

UNIVERZITET U BEOGRADU
FAKULTET VETERINARSKE MEDICINE

Miloje Đurić

**Uporedni prikaz metaboličkih, endokrinih i
reproduktivnih parametara visokomlečnih i
autohtonih rasa krava**

Doktorska disertacija

Beograd, 2016.

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF VETERINARY MEDICINE

Miloje Đurić

**Comparative review of metabolic, endocrine and
reproductive parameters of high yielding and
autochthonic breeds of cows**

PhD thesis

Belgrade, 2016.

Mentor:

Prof. dr Miloš Pavlović, vanredni profesor,

Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu

Članovi komisije:

Prof. dr Danijela Kirovski, vanredni profesor

Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu

Doc. dr Ivan Vujanac, docent

Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu

Doc. dr Vladimir Magaš, docent

Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu

Prof. dr Mirjana Šumarac Dumanović, redovni profesor

Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

Datum odbrane doktorske disertacije:

Uporedni prikaz metaboličkih, endokrinih i reproduktivnih parametara visokomlečnih i autohtonih rasa krava

Kratak sadržaj

Cilj ove doktorske disertacije bio je da se kod dve rase različitog genetskog potencijala u odnosu na proizvodnju mleka ispituju adaptivne promene u metabolizmu koje su dovele do visoke proizvodnje mleka, uz mogući negativan uticaj na reproduktivnu aktivnost. Odabrano je 8 visokomlečnih holštajn krava (držanih na farmama komercijalno-industrijskog tipa) i 8 niskomlečnih buša krava (držanih u ekstenzivnom uzgoju na paši). Sve krave su bile u poslednjoj fazi graviditeta. Uzorci krvi od svih krava uzimani su 14 dana pre, kao i 14., 30. i 50. dana nakon teljenja i u njima je određena koncentracija glukoze, BHBA, NEFA, ukupnih proteina, albumina, uree, ukupnog bilirubina, kalcijuma, fosfora, magnezijuma, holesterola, triglicerida, aktivnosti AST i GGT, koncentracije hormona (insulina, T₃, T₄, estradiola i IGF I) i relativna zastupljenost IGF vezujućih proteina (IGFBP-2 i IGFBP-3). Testovi intravenskog opterećenja glukozom (IVGTT) su vršeni antepartalno (14 dana pre teljenja) i postpartalno (14 dana posle teljenja), određeni su parametri kinetike glukoze i insulina i izračunati pokazatelji insulinske rezistencije: RQUICKI, QUICKI i HOMA. Uzorci tkiva jetre, mišićnog i masnog tkiva, u kojima je određena zastupljenost insulinskih receptora, uzeti su biopsijom 14. dana pre i 14. dana nakon teljenja. U uzorcima mišićnog i masnog tkiva određivana i zastupljenost GLUT-4. Procena reproduktivne aktivnosti vršena je observacijom spoljašnjih genitalnih organa, transrektalnom palpacijom i ultrasonografskim pregledom materice i jajnika 30. dana nakon teljenja. Koncentracija BHBA je u krvi krava holštajn rase, u odnosu na buše, bila značajno viša 30., a značajno niža 50. dana posle teljenja, dok je bilirubinemija bila značajno niža 30. i 50. dana posle teljenja, a značajno viša 14. dana posle teljenja. Proteinemija kod krava rase holštajn u odnosu na buše je bila značajno viša 14. dana pre, 14. i 30. dana posle teljenja, a značajno niža 50. dana posle teljenja, dok je albuminemija bila značajno niža 14. dana pre, 14. i 30. dana posle teljenja. Uremija kod holštajn u odnosu na buša rasu krava bila je značajno viša 30. i 50. dana postpartalno. Kalcemija je kod holštajn u odnosu na buša rasu bila značajno niža 14. i 50. dana postpartalno, dok je fosfatemija bila viša 14.

dana prepartalno, kao i 30. i 50. dana postpartalno. Koncentracija holesterola bila je značajno niža u krvi holštajn rase krava, u odnosu na bušu, 14. dana pre i 14. dana posle teljenja, a 50. dana nakon teljenja značajno viša, dok je koncentracija triglicerida bila značajno niža 30. dana posle teljenja. Aktivnost AST bila je značajno viša u krvi krava rase holštajn u odnosu na bušu, 14. dana posle teljenja, a aktivnost GGT značajno viša i prepartalno i postpartalno. Koncentracija T_3 je bila značajno viša u krvi krava rase holštajn u odnosu na bušu 30. i 50. dana posle teljenja, dok je IGF-I koncentracija bila značajno viša u svim ispitivanim terminima. Zastupljenost IGFBP-2 u svim ispitivanim terminima, a IGFBP-3 jedino 14. dana pre, 30. i 50. dana posle teljenja su bile statistički značajno veće kod krava rase holštajn u odnosu na bušu. Koncentracija estradiola u krvi krava holštajn rase bila je značajno viša u odnosu na bušu 30. dana posle teljenja. Rezultati IVGTT izvedenog antepartalno su pokazali da je koncentracija glukoze bila značajno niža u krvi krava rase holštajn nego u krvi krava rase buša 30., 60., 90., 120. i 180. minuta testa, da je koncentracija insulina bila značajno viša 0., 15., 30., 90., 120. i 180. minuta testa i da je koncentracija NEFA bila značajno niža 15. minuta testa i značajno viša 180. minuta testa. Rezultati IVGTT izvedenog postpartalno su pokazali da je tokom testa koncentracija glukoze bila značajno niža u krvi krava rase holštajn nego u krvi krava rase buša 15. 30., 60., 90., 120. i 180. minuta testa, koncentracija insulina značajno viša 0., 15., 60., 90., 120. i 180. minuta testa, a koncentracija NEFA značajno niža 0., 15., 30. i 90. minuta testa. Postpartalno, k vrednost je bila značajno veća, a $T_{1/2}$ i $AUC_{glucosa}$ značajno niža kod krava rase holštajn u odnosu na buše. ΔMax_{ins} je bila značajno veća kod krava rase holštajn u odnosu na bušu kako u testu izvedenom prepartalno i postpartalno, a $AUC_{insulina}$ značajno niži jedino u testu izvedenom postpartalno. AUC_{NEFA} je bila značajno niža u testu izvedenom postpartalno kod krava rase holštajn u odnosu na krave rase buša. HOMA indeks je bio značajno niži kod krava holštajn nego buša rase prepartalno i postpartalno, dok je RQUICKI bio značajno viši jedino prepartalno. QUICKI je bio značajno viši kod krava holštajn rase u odnosu na krave buša rase prepartalno i postpartalno. Zastupljenost insulinskih receptora, kao i GLUT 4 u mišićnom tkivu krava holštajn rase bila je značajno niža nego kod krava rase buša. Reproductivni pokazatelji su pokazali da je kod krava rase

holštajn u odnosu na krave rase buša bila statistički značajno viša aktivnost jajnika, kao i zbirna vrednost aktivnosti i veličine jajnika.

Ključne reči: metabolizam, hormoni, reprodukcija, krava

Naučna oblast: Veterinarska medicina

Uža naučna oblast: Ginekologija sa andrologijom

UDK broj: 619 : 591.05/16 : 636.2

Summary

The aim of this PhD thesis was to compare two breeds of cows with different genetic potential in relation to the milk production and to investigate adaptive changes in metabolism that lead to high milk production, with a possible negative impact on reproductive activity. 8 high yielding Holstein cows (kept on commercial and industrial type farms) and 8 low milk production Buša cows (kept in extensive farming, grazing) was selected. All cows were in the final stages of pregnancy. Blood samples from all cows were taken 14 days prior to, and 14, 30 and 50 days after parturition, and in all samples were determined glucose, BHBA, NEFA, total protein, albumin, urea, total bilirubin, calcium, phosphorus, magnesium, cholesterol and triglycerides concentration, AST and GGT activity, the concentration of hormones (insulin, T3, T4, estradiol and IGF I) and the relative presence of IGF binding proteins (IGFBP-2 and IGFBP-3). Intravenous glucose tolerance tests (IVGTT) were carried out ante partum (14 days before calving) and post partum (14 days after calving), glucose and insulin kinetics parameters were determined and indicators of insulin resistance were calculated : RQUICKI, QUICKI and HOMA. Tissue samples of liver, muscle and adipose tissue, in which the presence of insulin receptors was determined, biopsies were taken 14 days before and 14 days after calving. In muscle and fat tissue samples the presence of GLUT-4 were determined. Evaluation of reproductive activity was carried out by observation of external genital organs, transrectal palpation and ultrasound examination of the uterus and ovaries 30 days after calving. BHBA concentration in the blood of Holstein cows, in relation to the Buša cows, was significantly higher 30, and significantly lower 50 days after calving, while the bilirubinaemia were substantially lower 30 and 50 days after calving, and significantly higher on day 14 after calving. Proteinaemia of the Holstein breed in relation to the Buša cows was significantly higher 14 days before, 14 and 30 days after calving, a significantly lower 50 days after calving, while albuminemia was significantly lower at 14 days before, 14 and 30 days after calving. Uremia in Holstein when compared to the Buša cows was significantly higher 30 and 50 days post partum. Calcemia in Holstein when compared to the Buša cows was significantly lower 14 and 50 days post partum, while phosphoremia

was higher 14 days ante partum, and 30 and 50 days post partum. Cholesterol concentration was significantly lower in the blood of Holstein in relation to the Buša cows, 14 days before and 14 days after calving and significantly higher 50 days after calving, while the concentration of triglycerides was significantly lower 30 days after calving. AST activity was significantly higher in the blood of the Holstein cows in relation to the Buša cows, 14 days after calving, while GGT activity was significantly higher both before and after parturition. T3 concentration was significantly higher in the blood of Holstein cows in relation to the Buša cows 30 and 50 days after calving, while IGF-I concentrations were significantly higher in all investigated periods. Representation of IGFBP-2 in all investigated periods, and IGFBP-3 14 days before, 30 and 50 days after calving were statistically significantly higher in the Holstein cows in relation to the Buša cows. The concentration of estradiol in the blood of Holstein cows was significantly higher than in the Buša cows 30 days after calving. The results of antepartal IVGTT showed that the glucose concentration was significantly lower in the blood of Holstein cows than in the blood of Buša cows at 30., 60., 90., 120. and 180 minute of the test, and that the insulin concentration was significantly higher 0. , 15., 30., 90., 120. and 180. minute of the test and that the concentration of NEFA were substantially lower in 15. minute of the test and significantly higher at 180. minute of the test. Postpartum IVGTT results showed that during the test, the glucose concentration was significantly lower in the blood of the Holstein cows than in Buša cows at 15., 30., 60., 90., 120. and 180. minute of test, significantly higher insulin levels at 0 ., 15., 60., 90., 120. and 180. minute of the test, and significantly lower concentration of NEFA at 0., 15, 30. and 90. minute of the test. Post partum, the k value was significantly higher and $T_{1/2}$ and AUCglucosa significantly lower in Holstein cows in relation to the Buša cows. $\Delta \text{MAX}_{\text{ins}}$ was significantly higher in the Holstein cows in relation to the Buša both ante and post partum, and AUCinsulin significantly lower only in the test carried out post partum. AUC_{NEFA} was significantly lower in the test carried out postpartum in Holstein cows in relation to the Buša cows. HOMA index was significantly lower in Holstein cows than in Buša both ante and post partum, while RQUCKI was significantly higher only ante partum. QUICKI was significantly higher in Holstein cows compared to Buša cows both ante and post partum.

Representation of insulin receptors and GLUT 4 in muscle tissue of Holstein cows was significantly lower than that of Buša cows. Reproductive health indicators have shown that the Holstein compared to Buša cows had significantly higher activity and the size of the ovaries.

Keywords: metabolism, hormones, reproduction, cow

Scientific field: Veterinary medicine

Field of academic expertise: Gynecology and andrology

UDK number: 619 : 591.05/16 : 636.2

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. PREGLED LITERATURE	4
2.1. METABOLIČKI STATUS KRAVA	4
2.2. POKAZATELJI METABOLIČKOG STATUSA KRAVA.....	6
2.2.1. <i>Glukoza</i>	7
2.2.2. <i>Neesterifikovane masne kiseline (NEFA)</i>	7
2.2.3. <i>Betahidroksibuterna kiselina (BHB)</i>	8
2.2.4. <i>Urea</i>	10
2.2.5. <i>Telesna kondicija</i>	11
2.3. HORMONALNI STATUS KRAVA.....	12
2.3.1. <i>Tireoidni hormoni</i>	12
2.3.2. <i>Insulinska osovina kod krava</i>	13
2.4. REPRODUKTIVNI STATUS KRAVA	16
2.4.1. <i>Polni ciklus- sezonalnost i početak puberteta</i>	16
2.4.2. <i>Rast i razvoj folikula kod krava- folikularni talasi</i>	18
2.5. NEUROHORMONALNA REGULACIJA POLNOG CIKLUSA	20
2.6. POVEZANOST REPRODUKTIVNOG I METABOLIČKOG STATUSA KRAVA	22
2.7. METABOLIČKI I ENDOKRINI BIOMARKERI METABOLIZMA KOJI UTIČU NA REPRODUKTIVNI STATUS KRAVA	26

2.7.1. Somatotropna osovina	26
2.7.2. Tireoidna osovina	29
2.7.3. Insulinska rezistencija	29
3. CILJ I ZADACI ISTRAŽIVANJA	31
4. MATERIJAL I METODE	32
4.1. Ogledne životinje	32
4.2. Uzimanje uzoraka krvi	32
4.2.1. Određivanje koncentracije biohemijskih parametara krvi	32
4.2.2. Određivanje koncentracije hormona u krvi	34
4.3. Testovi intravenskog opterećenja glukozom	34
4.3.1. Matematički izračunati pokazatelji insulinske rezistencije	34
4.4. Uzimanje uzoraka tkiva jetre, mišićnog i masnog tkiva	36
4.5. Određivanje relativne zastupljenosti IGF-vezujućih proteina	37
4.6. Procena reproduktivnih parametara.....	39
5. REZULTATI	41
5.1. Koncentracije biohemijskih parametara u krvi.....	41
5.1.1. Koncentracija betahidroksi buterne kiseline (BHBA).....	41
5.1.2. Koncentracija ukupnog bilirubina	42
5.1.3. Koncentracija proteina	44

5.1.4. Koncentracija albumina	45
5.1.5. Koncentracija uree	47
5.1.6. Koncentracija kalcijuma	48
5.1.7. Koncentracija fosfora	49
5.1.8 Koncentracija magnezijuma	50
5.1.9. Koncentracija holesterola	52
5.1.10. Koncentracija triglicerida	53
5.1.11. Aktivnost aspartat transferaze (AST)	54
5.1.12. Aktivnost gama glutamil transpeptidaze (GGT)	56
5.2. Koncentracija tireoidnih hormona u krvi krava	57
5.2.1. Koncentracija tiroksina (T_4)	57
5.2.2. Koncentracija trijodtironina (T_3)	59
5.3. Koncetracija IGF-I i zastupljenost IGF-vezujućih proteina (IGFBP-2, IGFBP-3)	60
5.3.1. Koncentracija insulinu-sličnog faktora rasta (IGF-I)	60
5.3.2. Koncentracija IGFBP-2	61
5.3.3. Relativna zastupljenost IGFBP-3	63
5.4. Koncentracija estradiola	64
5.5. Rezultati testova opterećenja glukozom	65
5.5.1. Koncetracije glukoze, insulina i NEFA tokom testa opterećenja	65

5.5.2. Matematički izračunati parametri testa opterećenja glukozom	76
5.6. Zastupljenost proteina insulinskih receptora i GLUT-4 u tkivima (mišićnom, masnom i tkivu jetre)	83
5.6.1. Zastupljenost proteina insulinskih receptora i GLUT-4 u jetri	83
5.6.2. Zastupljenost proteina insulinskih receptora i GLUT-4 u mišićima	83
5.6.3. Zastupljenost proteina insulinskih receptora i GLUT-4 u masnom tkivu	83
5.7. Reproductivni pokazatelji	84
6. DISKUSIJA	86
7. ZAKLJUČCI	98
8. LITERATURA	100

1. UVOD

Selekcija krava na visoku proizvodnju mleka podrazumeva promene u genotipu, metabolizmu i hormonalnom statusu koje se odražavaju na reproduktivne karakteristike ovih jedinki. Holštajn rasa goveda je dominantna visokomlečna rasa goveda kako u svetu, tako i u Srbiji. Tokom poslednjih decenija prosečna proizvodnja mleka kod krava ove rase se značajno povećala. Međutim, ovaj porast proizvodnje doveo je istovremeno do porasta učestalosti metaboličkih, endokrinih, a posledično i reproduktivnih oboljenja. Postoji niz hipoteza kojima se objašnjava smanjena reproduktivna sposobnost visokomlečnih krava. Negativan uticaj visoke mlečnosti na fertilitet često se precenjuje, ali i potcenjuje. Međutim, potpuno jasan odgovor na pitanja koja povezuju produktivnu sposobnost visokomlečnih krava i eventualne reperkusije na njihovu plodnost i dalje ne postoji. Danas preovlađuje mišljenje da su osnovni razlozi za lošiju plodnost visokomlečnih krava blisko povezani sa problemom anestrije, anovulacije i cistične degeneracije jajnika. U poslednje vreme sve veća pažnja se pridaje većoj učestalosti ranog embrionalnog mortaliteta. Svakako da prethodno navedeni problemi izazivaju velike probleme u modernom stočarstvu, ali treba imati na umu i da je vreme koje se odvaja po kravi u cilju detekcije estrusa mnogo manje u velikim zapatima visokomlečnih krava nego ranijih godina. Taj podatak treba uzeti u obzir pre no što se procene razlozi za lošije rezultate kada je reč o fertilitetu zapata. Povezanost visoke mlečnosti i povećane učestalosti pojave puerperalnih poremećaja poput zaostajanja posteljice, mastitisa, ketoze, puerperalne pareze, dislokacije sirišta, najverovatnije postoji, iako mnogi autori ovu tezu preispituju i ističu da je direktna veza visoke mlečnosti i metaboličkih i infektivnih poremećaja prisutna samo kada je reč o povećanoj učestalosti pojave mastitisa u okviru zapata visokomlečnih krava. U svakom slučaju, problemi postoje i najčešće se kod visokomlečnih krava javljaju u periodu 3 nedelje pre i 3 nedelje nakon teljenja. Ovaj period se u literaturi naziva još i „tranzicioni

period“. Početak laktacije je zbog znatnog povećanja energetske potrebe za proizvodnjom mleka i istovremenog smanjenog unosa suve materije (USM) u peripartalnom periodu, kod većine visokomlečnih grla najčešće praćen negativnim bilansom energije (NEB). Peripartalni period obuhvata kasni graviditet i ranu laktaciju. U širem smislu on obuhvata i celokupan period zasušenja koji počinje sa prestankom laktacije i traje 2 meseca. Za dobar fertilitet zapata je vrlo značajno vreme kada se krave zasušuju jer prerano, kao i prekasno zasušenje, mogu imati negativan uticaj na metaboličke, a posledično i reproduktivne parametre kod krava. Prerano zasušene krave se u uslovima ishrane energetski bogatim hranivima previše ugoje čime je kod njih porođaj značajno otežan, a apetit posle teljenja im je izrazito smanjen. Prekasno zasušene jedinke ne stignu da obnove rezerve hranljivih materija za predstojeći porođaj i laktaciju. Takođe, u slučaju prekasnog zasušenja posledice snosi i sam plod koji trpi u toj fazi najintenzivnijeg razvoja. Ipak, najveći metabolički problemi nastaju neposredno pre teljenja kao i tokom perioda rane laktacije i ispoljavaju se kroz energetske deficite. Upravo je intenzivna selekcija na visoku proizvodnju mleka uzrokovala disbalans između energetske potrebe i unosa energije, i dovela do razvoja specifičnog odgovora organizma visokomlečnih krava na NEB u tranzicionom periodu koji se ogleda u intenzivnoj razgradnji tkiva. Ovom intenzivnom razgradnjom u slučaju energetskog deficita mobilisu se masti i proteini iz telesnih depoa, a sve u cilju očuvanja proizvodnje mleka. Konstantno povišene koncentracije neesterifikovanih masnih kiselina (NEFA) i ketonskih tela u krvi negativno utiču na više organskih sistema uključujući imunski sistem, reproduktivne organe i jetru. Na ovaj način su hronično povišene koncentracije NEFA i ketonskih tela u krvi tokom energetskog deficita kod visokomlečnih krava blisko povezane sa metaboličkim, a posledično i reproduktivnim statusom ovih jedinki.

Selekcija na visoku mlečnost je savremene mlečne krave učinilo mnogo osetljivijim na eventualne greške u odgoju i ishrani. Krave holštajn rase su genetski selekcionisane tako da u cilju održavanja visoke mlečnosti često podležu perzistentnom kataboličkom stanju koje predstavlja uvod u poremećaje poput ketoze, levostrane dislokacije sirišta, masne jetre, dok krave kombinovanih ili autohtonih rasa smanjenjem potreba za energijom, kroz smanjenu

proizvodnju mleka preveniraju stanje intenzivnog katabolizma, a samim tim i prethodno spomenute poremećaje.

Nasuprot kravama holštajn rase, autohtone rase od kojih je buša jedna od najzastupljenijih na Balkanskom poluostrvu, a time i Srbiji, se karakterišu niskom proizvodnjom mleka dovoljnom najčešće samo za odgoj mladunčadi. Iz ovog razloga buše se često i gaje po sistemu držanja "majka-tele" i pretpostavka je da kod njih proizvodnja mleka ne opterećuje osnovne fiziološke mehanizme na isti način kao kod visokoproizvodne holštajn rase.

Međutim, uprkos poznatom efektu koji energetski bilans krava ima na reproduktivni potencijal kod visokomlečnih krava, osnovni biološki mehanizmi koji povezuju metabolički i reproduktivni status kod niskoproizvodnih rasa krava još uvek nisu dovoljno ispitani. U tom smislu je ispitivanje sprovedeno u ovom radu od značaja za razumevanje povezanosti fiziologije reprodukcije i parametara metaboličkog statusa kod krava koje nisu opterećene uslovima visoke proizvodnje. Poređenjem metaboličkog i reproduktivnog statusa krava predisponiranih za visoku i onih sa niskom proizvodnjom mleka mogli bi bolje da se razumeju molekularni mehanizmi koji su tokom selekcije uslovili visoku proizvodnju mleka ali i oslabili reproduktivnu efikasnost visokomlečnih krava.

U ovom radu biće izloženi rezultati metaboličkih, endokrinoloških i reproduktivnih ispitivanja ove dve rase krava, kao i uporedni prikaz istih.

2. PREGLED LITERATURE

2.1. METABOLIČKI STATUS KRAVA

Poslednjih decenija je intenzivna selekcija na visoku proizvodnju mleka dovela do značajnog opterećenja metabolizma krava u peripartalnom periodu, odnosno periodu 3 nedelje pre do 3 nedelje posle teljenja (Puppel i Kuczynska, 2016). Ovo opterećenje se ogleda pre svega u naglom prelazu, u momentu teljenja, iz stanja visokog graviditeta u stanje laktacije. Laktacija kod visokomlečnih krava podrazumeva gubitak značajne količine organskih i neorganskih komponenti putem mleka, koje je neophodno obezbediti putem hrane. Da bi se to obezbedilo dolazi, u cilju postizanja visoke proizvodnje mleka, do metaboličkog prestrojavanja jedinke za koju je životinja genetski predisponirana. To prestrojavanje se ogleda prevashodno u tome što se periferna tkiva (mišićno i masno) uvode u stanje „štednje” glukoze, uz istovremeno intenziviranje lipomobilizacije i katabolizma proteina u njima (Van Knegsel i sar. 2007). Istovremeno dolazi do pojačane mobilizacije kalcijuma iz kostiju. (Goff, 2004).

Sve ove metaboličke i hormonalne promene koje prate porast proizvodnje mleka su deo homeoretskog mehanizma adaptacije na početak laktacije. Naime, zahvaljujući homeorezi, obezbeđuje se dovoljna količina nutritivnih materija za intenzivan rast ploda tokom kasnog graviditeta, kao i dovoljna količina energije i mineralnih materija za proizvodnju mleka nakon teljenja. Ukoliko se, posebno u periodu rane laktacije, javi poremećaj u homeoretskim mehanizmima procesi proizvodnje mleka i ponovnog uspostavljanja normalne reproduktivne funkcije kod krava mogu postati neusaglašeni (Lucy i sar., 2014). Bolje razumevanje homeoretskih mehanizama koji značajno utiču na postpartalno zdravlje materice, estrusni ciklus i ponovnu koncepciju može omogućiti razvoj metoda za unapređenje fertiliteta visokomlečnih krava u postpartalnom periodu (Lucy i sar., 2014):

Za uspostavljanje energetske i mineralne ravnoteže neophodno je uspostavljanje balansa između količine unete hrane i količine proizvedenog mleka (Jorritsma i sar., 2003). Uzimajući u obzir da apetit krava u peripartalnom periodu opada, krave najčešće ne mogu da zadovolje svoje potrebe unosom hrane i ulaze u stanje negativnog bilansa energije (Grummer i sar.2010; Castro i sar. 2012; Kawashima i sar.2012), proteina (Piccione i sar., 2011) i mineralnih materija, pre svega kalcijuma (Goff, 2004). Dnevne potrebe u energiji za kravu holštajn rase teške oko 700kg na početku zasušenja (približno 220-og dana gestacije) iznose 11,5MCal, i povećavaju se do, približno 13MCal 270-og dana gestacije. Na početku laktacije potrebe za energijom se drastično povećavaju zbog intenzivnog porasta mlečnosti (Goff i Horst,1997). Samo nekoliko dana nakon teljenja, ista jedinka ima potrebe od 25MCal/dnevno za proizvodnju 20kg mleka, odnosno 45MCal/dnevno u piku laktacije kada je dnevna proizvodnja 45kg mleka. Zahvaljujući mikroflori predželudaca preživari, za razliku od monogastričnih životinja, mogu da koriste strukturne ugljene hidrate (pre svega celulozu) kao izvor energije. Ugljeni hidrati se se u procesu varenja u predželudcima razgrađuju do nižih masnih kiselina (sirćetne, propionske i buterne). Imajući u vidu veliku količinu energije koju sadrže niže masne kiseline, one su kod krava, i preživara uopšte, koriste kao glavni i neposredan izvor energije. Tokom perioda srednje i kasne laktacije unos suve materije (USM), a samim tim i celuloze, kao i adaptiranost mikroflora buraga su značajno bolji nego u periodu rane laktacije. Tada USM čak i prevazilazi potrebe u energiji što kravama omogućava deponovanje energije u vidu telesnih depoa masti i proteina (Grummer, 2008), a naročito tokom kasnog graviditeta. Najniži USM je u periodu oko samog porođaja, najverovatnije zbog uticaja više faktora kao što su: promene u sastavu obroka, uslovi držanja (kompeticija između jedinki), povećanje zapremine uterusa i aktiviranje hipotalamo-hipofizno-adrenokortikalne osovine pre i u toku samog porođaja koja inhibitorno deluje na unos hrane.

Smanjeni unos hrane u periodu oko teljenja, praćen negativnim bilansom energije i pojedinih minerala na početku laktacije se često negativno odražava i na reproduktivni status kod krava (Cardoso i sar.2013; Drackley i Cardoso 2014). Tako su Hammon i saradnici (2006) utvrdili da se kod krava koje smanjeno uzimaju suhu materiju nedelju dana pre teljenja češće razvijaju postpartalna oboljenja materice. Do sličnih rezultata došli su i

Huzzey i saradnici (2007) koji su uočili da krave kod kojih se postpartalno dijagnostikuje akutni metritis imaju slabiji USM već 2 nedelje pre porođaja. Roche (2006) tvrdi da je visoka proizvodnja mleka dovela do multifaktorijalnog sindroma subfertilneta visokomlečnih krava tokom laktacije.

Iako je poslednjih godina pažnja istraživača uglavnom usmerena na energetske i proteinske status u tranzicionom periodu i njegov uticaj na plodnost kod krava, uloga minerala tokom ovog perioda na posledični fertilitet kod krava nije najjasnija (Wilde, 2006). Minerali i vitamini imaju važnu ulogu u prevenciji peripartalnih oboljenja kao što su hipokalcemija, mastitis, laminitis, retencija posteljice, a koje negativno utiču na kasniji fertilitet krava (Wilde, 2006). Izražen disbalans u koncentracijama kalcijuma (Ca), magnezijuma (Mg), fosfora (P), i kalijuma (K) može izazvati sindrom "ležeće krave" pošto su ovi minerali neophodni za nervnu i mišićnu funkciju, dok disbalans izražen u manjoj meri dovodi do smanjenog uzimanja hrane, slabljenja peristaltike buraga i creva, slabije plodnosti i učestalije pojave metaboličkih i infektivnih oboljenja u peripartalnom periodu (Goff, 2004).

Pored negativnog uticaja na reprodukciju, negativan bilans energije i minerala kompromituje i funkcije imunskog sistema (LeBlanc, 2012; Esposito i sar., 2014).

2.2. POKAZATELJI METABOLIČKOG STATUSA KRAVA

Brojni hormonski i metabolički signali iz jetre, pankreasa, mišićnog i masnog tkiva utiču na više centre u mozgu, i tokom postpartalnog perioda regulišu unos hrane, bilans energije i metabolizam. Među ovim signalima su: glukoza, neesterifikovane masne kiseline (NEFA), betahidroksibuterna kiselina (BHB), triacilglicerol (TAG), urea, insulin, insulinu sličan faktor rasta I (IGF-I), somatotropni hormon (STH) i leptin. Neadekvatna ishrana tokom zasušenja i ranog postpartalnog perioda dovodi do smanjenja koncentracija glukoze, insulina, IGF-I, što udruženo sa povišenim koncentracijama BHB, NEFA i TAG dovodi do češće pojave postpartalnih metaboličkih i reproduktivnih oboljenja (Roche, 2006).

2.2.1. Glukoza

Glukoza se često smatra značajnim pokazateljem NEB pa se ponekad definiše da je NEB zapravo negativan bilans glukoze. Koncentracija glukoze u krvi preživara niža je nego kod monogastričnih životinja i iznosi 2,2-3,3 mmol/l (Sladojević, 2012). S obzirom na ograničenu količinu glukoze koja se dobija resorpcijom iz digestivnog trakta, kao izvori glukoze izuzetno su bitni i procesi glukoneogeneze i glikogenolize. Kod zdravih krava glikemija je u peripartalnom periodu u fiziološkim granicama i pokazatelj je uravnoteženog energetskeg metabolizma. Tokom teljenja dolazi do naglog porasta glikemije, najverovatnije usled stresa koji nastaje zbog hormonalnih promena u tom periodu, a koji podstiču glukoneogenezu i glikogenolizu (Vazduezanon i sar., 1994). Prosečna glikemija u kasnom graviditetu visokomlečnih krava iznosi 2,81mmol/l, a posle teljenja iznosi prosečno 2,41mmol/l (Šamanc i sar., 1993). Vrednosti glikemije ispod 2,77mmol/l u poslednjoj nedelji graviditeta kod visokomlečnih krava siguran su nagoveštaj postpartalnih metaboličkih oboljenja (Šamanc i sar., 2011). Smatra se da je mlečna žlezda najvažniji činilac od koga zavisi stabilnost metabolizma i vrednost glikemije, kao i da je hipoglikemija na početku laktacije pouzdan pokazatelj NEB kod krava (Sladojević, 2012).

2.2.2 Neesterifikovane masne kiseline (NEFA)

NEFA su jedan od najznačajnijih izvora energije za organizam sisara (Emery i sar., 1992). Smatra se da su NEFA najbolji pokazatelj energetskeg bilansa, pošto nastaju kao posledica lipomobilizacije čiji intenzitet direktno zavisi od stepena izraženosti NEB. NEFA koje se oslobađaju iz depoa masti lipomobilizacijom dospevaju u jetru, gde u procesu oksidacije nastaje ugljendioksid i obezbeđuje se energija. Ukoliko je lipomobilizacija pojačana, što se dešava u stanjima izraženijeg NEB, hepatociti ne mogu da se izbore sa velikim količinama acetil Co-A, koji nastaje oksidacijom masnih kiselina, pa dolazi do konverzije acetil Co-A u ketonska tela, pre svega BHB. Proces stvaranja ketonskih tela je naročito intenziviran kod jedinki kod kojih je hipoglikemija udružena sa povišenim koncentracijama NEFA u krvi. Alternativno, NEFA mogu biti esterifikovane do TAG, koji se akumuliraju u jetri, dostižu svoju maksimalnu koncentraciju u krvi 7-13 dana

postpartalno, a zatim im koncentracija postepeno opada. Jetra može da prihvati ~15-20% NEFA iz krvi uz posledičnu kompletnu oksidaciju i stvaranje energije za rad jetre, parcijalnu oksidaciju uz produkciju ketonskih tela ili konverziju u TAG (Drackley i Andersen, 2006). Pozitivna korelacija između koncentracije NEFA i TAG u krvi ukazuje na pravilan proces metaboličke adaptacije (Guretzky i sar., 2006). Pad koncentracije TAG udružen sa visokom koncentracijom NEFA u krvi znak je intenzivnog metabolizma masnih kiselina koji dovodi do posledičnog zamašćenja jetre. Nakupljanje TAG, ukoliko se radi o intenzivnom zamašćenju, u jetri ometa pa čak i potpuno blokira rad hepatocita. Učestalost oboljenja jajnika kod krava sa intenzivnim zamašćenjem jetre (zastupljenost ukupnih masti u hepatocitima >60%) znatno je viša u odnosu na krave sa blagim (zastupljenost ukupnih masti u hepatocitima od 10 do 30%) ili umerenim stepenom zamašćenja (zastupljenost ukupnih masti u hepatocitima od 30 do 60%) (Tanemura i sar., 2016). Porast koncentracije NEFA u krvi krava takođe negativno utiče na reproduktivne sposobnosti krava jer inhibiraju sazrevanje oocita (Snijders 2000, Leroy 2004, Leroy 2011). Takođe, porast nivoa NEFA u krvi inhibitorno utiče na unos hrane i time dodatno produbljuje stanje NEB (Gumen i sar., 2011).

Kao što je napomenuto, u slučaju pojačanog katabolizma masti uz nedostatak dovoljnih količina glikogena koje su potrebne za dalju razgradnju NEFA u hepatocitima, dolazi do stvaranja ketonskih tela.

