyelerinin kardiyovasküler hastalıklara yatkınlığı da artırdığı belirtilmektedir ve miyokart infarktüsülü hastalarda yakın takip edilmesi gereken biyobelirteçler arasında yer alması gerektiği de önerilmektedir (Lee ve ark, 2011; Wetmore ve ark, 2011; Kelly ve ark, 2008). Akut stres ve kritik hastalıklarda fonksiyonel

D vitamini eksikliğinin mevcut olabileceği düşünölmektedir (Lee ve ark, 2011). Akut stres durumlarında dolaşımdaki 25 (OH) D havuzu doku düzeyinde aktif metabolitlere dönüştürölməsi için bir substrat rezervuarını temsil eder. Bu durumun lokal doku sinyallerine tepki vererek [25(OH)D]'nin aktif hormon olan [1,25 (OH)₂D; 1,25-dihidroksivitamin D] dönüştürölmektedir. Akut stres ve kritik hastalıklarda görölen hipokalseminin hemostazı için 25(OH)D'nin 1,25(OH)₂D'ye dönüşmesini sağlayan Parathormonu (PTH) seviyelerinde de yükselmeler görölmektedir. Artan PTH hormonunun yüksekliği ilerleyen zamanlarda düşük 25(OH)D seviyelerinin oluşmasına neden olmaktadır (Van den Berghe ve ark, 2003; Lucidarme ve ark, 2010; Kestenbaum ve ark, 2011; Flynn ve ark, 2011). Yine D vitamini toksikasyonu şekillenen hastalarda vitamin D seviyelerini azaltmak amacı ile kortizol sağaltımı ile başarılı sonuçlar alındığı bilinmektedir (Down ve ark, 1979; Heyburn ve ark, 1979).

Söz konusu tez çalışması ile ishal semptomu bulunan buzağıların plazma Vitamin D konsantrasyonlarının belirlenmesi ve neonatal dönemdeki buzağıların etiyolojilerine ve ishalden etkilenme derecelerine bağlı olarak vitamin D seviyelerindeki değişimlerin düzeylerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Neonatal Buzağı İshalleri

Buzağı ishalleri sığır yetiştiriciliğın en büyük sorunlarından biri olup, önemli düzeylerde ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Ekonomik kayıplar olarak buzağı ölümleri, tedavi giderlerinin fazla olması ve buzağılarda ilerleyen yaşlarda görülen gelişme geriliği gibi faktörler gösterilmektedir (Orro ve ark, 2006). Amerika Ulusal Hayvan Sağlığı Monitorizasyon sisteminin 2007 yılında buzağı ölümleri ile ilgili yaptığı bir araştırmada, buzağı ölümlerin %57'sinin ishal kaynaklı olduğu ve ölümlerin çoğunun 1 aylık yaştan küçük buzağılarda görüldüğü bildirilmektedir (USDA, 2007). Hastalığın patogenezine bakıldığında viral, bakteriyel ve protozoal birçok patojen ajanın rol oynadığı görülmektedir. Olguların bazılarında tek bir etken yer alırken bazı olgularda ise birden fazla etken rol oynayabilmektedir. Neonatal buzağı ishalleri, enfeksiyöz ajanlar ve konakçı faktörü, yönetimsel ve beslenme faktörleri, çevresel faktörler gibi enfeksiyöz olmayan etkilerden kaynaklanan etiyolojik açıdan multifaktöriyel olan önemli bir hastalıktır (Blanchard, 2012).

Hastalık patojenlerinin prevalansı ve insidansının, çiftlik yapısı, çiftliğin bulunduğu bölgenin coğrafi durumu ve sürünün büyüklüğü ile ilişkili olduğu bildirilmektedir (Bartels ve ark, 2010; Izzo ve ark, 2011). İshalde rol oynayan etiyolojik faktörlerin oldukça kompleks oluşu ve buna uygun etiyolojik sağaltımın yeterince yapılamaması, sıvı-elektrolit replasmanlarının uygun şekilde yapılamaması ve asit-baz dengesinin sağlanamaması gibi durumlar ölümlere neden olmaktadır (Khan ve Khan, 1991; Bartels ve ark, 2010; Lorenz ve ark, 2011).

2.1.1. Buzağı İshalleri Etiyolojisi

Buzağı ishalleri etiyolojik olarak değerlendirildiğinde oldukça kompleks bir yapıda olduğu görülmektedir. Temel olarak bakıldığında düzenli ve yeterli kolostrum alınamaması, bağışıklık sisteminin yetersizliği nedeniyle patojenlere duyarlı olması, uygun olmayan bakım ve besleme koşulları gibi faktörlerin ishale yatkınlığı arttırdığı bildirilmektedir (Tyler ve ark, 1998). Buzağı ishallerinin etiyolojisine enfeksiyöz anlamda bakıldığında patojenlerin tek

başına veya miks olarak etki yapabildiği görülmektedir. Bazı araştırmacılar ishallerin ko-enfeksiyon durumunda daha şiddetli seyrettiği bildirmektedir (De la Fuente ve ark, 1999). Buzağı ishallerinin etiyojisinde enfeksiyöz faktörler olarak bakteriyal, viral ve protozonlar olduğu araştırmacılar tarafından bildirilmektedir (Smith, 2009; Bartels ve ark, 2010).

Tablo 2.1. Buzağı ishallerinde etiyojik faktörler (Kaske, 2003)

İSHAL	
Bakteriyal	<i>E. coli</i> , <i>Salmonella</i> spp., <i>Cl. perfringens</i> , <i>Camplabakter jejuni</i> , Klamidya
Viral	Rotavirus, coronavirus, Adenovirus, Parvovirus, <i>Astrovirus</i> , <i>Calicivirus</i> , BVD
Paraziter	<i>Coccidia</i> , <i>Cryptosporidium</i> , <i>Giardia</i> , <i>Neoscaris vitulorum</i>
Enzim noksanlıkları	Disakkaridaz, Peptidaz
Bakım-besleme	Bozuk süt verme, aşırı süt verme, kötü barınak koşulları

2.1.1.1. Enfeksiyöz buzağı ishalleri

2.1.1.1.1. Viral kaynaklı buzağı ishalleri

Rota virusu buzağı ishallerinin viral kaynaklı primer etkenidir. Rota virus reoviridae ailesinde yer almakta olup, 11 çift iplikli RNA segmentine (16~21 kb) sahip, zarfsız bir virustur ve ısı dengesizliği ile geniş bir pH aralığında oldukça stabildir (Fenner ve ark, 2011). *Rota viruslar* ara kapsid proteininin (VP6) antijenik ve genetik benzerliklerine göre 7 serogruba (A'dan G'ye) ayrılmaktadır (Steele ve ark, 2004). Grup A rotaviruslar evcil hayvanlardaki rotaviral enfeksiyonların büyük nedenidir (Steele ve ark, 2004). Grup A rotavirusleri, virusun dış kapsidini oluşturan ve anti-viral nötralize edici antikor üretimini indükleyen VP4 (proteaza duyarlı protein) ve VP7'nin (glikoprotein) genetik ve antijenik benzerliklerine dayanarak P veya G tiplerine ayrılmaktadır (Desselberger ve Estes, 2005). Sığırdaki *rota virusu* olarak G1, G6, G8 veya G10 türleri bulunmakta (Gulati ve ark, 2007; Martella ve ark, 2007), en yaygın olarak G6 ve G10 tipleri olduğu bildirilmektedir (Martella ve ark, 2007).

Bovine *Rotavirus* genellikle 1 ile 2 haftalık yaştaki buzağılarda ishale neden olmaktadır. Buzağılar tarafından alınan süt, gastrointestinal sistemde geniş bir pH aralığı ve bağırsak epitel hücrelerini enfekte eden rotavirusun hayatta kalmasını sağlayan iyi bir ortam sağlamaktadır (Dhama ve ark, 2009). Bu durum süttten kesilmeyen buzağuların buzağı ishallerine niçin daha hassas olduğunu açıklamaktadır. Virusun çok kısa bir inkubasyon süresi (12-24 saat) ile birlikte etkilenen buzağılarda perakut bir ishale neden olmaktadır (Steele ve ark, 2004). Buzağular enfekte olduktan sonra 5-7 gün dışkıyla virus saçarak çevreyi kontamine ederler ve diğer yaş grubundaki buzağuların enfekte olmasına neden olurlar. Virus ince bağırsak villusun epitel hücrelerinin sitoplazmasında replike olur. Rota virus enfeksiyonları villuslarda olgun enterositleri tahrip eder, hasarlı hücrelerden vazoaaktif bileşenlerle enterik sinir sistemi aktivasyonu ve viral enterotoksinin (örneğin; NSP4) salgılanması maldigesyon/malabsorbsiyon isheline neden olmaktadır. Viral enfeksiyon villöz atrofiye neden olur ve genellikle ince bağırsağın kaudal kısmını etkiler.

Sığır Coronavirus pozitif-duyarlı, tek iplikçikli bir RNA genomu (27~32) ile zarflı bir virustür. Bu patojen daha önce grup 2a Coronavirus olarak sınıflandırılan betacoronavirus ailesinin bir (Betacoronavirus 1) üyesidir (Decaro ve ark, 2008). Virus enfeksiyonu, sığırlarda üç farklı klinik sendrom olarak bulunabilir: a) 1-2 haftalık yaşlardaki buzağılarda ishal, b) yetişkin hayvanlarda hemorajik ishal ile kış dizanterisi, c) hem genç hemde yetişkin sığırlarda bovine respiratorik hastalık kompleksini kapsayan solunum sistemi hastalıklarına sebep olmaktadır (Cho ve ark, 2001; Magi ve ark, 2006). Viral enfeksiyon ince bağırsakta başlar ve genellikle tüm ince bağırsak ve kolon boyunca yayılır. Mikroskopik olarak, etkilenen ince bağırsak ve kolonik kriptlerin villusu atrofik hale gelir ve lamina propriada nekroz görülür. Virus enterositlerde çoğalır ve progeny virusleri normal bir salgı mekanizması ve hücre lizisi yoluyla salınır. Olgun villöz epitel hücreleri, kriptleri etkilemesine rağmen, virusun birincil hedefidir. Virusun kript hücrelerine hasar vermesinden dolayı etkilenen hayvanlarda klinik belirtiler daha uzundur.

Bovine viral diyare virusu (BVDV), zarflı, pozitif duyarlı, tek iplikli bir RNA virusu olup (12.3 kb) Flaviviridae familyasında Pestivirus ailesinin bir üyesidir (Flores ve ark, 2002). BVDV enfeksiyonunun klinik semptomları, konakçı bağışıklık durumu, gebelik ve gebelik süresine, diğer patojenlerle birlikte enfeksiyonun varlığına bağlı olarak subklinikten ölümcül hastalığa kadar değişmektedir. Enfekte olan hayvanlar düşük dereceli ateş, lökopeni, anoreksi ve süt üretiminde azalma gibi hafif klinik belirtiler gösterirler. Akut BVD enfeksiyonu ishal,

yüksek ateş, depresyon, anoreksi, süt üretiminde azalma, oral ülserasyonlar, hemorajik sendrom ve immüno-supresyona yol açan lenfopeni / lökopeni ile karakterizedir (Baker, 1995). BVD virusu 2 önemli yolla buzağı ishallerine yol açar: 1) persiste enfeksiyonlarda enterositlerde primer hasar ve ko-enfeksiyona duyarlılık ile sonuçlanması 2) kript enterositlerinde replikasyon ile geçici enfeksiyon ve ishale katkıda bulunan lezyon oluşumu.

2.1.1.1.2. Bakteriyal kaynaklı buzağı ishalleri

Escherichia coli, virulansına göre temel olarak 6 patogrubta sınıflandırılmaktadır: Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), shiga toksini üreten *E. coli*, enteropatojenik *E. coli*, enteroinvaziv *E. coli*, enteroagresif *E. coli* ve enterohaemorajik *E. coli* (Nataro ve Kaper, 1998; Kaper ve ark, 2004). Bu bakteriler arasında buzağı ishallerinin en yaygın K99 (f5) yapışma antijeni (genellikle *E. coli* K99⁺ olarak adlandırılır) ve heat-stable enterotoksin üreten ETEC suşu olduğu bildirilmektedir (Nataro ve Kaper, 1998). Neonatal buzağular doğumdan sonraki ilk 4 günde ETEC enfeksiyonuna çok duyarlıdır ve enfekte olanlarda sulu ishal görülmektedir (Giangaspero ve ark, 2013). Etken alındıktan sonra ETEC bağırsak epitelyumunu enfekte eder ve bağırsak villuslarının enterositlerinde çoğalmaktadır. İnce bağırsağın distal kısmının Ph'sının düşük olmasından (< pH 6.5) dolayı ETEC kolonizasyonu için en uygun alandır. Enfekte hücrelerin kaybı ve lamina probriadaki hasar nedeniyle villus atrofi sıklıkla etkilenen ince bağırsak görülmektedir (Foster ve Smith, 2009). Bağırsak epiteline kolonize olan ETEC suşu tarafından üretilen heat-stable toksini bağırsak içerisine klor sekresyonunu arttırmaktadır. Böylelikle bağırsak içerisinde ozmalarite artar ve buzağularda sekretorik ishalin gelişmesine neden olmaktadır.

Salmonella enterica çeşitli konakçılarda gastrointestinal kanalında kolonize olabilir. *S. enterica* serovar Typhimurium (*S. typhimurium*) serovar Dublin (*S. dublin*) sığırlarda görülen salmonellozisin yaygın etkenlerindedir (Sojka ve ark, 1977; Kirisawa ve ark, 2007). *S. typhimurium* Amerika Birleşik Devletlerinde buzağuları etkilenen en yaygın ajan olarak belirtilmiştir (Rothenbacher, 1965). *Salmonella* enfeksiyonu, asemptomatik ile klinik semptom olarak klinik belirtiler göstermektedir. *S. typhimurium* akut ishallerine yol açarken, *S. dublin* ise sistemik olarak etkilemektedir. Genellikle 3 yaşın altındaki buzağular salmonella tarafından enfekte olmaktadır. Etkilenen buzağularda en sık görülen lezyonlar incebağırsak mukozasında pseudomembran oluşumu yanı sıra mezenterik lenf yumrularının büyümesi şeklindedir. Enfekte olan sığırlar gıda kaynaklı olarak veya temas yoluyla zoonoz önem taşımaktadır

(Mead ve ark, 1999). *Salmonella* virulansının temel mekanizması olarak bağırsak mukozasını enfekte etme, lenfoid dokularda çoğalma, konakçı bağışıklık sisteminden kaçma ve sistemik bir hastalığa yol açma şeklindedir. Enfeksiyonunun patogeneziye bakıldığında organizmanın bağırsak epitel hücrelerini istila etme, makrofajlar içerisine yerleşme ve enteropatojeniteye neden Olduğu görülmektedir (Tsolis ve ark, 1999).

Salmonellozisin klinik görünümünde fibrin ve kan içeren sulu ve mukoid ishal görülmektedir (Fossler ve ark, 2005). *Salmonella* hem erişkin hemde buzağılarda ishale neden olsa da genellikle 10 günlük ile 3 aylık buzağılarda şiddetli ishallerine neden olur ve daha yaygındır (Fossler ve ark, 2005).

Clostridium perfringens, memelilerde ve kuşlarda çok çeşitli hastalıklara neden olan Gram pozitif, spor oluşturan anaerobik bir bakteridir (Van Immerseel ve ark, 2004). Bu mikroorganizmalar 5 tipe (A, B, C, D ve E) ayrılıp 4 ana toksin üretir: alpha (α), beta (β), epsilon (ϵ), ve iota (ι) (Petit ve ark, 1999). Tip A suşu sadece α toksini, tip B suşu α , β ve ϵ toksinlerini, tip C suşu α ve β toksini, tip D suşu α ve ϵ toksini, tip E suşu ise α ve ι toksinlerin üretmektedir. Bu suşlar içinde tip C suşu buzağı ishallerinde sıklıkla bildirilmekte fakat Rotavirus, Coronavirus, *E. coli*, *Salmonella* spp. ve *C. parvum* gibi diğer enterojik patojenler kadar yaygın değildir (Rings, 2004).

2.1.1.1.3. Protozoon kaynaklı buzağı ishalleri

Cryptosporidium parvum insanlarda ve neonatal sığırlarda görülen gastrointestinal sistem (GIS) hastalıkları ile ilişkili protozoon parazittir. *Cryptosporidium parvum* ile enfekte olan buzağılarda asemptomatik veya şiddetli ishalin geliştiği bildirilmektedir (Fayer ve ark, 1998; Fayer ve ark, 2009). *Cryptosporidium* yaklaşık 24 türü olup (Fayer, 2010), sığırlarda *C. parvum*, *C. bovis*, *C. ryanae* ve *C. andersoni* türleri enfeksiyona yol açmakta ve buzağı ishallerinin primer nedeni *C. parvum* olarak gösterilmektedir (Chalmers ve ark, 2011). *C. parvum* ile ilişkili bulaşma dışkıda bulunan ookistlerle kontamine su, yem vb. maddelerin tüketimi ile olmaktadır.

Enterositlere invaze olan *C. parvum* enfeksiyonu şiddetli villus atrofisine neden olurken mikrovilli kaybı ve kolumnar epitel hücrelerde azalma gibi bağırsak villuslarında değişiklikler yapmaktadır (Heine ve ark, 1084). Bağırsak epitelyumunda hasara bağlı olarak sindirilmemiş sütün fermentasyonu ve malabsorbsiyonu nedeniyle uzun süreli beslenme yetersizliği ve

büyüme oranında azalma görülmektedir (Nydam ve Mohammed, 2000). Bu durum buzağı yetiştiriciliğinde önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır.

Giardia protozonu dünya çapında ishalleri buzağuların dışkılarında bulunmaktadır. Bununla birlikte genellikle normal buzağuların dışkılarında da bulunduğu bildirilmektedir (Smith ve ark, 2004). Giardia ile doğal enfekte olan buzağularda villus atrofisi görüldüğü (Ruest ve ark, 1997) ve diğer türlerde ise malabsorptif ishale neden olduğu bildirilmektedir (Buret ve ark, 1990; Buret ve ark, 1992). Giardia enfeksiyonunun hastalığın önemli nedenleri arasında olmadığı fakat büyüme performansını olumsuz etkileyebileceği şeklinde bildirimler mevcuttur (O'Handley ve Olson, 2006).

Buzağı ishalleri etiyojisi ile ilgili yapılan bir çalışmada, ilk üç günlük yaşlarda *E. coli* enfekte olurken 5-30 günlük yaşlarda *Cryptosporidim parvum*, rotavirus enfeksiyonlarının oldukça yaygın görüldüğü bildirilmektedir (Radostits ve ark 2007).

2.2. İshalde Akut Faz Yanıt

2.2.1. Akut Faz Yanıt

Vücut metabolizması hormonal ve enzim mekanizmaları ile "homoestazi" denilen dengeyi sağlamaktadır. İnfeksiyon, neoplazma veya travma bu dengeyi bozarak vazodilatasyon, koagülasyon ile birlikte nötrofil, monosit, lenfosit migrasyonu içeren doku hasarına yol açarak lokal inflamatuvar yanıtı şekillendirmektedir (Kushner, 1993). İnflamasyon alanında vasküler permeabilite artmakta ve lökosit göçü şekillenmekte ve bu reaksiyonlar sonrasında yangı bulguları rubor, tumor, calor ve dolor (kızarıklık, şişme, ısı ve ağrı) görülmektedir. Makrofajlar, mast hücreleri, dendritik hücreler ve diğer immünokompetan hücreler olaya müdahil olarak sitokin salgılanmasını ve karaciğerde hızlı akut faz protein (AFP) sentezini kapsayan akut faz yanıt olarak adlandırılan sistemik değişiklikleri başlatmaktadır (Baumann ve Gauldie, 1994). Hepatik AFP sentezi bağışıklık sistemi tarafından belirlenen travma veya enfeksiyon durumlarında saatler içinde başlatılır (Horadagoda ve ark, 1994). Akut faz yanıtı, doğal immunitenin bir parçası olmakla birlikte pıhtılaşma sistemi ve komplement sistemi aktivasyonunu gibi değişiklikleri kapsayan sistematik bir reaksiyon şeklinde gerçekleşir

(Koj, 1996). Akut faz yanıt reaksiyonu başlatan ajana karşı sepesifik değildir ve adaptif immuniteden farklı olarak dha önceden karşılaşılmış enfeksiyonlara karşı yanıt değişmemektedir. Akut fazın temel amacına baktığımızda ise vücutta bozulan homeostaziyi tekrardan sağlamak olup sağlanamadığı takdirde kronik inflamasyon görülmektedir (Jain ve ark, 2011). Akut faz yanıt ateş, lökositoz, plazma iz element konsantrasyonlarındaki değişiklikler (bakır, çinko, demir) ve hepatik proteinlerin sentezinin düzenlenmesi, iştah azalması ve depresyonu kapsayan çeşitli sitokinlerin yaptığı reaksiyondur (Kushner, 1982; Stadnyk ve Gauldie, 1991; Weingarten, 1996; Elmquist ve ark, 1997; Gabay ve Kushner, 1999). Endokrin hormonlar, nörotransmitterler, eikosanoidler ve sitokinler dahil olmak üzere çözülebilir sinyal molekülü hücreler arası iletişimi sağlamaktadır (Kushner, 1993). Pro-inflamatuar sitokinler interlökin-1 (IL-1), IL-6 ve tümör nekroz faktör- α (TNF- α) temel olarak aktif makrofajlardan salgılanırken esas olarak akut faz yanıtını başlatan fibroblastlar ve endotelial hücrelerden sekonder olarak sitokinler salındığı bildirilmektedir (Baumann ve Gauldie, 1994). AFP' leri insan hekimliğinde önemli bir yeri olup çeşitli inflamatuvar ve organ hastalıklarında, organ nakillerinde, kanser tedavilerinde teşhis etme ve prognoz değerlendirmede kullanılmaktadır (Deans ve Wigmore, 2005; Ridker, 2007).

Akut faz proteinleri çeşitli hastalıkların varlığında yükselmekte fakat hastalıkların etiyojisini belirlemede spesifik ve bazı hastalıklarda birincil test olarak kullanılmamaktadır. Bununla birlikte hayvanın sağlık durumunu etkileyen ve subklinik inflamasyonların veya enfeksiyonların durumun belirlenmesinde çok yüksek hassasiyete sahip olduğu bildirilmektedir (Ceron ve ark, 2005). Kent (1992) AFP'lerin infeksiyöz ve yangısal durumların hızlı bir şekilde belirlenmesinde oldukça önemli olduğunu fakat nedenin belirlenmesinde faydalı olmadığını bildirilmektedir. Genel olarak akut faz proteinleri hastalığın gizli seyrettiği durumlarda veya hastalığın derecesinin belirlenmesi gereken durumlarda kullanılmaktadır. İnsan tıbbında çeşitli hastalıkların ve bozuklukların belirlenmesinde biyomarker olarak birçok akut faz proteinleri kullanılabilir (Samols, 2002). Bununla birlikte, bunların sadece bir kısmı geniş getiren hayvanlarda teşhis amacıyla yaygın olarak kullanılabilir. Diagnostik amaçla ruminantlarda en önemli akut faz proteinleri olarak haptoglobin (Hp) ve serum amiloid A (SAA) kullanılmaktadır (Eckersall ve Bell, 2010).

2.2.1.1. Ruminantlarda akut faz proteinleri

Sığır akut faz proteinleri arasında Hp, SAA, fibrinojen, albümin, transferrin, lipopolisakkarit bağlayıcı protein, α -1 asit glikoprotein ve seruloplazmin yer almaktadır (Petersen ve ark, 2004; Ceciliani ve ark, 2012). AFP' ler akut faz yanıt boyunca konsantrasyonundaki değişikliklerin yönü ve büyüklüğüne bağlı olarak büyük pozitif (10-100 kat artış), küçük pozitif (2-10 kat artış) veya negatif (en az %25 azalma) olarak sınıflandırmaktadır (Gabay ve Kushner, 1999; Cerón ve ark, 2005). Sığırlarda serum amiloid ve Hp major AFP iken fibrinogen, lipopolisakkarid bağlayıcı protein, α -1 asit glikoprotein ve seruloplazmin küçük AFP olarak sınıflandırılır (Petersen ve ark, 2004; Ceciliani ve ark, 2012). Transferrin ve albümin sığırlarda negatif AFP olarak nitelendirilmektedir (Petersen ve ark, 2004; Gruys ve ark, 2005).

Sığır Hp' ni 20 kDa olan alfa ve 35 kDa olan beta olmak üzere iki zincirden oluşmaktadır, fakat polimerik formu birkaç alfa ve beta zincirlerin elektroforezi ile oluşmaktadır (Morimatsu ve ark, 1991). İnflamasyon sırasında bakteriler hemoglobini bozmadan önce hemoglobin Hp tarafından bağlanır (Eaton ve ark, 1982), böylece bakteriyel üreme için temel olan demire bakterilerin ulaşmasını sınırlandırır (Skar, 2010). Deneysel olarak yangının başlatıldığı enfeksiyonlarda, ilk saatler içinde Hp konsantrasyonu artmaya başlar, bir gün sonra hızlanır ve 3-4 gün sonra pik seviye çıkmaktadır (Conner ve ark, 1988; Horadagoda ve ark, 1994). Hplerin inflamasyon, enfeksiyon ve stres gibi durumların değerlendirilmesinde kullanılabileceği bildirilmektedir (Gronlund ve ark, 2003; Murata ve ark, 2004). Horadagoda ve ark (1999) sığırlarda akut ve kronik inflamatuvar durumları ayırt etmek için, AFP'lerin klasik hematolojik testlerden (lökosit sayısı, nötrofil yüzdesi veya bant nötrofil yüzdesi) çok daha faydalı olduğunu belirtmişlerdir.

