



Uticaj stresnog odgovora posle teljenja na krvnu sliku krava u ranoj laktaciji

Marko R. Cincović^{a*}, Branislava Belić^a, Jože Starič^b, Jožica Ježek^b, Radojica Doković^c

^aUniverzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Departman za veterinarsku medicinu - Laboratorija za patološku fiziologiju, Novi Sad, Srbija

^bUniverzitet u Ljubljani, Veterinarski fakultet, Klinika za velike životinje i reprodukciju, Sekcija za preživare, Ljubljana, Slovenija

^cUniverzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet, Čačak, Srbija

*Autor za kontakt: mcincovic@gmail.com

SAŽETAK

Teljenje i početak laktacije kod mlečnih krava predstavlja najznačajniji stresogen. Stresna reakcija se razvija u dva pravca: povećanje aktivnosti nadbubrežne žlezde sa porastom koncentracije kortizola kao posledica klasične stresne reakcije i povećanje lipidne mobilizacije sa porastom koncentracije neesterifikovanih masnih kiselina (NEFA) kao posledica metaboličkog stresa i povećanih energetske potrebe. Kortizol i NEFA značajno utiču na fiziologiju uobličeni elemenata krvi. Cilj ovog rada je da se ispita uticaj kortizola i NEFA u nedelji posle teljenja na vrednost parametara krvne slike kod krava u ranoj laktaciji. U ogled je uključeno 50 krava. Krv je uzeta u 1, 2, 4 i 8 nedelji posle teljenja. U prvoj nedelji je određena koncentracija kortizola i NEFA, a u svim nedeljama je određena kompletna krvna slika (eritrociti, hemoglobin, leukociti, neutrofili, limfociti, N:L odnos, eozinofili, monociti) i vijabilnost leukocita). Krave su klasifikovane na osnovu medijalne vrednosti kortizola i NEFA na grupu koja je više opterećena stresom (iznad medijalne vrednosti; kortizol^{Me+} i NEFA^{Me+}) i na grupu koja je manje opterećena stresom (ispod medijalne vrednosti; kortizol^{Me-} i NEFA^{Me-}). Krave koje pripadaju NEFA^{Me+} grupi pokazuju manji broj eritrocita, nižu koncentraciju hemoglobina, manji broj leukocita, veći broj neutrofila i veći odnos N:L u prvoj i drugoj nedelji posle partusa u odnosu na krave NEFA^{Me-} grupe. Krave koje pripadaju kortizol^{Me+} grupi pokazuju tipičan stresni leukogram u prvoj nedelji posle teljenja, pa one imaju veći broj neutrofila, manji broj limfocita, manji broj eozinofila i veći broj monocita, kao i veći N:L odnos. Kod krava opterećenih metaboličkim stresom (NEFA^{Me+} i kortizol^{Me+}) postoji niža vijabilnost leukocita u prvoj i drugoj nedelji posle teljenja. Stresno opterećenje krava utiče na krvnu sliku u prvoj i drugoj nedelji posle teljenja. Stresno i metaboličko opterećenje krava u ranoj laktaciji imaju isti uticaj na parametre krvne slike.

KLJUČNE REČI

Krave, krvna slika, stres, kortizol, NEFA.

Uvod

Kod mlečnih krava brojni faktori imaju uticaj na hematološke parametre. Mlečne krave imaju niže vrednosti parametara eritrocitne loze u odnosu na tovne rase, dok u okviru mlečnih rasa najnižu vrednost hemoglobina ima crno-beli Holštajn. U peripartalnom periodu, posebno na sam dan porođaja i u prvim danima laktacije krave imaju manji broj eritrocita i nižu koncentraciju hemoglobina (Klinkon i Zadnik, 1999; Sattar i Mirza 2009; Mirzadeh i sar., 2010; Belić i sar., 2011). Postojanje anemije i snižena koncentracija hemoglobina uz metaboličko opterećenje i povišenu koncentraciju NEFA mogu predisponirati krave ka nastanku peripartalne inflamacije uterusa (Belić i sar 2012). Ketoza kod krava u peripartalnom periodu ima uticaja na eritrocitnu lozu koja može pokazati znake anemije (Belić i sar., 2010). Intenzitet lipolize i ketogeneze u peripartalnom periodu je u negativnoj korelaciji sa vrednostima crvene krvne loze (Cincović i sar., 2012). Pokazano je da hemoliza eritrocita ima u osnovi energetske promene u eritrocitu i promene u vrednosti ATP (Cincović i sar., 2016)

