

UNIVERZITET U BEOGRADU

FAKULTET VETERINARSKE MEDICINE

Mr vet. sci. Dragan J. Kasagić

**TIREOIDNI I METABOLIČKI STATUS
KRAVA RASE SIMENTALAC U
RAZLIČITIM PERIODIMA LAKTACIJE**

Doktorska disertacija

Beograd, 2015.

U N I V E R S I T Y O F B E L G R A D E

**F A C U L T Y O F V E T E R I N A R Y
M E D I C I N E**

Mr vet. sci. Dragan J. Kasagic

**THYROID AND METABOLIC STATUS
OF SIMMENTAL COWS DURING
DIFFERENT PERIODS OF LACTATION**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2015.

Mentor:

Dr Biljana Radojičić, redovni profesor

Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine

Članovi komisije:

Dr Drago Nedić, vanredni profesor

Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine

Dr Stanko Boboš, redovni profesor

Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet,

Departman za veterinarsku medicinu

Dr Mirjana Joksimović-Todorović, redovni profesor,

Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet

Datum odbrane doktorske disertacije:

Zahvaljujem se mentoru prof. dr Biljani Radojičić na velikoj pomoći, upornosti i dragocjenim savjetima, koji su doprinijeli izradi ove disertacije.

Takođe, zahvaljujem se i svim članovima komisije na korisnim i dobronamjernim prijedlozima.

Veliku i nesebičnu pomoć mi je pružio i direktor JU Veterinarskog instituta Republike Srpske „Dr Vaso Butozan” Banja Luka, prof. dr Drago Nedić, kao i cijeli kolektiv.

Zahvaljujem se i svim kolegama koji su mi pomagali u izvođenju pojedinih zadataka u okviru disertacije.

Posebno se zahvaljujem porodici na velikom strpljenju i podršci tokom ovih godina studija.

TIREOIDNI I METABOLIČKI STATUS KRAVA RASE SIMENTALAC U RAZLIČITIM PERIODIMA LAKTACIJE

REZIME

Cilj ove disertacije je da se doprinese razjašnjenju uticaja tireoidnih hormona na proizvodne sposobnosti i zdravlje visokomliječnih krava rase simentalac, praćenjem parametara endokrinog i metaboličkog statusa istih jedinki, kao i organskih sastojaka mlijeka, ali u različitim fiziološkim odnosno proizvodnim periodima u toku 2. laktacije. U cilju pojašnjenja značaja redosljeda laktacije u 3. laktaciji se određivala koncentracije biohemijских sastojaka krvi koji mogu biti indikatori energetskeg statusa, kao i količina i organski sastojci mlijeka, dok će u 4. laktaciji energetske status životinja biti određivan samo ispitivanjem organskih sastojaka mlijeka.

Ispitivanja su sprovedena na farmi goveda u Gradišci, Republika Srpska-BiH, ukupno 30 krava rase simentalac. Sve odabrane krave su ujednačene po tjelesnoj kondiciji, klinički zdrave, sa eutokijom, iz objekata vezanog sistema držanja, i pod veterinarskim nadzorom. Krave su podeljene u tri grupe. Prva grupa (n=10) u 2. laktaciji, druga grupa (n=10) u 3., i treća grupa (n=10) u 4. laktaciji. Uzorci krvi, kravama prve grupe su se uzimali punkcijom *vena coccigea*, u različitim proizvodnim ciklusima, odnosno nedelju dana pred partus, i poslije teljenja 21., 60., i 90. dana, odnosno na kraju tranzicionog perioda ili u ranoj laktaciji, kao i u vrijeme srednje i pune laktacije. U uzorcima krvi, nakon spontane koagulacije, centrifugiranja i odvajanja seruma, određivane su koncentracije trijodtironina (T₃) i tiroksina (T₄), radioimunološkom metodom (RIA) korišćenjem komercijalnih test paketa, i koncentracije biohemijских sastojaka krvi: glukoza, ukupni proteini, albumini, urea, ukupni bilirubin, kalcijum, fosfor, magnezijum i aktivnost AST. Kravama druge grupe u 3. laktaciji su uzimani uzorci krvi 30., 60. i 90. dana laktacije, a u punoj krvi su određivane koncentracije glukoze i BHBA na licu mesta, a u krvnom serumu aktivnost AST, i koncentracije ukupnih proteina, albumina, ukupnog bilirubina, uree i NEFA. Kravama treće grupe u 4. laktaciji određivani su 30., 60. i 90. dana laktacije samo količina i kvalitet mlijeka. Mliječnost krava je određivana kod prve grupe krava 21., 60.,

i 90. dana laktacije, a kod druge i treće grupe 30., 60. i 90. dana laktacije. Mjerena je i proizvedena količina mlijeka, a kvalitet mlijeka se određivao preko koncentracije organskih sastojaka mlijeka: koncentracija proteina, uree, bezmasne suve materije i masti. Dobijeni rezultati pokazuju da su najviše koncentracije hormona tireoidee (T_3 i T_4) kod krava rase simentalac u 2. laktaciji dobijene nedelju pred teljenje, a najniže u vrijeme rane laktacije 21. dana pospartum, dok su u vrijeme laktacije 60. i 90. dana te vrijednosti bile približno iste. Određivanjem vrijednosti biohemijskih pokazatelja metabolizma dobijeni su važni podaci o intenzitetu metaboličkih procesa u vrijeme 2. i 3. laktacije. Vrijednosti koncentracije glukoze, uree, ukupnih proteina, ukupnog bilirubina statistički značajno variraju kod krava u 2. laktaciji: nedelju dana pred teljenje je ustanovljena najviša glikemija a 21. i 60. dana nakon teljenja najniže i približno slične vrijednosti ($p < 0,01$); koncentracija uree je bila najniža nedelju pre teljenja ($p < 0,01$); a koncentracija ukupnih proteina i ukupnog bilirubina su bile najviše i neznatno iznad fiziološke vrijednosti 90. dana laktacije ($p < 0,01$). Vrijednost koncentracije BHBA je statistički značajno niža kod krava u 3. laktaciji, 60. dana laktacije ($p < 0,01$). Koncentracije NEFA, BHBA i AST ukazuju da ne postoji značajnije odstupanje u energetsom statusu krava rase simentalac u 3. laktaciji, u vrijeme rane, srednje i kasne faze laktacije. Određivanjem prosječne količine proizvedenog mlijeka, najviša proizvodnja je bila u 2. laktaciji 60. dana, a u 3. i 4. laktaciji 30. dana. Mjerenjem količine mlijeka u 4. laktaciji ustanovljeno je statistički značajno smanjenje ($p < 0,01$) 90. dana laktacije ($19,30 \pm 2,75$ kg) u odnosu na 30. dan ($23,50 \pm 2,51$ kg). Određivanjem organskih sastojaka mlijeka, posebno iz odnosa proteina i uree dobija se uvid u dobar energetske status krava rase simentalac, bez obzira na rastući redosljed i visinu laktacije. Redovna kontrola parametara metaboličkog profila i određivanje organskih sastojaka mlijeka predstavljaju važan dio dobrog menandžmenta, čime se postiže i dobrobit farmskih životinja i ekonomska isplativost u uslovima održivog mliječnog govedarstva.

Ključne riječi: Krave rase simentalac, T_3 i T_4 , biohemijski parametri metabolizma, organski sastojci mlijeka

Naučna oblast: Veterinarska medicina

Uža naučna oblast: Bolesti papkara

UDK broj: _____

THYROID AND METABOLIC STATUS OF SIMMENTAL COWS DURING DIFFERENT PERIODS OF LACTATION

SUMMARY

The aim of this thesis is to contribute to the clarification of the influence of thyroid hormones on the production capabilities and health of the high Simmental cow breed, monitoring parameters of the endocrine and metabolic status, and components of milk of the cows in different physiological and production periods during the 2nd lactation. In order to clarify the order of importance of lactation during the 3rd lactation, biochemical constituents of blood concentrations will be monitored as they may be indicators of energy status, as well as of the amount of organic components of milk, while during the 4th lactation, the energy status of the animal will be determined only by examining organic milk constituents. Tests were carried out on cattle farms in Gradiška, the Republic of Srpska – B&H, on a total of 30 Simmental breed cows. All selected cows were matched for body fitness - they were clinically healthy, with normal calving - from the facilities where they were kept on a leash, under veterinary supervision. The cows were divided into three groups. The first experimental group (n=10) pertained to the 2nd lactation; the second group (n=10) pertained to the 3rd, and the third group (n=10) to the 4th lactation period. Blood samples of the first group of cows were taken by puncture of the *vena coccigea* in different production cycles the week before calving and 21, 60, and 90 days after calving, and at the end of the transition period in early lactation, as well as during medium and full lactation. In the blood samples after spontaneous coagulation and centrifugation and serum separation, concentrations of triiodothyronine (T₃) and thyroxine (T₄) were measured and determined by radioimmunoassay RIA using commercial test packages, as well as the concentration of the biochemical constituents of blood: glucose, total protein, albumin, urea, total bilirubin, concentrations of calcium, phosphorus and magnesium, and AST activity. Blood samples were taken from cows in the second group during the 3rd lactation on the 30th, 60th and 90th days of lactation. Blood glucose and BHB concentrations were determined on the spot. In the blood serum AST activity and total protein, albumin, bilirubin, urea and NEFA were measured. With reference to the third group of cows during the 4th lactation, on the 30th, 60th and 90th days of lactation, only the quantity and quality of milk was determined. The milk yield

of cows was followed in the first group on the 21st, 60th and 90th days of lactation, and in the second and third groups on the 30th, 60th and 90th days of lactation. The final quality of milk was determined by the concentration of organic milk ingredients: protein concentration, urea, non-fat dry matter and fat. The results show that the highest concentrations of thyroid hormones (T₃ and T₄) during the 2nd lactation period was measured a week before calving, and the lowest in the period beginning with early lactation until the 21st day after calving, while these values were approximately the same on the 60th and 90th days. By determining the value of biochemical indicators of metabolism we discovered important data about the intensity of metabolic processes during the 2nd and 3rd lactation. Glucose concentrations, urea, total proteins, and total bilirubin significantly vary in cows in 2nd lactation: a week before parturition has established the highest glucose and 21. days after calving and 60th day lowest ($p < 0.01$) and urea in the week before parturition; total protein and total bilirubin in the 90th days is highest and upper of physiological values. Concentrations of BHB is statistical lowest 60th days in the cows of 3rd lactation ($p < 0.01$). Concentration of NEFA, BHB and AST activity did not show any significant deviation in the energy status of the breed at the time of early, middle and late stages of lactation. Amount of produced milk, the highest production in the 2nd lactation was on the 60th day, and during the 3rd lactation on the 30th day. In the 4th stage of lactation the average amount of milk gradually lowers and a significant decrease is determined ($p < 0.01$) 90 days after calving (19.30 ± 2.75 kg) compared to the concentration of 30 days after calving (23.50 ± 2.51 kg). Determination of organic components of milk, particularly the relationship of protein and urea, obtained a good insight into the energy status of the Simmental cow breed, regardless of the ascending order of the amount of lactation. Regular control of parameters of metabolic profile and determination of organic milk constituents are an important part of good management, which ensures the welfare of farm animals as well as cost-effectiveness in terms of a sustainable dairy business.

Keywords: Simmental breed cows, T₃, T₄, biochemical parameters, components of milk.

Major Field of Study: Veterinary Medicine

Special Field of Study: Ruminants and Swine Diseases

UDK Number: _____

Sadržaj

1. UVOD	1
2. PREGLED LITERATURE	3
2.1. Osobnosti metabolizma visokomliječnih krava u peripartalnom periodu	3
2.2. Neuroendokrina kontrola metabolizma visokomliječnih krava.....	11
2.2.1. Uloga hormona tireoidee u regulaciji energetskeg metabolizma	11
2.2.2. Regulacija sekrecije tireostimulirajućeg hormona (TSH)	18
2.3. Metabolički pokazatelji energetskeg statusa u peripartalnom periodu	21
2.4. Biohemijski pokazatelji metabolima i funkcionalnog stanja jetre visokomliječnih krava	25
2.4.1. Koncentracija glukoze u krvi visokomliječnih krava	27
2.4.2. Koncentracija ukupnih proteina i albumina u krvnom serumu.....	27
2.4.3. Koncentracija uree u krvnom serumu.....	28
2.4.4. Koncentracija ukupnog bilirubina u krvnom serumu	29
2.4.5. Aktivnost aspartat-amino-transferaze (AST) u krvnom serumu	30
2.5. Koncentracija i značaj makrominerala u krvnom serumu	31
2.5.1. Koncentracija kalcijuma (Ca).....	31
2.5.2. Koncentracija fosfora (P)	32
2.5.3. Koncentracija magnezijuma (Mg)	33
2.6. Organski sastojci mlijeka kao pokazatelji energetskeg statusa krava	34
3. CILJ I ZADACI ISTRAŽIVANJA	42
4. MATERIJAL I METODE RADA.....	44
4.1. Ogledne životinje.....	44
4.2. Uzimanje uzoraka od životinja za laboratorijska istraživanja	45
4.3. Određivanje koncentracije hormona tireoidee.....	46
4.4. Određivanje odabranih biohemijskih sastojaka krvi	46
4.5. Određivanje mliječnosti krava.....	47
4.6. Određivanje organskih sastojaka mlijeka	47
4.7. Statistička obrada podataka	48
5. REZULTATI ISPITIVANJA	49

5.1. Rezultati ispitivanja krvi krava u drugoj laktaciji	49
5.1.1. Koncentracija trijodtironina (T ₃)	49
5.1.2. Koncentracija tiroksina (T ₄).....	50
5.1.3. Koncentracija glukoze.....	51
5.1.4. Koncentracija ukupnih proteina	52
5.1.5. Koncentracija albumina	54
5.1.6. Koncentracija uree	55
5.1.7. Koncentracija ukupnog bilirubina.....	56
5.1.8. Aktivnost AST	57
5.1.9. Koncentracija kalcijuma (Ca).....	58
5.1.10. Koncentracija fosfora (P).....	58
5.1.11. Koncentracija magnezijuma (Mg).....	59
5.2. Rezultati ispitivanja organskih sastojaka mlijeka krava u drugoj laktaciji	61
5.2.1. Količina mlijeka.....	61
5.2.2. Koncentracija mliječne masti	62
5.2.3. Koncentracija bjelančevina.....	62
5.2.4. Koncentracija suve materije	63
5.2.5. Koncentracija uree	64
5.3. Rezultati ispitivanja krvi krava u trećoj laktaciji.....	66
5.3.1. Koncentracija glukoze.....	66
5.3.2. Koncentracija betahidroksibuterne kiseline (BHBA).....	67
5.3.3. Koncentracija neesterifikovanih masnih kiselina (NEFA).....	68
5.3.4. Koncentracija ukupnih proteina	69
5.3.5. Koncentracija albumina	70
5.3.6. Koncentracija uree	71
5.3.7. Aktivnost AST	72
5.3.8. Koncentracija ukupnog bilirubina.....	73
5.4. Rezultati ispitivanja organskih sastojaka mlijeka krava u trećoj laktaciji.....	74
5.4.1. Količina mlijeka.....	74
5.4.2. Koncentracija mliječne masti	75
5.4.3. Koncentracija proteina	76
5.4.4. Koncentracija suve materije	77
5.4.5. Koncentracija uree	78

5.5. Rezultati ispitivanja organskih sastojaka mlijeka krava u četvrtoj laktaciji.....	79
5.5.1. Količina mlijeka.....	79
5.5.2. Koncentracija mliječne masti	80
5.5.3. Koncentracija proteina	80
5.5.4. Koncentracija suve materije	81
5.5.5. Koncentracija uree	82
6. DISKUSIJA	84
6.1. Hormoni tireoidee.....	85
6.2. Biohemijski pokazatelji metabolizma	88
6.3. Organski sastojci u mlijeku	97
7. ZAKLJUČAK	103
8. SPISAK LITERATURE	105

1. UVOD

Savremeni uzgoj visokomliječnih krava ima za cilj da se godišnje dobije od 7000 do 8000 kg mlijeka i jedno tele. Selekcionisanjem krava na visoku proizvodnju to se i postiže, ali uz veliko opterećenje organizma, kada kao rezultat tako “opterećenog-napregnutog” stanja organizma dolazi do narušavanja endokrino-metaboličke ravnoteže, kada mogu nastati određeni metabolički poremećaji ili bolesti, posebno u uskom periodu oko teljenja (peripartalni period). U ovom periodu najizraženiji je energetska disbalans koji nastaje kao posljedica naglog prelaza iz postojećeg pozitivnog eneretskog statusa koji je dominantan u visokom graviditetu i neminovnog negativnog eneretskog bilansa koji prati rani postpartalni period, odnosno ranu laktaciju. Tranzicioni-peripartalni period se odlikuje brojnim metaboličkim prestrojavanjima organizma kada preovladavaju homeoretski procesi nad procesima homeostaze. Tada organizam pokreće brojne adaptacione procese kao odgovor na povećanu napregnutost a u cilju povećane biosinteze i sekrecije, tj. proizvodnje mlijeka. Od drugog teljenja graviditet kod krava je većim brojem meseci praćen i laktacijom, što dodatno opterećuje organizam. Takođe, samo teljenje i rana laktacija predstavljaju stanja koja mogu da uvedu organizam u metabolički stres. Peripartalni metabolički stres kod krava nastaje kao posljedica jačanja homeoretskih mehanizama kada preovladavaju katabolički procesi i negativni energetska bilans na početku laktacije. Disbalans eneretskog metabolizma prate endokrine, biohemijsko-hematološke i imunološke promjene organizma. Kada stres po svom intenzitetu i/ili trajanju prevaziđe adaptacione

sposobnosti organizma nastaju promjene koje se kod visoko proizvodnih krava prije svega ogledaju u smanjenim proizvodnim osobinama, slabijem zdravlju, a kasnije i u reproduktivnim poremećajima. Peripartalni period je dakle najkritičniji period u održavanju dobrog zdravstvenog statusa u uslovima visoke produktivnosti mliječnih goveda. Tada su izraženi i brojni poremećaji koji mogu biti takvi da dovedu i do pojave klinički manifestnih bolesti (ketoza, masna jetra, dislokacija sirišta, mastitis, metritis, bolesti papaka) ili trajnog pada produktivnosti (značajan gubitak tjelesne kondicije, pad proizvodnje mlijeka i slab kontinuitet laktacije), i raznih reproduktivnih smetnji, čime se nanosi i velika ekonomska šteta mliječnom govedarstvu. Ipak, prije nastanka ovih dekompenzatornih procesa, u organizmu se pokreće čitav niz kompenzatornih mehanizama karakterističnih za peripartalni period, kako bi se održala sposobnost adaptacije na fiziološke “napregnute” procese. Sastavni djelovi kompenzatornog mehanizma su promjene koje se na osnovu laboratorijskih analiza u prvim nedeljama poslije partusa mogu uočiti i u endokrinom i metaboličkom profilu. Laboratorijskim analizama se vrlo rano mogu otkriti krave sa manjom adaptacionom sposobnosti, pa je tim kravama potrebno posvetiti posebnu pažnju u smislu pojačane njege i kvaliteta ishrane. Endokrini i metabolički parametri metabolizma su uslovljeni nizom faktora kao što su rasa, redosljed i visina (faza) laktacije, što je u naučno stručnoj literaturi do sada ispitivano i objavljeno kod krava rase holštajn. Imajući to u vidu, kao i činjenicu da se u Republici Srpskoj značajan dio proizvodnje mlijeka bazira na gajenju krava simentalske rase, ovo istraživanje ima za cilj utvrđivanje vrijednosti odabranih endokronih i metaboličkih parametara i pojašnjenje mehanizama koji mogu imati uticaja na zdravlje i produktivnost krava rase simentalac u vrijeme najbolje i najprofitabilnije laktacije. Zbog još uvijek u literaturi nedovoljno objavljenih i nekih kontradiktornih podataka, ovakva ispitivanja predstavljaju aktuelan naučno-istraživački izazov, što nas je i opredjelilo za temu ove doktorske disertacije. Uz redovno određivanje i pravilnu validaciju parametara endokrinog i metaboličkog profila moguće je otkriti i preduprijeti neke endokrine, energetske, metaboličke i reproduktivne poremećaje, a time umanjiti i ekonomske štete na farmama mliječnih krava. Ovakav vid stalne kontrole zdravlja i proizvodnje visoko mliječnih krava postao je imperativ modernog menadžmenta u okviru zaštite zdravlja i održivog mliječnog govedarstva, kao i očuvanje dobrobiti farmskih životinja.

2. PREGLED LITERATURE

2.1. Osobnosti metabolizma visokomliječnih krava u peripartalnom periodu

Neuroendokrina kontrola metabolizma visokomliječnih krava u peripartalnom periodu je veoma složena i zavisna od međuodnosa mnogih endokrinih žlijezda, od nivoa njihovih aktivnosti, ali i od dovoljnog unosa kvalitetne hrane, stanja energetskeg bilansa i brojnih metabolita. U peripartalnom periodu osnovne endokrino-metaboličke promjene nastaju u vrijeme započinjanja i održavanja laktacije, kao i zaštite od metaboličkog stresa. Analizom endokrino-metaboličkih parametara može se omogućiti odabir kvalitetnih kriterijuma za procjenu peripartalnog metaboličkog stresa kod krava i postavljanje hipoteze, koja je laktacija imala najveće opterećenje za jedinku uz postizanje optimalne proizvodnje mlijeka.

Jednostrana selekcija na visoku proizvodnju mlijeka dovela je do višestrukog porasta mliječnosti krava u posljednjih nekoliko decenija. Mliječnost krava je genetski determinisana osobina, ali ipak presudnu ulogu u ispoljavanju i ostvarivanju te predispozicije imaju faktori spoljašne sredine (uslovi držanja, ishrane i nege). Poznato je da su potrebe u hrani i energiji značajno povećane na početku laktacije. Međutim, upravo u tom periodu krave ne mogu unijeti dovoljne ili veće količine hrane za zadovoljenje tih potreba, usled čega se javlja negativan energetskeg bilans i metabolički

stres. Ovo je posebno izraženo kod visoko selekcionisanih krava holštajn-frizijske rase, s obzirom da je kod ovih rasa krava potreba za stalnošću održavanja laktacije više naglašena u odnosu na ostale potebe organizma (Coffey i sar., 2004).

Peripartalni period predstavlja od 3 nedelje prije teljenja do tri nedelje poslije teljenja krava. Ovaj period se smatra najkritičnijim u pogledu održavanja metaboličkih procesa u fiziološkim okvirima (Bell, 1995; Drackley i sar., 2001; Overton i Waldron, 2004; Grummer, 1995, LeBlanck, 2010). Tokom peripartalnog perioda metabolizam kod visokomliječnih krava, ima najveće opterećenje. U peripartalnom periodu životinja prelazi iz stanja graviditeta u fazu laktacije, koju karakteriše svakodnevno povećanje proizvodnje mlijeka, koje prate i povećanje potrebe u energiji i hranjivim materijama. Najvažnije je da se metaboličko prilagođavanje obavi na adekvatan način, jer u suprotnom dolazi do smanjenja proizvodnosti životinje, poremećaja zdravlja i reprodukcije.

U toku graviditeta nastaje postepeni pad unosa hrane, tako da za svaku nedelju graviditeta konzumiranje hrane opada za 1,53% (odnosno 0,17kg) do tri nedelje pred teljenje, negativan trend u unosu hrane se nastavlja i nakon teljenja (Ingvarsten i sar., 1992).

Postoje brojni razlozi zbog kojih dolazi do smanjenog unosa hrane i nastanka negativnog energetskog bilansa nakon teljenja. U prvim danima laktacije dešavaju se metaboličke izmjene u cilju podrške nadolazećoj laktaciji. Adaptacioni procesi u organizmu na ovo stanje traju približno do 72. dana laktacije (Garnsworthy i Jones, 1987; Drackley, 1999). Osnovne promjene u metabolizmu ugljenih hidrata i masti u periodu oko teljenja i u ranoj laktaciji su: snižena glikemija, povećanje glukoneogeneze, smanjena potrošnja glukoze u perifernim tkivima, normalna ili snižena upotreba acetata, povećana mobilizacija lipida iz masnih depoa uz povišenu koncentraciju neesterifikovanih masnih kiselina (NEFA) i njihovu povećanu upotrebu u perifernim tkivima (Đoković i Kurčubić, 2000). U osnovi ovih procesa leže i brojne endokrine adaptacije, a to su prije svega: povišena koncentracija kortizola (koja intenzivira lipomobilizaciju i glukoneogenezu), povišena koncentracija hormona rasta (koja omogućuje povećanu upotrebu hranljivih materija u mliječnoj žljezdi i dovodi do pada osjetljivosti na insulin), snižena koncentracija insulina (koja nastaje zbog smanjenog

unosna hrane i umanjene receptorske osjetljivosti) i snižena koncentracija IGF-I (zbog sniženog anaboličkog efekta hormona rasta u perifernom tkivu krava uprkos njegovoj povišenoj koncentraciji). Sve ove promjene omogućuju preusmjeravanje glukoze (energije) ka plodu i mliječnoj žlijezdi, dok periferna tkiva povećano koriste masti kao izvor energije. Dnevna procjena deficita glukoze iznosi oko 500g/dan, pa se povećano mobilizira glukoneoplastične aminokiseline iz skeletnih mišića i drugih tkiva. Da bi zadovoljila potrebe za glukozom, jetra troši i rezerve glikogena, a na mjesto glikogena se zbog povećanog metabolisanja masti stvaraju i akumuliraju trigliceridi, ali se povećavaju i ketonska tijela kao npr., beta hidroxy buterna kiselina (BHBA). Sve ovo ukazuje na stanje značajnog metaboličkog stresa kod mliječnih krava. Pored navedenog, kod krava u periodu oko teljenja raste i koncentracija oksitocina i estradiola, kao i drugih polnih hormona koji omogućuju ponovnu aktivaciju jajnika (Cincović, 2013). Prema Bugarskom (2002) u ranom puerperijumu, odnosno ranog lakataciji, dolazi do značajnog pada koncentracije IGF-I kod visoko mliječnih krava, zbog poznatog negativnog energetskeg bilansa, na početku laktacije.

Smanjena osjetljivost na insulin i homeoretsko djelovanje hormona rasta, zajedno sa povećanom koncentracijom NEFA i ketonskih tijela, i ostalim opisanim promjenama, dovode do smanjenog apetita kod krava (Ingvarsten i Andersen, 2000).

Ostaje otvoreno pitanje da li smanjen apetit krava pokreće dalje metaboličke adaptacije ili metaboličke adaptacije izazvane početkom laktacije i razvojem ploda dovode do smanjenog apetita kod krava. U svakom slučaju, sve metaboličke adaptacije nastaju da bi se u metaboličkom smislu podržala laktacija, odnosno da se sve hranljive materije usmjeravaju ka mliječnoj žlijezdi. Mliječna žlijezda koristi glukozu za proizvodnju laktoze mliječnog šećera koji je higroskopian, pa se povećava volumen proizvedenog mlijeka, ali i za sopstvene energetske potrebe (rast i umnožavanje mliječnog epitela, procesi sinteze sastojaka mlijeka i slično). Proces stvaranja mliječnih proteina baziran je na korišćenju aminokiselina iz krvi, dok istovremeno masne kiseline dospjele putem krvi ulaze u sastav mliječne masti i utiču na njenu koncentraciju u mlijeku, koja je na početku laktacije redovno povišena. Negativni energetski bilans kod krava dovodi do povećane koncentracije mliječne masti (zbog povećanog korišćenja masnih metabolita iz krvi) i snižene koncentracije proteina, zbog intenzivne

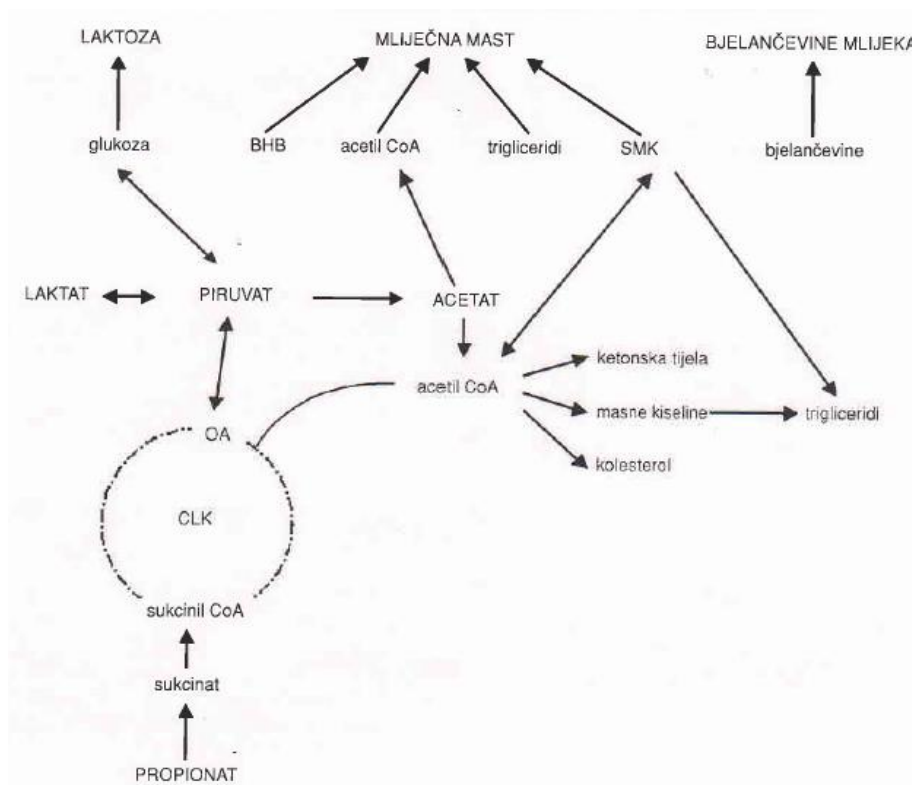
glukoneogeneze iz aminokiselina i smanjenog unosa i iskorištavanja proteina iz obroka (Šamanc i sar., 2006). Optimalno snabdjevanje mliječne žlijezde glukozom značajno je za održavanje stalnosti laktacije. Ako bi se glukoza povećano trošila za potrebe perifernog tkiva, što se recimo dešava tokom toplotnog stresa kod krava, došlo bi i do značajnog pada u proizvodnji i kvalitetu mlijeka (Cincović i sar., 2011).

Mliječna žlijezda dakle, ima prioritet prilikom upotrebe glukoze u organizmu krava. U ovom periodu mliječna žlijezda povećano troši glukozu zbog činjenice da je bogata receptorima koji su insulin-nezavisni u procesu usvajanja glukoze u ćelije, dok je ostalo periferno tkivo bogato insulin-zavisnim receptorima čija gustina u laktaciji opada (Komatsu i sar., 2005). Ovdje možemo uvidjeti uzrok svih adaptacionih procesa koji nastaju u peripartalnom periodu. Metabolički prioritet mliječne žlijezde raste sa porastom proizvodnje mlijeka, a negativni energetske bilans nastaje jer je napredovanje u unosu hrane mnogo sporije od napredovanja laktacije, tako da se unos hrane normalizuje tek poslije postizanja pika laktacije. Da bi se obezbjedila energija u vidu glukoze za mliječnu žlijezdu dolazi do trošenja rezervi glikogena u jetri ali i drugih tjelesnih rezervi masti i proteina. Tako u organizmu dominira homeoretska i katabolička aktivnost. Napor organizma da u uslovima napregnutosti održi uravnoteženim metaboličke potrebe, naziva se metaboličkim stresom. Stres dakle predstavlja svaki proces ili stanje čije djelovanje potiče iz spoljašnje ili unutrašnje sredine i koji nanosi ili može nanijeti štetu organizmu. Negativni energetske bilans i metabolički stres sa sobom povlače poremećaj zdravlja i reproduktivnih osobina i smanjenu dobrobit (Collard i sar., 2000; Reist i sar., 2003). Neophodno je poznavanje različitih uticaja u peripartalnom periodu kod krava, kao i mehanizama endokrine i metaboličke adaptacije, u cilju preventivnog djelovanja i sprječavanja metaboličkih poremećaja na vrijeme.

Istraživanja u kojima su krave hranjene smanjenom količinom hrane ili hranom sa redukovanom energijom u različitim periodima laktacije govore da restrikcija hrane u periodu zasušenosti u cilju povećanja postpartalnog unosa hrane nije dala konzistentne rezultate, tako da postoje ogledi u kojima restrikcija pokazuje pozitivan efekat na postpartalni unos hrane, proizvodnju mlijeka i metaboličku adaptaciju, dok su u drugim ogledima dobijeni kontradiktorni rezultati (Dann i Drackley, 2005; Janovick i sar., 2011). Sa druge strane, restrikcija hrane tokom laktacije dovodi do pada u proizvodnji

mlijeka, povećane mobilizacije lipida i povećane ketogeneze, uz pad koncentracije glukoze i promjenjenu osjetljivost perifernih tkiva na insulin. Faktori kao što su redosljed i visina (faza) laktacije pokazali su značajan uticaj na adaptacionu sposobnost krava prilikom restrikcije hrane tokom laktacije (Bjerre-Harpoth i sar., 2012). Filipović i sar. (2007) navode da se osim režimom ishrane, intenzitet glukoneogeneze se može pospješiti dodavanjem glukopšlastičnih nižih masnih kiselina u hrani. Međutim, višak laktata može prouzrokovati jak toksični učinak, pa se njegova primjena u praksi ne preporučuje, za razliku od propionata.

Kontrolisani unos energije u zasušenju može dovesti do povoljnih rezultata u procesu prilagođavanja na početku laktacije (Holcomb i sar., 2001). Takođe, predlaže se prihvaćanje činjenice da je inflamacija važan faktor za nastajanje metaboličkih poremećaja u krava u tranzicionom periodu (Drackley, 1999). Citokini utiču na proces lipomobilizacije putem smanjenja apetita odnosno narušavanjem osjetljivosti perifernih tkiva na insulin, kao i direktnom stimulacijom procesa lipolize (Kushibiki i sar., 2001, 2003).



Shema 1. Skupni prikaz metaboličkih puteva u organizmu krava u toku laktacije, (Filipović i sar., 2007):

Sve navedeno ukazuje da je peripartalni period vrlo specifičan i da je poznavanje metaboličkih procesa u ovom periodu ključ za analizu cjelokupnog zdravlja i produktivnosti visokomliječnih krava. U procjeni adaptacije organizma već četiri decenije koristi se Kompton-ov metabolički profil u ispitivanju zdravstvenog statusa krava i zadovoljenja njihovih potreba hranom (Payne i sar., 1970). Metabolički profil je definisan kao serija specifičnih laboratorijskih testova kojima se određuju vrijednosti određenih metabolita poslije uzimanja krvi kod krava u zasušenom periodu, ranoj laktaciji i u piku laktacije. Sa razvojem nauke broj parametara koji se određuje u metaboličkom profilu postajao je sve veći (Ingraham i Kappel, 1988). Danas se metaboliti mogu podjeliti na one koji oslikavaju energetske status krava, funkcionalni status jetre, status minerala i drugo. Neki od ovih metabolite mogu istovremeno biti dobri pokazatelji i energetske statusa i funkcionalnog stanja jetre kao što su koncentracije glukoze, NEFA, BHBA, uree, i aktivnosti AST (Radojičić i sar., 2014).

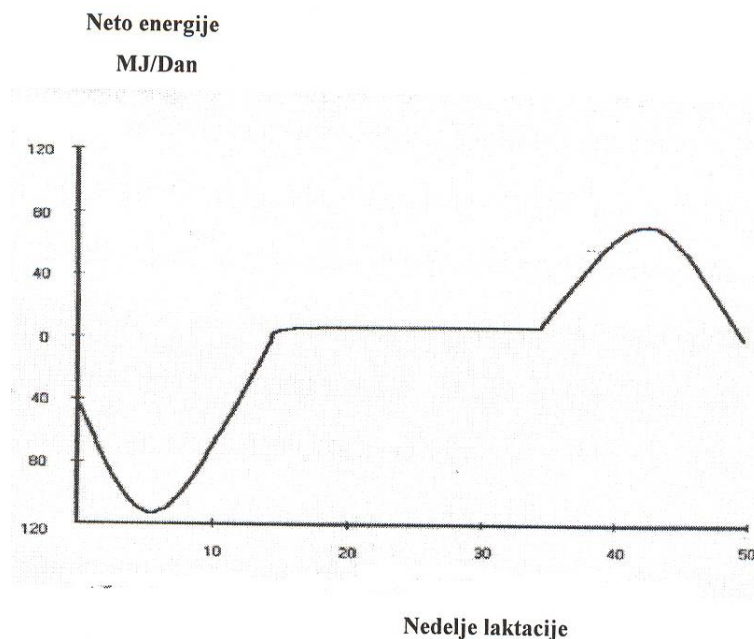
Način varenja hrane kod preživara je vid efikasnijeg korišćenja sastojaka hrane u odnosu na korišćenje kod ostalih biljojeda-nepreživara. Njihov obrok uglavnom sadrži celulozu, hemicelulozu, pektine, skrob i druge svarljive polimere. Mikroorganizmi iz predželudaca (rumena) hidrolizuju složene ugljene hidrate na jednostavnije monomere koje potom razlažu do nižih masnih kiselina (sirćetne, propionske, buterne, mravlje, itd.). Tako, zahvaljujući mikroorganizmima iz predželudaca preživari su sposobni da vare širok spektar ugljenih hidrata, naročito celulozu, do nižih masnih kiselina, koje se nakon resorpcije koriste za različite potrebe organizma. Ovaj u osnovi vrlo složeni proces varenja hranljivih sastojaka hrane u predželucima, doprinosi mnogim specifičnostima metabolizma preživara, a posebno metabolizma ugljenih hidrata i masti, odnosno procesima podmirivanja potreba organizma u energiji (Kasagić, 2005; Radojičić i sar., 2014).