2.2.3. Betahidroksibuterna kiselina (BHB)

BHB je dominantna forma ketonskih tela, i njegova koncentracija u krvi predstavlja indeks oksidacije masnih kiselina (Puppel i sar., 2016). Obično je udružena sa hipoglikemijom (Urdl i sar., 2015). Koncetracija BHB od 0,6 -1 mmol/l u krvi krava na početku laktacije je fiziološki prihvatljiva i pokazatelj je umerene lipomobilizacije. Kod krava u poslednjem mesecu graviditeta koncetracija BHB može biti fiziološki i niža od 0,6mmol/l, pošto se u ovom periodu rezerve masti kod krava održavaju ili čak i povećavaju (Ospina i sar., 2010). Povišene koncetracije BHB u krvi ponekad su rezultat ishrane silažom slabijeg kvaliteta koja sadrži visok procenat buterne kiseline koja se u

predželucima transformiše u BHB, ali tada porast koncentracije BHB nije udružen sa značajnijom hipoglikemijom (Dhiman i sar., 1991).

Ketonska tela su alternativni izvor energije za organe kao što su mozak i srce (Herdt, 2000; Drackley i Anderson 2006), tako da blagi porast koncentracije BHB u krvi predstavlja normalan mehanizam adaptacije na NEB u ranoj laktaciji (McArt i sar., 2013). Međutim, izraziti porast koncentracije BHB koje se dešava kada je NEB produbljen, ima izuzetno negativan uticaj na funkcije imunskog sistema (Hammon i sar., 2006; Contreras i sar., 2010; Ster i sar., 2012).

Kada koncentracija BHB pređe granice u okviru kojih ih mišići i ostala tkiva koriste, dolazi do njihove akumulacije i nastanka ketoze. Ketoza se može ispoljiti u kliničkoj i supkliničkoj formi i najčešće se javlja u ranom postpartalnom periodu, 3-16 dana nakon teljenja. Višak ketonskih tela u cirkulaciji bez kliničkih znakova je supklinička ketoza (Andersson, 1988). Pod supkliničkom ketozom se podrazumeva stanje kada je koncentracija BHB u rasponu 1,2-2,9 mmol/l, a ako je koncentracija BHB ≥ 3 mmol/l onda je reč o kliničkoj formi ketoze (Oetzel i sar., 2004). Negativan uticaj supkliničke ketoze na zdravstveni, a posledično i reproduktivni status krava je višestruk: smanjen apetit, gubitak telesne mase, smanjena produkcija mleka, povećan rizik od nastanka dislokacije sirišta, infekcije uterusa, mastitisa kao i imunosupresija. Većina krava u stanju hiperketonemije ne pokazuje kliničke simptome oboljenja. U skladu sa ovim Duffield i saradnici (2009) navode da je od 264 krave sa koncentracijom BHB u krvi $\geq 1,2$ mmol/L tokom prve nedelje nakon teljenja samo 13 krava pokazalo simptome kliničke ketoze, dok istraživanja Ospina i saradnika (2010) i McArt i saradnika (2012) dodatno pokazuju da je manje od 20% krava sa hiperketonemijom (BHB u krvi $\geq 1,2$ mmol/L) imalo koncentraciju BHB u krvi $\geq 3,0$ mmol/L. Iako je koncentracija NEFA u krvi pouzdaniji pokazatelj ketoznog stanja, reproduktivnih performansi i produkcije mleka u odnosu na koncentracije BHB (Ospina i sar., 2010, Chapinal i sar., 2011 Huzzey i sar., 2011), njeno određivanje u terenskim uslovima rada je znatno komplikovanije i skuplje od određivanja koncentracije BHB (Stokol i Nydam, 2006) pa se stoga i slabije primenjuje.

S obzirom da koncentracije NEFA i BHB u krvi ukazuju na zdravstveni status ispitivane jedinke i stepen izraženosti ili dubine NEB, mogu poslužiti u proceni reproduktivnog

stanja jedinke i mogu ukazati na eventualne probleme koji se očekuju u kasnom postpartalnom periodu.

2.2.4. Urea

Koncentracija uree u krvi značajno varira kod krava u peripartalnom periodu. Nedostatak glukoze u ovom periodu proizvodno-reproduktivnog ciklusa krava može biti suplementiran pojačanim katabolizmom ne samo masti već i amino kiselina deponovanih u skeletnoj muskulaturi, ili drugim tkivnim proteinima, što dovodi do povišenja koncentracija uree. Koncentracije razgradljivih i nerazgradljivih proteina u buragu, odnos energije i proteina u obroku kao i uticaj ovih nutritivnih elemenata na sintezu proteina od strane mikroorganizama rumena, su bitni faktori koji utiču na sintezu uree u jetri. Degradacijom u rumenu rastvorljivih proteina (RRP) dolazi do porasta koncentracije amonijaka u krvi, koji se neutrališe suintezom uree u jetri. Produkcija uree u jetri je energetske zahtevan proces koji, stoga, može da produbi energetske deficit (Arriola i sar., 2014). Poremećena funkcija jetre, koja se često dešava u stanju metaboličke preopterećenosti posle teljenja, smanjuje metabolički klirens uree i izaziva posledično visoke koncentracije ovog jedinjenja u krvi. Unos sirovih proteina u višku (16-17%), iako podržava visoku proizvodnju mleka je u reproduktivnom smislu štetan pošto dolazi do značajnog povećanja koncentracije uree u krvi (Butler i sar., 2001; Tamminga 2006). Negativan efekat uree na oocite spominju i Sinclair i saradnici (2000), koji su dokazali negativan uticaj hraniva sa visokim koncentracijama amonijaka na *in vitro* produkciju blastocita.

Promene u metaboličkim parametrima nakon teljenja direktno utiču na aktivnost jajnika u smislu folikulogeneze, steroidogeneze, ovulacije i posledičnog stvaranja embriona (Santos i sar., 2016).

2.2.5. Telesna kondicija

Kao jedan od značajnih pokazatelja metaboličkog statusa krava koristi se ocena telesne kondicije (OTK). Proporcionalno deficitu energije u ranoj laktaciji, visokomlečne krave mobilisu energetske prekuzore iz telesnih depoa, što se vizuelno ispoljava gubitkom u oceni telesne kondicije (OTK). Prosečno smanjenje OTK visokomlečnih krava od teljenja pa do kraja perioda NEB se kreće u rasponu od 0,5 do 1-og poena, na skali gde se OTK izražava u rasponu od 1 do 5 (Waltner i sar., 1993). Kada se ocena telesne kondicije smanji za 1 poen (u periodu od ranog puerperijuma do 10 odnosno 12. nedelje laktacije), smatra se da je gubitak u telesnoj masi od 7 do 8 %, što približno iznosi oko 417 MCal neto energije (Oikawa i Oetzel, 2006). Naime, optimalna telesna kondicija kod visokoproduktivnih rasa krava u momentu porođaja bi trebalo da iznosi 3,00-3,25. Jedinke koje pre teljenja imaju OTK manju od 3 u postpartalnom periodu imaju smanjenu proizvodnju, dok jedinke sa OTK jednakom ili većom od 3,5 imaju više koncentracije leptina prepartalno, više koncentracije NEFA i BHB postpartalno, produbljeniji NEB i sklonije su smanjenom USM, zbog čega češće podležu metaboličkim poremećajima (Pires i sar., 2013). Krave koje izgube jednu ili više jedinica na skali OTK tokom rane laktacije, podložnije su sterilitetu sa procentom koncepcije od svega 17-38%. Skorije studije pokazuju da krave sa gubitkom više od 1,25 jedinica OTK u ranoj laktaciji imaju dvostruko manje mogućnosti da koncipiraju nakon prvog osemenjavanja u odnosu na krave sa manje izraženim padom kondicije (Gillund i sar., 2001), kao i da se procenat koncepcije osemenjenih krava povećava za 10% sa svakim bodom porasta u OTK (Stevenson i sar., 1999). Jedinke čiji je OTK 3,0 u momentu osemenjavanja imaju najviše izgleda za začće (Loeffler i sar., 1999).

Krave koje imaju veću OTK u trenutku teljenja podložnije su razvoju poremećaja zdravlja u postpartalnom periodu. Pregojene krave ($OTK \geq 4,0$) imaju smanjen apetit u periodu oko teljenja i predispoziciju da mobilisu više prekursora iz telesnih depoa u odnosu na krave sa optimalnom telesnom kondicijom ($OTK \leq 3,75$) (Garnsworthy i Topps, 1982; Rukkwamsuk i sar., 1999). Pored toga, preobilna ishrana tokom perioda zasušenja se dovodi u vezi sa razvojem insulinske rezistencije, masne jetre, ketoze (Herdt 2000; Holtenius i sar., 2003; Bobe i sar., 2004) i hipokalcemije (Horst i sar., 2002). Pregojene

krave takođe imaju veću predispoziciju za teška teljenja, retenciju posteljice (Gearhart i sar., 1990) i pad imuniteta (Lacetera i sar., 2005).

2.3. HORMONALNI STATUS KRAVA

Metabolički status krava nalazi se pod kontrolom endokrinog sistema, odnosno direktno je zavistan od koncentracije određenih hormona u krvi. Hormoni odgovorni za metabolički status su brojni ali poseban značaj u metabolizmu visokomlečnih krava imaju tireoidni hormoni i insulinska osovina. Uzimajući u obzir činjenicu da je za metaboličku funkciju značajna ne samo koncentracija insulina u krvi već i reaktivnost B ćelija pankreasa, prisustvo signalnih molekula odgovornih za delovanje insulina na nivou tkiva kao i zastupljenost nosača za glukozu (GLUT) u tkivima, poslednjih godina se sve više umesto značaja insulinemije na funkciju organizma govori o značaju insulinske osovine (odnosno komponentama insulinskog sistema) u celosti (Gross i sar., 2011).

2.3. 1. Tireoidni hormoni

Za održavanje visokih energetske potrebe u ranoj laktaciji potrebno je uspostavljanje i održavanje homeoretskih mehanizama koji uključuju brojne endokrine i neuroendokrine signale značajne u energetske metabolizmu (Aceves i sar., 1985). Značaj tireoidnih hormona u homeorezi je kod krava u laktaciji odavno zapažen (Pezzi i sar., 2003). Međutim, tokom rane laktacije su koncentracije T_4 i T_3 u serumu krava niže (Kahl i sar., 1991). Prosečna vrednost koncentracije T_3 je najniža kod krava 10 do 20 dana pre teljenja (1,76nmol/l), dok je 15 do 20 dana nakon teljenja znatno viša (1,93nmol/l) (Sinka i sar., 2008). Koncentracija T_4 najniža je 15 do 20 dana posle teljenja (36,9 nmol/l), i značajno se povećava u periodu maksimalne mlečnosti (43,96 nmol/l) i sve do kraja laktacije (63,96 nmol/l). Maksimalnu vrednost T_4 postiže u periodu kasnog graviditeta, 10 do 20 dana pre teljenja (74,64 nmol/l) (Sinka i sar., 2008). Štitna žlezda uglavnom sintetiše T_4 , dok se metabolički aktivan T_3 najvećim delom stvara van štitne žlezde dejodinacijom T_4

pomoću enzima dejodinaze-5' (Chopra i sar., 1978). Fiziološki efekat T_4 i T_3 je isti, ali T_3 ima četiri puta jače biološko dejstvo (Granner, 1989). Nivo tireoidnih hormona u organizmu je od vitalnog značaja u regulaciji metabolizma ugljenih hidrata, masti i proteina (Genje, 1987). Isti autor (1987) ističe da je hipofunkcija štitne žlezde udružena sa porastom koncentracije ketonskih tela u organizmu. Kod krava u NEB dolazi do pada koncentracije T_3 i T_4 (McGuire i sar., 1991). Kod visokomlečnih krava niske koncentracije T_3 i T_4 su zabeležene u prva tri meseca laktacije (Petches i sar., 1985), čak i posle vraćanja BHB i NEFA na fiziološki nivo (Eppinga i sar., 1999). Promene koncentracije T_4 koje su u vezi sa energetske bilansom i metabolizmom ukazuju na stepen promena u sekreciji štitne žlezde pod uticajem tireostimulirajućeg hormona (TSH) (Riis i Madsen, 1985). Direktni efekat T_4 na funkciju jajnika dokazan je kod krmača osamdesetih godina prošlog veka (Channing i sar., 1976), ali uticaj tireoidnih hormona na funkciju jajnika kod krava još uvek nije dovoljno ispitan (Spicer i sar., 2001). Međutim, rezultati ispitivanja do kojih su došli Spicer i saradnici (2011), podržavaju hipotezu da tireoidni hormoni imaju direktan stimulatorni efekat na funkciju jajnika kod krava koji ostvaruju delujući na nivou tekalnih i granuloznih ćelija folikula.

2.3. 2. Insulinska osovina kod krava

Senzitivnost perifernih tkiva (mišićnog i masnog) na insulin se posle teljenja značajno smanjuje i na taj način se energija preusmerava na proizvodnju mleka. Naime, potreba za energijom je izrazito visoka kod krava na početku laktacije jer se tada praktično sva glukoza preusmerava ka mlečnoj žlezdi (Eger i sar., 2016). Da bi se ovo ostvarilo, dolazi do značajnih promena u preraspodeli i korišćenju izvora energije, zahvaljujući ne samo promeni u senzitivnosti pojedinih tkiva na insulin, već i promeni u koncentraciji pojedinih hormona. Tako, neposredno posle teljenja dolazi do porasta koncentracije somatotropnog hormona (STH) koji izaziva rezistenciju perifernih tkiva na insulin, stimuliše lipolizu i sintezu glukoze u jetri obezbeđujući dodatnu energiju za sintezu laktoze u mlečnoj žlezdi (Kim 2015). Nakon porođaja dolazi do smanjene produkcije insulina u pankreasu (Drackley i sar., 2001), što ima za posledicu smanjeno iskorišćavanje glukoze u

insulin zavisnim tkivima (masno i mišićno tkivo) (McArt i sar., 2013). Stanje insulinske rezistencije udruženo sa pojačanom osetljivošću masnog tkiva na kateholamine kao i izražen lipolitički odgovor masnog tkiva (Herdt 2000; Holtenius i sar., 2003) osnovni su mehanizmi koji omogućavaju mlečnoj žlezdi veću dostupnost glukoze za proizvodnju mleka (Komatsu i sar., 2005).

Koncentracija insulina u krvi kod krava je kao i kod drugih životinja u uskoj vezi sa ishranom. Tokom gladovanja koncentracija insulina opada, a kod normalnog hranjenja raste i to najranije jedan, a najkasnije 4-6 sati posle obroka (Sutton i sar., 1980). Insulin stimuliše deponovanje masti i glikogena, kao energetskih jedinjenja, u perifernim tkivima odnosno jetri, i stimuliše sintezu proteina. Kada glikemija padne ispod određenih vrednosti organizam počinje da koristi deponovanu glukozu iz telesnih rezervi kroz proces glikogenolize. Na ovaj način se glikogen deponovan u jetri i mišićima konvertuje u glukozu koja se potom koristi kao izvor energije. Intracelularni unos glukoze odvija se olakšanom difuzijom pomoću membranski vezanih transportnih molekula (GLUT). Do sada je identifikovano 12 tipova GLUT molekula. Ekspresija različitih tkivno specifičnih GLUT molekula omogućava insulinu da kontroliše preraspodelu glukoze u celom organizmu (Zhao i Keating, 2007). U skeletnim mišićima i masnom tkivu prisutni su uglavnom insulin zavisni GLUT 4 molekuli, dok je prisustvo insulin nezavisnih GLUT 1 molekula, za bazalno snabdevanje ćelija glukozom, utvrđeno samo u tragovima. Nasuprot tome, mlečna žlezda, fetalna tkiva i jetra uglavnom poseduju insulin nezavisne GLUT molekule tipa 1, 2, i 3 (Duehlmeier i sar., 2005; Nishimoto i sar., 2006; Zhao i sar., 2006; Zhao i Keating, 2007). Peripartalni period se karakteriše veoma niskom bazalnom koncentracijom insulina i glukozu - zavisnom sekrecijom insulina u B ćelijama endokrinog pankreasa (Lomax, 1979; Sartin i sar., 1985; Bell, 1995; Herzog, 2001; Holtenius, 2003). Iako nema direktan uticaj na proizvodnju mleka, niska koncentracija insulina ima za posledicu izrazito smanjenu ekspresiju GLUT 4 molekula, a time i njeno korišćenje za potrebe mišićnog i masnog tkiva, što povećava raspoloživost glukoze za insulin - nezavisna tkiva. Ehrhardt i Bell (1997), su ustanovili da se na membranama ćelija posteljice kod ovaca progresivno povećava ekspresija GLUT 1 i 3 molekula, počevši od sredine pa do kraja graviditeta, čime se povećava korišćenje glukoze od strane fetalnih tkiva nezavisno od energetskog statusa

majki. Intenziviranje potrošnje glukoze od strane mlečne žlezde odvija se putem sličnih mehanizama: ekspresija svih transportnih molekula za glukozu u mlečnoj žlezdi, pogotovo insulin nezavisnih GLUT 1, se povećava za 5 do više od 100 puta na početku laktacije (Zhao i Keating, 2007). Kao rezultat toga, prilikom priliva glukoze u mlečnu žlezdu je konstantan, dok se koncentracija glukoze kreće u rasponu od 4,4 do 10 mmol/L (Kaneko, 2008), pri čemu mlečna žlezda može da koristi 97 % energije dobijene iz konzumirane hrane (Bell, 1995; Drackley, 1999) i 85 % raspoložive glukoze iz krvi (Knight i sar., 1994; Zhao i sar., 1996; Etherton i Bauman, 1998).

Dugotrajno smanjenje insulinskog odgovora može predisponirati visokomlečne krave za kontinuiranu lipolizu i povećati rizik za razvoj peripartalnih poremećaja zdravlja. Bolje razumevanje mehanizama uključenih u insulinsku rezistenciju i inflamatornu regulaciju u jetri i masnom tkivu mogu doprineti reproduktivnom zdravlju kod krava (LeBlanc 2014). Tokom laktacije jasno je uočena povezanost insulinske rezistencije i pojave mnogobrojnih poremećaja zdravlja kao što su: dislokacija sirišta (van Meirhage i sar., 1988; Holtenius i Traven, 1990; Kräft, 2004), masna jetra, ketoza (Herzog i sar., 2001; Ohtsuka i sar., 2001; Kräft, 2004; Oikawa i Oetzel, 2006) i cistična degeneracija jajnika (Opsomer i sar., 1999). Holtenius i Holtenius (2007) su ustanovili manju vrednost Indeksa za kvantitativnu procenu insulinske senzitivnosti (Quantitative Insulin Sensitivity Check Index - QUICKI), kod gojaznih u odnosu na krave optimalne kondicije. Pored toga, Holtenius i saradnici (2003) su izneli hipotezu da je smanjeni klirens glukoze kod krava u laktaciji koje su hranjene većom količinom koncentrovanih hraniva tokom perioda zasušenja imale za posledicu: povišene koncentracije NEFA u krvi (obimna lipomobilizacija), koja nastaje zbog izrazitog smanjenja količine konzumirane hrane u peripartalnom periodu i dugotrajne hiperinsulinemije koja tokom perioda zasušenja mehanizmom negativne povratne sprege reguliše ekspresiju insulinskih receptora. Inflamatorni procesi u organizmu mogu da utiču na insulinski odgovor, na šta ukazuju rezultati istraživanja Ohtsuka i saradnika (2001) koji su ustanovili negativnu korelaciju između insulin zavisnog prometa glukoze i koncentracije tumor nekrotičnog faktora α (TNF- α) kod krava koje su imale masnu jetru. Kod preživara još uvek se ne zna kojim putevima NEFA indukuju insulinsku rezistenciju, mada neki istraživači, na osnovu rezultata istraživanja, pretpostavljaju da promene nastaju

pre na post-receptorskom nego na receptorskom nivou (Debras i sar., 1989; Vernon i sar., 1990; Kräft, 2004). Razlike u ekspresiji GLUT 4 molekula u skeletnim mišićima i tolerancije na glukozu se pojavljuju kod zdrave mlade i mršave dece čiji roditelji boluju od dijabetesa, mnogo ranije nego što se ispolje klinički znaci bolesti. To pokazuje da je učešće genetskih ili epigenetskih činilaca, nezavisno od načina života i metabolizma, imaju značajnu ulogu u razvoju smanjene tolerancije na glukozu (Petersen and Shulman, 2006). Imajući u vidu činjenicu da kod ljudi postoji genetska predispozicija za razvoj insulinske rezistencije, nameće se mogućnost da je genetska sklonost krava prema insulinskoj rezistenciji sekundarna pojava jednostrane višedecenijske selekcije visokomlečnih rasa goveda za visoku proizvodnju mleka, kao i da je veća sklonost visokomlečnih krava ka nastanku oboljenja posledica ove selekcije.

2.4. REPRODUKTIVNI STATUS KRAVA

2.4.1. Polni ciklus –sezonalnost i početak puberteta

U prirodi, gde su uslovi opstanka životinja mnogo teži, sezonski vid parenja i dalje je najzastupljeniji. Sezonski vid parenja kao evolutivno dostignuće, divljim ali i nekim domaćim životinjama, omogućava optimalnu koordinaciju fizioloških funkcija tokom cele godine (Dardente i sar., 2016). Domestifikacijom divljih životinja, kao i obezbeđivanjem mnogo boljih uslova držanja i pre svega ishrane, sezonalnost pri parenju se kod mnogih životinja izgubila ili se sezona parenja produžila. Međutim, sve domestifikovane životinje pokazuju sklonost povratk prirodnom modelu seksualnog ponašanja i parenja njihovih predaka (Arthur i sar., 2001).

Krave kao vrsta pripadaju grupi nesezonski poliestričnih životinja. Ovaj podatak se odnosi, pre svega, na jedinke u intenzivnom uzgoju, poput krava holštajn rase. Autohtone rase krava koje se uglavnom gaje u ekstenzivno, mogu imati zavisno od vremenskih uslova i sezonski model parenja (Broom i Fraser, 2015). Mlade jedinke ne pokazuju znake seksualne aktivnosti i polnog žara do puberteta. Ulazak u pubertet predstavlja početak ciklične aktivnosti jajnika, i prethodi potpunom fizičkom razvoju jedinke. Ženke koje su u

pubertetu, iako reproduktivno sposobne za parenje, odnosno osemenjavanje, fizički još uvek nisu dovoljne zrele, a samim tim njihov reproduktivni kapacitet nije maksimalan. Početak puberteta zavisi od vrste, rase, uslova držanja, ishrane, individualnih razlika među životinjama, klimatskog podneblja, prisustva, odnosno odsustva bolesti (Ball i Peters, 2004). Kod većine rasa krava pubertet se javlja u periodu od 7-18 meseca starosti. Buše su kasnostasna rasa goveda koja polno sazreva sa 18 do 20 meseci. Promene koje se događaju tokom puberteta direktno su zavisne od promena koje se odigravaju na jajnicima. Dosadašnja istraživanja pokazuju da jajnici, iako parni, funkcionišu kao jedan organ čija aktivnost primarno zavisi od endokrinih faktora koji uključuju hormone poreklom iz jajnika, materice, gonadotropne hormone i njihove receptore (Adams i sar. 2008). Stimulus za razvoj folikula u ranoj životnoj dobi je intraovarijalni, odnosno na njihov rast i razvoj ne utiču gonadorilizing hormoni (GnRH), odnosno gonadotropni hormoni, folikulostimilirajući hormon (FSH) i luteinizirajući hormon (LH), i sve dok junica ne postigne pubertet, ovakvi folikuli podležu atreziji. Kod životinja u prepuberalnom periodu takođe dolazi do razvoja folikularnih talasa, ali bez ispoljavanja simptoma estrusa. Pojava folikula na jajnicima dokazana je kod ženske teladi mlađe od 3 meseca koja nisu bila podvrgnuta hormonskoj idukciji (Kauffold i sar., 2005) Slaba ekspresija znakova estrusa je u modernim zapatima visokomlečnih krava veliki problem pošto dovodi do lošije detekcije estrusa i produžava servis period i međutelidbeno razdoblje u zapatu (Lyuimo i sar., 2000). Rast antralnih folikula tokom ciklusa kod krava se odvija kroz folikularne talase, pri čemu je početak svakog novog talasa stimulisan prolaznim povećanjem koncentracije FSH (Diskin i sar. 2002). Poređenjem ovarijalne aktivnosti među vrstama utvrđeno je da su folikularni talasi zastupljeni kod većine vrsta kao osnovni model folikularnog razvoja (Driancourt 2001). Nemogućnost dovoljnog rasta i razvoja folikula, kao i posledične ovulacije verovatno je u vezi sa činjenicom da je kod mladih jedinki povišen prag za efekat pozitivne povratne sprege estradiola na hipofizu, pa nema dovoljnog preovulatornog porasta luteinizirajućeg hormona koji je odgovoran za sazrevanje folikula i njegovu ovulaciju (Arthur i sar., 2001). Tokom puberteta prag osetljivosti hipofize se snižava, što omogućava adekvatan odgovor na pozitivnu povratnu spregu estradiola i lučenje dovoljnih količina LH (Wolfe i sar., 1991). Smatra se da ovulacija izostaje kod mladih jedinki i zbog povišene

koncentracije endogenih opioida, koji deluju inhibitorno na GnRH koji je kontrolor lučenja LH, utičući na njegovo pulzatilno oslobađanje iz adenohipofize. Inhibitorni efekat opioidnih peptida na GnRH/LH smanjuje se tokom polnog sazrevanja jedinke, što omogućava povratak senzitivnosti hipofize na estradiolom indukovanu povratnu spregu u pubertetu (Wolfe i sar., 1992; Honaramooz i sar., 2000). Prva ovulacija u pubertetu obično nije praćena simptomima estrusa. Razlog “tihog”, prvog estrusa najverovatnije je taj što centralni nervni sistem nije senzibilisan od strane progesterona pa izostaju bihejvioralni znaci polnog žara (Arthur i sar.,2001).

2.4.2. Rast i razvoj folikula kod krava- folikularni talasi

Ultrazvučnim praćenjem rasta i razvoja folikula kao i merenjem koncentracije polnih hormona došlo se do zaključka da se razvoj folikula odvija u tri glavne faze : regrutacija (veličina folikula~ 4mm), selekcija (veličina folikula~ 9mm), dominacija (veličina folikula 10-20mm) (Witbank i sar., 2002). U fazi regrutacije počinje razvoj pula primarnih folikula. Tokom faze selekcije određeni broj folikula je selektovan za nastavak rasta, dok u fazi dominacije jedan ili više folikula (u zavisnosti od vrste, i specifičnosti pojedinačnog ciklusa), nastavlja sa rastom i postaje dominantan, zreo folikul koji će posledično da ovulira. Dominantan folikul (kod monoovulatornih vrsta), sprečava rast ostalih folikula, koji posledično atreziraju. Za visokoproduktivne krave holštajn rase početak normalne ciklične aktivnosti jajnika izuzetno je važan u cilju postizanja maksimalnog reproduktivnog potencijala nakon porođaja (Opsomer i sar., 2000). Poremećaji aktivnosti jajnika različite etiologije su učestaliji tokom postpartalnog perioda kod visokoproduktivnih krava (Opsomer i sar.,1998) Rast folikula se odvija u talasima. Porast koncentracije FSH dovodi do ispoljavanja folikularnih talasa, dok faze selekcije i dominacije jednog folikula nastupaju nakon smanjenja koncentracije FSH u krvi i uspostavljanja reaktivnosti rastućeg folikula na LH. Ne proizvedu svi folikularni talasi dominantan, maturiran odnosno ovulatorni folikul. Razlike u odgovoru na povratnu spregu u okviru hipotalamo-hipofizno-gonadne osovine dovode do razlike u broju ovulatornih folikula, kao i broja antralnih folikula u pulu pri nastanku folikularnog talasa iz kojih se kasnije razvijaju preovulatorni, dominantni folikuli (Hunter i sar., 2004). Periodični anovulatorni talasi se javljaju sve do

pojave odgovarajuće koncentracije, odnosno preovulatornog porasta LH u krvi. Anovulatorni talasi se fiziološki javljaju i tokom prepuberalnog perioda, graviditeta i van sezone parenja. Postoji pozitivna korelacija između dužine trajanja ciklusa i broja folikularnih talasa. Kod krava se javlja dva do tri folikularna talasa tokom ciklusa (Fortune i sar., 1991, Garcia i sar., 1999). U slučajevima gde se javljaju dva folikularna talasa, prvi talas je 3-4 dana, a drugi 12-14 dana ciklusa. U prvom talasu se folikul, pre nego što postane atretičan, najčešće razvije do veličine 9-13mm. U drugom talasu se razvija ovulatorni folikul. On takođe, između 15-20 dana ciklusa dostigne veličinu 9-13mm, ali ne podleže atreziji kao folikuli iz prvog talasa, već 3-4 dana pred ovulaciju, u fazi kasnog diestrusa i ranog proestrusa, postaje dominantan preovulatorni folikul. U slučaju pojave tri folikularna talasa prvi talas kreće već 2-5 dana ciklusa, drugi 9-12 dana, a treći 16-21 dana ciklusa (Adams i sar., 2008). Tokom proestrusa i estrusa (folikularne faze ciklusa) dominantni folikul dostiže veličinu veću ili jednaku od $\geq 1,9$ cm. Sudbina dominantnog, preovulatornog folikula može biti različita u zavisnosti od energetskeg bilansa, kao i metaboličkog i endokrinog statusa krave. Isto važi i za pojavu kao i broj folikularnih talasa, kao i njihov potencijal, u smislu da li mogu da proizvedu maturiran, ovulatorni folikul. Kod većine krava dominantni folikul se razvije 2 nedelje nakon porođaja, ali bez obzira na morfološki normalan izgled i rast pri ultrazvučnom pregledu jajnika, samo oko 40% ovakvih folikula proizvodi količine estradiola dovoljne za stimulaciju ovulacije (Cheong i sar., 2016). Dodatno, krave kod kojih nije došlo do razvoja ovulatornog folikula postpartalno su imale izraženiji NEB i insulinsku rezistenciju, kao i manju frekvencu pulseva LH, i manju količinu androstenediona i estradiola u folikularnoj tečnosti u odnosu na krave koje su ovulirale normalno (Cheong i sar., 2016). Pored uticaja gonadotropina, u celom procesu folikulogeneze i selekcije dominantnog folikula značajnu ulogu igraju intrafolikularni IGF molekuli (Fortune i sar., 2001), kao i njihovi vezujući proteini, čija je koncentracija u postpartalnom periodu kod krava u visokoj korelaciji sa ranije spomenutim energetskeg i metaboličkim statusom jединke. Folikularni talasi nakon porođaja pojavljuju se bez obzira na energetskeg status, ali je razvoj folikula do preovulatorne veličine i verovatnoća ovulacije smanjena ukoliko je OTK loša (Beam i Butler 1999). Koncentracija IGF-I u folikularnoj tečnosti kod krava reflektuje sistemske koncentracije IGF-I, dok se IGF-

II stvara lokalno u teka ćelijama folikula. I IGF-I i IGF-II pojačavaju odgovor jajnika na gonadotropine i stimulišu proliferaciju folikularnih ćelija i steroidogenezu. Koncentracije IGF-I dramatično opadaju prve nedelje nakon teljenja što utiče na interval do prve postpartalne ovulacije kao i na procenat koncepcije (Beam i Butler 1999; Taylor 2004; Wathes, 2007). Insulin takođe deluje direktno na antralne folikule kod krava, ali je njegov efekat manje potentan od IGF-I, ali ekvipotentan sa IGF-I kada je reč o uticaju na produkciju estradiola (Wathes, 2003). Različiti su podaci kada je reč o uticaju koncentracija insulina u cirkulaciji na ponovo uspostavljanje ciklične aktivnosti na jajnicima nakon porođaja. Pothranjenost i loša OTK može izazvati pad insulina ispod fizioloških granica, dok se kod pregojenih porodilja može javiti hiperinsulinemija udružena sa insulinskom rezistencijom. Svaki ekstrem može imati negativan uticaj na fertilitet kod krava.

2.5. NEUROHORMONALNA REGULACIJA POLNOG CIKLUSA

Regulacija polnog ciklusa je kompleksan proces. Ciklična aktivnost kod ženki sisara pod kontrolom je hipotalamo-hipofizno-ovarijalne osovine. Epifiza (*glandula pinealis*) ima veoma bitnu ulogu, pre svega kod sezonalnih vrsta kod kojih u zavisnosti od dužine fotoperioda utiče na oslobađanje gonadotropnih hormona iz hipofize i određuje početak polne aktivnosti. Pošto, sa izuzetkom nekih rasa, nemaju striktno sezonalni model parenja, kod krava je uticaj fotoperioda na reprodukciju, imunski sistem i laktaciju manje izučavan nego kod ostalih sisara (Dahl i sar., 2002). Međutim, oslobađanje melatonina pod uticajem produženog fotoperioda dovodi do povećanja koncentracije prolaktina i IGF-I što pozitivno utiče na laktaciju, telesnu kondiciju kao i reprodukciju kod krava (Dahl i sar., 2002). Hipotalamus je odgovoran za sintezu i oslobađanje GnRH, ali i za sintezu gonadotropina FSH i LH. FSH i LH se nakon sinteze u hipotalamusu preko hipotalamo-hipofiznog portalnog krvotoka transportuju do mesta lagerovanja, adenohipofize. Pretpostavlja se da je sekrecija FSH i LH kod domaćih životinja pod uticajem dva funkcionalno odvojena sistema u hipotalamusu. Prvi je “epizodično/tonični” sistem koji je odgovoran za kontinuiranu bazalnu sekreciju gonadotropnih hormona, a drugi je tzv. “surge” sistem koji kontroliše kratkotrajne, ali masivne sekrecije gonadotropina, pre svega LH (Arthur i sar., 2001). U regulaciji oslobađanja hormona iz hipofize učestvuju tri specifična neurotransmitera:

serotonin, dopamin, noradrenalin. Noradrenalin stimuliše oslobađanje FSH i LH. Inhibicija konverzije dopamina u noradrenalin blokira estrogenom indukovanu pozitivnu povratnu spregu za oslobađanje LH koji je odgovoran za sazrevanje i ovulaciju folikula. Serotonin inhibira bazalnu sekreciju LH i na taj način sprečava ulazak jedinke u estrus. Funkcija serotonina značajnija je kod sezonalnih životinja. Međutim, Barile i saradnici (2015) ovu tvrdnju dovode u pitanje pošto su tokom istraživanja efekata različitih protokola sinhronizacije kod ženki bufala zaključili da je procenat jedinki koje su imale porast LH i ovulirale bio značajno veći ($P \leq 0,05$) u grupi sinhronizovanoj progesteron intravaginalnom spiralom (PRID) ili Ovsynch protokolom od februara do marta (95,8% i 83,3% pojedinačno) u odnosu na grupu sinhronizovanu od maja do juna (75,0% i 54,1% pojedinačno), što ukazuje na smanjenu hipotalamo-hipofiznu osetljivost na protokole sinhronizacije u uslovima produženog fotoperioda. Estrusni ciklus kod krava traje 18-24 dana i čine ga dve faze, lutealna (14-18dana) i folikularna (4-6 dana) (Forde i sar.2011). Adenohipofiza ima direktan uticaj na funkciju jajnika u smislu folikulogeneze, sazrevanja folikula, ovulacije i formiranja žutog tela, ali isto tako i jajnici imaju uticaj, preko mehanizama pozitivne i negativne povratne sprege na hipotalamus i na hipofizu. Odgovor adenohipofize na porast GnRH zavisi od nivoa steroidnih hormona poreklom iz jajnika. Uticaj jajnika na više centre u mozgu posredovan je uglavnom preko estradiola 17β i progesterona (Forde i sar., 2011). Na ovaj način čim koncentracija progesterona opadne, a estradiola poraste senzitivnost adenohipofize na GnRH raste (Adams i sar., 2008). Estradiol izaziva efekat pozitivne povratne sprege kod krava i proizveden od strane dominantnog folikula, svojim povišenim koncentracijama stimuliše značajan preovulatorni porast koncentracije LH, koji posledično izaziva ovulaciju i formiranje funkcionalnog žutog tela (Aerts i sar., 2010). Progesteron najverovatnije zauzima centralno mesto kada je reč o inhibiciji toničnog modusa sekrecije LH (Stevenson i Pulley, 2016). U skladu sa ovim je i podatak da do oslobađanja LH iz adenohipofize dolazi kada dođe do regresije žutog tela koja je udružena sa opadanjem koncentracija progesterona u krvi. Porast LH dovodi do naglog rasta estradiola, a ovaj nagli porast dovodi do prethodno spomenutog porasta LH koji konačno izaziva ovulaciju maturiranog folikula. Inhibin je hormon koji se proizvodi u granulosa ćelijama velikih antralnih folikula, može se izdvojiti iz folikularne tečnosti i

deluje negativnom povratnom spregom na oslobađanje FSH (Kaneko i sar., 1997, Bleach i sar., 2001; Donadeu i Ginther 2004). Estradiol proizveden od strane dominantnog folikula takođe deluje inhibitorno na lučenje FSH (Ireland i sar., 1984; Ginther i sar., 2000). Aktivin i folistatin su još dva peptidna hormona izolovana iz folikularne tečnosti. Aktivin utiče na pojačano lučenje, dok folistatin deluje inhibitorno na oslobađanje FSH. Intrafolikularne izoforme folistatina imaju različit potencijal vezivanja i neutralisanja aktivina, u tom smislu povećana produkcija folistatina može biti bitan faktor inhibicije, bilo direktne ili inhibicijom pozitivne povratne sprege, pozitivnih efekata aktivina na rast i razvoj folikula tokom folikularnih talasa (Glister i sar., 2015). Dodatno, Stangaferro i saradnici (2014) nalaze povećane koncentracije β A subjedinice aktivina, α subjedinice inhibina i folistatina u granulosa ćelijama folikularnih cisti, odnosno smanjene koncentracije inhibina B u folikularnoj tečnosti folikularnih cisti, što verovatno utiče na endokrine pokazatelje kod krava sa cističnom degeneracijom jajnika.