Kod mlečnih krava laktacija ne utiče značajno na parametre bele krvne loze, ali endokrinološke promene, peripartalni stres i razvoj infekcija značajno menjaju krvnu sliku krava u peripartalnom periodu. U peripartalnom periodu dolazi do opadanja ukupnog broja leukocita (Klinkon i Zadnik, 1999; Sattar i Mirza 2009; Mirzadeh i sar., 2010; Belić i sar., 2011). Pad broja leukocita slabi odbrambene sposobnosti organizma, a krave su posebno predisponirane mastitisu ako imaju nisku vrednost eozinofila, odnosno metritisu ako postoji niska vrednost monocita (Belić i sar., 2012).

Zapaljenske reakcije i diferencijalna bela loza kod krava moraju se drugačije posmatrati, jer postoje specifičnosti krvne slike i to: visok procenat limfocita (60-80%) i slaba ili nikakava rezerva mladih granulocita u kostnoj srži. Tokom zapaljenske reakcije kod goveda dolazi do pada broja neutrofilnih

granulocita uz pad ukupnog broja leukocita, pa su neutropenija i leukopenija prvi znaci u akutnoj upali. Tek nakon nekoliko dana ubrzava se leukopoeza i mladi neutrofilni granulociti izlaze u cirkulaciju, ali je taj proces klinički često neprimećen zbog brzog trošenja. U akutnim upalama gnojnog tipa postoji leukopenija, limfopenija i neutropenija sa skretanjem u levo. Ako životinja preživi akutnu fazu dešavaju se kompenzacije u beloj lozi, tako da raste broj neutrofilnih granulocita a broj limfocita opada, pa njihov odnos postaje inverzan (Kovačević-Filipović, 2007). Aplikacija nesteroidnih antiinflamatornih lekova kao što je ketoprofen dovodi do izmena u krvnoj slici kod krava u ranoj laktaciji (Kovačević i sar., 2015)

Odnos neutrofila i limfocita (N:L odnos) je značajan pokazatelj zdravlja i stresne opterećenosti životinja (Davis i sar., 2008). Ovaj odnos kod odraslih goveda iznosi približno 0,5:1. U periodu oko teljenja kod krava postoji tipičan stresni leukogram, koji se odlikuje neutrofilijom, limfopenijom, eozinopenijom i varijabilnom monocitozom. Akutni stres i hiperkortizolemija dovode do porasta koncentracije neutrofila povlačenjem ovih ćelija u centralni pul krvotoka, dok limfociti migriraju ka periferiji, tako da dolazi do porasta odnosa neutrofila i limfocita (N:L odnos često preko 1) (Tornquist i Rigas, 2010).

In vitro ispitivanja na imunološkim progenitornim ćelijama kostne srži su pokazala da ketonska tela i kortizol imaju uticaj na funkcionalni status ovih ćelija (Hoeben i sar., 1999). Endogeni kortizol kod krava može ispoljiti uticaj na imunološke ćelije bez obzira na nagli porast i brz pad njegove koncentracije (Cebra i sar., 2003). Povišena koncentracija NEFA u peripartalnom periodu dovodi do promena u celularnom imunološkom odgovoru modifikacijom intracelularnih signala, kontrolom ekspresije gena, aktivacijom transkripcionih faktora, indukcijom apoptoze i modifikujući produkciju lipidnih aktivnih medijatora. Promene u sastavu serumskih NEFA mogu direktno da utiču na sastav fosfolipida u leukocitima, što umanjuje njihovu funkciju (Contreras i sar., 2010).

Cilj ovog rada je da se utvrdi uticaj povišene koncentracije kortizola i NEFA u stresnom odgovoru kod krava na vrednost hematoloških parametara i vijabilnost leukocita.

Material i metod rada

U ogled je uključeno 50 krava Holštajn-frizijske rase u drugoj i trećoj laktaciji, koje nisu pokazale nikakve znake poremećaja zdravlja u predhodnoj laktaciji, a imale su prosečnu proizvodnju mleka oko 7000 litara. Krave su hranjene miksovanim obrokom kojim se zadovoljavaju kompletne potrebe krava. Krave uzimaju vodu ad libitum.

Uzorci krvi su uzimani u prvoj, drugoj, četvrtoj i osmoj nedelji posle partusa. Vršena je venepunkcija *vene jugularis* kod krava u periodu od 11-14 časova kako bi se izbegao uticaj muže i prandijalni efekat na metabolite kod krava.