Sığırlarda SAA farklı hastalık tiplerinde çeşitli izoformların kombinasyonu ile oluşur, bununla birlikte hastalıklı olan sığırların SAA profilleri sağlıklılarından farklıdır (Alsemgeest ve ark, 1995a; Jacobsen ve ark, 2005; Takahashi ve ark, 2009). Mastitisli ineklerin sütünde ekstrahepatik olarak üretildiğinde bildirilmektedir (Jacobsen ve ark, 2005). SAA konsantrasyonu, deneysel bakteriyel enfeksiyondan hemen sonra başlamakta, birkaç saat içinde üretimi hızlanmakta ve iki gün içersin de plato seviyeye ulaşmaktadır (Boosman ve ark, 1989; Horadagoda ve ark, 1994).

Fibrinojen (Fb) temel olarak kanın pıhtılaşmasını veya fibrin oluşumunu uyaran 340 kDa boyutunda büyük bir glikoprotein olup bununla birlikte sığırlarda önemli bir AFP olduğu bilinmektedir (Kent, 1967; Conner ve ark, 1988). Fibrinojen plazmada bir β -globulin olup disülfid bağları ve glikoprotein içeren 3 polipeptid zincirden oluşmaktadır (Gentry, 1999). Fibrinojen homeostazinin sağlanmasında rol alırken, fibrin oluşumunda substrat olarak kullanılır ve doku onarımı için inflamasyonla ilişkili hücrelerin migrasyonuna yardımcı olmaktadır (Thomas, 2000). Diğer AFP proteinlerinin dışında Fb sağlıklı hayvanların plazmasında oldukça fazla (3-7 g/l) bulunmaktadır (Schalm, 1976). İnflamatuar reaksiyonlar boyunca fibrinojen 2-3 kat artarak kırmızı kan hücrelerinin agregasyonuna neden olur ve kanın viskozitesini arttırmasının yanısıra arteroskleretik plakların büyümesine yardımcı olmaktadır (Medcalf, 2007). Akut faz yanıtlarda artan fibrinojen konsantrasyonları 3-4 gün sonra bile tespit edilebilmektedir (Conner ve ark, 1988). Fibrinojen birçok inflamatuvar duruma yanıt olarak hepatositler tarafından karaciğerde üretilmektedir (McSherry ve ark, 1970). Fibrinojen kanın pıhtılaşma durumunda (trombosis) trombini fibrine dönüştürür, özellikle pıhtılaştırıcı faktör (Xa) aktive eder ve fibrolinoliz boyunca salınan bazı enzimleri kısa süreli olarak inhibe eder. Barnhart (1962) ineklerin karaciğer parankim hücre mikrozomlarında fibrinojenin oluştuğunu ve daha sonra gerekli olana kadar hücrenin çözünür kısmında saklandığını bildirmektedir. Sığırlarda fibrinojen üretimi oldukça fazladır ve bu üretim genellikle doku hasarından kaynaklı inflamasyon durumlarında görülür (McSherry, 1970). İnsanlarda yapılan çalışmalarda fibrinojen konsantrasyonları ile kardiyovasküler hastalık riski, ateroskleroz ve akut tromboz arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir (Eidelmam ve Hennekens, 2003). Sığırlarda fibrinojen inflamatuvar ve travmatik hastalıkların değerlendirilmesinde kullanıldığı ve enfeksiyonlarda yanıt olarak belirgin şekilde arttığı bildirilmektedir (Hirvonen ve Pyorala, 1998).

Lipopolisakkarit bağlayıcı proteinler (LBP) 58-60 kDa büyüklüğünde glikoproteindir (Tobias ve ark, 1986). LBP ana fonksiyon olarak gram negatif bakterilerin lipopolisakkaritine bağlanarak LBP-LPS bakteriyal kompleks oluşturur ayrıca monosit ve makrofajlara da bağlanır (Schumann ve ark, 1990). LBP'ler monositlerden TNF-a üretimini arttırırken gram pozitif bakterilerin lipoteik ait ve glikolipidlerine bağlandığı bildirilmektedir (Horadagoda ve ark, 1995; Zweigner ve ark, 2006).

2.2.1.2. Buzağı ishallerinde akut faz proteinler

Buzağılarda akut faz proteinlerinin sentezi üzerine yapılan araştırmaların çoğu, buzağılarda ve genç sığırlarda morbidite ve mortalitenin önde gelen nedenlerinden biri olan solunum yolu hastalıkları olan hayvanlarda değerlendirilmesine odaklanılmış olup Conner ve ark (1989) yaptığı çalışmada, *Mannheimia haemolytica* ile intra-tracheal inokule olan buzağılarda haptaglobulin, α 1-antitripsin ve seromuroid düzeylerinin arttığı bildirilmektedir. Horadagoda ve Eckersall (1994) *M. haemolytica* ile enfekte buzağılarda, enfeksiyondan 10 saat sonra Hp seviyesinde küçük ve önemsiz artış olduğunu, enfeksiyondan 10 saat sonra ölçülen serum amiloid A (SAA) seviyesinin 18 mg/dl' den ölçülemeyen değerlere kadar aşamalı olarak artığını bildirmektedir. Godson ve ark (1996), sığır solunum yolu hastalıkları olan hayvanlarda AFP'leri araştırmışlardır. Hp üretiminin tetiklenmesi hastalığın şiddetinin yanı sıra gelişimi ile kısa süreli ilişkili olduğu (ateş, hasta skoru, kilo kaybı), iyileşen hastalara karşın ölenlerin Hp seviyelerinin önemli derecede yüksek olduğunu bildirmektedir. Benzer şekilde saha şartlarında solunum sistemi hastalığı bulunan buzağılarda akut klinik bulgulara sahip olanların yanında kronik olgularda da bazı akut faz proteinlerinin üretimlerinin arttığı, klinik bulguları şiddetli olan ve prognozu olumsuz olanlarda serum Hp ve SAA seviyelerinin daha yüksek seyir ettiği bildirilmektedir (Tothova ve ark, 2010). Buzağı hastalıklarının sağaltımlarında akut faz proteinlerin düzeylerinin doğru sağaltıma karar vermede ve sağaltıma olan yanıtın değerlendirilmesinde kullanılabilir. Bununla birlikte tek bir hastalığın sağaltım uygulamasına mağruz kalan buzağıların birden fazla sağaltım gerektiren hasta buzağılara kıyasla Hp seviyelerinin daha düşük olduğu bildirilmektedir (Carter ve ark, 2002).

Buzağılarda ishal multifaktöriyel bir etiyolojiye sahip olup sütçü sürülerde önemli ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Piercy (1979) *Salmonella dublin* ile enfekte buzağılardaki seruloplazmin düzeylerinin enfeksiyondan 3-4 gün sonra önemli derecede arttığı, 7 gün sonra normal değerlere düştüğünü belirtmektedir. Üç farklı *Salmonella* serotipi (*S. Dublin*, *S. Enteritidis*, *S. Heidelberg*) ile deneysel olarak enfekte edilen buzağılarda ise Hp seviyelerinin enfeksiyonu takiben 3 gün içerisinde önemli derecede artışlar gösterdiği ve bu artışların ishal skoru, morbidite skoru ve beden ısısı gibi subjektif klinik bulgular ile istatistiksel anlamlı değişimler gösterdiği görülmektedir (Deignan ve ark, 2000). Söz konusu buzağılarda enfeksiyonun klinik belirtilerinin devam etmesine rağmen enfeksiyondan 5 gün sonra Hp seviyelerinin normale döndüğü görülmüştür. Elde edilen bu veriler, Hp konsantrasyonlarının

enfeksiyonun şiddetini yansıttığını ve enfeksiyonun prognozunu tahmin etmede yardımcı olabileceğini göstermektedir (Skinner ve ark, 1991). Başka bir araştırmada ise ishalleri buzağılara uygulanan sağaltımın etkinliğinin değerlendirilmesinde Hp, SAA ve Fibrinojen seviyelerinin takibinin yararlı olabileceği bildirilmektedir (Jawor ve Stefaniak, 2006). Söz konusu araştırmada sağaltımın başlangıcında serum Hp, SAA ve Fibrinojen konsantrasyonlarının yüksek olduğu ve sağaltım süresince kademeli olarak azaldığı bildirilmektedir. Benzer şekilde Tothova ve ark (2012) SAA konsantrasyonlarının klinik olarak sağlıklı olan buzağılarda ishalleri buzağılara göre düşük seviyelerde olduğunu bildirilmektedir. Aynı araştırmada Hp ve Fibrinojen seviyelerinde ise ishalleri ve sağlıklı buzağılar arasında farklılıkların bulunmadığı da bildirilmektedir. Buzağılarda serum Hp seviyelerinin artışının sağlanabilmesi için güçlü sitimülasyonların olması gerektiği savunulmaktadır (Muller-Doblies ve ark, 2004).

2.3. Vitamin D ve Metabolizması

Vitamin D yağlı bir solüttür ve diette bulunan yağ ile incebağırsaktan absorbe edilir. Vitamin D temel olarak D₂ (ergokalsiferol) vitamini (bitkilerden, maya ve mantarlardan) ve vitamin D₃ (kolekalsiferol) (yağlı balık ve yumurta sarısından) olmak üzere iki formdan oluşmaktadır. D₃ vitamini, D vitamininin fizyolojik olarak en uygun formudur ve UV ışığına (270–300 nm dalga boyları) maruz kaldığında deride endojen olarak sentezlenmektedir. Oral olarak alınan vitamin D incebağırsaklarda emilir, daha sonra şilomikronlara katılarak venöz dolaşıma taşınır ve proteinlere bağlanarak karaciğere iletilir. Karaciğerde 25(OH)D₃' e dönüştürülür ve sonunda böbrekler tarafından fizyolojik olarak en aktif forma 1,25 (OH)₂ Vit D'ye dönüştürülür (Mora ve ark, 2008). Vitamin D bağışıklık hücreleri tarafından metabolize olabildiği için lenfoid dokularda 1,25(OH)₂VitD formunda lokal olarak birikebilir ve bunun sonucunda hiperkalsemi ve kemik rezorpsiyonu gibi istenmeyen yan etkiler görülebilmektedir. Aktif T- hücreleri 25 (OH) VitD formunun 1,25(OH)₂ VitD formuna dönüşmesinin son adımını gerçekleştirir. Son olarakta 24-hidroksilaz enzimi 1,25(OH)₂ VitD'yi inaktif formuna (kalsitroik asit) katabolize eder ve safrayla atılır (Fritsche ve ark, 2003; Van Etten ve Mathieu, 2005; Sigmundsdottir ve ark, 2007). Vitamin D prokürlerinden olan inaktif kolekalsiferol iki aşamalı hidroksilasyonundan sonra aktif hale gelmektedir. 25 pozisyonunda hidroksilasyona uğrayarak ara metabolit olan inaktif calcsiferol (25(OH)D₃) oluşur, daha sonra pozisyon 1 hidroksile olarak aktif (1,25(OH)₂D) oluşur. Sirkülasyonda D vitamini bağlayıcı proteinler hem aktif hemde inaktif D vitamini taşırlar. Aktif formlar vitamin D reseptörlerine yazılım

düzenleyici molekülün bağlanması ile etki eder. Düşük D vitamini seviyeleri immün aracılı çeşitli hastalıkların yanı sıra patojenlere immün yanıtın değişmesi ve infeksiyon ve kansere karşı duyarlılığının artması ile ilişkilendirilmektedir (Feldman ve ark, 2014; Dankers ve ark, 2016; Gois ve ark, 2017; Hollic, 2017)

Vitamin D transportu ile ilgili çeşitli görüşler bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmada vitamin D transportunda proteinlerin ve pasif difüzyonun rol oynadığı belirlenmiştir. Düşük konsantrasyondaki vitamin D'nin (diyetle alınan) protein aracılı taşıma ile yüksek konsantrasyondaki vitamin D'nin (farmakolojik konsantrasyonda) pasif difüzyon ile taşındığı bildirilmektedir (Reboul ve ark, 2011). Başka bir araştırmada jejunum ve duodenum arasında vitamin D alımı ile ilgili farklılıkların olduğu bildirilmektedir (Goncalves ve ark, 2015).

2.4. Ruminantların İmmün Sisteminde Vitamin D ve Önemi

Sığırlarda vitamin D fonksiyonu yarım yüzyıldan beri araştırılmaktadır (Horst ve ark, 2003; Horst ve ark, 2005). Çalışmaların çoğu laktasyon başlangıcında yoğun Ca ihtiyaçlarından dolayı vitamin D'nin Ca homeostazisinin düzenlenmesindeki fonksiyonun anlaşılmasına yöneliktir. Sonuç olarak sığırlarda vitamin D'nin endokrin fizyolojisinin tanımlanmasına katkıda bulunulmuştur (Horst ve ark, 2005; Horst ve ark, 2003; Horst ve ark, 1997). Vitamin D'nin biyolojik olarak aktif formu 1,25-dihidroksivitamin D₃ (1,25 (OH)₂D₃) metabolitidir (Horst ve ark, 2005). Vitamin D'nin aktif formu olan 1,25(OH)₂D₃'ün ana fonksiyonlarına baktığımızda endokrin sistemi üzerinden bağırsaklardan, kemiklerden ve böbreklerden Ca alımını uyararak görev yapmaktadır (Horst ve ark, 2005). Vitamin D'nin ana metabolizmasında diyetle alınan veya güneş ışınlarından üretilen D vitamini aktif metabolit olan 25-OH-D₃' ye dönüşmek için hızlı bir şekilde karaciğer taşınmaktadır. Karaciğerde dönüştürülen 25-hidroksivitamin D kan dolaşımına geçerek burada D vitamini bağlayıcı proteinler tarafından taşınmakta ve kan dolaşımındaki konsantrasyonu vitamin D'nin konsantrasyonunu vermektedir. Ulusal Araştırma Konseyi (NRC) tarafından vitamin D'nin Ca homeostazisini sağlaması için 25(OH)D₃ konsantrasyonunun 20 ng/ml üzerinde olması gerektiği bildirilmektedir (NRC, 2001).

Sığırlar genellikle ihtiyaç duydukları D₃ sentezi için deri yoluyla doğal olarak vitamin D alırlar (Hidiroglou ve ark, 1985; Hymoller ve Jensen, 2010). Ancak Kuzey Amerika yada Avrupa gibi bölgelerde bulunan sığırlar serum 25(OH)D₃ düzeyini 20 ng/ml üzerinde tutmak

için ihtiyaç duyduğu güneş ışığını yeterli düzeyde alamadığı bildirilmektedir (Hymoller ve ark, 2009). NRC tarafından yapılan bir araştırmada laktasyondaki ineklerin serum 25(OH)D₃ konsantrasyonunu 20-30 ng/ml arasında tutmak için günlük ağızdan 20.000 IU vitamin D₃ alması gerektiği bildirilmektedir (NRC, 2001). Sütçü sığırların D₃ vitamininin potansiyel faydalarından yararlanabilmek için günlük en az 40.000 IU düzeyinde alması gerektiğini bildirmektedirler (Weiss, 1998). Sonuç olarak sütçü sığırların fonksiyonları yerine getirebilmesi için gerekli olan 25(OH)D₃ düzeyinin 50-80 ng/ml arasında olması gerektiği görülmektedir (Lippolis ve Reinhardt, 2012). Vitamin D'nin immun sistem üzerindeki etkinliği son zamanlardaki çalışmalarda önem kazanmıştır. Yapılan bir çalışmada vitamin D'nin sığır immun sistemi üzerinde etkinliği ile ilgili bulgular elde edilerek D vitamini sinyallerinin immun sistem üzerinde ve enfeksiyöz hastalıklara karşı direncin artırılmasında rol oynadığı bildirilmektedir (Lippolis ve ark, 2011; Nelson ve ark, 2011). Sığırlarda D vitamini yolunun insan sağlığı açısından da önemli yer tutmaktadır. Sığırların bağışıklık sisteminde D vitamininin önemli rol oynadığı benzer şekilde insanlarda da bağışıklık rolünü anlamak için sığırların önemli bir model olduğu düşünülmektedir (Corwin ve ark, 2012).

2.4.1. Sığır Bağışıklık Sisteminde Vitamin D Sinyalizasyonu

1,25(OH)₂D₃ sığırlarda adaptif ve doğal immunitenin düzenlenmesinde önemli rol oynadığı bildirilmektedir (Waters ve ark, 2001; Nelson ve ark, 2011). 1,25(OH)₂D₃'ün sığırlarda insanlara göre doğal immunité etkinliğinin farklı olduğunu ancak adaptif immunité üzerindeki etkinliğin sığır, insan ve farelerde benzer olduğu (Tablo 2.3) gösterilmektedir. Sığırlarda D vitamini kökenli immun yanıtın, insan ve fare bağışıklık sistemleri için tanımlanan sisteme benzer parakrin ve intrakrin vitamin D sinyal mekanizmaları ile kontrol edildiği bildirilmektedir (Stoffels ve ark, 2007; Nelson ve ark, 2010; Nelson ve ark, 2011). Yapılan in vitro bir araştırma ile bakteriyel enfeksiyon sırasında intrakrin vitamin D sinyal yoluyla immun sistemin aktive edildiği ile ilgili ilk kanıtları sunulmaktadır (Nelson ve ark, 2010). Bu yolla ilgili Lippolis ve ark (2011) yaptığı araştırmada sığırların bakteriyel enfeksiyonlara karşı savunmasını geliştiren D vitamini yolunun fizyolojik olarak oldukça önemli olduğunu bildirmektedir.

Tablo 2.2. Vitamin D'nin farklı türlerde immün sistem üzerine etkisi (Corvin ve ark, 2012)

İMMÜN YANIT	İNSANLAR	FARELER	SIĞIRLAR
Doğal İmmünite			
Katolisidin	↑	→	→
Cd14	↑	Etkilenmeyen	→
Defensin	↑	Etkilenmeyen	↑
iNOS	↑	↓	↑
NOD2	Etkilenmeyen	Etkilenmeyen	→
RANT/CCL5			↑
Adaptif İmmünite			
T hücre proliferasyonu	↓	↓	↓
IFN-γ	↓	↓	Etkilenmeyen
IL-10	↑	↑	
IL-17A	↓	↓	↓
IL-17F	Etkilenmeyen	↓	↓

2.4.2. Vitamin D ve Doğal İmmünite Üzerine Etkisi

Sığırlarda doğal bağışıklık sisteminde, 1,25(OH)₂D₃'ün toll-like reseptör 4 (TLR4) tarafından aktive edilen monositlerin nitrik oksit (NO) ve RANTES / CCL5 reaksiyonlarını arttırdığı bildirilmektedir (Nelson ve ark, 2015). Lipopolisakkarit ile uyarılan monositlerin 1 ve 10 nM 1,25(OH)₂D₃ desteklenmesi tek başına lipopolisakkarit kullanılanlara göre daha fazla NO sentezi (iNOS) ve RANTES / CCL5 ekspresyonu gerçekleştirmektedir. 1,25(OH)₂D₃ tarafından iNOS gen ekspresyonunun artırılması daha büyük yapıda NO üretilmesiyle ilişkilidir.

1,25(OH)₂D₃ tarafından indüklenen monositlerin iNOS ve RANTES (normal T hücre ekspresyonu, salgılanması ve aktivasyonun düzenlenmesi) üretimindeki artışın sığırlar için biyolojik önemi tam olarak belirlenmemiştir. Genel olarak sığır makrofajları tarafından üretilen NO bileşenleri antimikrobiyal savunmada görev aldığı bildirilmektedir (Thoma-Uszynski ve ark, 2001; Waters ve ark, 2004). Bununla birlikte sığır makrofajlarında NO kaynaklı

antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmediği ve NO immun sistemde önemli bir sinyal molekülü olduğu bildirilmektedir (Lacasse ve ark, 1996; Bogdan, 2001). 1,25(OH)₂D₃ tarafından sığırların monositlerinde NO üretiminin artırılması NO sinyal mekanizmasının gelişmesine katkıda bulunabilmektedir.

Güçlü bir kemokin olan RANTES oranının artması enfeksiyon alanına immun hücrelerin toplanmasını arttırmaktadır (Levy ve ark, 2009). 1,25(OH)₂D₃'ün sığırların immun sistem üzerine etkinliği kendine özgü olup genellikle insan ve farelerden farklılık göstermektedir (Rockett ve ark, 1998; Davidson ve ark, 2007); bununla birlikte insan makrofajlarında D vitamin yolu ile kontrol edilen antimikrobiyal aktivitenin NO üretiminden bağımsız gerçekleştiği (Thoma-Uszynski ve ark, 2001), farelerde ise 1,25(OH)₂D₃ tarafından İNOS ekspresyonunu azalttığı bildirilmektedir (Chang ve ark, 2004). 1,25(OH)₂D₃ metabolitinin insanlarda ve farelerde RANTES gen ekspresyonu üzerinde etkinliğinin olmadığı, insanlarda katelisin, defensin β4 (DEFB4), NOD2 ve CD14 regülasyonunu arttırdığı bildirilmektedir (Gombart ve ark, 2005; Wang ve ark, 2010).

Sığırlarda 11 katelisin gen ve 100'den fazla defensin gen bulunduğ (Baldwin ve ark, 2002), potansiyel vitamin D-tepki elementleri (VDREs) ile 3 katelisin gen (CATH4, CATH5, ve CATH6) ekspresyonu 1,25 (OH) ₂D₃'e yanıt oluşturmadıkları bildirilmektedir (Nelson ve ark, 2010). Katelisin promotörlerindeki fonksiyonel VDRE'nin primatlara özgü olduğu (Gombart ve ark, 2009), sığırların monositlerinde ise 1,25(OH)₂D₃'ün CD14 ve NOD2 gen ekspresyonunu arttırdığı bildirilmektedir (Nelson ve ark, 2012). Sığırların doğal savunma sistemi üzerine 1,25(OH)₂D₃ tarafından yapılan etki insanlarda katelisin, CD14 ve NOD2 düzenlemesi üzerine yaptığı etkiler farklı olup 100'den fazla defensin gen bulunan sığırlarda 1,25(OH)₂D₃ tarafından etkilenmesi araştırılmakta olup 2 tane defensin geninin 1,25(OH)₂D₃ tarafından indüklendiği bildirilmektedir (Nelson ve ark, 2012). Sığırlarda D vitamin yoluyla antimikrobiyal aktivitenin indüklenme mekanizması katelisin regülasyonunun artırılması haricinde insanlardakine benzer şekilde meydana gelmektedir.

2.4.3. Vitamin D ve Adaptif İmmunite Üzerine Etkisi

Vitamin D'nin sığırlarda immun sistem üzerindeki etkinliği ile ilgili birçok araştırma yapılmakta, yapılan araştırmalar sonucunda 1,25(OH)₂D₃'ün antijene spesifik T hücrelerinden

üretilen proinflamatuvar IFN- γ ve interlökin-17 (IL-17) yanıtlarını inhibe ettiği bildirilmektedir (Waters ve ark, 2001; Nelson ve ark, 2011). Ex vivo olarak *Mycobacterium bovis* antijeni veya mitojeniyle uyarılan PBMC'de 10 nM 1,25(OH) $_2$ D $_3$ ile tedavi edildiğinde IFN- γ üretiminin ortalama 3 kat azaldığı bildirilmektedir (Waters ve ark, 2001; Nelson ve ark, 2011). Benzer şekilde antijenle uyarılan PBMC'lerin 10 nM 1,25(OH) $_2$ D $_3$ ile tedavi edildiğinde IL-17F üretiminin yarısı kadar azaldığı, daha az düzeyde de IL-17A yanıtını inhibe ettiği bildirilmektedir (Nelson ve ark, 2011). 1,25(OH) $_2$ D $_3$ 'ün bu etkilerinin yanında sığırlarda antijenlerle uyarılan T hücreleri tarafından salınan CD4 ve $\gamma\delta$ TCR+ T hücreleri üzerinde güçlü bir inhibitör etki gösterdiği bildirilmektedir (Waters ve ark, 2003). CD4 $^+$ Th1 hücrelerinden IFN- γ salgılanırken Th17 hücrelerinden IL-17 salgılanmaktadır (Bettelli ve ark, 2007). $\gamma\delta$ TCR $^+$ T hücreleri sığırlarda bulunan T hücrelerinin önemli bir kısmını oluşturarak IL17 ve IFN- γ salgılar (Baldwin ve ark, 2002; Plattner ve Hostetter 2011). Bu yüzden 1,25(OH) $_2$ D $_3$, antijenle uyarılan PBMC üzerindeki inhibitör etkisiyle IL-17 ve IFN- γ üretimini azaltmaktadır. D vitamininin bu etkileri benzer şekilde insan ve farelerde de görülmektedir. 1,25(OH) $_2$ D $_3$ ile tedavi edilen insan ve farelerde CD4 $^+$ T hücre ortalamasının negatif yönde etkilenerek IL-17 ve IFN- γ üretimlerinin azaldığı bildirilmektedir (Baeke ve ark, 2010; Chang ve ark, 2010). Birkaç farede yapılan çalışmada 1,25(OH) $_2$ D $_3$ 'ün Th1 ve Th17 kaynaklı otoimmün hastalıkları önlediği, yine 1,25(OH) $_2$ D $_3$ ile tedavi edilen farelerde plaseboyla tedavi edilen farelere göre Th1 ve Th17 yanıtlarının daha az olduğu bildirilmektedir (Tang ve ark, 2009; Chang ve ark, 2010). İnsanlarda yapılan çalışmalarda 25(OH)D $_3$ ile otoimmün hastalıklar arasındaki ilişkinin immun sistemde yer alan 1,25(OH) $_2$ D $_3$ 'ün antiinflamatuvar etkinliğinden kaynaklandığı bildirilmektedir (Cantorna ve ark, 2000; Cantorna, 2010). Vitamin D yolaklarının antijenle uyarılan T hücreli immun yanıt üzerindeki inhibitör etkisinin nasıl gerçekleştiği in vivo olarak tespit edilmediği bildirilmektedir (Corwin ve ark, 2012). Bunun nedeni olarakta sığırlarda *Mycobacteria bovis* enfeksiyonuna karşı korunmanın Th1 ve Th17 yanıtlarının büyüklüğü ile ilişkili olduğu (Vordermeier ve ark, 2002), bu bağlamda 1,25(OH) $_2$ D $_3$ tarafından Th1 ve Th17 yanıtlarının zayıflatılmasının yararlı olmayabileceğini göstermektedir. Ancak bununla birlikte son çalışmalar *M. Tuberculosis*' e karşı T hücre kaynaklı immun yanıtların makrofajlarda bulunan D vitamini yolaklarına bağlı olduğu bildirilmektedir (Fabri ve ark, 2011).