2.6. POVEZANOST REPRODUKTIVNOG I METABOLIČKOG STATUSA KRAVA

Negativni bilans energije blisko je povezan sa sa postpartalnim anovulatornim periodima (Butler i sar., 2003). Fiziološki, najviše koncentracije estradiola se nalaze u zdravim, dominantnim folikulima, i povećavaju se tokom rasta folikula (Comin i sar., 2002). Značajno smanjenje koncentracije estrogena u aktivnom folikulu kao i nepovoljan odnos estrogena i progesterona mogu biti znak prerane luteinizacije zida dominantnog folikula zbog nemogućnosti male količine estradiola da indukuje pozitivnu povratnu spregu na nivou hipotalamusa. Mackey i saradnici (2000) su kod jedinki tovnih rasa goveda, izloženih dijetarnim restrikcijama, tj. jedinki u negativnom energetsom bilansu utvrdili anovulaciju praćenu odsustvom preovulatornog pika LH, kao i uvećanjem koncentracije FSH.

Duže izraženi periodi NEB postpartalno imaju prolongiran negativan uticaj na fertilitet jedinki tako što izazivaju oštećenja oocita u razvoju i samim tim smanjuju indeks

konceptije (Britt 1994). Mnoge studije ukazuju na probleme u aktivnosti jajnika kod krava koje su izložene produbljenim fazama NEB (Beam i Butler 1999; Leroy 2004), poput zakasnele prve postpartalne ovulacije, produženih ciklusa, dužih intervala između lutealnih faza što ukazuje na produženu lutealnu fazu na jajnicima i dovodi do kašnjenja druge postpartalne ovulacije (Leroy 2008). Druga postpartalna ovulacija može kasniti i ukoliko je krava pod stresom, bolesna i/ili je smanjen unos hrane neposredno pre očekivanog termina ovulacije koji sledi luteolizu. Međutim, duže prisustvo luteinske mase na jajnicima u fazama NEB, bilo u formi perzistentnog žutog tela ili folikul luteinskih cisti dovodi se u vezu sa oboljenjima materice. Cistična degeneracija jajnika jedan je od najčešćih reproduktivnih poremećaja u zapažanim visokomlečnih krava tokom postpartalnog perioda, kompleksne etiologije, sa učestalošću pojavljivanja 6-29% (Vanholder i sar., 2002; Peter 2004; Vanholder i sar., 2006). Prema većini autora folikularnim cistama se mogu smatrati folikulu slične strukture, ovulatorne veličine koje perzistiraju na jajnicima 6 i više dana bez naznaka luteinizacije. Ovakve tvorevine ili spontano nestanu tokom prvih 50 dana nakon porođaja, ili nastave da perzistiraju ili polako regresiraju, pri tom remeteći ovarijalnu dinamiku, da bi na kraju bile zamenjene novom cistom na istom ili drugom jajniku (Silvia i sar., 2005; Rizzo i sar., 2009; Rizzo i sar., 2011). Veliki broj faktora može da utiče na pojavu cistične degeneracije. Alteracije u hipotalamo-hipofizno-gonadnoj osovini usled promena u mehanizmu povratne sprege 17 beta estradiola na hipotalamus ili desenzitizacije receptora za GnRH u hipotalamusu odnosno LH receptora u jajnicima. Loša sinhronizacija između LH pika i ekspimiranja receptora na folikularnom zidu takođe predstavlja bitan kofaktor u nastanku folikularnih cisti (Vanholder i sar., 2006). Promene u koncentraciji metabolita prisutnih u krvi kao posledica NEB mogu uticati na sastav folikularne tečnosti. Postpartalne supkliničke i kliničke infekcije materice utiču na aktivnost jajnika i često se javljaju kao posledica NEB koji doprinosi slabljenju imunskog sistema (LeBlanc 2012). Pretpostavka je da oboljenja uterusa suprimiraju oslobađanje GnRH iz hipotalamusa, a posledično i LH iz adenohipofize što loše utiče na folikulogenezu i remeti ovarijalnu funkciju. Kod krava u patološkom puerperijumu dolazi do usporene involucije uterusa, a samim tim i sporijeg uspostavljanja pravilne ovarijalne dinamike. Gotovo polovina mlečnih krava pokaže simptome metritisa, endometritisa, cervicitisa ili purulentni vaginalni iscedak tokom

postpartalnog perioda (LeBlanc 2014). Povišene koncentracije cirkulišućeg prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) usled supkliničkih ili kliničkih infekcija uterusa predstavljaju vrstu signala koji prevenira prerano uspostavljanje ovarijalne aktivnosti, odnosno pojavu estralnog ciklusa pre saniranja puerperalnih infekcija materice. Iz tog razloga prolongirana sekrecija $PGF_{2\alpha}$ iz materične sluzokože u slučajevima akutnih metritisa nakon porođaja ima ulogu u produžavanju postpartalnih anestrusnih perioda. Kako bi servis period trajao ne duže od 85 dana neophodna je maksimalno dobra kooperacija mehanizama koji uključuju involuciju uterusa, aktivaciju hipotalamo-hipofizno-gonadne osovine što se na kraju manifestuje kroz uspostavljanje fiziološke ovarijalne dinamike, pravilno ispoljavanje simptoma estrusa kao i koncepciju nakon osemenjavanja/parenja. Krave u NEB ne usmeravaju hranljive materije ka reproduktivnom traktu, što umanjuje broj folikula po folikularnom talasu, negativno utiče na dalji rast i ekspresiju, dostizanje optimalne veličine i sazrevanje dominantnog folikula. Samim tim dolazi do odlaganja prve postpartalne ovulacije, slabo izraženih simptoma estrusa, lutealne insuficijencije i nižih koncentracija progesterona u krvi. Takođe, neizbalansirana ishrana, pre svega u smislu povećanog unosa hrane, naročito proteina, pojačava perfuziju jetre i na taj način povećava klirens steroidnih hormona (estradiola i progesterona) što doprinosi pojavi anestrusa, anovulacije, ovulacije folikula čija veličina prevazilazi optimalnu (14-18mm), poliovulacije, lutealne insuficijencije i vodi odloženoj lutealnoj regresiji, a sve to najverovatnije usled razvoja dominantnih folikula sa slabom produkcijom estrogena (Sangsritavong i sar., 2002; Sartori i sar., 2004), što posledično rezultira niskim koncentracijama enometrijalnog $PGF_{2\alpha}$. Anestrus je širok pojam koji se najčešće manifestuje kroz slabije izražene simptome estrusa (ili potpuno odsustvo znakova estrusa), uprkos pravilnim metodama dijagnostike estrusa. Anestrusna stanja su najčešće praćena niskom produkcijom progesterona u jajnicima. Visokomlečne rase goveda češće slabije ispoljavaju znake estrusnog ponašanja, naročito u ranom postpartalnom periodu (Harrison i sar., 1990), pa iz tog razloga prva postpartalna ovulacija često ostane neprimećena, a naročito ukoliko je menadžment dijagnostike estrusa i reprodukcije uopšte, u zapatu loš (Harrison i sar., 1990). Tokom proteklih godina anestrus je kao pojam obuhvatao fiziološke i patološke (kliničke) tipove koji su uključivali 4 sledeće forme: tihi estrus/tiha ovulacija, cističnu degeneraciju jajnika, ovarijalnu hipofunkciju i perzistentno

žuto telo (Mwaanga i sar., 2000). Međutim, u skladu sa ovarijalnom (folikularnom i lutealnom) dinamikom podela anestrusa kod krava je nešto drugačija. Ultrasonografska ispitivanja su uz praćenje koncentracije polnih hormona omogućila identifikaciju tri kritične tačke tokom razvoja folikula i to na osnovu njihove veličine: regrutacija (folikuli dijametra oko 4mm), selekcija (folikuli dijametra oko 9mm), dominacija (preovulatorni folikuli, dijametra 10 do 20mm). Klasifikacija anovulatornih stanja zasnovana na ove tri kritične tačke tokom razvoja folikula čini se klinički najracionalnijom. Na ovaj način je anestrus podeljen u četiri tipa (Peter i sar., 2009). U slučaju anestrusa tipa 1 folikuli prolaze samo kroz fazu regrutaciju bez ulaska u fazu selekcije. Patofiziološki aspekt ovog stanja nije najjasniji ali se smatra da je uzrok ovome ekstremna pothranjenost . U tom smislu pothranjenost uz prisutan izražen energetska deficit izaziva poremećaj folikularne dinamike najverovatnije usled nedostatka LH neophodnog u fazi selekcije a naročito dominacije preovulatornih folikula (Jolly i sar., 1995). Jajnici na kojima se ispolji ovakav vid poremećaja rasta folikula podležu opisu „inaktivnih-afunkcionalnih-atrofičnih” jajnika. U slučaju anestrusa tipa 1 dva ultrasonografska pregleda u razmaku od 7 dana ne pokazuju nikakve promene u parenhimu jajnika (nema folikula, ni cističnih formacija kao ni žutog tela). Zastupljenost anestrusa tip 1 u populaciji visokomlečnih krava je ispod 10%. Nažalost, kada je reč o bušama kao autohtonoj rasi krava nisu dostupni podaci o zastupljenosti anestrusa tip 1. Pored direktnog uticaja na jajnike, NEB izaziva lošije indekse koncepcije kod krava kroz negativan uticaj i na druge delove reproduktivnog trakta (Watches i sar., 2007). Postpartalno reproduktivno zdravlje kod krava umnogome zavisi od pravilne involucije uterusa koja uključuje: obnovu endometrijuma, miometralne kontrakcije i dobar bakterijski klirens. Rezultati ispitivanja u poslednje vreme ukazuju na mogućnost negativnog uticaja NEB na involuciju uterusa. Negativan uticaj se ogleda pre svega u lošijem klirensu puerperalnih patogena iz materice, a samim tim češćom pojavom postpartalnih endometritisa kao i sporijom involucijom uterusa (Wathes i sar.2007). Kod krava koje imaju izraženiji NEB u postpartalnom periodu se češće javljaju retencija posteljice, endometritisi i metritisi što negativno utiče na fertilitet jedinki. Postpartalni endometritis produžava servis period za u proseku 15 dana i smanjuje šansu začeca za 31%

(Fourchon i sar. 2000). Kod krava kod kojih je indeks koncepcije lošiji nakon teljenja koncentracije IGF-I bile su niže i pre i posle teljenja (Taylor i sar.2004)

NEB takođe direktno utiče i na rani embrionalni razvoj pošto dolazi do promene u uslovima koji vladaju u jajovodima i materici (Wathes i sar., 2003).

2.7. METABOLIČKI I ENDOKRINI BIOMARKERI METABOLIZMA KOJI UTIČU NA REPRODUKTIVNI STATUS KRAVA

Ishrana je jedan od najvažnijih faktora koji utiču na reproduktivnu efikasnost krava (LeBlanc 2010). Promene u ishrani mogu dovesti do postepenog smanjenja rasta dominantnog folikula, njegovog maksimalnog dijametra i otpornosti (Diskin i sar., 2003). Upravo zbog toga je u poslednje vreme sve veća pažnja istraživača usmerena ka ishrani krava u graviditetu i peripartalnom periodu koji predstavljaju kritične periode u pripremi krave u kasnom graviditetu za porođaj i umnogome definišu njen kasniji reproduktivni status (Tienken i sar., 2015, Urdl i sar., 2015, Grossi i sar., 2013). Iz svega ovoga jasno proizilazi zaključak da postoji tesna veza između metaboličkog i reproduktivnog statusa jedinke. Kao što je napomenuto, hormoni koji su glavni kontrolori metabolizma kod visokomlečnih krava su insulin i tireoidni hormoni.

2.7.1. Somatotropna osovina

Kod jedinki u NEB ovulacija kasni usled smanjenog pulsatilnog lučenja LH kao i smanjene koncentracije glukoze, insulina i IGF-I u krvi što sve redukuje produkciju estrogena od strane dominantnog folikula (Butler 2007). Pored njih, IGF sistem kao deo somatotropne osovine, je izuzetno odgovoran za metaboličko stanje ali i reproduktivni status krava predstavljajući na taj način glavni parametar koji povezuje metabolički i reproduktivni status krava (Beam i Butler, 1999). Koncentracije mnogih od metaboličkih parametara zavise od promena u somatotropnoj osovini koje nastaju kao podrška izrazito visokoj proizvodnji mleka. U uslovima energetskeg deficita broj receptora za somatotropni hormon (STH) na hepatocitima se smanjuje čime se "dekupluje" STH/IGF osovina. Dekuplovanje STH/IGF osovine praćeno je smanjenjem koncentracija IGF-I, a sa druge

strane rastom koncentracija STH u cirkulaciji. Stepen slabljenja, odnosno raskidanja STH - IGF-I osovine je tesno povezan sa energetskim statusom određenim koncentracijom insulina. Naime, obilna ishrana krmnim smešama ili aplikovanje (s.c. ili i.v.) insulina dovodi do povećanja ekspresije mRNK receptora za STH i IGF-I molekula u hepatocitima, porasta koncentracije IGF-I u krvi, a pada koncentracije STH kod gravidnih i krava u laktaciji (Ingvarsen i sar., 2001; Mashek i sar., 2001; Molento i sar., 2002; Butler i sar., 2003; Rhoads i sar., 2004; Lucy, 2008). Sve ovo udruženo sa smanjenjem koncentracije insulina u krvi stvara takav endokrinološki ambijent koji omogućava direktan uticaj STH na lipolizu i glukoneogenezu tokom rane laktacije. Kako bi se metabolički status krave stabilizovao glavni hormoni u somatotropnoj osovini, STH, IGF-I i insulin moraju koordinisano dejstvovati u cilju očuvanja metaboličke homeostaze jedinke (Kim 2015). Proizvodnja IGF-I u ranom postpartumu je kod većine krava, pogotovo visokomlečnih rasa, smanjena. Ovo najverovatnije izaziva slabiji razvoj prvih postpartalnih folikula. Ponovno uspostavljanje ovarijalne aktivnosti nakon porođaja je koordinisan proces koji uključuje rekuplovanje STH/IGF-I osovine u jetri, razvoj folikularnih talasa, steroidogenezu i prestanak efekta negativne povratne sprege na hipotalamus od strane estradiola (Santos i sar., 2016). Pad koncentracije insulina i glukoze u krvi nakon teljenja je udružen sa padom koncentracije IGF-I (Vicini i sar., 1991; Grummer i sar., 1995; Lucy 2000). Smatra se da je IGF-I glavni medijator u uticaju STH na proizvodnju mleka. Koncentracije STH i IGF-I se dinamično menjaju tokom peripartalnog perioda (Cohick 1998). U poređenju sa kravama u laktaciji krave u antepartalnom periodu imaju niske koncentracije STH i visoke koncentracije IGF-I u krvi (Cohick 1998). . Kako dani u laktaciji prolaze koncentracija STH polako opada, dok koncentracija IGF-I polako raste (Lucy 2000). Mehanizmi koji dovode do promena u koncentracijama STH i IGF-I tokom rane laktacije nisu potpuno jasni. Većina IGF-I se stvara i oslobađa iz jetre kao odgovor na delovanje STH na STH receptore u jetri. IGF-I kasnije deluje negativnom povratnom spregom na hipotalamus i reguliše oslobađanje STH. Raskidanjem negativne povratne sprege između IGF-I i hipotalamusa dolazi do povećanja koncentracije STH u krvi (Doepel i sar., 2002; Zulu i sar., 2002; Rhoads i sar., 2004).

Jedan od glavnih efekata STH na ekstra mamarna tkiva (periferna tkiva, masno i mišićno) je stimulatívno delovanje na kataboličke procese u njima, a svoje delovanje ostvaruje tako što menja odgovor ovih tkiva na insulin i kateholamine (Bell, 1995). U adipocitima STH pojačava stimulatívni efekat kateholamina na lipolizu (Sechen i sar., 1990) i povećava rezistenciju masnog tkiva na insulin (Bauman i Vernon, 1993, Bell, 1995, McNamara, 1997), što ima za rezultat intenziviranje procesa lipolize. U mišićnom i masnom tkivu u *in vitro* uslovima, STH smanjuje ekspresiju i translokaciju GLUT 4 receptora (Zhao i Keating, 2007) i u skladu je sa delovanjem STH koji smanjuje oksidaciju glukoze u organizmu i, tako obezbeđuje adekvatan priliv glukoze u mlečnu žlezdu u *in vivo* uslovima (Bauman sar., 1988). U jetri, STH smanjuje inhibitorno delovanje insulina na enzime glukoneogeneze i povećava proizvodnju glukoze u jetri (Dunshae i sar., 1992; Bell i Bauman, 1997). Dekuplovanje STH/IGF osovine znači da je odnos između IGF-I i proizvodnje mleka u ranoj laktaciji negativan, dok u kasnijim fazama laktacije, sa povećanjem broja STH receptora u jetri dolazi do uspostavljanja pozitivne korelacije između koncentracija STH u krvi i proizvodnje mleka. Svi navedeni podaci podržavaju koncept da STH indukuje promene u senzitivnosti i odgovoru tkiva na insulin. To doprinosi štednji glukoze, intenzivira proces glukoneogeneze i lipolize kod krava na početku laktacije. Anovulatorni periodi, karakteristični za stanje NEB, se javljaju usled smanjenog broja LH pulseva, niže glikemije, smanjene koncentracije insulina i IGF-I što zajedno dovodi do smanjene produkcije estrogena od strane dominantnog folikula. LH pulsevi su izuzetno značajni za ovulaciju dominantnog folikula, ali samostalno nisu dovoljni za ovulaciju, ukoliko je prisutan mali broj receptora za LH u jajniku (Rawan i sar., 2015). Smatra se da IGF-I ima ključnu ulogu u regulaciji ekspresije mRNK za LH receptore i da na taj način učestvuje u razvoju i ovulaciji dominantnog folikula (Rawan i sar., 2015). Isti autor je utvrdio da se promenjena produkcija estradiola od strane dominantnog folikula može se dovesti u vezu sa smanjenom produkcijom IGF-I. Koncentracije IGF-I i IGFBP-3 više su u plazmi kod krava kod kojih je prvi dominantni folikul ovulirao, u odnosu na krave sa anovulatornim prvim postpartalnim dominantnim folikulom. Dakle, IGF-I molekuli, zajedno sa svojim vezujućim proteinima (Insulin like growth factor binding proteins - IGFBP) utiču na aktivnost jajnika. Njihov efekat je utvrđen kako na

granuloza i teka ćelijama, tako i na lutealnim ćelijama. Ovaj efekat najverovatnije ostvaruju delujući sinergistički sa gonadotropinima. Pored ovih molekula postoje pokazatelji da je STH aktivno uključen u dešavanja na jajnicima i to zbog njegovog uticaja na proizvodnju IGF-I u jetri (Lucy i sar., 1999).

2.7.2. Tireoidna osovina

Tireoidni hormoni, kao biomarkeri intenziteta metaboličkih procesa, u velikoj meri utiču na aktivnost reproduktivne osovine kod krava (Kafi i sar., 2012). U humanoj medicini se disfunkcija štitne žlezde povezuje sa ovarijalnom hiperstimulacijom i/ili sindromom policističnih jajnika (POS-Polycystic ovarian syndrome) (Mutinati i sar., 2013). Takođe, metabolizam tireoidnih hormona ima bitnu ulogu u regulaciji homeoretskih mehanizama uključenih u održavanju funkcija visokog prioriteta (Aceves i sar., 1985). Proces folikulogeneze u velikoj meri zavisi od koncentracije tireoidnih hormona, pre svega trijodtironina (T_3) aktivne forme koja nastaje iz tiroksina (T_4) dejstvom dejodinaza. U jajniku se T_3 , koji deluje tako što pojačava efekte FSH na tkivo jajnika i stimuliše sekretornu aktivnost granuloza ćelija i produkciju estrogena (Spicer i sar., 2001.; Ashkar i sar., 2010.), stvara dejodinacijom T_4 uz pomoć dejodinaza tipa 1 i 2, koje su najaktivnije tokom rasta folikula. Ovo jasno ukazuje na značaj tireodnih hormona u rastu i razvoju folikula (Kirovski, Stojić 2011). Koncentracije tireostimulirajućeg hormona (TSH) i T_4 niže su kod krava sa cističnom degeneracijom jajnika u odnosu na jedinke koje normalno cikliraju, kada je reč o koncentraciji T_3 kod cističnih ili normalno ciklirajućih krava, ona se ne razlikuje značajno (Mutinati i sar.2013).

2.7.3. Insulinska rezistencija

Iako se poslednjih godina uglavnom poseban značaj daje na vezi metaboličkog i reproduktivnog statusa koji se ostvaruje posredstvom IGF osovine, ne treba zanemariti činjenicu da je insulin (glavni regulator metabolizma organskih materija) takođe značajan za razvoj reproduktivne osovine. Tako su Opsomer i saradnici (1999) utvrdili da je

insulinska rezistencija kod visokomlečnih krava u periodu posle teljenja glavni uzrok pojave ovarijalnih cista.

Ishrana krava može u velikoj meri da utiče na stepen insulinske rezistencije u peripartalnom periodu (Prodanović i sar., 2014), koja posledično dovodi do smanjenje unosa suve materije, povećanje koncentracije NEFA u krvi i smanjenje telesne kondicije tokom perioda rane laktacije. Dramatične promene u metabolizmu u peripartalnom i periodu rane laktacije se mogu delimično izbeći adekvatnom ishranom jedinki u periodu zasušenja, odnosno u periodu pre teljenja. Tendencija istraživača u cilju smanjenja efekata NEB bila je maksimalno povećanje unosa suve materije u poslednjoj fazi zasušenja uz postepeno uvođenje manjih količina smeša u obrok istog sastava kao i hraniva koja se koriste na početku laktacije (Overton i Waldron, 2004; Drackley i Dann, 2005). Učestalost pojave najvažnijih postpartalnih metaboličkih oboljenja je manja kod krava sa nižim vrednostima NEFA u krvnoj plazmi tokom poslednje dve nedelje gestacionog perioda (Dik, 1995), dok je slabiji fertilitet kod krava sa izraženijim NEB između ostalog posledica negativnog uticaja metaboličkih signala na reproduktivni sistem (Pushpakumara i sar., 2003.). Slabiji apetit u antepartalnom periodu 3 do 4 nedelje pre očekivanog teljenja rezultira većim postpartalnim koncentracijama NEFA u krvi i triglicerida u jetri (Mashek i Grummer 2003.). Sa druge strane Douglas i saradnici (2006) navode da su krave koje su tokom celog perioda zasušenja unosile 80% od svojih energetske potrebe, imale nižu koncentraciju NEFA nakon teljenja, nižu glukozu i insulin pre teljenja kao i bolji unos suve materije obroka postpartalno u odnosu na jedinke koje su konzumirale 160% od predviđenih potreba u istom periodu. Više koncentracije NEFA i BHB, slabiji apetit i energetski disbalans u prvih 10 dana laktacije, kao rezultat pojačane insulinske rezistencije, mogu biti uslovljene ishranom sa 150% od energetske potrebe tokom ranog perioda zasušenja (Dann i sar. 2006). Prethodno navedeni podaci idu u prilog činjenici da ishrana energetski bogatom hranom u periodu zasušenja dovodi do promena u metaboličkom statusu jedinki koje izazivaju više koncentracije NEFA neposredno pre teljenja i smanjeno uzimanje suve materije postpartalno, a sve to posledično ima negativan uticaj na fertilitet kod krava.

3. CILJ ISTRAŽIVANJA

Cilj istraživanja je bio da se ispitivanjem mehanizama koji povezuju metaboličke procese i reproduktivnu aktivnost krava dv erase različitog genetskog potencijala u odnosu na proizvodnju mleka utvrde one adaptivne promene u metabolizmu koje su dovele do visoke proizvodnje mleka a mogle su imati negativni uticaj na reproduktivnu aktivnost životinja.

Radi postizanja navedenog cilja postavljani su sledeći istraživački zadaci:

1. Određivanje koncentracije metaboličkih parametara u krvi dve rase goveda
2. Određivanje koncentracije hormona značajnih za kontrolu metaboličkih i reproduktivnih parametara
3. Utvrđivanje reproduktivnog statusa dve rase krava
4. Određivanje stepena korelacije između metaboličkih, endokrinih i reproduktivnih karakteristika krava dve rase.
5. Analiza razlika u metaboličkom i reproduktivnom statusu kojima bi se mogli objasniti adaptivni mehanizmi koji dovode do visoke mlečnosti a imaju posledice na reproduktivni status

4. MATERIJAL I METODE RADA

4.1. Ogledne životinje

Istraživanje je sprovedeno na 16 krava, od toga 8 visokomlečnih krava holštajn rase i 8 krava autohtone rase buša. Krave rase holštajn bile su u vlasništvu PKB korporacije, držane na farmama komercijalnog-industrijskog tipa, dok su krave rase buša držane u ekstenzivnom uzgoju na paši po sistemu majka-tele na teritoriji sela Gornji Krivodol na Staroj Planini. Sve krave u ogledu su bile od 2 do 4 laktacije. Sastav i količina obroka kojim su životinje hranjene bio je usklađen sa potrebama za datu proizvodno reproduktivnu fazu kod krava Holštajn rase, a kod krava rase Buša u skladu sa mogućnostima ekstenzivnog držanja u periodu zima – proleće kada je ogled vršen.

Krave koje su izabrane za ogled bile su u poslednjoj fazi graviditeta, i zatim su praćene do 50. dana pole teljenja.

4.2. Uzimanje uzoraka krvi

Uzorci krvi su uzimani od svih životinja punkcijom *v.jugularis* 10 do 14 dana pre teljenja, kao i 14., 30. i 50. dana posle teljenja. Uzorci su uzimani u sterilne epruvete bez antikoagulansa. Nakon uzimanja, uzorci krvi su ostavljani tokom 30 minuta da bi se izvršila spontana koagulacija, a zatim centrifugirani na 3000 obrtaja u minuti tokom 10 minuta. Izdvojeni uzorci krvnih seruma su zamrzavani na -20°C do izvođenja analiza.

4.2.1. Određivanje koncentracije biohemijskih parametara krvi

U svim uzorcima krvnog seruma određivana je koncentracija glukoze, beta-hidroksi buterne kiseline (BHB), neesterifikovanih masnih kiselina (NEFA), ukupnih proteina, albumina, uree, ukupnog bilirubina (UB), kalcijuma, fosfora, magnezijuma, holesterola, triglicerida (TG), aktivnost aspartat aminotransferaze (AST), gama glutamil transferaze

(GGT). Koncentracije glukoze i beta-hidroksi butirata takođe su određivane u punoj krvi odmah nakon uzimanja, na aparatu Precision Xceed (Abbott, SAD) upotrebom komercijalno dostupnih traka istog proizvođača.

Koncentracije glukoze su određene nakon enzimске oksidacije u prisustvu glukoza oksidaze. Koncentracije BHB su određene pomoću kinetičko enzimске metode. Koncentracije NEFA su određene enzimsko-kolorimetrijskom metodom. Koncentracije UB su određene modifikovanim postupkom po Jendrassik-u koja se temelji na reakciji bilirubina i sulfonske kiseline sa dve azotne grupe. Koncentracije ukupnih proteina određene su Biuret kolorimetrijskim postupkom. Koncentracija albumina je određena kolorimetrijskom metodom pomoću bromkrezol zelene. Koncentracija uree određena je enzimskim UV testom uz pomoć ureaze i glutamat dehidrogenaze. Koncentracija P određena je fosfomolibdat kolorimetrijskim postupkom. Koncentracije Mg određena je kolorimetrijskim metodom koja se bazira na reakciji ksilidil- plavog. Koncentracije holesterola određene su korištenjem enzimsko- kolorimetrijske metode. Koncentracije TG su određene kolorimetrijskom glicerol-fosfat oksidaza metodom. Aktivnosti AST određene su pomoću kinetičke UV metode koja se temelji na brzini oksidacije NADH u kuplovanoj reakciji malat dehidrogenaze. Aktivnosti GGT određene su kolorimetrijskim postupkom.

Koncentracije glukoze, BHB, NEFA, UB, uree i aktivnosti GGT su mereni pomoću Randox kitova (UK). Ukupni proteini, albumini, koncentracije P i aktivnosti AST su mereni pomoću Spinreact kitova (Španija). Koncentracije Ca su merene pomoću Clinichem kitova (Mađarska). Koncentracije Mg, TGa i holesterola merene su pomoću Pointe scientific kitova (SAD).

Svi biohemijski parametri krvnog seruma određeni su polu-automatskim biohemijskim analajzerom STAT FAX 3300 AWRENESS Technology Inc (SAD).

4.2.2. Određivanje koncentracije hormona u krvi

U uzorcima krvi određivane su koncentracije insulina, trijodtironina, tiroksina, estradiola, insulinu sličnog faktora rasta I (IGF I), i njegovih vezujućih proteina (IGFBP-2, IGFBP-3 i IGFBP-4). Koncentracije insulina, trijodironina, tiroksina, IGF-I i estradiola određivana je RIA metodom uz upotrebu komercijalnih kitova proizvodnje INEP Zemun.

4.3. Testovi intravenskog opterećenja glukozom

Kod svih krava u ogledu vršeni su testovi intravenskog opterećenja glukozom (IVGTT) i to antepartalno (10 do 14 dana pre teljenja) i postpartalno (14 dana posle teljenja). Prilikom izvođenja testova opterećenja izbegavana je gruba manipulacija sa životinjama kako bi se umanjio efekat stresa. IVGTT su izvedeni aplikacijom 0,5g/kg 50% rastvora glukoze u *v.jugularis* u trajanju 5-6 minuta. Neposredno pre davanja glukoze (0. minut) uzimani su uzorci krvi punkcijom *v.jugularis*. Uzorci krvi uzimani su i 15., 30., 60., 90., 120. i 180. minuta od davanja glukoze punkcijom suprotne *v.jugularis* u odnosu na onu u koju je aplikovana glukoza

4.3.1. Matematički izračunati pokazatelji insulinske rezistencije

Da bi se testovi intravenskog opterećenja glukozom iskoristili za ispitivanje insulinske rezistencije perifernih tkiva, obračunati su sledeći parametri: HOMA (Homeostasis Model Assessment), RQUICKI (Revised Quantitative Insulin Sensitivity Check Index) i QUICKI (Quantitative Insulin Sensitivity Check Index) kao i parametri vezani za promene koncentracija glukoze (k , $T_{1/2}$, Pik_{gluk} i AUC_{gluk}), insulina (ΔMax_{ins} , Pik_{ins} i AUC_{ins}) i NEFA (AUC_{NEFA}).

HOMA indeks služi za procenu insulinske rezistencije i funkcije B ćelija pankreasa. HOMA model je pouzdan metod za procenu promena u insulinskoj rezistenciji jer primarno određuje vrednost bazalne insulinske rezistencije. Izračunava se iz vrednosti insulina i glukoze pomoću sledeće formule: $HOMA\ indeks = \frac{glukoza \times insulin\ bazalni}{25}$

RQUICKI služi za procenu insulinske rezistencije u različitim gestacijskim periodima korišćenjem bazalnih vrednosti glukoze, insulina i NEFA, kao što je opisano od strane Holtenius i Holtenius (2007), a u skladu s formulom: $RQUICKI = 1 / [\log glukoza(mg / dl) + \log insulin (\mu U / ml) + \log NEFA (mmol/l)]$. Niska vrednost indeksa označava smanjenu osetljivost tkiva na insulin.

QUICKI služi za procenu insulinske senzitivnosti i prema Holtenius i Holtenius (2007), ima bitnu ulogu u određivanju stepena insulinske rezistencije. Određuje se pomoću sledeće formule: $QUICKI = 1 / \log glukoza(mg / dl) + \log insulin (\mu U / ml)$

Kinetika glukoze tokom IVGTT utvrđena je pomoću sledećih parametara: bazalna koncentracija glukoze (T_0), stopa smanjenja (K), poluvreme eliminacije glukoze ($T_{1/2}$) i površina ispod krive (AUC_{glu}).