Uzorci krvi su uzimani u vakutajnere i stavljeni u priručni frižider. Vreme od momenta uzimanja uzoraka krvi do njene obrade u laboratoriji (odvajanje seruma) iznosilo je oko 3 sata. Uzorci krvi su odmah korišćeni za hematološku i biohemijsku analizu, a po potrebi serum je bio zamrzavan na -20°C za određene analize na koje je trebalo čekati.

Koncentracija hormona je određena ELISA metodom prema standardnim instrukcijama proizvođača. Korišćen je čitač mikrotitar ploča marke *Rayto*. Određivanje kortizola vršeno je pomoću kompetitivne ELISA metode (*Uscn Life Science*). Metabolički profil krava određivan je u svakoj nedelji uzorkovanja krvi. Korišćene su fotometrijske reakcije i fotometar proizvođača *Rayto*. Koncentracija NEFA određivana je kolorimetrijskom reakcijom koja se zasniva na acilaciji koenzima A od strane masnih kiselina u prisustvu dodane acil-CoA sintetaze kao katalizatora (proizvođač *Randox*).

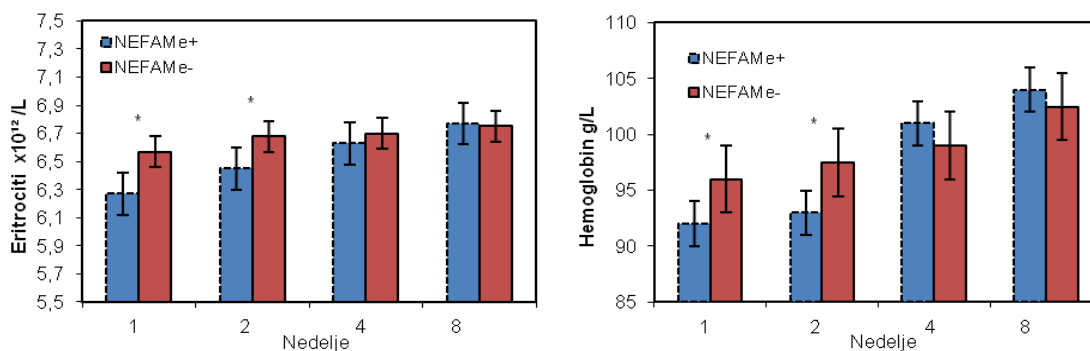
Hematološka ispitivanja vršena su u svim nedeljama ogleda i podrazumevala su: određivanje broja eritrocita, određivanje koncentracije hemoglobina, određivanje ukupnog broja leukocita, diferencijalne bele loze i odnosa neutrofila i limfocita. Sve hematološke analize vršene su na hematološkom analajzeru *Hemavet 950* sa softverom za goveda. Vijabilnost leukocita se ispituje posle bojenja sa tripan plavim (*eng., trypan blue*), koja je diazo boja. Zbog selektivne propustljivosti membrane, žive ćelije se ne prebojavaju ovom bojom. Međutim, kod mrtvih ćelija i ćelija sa oštećenom membranom ova broja prolazi prebojavajući ćeliju plavo. Korišćena je boja od proizvođača *Sigma Aldrich*, koja je namenjena mikroskopskom posmatranju i brojanju ćelija. Određena zapremina 0,4% rastvora boje se pomeša sa istom zapreminom leukocita i potom se pažljivo stavlja u hemocitometar. Napunjen hemocitometar se inkubira 1-2 minuta na sobnoj temperaturi i potom se vrši brojanje. Procenat vijabilnosti se izračunava po formuli: % vijabilnosti = $[1.00 - (\text{broj plavih ćelija} / \text{ukupan broj ćelija})] \times 100$.

Krave će biti klasifikovane prema vrednostima medijane NEFA i kortizola u prvoj nedelji posle teljenja na sledeće grupe: NEFA^{Me-}; NEFA^{Me+} i kortizol^{Me-}; kortizol^{Me+}. Za utvrđivanje razlike u

hematološkim parametrima između krava koje imaju vrednosti NEFA i kortizola iznad i ispod medijane korišćen je t-test.

