

İNEKLERDE HİPOKALSEMİ İLE SEYREDEN DOĞUM FELCİNDE KAN SERUMU ESTERLEŞMEMİŞ (SERBEST) YAĞ ASİTLERİ ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR

Hayati Çamaş¹ Murat Ertürk² Tevfik Tekeli³ Şükrü Arif⁴

A study on the non-esterified fatty acids (NEFA) of parturient paresis cases in blood serum of cows.

Summary: *In this study, calcium and non-esterified fatty acids (NEFA) levels in the blood serum of 27 cows which suffered from parturient paresis, were determined.*

The treatment was done by infusion of Calphon contained 11.29 g. of calcium for each animal. The blood samples were collected just before and after 20 minutes following the treatment.

Before the treatment the mean serum levels of NEFA were found as 12.36 ± 2.98 mg % (482.41 ± 116.57 μ mol/liter) and 2.86 ± 0.26 mg % (111.52 μ mol/liter) ; of calcium as 4.17 ± 0.39 mg % and 10.91 ± 0.57 mg %, respectively.

It was observed that the serum calcium values increased, but NEFA decreased as a result of calcium treatment.

It was found that there was an important negative correlation ($P < 0.01$) between the serum calcium and NEFA values before treatment, but no correlation after treatment.

Özet: *Hipokalsemi ile seyreden doğum felci olgularında, ineklerin kan serumunda esterleşmemiş yağ asitleri ile kalsiyum değerleri tayin edildi. Çalışma 27 inek üzerinde yapıldı.*

1 Doç. Dr., A.Ü. Veteriner Fakültesi, Biyokimya Bilim Dalı Ankara / Türkiye

2 Araş. Gör., A.Ü. Veteriner Fakültesi, Biyokimya Bilim Dalı Ankara / Türkiye

3 Dr. Mcd. Vet. A.Ü. Veteriner Fakültesi, Doğum ve Reprodüksiyon Hastalıkları Bilim Dalı Ankara / Türkiye

4 Araş. Gör., A.Ü. Veteriner Fakültesi, Doğum ve Reprodüksiyon Hastalıkları Bilim Dalı Ankara / Türkiye.

Sağıtım amacı ile total 11.29 g kalsiyum içeren Calphon isimli preparat damar içi enjekte edildi. Enjeksiyondan önce ve sağıtımı izleyen 20. dakikalarda kan örnekleri alınarak laboratuvara iletildi.

Sağıtımdan önce kan serumunda esterleşmemiş yağ asitleri ortalaması 12.36 ± 12.98 mg/100 ml (482.41 ± 116.57 μ Mol/litre) sağıtımdan sonra 2.86 ± 0.26 mg/100 ml. (111.52 μ Mol/litre); kalsiyum değerleri ise sağıtımdan önce 4.17 ± 0.39 mg/100 ml, sağıtımdan sonra da 10.91 ± 0.57 mg/100 ml olarak bulundu.

Sağıtımla birlikte kalsiyum değerleri yükselirken, esterleşmemiş yağ asitleri değerlerinin düştüğü görüldü.

Hasta hayvanlarda, serum kalsiyum değerleri ile esterleşmemiş yağ asitleri değerleri arasında negatif bir korrelasyonun olduğu, sağıtımdan sonra ise bu iki değer arasında istatistiki yönden önemli bir ilişkinin bulunmadığı saptandı.

Giriş

İneklerde doğum felci diye isimlendirilen ve hipokalsemi ile seyreden metabolik bozukluk, genellikle doğum ve yeni başlayan laktasyonla birlikte ortaya çıkar. Çoğunlukla kalsiyum metabolizmasındaki akut bir bozukluk sonucu doğumdan birkaç gün önce, doğum sırasında veya doğumu izleyen üç gün içinde şekillenen bir hastalıktır (25, 31). Kan plazmasındaki kalsiyum miktarına göre hafif hipokalsemi (7-9 mg Ca/100 ml), orta derecede hipokalsemi (5-7 mg Ca/100 ml) ve şiddetli hipokalsemi (2-5 mg Ca/100 ml) olmak üzere hastalık başlıca üç şekilde görülür (21).