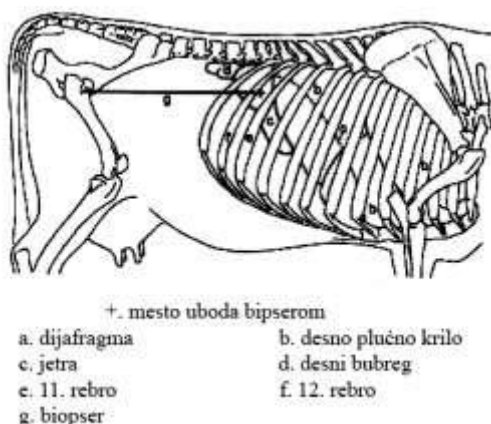
Kinetika insulina tokom IVGTT utvrđena je pomoću sledećih parametara: bazalna koncentracija insulina (T_0), najveća koncentracija (Ins_{peak}), porast insulina (ΔMAX_{ins}) i površina ispod krive (AUC_{ins}).

Bazalne koncentracije glukoze i insulina određivane su pre aplikacije bolusa glukoze. Stopa smanjenja glukoze (K -vrednost) određena je iz koncentracije glukoze u krvnom serumu određene 15 i 60 minuta od davanja glukoze, pomoću modifikovane formule po Kaneku (2008),: $K = \frac{[\ln glucose_{T15} - \ln glucose_{T60}]}{(T60 - T15)} * 100$ (% min).

Poluvreme eliminacije ($T_{1/2}$) egzogeno unete glukoze je dobijeno u skladu s formulom: $(T_{1/2}) = 0,693 / K * 100$ (min). Porast insulina (ΔMAX_{ins}) je izračunat kao razlika između pika i bazalnih koncentracija insulina. AUC za insulin i glukozu su procenjeni kao integrisano područje (linearni trapezoidni metod) ispod koncentracija insulina i glukoze u serumu nakon aplikacije glukoze.

4.4. Uzimanje uzoraka tkiva jetre, mišićnog i masnog tkiva

Uzorci tkiva jetre uzimani su perkutanom biopsijom 14-10 dana pre kao i 14 dana nakon teljenja. Perkutana biopsija je vršena prema metodi koju su opisali *Hojcova-Kacafirex* (1967), pomoću modifikovanog biopsera za uzimanje tkiva jetre. Biopser se sastojao od igle sa vrhom u obliku bodeža duge 20,5 cm, umetnute u čeličnu kanilu (spoljašnji promer \varnothing 6 mm, unutrašnji promer \varnothing 4 mm). Pribor za izvođenje biopsije, pored opisanog biopsera, sastojao se od brijača, rastvora povidon-jodida, 2% rastvora prokain-hidrohlorida, skalpela i plastične brizgalice sa klipom. Biopsija jetre vršena je na stojećim životinjama u 11. Međurebarnom prostoru, 20 do 30 cm od dorzalne linije spinalnih nastavak torakalnih pršljenova, odnosno u liniji sedne kvrge- *tuber ischii*.



Slika 1. Šematski prikaz mesta vršenja biopsije jetre

Operaciono polje 5x5cm je pre uzimanja uzoraka tkiva jetre obrijano i dezinfikovano 70% alkoholom i rastvorom joda. Na mestu uzorkovanja aplikovana je i lokalna infiltrativna anestezija, 5ml 2% rastvora lidokain-hidrohlorida. Anestezija je aplikovana u cilju otklanjanja bola kod životinje ali i smanjenja verovatnoće slučajne povrede nekog drugog

organa koja bi se mogla desiti usled iznenadne reakcije krave na bol. Vršena je incizija kože i potkožnog tkiva skalpelom sve do mišića u dubini 1 do 1.5cm, paralelno sa rebarnim lukom, kako bi olakšali uvođenje biopsera. Prilikom uvođenja biopser je usmeren (kranio-ventralno), prema levom olekranonu. Nakon ulaska u tkivo jetre, igla biopsera je izvađena, a na kanilu je postavljena plastična brizgalica koja povlačenjem klipa stvara vakuum. Uzorak tkiva jetre (dijametra 3-4 mm i dužine 3-5 cm) je uzet tako što je istovremeno sa povlačenjem klipa, instrument potiskivan dublje u tkivo jetre uz rotaciju od 180°, čime je isečak tkiva uvučen u lumen kanile. Nakon vađenja kanile sa isečkom tkiva jetre, rana na koži tretirana je antibiotskim sprejom. Western blot metodom određena je zastupljenost insulinskih receptora u uzorcima jetre prethodno čuvanim na -80°C.



Slika 2. Pribor za izvođenje biopsije jetre

Uzorci mišićnog i masnog tkiva uzeti su perkutanom biopsijom prema metodi koju su opisali Al-Trad i saradnici (2009).

4.5. Određivanje relativne zastupljenosti IGF-vezujućih proteina

Stepen relativne zastupljenosti IGF-vezujućih proteina (IGFBP-2 i IGFBP -3) određen je imunoblot metodom u osam uzoraka krvnih seruma iz svake grupe krava uzetih 14. dana pre i 14. dana nakon teljenja.

Tokom pripreme određivanja stepena relativne zastupljenosti IGF-vezujućih proteina, uzorci krvnih seruma podvrgnuti su elektroforezi (SDS-PAGE, 12,5% gel). Uzorci su prvo razređeni sa 0,05M PBS puferom (pH=7,4) u odnosu 1:50, a zatim puferom za uzorke (Tris-HCl pufer, pH=6,8, 2% SDS i 10% glicerol) u odnosu 1:1. Zatim su uzorci inkubirani u vodenom kupatilu (56°C), tokom 7 minuta, kako bi se vezujući proteini izdvojili iz kompleksa sa molekulima IGF. Nakon toga sprovedena je elektroforeza (napon 60V, jačina struje 15mA).

Po završetku procesa elektroforeze, izdvojeni proteini krvnog seruma su elektrotransferom preneti na Imobilon-P membranu. Nakon blokiranja slobodnih mesta na membrani pomoću 3% deterdženta Nonidet P40 u 0,01M Tris-HCl puferu (pH=7,4), koji je sadržavao 0,15 M NaCl kao osnovni pufer, sprovedeno je ispiranje membrane sa 0,1% rastvorom Tween-20 u osnovnom puferu, tokom pola sata na sobnoj temperaturi. Nakon još 4 ispiranja u osnovnom puferu pod identičnim uslovima, u trajanju od po pet minuta, membrane su čuvane na temperaturi od -20°C, u trajanju od najviše tri meseca.

Prisustvo i reaktivnost IGF vezujućih proteina vršeno je imunoblot (ligand blot) metodom, pri čemu je kao ligand korišten ¹²⁵I-IGF-I. Prisustvo i relativna zastupljenost različitih frakcija IGF-vezujućih proteina, procenjivani su na osnovi reakcije vezivanja sa ligandom.

Nakon što su pripremljene na opisani način, membrane su tokom 24 sata inkubirane na temperaturi od 4°C u prisustvu liganda (¹²⁵I-IGF-I) u 0,01 M Tris-HCl puferu (pH=7,4), koji je sadržavao 0,15 M NaCl kao osnovni pufer i 0,1% Tween-20 (5 x 10⁶ cpm/membrani). Nakon inkubacije, membrane su ispirane po pet puta sa osnovnim puferom, pri čemu su prva dva ispiranja izvršena uz dodatak Tween-20 rastvora. Membrane su, nakon što su osušene na vazduhu, stavljene u kontakt sa rendgenskim filmom, kako bi se izvršila autoradiografija. Nakon ekspozicije (šest nedelja na temperaturi od -80°C), izvršeno je razvijanje i fiksiranje filma upotrebom komercijalnih reagenasa. Relativni intenzitet zatamnjenja traka na očekivanim pozicijama za IGF-vezujuće proteine izražen je u ADU (Arbitrary Densitometric Units).

4.6. Procena reproduktivnih parametara

Procena reproduktivnih parametara izvršena je observacijom spoljašnjih genitalnih organa, transrektalnom palpacijom materice i transrektalnim ultrasonografskim pregledom 30. dana nakon teljenja.

Observacija spoljašnjih genitalnih organa je uključivala adspekciju *labia vulvae*, pregled sluzokoža *vestibuluma* i *vagina propriae* vidljivih golim okim i pomoću vaginoskopa u cilju utvrđivanja prisustva eventualnih povreda nastalih kao posledica teljenja, kao i prisustva vulvovaginalnog iscedka.

Transrektalna palpacija materice je sprovedena sa ciljem procene da li je stepen involucije (dužina, debljina materičnih rogova, pozicioniranost –karlično, abdominalno, prisustvo sadržaja u lumenu) materice u skladu sa fazom puerperijuma u momentu pregleda.

Transrektalni ultrasonografski pregled je izvođen portabl ultrazvučnim aparatom marke *Pie medical*, sa multifrekventnom endorektalnom sondom frekvenci od 5-7MHz. Ultrasonografskim pregledom je takođe vršena procena statusa materice kao i procena statusa jajnika, odnosno ovarijalne dinamike (prisustvo i/ili odsustvo folikula, žutog tela, cisti, anovulatornih folikula sa luteiniziranim zidom).

Parametri reproduktivnog statusa krava u postpartalnom periodu su opisivani po kriterijumima predloženim od strane Sumioyshi i saradnika (2014), datim u tabeli 1.

Tabela 1.: Skala bodovanja reproduktivnih parametara

Regioni reproduktivnog trakta	Uočeni simptomi	Bodovanje
Vulva i vagina	Povrede Iscedak	0- izraženi simp., 1-blagi simp.,2-bez.simp. 0-prisustvo, 1- odsustvo
Materica	Dužina i debljina materičnih rogova Kontraktilnost Prisustvo sadržaja u lumenu	0-abnormalno, 1-blago uvećani za tu fazu puerperijuma, 2- normalno 0-bez simptoma,1-blagi simp.,2-izraženi simp. 0-prisustvo u veikim količinama,1- umereno prisustvo, 2- odsustvo
Jajnici	Veličina Aktivnost	0- atrofični, 1- normalne veličine 0- bez aktivnosti, 1-slabo aktivni, 2- aktivni

5. REZULTATI

5.1. KONCENTRACIJA BIOHEMIJSKIH PARAMETARA KRVI

Radi bolje preglednosti rezultati su prikazani odvojeno za pojedine biohemijske parametre krvi, hormone krvi, testove opterećenja i reproduktivne pokazatelje.

Od biohemijskih parametara u krvi su određivani koncentracija BHBA, ukupnog bilirubina, proteina, albumina, uree, kalcijuma, fosfora, magnezijuma, holesterola, triglicerida, aktivnost gama glutamil transpeptidaze (GGT), aktivnost aspartat transferaze (AST).

5.1.1. Koncentracija BHBA

Rezultati za koncentracije BHBA za obe rase krava u ispitivanim periodima prikazane su u tabeli 5.1.0.

Tabela 5.1.0. Koncentracija BHBA (g/L) u krvi krava i statistička značajnost razlika

	Krave rase buša (n = 8)				Krave rase holštajn (n = 8)			
	14-10 AP	14 PP	30 PP	50 PP	14-10 AP	14 PP	30 PP	50 PP
X	0,63	0,82	0,56	0,76	0,85 ^{n.z}	1,14 ^{n.z}	0,86*	0,52*
SD	0,19	0,24	0,11	0,21	0,26	0,42	0,30	0,14
SE	0,07	0,08	0,04	0,08	0,09	0,15	0,11	0,05
CV	29,76	29,23	19,99	27,99	30,23	36,78	34,98	27,33
IV	0,31- 0,90	0,41- 1,10	0,36- 0,76	0,39- 1,07	0,56- 1,26	0,65- 1,65	0,47- 1,47	0,31- 0,73

^{n.z.}p > 0,05, *p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001 u odnosu na vrednost kod krava rase buša istog dana ispitivanja

Iz tabele 5.1.0. se zapaža da je koncentracija BHBA u krvi krava holštajn rase bila značajno viša nego u krvi krava rase buša 30. dana, dok je 50. dana posle teljenja koncentracija BHBA bila značajno viša u krvi krava rase buša (p < 0,05, pojedinačno). 14. dana posle i 10. do 14. dana pre teljenja nije bilo značajne razlike u koncentraciji BHBA između dve grupe, iako je kod holštajn krava koncentracija bila numerički veća.

U tabelama 5.1.1 A i 5.1.1. B prikazane su značajnosti razlika koje se odnose na promenu koncentracije BHBA unutar rase tokom vremena.

A)

KRAVE RASE BUŠA			
Dan AP/PP	14 AP.		
14 PP.	n.z.	14 PP.	
30 PP.	n.z.	p<0,05	30 PP.
50 PP.	n.z.	n.z.	p<0,05

B)

KRAVE RASE HOLŠTAJN			
Dan AP/PP	14 AP.		
14 PP.	n.z.	14 PP.	
30 PP.	n.z.	n.z.	30 PP.
50 PP.	p<0,01	p<0,01	p<0,05

Iz tabele 5.1.1. A se vidi da je kod krava rase buša koncentracija BHBA postpartalno bila najniža 30. dana posle teljenja i to značajno u odnosu na koncentraciju određenu 14. dana ($p < 0,05$) i 50. dana posle teljenja ($p < 0,05$). Nije bilo značajne razlike u koncentraciji BHBA između 14. i 50. dana posle teljenja kod krava rase buša.

Iz tabele 5.1.1. B se zapaža da je kod krava rase holštajn koncentracija BHBA postpartalno porasla u odnosu na vrednost određenu prepartalno, ali ne značajno. Nakon teljenja koncentracija je opadala i bila je najniža 50. dana posle teljenja, kada je bila značajno niža u odnosu na vrednosti određene 14. i 30. dana postpartalno ($p < 0,05$ i $p < 0,01$, pojedinačno).

5.1.2. Koncentracija ukupnog bilirubina (UB)

Rezultati za koncentracije UB obe rase krava u ispitivanim periodima prikazane su u tabeli 5.2.0.

Tabela 5.2.0. Koncentracija ukupnog bilirubina ($\mu\text{mol/L}$) u krvi krava

	Krave rase buša (n = 8)				Krave rase holštajn (n = 8)			
	14-10 AP	14 PP	30 PP	50 PP	14-10 AP	14 PP	30 PP	50 PP
X	5,16	5,81	9,58	8,34	5,18 ^{n.z.}	6,87**	6,02***	6,23***
SD	0,52	0,19	2,11	0,61	0,56	0,74	1,15	1,21
SE	0,18	0,07	0,75	0,21	0,19	0,26	0,41	0,43
CV	10,11	3,22	22,07	7,25	10,82	10,77	19,13	19,46
IV	4,26- 6,02	5,56- 6,18	5,49- 12,97	7,41- 9,12	4,03- 6,00	5,51- 8,03	4,01- 8,03	4,01- 7,45

^{n.z.} p > 0,05, *p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001 u odnosu na vrednost kod krava rase buša istog dana ispitivanja

Iz tabele se zapaža da je koncentracija ukupnog bilirubina u krvi krava rase buša bila značajno viša nego u krvi krava rase holštajn 30. i 50. dana posle teljenja (p < 0,001, pojedinačno), dok se 14. dana posle teljenja zapaža značajno viša koncentracija ukupnog bilirubina između u krvi krava holštajn rase (p < 0,01).

U tabelama 5.2.1 A i 5.2.1. B prikazane su značajnosti razlika koje se odnose na promenu koncentracije ukupnog bilirubina unutar rase tokom vremena.

A)

KRAVE RASE BUŠA			
Dan AP/PP	14 AP.		
14 PP.	p<0,001	14 PP.	
30 PP.	p<0,001	p<0,001	30 PP.
50 PP.	p<0,001	p<0,001	n.z.

B)

KRAVE RASE HOLŠTAJN			
Dan AP/PP	14 AP.		
14 PP.	p<0,001	14 PP.	
30 PP.	n.z.	n.z.	30 PP.
50 PP.	p<0,05	n.z.	n.z.

Iz tabele 5.2.1. A se vidi da je kod krava rase buša koncentracija ukupnog bilirubina postpartalno bila najniža 14. dana posle teljenja i to značajno u odnosu na koncentraciju određenu 30. dana (p < 0,001) i 50. dana posle teljenja (p < 0,001). Nije bilo značajne razlike u koncentraciji ukupnog bilirubina između 30. i 50. dana posle teljenja kod krava rase buša.

Iz tabele 5.2.1. B se vidi da je kod krava rase holštajn koncentracija ukupnog bilirubina postpartalno porasla u odnosu na vrednost određenu prepartalno, pogotovo 14. dana postpartalno ($p < 0,001$) i 50. dana postpartalno ($p < 0,05$). Nije bilo značajne razlike u koncentraciji ukupnog bilirubina 14., 30. i 50. dana posle teljenja kod krava rase holštajn.

5.1.3. Koncentracija proteina

Koncentracija proteina prikazana je u tabeli 5.3.0.

Tabela 5.3.0. Koncentracija proteina (g/l) u krvi krava

	Krave rase buša (n = 8)				Krave rase holštajn (n = 8)			
	14-10 AP	14 PP	30 PP	50 PP	14-10 AP	14 PP	30 PP	50 PP
X	75,12	79,24	80,65	93,70	80,92*	84,51*	92,43***	83,99***
SD	4,02	3,92	4,24	3,91	5,14	5,70	4,36	5,17
SE	1,42	1,39	1,49	1,38	1,82	2,02	1,54	1,83
CV	5,36	4,94	5,25	4,18	6,35	6,75	4,72	6,15
IV	70,23- 82,96	73,36- 87,32	77,28- 88,45	88,10- 98,76	70,56- 88,20	73,05- 93,43	86,85- 98,92	73,99- 89,82

* $p < 0,05$; *** $p < 0,001$ u odnosu na vrednost kod krava rase buša istog dana ispitivanja

Iz tabele 5.3.0. se zapaža da je koncentracija proteina u krvi krava holštajn rase bila značajno viša nego u krvi krava rase buša 14-10 dana antepartalno, kao i 14., a naročito 30. dana postpartalno ($p < 0,05$, $p < 0,05$, $p < 0,001$ pojedinačno) dok je 50. dana posle teljenja takođe postojala značajna razlika u koncentraciji proteina između dve grupe gde je koncentracija proteina bila značajno viša u krvi krava rase buša ($p < 0,001$).

U tabelama 5.3.1 A i 5.3.1. B prikazane su značajnosti razlika koje se odnose na promenu koncentracije proteina unutar rase tokom vremena.

A)

KRAVE RASE BUŠA			
Dan AP/PP	14 AP.		
14 PP.	n.z.	14 PP.	
30 PP.	$p < 0,05$	n.z.	30 PP.
50 PP.	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$

B)

KRAVE RASE HOLŠTAJN			
Dan AP/PP	14 AP.		
14 PP.	n.z.	14 PP.	
30 PP.	$p < 0,001$	$p < 0,01$	30 PP.
50 PP.	n.z.	n.z.	$p < 0,01$

Iz tabele 5.3.1. A se vidi da je kod krava rase buša koncentracija proteina postpartalno bila najviša 50. dana posle teljenja i to značajno u odnosu na koncentraciju određenu 14. dana pre kao i 14. (p < 0,001) i 30. dana posle teljenja (p < 0,001). Nije bilo značajne razlike u koncentraciji proteina između 14. dana pre i 14. dana posle teljenja, kao ni 14. i 30. dana posle teljenja kod krava rase buša.

Iz tabele 5.3.1. B se vidi da je kod krava rase holštajn koncentracija proteina postpartalno porasla u odnosu na vrednost određenu perpartalno, pogotovo 30. dana postpartalno (p < 0,001). Nije bilo značajne razlike u koncentraciji proteina antepartalno i 14. i 50. dana nakon teljenja. Takođe nije bilo značajne razlike u koncentraciji proteina između 14. i 50. postpartalno, najviša koncentracija proteina je 30. dana postpartalno u odnosu na 14. i 50. dana nakon teljenja (p < 0,01, p < 0,01 pojedinačno).

5.1.4. Koncetracija albumina

Koncetracija albumina prikazana je u tabeli 5.4.0.

Tabela 5.4.0. Koncetracije albumina (g/l) u krvi krava

	Krave rase buša (n = 8)				Krave rase holštajn (n = 8)			
	14-10 AP	14 PP	30 PP	50 PP	14-10 AP	14 PP	30 PP	50 PP
X	30,81	34,49	38,39	37,83	26,05**	29,17***	30,17***	35,52 ^{n.z.}
SD	2,42	2,47	1,72	2,13	3,13	2,21	4,02	2,68
SE	0,86	0,87	0,61	0,75	1,11	0,78	1,42	0,95
CV	7,86	7,15	4,48	5,62	12,00	7,59	13,33	7,56
IV	26,56- 34,12	30,83- 38,84	36,52- 41,23	34,78- 40,35	20,12- 29,62	24,98- 31,56	23,94- 36,76	30,64- 38,55

^{n.z.}p > 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001 u odnosu na vrednost kod krava rase buša istog dana ispitivanja

Iz tabele 5.4.0. se zapaža da je koncentracija albumina bila značajno viša u krvi krava rase buša nego u krvi krava holštajn rase 14-10 dana antepartalno, a naročito 14. i 30. dana postpartalno (p < 0,01, p < 0,001, p < 0,001 pojedinačno), dok 50. dana nakon teljenja nije bilo značajne razlike u koncentraciji albumina između dve rase.

U tabelama 5.4.1 A i 5.4.1. B prikazane su značajnosti razlika koje se odnose na promenu koncentracije albumina unutar rase tokom vremena.

A)

KRAVE RASE BUŠA			
Dan AP/PP	14 AP.		
14 PP.	p<0,01	14 PP.	
30 PP.	p<0,001	p<0,01	30 PP.
50 PP.	p<0,001	p<0,05	n.z

B)

KRAVE RASE HOLŠTAJN			
Dan AP/PP	14 AP.		
14 PP.	p<0,05	14 PP.	
30 PP.	p<0,05	n.z.	30 PP.
50 PP.	p<0,001	p<0,001	p<0,01

Iz tabele 5.4.1. A se vidi da je kod krava rase buša koncentracija albumina postpartalno bila najviša 30. i 50. dana postpartalno i to značajno u odnosu na koncentraciju albumina 14. dana antepartalno ($p < 0,001$ pojedinačno), takođe značajan porast koncentracije albumina je primećen i 14. dana postpartalno ($p < 0,01$). Značajna razlika u koncentraciji albumina je prisutna između 14. i 30., kao i 14. i 50. dana postpartalno ($p < 0,01$ i $p < 0,05$ pojedinačno). Ne postoji značajna razlika u koncentraciji albumina 30. i 50. dana postpartalno.

Iz tabele 5.4.1. B se vidi da je kod krava holštajn rase najviša koncentracija albumina postpartalno bila 50. dana i to značajno u odnosu na koncentraciju albumina 14. dana antepartalno ($p < 0,001$), takođe je prisutna i značajna razlika u koncentraciji albumina 14. dana antepartalno u odnosu na 14. i 30. dana postpartalno ($p < 0,05$ pojedinačno). Značajno viša koncentracija albumina 50. dana postpartalno je i u odnosu na 14. i 30. dan postpartalno ($p < 0,001$, $p < 0,01$ pojedinačno). Ne postoji značajna razlika u koncentraciji albumina 14. i 30. dana nakon teljenja.

5.1.5. Koncentracija uree

Koncentracija uree prikazana je u tabeli 5.5.0.

Tabela 5.5.0. Koncentracije uree (mmol/l) u krvi krava

	Krave rase buša (n = 8)				Krave rase holštajn (n = 8)			
	14-10 AP	14 PP	30 PP	50 PP	14-10 AP	14 PP	30 PP	50 PP
X	4,99	5,67	4,91	5,36	4,96 ^{n.z.}	5,63 ^{n.z.}	6,06*	7,06**
SD	1,56	1,00	0,89	0,60	1,28	1,55	0,99	1,31
SE	0,55	0,35	0,32	0,21	0,45	0,55	0,35	0,46
CV	31,60	17,66	18,19	11,22	25,75	27,56	16,48	18,53
IV	2,45- 6,97	3,83- 7,42	3,85- 6,84	4,36- 6,38	3,02- 7,06	3,74- 9,05	4,29- 7,86	5,18- 9,06

^{n.z.}p > 0,05; *p < 0,05; **p < 0,01; u odnosu na vrednost kod krava rase buša istog dana ispitivanja

Iz tabele 5.5.0. se zapaža da je koncentracija uree u krvi bila značajno viša kod krava holštajn rase u odnosu na krave rase buša 30. i 50. dana nakon teljenja, dok 14. dana antepartalno i 14. dana postpartalno nije prisutna statistički značajna razlika u koncentraciji uree između dve rase.

U tabelama 5.5.1 A i 5.5.1. B prikazane su značajnosti razlika koje se odnose na promenu koncentracije uree unutar rase tokom vremena.

A)

KRAVE RASE BUŠA			
Dan AP/PP	14 AP.		
14 PP.	n.z.	14 PP.	
30 PP.	n.z.	n.z.	30 PP.
50 PP.	n.z.	n.z.	n.z.

B)

KRAVE RASE HOLŠTAJN			
Dan AP/PP	14 AP.		
14 PP.	n.z.	14 PP.	
30 PP.	n.z.	n.z.	30 PP.
50 PP.	p<0,01	n.z.	n.z.

Iz tabele 5.5.1. A se vidi da ne postoji statistički značajna razlika u koncentraciji uree u krvi krava rase buša između uzoraka uzetih 14. dana antepartalno kao i uzoraka uzetih 14., 30. i 50. dana postpartalno.

Iz tabele 5.5.1. B se vidi da je prisutna statistički značajna razlika u koncentraciji uree u krvi krava holštajn rase 14. dana antepartalno i 50. dana postpartalno ($p < 0,01$). Nije prisutna statistički značajna razlika kada je reč o uzorcima uzetim u preostalim vremenskim tačkama.

5.1.6. Koncetracija

kalcijuma (Ca)

Koncetracija Ca prikazana je u tabeli 5.6.0.

Tabela 5.6.0. Koncetracija Ca (mmol/l) u krvi krava

	Krave rase buša (n = 8)				Krave rase holštajn (n = 8)			
	14-10 AP	14 PP	30 PP	50 PP	14-10 AP	14 PP	30 PP	50 PP
X	2,59	2,43	2,37	2,60	2,48 ^{n.z.}	2,20*	2,26 ^{n.z.}	2,30*
SD	2,21	0,18	0,19	0,31	0,18	0,05	0,09	0,07
SE	0,08	0,06	0,07	0,11	0,06	0,02	0,03	0,03
CV	8,31	7,21	7,93	11,87	7,14	2,50	4,13	3,20
IV	2,23- 2,50	2,16- 2,75	2,10- 2,75	2,19- 3,23	2,23- 2,76	2,15- 2,33	2,09- 2,36	2,24- 2,47

^{n.z.} $p > 0,05$; * $p < 0,05$; u odnosu na vrednost kod krava rase buša istog dana ispitivanja

Iz tabele 5.6.0. se zapaža da je koncetracija kalcijuma u krvi bila značajno viša u krvi krava rase buša u odnosu na koncetraciju u krvi krava holštajn rase i to 14. i 50. dana nakon teljenja ($p < 0,05$ pojedinačno). Između dve rase nije prisutna statistički značajna razlika u koncetraciji kalcijuma u krvi 14. dana antepartalno i 30. dana postpartalno.

U tabelama 5.6.1 A i 5.6.1. B prikazane su značajnosti razlika koje se odnose na promenu koncetracije kalcijuma unutar rase tokom vremena.

A)

KRAVE RASE BUŠA			
Dan AP/PP	14 AP.		
14 PP.	n.z.	14 PP.	
30 PP.	$p < 0,05$	n.z.	30 PP.
50 PP.	n.z.	n.z.	n.z.

B)

KRAVE RASE HOLŠTAJN			
Dan AP/PP	14 AP.		
14 PP.	$p < 0,001$	14 PP.	
30 PP.	$p < 0,01$	n.z.	30 PP.
50 PP.	$p < 0,05$	$p < 0,01$	n.z.

Iz tabele 5.6.1. A se zapaža da je koncentracija kalcijuma kod krava rase buša bila najniža 30. dana postpartalno i to statistički značajno u odnosu na koncentraciju kalcijuma 14. dana pre teljenja ($p < 0,05$). Nije prisutna statistički značajna razlika u koncentraciji kalcijuma u uzorcima uzetim u preostalim vremenskim tačkama.

Iz tabele 5.6.1. B se zapaža da je koncentracija kalcijuma u krvi krava holštajn rase bila najniža 14. dana nakon teljenja i to statistički značajno u odnosu na koncentraciju kalcijuma u krvi 14. dana antepartalno ($p < 0,001$). Takođe prisutna je statistički značajna razlika u koncentraciji kalcijuma i 14. dana pre teljenja u odnosu na 30. i 50. dan postpartalno i to ($p < 0,01$, $p < 0,05$ pojedinačno), kao i 14. i 50. dana postpartalno ($p < 0,01$). Ne postoji statistički značajna razlika u koncentraciji kalcijuma u krvi između 14. i 30., kao i 30. i 50. dana nakon teljenja.

5.1.7. Koncentracija fosfora (P)

Koncentracija P prikazana je u tabeli 5.7.0.

Tabela 5.7.0. Koncentracija P (mmol/l) u krvi krava

	Krave rase buša (n = 8)				Krave rase holštajn (n = 8)			
	14-10 AP	14 PP	30 PP	50 PP	14-10 AP	14 PP	30 PP	50 PP
X	1,65	1,39	1,11	1,17	2,31***	1,59 ^{n.z.}	1,48*	1,74***
SD	0,23	0,28	0,17	0,15	0,24	0,31	0,34	0,25
SE	0,08	0,09	0,06	0,05	0,08	0,11	0,12	0,09
CV	13,23	19,99	15,72	12,48	10,19	19,64	23,24	14,22
IV	1,23- 2,00	0,89- 1,92	0,90- 1,43	0,94- 1,47	2,00- 2,56	1,15- 2,24	1,14- 2,25	1,34- 2,18

^{n.z.} $p > 0,05$; * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$ u odnosu na vrednost kod krava rase buša istog dana ispitivanja

Iz tabele 5.7.0. se zapaža da je koncentracija fosfora značajno viša u krvi krava holštajn rase odnosu na krave rase buša, a naročito 14. dana antepartalno, kao i 30. i 50. dana postpartalno ($p < 0,001$, $p < 0,05$, $p < 0,001$ pojedinačno). Nije prisutna statistički značajna razlika u koncentraciji fosfora u krvi između dve rase 14. dana postpartalno.

U tabelama 5.7.1 A i 5.7.1. B prikazane su značajnosti razlika koje se odnose na promenu koncentracije fosfora unutar rase tokom vremena.

A)

KRAVE RASE BUŠA			
Dan AP/PP	14 AP.		
14 PP.	n.z.	14 PP.	
30 PP.	p<0,001	p<0,05	30 PP.
50 PP.	p<0,001	n.z.	p n.z.

B)

KRAVE RASE HOLŠTAJN			
Dan AP/PP	14 AP.		
14 PP.	p<0,001	14 PP.	
30 PP.	p<0,001	n.z.	30 PP.
50 PP.	p<0,001	n.z.	n.z.

Iz tabele 5.7.1. A se vidi da je koncentracija fosfora u krvi kod krava rase buša bila značajno niža 30. i 50. dana postpartalno u odnosu na 14. dana antepartalno ($p < 0,001$), za razliku od koncentracije 14. dana postpartalno gde nije primećena statistički značajna razlika. Takođe, statistički značajna razlika u koncentraciji fosfora u krvi je između 14. i 30. dana postpartalno ($p < 0,05$), dok između 14. i 50., kao i 30. i 50. dana nakon teljenja nije prisutna statistički značajna razlika u koncentracijama fosfora u krvi krava rase buša.

Iz tabele 5.7.1. B se vidi da je koncentracija fosfora u krvi krava holštajn rase bila statistički značajno niža 14., 30. i 50. dana postpartalno u odnosu na 14. dana antepartalno ($p < 0,001$). Nije prisutna statistički značajna razlika u koncentraciji fosfora u krvi krava holštajn rase 14., 30. i 50. dana postpartalno.

5.1.8. Koncentracija magnezijuma (Mg)

Koncentracija Mg prikazana je u tabeli 5.8.0.

Tabela 5.8.0. Koncentracija Mg (mmol/l) u krvi krava

	Krave rase buša (n = 8)				Krave rase holštajn (n = 8)			
	14-10 AP	14 PP	30 PP	50 PP	14-10 AP	14 PP	30 PP	50 PP
X	1,25	1,04	0,84	1,24	1,43 ^{n.z.}	1,07 ^{n.z.}	1,02 ^{***}	1,09 ^{**}
SD	0,17	0,13	0,11	0,13	0,23	0,11	0,05	0,05
SE	0,06	0,05	0,04	0,04	0,08	0,04	0,02	0,02
CV	13,26	12,50	12,86	10,22	15,94	10,37	4,63	4,65
IV	1,02- 1,54	0,89- 1,32	0,69- 0,99	1,00- 1,40	1,11- 1,74	0,96- 1,32	0,95- 1,09	0,99- 1,16

^{n.z.}p > 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001 u odnosu na vrednost kod krava rase buša istog dana ispitivanja

Iz tabele 5.8.0. se zapaža da je koncentracija magnezijuma bila značajno viša u krvi krava holštajn rase u odnosu na krave rase buša 30. dana nakon teljenja (p < 0,001), ali takođe značajno niža koncentracija magnezijuma kod krava holštajn rase u odnosu na krave rase buša 50. dana postpartalno (p < 0,01). Između dve rase nije bila prisutna značajna razlika u koncentraciji magnezijuma u krvi 14. dana antepartalno, kao ni 14. dana postpartalno.

U tabelama 5.8.1 A i 5.8.1. B prikazane su značajnosti razlika koje se odnose na promenu koncentracije magnezijuma unutar rase tokom vremena.

A)

KRAVE RASE BUŠA			
Dan AP/PP	14 AP.		
14 PP.	p<0,05	14 PP.	
30 PP.	p<0,001	p<0,01	30 PP.
50 PP.	n.z.	p<0,01	p<0,001

B)

KRAVE RASE HOLŠTAJN			
Dan AP/PP	14 AP.		
14 PP.	p<0,01	14 PP.	
30 PP.	p<0,001	n.z.	30 PP.
50 PP.	p<0,001	n.z.	p<0,05

Iz tabele 5.8.1. A se zapaža da je koncentracija magnezijuma u krvi krava rase buša bila najniža 30. dana postpartalno u odnosu na 14. dana antepartalno (p < 0,001). Prisutna je takođe statistički značajna razlika u koncentraciji magnezijuma 14. dana antepartalno u odnosu na 14. dana postpartalno (p<0,05). Značajna razlika u koncentraciji magnezijuma postoji i između 14. i 30., 14. i 50., kao i 30. i 50. dana postpartalno (p<0,01, p<0,01, p<0,001 pojedinačno).

