



Laktasyondaki Keçilerde Lökosit CaSR Gen Ekspresyon Seviyesi İle Plazma Kalsiyum Seviyesinin Belirlenmesi*

Sevda DALKIRAN¹, Akın YAKAN²

¹Mustafa Kemal Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyokimya ve Genetik Anabilim Dalı, Hatay-TÜRKİYE
²Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Veterinerlik Genetiği Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE

*Sorumlu yazar: Akın YAKAN; E-mail: yakan@mku.edu.tr; ORCID: 0000-0002-9248-828X
Atıf yapmak için: Dalkıran S, Yakan A. Laktasyondaki keçilerde lökosit CaSR gen ekspresyon seviyesi ile plazma kalsiyum seviyesinin belirlenmesi. Erciyes Üniv Vet Fak Derg 2019; 16(3): 184-189.

Özet: Süt verimi keçi yetiştiriciliğinde büyük öneme sahiptir. Sütün içeriğinde bulunan kalsiyum insan sağlığı için önemlidir. Kalsiyum hücre membran geçirgenliği, hormonların salınımı, enzim aktivitesi gibi birçok fizyolojik olayda görev almaktadır. Metabolizma bakımından değerlendirildiğinde laktasyon döneminde süt verimine bağlı olarak kalsiyum ihtiyacı artmaktadır. Kalsiyum düzeyi ise önemli oranda Kalsiyuma Duyarlı Reseptör (CaSR) geni aracılığıyla düzenlenmektedir. Bu çalışmada laktasyondaki Damascus keçilerinde CaSR geni ekspresyon seviyesi ile kan kalsiyum seviyesi ölçülerek laktasyon ile aralarındaki ilişki araştırılmıştır. CaSR geni ekspresyon seviyesi RT-qPCR ile ölçülürken plazma kalsiyum seviyesi mikrop plazma atomik emisyon spektrofotometresi (MP-AES) ile ölçülmüştür. Laktasyonun 1. ayına göre 3., 5. ve 7. aylarında CaSR genine ait ekspresyon seviyesinin önemli derecede azaldığı tespit edilmiştir. Laktasyonun 1. ve 3. aylarına göre diğer aylarda kalsiyum seviyelerinde önemli derecede azalma tespit edilmiştir. Plazma kalsiyum miktarındaki azalma CaSR geninin ekspresyon seviyesindeki azalma ile uyumlu olduğu tespit edilmiştir. Böylece laktasyon ile kaybolan kalsiyumun plazmadaki düşüşünü engellemek için metabolizmanın koruma refleksi oluşturarak CaSR ekspresyonunu azalttığı görülmüştür. Yapılan bu çalışmayla laktasyon dönemindeki keçilerde süt ile birlikte ortaya çıkan kalsiyum kaybının kandaki regülasyonunu CaSR geni ile sağlandığı tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: CaSR, Damascus, gen ekspresyonu, laktasyon

Determination of Leucocyte CaSR Gene Expression Level and Plasma Calcium Level in Lactated Goats

Summary: Milk efficiency has a big importance in goat breeding. Calcium exist in milk's ingredient is significant for human health. Calcium takes part in many physiological processes such as cell membrane permeability, oscillation of hormones, enzyme activity. The need for calcium also rises according to milk efficiency in lactation period for metabolism. Calcium is primarily organized by means of the Calcium Sensitive Receptor (CaSR) gene. In this study the relationship between the lactation and expression level of CaSR gene eith blood calcium level were evaluated in lactating Damascus goats. While CaSR expression gene was measured with RT-qPCR, plasma calcium level was measured with micro plasm atomic emission spectrophotometer (MP-AES). An important level of decline in calcium levels was found in the other months except for 1st and 3rd months. It has been found that the decline in the level of plasm calcium quantity was coherent with the decline of the expression level of CaSR. By this way it has been observed that metabolism lessens the CaSR expression by forming a protection reflex in order to prevent the falling of calcium lost with lactation. In this study, it has been found that regulation of calcium loss in blood which appears with milk of goats in lactation period is provided with CaSR gene.