Osnovni proizvod mikrobiološke fermentacije ugljenih hidrata iz hrane u predželucima su niže masne kiseline, od kojih su najzastupljenije sirćetna, propionska i buterna; čine oko 95 % od ukupne količine isparljivih nižih masnih kiselina. Ove masne kiseline se stvaraju u sadržaju buraga u približno konstantnom odnosu (66:20:10) koji se ipak mijenja zavisno od sastava obroka. Tako npr., kada se goveda hrane većim količinama krmnih smješa, smanjuje se količina acetata a povećava se zastupljenost

propionata. Sirćetna kiselina poslije resorpcije dopijeva u cirkulaciju i služi kao izvor energije poprečno-prugastoj tjelesnoj muskulaturi i drugim tkivima. U masnom tkivu i mliječnoj žlijezdi ova kiselina se koristi za sintezu masti. Buterna kiselina se dijelom metaboliše u zidu rumena, a preostali manji dio dopijeva u hepatocyte i koristi se, takođe, kao izvor energije. Ona je i najvažniji izvor relativno niskog nivoa ketonskih tijela u cirkulaciji kod zdravih životinja što ukazuje da je relativno niska i stabilna koncentracija ketonskih tijela u fiziološkim uslovima posljedica ustaljenog nivoa buterne kiseline u sadržaju buraga. Smatra se da ove dvije navedene masne kiseline nastale procesom razgradnje ugljenih hidrata u predželucima, mogu da obezbijede i do 80% energetske potrebe organizma (Bergman, 1973).

Propionska kiselina se djelimično metaboliše u sadržaju rumena do mliječne kiseline, dok njen najveći dio dopijeva u ćelije jetre i služi za sintezu glukoze, a samo se neznatni dio oksidiše. Danas se smatra da taj neznatni dio propionata koji dopijeva u sistemsku cirkulaciju i nema veći metabolički značaj, ali igra važnu ulogu u neuroendokrinoj regulaciji metabolizma glikemije (Grhon, 1985; Gordon, 1985; Radojičić, 1995; Radojičić i sar., 2014).

Iako, preživari unose hranom veliku količinu ugljenih hidrata, kod njih je koncentracija glukoze u krvi značajno niža nego kod monogastričnih životinja. Razlaganje ugljenih hidrata u predželucima do nižih masnih kiselina najviše utiče na neto resorpciju glukoze iz digestivnog sistema. Smatra se da je ta količina glukoze zanemarljiva i da ona može da zadovolji svega deseti dio od ukupnih potreba organizma za glukozom. Međutim, preostali i najveći dio glukoze za potrebe organizma kod preživara, obezbjeđuje se procesom glukoneogeneze iz glukogenoplastičnih materija (Yost, 1977; Kaneko 1989).



Shema 2. Energetski status mliječnih krava u toku laktacije

(Flatt. 1965, Bauman 1976)

Glukoneogeneza je proces sinteze glukoze iz neugljenohidratnih izvora kao što su propionat, glicerol, laktat, piruvat i neke aminokiseline.

Konverzija propionata u glukozu se odvija skoro u potpunosti u ćelijama jetre. Jetra preuzima čak oko 90 % resorbovanog propionata iz portalnog krvotoka, tako da samo neznatne količine mogu da dospiju u sistemska cirkulaciju (Stamatović i sar., 1983). Iako je dokazano da je propionat najznačajniji prekursor glukoneogeneze, još nije sa sigurnošću utvrđeno da li nivo proizvodnje propionata u sadržaju buraga može da zadovolji u potpunosti obimne potrebe glukoneogeneze, odnosno postavlja se pitanje, ukoliko se više propionata sintetizuje i više resorbuje iz buraga, da li je moguća sinteza veće količine glukoze. Prema nekim proračunima smatra se da oko 75% glukoze od ukupnih potreba organizma za njom, sintetiše procesom glukoneogeneze iz propionata koja je pod direktnim uticajem glukokortikosteroida (Stamatović i sar., 1983). Prema tome, odrednice uravnoteženog metabolizma kod visoko-mliječnih krava jesu koncentracija glukoze, NEFA, BHBA, nekih aminokiselina u krvi, uree, holesterola ali i aktivnost nekih enzima kao npr. Aspartat amino transeferaza (AST) i Glutamil laktat dehidrogenaza (GLDH) (Radojičić i sar., 2014). Posljedica pojačane

lipomobilizacije je najčešće pojava masne jetre (infiltrativne ili degenerativne prirode (Kovačević i Jovičin, 1996).

2.2. Neuroendokrina kontrola metabolizma visokomliječnih krava

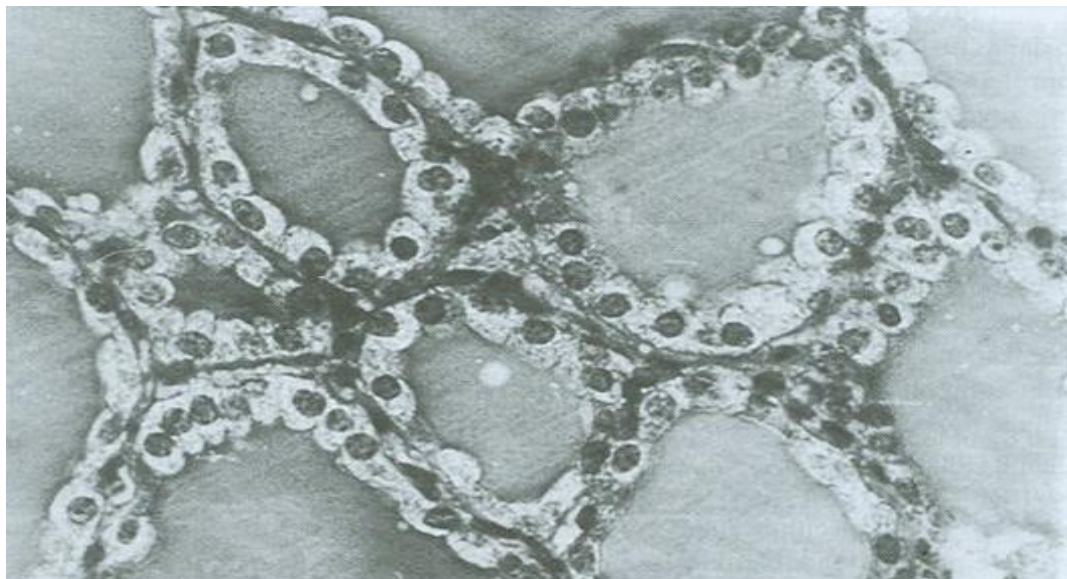
Odvijanje metabolizma i organskih i neorganskih materija, čija količina uglavnom zavisi od unosa alimentarnim putem stoji pod strogom kontrolom neuroendokrinog sistema. Savremeno shvatanje endokrinog sistema podrazumijeva izučavanje endokrinih funkcija u okviru integrisanog neuroendokrinog sistema. Endokrine žlijezde funkcionišu uz veoma prisno sadejstvo dijelova centralnog, perifernog i autonomnog nervnog sistema. Među prvim i najviše izučavanim ali još uvijek nedovoljno ispitanih i jasno potvrđenih uloga, bili su hormoni tireoidee, kore nadbubrežnih žlijezda, i endokrinog pankreasa. Intenzivnim razvojem savremenih i preciznih metoda za određivanje koncentracija hormona, došlo se i do saznanja da mnogi hormoni prvenstveno utiču jedni na druge, a zatim na niz lančanih metaboličkih procesa, u kojima opet određeni metaboliti imaju međusobnog uticaja i povratno, u vidu "feed back" mehanizma ponovo na stimulaciju sinteze i sekrecije pojedinih hormona, a time i na dnevni nivo (diurnalni ritam) koncentracije određenih hormona u krvi. Veza između proizvodnih osobina visoko mliječnih krava i metaboličkog kapaciteta njihovog organizma, još uvijek nije dovoljno ispitana, pa prema tome i ovakva ispitivanja su opravdan razlog daljih intenzivnih istraživanja.

2.2.1. Uloga hormona tireoidee u regulaciji energetskog metabolizma

Efekti hormona tireoidne žlijezde su mnogobrojni i odnose se na rast, diferencijaciju ćelija, kao i na metabolizam i ukupan razvoj organizma (Zhang i Lazar, 2000).

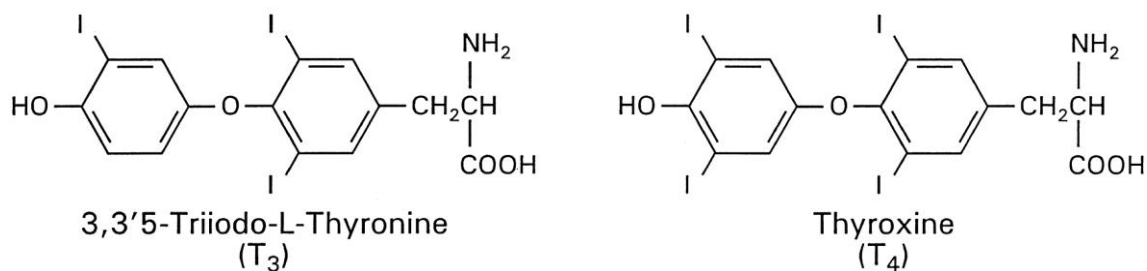
Hormoni tireoidee utiču i na intenzitet bazalnog metabolizma, ubrzavaju rad srca, stimulišu crijevnu peristaltiku, pojačavaju katabolizam masti i ugljenih hidrata a stimulišu anabolizam proteina i imaju ulogu u termogenoj aktivnosti organizma

povećavajući tjelesnu temperaturu (Gvozdić i sar., 2003). Biosinteza ovih hormona se odvija u tireoidnoj žljezdi (sl. 1).



Slika 1. Histološka građa tireoidee HE, 560x

Prva saznanja o ulozi ove endokrine žlijezde u energetsom metabolizmu životinja i ljudi potiču još od početka dvadesetog vijeka kada je konstatovano da usljed hiperfunkcije ove žlijezde dolazi do povećanja potrošnje O_2 , a kod hipofunkcije do smanjenja potrošnje O_2 . Iako je ovo mišljenje staro i poznato, navodi se i mišljenje poznatog tireologa Tata da je kalorigeno dejstvo posljedica opšte stimulacije citoplazmatske sinteze proteina (enzima). Time je dato prvo objašnjenje za kalorigeni efekat tireoidnih hormona (sl. 2) i njihovu ulogu u termoregulaciji. Tiroksin (T_4) je jedan od najduže poznatih hormona. Izolovao ga je još 1914. godine Kendall u laboratoriji Mayo klinike, a 1925. godine Harington i Burger odredili su njegovu strukturu i sproveli sintezu (1926-1927), a Gross i Pit Rivers su izolovali trijodtironin (T_3) i stvorili sintetski preparat još 1952. godine (Ljiljana B. Vojvodić, 1999).

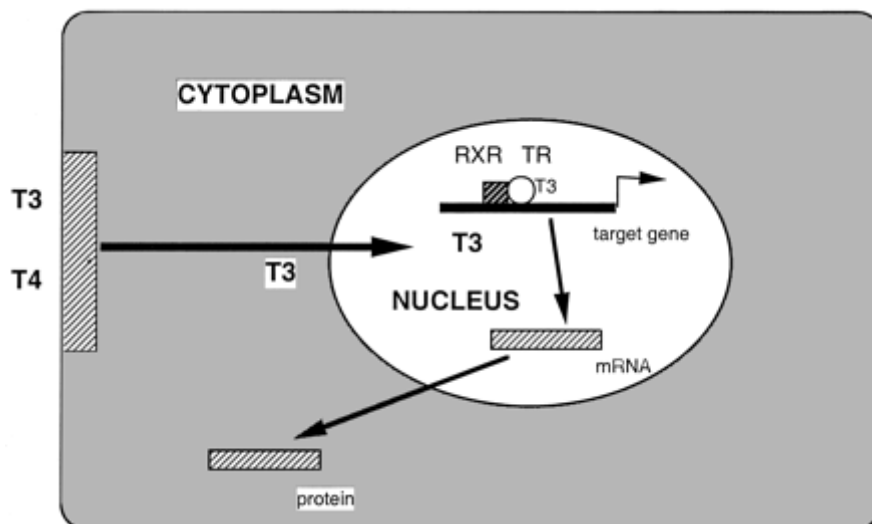


Slika 2. Hemijska struktura hormona tireoidee (Yen, 2001)

Mehanizam djelovanja T₃ i T₄ je vezan za procese oksidacije i fosforilacije koji se odigravaju na intracelularnom nivou, odnosno u mitohondrijama. Procesom oksidativne fosforilacije u aerobnim ćelijama, stvara se oko 90 % energije bogate fosfatnim vezama (ATP, ADP i cAMP), iz koga se kasnije oslobađa energija neophodna za osnovne životne procese, kao i energija za proizvodne potrebe organizma (Kaneko, 1989).

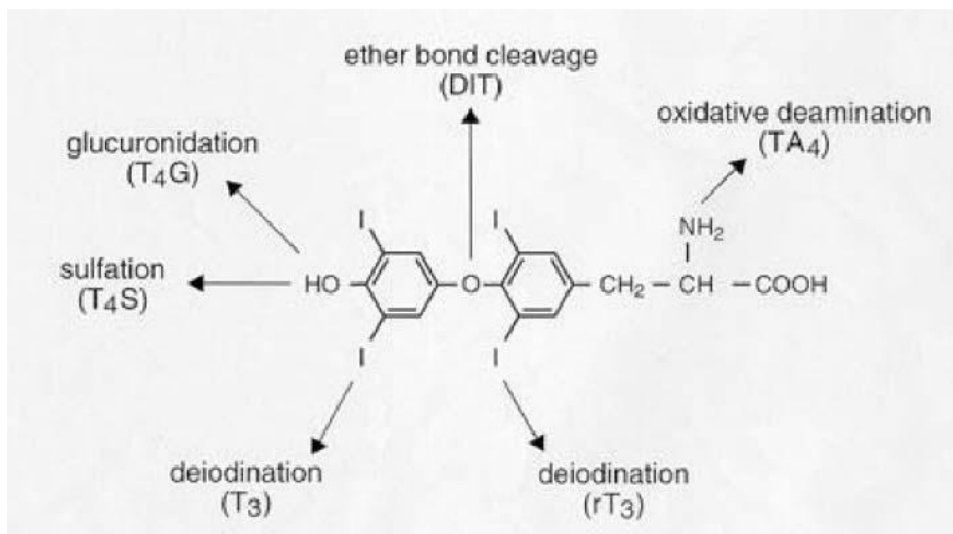
Biosinteza hormona tireoidee je jedinstvena po tome što se završne faze sinteze hormona odvijaju ekstracelularno u lumenu folikula. Jodid koji je neophodan za proces sinteze se veoma efikasno fiksira u tireocitima, nasuprot velikom koncentracionom gradijentu koji može da bude od 1:20 do 1:500. Sama fiksacija jodida je pod snažnim uticajem TSH iz adenohipofize koja opet zavisi od raspoložive količine kiseonika i ATP. Efikasnost fiksacije joda može da posluži i kao metoda za procjenu funkcionalnog stanja štitaste žlijezde. Na fiksaciju joda mogu negativno da utiču joni tiocijonata (SCN) i perhlorata (ClO₄), ali i velike količine samog joda u krvi.

Nakon fiksacije dolazi do oksidacije jodida u jod, koju katalizuje enzim peroksidaza, pa nastaje visoko aktivna forma joda nalik na slobodni radikal -J*. Ovu reakciju inhibiraju tireotoksični agensi kao što su tiouracil ili tioureja, a stimuliše je TSH. Reaktivna forma joda se gotovo trenutno veže za fenil grupe tirozinskih rezidua u sastavu molekula tireoglobulina. Tako nastaju monojodtirozin (MIT) i dijodtirozin (DIT). Proces sinteze se nastavlja enzimskim spajanjem molekula MIT i DIT, te nastaje T₃, a spajanjem dva molekula DIT nastaje T₄ (sl. 3).



Slika 3. Opšti model dejstva hormona tireoidee u jedru (Yen, 2001)

Dejodinacijom molekula tiroksina u tireocitima nastaje reverzni T_3 (rT_3) koji je inaktivna forma hormona. Reakcije jodinacije odigravaju se većinom na granici između lumena folikula i apikalne površine tireocita, zahtjevaju utrošak energije i osjetljive su na inhibitorno dejstvo tireotoksičnih agenasa (Gvozdić i sar., 2003). Dejodinaciju vrše jodotironin dejodinaze, i ima ih tri tipa: dejodinaza tip I (ID1), dejodinaza tip II (ID2) i dejodinaza tip III (ID3). Jodotironin dejodinaza tip I se nalazi na bazolateralnoj strani plazma membrana (sl. 4) u ćelijama bubrega, jetre, hipofize, tiroideje, crijeva i placente. Jodotironin dejodinaza tip II se nalazi na membranama endoplazmatskog retikuluma, dakle unutar ćelije. Jodotironin dejodinaza tip III je najslabije izučeni od svih dejodinaza.



Slika 4. Putevi metabolizma tireoidnih hormona
(Visser, 2012)

Hannon i Trenkle (1991) su u svom radu pokazali da kratkotrajne promjene u funkciji tireoidee nemaju veći uticaj na GH-IGF-I osu, niti u skeletnim mišićima IGF-I mRNA kod bikova. U ispitivanju koje su sproveli Hoshino i saradnici (1991) nivoa T_4 i T_3 u serumu mliječnih krava, za vrijeme laktacije (početak, vrh i kraj), dokazano je da je nivo ispitivanih hormona bio približno isti usvim fazama laktacije.

Hormoni tireoidee su deponovani unutar molekula tireoglobulina (Tg) koji ispunjava lumen folikula. Novosintetisani molekuli Tg se pakuju u Goldži kompleksu i nastaju apikalne vezikule koje se stapaju sa ćelijskom membranom tireocita a sadržaj vezikula se izbacuje u lumen folikula (Đurić, 1985). Lučenje T_3 i T_4 se odvija, dakle, pod kontrolom TSH iz prednjeg režnja hipofize. Na njihovu koncentraciju u krvi utiču ishrana, ambijent i posebno temperatura (McGuire, 1998). Međutim, Grum i sar. (1996) su ustanovili da vrijednosti T_3 i T_4 u krvi opadaju u slučaju negativnog energetskog bilansa. Dodavanje masti u obrok dovodi do povećanja koncentracije T_3 , dok ishrana bogata koncentratima nema uticaja na T_3 ali izaziva porast T_4 .

Savić (2012) u svom ispitivanju ukazuje da PTU ima izrazito negativan uticaj na koncentraciju T_3 u krvnom serumu junica, jer su tokom cijelog perioda aplikacije PTU, koncentracije T_3 su u krvi junica ogleadne grupe bile statistički značajno niže nego u krvi

junica kontrolne grupe. Objašnjenje za ovo daje Villar i sar., (2002) koji navodi da PTU djeluje inhibitorno na aktivnost DIO1 u tkivu jetre, koja je odgovorna za konverziju T₄ u T₃.

Takođe, intraruminalno davanje selena u obliku peleta dovodi do pojave viših koncentracija trijodtironina, dok se koncentracija tiroksina smanjuje, najvjerojatnije kao rezultat pojačane sinteze dejodinaza koje su selenoenzimi, odnosno u svom sastavu imaju aminokiselinu selenocistein. Kod mliječnih krava koncentracija trijodtironina i tiroksina u krvnoj plazmi je značajno niža u toku laktacije u odnosu na vrijednosti kada mliječna žlijezda nije aktivna (Hart i sar., 1978). Mnogi istraživači su objavili radove u kojima su ustanovili značajan pad koncentracija hormona tireoidee u periodu oko partusa. Njihovo objašnjenje je da u periodu oko partusa životinje ne unose dovoljno energije što povezuju sa stanjem negativnog bilansa energije (Hart i sar., 1978; Pethes i sar., 1985; Đoković, 1998).

Nikolić i saradnici (2000) su ustanovili da u visokom graviditetu postoji adekvatan status tireoidnih hormona, a sa početkom laktacije dolazi do značajnog smanjenja njihove koncentracije kod jedne trećine ispitivanih krava. Takođe, Nikolić i saradnici (2001) navode da su se koncentracije hormona tireoidee u krvnom serumu zdravih krava smanjivale u periodu od 4. dana prije do 4. dana poslije telenja (T₃ sa 1,7 na 1,15 nmol/l, a T₄ sa 51,3 na 28,0 nmol/l, dok su kod ketoznih krava one bile značajno niže i uniformne za T₃ oko 0,80 nmol/l a za T₄ oko 27,4 nmol/l. Zbog smanjene aktivnosti tireoidnih hormona u krvi dolazi do opadanja prometa energije na sistemskom i nivou bazalnog metabolizma (Nikolić, 1996).

U toku rane laktacije krave imaju statistički značajno niže koncentracije tiroksina u odnosu na kasnije faze laktacije (45,1 nmol/l), u kasnijem toku laktacije one postepeno rastu. Ovakav trend se zapaža i kod koncentracije trijodtironina (1,93 prema 1,71 nmol/l) (Tiirats, 1997).

Prema Stojiću i saradnicima (2001) koncentracija hormona tireoidee u krvnom serumu junica holštajn rase, u uskom peripartalnom periodu, bila je viša u popodnevnom uzorku u odnosu na vrijednosti u prijepodnevom uzorku, u prva dva dana ispitivanja (-4. i -3 dana) prije partusa, ali nije ustanovljen jasan cirkadijalni ritam njihove sekrecije. Takođe je ustanovljeno, da koncentracija hormona tireoidee opada

značajno nakon partusa. Rezultati ispitivanja koncentracija hormona tireoidee u krvnoj plazmi novorođene teladi pokazuju da se telad rađaju sa visokim vrijednostima koncentracija T_3 i T_4 , četiri puta većim u odnosu na vrijednosti ustanovljene sedmog dana života (Stojić i sar., 2002).

U krvnom serumu krava sa višom proizvodnjom mlijeka u visokom graviditetu, ranom puerperijumu i 2. mjesecu laktacije, nađene su značajno niže koncentracije hormona tireoidee u odnosu na krave sa nižom mliječnošću (Kovačević, 2004). U peripartalnom periodu naročito je izražen pad koncentracije T_3 . Furll i Schafer (1993) zaključuju da je kod zdravih krava prisutno smanjenje, ali koncentracije trijodtironina i tiroksina ostaju unutar fizioloških okvira, dok kod ketoznih krava ovo smanjenje ide ispod donje fiziološke granice.

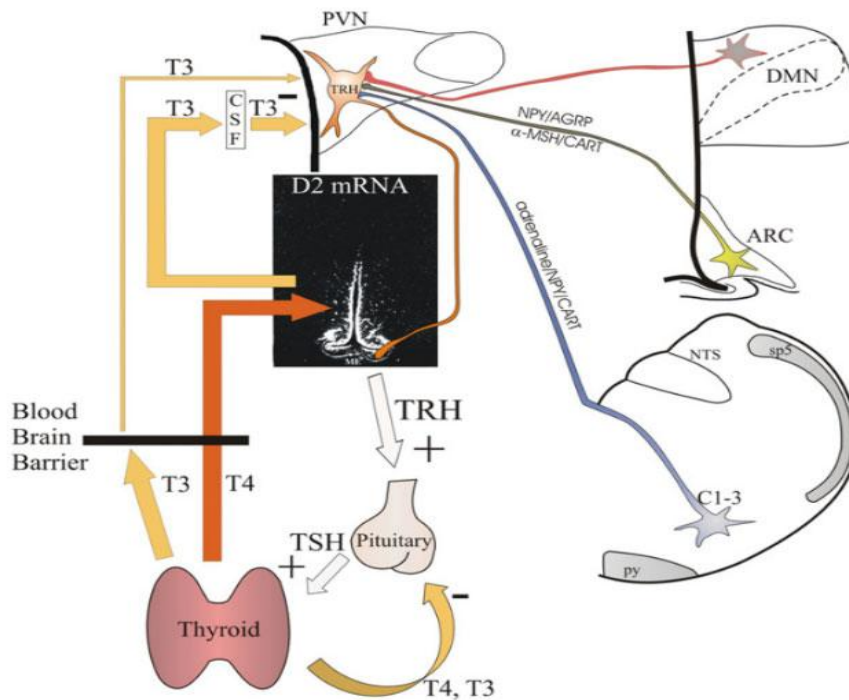
Tireoidni hormoni dakle imaju mnogobrojno, odnosno pantropno djelovanje u organizmu, ali glavno dejstvo im je u regulaciju energetskeg metabolizma. Tako oni povećavaju apsorpciju glukoze iz crijeva i ubrzavaju njen ulazak i iskorišćavanje u ćelijama pojačavajući djelovanje insulina. Koncentracija glukoze može biti povećana, normalna ili smanjena, zavisno od odnosa sinteze i iskorišćavanja. Visok nivo tiroksina pojačava glukoneogenezu iz aminokiselina i masnih kiselina. Trijodtironin i tiroksin imaju uticaja i na sintezu, mobilizaciju i razgradnju masti. Na metabolizam lipida tireoidni hormoni mogu da deluju i katabolički i anabolički. Grizard i saradnici (1995) ukazuju da trijodtironin i tiroksin zajedno sa glukokortikosteroidima i kateholaminima utiču na razlaganje lipida i proteina u telesnim depoima, što dovodi do porasta slobodnih masnih kiselina i amino kiselina u krvi. U ispitivanjima autora Kasagić i saradnici (2011) koncentracije T_3 i T_4 u krvnom serumu junica rase holštajn i crveni holštajn u uskom peripartalnom periodu, su bile niže neposredno nakon porođaja (T_3 holštajn $2,70 \pm 0,65$ nmol/l, a crveni holštajn $2,16 \pm 0,78$ nmol/l; T_4 holštajn $39,70 \pm 12,96$ nmol/l a crveni holštajn $49,90 \pm 22,42$ nmol/l) u odnosu na vrijednosti prije teljenja i nakon teljenja. Bernal i de Groot (1980) navode da male doze tireoidnih hormona pospješuju sintezu glikogena, dok više dovode do glikogenolize.

Djelovanje hormona tireoidee na metabolizam proteina zavisi od metaboličkog stanja organizma i njihove koncentracije u krvi. Umjerene doze tiroksina povećavaju

sintezu proteina a smanjuju izlučivanje azota, dok više doze smanjuju sintezu proteina, a povećavaju koncentraciju slobodnih aminokiselina u plazmi, jetri i mišićima.

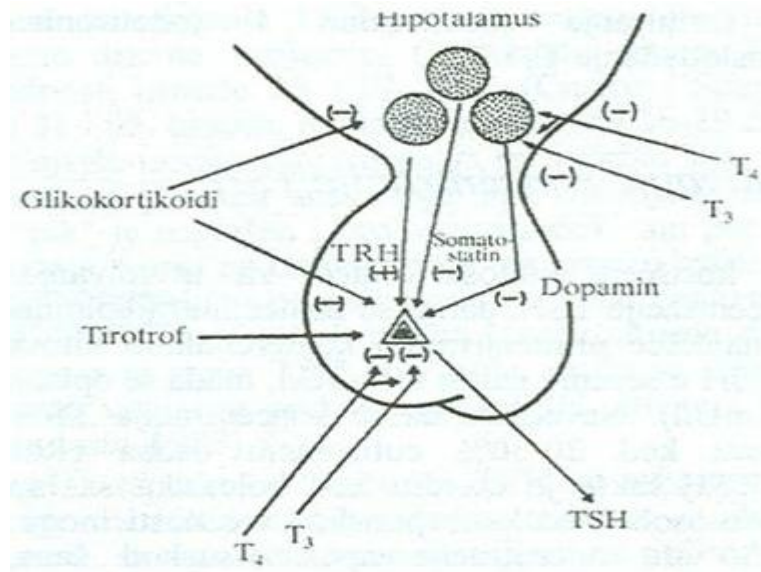
2.2.2. Regulacija sekrecije tireostimulirajućeg hormona (TSH)

Smatra se da je regulacija funkcije tireoidee veoma složen proces koji je po svom značaju i mehanizmima daleko komplikovaniji od regulacije drugih endokrinih žlijezda. Tireostimulirajući hormon (TSH) je glavni regulator funkcije tireoidee kako njegove biosinteze tako i sekrecije trijodtironina i tiroksina (T_3 i T_4). Sekretorna funkcija prednjeg režnja hipofize je permanentno regulisana "obavještenjima" efektornih žlijezda i hipotalamusnim-hipofizotropnim hormonima i neurotransmiterima. Ova kontrola se ostvaruje kratkim i dugim povratnim spregama između hormona prednjeg režnja hipofize i hormona žlijezde koju reguliše. Duga negativna povratna sprega je glavni regulator kojim tireoidni hormoni regulišu sekreciju TSH tako što niske koncentracije tireoidnih hormona stimulišu a visoke koncentracije inhibišu lučenje TSH. Danas se može govoriti i o postojanju ultrakratkih povratnih sprega između hipotalamusnih hormona. Ovakvo regulisanje najbolje se vidi u funkcionisanju hipotalamusno-hipofizno-tireoidne osovine (shema 3).



Shema 3. Hipotalamus-hipofizno-tireoidna osovina shematski prikaz (Mariotti, 2011)

Ova osovina održava tireoidnu homeostazu. Ona obuhvata tireotropni oslobađajući hormon (TRH) ili tireotropni rilizing faktor (TRF), tireostimulišući hormon (tireotropni hormone-TSH), hormone tireoidee, zatim uticaj somatostatina i dopamina (sl. 5). Početna karika u ovom lancu događaja je oslobađajući faktor za TSH, koji u povišenim koncentracijama u hipotalamusu sam sebe reguliše ultrakratkom povratnom spregom, koja u potpunosti do danas nije poznata (Đurić, 1985; Gluckman i sar.,1987). Osnovna neuroendokrina funkcija TRF je da stimuliše sintezu i sekreciju TSH i prolaktina. Dominantno mjesto u sekreciji TSH pripada trijodtironinu koji nastaje intracelularnom konverzijom tiroksina u samim nukleusima tireotrofa.



Slika 5. Činioci koji regulišu sekreciju TSH u pituitarnim tireotrofima

Eksperimentalno je moguće davanjem TRF direktno u hipotalamus spriječiti dalju sintezu TSH. Međutim, široka distribucija TRF u centralnom nervnom sistemu (CNS) ne dozvoljava tačno upoznavanje regulisanja sekrecije TRF na nivou samog hipotalamusa. TRF reguliše sekreciju TSH iz prednjeg režnja hipofize stimulisanjem svojih receptora na tireotrofima. Takođe, visoke koncentracije TSH smanjuju oslobađanje TRF u hipotalamusu, mehanizmom negativne povratne sprege između ova dva hormona. Međupovezanost TRF i TSH na principu kratke povratne sprege je zavisna i od koncentracije tireoidnih hormona. Ovo potvrđuje i davanje govedeg TSH tireoidektomisanim osobama što dovodi do pada TSH u plazmi. Potpuno poznavanje ove kratke povratne sprege u regulisanju sekrecije TSH do danas nije rasvijetljeno, jer postojeći metodi ispitivanja ne omogućavaju odvajanje egzogenog od endogenog TSH, pa samim tim i u situacijama kada je nivo hormona nizak ili normalan u plazmi (Đurić, 1985).

Uticaj tireoidnih hormona na sekreciju TSH je zasnovan na postojanju duge negativne povratne sprege u kojoj niske koncentracije tireoidnih hormona, povećavaju sekreciju TSH preko hipotalamusa odnosno TRF, a visoke koncentracije u potpunosti prekidaju lučenje ovog hormona prednjeg režnja hipofize. Prema tome, osovina hipotalamus-hipofiza-tireoidea (H-H-T) predstavlja klasičan endokrini sistem koji

funkcioniraju kao cjelina radi održavanja stalnih koncentracija tireoidnih hormona u plazmi, potrebnih za brojne metaboličke procese u organizmu.

Tireoidni hormoni i TRF nalaze u stalnoj kompeticiji za sekreciju TSH ili inhibiciju. Ova zavisnost između hipotalamusne regulacije (TRF) i tireoidno-hipotalamusne negativne povratne sprege, uvijek je prisutna i zavisna od koncentracije cirkulišućeg hormona (Vojvodić, 1999).

Hipofizno-tireoidna osovina je dominantna u regulaciji sekrecije TSH, odnosno njegova sekrecija se pod uticajem izmjenjenih koncentracija tireoidnih hormona mijenja sporo (satima) dok se promjene TSH pod uticajem TRF, dopamina i somatostatina dešavaju iz minuta u minut. Ova razlika u sekreciji TSH, bilo da se odnosi na njegovu stimulaciju ili inhibiciju, pretpostavlja se da je vezana za sintezu proteina u tireotrofima, konverzijom T_4 u T_3 u jetri i bubrezima, štitastoj žlijezdi pod uticajem T_4 -5'-dehidrogenaze, ali ne i u hipofizi i mozgu. U regulisanju sekrecije TSH dominantno mjesto pripada T_3 što su pokazala ispitivanja koncentracije ovog hormona u tkivu prednjeg režnja hipofize. Međutim, ovi eksperimenti su također pokazali da T_4 direktno utiče na sekreciju TSH koju inhibiše čak i kada su koncentracije T_3 u plazmi veoma niske (Đurđević i sar., 1985).

Konverzija T_4 u T_3 se odigrava uz pomoć 5' monodehidrogenaze tip II koji podliježe klasičnom kriterijumu za enzimске reakcije u mnogim dijelovima CNS-a, ne samo u u tireotrofima adenohipofize, a značajni su i kao izvor T_3 u regulisanju TSH, na nivou same hipofize (Jovanović i sar., 2003). Prema tome, koncentracija ćelijskog trijodotironina je važna za mehanizam supresije sekrecije TSH.

2.3. Metabolički pokazatelji energetskeg statusa u peripartalnom periodu

Peripartalni metabolički stres odlikuje se negativnim energetskeg bilansom, potrošnjom masti u energetske svrhe perifernog tkiva i potrošnjom glukoze za potrebe mliječne žlijezde i proizvodnju mlijeka. Ovakvo metaboličko prestrojavanje kao posljedicu ima sniženu koncentraciju glukoze i povišenu koncentraciju NEFA, koja dovodi do povećanog stvaranja ketonskih tijela u jetri, kada u krvi raste koncentracija BHBA. Metabolički pokazatelji lošeg energetskeg statusa kod krava su: snižena

koncentracija glukoze, povišena koncentracija NEFA i povišena koncentracija BHBA. Ovakav metabolički profil je tipičan za peripartalni period kod krava, a kod većeg broja krava ovi parametri se nalaze značajno izvan referentnih vrijednosti (Cincović i sar., 2011). Posljednjih godina, kao pouzdan parametar u procjeni energetskeg statusa visoko mliječnih krava u vrijeme rane laktacije, se uz povećanje koncentracije NEFA i BHBA kao parametra uzima i povišena aktivnost AST (Brydl i sar., 2008; 2012). Neesterifikovane masne kiseline su jedan od najznačajnijih izvora energije za organizam sisara (Emery i sar., 1992).

Glukoza, NEFA i BHBA značajno koreliraju sa negativnim energetskeg bilansom tokom laktacije. Ipak, njihova koncentracija prije svega zavisi od perioda laktacije, a u manjoj mjeri od energetskeg bilansa. Krave hranjene hranom sa smanjenom energijom u različitim periodima laktacije pokazuju sljedeće specifičnosti u metabolizmu: energetskeg deficit je bio više izražen u drugoj trećini laktacije u odnosu na ranu laktaciju, ali koncentracija glikemije bila značajno niža, a NEFA i BHBA značajno viša u ranoj laktaciji. Ovo navodi na zaključak da koncentracija glukoze, NEFA i BHBA u ranoj laktaciji reprezentuje značajno šire posmatranje metaboličke regulacije, koje pored ostalih elemenata sadrže i negativni energetskeg bilans (Gross i sar., 2011).

Snižena koncentracija glukoze kod krava tokom tranzicionog perioda nastaje kao posljedica smanjenog unosa hrane i povećanog usmjeravanja glukoze ka mliječnoj žlijezdi i gravidnom uterus. Vrijednost glikemije pokazuje tendenciju akutnog pada u periodu poslije partusa (Bell i Bauman, 1997). U momentu započinjanja laktacije potebe za glukozom postaju višestruko uvećane zbog intenzivne sintezeblaktoze, kao i pojačane upotrebe glukoze u procesima iskorištavanja masti mobilisanih iz tjelesnih depoa. Smatra se da hranom mliječne krave mogu zadovoljiti oko 10% svojih potreba za glukozom, pa glukoneogeneza predstavlja ključni mehanizam održavanja glikemije u organizmu krava. Homeoretska adaptacija metabolizma glukoze u laktaciji ogleda se u porastu hepatične glukoneogeneze. Pokazano je da u prepartalnom periodu propionat, laktat, alanin i glicerol imaju značajan uticaj na proizvodnju glukoze u jetri. Propionat potiče iz reakcija ruminalne fermentacije, laktat iz Korijeveg ciklusa, aminokiseline iz katabolizma proteina, a glicerol iz katabolisanog masnog tkiva. Tokom peripartalnog perioda učešće propionata u neto proizvodnji glukoze je 50-60%, amino-kiselina 20-

30%, laktata 15-20% i glicerola 2-4% (Šamanc, 2009). Intravenska aplikacija propionata kod zdravih krava dovodi do višestrukog porasta koncentracije glukoze (2-2,5 puta) kod zdravih krava u prvom satu poslije aplikacije. Kod ketoznih krava, kod kojih je u funkcionalno stanje jetrenarušeno nađena je značajno slabija produkcija glukoze, što potvrđuje značaj jetre u glukoneogenetskom procesu. Zbog toga aplikacija propionata može značajno pomoći u poboljšanju metabolizma u peripartalnom periodu (Đoković i sar., 2007). Postojanje pozitivne korelacije između koncentracija NEFA i triglicerida u krvi, može ukazati da se proces adaptacije odvija u željenom pravcu (Guretzky i sar., 2006).