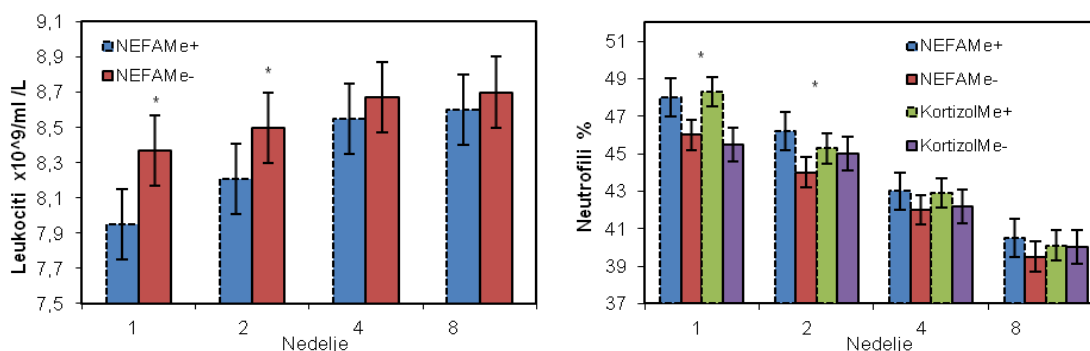
Rezultati i diskusija

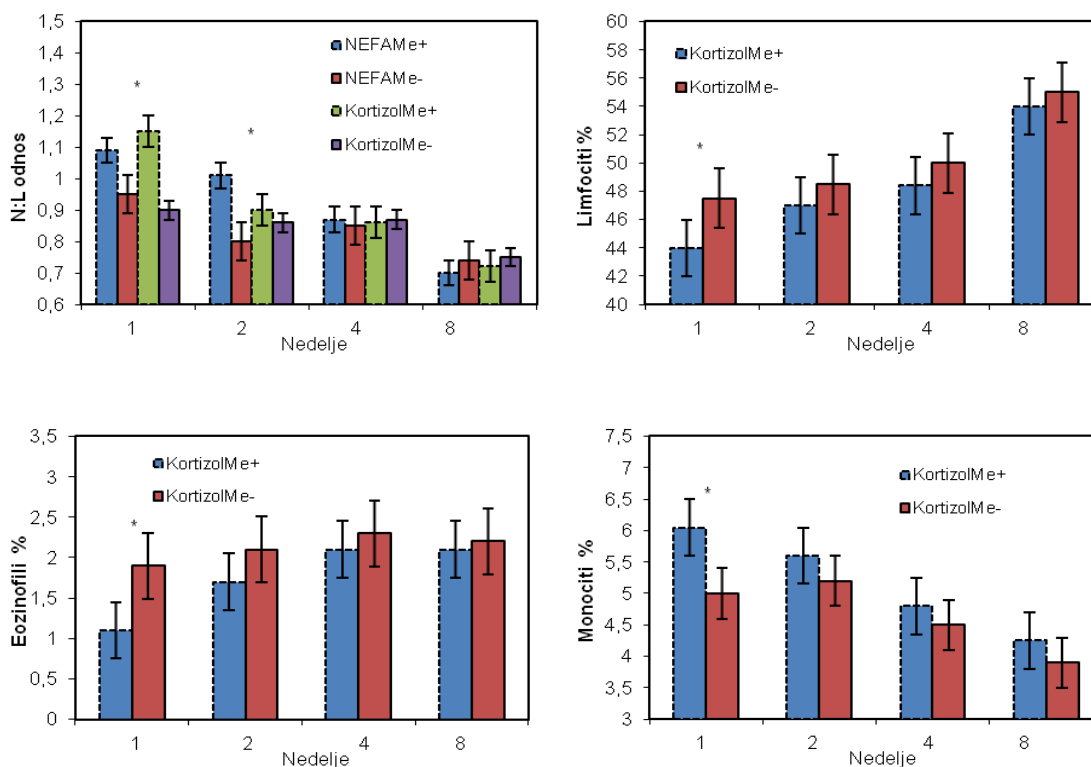
U ispitivanju uticaja indikatora metaboličkog stresa na vrednost parametara krvne slike nađeno je da klasifikacija krava prema vrednostima NEFA i kortizola daje signifikantne razlike u crvenoj i beloj krvnoj lozi (Grafikon 1-9). Krave koje pripadaju NEFA^{Me+} grupi pokazuju manji broj eritrocita, nižu koncentraciju hemoglobina, manji broj leukocita, veći broj neutrofila i veći odnos N:L u prvoj i drugoj nedelji posle partusa u odnosu na krave NEFA^{Me-} grupe. Krave koje pripadaju kortizol^{Me+} grupi pokazuju tipičan stresni leukogram u prvoj nedelji posle teljenja, pa one imaju veći broj neutrofila, manji broj limfocita, manji broj eozinofila i veći broj monocita, kao i veći N:L odnos. Klasifikacija prema kombinovanom uticaju anaboličkih i kataboličkih indikatora stresa nije dala signifikantne razlike. Pored signifikantnog uticaja NEFA i kortizola na krvnu sliku i diferencijalnu belu lozu, isti uticaj postoji i kada je u pitanju vijabilnost leukocita. Kod krava opterećenih metaboličkim stresom (NEFA^{Me+} i kortizol^{Me+}) postoji niža vijabilnost leukocita u prvoj i drugoj nedelji posle teljenja u odnosu na krave iz grupe NEFA^{Me-} i kortizol^{Me-}.