Doğum felcine, daha çok 5-6'ncı laktasyonda ve süt veriminin doruğundaki ineklerde en sık raslanır ve Jersey gibi bazı ırklarda kalıtsal olduğu ileri sürülmektedir (11, 16, 25).

Süt ineklerinde verimin artması ile birlikte, doğum felcinin önlenmesi ve sağıtımı gittikçe önem kazanmaktadır. Ortaya çıkışı ve etkili önlemleri Kolb (21) tarafından belirtilen doğum felcinde görülen kalsiyum metabolizmasındaki bozukluğa sebep olarak, gebeliğin son haftasında yüksek oranda kalsiyum ve fosfor alınması gösterilmektedir (32).

Westerhuis (41) tarafından doğum felcine meyilli ineklerde yapılmış olan araştırmalarda, gebeliğin sonuna doğru kalsiyumca fakir, he-

men doğumdan sonra ise kalsiyumca zengin beslenmenin ,doğum felcini önlediği saptanmıştır.

Doğurmak üzere olan hipokalsemili inekler üzerinde yapılan çalışmalar (5, 24), pankreastan uygun oranda insulin salgılanması için kalsiyum iyonlarının gerekli olduğunu göstermiştir (23). Plazmada yüksek düzeydeki kortikoid ve düşük düzeydeki insulin, doğumu yakın olan gebe ineklerde, glikoz seviyesini yükseltir. Bu hiperglisemi, aynı zamanda plazmadaki laktik asit konsantrasyonunun artması (24, 40) ve rumen hareketlerinin sayısı ve kontraksiyonlarının azalması ile de ilgilidir (40).

Sığır ve koyunlarda ketozis ve doğum felci gibi metabolik bozukluklar, çoğu kez karaciğer yağlanması ile ilişkilidir. Ketozis ve doğum felcinde, serbest yağ asitlerinin plazmadaki düzeyi yükselir. Sığırların ketozisinde, normalin üstünde esterleşmemiş yağ asitleri düzeyi Adler ve ark. (1), Kronfeld (22) ve Baird ve ark. (4) tarafından koyunların ketozisinde ise Patterson ve ark. (33). tarafından bildirilmiştir. Luthman ve Jonson (26), doğum felcine yakalanmış ineklerde, esterleşmemiş yağ asitleri düzeyinin arttığını bulmuşlardır. Karaciğerdeki esterleşmemiş yağ asitleri birikimi ile orantılı olarak plazmadaki serbest yağ asitleri miktarı da artar (14, 20, 34).

Serbest yağ asitlerinin artışına neden olan lipolizisin, yağ dokusunda kalsiyum birkikmesi ile ilgili olduğu araştırmacılar tarafından gözlenmiştir. Akgün ve Rudman (2), 50 U ATCH uygulamasından sonra, tavşanın serumunda kalsiyumun azaldığını ve serbest yağ asitleri miktarının arttığını bildirmişlerdir.

Lipoliz olayının mekanizması inaktif bir trigliserid lipazının aktif bir trigliserid lipazına dönüşmesinden ibarettir. Bu dönüşüm siklik AMP (c AMP) aracılığı ile başarılır. Lipolitik yönden etkili adrenalin, glukagon v.s. gibi hormonlar adenilatsiklaz enzimini aktive etmek suretiyle c AMP'in teşekkülünü artırır (8, 9, 10, 37). Lipoliz olayında bir dizi hormon görev alır. Bu olay sonucunda sadece yağ asitlerinin üretim hızı değil, aynı zamanda, dokulardan kana yağ asiti geçişi de stimüle edilir.

İnsulin ise lipoliz hızını düşürür ve ek olarak, yağ hücrelerinden serbest yağ asitlerinin dışarı çıkışını engeller (38).