U peripartalnom periodu koncentracija glukoze je obrnuto proporcionalna sa koncentracijama NEFA i BHBA. Neesterifikovane, slobodne masne kiseline u cirkulaciji nalaze u vidu kompleksa sa albuminima i predstavljaju alfa-lipoproteinsku frakciju. Graslom hromatografijom utvrđeno je da se kompleks NEFA u krvi sastoji od 12 slobodnih masnih kiselina među kojima dominiraju palmitinska, stearinska, oleinska i linoleinska (Husvet i sar. 1982). Hidroliza triglicerida u masnom tkivu se nalazi u osnovi reakcije kaskade koja dovodi do mobilisanja masti i porasta koncentracije masnih kiselina u krvi. Na osnovu mjerenja protoka palmitinske kiseline utvrđeno je da krave u peripartalnom periodu mogu mobilisati i do 2,9 kg masti dnevno (Konig i sar., 1979). Mobilizacija masnih kiselina i njihovo iskorištavanje kao izvora energije predstavlja najznačajniji homeoretski mehanizam u ranoj laktaciji. NEFA u krvi najčešće nastaju kao posljedica mobilizacije lipida usljed pojačanog katabolizma masti, koje se dešava zbog niza endokrinih izmjena i smanjnog unosa hrane. Smanjen unos hrane sam po sebi nije dovoljan da pokrene postupak mobilizacije lipida (Frigens, 2003). Ipak, koncentracija NEFA može biti vrlo osjetljiv indikator snabdjevenosti hranljivim materijama, s obzirom da postoji dnevna varijacija NEFA, tako da je njihova koncentracija najviša u noćnim i jutarnjim časovima (jer krave noću ne konzumiraju hranu) Bertoni i saradnici (2002). U periodima kada su krave izložene toplotnom stresu koncentracija NEFA je nešto viša u toplijim dijelovima dana, kada krave izbjegavaju unos hrane (Cincović i sar., 2010).

Neesterifikovane masne kiseline se metabolišu u svim tkivima, ali centralni organ metabolizma je jetra. Metabolički procesi u kojima učestvuje NEFA su: a) potpuna

oksidacija masnih kiselina do vode i ugljenik-4-dioksida, b) djelimična oksidacija do acetil-koenzima A i sinteza ketonskih tela (BHBA), c) formiranje triglicerida iz NEFA u procesu resinteze i njihov transport iz jetre putem VLDL lipoproteina, d) resinteza triglicerida u jetri, njihova akumulacija i masna degeneracija jetre. Ispitivanja su pokazala da promjene na receptorskom i genomskom nivou u jetri dovode do adekvatne ili loše adaptacije koje impliciraju razvoj metaboličkih bolesti (Cincović i sar., 2012). Zbog nepotpune oksidacije NEFA značajan dio energije se gubi, pa se dodatno produbljuje negativan bilans energije.

Zbog svega navedenog jetra predstavlja centralni metabolički organ u peripartalnom periodu. Stvaranje ketonskih tijela i resinteza triglicerida u jetri predstavljaju osnovu za nastanak peripartalnih metaboličkih bolesti kao što su ketoza i masna jetra, a koje su povezani sa opštim zdravljem i produktivnošću krava u laktaciji koja sljedi (Radojičić i sar., 2014).

Koncentracija NEFA i BHBA su parametri koji tokom različitih faza proizvodno-reproduktivnog ciklusa krava ne pokazuju značajnija odstupanja u odnosu na prosječne vrijednosti, zbog čega imaju veliki dijagnostički značaj u procjeni metaboličkog i zdravstvenog statusa krava, dok je koncentracija glukoze, koja varira u većoj mjeri, zbog čega je njen dijagnostički značaj srednji. Najnovije tendencije u naučno istraživačkom radu su da se utvrdi koja je to koncentracija glukoze, NEFA i BHBA, i kakva je njihova prediktivna uloga u ranoj procjeni zdravlja i produktivnosti krava i rizika za njihovo isključenje iz proizvodnje. Tako koncentracija NEFA preko 0,4 mmol/l, odnosno 0,8 mmol/l u prvoj nedelji poslije partusa i koncentracija BHBA veća od 1,2 mmol/l u prvoj i/ili drugoj nedelji posle partusa, značajno češće postoji kod krava kod kojih su se razvile peripartalne bolesti, pa je prediktivna uloga ovih metabolita i potvrđena. Utvrđeno je da koncentracija NEFA ima kvalitetniju prediktivnu funkciju, odnosno da je NEFA validniji indikator u odnosu na BHBA (Cincović i sar., 2012). Negativan bilans energije koji karakteriše ranu fazu laktacije, praćen je sniženom koncentracijom glukoze i insulina u krvi, a povećanom koncentracijom BHBA i NEFA u krvi, (Bonczek i sar., 1988; Šamanc i sar., 1998; Šamanc i sar., 2011; Prodanović i sar., 2012). Za nastanak subkliničke ketoze bazalna vrijednost za NEFA je mnogo niža (0,26 mmol/l). Koncentracija glukoze se nije pokazala kao statistički značajan prediktivni

pokazatelj zdravlja i produktivnosti krava, ali njena vrijednost ispod 2,3 mmol/l, u kombinaciji sa drugim parametrima, može ukazati na nastanak različitih metaboličkih oboljenja (Ospina i sar., 2010; Noworoozy i sar., 2011). Prolongirana hiperketonemija i visoka koncentracija NEFA imaju negativan uticaj na brojne aspekte adaptacije mliječnih krava na peripartalni metabolički stres u peripartalnom period (Kessel i sar., 2008; Cincović i sar., 2012). Koncentracija NEFA u rasponu od 0,3-0,5 mmol/l ukazuje na intenzivnu mobilizaciju lipida, a vrijednost preko 0,7 mmol/l na veoma intenzivnu lipomobilizaciju (Šamanc, 2009).

Odgovor hipotalamo-hipofizno-nadbubrežne ose, pa samim tim i adaptacioni kapacitet krava nalazi se u korelaciji sa glikemijom i koncentracijom NEFA u ranoj laktaciji. Ukoliko je koncentracija glukoze niska odgovor stresne ose će biti intenzivan i to hipotalamo-hipofizni odgovor. Visoka koncentracija NEFA dovodi do umanjenog odgovora nadbubrežnih žlijezda na ACTH. Tako zaključujemo da ovi metaboliti imaju uticaj na različite djelove stresne osovine u organizmu i adaptacionu sposobnost krava na peripartalni metabolički stress (Beerda i sar., 2009).

Zbog činjenice da koncentracija NEFA u krvi krava reprezentuje intenzitet kataboličkih procesa koji nastaju kao posljedica metaboličkih i endokrinih adaptacija i da u povišenim koncentracijama može dovesti do značajnih izmjena u ostalim homeostatskim procesima, određivanje NEFA je značajan parametar katabolizma i indikator metaboličkog stresa, odnosno energetskog metabolizma u ranoj laktaciji (Cincović i sar., 2012).

2.4. Biohemijski pokazatelji metabolima i funkcionalnog stanja jetre visoko mliječnih krava

Biohemijski indikatori predstavljaju indikator nutritivnog statusa i metaboličke ravnoteže u organizmu krava tokom različitih perioda proizvodno-reproduktivnog ciklusa, a njihove vrijednosti i trend kretanja tokom peripartalnog perioda mogu sa visokim stepenom pouzdanosti da ukažu na sposobnost adaptacije organizma krava na

pojačano metaboličko opterećenje koje postoji u tom periodu. Od parametara koji se najčešće koriste u ovu svrhu izdvajaju se koncentracija glukoze, koncentracija proteina i albumina, ukupnog bilirubina, uree, te aktivnost AST (Radojičić i sar., 2007; Radojičić, 2013). Vrijednosti za glukozu, trigliceride, BHBA, NEFA i AST mogu ukazati na metaboličke poremećaje u ranoj laktaciji simentalske rase povezanih sa ketozom (Đoković, 2013).

Ispitivanje određenih parametara ima za cilj da omogući uvid u zdravstveno stanje plotkinja, pri čemu se naročita pažnja obraća na period zasušenja kod krava koje su se više puta telile. Ovakvi nalazi mogu biti osnova i za terapijske mjere koje treba preduzimati (ketoza, hepatopatije, osteopatije). Ipak samo saznanje o odstupanju od fizioloških vrijednosti određenih ispitivanih parametara u krvi, ne može da zamijeni određene veterinarske intervencije, već samo njihova kombinacija može dovesti do efikasnih rezultata (Lotthammer, 1991). Kod dijagnostičkih ispitivanja ili pravljenja presjeka metaboličkog profila mogu se sprovesti na manjem broju životinja ali ne manjem od 2-6, ili što je još bolje 10-15 životinja u grupi, što opet zavisi i od veličine zapata. Poželjno bi bilo da se ispitivanjem obuhvate životinje u svim fiziološkim stadijumima (zasušenje, puerperijum, 2-3 nedjelje postpartum i 6 nedjelja poslije partusa, 2 mjeseca i/ili 5 mjeseci laktacije). Međutim, kod životinja koje imaju neke zdravstvene poremećaje a davno su se otelile, nalazi u krvi imaju profilaktički značaj iako su uzroci koji su doveli do ispoljavanja znakova bolesti trajali suviše dugo (Lotthammer, 1991).

Ove analize se mogu izvesti upotrebom različitih komercijalnih test paketa na različitim biohemijskim analizatorima, ali su im preporučene vrijednosti za interpretaciju nešto drugačije od onih u humanoj medicini, pa je na aparatima-spektrofotometrima potrebno vršiti baždarenje vrijednosti relevantnih za pojedine vrste životinja (Radojičić i sar. 2007).

Kod krava hranjenih neizbalansiranim obrocima ustanovljavaju se u peripartalnom periodu hipoglikemija, hipokarotinemija, hipovitaminoza A, hiperbilirubinemija, povećana aktivnost AST i koncentracije uree u krvi, kao i hipofosfatemija poslije partusa (Jovanović i sar., 1997).

2.4.1. Koncentracija glukoze u krvi visokomliječnih krava

Glukoza se u krvotoku nalazi u slobodnoj formi, u uskim fiziološkim granicama, a organizam pokušava strogim regulatornim mehanizmima homeostaze, da uvijek održi njen konstantan nivo. Vrijednosti preko fizioloških se skladište u jetri, u vidu glikogena, a po potrebi se ponovo oslobađaju određene količine obrnutim procesom glukogenolize i stavljaju organizmu na raspolaganje. Za određivanje nivoa glikemije koriste se i brze metode sa dekstrostiks trakama tzv. Gluco test (firme Precision) sa kojima je moguće za nekoliko sekundi odrediti koncentraciju glukoze, ali svakako da je validno i određivanje koncentracije glukoze u serumu, koje zbog nekih biohemijskih razloga prikazuju nešto nižu vrijednost, naročito kod hemoliziranih seruma što umanjuje relevantnu interpretaciju.

Jovanović i saradnici (1987) navode da je nivo glikemije prosječno 2,71 mmol/l na 10 dana prije teljenja ; odnosno 2,40 mmol/l do 10 dana poslije teljenja, u drugom mjesecu laktacije 2,60 mmol/l, dok u petom mjesecu laktacije iznosi 2,70 mmol/l.

Prema Stamatoviću i saradnicima (1983) postoje značajne razlike u koncentraciji glukoze u krvi u visokom graviditetu kada je na gornjoj fiziološkoj granici, na dan teljenja kada se povećava prosječna vrijednost na 4,81 mmol/l, a u ranom puerperijumu opada do donje fiziološke vrijednosti. Kod nekih životinja se javlja i hipoglikemično stanje bez ispoljavanja ketoze.

Hipoglikemija ukazuje i na negativan bilans energije i vrlo često uvodi životinju u ketozno stanje. Često se javlja i usljed oštećenja ćelija jetre. Nivo glikemije kod junica npr. prije partusa je 2,5-4,0 mmol/l, dok je kod starijih krava 2,2-3,4 mmol/l (Blood, 1994).

2.4.2. Koncentracija ukupnih proteina i albumina u krvom serumu

Koncentracija ukupnih proteina i albumina ima značaja za tzv. balans unosa proteina. Poznato je da je fiziološka granica za proteine 60-80 g/l; za albumine 28-43 g/l, kao frakcije proteina, koja se isključivo sintetise u jetri i zbog toga se koristi kao

dobar pokazatelj stanja hepatocita. Fiziološke varijacije ukupnih proteina u krvi goveda u visokom graviditetu su 71-92 g/l, a u puerperijumu 69,7-77,39 g/l (Jovanović i sar., 1997).

Koncentracija proteina u krvnoj plazmi iznosi 60-80 g/l i oni su kvantitativno i kvalitativno najvažniji organski sastojak ne samo plazme nego i ostalih tjelesnih tečnosti (Stojić, 2004).

Ukupna proteinemija tek oteljenih krava iznosi 38,0-76,0 g/l (Krnčić i sar., 2003). Prema Forenbacheru (1993) koncentracija ukupnih bjelančevina u serumu krava iznosi 67,2 g/l (60-80), u plazmi 83,2 g/l, a albumina u serumu krava 31,6 g/l (27-38).

U ispitivanjima Kovačevića (2004) najniže vrijednosti koncentracije ukupnih proteina su bile u visokom graviditetu i u drugom mjesecu laktacije, a značajno najviša koncentracija ukupnih proteina u krvnom serumu ($p < 0,001$) krava obe grupe je bila u periodu ranog puerperijuma ($\bar{X} = 74,38 \pm 5,86$ i $\bar{X} = 73,52 \pm 5,78$), dok su koncentracije albumina u krvnom serumu krava u ispitivanim periodima bile skoro nepromjenjene kod obe ispitivane grupe krava.

Koncentracija albumina u krvnom serumu krava nije u korelaciji sa količinom proizvedenog mlijeka i približno je ista kod visoko mliječnih krava i krava sa niskom proizvodnjom mlijeka (Blum i sar., 1983).

2.4.3. Koncentracija uree u krvnom serumu

Urea nastaje pri razgradnji proteina u buragu kao amonijak, koji se djelimično koristi kao neproteinski izvor azota za izgradnju bakterijskih proteina, dok se ostatak resorbuje preko zida buraga i dopijeva do jetre, gdje se u ornitinskom ciklusu razgrađuje i preko bubrega mokraćom izlučuje van organizma. Za adekvatno iskorištavanje proteina iz obroka i zadovoljavajući stepen vezivanja stvorenog amonijaka u buragu, neophodno je da obrok sadrži dovoljnu količinu energije za mikrofloru predželudaca. U suprotnom dolazi do smanjenog vezivanja amonijaka i njegovog ugrađivanja u mikrobne proteine, što ima za posljedicu pojačanu resorpciju

amonijaka kroz zid buraga i povećanje koncentracije uree u krvi i drugim tjelesnim tečnostima. Poseban problem u pojačanom stvaranju i resorpciji amonijaka postoji kod krava tokom rane laktacije, jer je njihova jetra redovno zahvaćena većim ili manjim stepenom zamašćenja, zbog čega je njen funkcionalni kapacitet za detoksikaciju pristiglog amonijaka smanjen i postoji opasnost od trovanja amonijakom, odnosno pojave puerperalne jetrene kome.

Podaci za fiziološke vrijednosti koncentracije uree iznose 2,5-6,5 mmol/l. Pri deficitu proteina mikroflora buraga se preko ruminohepatičnog krvotoka i pljuvačke snabdijeva azotom (N). Povećane vrijednosti uree se nalaze u svim tjelesnim tečnostima, jer urea kao mali molekul bez problema prolazi kroz ćelijske membrane.

U slučajevima apsolutnog ili relativnog suficita sirovih proteina u obroku, sve životinje u zapatu reaguju povećanom količinom uree u serumu. Opasnost od suficita proteina postoji pri ishrani sjenažom ili nekontrolisanim dodavanjem krmnih smješa sa visokim sadržajem proteina, u nastojanju da se poveća proizvodnja mlijeka. Posljedice po Lotthammeru (1991) ishrane koja je imala suficit proteina su čak i gnojni endometritisi. Po njemu su fiziološke prosječne vrijednosti za ureu u serumu kod krava 4,16-5,82 mmol/l. Za krave starije od dve godine fiziološke vrijednosti za koncentraciju uree su 2,0-6,0 mmol/l (Blood, 1994; Radojičić i sar., 2014).

Fiziološke vrijednosti koncentracije uree u krvi goveda iznose 1,66-6,66 mmol/l, a navode se i vrijednosti od 7,1-10,7 mmol/l (Krnić i sar., 2003).

Ekstremno povećanje koncentracije uree u krvi može da ukaže i na slabost bubrega (Forenbacher, 1993) što je kod goveda ipak rijetka pojava.

2.4.4. Koncentracija ukupnog bilirubina u krvnom serumu

Koncentracija ukupnog bilirubina je jedan od ključnih pokazatelja (biomarker) funkcionalnog stanja jetre. Bilirubin nastaje preko niza različitih međuproizvoda raspadom eritrocita, odnosno katabolizmom hemoglobina, a u krvnoj plazmi je vezan za serumске albumine (nekonjugovani bilirubin). U jetri se bilirubin vezuje za glukuronsku

kiselinu i u tako konjugovanom obliku se izlučuje preko jetre. Dakle, ukupan bilirubin se sastoji iz dva oblika i uglavnom se komercijalnim metodama određuje upravo ukupan bilirubin u serumu.

Kod oboljenja parenhima jetre raste ukupan bilirubin u serumu. Najčešće je tada i niska koncentracija glukoze u krvi. Stanja akutnih opterećenja jetre prati i deficit energije. Kod preživara, fiziološke vrijednosti za ukupan bilirubin su dosta široke 0,1-9,0 $\mu\text{mol/l}$, po različitim autorima. Razlikuju se preporučene vrijednosti čak i za pojedine faze proizvodnje, pa tako Jovanović i saradnici (1995) navode da su prosječne vrijednosti za ukupni bilirubin u krvi 10-15 dana prije teljenja oko 4,7 $\mu\text{mol/l}$; 10 dana po teljenju 5,4 $\mu\text{mol/l}$; u drugom mjesecu laktacije 4,0 $\mu\text{mol/l}$, dok su u petom mjesecu laktacije oko 3,9 $\mu\text{mol/l}$. Međutim, drugi autori navode nešto više vrijednosti kao fiziološke, tako za rani puerperijum kod krava je oko 9,0 $\mu\text{mol/l}$, a kod junica oko 7,0 $\mu\text{mol/l}$ (Blood, 1994; Kaneko, 1989; Lotthammer, 1991; Radojičić, 2013; Radojičić i sar., 2014). Na bilirubinemiju veliki uticaj ima gladovanje ali i graviditet i porođaj (Jovanović i sar., 1997; Forenbacher, 1993).

2.4.5. Aktivnost aspartat-amino-transferaze (AST) u krvnom serumu

Aktivnost enzima aspartat-amino-transferaze (AST) je vrlo značajna za procjenu stanja ćelija jetre. Enzim AST nalazi se u citoplazmi i mitohondrijama ćelija. Ovaj enzim katalizuje reverzibilnu metaboličku reakciju prenosa amino-grupe između aminokiselina uz prisustvo alfa-ketokiselina (Karlson, 1984). U reakciji učestvuje kao koenzim i vitamin B₆. U fiziološkim uskovima "isticanjem" iz ćelija AST prelazi u krvotok, pa je prema tome određena aktivnost ovog enzima u krvi dostupna za mjerenja. Pri oštećenju jetre dolazi do povećane aktivnosti serumske AST kao rezultat isticanja enzima iz ćelija jetre. U dijagnostici poremećaja zdravlja krava, aktivnost AST se koristi za procjenu funkcionalnog stanja jetre. Na aktivnost AST utiče ishrana, naročito suficit proteina i energije, i deficit sirovih vlakana (Lotthammer, 1974, Brydl i sar., 2012; Radojičić i sar., 2014).

Tabela 1. Fiziološke vrijednosti za ispitivane biohemijske parametre kod krava (Radojičić i sar., 2014)

Ukupni proteini (g/l)	Albumini (g/l)	Glukoza (mmol/l)	Urea (mmol/l)	Ukupni bilirubin (μmol/l)	AST (U/I)	NEFA mmol/l	BHBA mmol/l	Ca mmol/l	P mmol/l	Mg mmol/l
60-80	28-43	2,2-3,2	2,0-6,0	0,1-9,0	10-90	0,1-0,9	0,4-1,0	2,0-3,0	1,6-2,3	0,7-1,2

2.5. Koncentracija i značaj makrominerala u krvnom serumu

2.5.1. Koncentracija kalcijuma (Ca)

Kalcijum je makroelemenat koji se unosi hranom u organizam životinja. Uloga mu je u razvoju kostnog sistema, proizvodnji mlijeka, aktivator je enzima, učestvuje u prenosu nadražaja aktivnosti mišića i održavanju acido-bazne ravnoteže.

Pravilan odnos kalcijuma i fosfora je veoma važan faktor za resorpciju i koncentraciju u krvi. Taj odnos je specifičan za pojedine vrste sisara i ptica. Vitamin D stimuliše aktivnu resorpciju kalcijuma u crijevima, a uz nju i pasivnu resorpciju fosfora. Žučne kiseline doprinose stvaranju rastvorljivih soli kalcija, dok fitinske kiseline, sa kalcijumom daje nerastvorljive soli. Kalcijum se u krvnoj plazmi nalazi kao slobodni-jonizovani i vezani, koji su u međusobnoj ravnoteži. Na jonizovani kalcijum, kao biološki aktivan, otpada 50 do 65 %. Samo je ovaj oblik metabolički i fiziološki aktivan.

Koncentracija kalcijuma je uslovljena djelovanjem različitih faktora, kao što su ishrana, dob životinje, fiziološko stanje (graviditet, laktacija) i stanje hormonskog balansa. Važni fiziološki regulatori metabolizma kalcijuma su parathormon i kalcitonin. Poslije resorpcije kalcijum se nalazi u krvnoj plazmi u koncentraciji 2,24 do 2,94 mmol/L (Lotthammer 1991; Blood 1994; Kaneko 1989; Radojičić i sar., 2014). Koncentracija kalcijuma je pod kontrolom različitih faktora, kao što su ishrana, dob životinje, fiziološko stanje (graviditet, laktacija) i stanje hormonskog balansa, a po nekim autorima (Kaneko i sar., 2008; Jazbec, 1990) fiziološke granice mogu biti i šire od 2,0 do 3,1 mmol/l. Najveća variranja u koncentraciji kalcijuma u krvi krava se događaju tokom dva mjeseca prije partusa (Ivanov, 1988). Jovanović i saradnici (1987) u svojim ispitivanjima navode da nema promjene kalcemije kod krava u graviditetu odnosno u

periodu 10 do 15 dana pred teljenje (2,5 mmol/l), i u toku rane laktacije odnosno 10. dana poslije teljenja (2,6 mmol/l). Ovi autori su slične vrijednosti koncentracije kalcijuma ustanovili i kod krava u 2. i 5. mjesecu laktacije. U ispitivanjima Ivanova (1988) utvrđeno je da postoje visoko značajne razlike u kalcemiji kod visokomliječnih krava u različitim godišnjim dobima. Isti autor smatra da je hipokalcemija najizraženija kod svježe oteljenih krava što može dovesti do puerperalne pareze. Vujović i saradnici (1968) ukazuju da je kod krava u puerperijumu u januaru kalcemija bila 2,22 mmol/l a u aprilu 2,62-2,87 mmol/l, što je približno kao u junu mjesecu. Poslije porođaja koncentracija kalcijuma se smanjuje u krvi kod krava zbog pojačane aktivnosti mliječne žlijezde, ali i zbog nivoa hormona paratireoidne žlijezde i posljedično nedovoljne mobilizacije kalcijuma iz kostnih struktura (Matarugić i sar., 2007). Koncentracija i međusobni odnos kalcijuma i fosfora u krvi smatraju se osnovnim indikatorima uravnoteženog mineralnog statusa krava (Ivanov i sar., 2005). Tokom završne faze graviditeta i peripartalnog perioda dolazi do značajnih promjena koncentracije kalcijuma i fosfora, kao posljedica mineralizacije tkiva fetusa, preuzimanje značajnih količina ovih minerala u mliječnoj žlijezdi i njihove sekrecije putem mlijeka (Ivanov, 1988). Opadanje njihove koncentracije je posebno izraženo u periodu od nekoliko dana prije do nekoliko dana poslije teljenja, da bi se potom stabilizovalo kao rezultat jake homeostatske kontrole održavanja njihovih fizioloških koncentracija u krvi (Radojičić Sonja, 1995).

2.5.2. Koncentracija fosfora (P)

Fosfor u svom neorganskom obliku je veoma važan makroelement, koji učestvuje u izgradnji kostnog sistema, proizvodnji mlijeka, reprodukciji, metabolizmu ugljenih hidrata, procesima fosforilacije neophodne u procesima prometa energije i očuvanju acido-bazne ravnoteže. Fosfor se u hrani nalazi u obliku neorganskih fosfata ili kao sastojak organskih jedinjenja fosfolipida, fosfoproteida i nukleusnih kiselina. Resorbuje se u proksimalnom dijelu tankog crijeva i u buragu, putem aktivnog transporta, pri čemu resorpcija fosfora zavisi od resorpcije kalcijuma, ali na resorpciju utiče i vitamin D.

U krvi se fosfor nalazi u više oblika, a glavni depoi fosfora su u kostima gdje se nalazi 75 -80% deponovanih fosfata organizma. Fosfor u obliku fosfata ima više uloga u organizmu. Neorganski primarni i sekundarni fosfati su neorganski pufferi organizma. Zajedno sa kalcijumom u kostima imaju mehaničko-potpornu ulogu. Od posebnog su značaja fosfati bogati energijom ATP, GTP i kreatin-fosfata.

Fosfati se izlučuju preko digestivnog sistema, odnosno preko mokraćne u o obliku primarnih i sekundarnih fosfata. U održavanju njegove homeostaze učestvuju veliki broj mehanizama. Vrijednosti fosfata prema različitim autorima kreću se od 1,6 do 2,3 mmol/l (Lotthammer 1991; Kaneko i sar., 2008; Jovanović i sar., 1987). Na ovo utiče ishrana, fiziološko stanje (graviditet, laktacija), godišnje doba. Prema Jovanoviću i saradnicima (1987) fosfatemija ne varira značajnije u toku graviditeta i laktacije. Radojičić Sonja (1995) je u svojim istraživanjima utvrdila niži nivo fosfatemije od 1,6 mmol/l kod krava prvog dana poslije teljenja kao redovan nalaz, a 2-5. dana po teljenju nivo fosfatemije je bio u fiziološkim granicama 1,78 mmol/l. Najniže koncentracije neorganskog fosfora u krvnom serumu visokomlječnih krava u ranom proljeću iznose 1,62 mmol/l, a u zimskom periodu značajno više i rijetko ispod fizioloških vrijednosti (Ivanov, 1988). Gregorović i sar. (1986) smatraju da je hipofosfatemija najvažniji zdravstveni problem u govedarskoj proizvodnji i da se kod 41% krava koncentracija fosfora nalazi na donjoj fiziološkoj vrijednosti odnosno na 1,69 mmol/l, i to kod onih sa najboljom proizvodnjom mlijeka. Fosfor ima značajnu ulogu u regulisanju brojnih metaboličkih reakcija ugljenih hidrata (Goff, 2006). Homeostatska kontrola održavanja fosfatemije je nešto slabija u odnosu na održavanje kalcemije, kao posljedica učešća fosfora u procesima energetskog metabolizma, zbog čega je hipofosfatemija čest nalaz tokom peripartalnog perioda, ali i kasnije tokom laktacije.

2.5.3. Koncentracija magnezijuma (Mg)

Nivo magnezijuma je u hrani manji od kalcijuma. Resorbuje se u tankom crijevu aktivnim transportom. Aktivator je više enzima, smanjuje nerno-mišićnu razdražljivost, utiče na acido-baznu ravnotežu i na produkciju mlijeka. U krvnoj plazmi krava trebao bi se nalaziti u koncentraciji od 0,8 do 1,4 mmol/l. Magnezijum se nalazi u plazmi u dva

oblika, kao jonski koji je difuzibilan i kao proteinski-vezani koji je nedifuzibilan. Fiziološki je aktivan samo jonski magnezijum.

Nedostatak magnezijuma u preživara dovodi do hipomagnezijemije i magnezijumske tetanije. Ovo se dešava pri paši na pašnjacima đubrenim amonijum i kalijum sulfatom, ili kod krava na početku laktacije usljed gubitka magnezijuma mlijekom. Magnezijumska tetanija može se javiti i u teladi hranjene mlijekom siromašnim magnezijumom. Magnezijum se izlučuje preko fecesa, urina, a u vrijeme laktacije i mlijekom. Magnezijum je usko povezan sa nivoom kalcijuma i fosfora. Oko 70 % od ukupne količine magnezijuma u tijelu nalazi se u skeletu, dok preostali dio koji je distribuiran u mekim tkivima i tjelesnim tečnostima je od kritičnog značaja za opšte stanje životinje. Magnezijum je važan za efikasan metabolizam ugljenih hidrata i masti. Pored toga, uključen je u disanje i mnoge druge reakcije na nivou ćelija. Pri konzumiranju nedovoljnih količina magnezijuma kod mladih životinja može doći do mobilizacije 60% magnezijuma iz kostiju. Nasuprot ovim, u odraslih životinja koje pate o nedostatku magnezijuma, ne dolazi do njegove mobilizacije iz kostiju. Velike količine magnezijuma prisutne su u pljuvački i sokovima za varenje, a resorpcija endogenog magnezijuma u velikoj mjeri utiče na homeostazu magnezijuma. Homeostaza magnezijuma je regulisana homeostazom kalcijuma (Goff, 2006).

2.6. Organski sastojci mlijeka kao pokazatelji energetskog statusa krava

Mlijeko je proizvod mliječne žlijezde, a na sastav mlijeka može uticati niz faktora genetske i paragenetske prirode od kojih se najvažnijim smatra ishrana kroz stepen zadovoljenja nutritivnih potreba, rasa krava, perioda laktacije, godišnjeg doba. Odnosi između nekih sastojaka mlijeka su vrlo stabilni i služe kao pokazatelj uspješnosti proizvodnje i zdravlja životinje. Imajući u vidu da se praktično svi prekursori za sintezu sastojaka mlijeka do mliječne žlijezde donose putem krvi, za očekivati je da sastav mlijeka u potpunosti odražava sastav krvi, odnosno sve promjene njenog sastava do kojih dolazi kao posljedica metaboličkog prilagođavanja na procese laktacije. Sinteza i sekrecija sastojaka mlijeka, odnosno sam proces laktacije je metabolički prioritetan proces regulisan homeoretskim mehanizmima, zbog čega se posebno tokom početne faze laktacije sinteza i sekrecija mlijeka odvijaju prioritarno u odnosu na druge procese

u organizmu i imaju tendenciju stalnog porasta, iako je unos hrane smanjen i organizam se nalazi u stanju negativnog bilansa energije. Literaturni podaci ukazuju da se praktično sve krave tokom prva dva mjeseca laktacije nalaze u stanju negativnog bilansa energije, jer porast dnevnog unosa hrane u tom periodu ne može da prati porast dnevne proizvodnje mlijeka, što se odražava i na sastav mlijeka.

S obzirom da se najveći dio proizvodnje mlijeka na farmama u okruženju bazira na grlima holštajn rase, to ograničava primjenu podataka do kojih su došli na grlima drugih rasa, kao i druge sisteme gajenja. Proizvodnja mlijeka na manjim farmama u Republici Srpskoj, zasnovana je uglavnom na stadima mješovitog sastava, u kojima dominira simentalska rasa kod kojih je dnevna proizvodnja mlijeka nešto manja u odnosu na grla izrazito mliječnih rasa, kao što je holštajn, te je samim time i metaboličko opterećenje koje krave trpe na početku laktacije nešto manje. U ispitivanjima Perišića i saradnika (2009, 2011) analizirano je stanje u populaciji simentalskih goveda koja se gaje u Evropi, sa posebnim osvrtom na stanje simentalske rase kod nas, koja u posljednje dve decenije čini između 80 i 85 % ukupnog fonda goveda Srbije, a koju prati negativni trend brojnosti (veličini populacije), kao i niska prosečna proizvodnja mleka po kravi. Proizvodnja mlijeka umatičenih krava simentalske rase u Srbiji prikazana je u tabeli 2. (Skalicki i sar., 2007).

Tabela 2. Proizvodnja mlijeka umatičenih krava simentalske rase u Srbiji

Godina	Zaključenih laktacija	Trajanje laktacije	Mlijeka, kg	Mliječna mast, kg	Mliječna mast %
2004. Prvotelke	5305	305	3811	148	3,89
Krave prosječno	18463	311	4064	158	3,89
Bikovske majke	-	-	5196	202	3,89
2005. Krave-prosječno	15923	314,73	4267,38	166,72	3,91

Isti autori navode da je u procesu stvaranja populacije simentalske rase visoke mliječnosti, pored intezivne selekcije u čistoj rasi, vršeno je i meliorativno ukrštanje simentalca sa mliječnim rasama, prije svega crvenim holštajnom. To je najviše bilo

izraženo u Švajcarskoj gdje je za 298 dana laktacije simentalac imao proizvodnju od 5651 kg mlijeka, a slično je bilo i u Mađarskoj, Češkoj i Slovačkoj.

Tokom poslednjih nekoliko decenija, proizvodnja mlijeka po kravi u Srbiji je značajno povećana. Prema podacima dobijenim sa tri farme visoko mliječnih krava holštajn rase na teritoriji Vojvodine, prosječna proizvodnja mlijeka po kravi po laktaciji obračunatoj na 305 dana je tokom desetogodišnjeg perioda (od 1996. godine do 2006. godine) porasla sa 5600 na 7800 litara (Kirovski i sar., 2008). Ovakav napredak postignut je zahvaljujući korištenju savremenih saznanja iz oblasti genetike i selekcije domaćih životinja, kao i oblasti nauke o ishrani. Međutim, istovremeno sa povećanjem proizvodnje mlijeka kod krava na tim farmama, došlo je i do povećanja učestalosti pojave metaboličkih oboljenja.

Metoda procjene energetskeg i nutritivnog statusa krava na osnovu vrijednosti koncentracija organskih sastojaka mlijeka i njihovog međusobnog odnosa je jednostavna i pouzdana metoda, koja se na prostorima Republike Srpske praktično i ne koristi, iako je njena primjena u zemljama okruženja već dosta raširena. Način njenog funkcionisanja, kao i procjene energetskeg i nutritivnog statusa krava na osnovu ove metode, detaljno su opisali Šamanc i saradnici (2006), Savić i saradnici (2010, 2011, 2012, 2013), te Kirovski i saradnici (2012). Za procjenu energetskeg statusa krava u laktaciji, koriste se rezultati dobijeni određivanjem koncentracije organskih sastojaka mlijeka, prvenstveno koncentracija mliječne masti, proteina i uree, kao i njihov međusobni odnos. Uzimanje uzorka mlijeka ne predstavlja stres za životinju, i mogu se koristiti rezultati ispitivanja mlijeka dobijeni redovnom kontrolom koje vrše farmeri, stručne službe ili mljekare. Za ova ispitivanja se može koristiti zbirni uzorak mlijeka od svih ili pojedinih krava ili pojedinačni uzorak mlijeka. Ovo nam ukazuje na jednostavnost i praktičnost same metode, a to znači i niže troškove dijagnostike, što se ne može zanemariti. U Republici Srpskoj ova ispitivanja su sproveli Savić i sar. (2010, 2011, 2012, 2013). U Republici Srpskoj u okviru Ministarstva poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede, resora za pružanje stručnih usluga, posluje selekcijska služba koja ima laboratoriju i drugu opremu za kontrolu proizvodnosti u govedarstvu, ali unapređenje proizvodnje na osnovu dobijenih rezultata još uvijek nije široko rasprostranjeno.

Na bazi istraživanja o koncentraciji uree u mlijeku i faktorima koji utiču na nju, Marenjak i sar. (2004) zaključuju da neuravnotežen obrok krava, naročito ako proteina ima u višku, predstavlja čisti gubitak u proizvodnji. Jonker i sar. (2002) i Unuk (2003) iznose da se urea u mlijeku može koristiti kao "alat" za poboljšanje ishrane muznih krava i za praćenje nutritivnog statusa muznih krava u laktaciji.