2.5. İmmun Sistem Tarafından 1,25 (OH)₂D₃ Sentezi

Araştırmalar değerlendirildiğinde doğal ve adaptif bağışıklık yanıtlarının regüle edilmesi için aktif immün sistem hücreleri 1,25 (OH)₂D₃ sentezlemektedir. Ekstra-renal 1.25 (OH)₂D₃ sentezi ile ilgili ilk kanıt olarak, sarkoides hastalarında alınan pulmoner makrofajlardan elde edilen 1.25 (OH)₂D₃ sentezinin gösterilmesiyle belirlenmiştir (Adams ve ark, 1983). İnsan makrofajlarında, dentritik hücrelerde ve keratonositlerde CYP27B1 gen ekspresyonu patojenle ilgili molekülleri tanıyan TLR tarafından indüklendiği bildirilmektedir (Stoffels ve ark, 2006; Hewison, 2010). CYP27B1 enzimatik aktivite göstererek 25(OH)D₃ 'ün 1.25 (OH)₂D₃ dönüşümünü katalizlemektedir. İnsan makrofajlarından üretilen 1,25 (OH)₂D₃ katelisin ve DEFB4 transkripsiyonunu indüklemektedir. Benzer şekilde LPS, sentetik tri-palmitoillenmiş lipopetid Pam3CSK4 ve peptidoglikan gibi uyarıcı etkiler sonrasında sığır monositlerinin CYP27B1 mRNA gen eksprese ettiği bildirilmektedir (Nelson ve ark, 2010). Bununla birlikte 100 ng/ml LPS uyarımlarına yanıt olarak sığır monositlerinde 40 kat daha güçlü CYP27B1 mRNA eksprese edilmekte buda 25(OH)D₃'ün 1,25(OH)₂D₃' dönüşmesini sağlamaktadır. Sonuç olarak 25(OH)D₃ varlığında CYP27B1 tarafından sentezlenen 1,25(OH)₂D₃ konsantrasyonları monositlerde VDR'yi aktive etmek için yeterlidir. Lipopolisakkarit tarafından stimule edilen monositler 0-100 ng/ml 25(OH)D₃ ile tedavi edildiği aktive olan monositlerden minimal düzeyde İNOS ve RANTES yanıt oluştuğu fakat 25(OH)D₃ konsantrasyonu ile doğrusal olarak arttığı bildirilmektedir (Nelson ve ark, 2010). Nitrik oksit (NO) düzeylerinde de benzer artışlar olduğu yine bu araştırmada bildirilmektedir. 25(OH)D₃'ün monositler üzerindeki etkisi CYP27B1 inhibitörü olan ketakanazol ile bloke edildiği bildirilmektedir (Schuster ve ark, 2001). Lipopolisakkarit ile uyarılan sığır monositlerinde CYP24A1 mRNA'nın indüksiyonu inhibe eder (Nelson ve ark, 2010), CYP24A1 1,25(OH)₂D₃'ün inaktivasyonunu katalize ederek 1,25(OH)₂D₃'ün konsantrasyonu sınırlamaktadır (Horst ve ark, 1994). CYP24A1 ekspresyonu LPS aracılıyla aktif monositleri inhibe ederek bu monositlerde 1,25(OH)₂D₃'ün birikimi kolaylaştırarak bağışıklık hücrelerinde 1,25(OH)₂D₃ aksiyonunun anahtar düzenleyicisi olarak görev almaktadır.

Sığır immün sisteminde 1,25(OH)₂D₃'ün bir başka kaynağında B hücreleridir. CYP27B1 gen ekspresyonu antijen tarafından uyarılan PBMC hücre kültürlerinde IgM hücrelerini yaklaşık 40 kat arttırmaktadır (Nelson ve ark, 2011). Monosit ve PBMC hücre kültürleri karşılaştırıldığında, monositlerdeki CYP27B1 ekspresyonu dinlenmiş PBMC hücrelerine göre 125 kat daha fazla olduğu bildirilmektedir (Nelson ve ark, 2011). PBMC kültürlerinde

monositlere kıyasla B hücrelerinin daha yüksek oranda olduğu düşünüldüğünde, bu veriler B hücrelerinin önemli bir 1,25(OH)₂D₃ kaynağı olduğunu göstermektedir. PBMC kültürlerinin 25(OH)D₃'le takviye edilmesi B hücrelerinde İNOS ve RANTES gen ekspresyonunu arttırmaktadır (B hücrelerinde intraktin D vitamin sinyal mekanizması önerilmektedir) (Nelson ve ark, 2011). CYP27B1 B hücre reseptörü / CD40 ve TLR9 uyarılarına yanıt olarak insanlarda B hücre sayısını arttırdığı (Chen ve ark, 2007; Heine ve ark, 2008) ve 1,25(OH)₂D₃'ün insanlarda aktif B hücrelerinde IL-10 düzeyini arttırdığı bildirilmektedir (Heine ve ark, 2008). Sığırlarda aktif monosit ve B hücrelerinin aksine aktif T hücrelerinde CYP27B1 ekspresyonunda artış olmadığı bildirilmektedir (Nelson ve ark, 2011). T hücrelerinde CYP27B1 ekspresyonunda bir artış olmamasına rağmen kültürlere 25(OH)D₃ ilavesi ile IL-17 ve IFN- γ yanıtının artışın inhibe edildiği bildirilmektedir (Nelson ve ark, 2011). Bu sonuçlar monositlerde ve B hücrelerinde 1,25 (OH)₂D₃ sentezinin parakrin tarzında T hücre yanıtlarını düzenlediğini göstermekte ve insan ile fare T hücrelerinin kontrolü için benzer bir mekanizma düşünülmektedir (Enioutina ve ark, 2009; Hewison, 2010). Sığırlarda bakteriyel enfeksiyonlara karşı oluşan D vitamini yanıtlarının lokal kontrolü için in vivo yöntemler kullanılmaktadır. CYP27B1 gen ekspresyonunun sağlıklı dokuya göre *Streptococcus uberis* ile enfekte meme dokularında daha fazla artış gösterdiği bildirilmektedir (Nelson ve ark, 2010). CYP27B1 periferel kan veya sağlıklı bezlerdeki CD14⁺ düzeyleriyle karşılaştırıldığında enfekte meme bezlerinde CD14⁺ sekresyonunu (monosit/makrofaj) arttırdığı bildirilmektedir (Nelson ve ark, 2010). Enfekte bezlerde C14⁺ hücreleri çoğunlukla nötrofil ve birkaç lenfositlerde CYP27B1 artmadığı bildirilmektedir (Rainard ve Riollet, 2006). Enfekte meme bezinde VDR aktivasyonu ve 1,25(OH)₂D₃ sentezinin artmasıyla ilişkili olarak CYP27B1 artışına ilave olarak enfekte meme dokusunda CYP24A1 gen ekspresyonunda arttığı görülmektedir. CYP24A1 enfekte bezde CD14 hücrelerini arttırmadığı, buda CYP24A1'nin artışını indükleyen 1,25(OH)₂D₃'ün monosit aktivasyonunu inhibe ettiğini desteklemektedir (Nelson ve ark, 2010). Yine de enfekte meme bezlerinde CYP27B1 ve CYP24A1'in ekspresyonundaki artış bakteriyel enfeksiyonlarda doğal yanıt sürecinde vitamin D sinyallerinin lokal kontrolü için güçlü bir in vivo kanıt sağlamaktadır. Konakçı savunma sisteminde vitamin D sinyallerinin önemi sığırlarda yapılan son çalışmalarda gösterilmektedir (Lippolis ve ark, 2012). Mastitisli sığırlarda meme içi 25(OH)D₃ infüzyonunun tedavide etkili olabileceği çünkü mastitis boyunca meme bezlerinde vitamin D sinyal yollarının mevcut olduğu ve 25(OH)D₃'ün meme sekresyonundaki konsantrasyonunun (<1 ng/ml) serumdaki 25(OH)D₃ (>50 ng/ml) konsantrasyonundan daha düşük olduğu bildirilmektedir (Hollis ve ark, 1981; McDermott ve ark, 1985; Nelson ve ark, 2010). Bu hipotezi desteklemek için deneysel bir araştırmada,

mastitisli ineklere meme içi 25(OH)D₃ (fetal sığır serumu içinde 100 µg) veya günlük bir plasebo (fetal sığır serumu) infüze edilmiş, 25(OH)D₃ takviyesi yapılanlarda vücut sıcaklığının daha düşük olduğu, meme sekresyonunda lökosit sayısının azaldığı, bakteriyal yükün daha az olduğu bu nedenle 25(OH)D₃'ün enfeksiyon şiddetini sınırladığı gösterilmektedir. Bununla birlikte serum 25(OH)D₃ veya 1,25(OH)₂D düzeyinde bir değişiklik olmadığı buda endokrin sistemin enfeksiyonlarda 25(OH)D₃ etkisinde rolünün olmadığını göstermektedir (Lippolis ve ark, 2012). 25(OH)D₃'ün enfekte memelerde VDR'yi doğrudan etkileyebileceği, etkilenen meme bezinde CYP27B1 gen ekspresyonunun görülmesi ise bu etkilerin görülmesi için muhtemelen 25(OH)D₃'ün 1,25(OH)₂D₃'e dönüştüğü görülmektedir. 25 (OH) D ile yapılan tedaviler enfeksiyonu doğrudan kaldırmada doğal immun yanıt üzerinden etki ederek enfeksiyon şiddetini azaltabileceği değerlendirilen çalışmalarda görülmektedir.

2.6. Bağışıklık Sisteminde Vitamin D Gereksinimleri

D vitamini sinyal yolu insan ve sığırların immun sisteminde mevcut olup (13-15, 22,23) konakçı savunmasında fizyolojik olarak önemli rol oynamaktadır (Lippolis ve ark, 2012). Neonatal dönem boyunca serum 25(OH)D₃ konsantrasyonunun sürekli yüksek (>100 ng/ml) olması erken yaşta aşılınmış buzağılarda adaptif immünite gelişimi ile ilişkili gen ve protein ekspresyonunu değiştirebileceği ve deneysel olarak Bovine Respiratuar Sinsityal virusa yanıt oluşturabileceği bildirilmektedir (Nonnecke ve ark, 2012; Sacco ve ark, 2012). Serum 25 (OH) D optimal seviyede olması sağlığın bir göstergesi olup güneş ışığına maruz kalma ve diyet takviyesi bu durumu belirlemektedir. Sığırlarda ve insanlarda bu optimal değerlerin 30-100 ng/dl arasında olduğu bildirilmektedir (Hollis, 2005; Wagner ve ark, 2008). İnsan üzerinde yapılan çeşitli çalışmalarda vitamin D durumunun üst solunum yolu enfeksiyonu, influenza A, tüberküloz ve birkaç otoimmün hastalığın prevalansı ile ters ilişkili olduğunu bildirmektedir (Burton ve ark, 2010; Ginde ve ark, 2009). Tüm bunlar değerlendirildiğinde insanlarda ve sığırlarda immun yanıt ile D vitamini arasında korelasyon olduğu görülmekte ve insanlarda optimum immun yanıtı sağlamak için vitamin konsantrasyonunun 30 ng/ml üzerinde olması gerektiği bildirilmektedir (Hayes ve ark, 2011; Vieth, 2011). İnsanlar ve sığırlarda D vitamini yolunun benzer olduğunu dikkate alırsak insanlarda geçerli olan bu optimal değerlerin sığırlarda da geçerli olması muhtemeldir. Endokrin sistemde 1,25(OH)₂D₃ metabolitinin sirkülasyonda görülme oranı böbreklerde CYP27B1 ve CYP24A1 ekspresyonuna ve dolaşımında 25(OH)D₃ ve 1,25(OH)₂D₃ konsantrasyonlarına bağlı olarak değişmektedir (Horst ve ark,

1994). CYP27B1 ve CYP24A1 tarafından Ca ve P homeostazisinin korunması için gerekli olan 1,25(OH)₂D₃ konsantrasyonunun sağlanması amacıyla böbreklerde endokrin faktörler tarafından regüle edilmektedir (Engstrom ve ark, 1987). Makrofajlarda intraktör D vitamini sinyalizasyon mekanizmasına bakıldığında, 1,25(OH)₂D₃ görülme oranı CYP27B1 ve CYP24A1 ekspresyonuna ve 25(OH)D ile 1,25(OH)₂D₃'ün makrofajlardaki konsantrasyonuna bağlıdır. Bununla birlikte, CYP27B1 ve CYP24A1 immun uyarıcıları (TLR ligantları, IFN- γ) regüle eder (Nelson ve ark, 2010; Liu ve ark, 2006; Fabri, 2011; Stoffels ve ark, 2006) ve endokrin sistemden farklı olarak ekspresyonlar optimal makrofaj fonksiyonu için gerekli olan 1,25(OH)₂D₃ konsantrasyonlarına ulaşması yeteri kadar dengelenemez. Bu nedenle, zaman içinde hücredeki 1,25(OH)₂D₃'ün difüzyonu kritik bir hal alır ve optimal bir cevap için gereklidir. Bu nedenle serum 25(OH)D₃ konsantrasyonunun 20–30 ng/ml düzeyde olması D vitamininin Ca ve kemik homeostazisi gibi klasik endokrin fonksiyonu için yeterli iken optimal bağışıklık yanıtı için düşük seviyede olabilir. İnsanlarda D vitamininin bağışıklık sistemine etkisinin belirlenmesi için sığır modelleri kullanılmaktadır. Fare modellerinin kullanılması ise uygun değildir çünkü ihtiyaç duydukları vitamin D düzeyleri insan ve sığırlardan farklıdır. Bu fark ise muhtemelen geceleri dolaşan farelerin deriden vitamin D₃ sentezinin olmamasından kaynaklanmaktadır. Buna karşılık vitamin D fiziolojisi insan ve sığırlarda immun yanıtı regüle eden vitamin D yollarının fonksiyonu, makrofajlarda vitamin D yollarının düzenlediği bazı genler hariç benzer yapıdadır (Corwin ve ark, 2012). Sığırların insanların vitamin D düzeylerine benzer aralıkta vitamin D düzeyine sahip olmasından dolayı bakteriyel ve viral enfeksiyonlarla deneysel enfekte edilip araştırılması avantajdır. Buda enfekte olan sığırlarda vitamin D yollarının nasıl bir fizyolojik yol izlediğini ve bunu insana nasıl uyarlandığını anlamamıza yardımcı olmaktadır (Plattner ve ark, 2011). Ayrıca D vitamini düzeyini gösteren 25(OH)D₃ konsantrasyonlarının eksiklik ve toksitesinin deneysel olarak kontrol edilmesine yardımcı olmaktadır (Mcdermott ve ark, 1985; Littlelike ve Horst, 1982). Sığır modellerinde tüm aralıkların araştırılmasına imkan sağlanması optimal bağışıklık yanıtının gerçekleşmesi için gerekli olan serum 25(OH)D₃ aralıklarının belirlenmesine yardımcı olmaktadır.

2.7. Preruminant Buzağılarda Vitamin D

D vitamininin düzeylerinin araştırılmasında sığır modellerinde uygulanabilirliğin göz önüne alındığında yenidoğan insan bebeklerinde büyüme, immun fonksiyon ve sağlığı gibi durumların incelenmesi ve vitamin D düzeylerinin belirlenmesi amacıyla preruminant buzağılar

kullanılmaktadır (Corwin ve ark, 2012). İnsan bebeklerinden farklı olarak buzağlarda yapılan D vitamin durumu ile ilgili çalışmalarda, vitamin D'nin sadece mineral metabolizması ve büyüme performansın üzerine değil erken aşılama ile immun yanıtın incelenmesi, bakteriyal veya viral enfeksiyonlardan kaynaklı hastalıkların şiddeti ve süresi gibi durumların incelenmesine olanak sağlamaktadır. Yenidoğan buzağlarda serum 25(OH)D₃ konsantrasyonu 25(OH)D₃ subkutanöz uygulaması veya diyetle alınan D vitamin değişimi ile kontrol edilmektedir (Nonnecke ve ark, 2009). Vitamin D durumunun düşük (25(OH)D₃<30 ng/ml) veya yüksek-normal (25(OH)D₃>60ng/ml) olması birkaç haftalık buzağlarda koruma sağlayabilir. Bu sonuçlar ışığında neonatal periyot boyunca vitamin D durumunun tahmini olarak kontrol edilebileceğini, genç buzağlarda vitamin D durumunun immun sistem, büyüme ve gelişim üzerine etkisinin belirlenmesine yardımcı olabileceğini gösteren ilk bulgulardır. Son yapılan araştırmalarda buzağlarda vitamin D durumunun özel hazırlanmış süt ikame yemleri ile manipüle edilebileceği bildirilmektedir. Buzağlar D vitaminin hastalıklar üzerinde etkinliğinin belirlenmesinde önemli potansiyele sahiptir. Deneysel olarak Respiratuar Sinsisyal Virus ile enfekte edilen buzağlarda görülen belirgin nötrofil infiltrasyonu, mikroskobik akciğer lezyonları bebeklerde de benzer şekilde görülmektedir (Bem ve ark, 2011).

Yakın zamanda yapılan araştırmalarda deneysel olarak RSV ile enfekte edilen buzağlarda D vitamininin enfeksiyona etki düzeyleri değerlendirilmiş, doğumdan sonraki ilk 10 hafta boyunca buzağlar süt ikame yemi ile farklı dozlarda D₃ vitamini takviyesi ile besleme yapılırken gruplar düşük D vitamini alanlar (25(OH)D₃ <25 ng/mL) ve yüksek dozda D vitamini alanlar (25(OH)D₃ >100 ng/mL) olmak üzere iki grup oluşturulmuştur (Sacco ve ark, 2012). 70 günlük yaşta her iki grupta bulunan buzağlarda RSV ile ilişki aerosol değişiklikler görüldüğü ve 7 gün sonra yapılan nekropside hastalık gelişimiyle ilişkili makroskopik ve mikroskobik bulgular her iki grupta benzer olduğu görüldü. Bununla birlikte D vitamini yolları tarafından baskılanan sitokinlerin yüksek D vitamini uygulanan gruplarda önemli ölçüde arttığı (IL-12p40) veya etkilenmediği (IFN- γ) in vitro olarak RSV'li buzağların akciğerlerinde gösterilmektedir. Ayrıca plazma 25(OH)D₃ konsantrasyonu yüksek olan buzağlarda proinflamatuvar sitokinler, IL-8 (CXCL8) ekspresyonlarının arttığı bildirilmektedir. Tüm bu sonuçlar değerlendirildiğinde virus ile enfekte buzağların akciğerlerinde bulunan inflamatuvar sitokinlerin gen ekspresyonunun vitamin D tarafından düzenlendiği görülmektedir.

2.8. Gastrointestinal Hastalıklar ve Vitamin D İlişkisi

İshal ve vitamin D arasındaki ilişkiyi anlatan birçok araştırma bulunmakta ancak veteriner sahada özellikle sığırlar ile ilişkili sınırlı sayıda araştırma olduğu görülmektedir (Shamsir Ahmed, 2016; Erdoğan ve ark, 2017). Beşerî hekimlikteki araştırmalar incelendiğinde kolombiyadaki okul çağındaki ishal ve kusma gibi klinik semptomları bulunan çocuklarda vitamin D yetersizliğinin söz konusu hastalıklar için belirgin bir risk faktörü olduğu (Thornton ve ark, 2013), Katarda da gastrointestinal enfeksiyonların prevalansının benzer yaş aralığındaki çocuklarda vitamin D noksanlığı bulunanlarda daha yüksek olduğu bildirilmektedir (Benner ve ark, 2009). Buna karşın Tanzanya’ da 5 yaştan küçük çocuklarda yapılan bir araştırmada gebelik boyunca HIV enfeksiyonu geçiren ve serum 25 (OH) D <80 nmol/L olan annelerden doğan çocuklarda ishal insidansının artışında risk oluşturmadığı bildirilmektedir (Finkelstein ve ark, 2012). İki yaşın altındaki çocuklarda vitamin D’nin ishal morbititesi üzerinde etkinliği ile ilgili yeterli veri bulunmamakla birlikte yakın zamanda yapılan bir çalışmada 1-3 aylık çocuklarda 6 aylık vitamin D bolusu takviyesinin ishal insidansı üzerine etkisi bulunmadığını bildirilmektedir (Aluisio ve ark, 2013).

Araştırmacılar D vitamininin bağırsak sağlığı ve fonksiyonları üzerine olan etkilerinin ishali sınırlayabileceği veya ishal oluşumuna karşı direnci artırabileceği yönünde görüş bildirmektedir. Söz konusu araştırmalarda çocuklarda ishale neden olan *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *S. typhimurium*, *Salmonella* ve *Shigella* üzerinde bakterisit etkileri olan anti-mikrobik peptitlerin vitamin D seviyeleri ile ilişkili olarak düzenlediğini desteklemektedir (Ouellette ve ark, 1994; Hase ve ark, 2003; Limura ve ark, 2005; Welkamp ve ark, 2007; Gudmundsson ve ark, 2010). Bununla birlikte Vitamin D’nin viral enfeksiyonların yanı sıra *Salmonella* ve *Shigella* gibi enfeksiyonlara karşı koruma sağlayan gab junctionları güçlendirdiği bildirilmektedir (Kong ve ark, 2008; Fujita ve ark, 2008). Çocuklar üzerinde yapılan bu araştırmalar Vitamin D’nin inflamatuvar yanıtı düzenlediği ve enfeksiyonlara karşı savaşmada gerekli olan bağışıklık hücrelerini aktive ettiği böylece D vitamini noksanlığı bulunan çocukların enfeksiyon ve ishallerine karşı daha duyarlı olduğu görülmektedir (Shamsir, 2016).

Hastalıklar açısından profilaktik ve immunmodülatör etkilerinin yanında kronik seyir eden İnflamatuvar bağırsak hastalığı’ nda (IBH) yaş faktörünün etkisi altında sağlıklı ve hasta bireylerde vitamin D yetersizliğinin yüksek bir prevalansta (%65-72) seyir ettiği bu sebeple söz konusu hastalık ile ilişkisinin bulunmadığı bildirilmektedir (Alkhouri ve ark, 2013). Araştırmalarda IBH

hastalarının kan serumlarındaki vitamin D seviyelerinin normal yada düşük seyir edebileceği ya da vitamin D seviyelerindeki azalmaların hastalığın bir sonucu olarak da şekillenebileceği yönü ile sonuçlarada ulaşılmaktadır (Aaron ve Andrew, 2015). Söz konusu durumun özellikle bu hastalığı ilerlemiş olan bireylerde evde kalma süresinin uzamasına bağlı olarak gün ışığından yararlanamaması ile ilişkilendirilmektedir. Bununla birlikte bağırsaklarda meydana gelen enflamatorik süreçler ile ilişkili olarak vitamin D malabsorpsiyonu görülebileceği, bu durumun Crohn hastalarında daha yaygın görüldüğü, yangısal dokulardaki CYP24A1 ve CYP27B1 ekstrezyonlarının 25(OH)Vit D tüketimine neden olmasına bağlanmaktadır (Palmer ve Weaver, 2013). İnflamatuvar bağırsak hastalığının sağaltımı amacı ile kullanılan kortizolünde vitamin D seviyelerini azalttığı yönünde düşüncelerde bulunmaktadır (Reich ve ark, 2014). Deri ile sentezlenebilmesi mümkün olan vitamin D' nin benzer şekilde söz konusu hastalıklarda mevsimsel olarak da değişim gösterebileceği ayrıca diyetle kalsiyum veya vitamin D alımı ile de araştırma sonuçlarının değişkenlik gösterdiği bildirilmektedir (Suibhne ve ark 2012).