Luthman ve ark. (29) ile Luthman ve Holtenius (27) norepinefrinin hipokalsemiye sebep olduğunu saptamışlardır. Bunlar, serumdaki

kalsiyum seviyesinin düşmesi ile serbest yağ asitleri miktarının yükselmesinin paralel gittiğini öne sürmüşlerdir. Luthman ve Jonson (28) hipokalsemik ineklerde, serbest yağ asitleri miktarının arttığını ve serbest yağ asitleri düzeyi ile kalsiyum düzeyi arasında negatif bir korrelasyonun bulunduğunu bildirmişlerdir. Bu araştırmacılar, kalsiyumun yağ dokusu içine hareketlerinin ,doğum sonrası hipokalseminin şekillenmesine yardım edebileceğini varsaymışlardır. Ancak Luthman ve Peson (30) ile Horst ve ark. (19) tarafından bunların hipotezleri desteklenmemiştir.

Gevişenlerin kan plazmasındaki serbest yağ asitlerinin durumu hakkında geniş literatür verileri mevcuttur. Kanın serbest yağ asitleri miktarı üzerine yemin enerji seviyesi, rasyonun türü ve kan alma zamanı etkili olmaktadır. Yemlemeden 2-4 saat sonra kanın serbest yağ asitleri miktarı düşer (6). Yetersiz enerji düzeyinde ise serbest yağ asitlerinin miktarı yükselir. Laktasyonun başlangıcında da bir yükselme görülür (30).

Holmes ve Lambourne'nin (18) araştırmaları, alınan sindirilebilir enerji düzeyi ile sığırların kanındaki serbest yağ asitleri miktarı arasında negatif bir korrelasyonun olduğunu göstermiştir.

Doğumdan önce ve sonraki çeşitli zamanlarda, sığırların kanındaki serbest yağ asitlerinin durumu Pehrson (35) tarafından ayrıntılı olarak incelenmiş, doğum sırasında ve bunu izleyen ilk günlerde kanın serbest yağ asitleri miktarının yüksek olduğu görülmüştür. Halbuki, Seidel ve ark. (39) araştırmalarında ise doğuma yakın zamanlarda, rasyonların enerji düzeyi iyi ayarlandığı takdirde, sağlıklı ineklerin kan plazmasındaki serbest yağ asitleri miktarının düşük olduğu gözlenmiştir.

Bu çalışmada, kliniğe gelen doğum felçli ineklerin, sağtımdan önce ve sağtımdan sonra, kan serumundaki serbest yağ asitlerinin durumunun incelenmesi ve kan serumundaki kalsiyum düzeyi ile serbest yağ asitleri miktarı arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Bu çalışma, doğum sonrasında şekillenen hipokalsemik doğum felcine yakalanmış, yaşları 2-10 arasında değişen, çeşitli ırklara mensup 27 inek üzerinde yapıldı. Olguların tümüne, hastalığın başlamasını izleyen 10 saat içinde sağtım uygulandı.

Sağıtuma geçilmeden önce, özenli bir klinik muayene ile hayvanların genel kontrolü yapıldı. Doğum felcine özgü klinik belirtiler dik-katele kaydedildi ve v. jugularis'ten kan alınarak sağıtuma başlandı.

Sağıtım amacı ile tüm ineklere her ml. sinde	
Kalsiyum glukonat	19.0 gr.
Kalsiyum glukohেptonat	4.5 gr.
Kalsiyum-d- sakkarat	1.0 gr
Mağnezyum klorid	4.2 gr.

içeren "Calphon*" hazır çözeltisinden damar içi 500 ml enjekte edildi.

Enjeksiyonun bitiminden 20 dakika sonra, hayvanın sağıtma verdiği cevap ctraflıca not edilerek, tekrar kan alındı. Kan örnekleri vakit geçirilmeden laboratuvara iletildi.

Usulüne uygun olarak elde edilen kan serumunda kalsiyum tayinleri vakit geçirilmeden hemen yapıldı. Yağ asitleri tayini için serumlar -20°C de (7,17, 35) saklandılar. Analiz en geç bir hafta içinde yapıldı.