Kirovski i sar. (2012) navode da se fiziološka koncentracija uree u mlijeku kreće u rasponu od 2 do 6 mmol/l. Preporučene vrijednosti koncentracije uree u mlijeku, razlikuju prema navodima različitih autora, pa tako Jonker i sar. (1999) navode vrijednosti od 10 do 16 mg/dl, Kohn i sar. (2004) 7 do 19 mg/dl, a Babnik i sar. (2004) 15 do 30 mg/dl. Smatra se da je snabdjevanje krava sirovim proteinima i energijom optimalno ako se sadržaj proteina u mlijeku kreće u granicama (3,2% do 3,8%) i sadržaj uree između 15 mg/dl i 30 mg/dl. Najveći dio uree u mlijeku, kao što je ranije navedeno, potiče iz krvi, dok se manji dio sintetise u tkivu mliječne žlijezde, zbog čega je njena koncentracija u mlijeku nešto viša u odnosu na krv. Na koncentraciju uree u mlijeku najveći uticaj ima sastav obroka, kao i odnos energije i proteina (Westwood i sar., 1998). Koncentracija uree u mlijeku povećava se sa sadržajem proteina u obroku, posebno ukoliko je obrok istovremeno deficitaran u energiji, odnosno ukoliko postoji apsolutni ili relativni suficit proteina, što je čest slučaj pri ljetnoj ishrani krava velikim količinama zelene kabaste hrane (Savić i sar., 2010). S druge strane, snižavanje koncentracije uree u mlijeku ispod donje fiziološke granice ukazuje na apsolutni ili relativni deficit proteina u obroku. Prilikom tumačenja nalaza koncentracije uree u mlijeku treba uzeti u obzir i vrijeme uzimanja uzoraka, imajući u vidu varijacije vezane za unos obroka. Naime, koncentracija uree u mlijeku nakon unosa hrane je najviša, a potom opada, da bi najniže vrijednosti dostigla neposredno pred sljedeći obrok. Zbog toga je neophodno uzorke mlijeka za određivanje koncentracije uree uzimati uvijek u isto doba dana, a po potrebi uzorkovanje vršiti i tokom jutarnje i tokom večernje muže (Šamanc i sar., 2006). Koncentracija uree je najniža na početku laktacije, zbog smanjenog unosa hrane, a sa rastom laktacije raste i koncentracija uree, da bi pred kraj laktacije ponovo došlo do smanjenja (Savić i sar. 2013). Ukoliko se krave u završnoj fazi laktacije i dalje hrane obrokom baziranim na kabastim hranivima, koji sadrži veliku količinu proteina nerazgradivih u buragu, koncentracija uree u mlijeku se održava na visokom nivou, a prati je i povišena koncentracija mliječne masti (Kirovski i sar., 2012).

Povišena koncentracija uree je indikator deficita energije u organizmu, jer ukazuje na pojačan intenzitet ureageneze u jetri, kao procesa koji zahtijeva potrošnju velike količine energije i može da produbli već postojeći negativan bilans energije. U periodu rane laktacije često dolazi do zamašćenja jetre, zbog čega je sintetska i detoksikaciona funkcija jetre ograničena, te dotok velike količine amonijaka često prevazilazi funkcionalni kapacitet jetre i dovodi do trovanja, a nekada i do uginuća životinja sa simptomima hepatične kome (Šamanc, 2009). Prisustvo povišene koncentracije amonijaka i uree u krvi i mlijeku dovodi do poremećaja elektrohemijske reakcije krvi i drugih tjelesnih tečnosti, te je kod takvih krava česta i pojava reproduktivnih poremećaja (Tamminga, 2006).

Koncentracija proteina u mlijeku krava zavisi od rase, ishrane, faze laktacije, kao i starosti životinja. Proteini mlijeka se većim dijelom sintetišu u tkivu mliječne žlijezde iz aminokiselina dospjelih putem krvi, dok manjim dijelom potiču iz krvi. Osnovni izvor aminokiselina za sintezu proteina u tkivu mliječne žlijezde su aminokiseline porijeklom iz digestivnog sistema, nastale razlaganjem mikrobnih proteina, dok ostatak čine aminokiseline iz proteina nerazgradivih u buragu, proteina porijeklom iz raspadnutih ćelija crijevnog epitela, te aminokiseline stvorene u jetri. Sadržaj proteina u kolostrumu značajno je viši u odnosu na mlijeko, što je posljedica visokog sadržaja imunoglobulina, dok u kasnijim fazama laktacije ne dolazi do značajnijih varijacija koncentracije proteina, iako postoji trend postepenog porasta prema kraju laktacije (Savić i sar., 2013). Krave holštajn rase imaju prosječnu koncentraciju proteina u mlijeku 3,06%, a krave simentalke rase 3,4% (Kirovski i sar., 2012). Orešnik (2009) navodi da je ciljna vrijednost sadržaja proteina u mlijeku savremenih rasa goveda 3,4%, što je u skladu sa tendencijom da se otkupna cijena mlijeka formira na osnovu sadržaja proteina, a ne na osnovu sadržaja mliječne masti. Savić i sar. (2010) su u svojim istraživanjima sprovedenim na kravama holštajn rase ustanovili prosječne koncentracije proteina u mlijeku u drugoj laktaciji 30,17 a u prvoj laktaciji 30,33 g/l, uz značajan udio krava sa vrijednostima ispod 30 g/l. Mikroorganizmi predželudaca proteine unijete putem obroka razlažu prvo do aminokiselina, zatim do ketokiselina i amonijaka, koji koristi za sintezu sopstvenih proteina koji se kasnije razlažu u crijevima i predstavljaju izvor aminokiselina za organizam preživara (Šamanc i sar., 2006; Savić i sar., 2010). Da bi se stvoreni amonijak iskoristio, neophodno je da mikroorganizmi predželudaca budu

adekvatno snabdjeveni energijom, odnosno da obrok sadrži dovoljnu količinu lako svarljivih ugljenih hidrata. Ukoliko obrok sadrži neadekvatan odnos energije i proteina, sinteza mikrobnih proteina je smanjena, a time i količina aminokiselina dostupnih za sintezu proteina mlijeka iz ovog izvora, što dovodi do sniženja koncentracije proteina u mlijeku (Jenkins i McGuire, 2006; Šamanc i sar. 2006; Horvat i sar. 2009). Prema Marenjaku i sar. (2004) koncentracija uree u mlijeku, u odnosu na koncentraciju uree u krvi, manje je podložna dnevnim varijacijama uzrokovanim ishranom.

Mliječna mast se sintetizira u tkivu mliječne žlijezde i potiče od nižih masnih kiselina resorbovanih u rumenu i dijelom masnih kiselina iz krvotoka. Pojačana lipomobilizacija usljed porasta negativnog energetskeg bilansa, dovodi do povišenja koncentracije slobodnih masnih kiselina u krvi, koji služe kao prekursori u sintezi mliječne masti i dovode do povišene koncentracije mliječne masti (Van Kneusel i sar., 2007). Smatra se da je optimalno snabdjevanje energijom ako je koncentracija mliječne masti ispod 45 g/l, a bjelačevina iznad 32,0g/l (Kampl 2005; Šamanc i sar. 2006; Jenkins i McGuire, 2006; Horvat i sar., 2009). Kirovski i saradnici (2012) ističu faktore koji utiču na sadržaj mliječne masti, kao što su rasa goveda, ishrana, faza laktacije, starost krava i godišnje doba, i navode da se prosječna koncentracija mliječne masti kod krava holštajn rase kreće između 3,2% i 3,6%, dok je kod krava simentalke rase nešto viša i kreće se između 3,6% i 40%. Međutim, Savić i saradnici (2010, 2011) su u svojim istraživanjima sprovedenim na kravama holštajn rase ustanovili prosječne koncentracije mliječne masti u drugoj laktaciji 36,47 a u prvoj laktaciji 38,88 g/l.

Do povećane koncentracije mliječne masti dolazi ako je obrok bogat sirovim vlaknima, snižavanje koncentracije mliječne masti se javlja kao posljedica neadekvatne ishrane u periodu oko teljenja, acidoze buraga, pretjerane upotrebe koncentrovanih hraniva ili dodavanja masti u cilju povećanja energetske vrijednosti obroka (Perfield i sar., 2007; Kirovski i sar., 2012). Povećanje udjela koncentrovanih i usitnjenih kabaštih hraniva u obroku za krave u početnoj fazi laktacije, sprovedeno u cilju bolje iskoristivosti obroka, često ima za posljedicu stanje poznato kao "sindrom snižene mliječne masti", kada koncentracija mliječne masti opada za polovinu u odnosu na optimalne vrijednosti, i održava se u rasponu od 12 do 17 g/l (Bauman i Grinari, 2000). Tako i Kadyere i saradnici (2002) navode da do snižavanja koncentracije mliječne masti

često dolazi u okviru acidoze buraga koja se razvija u toku toplotnog stresa, kao sve češće pojave na našim farmama u ljetnjem periodu. Na početku laktacije koncentracija mliječne masti je najviša, a zatim se smanjuje od 25. do 50. dana laktacije, a nakon toga opet se povećava do 250. dana laktacije (Bauman i Griinari, 2003).

Pored određivanja koncentracije organskih sastojka mlijeka, za procjenu energetskog statusa krava koristi se i procjena njihovih međusobnih odnosa, a najčešće se koristi odnos koncentracije uree i proteina, te odnos koncentracije mliječne masti i proteina (Šamanc i sar., 2006, Savić i sar., 2010, 2011, 2012, Kirovski i sar., 2012).

Odnos koncentracije uree i proteina u mlijeku predstavlja pouzdan pokazatelj snabdjevenosti energijom i proteinima putem obroka. Smatra se da su krave adekvatno snabdjevene energijom i proteinima, u skladu sa njihovim potrebama, kada je njihov međusobni odnos optimalan, odnosno ukoliko je koncentracija uree u mlijeku ispod 4,0 mmol/l, a koncentracija proteina iznad 32,0 g/l. Ako koncentracija proteina ostaje na vrijednostima iznad 32,0 g/l, dok se koncentracija uree povećava iznad 4 mmol/l, to ukazuje da je sadržaj energije u obroku smanjen. Ovo je čest slučaj u ljetnom periodu kod naglog prelaska sa jednog tipa obroka na drugi, posebno kada se radi o obroku baziranom na upotrebi zelene kabaste hrane, koja je bogata proteinima, a siromašna u energiji i sirovim vlaknima. U slučaju da obrok sadrži dovoljno proteina, ali je deficit u energiji jače izražen (relativni suficit proteina), koncentracija proteina opada ispod 30,0 g/l, a koncentracija uree se održava između 5,0 i 10,0 mmol/l. Opadanje koncentracije uree i proteina ispod 4,0 mmol/l, odnosno 32,0 g/l ukazuje na postojanje deficita energije i proteina u obroku, koje za posljedicu ima pojavu metaboličkih poremećaja kod životinja koje se hrane takvim obrokom (Kampl, 2005; Šamanc i sar., 2006; Kirovski i sar., 2012).

Kirovski i sar. (2012) i Šamanc i sar. (2006) navode da se snabdjevenost energijom može smatrati zadovoljavajućom ukoliko je koncentracija proteina u mlijeku viša od 32,0 g/l, a koncentracija mliječne masti između 35,0 i 45,0 g/l. Snižavanje koncentracije proteina uz istovremeno povišenje koncentracije mliječne masti iznad navedenih granica ukazuje na postojanje negativan bilans energije i lipomobilizaciju, a istovremeno snižavanje koncentracija proteina i mliječne masti ispod 32,0 odnosno 35,0 g/l da krave nisu hranjene u skladu sa proizvodnim potrebama.

Istovremeno povišenje koncentracije proteina u mlijeku i mliječne masti se češće javlja kod krava na kraju laktacije i ukazuje na preobilnu ishranu kabastim hranivima, a povišenje koncentracije proteina, uz opadanje koncentracije mliječne masti ukazuje na preobilnu ishranu koncentrovanim hranivima, odnosno debljanje krava (Kirovski i sar., 2012). Odnos koncentracija mliječne masti i proteina daje dobar uvid u stanje snabdjevenosti energijom na nivou farme. Zbog toga se kao indikator energetskeg statusa pojedinačnog grla koristi numerička vrijednost odnosa mliječna mast:proteini (OMP), kao relativni pokazatelj (Mijatović, 2014). U literaturi su dostupni podaci različitih autora koji, u skladu sa rezultatima svojih istraživanja navode različite raspone optimalnih vrijednosti OMP; Kirovski i sar. (2012) za simentalSKU rasu navode 1,059 - 1,176; za rasu holštajn 1,046-1,176; Biderman i sar. (2007) za simentalSKU rasu navode 1,26-1,27. Bez obzira na navedeni raspon vrijednosti, svi autori se slažu da povišene vrijednosti OMP, posebno one preko 1,5 ukazuju na jak energetskeg deficit, a one ispod 1 (inverzija odnosa masti i proteina) na smanjen unos hrane i subakutnu acidozu buraga, što se u oba slučaja negativno odražava na zdravlje i proizvodne sposobnosti, kao i kasnije reproduktivne rezultate. O povezanosti energetskeg statusa krava tokom rane laktacije i njihovih kasnijih reproduktivnih performansi su i rezultati do kojih je došao Mijatović (2014), koji je ustanovio da su krave sa povoljnijim energetskeg statusom, odnosno one sa optimalnim vrijednostima OMP, tokom sukcesivnih perioda ispitivanja generalno su imale povoljnije reproduktivne performanse (kraći period do prvog osjemenjavanja i period od prvog do uspješnog vještačkog osjemenjavanja, kraći servis period, niži indeks osjemenjavanja, te kraći međutelidbeni interval) u odnosu na grla sa vrijednostima OMP izvan granica optimalnih vrijednosti.

Nikitović Jelena (2012) je u svojim istraživanjima ustanovila da se nalazi uree i proteina u mlijeku krava rase simentalac nisu bitno razlikovali u odnosu na to da li su krave poticale sa farme koja je bila u planinskom ili ravničarskom kraja, sa kojih su poticala i osnovna hraniva za iste životinje, ali je u periodu jeseni kod krava iz ravničarskog kraja ustanovljena povećana koncentracije uree u mlijeku što je moglo ukazivati na subliničku acidozu buraga kod izvesnog broja životinja.

3. CILJ I ZADACI ISTRAŽIVANJA

Cilj ovih istraživanja je ispitivanje uticaja tireoidnih hormona na proizvodne sposobnosti i zdravlje visoko mliječnih krava rase simentalac, praćenjem parametara endokrinog i metaboličkog statusa istih jedinki u različitim fiziološkim tj. proizvodnim periodima.

U svrhu postizanja zadatih ciljeva, postavljeni su sljedeći zadaci:

- Kravama u drugoj laktaciji odrediti koncentracije hormona tireoide i bihemijskih sastojaka krvi (glukoza, ukupni proteini, albumini, urea, ukupni bilirubin, aktivnost AST-a, kalcijum, fosfor i magnezijum) nedelju dana pred teljenje, i poslije teljenja 21., 60. i 90. dana, odnosno na kraju tranzicionog perioda ili u ranoj laktaciji, kao i u vrijeme srednje i pune ili kasne laktacije
- Kravama u trećoj laktaciji odrediti koncentracije bihemijskih sastojaka krvi: aktivnost AST-a, koncentraciju ukupnih proteina, albumina, ukupnog bilirubina, uree, NEFA, BHB i glukoze 30., 60. i 90. dana laktacije.
- Kravama u četvrtoj laktaciji odrediti samo količinu mlijeka i organske sastojke mlijeka 30., 60., i 90. dana laktacije.
- Energetski status životinja odrediti i količinom proizvedenog mlijeka i ispitivanjem organskih sastojaka mlijeka:
 - o kod krava u drugoj laktaciji odrediti mliječnost 21., 60. i 90. dana poslije teljenja,

- kod krava u trećoj laktaciji odrediti mliječnost 30., 60. i 90. dana poslije teljenja,
- kod krava u četvrtoj laktaciji odrediti mliječnost 30., 60. i 90. dana poslije teljenja,
- odrediti količinu proizvedenog mlijeka i koncentraciju proteina, uree, bezmasne suve materije i masti u svim laktacijama i danima kontrole.

4. MATERIJAL I METODE RADA

Eksperimentalno istraživanje je sprovedeno na privatnoj farmi goveda u Gradišci, u Republici Srpskoj, Bosna i Hercegovina.

4.1. Ogladne životinje

Odabir životinja (ukupno 30 krava rase simentalac) je izvršen na farmi goveda Gradiška. Sve odabrane krave su bile ujednačene po tjelesnoj kondiciji, bile su klinički zdrave, sa eutokijom, i iz objekata vezanog sistema držanja u kome su se sprovodila ispitivanja. Na farmi se vrši redovno kontrola mliječnosti. Muža krava se sprovodi dva puta dnevno, stacionarnim sistemom za mužu.

Krave su podjeljene u tri grupe. Prva ogledna grupa (n=10) u 2. laktaciji, druga ogledna grupa (n=10) u 3. laktaciji i treća ogledna grupa (n=10) u 4. laktaciji. Očekivani termin teljenja je bio određen na osnovu datuma osjemenjavanja. Tokom cijelog trajanja eksperimenta, životinje su bile pod stalnim nadzorom farmera i veterinarske službe.

Sve tri grupe krava hranjene su uobičajenim obrokom prema njihovim proizvodnim potrebama, a obroci nisu bili podvrgnuti nikakvom dodatnom tretmanu. Obroci su spremeni u TMR prikolici, kao potpuno izmješani obroci.

Tabela 3. Sastav obroka (kg/dan)

Vrsta hraniva	Period u odnosu na dan teljenja		
	Zasušenje -21. dan do 0. dan	Rana laktacija 0. dan do +60. dan	Laktacija +60dan do +90dan
Sijeno	2	2	2
Silaža cijele biljke kukuruz	10	23	25
Sjenaža	5	5	5
Prekrupa zrna kukuruz	2	2	3
Pivski trop		2	2
*Krmna smjesa	3	6	7
*SASTAV KRMNE SMJESE (kg)			
Kukuruz zrno	15	15	15
Soja	25	25	25
Pšenično stočno brašno	25	25	25
Stočna kreda	0,5	0,5	0,5
Premiks Mipro	8	8	8

4.2. Uzimanje uzoraka od životinja za laboratorijska istraživanja

Uzorci krvi za analize su uzimani punkcijom repne vene (*vena coccige*), istih krava u različitim fazama proizvodnog ciklusa. Uzorci su uzimani u sterilne vakutajne bez antikoagulansa. Uzorci krvi krava, nakon spontane koagulacije u trajanju od 30 minuta su centrifugirani na 3000 obrtaja u trajanju 10 minuta, a serum su do ispitivanja čuvani na -20°C . Uzorkovanje je vršeno uvijek u isto vrijeme, 4 do 6 sati nakon jutarnjeg hranjenja.

Prvoj grupi, odnosno kravama u drugoj laktaciji, krv je uzimana nedelju dana pred očekivani partus, i 21., 60. i 90. dana poslije teljenja, odnosno na kraju tranzicionog perioda u ranoj laktaciji, kao i u vrijeme srednje i pune-kasne laktacije.

Kravama druge grupe, odnosno u trećoj laktaciji, krv je uzimana 30., 60. i 90. dana laktacije. Pored određivanja parametara u serumu, u ovoj grupi je za određivanje koncentracija glukoze i BHBA korištena puna krv, na licu mesta.

Kravama treće grupe, odnosno u četvrtoj laktaciji određivani su samo količina i organski sastojci mlijeka u 30., 60. i 90. danu laktacije. Uzimanje uzoraka mlijeka za određivanje organskih sastojaka mlijeka uzimani su tokom jutarnje muže, u sterilne plastične epruvete sa konzervansom. Uzorci su do analiza čuvani na 4°C.

4.3. Određivanje koncentracije hormona tireoidee

U uzorcima krvnog seruma krava prve grupe, određivane su koncentracije hormona trijodtironina (T_3) i tiroksina (T_4) nedelju dana pred partus, i poslije teljenja 21., 60. i 90. dana, odnosno na kraju tranzicionog perioda odnosno u ranoj laktaciji, kao i u vrijeme srednje i pune-kasne laktacije.

U uzorcima krvnog seruma određivana je koncentracija T_3 i T_4 radioimunološkom metodom (RIA) korišćenjem komercijalnih test paketa prilagođenih za detekciju hormona u bovinom krvnom serumu, u endokrinološkoj laboratoriji INEP, Zemun.

4.4. Određivanje odabranih biohemijskih sastojaka krvi

U uzorcima krvnog seruma krava prve grupe u drugoj laktaciji nedelju dana pred partus, zatim poslije teljenja 21., 60. i 90. dana, određivane su koncentracije biohemijskih sastojaka krvi: ukupni proteini, albumini, urea, ukupni bilirubin i aktivnost AST, kao i koncentracije kalcijuma, fosfora i magnezijuma, dok je u punoj krvi određivana koncentracija glukoze.

Kravama druge grupe u trećoj laktaciji, uzorci krvi uzimani su 30., 60. i 90. dana laktacije. U punoj krvi su određivane koncentracija glukoze i BHBA na licu mjesta, a u krvnom serumu aktivnost AST i koncentracije ukupnih proteina, albumina, ukupnog bilirubina, uree i NEFA.

Koncentracija biohemijskih sastojaka u krvnom serumu određivana je na automatskom veterinarskom biohemijskom analizatoru (A15; BioSystems S.A., Barcelona, Spain). Vrijednosti odabranih parametara metaboličkog profila su određene kolorimetrijski i upotrebom enzimskih metoda, korišćenjem komercijalnih test paketa Randox Laboratories Ltd. (Crumlin, UK).

Koncentracija glukoze i BHBA određivala se odmah po uzimanju uzoraka u punoj krvi, na aparatu Precision Xceed (Abott, USA) upotrebom komercijalno dostupnih traka istog proizvođača za jednokratnu upotrebu.

4.5. Određivanje mliječnosti krava

Mliječnost krava je određivana kod prve grupe krava 21., 60. i 90. dana laktacije, a kod druge i treće grupe 30., 60. i 90. dana laktacije. Na farmi se vrši redovna kontrola mliječnosti. Muža krava se sprovodi dva puta dnevno, stacionarnim sistemom za muž. Količina mlijeka određivala se na automatskom mjeraču aparata za muž. Uzorci mlijeka su uzimani po metodi A4 (međunarodni standard za kontrolu proizvodnosti u proizvodnji mlijeka).

4.6. Određivanje organskih sastojaka mlijeka

Određivanje koncentracije organskih sastojaka mlijeka: koncentracija proteina, uree, masti i bezmasne suve materije je vršeno u JU Veterinarski institut Republike Srpske „Dr Vaso Butozan“ Banja Luka, Republika Srpska, na aparatu Bentley 150 infrared milk analyzer i ChemSpec 150 (modifikovana Berthelot reakcija).

4.7. Statistička obrada podataka

U statističkoj analizi dobijenih rezultata izvedenog eksperimenta kao osnovne statističke metode korišćeni su deskriptivni statistički parametri. Ovi parametri su nam omogućili opisivanje dobijenih eksperimentalnih rezultata i njihovo tumačenje. Od deskriptivnih statističkih parametara korišćeni su: aritmetička sredina, standardna devijacija, standardna greška, interval varijacije i koeficijent varijacije. Prilikom testiranja i utvrđivanja statistički signifikantnih razlika između ispitivanih eksperimentalnih tretmana korišćena je višefaktorska analiza varijanse (ANOVA). Za pojedinačna poređenja signifikantnih razlika korišćen je pojedinačni Tukey test, pomoću koga su ustanovljavane statistički signifikantne razlike između faza pojedinačno. Signifikantnost razlika ustanovljavana je na nivoima značajnosti od $p < 0,05$ i $p < 0,01$. Svi dobijeni rezultati prikazani su u tabelama i grafikonima. Statistička analiza dobijenih rezultata urađena je u statističkom paketu PASW Statistics 18 i MS Excel-u.

5. REZULTATI ISPITIVANJA

Rezultati ispitivanja su podjeljeni u sljedeća poglavlja: rezultati ispitivanja krvi krava u drugoj laktaciji, rezultati ispitivanja organskih sastojaka mlijeka krava u drugoj laktaciji, rezultati ispitivanja krvi krava u trećoj laktaciji, rezultati ispitivanja organskih sastojaka mlijeka krava u trećoj laktaciji, rezultati ispitivanja organskih sastojaka mlijeka krava u četvrtoj laktaciji.

5.1. Rezultati ispitivanja krvi krava u drugoj laktaciji

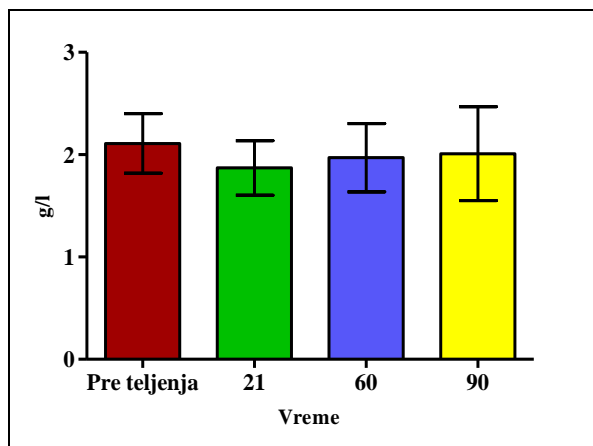
5.1.1. Koncentracija trijodtironina (T_3)

U tabeli 4. su prikazani rezultati koncentracije T_3 u krvi krava u drugoj laktaciji.

Tabela 4. Deskriptivni statistički parametri koncentracije T_3 ($nmol/l$) u krvi krava

Period ispitivanja	n		SD	SE	CV (%)	X max	X min
Ned. prije telj.	10	2,11	0,29	0,0924	13,85	2,50	1,70
21. dan laktacije	10	1,87	0,27	0,0844	14,27	2,30	1,50
60. dan laktacije	10	1,97	0,33	0,1055	16,93	2,40	1,30
90. dan laktacije	10	2,01	0,46	0,1449	22,79	2,70	1,30

Koncentracija T_3 je bila najviša u periodu zasušenja, odnosno nedelju pred teljenje, a najniža u periodu nakon teljenja, tj. 21. dana laktacije. Nakon toga koncentracija T_3 je rasla do 90. dana laktacije. Rezultati su prikazani u grafikonu 1.



Grafikon 1. Koncentracija T_3 u drugoj laktaciji

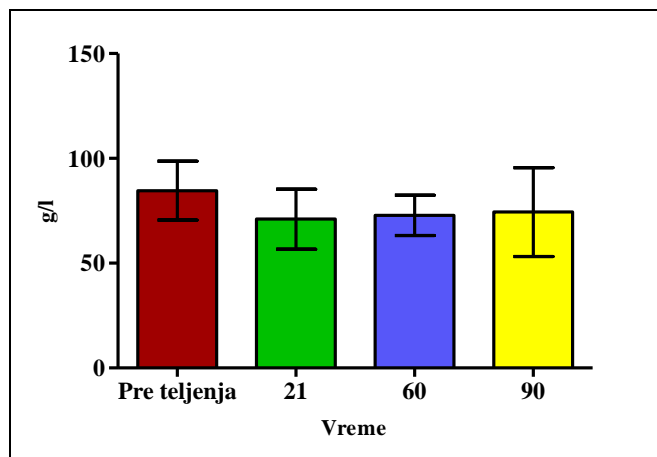
5.1.2. Koncentracija tiroksina (T_4)

U tabeli 5. su prikazani rezultati koncentracije T_4 u krvi krava u drugoj laktaciji.

Tabela 5. Deskriptivni statistički parametri koncentracije T_4 (nmol/l) u krvi krava

Period ispitivanja	n		SD	SE	CV (%)	X max	X min
Ned. prije telj.	10	84,60	14,06	4,4450	16,62	98,00	53,00
21. dan laktacije	10	71,00	14,27	4,5120	20,09	93,00	55,00
60. dan laktacije	10	72,80	9,64	3,0470	13,24	88,00	57,00
90. dan laktacije	10	74,40	21,21	6,7090	28,51	109,00	50,00

Koncentracija T_4 je bila najviša u periodu zasušenja, odnosno nedelju pred teljenje, a najniža u periodu nekon teljenja odnosno 21. dana laktacije. Nakon toga koncentracija T_4 je rasla do 90. dana laktacije. Rezultati su prikazani u grafikonu 2.



Grafikon 2. Koncentracija T_4 u drugoj laktaciji

5.1.3. Koncentracija glukoze

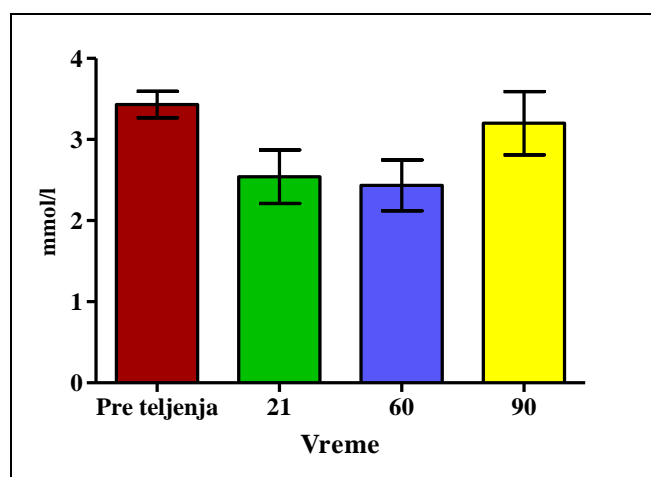
U tabeli 6. su prikazani rezultati koncentracije glukoze u krvi krava u drugoj laktaciji.

Tabela 6. Deskriptivni statistički parametri koncentracije glukoze ($mmol/l$) u krvi krava

Period ispitivanja	n		SD	SE	CV (%)	X max	X min
Ned. prije telj.	10	3,43 ^{ab}	0,16	0,0520	4,79	3,56	2,99
21. dan laktacije	10	2,54 ^{ac}	0,33	0,1043	12,98	3,02	2,22
60. dan laktacije	10	2,43 ^{bd}	0,32	0,0995	12,92	3,02	2,19
90. dan laktacije	10	3,20 ^{cd}	0,39	0,1230	12,16	3,79	2,45

Istim slovima je označena statistički signifikantna razlika. $p < 0,01$ (a, b, c, d)

Statističkom analizom ustanovljeno je da koncentracija glukoze bila najviša nedelju dana prije teljenja ($3,43 \pm 0,16$). Ona je statističko vrlo značajno viša ($p < 0,01$) nego koncentracija glukoze 21. dana ($2,54 \pm 0,33$) i 60. dana. Takođe koncentracije glukoze 21. i 60. dana signifikantno su niže nego ($p < 0,01$) nego koncentracija glukoze 90. dana ($3,20 \pm 0,39$). Nisu ustanovljene signifikantne razlike ($p > 0,05$) između 21. i 60. dana, kao i između 90. dana i nedelju danas pred teljenje. Najveći koeficijent varijacije je zabilježen 21. dana nakon teljenja (12,98%), a najmanji nedelju dana prije teljenja 4,79. Rezultati su prikazani u grafikonu 3.



Grafikon 3. Koncentracija glukoze u drugoj laktaciji

5.1.4. Koncentracija ukupnih proteina

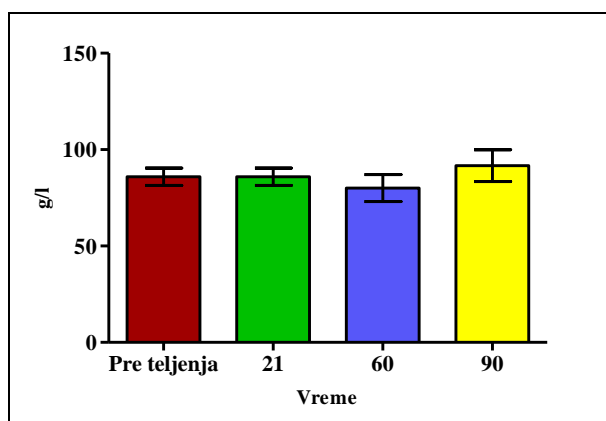
U tabeli 7. su prikazani rezultati koncentracije ukupnih proteina u krvi krava u drugoj laktaciji.

Tabela 7. Deskriptivni statistički parametri koncentracije ukupnih proteina (g/l) u krvi krava

Period ispitivanja	n		SD	SE	CV (%)	X max	X min
Ned. prije telj.	10	85,96	4,49	1,4190	5,22	91,03	78,35
21. dan laktacije	10	85,98	4,48	1,4160	5,21	91,03	78,35
60. dan laktacije	10	80,05 ^a	7,04	2,2250	8,79	91,03	69,56
90. dan laktacije	10	91,71 ^a	8,27	2,6150	9,02	103,00	78,82

Istim slovima je označena statistički signifikantna razlika. $p < 0,01$ (a, b, c); $p < 0,05$ (A, B, C)

Statističkom analizom ukupnih proteina ustanovljeno je signifikantna povećanje ($p < 0,01$) ukupnih proteina 90. dana poslije teljenja ($91,71 \pm 8,27$) u odnosu na ukupne proteine 60. dana poslije teljenja ($80,05 \pm 7,04$). Variranje ukupnih proteina bilo je vrlo nisko i kretalo se od 5,21% 21. dana poslije teljenja do 9,02% 90. dana poslije teljenja. Rezultati su prikazani u grafikonu 4.



Grafikon 4. Koncentracija ukupnih proteina u drugoj laktaciji

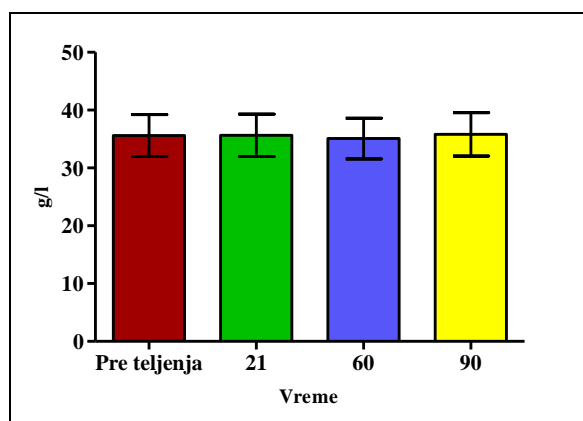
5.1.5. Koncentracija albumina

U tabeli 8. su prikazani rezultati koncentracije albumina u krvi krava u drugoj laktaciji.

Tabela 8. Deskriptivni statistički parametri koncentracije albumina (g/l) u krvi krava

Period ispitivanja	n		SD	SE	CV (%)	X max	X min
Ned. prije telj.	10	35,61	3,62	1,1430	10,15	40,81	31,04
21. dan laktacije	10	35,65	3,66	1,1590	10,28	40,89	31,04
60. dan laktacije	10	35,09	3,52	1,1120	10,02	40,65	30,04
90. dan laktacije	10	35,81	3,73	1,1800	10,42	40,65	30,03

Koncentracije albumina je bila približno ista u svim ispitivanim periodima kod krava u drugoj laktaciji. Nije bilo značajnih razlika između njih i vrijednosti su bile u okviru fizioloških vrijednosti. Rezultati su prikazani u grafikonu 5.



Grafikon 5. Koncentracija albumina u drugoj laktaciji

5.1.6. Koncentracija uree

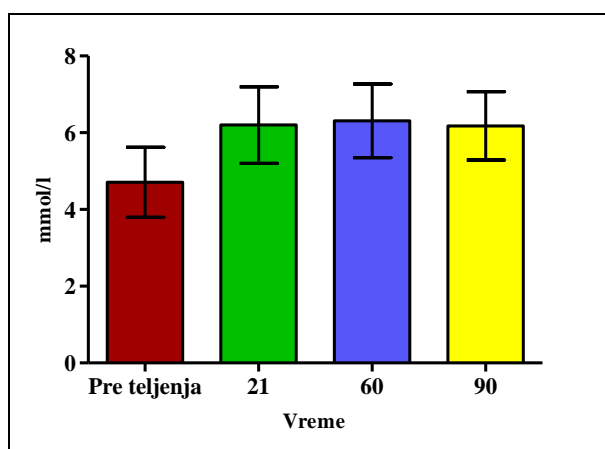
U tabeli 9. su prikazani rezultati koncentracije uree u krvi krava u drugoj laktaciji.

Tabela 9. Deskriptivni statistički parametri koncentracije uree (*mmol/l*) u krvi krava

Period ispitivanja	N		SD	SE	CV (%)	X max	X min
Ned. prije telj.	10	4,71 ^{abc}	0,91	0,2885	19,37	6,18	3,45
21. dan laktacije	10	6,02 ^a	1,00	0,3150	16,06	7,35	4,45
60. dan laktacije	10	6,31 ^b	0,96	0,3036	15,21	7,35	4,75
90. dan laktacije	10	6,18 ^c	0,89	0,2821	14,43	7,20	4,75

Istim slovima je označena statistički signifikantna razlika. $p < 0,01$ (a, b, c); $p < 0,05$ (A, B, C)

Statističkom analizom uree ustanovljena je signifikantno najniža koncentracija ($p < 0,01$) u nedelji prije teljenja ($4,71 \pm 0,91$) u odnosu na koncentraciju uree kod svih ostalih ispitivanih grupa (21. dan $6,02 \pm 1,00$ 60. dan $6,31 \pm 0,96$ i 90. dan $6,18 \pm 0,89$). Variranje koncentracije uree bilo je relativno nisko i kretalo se od 14,43% 90. dana poslije teljenja do 19,37% nedelju dana prije teljenja. Rezultati su prikazani u grafikonu 6.



Grafikon 6. Koncentracija uree u drugoj laktaciji

5.1.7. Koncentracija ukupnog bilirubina

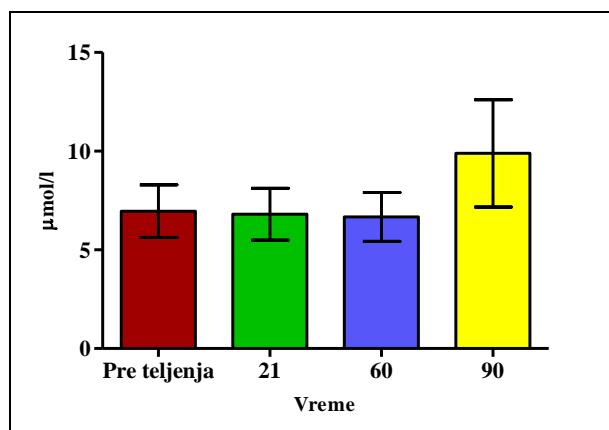
U tabeli 10. su prikazani rezultati koncentracije ukupnog bilirubina u krvi krava u drugoj laktaciji.