D vitamininin bağırsak fonksiyonu ve sağlığı üzerinde etkinliği ile ilgili yapılan çalışmada, vitamin D durumunun ishali sınırlandırabileceği veya ishale karşı direnç arttırabileceği düşünülmektedir. Yapılan bu çalışmada vitamin D durumunun *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *S. typhimurium*, *Salmonella* ve *Shigella* üzerinde bakterisit etkileri olan anti-mikrobik peptitleri düzenlediğini göstermiştir (Ouellette ve ark, 1994; Hase ve ark, 2003; Limura ve ark, 2005; Welkamp ve ark, 2007; Gudmundsson ve ark, 2010;). Bu etkenler çocuklarda ishale neden olmaktadır. Vitamin D'nin viral enfeksiyonların yanı sıra *Salmonella* ve *Shigella* gibi enfeksiyonlara karşı koruma sağlayan gab junctionları güçlendirdiği bildirilmektedir (Kong ve ark, 2008; Fujita ve ark, 2008). Son olarak vitamin D'nin inflamatuvar yanıtı düzenlediği ve enfeksiyonlara karşı savaşmada gerekli olan bağışıklık hücrelerini aktive etmektedir. Böylece D vitamini eksik olan çocuklar enfeksiyona ve ishale karşı daha duyarlıdır.

İnflamatuvar bağırsak hastalığı (IBH) olan hastalarda vitamin ve mineral yetersizliği riski fazladır. Alkhouri ve ark (2006) yaptığı çalışmada 61 tane IBH'lı hastalarda vitamin ve çinko yetersizliğini yaş ve cinsiyet olarak araştırmıştır. Yapılan çalışmada hem IBH hastalarında hemde kontrol gruplarında vitamin D yetersizliği yüksek prevalansta (%65-72) bulunmuş ve hastalıkla ilişkisi gösterilememiştir (Alkhouri ve ark, 2013). Yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde IBH hastalığında vitamin D seviyesi düşük veya normal olabilmektedir ve vitamin D yetersizliği hastalığın bir sonucu olarak gösterilmektedir. IBH hastalarında vitamin D durumu ile ilgili çeşitli görüşler vardır. İlk olarak, IBH'lı hastalar şiddetlenme durumlarında

evden dışarı çıkmamaktadır. İkinci olarak, Crohn dieases (CD) hastalarında vitamin D malabsorbsiyonu görülebilir ve son olarak yangısal doku CYP24A1 ve CYP27B1 ekspre eder ve buda 25(OH)Vit D tüketimine neden olduğu bildirilmektedir (Palmer ve Weaver, 2013). Üçüncü olarak, hastalar mesalazine gibi ilaçlara başladıktan sonra ışığa duyarlı olduğu için dışarıya çıkmayabilir (Horiuchi ve Shimakura, 1999) veya Azathioprine'den gelen cilt kanseri riskini azaltmak için güneş koruyucuları kullanımı etkileyebilir (Austin ve Spiller, 2001). Bazı araştırmacılar da IBH hastalarının steroid kullanımına bağlı olarak D vitamini eksikliğinin görüldüğünü bildirmektedirler (Reich ve ark, 2014). Bununla birlikte Lamb ve ark (2002) yaptığı çalışmada, steroid kullanmadan önce kemik mineral yoğunluğunun tanısının azaldığını bildirmektedirler. Gilman ve ark (2006) ırlandada CD'li hastalarda yaptığı çalışmalarda, yaz sezonundaki vitamin D seviyesinin vitamin D takviyesi ile pozitif ilişkili, sigara içenler ve cinsiyeti erkek olanlarda ise negatif ilişki olduğunu bildirmektedirler. Kışın ise vitamin D takviyesi ve güneş alışkanlıklarıyla pozitif ilişkili olduğu, ince bağırsak tutulumu ve vücut kütle indeksi ile negatif ilişkili olduğu bildirilmektedir. Ayrıca diyetle kalsiyum veya vitamin D alımı, yaş, steroid kullanımı veya rezeksiyon ile ilişkisinin bulunmadığı bildirdiler. Suibhne ve ark (2012) kış mevsiminde vitamin D yetersizliğinin yaza göre daha yüksek olduğunu (%68'e %50), yazında yüksek olduğunu (%50) ve bununda sigara içme ile ilişkili olduğu bildirildi.

Vitamin D'nin bağışıklık sistemi düzenleyicisi olarak ortaya çıkması adaptif immunitate ve doğal başıklık sistemindeki rolünün araştırılmasına neden olmuş hatta bazı gecikmeli alerjik reaksiyonlarının vitamin D yetersizliği ile ilişkili olabileceği bildirilmektedir (Toss ve Symreng, 1983). Dentrik hücrelerde eksprese edilen 1,25(OH)₂ Vit D reseptörleri dentrik hücre fonksiyonunu aktive, inhibe veya modifiye etmektedir (Brennan ve ark, 1987). Zhang ve ark (2012) söz konusu immunomodulasyon mekanizmasının insan monositlerinde inflamatuvar yanıtları stimule eden lipopolisakkarit (LPS) üzerinde inhibitör etkisi üzerinden şekillendiği düşünülmektedir. Söz konusu araştırmada hem 1,25(OH)₂VitD₃ hemde 1,25(OH)₂VitD₃ 'ün doza bağımlı fizyolojik konsantrasyonlardaki LPS ile indüklenen P38 fosforilasyonunu inhibe ettiğini bunun yanında insan monositleri tarafından üretilen Interlökin-6 (IL-6) ve Tümör Nekrozis faktör- α (TNF- α) inhibe ettiği bildirilmektedir. Aynı araştırmada, D vitamini tedavisine başladıktan sonra, MAPK Fosfataz-1'in (MKP-1) insan monositlerinde önemli derecede artış gösterdiği bildirilmektedir. Liu ve ark (2009), IL-1 β ve D vitamini aktivasyonu arasındaki sinerjinin, hücre içi patojenlere karşı TLR (Toll-benzeri Reseptör) ile uyarılan antimikrobiyal yanıtın aktivasyonu için gerekli olduğunu bildirmişlerdir. Aynı zamanda D

vitaminin insan myeloid lösemi hücrelerinde otofajik hücreleri tetikleyebildiği bildirilmektedir (Wang ve ark, 2008).

İnsanlarda yaygın görülen bağırsak hastalıklarından biri olan Crohn hastalığında, hastalığı hafiflemiş bireylerde vitamin D seviyelerinin düşük olduğu bildirilmektedir (Ham ve ark, 2014). Söz konusu hastalarda sağaltıma başlandıktan sonra D vitamini düzeylerinde önemli artışlar şekillendiği ve hastalık ile vitamin D seviyeleri arasında belirgin ilişkilerin olabileceği bildirilmektedir . Hastalığın hafif ve orta seviyelerde bulunan bireylerde ise vitamin D seviyelerinde sağlıklı bireyler ile benzer olduğu da bildirilmektedir (Grunbaum ve ark, 2013).

Leichtman ve ark (1991) küçük (<100), orta (100-300) ve büyük bağırsak rezeksiyonu (300>) olan bireylerde vitamin D seviyelerinin hem kolekalsiferol hem de 25-hidroksikolekalsiferolün intestinal absorpsiyonunun CD hastalarında azaldığını ve bağırsak rezeksiyon düzeyine bağlı eksikliklerin derecelendirildiği bildirmektedir. Buna karşın Vogelsang ve ark (1997) CD hastası olan bireylerde oral vitamin D kullanımı sonrasında rezeksiyon ve vitamin D malabsorpsiyonu arasında belirgin bir korelasyon olmadığını bildirmektedir.

Abreu ve ark (2004) Crohn's hastalarında ülseratif kolitisli (UC) hastalara göre dolaşımdaki vitamin D seviyesinin daha yüksek olduğunu (CD: 57 pg/ml, UC: 41 pg/ml) bununla birlikte CD hastalarında 1-a hidroksilaz seviyesinin arttığını bildirilmektedir. Crohn hastalığı ve ülseratif kolit gelişme riski bulunan 72,719 bayan üzerinde yapılan bir araştırmada vitamin D seviyesi yüksek olanların CD gelişme riskini azalttığını (%40 seviyesinde) fakat UC riskinde değişim olmadığını bildirmektedirler (Ananthakrishnan ve ark 2012).

Hayvanlar üzerinde yapılan araştırmalarda ise enfeksiyöz hastalıklara yakalanma riskindeki artış ve D vitamini yetersizliği arasında ilişki olduğu, bununla birlikte vitamin D seviyelerinin genç hayvanlarda akut enfeksiyonlar üzerine etkisiyle ilgili araştırmalarda mevcuttur (McNally ve ark, 2009; Battersby ve ark, 2012).

Sığırlarda, D vitamininin endokrin fizyolojisi ile ilişkili yapılan araştırmalar, özellikle bağırsaklardan, kemiklerden ve böbreklerdeki kalsiyum geri emilimindeki kritik rolü üzerine dizayn edildiği görülmektedir (Horst ve ark, 1994; NRC, 2001). Bunun yanında geçtiğimiz yıllar içerisinde beşerî hekimlikteki araştırmalara paralel olarak Sığırlarda da vitamin D'nin immunmodülatör etkinliği araştırmalar yapılmakta, intrakrin D vitamini sinyal mekanizmaları aracılığıyla doğal ve adaftif immun yanıtla ilişkili hücrelerin aktivasyonunu modüle ettiği in

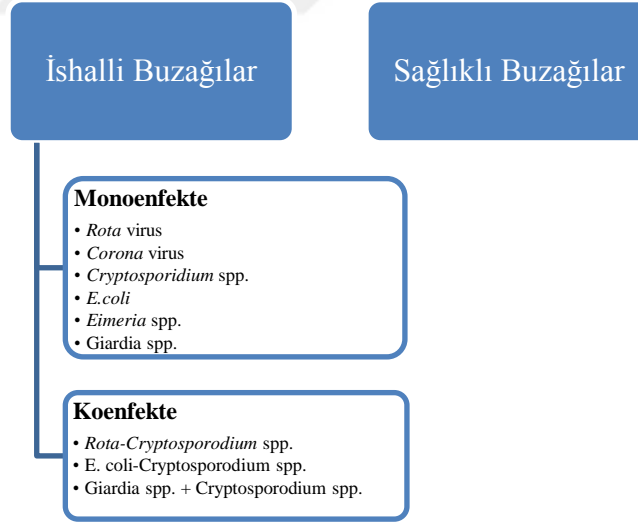
vivo olarak gösterilmiştir (Ametaj ve ark, 1996; Nelson ve ark, 2011). Sınırlı sayıda bulunan in vivo araştırmaların yanında, sığırlarda klinik bakteriyal mastitislerin sağaltımında vitamin D uygulamalarının etkinliği yönünde yapılmış araştırmalar da mevcuttur. Söz konusu klinik iyileşmenin meme bezi dokusunda doğal immunitenin düzenlenmesi ile ilişkili olduğu bildirilmektedir (Lippolis ve ark, 2011). Deneysel olarak enfekte solunum yolu sinsityal virusu (BRSV) ile enfekte edilen buzağılarda da intrakrin vitamin D sinyal yollarının akciğer yangısı ile olan ilişkisi gösterilmektedir (Sacco ve ark, 2012).

25-Hidroksivitamin D dolaşımdaki baskın vitamin D metaboliti olup insanlarda ve sığırlarda vitamin D durumunun en iyi göstergesidir (Horst ve ark, 1994; Holick, 2009). D vitamini durumu veya D vitamini desteği ve potansiyel sağlık yararları arasındaki ilişkilere ilişkin tartışmalar olmasına rağmen, kanıtlar, insanlarda D vitamini yeterliliğinin, serum 25(OH)D konsantrasyonunun 30 ng/mL'yi aştığı zaman elde edildiğini göstermektedir (Holick, 2009). Küçük çocuklarda yapılan çok sayıda epidemiyolojik çalışma, D vitamini eksikliği ile solunum yolu enfeksiyonu riskinin artması arasındaki ilişki olduğunu göstermektedir (McNally ve ark, 2009; Battersby ve ark, 2012). Prematüre buzağılarda serum 25 (OH) D konsantrasyonunun yeterlilik durumu tam olarak belirlenememiş olup, 1989' dan beri aynı düzey (600 IU/kg) kabul edilmektedir (NRC, 2001). Bununla birlikte, süt ikame yemi ile beslenen buzağılarda, ticari yemlerde yüksek D vitamini konsantrasyonunun olmasından dolayı serum 25(OH)D seviyesi 30 ng/ml (Nonnecke ve ark, 2009) düzeyine çıkabildiğinin buda NRC'nin önerdiğinden 10-20 kat fazla bulunduğu bildirilmektedir (NRC, 2001). Sütle beslenen buzağılarda vitamin D takviyesinin yapılmaması D vitamini eksikliğine neden olabileceği (Rajaraman ve ark, 1997; Kreuger ve ark, 2014), insanlardada klinik eksikliğin göstergesi olabilecek seviyelere sıklıkla düşer (≤ 10 ng / mL; Holick, 2009).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hayvan Materyali ve Grupların Dizaynı

Araştırmanın hayvan materyalini Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesinde bulunan neonatal dönemdeki (1-28 gün) akut ishallerli holştayn ırkı 100 buzağı ve sağlıklı 20 olmak üzere toplamda 120 buzağı oluşturdu. Bovid-5 katı fazlı immunokromatografi yöntemi ile çalışan hızlı test kitleri aracılığıyla tanı konulan olgular öncelikli olarak mono-infeksiyona ilişkin en az 5 gruba, ko-infeksiyon durumlarına bağlı olarak ilgili alt gruplara ayrıldı. İlgili ana gruplara (her grupta n=en az 7) ayrılarak I. grup (*E. coli* ile infekte), II. grup (*Rota virus* ile infekte), III. grup (*Coronavirus* ile infekte), IV. grup (*Cryptosporidium sp.* ile infekte) ve V. grup (*Giardia sp.* ile infekte) hasta buzağular yer aldı, kontrol olarak ayrılan VI. grupta ise (n=en az 10) ise sağlıklı buzağular yer aldı. Alman dışkı örnekleri hızlı test kitleri ile etkenler teşhis edildi (Resim 3.1). Etken teşhisi yapılan buzağular monoenfekte ve koenfekte olarak değerlendirildi (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Etken teşhisi yapılan buzağuların gruplandırılması



Resim 3.1 Hızlı test kitleri ile tanı konulan ishal ajanları

3.2. Kan Örneklerinin Alınması ve Klinik Değerlendirme

Araştırma kapsamında çalışmaya dahil edilen buzağılar hızlı test kitleri ile tanıyı takiben örnekleme işlemlerine başlandı. Bu kapsamda sodyum sitrat ve heparin içeren (Vacutte, ülke) tüplere *Vena jugularis* aracılığı ile toplamda 4 ml olacak şekilde bir defaya mahsus alındı. Alınan kan örnekleri fakültemiz bünyesinde bulunan merkez laboratuvara taşınarak analizlere başlandı. Kan alım işlemleri ve diğer örneklerin toplanması Hayvan Deneyle Yere Etik Kurulunun kuralları gereğince Dene Y Hayvanları Kullanım Sertifikası bulunan Anabilim Dalımız Araş. Gör. Dr. Songül ERDOĞAN' nın gözetiminde gerçekleştirildi (Resim 3.2) .



Resim 3.2 *Vena jugularis* 'ten kan alma işlem

Etiyolojik olarak tanısı belirlenen ve gruplar içerisinde dağıtılan buzağuların klinik muayeneleri gerçekleştirildi (Resim 3.4). Bu kapsamda dışkı skorlaması, deri elastikiyeti ve gözlerin orbita içerisindeki konumu milimetrik cetvelle ölçülüp aşağıdaki formüllerden yararlanılarak buzağuların dehidrasyon buzağuları belirlendi.

$$\text{Dehidrasyon Derecesi [\%]} = 1.71 \times [\text{enoftalmus (mm)}] + 0,38$$

$$\text{Dehidrasyon Derecesi [\%]} = 1.77 \times [\text{deri elastikiyetinin normale dönmesi (sn)}] - 3,16$$

Buzağularda klinik değerlendirmenin yapılabilmesi amacı ile skorlama yapılarak ishalden etkilenme dereceleri belirlendi.



Resim 3.3. İshalli buzağuların klinik muayenesi ve değerlendirilmesi



Resim 3.4. İshalli buzağıda dışkı görünümü (kan) ve etiyolojik değerlendirme

3.3. Laboratuvar Örneklerin İşlenmesi

Sodyum sitrat ve heparin ihtiva eden tüplerin içerisine toplamda 4 ml olacak şekilde alınan kan örnekleri laboratuvar ortamında rutin değerlendirmeler amacı ile (kan sayımı ve kan gazı analizleri) heparinli kan örneklerinden gerçekleştirildi. Kan sayımı ve kan gazı analizlerinden sonra her iki örnek santrifüj işlemine (Hettich, Almanya, 3000 devir/dk) tabi tutularak heparin ve sitratlı plazma örnekleri elde edildi. Plazma örnekleri ependorf tüplerin içerisine aktarılarak fibrinojen ve Vitamin D analizi ölçümleri gerçekleştirildi.

3.3.1. Vitamin D analizleri

Vitamin D analizleri heparin plazmalar ile Florasan immuno kromatografi yöntemi kullanılarak flöresan immunoassey cihazı (Savant Beijing Savant Biotechnology, Çin) ve 25-OH-D test kitleri (Savant Beijing Savant Biotechnology, Çin) aracılığı gerçekleştirildi. Bu kapsamda üretici firmanın belirttiği prosedürler uygulandı. Teste başlamadan önce test stribi hazır hale getirilerek oda sıcaklığında bekletildikten sonra analizde kullanılacak olan Cihaz kimlik kartı çıkarılarak analizatörde kart bölmesine yerleştirildi ve cihaz tarafından okunması sağlandı. Bu işlemden sonra karttaki standart eğri bilgileri cihaz tarafından kayıt altına alındı. Daha sonra analizde kullanılmak üzere her bir serum örneğinden 30 mikrolitre ve 30 mikrolitre 25(OH)D ayıraç ile karıştırıldı. Her bir test kitine bu karışımdan 60 mikrolitre pipete edilerek hazır hale getirilip oda sıcaklığında 15 dk bekletildikten sonra analizatörünün içerisine yerleştirilerek test uygulandı. Analizde kullanılan cihaz her bir örneği ayrı ayrı otomatik olarak ölçerek sonuçları bildirdi.



Resim 3.5 25(OH)D₃ analizi için kullanılan Savant marka flöresan immunoassey cihaz ve 25-OH-D (Florasen immuno kromotografi, Bejing Savant Biotechnology Co, Ltd) test kiti.

3.3.2. Fibrinojen Analizleri

Fibrinojen analizleri için yarı otomatik koagülometre cihazı (Semi-Automatic Blood Coagulation Analyer C2000-4) kullanıldı. Yarı otomatik koagülometre cihazı ile yapılan fibrinojen analizinin test aşaması üretici firmanın belirttiği şekilde gerçekleştirildi.

Fibrinojen; ishaller ve sağlıklı buzağılardan elde edilen plazmadaki fibrinojen konsantrasyonunun belirlenmesi amacı ile kullanıldı. FIB ölçümü için fibrinojen assay kiti, trombin reaktifi, fibrinojen referans kiti ve imidazol buffered salin kullanıldı. Trombin reaktifinde sığır trombin bufferi 4ml'lik şişe içerisinde kullanıma hazır halde bulunmaktaydı. Sodyum sitratlı insan plazması içeren fibrinojen referans solüsyonu 0.1 ml distile su ile sulandırıldı. İmidazol buffered salin pH $7,35 \pm 0,2$ ve % 0,1 sodyum azit koruyucu olarak bulunmaktaydı. Fibrinojen referans plazma İmidazol buffer salin içinde en az beş farklı yoğunlukta hazırlandı. Plazmanın faktörler ile etkileşimini minimize edebilmek için en az 1/3 oranında dilüe edilmesi gerekti. Plazma 1/10 oranında İmidazol buffer saline solüsyonu ile sulandırıldı. Dilüsyon (0,2 ml) 37 °C' de 3 dakika ön ısıtmaya tabi tutuldu. Takiben 0.1 ml' lik trombin reaktifi daha önceden ısıtılan dilüsyona ilave edildi. Trombin reaktifine ön ısıtma uygulanmadı. Trombin reaktifi eklenerek aynı anda kronometre başlatıldı ve FIB konsantrasyonu mg/dL cinsinden belirlendi.



Resim 3.6 Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları ABD’da mevcut santrifüj cihazı (a) yarı otomatik koagülometre (b), araştırmacı tarafından fibrinojen ölçümlerinin gerçekleştirilmesi (c)

3.3.3. Hematolojik analizler

Sağlıklı ve ishelli buzağılardan alınan kan örnekleri hematolojik ve kan gazı analizleri fakültemiz bünyesinde kullanılan kan sayım cihazı (Abacus Junior Vet, Macaristan) ve kan gazı cihazı (Irma, Truepoint, Amerika) aracılığı ile gerçekleştirildi. Bu kapsam da kan örnekleri kapsamında alınan heparinli kan örnekleri kullanıldı. Hemogram ölçümleri sonrasında hasta ve sağlıklı buzağılara ait HCT, HGB, WBC, LYM, NEU, MON, PLT, MCV, MCHC, MCH gibi kan parametreleri, kan gazı analizleri sonrasında ise pH, pCO₂, pO₂, HCO₃, BE, Na, K⁺, Ca⁺⁺ gibi parametrelerin ölçümleri gerçekleştirildi.

3.4. İstatistiksel analizler

Tez çalışması kapsamında belirlenen tanımlayıcı istatistikleri ve normalite testleri gerçekleştirildi. Tanımlayıcı veriler ortalama ve standart hata şeklinde tablolandırıldı. Normal dağılım göstermeyen verilere logaritmik transformasyon işlemi uygulandıktan sonra normalite testleri tekrarlandı. Bu kapsamda normal dağılım göstermeyen sayısal veriler tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile enfeksiyon alt gruplarındaki değişimler ise post-hoc Turkey testi yardımı ile değerlendirildi. Normal dağılım göstermeyen veriler ise kruskall-wallis testi ile karşılaştırıldı.

Tüm analizler SPSS21.0 (IBM, Amerika) programı yardımı ile gerçekleştirilerek $p < 0.05$ değeri istatistiksel anlamlı kabul edildi.

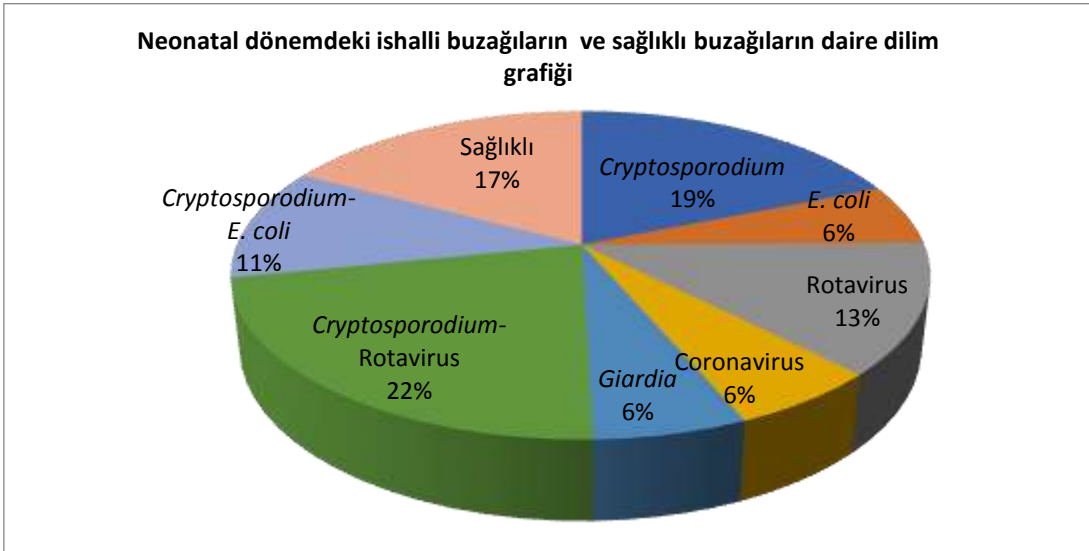


4. BULGULAR

4.1. Klinik Bulgular

Araştırmanın kontrol grubunu anamnez, klinik ve laboratuvar bulguları temelinde sağlıklı oldukları belirlenen neonatal dönem yaş (1-28 günlük) aralığında hayvanlar (n=20) oluşturdu.