Kalsiyum tayini gloyoxal-bis- (2-hydroxylanil) ayırıcı kullanılarak Eppendorf mikroliter sistemle (3), serumdaki serbest yağ asitleri tayini ise kolorimetrik olarak yapıldı (7).

Sağıtımdan önceki ve sağıtımdan sonraki değerlerin istatistik analizinde eş yapma yöntemi ve korrelasyon hesabı uygulandı (13).

Bulgular

Sağıtımdan önce ve sağıtımdan sonra kan serumundaki serbest yağ asitleri değerleri ile kalsiyum değerleri Tablo 1'de verilmiş ve istatistiki yönden önemli bulunan veriler belirtilmiştir. Serumdaki serbest yağ asitleri değerleri, bazı araştırmalarda 100 ml . de miligram olarak, bazı araştırmalarda ise litrede mikromol olarak kaydedilmektedir. Karşılaştırmaların kolaylaştırılması bakımından, bu araştırmada serbest yağ asitleri değerleri, her iki şekilde de verilmiştir.

Sağıtımdan önce ve sağıtımdan sonra serbest yağ asitleri değerleri ile kalsiyum değerleri arasındaki korrelasyon Tablo 2'de gösterilmiştir.

* Calphon R. Bayer

Tablo 1. Sağıtımdan önce ve sağıtımdan sonra kan serumunda serbest yağ asitleri ve kalsiyum değerleri (n = 27).

Araştırılan Biyokimyasal Parametreler		Sağıtımdan önce		Sağıtımdan sonra	
		mg/ 100 ml.	μ Mol/ litre	mg/ 100 ml.	μ Mol/ litre
Serbest yağ asitleri	X	12.36**	482.41**	2.86	111.52
	Sx	± 2.98	± 116.57	± 0.26	± 10.26
	Min	1.72	67	1.02	40
	Max	77.41	3024	7.12	2780
Kalsiyum	X	4.17		10.91**	
	Sx	± 0.39		± 0.57	
	Min	1.0		4.1	
	Max	9.1		18.1	

** P < 0,01 oranında önemli bulunmuştur.

Tablo 2. Sağıtımdan önce ve sağıtımdan sonra kan serumunun serbest yağ asitleri değerleri ile kalsiyum değerleri arasındaki korrelasyon.

Serbest yağ asitleri Kalsiyum	Sağıtımdan önce (n=27)	Sağıtımdan sonra (n=27)
		-0.605**

** P < 0,01 oranında önemli bulunmuştur.

Tartışma ve Sonuç

Tablo 1 incelendiğinde, sağıtımdan önce kan serumundaki ortalama serbest yağ asitleri değerinin 12,36 mg/ 100 ml. (482,41 μ Mol/ litre) olduğu görülmektedir. Buna karşılık kalsiyumun ortalama değeri düşüktür. Sağıtımdan sonra ise kan serumundaki serbest yağ asiti değerlerinin ortalaması 100 ml. de 2,86 mg'a (111, 52 μ Mol/ litre) düşerken kalsiyum değerlerinin arttığı gözlenmektedir. Sağıtım sonucunda kalsiyum değerlerindeki artış P < 0,01 düzeyinde önemli iken, esterleşmemiş yağ asitleri değerindeki düşüş de aynı oranda önemli bulunmuştur.

Ayrıca serumun serbest yağ asitleri değerleri ile kalsiyum değerleri arasında yüksek düzeyde önemli (P < 0,01 negatif bir korrelasyonun (r = - 605) olduğu görülmektedir.

Geviş getirenlerde, kandaki esterleşmemiş yağ asitleri miktarını etkileyen çeşitli etmenler Bowden (6) tarafından ayrıntılı biçimde bildirilmektedir.