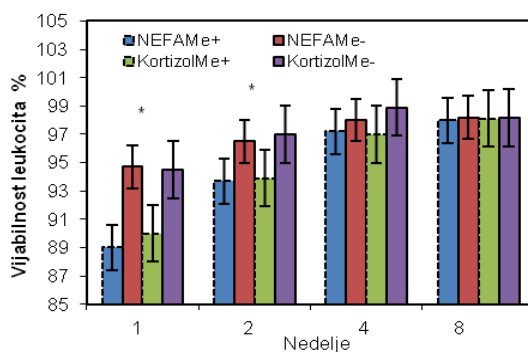
Grafikon 1 i 2. Broj eritrocita i koncentracija hemoglobina u funkciji vrednosti NEFA (Me – medijalna vrednosti).

Figure 1 and 2. RBC number and haemoglobin concentration in function of NEFA value (Me-median value).





Grafikon 3-8. Vrednosti leukocita, neutrofila, limfocita, N:L odnosa, eozinofila i monocita u funkciji vrednosti NEFA i kortizola (Me – medijalna vrednosti).
Figure 3-8. Total leukocyte, neutrophils, lymphocyte, N:L relation, eosinophils and monocyte number in function of NEFA and cortisol value (Me-median value).



Grafikon 9. Vijabilnost leukocita u funkciji vrednosti NEFA i kortizola (Me – medijalna vrednosti).
Figure 9. Leukocyte viability in function of NEFA and cortisol value (Me-median value).

Crvena krvna loza krava u ranoj laktaciji odlikuje se hipohromnim promjenama u eritrocitima i smanjenim brojem eritrocita. Snižena koncentracija hemoglobina se dovodi u vezu sa proizvodnjom mleka, obzirom da je kod junica (koje prirodno nisu u laktaciji) nađena veća koncentracija hemoglobina. Broj neutrofila bio je najveći u prvoj nedelji posle partusa, dok je broj limfocita bio najniži u istom periodu, tako da je indeks neutrofililimfociti bio najviši upravo u ovom periodu. Posle adaptacije na stresne uslove N:L odnos se vraća na fiziološki nivo u periodu 2-7 dana (Lynch i sar., 2010). Manja vrednost N:L odnosa neđena je na farmama sa dobrom negom i dobrim medicinskim tretmanom krava (Bertoni i sar., 2003). Novija istraživanja pokazuju da N/L odnos može biti veći od 1 kod potpuno zdravih krava, pa se upotreba ovog indikatora mora vršiti uz sagledavanje kompletnog zdravlja i metabolizma krava (George i sar., 2010). Krave kod kojih je 7-15 dana posle teljenja N:L odnos preko fizioloških vrednosti nalaze se u fazi prolongiranog stresa. Prolongirani stres nastaje