İshalli buzağular ise Anabilim Dalı büyük hayvan kliniklerimize getirilen daha öncesinde sağaltım geçmişi bulunmayan yine aynı yaş grubunda ve klinik olarak ishal bulguları gözlemlenen buzağulardan seçilerek oluşturuldu. İshalli buzağı gruplarında bulunan buzağuların etiyolojik değerlendirmelerine göre mono-enfekte ve ko-enfekte olmak üzere iki ana grubu ayrıldı. Mono-enfekte ve ko-enfekte hayvanların belirlenmesinde Bovid-5 hızlı tanı test kitlerinden (Bionat, Çin) yararlanıldı. Mono enfekte hayvanların (n=60) % 6'sının *E. coli*, % 19'unun *Cryptosporidium*, % 13'ünün Rota virus, % 6'sının Coronavirus, % 6'sının *Giardia* ile enfekte olduğunu, bununla birlikte ko-enfekte hayvanların (n=40) ise % 22'sinin Rotavirus ve *cryptosporidium* ile % 11'inin ise *E.coli* ve *Cryptosporidium* ile enfekte olduğu belirlendi (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Neonatal dönemdeki ishalleri buzağuların etkenlere göre ve sağlıklı buzağuların dağılım grafiği

Çalışma kapsamında değerlendirilen ishalleri buzağuların dışkılarının sulu ve sıvı-pastöz tarzda değişimler gösterdiği belirlendi. Dışkının renk ve kokusunun etiyolojik ajanların farklılıklarına göre değişimler gösterdiği açık sarı ve sarı dan gri beyaz ve gri kahverengi renklerde olduğu belirlendi. İshalleri buzağuların klinik muayeneleri kapsamında dehidrasyon dereceleri belirlenmiş olup gruplarda bulunan dehidrasyon derecelerinin dağılımının etiyolojik faktörlere bağlı olarak %7,57 ile %8,71 seviyelerinde değişim gösterdiği ve ishalleri buzağuların orta derecede dehidrasyona maruz kaldıkları belirlendi (Tablo 4.1.). Beden ısılarının 36,91 °C ile 38,46 °C arasında değiştiği en düşük beden ısı ortalamasının *E.coli* ile mono-enfekte buzağuların oluşturduğu belirlendi. Kalp frekansının 106,29 ±3,96 vuruş/dk ile Coronavirus ile enfekte olan buzağularda en düşük seviyede, solunum sayısının ise 37,57 sayı/dk ile *E. coli* ile enfekte buzağularda bulunduğu tespit edildi (Tablo 4.1.).

Tablo 4.1. Enfeksiyon gruplarında etkenlere göre klinik bulguların değerlendirilmesi

GRUPLAR	PARAMETRELER			
	Dehidrasyon (%) $\bar{X} \pm SH$	Beden Isısı (°C) $\bar{X} \pm SH$	Kalp Frekansı (atım/dk) $\bar{X} \pm SH$	Solunum Sayısı (sayı/dk) $\bar{X} \pm SH$
Rotavirus	8,13 ± 0,40	38,07 ± 0,31	109,87 ±4,04	40,80 ± 2,93
Coronavirus	7,57 ± 0,48	38,46 ± 0,38	106,29 ± 3,96	42,29 ± 5,37
E. coli	8,71 ± 0,78	36,91 ± 0,95	115,86 ±19,79	37,57 ± 8,21
Cryptosporidium	8,23 ± 0,25	37,87 ± 0,31	108,68 ±5,30	39,14 ± 2,56
Giardia	7,71 ± 0,42	37,03 ± 0,94	127,43 ± 13,99	34,86 ± 7,69
Rotavirus- Cryptosporidium	8,31 ± 0,29	37,26 ± 0,33	108,9 ± 4,42	39,66 ± 2,17
E.coli- Cryptosporidium	7,92 ± 0,38	38,40 ± 0,38	115,38 ± 9,18	45,23 ± 4,35

4.2. Laboratuvar Bulgular

Tez kapsamında değerlendirilen sağlıklı ve ishalleri buzağuların (mono ve ko-enfekte) ait hematolojik (Tablo 4.2.), kan gazı (Tablo 4.3.) ile Fibrinojen ve Vitamin D₃ değerleri (Tablo 4.5.) de sunuldu.

Monoenfekte, koenfekte ve sağlıklı gruplar içerisinde değerlendirilen buzağuların WBC sayılarının koenfekte grupta bulunan buzağuların sağlıklı grupta bulunan buzağulara göre anlamlı derecede (p<0,05) yüksek olduğu, yine koenfekte ve monoenfekte gruplardaki nötrofil

sayılarının sağlıklı grupta bulunan buzağılara göre yüksek olduğu ve farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi. Bununla birlikte koenfekte ve monoenfekte gruplardaki buzağuların RBC sayılarının sağlıklı gruba göre istatistiksel anlamlı yüksek olduğu belirlendi. Sağlıklı buzağuların HCT değerlerinin ($20,01 \pm 2,20$) monoenfekte hayvanların ortalamasına göre anlamlı değişimlerin bulunmadığı ancak koenfekte hayvanların ortalama HCT değerinin sağlıklı gruba göre anlamlı derecede ($p < 0,01$) yüksek olduğu belirlendi.

PLT sayılarının enfeksiyon gruplarına göre sağlıklı buzağuların ortalamaları ile farklılığının bulunmadığı buna karşın monoenfekte hayvanların PLT ortalamalarının koenfekte hayvanlara göre anlamlı derecede yüksek olduğu belirlendi (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Enfekte gruplarda (Monoenfekte ve Koenfekte) ve sağlıklı grupta hematolojik değerlendirmeler

PARAMETRELER	GRUPLAR			P değeri
	Monoenfekte $\bar{X} \pm SH$	Koenfekte $\bar{X} \pm SH$	Sağlıklı $\bar{X} \pm SH$	
WBC ($10^9/L$)	$17,28 \pm 1,53$ (2,9 - 39,9)	$21,48 \pm 2,28^b$ (4,3 - 39,8)	$10,01 \pm 0,76^a$ (5,9 - 18,4)	0,014
NUE ($10^9/L$)	$8,47 \pm 0,74^b$ (0,3 - 20,2)	$8,11 \pm 0,70^b$ (0,78 - 17,7)	$5,07 \pm 0,72^a$ (1,9 - 12,4)	0,027
RBC ($10^{12}/L$)	$8,15 \pm 2,31$ (3,3 - 11,46)	$8,99 \pm 3,03$ (4,8 - 10,4)	$6,11 \pm 0,36$ (2,2 - 9,0)	0,104
HCT (%)	$24,45 \pm 1,36$ (2,45 - 63,0)	$26,99 \pm 1,30^b$ (12,7 - 52,2)	$20,01 \pm 2,20^a$ (8,92 - 34,6)	0,004
PLT ($10^9/L$)	$621,3 \pm 22,62$ (248,0 - 930,0)	$507,50 \pm 28,60$ (248,0 - 921,0)	$574,13 \pm 50,02$ (256,0 - 973,0)	0,010
MPV (fl)	$5,89 \pm 0,07$ (4,9 - 6,8)	$5,72 \pm 0,08$ (4,9 - 6,8)	$5,89 \pm 0,14$ (4,7 - 6,9)	0,186

Monoenfekte ve koenfekte ana grupları içerisinde bulunan buzağuların kan pH'sının monoenfekte hayvanlarda ($7,28 \pm 0,02$), koenfekte ($7,32 \pm 0,01$) ve sağlıklı ($7,34 \pm 0,01$) gruplara kıyasla düşük olduğu mono enfeksiyon grubundaki buzağuların metabolik asidozisin şiddetinin daha yüksek olduğu ancak söz konusu değişimlerin istatistiksel anlamının olmadığı belirlendi. Tüm ana gruplarda Na^+ ve K^+ konsantrasyonunun istatistiksel anlamlı değişimlerin bulunmadığı, iCa konsantrasyonunun ise sağlıklı grupta bulunan buzağulara kıyasla enfeksiyon ana gruplarında anlamlı derecede düşük seyir ettiği belirlendi.

Tablo 4.3. Enfekte gruplarda (Monoenfekte ve Koenfekte) ve sağlıklı grupta kan gazı değerlendirmeleri

PARAMETRELER	GRUPLAR			P değeri
	Mono-enfekte $\bar{X} \pm SH$	Ko-enfekte $\bar{X} \pm SH$	Sağlıklı $\bar{X} \pm SH$	
pH	7,28 ± 0,02 (6,9 - 7,5)	7,32 ± 0,01 (7,1 - 7,5)	7,34 ± 0,01 (7,1 - 7,4)	0,211
Na⁺ (mmol/L)	132,18 ± 0,99 (115,2 - 146,8)	131,30 ± 1,40 (111,6 - 145,4)	134,22 ± 0,72 (127,4 - 139,4)	0,378
K⁺ (mmol/L)	5,1 ± 0,19 (10,2 - 3,01)	5,19 ± 0,33 (3,1 - 17,0)	4,79 ± 0,10 (4,1 - 5,9)	0,590
iCa (mmol/L)	1,17 ± 0,03 ^b (0,6 - 2,4)	1,17 ± 0,03 ^b (0,8 - 1,9)	1,27 ± 0,03 ^a (0,8 - 1,5)	0,006

Monoenfeksiyon ve koenfeksiyon alt gruplarının değerlendirilmesinde ise pH seviyelerinin Giardia ile enfekte buzağılarda en düşük seviyede seyrettiği, Na⁺ ve K⁺ konsantrasyonunda anlamlı değişimler bulunmaz iken iCa⁺ konsantrasyonunun Rotavirus ile monoenfekte hayvanlarda (1,10±0,04) sağlıklı buzağılara göre düşük seyir ettiği ve bu farklılığın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlendi.

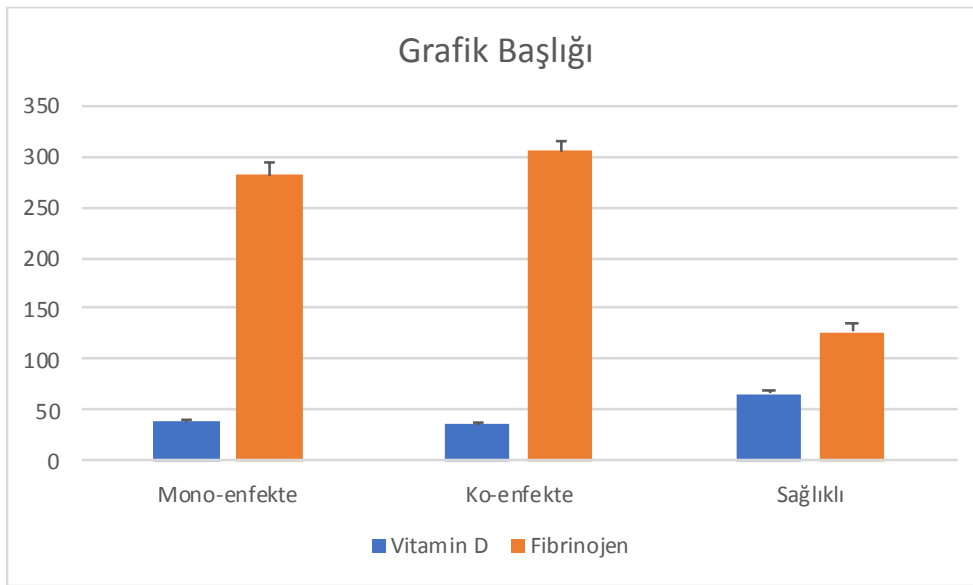
Tablo 4.4. Enfeksiyon gruplarında etkenlere göre ve sağlıklı grupta kan gazı değerlendirmeleri

GRUPLAR	PARAMETRELER			
	pH $\bar{X} \pm SH$	Na ⁺ (mmol/L) $\bar{X} \pm SH$	K ⁺ (mmol/L) $\bar{X} \pm SH$	iCa (mmol/L) $\bar{X} \pm SH$
<i>Rotavirus</i>	7,28 ±0,03 (7,1 - 7,5)	130,31 ±2,11 (115,2 - 146,6)	4,96 ±0,32 (3,2 - 8,2)	1,10 ±0,04 ^b (0,8 - 1,4)
<i>Coronavirus</i>	7,33 ±0,04 (7,13 - 7,47)	133,14 ±3,68 (119,9 - 146,8)	4,96 ±0,30 (4,0 - 6,1)	1,11 ±0,09 (0,7 - 1,4)
<i>E. coli</i>	7,24 ±0,05 (7,1 - 7,4)	132,67 ±2,76 (122,3 - 145,4)	6,37 ±0,84 (4,0 - 10,2)	1,31 ±0,19 (0,8 - 2,4)
<i>Cryptosporidium</i>	7,27 ±0,04 (6,9 - 7,44)	132,82 ±1,39 (121,4 - 142,4)	4,67 ±0,39 (3,0 - 9,0)	1,20 ±0,05 (1,64 - 0,55)
<i>Giardia</i>	7,27 ±0,05 (6,98 - 7,40)	132,63 ±3,09 (123,3 - 145,4)	5,46 ±0,50 (4,40 - 8,13)	1,09 ±0,08 (0,7 - 1,3)
<i>Rotavirus- Cryptosporidium</i>	7,31 ±0,02 (7,1 - 7,4)	130,54 ±1,85 (111,6 - 145,4)	5,5 ±0,49 (3,1 - 17,0)	1,17 ±0,49 (0,8 - 1,9)
<i>E.coli- Cryptosporidium</i>	7,34 ±0,02 (7,2 - 7,5)	132,8 ±1,9 (121,4 - 145,2)	4,56 ±0,13 (3,23 - 5,08)	1,14 ±0,04 (1,0 - 1,4)
Sağlıklı	7,34 ±0,01 (7,12 - 7,4)	134,22 ±0,72 (127,4 - 139,4)	4,79 ±0,10 (4,1 - 5,9)	1,27 ±0,03 ^a (0,8 - 1,5)
P değeri	0,439	0,814	0,073	0,038

Monoenfekte ve koenfekte ishallerli buzağuların Vitamin D₃ seviyelerinin Sağlıklı buzağulara göre dramatik bir şekilde istatistiksel anlamlı düşük olduğu belirlendi (Tablo 4.5.). Fibrinojen konsantrasyonlarının ise sağlıklı buzağulara göre monoenfekte ve koenfekte buzağularda anlamlı yüksek olduğu bununla birlikte koenfeksiyonu bulunan buzağuların Fibrinojen konsantrasyonlarının monoenfekte buzağulara kıyas ile anlamlı olmayan derecede yüksek olduğu belirlendi. Sağlıklı ve ana enfeksiyon gruplarında bulunan buzağuların Vitamin D₃ ve Fibrinojen konsantrasyonlarının arasında istatistiksel anlamlı (r=-403, p<0,01) negatif bir korelasyonun bulunduğu belirlendi.

Tablo 4.5. Enfeksiyon (Monoenfekte ve Koenfekte) ve sağlıklı gruplarda Vitamin D ve Fibrinojen düzeyleri

PARAMETRELER	GRUPLAR			P değeri
	Mono-enfekte $\bar{X} \pm SH$	Ko-enfekte $\bar{X} \pm SH$	Sağlıklı $\bar{X} \pm SH$	
Vitamin D (ng/ml)	39,0 ±2,33 ^b	36,85 ± 2,10 ^b	65,86 ± 2,81 ^a	0,001
Fibrinojen (mg/dL)	281,17 ±11,98 ^b	304,45 ± 11,14 ^b	126,37 ± 8,32 ^a	0,001



Şekil 4.2. Enfeksiyon gruplarında (Monoenfekte ve Koenfekte) ve sağlıklı grupta Vitamin D ve Fibrinojen düzeyleri

Monoenfekte ve koenfekte buzağuların alt gruplarının vitamin D₃ ve fibrinojen seviyelerindeki değişimler tablo 4.6.' da sunuldu. Sağlıklı buzağulara kıyasla tüm enfeksiyon alt gruplarındaki buzağuların Vitamin D₃ seviyelerinin istatistiksel anlamda düşük olduğu belirlenirken, Rota virus ile mono enfekte hayvanlarda Vitamin D₃ seviyelerinin (34,48 ±4,77) en düşük, *E. coli* ile mono enfekte hayvanlarda ise (51,70 ±6,14) en yüksek seviyede olduğu belirlendi. Buna karşın fibrinojen konsantrasyonlarının *E. coli* ile enfekte hayvanlarda (246,09 ±47,96) en düşük düzeyde olduğu coronavirus ile enfekte hayvanlarda ise (339,85 ±18,10) yüksek seviyede olduğu belirlendi (Tablo 4.6.).

Tablo 4.6. Enfeksiyon alt gruplarına göre ve sağlıklı grupta Vitamin D ve Fibrinojen konsantrasyonları

GRUPLAR	PARAMETRELER	
	D vitamini (ng/ml) $\bar{X} \pm SH$	Fibrinojen (mg/dL) $\bar{X} \pm SH$
Rotavirus	34,48 \pm 4,77 ^b	306,76 \pm 16,08 ^b
Coronavirus	36,40 \pm 8,53 ^b	339,85 \pm 18,10 ^b
<i>E. coli</i>	51,70 \pm 6,14 ^a	246,09 \pm 47,96 ^a
<i>Cryptosporidium</i>	37,36 \pm 2,75 ^b	252,29 \pm 19,79 ^b
Giardia	43,08 \pm 9,00 ^a	293,50 \pm 39,98 ^b
Rotavirus- <i>Cryptosporidium</i>	35,70 \pm 2,30 ^b	289,07 \pm 14,83 ^b
<i>E.coli-Cryptosporidium</i>	39,12 \pm 4,39 ^b	335,20 \pm 11,97 ^b
Sağlıklı	65,86 \pm 2,81 ^a	126,37 \pm 8,32 ^a
P değeri	0,001	0,001

5. TARTIŞMA

Buzağı ishalleri halen daha dünya genelinde buzağuların neonatal dönem sorunlarının başında gelmekte olup oluşturduğu ekonomik kayıplar ile önemini korumaya devam etmektedir (Sen ve ark, 2013). Buzağı ishalleri ile ilişkili olarak sağaltım ve profilaksi anlamında sürekli araştırmalar gerçekleştirilmekte olmasına rağmen ishalin doğurduğu sonuçların etkin ve rasyonel şekilde düzeltilmemesine bağlı olarak sorun halen daha güncelliğini korumakta ve ishalin patofizyolojisi ile araştırmalar yapılmaya devam etmektedir (Sen ve Constable, 2013; Cho ve Yuun, 2014; Smith ve Berchtold, 2014). İshalin patofizyolojik değişimleri açısından bakıldığında beşeri hekimlikte de güncel konular arasında yer alan vitamin D seviyeleri ile ilişkili ishalleri buzağılarda net verilerin bulunmadığı dikkati çekmektedir. İnsanlarda kronik bağırsak hastalıklarının değerlendirildiği araştırmalarda Vitamin D konsantrasyonlarının önemini belirten araştırmalar bulunmakta iken ishalleri buzağılarda vitamin D seviyelerinin belirlendiği çalışmalara rastlanılmamıştır. Bu tez çalışması kapsamında farklı etiyolojik ajanlara mağruz kalarak ishal semptomu gösteren buzağılarda ishalden etkilenme derecesi, yangısal cevabın durumu ve Vitamin D seviyelerindeki değişimlerin değerlendirilmesi amaçlandı. Bir çok stres ve akut enflamasyon durumlarında değişimleri belirlenen vitamin D konsantrasyonlarının buzağuların neonatal dönem sorunlarının başında gelen ishal olgularında da değerlendirilmesinin hastalığın patofizyolojisine farklı bir bakış getireceği düşünüldü. Tez kapsamında değerlendirilen ishalleri buzağuların %6'sı *E. coli*, %19'u *Cryptosporidium*, %13'ü *Rotavirus*, %6'sı *Coronavirus*, %6'sı *Giardia*, %11'i *Cryptosporidium + E. coli* ve %22'si *Cryptosporidium + Rotavirus* ile enfekte olduğu belirlendi. Lokal ve sistemik enfeksiyon durumları ile karakterize olabilen ishal durumlarında hematolojik parametrelerden total lökosit (WBC) sayılarına ve lökosit diferansiyasyonlarında değişimlere neden olabilmektedir. Özellikle etiyolojik faktörlerinde etkisi altında kalarak gelişen enteritis tablosunun bu değişimleri hematolojik verilere yansıttığı görülmektedir (Taylor, 2000; Darabus ve ark, 2009). Etiyolojik faktörlere bağlı olarak ishal ile karakterize enteritis durumlarında yangısal durumların lökositosis ve nötrofilik (NEU) sola kayma şeklinde geliştiği söz konusu duruma dehidrasyonun varlığı ve şiddeti de eklendiğinde meydana gelen değişimlerin dramatik hal aldığıda görülmektedir (Stockham, 2000; Kramer 2003). Tez kapsamında değerlendirilen monoenfekte ve koenfekte buzağuların WBC ve NEU sayıları monoenfekte ve koenfekte gruplarda sağlıklı buzağulara göre anlamlı derecede yüksek olduğu belirlendi (Tablo 4.2.).

Enfeksiyon alt gruplarında ise söz konusu değişimlerin Rotavirus ile monoenfekte ve rotavirus+cryptosporidium ile koenfekte buzağılarda sağlıklı gruba göre anlamlı derecede yüksek olduğu belirlendi. Söz konusu değişimlerin enfeksiyon alt gruplarında sağlıklı kontrol grubunda bulunan buzağılara göre istatistiksel anlamlı farklılığın bulunmadığı gruplarda enfeksiyonun süresi ve yangısal cevabın derecesi ile ilişkili olabileceği düşünöldü. Buzağıların yaşamlarının neonatal dönemlerinde ishale bağlı olarak gelişen dehidrasyonun HCT değerinde artışlar şekillendirdiği ve söz konusu artışların ishalin neden olduğu dehidrasyon ve dehidrasyonun şiddetine bağlı değişim gösterebileceği bildirilmektedir (Slanina, 1988; Şahal ve ark, 1993; Hartmann ve Reder, 1995; Constable ve ark, 1998). Araştırmacılar ishal süresince şekillenen intestinal sıvı kaybına bağlı olarak HCT değerlerinde önemli artışların olabileceğini bildirmekte (Fischer ve Butte, 1974; Slanina, 1988; Sahal ve ark 1994; El-sheikh ve ark, 2012) ve ishalden hafif derecede etkilenen buzağılarda HCT seviyelerinin %42-48 arasında, orta ve şiddetli derecede etkilenen buzağılarda ise sırası ile %48-52 ve %52'nin üzerinde olabileceği belirlenmiştir (Slanina, 1988). Buna karşın viral ve bakteriyel kökenli ishallerde HCT değerde belirtilen artışların gelişebileceği ancak paraziter kökenli enteritlerde gelişen anemiye bağlı olarak HCT seviyelerinin normal sınırlar içerisinde de bulunabileceği bildirilmektedir (Hafez, 1974). Söz konusu bildirimlerin yanında dehidrasyon varlığına rağmen HCT değerinin fizyolojik sınırlarda ya da fizyolojik sınırlardan düşük bulunması ishalin etiyolojisine bağlı olarak hemorajik bir enteritis tablosunun şekillenmesine ve/veya ishal gelişmeden önce gelişen bir anemi tablosuna bağlı olarak da gelişebildiği bildirilmektedir (Jain, 1986; Şahal ve ark 1993; Turgut, 2000). Bu çalışmada değerlendirilen enfeksiyon gruplarında bulunan buzağıların HCT değerlerinin sağlıklı hayvanlarda bulunan HCT değerine göre anlamlı derecede artışlar gösterdiği belirlendi (Tablo 4.2). Enfeksiyon grupları içerisinde bulunan buzağıların klinik değerlendirmelerinde de dehidrasyon derecelerinin %8 seviyelerinde olduğu ve ishale bağlı gelişen dehidrasyondan orta derecede etkilendikleri söylenebilir. Hematokrit değerindeki bu değişimlerin ishalin etiyolojisine ve dehidrasyon derecesine bağlı olarak yapılan araştırmalar ile uyumlu olduğu belirlendi.