Tabela 10. Deskriptivni statistički parametri koncentracije ukupnog bilirubina ($\mu\text{mol/l}$) u krvi krava

Period ispitivanja	n		SD	SE	CV (%)	X max	X min
Ned. prije telj.	10	6,96 ^a	1,34	0,4224	19,19	8,97	4,95
21. dan laktacije	10	6,80 ^b	1,31	0,4152	19,30	8,97	4,85
60. dan laktacije	10	6,67 ^c	1,24	0,3914	18,55	8,57	4,85
90. dan laktacije	10	9,89 ^{abc}	2,72	0,8601	27,50	14,57	6,52

Istim slovima je označena statistički signifikantna razlika. $p < 0,01$ (a, b, c); $p < 0,05$ (A, B, C)

Statističkom analizom koncentracije ukupnog bilirubina ustanovljena je signifikantno najviša koncentracija ($p < 0,01$) 90. dana poslije teljenja ($9,89 \pm 2,72$) u odnosu na koncentraciju ukupnog bilirubina kod svih ostalih ispitivanih perioda (nedelju dana pre $6,96 \pm 1,34$, 21. dan $6,80 \pm 1,31$ i 60. dan $6,67 \pm 2,27$). Variranje koncentracije ukupnog bilirubina bilo je povećano i kretalo se od 19,19% nedelju dana prije teljenja do 27,50% 90. dana poslije teljenja. Rezultati su prikazani u grafikonu 7.



Grafikon 7. Koncentracija ukupnog bilirubina u drugoj laktaciji

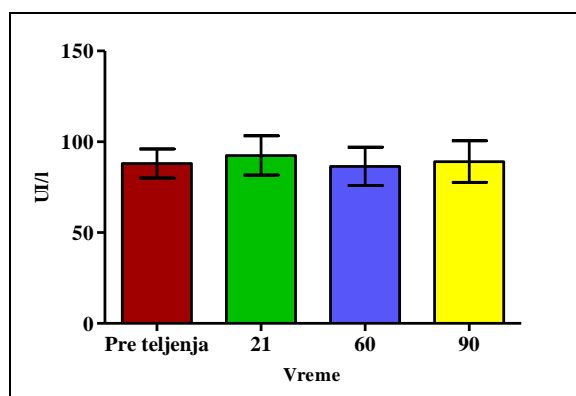
5.1.8. Aktivnost AST

U tabeli 11. su prikazani rezultati aktivnosti AST u krvi krava u drugoj laktaciji.

Tabela 11. Deskriptivni statistički parametri aktivnosti AST (IU/l) u krvi krava

Period ispitivanja	n		SD	SE	CV (%)	X max	X min
Ned. prije telj.	10	88,06	7,99	2,5270	9,08	102,50	78,91
21. dan laktacije	10	92,48	10,81	3,4170	11,68	110,70	78,91
60. dan laktacije	10	86,48	10,52	3,3270	12,16	108,70	76,78
90. dan laktacije	10	89,11	11,44	3,6170	12,83	108,90	76,78

Prosječne vrijednosti aktivnosti AST kod ispitivanih grupa bile su ujednačene i nisu ustanovljene signifikantne razlike ($p>0,05$). Prosječne koncentracije AST kretale su se od $88,06\pm 7,99$ nedelju dana prije teljenja do $92,48\pm 10,81$ u 21. danu laktacije. Variranje je bilo umjereno i kretalo se od 9,08% nedelju dana prije teljenja do 12,83% 90. dana poslije teljenja. Rezultati su prikazani u grafikonu 8.



Grafikon 8. Aktivnosti AST u drugoj laktaciji

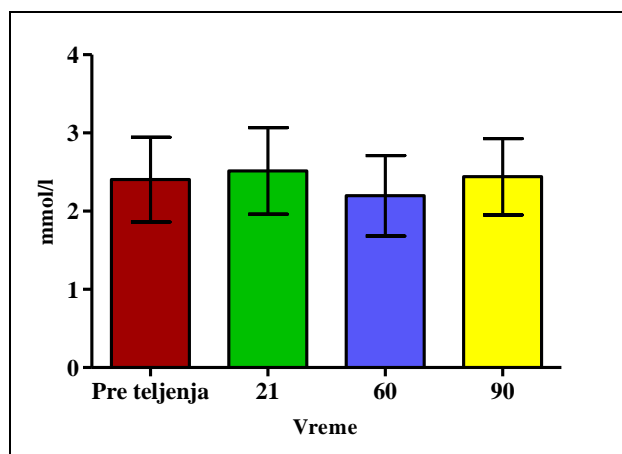
5.1.9 Koncentracija kalcijuma (Ca)

U tabeli 12. su prikazani rezultati koncentracije Ca u krvi krava u drugoj laktaciji.

Tabela 12. Deskriptivni statistički parametri koncentracije Ca (*mmol/l*) u krvi krava

Period ispitivanja	N		SD	SE	CV (%)	X max	X min
Ned. prije telj.	10	2,40	0,54	0,1715	22,57	3,34	1,71
21. dan laktacije	10	2,51	0,55	0,1751	22,02	3,54	1,85
60. dan laktacije	10	2,20	0,52	0,1630	23,46	3,01	1,55
90. dan laktacije	10	2,44	0,49	0,1547	20,05	3,01	1,73

Koncentracije Ca je bila najviša 21. dan laktacije, a najniža 60. dana laktacije. Nije bilo značajnijih razlika između ispitivanih perioda. U grafikonu 9. je prikazana koncentracija Ca u ispitivanim periodima.



Grafikon 9. Koncentracija koncentracije Ca u drugoj laktaciji

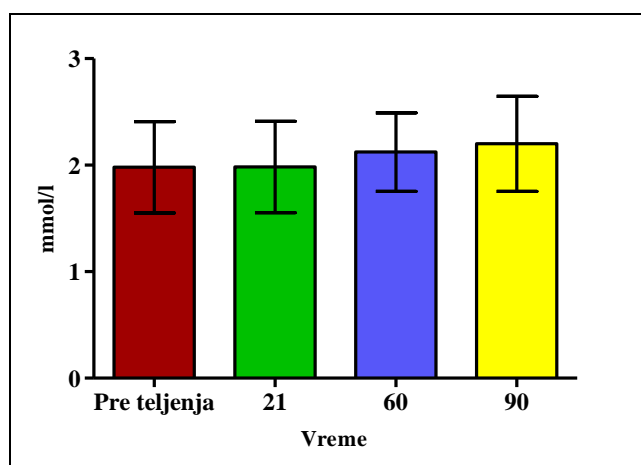
5.1.10. Koncentracija fosfora (P)

U tabeli 13. su prikazani rezultati koncentracije P u krvi krava u drugoj laktaciji.

Tabela 13. Deskriptivni statistički parametri *P* (mmol/l) u krvi krava

Period ispitivanja	n		SD	SE	CV (%)	X max	X min
Ned. prije telj.	10	1,98	0,43	0,1359	21,71	2,65	1,33
21. dan laktacije	10	1,98	0,43	0,1356	21,63	2,65	1,33
60. dan laktacije	10	2,12	0,37	0,1164	17,34	2,75	1,73
90. dan laktacije	10	2,20	0,45	0,1410	20,27	2,79	1,71

Najniža koncentracija *P* je bila u periodu nedelje pred teljenje i 21. dana laktacije, a najviša 90. dana laktacije. Nije bilo značajnih razlika između ispitivanih parametara. U grafikonu 10. je prikaz koncentracije *P* u ispitivanim periodima.



Grafikon 10. Koncentracija koncentracije *P* u drugoj laktaciji

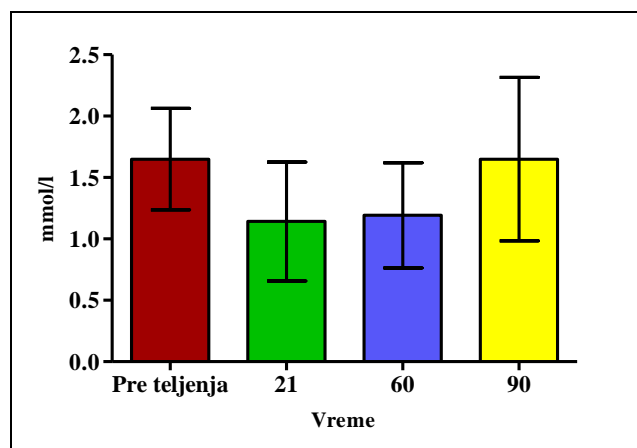
5.1.11. Koncentracija magnezijuma (Mg)

U tabeli 14. su prikazani rezultati koncentracije Mg u krvi krava u drugoj laktaciji.

Tabela 14. Deskriptivni statistički parametri koncentracije Mg (*mmol/l*) u krvi krava

Period ispitivanja	n		SD	SE	CV (%)	X max	X min
Ned. prije telj.	10	1,65	0,41	0,1308	25,06	2,21	0,95
21. dan laktacije	10	1,14	0,49	0,1533	42,45	2,01	0,44
60. dan laktacije	10	1,19	0,43	0,1354	35,92	2,01	0,64
90. dan laktacije	10	1,65	0,67	0,2107	40,39	2,82	0,85

Najniža koncentracija Mg je bila u periodu 21. dana laktacije, a najviša nedelju prije teljenja i 90. dana laktacije, kada su bile iste vrijednosti.



Grafikon 11. Koncentracija Mg u drugoj laktaciji

5.2. Rezultati ispitivanja organskih sastojaka mlijeka krava u drugoj laktaciji

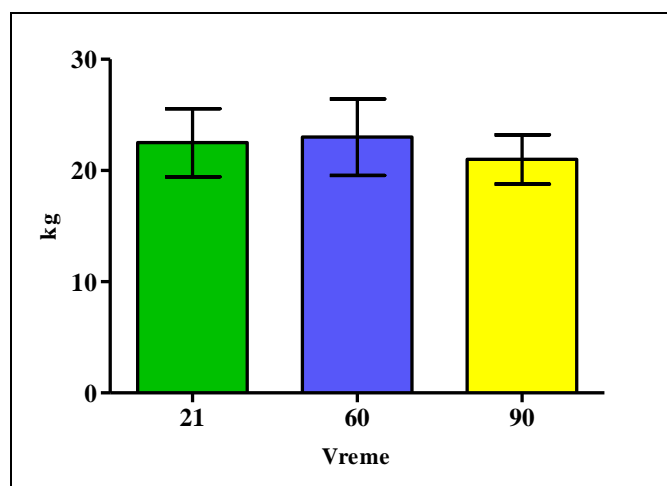
5.2.1. Količina mlijeka

U tabeli 15. su prikazani rezultati količine mlijeka krava u drugoj laktaciji.

Tabela 15. Deskriptivni statistički parametri količina mlijeka (kg) krava

Dan laktacije	N		SD	SE	CV (%)	X max	X min
21.	10	22,50	3,06	0,9690	13,62	29,00	19,00
60.	10	23,00	3,43	1,0850	14,92	30,00	19,00
90.	10	21,00	2,21	0,6992	10,53	25,00	18,00

Najveća količina mlijeka u drugoj laktaciji bila je 60. dana laktacije, a najniža 90. dana laktacije. Rezultati su prikazani u grafikonu 12.



Grafikon 12. Količina mlijeka u drugoj laktaciji

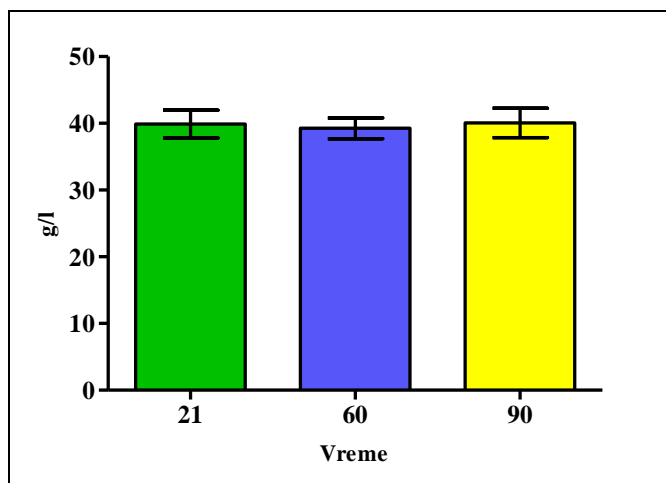
5.2.2. Koncentracija mliječne masti

U tabeli 16. su prikazani rezultati koncentracije mliječne masti u drugoj laktaciji.

Tabela 16. Deskriptivni statistički parametri koncentracije mliječne masti (g/l) u mlijeku krava

Dan laktacije	n		SD	SE	CV (%)	X max	X min
21.	10	39,90	2,08	0,6574	5,21	43,00	36,00
60.	10	39,25	1,57	0,4958	3,99	42,00	37,50
90.	10	40,05	2,20	0,6970	5,50	43,00	37,00

Najviša koncentracija mliječne masti je bila 90. dana laktacije, a najniža 60. dana laktacije. Nije bilo značajnih razlika između ispitivanih parametara. Rezultati su prikazani u grafikonu 13.



Grafikon 13. Koncentracija mliječne masti u drugoj laktaciji

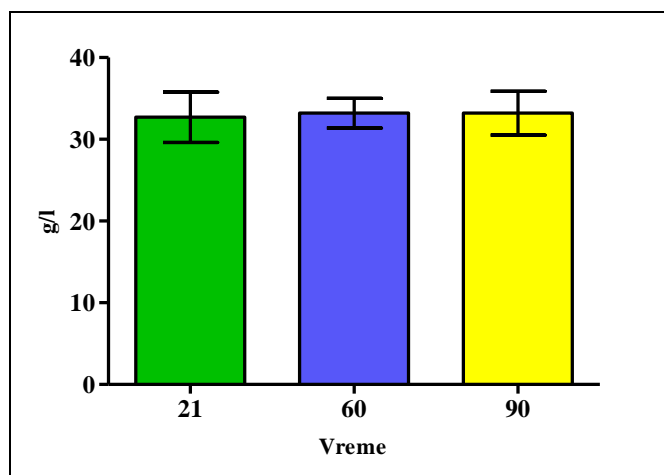
5.2.3. Koncentracija bjelančevina

U tabeli 17. su prikazani rezultati koncentracije bjelančevina u mlijeku krava u drugoj laktaciji.

Tabela 17. Deskriptivni statistički parametri koncentracije bjelančevina (g/l) u mlijeku

Dan laktacije	N		SD	SE	CV (%)	X max	X min
21.	10	32,70	3,08	0,9724	9,40	39,50	30,00
60.	10	33,20	1,81	0,5735	5,46	36,50	30,50
90.	10	33,20	2,67	0,8439	8,04	37,50	37,50

U svim ispitivanim periodima koncentracija bjelančevina je bila približno ista i u okvirima fizioloških vrijednosti.



Grafikon 14. Koncentracija bjelančevina u mlijeku krava u drugoj laktaciji

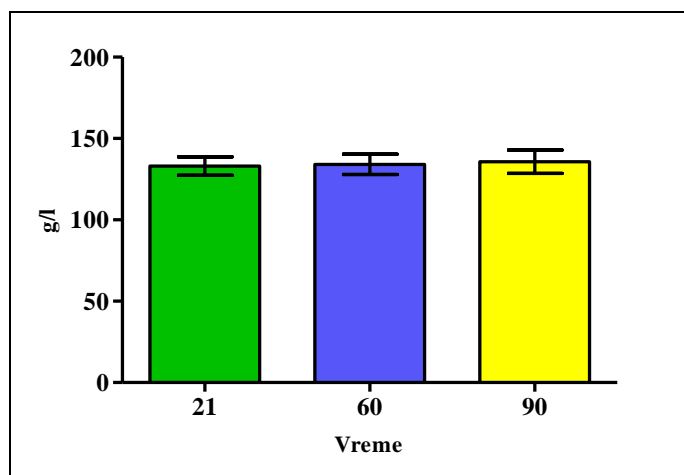
5.2.4. Koncentracija suve materije

U tabeli 18. su prikazani rezultati koncentracija suve materije u mlijeku krava u drugoj laktaciji.

Tabela 18. Deskriptivni statistički parametri koncentracije suve materije (g/l) u mlijeku

Dan laktacije	n		SD	SE	CV (%)	X max	X min
21.	10	133,20	5,66	1,7890	4,25	145,00	125,00
60.	10	134,20	6,28	1,9850	4,68	145,00	126,00
90.	10	135,80	7,19	2,273	5,30	150,00	130,00

U svim ispitivanim periodima koncentracija suve materije je bila približno ista. Nije bilo značajne razlike u ispitivanim periodima. Rezultati ispitivanja su prikazani u grafikonu 15.



Grafikon 15. Koncentracija suve materije u mlijeku u drugoj laktaciji

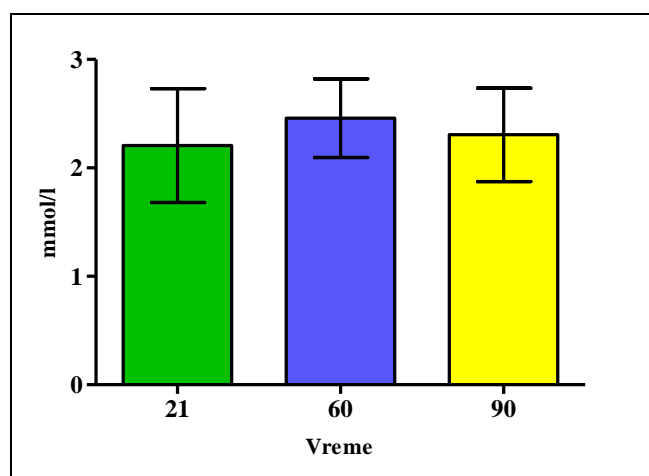
5.2.5. Koncentracija uree

U tabeli 19. su prikazani rezultati koncentracije uree u mlijeku krava u drugoj laktaciji.

Tabela 19. Deskriptivni statistički parametri koncentracije uree (*mmol/l*) u mlijeku

Dan laktacije	n		SD	SE	CV (%)	X max	X min
21.	10	2,21	0,53	0,1661	23,82	3,20	1,61
60.	10	2,46	0,36	0,1145	14,73	3,21	2,08
90.	10	2,31	0,43	0,1367	18,76	3,04	1,79

Najniža vrijednost uree je bila u periodu 30. dana laktacije, a najviša 60. dana, bez značajnih razlika. Rezultati su prikazani u grafikonu 16.



Grafikon 16. Koncentracija uree u mlijeku u drugoj laktaciji

5.3. Rezultati ispitivanja krvi krava u trećoj laktaciji

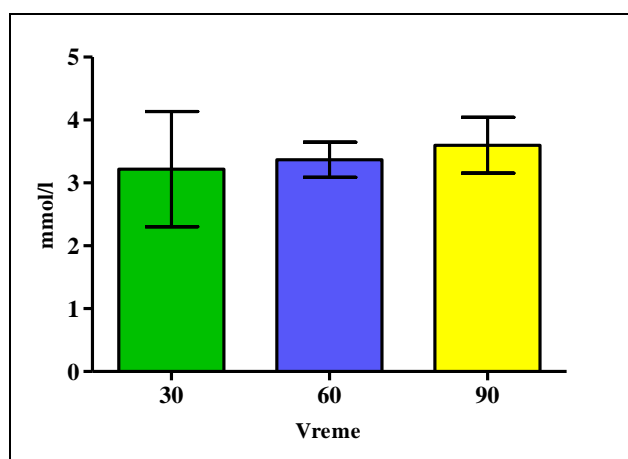
5.3.1. Koncentracija glukoze

U tabeli 20. su prikazani rezultati koncentracije glukoze u krvi krava u trećoj laktaciji.

Tabela 20. Deskriptivni statistički parametri koncentracije glukoze (*mmol/l*) u krvi krava

Period ispitivanja	n		SD	SE	CV (%)	X max	X min
30. dan laktacije	10	3,22	0,92	0,2898	28,46	4,10	1,30
60. dan laktacije	10	3,37	0,28	0,0883	8,28	3,90	3,10
90. dan laktacije	10	3,60	0,44	0,1398	12,28	4,30	2,90

Uočava se da je najniža koncentracija glukoze bila u periodu 30. dana laktacije, a najviša 90. dana laktacije. Nije bilo značajnih razlika u ispitivanim periodima. Rezultati su prikazani u grafikonu 16.



Grafikon 17. Koncentracija glukoze u krvi krava u trećoj laktaciji

5.3.2. Koncentracija betahidroksibuterne kiseline (BHBA)

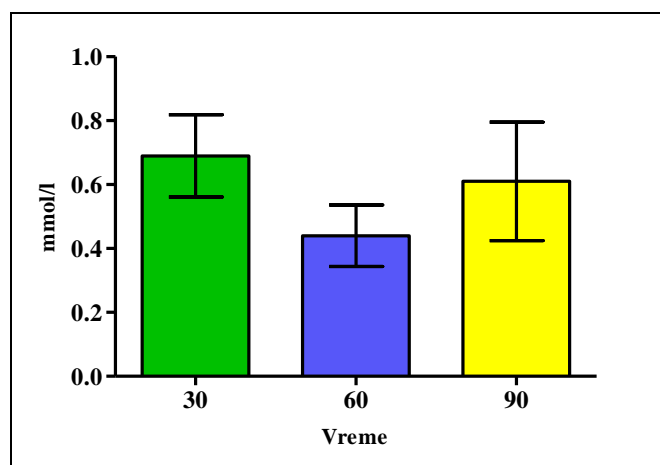
U tabeli 21. su prikazani rezultati koncentracije betahidroksibuterne kiseline (BHBA) u krvi krava u trećoj laktaciji.

Tabela 21. Deskriptivni statistički parametri koncentracije betahidroksibuterne kiseline (*mmol/l*) u krvi krava

Period ispitivanja	n		SD	SE	CV (%)	X max	X min
30. dan laktacije	10	0,69 ^a	0,12	0,0407	18,65	0,80	0,40
60. dan laktacije	10	0,44 ^{Aa}	0,10	0,0306	21,96	0,60	0,30
90. dan laktacije	10	0,61 ^A	0,19	0,0586	30,38	0,80	0,40

Istim slovima je označena statistički signifikantna razlika. $p < 0,01$ (a, b, c); $p < 0,05$ (A, B, C)

Statističkom analizom parametra BHBA ustanovljeno je signifikantno smanjenje ($p < 0,01$) 60. dana poslije teljenja ($0,44 \pm 0,10$) u odnosu na koncentraciju 30. dana poslije teljenja ($0,69 \pm 0,12$), kao i signifikantno smanjenje ($p < 0,05$) u odnosu na 90. dan poslije teljenja ($0,61 \pm 0,19$). Rezultati su prikazani u grafikonu 18.



Grafikon 18. Koncentracija BHBA u trećoj laktaciji

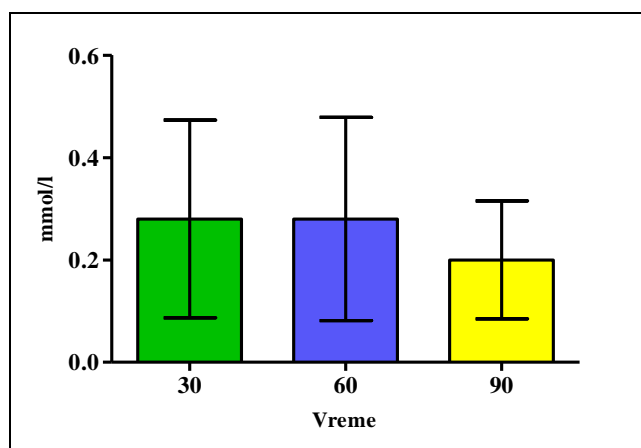
5.3.3. Koncentracija neesterifikovanih masnih kiselina (NEFA)

U tabeli 22. su prikazani rezultati koncentracije neesterifikovanih masnih kiselina (NEFA) u krvi krava u trećoj laktaciji.

Tabela 22. Deskriptivni statistički parametri koncentracije neesterifikovanih masnih kiselina (*mmol/l*) u krvi krava

Period ispitivanja	n		SD	SE	CV (%)	X max	X min
30. dan laktacije	10	0,28	0,19	0,0611	69,01	0,70	0,10
60. dan laktacije	10	0,28	0,20	0,0629	71,03	0,60	0,10
90. dan laktacije	10	0,20	0,12	0,0365	57,74	0,40	0,10

Primjetno je najniža koncentracija NEFA u trećoj laktaciji u period 90. dana laktacije, a ista koncentracija je bila u dva perioda odnosno 30. i 90. dana laktacije. Rezultati su prikazani u grafikonu 19.



Grafikon 19. Koncentracija NEFA u trećoj laktaciji

5.3.4. Koncentracija ukupnih proteina

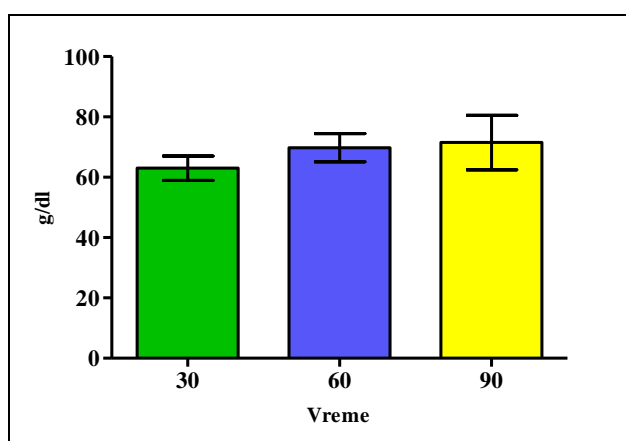
U tabeli 23. su prikazani rezultati koncentracije ukupnih proteina u krvi krava u trećoj laktaciji.

Tabela 23. Deskriptivni statistički parametri koncentracija ukupnih proteina (g/l) u krvi krava

Period ispitivanja	N		SD	SE	CV (%)	X max	X min
30. dan laktacije	10	63,00 ^A	4,03	1,2740	6,39	71,00	59,00
60. dan laktacije	10	69,80	4,66	1,4740	6,68	78,00	64,00
90. dan laktacije	10	71,50 ^A	9,01	2,8490	12,60	91,00	58,00

Istim slovima je označena statistički signifikantna razlika. $p < 0,01$ (a, b, c); $p < 0,05$ (A, B, C)

Statističkom analizom ukupnih proteina ustanovljena je signifikantna povećanje ($p < 0,05$) ukupnih proteina 90. dana poslije teljenja ($71,50 \pm 9,01$) u odnosu na ukupne proteine 30. dana poslije teljenja ($63,00 \pm 4,03$). Variranje ukupnih proteina bilo je nisko i kretalo se od 6,39% 30. dana poslije teljenja do 12,60% 90. dana poslije teljenja. Rezultati su prikazani u grafikonu 20.



Grafikon 20. Koncentracija ukupnih proteina

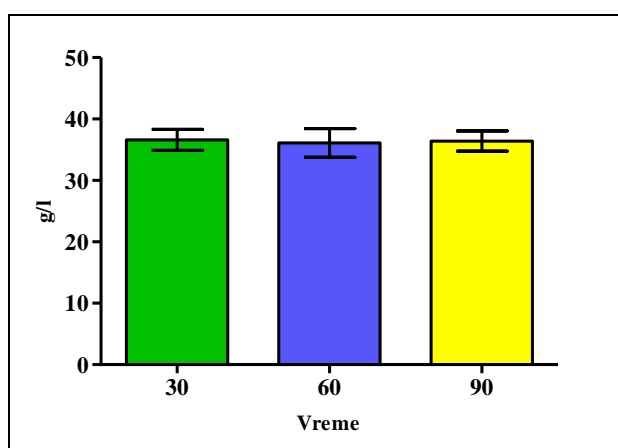
5.3.5. Koncentracija albumina

U tabeli 24. su prikazani rezultati koncentracije albumina u krvi krava u trećoj laktaciji.

Tabela 24. Deskriptivni statistički parametri koncentracije albumina (g/l) u krvi krava

Period ispitivanja	n		SD	SE	CV (%)	X max	X min
30. dan laktacije	10	36,60	1,71	0,5416	4,68	39,00	33,00
60. dan laktacije	10	36,10	2,33	0,7371	6,46	39,00	31,00
90. dan laktacije	10	36,40	1,65	0,5207	4,52	39,00	34,00

Koncentracija albumina u trećoj laktaciji je bila približno ista u svim ispitivanim periodima. Nije bilo značajnih razlika u koncentraciji albumina između ispitivanih perioda. Rezultati ispitivanja su prikazani u grafikonu 21.



Grafikon 21. Koncentracija albumina

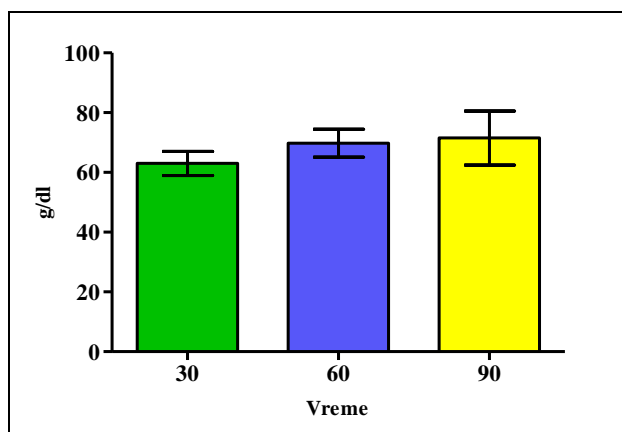
5.3.6. Koncentracija uree

U tabeli 25. su prikazani rezultati koncentracije uree u krvi krava u trećoj laktaciji.

Tabela 25. Deskriptivni statistički parametri koncentracije uree (*mmol/l*) u krvi krava

Period ispitivanja	n		SD	SE	CV (%)	X max	X min
30. dan laktacije	10	4,39	0,88	0,2779	20,02	5,50	2,40
60. dan laktacije	10	4,24	0,65	0,2050	15,29	5,60	3,30
90. dan laktacije	10	3,73	0,96	0,3030	25,69	5,10	2,20

U tabeli vidimo da je najniža koncentracija uree u trećoj laktaciji bila u periodu 90. dana, a najviša u periodu 60. dana. Nije bilo značajne razlike između ispitivanih perioda. Rezultati ispitivanja su prikazani u grafikonu 22.



Grafikon 22. Koncentracija albumina

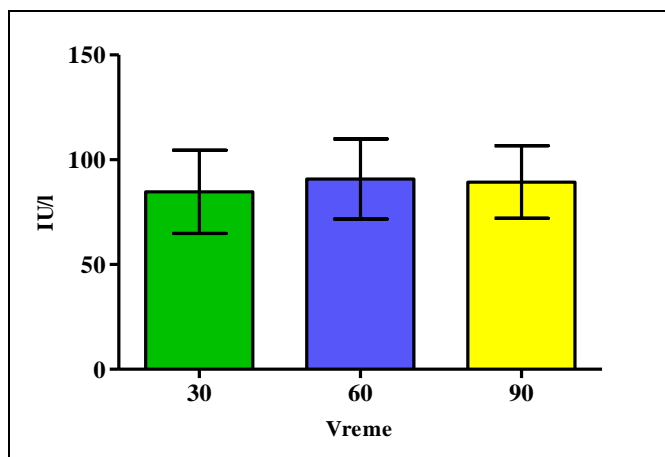
5.3.7. Aktivnost AST

U tabeli 26. su prikazani rezultati aktivnosti AST u krvi krava u trećoj laktaciji.

Tabela 26. Deskriptivni statistički parametri aktivnosti AST (IU/l) u krvi krava

Period ispitivanja	n		SD	SE	CV (%)	X max	X min
30. dan laktacije	10	84,71	19,89	6,2900	23,48	133,80	59,70
60. dan laktacije	10	90,81	19,15	6,0560	21,09	126,50	59,30
90. dan laktacije	10	89,36	17,32	5,4760	19,38	122,00	62,10

Najniža aktivnost AST je bila 30. dana laktacije, a najviša 60. dana laktacije u trećoj laktaciji, bez značajnih razlika. Rezultati su prikazani u grafikonu 23.



Grafikon 23. Aktivnost AST u krvi krava trećoj laktaciji

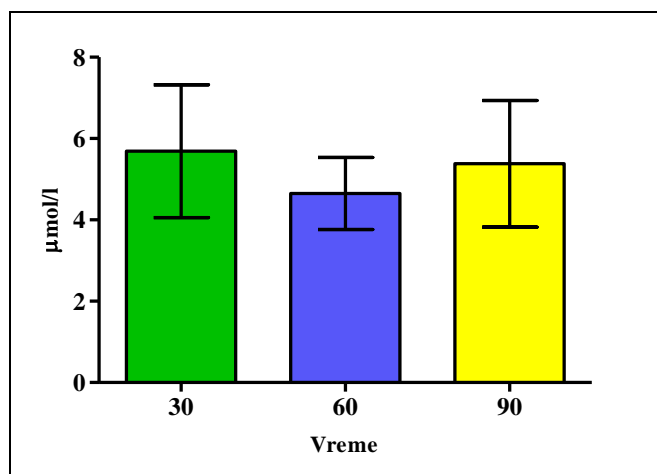
5.3.8. Koncentracija ukupnog bilirubina

U tabeli 27. su prikazani rezultati koncentracije ukupnog bilirubina u krvi krava u trećoj laktaciji.

Tabela 27. Deskriptivni statistički parametri koncentracije ukupnog bilirubina ($\mu\text{mol/l}$) u krvi krava

Period ispitivanja	n		SD	SE	CV (%)	X max	X min
30. dan laktacije	10	5,69	1,63	0,5158	28,67	9,70	3,90
60. dan laktacije	10	4,65	0,88	0,2794	19,00	6,50	3,60
90. dan laktacije	10	5,38	1,56	0,4923	28,94	8,90	3,80

Iz tabele je uočljivo da je najniža vrijednost koncentracije ukupnog bilirubina bila u periodu 60. dana laktacije, a 30. i 90. dana je bila približno ista. Rezultati su prikazani u grafikonu 24.



Grafikon 24. Koncentracija ukupnog bilirubina u trećoj laktaciji

5.4. Rezultati ispitivanja organskih sastojaka mlijeka krava u trećoj laktaciji

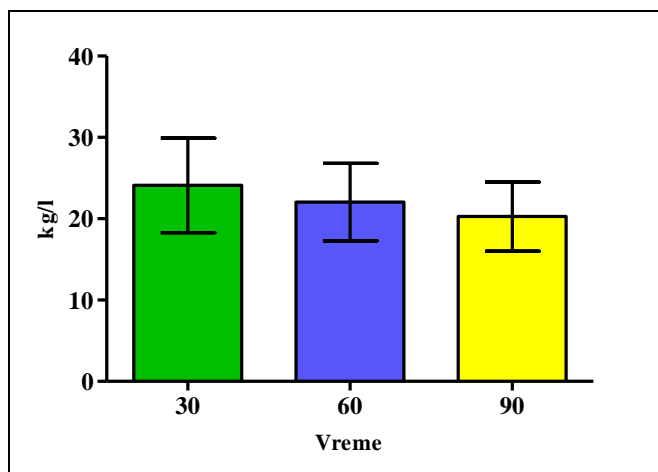
5.4.1. Količina mlijeka

U tabeli 28. su prikazani rezultati količine mlijeka krava u trećoj laktaciji.

Tabela 28. Deskriptivni statistički parametri količine mlijeka krava (*kg*) u trećoj laktaciji.

Period ispitivanja	n		SD	SE	CV (%)	X max	X min
30. dan laktacije	10	24,10	5,80	1,8350	24,07	32,00	17,00
60. dan laktacije	10	22,05	4,76	1,5060	21,60	30,00	14,50
90. dan laktacije	10	20,27	4,25	1,2800	20,94	30,00	17,00

Najveća proizvodnja mlijeka je bila 30. dana laktacije, a najniža 60. dana. Nije bilo statistički značajne razlike u količinama mlijeka između ispitivanih perioda. Rezultati su prikazani u grafikonu 25.



Grafikon 25. Količina mlijeka u trećoj laktaciji

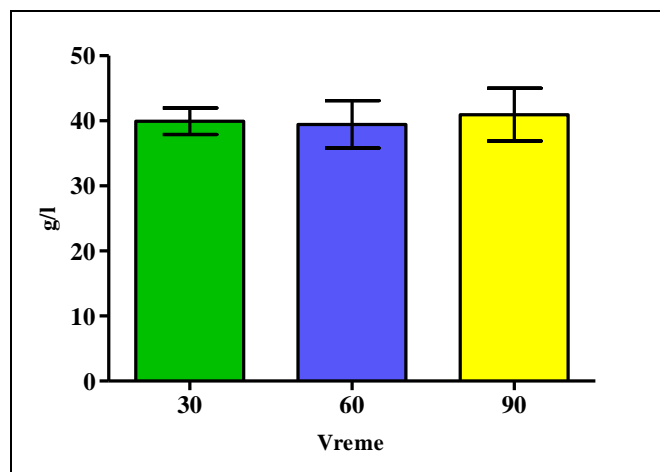
5.4.2. Koncentracija mliječne masti

U tabeli 29. su prikazani rezultati koncentracije mliječne masti u mlijeku krava u trećoj laktaciji.

Tabela 29. Deskriptivni statistički parametri koncentracije mliječne masti (g/l) u mlijeku krava u trećoj laktaciji.

Period ispitivanja	n		SD	SE	CV (%)	X max	X min
30. dan laktacije	10	39,95	2,04	0,6474	5,12	42,00	35,50
60. dan laktacije	10	39,45	3,66	1,1560	9,26	43,00	33,00
90. dan laktacije	11	40,95	4,05	1,2220	9,90	47,00	33,00

Najviša koncentracija mliječne masti je bila 90. dana laktacije, a najniža 60. dana laktacije. Rezultati su prikazani u grafikonu 26.