Key words: CaSR, Damascus, gene expression, lactation

Giriş

Günümüzde keçi yetiştiriciliği genellikle süt ihtiyacını karşılamak amacıyla yapılmaktadır. Türkiye'de Suriye sınır boyundaki illerde (Hatay, Kilis, Gaziantep ve Şanlıurfa) genellikle sütçü verim özelliğine sahip Damascus keçisi yetiştirilmektedir (10). Damascus keçileri, genellikle yılda 1 defa doğum yaparlar ve laktasyon süreleri 7- 8 ay arasında değişim gösterir. Lak-

tasyonun ilk zamanlarında süt verimi oldukça yüksektir. Ancak laktasyonun ilerleyen dönemlerinde bu eğri azalır ve sifıra kadar düşer (27).

Keçi sütünün içeriğinde laktoz, protein, yağ ve mineral madde gibi birçok besleyici unsurlar bulunmaktadır. Mineral maddelerden kalsiyum metabolizmada oldukça önemli bir role sahiptir (6). İnsan sağlığı açısından da oldukça önemli olan keçi sütü içeriğindeki kalsiyum ile birlikte neonatal dönemde iskelet sistemi için gerekli olan tüm besin maddelerini içermektedir (14,20). Kandaki kalsiyum miktarı metabolizmada özellikle de laktasyon gibi metabolik olaylar içinde büyük bir yere sahiptir (6).

Geliş Tarihi/Submission Date : 08.01.2019
Kabul Tarihi/Accepted Date : 01.04.2019

*Bu çalışma ilk isim yazarın yüksek lisans tezinden özetlenmiştir ve VII. Ulusal Veteriner Zootekni Kongresinde sunulmuştur.

Kalsiyum; kas kasılması, kanın pıhtılaşması, sinirsel uyarım ile hormonların salınması, enzim aktivitesi ile hücre membranlarının geçirgenliği gibi vücutta birçok biyolojik mekanizmada görev almaktadır (24). Vücutta kalsiyum dengesi paratiroid hormon, kalsitonin ve vitamin D tarafından sağlanmaktadır. Özellikle laktasyon döneminde salgılanan sütte dolaylı kalsiyum ihtiyacı artmaktadır. Zira günlük sekrete edilen süt içerisinde 300 ile 400 mg arasında kalsiyum bulunmaktadır (14,20).

Kalsiyuma duyarlı reseptör (CaSR); kalsiyumun ekstrasellüler sıvılardaki değişimine bağlı olarak, kalsiyumun G proteinine bağlanarak 7-transmembranlı geçişini sağlayan bir yüzey reseptörüdür (4). CaSR geni bu nedenle vücutta kalsiyum homeostazisini sağlayan esas faktörlerden birisidir (11). CaSR'nin en önemli görevi kalsiyum homeostazisini düzenlemesi olmasına rağmen, kalsiyotropik olmayan dokularda da CaSR eksprese edilmektedir. Bu dokularda CaSR çok sayıda hücreli faaliyeti düzenlemektedir (5). Bu sebeple kan kalsiyum seviyesine CaSR geninin ne

samanı ile beslenmişlerdir. Keçiler 4m²/baş kapalı ve 8m²/baş açık zemin alanlı ağılda barındırılmışlardır.

Çalışma, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onay alınarak yürütülmüştür (Karar no:2014-07/10). Laktasyonun 1, 3, 5 ve 7. aylarında her keçiden V. jugularis'den EDTA'lı 5 ml kan alınmıştır. Alınan kan örneklerinin plazma ve lökositleri ayrılmış ve elde edilen plazma ile lökosit örnekleri analizler yapılana kadar -80°C'de saklanmıştır.

Gen ekspresyonu

Analizler için - 80°C'den çıkarılan lökosit hücre pelletinin üzerine 1 ml trizol ilave edilmiş daha sonra lökositlerin parçalanması için 30 sn sonikasyon 30 sn soğutma protokolüne göre 3 siklus sonikasyon uygulanmıştır. TRI-Reagent kit protokolüne göre (Protokol no: T9424, Sigma- Aldrich, USA) RNA izolasyonu yapılmış ve elde edilen RNA'nın konantrasyon ve saflık ölçümü yapılmıştır (Tablo 1).