İshalli buzağılarda dehidrasyon ve metabolik asidozis ishalin doğurduğu başlıca sonuçlar olarak karşımıza çıkmakta ve HCO₃ kaybı, perfüzyon eksikliğine bağlı olarak dokularda laktik asit birikimi, H iyonlarının böbreklerden atılmasının azalması ve intestinal alanda meydana gelen fermentasyon sonucu oluşın organik asitlere bağlı olarak şekillenmektedir (Bouda ve ark, 1997; Lorenz, 2009; Şen ve ark, 2013; Smith, 2014). Metabolik asidozisin belirlenmesinde laboratuvar parametrelerden pH değeri, HCO₃ ve baz açığı (BD) değerlerindeki değişimler ile

ortaya konmakta ve metabolik asidozisin tamponlanma yeteneğine bağlı olarak pCO₂ değeri değişmektedir (Naylor, 1987; Güzelbektaş ve ark, 2007; Şen ve Constable, 2013). Kan pH değerinin <7,28 ve HCO₃ seviyelerinin de <20 mmol/L olduğu durumlar metabolik asidozisin göstergesi olarak kabul edilmektedir (Kasari, 1999). Constable (2013) venöz kanda pH>7,20 ve BD>-10 mmol/L seviyelerinde bulunduğu durumlarda gelişen metabolik asidozisi hafif ve orta seviyede pH<7,20 ve BD>-15 mmol/L olduğu durumlarda ise şiddetli olarak değerlendirilebileceğini bildirmektedir. Tez kapsamında değerlendirilen buzağuların araştırmacıların bildirimlerine benzer şekilde pH değişimleri yaşadığı ve bu değişimlerin söz konusu buzağularda hafif ve orta şiddetli bir metabolik asidozis şeklinde olduğu belirlendi. İshalli buzağularda ishalin doğurduğu bir diğer sonuçta elektrolit anormallikleri olarak görülmektedir (Hartmann ve Reder 1985; El-sheikh ve ark 2012; Smith, 2014). İshal ile birlikte dışkı içerisinde NA, Cl ve K iyonlarının kaybı şekillenmekte ve bu kayıplara bağlı olarak söz konusu iyonların toplam vucüt sıvılarındaki düzeyleri azalmaktadır (Constable, 2013). Labaratuvar analizleri esnasında plazma, vucüt sıvılarının belirli bir bölümünü simgelediği için söz konusu iyonların durumlarının değerlendirilmesinde dikkatli yorumlamaların yapılması gerekmektedir (Cogan, 1994). Klinik olarak şiddetli ishali bulunan buzağularda serum Na seviyelerinin önemli düzeylerde arttığı, hafif ve orta şiddette dehidrasyonu bulunan buzağularda ise bu artışların referans aralıklar içerisinde sınırlandığı araştırmacılar tarafından bildirilmektedir (Şahal ve ark 1994; Hartmann, 1995; Turgut, 2000; Smith, 2009; Coşkun ve ark, 2010; Şen ve Constable 2013). Buzağularda ishal ile birlikte Na iyonunun kaybının yanında K iyonundada kayıplar meydana gelmektedir (El-sheikh ve ark 2012). Ancak ishal ile birlikte gelişen metabolik asidozisin tamponlanması açısından H⁺ iyonlarının hücre içersine taşınıp K iyonlarının hücre dışarisına gönderilmesi ve K iyonlarının renal tubüler atılımlarının azalmasına bağlı olarak serumdaki K konsantrasyonları artış eğilimindedir (Kaske 2002; Rossow ve ark, 1979; Trefz 2011, El-sheikh ve ark, 2012; Şen ve Constable, 2013). Organizmada K noksanlığı olarak karşımıza çıkan bu durumun metabolik asidozisin derecesine ve süresine bağlı olarak farklı derecelerde artışlar ile karakterize olabileceği, orta şiddette dehidre buzağularda serum K konsantrasyonlarının 5,36 ± 0,35 mmol/L (Güzelbektaş ve ark, 2007), 4,86 ± 0,22 ve 5,18 ± 0,35 mmol/L (Coşkun ve ark, 2010) ve 5,66 ± 1,43 mmol/L (Öcal ve ark, 2006) seviyelerinde olabileceği bildirilmektedir. İshalli buzağularda kan Ca konsantrasyonunun azaldığı ve bu azalmaların ishal bulguları ortadan kalktıktan ve buzağının tekrar süt emmesine başlamasından sonra normal seviyelerine geldiği bildirilmekte (Michell ve ark, 1992) ve ishalli buzağuların hipokalsemik durumda oldukları bildirilmektedir (Grove-White ve Michell, 2001). Tez çalışması kapsamında değerlendirilen ishalli buzağuların Na ve

K seviyelerinin sağlıklı buzağuların ortalamalarına göre istatistiksel anlamlı değişimler göstermediği buna karşın iCa konsantrasyonlarındaki değişimlerin mono ve koenfekte gruplarda bulunan buzağulara göre $p < 0,05$ düzeyinde düşük olduğu belirlendi. Potasyum seviyesinde meydana gelen değişimlerde istatistiksel anlamlı farklılıkların bulunmaması söz konusu buzağuların dehidrasyondan orta derecede etkilenmelerine rağmen metabolik asidozisten aynı düzeyde etkilenmemeleri ile açıklanabilir. Sodyum konsantrasyonlarındaki değişimlerin literatürler ile uyumlu olduğu tez kapsamında değerlendirilen buzağuların ishale yakalanma süreleri göz önüne alındığında Na kayıplarının anlamlı sağlıklı buzağulara göre anlamlı değişimler göstermediği görülmektedir. İshalli buzağularda süt emme isteksizliği ve literatürlerde bildirildiği gibi (Grove-White ve Michell, 2001) tez çalışmasında değerlendirilen buzağularında ılımlı düzeyde hipokalsemik oldukları belirlendi.

Yapılan araştırmalarda yenidoğan bebeklerin Vitamin D düzeylerini etkileyen faktörlerin yeni doğan buzağular ile karşılaştırıldığında benzerlikler gösterdiği ve bu kapsamda yapılacak olan araştırmalarda buzağuların model hayvan olarak kullanılabilceği bildirilmektedir (Corwin ve ark, 2012). Vitamin D₃ seviyelerinin hastalıklar üzerindeki etkisinin belirlenmesinde buzağuların önemli bir potansiyele sahip olduğu görülmektedir. Respiratuvar sinsityal virus enfeksiyonu ile deneysel olarak enfekte edilen buzağularda bebelere benzer şekilde nötrofil infiltrasyonu ve mikroskopik bazda benzer klinikopatolojik bulgulara sahip olduğu görülmektedir (Bem ve ark, 2011). Benzer şekilde söz konusu enfeksiyonun oluşturduğu Vitamin D seviyelerindeki cevap incelenmiş olup vitamin D uygulamasının yoğun bir şekilde yapıldığı beslemelerde akciğer dokusundaki IL-12p40 artışların ve IFN- γ değerlerinde ise değişimlerin bulunmadığı gösterilmektedir. Aynı araştırmanın sonuçları arasında virus ile enfekte olan buzağularda akciğer dokusunda bulunan inflamatuvar sitokinlerin gen ekspresyonunun vitamin D tarafından düzenlendiği görülmektedir. Yaklaşık olarak 30 yıldır Vitamin D' nin klasik olamayan etkileri üzerinde araştırmalar yoğunlaşmakta ve vitamin D ile ilişkili olarak özellikle adaptif ve doğuştan immunité üzerine olan etkileri de araştırmalar ile ortaya konulmaktadır (Hevison, 2012). Son yıllar içerisinde Vitamin D ile ilişkili olarak yukarıda bahsedilen özelliklerinin yanında bir çok hastalık ve patofizyolojik durum içerisinde vitamin D' nin etkileri değerlendirilmiş ve araştırmacılar tarafından ortaya konmuştur (Hypponen ve ark, 2001; Zittermann ve ark, 2003; Merlino ve ark, 2004; Munger ve ark, 2006; Lappe ve ark, 2007; Reis ve ark, 2009). Özellikle beşeri hekimlik alanında yapılan araştırmalarda düşük vitamin D seviyelerinin hipertansiyon, hiperglisemi ve metabolik sendromu bulunan hastalarda yaygın görülen biyokimyasal değişiklikler içerisinde

değerlendirilmektedir (Reis ve ark, 2009). Bunun yanında vitamin D seviyelerindeki azalmaların tip 1 diabetes mellitus, romotoid aritit, multiple sklerozis, kanser gibi bir çok hastalığın patofizyolojisinde rol alabileceğine yönelik araştırmalar son yıllarda giderek önem kazanmakta hatta cardiyovasküler hastalıklar üzerine vitamin D nin koruyucu etkinlikleri bulunduğu belirtilmektedir (Hypponen ve ark, 2001; Merlino ve ark, 2004; Munger ve ark, 2006; Lappe ve ark, 2007).

Bununla birlikte ortopedik sorunları bulunan hastalarda da serum vitamin D₃ seviyelerinin artroplasti operasyonları sonrasında pre ve postoperatif karşılaştırmalarında serum Vitamin D₃ seviyelerinde post operatif dönemde anlamlı azalmalara karşı pozitif akut faz proteini olan C-reaktif protein seviyelerinin ise anlamlı düzeyde artışlar şekillendirdiği görülmektedir (Waldron ve ark, 2013; Reid ve ark, 2011). Vitamin D seviyelerinin farklı hastalıklar ve operatif durumlarla ilişkili yapılan değerlendirmelerinin yanında bağırsak hastalıkları aısından da önem arz ettiği özellikle ishal oluşumunu sınırlayabileceği ve ishale karşı direnci artırabileceği yönü ile görüş birliği bulunmaktadır. Çocuklarda ishale neden olan Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes, S. typhimurium, Salmonella ve Shigella üzerinde bakterisit etkileri olan anti-mikrobik peptitlerin vitamin D seviyeleri ile ilişkili olarak düzenlediğini desteklemektedir (Ouellette ve ark, 1994; Hase ve ark, 2003; Limura ve ark, 2005; Welkamp ve ark, 2007; Gudmundsson ve ark, 2010;). Söz konusu etkilerinin yanı sıra bağırsak yüzeyindeki enfeksiyonlara karşı koruma sağlayan ve sızıntılı bağırsak sendromunuda gelişmesini engelleyen gap junksınları güçlendirdiği bilinmektedir (Kong ve ark, 2008; Fujita ve ark, 2008). İnflamatuvar bağırsak hastalığı' nda (IBH) kan serumlarındaki vitamin D seviyelerinin normal ya da düşük seyir edebileceği ya da vitamin D seviyelerindeki azalmaların hastalığın bir sonucu olarak da şekillenebileceği yönü ile sonuçlara da ulaşılmaktadır (Aaron ve Andrew, 2015). Tez kapsamında değerlendirilen mono-enfekte ve ko-enfekte ishallerde buzağılarda serum Vitamin D₃ seviyelerinin sağlıklı gruba karşı anlamlı derecede (p<0,01) düşük olduğu belirlendi. Mono enfekte grupta bulunan buzağılarda serum vitamin D₃ seviyelerinin 39,0 ±2,33 ng/ml seviyesinde olduğu, enfeksiyonun daha şiddetli olduğu ko-enfekte grupta ise serum vitamin D₃ seviyelerinin 36,85 ± 2,10 ng/ml seviyelerinde olduğu enfeksiyonun şiddeti arttıka vitamin D seviyelerinin azalmalarının belirginleştiği görülmektedir. Sağlıklı sığırarda vitamin D₃ seviyelerinin plazmadaki konsantrasyonlarının 20- 50 ng / ml arasında olması gerektiği bildirilmektedir (Horst ve ark, 1994). Bu çalışmada belirlenen sağlıklı sığırarda ait vitamin D seviyelerinin 65,86 ± 2,81 ng/ml seviyelerinde olduğu ve literatürlerde bildirilen değerlere ile karşılaştırıldığında yüksek olduğu belirlendi. Yine mono

ve koenfekte gruplarda bulunan buzağuların vitamin D seviyelerinin araştırmanın kontrol grubu değerlerine göre düşük olmasına rağmen literatür veriler ile karşılaştırıldığında referans aralıklar içerisinde bulunduğu belirlendi. Bu durumun ishal gelişen buzağuların beslenmesinde kullanılan konsantre yemler içerisinde bulunan vitamin D seviyeleri ile ilişkili olduğu düşünülmekte ve sağlıklı referans aralıkların belirlenmesi için daha fazla araştırmaya ihtiyaç olduğunun göstergesi olarak açıklanabilir.

Sağlıklı hayvan terimi klinik muayene ve laboratuvar testleri anlamında yarılan değerlendirmeler kapsamında ortaya konan bir terim olmakla birlikte laboratuvar testlerinin önem, özellikle klinik hekimleri açısından önem arz etmektedir. Klinik muayenelerde olduğu kadar laboratuvar değerlendirmelerinin de süreklilik arz etmesi ve tekrarlanabilir analizlerin güvenilirliği hastalıkların tanısının netleştirilmesinde dikkat edilmesi gereken hususlardandır (Petersen ve ark, 2004). Hastalıkların erken dönemde teşhisi kapsamında hastalık biyobelirteçlerinin değerlendirilmesi ve değişimlerin doğru yorumlanması gerekmektedir. Bu kapsamda akut faz yanıtta meydana gelen değişimlerin değerlendirilmesi yalnız beşeri hekimlikte olduğu kadar veteriner hekimliğinde de kullanım alanı bulan bir yapı kazanmıştır. Dokularda meydana gelen enfeksiyon, doku zedelenmesi, neoplastik oluşumlar ve immünolojik değişimlere bağlı olarak akut faz yanıt gelişmekte ve başta karaciğer olmak üzere birçok doku tarafından sentezlenen proteinlerin seviyelerinde artışlar ve azalmalar ile karakterize durumlar ortaya çıkmaktadır (Pfeffer ve ark, 1993; Murata ve ark, 2004; Petersen ve ark, 2004; Cerón ve ark, 2005). Söz konusu proteinlerin ruminantlar açısından değerlendirildiğinde Hp, SAA, ceruloplazmin ve fibrinojen seviyelerinin enfeksiyöz durumlarda artışlar gösterdiği birçok araştırmacı tarafından bildirilmektedir (Conner ve ark, 1988, 1989; Skinner ve ark, 1991; Pfeffer ve ark, 1993; Wittum ve ark, 1996; Gånheim ve ark, 2003). Bunlardan fibrinojen seviyelerinin hayvanlarda enfeksiyöz durumların bir çoğunda artış eğiliminde bulunduğu (McSherry ve Horney, 1970) özellikle ruminantlarda uzun yıllardan beri enflamasyon düzeylerinin belirlenmesinde kullanıldığı bildirilmektedir (Eckersall ve Conner, 1988). Hajimohammadi ve ark (2013) ishallerli buzağularda serum fibrinojen seviyelerinin $406,8 \pm 128,0$ mg/ dL seviyesinde olduğunu araştırmaları kapsamında değerlendirdikleri bu buzağulardan orta derecede dehidrasyonu bulunanların $390,2 \pm 176,0$ mg/dL seviyelerinde olduğunu bildirmektedir. Septik şok tablosundan şüphelenilen buzağularda ise fibrinojen seviyelerinin 612 ± 234 mg/ dL seviyelerinde olduğu (İrmak ve ark, 2006) ve buzağularda sağlık durumunun değerlendirilmesinde diğer akut faz proteinleri gibi fibrinojen konsantrasyonlarının da neonatal dönem içerisinde takibinin kullanılabilir bir parametre olduğu bildirilmektedir (Gånheim ve

ark, 2007). Tez çalışması kapsamında değerlendirilen buzağuların fibrinojen konsantrasyonlarının enfeksiyon gruplarında sağlıklı buzağulara kıyasla $p<0,01$ düzeyinde yüksek olduğu belirlendi (Tablo 4.5.). Söz konusu değişimlerin literatürlerde bildirilen artışlara paralellik gösterdiği ve değişimlerdeki farklılıkların enfeksiyonun şiddeti ve süresine bağlı olarak değişim gösterebileceği düşünüldü.

Beşeri hekimlik alanında yapılan araştırmalarda enflamasyon biyobelirteçleri ve vitamin D seviyeleri arasında önemli ilişkilerin bulunduğu ve söz konusu ilişkinin özellikle kardiyometabolik hastalıklar açısından önem arz ettiği bir çok araştırmacı tarafından ortaya konmuştur (Hypponen ve ark, 2001; Zittermann ve ark, 2003; Merlino ve ark, 2004; Munger ve ark, 2006; Lappe ve ark, 2007; Reis ve ark, 2009). Bununla birlikte enflamasyon biyobelirteçleri ve vitamin D seviyelerindeki değişimlerin ilişkisinin değerlendirildiği konular ile ilişkili araştırmalar beşeri hekimlikte önemli düzeyde araştırılan konular arasındadır (Jorgensen ve ark, 2010; Barnes ve ark, 2011; Haque ve ark, 2012). Veteriner hekimlik alanında da son yıllarda dermatolojik hastalıklarda (Güral ve Ural, 2017; Yener ve Ural, 2018) vitamin D seviyelerinde değişimler değerlendirilmiştir. Tez çalışmamız kapsamında ruminantlar için pozitif akut faz proteini olan fibrinojen konsantrasyonlarındaki artışlar ile vitamin D konsantrasyonundaki azalmalar arasında negatif yönlü bir korelasyonun bulunduğu ($r=-403$) ve bu değişimlerin $p<0,05$ seviyesinde anlamlı olduğu belirlendi. Beşeri hekimlikte yapılan araştırmalar göz önüne alındığında ruminantlar için pozitif bir akut faz biyobelirteci olan fibrinojen seviyelerinin insanlardakine benzer şekilde vitamin D konsantrasyonlarında azalmalar ile karakterize olduğu görülmektedir. Bu durum vitamin D'nin akut yangısal durumlarda azaldığını gösteren diğer araştırmalar (Reid ve ark, 2011) ile paralellik göstermektedir.

Vitamin D seviyeleri ile akut hastalıklar arasındaki ilişkinin değerlendirildiği çalışmalarda vitamin D ölçümlerinin hangi metodoloji ile gerçekleştirildiğine dikkat edilmesi gerektiği bildirilmektedir (Lai ve ark, 2010). Ölçüm metodolojilerindeki farklılıklara bağlı olarak vitamin D seviyelerinde değişimlerin olabileceği özellikle serumda bulunan albümin seviyelerine bağlı olarak değişimlere bağlı olarak vitamin D seviyelerinin de söz konusu durumdan etkilenebileceği bildirilmektedir (Reid ve ark, 2011). Tez çalışmamız kapsamında değerlendirilen buzağuların vitamin D ölçümleri florasan immuno kromotografi yöntemi ile belirlenmiş olup hasta ve sağlıklı buzağularda albümin seviyeleri belirlenememiştir. Bu durumun araştırmanın kısıtlayıcı unsurları arasında bulunduğu ve ileride yapılacak

araştırmalarda albümin seviyelerinin belirlenerek vitamin D seviyelerinin ölçülmesinin araştırmaların sonuçlarının güvenilirliğinin artmasına yardımcı olacağı kanaatindeyiz.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan incelemelerde ishalleri buzağılarda akut hastalık bulgularına paralel olarak mono ve ko enfeksiyon gruplarında vitamin D konsantrasyonlarının anlamlı derecede azaldığı ve vitamin D seviyelerinin ishal bulgusu gösteren buzağılarda negatif akut faz biyobelirteci olarak kullanılabilceği sonucuna ulaşıldı.

Bununla birlikte vitamin D konsantrasyonlarındaki değışimlerin diğeri tüm pozitif akut faz proteinlerinin de kapsadığı bir araştırma ile değerlendirilmesinin uygun olacağı, ishal semptomu gösteren ve etiyolojik olarak enfeksiyöz bir ajan tarafından etkilenen buzağılarda sağaltıma Vitamin D uygulamalarının eklenmesinin klinik uygun olabileceği ve vitamin D ile ishal arasındaki ilişkinin belirlenmesinde sağaltım uygulamaları ile birlikte farklı parametreleri de değerlendiren yeni çalışmaların yapılması gerektiği sonucuna varıldı.

KAYNAKLAR

- Aaron S, Bancil- Andrew P.** The Role of Vitamin D in Inflammatory Bowel Disease. *Healthcare*, 2015, 3, 338-350.
- Abreu MT, Kantorovich V, Vasiliauskas EA, Gruntmanis U, Matuk R, Daigle K, Chen S, Zehnder D, Lin YC, Yang H, Hewison M, Adams JS.** Measurement of vitamin D levels in inflammatory bowel disease patients reveals a subset of Crohn's disease patients with elevated 1,25-dihydroxyvitamin D and low bone mineral density. *Gut*, 2004, 53, 1129–1136.
- Adams JS, Sharma OP, Gacad MA, Singer FR.** Metabolism of 25-hydroxyvitamin D₃ by cultured pulmonary alveolar macrophages in sarcoidosis. *Journal of Clinical Investigation*, 1983, 72, 1856–1860.
- Ali H, Saeed N, Maryam AL, Mohammad Reza K, Saeed Momeni B.** Identifying relationships among acute phase proteins (haptoglobin, serum amyloid A, fibrinogen, ceruloplasmin) and clinical findings in dairy calf diarrhea. *Comparative Clinical Pathology*, 2013, 22, 227–232.
- Alkhouri RH, Hashmi H, Baker RD, Gelfond D, Baker SS.** Vitamin and mineral status in patients with inflammatory bowel disease. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 2013, 56, 89–92.
- Aluisio AR, Maroof Z, Chandramohan D, Bruce J, Mughal MZ, Bhutta Z, Walraven G, Masher MI, Ensink JHJ, Manaseki-Holland S.** Vitamin D₃ supplementation and childhood diarrhea: a randomized controlled trial. *Pediatrics*, 2013: 132, s-832-840.
- Ananthakrishnan AN, Khalili H, Higuchi LM, Bao Y, Korzenik JR, Giovannucci EL, Richter JM, Fuchs CS, Chan AT.** Higher predicted vitamin D status is associated with reduced risk of Crohn's disease. *Gastroenterology*, 2012, 142, 482–489.
- Austin AS, Spiller RC.** Inflammatory bowel disease, azathioprine and skin cancer: case report and literature review. *European Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2001, 13, 193–194.
- Baeke F, Korf H, Overbergh L, Van Etten E, Verstuyf A, Gysemans C, Mathieu C.** Human T lymphocytes are direct targets of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in the immune system. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 2010, 121, s-221–227.
- Baker JC.** The clinical manifestations of bovine viral diarrhea infection. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 1995, 11, 425-445.

Baldwin CL, Sathiyaseelan T, Naiman B, White AM, Brown R, Blumerman S, Rogers A, Black SJ. Activation of bovine peripheral blood gammadelta T cells for cell division and IFN-gamma production. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 2002, 87, 251–259.

Barnes MS, Horigan G, Cashman KD, Hill TR, Forsythe LK, Lucey AJ, McSorley EM, Kiely M, Bonham MP, Magee PJ, Strain JJ, Wallace JM. Maintenance of wintertime vitamin D status with cholecalciferol supplementation is not associated with alterations in serum cytokine concentrations among apparently healthy younger or older adults. *Journal of Nutrition*, 2011, 141(3), 476-481.

Bartels CJM, Holzhauer M, Jorritsma R, Swart WAJM, Lam TJGM. Prevalence, prediction and risk factors of enteropathogens in normal and non-normal faeces of young Dutch dairy calves. *Preventive Veterinary Medicine*, 2010, 93, 162–169

Battersby AJ, Kampmann B, Burl S. Vitamin D in early childhood and the effect on immunity to *Mycobacterium tuberculosis*. *Clinical and Developmental Immunology*, 2012, 10, 430972.

Baumann H, Gauldie J. The acute phase response. *Immunology Today*, 1994, 15.2, 74-80.

Bem RA, Domachowske JB, Rosenberg HF. Animal models of human respiratory syncytial virus disease. *American Journal of Physiology*, 2011, 301, 148–156.

Bener A, Al-Ali M, Hoffmann GF. Vitamin D deficiency in healthy children in a sunny country: associated factors. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 2009, 60(5), 60-70.

Bettelli E, Korn T, Kuchroo VK. Th17: The third member of the effector T cell trilogy. *Current Opinion in Immunology*, 2007, 19, 652–657.

Blanchard PC. Diagnostics of dairy and beef cattle diarrhea. *Veterinary Clinics of North America, Food Animal Practice*, 2012, 28, 443–464

Bogdan C. Nitric oxide and the immune response. *Nature Immunology*. 2001, 2, 907–916.

Bouda J, Doubek J, Medina-Cruz M, Paasch ML, Candanosa AE, Dvořák R, Soška V. Pathophysiology of severe diarrhoea and suggested intravenous fluid therapy in calves of different ages under field conditions. *Acta Veterinaria Brno*, 1997; 66(2), 87-90.

Brennan A, Katz DR, Nunn JD, Barker S, Hewison M, Fraher LJ, O’Riordan JL. Dendritic cells from human tissues express receptors for the immunoregulatory vitamin D3 metabolite, dihydroxycholecalciferol. *Immunology*, 1987, 61, 457–461.

Buret A, Gall DG, Olson ME. Effects of murine giardiasis on growth, intestinal morphology, and disaccharidase activity. *Journal of Parasitology*, 1990;76(3), 403–9.

Buret A, Hardin JA, Olson ME, Gall DG. Pathophysiology of small intestinal malabsorption in gerbils infected with *Giardia lamblia*. *Gastroenterology*, 1992; 103(2), 506–13.

- Burton JM, Kimball S, Vieth R, Bar-Or A, Dosch HM, Cheung R, Gagne D, D'Souza C, Ursell M, O'Connor P.** Akut phase I/II dose-escalation trial of vitamin D3 and calcium in multiple sclerosis. *Neurology*, 2010, 74, 1852–1859.
- Cannell JJ, Vieth R, Umhau JC, Holick MF, Grant WB, Madronich S, Garland CF, Giovannucci E.** Epidemic influenza and vitamin D. *Epidemiology & Infection*. 2006, 134, 1129–1140.
- Cantorna MT, Munsick C, Bemiss C, Mahon BD.** 1,25-Dihydroxycholecalciferol prevents and ameliorates symptoms of experimental murine inflammatory bowel disease. *Journal Nutrition*, 2000, 130, 2648–2652.
- Cantorna MT.** Mechanisms underlying the effect of vitamin D on the immune system. *The Proceedings of the Nutrition Society*, 2010, 69, 286–289.
- Carter JN, Meredith GL, Montelongo M, Gill DR, Krehbiel CR, Payton ME, Confer AW.** Relationship of vitamin E supplementation and antimicrobial treatment with acute-phase protein responses in cattle affected by naturally acquired respiratory tract disease. *American Journal of Veterinary Research*, 2002, 63, 1111–1117.
- Cashman KD, Kiely M.** Towards prevention of vitamin D deficiency and beyond: knowledge gaps and research needs in vitamin D nutrition and public health. *Br Journal of Nutrition*, 2011, 106, 1617–1627.
- Cerón JJ, Eckersall PD, Martínez Subiela S.** Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. *Veterinary Clinical Pathology*, 2005, 34, 85–99.
- Chalmers RM, Smith R, Elwin K, Clifton-Hadley FA, Giles M.** Epidemiology of anthroponotic and zoonotic human cryptosporidiosis in England and Wales, 2004-2006. *Epidemiology & Infection*, 2011, 139, 700-712.
- Chang JM, Kuo MC, Kuo HT, Hwang SJ, Tsai JC, Chen HC, Lai YH.** 1-alpha,25-Dihydroxyvitamin D3 regulates inducible nitric oxide synthase messenger RNA expression and nitric oxide release in macrophage-like RAW 264.7 cells. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 2004,143, 14–22.
- Chang SH, Chung Y, Dong C.** Vitamin D suppresses Th17 cytokine production by inducing C/EBP homologous protein (CHOP) expression. *Journal of Biological Chemistry*, 2010, 285, 38751–38755.
- Charina G, Stefan A, Karin Persson W.** Acute phase proteins as indicators of calf herd health. *The Veterinary Journal*, 2007, 645–651.