Grafikon 26. Koncentracija mliječne masti u trećoj laktaciji

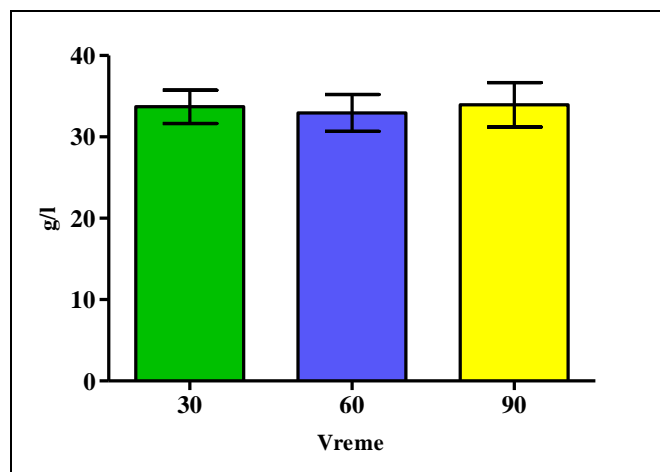
5.4.3. Koncentracija proteina

U tabeli 30. su prikazani rezultati koncentracije proteina u mlijeku krava u trećoj laktaciji.

Tabela 30. Deskriptivni statistički parametri koncentracije proteina (g/l) u mlijeku krava u trećoj laktaciji.

Period ispitivanja	n		SD	SE	CV (%)	X max	X min
30. dan laktacije	10	33,71	2,05	0,6495	6,09	36,00	30,50
60. dan laktacije	10	32,95	2,25	0,7128	6,84	36,00	30,00
90. dan laktacije	11	33,95	2,30	0,8242	8,05	38,00	29,50

Najviša koncentracija proteina je bila 90. dana laktacije, a najniža 60. dana laktacije. Rezultati su prikazani u grafikonu 27.



Grafikon 27. Koncentracija bjelančevina u mlijeku u trećoj laktaciji

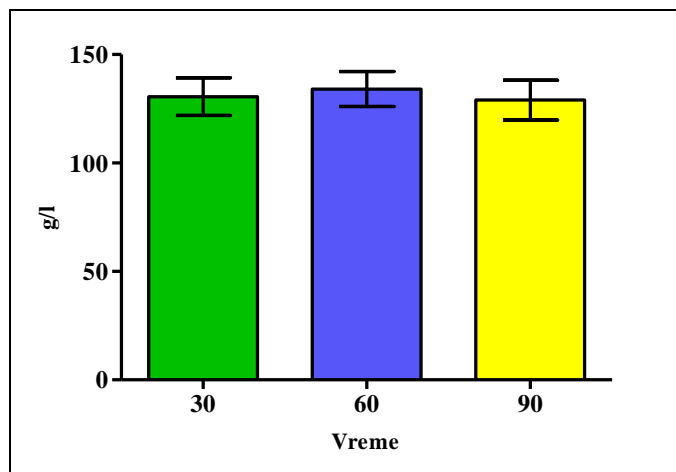
5.4.4. Koncentracija suve materije

U tabeli 31. su prikazani rezultati koncentracije suve materije u mlijeku krava u trećoj laktaciji

Tabela 31. Deskriptivni statistički parametri koncentracije suve materije (g/l) u mlijeku krava u trećoj laktaciji.

Period ispitivanja	n		SD	SE	CV (%)	X max	X min
30. dan laktacije	10	130,60	8,69	2,7470	6,65	145,00	112,50
60. dan laktacije	10	134,10	8,09	2,5580	6,03	145,50	119,00
90. dan laktacije	10	129,00	9,19	2,7700	7,12	145,00	122,50

Najviša koncentracija suve materije je bila 60. dana laktacije, a najniža 90. dana laktacije. Rezultati su prikazani u grafikonu 28.



Grafikon 28. Koncentracija suve materije u mlijeku

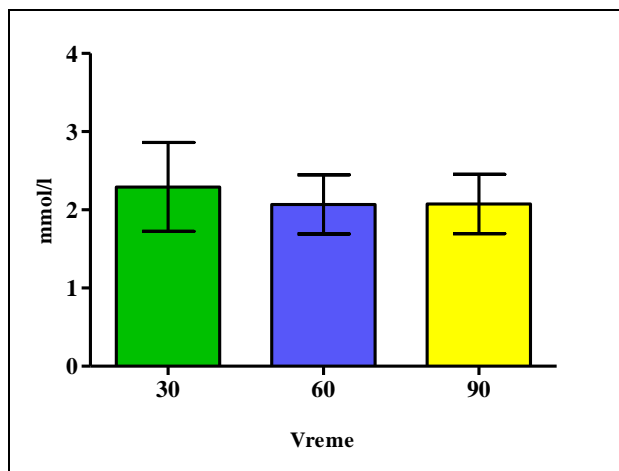
5.4.5. Koncentracija uree

U tabeli 32. su prikazani rezultati koncentracije uree u mlijeku krava u trećoj laktaciji.

Tabela 32. Deskriptivni statistički parametri koncentracije uree (*mmol /l*) u mlijeku krava u trećoj laktaciji.

Period ispitivanja	n		SD	SE	CV (%)	X max	X min
30. dan laktacije	10	2,29	0,57	0,1795	24,75	3,57	1,63
60. dan laktacije	10	2,07	0,38	0,1199	18,32	2,64	1,59
90. dan laktacije	10	2,07	0,38	0,1146	18,32	2,78	1,64

Najviša koncentracija uree je bila 30. dana laktacije, a 60. i 90. dana laktacije koncentracija je bila ista. Rezultati su prikazani u grafikonu 29.



Grafikon 29. Koncentracija uree u mlijeku u trećoj laktaciji

5.5. Rezultati ispitivanja organskih sastojaka mlijeka krava u četvrtoj laktaciji

5.5.1. Količina mlijeka

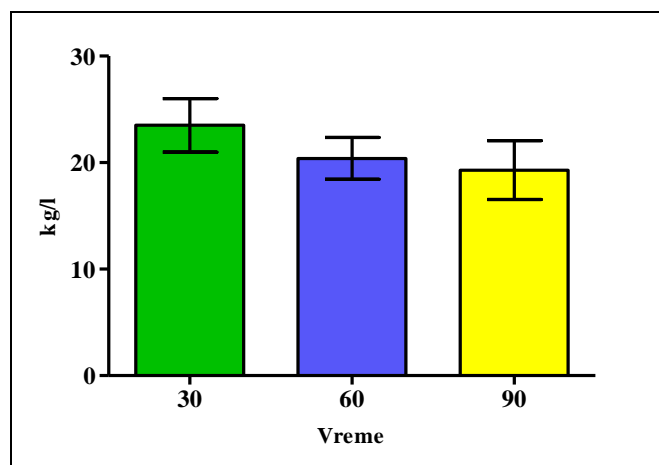
U tabeli 33. su prikazani rezultati količine mlijeka krava u četvrtoj laktaciji.

Tabela 33. Deskriptivni statistički parametri količine mlijeka krava (kg) u četvrtoj laktaciji.

Period ispitivanja	n		SD	SE	CV (%)	X max	X min
30. dan laktacije	10	23,50 ^{Aa}	2,51	0,7923	10,66	29,00	20,00
60. dan laktacije	10	20,40 ^A	2,00	0,6182	9,58	24,00	18,00
90. dan laktacije	10	19,30 ^a	2,75	0,8699	14,25	25,00	15,00

Istim slovima je označena statistički signifikantna razlika. $p < 0,01$ (a, b, c); $p < 0,05$ (A, B, C)

Statističkom analizom ukupne količine mlijeka ustanovljeno je signifikantno smanjenje ($p < 0,01$) 90. laktacije ($19,30 \pm 2,75$) u odnosu na 30. dan ($23,50 \pm 2,51$). Takođe, količina mlijeka 30. dana laktacije je signifikantno veća ($p < 0,05$) u odnosu na 60. dan ($20,40 \pm 2,00$). Rezultati su prikazani u grafikonu 30.



Grafikon 30. Količina mlijeka u četvrtoj laktaciji

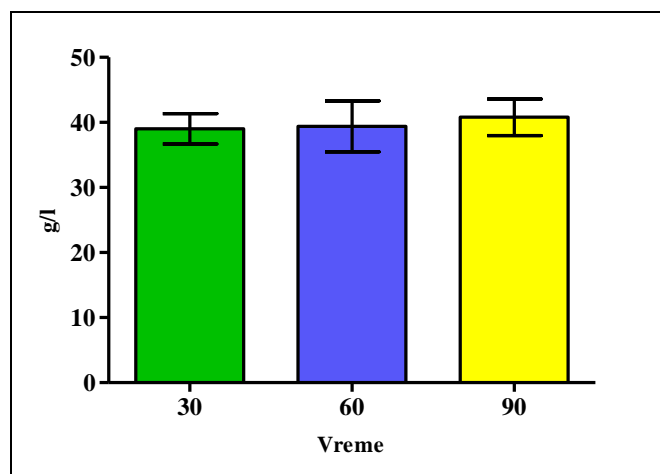
5.5.2. Koncentracija mliječne masti

U tabeli 34. su prikazani rezultati koncentracije mliječne masti u četvrtoj laktaciji.

Tabela 34. Deskriptivni statistički parametri koncentracije mliječne masti (g/l) u četvrtoj laktaciji.

Period ispitivanja	n		SD	SE	CV (%)	X max	X min
30. dan laktacije	10	39,03	2,33	0,7362	5,96	43,00	35,50
60. dan laktacije	10	39,40	3,91	1,2360	9,9	46,00	32,50
90. dan laktacije	10	40,80	2,80	0,8857	6,86	44,00	36,50

Najviša koncentracija mliječne masti je bila 90. dana laktacije, a najniža 30. dana laktacije, iako je najviša proizvodnja mlijeka bila 30. dana laktacije. Rezultati su prikazani u grafikonu 31.



Grafikon 31. Koncentracija mliječne masti

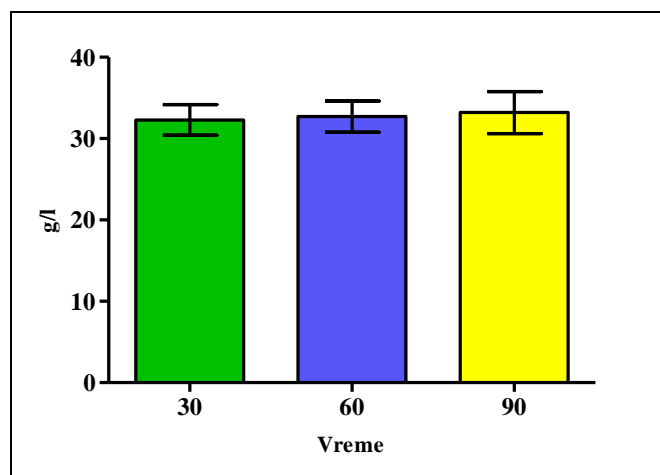
5.5.3. Koncentracija proteina

U tabeli 35. su prikazani rezultati koncentracije proteina u mlijeku krava u četvrtoj laktaciji.

Tabela 35. Deskriptivni statistički parametri koncentracije proteina (g/l) u mlijeku krava u četvrtoj laktaciji.

Period ispitivanja	N		SD	SE	CV (%)	X max	X min
30. dan laktacije	10	32,30	1,89	0,5972	5,85	36,00	29,50
60. dan laktacije	10	32,70	1,93	0,6110	5,91	37,00	29,50
90. dan laktacije	10	33,20	2,57	0,8138	7,75	38,50	28,50

Najviša koncentracija proteina je bila 90. dana laktacije, a najniža 30. dana laktacije. Rezultati su prikazani u grafikonu 32. Rezultati su prikazani u grafikonu 32.



Grafikon 32. Koncentracija bjelančevina

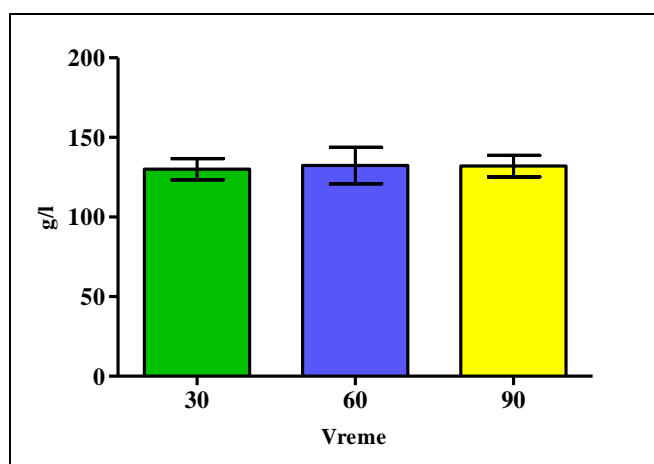
5.5.4. Koncentracija suve materije

U tabeli 36. su prikazani rezultati koncentracije suve materije u mlijeku krava u četvrtoj laktaciji.

Tabela 36. Deskriptivni statistički parametri koncentracije suve materije (g/l) u mlijeku krava u četvrtoj laktaciji.

Period ispitivanja	n		SD	SE	CV (%)	X max	X min
30. dan laktacije	10	130,10	6,64	2,1000	5,10	139,00	120,50
60. dan laktacije	10	132,40	11,37	3,5940	8,59	149,50	117,50
90. dan laktacije	10	132,00	6,77	2,1420	5,13	143,00	121,00

Najviša koncentracija mliječne masti je bila 90. dana laktacije, a najniža 30. dana laktacije, iako je najviša proizvodnja mlijeka bila 30. dana laktacije. Rezultati su prikazani u grafikonu 33.



Grafikon 33. Koncentracija suve materije mlijeka

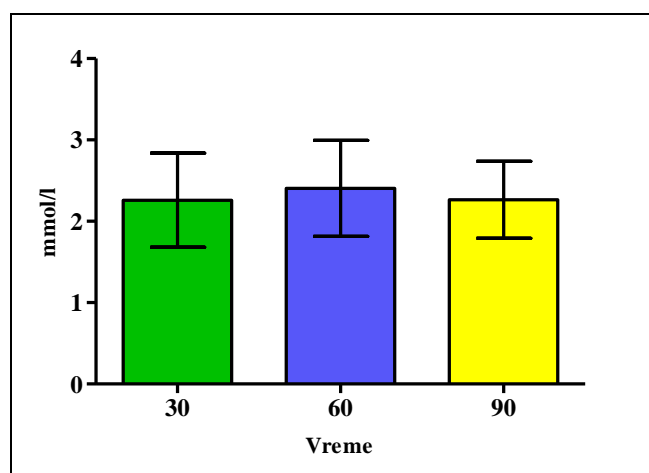
5.5.5. Koncentracija uree

U tabeli 37. su prikazani rezultati koncentracije uree u mlijeku krava u četvrtoj laktaciji.

Tabela 37. Deskriptivni statistički parametri koncentracije uree (*mmol/l*) u mlijeku krava u četvrtoj laktaciji.

Period ispitivanja	n		SD	SE	CV (%)	X max	X min
30. dan laktacije	10	2,26	0,58	0,1830	25,61	3,17	1,29
60. dan laktacije	10	2,41	0,59	0,1866	24,53	3,27	1,39
90. dan laktacije	10	2,27	0,48	0,1502	20,97	2,89	1,54

Najviša koncentracija uree je bila 60. dana laktacije, a najniža 30. dana laktacije. Rezultati su prikazani u grafikonu 34.



Grafikon 34. Koncentracija uree u mlijeku

6. DISKUSIJA

Jednostrana selekcija na visoku proizvodnju mlijeka dovela je do višestrukog porasta mliječnosti krava u poslednjih nekoliko decenija. Iako je mliječnost krava genetski determinisana osobina, ipak presudnu ulogu u ispoljavanju i ostvarivanju mliječnosti imaju činioci spoljašne sredine (uslovi držanja, ishrane i nege). Poznato je da su potrebe u hrani i energiji značajno povećane na početku laktacije. Međutim, upravo u tom periodu krave ne mogu unijeti dovoljne ili veće količine hrane koje su joj tada potrebne, usljed čega se javlja negativan energetska bilans i metabolički stres. Ovo je posebno izraženo kod visoko selekcionisanih krava holštajn-frizijske rase, s obzirom da je kod ovih rasa krava više naglašena potreba za stalnošću održavanja laktacije u odnosu na ostale potrebe organizma (Coffey i sar., 2004). U toku graviditeta nastaje postepeni pad unosa hrane, tako da za svaku nedelju graviditeta konzumiranje hrane opada za 1,53% (odnosno 0,17kg) do tri nedelje pred teljenje, kao negativan trend u unosu hrane nastavlja i poslije nekoliko dana nakon teljenja (Ingvarsten i sar., 1992).

Intenziviranjem proizvodnje mlijeka kod visokomliječnih krava sve značajniji postaju poremećaji metabolizma prouzrokovani najčešće greškama u ishrani i nedovoljnim prilagođavanjem endokrinog sistema na visoku proizvodnju mlijeka. Poznato je da se krave u visokom graviditetu nalaze u stanju pozitivnog bilansa energije jer u tom periodu unose veću količinu energije nego što je potrebno. Visoka proizvodnja

mlijeka uslovljava određena metabolička prilagođavanja organizma, ali i prestrojavanje odgovarajućeg hormonskog međuodnosa, odgovornih za regulaciju metabolizma u uslovima adekvatnog snabdijevanja organizma hranljivim materijama (Hart, 1983).

Od niza pokazatelja koji mogu nakon njihovog određivanja u krvi ili serumu da ukažu na nutritivno-metaboličku ravnotežu, disbalans ili energetski negativan bilans (osim NEFA i BHBA) su parametri koji predstavljaju i odrednice metabolizma i funkcionalnog stanja jetre kod visoko mliječnih krava: koncentracija glukoze, koncentracija proteina i albumina, ukupnog bilirubina, uree, te aktivnost aspartat transaminaze-AST (Radojičić i sar., 2007).

Kod krava hranjenih neizbalansiranim obrocima ustanovljavaju se u peripartalnom periodu hipoglikemija, hipokarotinemija, hipovitaminoza A, hiperbilirubinemija, povećana aktivnost AST i koncentracije uree u krvi, kao i hipofosfatemija poslije partusa (Jovanović i sar., 1997).

6.1. Hormoni tireoidee

Hormoni štitaste žlijezde T_3 i T_4 imaju ključnu ulogu u regulaciji procesa oksidativne fosforilacije, odnosno u potrošnji kiseonika i prometu energije u organizmu (Blum i sar., 1983; Đurđević i sar., 1985). Mnogi autori su u svojim istraživanjima potvrdili da je koncentracija hormona T_3 i T_4 u krvnom serumu tek oteljenih krava u opadanju, u odnosu na njihove koncentracije u periodu zasušenja (Đoković, 1998; Kovačević, 2000; Nikolić i sar., 2000).

U ispitivanju Hoshino i saradnika (1991) nivoa T_4 i T_3 u serumu mliječnih krava, za vrijeme laktacije (početak, vrh i kraj), dokazano je da je nivo ispitivanih hormona bio približno isti u svim fazama laktacije. Lučenje T_3 i T_4 se odvija pod kontrolom TSH iz prednjeg režnja hipofize. Na njihovu koncentraciju u krvi utiču ishrana, ambijent i posebno temperatura (McGuire, 1998). Međutim, Grum i saradnici (1996) su ustanovili da vrijednosti T_3 i T_4 u krvi padaju u slučaju negativnog energetskog bilansa. Dodavanje masti u obrok dovodi do povećanja koncentracije T_3 , dok ishrana bogata koncentratima nema uticaja na T_3 ali izaziva porast T_4 . Mnogi istraživači su objavili radove u kojima su ustanovili značajan pad koncentracija hormona tireoidee u vrijeme

oko partusa. Njihovo objašnjenje je da u periodu oko partusa životinje ne unose dovoljno energije što povezuju sa stanjem negativnog bilansa energije (Hart i sar., 1978; Pethes i sar., 1985; Đoković, 1998). Nikolić (2000) je ustanovila da u visokom graviditetu postoji adekvatan status tireoidnih hormona, a sa početkom laktacije dolazi do značajnog smanjenja njihove koncentracije kod jedne trećine ispitivanih krava. Takođe, Nikolić i saradnici (2001) navode da su se smanjivale koncentracije hormona tireoidee u krvnom serumu zdravih krava u periodu od 4. dana prije i do 4. dana poslije teljenja: za T_3 od 1,76-1,15 nmol/l a za T_4 od 51,3-28,0 nmol/l, dok su kod ketoznih krava one bile značajno niže i uniformne za T_3 oko 0,80 nmol/l a za T_4 oko 27,4 nmol/l. Prema Stojiću i saradnicima (2001) koncentracija hormona tireoidee u krvnom serumu junica holštajn rase, u uskom peripartalnom periodu, bila je viša u popodnevnom uzorku u odnosu na vrijednosti u prijepodnevnom uzorku, u prva dva dana ispitivanja (-4. i -3 dana) prije partusa, ali nije ustanovljen jasan cirkadijalni ritam njihove sekrecije. Takođe je ustanovljeno, da koncentracija hormona tireoidee opada značajno nakon partusa. Rezultati ispitivanja koncentracija hormona tireoidee u krvnoj plazmi novorođene teladi pokazuju da se telad rađaju sa visokim vrijednostima koncentracija T_3 i T_4 , četiri puta većim u odnosu na vrijednosti ustanovljene sedmog dana života (Stojić i sar., 2002).

Kovačević (2004) u svom radu nalazi da su vrijednosti T_3 više kod krava u visokom graviditetu sa nižom mliječnošću nego kod krava sa višom mliječnošću, ali bez statističke značajnosti ($p>0,05$). Takođe, autor zapaža da neposredno nakon teljenja, kao i u drugom mjesecu laktacije, dolazi do značajnog pada T_3 u krvnom serumu kod obe grupe ispitivanih krava. Dobijeni podaci pokazuju da je kod krava sa većom mliječnošću u periodu ranog puerperijuma i u 2. mjesecu laktacije statistički značajno niža koncentracija ovog hormona nego kod krava sa nižom mliječnošću ($p<0,01$). To dokazuje da je pad T_3 u ranom puerperijumu i u 2. mjesecu laktacije značajniji kod krava sa većom mliječnošću nego kod krava sa nižom mliječnošću. Isti autor navodi da je kod posmatranih grupa koncentracija T_4 u krvnom serumu visoko gravidnih krava najviša. Krave sa većom mliječnošću su imale značajno nižu koncentraciju T_4 nego krave sa nižom mliječnošću ($p<0,01$). U drugom mjesecu laktacije kod obe grupe ispitivanih krava prosječna vrijednost koncentracije tiroksina je značajno niža nego u ranom puerperijumu, što potvrđuje da kod krava sa većom proizvodnjom mlijeka u

svim periodima ispitivanja je značajno niža koncentracija tiroksina ($p < 0,001$) u krvnom serumu, u odnosu na krave sa nižom mliječnošću.

Kod mliječnih krava koncentracije T_3 i T_4 u krvnom serumu su niže u toku laktacije nego onda kada mliječna žljezda nije aktivna (Hart i sar., 1978). Takođe, vrijednosti koncentracija ovih hormona u krvi su stalno niže kod krava sa većom proizvodnjom mlijeka (Blum i sar., 1983). Koncentracija T_3 i T_4 u krvnom serumu tek oteljenih krava su u opadanju u odnosu na njihove koncentracije u periodu zasušenja (Đoković, 1998; Kovačević, 2000; Nikolić i sar., 2000). U ispitivanjima Kasagića i saradnika (2005) koncentracije T_3 i T_4 u krvnom serumu junica rase holštajn i crveni holštajn u uskom peripartalnom periodu, su bile niže neposredno nakon porođaja (T_3 holštajn 2,70 nmol/l, a crveni holštajn 2,16 nmol/l; T_4 holštajn 39,70 nmol/l, a crveni holštajn 49,90 nmol/l) u odnosu na vrijednosti prije teljenja i nakon teljenja.

Na osnovu podataka iz literature se može vidjeti da značajno niže koncentracije hormona tireoidee u krvi visoko produktivnih mliječnih krava, mogu biti posljedica razlika u intenzitetu energetskog metabolizma između krava sa niskom i visokom proizvodnjom mlijeka. Takvi podaci ukazuju na pozitivnu korelaciju između nivoa hormona u krvi i bilansa energije (Kunz i sar., 1985; Kovačević, 2004). Prema njihovim rezultatima istraživanja, mliječne krave imaju adekvatan status tireoidnih hormona u krvi prije teljenja, a poslije teljenja dolazi do pada njihove koncentracije. Oni smatraju da brzina lučenja tireoidnih hormona koja se smanjuje u krvi neposredno nakon teljenja, odnosno početkom same laktacije, jeste ključni proces u adaptaciji perifernih tkiva pri smanjenom prometu energije, koja se u toku laktaciji najviše koristi za potrebe mliječne žlijezde.

Rezultati naših ispitivanja koncentracija hormona tireoidee T_3 i T_4 u krvnom serumu krava u uskom peripartalnom periodu su takođe u saglasnosti sa navedenim autorima koji su nivoe hormona tireoidee u krvnom serumu ispitivali kod krava koje su se više puta telile. Dobijene prosječne vrijednosti koncentracija hormona štitaste žlijezde T_3 i T_4 u krvnom serumu pokazuju da su najviše vrijednosti u periodu nedelje pre teljenja, da bi nakon teljenja došlo do pada vrijednosti, a zatim su postepeno rasle do 90. dana laktacije. Nađene vrijednosti su za $T_3 \bar{X} = 2,11 \pm 0,29; 1,87 \pm 0,27; 1,97 \pm 0,33:$

2,01±0,46 nmol/l; a za T₄ \bar{X} =84,60±14,06:71,00±14,27:72,80±9,64:74,40±21,21 nmol/l.

Ovakvi rezultati se mogu objasniti uticajem simentalske rase krava odnosno genetske predisponiranosti za proizvodne karakteristike. Takođe, sva grla u ispitivanju su iz iste proizvodne grupe koje su klinički bile zdrave, držane u dobrim uslovima i sa ustaljenim načinom ishrane. Isto tako, to ukazuje da je na farmi dobro izbalansiran obrok u različitim fazama proizvodnje i da su životinje dobro pripremljene za teljenje i proizvodnju mlijeka.

6.2. Biohemijski pokazatelji metabolizma

Biohemijski pokazatelji u krvi mogu biti odrednice uravnoteženog ili pak, neskladnog metabolizma. To su prije svega: koncentracija glukoze, ukupnih proteina, albumina, koncentracija ureje, ukupnog bilirubina i aktivnost AST. Koncentracije BHBA i NEFA osim što mogu biti pokazatelji funkcionalnog stanja jetre, koriste se i za procjenu energetskeg metabolizma.

Metaboličkim profilom se određuju vrijednosti metabolita poslije uzimanja krvi kod krava u zasušenom periodu, ranoj laktaciji, i u piku laktacije. Sa razvojem nauke broj parametara koji se određuje u metaboličkom profilu postajao je sve veći (Ingraham i Kappel, 1988). Danas se metaboliti mogu podijeliti na one koji oslikavaju energetske status krava, funkcionalni status jetre, status minerala i drugo. Neki od ovih metabolita mogu istovremeno biti dobri pokazatelji i energetskeg statusa i funkcionalnog stanja jetre kao npr. što su koncentracije glukoze, NEFA, BHBA, uree i aktivnosti AST (Radojičić i sar., 2014). Takođe, i drugi autori (Radojičić i sar., 2007; Šamanc i sar., 2011) kod krava preporučuju korištenje metaboličkog profila za procjenu zdravstvenog statusa stada, odnosno u dijagnostici poremećaja metabolizma.

Određivanjem njihove koncentracije u krvnom serumu mogu se otkriti neki metabolički poremećaji, i tako ukazati na određene greške koje uglavnom nastaju u ishrani, najčešće u periodu zasušenja, kako bi se pravovremeno otklonile. U svim oboljenjima krava, naročito u peripartalnom periodu, potrebno je na osnovu ispitivanja metaboličkog profila utvrditi funkcionalno stanje jetre (Jovanović i sar. 1995).

Peripartalni metabolički stres se odlikuje negativnim energetske bilansom, potrošnjom masti u energetske svrhe perifernog tkiva i potrošnjom glukoze za potrebe mliječne žlijezde i proizvodnju mlijeka. Ovakvo metaboličko prestrojavanje kao posljedicu ima sniženu koncentraciju glukoze i povišenu koncentraciju NEFA, koja dovodi do povećanog stvaranja ketonskih tijela u jetri, kada u krvi raste koncentracija BHBA. Metabolički pokazatelji lošeg energetskeg statusa kod krava su: snižena koncentracija glukoze, povišena koncentracija NEFA i povišena koncentracija BHBA. Ovakav metabolički profil je tipičan za peripartalni period kod krava, a kod većeg broja krava ovi parametri se nalaze značajno izvan referentnih vrijednosti (Cincović i sar., 2011). Posljednjih godina uz povećanje koncentracije NEFA i BHBA se uzima i povišena aktivnost AST-a u procjeni energetskeg statusa visoko mliječnih krava u vrijeme rane laktacije (Brydl i sar., 2012; Radojičić i sar., 2014). Smatra se da potrebe za glukozom u ranoj laktaciji prevazilaze količinu koju organizam može da obezbjedi u uslovima visoke proizvodnje mlijeka i da je to značajan činilac u nastanku ketoze krava (Šamanc i sar., 1993). Prosječna vrijednost koncentracije glukoze u krvnom serumu krava je 2,2-3,2 mmol/l, dok se za junice predlaže nešto viša vrijednost kao fiziološka 2,5-4,0 mmol/l (Radojičić, 2013; Blood 1994).

U našim rezultatima u 2. laktaciji statističkom analizom ustanovljeno je da je koncentracija glukoze bila najviša nedelju dana prije teljenja ($3,43 \pm 0,16$ mmol/l). Ona je statističko vrlo značajno veća ($p < 0,01$) nego koncentracija glukoze 21. dana ($2,54 \pm 0,33$ mmol/l) i 60 dana. Takođe, koncentracije glukoze 21. i 60. dana su signifikantno niže ($p < 0,01$) od koncentracije glukoze 90. dana ($3,20 \pm 0,39$ mmol/l). Nisu ustanovljene signifikantne razlike ($p > 0,05$) između 21. i 60. dana, kao i između 90. dana i nedelju danas pred teljenje. Najveći koeficijent varijacije je zabilježen 21. dana nakon teljenja (12,98%), a najniži nedelju dana prije teljenja 4,79. U II grupi krava odnosno u 3. laktaciji najniža vrijednost je bila 30. dana laktacije ($3,22 \pm 0,92$ mmol/l), a najviša 90. dana ($3,60 \pm 0,44$ mmol/l), ali nije bilo statistički značajnih razlika između ispitivanih perioda u ovoj grupi.

Rezultati ispitivanja koncentracije glukoze (Kovačević B., 2004) pokazuju da vrijednosti glikemije kod grupa krava različite mliječnosti se značajno razlikuju kako u graviditetu, tako i u laktacionom periodu. Najveće vrijednosti glikemije su utvrđene kod

obe grupe krava u visokom graviditetu ($\bar{X}=2,88\pm 0,35$ i $\bar{X}=2,75\pm 0,31$ mmol/l). Isti autor zaključuje da su potrebe u glukozi različite u zavisnosti od fiziološkog stanja i stepena metaboličkog opterećenja organizma. Potrebe u energiji u periodu laktacije su veće nego u periodu visokog graviditeta i ukoliko nisu obezbjeđene životinje ulaze u stanje negativnog energetskeg bilansa sa svim posljedicama koje takvo stanje izaziva (Kovačević i Jovičin, 1996). Takođe, Jovanović i saradnici (1987) navode da je nivo glikemije prosječno na 10 dana prije teljenja 2,71 mmol/l ; do 10 dana poslije teljenja 2,40 mmol/l, u drugom mjesecu laktacije 2,60 mmol/l, dok u petom mjesecu laktacije, iznosi 2,70 mmol/l. Prema Stamatoviću i sar. (1983) postoje značajne razlike u koncentraciji glukoze u krvi u graviditetu kada je na gornjoj fiziološkoj granici, na dan teljenja kada se povećava prosečna vrijednost na 4,81 mmol/l, a u ranom puerperijumu opada do donje fiziološke vrijednosti. Kod nekih životinja se javlja i hipoglikemično stanje bez ispoljavanja ketoze. Hipoglikemija ukazuje i na negativan bilans energije i vrlo često uvodi životinju u ketozno stanje. Često se javlja i usljed oštećenja ćelija jetre. Nivo glikemije kod junica prije partusa je 2,5-4,0 mmol/l, dok je kod starijih krava od 2,2-3,4 mmol/l (Blood, 1994).

Kod krava koje su primale energetski dodatak tokom peripartalnog perioda postpartalni negativni bilans energije bio je slabije izražen odnosno krave koje su primale dodatak brže su izašle iz stanja negativnog bilansa (Sladojević, 2012). Koncentracija insulina, glukoze i ukupnih proteina je bila značajno viša, a koncentracija BHBA i NEFA značajno niža 60. dana poslije teljenja. U ispitivanjima Prodanovića i saradnika (2013) kod krava rase holštajn, utvrđene su prosječne vrijednosti koncentracije glukoze, BHBA, ukupnih proteina, albumina, ukupnog bilirubina, uree i magnezijuma u krvnom serumu krava u periodu zasušenja, ranoj i kasnoj laktaciji koje su se nalazile u granicama fizioloških vrijednosti. U puerperijumu ustanovljene su značajno niže vrijednosti glikemije, proteinemije, albuminemije, koncentracije uree i magnezijuma u odnosu na antepartalne vrijednosti ($p<0,05$) pri čemu su vrijednosti glikemije i magnezijemije bile ispod donje fiziološke granice.

U našim ispitivanjima za BHBA je ustanovljeno signifikantno smanjenje ($p<0,01$) 60. dana poslije teljenja ($0,44\pm 0,10$ mmol/l) u odnosu na koncentraciju 30. dana poslije teljenja ($0,69\pm 0,12$ mmol/l), kao i signifikantno smanjenje ($p<0,05$) u

odnosu na 90. dan poslije teljenja ($0,61 \pm 0,19$ mmol/l). Variranje je bilo visoko i kretalo se od 18,65% 30. dana poslije teljenja do 30,38% 90. dana poslije teljenja. Međutim, između vrijednosti NEFA nije bilo značajnih razlika, a 30. i 60. dana ispitivog perioda bile su iste vrijednosti 0,28 mmol/l i više su nego 90. dana kada su zabilježene prosječne vrijednosti od 0,20 mmol/l.

Na koncentraciju ukupnih proteina u organizmu mogu da utiču mnoga fiziološka ali i različita patološka stanja. Fiziološka stanja su: graviditet, porođaj i laktacija. Povećanje koncentracije ukupnih proteina u krvnom serumu prate i neka oboljenja digestivnog sistema organa. Kod masne infiltracije jetre npr. smanjenje koncentracije ukupnih proteina je najčešće posljedica izrazite hipoalbuminemije (Jovanović i sar., 1987; Radojičić i sar., 1994). Koncentracija ukupnih proteina i albumina ima značaja za tzv. balans unosa proteina. Poznato je da je fiziološka granica za proteine 60-80 g/l; za albumine 28-43 g/l, kao frakcije proteina, koja se isključivo sintetise u jetri i zbog toga se koristi kao dobar pokazatelj stanja hepatocita. Fiziološke varijacije ukupnih proteina u krvi goveda u visokom graviditetu su $71-92,3 \pm 2,3$ g/l, a u puerperijumu $69,7 \pm 2,3$ $77,39$ g/l (Jovanović i sar., 1997).

Statističkom analizom ukupnih protein u 2. laktaciji, ustanovljeno je signifikantna povećanje ($p < 0,01$) ukupnih proteina 90. dana poslije teljenja ($91,71 \pm 8,27$ g/l) u odnosu na ukupne proteine 60. dana poslije teljenja ($80,05 \pm 7,04$ g/l). Variranje ukupnih proteina bilo je vrlo nisko i kretalo se od 5,21% 21. dana poslije teljenja, do 9,02% 90. dana poslije teljenja.

Slično tome, statističkom analizom ukupnih proteina u 3. laktaciji, ustanovljena je signifikantna povećanje ($p < 0,05$) ukupnih proteina 90. dana poslije teljenja ($71,50 \pm 9,01$ g/l) u odnosu na ukupne proteine 30. dana posle teljenja ($63,00 \pm 4,03$ g/l). Variranje ukupnih proteina bilo je nisko i kretalo se od 6,39% 30 dana poslije teljenja do 12,60% 90. dana poslije teljenja (90. dana laktacije). Dobijeni rezultati ispitivanja koncentracija albumina pokazuju da nema statistički značajnih razlika u ispitivanim periodima. Smanjena koncentracija serumskih albumina uz istovremeno povećanje koncentracije gama-globulina tipična je za podmakle subakutne i hronične hepatopatije.

U uslovima kvalitativno i kvantitativno neizbalansirane ishrane krava ustanovljeno je smanjenje sadržaja proteina u odnosu na vrijednosti koje se u literaturi navode kao fiziološke (Krnić i sar., 2003). Prema istom autoru postoji svrsishodnost i opravdanost ispitivanja metaboličkog profila u procjeni funkcionalnog stanja jetre u svim fazama proizvodnog i reproduktivnog ciklusa visokomliječnih krava. U ispitivanjima Jovanovića i saradnika (1995) kod svih oboljelih krava zastupljena je u najvećem procentu hipoalbuminemija (55,9%) a potom i hipergamaglobulinemija (38%). Koncentracija ukupnih proteina u krvi ispitivanih krava su u prosjeku u fiziološkim granicama unutar kojih je u kontrolnim grupama proteinemija vrlo značajno veća kod oteljenih (71,71 g/l) u poređenju sa zasušenim kravama (66,87 g/l) prema ispitivanjima Jovanovića i saradnika (1997).