usled hroničnog povećanja koncentracije NEFA i BHB uz pad glikemije. Koncentracija ovih metabolita značajno korelira sa N:L odnosom (Belić i sar., 2011a). Povišene vrednosti stresnih hormona dovode do porasta neutrofila i ulaska u krvotok iz marginalnog pula. U jednom ogledu ispitan je uticaj aplikacije deksametazona na funkciju limfocita u drugoj nedelji posle partusa. Aplikacija deksametazona dovela je do značajnog porasta N:L odnosa, koji je predhodno bio u okviru fizioloških granica, na račun porasta broja neutrofila. Dakle, veštačkim podražavanjem akutne stresne reakcije dolazi do značajnog porasta broja neutrofila u nedeljama posle partusa (Thanasak, 2004). Vrednost odnosa N:L preko 1 ukazuje da su krave opterećene inflamacijom ili drugim stresorima (Latimer, 2003). Broj eozinofila je blago rastao tokom oglednog perioda, dok je broj monocita bio najveći u prvoj nedelji da bi potom opadao. Ovakve promene u diferencijalnoj belojoj lozi nastaju kao posledica delovanja akutnog stresa i naglog skoka koncentracije kortizola koji je pokazao svoj uticaj na imune ćelije. Drugi bitan faktor je u vezi sa velikim izmenama u uterusu i vimenu koje se dešavaju posle partusa i u ranoj laktaciji, gde imunološke ćelije odlaze kako bi zaštitile ove vrlo osetljive organe. Rezultati krvne slike su u skladu sa ranije dobijenim rezultatima (Mirzadeh i sar., 2010; Kovačević-Filipović, 2007; George i sar., 2010).

Vijabilnost leukocita je bila smanjena u prvim nedeljama i iznosi $92 \pm 2,9$ % u prvoj nedelji odnosno $96 \pm 3,3$ % u drugoj nedelji, da bi u četvrtoj i osmoj nedelji taj procenat porastao na oko 97%. Vrednosti za vijabilnost leukocita u prvoj nedelji su nešto niže od normalnih vrednosti koje bi trebale da budu preko 95%. Ovakav nalaz se može dovesti u vezu sa povećanom koncentracijom NEFA u ranoj laktaciji, jer je nađena dozno-zavisna vijabilnost leukocita u odnosu na koncentraciju NEFA (Scalia i sar., 2006). Postoji pozitivan trend vrednosti leukocitne vijabilnosti posle porođaja. Ovakav rezultat se slaže sa ranijim rezultatima. Promene u vijabilnosti leukocita su posebno izražene na modelu ispitivanja polimorfonukleara u mleku, kada je kod multiparih krava vijabilnost leukocita u mleku bila značajno niža u prvim danima posle teljenja. Ovaj nalaz potvrđuje da se vijabilnost u ranoj laktaciji menja, što je u duhu rezultata koji smo dobili (Mehrzad i sar., 2006). Tokom peripartalnog perioda dolazi do povećane mobilizacije lipida posebno kod gojaznih krava. Utvrđeno je da gojazne krave pokazuju značajne znake imunosupresije u peripartalnom periodu, koja se ogleda u negativnoj korelaciji između vrednosti NEFA i funkcionalnog statusa perifernih mononuklearnih ćelija (tako da se proizvodi manja količina imunoglobulina i interferona gama i smanjena je sinteza DNA) (Lacetera i sar., 2005). Pored mononukleara i polimorfonukleari su osetljivi na povišenu koncentraciju NEFA. Kod neutrofila je pronađeno da in vitro dodavanje NEFA smanjuje njihovu vijabilnost i povećava oksidativno opterećenje (Scalia i sar., 2006). Oksidativni stres dovodi do aktiviranja gena koji definišu proizvodnju proinflamatornih citokina. Proinflamatorni citokini u povećanoj količini dovode do razvoja nespecifičnih inflamatornih procesa u tkivu domaćina, što se može povezati sa metritisom ili mastitisom krava u peripartalnom periodu. Produkti lipidne peroksidacije povećavaju proinflamatorni fenotip ćelija (Sordillo i sar., 2009). Ispoljavanje proinflamatornog fenotipa dovodi do apoptoze ćelija i smanjene vijabilnosti, što za posledicu ima umanjeni imunološki odgovor. Apoptoza i snižena vijabilnost nađena je kod mononukleara i kod polimorfonukleara, a u osnovi ovih procesa nalazi se oštećenje strukture DNK (Tharwat i sar., 2012).

Zaključci

Stresni odgovor krava posle teljenja koji se odlikuje u povišenim vrednostima kortizola i NEFA u krvi značajno utiče na hematološke parametre i vijabilnost leukocita kod krava u prve dve nedelje posle teljenja. Kod analize kompletne krvne slike krava u ranoj laktaciji mora se uzeti u obzir činjenica da su krave izložene porođajnom i metaboličkom stresu.

Zahvalnica

Rad je deo projekta Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja R.Srbije TR31062 i bilateralnog projekta Srbija-Slovenija "Laboratorijski pokazatelji metaboličkog statusa krava u ranoj laktaciji".