- Chen S, Sims GP, Chen XX, Gu YY, Chen S, Lipsky PE.** Modulatory effects of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on human B cell differentiation. *Journal of Immunology*, 2007, 179, 1634–1647.
- Chen S, Sims GP, Chen XX, Gu YY, Lipsky PE.** Modulatory effects of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on human B cell differentiation. *Journal of Immunology*, 2007, 179, 1634–1647.
- Cho KO, Hasoksuz M, Nielsen PR, Chang KO, Lathrop S, Saif LJ.** Cross-protection studies between respiratory and calf diarrhea and winter dysentery coronavirus strains in calves and RT-PCR and nested PCR for their detection. *Archives of Virology*, 2001, 146, 2401-2419.
- Cho YI, Yoon KJ.** An overview of calf diarrhea-infectious etiology, diagnosis, and intervention. *Journal of Veterinary Science*, 2014, 15(1), 1-17.
- Cogan MG.** Fluid and electrolytes, Physiology and Pathophysiology, Cogan MG (ed.) 2nd Ed, *Appleton and Lange*, 1994, s-246–266.
- Conner J, Eckersall P, Wiseman A, Aitchison T, Douglas T.** Bovine acute phase response following turpentine injection. *Research in Veterinary Science*, 1988, 44, 82-88
- Conner JG, Eckersall PD, Wiseman A, Bain RK, Douglas TA.** Acute phase response in calves following infection with *Pasteurella haemolytica*, *Ostertagia ostertagi* and endotoxin administration. *Research in Veterinary Science*, 1989, 47, 203–207.
- Constable P.** Hyperkalemia in diarrheic calves: Implications for diagnosis and treatment. *The Veterinary Journal*, 2013, 195, 271-272.
- Constable PD, Walker PG, Morin DE, Foreman JH.** Clinical and laboratory assessment of hydration status of neonatal calves with diarrhea. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 1998, 212, 991-996.
- Coskun A, Sen I, Guzelbektes H, Ok M, Turgut K., Canikli S.** Comparison of the effects of intravenous isotonic and hypertonic sodium bicarbonate solutions on venous acid-base status in dehydrated calves with strong ion acidosis. *Journal of American Veterinary Medicine Association*, 2010, 236, 1098-1103.
- Dankers W, Colin E.M, van Hamburg J.P, Lubberts E.** Vitamin D in Autoimmunity: Molecular Mechanisms and Therapeutic Potential. *Frontiers Immunology*, 2016, 7, 697.
- Dărăbuș G, Oprescu I, Morariu S, Mederle N, Imre K, Imre M, Brudiu I.** The study of some haemathological parameters in infection with *Cryptosporidium* spp. and other enteropathogens in calves. *Lucrari Stiintifice-Universitatea de Stiinte Agricole a Banatului Timisoara, Medicina Veterinara*, 2009, 42(1), 5-15.
- Davalos D, Akassoglou K.** Fibrinogen as a key regulator of inflammation in disease. In *Seminars in immunopathology*, 2012, Springer-Verlag, 34, 43–62.

Deans C, Wigmore SJ. Systemic inflammation, cachexia and prognosis in patients with cancer. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 2005, 8(3), 265-269.

De la Fuente R, Luzon M, Ruiz-Santa-Quiteria JA, Garcia A, Cid D, Orden JA, Garcia S, Sanz R, Gomez-Bautista M. *Cryptosporidium* and concurrent infections with other major enteropathogens in 1 to 30-day-old diarrheic dairy calves in central Spain. *Veterinary Parasitology*, 1999, 80(1), 79–185

Decaro N, Martella V, Elia G, Campolo M, Mari V, Desario C, Lucente MS, Lorusso A, Greco G, Corrente M, Tempesta M, Buonavoglia C. Biological and genetic analysis of a bovine-like coronavirus isolated from water buffalo (*Bubalus bubalis*) calves. *Virology*, 2008, 370, 213-222.

Deignan T, Alwan A, Kelly J, McNair J, Warrens T, O’Farrelli C. Serum haptoglobin: an objective indicator of experimentally-induced Salmonella infection in calves. *Research in Veterinary Science*, 2000, 69, 153–158.

Dhama K, Chauhan RS, Mahendran M, Malik SV. Rotavirus diarrhea in bovines and other domestic animals. *Veterinary Research Communications*, 2009, 33, 1-23.

Down PF, Polak A, Regan RJ. A family with massive acute vitamin D intoxication. *Postgraduate Medical Journal*, 1979, 55(650), 897-902.

Eckersall P, Conner J. Bovine and canine acute phase proteins. *Veterinary Research Communications*, 1988, 12, 169–178.

Eckersall PD, Bell R. Acute phase proteins: Biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. *The veterinary journal*, 2010, 185(1), 23-27.

Eidelman RS, Hennekens CH (2003): Fibrinogen: a predictor of stroke and marker of atherosclerosis. *European Heart Journal*, 2003, 24, 499–500.

Elmqvist JK, Breder CD, Sherin JE, Scammell TE, Hickey WF, Dewitt D, Saper CB. Intravenous lipopolysaccharide induces cyclooxygenase 2-like immunoreactivity in rat brain perivascular microglia and meningeal macrophages. *Journal of Comparative Neurology*, 1997, 381(2), 119-129.

El-sheikh AKR, Hayam M, Morsy S, Tarek H. Abbas A, Wafaa M. Clinical and laboratory examinations of diarrhea and dehydration in newborn Friesian calves with special reference to therapy with hypertonic and isotonic solution. *Life Science Journal*, 2012, 9(4), 181-184

Enioutina EY, Bareyan D, Daynes RA. TLR-induced local metabolism of vitamin D3 plays an important role in the diversification of adaptive immune responses. *Journal of Immunology*, 2009, 182, 4296–4305.

Erdoğan H, Ural K, Ural Alç D, Paşa S, Çamkerten İ, Haydardedeoğlu AE, Gültekin M, Erdoğan S, Balıkçı C. Low vitamin D Levels in Association with Neonatal Diarrhea in Calves presented at the II International Congress on Advances In Veterinary Sciences and Technics, 2017.

Fabri M, Stenger S, Shin DM, Yuk JM, Liu PT, Realegeno S, Lee HM, Krutzik SR, Schenk M, Sieling PA, Teles R, Montoya D, Iyer SS, Bruns H, Lewinsohn DM, Hollis BW, Hewison M, Adams JS, Steinmeyer A, Zügel U, Cheng G, Jo EK, Bloom BR, Modlin RL. Vitamin D is required for IFN- γ -mediated antimicrobial activity of human macrophages. *Science Translational Medicine*, 2011, 3, 104.

Fayer R, Gasbarre L, Pasquali P, Canals A, Almeria S, Zarlenga D. *Cryptosporidium parvum* infection in bovine neonates: dynamic clinical, parasitic and immunologic patterns. *International Journal for Parasitology*, 1998, 28, 49-56.36.

Fayer R, Santin M, Trout JM. Cryptosporidium in cattle: from observing to understanding. In: Giardia and Cryptosporidium: from molecules to disease, Ortega-Pierres MG, Cacció S, Fayer R, Mank T, Thompson RCA, CABI Publishing, Wallingford, 2009, s-12-24.

Fayer R. Taxonomy and species delimitation in *Cryptosporidium*. *Experimental Parasitology*, 2010, 124, 90-97.

Feldman D, Krishnan A.V, Swami S, Giovannucci E, Feldman B.J. The role of vitamin D in reducing cancer risk and progression. *Nature Reviews Cancer*, 2014, 14, 342–357.

Fenner F, MacLachlan NJ, Dubovi EJ (eds.). Fenner's Veterinary Virology, Academic Press, Burlington , 2011, s288-290

Finkelstein JL, Mehta S, Duggan C, Manji kP, Mugussi FM, Aboud S, Spiegelman D, Msamanga GI, Fawzi WW. Maternal vitamin D status and child morbidity, anemia, and growth in human immunodeficiency virus-exposed children in Tanzania. *Pediatric Infectious Disease Journal*, 2012, 31, 171-175.

Fischer W, Butte R. Vergleichende Untersuchung des Elektolyt- und Blutstatus bei gesunden und an enteritis erkrankten Kälbern. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrif*, 1974, 81, 567-670.

Flores EF, Ridpath JF, Weiblen R, Vogel FS, Gil LH. Phylogenetic analysis of Brazilian bovine viral diarrhea virus type 2 (BVDV-2) isolates: evidence for a subgenotype within BVDV-2. *Virus Research*, 2002, 87, 51-60.

Flynn L, Zimmerman LH, McNorton K, Subhas CP. Effects of vitamin D deficiency in critically ill surgical patients. Suggests association between 25(OH)D levels and morbidity in critical illness. *The American Journal of Surgery*, 2011, 203, 379–382.

Fossler CP, Wells SJ, Kaneene JB, Ruegg PL, Warnick LD, Bender JB, Eberly LE, Godden SM, Halbert LW. Herd-level factors associated with isolation of *Salmonella* in a multi-state study

of conventional and organic dairy farms II. *Salmonella* shedding in calves. *Preventive Veterinary Medicine*, 2005, 70, 279-291.

Foster DM, Smith GW. Pathophysiology of diarrhea in calves. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 2009, 25, 13-36.

Fritsche J, Mondal K, Ehrnsperger A, Andreesen R, Kreutz M. Regulation of 25-hydroxyvitamin D₃-1 alpha-hydroxylase and production of 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D₃ by human dendritic cells. *Blood*, 2003, 102, 314–3316.

Fujita H, Sugimoto K, Inatomi S, Maeda T, Osanai M, Uchiyama Y, Yamamoto Y, Wada T, Kojima T, Yokozaki H, Yamashita T, Kato S, Sawada N, Chiba H. Tight junction proteins claudin-2 and -12 are critical for vitamin D-dependent Ca²⁺ absorption between enterocytes. *Molecular Biology of the Cell*, 2008, 19, 1912-1921.

Gabay C, Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *New England Journal of Medicine*, 1999, 340(6), 448-454.

Gånheim C, Hulten C, Carlsson U, Kindahl H, Niskanen R, Waller KP. The acute phase response in calves experimentally infected with bovine viral diarrhoea virus and/or Mannheimia haemolytica. *Journal of Veterinary Medicine Ser B*, 2003, 50, 183–190.

Gay CC, Besser TE. Escherichia coli septicaemia in calves. In: Gyles CL, ed. *Escherichia Coli in Domestic Animals and Humans*. CAB International, Wallingford, 1994, s-75-90.

Gentry PA. Acute phase proteins. In: Loeb WF, Quimby FW (eds.): *Clinical Chemistry of Laboratory Animals*. Taylor & Francis, Philadelphia, 1999, s-336–398.

Giangaspero M, Apicella C, Harasawa R. Numerical taxonomy of the genus *Pestivirus*: new software for genotyping based on the palindromic nucleotide substitutions method. *Journal of Virological Methods*, 2013, 192, 59-67.

Gilman J, Shanahan F, Cashman KD. Determinants of vitamin D status in adult Crohn's disease patients, with particular emphasis on supplemental vitamin D use. *European Journal of Clinical Nutrition*, 2006, 60, 889–896.

Ginde AA, Mansbach JM, Camargo CA. Association between serum 25-hydroxyvitamin D level and upper respiratory tract infection in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Archives of Internal Medicine*, 2009, 169, 384–390.

Godson DL, Campos M, Attah-Poku SK, Redmond MJ, Cordeiro DM, Sethi MS, Harland RJ, Babiuk LA. Serum haptoglobin as an indicator of the acute phase response in bovine respiratory disease. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 1996, 51, 277–302.

Gois P.H.F, Ferreira D, Olenski S, Seguro A.C. Vitamin D and infectious diseases: Simple bystander or contributing factor?. *Nutrients*, 2017, 9, 7-651.

- Gombart AF, Borregaard N, Koeffler HP.** Human cathelicidin antimicrobial peptide (CAMP) gene is a direct target of the vitamin D receptor and is strongly up-regulated in myeloid cells by 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *FASEB Journal*, 2005, 19, 1067–1077.
- Gombart AF, Saito T, Koeffler HP.** Exaptation of an ancient Alu short interspersed element provides a highly conserved vitamin D-mediated innate immune response in humans and primates. *BMC Genomics*, 2009, 10, 10-321.
- Goncalves A, Roi S, Nowicki M, Dhaussy A, Huertas A, Amiot M-J, Reboul E.** 2015. Fat-soluble vitamin intestinal absorption: absorption sites in the intestine and interactions for absorption. *Food Chemistry*, 2015 172, 155–160
- Grove-White DH, Michell AR.** Comparison of the measurement of total carbon dioxide and strong ion difference for the evaluation of metabolic acidosis in diarrhoeic calves. *Veterinary Record*, 2001a, 148, 365–370.
- Grunbaum A, Holcroft C, Heilpern D, Gladman S, Burstein B, Menard M, Al-Abbad J, Cassoff J, MacNamara E, Gordon PH, Szilagyi A.** Dynamics of vitamin D in patients with mild or inactive inflammatory bowel disease and their families. *Nutrition Journal*, 2013, 9, 12-145.
- Gudmundsson GH, Bergman P, Andersson J, Raqib R, Agerberth B.** Battle and balance at mucosal surfaces--the story of Shigella and antimicrobial peptides. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2010, 396, 116-119
- Gulati BR, Deepa R, Singh BK, Rao CD.** Diversity in Indian equine rotaviruses: identification of genotype G10, P6[1] and G1 strains and a new VP7 genotype (G16) strain in specimens from diarrheic foals in India. *Journal Clinical Microbiology*, 2007, 45, 972-978.
- Güzelbekteş H, Coşkun A, Sen I.** Relationship between the degree of dehydration and the balance of acid-based changes in dehydrated calves with diarrhoea. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 2007, 51, 83-87.
- Hafez AM.** Untersuchungen zum Verhalten einiger Elektrolyte in Pansensaft, Blutserum und Harn sowie des roten und weissen Blutbildes bei gesunden und enteritiskranken Rindern im Hinblick auf therapeutische Schlussfolgerungen. Inaugural-Dissertation, Tierärztliche Hochschule, Hannover, Deutschland, 1974.
- Ham M, Longhi MS, Lahiff C, Cheifetz A, Robson S, Moss AC.** Vitamin D levels in adults with Crohn's disease are responsive to disease activity and treatment. *Inflammation Bowel Disease*, 2014, 20, 856–860.
- Haque UJ, Bathon JM, Giles JT.** Association of vitamin D with cardiometabolic risk factors in rheumatoid arthritis. *Arthritis Care Research (Hoboken)*, 2012, 64(10), 1497-1504.

- Hartmann H, Reder S.** Effect of dehydration on functional indicators of fluid metabolism in calves and the efficacy of rehydration with crystalline or colloidal saline infusions. *Tierärztliche Praxis*, 1995, 23, 342–350.
- Hartmann H.** Flüssigkeitstherapie bei Tieren, Gustav Fischer Verlag, 1995, Jena-Stuttgart
- Hase K, Murakami M, Iimura M, Cole SP, Horibe Y, Ohtake T, Obonya M, Gallo RL, Eckmann L, Kagnoff MF.** Expression of LL-37 by human gastric epithelial cells as a potential host defense mechanism against *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology*, 2003, 125, 1613-1625
- Hayes CE, Nashold FE, Mayne CG, Spanier JA, Nelson CD.** Vitamin D and Multiple Sclerosis. In *Vitamin D*, 3rd ed.; Feldman, D., Pike, J.W., Adams, J.S., Eds.; Elsevier: San Diego, CA, USA, Vieth, R. Why the minimum desirable serum 25-hydroxyvitamin D level should be 75 nmol/L (30 ng/mL). *Best Practice & Research: Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2011, 25, 681–691.
- Heine G, Niesner U, Chang HD, Steinmeyer A, Zugel U, Zuberbier T, Radbruch A, Worm M.** 1,25-dihydroxyvitamin D₃ promotes IL-10 production in human B cells. *European Journal of Immunology*, 2008, 38, 2210–2218.
- Heine J, Pohlenz JF, Moon HW, Woode GN.** Enteric lesions and diarrhea in gnotobiotic calves monoinfected with *Cryptosporidium* species. *Journal of Infectious Disease*, 1984, 150, 768-775.
- Hewison M.** Vitamin D and the immune system: new perspectives on an old theme. *Rheumatic Disease Clinics of North America*, 2012, 38(1), 125-139.
- Hewison M.** Vitamin D and the intracrinology of innate immunity. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2010, 321, 103–111.
- Heyburn PJ, Francis RM, Peacock M.** Acute effects of saline, calcitonin, and hydrocortisone on plasma calcium in vitamin D intoxication. *British Medical Journal*, 1979, (6158), 232–233.
- Hidioglou, M.; Williams, C.J.; Proulx, J.G.** Plasma vitamin D₃ response in cattle and sheep exposed to ultraviolet radiation. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 1985, 55, 41–46.
- Hirvonen J, Pyorala S.** (1998): Acute-phase response in dairy cows with surgically treated abdominal disorders. *Veterinary Journal*, 1998, 155, 53–61.
- Holick MF.** Vitamin D status: Measurement, interpretation, and clinical applications. *Annals of Epidemiology*, 2009, 19, 73–78.
- Holick M.F.** The vitamin D deficiency pandemic: Approaches for diagnosis, treatment and prevention. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 2017, 18, 153–165.
- Hollis BW, Roos BA, Draper HH, Lambert PW.** Vitamin D and its metabolites in human and bovine milk. *Journal of Nutrition*, 1981, 111, 1240–1248.

Hollis BW. Circulating 25-hydroxyvitamin D levels indicative of vitamin D sufficiency: Implications for establishing a new effective dietary intake recommendation for vitamin D. *Journal of Nutrition*, 2005, 135, 317–322.

Horadagoda NU, Eckersall PD. Immediate response in TNF- α and acute phase protein concentrations to infection with *Pasteurella haemolytica* A1 in calves. *Research in Veterinary Science*, 1994, 57, 129–132.

Horiuchi Y, Shimakura S. Mesalazine and photosensitivity. *American Journal of Gastroenterology*, 1999, 94, 3386–3387.

Horst RL, Goff JP, Reinhardt TA. Adapting to the transition between gestation and lactation: Differences between rat, human and dairy cow. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 2005, 10, 141–156.

House AM, Irsik M, Shearer JK. Sepsis, Failure of Passive Transfer, and Fluid Therapy in Calves. Veterinary Medicine-Large Animal Clinical Sciences Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, 2011.

Hymoller L, Jensen SK. Vitamin D3 synthesis in the entire skin surface of dairy cows despite hair coverage. *Journal Dairy Science*, 2010, 93, 2025–2029.

Hypponen E, Laara E, Reunanen A, et al. Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. *Lancet*, 2001, 358(9292), 500-1503.

Iimura M, Gallo RL, Hase K, Miyamoto Y, Eckmann L, Kagnoff MF. Cathelicidin mediates innate intestinal defense against colonization with epithelial adherent bacterial pathogens. *Journal of Immunology*, 2005, 174, 4901-4907.

Irmak K, Sen I, Cöl R, Birdane FM, Güzelbektes H, Civelek T, Yılmaz A, Turgut K. The Evaluation of Coagulation Profiles in Calves with Suspected Septic Shock. *Veterinary Research Communications*, 2006, 497–503.

Izzo MM, Kirkland PD, Mohler VL, Perkins NR, Gunn AA, House JK. Prevalence of major enteric pathogens in Australian dairy calves with diarrhoea. *Australian Veterinary Journal*, 2011, 89, 167–173

Jain NC. Schalm's Veterinary Hematology, 4nd Ed. Lea and Febiger, Philadelphia, 1986.

Jawor P, Stefaniak T. Acute phase proteins in treatment of calves with respiratory tract inflammation. *Folia Universitatis Agriculturae Stetinensis Zootechnica*, 2006, 48, 51–56.

Jorgensen SP, Agnholt J, Glerup H, et al. Clinical trial: vitamin D3 treatment in Crohn's disease - a randomized double-blind placebo-controlled study. *Alimentary Pharmacology Therapeutics*, 2010, 32(3), 377-383.

- Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL.** Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology*, 2004, 2, 123-140.
- Kasari TR.** Metabolic acidosis in calves *Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice*, 1999, 15, 473-485.
- Kelly D, Khan SQ, Thompson M, Cockerill G, Ng LL, Samani N, Squire IB,** Plasma tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and matrix metalloproteinase-9: novel indicators of left ventricular remodelling and prognosis after acute myocardial infarction. *European Heart Journal*, 2008, 29, 2116–2124.
- Kent RD.** The acoustic analysis of speech. San Diego: Singular Publishing Group, 1992.
- Kestenbaum B, Katz R, de Boer I, Hoofnagle A, Sarnak MJ, Shlipak MG, Jenny NS, Siscovick DS.** Vitamin D, parathyroid hormone, and cardiovascular events among older adults. *Journal of American Collage Cardiovascular System*, 2011, 58, 1433–1441.
- Khan A, Khan MZ.** Aetiopathology of neonatal calf mortality. *Medical Journal of Islamic World Academy of Sciences*, 1991, 4 (2), 159 165.
- Kirisawa R, Takeyama A, Koiwa M, Iwai H.** Detection of bovine torovirus in fecal specimens of calves with diarrhea in Japan. *Journal of Veterinary Medical Science*, 2007, 69, 471-476.
- Koj A.** Initiation of acute phase response and synthesis of cytokines. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1996, 1317(2), 84-94.
- Kong J, Zhang Z, Musch MW, Sun J, Hart J, Bissonnette M, Li YC.** Novel role of the vitamin D receptor in maintaining the integrity of the intestinal mucosal barrier. *American Physiological Society-Gastrointest and Liver Physiology*, 2008, 294, 208-216.
- Kramer GC.** Hypertonic resuscitation: physiologic mechanisms and recommendations for trauma care. *Journal of Trauma*, 2003, 54, 89–99.
- Kreuger LA, Beitz DC, Onda K, Osman M, O’Neil MR, Stuart R, Tyler HD, Nonnecke BJ.** Effects of d- α -tocopherol and dietary energy on growth and health of preruminant dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 2014, 97, 3716–3727
- Kushner I.** Regulation of the acute phase response by cytokines. *Perspectives in Biology and Medicine*, 1993, 36.4, 611-622.
- Lacasse P, Farr VC, Davis SR, Prosser CG.** Local secretion of nitric oxide and the control of mammary blood flow. *Journal of Dairy Science*, 1996, 79, 1369–1374.
- Lai JKC, Lucas RM, Clements MS, Harrison SL, Banks E.** Assessing vitamin D status: pitfalls for the unwary. *Molecular Nutrition and Food Research*, 2010, 54, 1062–1071.

- Lamb EJ, Wong T, Smith DJ, Simpson DE, Coakley AJ, Moniz C, Muller AF.** Metabolic bone disease is present at diagnosis in patients with inflammatory bowel disease. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 2002, 16, 1895–1902.
- Lappe JM, Travers-Gustafson D, Davies KM, Recker RR, Heaney RP.** Vitamin D and calcium supplementation reduces cancer risk: results of a randomized trial. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2007, 85(6), 1586-1591.
- Lee JH, Gadi R, Spertus JA, Tang F, O'Keefe JH.** Prevalence of vitamin D deficiency in patients with acute myocardial infarction. Suggests an association between 25(OH)D levels and AML. *The American Journal of Cardiology* 2011, 107, 1636–1638.
- Leichtmann GA, Bengoa JM, Bolt MJ, Sitrin MD.** Intestinal absorption of cholecalciferol and 25-hydroxycholecalciferol in patients with both Crohn's disease and intestinal resection. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 1991, 54, 548–552.
- Levy JA.** The unexpected pleiotropic activities of RANTES. *Journal of Immunology*, 2009, 182, 3945–3946.
- Lippolis JD, Reinhardt TA, Sacco RA, Nonnecke BJ, Nelson CD.** Treatment of an intramammary bacterial infection with 25-hydroxyvitamin D3. *PLoS One*, 2010,6(10), s-e25479.
- Lippolis, J.D, Reinhardt, T.A.** Ruminant Diseases and Immunology Research Unit, National Animal Disease Center, United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Ames, IA, USA. Unpublished work, 2012.
- Liu PT, Schenk M, Walker VP, Dempsey PW, Kanchanapoomi M, Wheelwright M, Vazirnia A, Zhang X, Steinmeyer A, Zugel U, Hollis BW, Cheng G, Modlin RL.** Convergence of IL-1beta and VDR activation pathways in human TLR2/1-induced antimicrobial responses. *PLoS One*, 2009, 4, 5810.
- Liu PT, Stenger S, Li H, Wenzel L, Tan B.H, Krutzik S.R, Ochoa M.T, Schaubert J, Wu K, Meinken C, Kamen DL, Wagner M, Bals R, Steinmeyer A, Zügel U, Gallo RL, Eisenberg D, Hewison M, Hollis BW, Adams JS, Bloom BR, Modlin RL.** Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response. *Science*, 2006, 311, 1770–1773.
- Lofstedt J, Dohoo IR, Duizer G.** Model to predict septicemia in diarrheic calves. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 1999, 13(2), 81-8.
- Lorenz I, Fagan J, More SJ.** Calf health from birth to weaning. II. Management of diarrhoea in pre-weaned calves. *Irish Veterinary Journal*, 2011, 64 (9), 1-6.
- Lorenz I.** D-Lactic acidosis in calves. *Veterinary Journal*, 2009, 179(2), 197-203.