Iz tabele 5.8.1. B se zapaža da je koncentracija magnezijuma u krvi krava holštajn rase statistički značajno niža 14., 30. i 50. dana postpartalno u odnosu na 14. dan antepartalno (p<0,01, p<0,001, p<0,001 pojedinačno). Statistički značajna razlika u koncentraciji magnezijuma u krvi krava holštajn rase je prisutna i između 30. i 50. dana postpartalno

($p < 0,05$), dok između 14. i 30., kao i 14. i 50. dana postpartalno nije primećena statistički značajna razlika u koncentraciji magnezijuma u krvi.

5.1.9. Koncentracija holesterola

Koncentracija holesterola prikazana je u tabeli 5.9.0.

Tabela 5.9.0. Koncentracija holesterola (mmol/l) u krvi krava

	Krave rase buša (n = 8)				Krave rase holštajn (n = 8)			
	14-10 AP	14 PP	30 PP	50 PP	14-10 AP	14 PP	30 PP	50 PP
X	2,71	2,94	3,61	3,19	2,03**	2,20*	3,77 ^{n.z.}	4,32***
SD	0,42	0,47	0,51	0,37	0,42	0,65	0,79	0,56
SE	0,14	0,16	0,17	0,12	0,14	0,22	0,26	0,19
CV	15,48	15,95	14,01	11,45	20,51	29,73	20,84	13,06
IV	2,2-3,5	2,28- 3,70	3,02- 4,67	2,56- 3,69	1,60- 2,96	1,63- 3,81	2,69- 5,35	3,43- 5,40

^{n.z.} $p > 0,05$; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ u odnosu na vrednost kod krava rase buša istog dana ispitivanja

Iz tabele 5.9.0. se zapaža da je koncentracija holesterola u krvi krava holštajn rase bila značajno viša u odnosu na krave rase buša 50. dana postpartalno ($p < 0,001$), dok je 14. dana antepartalno i 14. dana postpartalno koncentracija holesterola značajno viša u krvi krava rase buša ($p < 0,01$, $p < 0,05$ pojedinačno). 30. dana postpartalno nije primećena značajna razlika u koncentraciji holesterola u krvi između dve rase.

U tabelama 5.9.1 A i 5.9.1. B prikazane su značajnosti razlika koje se odnose na promenu koncentracije holesterola unutar rase tokom vremena.

A)

KRAVE RASE BUŠA			
Dan AP/PP	14 AP.		
14 PP.	n.z.	14 PP.	
30 PP.	$p < 0,001$	$p < 0,05$	30 PP.
50 PP.	$p < 0,05$	n.z.	n.z.

B)

KRAVE RASE HOLŠTAJN			
Dan AP/PP	14 AP.		
14 PP.	n.z.	14 PP.	
30 PP.	$p < 0,001$	$p < 0,001$	30 PP.
50 PP.	$p < 0,001$	$p < 0,001$	n.z.

Iz tabele 5.9.1. A se zapaža da je koncentracija holesterola u krvi krava rase buša najviša 30. dana postpartalno u poređenju sa 14. dana antepartalno ($p < 0,001$). 50. dana postpartalno takođe je prisutna statistički značajna razlika u koncentraciji holesterola u odnosu na 14. dan antepartalno ($p < 0,05$). Ne postoji značajna razlika u koncentraciji holesterola između 14. dana antepartalno i 14. dana postpartalno. Statistički značajna razlika ($p < 0,05$) je prisutna između 14. i 30. dana postpartalno, dok između 14. i 30., kao i između 30. i 50. dana nakon teljenja nije prisutna statistički značajna razlika u koncentraciji holesterola u krvi.

Iz tabele 5.9.1. B se zapaža da je koncentracija holesterola u krvi krava holštajn rase statistički značajno viša 30. i 50. dana postpartalno u odnosu na 14. dana antepartalno ($p < 0,001$), dok 14. dana postpartalno nije utvrđena statistička značajnost. Takođe, postoji statistički značajna razlika u koncentraciji holesterola između 14. i 30., kao i 14. i 50. dana postpartalno ($p < 0,001$, $p < 0,001$ pojedinačno), dok između 30. i 50. dana postpartalno nije utvrđena statistički značajna razlika.

5.1.10. Koncentracija triglicerida

Koncentracija triglicerida prikazana je u tabeli 5.10.0.

Tabela 5.10.0. Koncentracija triglicerida (mmol/l) u krvi krava

	Krave rase buša (n = 8)				Krave rase holštajn (n = 8)			
	14-10 AP	14 PP	30 PP	50 PP	14-10 AP	14 PP	30 PP	50 PP
X	0,36	0,22	0,42	0,28	0,36 ^{n.z.}	0,19 ^{n.z.}	0,19***	0,19 ^{n.z.}
SD	0,10	0,06	0,11	0,19	0,09	0,02	0,02	0,03
SE	0,04	0,02	0,04	0,07	0,03	0,01	0,01	0,01
CV	27,94	28,19	26,47	69,40	25,74	9,75	10,98	13,78
IV	0,23- 0,53	0,12- 0,32	0,28- 0,61	0,11- 0,72	0,22- 0,52	0,15- 0,21	0,15- 0,22	0,15- 0,24

^{n.z.} $p > 0,05$; *** $p < 0,001$ u odnosu na vrednost kod krava rase buša istog dana ispitivanja

Iz tabele 5.10.0. se zapaža da je koncentracija triglicerida značajno niža u krvi kod krava holštajn rase u odnosu na krave rase buša i to 30. dana nakon teljenja ($p < 0,001$). U preostalim vremenskim tačkama nije utvrđena statistička značajnost između dve rase u koncentraciji triglicerida u krvi.

U tabelama 5.10.1 A i 5.10.1. B prikazane su značajnosti razlika koje se odnose na promenu koncentracije triglicerida unutar rase tokom vremena.

A)

KRAVE RASE BUŠA			
Dan AP/PP	14 AP.		
14 PP.	p<0,05	14 PP.	
30 PP.	n.z.	p<0,001	30 PP.
50 PP.	n.z.	n.z.	n.z.

B)

KRAVE RASE HOLŠTAJN			
Dan AP/PP	14 AP.		
14 PP.	p<0,001	14 PP.	
30 PP.	p<0,001	n.z.	30 PP.
50 PP.	p<0,001	n.z.	n.z.

Iz tabele 5.10.1. A se zapaža značajna razlika u koncentraciji triglicerida u krvi kod krava rase buša između 14. dana pre teljenja i 14. dana nakon teljenja ($p < 0,05$), kao i 14. i 30. dana nakon teljenja ($p < 0,001$). U ostalim vremenskim tačkama nije utvđena statistički značajna razlika u koncentraciji triglicerida kod krava rase buša.

Iz tabele 5.10.1. B se zapaža značajan pad u koncentraciji triglicerida u krvi kod krava holštajn rase u sve tri vremenske tačke 14., 30. i 50. dana postpartalno u odnosu na 14. dan prepartalno ($p < 0,001$). U ostalim vremenskim tačkama nije utvđena statistički značajna razlika u koncentraciji triglicerida kod krava holštajn rase.

5.1.11. Aktivnost aspartat transferaze (AST)

Aktivnost AST prikazana je u tabeli 5.11.0.

Tabela 5.11.0. Aktivnost AST (IU/l) u krvi krava

	Krave rase buša (n = 8)				Krave rase holštajn (n = 8)			
	14-10 AP	14 PP	30 PP	50 PP	14-10 AP	14 PP	30 PP	50 PP
X	78,38	91,09	80,12	79,01	88,97 ^{n.z.}	105,31*	68,58 ^{n.z.}	104,26*
SD	10,42	9,83	8,83	5,66	11,84	11,57	15,11	29,25
SE	3,68	3,47	3,12	2,00	4,19	4,09	5,34	10,34
CV	13,29	10,79	11,03	7,17	13,31	10,98	22,04	28,06
IV	65,23- 97,25	75,13- 103,54	68,50- 98,27	68,96- 85,53	63,56- 98,52	85,23- 125,06	54,23- 97,45	68,27- 145,14

^{n.z.}p > 0,05; *p < 0,05; u odnosu na vrednost kod krava rase buša istog dana ispitivanja

Iz tabele 5.11.0. se zapaža da je aktivnost AST značajno veća u krvi kod krava holštajn rase u odnosu na krave rase buša 14. i 50. dana postpartalno ($p < 0,05$). Antepartalno, kao i 30. dana postpartalno nije utvrđena statistički značajna razlika u aktivnosti AST u krvi između dve rase.

U tabelama 5.11.1 A i 5.11.1. B prikazane su značajnosti razlika koje se odnose na promenu aktivnosti AST unutar rase tokom vremena.

A)

KRAVE RASE BUŠA			
Dan AP/PP	14 AP.		
14 PP.	$p < 0,05$	14 PP.	
30 PP.	n.z.	$p < 0,05$	30 PP.
50 PP.	n.z.	$p < 0,01$	n.z.

B)

KRAVE RASE HOLŠTAJN			
Dan AP/PP	14 AP.		
14 PP.	$p < 0,05$	14 PP.	
30 PP.	$p < 0,01$	$p < 0,001$	30 PP.
50 PP.	n.z.	n.z.	$p < 0,01$

Iz tabele 5.11.1. A se zapaža da se aktivnost AST u krvi kod krava rase buša značajno razlikuje 14. dana antepartalno i 14. dana postpartalno ($p < 0,05$), kao i 14. i 30., i 14. i 50. dana postpartalno ($p < 0,05$, $p < 0,01$ pojedinačno). U ostalim vremenskim tačkama nije utvrđena statistički značajna razlika u aktivnosti AST u krvi kod krava rase buša.

Iz tabele 5.11.1. B se zapaža da je prisutna značajna razlika u aktivnosti AST u krvi krava holštajn rase između 14. dana antepartalno i 14. i 30. dana postpartalno ($p < 0,05$, $p < 0,01$ pojedinačno), kao i između 14. i 30., i 30. i 50. dana postpartalno ($p < 0,001$, $p < 0,01$ pojedinačno). U ostalim vremenskim tačkama nije utvrđena značajna razlika u aktivnosti AST u krvi kod krava holštajn rase.

5.1.12. Aktivnost gama glutamil transpeptidaze (GGT)

Aktivnost GGT prikazana je u tabeli 5.12.0.

Tabela 5.12.0 Aktivnost GGT (IU/l) u krvi krava

	Krave rase buša (n = 8)				Krave rase holštajn (n = 8)			
	14-10 AP	14 PP	30 PP	50 PP	14-10 AP	14 PP	30 PP	50 PP
X	7,85	10,46	13,72	3,65	20,85***	24,51***	36,18*	32,78***
SD	2,40	2,52	4,47	2,60	4,01	6,89	27,81	13,52
SE	0,85	0,89	1,58	0,92	1,42	2,44	9,83	4,78
CV	30,63	24,12	32,58	71,33	19,25	28,10	76,85	41,23
IV	5,00- 12,00	5,60- 13,00	7,35- 20,75	0,86- 9,60	16,52- 30,20	19,09- 39,27	4,22- 98,62	13,42- 57,09

*p < 0,05; ***p < 0,001 u odnosu na vrednost kod krava rase buša istog dana ispitivanja

Iz tabele 5.12.0 se zapaža da je aktivnost GGT značajno viša u krvi kod krava holštajn rase u odnosu na krave rase buša, a naročito 14. dana antepartalno, kao i 14. i 50. dana postpartalno (p < 0,001), takođe se zapaža statistički značajna razlika u aktivnosti GGT između dve rase i 30. dana postpartalno (p < 0,05).

U tabelama 5.12.1 A i 5.12.1. B prikazane su značajnosti razlika koje se odnose na promenu aktivnosti GGT unutar rase tokom vremena.

A)

KRAVE RASE BUŠA			
Dan AP/PP	14 AP.		
14 PP.	n.z.	14 PP.	
30 PP.	p<0,01	n.z.	30 PP.
50 PP.	p<0,01	p<0,001	p<0,001

B)

KRAVE RASE HOLŠTAJN			
Dan AP/PP	14 AP.		
14 PP.	n.z.	14 PP.	
30 PP.	n.z.	n.z.	30 PP.
50 PP.	p<0,05	n.z.	n.z.

Iz tabele 5.12.1. A se vidi da se aktivnost GGT u krvi kod krava rase buša značajno razlikuje 30. i 50. dana postpartalno, s tim što je 30. dana postpartalno viša (p<0,01), a 50. dana postpartalno niža (p<0,01) u odnosu na aktivnost GGT 14. dan prepartalno. Takođe, aktivnost GGT je značajno viša 14. i 30. dana postpartalno u odnosu na 50. dan

postpartalno ($p < 0,001$). nije utvrđena statistički značajna razlika u aktivnosti GGT u krvi između 14. i 30. dana postpartalno.

Iz tabele 5.12.1. B se vidi da se aktivnost GGT u krvi kod krava holštajn rase značajno razlikuje između 14. dana antepartalno i 50. dana postpartalno ($p < 0,05$). U ostalim vremenskim tačkama nije utvrđena statistički značajna razlika u aktivnosti GGT u krvi kod krava holštajn rase.

5.2. KONCENTRACIJA TIREOIDNIH HORMONA

5.2.1. Koncentracija tiroksina (T_4)

Koncentracija tiroksina prikazana (T_4) je u tabeli 5.13.0.

Tabela 5.13.0. Koncentracija tiroksina (nmol/L) u krvi krava

	Krave rase buša (n = 8)				Krave rase holštajn (n = 8)			
	14-10 AP	14 PP	30 PP	50 PP	14-10 AP	14 PP	30 PP	50 PP
X	53,93	41,64	41,93	45,27	55,14 ^{n.z}	42,79 ^{n.z}	44,50 ^{n.z}	48,97 ^{n.z}
SD	17,15	4,67	3,10	4,65	13,12	6,21	5,40	7,75
SE	6,06	1,65	1,09	1,64	4,64	2,19	1,91	2,74
CV	31,80	11,22	7,41	10,29	23,80	14,51	12,14	15,82
IV	35,97- 87,89	35,03- 49,17	37,85- 46,23	40,95- 52,12	38,50- 73,53	35,56- 55,09	39,65- 55,23	39,56- 63,12

^{n.z.} $p > 0,05$ u odnosu na vrednost kod krava rase buša istog dana ispitivanja

Iz tabele 5.13.0. se zapaža da ne postoji statistički značajna razlika u koncentraciji tiroksina u krvi između krava rase buša i krava holštajn rase.

U tabelama 5.13.1. A i 5.13.1. B prikazane su značajnosti razlika koje se odnose na promenu koncentracije tiroksina unutar rase tokom vremena.

A)

KRAVE RASE BUŠA			
Dan AP/PP	14 AP.		
14 PP.	n.z	14 PP.	
30 PP.	n.z	n.z	30 PP.
50 PP.	n.z	n.z	n.z

B)

KRAVE RASE HOLŠTAJN			
Dan AP/PP	14 AP.		
14 PP.	p < 0,05	14 PP.	
30 PP.	n.z	n.z	30 PP.
50 PP.	n.z	n.z	n.z

Iz tabele 5.13.1. A se ne zapaža statistički značajna razlika u koncentraciji tiroksina u krvi kod krava rase buša.

Iz tabele 5. 13.1. B se značajna razlika u koncentraciji tiroksina u krvi kod krava holštajn rase i to između 14. dana antepartalno i 14. dana postpartalno ($p < 0,05$). U ostalim vremenskim tačkama se ne uočava statistički značajna razlika u koncentraciji tiroksina u krvi krava holštajn rase.

5.2.2. Koncentracija trijodtironina (T_3) prikazana je u tabeli 5.14.0.

Koncentracija trijodtironina (T_3) prikazana je u tabeli 5.14.0.

Tabela 5.14.0. Koncentracija trijodtironina (nmol/L) u krvi krava

	Krave rase buša (n = 8)				Krave rase holštajn (n = 8)			
	14-10 AP	14 PP	30 PP	50 PP	14-10 AP	14 PP	30 PP	50 PP
X	2,20	1,72	1,85	1,96	2,72	1,81	2,34*	2,42*
SD	0,90	0,52	0,49	0,49	0,83	0,28	0,39	0,27
SE	0,32	0,18	0,17	0,17	0,29	0,10	0,14	0,09
CV	41,08	30,32	26,79	24,80	30,62	15,72	17,10	11,40
IV	0,8-3,0	1,0-2,4	1,2-2,5	1,3-2,6	1,4-3,4	1,5-2,4	1,9-3,0	2,1-2,7

* $p < 0,05$ u odnosu na vrednost kod krava rase Buša istog dana ispitivanja

Iz tabele 5.14.0. se zapaža značajno viša koncentracija trijodtironina u krvi kod krava holštajn rase u odnosu na krave rase buša, a naročito 30. i 50. dana nakon teljenja ($p < 0,05$ pojedinačno).

U tabelama 5.14.1. A i 5.14.1. B prikazane su značajnosti razlika koje se odnose na promenu koncentracije trijodtironina unutar rase tokom vremena.

A)

KRAVE RASE BUŠA			
Dan AP/PP	14 AP.		
14 PP.	n.z	14 PP.	
30 PP.	n.z	n.z	30 PP.
50 PP.	n.z	n.z	n.z

B)

KRAVE RASE HOLŠTAJN			
Dan AP/PP	14 AP.		
14 PP.	$p < 0,05$	14 PP.	
30 PP.	n.z	$p < 0,01$	30 PP.
50 PP.	n.z	$p < 0,001$	n.z

Iz tabele 5.14.1. A se ne uočava statistički značajna razlika u koncentraciji trijodtironina u krvi kod krava rase buša.

Iz tabele 5.14.1. B se statistički značajna razlika u koncentraciji trijodtironina uočava između 14. dana antepartalno i 14. dana postpartalno ($p < 0,05$), kao i između 14. i 30., i 14. i 50. dana postpartalno ($p < 0,01$, $p < 0,001$ pojedinačno). U ostalim vremenskim tačkama nije utvrđena statistička značajnost u koncentraciji trijodtironina u krvi kod krava holštajn rase.

5.3. KONCENTRACIJA IGF-I I ZASTUPLJENOST IGF-VEZUJUĆIH PROTEINA (IGFBP-2, IGFBP-3)

5.3.1. Koncentracija IGF-I

Koncentracija IGF-I prikazana je u tabeli 5.15.0.

Tabela 5.15.0. Koncentracija IGF-I (nmol/L) u krvi krava

	Krave rase buša (n = 8)				Krave rase holštajn (n = 8)			
	14-10 AP	14 PP	30 PP	50 PP	14-10 AP	14 PP	30 PP	50 PP
X	17,82	12,55	16,09	16,01	36,52***	19,22**	21,01**	32,55***
SD	1,96	1,46	1,51	1,48	5,97	4,92	3,26	6,68
SE	0,69	0,52	0,53	0,52	2,11	1,74	1,15	2,36
CV	10,98	11,66	9,40	9,26	16,34	25,59	15,52	20,53
IV	14,90- 20,00	11,10- 14,60	14,40- 18,60	13,20- 17,80	28,90- 45,80	12,50- 28,00	16,20- 26,10	25,60- 43,60

p < 0,01; *p < 0,001 u odnosu na vrednost kod krava rase buša istog dana ispitivanja

Iz tabele 5.15.0. se zapaža značajno viša koncentracija IGF-I molekula u krvi kod krava holštajn rase u odnosu na krave rase buša i to 14. dana antepartalno, kao i 14., 30. i 50. dana postpartalno (p < 0,001, p < 0,01, p < 0,01, p < 0,001 pojedinačno).

U tabelama 5.15.1. A i 5.15.1. B prikazane su značajnosti razlika koje se odnose na promenu koncentracije IGF-I unutar rase tokom vremena.

A)

KRAVE RASE BUŠA			
Dan AP/PP	14 AP.		
14 PP.	p < 0,001	14 PP.	
30 PP.	n.z	p < 0,001	30 PP.
50 PP.	n.z	p < 0,001	n.z

B)

KRAVE RASE HOLŠTAJN			
Dan AP/PP	14 AP.		
14 PP.	p < 0,001	14 PP.	
30 PP.	p < 0,001	n.z	30 PP.
50 PP.	n.z	p < 0,001	p < 0,001

Iz tabele 5.15.1. A se vidi da je koncentracija IGF-I u krvi kod krava rase buša značajno niža 14. dana postpartalno u odnosu na koncentracije 14. dana antepartalno ($p < 0,001$), kao i u odnosu na vrednosti 30. i 50. dana postpartalno ($p < 0,001$, $p < 0,001$ pojedinačno). U ostalim vremenskim tačkama nije utvrđena statistička značajnost u koncentraciji IGF-I u krvi kod krava rase buša.

Iz tabele 5.15.1. B se zapaža da je koncentracija IGF-I u krvi kod krava holštajn rase značajno niža 14. i 30 dana postpartalno u odnosu na koncentracije 14. dana antepartalno ($p < 0,001$). Takođe, statistički značajno niže vrednosti IGF-I se uočavaju 14. dana postpartalno u poređenju sa 50. danom postpartalno ($p < 0,001$), kao i između 30. i 50. dana postpartalno ($p < 0,001$). U ostalim vremenskim tačkama nije utvrđena statistička značajnost u koncentraciji IGF-I u krvi kod krava holštajn rase.

5.3.2. Zastupljenost IGFBP-2

Zastupljenost IGFBP-2 prikazana je u tabeli 5.16.0.

Tabela 5.16.0. Zastupljenost IGFBP-2 (ADU/10 μ L) u krvi krava

	Krave rase buša (n = 8)				Krave rase holštajn (n = 8)			
	14-10 AP	14 PP	30 PP	50 PP	14-10 AP	14 PP	30 PP	50 PP
X	8,08	7,55	8,27	10,42	12,44***	14,31***	14,86***	11,71***
SD	0,57	1,49	0,37	1,12	0,47	0,44	0,97	0,79
SE	0,20	0,53	0,13	0,39	0,16	0,16	0,34	0,28
CV	7,17	19,77	4,55	10,72	3,60	3,11	6,57	6,82
IV	6,89- 8,56	4,95- 9,87	7,58- 8,75	8,79- 12,20	11,59- 13,02	13,50- 14,80	13,85- 16,9	10,79- 13,45

*** $p < 0,001$ u odnosu na vrednost kod krava rase buša istog dana ispitivanja

Iz tabele 5.16.0. se zapaža značajno veća zastupljenost IGFBP-2 kod krava holštajn rase u odnosu na krave rase buša i to 14. dana antepartalno, kao i 14., 30. i 50. dana postpartalno ($p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,001$ pojedinačno).

U tabelama 5.16.1. B i 5.16.1. B prikazane su značajnosti razlika koje se odnose na promenu koncentracije IGFBP-2 unutar rase tokom vremena.

A)

KRAVE RASE BUŠA			
Dan AP/PP	14 AP.		
14 PP.	n.z	14 PP.	
30 PP.	n.z	n.z	30 PP.
50 PP.	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001

B)

KRAVE RASE HOLŠTAJN			
Dan AP/PP	14 AP.		
14 PP.	p < 0,001	14 PP.	
30 PP.	p < 0,001	n.z	30 PP.
50 PP.	p < 0,05	p < 0,001	p < 0,001

Iz tabele 5.16.1.A se zapaža značajna razlika u koncentraciji IGFBP-2 u krvi krava rase buša između 14. dana antepartalno i 50. dana postpartalno ($p < 0,001$), kao i 14. i 50., i 30. i 50. dana postpartalno ($p < 0,001$, $p < 0,001$ pojedinačno). U ostalim vremenskim tačkama se ne uočava statistički značajna razlika u koncentraciji IGFBP-2 u krvi krava rase buša.

Iz tabele 5.16.1. B se zapaža značajna razlika u koncentraciji IGFBP-2 u krvi krava holštajn rase između 14. dana antepartalno i 14., 30. i 50. dana postpartalno ($p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,05$ pojedinačno), kao i 14. i 50., i 30. i 50. dana postpartalno ($p < 0,001$, $p < 0,001$ pojedinačno). U ostalim vremenskim tačkama se ne uočava statistički značajna razlika u koncentraciji IGFBP-2 u krvi krava holštajn rase.

5.3.3. Zastupljenost IGFBP-3

Zastupljenost IGFBP-3 prikazana je u tabeli 5.17.0.

Tabela 5.17.0. Zastupljenost IGFBP-3 (ADU/10 μ L) u krvi krava

	Krave rase buša (n = 8)				Krave rase holštajn (n = 8)			
	14-10 AP	14 PP	30 PP	50 PP	14-10 AP	14 PP	30 PP	50 PP
X	7,40	5,85	7,87	10,44	8,50**	6,59	8,61**	13,53***
SD	0,52	0,80	0,36	1,11	0,73	0,90	0,47	0,85
SE	0,18	0,28	0,13	0,39	0,22	0,32	0,17	0,30
CV	6,73	12,88	4,37	10,22	6,23	13,68	5,54	6,30
IV	6,31- 7,92	4,55- 6,94	7,33- 8,35	8,83- 11,80	7,95- 9,56	5,02- 7,69	7,98- 9,25	11,79- 14,51

p < 0,01; *p < 0,001 u odnosu na vrednost kod krava rase buša istog dana ispitivanja

Iz tabele 5.17.0. se zapaža značajno viša koncentracija IGFBP-3 u krvi krava holštajn rase u odnosu na krave rase buša i to 14. dana antepartalno kao i 30. i 50, dana postpartalno (p < 0,01, p < 0,01, p < 0,001 pojedinačno). Nije utvrđena statistički značajna razlika u koncentraciji IGFBP-3 između dve rase 14. dana postpartalno.

U tabelama 5.17.1. A i 5.17.1. B prikazane su značajnosti razlika koje se odnose na promenu koncentracije IGFBP-3 unutar rase tokom vremena.

A)

KRAVE RASE BUŠA			
Dan AP/PP	14 AP.		
14 PP.	p < 0,001	14 PP.	
30 PP.	n.z	p < 0,001	30 PP.
50 PP.	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001

B)

KRAVE RASE HOLŠTAJN			
Dan AP/PP	14 AP.		
14 PP.	p < 0,001	14 PP.	
30 PP.	n.z	p < 0,001	30 PP.
50 PP.	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001

Iz tabele 5.17.1. A se zapaža značajna razlika u koncentraciji IGFBP-3 u krvi kod krava rase buša između 14. dana antepartalno i 50. dana postpartalno ($p < 0,001$, $p < 0,001$ pojedinačno), kao i 14. i 30. i 50. dana postpartalno ($p < 0,001$, $p < 0,001$ pojedinačno), i 30. i 50. dana postpartalno ($p < 0,001$). Između 14. dana antepartalno i 30. dana postpartalno nije utvrđena statistički značajna razlika u koncentraciji IGFBP-3 u krvi kod krava rase buša.

Iz tabele 5.17.1. B se zapaža značajna razlika u koncentraciji IGFBP-3 u krvi kod krava holštajn rase između 14. dana antepartalno i 14. i 50. dana postpartalno ($p < 0,001$, $p < 0,001$ pojedinačno), 14. i 30. i 50. dana postpartalno ($p < 0,001$, $p < 0,001$ pojedinačno), 30. i 50. dana postpartalno ($p < 0,001$). Između 14. dana antepartalno i 30. dana postpartalno nije utvrđena statistički značajna razlika u koncentraciji IGFBP-3 u krvi kod krava holštajn rase.

5.4. KONCENTRACIJA ESTRADIOLA

5.4.1. Koncentracija estradiola

Koncentracija estradiola, određena 30. dana nakon teljenja u vreme ultrazvučnog pregleda genitalnog trakta kod obe rase krava, prikazana je u tabeli 5.18.0.

Tabela 5.18.0. Koncentracija estradiola (pg/mL) u krvi krava (urađeno u vreme folikularne analize)

	Krave rase buša (n = 8)	Krave rase holštajn (n = 8)
	30 PP	30 PP
X	1,75	7,00***
SD	0,71	2,39
SE	0,25	0,84
CV	40,41	34,15
IV	1,00-3,00	5,00-12,00

*** $p < 0,001$ u odnosu na vrednost kod krava rase buša istog dana ispitivanja

Iz tabele 5.18.0. se zapaža da je koncentracija estradiola u krvi kod krava holštajn rase značajno viša u odnosu na koncentraciju u krvi kod krava rase buša 30. dana postpartalno.

5.5. REZULTATI TESTOVA OPTEREĆENJA GLUKOZOM

5.5.1. Koncentracija glukoze, insulina i NEFA tokom testa opterećenja

5.5.1.1. Koncentracija glukoze

Koncentracija glukoze tokom izvođenja testa 10-14. dana pre teljenja prikazana je u tabeli

5.19.0

Tabela 5.19.0. Koncentracija glukoze (mmol/L) u uzorcima krvi dobijenim tokom izvođenja testa 10-14. dana pre teljenja

min	Krave rase buša (n = 8)							Krave rase holštajn (n = 8)						
	0	15	30	60	90	120	180	0	15	30	60	90	120	180
X	3,10	13,76	11,04	7,92	6,28	5,16	4,04	2,62 n.z	11,67 n.z	8,17*	5,23*	3,68*	3,18*	2,67*
SD	0,58	3,75	3,10	3,26	2,54	2,19	1,32	0,51	0,86	0,10	0,89	0,72	0,37	0,45
SE	0,21	1,33	1,10	1,15	0,90	0,77	0,47	0,18	0,30	0,35	0,32	0,25	0,13	0,16
CV	18,81	27,25	28,11	41,17	40,49	42,37	32,77	19,32	7,34	12,24	17,05	19,55	11,68	16,97
IV	2,40- 4,40	6,20- 19,20	5,60- 15,30	4,10- 13,40	3,80- 11,70	3,30- 10,10	2,90- 7,10	1,80- 3,40	9,90- 12,80	6,10- 9,40	3,70- 6,40	2,80- 5,20	2,70- 3,90	2,10- 3,60

^{n.z.}p > 0,05; *p < 0,05 u odnosu na vrednost određenu istog minuta u testu opterećenja kod krava rase buša

Iz tabele 5.19.0. se zapaža značajno viša koncentracija glukoze u krvi kod krava rase buša u odnosu na krave holštajn rase prilikom izvođenja testa opterećenja glukozom antepartalno i to 30., 60., 90., 120. i 180. minuta testa (p < 0,05). U ostalim vremenskim tačkama se ne uočava statistička značajnost između dve rase u koncentraciji glukoze u krvi.

U tabelama 5.19.1. A i 5.19.1. B prikazane su značajnosti razlika koje se odnose na promenu koncentracije glukoze unutar rase tokom vremena prilikom izvođenja testa opterećenja 10-14 dana pre teljenja.

A)

KRAVE RASE BUŠA						
min	0.					
15.	p < 0,001	15.				
30.	p < 0,001	n.Z	30.			
60.	p < 0,01	p < 0,01	n.Z	60		
90.	p < 0,01	p < 0,001	p < 0,01	n.Z	90.	
120.	p < 0,05	p < 0,001	p < 0,001	n.Z	n.Z	120.
180.	n.Z	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,01	p < 0,05	n.Z

B)

KRAVE RASE HOLŠTAJN						
min	0.					
15.	p < 0,001	15.				
30.	p < 0,001	p < 0,001	30.			
60.	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001	60.		
90.	p < 0,01	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,01	90.	
120.	p < 0,05	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001	n.Z	120.
180.	n.Z	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,01	n.Z

Iz tabele 5.19.1. A se zapaža statistički značajna razlika u koncentraciji glukoze u krvi kod krava rase buša između 0. i 15., 30. minuta ($p < 0,001$) kao i 60., 90. i 120. minuta testa ($p < 0,01$, $p < 0,01$, $p < 0,05$ pojedinačno). Takođe, značajna razlika se uočava između 15. i 60., 90., 120. i 180. minuta testa ($p < 0,01$, $p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,001$ pojedinačno), kao i između 30. i 90., 120. i 180. minuta testa ($p < 0,01$, $p < 0,001$, $p < 0,001$ pojedinačno). Značajna razlika se uočava i između 60. i 180. minuta testa ($p < 0,01$), kao i 90. i 180. minuta testa ($p < 0,05$). U ostalim vremenskim tačkama testa nije utvđena statistički značajna razlika.

Iz tabele 5.19.1. B se zapaža statistički značajna razlika u koncentraciji glukoze u krvi kod krava holštajn rase između 0. i 15., 30., 60., 90. i 120. minuta testa ($p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,01$, $p < 0,05$ pojedinačno), 15. i 30., 60., 90., 120. i 180. minuta testa ($p <$

0,001, $p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,001$ pojedinačno), 30. i 60., 90., 120. i 180. minuta testa ($p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,001$ pojedinačno), 60. i 90., 120. i 180. minuta testa ($p < 0,01$, $p < 0,001$, $p < 0,001$ pojedinačno), kao i 90. i 180. minuta testa ($p < 0,01$). U ostalim vremenskim tačkama nije utvrđena značajna razlika u koncentraciji glukoze u krvi kod krava holštajn rase.

Koncentracija glukoze tokom izvođenja testa 14. dana posle teljenja prikazana je u tabeli 5.20.0

Tabela 5.20.0. Koncentracija glukoze (mmol/L) u uzorcima krvi dobijenim tokom izvođenja testa 14. dana posle teljenja

min	Krave rase buša (n = 8)							Krave rase holštajn (n = 8)						
	0	15	30	60	90	120	180	0	15	30	60	90	120	180
X	2,94	14,36	11,94	8,92	6,88	5,48	3,80	2,65 _{n.z}	12,10*	8,61**	4,48***	3,26***	2,89***	2,68**
SD	3,12	1,56	1,68	1,15	0,79	0,53	0,56	0,40	1,67	2,06	2,13	1,33	0,92	0,65
SE	0,11	0,55	0,59	0,41	0,28	0,19	0,19	0,14	0,59	0,73	0,75	0,47	0,32	0,23
CV	10,85	10,89	14,07	12,89	11,48	9,68	14,69	14,96	13,79	23,87	47,59	40,69	31,71	24,12
IV	2,40- 3,40	12,00- 17,20	9,80- 15,30	6,90- 10,40	6,00- 8,20	4,80- 6,60	2,90- 4,60	2,10- 3,10	10,70- 15,30	6,60- 11,80	2,60- 8,60	2,30- 6,10	2,20- 4,80	2,10- 4,10

^{n.z.} $p > 0,05$; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ u odnosu na vrednost određenu istog minuta u testu opterećenja kod krava rase buša

Iz tabele 5.20.0. se zapaža značajno viša koncentracija glukoze u krvi kod krava rase buša u odnosu na krave holštajn rase prilikom izvođenja testa opterećenja glukozom postpartalno i to 15., 30., 60., 90., 120. i 180. minuta testa ($p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,01$ pojedinačno). U 0. minutu testa se ne uočava statistička značajnost između dve rase u koncentraciji glukoze u krvi.

U tabelama 5.20.1. A i 5.20.1. B prikazane su značajnosti razlika koje se odnose na promenu koncentracije glukoze unutar rase tokom vremena prilikom izvođenja testa opterećenja 14. dana posle teljenja.