Cote ve ark. (10), normal ineklerin kan plazmasında, serbest yağ asitlerini ortalama olarak 206 \pm 213 μ Mol/ litre, ketozisli ineklerde ise 704 \pm 413 μ Mol/ litre bulmuşlar ve ketoziste kalsiyum de-

ğerleri düşerken serbest yağ asitleri miktarının arttığını bildirmişlerdir.

Diğer taraftan Hayashi ve ark. (17), doğum felcine yakalanmış ineklerin plazmasında, serbest yağ asitleri miktarını kontrollara göre önemli ölçüde yüksek bulmuşlar ve sağtımdan sonra bu değerlerin düştüğünü görmüşlerdir. Yine aynı araştırmacılar, hasta ineklerde serbest yağ asitleri değerleri ile kalsiyum değerleri arasında önemli bir negatif korrelasyon bulmuşlardır. Ancak, bu korrelasyonun, kontrol hayvanlarında önemli olmadığını saptamışlardır.

Radloff ve ark. (36) göre, sağlıklı ineklerin, yetersiz enerji düzeyinde, doğum sırasında ve laktasyonun başlangıcında, serumda yüksek miktarda serbest yağ asiti değerleri gösterdikleri saptanmıştır.

Halbuki Seidel ve ark. (39) çalışmalarında ise, doğumdan önce ve sonraki 5 gün içinde hayvanların aldığı enerjinin düzeyi iyi ayarlandığı takdirde, plazmadaki serbest yağ asitleri miktarının oldukça düşük ve sabit olduğu görülmüştür.

Froslie (15) ,doğum felcine yakalanmış ineklerde, amonyak metabolizmasındaki bozukluk sonucu, sinir sisteminde dengesizlik meydana geldiğini, özellikle sempatik sinir sisteminin doğum anında stimüle edildiğini ve bunun sonucu olarak da kanda kortizol seviyesinin yükselebileceği hipotezi ileri sürülmektedir. Kandaki kalsiyum düzeyinin düşmesi bu hipotezle açıklanmağa çalışılmaktadır.

Sonuç olarak, ineklerde doğum felci olgularında, hastalığın derecesini saptamada ve sağtımdan sonra hastalığın seyrini kontrol da, klinik bulgulara yardımcı olarak kan serumundaki serbest yağ asiti miktarlarından da yararlanılabileceği kanısındayız.

Literatür

1. **Adler, J.H., Wertheimer, E., Bartana, U. and Flesh, J.** (1963): *Free fatty acids (FFA) and the origin of ketone bodies in cows.* Vet. Rec., 75: 304-307.
2. **Akgün, S. , and Rudman, D.** (1969): *Relationships between mobilization of free fatty acids from adipose tissue and the concentrations of calcium in the extracellular fluid and in the tissue.* Endocrinology, 84: 926-930.
3. **Anon.,** (1968): *Calcium in serum, Mikroliter-System Eppendorf Photometrische Methoden Medizin Ar 300 MV. 1-3. Eppendorf-Feratebau. Netheler + Hinz GMBH.*