- Lucidarme O, Messai E, Mazzoni T, Arcade M, du Cheyron D.** Incidence and risk factors of vitamin D deficiency in critically ill patients: results from a prospective observational study. *Intensive Care Medicine*, 2010, 36, 1609–1611.
- Magi B, Canocchi V, Tordini G, Cellesi C, Barberi A.** Cryptosporidium infection: diagnostic techniques. *Parasitology Research*, 2006, 98, 150-152.
- Martella V, Ciarlet M, Bányai K, Lorusso E, Arista S, Lavazza A, Pezzotti G, Decaro N, Cavalli A, Lucente MS, Corrente M, Elia G, Camero M, Tempesta M, Buonavoglia C.** Identification of group A porcine rotavirus strains bearing a novel VP4 (P) Genotype in Italian swine herds. *Journal Clinical Microbiology*, 2007, 45, 577-580.
- Martineau AR, Wilkinson KA, Newton SM, Floto RA, Norman AW, Skolimowska K, Davidson RN, Sorensen OE, Kampmann B, Griffiths CJ, Wilkinson RJ.** IFN-gamma- and TNF-independent vitamin D-inducible human suppression of mycobacteria: The role of cathelicidin LL-37. *Journal of Immunology*, 2007, 178, s-7190–7198.
- McNally JD, Leis LA, Matheson C, Karuananyake K, Sankaran K and Rosenberg AM.** Vitamin D deficiency in young children with severe acute lower respiratory tract infection. *Pediatric Pulmonology*, 2009, 44, 981–988.
- McSherry B, Horney F.** Plasma fibrinogen levels in normal and sick cows. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 1970, 34, s-191-7
- Mead PS, Slutsker L, Dietz V, McCaig LF, Bresee JS, Shapiro C, Griffin PM, Tauxe RV.** Food-related illness and death in the United States. *Emerging Infectious Disease*, 1999, 5, 607-625
- Medcalf RL.** Fibrinolysis, inflammation, and regulation of the plasminogen activating system. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2007, 5, 132-142.
- Merlino LA, Curtis J, Mikuls TR, Cerhan JR, Criswell LA, Saag KG; Iowa Women's Health Study.** Vitamin D intake is inversely associated with rheumatoid arthritis: results from the Iowa Women's Health Study. *Arthritis Rheum*, 2004, 50(1), 72-77.
- Michell AR, Brooks HW, White DG, Wagstaff AJ.** The comparative effectiveness of three commercial oral solutions in correcting fluid, electrolyte and acid-base disturbances caused by calf diarrhoea. *British Veterinary Journal*, 1992, 148, 507-521
- Mora JR, Iwata M, von Andrian UH.** Vitamin effects on the immune system: Vitamins A and D take centre stage. *Nature Reviews Immunology*, 2008, 8, 685–698.
- Muller-Doblies D, Arquint A, Schaller P, Heegaard PM, Hilbe M, Albin S, Abril C, Tobler K, Ehrensperger F, Peterhans E, Ackermann M, Metzler A.** Innate immune responses of calves

during transient infection with a noncytopathic strain of bovine viral diarrhea virus. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 2004, 11, 302–312.

Munger KL, Levin LI, Hollis BW, Howard NS, Ascherio A. Serum 25-hydroxyvitamin D levels and risk of multiple sclerosis. *Journal of the American Medical Association*, 2006, 296(23), 2832-2838.

Murata H, Shimada N, Yoshioka M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. *The Veterinary Journal*, 2004, 168, 28–40.

Nataro JP, Kaper JB. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews*, 1998, 11, 142-201.

Naylor JM. Severity and nature of acidosis in diarrheic calves over and under one week of age. *Canadian Veterinary Journal*, 1987, 28, 168–73.

Nelson CD, Nonnecke BJ, Reinhardt TA, Waters WR, Beitz DC, Lippolis JD. Regulation of Mycobacterium-specific mononuclear cell responses by 25-hydroxyvitamin D3. *PLoS One*, 2011, 6, 21674.

Nelson CD, Reinhardt TA, Beitz DC, Lippolis JD. *In vivo* activation of the intracrine vitamin D pathway in innate immune cells and mammary tissue during a bacterial infection. *PLoS One*, 2010, 5(11), 15469.

Nelson CD, Reinhardt TA, Lippolis JD, Sacco RE, Nonnecke BJ. Vitamin D Signaling in the Bovine Immune System: A Model for Understanding Human Vitamin D Requirements. *Nutrients*, 2012, 4(3), 181-196.

Nelson CD, Reinhardt TA, Lippolis JD. Ruminant Diseases of Immunology Research Unit, National Animal Disease Center, United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Ames, IA, USA. Unpublished work, 2012.

Nonnecke BJ, Reinhardt TA, Sacco RE, Waters WR. Ruminant Diseases of Immunology Research Unit, National Animal Disease Center, United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Ames, IA, USA. Unpublished work, 2012.

NRC. Nutrient Requirements of Dairy Cattle: Seventh Revised Edition. The National Academy of Sciences, Washington, DC, 1985.

Nydam DV, Mohammed HO. Quantitative risk assessment of *Cryptosporidium* species infection in dairy calves. *Journal of dairy science*, 2005, 88, s-3932-3943.

O’Handley RM, Olson ME. Giardiasis and cryptosporidiosis in ruminants. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 2006, 22(3), 623–43.

- Ok M, Güler L, Turgut K, Ok U, Sen I, Gündüz IK, Birdane MF, Güzelbekteş H.** The studies on the aetiology of diarrhoea in neonatal calves and determination of virulence gene markers of *Escherichia coli* strains by multiplex PCR. *Zoonoses Public Health*, 2009, 56(2), 94-101
- Orro T, Nieminen M, Tamminen T, Sukura A, Sankari S, Soveri T.** Temporal changes in concentrations of serum amyloid-A and their associations with gain in neonatal reindeer calves, *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases*, 2006, 29, 79-88.
- Ouellette AJ, Hsieh MM, Nosek MT, Cano-Gauci DF, Huttner KM, Buick RN, Selsted ME.** Mouse Paneth cell defensins: primary structures and antibacterial activities of numerous cryptdin isoforms. *Infection and Immunity*. 1994: 62, 5040-5047.
- Öcal N, Duru SY, Yağcı BB, Gazyağcı S.** İshalli buzağılarda asit-baz dengesi bozukluklarının saha şartlarında tanı ve sağaltımı. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2006, 12(2), 175-183.
- Palmer MT, Weaver CT.** Linking vitamin D deficiency to inflammatory bowel disease. *Inflammatory Bowel Disease*, 2013, 19, 2245–2256.
- Petit L, Gibert M, Popoff MR.** *Clostridium perfringens*: toxinotype and genotype. *Trends in Microbiology*, 1999, 7, 104-110.
- Pfeffer A, Rogers K, O'keeffe L, Osborn P.** Acute phase protein response, food intake, liveweight change and lesions following intrathoracic injection of yeast in sheep. *Research in Veterinary Science*, 1993, 55, 360–366.
- Piercy DWT.** Acute phase responses to experimental salmonellosis in calves and colibacillosis in chicken: serum iron and caeruloplasmin. *Journal of Comparative Pathology*, 1979, 89, s-309–319.
- Plattner BL, Hostetter JM.** Comparative gamma delta T cell immunology: A focus on mycobacterial disease in cattle. *Veterinary Medicine International*, 2011, 214-384.
- Radostits OM, Gay C, Hinchcliff KW, Constable PD.** A textbook of the diseases of cattle, sheep, goats, pigs and horses. *Veterinary Medicine* 10th edition Bailliere, Tindall, London, UK, 2007, s-1576-1580.
- Rainard P, Riollet C.** Innate immunity of the bovine mammary gland. *Veterinary Research*, 2006, 37, 369–400.
- Rajaraman V, Nonnecke BJ, Horst RL.** Effects of replacement of native fat in colostrum and milk with coconut oil on fat-soluble vitamins in serum and immune function in calves. *Journal of Dairy Science*, 1997, 80, 2380–2390.
- Reboul E1, Goncalves A, Comera C, Bott R, Nowicki M, Landrier JF, Jourdheuil-Rahmani D, Dufour C, Collet X, Borel P.** Vitamin D intestinal absorption is not a simple passive diffusion:

evidences for involvement of cholesterol transporters. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2011, 55, 691–702

Reich KM, Fedorak RN, Madsen K, Kroeker KI. Vitamin D improves inflammatory bowel disease outcomes: Basic science and clinical review. *World Journal of Gastroenterology*, 2014, 20, 4934–4947.

Reid D, Toole BJ, Knox S, Dinesh T, Johann H, Denis St JO, Scott B, John K, McMillan CD, Wallace AM. The relation between acute changes in the systemic inflammatory response and plasma 25-hydroxyvitamin D concentrations after elective knee arthroplasty. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2011, 93, 1006–1011.

Reis JP, Von Muhlen D, Miller ER, Michos ED, Appel LJ. Vitamin D status and cardiometabolic risk factors in the United States adolescent population. *Pediatrics*, 2009, 124(3), 371-379.

Ridker PM. Inflammatory biomarkers and risks of myocardial infarction, stroke, diabetes, and total mortality: implications for longevity. *Nutrition Reviews*, 2007, 65, 253-S259.

Rings DM. Clostridial disease associated with neurologic signs: tetanus, botulism, and enterotoxemia. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 2004, 20, 379-391.

Rockett KA, Brookes R, Udalova I, Vidal V, Hill AV, Kwiatkowski D. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 induces nitric oxide synthase and suppresses growth of *Mycobacterium tuberculosis* in a human macrophage-like cell line. *Infection and Immunity*, 1998, 66, 5314–5321.

Rossow N, Verter W, Benda A. Pathophysiologische und klinische Aspekte der Therapie von Dehydratationszuständen beim Kalb. *Monatshefte fuer Veterinaermedizin*, 1979, 34, 701-705.

Rothembacher H. Mortality and morbidity in calves with salmonellosis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 1965, 147, 1211-1214.

Ruest N, Couture Y, Faubert GM, Girard C. Morphological changes in the jejunum of calves naturally infected with *Giardia* spp. and *Cryptosporidium* spp. *Veterinary Parasitology*, 1997, 69(3–4), 177–86.

Sacco RE, Nonnecke BJ, Palmer MV, Waters WR, Lippolis JD, Reinhardt TA. Differential expression of cytokines in response to respiratory syncytial virus infection of calves with high or low circulating 25-hydroxyvitamin D3. *PLoS One*, 2012, 7, 33074.

Schuster I, Egger H, Bikle D, Herzog G, Reddy GS, Stuetz A, Stuetz P, Vorisek G. Selective inhibition of vitamin D hydroxylases in human keratinocytes. *Steroids* 2001, 66, s-409–422.

Sigmundsdottir H, Pan J, Debes GF, Alt C, Habtezion A, Soler D, Butcher EC. DCs metabolize sunlight-induced vitamin D3 to 'program' T cell attraction to the epidermal chemokine CCL27. *Nature Immunology*, 2007, 8, s-285–293.

- Skinner JG, Brown RAL, Roberts L.** Bovine haptoglobin response in clinically defined field conditions. *Veterinary Record*, 1991, 128, 147–149.
- Slanina L, Fischer G Horvath Z Rossow N.** Stoffwechselüberwachung in Kaelbernbestaende, Innere Krankheiten der Haustiere. Bd II: Funktionelle Störungen. *Stoffwechselüberwachung in Kaelbernbestaende* 1988, 536- 544.
- Slanina L, Rossow N, Horvath Z, Fischer G.** Innere Krankheiten der Haustiere. Bd II: Funktionelle Störungen. *Stoffwechselüberwachung in Kaelbernbestaende*, 1988, 536- 544.
- Smith GW, Berchtold J.** Fluid therapy in calves. *Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice*, 2014, 30(2), 409-427.
- Smith GW.** Treatment of calf diarrhea: oral fluid therapy. *Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice*, 2009, 25, 55-72
- Smith KE, Stenzel SA, Bender JB, Wagstrom E, Soderlund D, Leano FT, Taylor CM, Belle-Isle PA, Danila R.** Outbreaks of enteric infections caused by multiple pathogens associated with calves at a farm day camp. *The Pediatric infectious disease journal*, 2004;23(12), s-1098–104.
- Stadnyk AW, Gauldie J.** The acute phase protein response during parasitic infection. *Immunology Today*, 1991, 12(3), 7-12.
- Steele AD, Geyer A, Gerdes GH.** Rotavirus infections. In: Coetzer JAW, Tustin RC (eds). *Infectious Diseases of Livestock*, 2nd edition, Oxford University Press Southern Africa, Cape Town, 2004, s-1256-1264.
- Stockham SL.** *Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology*, 1st edn. Iowa State, Ames, 2000, s-21–30
- Stoffels K, Overbergh L, Bouillon R, Mathieu C.** Immune regulation of 1alpha-hydroxylase in murine peritoneal macrophages: Unravelling the IFN γ pathway. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 2007, 103, 567–571.
- Stoffels K, Overbergh L, Giulietti A, Verlinden L, Bouillon R, Mathieu C.** Immune regulation of 25-hydroxyvitamin-D $_3$ -1 α -hydroxylase in human monocytes. *Journal of Bone and Mineral Research*, 2006, 21, s-37–47.
- Suibhne TN, Cox G, Healy M, O'Morain C, O'Sullivan M.** Vitamin D deficiency in Crohn's disease: Prevalence, risk factors and supplement use in an outpatient setting. *Journal of Crohns and Colitis*, 2012, 6, 182–188.
- Şahal M, Kurtdede A, Börkü MK, Ünsüren H, İmren HY, Özlem MB, Kalımbacak A.** Yeni dogan ishalleri buzaguların klinik bulguları ve asit-baz dengesi dikkate alınarak sodyumbikarbonat ve elektrolit sıvılarıyla sağaltımı. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 1994, 41, s-509-525.

- Şahal M, Ünsüren H, İmren HY.** Untersuchungen zur Infusionstherapie bei neugeborenen durchfaelligen Kaelbern aus der Umgebung von Ankara unter spezieller Berücksichtigung einer Azidose (I. Mitteilung). *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 1993, 100,138-142.
- Şen İ, Constable PD.** General overview to treatment of strong ion (metabolic) acidosis in neonatal calves with diarrhea. *Eurasian Journal of Veterinary Science*, 2013, 29(3), s-14-120.
- Şen İ, Güzelbekteş, H, Yıldız R.** Neonatal buzağı ishalleri: Patofizyoloji, epidemiyoloji, klinik, tedavi ve koruma. *Turkiye Klinikleri Journal of Veterinary Science*, 2013, 4(1), s-71-78.
- Tang J, Zhou R, Luger D, Zhu W, Silver PB, Grajewski RS, Su SB, Chan CC, Adorini L, Caspi RR.** Calcitriol suppresses antiretinal autoimmunity through inhibitory effects on the Th17 effector response. *Journal of Immunology*, 2009, 182, s-4624–4632.
- Taylor JA.** Leukocyte Responses in Ruminants. In, Bernart FF, Joseph GZ, Nemi CJ (Eds): Schalm's Veterinary Hematology, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, 2000, 5. s-391-401.
- Thomas JS.** Overview of plasma proteins. In: Feldman BF, Zinkl JG, Jain NC (eds.): Schalm's Veterinary Hematology. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2000, s-891–898.
- Thoma-Uszynski S, Stenger S, Takeuchi O, Ochoa MT, Engele M, Sieling PA, Barnes PF, Rollinghoff M, Bolcskei PL, Wagner M, Akira S, Norgard MV, Belisle JT, Godowski PJ, Bloom BR, Modlin RL.** Induction of direct antimicrobial activity through mammalian toll-like receptors. *Science*, 2001, 291, s-1544–1547.
- Thornton KA, Marin C, Mora-Plazas M, Villamor E.** Vitamin D deficiency Associated with Increased Incidence of Gastrointestinal and Ear Infections in School-Age Children. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. 2013, 32, s-585-593.
- Toss G, Symreng T.** Delayed hypersensitivity response and vitamin D deficiency. *International Journal of Vitamin and Nutrition Research*, 1983, 53, s-27–31.
- Tothova Cs, Nagy O, Seidel H, Kovac G.** Acute phase proteins in relation to various inflammatory diseases of calves. *Comparative Clinical Pathology*, 2012, 21, s-1037–1042.
- Tothova Cs, Nagy O, Seidel H, Kovac G.** The effect of chronic respiratory diseases on acute phase proteins and selected blood parameters of protein metabolism in calves. *Berliner und Munchener Tierärztliche Wochenschrift* 2010, 123, s-307–313.
- Trefz FM.** Erstellung und Validierung eines Entscheidungsbaumes zur praxisnahen Behandlung von Kälbern mit Neugeborenenendurchfall. Inaugural-Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität, Dutschland, 2011.

- Tsolis RM, Adams LG, Ficht TA, Bäumlér AJ.** Contribution of Salmonella typhimurium virulence factors to diarrheal disease in calves. *Infection and immunity*, 1999, 67(9), s-4879-4885.
- Turgut K.** Veteriner Klinik Laboratuvar Teshis, 2. Baskı, Bahçıvanlar Basım Sanayi, Konya, 2000.
- Tyler JW, Hancock SE, Wiksie SL, Holler J, Gay J, Gay CC.** Use of serum protein concentration to predict mortality in mixed-source dairy replacement heifers. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 1998, 12, s-79–83
- USDA.** (US Department of Agriculture) Dairy: Heifer Calf Health and Management Practices on U.S. Dairy Operations, 2007. Publ. 550.0110. USDA, Anim. Plant Health Inspection Service, Vet. Serv., Cent. Epidemiology and Animal Health, Fort Collins, 2007
- Van den Berghe G, Van Roosbroeck D, Vanhove P, Wouters PJ, De Pourcq L, Bouillon R.** Bone turnover in prolonged critical illness: effect of vitamin D. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2003, 88, s-4623–4632.
- Van Etten E, Mathieu C.** Immunoregulation by 1,25-dihydroxyvitamin D₃: Basic concepts. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 2005, 97, s-93–101.
- Van Immerseel F, De Buck J, Pasmans F, Huyghebaert G, Haesebrouck F, Ducatelle R.** Clostridium perfringens in poultry: an emerging threat for animal and public health. *Avian pathology*, 2004, 33, s-537-549.
- Vogelsang H, Schofl R, Tillinger W, Ferenci P, Gangl A.** 25-hydroxyvitamin D absorption in patients with Crohn's disease and with pancreatic insufficiency. *Wiener Klinische Wochenschrift*, 1997, 109, s-678–682.
- Vordermeier HM, Chambers MA, Cockle PJ, Whelan AO, Simmons J, Hewinson RG.** Correlation of ESAT-6-specific gamma interferon production with pathology in cattle following Mycobacterium bovis BCG vaccination against experimental bovine tuberculosis. *Infection and Immunity*, 2002, 70, s-3026–3032.
- Wagner CL, Taylor SN, Hollis BW.** Does vitamin D make the world go “round”? *Breastfeed Medicine*, 2008, 3, s-239–250.
- Waldron J, Ashby H, Cornes M, Bechervaise J, Razavi C, Thomas O, Chugh S, Deshpande S, Ford C, Gama R.** Vitamin D: a negative acute phase reactant. *Journal of Clinical Pathology*, 2013, 66(7), s-620–2.
- Wang J, Lian H, Zhao Y, Kauss MA, Spindel S.** Vitamin D₃ induces autophagy of human myeloid leukemia cells. *Journal of Biological Chemistry*, 2008, 283, s-25596–25605.

- Wang TT, Dabbas B, Laperriere D, Bitton AJ, Soualhine H, Tavera-Mendoza LE, Dionne S, Servant MJ, Bitton A, Seidman EG, , Mader S, Behr MA, White JH.** Direct and indirect induction by 1,25-dihydroxyvitamin D₃ of the NOD2/CARD15-defensin beta2 innate immune pathway defective in Crohn disease. *Journal of Biological Chemistry*. 2010, 285, s-2227–2231.
- Waters WR, Nonnecke BJ, Foote MR, Maue AC, Rahner TE, Palmer MV, Whipple DL, Horst RL, Estes DM.** *Mycobacterium bovis* bacille Calmette-Guerin vaccination of cattle: Activation of bovine CD4⁺ and gamma delta TCR⁺ cells and modulation by 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *Tuberculosis (Edinb.)* 2003, 83, s-287–297.
- Waters WR, Palmer MV, Nonnecke BJ, Whipple DL, Horst RL.** *Mycobacterium bovis* infection of vitamin D-deficient NOS2^{-/-} mice. *Microbial Pathogenesis*. 2004, 36, s-11–17.
- Wehkamp J, Schaubert J, Stange EF.** Defensins and cathelicidins in gastrointestinal infections. *Current opinion in gastroenterology*, 2007: 23, s-32-38.
- Weingarten HP.** Cytokines and food intake: the relevance of the immune system to the student of ingestive behavior. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 1996, 20.1, s-163-170.
- Wetmore JB, Gadi R, Lee JH, O'Keefe JH, Chan PS, Tang F, Spertus JA.** Association of 25-hydroxyvitamin D deficiency with NT-pro BNP levels in patients with acute myocardial infarction: a cross-sectional analysis. *BMC Research Notes*, 2011, 4, s-542.
- White ANJ, Ng V, Spain CV, Johnson CC, Kinlin LM, Fisman DN.** Let the sun shine in: effects of ultraviolet radiation on invasive pneumococcal disease risk in Philadelphia, Pennsylvania. *BMC Infectious Disease*, 2009, 9, s-196.
- Wittum T, Young C, Stanker L, Griffin D, Perino L, Littledike E.** Haptoglobin response to clinical respiratory tract disease in feedlot cattle. *American Journal Veterinary Research*, 1996, 57, s-646.
- Zittermann A, Schleithoff SS, Tenderich G, et al.** Low vitamin D status: a contributing factor in the pathogenesis of congestive heart failure? *Journal American Collage of Cardiology*, 2003, 41(1), s-105-112.

EKLER

Ek 1. Çalışmada kullanılan grup bilgilendirme formu



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



Aydın 23.Mart. 2018

Oturum : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 2018 Yılı III. Oturum
Sayı : 64583101/2018/052
Proje Başlığı : Neonatal İshalli Buzağılarda Vitamin D₃ Konsantrasyonlarının Araştırılması.
Proje Yürütücüsü : Hasan ERDOĞAN
Proje Ekibi : Tahir ÖZALP, Songül ERDOĞAN

Bu çalışmanın hiçbir bölümünde:

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

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

Bu çalışmanın yapılmasında etik açıdan bir sakınca bulunmamaktadır.

Prof. Dr. M. Dinçer BİLGİN
Başkan

Prof. Dr. Tuhan DOST
Başkan Yardımcısı

Prof. Dr. Işıl SÖNMEZ
Üye

Prof. Dr. Deniz ÇOBAN
Üye

Prof. Dr. Yücel KOCA
Üye

Doç. Dr. Evrim DERELİ FİDAN
Üye

Vet. Hek. Dr. Serdar AKTAŞ
Üye

Vet. Hek. Dr. Biğül ÜNAL
Üye

(Toplantıya Katılmadı)
Yurdagül ALTINBAŞ
Üye

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

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Tahir ÖZALP
T.C. Kimlik No. : 35422590044
Doğum Yeri ve Yılı : Emirgazi/1992
Adres : Fatih Mah. 1109 sk. No:8 daire: 8 EfelerAYDIN
Telefon Numarası : 05062919818
e-mail Adresi : tahirozlp@gmail.com
Yabancı Dil : İngilizce
Bölüm : Veteriner/İç Hastalıkları
Yüksek Lisans Yaptığı
Üniversite : Aydın Adnan Menderes Üniversitesi
Yüksek Lisans Dönemi : IV. Dönem

EĞİTİM BİLGİLERİ

1999-2002	Emrulgazi İ.Ö.O	İLKOKUL
2002-2007	Ekizli İ.Ö.O	
2007-2011	Karaman Bifa Lisesi	LİSE
2011-2016	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi	ÜNİVERSİTE
2017-2019	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Veteriner/İç Hastalıkları Yüksek Lisans	YÜKSEK LİSANS

Bilimsel Faaliyetler

1)Yayınlar ve Bildiriler

ERDOĞAN HASAN, ERDOĞAN SONGÜL, ÖZALP TAHİR, GÜNAL İSMAİL, URAL KEREM. L-Lactate Levels Calves With Pneumonia, Journal of Advances in VetBio Science and Techniques,8,2018.

ERDOĞAN HASAN, ÖZALP TAHİR, GÜNAL İSMAİL. Bir Oğlakta Kafa Travmasına Bağlı Gelişen Olası Amnezi Olgusu, Van Veterinary Journal, 9, 2018.

ERDOĞAN SONGÜL, ERDOĞAN HASAN, URAL KEREM, GÜNAL İSMAİL, TAHİR ÖZALP (2017). Hemolacria and more: spectacular case of bleeding in a calf. II International Congress on Advances in Veterinary Sciences Technics,125 (Özet Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No:3655685)

ERDOĞAN HASAN, GÜNAL İSMAİL, ÖZALP TAHİR. Kedilerde Alt İdrar Yolu Hastalıklarında Prevalans. In: Kedilerde Alt Üriner Sistem Hastalıkları Ed: Ulutaş Bülent, Türkiye Klinikleri Veteriner Bilimleri-İç Hastalıkları, 1;3, s.9-11, 2018.