Literatura

Belić, B., Cincović M.R., Davidov I., Lako B., Potkonjak A., Stančić I. 2012. Periparturient hematological finding in dairy cows with uterus and udder inflammation. *Contemporary agriculture*, 61(1-2): 112-118.

- Belić, B., Cincović M.R., Krčmar L.J., Vidović B. 2011. Reference values and frequency distribution of hematological parameters in cows during lactation and in pregnancy. *Contemporary agriculture*, 60: 145-151.
- Belić, B., Cincović M.R., Stevančević M., Toholj B. 2011a. Parameters of negative energy balance (NEFA, BHB and glucose) and neutrophil to lymphocyte ratio in cows after calving – comparison of two indicators of stress. 12th Middle European Buiatric Congress, Pula, Croatia, May 18-22, 281-284.
- Belić, B., Cincović M.R., Stojanović D., Kovačević Z., Vidović B. 2010. Morphology of erythrocyte and ketosis in dairy cows with different body condition. *Contemporary agriculture*, 59: 306-311.
- Bertoni, G., Trevisi E., Ferrari A., Archetti I. 2003. Preliminary studies on compatibility between high yield levels and the well-being of dairy cows. *Vet Res Commun*, 27(Suppl 1): 639-641.
- Cebra, C.K., Heidel J.R., Crisman R.O., Stang B.V. 2003. The Relationship between Endogenous Cortisol, Blood Micronutrients, and Neutrophil Function in Postparturient Holstein Cows. *J Vet Intern Med*, 17: 902-907.
- Cincović, M.R., Belić B., Radojičić B., Hristov S., Đoković R. 2012. Influence of lipolysis and ketogenesis to metabolic and hematological parameters in dairy cows during periparturient period. *Acta veterinaria (Beograd)*, 62(4): 429-444.
- Cincović, M.R., Belić B., Starić J., Ježek J., Lakić I. 2016. Adenozin trifosfat (ATP) kao indikator hemolize uzoraka krvi kod krava. *Ann. Agron.* 40: 100-104.
- Contreras, G.A., O'Boyle, Herdt T.H., Sordillo L.M. 2010. Lipomobilization in periparturient dairy cows influences the composition of plasma nonesterified fatty acids and leukocyte phospholipid fatty acids. *J.Dairy Sci.*, 93(6):2508-2516.
- Davis, A.K., Maney D.L., Maerz J.C. 2008. The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologists. *Functional Ecology*, 22, 760-772.
- George, J.W., Snipes J., Lane V.M. 2010. Comparison of bovine hematology reference intervals from 1957 to 2006. *Vet Clin*, 39 (2): 138-148.
- Hoeben, D., Burvenich C., Massart-Leën A.M., Lenjou M., Nijs G., Van Bockstaele D., Beckers J.F. 1999. In vitro effect of ketone bodies, glucocorticosteroids and bovine pregnancy-associated glycoprotein on cultures of bone marrow progenitor cells of cows and calves. *Vet Immunol Immunopathol.*, 68(2-4):229-240.
- Klinkon, M., Zadnik T. 1999. Dynamics of red and white blood picture in dairy cows during the periparturient period. *Comparative Hematology International*, 9: 156-161.
- Kovačević, Z., Stojanović D., Belić B., Davidov I., Cincović M., Radinović M., Erdeljan M. 2015. Uticaj ketoprofena na hematološki profil krava uranog laktaciji. *Ann. Agron.* 39: 66-71.
- Kovačević Filipović, M. 2007. Osobnosti krvne slike goveda tokom njihovog rasta i razvoja. Zbornik Poremećaj zdravlja krava u puerperijumu i zdravstveni status teladi, 85-100.
- Lacetera, N., Scalia D., Bernabucci U., Ronchi B., Pirazzi D., Nardone A. 2005. Lymphocyte Functions in Overconditioned Cows Around Parturition. *J. Dairy Sci.* 88:2010-2016.
- Latimer, K.S., Prasse K.W. 2003. Leukocytes. In: Duncan and Prasse's *Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology*. 4th ed. Ames, IA: Iowa State Press, 46-79.
- Lynch, E.M., Earley B., McGee M., Doyle S. 2010. Characterisation of physiological and immunological responses in beef cows to abrupt weaning and subsequent housing. *BMC Veterinary Research*, 6:37.
- Mehrzad, J., Duchateau L., Pyörälä S., Burvenich C. 2006. Blood and Milk Neutrophil Chemiluminescence and Viability in Primiparous and Pluriparous Dairy Cows During Late Pregnancy, Around Parturition and Early Lactation. *J Dairy Sci*, 89: 147-154.
- Mirzadeh, K.H., Tabatabaei S., Bojarpour M., Mamoei M. 2010. Comparative study of hematological parameters according strain, age, sex, physiological status and season in Iranian cattle. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9(16): 2123-2127.
- Sattar, A., Mirza R.H. 2009. Haematological parameters in exotic cows during gestation and lactation under subtropical conditions. *Pakistan Vet J*, 29(3): 129-132.
- Scalia, D., Lacetera N., Bernabucci U., Demeyere K., Duchateau L., Burvenich C. 2006. In Vitro Effects of Nonesterified Fatty Acids on Bovine Neutrophils Oxidative Burst and Viability. *J.Dairy Sci.* 89:147-154.
- Sordillo, L.M., Contreras G. A., Aitken S.L. 2009. Metabolic factors affecting the inflammatory response of periparturient dairy cows. *Animal Health Research Reviews*, 10(1): 53-63.
- Thanasak, J., Jorritsma R., Hoek A., Noordhuizen J., Rutten V., Müller K.E. 2004. The effects of a single injection of dexamethasone-21-isonicotinate on the lymphocyte functions of dairy cows at two weeks post partum. *Vet. Res.*, 35: 103-112.
- Tharwat, M., Endoh D., Oikawa S. 2012. DNA damage in peripheral blood mononuclear cells and neutrophils of dairy cows during the transition period. *Open Veterinary Journal*, 2: 65-68.
- Tornquist, S.J., Rigas J. 2010. Interpretation of Ruminant Leukocyte Responses. In: Schalm's *veterinary hematology*. 6th edition, Wiley-Blackwell, 307-313.