Tablo 1. RNA konantrasyon ve saflık miktarları (Ort ± Ss)

Özellik	Laktasyonun 1. ayı	Laktasyonun 3. ayı	Laktasyonun 5. ayı	Laktasyonun 7. ayı
Konantrasyon (ng/ µl)	448.28±227.76	652.62±193.12	722.29±247.43	504.80±142.83
Saflık (A260/280)	1.99 ± 0.23	1.87 ± 0.16	1.85 ± 0.09	1.84 ± 03

derecede etkilediğini bilmek tüm sistem bakımından oldukça önemlidir.

Kalsiyumun meme bezinden süte geçişi sırasında transport yolu kan plazmasıdır (2). Laktasyonun erken ya da geç dönemlerinde kanda bu geçişe bağlı olarak hipokalsemi şekillenebilmektedir. Özellikle Damascus keçisi gibi sütçü özelliği ile tanınan ırklarda böyle sorunlara sıklıkla rastlanabilmektedir. Laktasyon süresince kaybolan kalsiyumun kandaki değişimi ve özellikle laktasyon süresince kandaki kalsiyum seviyesindeki değişimin gen ekspresyonu ile ilgili herhangi bir bilgi bulunmamaktadır. Bu çalışmada laktasyon dönemindeki keçilerde plazma kalsiyum seviyesi ve buna CaSR geninin etkisi araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem

Tablo 2. CaSR ve RPLP0 genlerinin çoğaltılması için kullanılan primer dizileri

Gen	Sekans	Accession no	Kaynak
CaSR	Forward	CGAGACGCCTTACATGGATTAT	-
	Reverse	TTGTAGGGCATGGGCAATAG	
RPLP0	Forward	CAACCCTGAAGTGCTTGACAT	NM_001012682.1
	Reverse	AGGCAGATGGATCAGCCA	

Konantrasyon bakımından uygun olan örnekler cDNA'ya dönüştürülmüştür. Yeterli konantrasyona ulaşılamayan örneklerde tekrar izolasyon yapılarak bu durum ortadan kaldırılmıştır. cDNA sentezi için; total RNA'dan 5µl, oligo (dT) Primerden 1µl, 4 µl 5x Reaction Buffer, 1 µl RiboLock RNase Inhibito, 2µl 10 mM dNTP Mix, 1 µl Revert Aid M-MuLVRT ve 6 µl Nuclease free su ilave edilen tüpler 60°C'de 42 dk, 25°C'de 5 dk, 42°C'de 60 dk ve 70°C'de 5 dk inkübe edilen protokolü uygulanmıştır. Elde edilen cDNA örnekleri 100 µl'ye ulaşacak şekilde DEPC'li su ile sulandırarak RT- qPCR uygulamaları için -20°C'de muhafaza edilmiştir.

CaSR geninin ekspresyon seviyesini belirlemek için RPLP0 (Ribosomal Protein Large Subunit P0) house-

Hayvan materyali

Araştırmanın hayvan materyalini 2. ya da 3. doğumunu yapmış 10 baş Damascus ırkı keçi oluşturmuştur. Keçiler ikiz doğum yapmış olup çalışma boyunca 1,2 kg/baş/gün konsantre yem ve 1 kg/baş/gün buğday

keping gen olarak kullanılmıştır (8). Her örnek duplike olarak amplifiye edilmiştir. Amplifikasyon için 5µl cDNA, 10 µl SYBR Green Master Mix (Sso Advanced Universal SYBR Green Supermix, Bio- Rad, USA), 4 µl Primer (Forward- Reverse) ve 1 µl Nuclease free su ile hazırlanan 20 µl'lik örnekler RT-qPCR'da

(Rotor Gene, Qiagen) amplifiye edilmişlerdir. RT-qPCR protokolü; 10 dk 95°C'de, 15 sn 95°C'de, 60 sn 60°C'de (40 siklus) ve 30 sn 72°C olarak ayarlanmıştır.

CaSR geninin primer dizisi Primer3 Input (Version 0.4.0) programında proje ekibi tarafından tasarlanmış NCBI, ENSEMBL ve BLAST kontrolleri yapılarak sadece ilgili bölgeyi çoğaltıkları teyit edilmiştir. Kullanılan primer dizileri Tablo 2'de verilmiştir.