A)

KRAVE RASE BUŠA							
min	0.						
15.	p < 0,001	15.					
30.	p < 0,001	p < 0,01	30.				
60.	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001	60.			
90.	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,01	90.		
120.	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001	120.	
180.	p < 0,01	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001	

B)

KRAVE RASE HOLŠTAJN									
min	0.								
15.	p < 0,001	15.							
30.	p < 0,001	p < 0,01	30.						
60.	p < 0,05	p < 0,001	p < 0,01	60.					
90.	n.Z	p < 0,001	p < 0,001	n.Z	90.				
120.	n.Z	p < 0,001	p < 0,001	n.Z	n.Z	120.			
180.	n.Z	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,05	n.Z	n.Z			

Iz tabele 5.20.1. A se zapaža statistički značajna razlika u koncentraciji glukoze u krvi kod krava rase buša između 0. i 15., 30., 60., 90., 120. i 180. minuta testa ($p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,01$ pojedinačno), 15. i 30., 60., 90., 120. i 180. minuta testa ($p < 0,01$, $p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,001$ pojedinačno), 30. i 60., 90., 120. i 180. minuta testa ($p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,001$ pojedinačno), 60. i 90., 120. i 180. minuta testa ($p < 0,01$, $p < 0,001$, $p < 0,001$ pojedinačno), 90. i 120. i 180. minuta testa ($p < 0,001$, $p < 0,001$ pojedinačno), kao i između 120. i 180. minuta testa ($p < 0,001$).

Iz tabele 5.20.1. B se zapaža statistički značajna razlika u koncentraciji glukoze u krvi kod krava holštajn rase između 0. i 15., 30., 60. minuta testa ($p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,05$ pojedinačno), 15. i 30., 60., 90., 120. i 180. minuta testa ($p < 0,01$, $p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,001$ pojedinačno), 30. i 60., 90., 120. i 180. minuta testa ($p < 0,01$, $p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,001$ pojedinačno), 60. i 180. minuta testa ($p < 0,05$). U ostalim vremenskim tačkama nije primećena statistički značajna razlika u koncentraciji glukoze u krvi kod krava holštajn rase.

5.5.1.2. Koncentracija insulina

Koncentracija insulina tokom izvođenja testa 10-14 . dana pre teljenja prikazana je u tabeli 5.21.0

Tabela 5.21.0. Koncentracija insulina ($\mu\text{IU/mL}$) u uzorcima krvi dobijenim tokom izvođenja testa 10-14. dana pre teljenja.

min	Krave rase buša (n = 8)							Krave rase holštajn (n = 8)						
	0	15	30	60	90	120	180	0	15	30	60	90	120	180
X	39,6 7	70,49	53,8 8	52,91	44,1 6	41,57	30,1 5	11,72* **	132,04 ***	120,53 ***	63,2 2 ^{n.z.}	21,92* **	24,1 6*	14,41**
SD	12,9 0	17,92	12,0 1	26,99	12,8 8	15,81	9,71	4,00	31,85	20,27	35,2 2	6,84	16,0 1	5,77
SE	4,56	6,34	4,25	9,54	4,55	5,59	3,43	1,41	11,26	7,17	12,4 5	2,42	5,66	2,04
CV	32,5 3	25,42	22,2 9	51,01	29,1 6	38,02	32,2 1	34,15	24,12	16,82	55,7 0	31,19	66,2 8	39,99
IV	19,5 8- 52,5 9	40,10- 93,12	37,8 5- 77,2 5	11,70- 96,51	27,6 2- 69,3 4	12,12- 68,23	16,9 9- 47,1 6	5,47- 17,53	77,21- 175,46	88,53- 150,88	27,7 8- 137, 82	13,05- 34,75	8,59- 60,5	8,34-27,5

^{n.z.} p > 0,05; *p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001 u odnosu na vrednost određenu istog minuta u testu opterećenja kod krava rase buša

Iz tabele 5.21.0. se zapaža značajno viša koncentracija insulina u krvi kod krava rase buša u odnosu na krave holštajn rase prilikom izvođenja testa opterećenja glukozom 10-14 dana antepartalno i to 0., 90., 120. i 180. minuta testa (p < 0,001, p < 0,001, p < 0,05, p < 0,01 pojedinačno), dok se u 15. i 30. minutu testa zapaža statistički značajno viša koncentracija insulina u krvi kod krava holštajn rase (p < 0,001, p < 0,001). U 60. minutu testa nije utvrđena značajna razlika u koncentraciji insulina u krvi između dve rase.

U tabelama 5.21.1. A i 5.21.1. B prikazane su značajnosti razlika koje se odnose na promenu koncentracije insulina unutar rase tokom vremena prilikom izvođenja testa opterećenja 10-14 dana pre teljenja.

A)

KRAVE RASE BUŠA							
min	0.						
15.	p < 0,01	15.					
30.	p < 0,05	p < 0,05	30.				
60.	n.Z	n.Z	n.Z	60.			
90.	n.Z	p < 0,01	n.Z	n.Z	90.		
120.	n.Z	p < 0,01	n.Z	n.Z	n.Z	120.	
180.	n.Z	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,05	p < 0,05	n.Z	

B)

KRAVE RASE HOLŠTAJN									
min	0.								
15.	p < 0,001	15.							
30.	p < 0,001	n.Z	30.						
60.	p < 0,01	p < 0,01	p < 0,01	60.					
90.	p < 0,01	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,01	90.				
120.	n.Z	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,05	n.Z	120.			
180.	n.Z	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,01	p < 0,05	n.Z			

Iz tabele 5.21.1. A se zapaža značajna razlika u koncentraciji insulina u krvi kod krava rase buša i to između 0. i 15. i 30. minuta testa ($p < 0,01$, $p < 0,05$ pojedinačno), kao i 15. i 30., 90., 120., i 180. minuta testa ($p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,01$, $p < 0,001$ pojedinačno), 30. i 180. minuta ($p < 0,001$), 60. i 180. minuta ($p < 0,05$), 90. i 180. minuta ($p < 0,05$). U ostalim vremenskim tačkama nije utvrđena statistički značajna razlika u koncentraciji insulina u krvi kod krava rase buša.

Iz tabele 5.21.1. B se zapaža značajna razlika u koncentraciji insulina u krvi kod krava holštajn rase i to između 0. i 15., 30., 60. i 90. minuta testa ($p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,01$, $p < 0,01$ pojedinačno), 15. i 60., 90., 120., i 180. minuta testa ($p < 0,01$, $p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,001$ pojedinačno), 30. i 60., 90., 120., i 180. minuta testa ($p < 0,01$, $p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,001$ pojedinačno), 60. i 90., 120., i 180. minuta testa ($p < 0,01$, $p < 0,05$, $p < 0,05$ pojedinačno).

0,01 pojedinačno), 90. i 180. minuta ($p < 0,05$). U ostalim vremenskim tačkama nije utvrđena statistički značajna razlika u koncentraciji insulina u krvi kod krava holštajn rase.

Koncentracija insulina tokom izvođenja testa 14. dana posle teljenja prikazana je u tabeli 5.22.0

Tabela 5.22.0. Koncentracija insulina ($\mu\text{IU/mL}$) u uzorcima krvi dobijenim tokom izvođenja testa 14. dana posle teljenja.

min	Krave rase buša (n = 8)							Krave rase holštajn (n = 8)					
	0	15	30	60	90	120	180	0	15	30	60	90	120
X	35,22	69,03	68,04	66,51	52,54	50,74	36,97	9,70** *	103,39 *	87,72 ^{n.z}	23,63* **	15,52***	17,45**
SD	13,06	14,47	15,78	16,09	17,78	28,80	11,95	2,88	41,07	44,01	5,59	1,27	1,90
SE	4,62	5,11	5,58	5,69	6,29	10,18	4,22	1,01	14,52	15,56	1,98	0,45	0,67
CV	37,09	20,96	23,19	24,20	33,85	56,77	32,31	29,66	39,73	50,18	23,67	8,16	10,90
IV	10,91	39,33- 84,41	38,71- 92,28	37,81	23,75- 86,41	10,29	14,67- 49,05	5,07- 13,40	28,04- 155,65	14,12- 147,99	15,75- 31,20	13,50- 17,52	13,66-20,30
	51,49			97,23		99,77							

^{n.z.} $p > 0,05$; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ u odnosu na vrednost određenu istog minuta u testu opterećenja kod krava rase buša

Iz tabele 5.22.0. se zapaža statistički značajno viša koncentracija insulina u krvi kod krava rase buša u odnosu na krave holštajn rase prilikom izvođenja testa opterećenja glukozom 14. dana postpartalno i to 0., 60., 90., 120. i 180. minuta testa ($p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,01$, $p < 0,001$ pojedinačno), dok se u 15. minutu testa zapaža značajno viša koncentracija insulina u krvi krava holštajn rase ($p < 0,05$). U 30. minutu testa se ne uočava statistička značajnost u koncentraciji insulina u krvi između dve rase.

U tabelama 5.22.1 A i 5.22.1. B prikazane su značajnosti razlika koje se odnose na promenu koncentracije insulina unutar rase tokom vremena prilikom izvođenja testa opterećenja 14 dana posle teljenja.

A)

KRAVE RASE BUŠA						
min	0.					
15.	p < 0,001	15.				
30.	p < 0,001	n.Z	30.			
60.	p < 0,001	n.Z	n.Z	60.		
90.	p < 0,05	n.Z	n.Z	n.Z	90.	
120.	n.Z	n.Z	n.Z	n.Z	n.Z	120.
180.	n.Z	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001	n.Z	n.Z

B)

KRAVE RASE HOLŠTAJN						
min	0.					
15.	p < 0,001	15.				
30.	p < 0,001	n.Z	30.			
60.	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,01	60.		
90.	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,01	90.	
120.	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,05	p < 0,05	120.
180.	p < 0,05	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001

Iz tabele 5.22.1. A se zapaža značajna razlika u koncentraciji insulina u krvi kod krava rase buša i to između 0. i 15., 30., 60. i 90. minuta testa ($p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,05$ pojedinačno), 15. i 180. minuta ($p < 0,001$), 30. i 180. minuta ($p < 0,001$), 60. i 180. minuta ($p < 0,001$). U ostalim vremenskim tačkama nije utvrđena statistički značajna razlika u koncentraciji insulina u krvi kod krava rase buša.

Iz tabele 5.22.1. B se zapaža značajna razlika u koncentraciji insulina u krvi kod krava holštajn rase i to između 0. i 15., 30., 60. i 90., 120. i 180. minuta testa ($p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,05$ pojedinačno), 15. i 60., 90., 120. i 180. minuta testa ($p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,05$ pojedinačno), 30. i 60., 90., 120. i 180. minuta testa ($p < 0,01$, $p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,001$ pojedinačno), 60. i 90., 120. i 180. minuta testa ($p < 0,01$, $p < 0,05$, $p < 0,001$ pojedinačno), 90. i 120. i 180. minuta testa ($p < 0,05$, $p < 0,001$ pojedinačno), i 120. i 180. minuta testa ($p < 0,001$).

5.5.1.3. Koncentracija NEFA

Koncentracija NEFA tokom izvođenja testa 10-14. dana pre teljenja prikazana je u tabeli 5.23.0

Tabela 5.23.0. Koncentracija NEFA (mmol/L) u uzorcima krvi dobijenim tokom izvođenja testa 10. do 14. dana pre teljenja.

min	Krave rase buša (n = 8)							Krave rase holštajn (n = 8)						
	0	15	30	60	90	120	180	0	15	30	60	90	120	180
X	0,69	0,70	0,45	0,26	0,28	0,22	0,18	0,46 n.z	0,39*	0,33 n.z	0,27 n.z	0,29 n.z	0,29 n.z	0,36*
SD	0,33	0,16	0,27	0,19	0,20	0,19	0,15	0,20	0,25	0,19	0,15	0,19	0,22	0,16
SE	0,12	0,06	0,09	0,07	0,07	0,07	0,05	0,07	0,09	0,07	0,05	0,07	0,08	0,06
CV	47,47	23,41	60,88	74,04	71,58	87,50	83,91	44,26	63,59	58,11	56,72	67,10	75,64	46,25
IV	0,19- 1,15	0,44- 0,93	0,03- 1,00	0,02- 0,69	0,03- 0,63	0,03- 0,66	0,01- 0,48	0,22- 0,87	0,19- 0,95	0,09- 0,66	0,09- 0,56	0,08- 0,65	0,11- 0,82	0,18- 0,68

^{n.z.}p > 0,05; *p < 0,05 u odnosu na vrednost određenu istog minuta u testu opterećenja kod krava rase buša

Iz tabele 5.23.0. se zapaža značajna razlika u koncentraciji NEFA u krvi između krava rase buša i krava holštajn rase pri čemu je 15. minuta testa koncentracija NEFA statistički značajno viša kod krava rase buša, a 180. minuta testa je koncentracija NEFA značajno viša kod krava holštajn rase ($p < 0,05$, $p < 0,05$ pojedinačno), u ostalim vremenskim tačkama testa nije utvrđena statistička značajnost u koncentraciji NEFA u krvi između dve rase.

U tabelama 5.23.1. A i 5.23.1. B prikazane su značajnosti razlika koje se odnose na promenu koncentracije NEFA unutar rase tokom vremena prilikom izvođenja testa opterećenja 10-14. dana pre teljenja.**A)**

B)

KRAVE RASE BUŠA							
min	0.						
15.	n.Z	15.					
30.	n.Z	p < 0,05	30.				
60.	p < 0,01	p < 0,001	n.Z	60.			
90.	p < 0,01	p < 0,001	n.Z	n.Z	90.		
120.	p < 0,01	p < 0,001	n.Z	n.Z	n.Z	120.	
180.	p < 0,01	p < 0,001	p < 0,05	n.Z	n.Z	n.Z	

KRAVE RASE HOLŠTAJN									
min	0.								
15.	n.Z	15.							
30.	n.Z	n.Z	30.						
60.	p < 0,05	n.Z	n.Z	60.					
90.	n.Z	n.Z	n.Z	n.Z	90.				
120.	n.Z	n.Z	n.Z	n.Z	n.Z	120.			
180.	n.Z	n.Z	n.Z	n.Z	n.Z	n.Z	n.Z		

Iz tabele 5.23.1. A se zapaža značajna razlika u koncentraciji NEFA u krvi kod krava rase buša i to između 0. i 60., 90., 120. i 180. minuta testa ($p < 0,01$, $p < 0,01$, $p < 0,01$, $p < 0,01$ pojedinačno), 15. i 30., 60. i 90., 120. i 180. minuta testa ($p < 0,05$, $p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,001$ pojedinačno), 30. i 180. minuta testa ($p < 0,05$). U ostalim vremenskim tačkama nije utvrđena statistički značajna razlika u koncentraciji NEFA u krvi kod krava rase buša.

Iz tabele 5.23.1. B se statistički značajna razlika u koncentraciji NEFA u krvi kod krava holštajn rase ne zapaža ni u jednoj vremenskoj tački testa izuzev između 0. i 60. minuta testa ($p < 0,05$).

Koncentracija NEFA tokom izvođenja testa 14. dana posle teljenja prikazana je u tabeli 5.24.0

Tabela 5.24.0. Koncentracija NEFA (mmol/L) u uzorcima krvi dobijenim tokom izvođenja testa 14. dana posle teljenja.

min	Krave rase buša (n = 8)							Krave rase holštajn (n = 8)						
	0	15	30	60	90	120	180	0	15	30	60	90	120	180
X	1,32	0,66	0,63	0,45	0,61	0,45	0,54	0,66***	0,48*	0,38*	0,35 n.z	0,38*	0,41 n.z	0,48 n.z
SD	0,25	0,19	0,23	0,19	0,26	0,17	0,21	0,19	0,15	0,12	0,17	0,14	0,11	0,15
SE	0,09	0,07	0,08	0,07	0,09	0,06	0,08	0,07	0,05	0,04	0,06	0,05	0,04	0,05
CV	19,00	28,71	37,03	42,91	42,58	37,02	39,38	28,70	31,86	30,69	48,39	35,33	27,59	31,92
IV	0,97- 1,79	0,25- 0,91	0,16- 1,01	0,14- 0,80	0,25- 1,12	0,16- 0,77	0,18- 0,86	0,30- 0,85	0,24- 0,79	0,24- 0,62	0,23- 0,75	0,25- 0,62	0,29- 0,63	0,27- 0,70

^{n.z.}p > 0,05; *p < 0,05; ***p < 0,001 u odnosu na vrednost određenu istog minuta u testu opterećenja kod krava rase buša

Iz tabele 5.24.0. se zapaža statistički značajno viša koncentracija NEFA u krvi krava rase buša u odnosu nakrave holštajn rase i to 0., 15., 30. i 90. minuta testa (p < 0,001, p < 0,05, p < 0,05, p < 0,05 pojedinačno). U ostalim vremenskim tačkama testa nije utvrđena statistički značajna razlika u koncentraciji NEFA u krvi između dve rase.

U tabelama 5.24.1. A i 5.24.1. B prikazane su značajnosti razlika koje se odnose na promenu koncentracije NEFA unutar rase tokom vremena prilikom izvođenja testa opterećenja 14. dana posle teljenja.

A)

KRAVE RASE BUŠA	
min	0.
15.	p < 0,001
30.	p < 0,001
60.	p < 0,001
90.	p < 0,001
120.	p < 0,001
180.	p < 0,001

B)

KRAVE RASE HOLŠTAJN	
min	0.
15.	n.Z
30.	p < 0,01
60.	p < 0,01
90.	p < 0,01
120.	p < 0,01
180.	n.Z

Iz tabele 5.24.1. A se zapaža statistički značajna razlika u koncentraciji NEFA u krvi kod krava rase buša i to između 0. i 15., 30., 60., 90., 120. i 180. minuta testa ($p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,001$ pojedinačno), 15. i 60., 120. minuta testa ($p < 0,05$, $p < 0,05$ pojedinačno). U ostalim vremenskim tačkama nije utvrđena statistički značajna razlika u koncentraciji NEFA u krvi kod krava rase buša.

Iz tabele 5.24.1. B se zapaža statistički značajna razlika u koncentraciji NEFA u krvi kod krava holštajn rase i to između 0. i 30., 60., 90. i 120. minuta testa ($p < 0,01$, $p < 0,01$, $p < 0,01$, $p < 0,01$ pojedinačno). U ostalim vremenskim tačkama nije utvrđena statistički značajna razlika u koncentraciji NEFA u krvi kod krava holštajn rase.

5.5.2. Matematički izračunati i izvedeni parametri testa opterećenja glukozom

Prikazani su parametri koji opisuju trend promena koncentracije glukoze (k , $T_{1/2}$ i AUC_{gluk}), insulina (ΔMax , Pik_{ins} i AUC_{ins}) i NEFA (AUC_{NEFA}) nakon aplikacije glukoze.

5.5.2.1. K vrednost glukoze

K vrednost glukoze nakon aplikacije glukoze tokom izvođenja testova opterećenja 10-14. dana antepartalno i 14. dana postpartalno prikazana je u tabeli 5.25.0.

Tabela 5.25.0. K vrednost glukoze nakon akutne aplikacije glukoze tokom izvođenja testova opterećenja 10-14. dana antepartalno i 14. dana postpartalno.

	Krave rase buša (n = 8)		Krave rase holštajn (n = 8)	
	AP	14 PP	AP	14 PP
X	1,29 ^A	1,06 ^A	1,81 ^{n.z. A}	2,40 ^{*** A}
SD	0,56	0,30	0,46	0,74
SE	0,19	0,11	0,16	0,26
CV	43,04	28,65	25,37	30,68
IV	0,48-2,15	0,74-1,74	0,96-2,48	1,28-3,14

^{n.z.} $p > 0,05$; ^{***} $p < 0,001$ u odnosu na vrednost kod krava rase buša istog dana ispitivanja; ^A $p > 0,05$ (unutar grupe)

Poređenjem dobijenih vrednosti unutar rasa utvrđeno je da je između vrednosti dobijene antepartalno i postpartalno nije bilo značajne razlike kod krava rase buša ($p >$

0,05), kod krava holštajn rase takođe nije utvrđena značajna razlika ($p > 0,05$). Poređenjem dobijenih vrednosti između dve rase nije utvrđena statistički značajna razlika između vrednosti dobijenih antepartalno, iako su dobijene vrednosti bile numerički više kod krava holštajn rase, dok su postpartalno statistički značajno više vrednosti prisutne kod krava holštajn rase ($p < 0,001$).

5.5.2.2. $T_{1/2}$ vrednost glukoze

$T_{1/2}$ vrednost glukoze nakon akutne aplikacije glukoze tokom izvođenja testova opterećenja 10-14. dana antepartalno i 14. dana postpartalno prikazana je u tabeli 5.26.0.

Tabela 5.26.0. $T_{1/2}$ vrednost glukoze nakon akutne aplikacije glukoze tokom izvođenja testova opterećenja 10-14. dana antepartalno i 14. dana postpartalno.

	Krave rase buša (n = 8)		Krave rase holštajn (n = 8)	
	AP	14 PP	AP	14 PP
X	64,89 ^A	69,06 ^A	41,23 ^{n.z. A}	31,81 ^{*** A}
SD	35,65	16,31	13,51	11,36
SE	12,60	5,77	4,78	4,02
CV	54,93	23,62	32,78	35,70
IV	32,24-145,62	39,82-93,56	27,93-71,49	22,04-54,13

^{n.z.} $p > 0,05$; ^{***} $p < 0,001$ u odnosu na vrednost kod krava rase buša istog dana ispitivanja; ^A $p > 0,05$ (unutar grupe)

Poređenjem dobijenih vrednosti unutar rasa utvrđeno je da je između vrednosti dobijene antepartalno i postpartalno nije bilo značajne razlike kod krava rase buša ($p > 0,05$), kod krava holštajn rase takođe nije utvrđena značajna razlika ($p > 0,05$). Poređenjem dobijenih vrednosti između dve rase nije utvrđena statistički značajna razlika između vrednosti dobijenih antepartalno, dok je statistički značajna razlika između dve rase prisutna kada je reč o vrednostima dobijenim postpartalno pri čemu su dobijene numeričke vrednosti značajno više kod krava rase buša ($p < 0,001$).

5.5.2.3. AUC vrednost glukoze

AUC vrednost glukoze nakon akutne aplikacije glukoze tokom izvođenja testova opterećenja 10-14. dana antepartalno i 14. dana postpartalno prikazana je u tabeli 5.27.0.

Tabela 5.27.0. AUC vrednost glukoze nakon akutne aplikacije glukoze tokom izvođenja testova opterećenja 10-14. dana antepartalno i 14. dana postpartalno.

	Krave rase buša (n = 8)		Krave rase holštajn (n = 8)	
	AP	14 PP	AP	14 PP
X	1080,60 ^A	1340,70 ^A	869,12 ^{n.z. A}	837,47 ^{***A}
SD	540,29	125,38	69,77	212,38
SE	191,02	44,33	24,67	75,08
CV	49,99	9,35	8,03	25,35
IV	157,20- 2046,75	1152,75-1518,00	739,50-962,25	645,00-1236,75

^{n.z.} p > 0,05; ^{***}p < 0,001 u odnosu na vrednost kod krava rase buša istog dana ispitivanja; ^A p > 0,05 (unutar grupe)

Poređenjem dobijenih vrednosti unutar rasa utvrđeno je da je između vrednosti dobijene antepartalno i postpartalno nije bilo značajne razlike kod krava rase buša (p > 0,05), kod krava holštajn rase takođe nije utvrđena značajna razlika (p > 0,05). Poređenjem dobijenih vrednosti između dve rase nije utvrđena statistički značajna razlika između vrednosti dobijenih antepartalno, dok su postpartalno dobijene vrednostistatistički značajno više kod krava rase buša (p < 0,001).

5.5.2.4. ΔMax_{ins} vrednost insulina

ΔMax_{ins} vrednost insulina nakon akutne aplikacije glukoze tokom izvođenja testova opterećenja 10-14. dana antepartalno i 14. dana postpartalno prikazana je u tabeli 5.28.0.

Tabela 5.28.0. ΔMax_{ins} vrednost insulina nakon akutne aplikacije glukoze tokom izvođenja testova opterećenja 10-14. dana antepartalno i 14. dana postpartalno.

	Krave rase buša (n = 8)		Krave rase holštajn (n = 8)	
	AP	14 PP	AP	14 PP
X	80,86 ^A	32,82 ^B	108,81 ^{*A}	78,01 ^{*A}
SD	28,49	15,17	21,28	41,41
SE	10,07	5,36	7,52	14,64
CV	35,23	46,24	19,56	53,08
IV	36,26-126,37	13,57-63,41	75,54-143,90	7,73-134,59

^{n.z.} p > 0,05; ^{*}p < 0,01 u odnosu na vrednost kod krava rase buša istog dana ispitivanja; ^A p > 0,05 (unutar grupe); ^B p < 0,05 (unutar grupe)

Poređenjem dobijenih vrednosti unutar rasa utvrđeno je da su vrednosti dobijene antepartalno statistički značajno više kod krava rase buša ($p < 0,05$), dok kod krava holštajn rase nije utvrđena značajna razlika ($p > 0,05$). Poređenjem dobijenih vrednosti između dve rase utvrđeno je da je između vrednosti dobijenih antepartalno i postpartalno postojala statistički značajna razlika ($p < 0,05$, $p < 0,05$ pojedinačno), pri čemu su dobijene vrednosti statistički značajno više kod krava holštajn rase.

5.5.2.5. AUC vrednost insulina

AUC vrednost insulina nakon akutne aplikacije glukoze tokom izvođenja testova opterećenja 10-14. dana antepartalno i 14. dana postpartalno prikazana je u tabeli 5.29.0.

Tabela 5.29.0. AUC vrednost insulina nakon akutne aplikacije glukoze tokom izvođenja testova opterećenja 10-14. dana antepartalno i 14. dana postpartalno .

	Krave rase buša (n = 8)		Krave rase holštajn (n = 8)	
	AP	14 PP	AP	14 PP
X	8284,52 ^A	9556,44 ^A	8854,78 ^{n.z. A}	5819,92 ^{*** B}
SD	1242,59	1260,99	18957,91	1726,31
SE	439,32	445,83	656,87	610,34
CV	14,99	13,19	20,98	29,66
IV	5952,22- 9871,35	6810,00- 10766,40	6097,50- 12443,70	2794,87-8004,82

^{n.z.} $p > 0,05$; ^{***} $p < 0,001$ u odnosu na vrednost kod krava rase buša istog dana ispitivanja; ^A $p > 0,05$ (unutar grupe); ^B $p < 0,05$ (unutar grupe)

Poređenjem dobijenih vrednosti unutar rasa utvrđeno je da je između vrednosti dobijene antepartalno i postpartalno postojala statistički značajna razlike kod krava holštajn rase ($p < 0,01$), dok kod krava rase buša nije utvrđena značajna razlika ($p > 0,05$). Poređenjem dobijenih vrednosti između dve rase nije utvrđena statistički značajna razlika između vrednosti dobijenih antepartalno, dok je statistički značajna razlika između dve rase prisutna kada je reč o vrednostima dobijenim postpartalno, pri čemu su dobijene vrednosti značajno više kod krava rase buša ($p < 0,001$).

5.5.2.6. AUC vrednost NEFA

AUC vrednost NEFA nakon akutne aplikacije glukoze tokom izvođenja testova opterećenja 10-14. dana antepartalno i 14. dana postpartalno prikazana je u tabeli 5.30.0.

Tabela 5.30.0. AUC vrednost NEFA nakon akutne aplikacije glukoze tokom izvođenja testova opterećenja 10-14. dana antepartalno i 14. dana postpartalno.

	Krave rase buša (n = 8)		Krave rase holštajn (n = 8)	
	AP	14 PP	AP	14 PP
X	55,12 ^A	102,19 ^B	57,29 ^{n.z. A}	70,13* ^A
SD	31,34	31,79	33,74	24,18
SE	11,08	11,24	11,93	8,55
CV	55,86	31,11	58,89	34,47
IV	16,2000- 122,1750	38,92500- 149,4000	23,17500- 129,2250	47,40000- 122,0250

^{n.z.} p > 0,05; *p < 0,05 u odnosu na vrednost kod krava rase buša istog dana ispitivanja; ^A p > 0,05 (unutar grupe); ^B p < 0,05 (unutar grupe)

Poređenjem dobijenih vrednosti unutar rasa utvrđeno je da je između vrednosti dobijene antepartalno i postpartalno postojala statistički značajna razlika kod krava rase buša (p < 0,01), dok kod krava holštajn rase nije utvrđena značajna razlika (p > 0,05). Poređenjem dobijenih vrednosti između dve rase nije utvrđena statistički značajna razlika između vrednosti dobijenih antepartalno, dok su postpartalno dobijene vrednosti statistički značajno više kod krava rase buša u odnosu na krave holštajn rase (p < 0,05).

5.5.2.7. Parametri insulinske rezistencije

5.5.2.7.1. HOMA indeks

HOMA indeks izračunat nakon aplikacije glukoze tokom izvođenja testova opterećenja 10-14. dana antepartalno i 14. dana postpartalno prikazan je u tabeli 5.31.0.

Tabela 5.31.0. HOMA indeks nakon aplikacije glukoze tokom izvođenja testova opterećenja 10-14. dana antepartalno i 14. dana postpartalno.

	Krave rase buša (n = 8)		Krave rase holštajn (n = 8)	
	AP	14 PP	AP	14 PP
X	5,38 ^A	4,74 ^A	1,41*** ^A	1,15*** ^A
SD	1,58	2,12	0,70	0,39
SE	0,56	0,75	0,25	0,14
CV	29,42	44,77	49,70	34,91
IV	2,09-7,08	1,26-7,61	0,51-2,65	0,59-1,85

***p < 0,001 u odnosu na vrednost kod krava rase buša istog dana ispitivanja; ^A p > 0,05 (unutar grupe)

Poređenjem dobijenih vrednosti unutar rasa utvrđeno je da je između vrednosti dobijene antepartalno i postpartalno nije bilo značajne razlike kod krava rase buša (p > 0,05), kod krava holštajn rase takođe nije utvrđena značajna razlika (p > 0,05). Poređenjem dobijenih vrednosti između dve rase utvrđeno je da su dobijene vrednosti antepartalno i postpartalno statistički značajno više kod krava rase buša u odnosu na krave holštajn rase (p < 0,001, p < 0,001 pojedinačno).

5.5.2.7.2. RQUICKI indeks

RQUICKI indeks izračunat nakon aplikacije glukoze tokom izvođenja testova opterećenja 10-14. dana antepartalno i 14. dana postpartalno prikazan je u tabeli 5.32.0.

Tabela 5.32.0. RQUICKI indeks nakon aplikacije glukoze tokom izvođenja testova opterećenja 10-14. dana antepartalno i 14. dana postpartalno.

	Krave rase buša (n = 8)		Krave rase holštajn (n = 8)	
	AP	14 PP	AP	14 PP
X	0,56 ^A	0,79 ^A	0,95*** ^A	0,86 ^{n.z.A}
SD	0,09	0,56	0,18	0,12
SE	0,03	0,19	0,06	0,04
CV	16,57	70,75	18,48	13,83
IV	0,45-0,70	0,40-1,69	0,74-1,25	0,71-1,03

^{n.z.} p > 0,05; ***p < 0,001 u odnosu na vrednost kod krava rase buša istog dana ispitivanja; ^A p > 0,05 (unutar grupe)

Poređenjem dobijenih vrednosti unutar rasa utvrđeno je da je između vrednosti dobijene antepartalno i postpartalno nije bilo značajne razlike kod krava rase buša (p >

0,05), kod krava holštajn rase takođe nije utvrđena značajna razlika ($p > 0,05$). Poređenjem dobijenih vrednosti između dve rase nije utvrđena statistički značajna razlika između vrednosti dobijenih postpartalno, dok su vrednosti dobijene antepartalno statistički značajno niže kod krava rase buša u odnosu na krave holštajn rase ($p < 0,001$).

5.5.2.7.3. *QUICKI indeks*

QUICKI indeks izračunat nakon aplikacije glukoze tokom izvođenja testova opterećenja 10-14. dana antepartalno i 14. dana postpartalno prikazan je u tabeli 5.33.0.

Tabela 5.33.0. QUICKI indeks nakon aplikacije glukoze tokom izvođenja testova opterećenja 10-14. dana antepartalno i 14. dana postpartalno.

	Krave rase buša (n = 8)		Krave rase holštajn (n = 8)	
	AP	14 PP	AP	14 PP
X	0,49 ^A	0,51 ^A	0,70*** ^A	0,73*** ^A
SD	0,05	0,08	0,12	0,09
SE	0,02	0,03	0,04	0,03
CV	9,51	15,21	17,19	12,27
IV	0,45-0,59	0,45-0,69	0,56-0,94	0,62-0,89

*** $p < 0,001$ u odnosu na vrednost kod krava rase buša istog dana ispitivanja; ^A $p > 0,05$ (unutar grupe)

Poređenjem dobijenih vrednosti unutar rasa utvrđeno je da je između vrednosti dobijene antepartalno i postpartalno nije bilo značajne razlike kod krava rase buša ($p > 0,05$), kod krava holštajn rase takođe nije utvrđena značajna razlika ($p > 0,05$). Poređenjem dobijenih vrednosti između dve rase utvrđeno je da je između vrednosti dobijenih antepartalno i postpartalno postojala statistički značajna razlika, pri čemu su dobijene vrednosti numerički značajno niže kod krava rase buša ($p < 0,001$, $p < 0,001$ pojedinačno).

5.6. ZASTUPLJENOST PROTEINA INSULINSKIH RECEPTORA I GLUT - 4 TKIVIMA (MIŠIĆNOM, MASNOM I TKIVU JETRE) 30 DANA PP

5.6.1. JETRA IR Mean 96.35184

St.Dev. 64.6528



Zastupljenost insulinskih receptora u jetri krava holštajn rase bila je viša nego kod krava rase buša, ali razlika nije bila statistički značajna.

5.6.2. MIŠIĆI IR Mean 148,7238

St.dev. 57,8655



GLUT4 Mean 112,2821

St.dev. 1,387423



T-test **

Zastupljenost insulinskih receptora, kao i GLUT 4 u mišićnom tkivu krava holštajn rase bila je niža nego kod krava rase buša i razlika je bila statistički značajna ($p < 0,01$, pojedinačno).

5.6.3. MASNO TKIVO IR Mean

St.dev. 26,01857



GLUT4 Mean 128,8445

St.dev. 58,1198



Zastupljenost GLUT 4 u masnom tkivu krava holštajn rase bila je viša nego kod krava rase buša, ali razlika nije bila statistički značajna. Nije bilo statistički značajne razlike u zastupljenosti insulinskih receptora u masnom tkivu između dve ispitivane rase krava.

5.7. REPRODUKTIVNI POKAZATELJI

Reproduktivni pokazatelji dobijeni observacijom spoljašnjih genitalnih organa i transrektalnim ultrazvučnim pregledom jajnika i materice, a koji uključuju povrede, hiperemiju i vulvovaginalni iscedak, dužinu, kontraktilnost i prisustvo sadržaja u materičnim rogovima, i veličinu i aktivnost jajnika za krave rase holštajn su prikazani u tabeli 5.34.0.