4. **Baird, G.D., Hibbit, K.G., Hander, G.D., Lund, P. Stubbs, M. and Krebs, H.A.** (1968): *Biochemical aspects of bovine ketosis*. Biochem. J., 107; 683-689.
5. **Blum, J.W., Wilson, R.B. and Kronfeld, D.S.** (1973): *Plasma insulin concentrations in Parturient cows*. J. Dairy Sci., 56 (4): 459-464.
6. **Bowden, D.M.** (1971): *Non-esterified fatty acids and ketone bodies in blood as indicators of nutritional status in ruminants: a review*. Can. J. Anim. Sci. 51; 1-13.
7. **Brenner, K.V. und Reinhard, P.** (1976): *Untersuchungen zur photometrischen Bestimmung und zur Stabilität der freien Fettsäuren im Plasma und Serum Vom Rind*. M.h. Vet. Med. 31 (18): 707-711.
8. **Butcher, R.W., Ho, R.J. Meng, H.C. and Sutherland, E.W.** (1965): *Adenosine 3', 5' - monophosphate in biological material. II. The measurement of adenosine 3, 5' - monophosphate in tissues and the role of the cyclic nucleotide in the lipolytic response of fat to epinephrine*. J. Biol. Chem., 240; 4515-4523.
9. **Butcher, R.W. and Sutherland, E.W.** (1969): *The role of cyclic AMP in the lipolytic and antilipolytic actions of hormones on adipose tissue*. In: Margaulics, M. Protein and polypeptide Hormones. Exc. Med. Found. (Amst). Int. Congr. Ser. No. 161, 150-153.
10. **Cote, J.F., Curtis, R.A., Mc Sherry, B.J. Robertson, J. DeD. and Kronfeld, D.S.** (1969): *Bovine ketosis: Frequency of clinical sign, complications and alterations in blood ketones, glucose and free fatty acids*. Can. Vet. J., (7): 179-187.
11. **Curtis, R.A., Cote, J.F., Mc Lennan, M.C., Smart, J.F., Rowe, R.C.** (1978): *Relationship of methods of treatment to relapse rate and serum levels of calcium and phosphorus in parturient hypocalcemia*. Can. Vet. J., 19: 155-158.
12. **Dargel, D. und Schülke, B.** (1975): *Zur Biochemie der Hormonalen Stoffwechselfregulationen. 2. MMitt.: Über die Rolle des zyklischen Adenosin-3', 5'-monophosphats im Kohlenhydrat-, Lipid- und Proteinstoffwechsel*. Mh. Vet., 30 (11): 423-430.
13. **Düzgüneş, O.** (1963): *Bilimsel araştırmalarda istatistik prensipleri ve metodlar*. Ege Üniversitesi Matbaası, İzmir.
14. **Fine, M.B. and Williams, R.H.** (1960): *Effect of fasting, epinephrine and glucose and insulin on hepatic uptake of non-esterified fatty acids*. Amer. J. Physiol., 189: 403-406.
15. **Froslie, A.** (1977): *Feed-related urea poisoning in ruminants*. Folia Vet. lat., 7: 17-37.
16. **Hapke, H.J., Ahlers, D.D., Prigge, E., Brundiens, E.** (1971): *Wirkung verschiedener Kalziumsalze bei Rindern*. Dtsch. tierarz. Wschr., 78:617-648.
17. **Hayashi, T. Ono, H., Sato, K. and Miyake, M.** (1979): *Plasma levels of cortisol, free fatty acids, glucose and calcium in cows with milk fever*. Jap. J. Vet. Sci., 41; 617-621.
18. **Holmes, J.H. G. and Lambourne, L.J.** (1970): *The relation between plasma free fatty acid concentration and the digestible energy intake of cattle*. Res. Vet. Sci, 11:27-36.
19. **Horst, R.L. Thornton, J.H., Jorgensen, N.A., and Schultz, L.H.** (1976): *Calcium redistribution into subcutaneous fat at parturition in dairy cow*. J. Dairy Sci., 59: 88-90.