Plazma kalsiyum ölçümü

Plazma kalsiyum seviyesini belirlemek için; 0.5 ml plazma örneklerinin üzerine 10 ml Nitrik Asit ilave edilerek 6 saat süreyle kapalı devre yaş yakma uygulanmıştır. Geri soğutucu ile toplanan nitrik asitten sonra örneklerin üzerine 10 ml ultra saf su ilave edilerek soğumaya bırakılmıştır. Soğuyan örnekler 1 numara Watmann filtresinden geçirilerek 50 ml'lik falkon tüplere alınmıştır. Falkon tüplerdeki örnekler 25 ml hacme ulaşana kadar ultra saf su ile tamamlanmıştır. İlgili örneklerde kalsiyum ölçümü için MP-AES (AgilentTech, USA) cihazından yararlanılmıştır. Cihaz çalışma koşulları; alıkonma süresi 30 sn, durulama süresi 15 sn, sabitleme süresi 25 sn, pompa hızı 15 rpm, dalga boyu 393 nm, nebulizer basıncı 120 kPa olarak ayarlanmıştır.

İstatistiksel analiz

İstatistik analizlerde IBM SPSS 20 (SPSS Inc. ABD) paket program kullanılmıştır. Plazma kalsiyum değeri için laktasyon aylarına göre değişimin istatistik önem kontrolü Friedman testi ile belirlenmiştir. İkili gruplar (laktasyonun 1. ayı- 3. ayı; laktasyonun 1. ayı- 5. ayı; laktasyonun 1. ayı- 7. ayı) arasındaki farklılığın karşılaştırması Wilcoxon testi ile yapılmıştır. Gen ekspresyonu verileri $2^{-\Delta\Delta Ct}$ (19) yöntemine göre değerlendirilerek Fold Change ve Fold Regulation olarak verilmiştir.

Bulgular

Laktasyon boyunca (1., 3., 5. ve 7. aylarda) alınan plazma örneklerinin kalsiyum seviyesi Tablo 3' de verilmiştir.

Tablo 3. Damascus keçilerinde laktasyon döneminde plazma kalsiyum düzeyleri [Ortanca (Yüzdellik dilim %25-75) (n=10)]

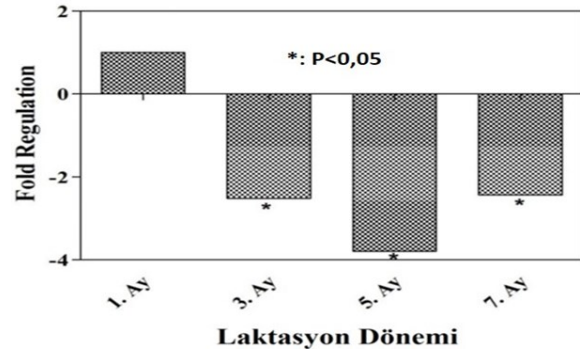
Özellik	Laktasyonun 1. ayı	Laktasyonun 3. ayı	Laktasyonun 5. ayı	Laktasyonun 7. ayı	P değeri
Plazma Kalsiyum seviyesi (mg/dl)	9.63 ^a (8.49-10.07)	9.57 ^a (8.58-10.73)	8.64 ^b (8.09-9.31)	8.32 ^b (7.32-8.81)	0.021

^{a, b}: Aynı satırda farklı harfleri taşıyan gruplar birbirinden farklıdır (P<0.05).

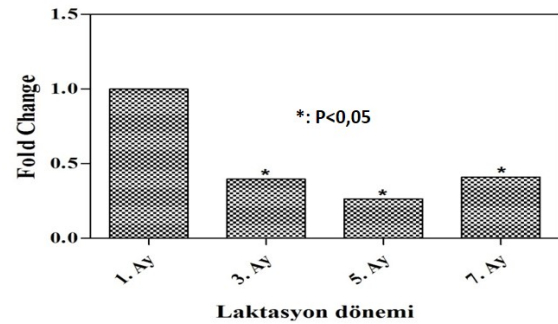
Plazma kalsiyum seviyesi bakımından laktasyonun 1. ve 3. ayına göre diğer aylarda anlamlı bir azalma tespit edilmiştir (P<0.05).