Tabela 5.34.0. Reproductivni pokazatelji kod krava holštajn rase

	Vulva i vagina			Materica			Jajnici			Uk.pros.	
	Pov.	Isc.	Pros.	d.m.r	k	s	Pros.	v	a		Pros.
X	2	1,5	1,45	1	0,5	1,37	0,96	1	1,75	1,37	1,26
SD	0	0,75	0,31	0	0,76	0,52	0,33	0	0,46	0,23	0,22
SE	0	0,27	0,11	0	0,27	0,18	0,12	0	0,16	0,08	0,08
CV	0	50,39	21,05	0	151,19	37,64	34,39	0	26,45	16,8	17,38
IV	0	2	1	0	2	1	1	0	1	0,5	0,72

Reproduktivni pokazatelji dobijeni observacijom spoljašnjih genitalnih organa i transrektalnim ultrazvučnim pregledom jajnika i materice, a koji uključuju povrede, hiperemiju i vulvovaginalni iscedak, dužinu, kontraktilnost i prisustvo sadržaja u materičnim rogovima, i veličinu i aktivnost jajnika su prikazani za krave rase buša u tabeli 5.35.0.

Tabela 5.35.0. Reproductivni pokazatelji kod krava rase buša

	Vulva i vagina			Materica			Jajnici			Uk.pros.	
	Pov.	lsc.	Pros.	d.m.r	k	s	Pros.	v	a	Pros.	
X	1,87	1,26	1,04	1,25	0,13	0,88	0,75	0,63	1,25	0,94	0,91
SD	0,35	0,71	0,21	0,46	0,35	0,64	0,39	0,52	0,46	0,42	0,28
SE	0,13	0,25	0,07	0,16	0,13	0,23	0,14	0,18	0,16	0,15	0,09
CV	18,86	56,57	20,31	37,03	282,04	73,24	51,74	82,81	37,03	44,51	29,99
IV	1	2	0,66	1	1	2	0,66	1	1	1	0,89

Značajnost razlike između dve rase u pokazateljima reproductivnog statusa prikazana je u tabeli 5.36.0.

Tabela 5.36.0. Značajnost razlike reproductivnih pokazatelja između dve rase

	Vulva i vagina			Materica			Jajnici			Uk.pros.	
	Pov.	lsc.	Pros.	d.m.r	k	s	Pros.	v	a	Pros.	
HF:B	n.z.	n.z.	n.z.	n.z.	n.z.	n.z.	n.z.	n.z.	P<0,05	P<0,05	P<0,05

Iz tabele 5.36.0. se zapaža statistički značajna razlika kada je reč o aktivnosti jajnika ($p<0,05$), takođe je prisutna značajna razlika i kada je reč o ukupnom proseku reproductivnih pokazatelja ($P<0,05$).

6. DISKUSIJA

Selekcija goveda na visoku proizvodnju mleka dovela je istovremeno do porasta učestalosti metaboličkih, endokrinih, a posledično i reproduktivnih oboljenja. Danas preovlađuje mišljenje da su osnovni razlozi za lošiju plodnost visokomlečnih krava blisko povezani sa problemom anestrije, anovulacije i cistične degeneracije jajnika. Takođe, mnogi autori smatraju da je visoka mlečnost razlog povećane učestalosti pojave puerperalnih poremećaja: zaostajanja posteljice, mastitisa, ketoze, i da je intenzivna selekcija na visoku proizvodnju mleka uzrokovala disbalans između energetske potrebe i unosa energije što je dovelo do razvoja specifičnog odgovora organizma na NEB u tranzicionom periodu koji se ogleda u intenzivnoj razgradnji tkiva. Na ovaj način su hronično povišene koncentracije NEFA i ketonskih tela u krvi tokom energetske deficita u bliskoj vezi sa metaboličkim, a posledično i reproduktivnim statusom krava. Cilj disertacije je bio da se poređenjem metaboličkog i reproduktivnog statusa krava predisponiranih za visoku i onih sa niskom proizvodnjom mleka bolje razumeju molekularni mehanizmi koji su tokom selekcije usloveli visoku proizvodnju mleka ali i oslabili reproduktivnu efikasnost visokomlečnih krava.

Ketonska tela su alternativni izvor energije za organe tako da blagi porast koncentracije BHBA u krvi predstavlja normalan mehanizam adaptacije na NEB u ranoj laktaciji (McArt i sar., 2013). BHBA je dominantna forma ketonskih tela, i njegova koncentracija u krvi predstavlja indeks oksidacije masnih kiselina (Puppel i sar., 2016). Rezultati su pokazali da je koncentracija BHBA bila viša kod krava holštajn rase u odnosu na krave rase buša u svim fazama proizvodnog ciklusa izuzev 50. dana nakon teljenja. Više koncentracije u zasušenju i kao i statistički značajno više koncentracije BHBA u krvi krava rase holštajn 30. dana nakon teljenja su očekivane pošto je reč o visokoproduktivnoj rasi kod koje je u ranom i kliničkom puerperijumu NEB izraženiji. Međutim, koncentracija BHBA je statistički značajno viša u krvi krava rase buša 50. dana nakon teljenja što se može objasniti slabijim unosom kvalitetnih hraniva usled ekstenzivnog sistema držanja. Koncentracija BHB od 0,6 - 1 mmol/l u krvi krava na početku laktacije je fiziološki prihvatljiva i pokazatelj je umerene

lipomobilizacije. Međutim, izraziti porast koncentracije BHB koje se dešava kada je NEB produbljen, ima izuzetno negativan uticaj na funkcije imunskog sistema (Hammon i sar., 2006; Contreras i sar., 2010; Ster i sar., 2012). Pored direktnog uticaja na jajnike, NEB izaziva lošije indekse koncepcije kod krava kroz negativan uticaj i na druge delove reproduktivnog trakta (Watches i sar., 2007). Rezultati ispitivanja u poslednje vreme ukazuju na mogućnost negativnog uticaja NEB na involuciju uterusa. Negativan uticaj se ogleda pre svega u lošijem klirensu puerperalnih patogena iz materice, a samim tim češćom pojavom postpartalnih endometritisa kao i sporijom involucijom uterusa (Wathes i sar.2007). Kod krava koje imaju izraženiji NEB u postpartalnom periodu se češće javljaju retencija posteljice, endometritisi i metritisi što negativno utiče na fertilitet jedinke. Kada koncentracija BHB pređe granice u okviru kojih ih mišići i ostala tkiva koriste, dolazi do njihove akumulacije i nastanka ketoze. Najviša koncentracija BHB u krvi krava holštajn rase bila je 14 dana postpartalno (1,14mmol/l) što ukazuje na intenzivniji proces lipomobilizacije usled veće energetske opterećenosti, ali i tada je bila <1,2 mmol/l što predstavlja graničnu vrednost za pojavu supkliničke ketoze (1,2-2,9 mmol/l- supklinička ketoza). Negativan uticaj supkliničke ketoze na zdravstveni, a posledično i reproduktivni status krava je višestruk: dolazi do smanjenog apetita, gubitka telesne mase, smanjene produkcije mleka, povećanog rizika od nastanka dislokacije sirišta, infekcije uterusa, mastitisa kao i imunosupresije. Iako u prikazanim rezultatima nije prelazila granične vrednosti za pojavu supkliničke ketoze, koncentracije BHB mogu poslužiti u proceni zdravstvenog i reproduktivnog stanja jedinke, stepena izraženosti NEB, i mogu ukazati na eventualne probleme koji se očekuju u kasnom postpartalnom periodu.

Određivanje koncentracije ukupnog bilirubina daje uvid u funkcionalno stanje jetre, a posredno i u energetske status jedinke (Prodanović i sar., 2010). Smatra se da su vrednosti bilirubinemije iznad 8,55 μ mol/l patološke i uglavnom su posledica masne infiltracije i degeneracije ćelija jetre. Tada je ekskretorna funkcija jetre oslabljena (Rosenberger, 1995). U rezultatima se vidi povišena koncentracija ukupnog bilirubina u krvi krava holštajn rase u odnosu na krave rase buša 14. dana nakon teljenja što se može objasniti pojačanom aktivnošću hepatocita usled prilagođavanja na visoku proizvodnju mleka. Visoki nivoi ukupnog bilirubina se kod krava holštajn rase održavaju do 50. dana postpartalno ali ne

prelaze granicu od $8,55\mu\text{mol/l}$ što bi moglo da ukaže na funkcionalno oštećenje jetre. Zanimljivo je da su koncentracije UB značajno više kod krava rase buša u odnosu na krave holštajn rase 30. i 50. dana nakon teljenja. Kod krava rase buša se ovo ne može objasniti pojačanom funkcijom hepatocita kao podrške visokoj proizvodnji mleka. Međutim, više koncentracije UB uz povećanu aktivnost aspartat transferaze (AST) koja se osim u jetri nalazi i u drugim tkivima (skeletna muskulatura, srce), i fiziološku aktivnost gama glutamil transpeptidaze (GGT), a uz odsustvo pokazatelja hepatocelularnog oštećenja i nekroze, navode na pretpostavku da su veće koncentracije UB moguća posledica rabdomiolize ili povreda s obzirom na otvoren sistem držanja, gde su krave rase buše stalno u pokretu pa čak i u prvim danima nakon porođaja.

Koncentracija proteina u krvi je između ostalog pokazatelj ishrane. Proteini uzeti hranom se u digestivnom traktu hidrolizuju do aminokiselina delovanjem proteolitičkih enzima. Najveću sposobnost preuzimanja aminokiselina iz krvi ima jetra. U jetri se vrši sinteza i hidroliza proteina odakle se drugi organi snabdevaju potrebnim aminokiselinama. U rezultatima se zapaža značajno viša koncentracija proteina u krvi krava holštajn rase u odnosu na krave rase buša kako antepartalno tako i 14. i 30. dana postpartalno što je u skladu sa načinom ishrane krava holštajn rase. Unos sirovih proteina u višku (16-17%), iako podržava visoku proizvodnju mleka je u reproduktivnom smislu štetan pošto dolazi do značajnog povećanja koncentracije uree u krvi (Butler i sar., 2001; Tamminga 2006). Zanimljivo je da je koncentracija proteina značajno viša kod krava rase buša 50. dana nakon teljenja, što se može objasniti eventualnim infekcijama ili, što je u ovom slučaju više verovatno zbog sistema držanja, smanjenim unosom vode kod krava rase buša. U prilog ovome idu i dobijeni rezultati koji pokazuju značajno više koncentracije albumina (nosioci koloidosmotskog pritiska i indikator stepena dehidracije), u krvi kod krava rase buša u odnosu na krave holštajn rase kako u antepartalnom tako i u postpartalnom periodu.

Nedostatak glukoze u peripartalnom periodu može biti suplementiran pojačanim katabolizmom ne samo masti već i amino kiselina deponovanih u skeletnoj muskulaturi, ili drugim tkivnim proteinima, što dovodi do povišenja koncentracija uree. Ovaj podatak je u skladu sa dobijenim rezultatima pošto je kod visokomlečne holštajn rase koncentracija uree značajno viša 30. i 50.dana nakon teljenja. Koncentracije uree ne razlikuju se značajno

između dve rase 14-10. dana antepartalno i 14. dana postpartalno što je verovatno rezultat dobro izbalansiranog obroka u obe ispitivane grupe. Visoke koncentracije uree mogu imati negativan uticaj na plodnost kod krava. Poremećena funkcija jetre, koja se često dešava u stanju metaboličke preopterećenosti posle teljenja, smanjuje metabolički klirens uree i izaziva posledično visoke koncentracije ovog jedinjenja u krvi. Negativan efekat uree na oocite spominju Sinclair i saradnici (2000), koji su dokazali negativan uticaj hraniva sa visokim koncentracijama amonijaka na *in vitro* produkciju blastocita.

Rezultati pokazuju značajno niže koncentracije kalcijuma u krvi krava holštajn rase u odnosu na krave rase buša 14. i 50. dana postpartalno dok u periodu zasušenja i 30. dana postpartalno nije bilo razlike u koncentraciji kalcijuma. Niže koncentracije kalcijuma kod krava holštajn rase u skladu su sa visokom proizvodnjom mleka za koju je ova rasa genetski predisponirana. Najnižu koncentraciju kalcijuma u krvi su krave holštajn rase imale 14. dana postpartalno (2,2mmol/l) ali nisu ušle u stanje kliničke hipokalcemije (puerperalne pareze). Niže koncentracije kalcijuma u krvi imaju negativan uticaj na fagocitozu i funkciju polimorfonuklearnih leukocita-granulocita (Ducusin i sar., 2003). Slabiji influks granulocita u lumen materice nakon porođaja može biti razlog zaostajanja posteljice i slabijeg klirensa puerperalnih patogena što za posledicu ima nastanak puerperalnih infekcija materice i negativno se odražava na plodnost kod krava.

Metabolizam fosfora je u uskoj vezi sa metabolizmom kalcijuma. Odnos kalcijum/fosfor u hrani utiče na resorpciju i ekskreciju ova dva elementa. Fiziološka koncentracija fosfora u krvnom serumu iznosi 0,9 do 1,5mmol/l. U rezultatima se vidi značajno viša koncentracija u krvi krava holštajn rase u odnosu na krave rase buša što se može objasniti različitim sistemom držanja i ishrane. Iako je paša jeftin način ishrane krava u njoj jednostavno nema dovoljno hranljivih materija (kalcijum, magnezijum, fosfor), pa je neophodno obezbediti dopunski izvor energije i mineralnih materija (koncentrati, mineralni dodaci u ishrani). Verovatno iz tog razloga krave rase buša koje se tokom većeg dela godine hrane slobodno na paši i uglavnom ne uzimaju koncentrate i mineralne dodatke imaju niže koncentracije fosfora u krvi. Fosfati imaju brojne značajne funkcije u organizmu. Zajedno sa kalcijumom daju čvrstinu kostima, učestvuju u deponovanju i prenošenju energije, razlaganju ugljenih hidrata, sastojci su nekih enzima i jedinjenja bogatih energijom, a istraživanje Kouamo i

saradnika (2015) pokazuje da utiču i na fertilitet, pošto su kod krava koje imaju više koncentracije fosfora u krvi utvrdili veći broj kvalitetnih folikula na jajnicima i oocita sposobnih za *in vitro* maturaciju.

Rezultati su pokazali više koncentracije magnezijuma u krvi krava holštajn rase 30. dana postpartalno i niže koncentracije 50.dana postpartalno u odnosu na krave rase buša. Magnezijum je po količini, posle kalijuma, drugi katjon intracelularne tečnosti. Prisustvo magnezijuma je potrebno za ispoljavanje aktivnosti mnogih enzima, a posebna uloga magnezijuma kao sastojka hlorofila je učešće u fotosintezi pa zelena masa u zavisnosti od zemljišta sa kog potiče može biti bogat izvor magnezijuma. Prema istraživanju Chuderland i saradnika (2012) magnezijum može uticati na reproduktivni status kod sisara preko magnezijum zavisne protein fosfataze 1A, alfa izoforme (PPM1A), koja se sintetise na početku maturacije i ostaje na visokom nivou i kod maturiranih oocita.

Holesterol je najzastupljeniji sterol u životinjskom organizmu i potiče iz hrane ili se sintetise iz acetil-koenzima A. Iz rezultata se zapaža da je koncentracija holesterola značajno niža u krvi krava holštajn rase 14.dana pre i 14.dana posle teljenja, i značajno viša u krvi krava holštajn rase 50.dana posle teljenja u odnosu na krave rase buša. Sinteza holesterola je delimično pod kontrolom samog holesterola (Stojić i sar., 1996). Kada je količina holesterola u hrani smanjena povećava se njegova sinteza u jetri, i obratno, kada se hranom unosi veća količina holesterola, njegova sinteza u jetri može potpuno prestati. Mnogi steroidni hormoni nastaju iz holesterola. Razlike u ishrani i načinu držanja, kao i u rezultatima dobijene značajno veće koncentracije estradiola (steroidnog hormona koji nastaje iz holesterola) kod krava holštajn rase, mogu biti objašnjenje značajne razlike u koncentraciji holesterola između dve rase. Dodatno, istraživanje Shehab-El-Deen i saradnika (2010) je pokazalo da su kod krava koje su u NEB prisutne znatno niže koncentracije glukoze, IGF-I i holesterola, i uporedo, znatno više koncentracije NEFA u krvi i folikularnoj tečnosti.

Niže koncentracije triglicerida antepartalno i postpartalno, a značajno niže 30. dana postpartalno u krvi krava holštajn rase mogu se objasniti zadržavanjem triglicerida u jetri usled smanjene sinteze lipoproteina veoma male gustine (very low density lipoprotein/VLDL), koji su glavni nosači za evakuaciju triglicerida iz jetre, pa se iz tog

razloga kod visokomlečnih rasa krava često javlja problem zamašćenja jetre. Krave kod kojih se javi retencija posteljice imaju znatno više koncentracije BHB, NEFA i triglicerida nakon teljenja, i znatno niže koncentracije holesterola u krvi tokom tranzicionog perioda (Seifi i sar., 2007).

Aktivnost AST je značajno viša kod krava holštajn rase 30. i 50.dana postpartalno, što ukazuje na povećanu aktivnost hepatocita, ali je u granicama funkcionalne, a ne morfološke disfunkcije. AST se pored jetre nalazi i u drugim tkivima (mišići, srce) pa je relativno dobar pokazatelj oštećenja jetre, odnosno njegova pojačana aktivnost ne ukazuje automatski na oboljenja jetre. Međutim, ukoliko je aktivnost AST viša od 100IU/L, kao što je slučaj kod krava holštajn rase 14 i 50.dana postpartalno, to može da ukaže na određeni stepen oštećenja jetre, najverovatnije usled masne infiltracije (Gonzalez i sar.,2011).

Aktivnost GGT je takođe značajno viša u krvi krava holštajn rase kako antepartalno tako i postpartalno. U pozitivnoj je korelaciji sa aktivnošću AST izuzev 30.dana postpartalno kod holštajn rase kada je aktivnost AST značajno niža u poređenju sa 14 i 50.danom nakon teljenja.

Tireoidni hormoni su pokazatelj energetskog statusa životinje. Značaj tireoidnih hormona u homeorezi je kod krava u laktaciji odavno zapažen (Pezzi i sar., 2003). Naši rezultati su pokazali da ne postoje značajne razlike u koncentraciji T_4 između dve rase. Takođe su u skladu sa navodima Sinka i saradnika (2008) i najniže koncentracije T_4 kod obe rase su zabeležene 14.dana nakon teljenja, dok su najviše koncentracije 14-10.dana pre teljenja. Nivo T_4 najviše govori o produktivnoj sposobnosti štitne žlezde. Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da je produktivna sposobnost tireoidee kod krava rase holštajn i buša ista. Međutim, ono što takođe određuje nivo T_4 jeste konverzija T_4 u njegovu aktivnu formu T_3 . Štitna žlezda uglavnom sintetiše T_4 , dok se metabolički aktivan T_3 najvećim delom stvara van štitne žlezde dejodinacijom T_4 pomoću enzima dejodinaze-5' (Chopra i sar., 1978). Dejodinaza D_1 konvertuje T_4 u T_3 u nekim organima, naročito u jetri, i to je sistemski T_3 vidljiv u cirkulaciji. Ukoliko je funkcija jetre oštećena onda su prisutne niže koncentracije T_3 u krvi. Dejodinaza D_2 je takođe prisutna u nekim tkivima, kod visokomlečnih krava naročito je zastupljena u mlečnoj žlezdi. Trijodtoironin dobijen delovanjem D_2 dejodinaze ostaje u mlečnoj žlezdi i svoj biološki efekat ostvaruje lokalno

pružajući energiju za proizvodnju mleka. Stepenn konverzije T_4 u T_3 je kod krava holštajn rase zbog visokih energetskih potreba znatno veći što može biti objašnjenje značajno viših koncentracija T_3 u krvi krava holštajn rase 30. i 50.dana postpartalno. Tireoidni hormoni, kao biomarkeri intenziteta metaboličkih procesa, u velikoj meri utiču na aktivnost reproduktivne osovine kod krava (Kafi i sar., 2012). Proces folikulogeneze u velikoj meri zavisi od koncentracije tireoidnih hormona, pre svega trijodtironina (T_3) aktivne forme koja nastaje iz tiroksina (T_4) dejstvom dejodinaza. U jajniku se T_3 , koji deluje tako što pojačava efekte FSH na tkivo jajnika i stimuliše sekretornu aktivnost granulosa ćelija i produkciju estrogena (Spicer i sar., 2001.; Ashkar i sar., 2010.), stvara dejodinacijom T_4 uz pomoć dejodinaza tipa 1 i 2, koje su najaktivnije tokom rasta folikula. Ovo jasno ukazuje na značaj tireodnih hormona u rastu i razvoju folikula (Kirovski, Stojić 2011).

Koncentracija IGF-I je značajno viša kod krava holštajn rase u odnosu na krave rase buša i antepartalno i postpartalno. Ovo je očekivan rezultat s obzirom na visoku mlečnost krava rase holštajn. Visoka mlečnost je uslovljena visokim koncentracijama STH, a posledično i IGF-I koji se stvara u jetri dejstvom STH. Smatra se da je IGF-I glavni medijator u uticaju STH na proizvodnju mleka. Pored toga, IGF sistem, kao deo somatotropne osovine, je izuzetno odgovoran za metaboličko stanje ali i reproduktivni status krava predstavljajući na taj način glavni parametar koji povezuje metabolički i reproduktivni status krava (Beam i Butler, 1999). U uslovima energetskog deficita broj receptora za somatotropni hormon (STH) na hepatocitima se smanjuje čime se "dekupluje" STH/IGF osovina. Dekuplovanje STH/IGF osovine praćeno je smanjenjem koncentracija IGF-I, a sa druge strane rastom koncentracija STH u cirkulaciji. Stepenn slabljenja, odnosno raskidanja STH/IGF-I osovine je tesno povezan sa energetskim statusom određenim koncentracijom insulina. Interesantno je posmatrati koncentracije IGF-I unutar rase. Kod krava rase buša se koncentracija IGF-I 30.dana postpartalno vraća na gotovo isti nivo koji je bio prisutan antepartalno, što nije slučaj kod krava holštajn rase. Ovo ukazuje na produbljen negativni bilans energije kod krava holštajn rase i sporije rekuplovanje STH/IGF osovine. Kod jedinki u NEB ovulacija kasni usled smanjenog pulsatilnog lućenja LH kao i smanjene koncentracije glukoze, insulina i IGF-I u krvi što sve redukuje produkciju estrogena od strane dominantnog folikula

(Butler 2007). Kako bi se metabolički status krave stabilizovao glavni hormoni u somatotropnoj osovini, STH, IGF-I i insulin moraju koordinisano djelovati u cilju očuvanja metaboličke homeostaze jedinke (Kim 2015). Mehanizmi koji dovode do promena u koncentracijama STH i IGF-I tokom rane laktacije nisu potpuno jasni. Većina IGF-I se stvara i oslobađa iz jetre kao odgovor na delovanje STH na STH receptore u jetri. IGF-I kasnije deluje negativnom povratnom spregom na hipotalamus i reguliše oslobađanje STH. Raskidanjem negativne povratne sprege između IGF-I i hipotalamusa dolazi do povećanja koncentracije STH u krvi (Doepel i sar., 2002; Zulu i sar., 2002; Rhoads i sar., 2004). Smatra se da IGF-I ima ključnu ulogu u regulaciji ekspresije mRNA za LH receptore i da na taj način učestvuje u razvoju i ovulaciji dominantnog folikula (Rawan i sar., 2015).

IGFBP-2 je indikator stresa. Što su životinje izloženije stresu nivo IGFBP-2 više raste. S obzirom na izloženost stresu zbog visoke proizvodnje u rezultatima se, očekivano, vidi značajno viša zastupljenost IGFBP-2 u krvi krava holštajn rase. IGFBP-2 izvlači postojeći IGF-I iz cirkulacije, preusmerava ga od njegovih primarnih funkcija i umanjuje njegov pozitivan efekat na rast i razvoj folikula. Na taj način prevelika zastupljenost IGFBP-2 može imati loš uticaj na fertilitet kod krava. IGFBP-3 je značajno više zastupljen u krvi krava holštajn rase u odnosu na krave rase buša. Koncentracija IGFBP-3 uvek prati koncentraciju IGF-I, što se u našim rezultatima takođe zapaža. Koncentracije IGF-I i IGFBP-3 više su u plazmi kod krava kod kojih je prvi dominantni folikul ovulirao, u odnosu na krave sa anovulatornim prvim postpartalnim dominantnim folikulom. IGF-I molekuli, zajedno sa svojim vezujućim proteinima (Insulin like growth factor binding proteins - IGFBP) utiču na aktivnost jajnika. Njihov efekat je utvrđen kako na granulosa i teka ćelijama, tako i na lutealnim ćelijama. Ovaj efekat najverovatnije ostvaruju delujući sinergistički sa gonadotropinima.

Iz rezultata se zapaža da je koncentracija estradiola značajno viša 30. dana postpartalno u krvi kod krava holštajn rase u odnosu na krave rase buša, što je i u skladu sa ultrazvučnim nalazom na jajnicima u momentu uzorkovanja krvi. Fiziološki, najviše koncentracije estradiola se nalaze u zdravim, dominantnim folikulima, i povećavaju se tokom rasta

folikula (Comin i sar., 2002). Međutim, visoke koncentracije estradiola same po sebi nisu dovoljne da preko mehanizama povratne sprege dovedu do ovulacije folikula kod krava koje su u NEB. Značajno smanjenje koncentracije estradiola u aktivnom folikulu kao i nepovoljan odnos estradiola i progesterona mogu biti znak prerane luteinizacije zida dominantnog folikula zbog nemogućnosti male količine estradiola da indukuje pozitivnu povratnu spregu na nivou hipotalamusa. Mnoge studije ukazuju na probleme u aktivnosti jajnika kod krava koje su izložene produbljenim fazama NEB (Beam i Butler 1999; Leroy 2004), poput zakasnele prve postpartalne ovulacije, produženih ciklusa, dužih intervala između lutealnih faza što ukazuje na produženu lutealnu fazu na jajnicima i dovodi do kašnjenja druge postpartalne ovulacije (Leroy 2008). Takođe, duže izraženi periodi NEB postpartalno imaju prolongiran negativan uticaj na fertilitet jedinki tako što izazivaju oštećenja oocita u razvoju i samim tim smanjuju indeks koncepcije (Britt 1994). Dodatno, gotovo polovina mlečnih krava pokaže simptome metritisa, endometritisa, cervicitisa ili purulentni vaginalni iscedak tokom postpartalnog perioda (LeBlanc 2014).

Cistična degeneracija jajnika jedan je od najčešćih reproduktivnih poremećaja u zapaćtima visokomlećnih krava tokom postpartalnog perioda, kompleksne etiologije, sa ućestalošću pojavljivanja 6-29% (Vanholder i sar., 2002; Peter 2004; Vanholder i sar., 2006). Alteracije u hipotalamo-hipofizno-gonadnoj osovini usled promena u mehanizmu povratne sprege 17 beta estradiola na hipotalamus ili desenzitizacije receptora za GnRH u hipotalamusu odnosno LH receptora u jajnicima. Loša sinhronizacija između LH pika i ekspimiranja receptora na folikularnom zidu takođe predstavlja bitan kofaktor u nastanku folikularnih cisti (Vanholder i sar., 2006). Promene u koncentraciji metabolita prisutnih u krvi kao posledica NEB mogu uticati na sastav folikularne tećnosti. Postpartalne supklinićeke i klinićeke infekcije materice utiće na aktivnost jajnika i često se javljaju kao posledica NEB koji doprinosi slabljenju imnskog sistema (LeBlanc 2012). Predpostavka je da oboljenja uterusa suprimiraju oslobađanje GnRH iz hipotalamusa, a posledićno i LH iz adenohipofize što loše utiće na folikulogenezu i remeti ovarijalnu funkciju. Kod krava u patološkom puerperijumu dolazi do usporene involucije uterusa, a samim tim i sporijeg uspostavljanja pravilne ovarijalne dinamike.

Testovi opterećenja glukozom tokom peripartalnog perioda su u ovom radu korišćeni radi upoređivanja metabolizma glukoze i sekrecije insulina kod krava rasa holštajn i buša. Poznato je da tokom peripartalnog perioda organizam prolazi kroz velike adaptivne promene kako bi mogao da se prilagodi visokim energetske zahtevima u visokom graviditetu i ranoj laktaciji. Bazalne koncentracije glukoze i insulina su se tokom tranzicionog perioda, od kasne gestacije do rane laktacije, menjale po sličnom šablonu kod obe ispitivane rase. Kod visokomlečnih krava su i ranije vršena merenja koncentracije glukoze i insulina tokom tranzicionog perioda, pri kojima je uočen njihov pad (Sartin i sar., 1988; Reist i sar., 2003). U rezultatima ovog rada se zapaža pad koncentracije glukoze i insulina na početku laktacije kod obe ispitivane rase, što ukazuje na uticaj laktacije na insulin-zavistan metabolizam glukoze. Slični rezultati su dobijeni u nekim prethodnim studijama gde su poređene krave visoko i nisko produktivnih rasa (Bonczek i sar., 1988; Gutierrez i sar., 1999; 2006), i navode na zaključak da bazalne koncentracije insulina zavise od rase. Međutim, visok nivo insulina može biti posledica loše ishrane (Veerkamp i sar., 2003), ili smanjenog klirensa što su pokazali Bossaert i saradnici (2008). U svakom slučaju, relativno visoke koncentracije glukoze udružene sa visokim koncentracijama insulina u krvi kod krava rase buša kako antepartalno tako i postpartalno mogu biti rezultat višeg stepena insulinske rezistencije. Iako je interpretacija testova na insulinsku rezistenciju komplikovana kod preživara u laktaciji (Holtenius i Holtenius, 2007), rezultati ukazuju na to da su buše nakon testa opterećenja glukozom imale više vrednosti AUC_{gluc} i niže vrednosti CR_{gluc} , kao i više AUC_{ins} vrednosti u poređenju sa kravama holštajn rase. Ako se ovi rezultati posmatraju uporedo sa višim bazalnim nivoima glukoze i insulina kao i nižim QUICKI vrednostima, može se postaviti pretpostavka da postoje međurasne razlike kada je reč o preraspodeli glukoze i osetljivosti tkiva na insulin. Fiziološki odgovor na test opterećenja glukozom se značajno razlikuje među rasama pre i posle porođaja, što ukazuje da su uočene razlike, makar jednim delom, specifične za rasu. Opšta dinamika kretanja koncentracija glukoze i insulina tokom testova opterećenja je u skladu sa podacima iz literature koji se odnose na krave sa ili bez genetske predispozicije za visoku proizvodnju. Naime, kod visokomlečnih krava odgovor B ćelija pankreasa na intravensku aplikaciju glukoze je manji tokom laktacije nego u periodu zasušenja (Sartin i sar., 1985., Holtenius i

sar., 2003), dok je kod niskoproduktivnih rasa tokom testa opterećenja insulinski odgovor gotovo isti pre i posle porođaja (Hammon i sar., 2007). Ovi rezultati su u skladu i sa rezultatima ovog rada. Još važnije, krave holštajn rase su imale više koncentracije insulina tokom testa opterećenja u odnosu na autohtonu rasu i pre i posle teljenja što ukazuje na kompromitovanu stimulaciju pankreasa i sekreciju insulina kod krava rase buša. Veći broj studija (Shingu i sar., 2002., Hammon i sar., 2007., Jaakson i sar., 2010) ukazuje na to da visokomlečne krave imaju slabije izraženo glukozom indukovano oslobađanje insulina iz pankreasa, udruženo sa visokim bazalnim koncentracijama glukoze. Poznati su drugi faktori koji mogu uticati na funkciju B ćelija pankreasa. Rezultati ovog rada su pokazali da je bazalna koncentracija NEFA u serumu krava u negativnoj korelaciji sa Δ Max vrednostima insulina ($r^2=-0,578$; $p<0,01$). Iako linearna korelacija ne pruža informacije o uzročno-posledičnoj vezi, izazovna je pretpostavka da su povišene koncentracije NEFA odgovorne za razlike u oslobađanju insulina između dve rase tokom testa opterećenja. Veza između medijatora sekrecije insulina i interakcije NEFA i B ćelija pankreasa nisu najbolje dokumentovani kod krava, ali se čini da su kod krava rase buša u pitanju slični biološki mehanizmi kao kod ljudi i pacova, pošto se povišena koncentracija NEFA poklapa sa smanjenom sekrecijom insulina u pankreasu u oba ispitivana perioda (ante i postpartalno). U skladu sa ovim su i tvrdnje Bossaert i saradnika (2008), koji navode da povišene koncentracije NEFA u cirkulaciji mogu da poremete glukozom indukovanu sekreciju insulina u pankreasu. Dodatno, u rezultatima se vidi i pozitivna korelacija RQUICKI indeksa i pika insulina u oba ispitivana perioda ($r^2= 0,855$; $p<0,01$ i $r^2=0,779$; $p<0,01$). Značajno smanjeno oslobađanje insulina tokom testa opterećenja kod krava rase buša je stoga najverovatnije posledica metaboličkih promena izazvanih insulinskom rezistencijom, što ukazuje na bitnu vezu između NEFA i funkcije B ćelija pankreasa. Čini se da ovi podaci potvrđuju hipotezu da je insulinska dinamika umešana u efekte koje rasa i/ili ishrana imaju na pojavu insulinske rezistencije (Chagas i sar., 2003). Zanimljivi rezultati dobijeni u ovom radu su povišene koncentracije NEFA u peripartalnom periodu kod autohtone rase uprkos višim koncentracijama insulina u odnosu na visokomlečnu rasu kravu, što ukazuje da insulinska rezistencija utiče na metabolizam masnog tkiva (Dann i sar., 2006). Međutim, više koncentracije NEFA kod krava rase buša bile su neočekivane s obzirom da su neka

(Veerkamp i sar., 2003; Jaaksen i sar., 2010), ali ne i sva (Fontaneli i sar., 2005) istraživanja ukazivala na genetsku tendenciju ka povišenim koncentracijama NEFA kod rasa selekcionisanih na visoku proizvodnju. Dobijeni rezultati pokazuju da su krave rase buša u stanju NEB u kasnom prepartalnom i ranom postpartalnom periodu verovatno iz razloga što dostupni izvori hrane nisu dovoljni da zadovolje potrebe u energiji. Dodatno, postavljene su pretpostavke da hronična supresija insulinskog odgovora takođe može predisponirati intenzivnu lipomobilizaciju i učestaliju pojavu metaboličkih oboljenja kod krava (Holltenius i sar., 2003; Kraft, 2004; Pires i sar., 2007). Shodno tome, intenzivnija mobilizacija NEFA kod autohtonih rasa može biti posledica tzv. down-regulacije insulinskih receptora usled hronične hiperinsulinemije. Sa druge strane, buše su imale niže koncentracije BHBA u oba ispitivana perioda u poređenju sa kravama holštajn rase. U tom smislu je opravdana pretpostavka da su nivoi insulina u serumu odgovorni za razlike u koncentraciji BHBA između dve rase. Efekat insulina na koncentracije BHBA se može objasniti pojačanom oksidacijom ketonskih tela u perifernim tkivima. U ovom radu primećen smanjen klirens glukoze kod buša ante i postpartalno je verovatno nastao kao posledica višeg stepena insulinske rezistencije koji je uticao na izraženiju lipolizu. Razlike u stepenu insulinske rezistencije između dve rase se, makar jednim delom, mogu objasniti izraženijim NEB kod krava rase buša. Dobijeni rezultati ukazuju na to da su metabolički signalni mehanizmi kojima insulin deluje na periferna tkiva podešeni u skladu sa evolutivnim adaptacijama koji kod sisara za cilj imaju da obezbede razvoj ploda u visokoj gestaciji kao i hranu za novorođenče nakon porođaja.