Statističkom analizom koncentracije uree u krvnom serumu krava u 2. laktaciji ustanovljena je signifikantno najmanja koncentracija ($p < 0,01$) u nedelji prije teljenja ($4,71 \pm 0,91$ mmol/l) u odnosu na koncentraciju uree kod svih ostalih ispitivanih perioda (21. dan $6,02 \pm 1,00$; 60. dan $6,31 \pm 0,96$ i 90. dan $6,18 \pm 0,89$ mmol/l). Variranje koncentracije uree bilo je relativno nisko i kretalo se od 14,43% 90 dana poslije teljenja do 19,37% nedelju dana prije teljenja. U II grupi tj. u krava u 3. laktaciji vrijednosti su bile niže od nalaza I grupe (2. laktacija), ali nije bilo statistički značajnih razlika ni u okviru grupe.

Pri određenom intenzitetu razlaganja bjelančevina u predželucima kada stvorena količina uree u organizmu pređe tzv. bubrežni prag njena će se koncentracija u krvi povisiti. Intenzitet tih procesa zavisi od snabdjevenosti organizma energijom i proteinima. Disbalans energije i proteina u obroku se ogleda i u količniku ureje i proteina u krvi i u mlijeku (Forenbacher 1993). Fiziološka vrijednost koncentracije uree u krvnom serumu krava je u dosta širokim granicama i iznosi 2,0-6,0 mmol/l, i uglavnom je zavisna od unosa hranom. Prosječne vrijednosti koncentracije uree u krvnom serumu visoko gravidnih i svježe oteljenih junica su takođe u širokim rasponima ali stabilne i približno iste, 2,0-6,0 : 2,5-6,0 mmol/l (Lotthammer 1991; Blood 1994; Radojičić i sar., 2014). Fiziološke vrijednosti koncentracije uree u krvi goveda iznose 1,66-6,66 mmol/l, a navode se i vrijednosti 7,1-10,7 mmol/l (Krnić i sar.,

2003), dok Jovanović i sar. (1997) navode dosta različite vrijednosti, kao 1,66-6,66 mmol/l, zatim do 7,49 kao i 7,4-10,7 mmol/l.

Statističkom analizom koncentracije ukupnog bilirubina ustanovljena je signifikantno najveća koncentracija ($p < 0,01$) 90. dana poslije teljenja ($9,89 \pm 2,72$ $\mu\text{mol/l}$) u odnosu na koncentraciju ukupnog bilirubina kod svih ostalih ispitivanih grupa (nedelju dana prije $6,96 \pm 1,34$; 21. dan $6,80 \pm 1,31$ i 60. dana $6,67 \pm 2,27$ $\mu\text{mol/l}$). Variranje koncentracije ukupnog bilirubina bilo je povećano i kretalo se od 19,19% nedelju dana prije teljenja do 27,50% 90 dana poslije teljenja. U drugoj grupi krava, odnosno u 3. laktaciji vrijednosti su bile niže, ali nije bilo statistički značajnih razlika.

Preporučene vrijednosti se razlikuju čak i za pojedine faze proizvodnje, pa tako Jovanović i saradnici (1995) navode da su prosječne vrijednosti za ukupni bilirubin u krvi 10-15 dana prije teljenja oko $4,7$ $\mu\text{mol/l}$; 10 dana po teljenju $5,4$ $\mu\text{mol/l}$; u drugom mjesecu laktacije $4,0$ $\mu\text{mol/l}$, dok su u petom mjesecu laktacije oko $3,9$ $\mu\text{mol/l}$. Međutim, drugi autori navode nešto više vrijednosti kao fiziološke, tako za rani puerperijum kod krava je oko $9,0$ $\mu\text{mol/l}$, a kod junica oko $7,0$ $\mu\text{mol/l}$ (Blood, 1994; Kaneko, 1989; Lotthammer, 1991; Radojičić, 2013, Radojičić i sar., 2014; Šamanc i sar., 1993). Na bilirubinemiju veliki uticaj ima gladovanje ali i graviditet i porođaj (Jovanović i sar., 1997; Forenbacher, 1993). Nalazi hiperbilirubinemije mogu da ukažu na oštećenja hepatocita, već u vrijeme prvog puerperijuma kod visokomliječnih krava (Lotthammer, 1991; Radojičić i sar., 2001; Radojičić i sar., 2002). Hiperbilirubinemiju kod krava u različitim fazama proizvodnje može izazvati i neadekvatna ishrana po kvalitetu i kvantitetu (Krnić i sar., 1997). Na bilirubinemiju zdravih životinja utiče i prisilno gladovanje. Hiperbilirubinemija usljed gladovanja ustanovljena je i kod goveda (Forenbacher, 1993). Prosječna koncentracija bilirubina u ispitivanjima Radović Bise i saradnika (2011) kod krava simentalske rase bila je najviša kod grupe krava u ranom puerperijumu, pri čemu je ustanovljena visoko statistički značajna razlika u odnosu na krave u petom mjesecu laktacije i krava sa produženim servis periodom.

Takođe, povišena aktivnost AST iznad 90 IU/l nije od značaja samo za stanje hepatocita, već i za određene promjene vezane za druge parenhimatozne organe, kao i za skeletnu muskulaturu, ali se u hepatogramu visokomliječnih krava, istovremeni nalaz povišene aktivnosti AST, povećane koncentracije ukupnog bilirubina i, sa druge strane,

nalazi hipoglikemije i hipoalbuminemije, smatraju se relevantnim pokazateljima procjene funkcionalnog stanja hepatocita (Brugere-Picoux i Brugere, 1987; Jovanović i sar., 1987; Krnić i sar., 2000; Radojičić, 2013, 2000).

Prosječne vrijednosti aktivnosti AST kod ispitivanih grupa bile su ujednačene i nisu ustanovljene signifikantne razlike. Prosječne koncentracije AST u drugoj laktaciji su se kretale od $88,06 \pm 7,99$ IU/l nedelju dana prije teljenja do $92,48 \pm 10,81$ IU/l 21. dana laktacije. Ovo je bila i najviša vrijednost u obe ispitivane grupe, a najniža je bila 30. dana poslije teljenja u 3. laktaciji i iznosila je $84,71 \pm 19,89$ IU/l. Variranje je bilo umjereno i kretalo se od 9,08% nedelju dana prije teljenja do 12,83% 90. dana poslije teljenja. Na aktivnost AST utiče ishrana, naročito suficit proteina i energije, i deficit sirovih vlakana (Lotthammer; 1974, Brydl i sar., 2012; Radojičić i sar., 2014). Kod tek oteljenih krava koje su hranjene neizbalansiranim obrocima bila je povećana aktivnost AST (Krnić i sar., 1997). U kliničkim slučajevima mitohondrijska AST povećava se umjereno do izrazito pri nekrozi hepatocita, fibrozi jetre i amiloidozi. Određivanje aktivnosti AST danas se veoma često koristi samostalno ili sa drugim enzimima za dijagnostiku hepatopatija u sklopu "enzimskog profila jetre" (Forenbacher, 1993).

Koncentracija kalcijuma i fosfora u krvi su pokazatelji mineralnog metabolizma i mogu ukazati na njegov poremećaj. Apsolutni suficit kalcijuma u obroku, zajedno sa širokim odnosom Ca:P nepovoljno utiče na iskorištavanje oba elementa iz dostupnih izvora, što dodatno potencira i njihovo značajno izlučivanje putem mlijeka ili ugradnje u skelet teleta (Jovanović, 1987). U ispitivanjima kod simetalske rase krava Radović Bisa i saradnici (2011) su ustanovili da nepovoljan odnos kalcijuma i fosfora u obroku ima za posljedicu sužavanje odnosa kalcemije i fosfatemije, što je posebno uočljivo kod krava sa produženim srevis periodom. Poslije resorpcije kalcijum se nalazi u krvnoj plazmi u koncentraciji 2,24 do 2,94 mmol/l (Lotthammer 1991; Blood 1994; Kaneko 1989; Radojičić i sar., 2014). Koncentracija kalcijuma je pod kontrolom različitih faktora, kao što su ishrana, dob životinje, fiziološko stanje (graviditet, laktacija) i stanje hormonskog balansa, a po nekim autorima (Kaneko i sar., 2008; Jazbec, 1990) fiziološke granice mogu biti i šire od 2,0 do 3,1 mmol/l.

Jovanović i saradnici (1987) u svojim ispitivanjima navode da nema promjene kalcemije kod krava u graviditetu i u toku rane laktacije odnosno u periodu 10 do 15

dana pred teljenje i vrijednosti su 2,5 mmol/l, a 10. dana poslije teljenje 2,6 mmol/l. Iste vrijednosti su bile i kod krava u 2. i 5. mjesecu laktacije. Vujović i saradnici (1968) ukazuju da je kod krava u puerperijumu u januaru kalcemija bila 2,22 mmol/l a u aprilu 2,62-2,87 mmol/l, što je približno kao u junu mjesecu. Poslije porođaja koncentracija kalcijuma se smanjuje u krvi kod krava zbog pojačane aktivnosti mliječne žlijezde, ali i zbog nivoa hormona paratireoidne žlijezde i posljedično nedovoljne mobilizacije kalcijuma iz kostnih struktura (Matarugić i sar., 2007). Koncentracija i međusobni odnos kalcijuma i fosfora u krvi smatraju se osnovnim indikatorima uravnoteženog mineralnog statusa krava (Ivanov i sar., 2005). Tokom završne faze graviditeta i peripartalnog perioda dolazi do značajnih promjena koncentracije kalcijuma i fosfora, kao posljedica mineralizacije tkiva fetusa, preuzimanje značajnih količina ovih minerala u mliječnoj žlijezdi i njihove sekrecije putem mlijeka (Ivanov, 1988). Opadanje njihove koncentracije je posebno izraženo u periodu od nekoliko dana prije do nekoliko dana poslije teljenja, da bi se potom stabilizovalo kao rezultat jake homeostatske kontrole održavanja njihovih fizioloških koncentracija u krvi (Radojičić Sonja, 1995).

U našim ispitivanjima nije bilo statistički značajne razlike u koncentraciji Ca u ispitivanim periodima. Najniža vrijednost je bila 60. dana laktacije 2,20 mmol/l, a što je u skladu sa ispitivanjima mnogih autora.

U održavanju homeostaze fosfora učestvuje veliki broj mehanizama. Vrijednosti fosfata prema različitim autorima kreću se od 1,6 do 2,3 mmol/l (Lotthamer 1991; Kaneko i sar., 2008; Jovanović i sar., 1987). Na ovo utiče ishrana, fiziološko stanje (graviditet, laktacija), godišnje doba. Prema Jovanoviću i saradnicima (1987) fosfatemija ne varira značajnije u toku graviditeta i laktacije.

Radojičić Sonja 1995) je u svojim istraživanjima utvrdila niži nivo fosfatemije od 1,6 mmol/l kod krava prvog dana poslije teljenja, kao redovan nalaz, a 2-5. dana po teljenju nivo fosfatemije bio u fiziološkim granicama preko 1,78 mmol/l. Najniže koncentracije neorganskog fosfora u krvnom serumu visoko mliječnih krava u ranom proljeću iznose 1,62 mmol/l, a u zimskom periodu značajno više i rijetko ispod fizioloških vrijednosti (Ivanov, 1988). Gregorović i saradnici (1986) smatraju da je hipofosfatemija najvažniji zdravstveni problem u govedarskoj proizvodnji i da se kod 41% krava koncentracija fosfora nalazi na donjoj fiziološkoj vrijednosti odnosno na

1,69 mmol/l, i to kod onih sa najboljom proizvodnjom mlijeka. Fosfor ima značajnu ulogu u regulisanju brojnih metaboličkih procesa posebno ugljenih hidrata (Goff, 2006). Homeostatska kontrola održavanja fosfatemije je nešto slabija u odnosu na održavanje kalcemije, kao posljedica učešća fosfora u procesima energetskeg metabolizma, zbog čega je hiposfatemija čest nalaz tokom peripartalnog perioda, ali i kasnije tokom laktacije.

U našim ispitivanjima nije bilo statistički značajne razlike u koncentraciji P u ispitivanim periodima. Ista vrijednost je bila nedelju pred teljenje i 21. dana laktacije i iznosila je 1,98 mmol/l, a najviša 90. dana laktacije 2,20 mmol/l, što je u skladu sa ispitivanjima drugih autora.

Magnezijum je usko povezan sa nivoom kalcijuma i fosfora. Oko 70% od ukupne količine magnezijuma u tijelu nalazi se u skeletu, dok preostali dio koji je distribuiran u mekim tkivima i tjelesnim tečnostima je od kritičnog značaja za opšte stanje životinje. Magnezijum je važan za efikasan metabolizam ugljenih hidrata i masti, i uključen je u disanje i mnoge druge reakcije na nivou ćelija. Pri nedovoljnom unošenju količina magnezijuma kod mladih životinja može doći do opsežne mobilizacije (60%) magnezijuma iz kostiju. Nasuprot ovim, u odraslih životinja koje pate od nedostatka magnezijuma, ne dolazi do njegove mobilizacije iz kostiju. Velike količine magnezijuma prisutne su u pljuvački i sokovima za varenje, a resorpcija endogenog magnezijuma u velikoj mjeri utiče na homeostazu magnezijuma. Homeostaza magnezijuma je regulisana istovremeno homeostazom kalcijuma (Goff, 2005).

U našim ispitivanjima nije bilo statistički značajne razlike u koncentraciji Mg u ispitivanim periodima. Najniža vrijednost je bila 21. dana laktacije 1,14 mmol/l, a najviša nedelju pred teljenje i 90. dana laktacije 1,65 mmol/l što je u skladu sa ispitivanjima drugih autora.

6.3. Organski sastojci u mlijeku

Energetski ali i nutritivni status krava, može se uspješno procijeniti na osnovu koncentracije i odnosa organskih sastojaka mlijeka (mliječne masti, laktoze, proteina i uree), kao i ostalih dijagnostičkih metoda (određivanje vrijednosti biohemijskih parametara krvi, koncentracije i odnosa pojedinih metabolički aktivnih hormona, ocjena tjelesne kondicije i analize obroka).

Prosječna proizvodnja mlijeka krava simentalke rase u opštini Gradiška (Republika Srpska) u prvoj laktaciji je 4194,16 kg mlijeka. Najveća proizvodnja bila je u trećoj laktaciji 4484,04 kg (Važić i sar., 2005a). Prema Važiću i saradnicima (2005b) najviša prosječna proizvodnja mlijeka za 305 dana u Kozarskoj Dubici (Republika Srpska) u trećoj laktaciji je 5726,46 kg, sa prosječnim sadržajem mliječne masti 3,89 i pokazivao je tendenciju rasta sa narednom laktacijom. U ispitivanjima Nikitović Jelene (2012) najveća prosječna dnevna proizvodnja mlijeka na jednoj farmi u Republici Srpskoj, bila je u proljeće i iznosila je $24,43 \pm 5,22$ l, ali nije bilo statistički značajne razlike u proizvodnji mlijeka između 60. i 150. dana laktacije. Prosječna proizvodnja mlijeka simentalca u centralnoj Srbiji iznosi 4023 kg, a u Vojvodini 4317 kg (Čobić i Antov, 1996).

Primjetno je da je najviša proizvodnja mlijeka u 2. laktaciji u našim ispitivanjima bila u periodu 60. dana odnosno $23,00 \pm 3,43$ kg, a najmanja u periodu 90. dana $21,00 \pm 2,21$ kg. Između ispitivanih perioda nije bilo statistički značajne razlike u proizvodnji mlijeka. U trećoj laktaciji najviša proizvodnja je bila u periodu 30. dana laktacije ili $24,10 \pm 5,80$ kg, zatim se postepeno smanjivala, tako da je 60. dana iznosila 22,05 kg, a 90 dana 20,27 kg.

U četvrtoj laktaciji ustanovljeno je značajno smanjenje ($p < 0,01$) količine mlijeka 90. dana poslije teljenja ($19,30 \pm 2,75$ kg) u odnosu na 30. dana poslije teljenja ($23,50 \pm 2,51$ kg), takođe količina mlijeka 30. dana poslije teljenja je signifikantno veća ($p < 0,05$) u odnosu na količinu mlijeka 60. dan poslije teljenja ($20,40 \pm 2,00$ kg).

Mliječna mast se sintetiše u mliječnoj žlijezdi i potiče od nižih masnih kiselina. Šamanc i sar. (2006) navode da ako je koncentracija proteina u mlijeku viša od 32,0 g/l a koncentracija mliječne masti niža od 45,0 g/l snabdjevanje energijom je

zadovoljavajuće, a ako se koncentracija mliječne masti povisi uz istovremeno smanjenje koncentracije proteina u mlijeku, to znači da kod životinja u zapatu postoji energetski manjak. Pri tome treba imati u vidu faktore koji utiču na sadržaj mliječne masti, kao što su rasa goveda, sastav obroka, stadijum laktacije, starost krava i godišnje doba. Perišić i saradnici (2002) su ustanovili da je uticaj uzrasta pri prvoj oplodnji na proizvodne osobine krava simentalke rase (prinos mlijeka i mliječne masti) visoko značajan u prvoj laktaciji, dok u drugoj i trećoj laktaciji uzrast nije imao značajnog uticaja. Takođe, Kirovski i saradnici (2012) navode da se prosječna koncentracija mliječne masti kod krava holštajn rase kreće između 3,2 i 3,6 %, dok je kod krava simentalke rase nešto viša i kreće se između 3,6 i 4,0 %. Međutim, Savić i saradnici (2010, 2011) su u svojim istraživanjima sprovedenim na kravama holštajn rase ustanovili prosječne koncentracije mliječne masti od 36,47 do 38,88 g/l.

Analizirajući dobijene rezultate proizvodnje mliječne masti, vidimo da je najveća proizvodnja u 2. zatim 3. i 4. laktaciji bila u periodu 90. dana odnosno u 3. 40,95±4,05 g/l; 4. 40,80±2,80 g/l; i u 2. 40,05±2,20 g/l.

U Srbiji u 2005. godini kod umatičenih krava simentalke rase prosjek mliječne masti je bio 3,91% u proizvodnji mlijeka od 4267,38 kg i 315 dana laktacije (Skalicki i sar., 2007). Ukoliko je obrok bogat sirovim vlaknima, dolazi do stvaranja većih količina sirćetne kiseline i do povišenja koncentracije mliječne masti. Koncentracije masti tokom jutarnje i večernje muže su bile u fiziološkim granicama za holštajn rasu krava, a koncentracije proteina su bile nešto niže od preporučenih, dok je koncentracija uree u jutarnjim uzorcima bila značajno viša nego u večernjim (Kirovski i sar., 2013). Ovo se može objasniti kao posljedica intervala između unosa hrane, koji je duži od večernje do jutarnje muže. Tako da deficit energije u ishrani krava ima veliki uticaj i na sastav mlijeka.

Koncentracija ili sadržaj bjelančevina u mlijeku zavisi od više činilaca, prevashodno od rase, zatim ishrane, faze laktacije, starosti krave, sezone. U rumenu proteini se razlažu prvo do aminokiselina, zatim do amonijaka koji se ugrađuje u sopstvene proteine, koji se kasnije razlažu u crijevima i predstavljaju izvor aminokiselina za organizam preživara (Broderick i Clayton, 1997; Šamanc i sar., 2006; Savić i sar., 2010; Kirovski i sar., 2012).

Sadržaj bjelančevina u sve tri grupe i svim ispitivanim periodima je bio prilično konstantan i nije bilo značajnih razlika. Najniža vrijednost je bila 30. dana u drugoj laktaciji $32,70 \pm 3,08$ g/l, a najviša u 90. dana u 3. laktaciji $33,95 \pm 2,30$ g/l.

Krave holštajn rase imaju nešto nižu prosječnu koncentraciju proteina u mlijeku u odnosu na krave simentalne rase (3,06 naprema 3,4%) (Kirovski i sar., 2012). U skladu sa ovim navodima su i rezultati Savića i saradnika (2010, 2011), koji su u istraživanjima sprovedenim na kravama holštajn rase ustanovili prosječne koncentracije proteina u mlijeku od 30,17 do 30,33 g/l. Poznato je da je sadržaj proteina u kolostrumu značajno viši u odnosu na mlijeko u kasnijim fazama laktacije, što je posljedica visokog sadržaja imunoglobulina. U kasnijim fazama laktacije ne dolazi do značajnijih varijacija koncentracije proteina, iako postoji trend postepenog porasta koncentracije proteina prema kraju laktacije (Savić i sar., 2013). Povišenje sadržaja proteina u mlijeku, uz izmjenu odnosa pojedinih frakcija (smanjenje relativne zastupljenosti kazeina i proteina mliječnog seruma i povišenje relativne zastupljenosti proteina mlijeka porijeklom iz krvi) redovan je pratilac mastitisa (Hortet i Seegers, 1998). Snižavanje sadržaja proteina u mlijeku ispod 3,2%, a posebno ispod 3,1%, prema Orešniku (2009) predstavlja pokazatelj grešaka u ishrani krava i može biti posljedica premale količine proteina u obroku, prevelike količine sirovih proteina u obroku (alkaloza), prevelike svarljivosti unijetih proteina, nepovoljnog odnosa energije i proteina u obroku koji mikroorganizmima buraga ne dozvoljava iskorištavanje unijetih proteina, acidoze buraga zbog nedostatka sirovih vlakana u obroku, nedovoljnog unosa kobalta i cinka za mikroorganizme buraga, nedovoljnog unosa vode, te prebrze promjene vrste, kvaliteta i količine pojedinih hraniva u sastavu obroka. Sadržaj proteina u mlijeku je u pozitivnoj korelaciji sa energetske statusom grla i unosom energije putem obroka (Magdus i sar., 1988). U prilog uticaju energetske statusa krava na sadržaj proteina u mlijeku govore i rezultati do kojih su došli Fulkerson i saradnici (2001), koji su kod krava sa niskim sadržajem proteina u mlijeku (2,89%) ustanovili intenzivniji i produžen NEB u odnosu na krave kod kojih je sadržaj proteina u mlijeku bio unutar fizioloških granica (3,10%).

Kampl (2005) i Šamanc i sar. (2006) navode da se snabdjevenost energijom može smatrati zadovoljavajućom ukoliko je koncentracija proteina u mlijeku viša od 32 g/l, a koncentracija mliječne masti između 35 i 45 g/l. Snižavanje koncentracije proteina uz

istovremeno povišenje koncentracije mliječne masti iznad navedenih granica ukazuje na postojanje deficita energije i lipomobilizaciju, a istovremeno snižavanje koncentracija proteina i mliječne masti ispod 32, odnosno 35 g/l da krave nisu hranjene u skladu sa proizvodnim potrebama. Istovremeno povišenje koncentracije proteina u mlijeku i mliječne masti ukazuje na preobilnu ishranu kabastim hranivima i često se pojavljuje kod krava na kraju laktacije, a povišenje koncentracije proteina, uz opadanje koncentracije mliječne masti na preobilnu ishranu koncentrovanim hranivima, odnosno debljanje krava (Kirovski i sar., 2012). Kao indikator energetskeg statusa pojedinačnog grla koristi numerička vrijednost odnosa mliječna mast: proteini (OMP), kao relativni pokazatelj. Značaj određivanja vrijednosti OMP u rutinskoj dijagnostici na nivou farme je, pored procjene iskoristivosti obroka i snabdjevenosti energijom na nivou zapata, i u mogućnosti da se pojedinačna grla sa visokim vrijednostima OMP pravovremeno otkriju i preduzmu odgovarajuće preventivne mjere.

Odnos koncentracije uree i proteina u mlijeku predstavlja indikator snabdjevenosti energijom i proteinima putem obroka. Smatra se da su krave adekvatno snabdjevene energijom i proteinima, kao i da je njihov međusobni odnos optimalan, ukoliko je koncentracija uree u mlijeku ispod 4 mmol/l, a koncentracija proteina iznad 32 g/l. Ukoliko je sadržaj energije u obroku djelimično ili privremeno smanjen koncentracija proteina ostaje na vrijednostima iznad 32 g/l, dok se koncentracija uree povećava iznad 4 mmol/l. Ovo je čest slučaj kod naglog prelaska sa jednog tipa obroka na drugi, posebno kada se radi o obroku baziranom na upotrebi zelene kabaste hrane, koja je bogata proteinima, a siromašna u energiji i sirovim vlaknima. U slučaju da obrok sadrži dovoljno proteina, ali je deficitaran u energiji (relativni suficit proteina), koncentracija proteina opada ispod 30 g/l, a koncentracija uree se održava između 5 i 10 mmol/l. Opadanje koncentracije uree i proteina ispod 4 mmol/l, odnosno 32 g/l ukazuje na postojanje deficita energije i proteina u obroku, koje za posljedicu ima pojavu metaboličkih poremećaja kod životinja koje se hrane takvim obrokom (Kampl, 2005; Šamanc i sar., 2006). Mnogi istraživači navode pozitivnu povezanost između visine proizvodnje mlijeka i koncentracije uree u mlijeku. Sadržaj uree u mlijeku značajno varira s obzirom na stadijum laktacije i sezonu. Sa porastom redosljeda laktacije koncentracija uree se povećava (Prpić i sar., 2005).

Dobijeni rezultati uree u mlijeku ukazuju da je najviša koncentracija bila u drugoj laktaciji u periodu 60. dana $2,46 \pm 0,36$ mmol/l, a najniža u trećoj laktaciji u periodu 60. i 90. dana $2,07 \pm 0,38$ mmol/l, ali bez značajnih razlika unutar ispitivanih grupa.

Iako se razlike preporučenih vrijednosti, posebno sadržaja uree, razlikuju po različitim autorima, pa tako Jonker i sar. (1999), navode vrijednosti od 10 do 16 mg/dl; Kohn i sar. (2004) 7 do 19 mg/dl; Babnik i saradnici (2004) 15 do 30 mg/dl, ipak one predstavljaju pokazatelj određenog snabdjevanja životinja sirovim proteinima i energijom. Pa tako, ako se sadržaj proteina u mlijeku kreće u granicama (3,2% do 3,8%) i sadržaj uree između 15 mg/dl i 30 mg/dl, smatra se da je snabdjevanje krava sirovim proteinima i energijom optimalno. Najveći dio uree u mlijeku potiče iz krvi, dok se manji dio sintetise u tkivu mliječne žlijezde, zbog čega je njena koncentracija u mlijeku nešto viša u odnosu na krv. Fiziološka koncentracija uree u mlijeku kreće u rasponu od 2 do 6 mmol/l. Najveći uticaj na koncentraciju uree u mlijeku ima sastav obroka, a potom godišnje doba, stadijum laktacije, starost i tjelesna masa krava (Kirovski i sar., 2012). Koncentracija uree u mlijeku povećava se sa sadržajem proteina u obroku, posebno ukoliko je obrok istovremeno deficitaran u energiji, odnosno ukoliko postoji apsolutni ili relativni suficit proteina, što je čest slučaj pri ljetnoj ishrani krava velikim količinama zelene kabaste hrane (Savić i sar., 2010).

Ukoliko se krave u završnoj fazi laktacije hrane obrokom baziranim na kabastim hranivima, koji sadrži veliku količinu proteina nerazgradivih u buragu, koncentracija uree u mlijeku se održava na visokom nivou, a prati je i povišena koncentracija mliječne masti (Kirovski i sar., 2012). Krave u prvoj laktaciji imaju nešto niže vrijednosti koncentracije uree u mlijeku, jer još uvijek nisu završile porast, te efikasnije iskorištavaju aminokiseline iz obroka (Wood i sar., 2003). Povišena koncentracija uree je indikator deficita energije u organizmu, jer ukazuje na pojačan intenzitet ureageneze u jetri, kao procesa koji zahtijeva potrošnju velike količine energije i produbljuje već postojeći negativan bilans energije. Porast koncentracije uree u krvi nepovoljno utiče na odvijanje metaboličkih procesa u jetri, jer se potencira proces lipomobilizacije, kada to fiziološki i nije neophodno (Oetzel, 2004). S druge strane, poznato je da je period rane laktacije karakterističan i po redovnom prisustvu zamašćenja jetre, zbog čega je

sintetska i detoksikaciona funkcija jetre ograničena, te dotok velike količine amonijaka često prevazilazi funkcionalni kapacitet jetre i dovodi do trovanja, a nekada i do uginuća životinja sa simptomima hepatične kome (Šamanc, 2009).

U koncentraciji suve materije između ispitivanih perioda unutar grupa, nije bilo značajnih razlika. Suva materija je bila konstantna i nije oscilirala. Najviša vrijednost SM je bila u drugoj laktaciji 90. dana $135,80 \pm 7,19 \text{g/l}$, a najniža u trećoj laktaciji 90. dana $129,00 \pm 9,19 \text{g/l}$.

7. ZAKLJUČAK

Na osnovu dobijenih rezultata ispitivanja hormona tireoidee, biohemijskih pokazatelja metabolizma i organskih sastojaka mlijeka krava rase simentalac u drugoj, trećoj i četvrtoj laktaciji, može se zaključiti slijedeće:

1. Kod krava u 2. laktaciji u ispitivanim periodima (peripartalni period, 60. i 90. dan laktacije) nisu ustanovljene statistički značajne razlike u koncentraciji hormona tireoidee (T_3 i T_4). Međutim, najviše koncentracije hormona tireoidee dobijene su nedelju dana prije teljenja, a najniže 21. dana nakon teljenja, dok su 60. i 90. dana laktacije te vrijednosti bile približno iste.
2. Određivanjem biohemijskih pokazatelja metabolizma krava u 2. laktaciji utvrđeno je statistički značajno variranje u koncentraciji glukoze, uree, ukupnih proteina i ukupnog bilirubina: koncentracija glukoze je bila najviša nedelju dana prije teljenja, dok je koncentracija uree u istom periodu bila najniža; koncentracije ukupnih proteina i ukupnog bilirubina su bile najviše i neznatno iznad fiziološke granice u 90. danu laktacije.
3. Koncentracije BHBA, NEFA i aktivnosti AST su neznatno varirale u okvirima fizioloških vrijednosti u svim ispitivanim periodima krava 3. laktacije. Međutim, koncentracija BHBA je bila statistički značajno niža 60. dana u

odnosu na koncentraciju 30. dana laktacije, što ukazuje da je u tom periodu uspostavljen najbolji energetska status krava 3. laktacije.

4. Prosječna količina mlijeka je bila najviša u 2. laktaciji 60. dana, a u 3. i 4. laktaciji 30. dana. U 4. laktaciji je ustanovljeno statistički značajno smanjenje količine mlijeka 90. dana u odnosu na 30. dan laktacije.
5. Dobijene vrijednosti nivoa hormona tireoidee, biohemijskih pokazatelja metabolizma i organskih sastojaka mlijeka ukazuju na uravnotežan metabolizam kod krava u 2. laktaciji, u svim ispitivanim periodima.
6. Iz utvrđenih koncentracija organskih sastojaka mlijeka, posebno proteina i uree, može se zaključiti da su krave u 4. laktaciji bile dobrog energetskog statusa, bez obzira na fazu ispitivane laktacije.

8. SPISAK LITERATURE

1. Babnik, D., Verbič, J., Podgoršek, P., Jeretina, J., Perpar, T., Logar, B., Sadar, M., Ivanovič, B. (2004): Priročnik za vodenje prehrane krav molznic ob pomoči rezultatov mlečne kontrole, (Raziskave in študije, 79). Ljubljana: Kmetijski inštitut Slovenije.
2. Bauman, D.E. Griinari, J.M. (2000): Regulation and nutritional manipulation of milk fat. Low-fat milk syndrome. *Adv Exp Med Biol*, 480: 209-216.
3. Bauman, D.E. Griinari, J.M. (2003): Nutritional regulation of milk fat synthesis. *Anu Rev Nutr* 23: 203-207.
4. Beerda, B., Kornalijnslijper, J. E., Van der Werf J. T. N., Noordhuizen-Stassen, E. N., Hopster H. (2009): Effects of Milk Production Capacity and Metabolic Status on HPA Function in Early Postpartum Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 87:2094–2102.
5. Belić B, Cincović MR, Krčmar Lj, Vidović B, (2011): Reference values and frequency distribution of hematological parameters in cows during lactation and in pregnancy, *Contemporary agriculture*, 60, 145-51
6. Belić B., Cincović M.R., Popović Vranješ Anka, Pejanović R., Krajinović M. (2006): Metaboličke promjene i iskorištavanje metabolita u proizvodnji mlijeka kod krava u toplinskom stresu. *Mljekarstvo*, 61(4): 309-318.

7. Bell, AW. (1995): Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation, *J Anim Sci*, 73, 2804-2819.
8. Bell, AW., Bauman, D. E. (1997): Adaptations of glucose metabolism during pregnancy and lactation. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*. 1997 Jul;2(3):265-78
9. Bergman E. (1973): Glucose metabolism in ruminants as related to hypoglycemia ketosis. *Cornell Vet.*, 63, 341.
10. Bergman, N., V. Roe and K. Kon (1966): Quantitative aspects of propionate metabolism and gluconeogenesis in sheep. *A. J. Physiology*, 211, 793-799.
11. Bernal, J., De Groot, L.J. (1980): Mode of action of thyroid hormones, U: The thyroid gland (Ed. M. DeVisscher), Raven Press, New York, 123-143.
12. Berry S.D.K., Howard R.D., Jobst P.M., Jiang H., Akers R.M. (2003): Interactions between the ovary and the local IGF-I axis modulate mammary development in prepubertal heifers. *Journal of Endocrinology*, 177 (2), 295-304.
13. Bertoni G., Lambordelli R., Piccioli-Capelli J., Blum J. (2002): Basal levels and diurnal variation of some hormones and metabolites in blood of dairy cows treated daily with rbST in early and late lactation. *Ital. Journal Anim. Sci.* 1:127-141.
14. Biderman, A., Verbič, J., Logar, B. (2007): Povezava med razmerjem med maščobami in beljakovinami v mleku v obdobju po telitvi in dobo med telitvama pri kravah molznicah. Zbornik predavanj 16. mednarodno znanstveno posvetovanje o prehrani domačih živali "Zadravčevi-Erjavčevi dnevi", Radenci, 8-9, novembar, 2007, Murska Sobota, Kmetijsko gozdarska zbornica Slovenije, Kmetijsko gozdarski zavod, 245-254
15. Bitman J., Kahl S., Wood D. L., Lefcourt A.M. (1994): Circadian and ultradian rhythms of plasma thyroid hormone concentrations in lactating dairy cows. *A. J. Physiology*, 266 (6), 1797-1803.
16. Bitman J., Tao H., Akers RM. (1984): Triiodothyronine and thyroxine during gestation in dairy cattle selected for high and low milk production. *J. Dairy Sci.*, 67 (11), 2614-2619.
17. Bjerre-Harpoth V., Frigens N.C., Thorup V.M., Loesn T., Damgaard B.M., Ingvarsten K.L., Moyes K.M. (2012): Metabolic and production profiles of dairy cows in response to decreased nutrient density to increase physiological imbalance at different stages of lactation. *J. Dairy Sci.* 95(5): 2362-2382.