RT- qPCR da analizleri gerçekleştirilen CaSR genine ait ekspresyon seviyesi Fold Change ve Fold Regulation olarak gösterilmiştir (Şekil 1 ve 2). Laktasyonun

1. ayı kontrol olarak kabul edildiği zaman diğer aylarda CaSR geninin ekspresyon seviyesinde önemli düzeyde down-regülasyon olduğu belirlenmiştir (P<0.05).



Şekil 1. Laktasyon dönemindeki CaSR geninin ekspresyon seviyesi (Fold Regulation)



Şekil 2. CaSR geninin laktasyon dönemindeki ekspresyon seviyesi (Fold Change)

Tartışma ve Sonuç

Keçi sütü içeriğinde mineral maddeler (Ca, Mg, P vs.) başta olmak üzere besleyici birçok unsur bulunmaktadır (6). Bu nedenle de iskelet gelişimi için gerekli olan tüm kalsiyumu içermektedir. Sütteki kalsiyum oranı %13 olup laktasyon süresince bu oran değişkenlik göstermektedir. Zira sütle atılan kalsiyumun, CaSR gen regülasyon mekanizmaları ile kompanse edilmeye çalışıldığı düşünülmektedir.

Keçilerde gebelik döneminde kalsiyum ihtiyacı günde 10.5 g iken laktasyon döneminde bu miktar 30 g'a kadar yükselmektedir (15). Doğumla birlikte laktasyonun başlamasıyla da kalsiyum ihtiyacı artmaktadır. Her litre süt ile 1-1.5 g kalsiyum atılmaktadır (1). Doğum sonrası erken dönemde kalsiyum mobilizasyonundaki yetersizlik, ruminantlar için önemli bir sorun

teşkil etmektedir. Bu kritik süre boyunca kana kalsiyum sağlamak için kemikten kalsiyum mobilizasyonunun arttığı yapılan çalışmalar ile kanıtlanmıştır (17,18). Yapılan çeşitli çalışmalar ile, laktasyon dönemindeki keçilerin sütle birlikte sürekli kalsiyum kaybettiklerini bildirmişlerdir (3,9). Liesegang ve ark. (16), laktasyon dönemindeki *Saanen* keçileri ile yaptıkları çalışmada süttteki total kalsiyum miktarını laktasyonun 1., 2., 3. ve 4. aylarda sırasıyla 8.1; 4.8; 4.0 ve 3.8 (g/gün) olarak bildirmişlerdir. Bu çalışmaların tamamında sütle eksrete edilen kalsiyumun genetik regülasyonu hakkında bir fikir bulunmamaktadır. Ancak CaSR geninin vücutta kalsiyum homeostazında primer etkili gen olması sebebi ile laktasyondaki kalsiyum kaybını düzenlediği düşünülmektedir. Yakan ve ark. (28), laktasyondaki *Damascus* keçilerinde yaptıkları çalışmada laktasyonun 1., 3., 5. ve 7. aylarında süt kalsiyum seviyesini sırasıyla 1156, 594, 485 ve 629 µg/lt olarak bildirmişlerdir. Bu çalışmada laktasyon süresince tespit edilen kan kalsiyum seviyesindeki azalma (laktasyonun 1., 3., 5. ve 7. aylarında sırasıyla 9.63; 9.57; 8.64 ve 8.32 mg/dl), Yakan ve ark. (28)'nin laktasyonun 5. ve 7. aylarında belirttikleri süt kalsiyum seviyesindeki azalma ile uyum göstermektedir. Laktasyonun 3. ayında 1. aya göre sütte kalsiyum seviyesi önemli düzeyde (1156 µg/lt'den 594 µg/lt'ye) azalır iken benzer bir etki kanda olmamıştır (9.63 mg/dl'ye karşı 9.57 mg/dl). Bu durum sütle ekstrete olan kalsiyumun kan tablosunda bir müddet regüle olabildiğini ancak laktasyon ile meydana gelen kalsiyum kaybının devam etmesi halinde (laktasyonun 5. ve 7. ayı) benzer tablonun kana da yansıdığını göstermiştir.