7. ZAKLJUČCI:

- 1.** Statistički značajno više vrednosti pokazatelja funkcionalne sposobnosti jetre (ukupni bilirubin, aktivnost AST i GGT) kod krava rase holštajn u odnosu na krave rase buša ukazuju na pojačanu metaboličku aktivnost kod visokoproizvodnih rasa tokom peripartalnog perioda. Pored toga, statistički značajno viša koncentracija trijodtironina utvrđena kod krava holštajn rase u odnosu na krave rase buša, ukazuje da su energetske zahteve značajno povećani kod krava rase holštajn u odnosu na krave rase buša.
- 2.** Na osnovu rezultata za koncentraciju glukoze, insulina i NEFA dobijenih topkom izvođenja IVGTT, kao i na osnovu vrednosti HOMA, RQICKI I QUICKI utvrđeno je da je insulinska rezistencija izraženija kod krava rase buša u odnosu na krave rase holštajn kako prepartalno tako i postpartalno. Ovaj rezultat može da ukaže da u uslovima nutritivne deficijencije kojoj su izložene krave rase buša u ekstenzivnoj proizvodnji, insulinska rezistencija predstavlja adaptivni mehanizam kojim se omogućava pravilan razvoj ploda tokom kasnog graviditeta, odnosno proizvodnja mleka tokom rane laktacije.
- 3.** Ispitivanja izvršena na perifernim tkivima su pokazala da je zastupljenost insulinskih receptora i GLUT 4 značajno niža u mišićnom tkivu kod krava rase holštajn ukazujući na mogućnost fiziološke adaptacije krava na visoku proizvodnju kroz prestrojavanje nutrijenata ka mlečnoj žlezdi.
- 4.** U poređnom analizom pokazatelja reproduktivnog statusa krava holštajn rase i krava rase buša utvrđeno je da aktivnost jajnika 30. dana posle teljenja statistički značajno izraženija kod krava rase holštajn u odnosu na krave rase buša. Pojačana aktivnost jajnika kod krava rase holštajn bila je udružena sa statistički značajno višom koncentracijom estradiola kod krava rase holštajn u odnosu na krave rase buša, 30. dana posle teljenja. Ovaj rezultat je, najverovatnije, posledica statistički značajno više koncentracije IGF-I koja je utvrđena kod krava holštajn rase u odnosu na krave rase buša u svim periodima ispitivanja, odnosno 14. dana pre, kao i 14., 30. i 50. dana posle teljenja.

5. Tridesetog dana posle teljenja, koncentracije BHBA, uree i holesterola, kao biohemijskih parametara, za koje je dokazano da u povišenim koncentracijama mogu da poremete proces ovulacije i ranu implantaciju embriona, su bile statistički značajno više kod krava holštajn u odnosu na krave rase buša. Ovaj rezultat ukazuje da su krave rase holštajn, i pored izraženije postpartalne aktivnosti jajnika, sklonije mogućnosti pojave poremećaja ovulacije u odnosu na krave rase buša.

8. LITERATURA

1. Aceves C., Ruiz A., Romero C., Valverde C. (1985) Homeorhesis during early lactation. Euthyroid sick-like syndrome in lactating cows. *Acta Endocrinologica (Copenhagen)*, 110, 505-509.
2. Adams G.P. (1999) Comparative patterns of follicle development and selection in ruminants. *Journal of Reproduction and Fertility*, 54, 17-32
3. Adams G.P., Jaiswal R., Singh J., Malhi P. (2008) Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle. *Theriogenology*, 69, 72–80.
4. Aerts J.M., Bols P.E. (2010) Ovarian follicular dynamics: a review with emphasis on the bovine species. Part I: Folliculogenesis and pre-antral follicle development. *Reproduction in Domestic Animals*, 45,171-179.
5. Andersson L. (1988) Sub-clinical ketosis in dairy cows. *Veterinary Clinics of North America-Food Animal Practice*, 4, 233–251.
6. Arriola Apelo S.I., Knapp J.R., Hanigan M.D. (2014) Current representation and future trends of predicting amino acid utilization in the lactating dairy cow. *Journal of Dairy Science*, 97, 4000-4017.
7. Ball P.J., Peters A.R. (2004) *Reproduction in cattle*. Blackwell Pub.
8. Barile V.L., Terzano G.M., Pacelli C., Todini L., Malfatti A., Barbato O. (2015) LH peak and ovulation after two different estrus synchronization treatments in buffalo cows in the daylight-lengthening period. *Theriogenology*, 84, 286-293.
9. Beam S.W., Butler W.R. (1999) Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows. *Journal of Reproduction and Fertility*, 54, 411-424.
10. Bell A.W., Bauman D.E. (1997) Adaptations of glucose metabolism during pregnancy and lactation. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 2, 265-278.
11. Bleach E.C., Glencross R.G., Feist S.A., Groome N.P., Knight P.G. (2001) Plasma inhibin A in heifers: relationship with follicle dynamics, gonadotropins, and steroids

- during the estrous cycle and after treatment with bovine follicular fluid. *Biology of Reproduction*, 64, 743–752.
12. Britt J.H. (1994) Follicular development and fertility; potential impacts of negative energy balance. In: *Proceedings of the National Reproduction Symposium*, Pittsburgh, 103–112.
 13. Broom D.M., Fraser A.F. (2015) *Domestic animal behaviour and welfare*. CABI.
 14. Butler W.R. (2000) Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Animal Reproduction Science*, 61, 449–457.
 15. Butler W.R. (2001) Nutritional effects on resumption of ovarian cyclicity and conception rate in postpartum dairy cows. *BSAS Occasional Publication*, 133-146.
 16. Cardoso F.C., LeBlanc S.J., Murphy M.R., Drackley J.K. (2013) Prepartum nutritional strategy affects reproductive performance in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 96, 5859-5871.
 17. Castro N., Kawashima C., van Dorland H.A., Morel I., Miyamoto A., Bruckmaier R.M. (2012) Metabolic and energy status during the dry period is crucial for the resumption of ovarian activity postpartum in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 95, 5804-5812.
 18. Cheong S.H., Sá Filho O.G., Absalón-Medina V.A., Pelton S.H., Butler W.R., Gilbert R.O. (2015) Metabolic and endocrine differences between dairy cows that do or do not ovulate first postpartum dominant follicles. *Biology of Reproduction*, 114, 1270-1276.
 19. Chuderland D., Dvashi Z., Kaplan-Kraicer R., Ben-Meir D., Shalgi R., Lavi S. (2012) De novo synthesis of protein phosphatase 1A, magnesium dependent, alpha isoform (PPM1A) during oocyte maturation. *Cellular and Molecular Biology Letters*, 17, 433-445.
 20. Cohick W.S. (1998) Role of the insulin-like growth factors and their binding proteins in lactation. *Journal of Dairy Science*, 81, 1769-1777.
 21. Comin A., Gerin D., Cappa A., Marchi V., Renaville R., Motta M., Fazzini U., Prandi A. (2002) The effect of an acute energy deficit on the hormone profile of dominant follicles in dairy cows. *Theriogenology*, 58, 899-910.

22. Contreras G.A., O'Boyle N.J., 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. *Journal of Dairy Science*, 93, 2508–2516
23. Dahl G.E., Auchtung T.L., Kendall P.E. (2002) Photoperiodic effects on endocrine and immune function in cattle. *Reproduction*, 59, 191-201.
24. Dardente H., Lomet D., Robert V., Decourt C., Beltramo M., Pellicer-Rubio M.T. Seasonal breeding in mammals: From basic science to applications and back. *Theriogenology*, 86, 324-332.
25. Dhiman T.R., Kleinmans J., Tessmann N.J., Radloff H.D., Van Evert P., Satter L.D. (1991) Effect of dietary forage:grain ratio on blood constituents in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 74, 2691-2695.
26. Diskin M.G., Austin E.J., Roche J.F. (2002) Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. *Domestic Animal Endocrinology*, 23, 211-228.
27. Diskin M.G., Mackey D.R., Roche J.F., Sreenan J.M. (2003) Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. *Animal Reproduction Science*, 78, 345–370.
28. Donadeu F.X., Ginther O.J. (2004) Interrelationships of estradiol, inhibin, and gonadotropins during follicle deviation in pony mares. *Theriogenology*, 61,1395–1405.
29. Drackley J.K., Andersen J.B. (2006) Splanchnic metabolism of long-chain fatty acids in ruminants. In *Ruminant physiology: digestion, metabolism and impact of nutrition on gene expression, immunology and stress*, Academic Publishers, Wageningen, The Netherlands, 199–224.
30. Drackley J.K., Cardoso F.C. (2014) Prepartum and postpartum nutritional management to optimize fertility in high-yielding dairy cows in confined TMR systems. *Animal* 8, 5-14.

31. Drackley J.K., Overton T.R., Douglas N.G. (2001) Adaptations of glucose and long chain fatty acid metabolism in liver of dairy cows during the periparturient period. *Journal of Dairy Science*, 84, 100-112.
32. Driancourt M.A. (2001) Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. *Theriogenology*, 55, 1211-1239.
33. Ducusin R.J., Uzuka Y., Satoh E., Otani M., Nishimura M., Tanabe S., Sarashina T. (2003) Effects of extracellular Ca²⁺ on phagocytosis and intracellular Ca²⁺ concentrations in polymorphonuclear leukocytes of postpartum dairy cows. *Research in Veterinary Science*, 75, 27-32.
34. Duffield T.F., Lissemore K.D., McBride B.W., Leslie K.E. (2009) Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. *Journal of Dairy Science*, 92, 571–580.
35. Eger M., Hussen J., Koy M., Dänicke S., Schuberth H.J., Breves G. (2016) Glucose transporter expression differs between bovine monocyte and macrophage subsets and is influenced by milk production. *Journal of Dairy Science*, 99, 2276-2287.
36. Esposito G., Irons P.C., Webb E.C., Chapwanya A. (2014) Interactions between negative energy balance, metabolic diseases, uterine health and immune response in transition dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 144, 60-71.
37. Fortune J.E., Rivera G.M., Evans A.C., Turzillo A.M. (2001) Differentiation of dominant versus subordinate follicles in cattle. *Biology of Reproduction*, 65, 648-654.
38. Fortune J.E., Sirois J., Turzillo A.M., Lavoie M. (1991) Follicle selection in domestic ruminants. *Journal of Reproduction and Fertility*, 43, 187-198.
39. Fourchon C., Seegers H., Malher X. (2000) Effect of disease on reproduction in the dairy cow: a meta-analysis. *Theriogenology*, 53, 1729–1759.
40. Garcia A., van der Weijden G.C., Colenbrander B., Bevers M.M. (1999) Monitoring follicular development in cattle by real-time ultrasonography: a review. *Veterinary Records*, 145, 334-340.
41. Ginther O.J., Bergfelt D.R., Kulick L.J., Kot K. (2000) Selection of the dominant follicle in cattle: role of estradiol. *Biology of Reproduction*, 63, 383–389.

42. Giuliadori M.J., Magnasco R.P., Becu-Villalobos D., Lacau-Mengido I.M., Risco C.A., de la Sota R.L. (2013) Metritis in dairy cows: risk factors and reproductive performance. *Journal of Dairy Science*, 96, 3621-3631.
43. Glistler C., Sunderland S.J., Boland M.P., Ireland J.J., Knight P.G. (2015) Comparison of bioactivities, binding properties and intrafollicular levels of bovine follistatins. *Reproduction*, 150, 85-96.
44. Goff J.P. (2004) Macromineral disorders of the transition cow. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 20, 471-494.
45. González F.D., Muiño R., Pereira V., Campos R., Benedito J.L. (2011) Relationship among blood indicators of lipomobilization and hepatic function during early lactation in high-yielding dairy cows. *Journal of Veterinary Science*, 12, 251-255.
46. Grimard B., Marquant-Leguienne B., Remy D., Richard C., Nuttinck F., Humblot P., Ponter A.A. (2013) Postpartum variations of plasma IGF and IGFBPs, oocyte production and quality in dairy cows: relationships with parity and subsequent fertility. *Reproduction in Domestic Animals*, 48, 183-194.
47. Grossi P., Bertoni G., Cappelli F.P., Trevisi E. (2013) Effects of the precalving administration of omega-3 fatty acids alone or in combination with acetylsalicylic acid in periparturient dairy cows. *Journal of Animal Science*, 9, 2657-2666.
48. Grummer R.R. (1995) Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. *Journal of Animal Science*, 73, 2820-2833.
49. Grummer R.R., Wiltbank M.C., Fricke P.M., Watters R.D., Silva-Del-Rio N. (2010) Management of dry and transition cows to improve energy balance and reproduction. *Journal of Reproduction Development*, 56, 22-28.
50. Hammon D.S., Evjen I.M., Dhiman T.R., Goff J.P., Walters J.L. (2006) Neutrophil function and energy status in Holstein cows with uterine health disorders. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 113, 21-29.
51. Hammon D.S., Evjen I.M., Dhiman T.R., Goff J.P., Walters J.L. (2006) Neutrophil function and energy status in Holstein cows with uterine health disorders. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 113, 21-29.

52. Harrison R.O, Ford S.P, Young J.W, Conley A.J, Freeman A.E. (1990) Increased milk production versus reproductive and energy status of high producing dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 73, 2749–2758.
53. Herdt T.H. (2000) Ruminant adaptation to negative energy balance. Influences on the etiology of ketosis and fatty liver. *Veterinary Clinics of North America-Food Animal Practice*, 16, 215–230.
54. Holtenius K., Agenas S., Delavaud C., Chilliard Y. (2003) Effects of feeding intensity during the dry period. 2. Metabolic and hormonal responses. *Journal of Dairy Science*, 86, 883–889.
55. Honaramooz A., Chandolia R.K., Beard A.P., Rawlings N.C. (2000) Opioidergic, dopaminergic and adrenergic regulation of LH secretion in prepubertal heifers. *Journal of Reproduction and Fertility*, 119, 207-215.
56. Huzzey J.M., Nydam D.V., Grant R.J., Overton T.R. (2011) Associations of prepartum plasma cortisol, haptoglobin, fecal cortisol metabolites, and nonesterified fatty acids with post-partum health status in Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 94, 5878–5889.
57. Huzzey, J.M., Veira D.M, Weary D.M., von Keyser-lingk M.A.G. (2007) Prepartum behavior and dry matter intake identify dairy cows at risk for metritis. *Journal of Dairy Science*, 90, 3220–3233.
58. Ireland J.J., Fogwell R.L., Oxender W.D., Ames K., Cowley J.L. (1984) Production of estradiol by each ovary during the estrous cycle of cows. *Journal of Animal Science*, 59, 764–771.
59. Jessica A., McArt A., Daryl V. Nydam, Garrett R. Oetzel, Thomas R. Overton, Paula A. Ospina (2013) Elevated non-esterified fatty acids and β -hydroxybutyrate and their association with transition dairy cow performance. *The Veterinary Journal*, 198, 560-570.
60. Jolly P.D., McDougall S., Fitzpatrick L.A., Macmillan K.L., Entwistle K.W. (1995) Physiological effects of under nutrition on postpartum anoestrous cows. *Journal of Reproduction and Fertility*, 49, 477–492.

61. Jorritsma R., Wensing T., Kruip T.A., Vos P.L., Noordhuizen J.P. (2003) Metabolic changes in early lactation and impaired reproductive performance in dairy cows. *Veterinary Research*, 34, 11-26.
62. Kafi M., Tamadon A., Saeb M., Mirzaei A., Ansari-Lari M. (2012) Relationships between thyroid hormones and serum energy metabolites with different patterns of postpartum luteal activity in high-producing dairy cows. *Animal*, 6, 1253-1260.
63. Kaneko H., Taya K., Watanabe G., Noguchi J., Kikuchi K., Shimada A., et al. (1997) Inhibin is involved in the suppression of FSH secretion in the growth phase of the dominant follicle during the early luteal phase in cows. *Domestic Animal Endocrinology*, 14, 263–271.
64. Kauffold J., Amer H.A., Bergfeld U., Müller F., Weber W., Sobiraj A. (2005) Offspring from non-stimulated calves at an age younger than two months: a preliminary report. *Journal of Reproduction Development*, 51, 527-532.
65. Kawashima C., Matsui M., Shimizu T., Kida K., Miyamoto A. (2012) Nutritional factors that regulate ovulation of the dominant follicle during the first follicular wave postpartum in high-producing dairy cows. *Journal of Reproduction Development* 58, 10-16.
66. Kim J.W. (2014) Modulation of the somatotropic axis in periparturient dairy cows. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 27, 147-154.
67. Komatsu T., Itoh F., Kushibiki S., Hodate K. (2005) Changes in gene expression of glucose transporters in lactating and nonlactating cows. *Journal of Animal Science*, 83, 557–564.
68. Kouamo J., Tidjou S.G., Zoli A.P., Mfopit Y.M. (2015) Effect of nutritional status on the ovarian follicular population, yield and quality of oocytes in the Ngaoundere Gudali zebu (*Bos indicus*). *Veterinary World*, 8, 502-507.
69. LeBlanc S.J. (2012) Interactions of metabolism, inflammation, and reproductive tract health in the postpartum period in dairy cattle. *Reproduction in Domestic Animals*, 47, 18-30.
70. LeBlanc S.J. (2014) Reproductive tract inflammatory disease in postpartum dairy cows. *Animal*, 8, 54-63.

71. Leroy J.L., Opsomer G., Van Soom A., Goovaerts I.G., Bols P.E. (2008) Reduced fertility in high-yielding dairy cows: are the oocyte and embryo in danger? Part I. The importance of negative energy balance and altered corpus luteum function to the reduction of oocyte and embryo quality in high-yielding dairy cows. *Reproduction in Domestic Animals*, 43, 612-622.
72. Leroy J.L., Rizos D., Sturmey R., Bossaert P., Gutierrez-Adan A., Van Hoeck V., Valckx S., Bols P.E. (2011) Intrafollicular conditions as a major link between maternal metabolism and oocyte quality: a focus on dairy cow fertility. *Reproduction and Fertility Development*, 24, 1-12.
73. Leroy J.L., Vanholder T., Delanghe J.R., Opsomer G., Van Soom A., Bols P.E., Dewulf J., de Kruif A. (2004) Metabolic changes in follicular fluid of the dominant follicle in high-yielding dairy cows early post partum. *Theriogenology*, 62, 1131-1143.
74. Leroy J.L., Vanholder T., Mateusen B., Christophe A., Opsomer G., de Kruif A., Genicot G., Van Soom A. (2005) Non-esterified fatty acids in follicular fluid of dairy cows and their effect on developmental capacity of bovine oocytes in vitro. *Reproduction*, 130, 485-495.
75. Lucy M.C. (2000) Regulation of ovarian follicular growth by somatotropin and insulin-like growth factors in cattle. *Journal of Dairy Science*, 83, 1635-1647.
76. Lucy M.C., Butler S.T., Garverick H.A. (2014) Endocrine and metabolic mechanisms linking postpartum glucose with early embryonic and fetal development in dairy cows. *Animal*, 8, 82-90.
77. Lyimo Z.C., Nielen M., Ouweltjes W., Kruip T.A.M., van Eerdenburg F.J.C.M. (2000) Relationship among estradiol, cortisol and intensity of estrous behavior in dairy cattle. *Theriogenology*, 53, 1783-1795.
78. Mackey D.R., Wylie A.R., Sreenan J.M., Roche J.F., Diskin M.G. (2000) The effect of acute nutritional change on follicle wave turnover, gonadotropin, and steroid concentration in beef heifers. *Journal of Animal Science*, 78, 429-442.
79. McArt J.A., Nydam D.V., Oetzel G.R. (2012) Epidemiology of sub-clinical ketosis in early lactation dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 95, 5056–5066.

80. Mcnamara J.M., Houston A.I. (1997) Currencies for foraging based on energetic gain. *The American Naturalist*, 150, 603-617.
81. Mutinati M., Rizzo A., Sciorsci R.L. (2013) Cystic ovarian follicles and thyroid activity in the dairy cow. *Animal Reproduction Science*, 138, 150-154.
82. Mwaanga E.S., Janowski T. (2000) Anoestrus in dairy cows: causes, prevalence and clinical forms. *Reproduction in Domestic Animals*, 35, 193–200.
83. Oetzel G.R. (2014) Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease *Veterinary Clinics of North America-Food Animal Practice*, 20, 651–674.
84. Oikawa S., Oetzel G.R. (2006) Decreased insulin response in dairy cows following a four-day fast to induce hepatic lipidosis. *Journal of Dairy Science*, 89, 2999-3005.
85. Opsomer G., Coryn M., Deluyker H., de Kruif A. (1998) An analysis of ovarian dysfunction in high yielding dairy cows after calving based on progesterone profiles. *Reproduction in Domestic Animals*, 33, 193-204.
86. Ospina P.A., Nydam D.V., Stokol T., Overton T.R. (2010) Association between the proportion of sampled transition cows with increased nonesterified fatty acids and beta-hydroxybutyrate and disease incidence, pregnancy rate, and milk production at the herd level. *Journal of Dairy Science*, 93, 3595–3601.
87. Ospina P.A., Nydam D.V., Stokol T., Overton T.R. (2010) Associations of elevated nonesterified fatty acids and beta-hydroxybutyrate concentrations with early lactation reproductive performance and milk production in transition dairy cattle in the northeastern United States. *Journal of Dairy Science*, 93, 1596–1603.
88. Ospina P.A., Nydam D.V., Stokol T., Overton T.R. (2010) Evaluation of nonesterified fatty acids and beta-hydroxybutyrate in transition dairy cattle in the northeastern United States: Critical thresholds for prediction of clinical diseases. *Journal of Dairy Science*, 93, 546–554.
89. Peter A.T. (2004) An update on cystic ovarian degeneration in cattle. *Reproduction in Domestic Animals*, 39, 1-7.
90. Peter A.T., Vos P.L.A.M., Ambrose D.J. (2009) Postpartum anestrus in dairy cattle. *Theriogenology*, 71, 1333-1342.

91. Pezzi C., Accorsi P.A., Vigo D., Govoni N., Gaiani R. (2003) 5'-Deiodinase activity and circulating thyronines in lactating cows. *Journal of Dairy Science*, 86, 152-158.
92. Piccione G., Messina V., Schembari A., Casella S., Giannetto C., Alberghina D. (2011) Pattern of serum protein fractions in dairy cows during different stages of gestation and lactation. *Journal of Dairy Research*, 78, 421-425.
93. Pires J.A., Delavaud C., Faulconnier Y., Pomiès D., Chilliard Y. (2013) Effects of body condition score at calving on indicators of fat and protein mobilization of periparturient Holstein-Friesian cows. *Journal of Dairy Science*, 96, 6423-6439.
94. Puppel K., Kuczyńska B. (2016) Metabolic profiles of cow's blood; a review. *Journal of Science of Food and Agriculture*, doi: 10.1002/jsfa.7779.
95. Rawan A.F., Yoshioka S., Abe H., Acosta T.J. (2015) Insulin-like growth factor-1 regulates the expression of luteinizing hormone receptor and steroid production in bovine granulosa cells. *Reproduction in Domestic Animals*, 50, 283-291.
96. Roche J.F. (2006) The effect of nutritional management of the dairy cow on reproductive efficiency. *Animal Reproduction Science*, 96, 282-296.
97. Sangsritavong S., Combs D.K., Sartori R., Armentano L.E., Wiltbank M.C. (2002) High feed intake increases liver blood flow and metabolism of progesterone and estradiol-17b in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 85, 2831–2842.
98. Santos J.E., Bisinotto R.S., Ribeiro E.S. (2016) Mechanisms underlying reduced fertility in anovular dairy cows. *Theriogenology*, 86, 254-262.
99. Sartori R., Haughian J.M., Shaver R.D., Rosa G.J.M., Wiltbank M.C. (2004) Comparison of ovarian function and circulating steroids in estrous cycles of Holstein heifers and lactating cows. *Journal of Dairy Science*, 87, 905–920.
100. Seifi H.A., Dalir-Naghadeh B., Farzaneh N., Mohri M., Gorji-Dooz M. (2007) Metabolic changes in cows with or without retained fetal membranes in transition period. *Journal of Veterinary Medicine. A, Physiology, Pathology, Clinical Medicine*, 54, 92-97.
101. Seifi H.A., Leblanc S.J., Leslie K.E., Duffield T.F. (2011) Metabolic predictors of post-partum disease and culling risk in dairy cattle. *Veterinary Journal*, 188, 216-220.

102. Shehab-El-Deen M.A., Leroy J.L., Fadel M.S., Saleh S.Y., Maes D., Van Soom A. (2010) Biochemical changes in the follicular fluid of the dominant follicle of high producing dairy cows exposed to heat stress early post-partum. *Animal Reproduction Science*, 117, 189-200.
103. Shin E.K., Jeong J.K., Choi I.S., Kang H.G., Hur T.Y., Jung Y.H., Kim I.H. (2015) Relationships among ketosis, serum metabolites, body condition, and reproductive outcomes in dairy cows. *Theriogenology*, 84, 252-260.
104. Sinclair K.D., Kuran M., Gebbie F.E., Webb R., McEvoy T.G. (2000) Nitrogen metabolism and cattle fertility. II. Development of oocytes recovered from heifers offered diets differing in their rate of nitrogen release in the rumen. *Journal of Animal Science*, 78, 2670–2680.
105. Sisco B., Pfeffer P.L. (2007) Expression of activin pathway genes in granulosa cells of dominant and subordinate bovine follicles. *Theriogenology*, 68, 29-37.
106. Snijders S.E., Dillon P., O’Callaghan D., Boland M.P. (2000) Effect of genetic merit, milk yield, body condition and lactation number on in vitro oocyte development in dairy cows. *Theriogenology*, 53,981–989.
107. Spicer L.J., Alonso J., Chamberlain C.S. (2001) Effects of thyroid hormones on bovine granulosa and thecal cell function in vitro: dependence on insulin and gonadotropins. *Journal of Dairy Science*, 84, 1069-1076.
108. Stangaferro M.L., Matiller V., Díaz P.U., Ortega H.H., Rey F., Rodríguez F.M., Silva M.A., Salvetti N.R. (2014) Role of activin, inhibin, and follistatin in the pathogenesis of bovine cystic ovarian disease. *Animal Reproduction Science*, 148, 97-108.
109. Ster C., Loiselle M.C., Lacasse P. (2012) Effect of postcalving serum nonesterified fatty acids concentration on the functionality of bovine immune cells. *Journal of Dairy Science*, 95, 708–717.
110. Stevenson J.S., Pulley S.L. (2016) Feedback effects of estradiol and progesterone on ovulation and fertility of dairy cows after gonadotropin-releasing

- hormone-induced release of luteinizing hormone. *Journal of Dairy Science*, 99, 3003–3015
111. Tamminga S. (2006) The effect of the supply of rumen degradable protein and metabolisable protein on negative energy balance and fertility in dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 96,227–239.
112. Tanemura K., Ohtaki T., Ono M., Tsumagari S. (2016) Development of ovarian diseases in dairy cows with a history of fatty liver, and their prognosis. *Journal of Veterinary Medical Science*, 78, 755-760.
113. Taylor V.J., Cheng Z., Pushpakumara P.G.A, Beever D.E., Wathes D.C. (2004) Fertility and yield in lactating dairy cows: relationship to plasma IGF-I in the peripartum period. *Veterinary Record*, 155, 583–588.
114. Tienken R., Kersten S., Frahm J., Meyer U., Locher L., Rehage J., Huber K., Kenéz Á., Sauerwein H., Mielenz M., Dänicke S. (2015) Effects of an energy-dense diet and nicotinic acid supplementation on production and metabolic variables of primiparous or multiparous cows in periparturient period. *Archives of Animal Nutrition*, 69, 319-339
115. Urdl M., Gruber L., Obritzhauser W., Schauer A. (2015) Metabolic parameters and their relationship to energy balance in multiparous Simmental, Brown Swiss and Holstein cows in the periparturient period as influenced by energy supply pre- and post-calving. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 1, 174-189.
116. Urdl M., Gruber L., Obritzhauser W., Schauer A. (2015) Metabolic parameters and their relationship to energy balance in multiparous Simmental, Brown Swiss and Holstein cows in the periparturient period as influenced by energy supply pre-and post-calving. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 99, 174-189.
117. van Knegsel A.T., van den Brand H., Dijkstra J., Kemp B. (2007) Effects of dietary energy source on energy balance, metabolites and reproduction variables in dairy cows in early lactation. *Theriogenology*, 68, 274-280.

118. Vanholder T., Opsomer G., de Kruif A. (2006) Aetiology and pathogenesis of cystic ovarian follicles in dairy cattle: a review. *Reproduction Nutrition Development*, 46, 105-119.
119. Vanholder T., Opsomer G., Govaere J.L., Coryn M., de Kruif A. (2002) Cystic ovarian disease in dairy cattle: aetiology, pathogenesis, and risk factors. *Tijdschrift voor diergeneeskunde*, 127, 146-155.
120. Vicini J.L., Buonomo F.C., Veenhuizen J. J., Miller M.A., Clemmons D.R., Collier R.J. (1991) Nutrient balance and stage of lactation affect responses of insulin, insulin-like growth factors I and II, and insulin-like growth factor-binding protein 2 to somatotropin administration in dairy cows. *Journal of Nutrition*, 121, 1656–1664.
121. Waltner S.S., McNamara J.P., Hillers J.K. (1993) Relationships of body condition score to production variables in high producing Holstein dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 76, 3410-3419.
122. Wathes D.C., Bourne N., Cheng Z., Mann G.E., Taylor V.J., Coffey M.P. (2007) Multiple correlation analyses of metabolic and endocrine profiles with fertility in primiparous and multiparous cows. *Journal of Dairy Science* 90, 1310-1325.
123. Wathes D.C., Taylor V.J., Cheng Z., Mann G.E. (2003) Follicle growth, corpus luteum function and their effects on embryo development in postpartum dairy cows. *Reproduction*, 61, 219-237.
124. Whelan S.J., Mulligan F.J., Gath V., Flynn B., Pierce K.M. (2014) Effect of dietary manipulation of crude protein content and nonfibrous-to-fibrous-carbohydrate ratio on energy balance in early-lactation dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 97, 7220-7224.
125. Wilde D. (2006) Influence of macro and micro minerals in the periparturient period on fertility in dairy cattle. *Animal Reproduction Science*, 96, 240-249.
126. Wiltbank M.C., Gümen A., Sartori R. (2002) Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology*. 57, 21-52.

127. Wolfe M.W., Roberson M.S., Stumpf T.T., Kittok R.J., Kinder J.E. (1992) Modulation of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone in circulation by interactions between endogenous opioids and oestradiol during the peripubertal period of heifers. *Journal of Reproduction and Fertility*, 96, 165-174.
128. Wolfe M.W., Stumpf T.T., Roberson M.S., Kittok R.J., Kinder J.E. (1991) Opioid and 17 beta-estradiol regulation of LH and FSH secretion during sexual maturation in heifers. *Domestic Animal Endocrinology*, 8, 491-498.

BIOGRAFIJA

Miloje (Miomir) Đurić rođen je 02. februara 1980. godine u Bihaću, Bosna i Hercegovina. Prva dva razreda osnovne škole je završio u Bihaću, a zatim je sa porodicom prešao u Srbiju gde je nastavio dalje školovanje. Po završetku Osnovne škole u Beogradu upisuje XIII Beogradsku gimnaziju, a zatim 1998. godine Fakultet veterinarske medicine u Beogradu. Diplomirao je u junu 2007. godine sa prosečnom ocenom 8,13. Nakon završetka studija odslužio je vojni rok u Školi za rezervne oficire vojske Srbije. Odmah po odsluženju vojnog roka u aprilu 2008. godine počinje sa stažom na Katedri za bolesti kopitara, mesojeda, živine i divljači. Na Katedru za porodiljstvo, sterilitet i v.o. prelazi u oktobru iste godine na mesto stručnog saradnika, a od 2012. godine do danas je na istoj katedri u zvanju asistenta.

Doktorske akademske studije na Fakultetu veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu upisao je 2008/2009 godine i položio sve ispite sa prosečnom ocenom 9,33. Kao autor ili koautor do sada je objavio preko 20 naučnih radova, od kojih je jedan rad iz doktorske disertacije objavljen u časopisu sa SCi liste (*Prodanović Radiša, Kirovski Danijela, Vujanac Ivan, Đurić Miloje, Korićanac Goran, Vranješ-Đurić Sanja, Ignjatović Marija, Šamanc Horea. Insulin responses to acute glucose infusions in Buša and Holstein-Friesian cattle breed during peripartum period: comparative study. Acta Veterinaria-Beograd, 2013, 63 (4) 373-384.*

Aktivan je učesnik domaćih i regionalnih naučnih i stručnih skupova iz oblasti veterinarske medicine. Stručni ispit za doktora veterinarske medicine je položio 2011. godine. Član je Veterinarske komore Republike Srbije, Udruženja bujatričara Srbije i EVSSAR-*The European Veterinary Society for Small Animal Reproduction.*

Изјава о ауторству

Име и презиме аутора: Милоје Ђурић

Број индекса: 15/5

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Упоредни приказ метаболичких, ендокриних и репродуктивних параметара високомлечних и аутохтоних раса крва

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да дисертација у целини ни у деловима није била предложена за стицање друге дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину других лица.

Потпис аутора

У Београду, _____

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора: Милоје Ђурић

Број индекса: 15/5

Студијски програм: Докторске академске студије

Наслов рада: Упоредни приказ метаболичких, ендокриних и репродуктивних параметара високомлечних и аутохтоних раса крава

Ментор: Проф. др Милош Павловић

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла ради похрањена у **Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског назива доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис аутора

У Београду, _____

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

Упоредни приказ метаболичких, ендокриних и репродуктивних параметара високомлечних и аутохтоних раса крава која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)
2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)
3. Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)
5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)
6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци.

Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

Потпис аутора

У Београду, _____