Influence of stress response after calving on haematological parameters in cows during early lactation

Marko R. Cincović^{a*}, Branislava Belić^a, Jože Starič^b, Jožica Ježek^b, Radojica Đoković^c

^aUniversity of Novi Sad, Faculty of Agriculture, Department of Veterinary medicine – Laboratory of pathophysiology, Novi Sad, Srbija

^bUniversity of Ljubljana, Veterinary faculty, Clinic for large animal and reproduction, Division for ruminants, Ljubljana, Slovenija

^cUniverzitet u Kragujevcu, Faculty of Agronomy, Čačak, Srbija

*Corresponding author: mcincovic@gmail.com

SAŽETAK

Calving and the start of lactation in dairy cows are the most important stressogenic factors. Stress response includes: the increase in activity of the adrenal glands with an increase in cortisol response as a consequence of the classical stress response and an increase in lipid mobilization with increases concentration of non-esterified fatty acids (NEFA) as a consequence of metabolic stress and increased energy needs. Cortisol and NEFA significantly affect the physiology of blood cells. The aim of this study was to investigate the influence of cortisol and NEFA in the week after calving on the blood values in cows in early lactation. The experiment included 50 cows. Blood was taken at 1st, 2nd, 4th and 8th weeks after calving. The concentration of cortisol and NEFA were measured in 1st week, and complete blood count (erythrocytes, hemoglobin, leucocytes, neutrophils, lymphocytes, N:L ratio, eosinophils, monocytes), and the viability of the leucocytes in all weeks. Cows were classified on the basis of the median value of cortisol and NEFA to a group that is more stress loaded (above the median value; NEFA^{Me+} and cortisol^{Me+}) and the group which was less burdened by the stress (below the median value; NEFA^{Me-} and cortisol^{Me-}). Cows in NEFA^{Me+} group showed a lower number RBC, a lower hemoglobin concentration, a lower number of white blood cells, a higher number of neutrophils and the higher the N:L ratio in first and in second week after parturition as compared to cows NEFA^{Me-} group. The cows in cortisol^{Me+} showed a typical stress leucogram in the first week after calving, and they have a higher number of neutrophils and monocytes and lower number of lymphocytes and eosinophils, as well as the higher N:L ratio in comparison to cortisol^{Me-} group. Cows more loaded with stress (NEFA^{Me+} and cortisol^{Me+}) showed lower viability of leukocytes in the first and second week after calving. Stress load affects the hematological findings in the first and second week after calving. Classic stress response and metabolic stress of cows leads to the same effect on blood parameters in early lactation.

KLJUČNE REČI

cows, blood count, stress, cortisol, NEFA.

Primljen: 07.05.2017.

Prihvaćen: 25.06.2017.