Yapılan çalışmalarda (23, 26) laktasyon döneminde özellikle kalsiyum depolarında azalma meydana geleceğinden diyetle kalsiyum alınması önerilmektedir. Laktasyondan sonra kemik yoğunluğundaki kazancın yine yemle alınacak kalsiyum ile artacağı düşünülmektedir. Thomas ve Weisman (26) yaptıkları çalışmada, maternal kalsiyum depoları tükendiği takdirde, kemik sağlığı üzerinde olumsuz etkilerini belirterek gebelik ve laktasyon sırasında özellikle önemli olduğunu vurgulamışlardır. Ntailianas ve Whitney (23), yapmış oldukları çalışmada süt ile atılan kalsiyumun laktasyon sonrasında tekrar vücutta biriktiğini bildirmişlerdir. Laktasyon süresince azalan kalsiyum rezervlerinin CaSR ile korunmaya çalışıldığı düşünülmektedir. Yapılan bu çalışmada laktasyonun 1. ayına göre laktasyonun 3, 5 ve 7. aylarında CaSR geni önemli seviyede down-regüle olmuştur ($P<0.05$). Böylece kalsiyum mobilizasyonunu azaltarak rezervler korunmaya çalışılmıştır. Başka bir ifade ile, laktasyon ile meydana gelen kalsiyum kaybının CaSR geninin homeostaz yeteneği ile düzenlenmeye çalışıldığı ortaya konulmuştur.

Kohler ve ark. (13), tarafından yapılan bir çalışmada, laktasyondaki keçilerde serum kalsiyum miktarı ölçülmüş, laktasyonun ilerlemesiyle birlikte kalsiyum sevi-

yesinin azaldığı bildirilmiştir. Bu bulgular mevcut çalışmaya ait bulgular ile uyumludur. Samardžija ve ark. (25), puerperium dönemdeki *Boer* keçilerinde yaptıkları çalışmada serum kalsiyum miktarının 2.29- 2.39 (mmol/L) olarak bildirmişler ve laktasyonun ilk 40 gününde plazma kalsiyum seviyesi takip edilmiş ve laktasyon ile birlikte sabit bir seviye tespit edilmiştir. Bu bulgular mevcut çalışmanın bulguları ile uyum göstermektedir. Zira bu çalışmada da plazma kalsiyum seviyesinde laktasyonun 1 ve 3. aylarında benzer olarak anlamlı bir azalma görülmemiş ve sabit kalmıştır.

Farklı keçi ırklarında yapılan çalışmalarda serum kalsiyum seviyeleri 2.11-2.90 (mmol/lt) olarak bildirilmiştir (7,12). Mbassa ve Poulsen (21), laktasyon döneminde bulunan Danimarka keçi ırkında yaptıkları çalışmada serum kalsiyum seviyesinin laktasyonun ilerlemesi ile düşüş gösterdiğini bildirmişlerdir. *Damascus* keçilerinde yapılan bu çalışmada plazma kalsiyum seviyesi bakımından tespit edilen bulgular Danimarka keçi ırkı ile benzerlik göstermiştir.

Milewskil ve ark. (22), koyunlarda serum kalsiyum miktarını laktasyonun ilk döneminde 2.53 (mmol/lt) olarak bildirirken, laktasyonun ilerleyen zamanlarında bu seviyenin düzenli olarak azaldığını bildirmişlerdir. Mevcut çalışmada *Damascus* keçilerinden laktasyonun 1, 3, 5 ve 7. aylarında alınan plazma örnekleri üzerinde yapılan kalsiyum ölçümü sonuçlarına göre laktasyonun 1 ve 3. aylarında tespit edilen değerler (9.63 ve 9.57 mg/dl) birbirlerine benzer olurken, 5. ve 7. aylarda ise bu değerlerde azalma (8.64 ve 8.32 mg/dl) tespit edilmiştir. Laktasyondaki koyunlarda serum kalsiyum seviyesi için tespit edilen düzenli azalmanın keçilerde meydana gelmediği gözlenmiştir. Bu durumun koyun ve keçiler için hem tür hem de beslenme farkından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Ardeshirpour ve ark. (24) yaptıkları çalışma ile paratiroid ve renal CaSR arasındaki sinyalleşmelerin normal kalsiyum homeostazında kritik olduğunu bildirmişlerdir. Böbrek ve tiroid bezi üzerinde yapılan çalışmalara destek olarak bu çalışma ile CaSR geninin kanda da kalsiyum salınımını regüle ettiği ortaya konulmuştur. Zira, süte kalsiyum geçişinin kaynağı olan kanda CaSR geni laktasyon ilerledikçe laktasyonun başına göre down-regüle olmaktadır ($P<0.05$). Bu nedenle CaSR geninin down-regülasyonuna bağlı olarak kana dolayısıyla süte kalsiyum geçişinin azaldığı düşünülmektedir. Bir başka ifade ile; laktasyon döneminde artan kalsiyum talebini karşılamak için kemikten kana kalsiyum geçişi de artmaktadır. Fakat laktasyonun ilerleyen dönemlerinde artan kemik kaybını önlemek için CaSR' nin ekspresyon seviyesinde de azalma olduğu belirlenmiştir.

Laktasyonun 1., 3., 5. ve 7. aylarında kan örneklerinden izole edilen RNA ile CaSR ekspresyon seviyesi ölçülmüştür. CaSR'nin ekspresyon seviyesi laktasyon

dönemi başlarına göre daha sonraki süreçte down-regüle olduğu gözlemlenmiştir ($P < 0.05$). Keçilerde CaSR gen ekspresyonunun laktasyon sırasında zamanla down-regüle olması ile bireyin hipokalsemi riskinin azaltıldığı düşüncesi oluşmaktadır. Bu çalışma sırasında yapılan literatür tarama bilgileri ve çalışma bulguları beraber değerlendirildiğinde; tür, ırk, yaş, doğum tipi ve beslenme gibi faktörlerin CaSR gen ekspresyonu ve plazma kalsiyum seviyelerini etkileyebileceği düşünülmektedir. Bu sebeple ilgili özelliklerin CaSR gen ekspresyonu ile ilişkisi hakkında yeni çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Kaynaklar

- Allen WM, Samson BF. Milk fever and calcium metabolism. *J Vet Pharma Therap* 1985; 8(1): 19-29.
- Ardeshirpour L, Dann P, Pollak M, Wysolmerski J, VanHouten J. The calcium-sensing receptor regulates PTHrP production and calcium transport in the lactating mammary gland. *Bone* 2006; 38(6): 787-93.
- Brendehaug J, Abrahamsen RK. Chemical composition of milk from a herd of Norwegian goats. *J Dairy Res* 1986; 53(2): 211-21.
- Brennan SC, Conigrave AD. Regulation of cellular signal transduction pathways by the extracellular calcium-sensing receptor. *Current Pharma Biotech* 2009; 10(3): 270-81.
- Brown EM, MacLeod RJ. Extracellular calcium sensing and extracellular calcium signaling. *Physiol Rev* 2001; 81(1): 239-97.
- Coşkun H, Öndül E. Keçi sütü ve insan beslenmesindeki önemi. Sekizinci Gıda Kongresi. Mayıs, 26-28, 2004; Bursa- Türkiye.
- Erdoğan S, Ergün Y, Erdoğan Z, Konaş T. Hatay bölgesinde merada yetiştirilen koyun ve keçi serumlarında bazı mineral madde düzeyleri. *Turk J Vet Anim Sci* 2002; 26: 177-82.
- Finot L, Marnet PG, Dessauge F. Reference gene selection for quantitative realtimePCR normalization: application in the caprine mammary gland. *Small Rumin Res*, 2011; 95: 20-6.
- Fleet IR, Peaker M. Mammary function and its control at the cessation of lactation in the goat. *J Physiol* 1978; 279(1): 491-507.
- Günlü A, Alaşahan S. Türkiye'de keçi yetiştiriciliği ve geleceği üzerine bazı değerlendirmeler. *Vet Hek Der Derg* 2010; 81 (2): 15-20.
- Harpio R, Einarsson R. S100 proteins as cancer biomarkers with focus on S100B in malignant melanoma. *Clin Biochem* 2004; 37 (7): 512-8.
- Hoffmann WE, Solter PF. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. Kaneko JJ, Harvey W, Bruss ML eds. Diagnostic enzymology of domestic animals. Sixth edition. San Diego: Elsevier Academic Press. 2008; pp. 351-78.
- Kohler M, Leiber F, Willems H, Merbold L, Liesegang A. Influence of altitude on vitamin D and bone metabolism of lactating sheep and goats. *J Anim Sci* 2013; 91(11): 5259-68.
- Kirby BJ. Ardeshirpour L, Woodrow JP, Wysolmerski JJ, Sims NA, Karaplis AC, Kovacs CS. Skeletal recovery after weaning does not require PTHrP. *J Bone & Mineral Res* 2011; 26(6): 1242-51.
- Liesegang A, Riner K, Boosb A. Effects of gestation and lactation on Vitamin D receptor amounts in goats and sheep. *Domestic Anim Endocrin* 2007; 33(2):190-202.
- Liesegang A, Risteli J, Wanner M. Bone metabolism of milk goats and sheep during second pregnancy and lactation in comparison to first lactation. *J Anim Physiol Anim Nutri* 2007; 91(5-6): 217-25.
- Liesegang A, Risteli J, Wanner M. The effects of first gestation and lactation on bone metabolism in dairy goats and milk sheep. *Bone* 2006; 38(6): 792-802.
- Liesegang A, Sassi ML, Risteli J, Eicher R, Riond JL, Wanner M. Comparison of bone resorption markers during hypocalcemia in dairy cows. *J Dairy Sci* 1998; 81(10): 2614-22.
- Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. *Methods* 2001; 25 (4): 402-08.
- Mamillapalli R, Wysolmerski J. The calcium-sensing receptor couples to Gas and regulates PTHrP and ACTH secretion in pituitary cells. *J Endocrin* 2010; 204 (3): 287-97.
- Mbassa GK, Poulsen JSD. Influence of pregnancy, lactation and environment of haematological profiles in danish landrace dairy goats (*capra hircus*) of different party. In *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comp Biochem* 1991; 100(2): 403-12.
- Milewskil S, Sobiech P, Zqbekl K, Zarczyrska K, Antoszkiewicz Z, Wielgosz-Groth Z. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* yeast on milk protein content and composition and serum mineral concentrations in sheep. *J Element* 2012; 17(1): 79-

86.

23. Ntalianas HA, Whitney RM. Calcein as an indicator for the determination of total calcium and magnesium and calcium alone in the same aliquot of milk. *J Dairy Sci* 1964; 47(1): 19-27.
24. Pineda MH, Dooley, MP. eds. Mc Donald's Veterinary Endocrinology and Reproduction. In: The calcium regulation hormones: Parathyroid hormone, calcitonin and cholecalciferol. 5th Revised edition. Ames, AI: Iowa State University Press, 2003; pp. 71-140.
25. Samardzija M, Dobranic T, Lipar M, Harapin I, Prvanovic N, Grizelj J, Gracner GG, Dobranic V, Radisic B, Duricic D. Comparison of blood serum macromineral concentrations in meat and dairy goats during puerperium. *Veterinarski Arhiv* 2011; 81(1): 1-11.
26. Thomas M, Weisman SM. Calcium supplementation during pregnancy and lactation: Effects on the mother and the fetus. *American J Obst Gynecol* 2006; 194(4): 937- 45.
27. Yakan A. Koyun ve keçilerde süt verim kontrol yöntemleri ve laktasyon süt veriminin hesaplanması. *AVKAE Dergisi* 2012; 18-23.
28. Yakan A, Ozkan H, Eraslan Şakar A, Ateş C T, Ünal N, Koçak Ö, Doğruer G, Özbeyaz C. Milk yield and quality traits in different lactation stages of Domascus goats: Concentrate and pasture based feeding systems. *Ankara Univ Vet Fak Derg*, 2019; 66 117-129.