18. Blood C.D., (1994): Pocket Companion of Veterinary Medicine. Chapter VII. Baillere Tindall, ISBN 0-7020-1695-0.
19. Blum J.W., P.Kunz, H. Leuneberger, K. Gautschi, N. Keller (1983): Thyroid hormones, blood plasma metabolites and haematological parameters in relationship to milk yield in Dairy cows. *Animal Prod.*, 36, 39-104.
20. Bonczek RR, Young CW, Wheaton JE, Miller KP, (1988): Responses of somatotropin, insulin, prolactin and thyroxine to selection for milk yield in holsteins, *J Dairy Sci*, 71, 2470-2476.
21. Broderick, G.A., Clayton, M.K. (1997): A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. *J. Dairy Sci.*, 80: 2964-71.
22. Brugere-Picoux Jeane, H. Brugere (1987): Particularites de la biochemie clinique des ruminants. *Rec. Vet. Med.*, 163 (11), 1043-1053.
23. Brydl E, Konyves L., Jurkovich V., Tirian A. (2008): Incidence of subclinical metabolic disorders in Hungarian dairy herds during the last decade, *Hungarian Veterinary Journal Supplement 1*. p 129-134,
24. Brydl E., Konyves L., Jurkovich V., Kovacs, P., Solymosi, N., Tirian A. (2012): Incidence of subclinical metabolic disorders in Hungarian dairy herds during the last decade, *The First international symposium on animal science, University of Belgrade, Faculty of Agriculture, November 8-10, 2012*, 694-703.
25. Bugarski D. (2002): Koncentracije insulina, insulinu sličnog faktora rasta-I i parametara pokazatelja funkcionalnog stanja jetre u krvi zdravih i ketoznih krava. *Magistarska teza. Univerzitet u Beogradu.*
26. Cincović M.R., Belic B., Radojicic B., Hristov S., Đoković R. (2012): Influence of lipolysis and ketogenesis to metabolic parameters in dairy cows during periparturient period. *Acta veterinaria (Beograd)*, 62 (4): 429-444.
27. Cincović M.R. (2013): Patofiziološka procena peripartalnog metaboličkog stresa kod visokoproduktivnih krava upotrebom endokrinih i metaboličkih kriterijuma. *Doktorska disertacija, Univerzitet u Novom sadu, Poljoprivredni fakultet, Departman za veterinarsku medicinu.*

28. Cincović M.R., Belić B., Stevančević M., Lako B., Toholj B., Potkonjak A. (2010): Diurnal variation of blood metabolite in dairy cows during heat stress. *Contemporary agriculture*, 59 (3-4): 300-305.
29. Cincović M.R., Belić B., Vidović B., Krčmar L.J. (2011): Reference values and frequency distribution of metabolic parameters in cows during lactation and in pregnancy. *Contemporary agriculture*, 60 (1-2): 175-122.
30. Čobić T., Antov G. (1996): *Govedarstvo*. Biblioteka Matice srpske, Novi Sad, S PRINT, Novi Sad. ISBN 86-80735-66-3.
31. Coffey M.P., Simm G., Oldham J.D., Hill W.G., Brotherstone S. (2004): Genotype and diet effects on energy balance in the first three lactation of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87: 4318-4326.
32. Cohick W. S. (1998): Role of the Insulin-like Growth Factor and Their Binding Proteins in Lactation. *J. Dairy Sci.*, 81, 1769-1777.
33. Cohick W.S., McGuire M.A., Clemmons D.R., Bauman D.E. (1992): Regulation of insulin-like growth factor-binding proteins in serum and lymph of lactating cows by somatotropin. *Endocrinology*, 130 (3), 1508-1514.
34. Collard B.L., Boetcher P.J., Deckers I.C.M., Peticlerc D., Schaeffer L.R. (2000): Relation between energy balance and health of dairy cattle in early lactation. *J. Dairy Sci.* 83: 2683-2690.
35. Dann HM, Drackley JK. (2005): Carnitine palmitoyltransferase I in liver of periparturient dairy cows: effects of prepartum intake, postpartum induction of ketosis, and periparturient disorders. *J Dairy Sci* 88(11):3851–3859.
36. Đoković, R., Kurubić V. (2000): Metabolički profili visoko-produktivnih mlečnih krava. *Zimska škola za agronome, Zbornik radova*, vol. 4, br. 4, 17-29, Čačak.
37. Đoković, R., Kurcubic, V., Ilic, Z., Cincovic M., Fratric N., Stanimirovic Z., Petrovic D.M., Petrovic P.M. (2013): Evaluation of metabolic status of Simmental dairy cows in early and mid lactation. *Animal Science Papers and Reports*, Institut of Genetics and Animal Breeding, Jastrzebiec, Poland, Vol. 31, No 2, p 101-110.
38. Đoković, R., Šamanc, H., Nikolic, Z., Boskovic, Bogosavljevic S., (2007): Changes in blood values of glucose, insulin and inorganic phosphorus in healthy and ketotic cows after i.v. infusion of propionate sodium solution. *Acta veterinaria Brno*, 76: 533-539,

39. Đoković Radojica (1998): Koncentracija lipida, trijodtironina, tiroksina, insulina i kortizola u krvi i histološke promjene u jetri kod krava u peripartalnom periodu. Doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu.
40. Drackley JK, Overton TR, and Douglas GN, (2001): Adaptations of glucose and long –chain fatty acids metabolism in liver of dairy cows during the periparturient period, *J Dairy Sci*, 84 (E: Supl) E100-E112.
41. Drackley JK. (1999): Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? *J Dairy Sci*, 82:2259–2273.
42. Đurđević Đ., H. Šamanc, V. Stojić (1985): The effect on the ACTH concentration of glucose, thyroxine, triiodothyronine and cortisol in the blood of ketotic cows. *Acta Veterinaria*, 35 (1-2), 1-5.
43. Đurić S.D. (1985): Osnovi Neuroendokrinologije. Zavod za udžbenike i nastavna sredstva, Beograd.
44. Emery RS, Liesman JS, Herdt TH, (1992): Metabolism of long chain fatty acids by ruminant liver, *J Nutr*, 122, 832-837.
45. Filipović, N., Stojević, Z., Bačar-Huskić, L. (2007): Energetski metabolizam u krava tijekom razdoblja rane laktacije. *Praxis veterinaria* 55 (1-2) 91-100.
46. Forenbacher S. (1993): Klinička patologija probave i mjene tvari domaćih životinja. Zagreb.
47. Frigens N.C.(2003): Body lipid reserves and the reproductive cycle in towards a better understanding. *Livest. Prod. Sci.* 83:219-236.
48. Fulkerson, W.J., Wilkins, J., Dobos, R.C., Hough, G.M., Goddard, M.E., Davidson, T. (2001): Reproductive performance in Holstein-Friesian cows in relation to genetic merit and level of feeding when grazing pasture. *Anim Sci*, 73:397-406
49. Furll, M., Schafer, M. (1993): Niacinwirkung bei milchkuhenwahrend futterrntzug. *Mh. Vet. Med.* 48, 13-15.
50. Gluckman P.D., Breir B.H., Davis S.R. (1987): Physiology of the somatotropic axis with particular reference to the ruminants *J. Dairy Sci.*, 70, 442-446.
51. Goff J.P. (2005): Macromineral physiology and application to the feeding of the dairy cows for prevention of milk fever anth other periparturient meneral disorders. *Anima Feed Science and Technology*, 126: 237-257.

52. Goff J.P. (2006): Major Advances in our Understanding of Nutritional Influences on Bovine Health. *J. Dairy Sci.*, 89: 1292-1301.
53. Gordon, J. (1985): Liver function and morphology associated with fatty liver and ketosis in dairy cows. Academic dissertation, College of Veterinary Medicine, Helsinki.
54. Gregorović, V., Jazbec, I., Klinkon, M., Skušek, F., Zadnik, T. (1986): Hematološki i biohemijski profil kod krava muzara u SR Sloveniji, *Veterinarski glasnik*, 40, 7-8, 485-494.
55. Grohn, J. (1985): Liver function and morphology associated with fatty liver and ketosis in dairy cows. Academic dissertation, College of Veterinary Medicine, Helsinki.
56. Grizard J, Dardeved D, Papet I, Massoni L, Mirand P, Attaix D, Tauveron I, Bonin D, Arnal M, (1995): Nutrient regulation of skeletal muscle protein metabolism in animals. The involvement of hormones and substrates, *Nutr Res Rev*, 8, 67-97.
57. Gross J., van Dorland H.A., Bruckmaier R.M., Schwarz F.J. (2011): Performance and metabolic profile of dairy cows during a lactation and deliberately induced negative energy balance with subsequent realimentation. *J. Dairy Sci.*, 94: 1820-1830.
58. Grum D. E., Drackley J.K., L. R. Hansen, J. D., Cremin (1996): Production, digestion and hepatic lipid metabolism of dairy cows fed increased energy from fat or concentrate. *J. Dairy Sci.*, 79, 1836-1849.
59. Grummer R.R. (1995): Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. *J. Animal Sci.*, 73 (9), 2820-2833.
60. Guretzky NA, Carlson DB, Garrett JE, Drackley J.K. (2006): Lipid metabolite profiles and milk production in Holstein and Jersey cows fed rumen-protected choline during the periparturient period, *J Dairy Sci*, 89, 188-200.
61. Gvozdić D, I., V. Stojić, I. B. Jovanović (2003): Značaj sprovođenja profilakse deficita joda u uzgoju domaćih životinja. Zbornik predavanja XXIV seminara za inovacije znanja veterinarstva, Beograd, 13-14 februara 2003 Beograd 47-70.
62. Hannon K., Trenkle A. (1991): Relationship of thyroid status to growth hormone and insulin-like growth factor-I (IGF-I) in plasma and IGF-I mRNA in liver and skeletal muscle of cattle. *Domestic Animal Endocrinology*, 8 (4), 595-600.

63. Hart I.C. (1983): Endocrine control of nutrient partition in lactating ruminants. *Proc. Nutr. Soc.*, 42, 181-194.
64. Hart I.C., J. A. Bines, J. Roy, S. Morant (1978): Plasma thyroxine in high and low yielding cattle and calves of different breeds. *J. Endocrinol.*, 80, 52-58.
65. Holcomb CS, Van Horn HH, Head HH, Hall MB, Wilcox CJ. 2001. Effects of prepartum dry matter intake and forage percentage on postpartum performance of lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 84:2051–2058.
66. Hortet, P., Seegers, H. (1998): Loss in milk yield and related composition changes resulting from clinical mastitis in dairy cows. *Prev Vet Med*; 37: 1-20.
67. Horvat, J., Kirovski, Danijela, Šamanc, H., Dimitrijević, B., Kiškarolj, F., Bečkei, Ž., Kilibarda, Nataša (2009): Procena energetskeg statusa krava sa područja Subotice određivanjem organskih sastojaka mleka. Zbornik radova XI regionalnog savetovanja iz kliničke patologije i terapije životinja „Clinica Veterinaria 2009“, Subotica, 19.-21. jun, 2009, 99-101.
68. Hoshino S., Wakita M., Kobayashi Y., Sakauchi R., Nishiguchi Y., Ozawa A., Hodate K., Hamaguchi I., Yotani Y. (1991): Variations in serum levels of insulin-like growth factor-1, growth hormone and thyroid hormones during lactation in dairy cows. *Comp. Biochem. Physiol. A.*, 99 (1-2), 61-64.
69. Husvet F., Karsai F., Gall T. (1982): Periparturient fluctuations of plasma and hepatic lipid components in dairy cows. *Acta Hun. Acad. Sci.* 30(1-9):97-112.
70. Ingvarsten K.L., Andersen H.R.: Integration of Metabolism and Intake Regulation (2000): Review Focusing on Periparturient Animals. *J. Dairy Sci.*, 83: 1573-1579.
71. Ingraham, R.H., Kappel L.C. (1988): Metabolic profile testing. *Vet. Clin. N. Amer.: Food Anim. Pract.*, 4:391-411.
72. Ingvarsten and K.L., Andersen H.R., Foldager J. (1992): Effect of sex and pregnancy on feed intake capacity of growing cattle. *Acta Agric. Scand. Sect. Animal Sci*: 42: 40-46.
73. Ivanov, I. (1988): Uticaj varijacija ishrane na koncentracije makroelemenata (C, Mg, Na, K i P) u krvnom serumu i mokraći krava u visokoj bremenitosti i laktaciji u intenzivnom načinu držanja, doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu, Veterinarski fakultet.

74. Ivanov, I., Šamanc, H., Vujanac, I., Dimitrijević, B. (2005): Metabolički profil krava, u: Zbornik radova 4. simpozijuma Ishrana, reprodukcija i zaštita zdravlja goveda - Etiopatogeneza i dijagnostika poremećaja metabolizma reprodukcije goveda, Subotica, 241-247.
75. Janovick N.A., Boisclair Y.R., Drackley J.K.(2011): Prepartum dietary energy intake affects metabolism and health during the periparturient period in primiparous and multiparous Holstein cows. *J. Dairy Sci.*, 94: 1385-1400.
76. Jazbec, I. (1990): Klinično laboratorijska dijagnostika, Veterinarska fakulteta, Ljubljana.
77. Jenkins, T.C., McGuire, M.A. (2006): Major advances in nutrition: impact on milk composition. *J. Dairy Sci.*, 89: 1302-131.
78. Jonker, J.S., Kohn, R.A., Erdman, R.A. (1999):Milk urea nitrogen target concentrations for lactating dairy cows fed according to National Research Council recommendations. *J. Dairy Sci.* 82:1261-1273.
79. Jonker, J.S., R.A. Kohn and J. High. (2002). Dairy herd management practices that impact nitrogen utilization efficiency. *J. Dairy Sci.* 85:1218-1226.
80. Jovanović I., Olivera Pešut, Gvozdić D., (2003): Selenodejodinaze-Novi pogledi na ispoljavanje bioloških efekata tiroidnih hormona. Zbornik predavanja XXIV seminara za inovaciju znanja veterinarara, fakultet veterinarske medicine, Beograd, 13-14 februar 2003, 71-84.
81. Jovanović M. J., Arsov S.A., Črčev D.I. (1995): Uticaj oboljenja krava u puerperijumu na funkcionalno stanje jetre. *Vet. glasnik*, 49 (11-12), 661-670.
82. Jovanović M. J., Rajić I., Pešterac V., Črčev D., Čokrevski S. (1997): Parametri krvi visoko steonih i tek oteljenih krava hranjenih obrocima različitog sastava. *Vet. glasnik*, 51 (5-6), 231-244.
83. Jovanović M. J., Stamatović S., H. šamanc, Biljana Radojičić, I. Ivanov, Z. Damnjanović, B. Jonić, B. Arsić, J. Ranđelović, M. Stefanović, B. Petković (1987): Prilog izučavanju metaboličkog profila krava u visokm graviditetu i pureperijumu. *Vet. glasnik*, 41 (5), 343-349.
84. Kadyere, C.T., Murphy, M.R., Silanikove, N., Maltz, E. (2002): Heat stress in lactating dairy cows: a review. *Livestock Production Science*, 77: 59-91.

85. Kampl, B. (2005): Pokazatelji energetskeg deficita mlečnih krava u mleku i njihovo korišćenje u programu zdravstvene preventive i intenziviranja proizvodnje i reprodukcije. Zbornik radova IV simpozijuma „Ishrana, reprodukcija i zaštita zdravlja goveda – Etiopatogeneza i dijagnostika poremećaja metabolizma reprodukcije goveda“, Subotica, 27. septembar – 01. oktobar, 2005., 261-267.
86. Kaneko J. Jiro (1989): *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. Fourth Edition, Academic Press, 387-398.
87. Kaneko J. Jiro (2008): *Carbohydrate Metabolism and its Diseases*. In: *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. Sixth Edition, Elsevier, London, UK, pp. 45–80.
88. Karlson P. (1984): *Kurzes Lehrbuch der biochemie fur Mediziner und Naturwissenschaftler*. 12 Aufl. Verlag Thieme, Stuttgart, New York, S. 278-279.
89. Kasagić Dragan (2005): Koncentracija trijodtironina, tiroksina, insulinu sličnog faktora rasta-I i biohemijških pokazatelja metabolizma u krvnom serumu junica, prije i poslije partusa. Magistarska teza, Univerzitet u Beogradu Fakultet veterinarske medicine Beograd.
90. Kasagić, D., Radojičić, B., Gvozdić, D., Mirilović, M., Matarugić, D. (2011): Endocrine and metabolic profile in Holstein and Red Holstein Heifers during peripartal period. *Acta veterinaria*, 61, 5-6, 555-565.
91. Kessel S, Stroehl M, Meyer HHD, Hiss S, Sauerwein H, Schwarz FJ, Bruckmaier RM. (2008): Individual variability in physiological adaptation to metabolic stress during early lactation in dairy cows kept under equal conditions. *J Anim Sci* 86:2903–2912.
92. Kirovski Danijela, Šamanc, H., Vujanac, I., Prodanović, R., Sladojević, Ž., Savić, Đ. (2013): Prediction of energy balance of early lactating dairy cows from milk composition measures at individual cow level. II International Symposium and XVIII Scientific Conference of Agronomists of Republic of Srpska, Trebinje, Bosnia and Herzegovina, March 26.-29., 2013, Book of Abstracts, 152.
93. Kirovski, D., Šamanc H., Prodanović R. (2012): Procena energetskeg statusa krava na osnovu koncentracije masti, proteina i uree u mleku. *Vet. glasnik* 66 (1-2) 97-110.

94. Kirovski, D., Šamanc, H., Cernescu, H., Jovanović, M., Vujanac I. (2008): Fatty liver incidence on dairy cow farms in Serbia and Romania, Proceeding of International Symposium "New Research in Biotechnology", USAMV Bucharest, Romania, 130-7.
95. Kohn, R. A., French, K. R., Russek-Cohen E. (2004): A Comparison of Instruments and Laboratories Used to Measure Milk Urea Nitrogen in Bulk-Tank Milk Samples. *J. Dairy Sci.* 87:1848–1853.
96. Komatsu T., Itoh F., Kushibiki S., Hodate K. (2005): Changes in gene expression of glucose transporters in lactating and nonlactating cows. *J. Anim. Sci.*, 83: 557-564.
97. König B.A., Parker D.S., Oldham J.D. (1979): Acetate nad palmitate kinetic in lactating dairy cows. *Anu. Res. Vet.* 10:368-372.
98. Kovačević B. (2004): Hormonalni i metabolički status visoko-mlečnih krava u peripartalnom periodu. Doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu.
99. Kovačević Mira (2000): Funkcionalno stanje jetre i hormonalni status u krava različite uhranjenosti u graviditetu i ranoj laktaciji. Doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu.
100. Kovačević Mira, Jovičin M. (1996): Peripartalni period kod visokomlječnih krava muzara: neesterifikovane masne kiseline i trigliceridi u odnosu na pojavu masne jetre. *Vet. glasnik*, 50 (7-8), 453-462.
101. Krnić J., Ivetić V., Riznić Lj., Stojanović Z. (2000): Metabolički profil krava u peripartalnom periodu. Zbornik radova 7. Savetovanja veterinarara Republike Srpske, Teslić.
102. Krnić J., Podžo M., Hodžić Aida, Hamamdžić M., Pašić-Juhas Eva, Mihaljević Milena (2003): Metabolički profil krava u laktaciji i peripartalno. *Veterinaria*, 52 (1-4), 75-86.
103. Krnić J., Šamanc H., Ivetić V., Maričić L., Valter D., Romanić S., Ivanov I. (1997): Metabolički profil krava u uslovima neadekvatne ishrane. Zbornik radova, 401-405, 10. Savjetovanje veterinarara Srbije, Zlatibor.
104. Kunz P.L., J.W., Blum, I.C. Hart, H. Bicket, J. Landis (1985): Effect of different energy intake before and after calving on food intake performnace and blood hormones and metabolites in dairy cows. *Anim. Prod.*, 219-231.

105. Kushibiki S, Hodate K, Shingu H, Ueda Y, Mori Y, Itoh T, Yokomizo Y. (2001) Effects of long-term administration of recombinant bovine tumor necrosis factor-alpha on glucose metabolism and growth hormone secretion in steers. *Am J Vet Res* 62(5):794–798
106. LeBlanck S, (2010):Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period, *J Reprod Dev*, 56, S29-S35.
107. Lotthammer K. H. 1974. Häufige Fütterungsfehler als Ursache der Herdensterilität. *Prakt. Tierarz.* 55:38.
108. Lotthammer K. H. (1991): Einfüsse und Folgen unausgeglichener Fütterung auf Gesundheit und Fruchtbarkeit des Milchrindes. *Zbornik radova XX seminara za inovaciju znanja veterinara*, Beograd.
109. Magdus, M., Fekete, S., Frenyo, L.V., Miskucz, O., Kotz, V. (1988): Milk production and certain parameters of energy metabolism in dairy cows fed rations of varying energy and crude protein contents and fat. *Acta Vet. Hungarica*, 36, 1-2: 43-59.
110. Marenjak, T.S., Poljičak-Milas, N., Stojević, Z. (2004): Svrha određivanja koncentracije ureje u kravljem mlijeku. *Praxis Veterinaria*, 52(3): 233-41.
111. Mariotti Stefano (2011):Physiology of the Hypothalamic-Pituitary Thyroidal System.
112. Matarugić D., JotanovićStoja, Miljković, V. (2007):Fiziologija i patologija reprodukcije goveda. Univerzitet u Banjaluci, Poljoprivredni fakultet.
113. McGuire M.A., Dwyer D.A., Bauman D.E., Smith D.F. (1998): Insulin-like growth factor in plasma and afferent mammary lymph of lactating cows deprived of treated with bovine somatotropin. *J. Dairy Sci.*, 81 (4), 950-957.
114. Mihajlović, M. (2000): Biohemija. IV izdanje, Naučna, Beograd.
115. Mijatović, R. (2014):Reproduktivne performanse krava sa različitim odnosom sadržaja masti i proteina u mlijeku do uspostavljanja gravidnosti. Doktorska disertacija. Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Departman za veterinarsku medicinu.
116. Nikitović Jelena (2012): Metabolički profil visokomliječnih krava u zavisnosti od fiziološkog statusa, geografskog područja i ishrane. Magistarska teza, Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Banjoj Luci.

117. Nikolić J. Anna, (1996): Hormonalna regulacija prometa energije u peripartalnom periodu krava. Zbornik radova, 2. Simpozijuma "Isхранa, reprodukcija i zaštita zdravlja goveda," 92-106.
118. Nikolić J. Anna, H. šamanc, Mira Kovačević, R. Đoković, D. Bugarski (2000): Hormonal status during peripartal period in the cows. *Lucr. st. med. vet.*, XXXIII, 5-18.
119. Nikolić Judith Anna, šamanc H., Kovačević Mira, Bugarski D., Masnikosa R. (2001): Serum concentrations of insulin like growth factors and thyroid hormones in healthy and ketotic dairy cows during the puerperium. *Acta Veterinaria*, 51 (2-3), 73-88.
120. Noworoozy Asl., A. Nazifi S., Rawshan Ghasrodashti A., Olugee A. (2011): Prevalence of subclinical ketosis in dairy cattle in the Southwestern Iran and detection of cutoff point for NEFA, and glucose concentration for diagnosis of subclinical ketosis. *Rev. Vet. Med.*, 100(1): 38-43.
121. Oetzel G.R., (2004): Monitoring and testing dairy herds for metabolic diseases, *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, 20, 651-674.
122. Orešnik, A. (2009): Uticaj ishrane na proizvodnju i sastav mleka. zdravstveno stanje i plodnost visokomlečnih krava. Zbornik radova XI regionalnog savetovanja iz kliničke patologije i terapije životinja „Clinica Veterinaria 2009“, Subotica, 19.-21. jun, 2009, 27-36.
123. Ospina P.A., Nydam D.V. Stokol T., Overton T.R. (2010): Evaluation of nonesterified fatty acids and B-hydroxybutyrate in transition dairy cattle in the northeastern United States: Critical thresholds for prediction of clinical diseases. *J. Dairy Sci.*, 93(20) 546-554.
124. Overton TR, Waldron MR, (2004): Nutritional management of transition dairy cows. *J Dairy Sci*, E. Suppl strategies to optimize metabolic health. E105-E119.
125. Payne JM, Dew SM, Manston R, Faulks M. (1970): The use of a metabolic profile test in dairy herds. *Vet Rec*. Aug 8;87(6):150–158.
126. Perfield, J.W. 2nd, Lock, A.L., Griinari, J.M., Saebø, A., Delmonte, P., Dwyer, D.A., Bauman, D.E. (2007): Trans-9, cis-11 conjugated linoleic acid reduces milk fat synthesis in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 90: 2211-8.

127. Perišić, P., Skalicki, Z., Bogdanović, V. (2011): Stanje u sektoru proizvodnje mleka u Evropskoj uniji i kod nas. *Bio technology in Animal Husbandry*, 27 (3) 315-327.
128. Perišić, P., Skalicki, Z., Petrović M.M., Bogdanović, V., Ružić-Muslić, D. (2009): Simmental cattle breed in different production system. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 25 (5-6) 315-326.
129. Perišić, P., Skalicki, Z., Petrović M.M., Mekić, C., Đedović-Vidić, R. (2002): Uticaj uzrasta pri prvoj oplodnji na proizvodne osobine krava simmentalske rase. *Savremena poljoprivreda*, vol. 51, 3-4, str.97-99, Novi Sad.
130. Pethes D., J. Bokori, P. Rudas, V.L. Frenyo, S. Fekete (1985): Thyroxine, triiodothyronine, reverse-triiodothyronine and other physiological characteristics of periparturient cows fed restricted energy. *J. Dairy Sci.*, 68, 1148-1154.
131. Prodanović R, Kirovski D, Šamanc H, Vujanac I, Ivetić V, Savić B, Kureljušić B, (2012): Estimation of herd-basis energy status in clinically healthy Holstein cows: practical implications of body condition scoring and shortened metabolic profiles, *African Journal of Agricultural Research*, 7, 3, 418-425.
132. Prpić, Z., Konjačić M., Vnučec I., Ramljak J., Ivanković, A. (2005): Nehranidbeni čimbenici sadržaja ureje u mlijeku. *Stočarstvo* 59 (3), 173-187.
133. Radojičić Biljana (1995): Ispitivanje uticaja propionata na nivo kortizola, insulina, glukoze i lipida u krvi goveda. *Doktorska disertacija*, Univerzitet u Beogradu.
134. Radojičić Biljana (2013): Opšta klinička dijagnostika kod domaćih pakara, *Naučna KMD*, Treće dopunjeno izdanje.
135. Radojičić Biljana D. Vuković, D. Zupanac (1994): Metabolički profil kod junica u visokom graviditeu i naom puerperijumu. *Zbornik radova i Savetovanje "Ishrana i zaštita državlja goveda"*, 12-16.
136. Radojičić Biljana, D. Kasagić (2000): Endokrino metabolički parametri u krvi krava u kasnom graviditetu i ranoj laktaciji. *Zbornik kratkih sadržaja radova*, 7. *Savetovanja veterinara Republike Srpske*, Teslić.
137. Radojičić Biljana, D. Vuković, D. Kasagić (2001): Endokrino-hematološki parametri u krvi visoko gravidnih junica. *Zbornik kratkih sadržaja*, I *Kongres veterinara Republike Srpske*, Banja Luka.

138. Radojičić Biljana, Đuričić Bosiljka, Matarugić D., Kasagić D. (2007): Značaj hematološko-biohemijskih analiza u diferencijalnoj dijagnostici oboljenja visokomlečnih krava. 2. Kongres veterinarara Republike Srpske, 24-27 oktobar 2007, Veterinarski zurnal Republike Srpske, Vol VII, No 2 p. 128-133.
139. Radojičić Biljana, Jovan Bojkovski, Branko Jonić, Ramiz Ćutuk (2014): Bolesti preživara, Univerzitet u Beogradu, FVM.
140. Radojičić, S. (1995): Uticaj I-alfa-OHD₃ na koncentraciju Ca i P u krvnom serumu krava u visokom graviditetu i ranom puerperijumu. Magistarska teza, Univerzitet u Beogradu, Veterinarski fakultet.
141. Radović Bisa, Jotanović Stoja, Savić, Đ., Nitovski, A. (2011): Biohemijski parametri krvi krava simentalke rase u različitim fazama reproduktivnog ciklusa. Vet. glasnik 65 (3-4) 191-201.
142. Reist, M., Erdin, D., von Euw, D., Tschuemperlin, K., Leuenberger, H., Hammon, H.M., Morel, C., Philipona, C., Zbinden, Y., Kuenzi, N., Blum, J.W. (2003): Postpartum reproductive function: association with energy, metabolic and endocrine status in high yielding dairy cows. Theriogenology 59: 1707-1723.
143. Šamanc H., Damnjanović Z., Nikolic Judith A., Radojičić B., Anđelković M., Lekić N., (1993): Endokrina regulacija metaboličkih procesa kod krava u graviditetu i laktaciji. Veterinarski glasnik, 47 (4-5) 319-324.
144. Šamanc H, Kirovski Danijela, Stojić V, Stojanović D, Vujanac I, Prodanović R, Bojković-Kovačević S, (2011): Application of metabolic profile test in the prediction and diagnosis of fatty liver in Holstein cows, Acta Veterinaria Beograd, 61, 6, 543-553.
145. Šamanc H, Nikolić JA, Gall T, Đoković R, Ivanov I, (1998): Peripheral concentrations of circulating insulin, insulin-like growth factor-I, lipids and glucose in healthy and ketotic cows a few days post partuum, 10th International Conference on Production Diseases in Farm Animals, Utrecht, Abstracts.
146. Šamanc H, Stojić V, Kirovski D, Pudlo P, Vujanac I. (2009): Glucose tolerance test in the assessment of endocrine pancreatic function in cows before and after surgical correction of left displaced abomasums. Acta Vet-Beograd 59:513-523
147. Šamanc H. (2010): Bolesti organa za varenje goveda. Naučna KMD, Beograd.

148. Šamanc H., Cernescu H., Petrujkić T., Vuković D. (2003): Hepatopatije i poremećaji reproduktivnih svojstava krava. Zbornik predavanja XXIV seminara za inovacije znanja veterinaru, Beograd, 11-21.
149. Šamanc H., Radojičić Biljana, Mira Kovačević, Đoković R. (2004): Some endocrino metabolic parameters in the blood serum of healty and ketotic cows. Boock Abstract, 12, Congress of Mediterranean Healthy and Production of Ruminnats, Istanbul, Turkye.
150. Šamanc, H., Kirovski, Danijela, Dimitrijević, B., Vujanac, I., Damnjanović, Z., Polovina, M. (2006): Procena energetskog statusa krava u laktaciji određivanjem organskih sastojaka mleka. Veterinarski glasnik, 60, 5-6: 283-297.
151. Savić, Đ., Kasagić, D., Jotanović, Stoja, Matarugić, D., Šarić, M., Mijatović, R. (2011): Procjena energetskog statusa krava u ranoj laktaciji na osnovu određivanja organskih sastojaka mlijeka. Agroznanje, 12, 1: 67-74.
152. Savić, Đ., Matarugić, D., Delić, N., Kasagić, D., Stojanović, M. (2010): Određivanje organskih sastojaka mleka kao metoda ocene energetskog statusa mlečnih krava. Veterinarski glasnik, 64, 1-2: 21-32.
153. Savić, Đ., Stoja Jotanović, Danijela Kirovski, Vekić, M. (2013): Changes of concentration of organic milk ingredients and their ratios during different periods of standard lactation. II International Symposium and XVIII Scientific Conference of Agronomists of Republic of Srpska, Trebinje, Bosnia and Herzegovina, March 26.-29., 2013, Book of Abstracts, 355.
154. Savić, Đ., Stoja Jotanović, Vekić, M., Kasagić, D. (2012): Evaluation of cow energy status changes during early lactation based on concentrations of organic milk ingredients. I International Symposium and XVII Scientific Conference of Agronomists of Republic of Srpska, Trebinje, Bosnia and Herzegovina, March 19.-22., 2012, Book of Abstracts, 223
155. Savić Đorđe (2012): Uticaj prepartalne aplikacije propiltiouracila na endokrini i metabolički status junica holštajn rase. Doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine
156. Skalicki Z., Perišić, P., Latinović, D., Trifunović, G., Đedović, R. (2007): Simentalska rasa i njen značaj u proizvodnji mlijeka. Savremena poljoprivreda, 56, 5, 18-25.

157. Sladojević Željko (2012): Uticaj energetskeg bilansa na endokrini i metabolički status krava. Doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu.
158. Stamatović, S., Šamanc, H., Jovanović, M. (1983): Uporedo ispitivanje koncentracije glikoze u krvi v. *auricularis magna* i v. *subcutanea abdominis* mlečnih krava. Vet. glasnik, 37, 4, 273-256.
159. Stojić V. (2004): Veterinarska fiziologija. Narodna biblioteka Srbije, Beograd. ISBN 86-84153-33-2. Naučna KMD, Beograd.
160. Stojić V., Gvozdić D., Kirovski Danijela, Ana-Judiht Nikolić, Huszenicza Gy, Šamanc H., Ivanov I. (2001): Koncentracija tiroksina i trijodtironina u krvnom serumu junica holštajn rase pre i posle partusa. Acta Veterinaria, Beograd, 51 (1), 3-8.
161. Stojić V., Nikolić J Ana, Huszenicza Gy, šamanc H., Gvozdić D., Kirovski Danijela (2002): Koncentracija tiroksina, trijodtironina i kortizola u krvnoj plazmi novorođene teladi. Acta Veterinaria, Beograd, 52 (2-3), 85-96.
162. 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.
163. Tiirats, T. (1997): Thyroxine, triiodothyronine and reverse-triiodothyronine concentrations in blood plasma in relation to lactational stage, milk yield, energy and dietary protein intake in Estonian dairy cows. Acta Vet., Scand., 38, 4, 339-348.
164. Unuk, N. (2003): Vsebnost se_nine v mleku, Lisasto govedo, Glasilo zveze društrev rejcev govedi lisaste pasme Slovenije, ISSN 1580-3473, str. 7-8.
165. 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, Suppl 1: S 274-80.
166. Važić B., Drinić Milanka, Matarugić D., Kasagić D., Šepa Aleksandra (2005a): Karakteristike proizvodnje mlijeka kod simentalca, redholštajna i norveškog govečeta u sjevernom dijelu Republike Srpske. Agroznanje, Banja Luka 6, 4, 21-29.

167. Važić B., Kasagić D., Drinić Milanka, Matarugić D., Marković Z.(2005b):
Proizvodnja mlijeka kod kontrolisanih stada simentalke rase u Republici Srpskoj.
Agroznanje, Banja Luka 6, 2, 107-113.
168. Villar, D., Rhind, S.M., Arthur, J.R., Goddard, P.J. (2002): Manipulation of
thyroid hormones in ruminants - a tool to understand their physiological role and
identify their potential for increasing production efficiency. *Aust. J. Agric.
Res.*,53,259-270.
169. Vojvodić B. Ljiljana (1999): štitasta žlijezda i trudnoća. Narodna biblioteka
Srbije, Beograd. ELIT-MEDICA, Beograd
170. Vujović, R., Davidovic, A., Ilic, V., Starcevic, S. (1970):O uticaju koncentracije
Ca, P, Cu i vitamina A u krvi na reprodukciju krava. *Veterinaria*, 19, 4, 563-568.
171. Vujović, R., Davidovic, A., Starcevic, S., Kordić Branka (1968):Kretanje Ca, P, i
vitamina C u krvnoj plazmi i semenoj bikova. *Veterinarski glasnik* 4, 421-424.
172. Westwood, C.T., Lean, I.J., Kellaway, R.C. (1998): Indications and implications
for testing of milk urea in dairy cattle: A Quantitative review. Part 1. Dietary
protein sources and metabolism. *New Zeland Vet J.* 46: 87-96.
173. Wood, G.M., Boettcher, P.J., Jambrozik, J., Jansen, G.B., Kelton, D.B. (2003):
Estimation of genetic parametes for concentrations of milk urea nitrogen. *J. Dairy
Sci.* 86: 2462-9.
174. Yakar S., Liu J.L., Stannard B., Butler A., Accili D., Sauer B., Leroith (1999):
Normal growth and development in the absence of hepatic insulin-like growth
factor I. *Proc Natl Acad Sci USA*, 96 (13), 7324-7329.
175. Yen, P. M., (2001): Physiological and Molecular Basis of Thyroid Hormone
Action. *Physiological Reviews*, 81 (3), 1097-1142.
176. Yost, W., W. Jerry, Stephen Yonng, P. Schmidt, and Dare A. McGillard (1977):
Gluconeogenesis in ruminants : propionic acid production from a high-grain diet
feed to cattle. *J. Nutr.*, 107, 2036.
177. Zhang J., Lazar M.A. (2000): The Mechanism of Action of Thyroid Hormones.
Annual Review of Physiology, 62, 439-466.

BIOGRAFIJA

Dragan Kasagić je rođen u Srpcu, Republika Srpska, BiH, 15.07.1968. godine. Srednju poljoprivrednu školu je završio u Srpcu 1987. godine. Diplomirao u Beogradu na Veterinarskom fakultetu 1995. godine, a magistrirao 2005. godine u Beogradu na Fakultetu veterinarske medicine.

U Veterinarskom institutu Republike Srpske „Dr Vaso Butozan“ Banja Luka zaposlen sam od 2008. godine, 2005-2008. godine je bio stručni savjetnik na veterinarskim poslovima u Agenciji za uzgoj i selekciju u stočarstvu. U Ministarstvu poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede Republika Srpske je radio u periodu od 1999-2005. godine kao stručnjak za reprodukciju. U Poljoprivrednom kombinatu Beograd (PKB) odradio pripravnički staž, a nakon toga zasnovao radni odnos (1996-1999).

Autor i koautor je četrdesetak naučnih i stručnih radova. Posjeduje više sertifikata o različitim edukacijama i školovanjima u BiH i inostranstvu.

IZJAVA O AUTORSTVU

Potpisani Dragan Kasagić

Izjavljujem

Da je doktorska disertacija pod naslovom "Tireoidni i metabolički status krava rase simentalac u različitim periodima laktacije"

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da predložena disertacija u cjelini ni u dijelovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

U Beogradu,

2015. godine

Potpis doktoranda:



IZJAVA O ISTOVJETNOSTI ŠTAMPANE I ELEKTRONSKE VERZIJE DOKTORSKOG RADA

Ime i prezime autora : Dragan Kasagić

Broj upisa:

Studijski program: doktorske akademske studije

Naslov rada: Tireoidni i metabolički status krava rase simentalac u različitim periodima laktacije

Mentor: Dr Biljana Radojičić, redovni profesor

Potpisani Dragan Kasagić

Izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovjetna elektronskoj verziji koju sam predao za objavljivanje na portalu Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

U Beogradu,

2015. godine

Potpis doktoranda:



IZJAVA O KORIŠĆENJU

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom „Tireoidni i metabolički status krava rase simentalac u različitim periodima laktacije“ koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio.

1. Autorstvo
2. Autorstvo – nekomercijalno
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade
4. Autorstvo – nekomercijalno – dijeliti pod istim uslovima
5. Autorstvo – bez prerade
6. Autorstvo – dijeliti pod istim uslovima

U Beogradu,

2015. godine

Potpis doktoranda:



1. Autorstvo - Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje djela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence, čak i u komercijalne svrhe. Ovo je najslobodnija od svih licenci.
2. Autorstvo – nekomercijalno. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje djela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu djela.
3. Autorstvo - nekomercijalno – bez prerade. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje djela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe djela u svom djelu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu djela. U odnosu na sve ostale licence, ovom licencom se ograničava najveći obim prava korišćenja djela.
4. Autorstvo - nekomercijalno – dijeliti pod istim uslovima. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje djela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu djela i prerada.
5. Autorstvo – bez prerade. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje djela, bez promjena, preoblikovanja ili upotrebe djela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu djela.
6. Autorstvo - dijeliti pod istim uslovima. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje djela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu djela i prerada. Slična je softverskim licencama, odnosno licencama otvorenog koda.