20. **Katze, M.L. and Bergman, E.N.** (1969): *Hepatic and portal metabolism of glucose free fatty acids, and ketone bodies in the sheep.* Amer. J. Physiol., 216; 953-960.
21. **Kolb, E.** (1979): *Neuere ernährungsbiochemische Erkenntnisse zur Entstehung und Verhütung der Gebarparese.* Mh. Vet. Med., 34:65-69.
22. **Kronfeld, D.S.** (1965): *Plasma non-esterified fatty acid concentrations in the dairy cow: Responses to nutritional and hormonal stimuli, and significance in ketosis.* Vet. Rec., 77; 30-35.
23. **Lambert, A.E., Kanazawa, Y., Bunr, I.M., Orci, L. and Renold, A.E.** (1971): *On the role of cyclic AMP in insulin release. I. Original effects in cultured fetal rat pancreas.* Ann. N.Y. Acad. Sci., 185: 232-244.
24. **Littledike, E.T., Whipp, S.C., Witzel, D.A. and Beatez, A.L.** (1970): *In: Parturient Hypocalcaemia*, p. 165 Academic Press, New York.
25. **Littledike, E.T., Young, J.W., Beitz, D.C.** (1981): *Common metabolic diseases of cattle ketosis, milk fever, grass tetany and downer cow complex.* J. Dairy Sci., 64: 1465-1482.
26. **Luthman, J. and Jonson, G.** (1969): *Fettmobiliseringen hos pareskor. (Lipid mobilization in cows with parturient paresis).* Sv. Vet., Tidn., 21: 686-688.
27. **Luthman, J., and Holtenius, P.** (1972): *Norepinephrine induced fatty liver and hypocalcemia in sheep.* Acta Vet. Scand., 13: 31-41.
28. **Luthman, J., and Jonson, G.** (1972): *The relationship between serum calcium and plasma non-esterified fatty acids in normal and hypocalcemic cows and sheep.* Acta Vet. Scand., 13: 42-55.
29. **Luthman, J., Jonson, G. and Person, J.** (1972): *Studies on norepinephrine induced hypocalcemia in sheep before and after thyroidectomy.* Acta Vet. Scand., 13: 20-30.
30. **Luthman, J. and Persson, J.** (1975): *Lipid mobilization in parturient cows.* Acta Vet. Scand., 16: 63-75.
31. **Moddie, E.W.,** (1960): *Some aspects of hypocalcemia in cattle.* Vet. Rec., 72: 1145-1148.
32. **Müller, I., Gottschild, C., Kolb, E., Seidel, YH. und Ziemke, G.** (1981): *Untersuchungen über das Verhalten verschiedener Bestandteile (Glukose, FFS., Insulin, Ca, anorg, P, Mg, AP) im Blutplasma von Rindern mit Gebarparese vor und nach Behandlung mit Paravert.* Mh. Vet. Med., 36:681, 695.
33. **Patterson, D.S.P., Burns, K.N., Cunningham, N.F., Herbert, C.N. and Saba N.** (1964): *Plasma concentrations of glucose and non-esterified fatty acids (N.E.F.A.) in the pregnant and lactating ewe and the effect of dietary restriction.* J. Agric. Sci, 67: 253-262.
34. **Patterson, D.S.P.** (1966): *Depot fat mobilization and liver lipogenesis and ketogenesis in ovine pregnancy toxemia and the effects of corticotrophin administrations.* Res. Vet. Sci, 7, 484-492.
35. **Pehrson, B.** (1971): *Studies of the blood lipid pattern in healthy dairy cows.* Acta Vet. Scand. 12: 230-242.

36. **Radloff, N.D., Schultz, L.H. and Hoekstra, W.G.** (1966): *Relationship of plasma free fatty acids to other blood components in ruminants under various physiological conditions.* J. Dairy Sci., 49; 179-182.
37. **Rappoport, S.M.** (1977): *Medizinische Biochemie.* VEV Verlag, Volk und Gesundheit, Berlin.
38. **Schimmel, R.J. and Goodman, H.M.** (1972): *Release of pre-formed free fatty acids from adipose tissue: acceleration by cyclicAMP.* Endocrinology 90: 1391-1395.
39. **Seidel, H., Pufe, M., Müller, I., Grün, E. Kolb, E. und Schuhmachar, U.** (1973): *Verlaufsuntersuchungen zum Verhalten einiger biochemischer und physiologischer Parameter im geburtsnahen Zeitraum der Milchkuh.* Arch. Exp. Vet. Med. 27: 589-600.
40. **Singh, R.V., Sud, S.C., Bahga, and Soni, B.K.** (1972): *Ind. J. Anim. Sci.* 42, 346, In: Nutr. Abstr. and Rev. 1973, 43: 2327.
41. **Westerhuis, J.H.** (1974): *Parturient hypocalcaemia prevention in parturient cows prone to milk fever by dietary measures.* Agric. Res. Rep. 814, Centre for Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen.