

KRVNA SLIKA KOD KRAVA U PERIPARTALNOM PERIODU I ODNOS PREMA POKAZATELJIMA METABOLIČKOG STRESA

COMPLETE BLOOD COUNT IN COWS IN THE PERIPARTAL PERIOD AND THE RELATIONSHIP TO THE INDICATORS OF METABOLIC STRESS

Marko Cincović^a, Jože Starič^b, Jožica Ježek^b, Mira Majkić^a, Sandra Nikolić^a, Bojan Blond^c,
Nemanja Obradović^d, Dražen Kovačević^e

^aDepartman za veterinarsku medicinu, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Srbija

^bVeterinarski fakultet, Univerzitet u Ljubljani, Slovenija

^cALDAHRA Beograd, Srbija

^dPasterov zavod Novi Sad, Srbija

^eVeterinarska inspekcija Opštine Teslić, R.Srpska, BiH

*Autor za korespondenciju: mcincovic@gmail.com



M.C. <https://orcid.org/0000-0002-5683-8983>, J.S. <https://orcid.org/0000-0002-5156-5277>, J.J. <https://orcid.org/0000-0002-3753-5944>,
M.M. <https://orcid.org/0009-0007-0110-7327>, S.N. <https://orcid.org/0000-0001-7337-9937>,

SAŽETAK

Laktacija i metaboličko prestrajavanje značajno utiču na hematološke parametre. Crvena krvna loza krava u ranoj laktaciji odlikuje se hipohromnim promenama u eritrocitima i smanjenim brojem eritrocita. Snižena koncentracija hemoglobina se dovodi u vezu sa proizvodnjom mleka, obzirom da je kod junica (koje prirodno nisu u laktaciji) nađena veća koncentracija hemoglobina. Broj neutrofila bio je najveći u prvoj nedelji posle partusa, dok je broj limfocita bio najniži u istom periodu, tako da je indeks neutrofil:limfociti bio najviši upravo u ovom periodu. Broj eozinofila je blago rastao tokom oglednog perioda, dok je broj monocita bio najveći u prvoj nedelji da bi potom opadao. Ovakve promene u diferencijalnoj beloj lozi nastaju kao posledica delovanja akutnog stresa i naglog skoka koncentracije kortizola koji je pokazao svoj uticaj na imune ćelije. Kod bele loze NEFA kao indikator metaboličkog stresa dovodi do pada ukupnog broja leukocita, a krave klasifikovane prema kriterijumu NEFA i kriterijumu kortizola pokazuju povećan procenat neutrofila, smanjen procenat limfocita, povećan N:L odnos, smanjen procenat eozinofila i povećan procenat monocita. Uticaj kortizola na parametre krvne slike samo u prvoj nedelji postoji jer koncentracija kortizola naglo poraste, a potom i naglo opadne u prvih nekoliko dana po teljenju, dok se koncentracija NEFA penje lagano i često je perzistentna u prvim nedeljama laktacije, što ukazuje na negativni energetske bilans. U ispitivanju uticaja indikatora metaboličkog stresa na vrednost parametara krvne slike nađeno je da klasifikacija krava prema vrednostima NEFA i kortizola daje signifikantne razlike u crvenoj i beloj krvnoj lozi, što potvrđuje značaj peripartalnog metaboličkog stresa koji je izazvan partusom i laktacijom u odgovoru krvne slike kod krava.

Ključne reči: krave, krvna slika, metabolički stres, laktacija.

ABSTRACT

Lactation and metabolic rearrangement significantly influence hematological parameters. The red bloodline of early lactation cows is characterized by hypochromic changes in erythrocytes and a reduced number of erythrocytes. The reduced concentration of hemoglobin is linked to milk production, since a higher hemoglobin concentration was found in heifers (which are not naturally lactating). The number of neutrophils was the highest in the first week after parturition, while the number of lymphocytes was the lowest in the same period, so the neutrophil:lymphocyte index was the highest in this period. The number of eosinophils increased slightly during the experimental period, while the number of monocytes was the

highest in the first week and then decreased. Such changes in the differential white line occur as a consequence of the action of acute stress and a sudden jump in the concentration of cortisol, which has shown its effect on immune cells. In white cattle, NEFA as an indicator of metabolic stress leads to a drop in the total number of leukocytes, and cows classified according to the NEFA and cortisol criteria show an increased percentage of neutrophils, a decreased percentage of lymphocytes, an increased N:L ratio, a decreased percentage of eosinophils and an increased percentage of monocytes. The influence of cortisol on the parameters of the blood count only exists in the first week because the concentration of cortisol rises sharply and then sharply decreases in the first few days after calving, while the concentration of NEFA rises slightly and is often persistent in the first weeks of lactation, which indicates a negative energy balance. In the study of the influence of metabolic stress indicators on the value of the parameters of the blood count, it was found that the classification of cows according to the values of NEFA and cortisol gives significant differences in the red and white bloodlines, which confirms the importance of peripartum metabolic stress caused by parturition and lactation in the response of the blood count in cows.

Key words: cows, complete blood count, metabolic stress, lactation.

KRVNA SLIKA I NJENA INTERPERTACIJA KOD KRAVA

Krvna slika kod mlečnih krava, kao i kod drugih životinjskih vrsta ima velikog značaja u proceni zdravlja. Analiza standardne krvne slike crvene loze podrazumeva: 1. ispitivanje hematološkog statusa (određivanje hematokrita, broja eritrocita, koncentracije hemoglobina, eritrocitnih indeksa); 2. ispitivanje biohemijskog statusa (serumsko gvožđe, feritin, kapacitet vezivanja gvožđa i slobodni transferin); 3. ispitivanje markera hemolize (nekonjugovani bilirubin, hemoglobin u urinu, haptoglobin, hemosiderin u urinu); 4. ispitivanje imunoloških markera (Coombsov test, eritrocitna antitela i sl.) (1).

U brojnim anemijama se javlja smanjena koncentracija hemoglobina. Za detaljniju dijagnostiku bitno je odrediti eritrocitne indekse: MCV (eng., *mean cell volume*, srednja vrednost zapremine eritrocita), MCH (eng., *mean cell corpuscular hemoglobine*, srednja vrednost količine hemoglobina u ćeliji), MCHC (eng., *mean cell corpuscular hemoglobine concentration*, srednja vrednost koncentracije hemoglobina u eritrocitima). Za potpunu analizu crvene krvne loze potrebno je ispitati i postojanje anizocitoze i poikilocitoze analizom mikroskopskog razmaza (2,3). Kod mlečnih krava brojni faktori imaju uticaj na vrednosti crvene krvne loze. Tako mlečne krave imaju niže vrednosti parametara eritrocitne loze u odnosu na tovne rase, dok u okviru mlečnih rasa najnižu vrednost hemoglobina ima crno-beli Holštajn. Mlečnost ima značajnu ulogu, tako da sa

rastom mlečnosti opada vrednost hemoglobina i hematokrita. U peripartalnom periodu, posebno na sam dan porođaja i u prvim danima laktacije krave imaju manji broj eritrocita i nižu koncentraciju hemoglobina (4-7). Nastanak anemije i snižena koncentracija hemoglobina uz metaboličko opterećenje i povišenu koncentraciju NEFA mogu predisponirati krave ka nastanku peripartalne inflamacije uterusa (8). Ketoza kod krava u peripartalnom periodu ima uticaja na eritrocitnu lozu koja može pokazati znake anemije (9). Intenzitet lipolize i ketogeneze u peripartalnom periodu je u negativnoj korelaciji sa vrednostima crvene krvne loze (10).

Povećan ukupan broj leukocita (leukocitoza) nastaje usled: inflamacije, nekroze tkiva, delovanja kortikosteroida i epinefrina, akutne limfoblastne leukemije, hronične limfocitne leukemije, akutne ili hronične mijeloidne leukemije, limfoma i deficijencije adhezionih molekula leukocita. Smanjenje ukupnog broja leukocita (leukopenija) se javlja prilikom: jake infekcije, endotoksičnih stanja, aplastične anemije, aleukemičnih akutnih leukemija, infektivnih bolesti, mijelodisplastični sindrom i dr. Pored ukupnog broja leukocita značajno je odrediti i diferencijalnu krvnu sliku sa brojem bazofila, neutrofila, eozinofila, monocita i limfocita. Oni se mogu odrediti pomoću hematološkog brojača. Povećan broj bazofila (bazofilija) ukazuje na hipersenzitivne reakcije, tumor mast ćelija, parazitizam, bazofilnu leukemiju i mijeloproliferativne bolesti. Bazopenija se vrlo teško dijagnostikuje, jer vrednost od nula bazofila kod većine životinjskih vrsta i ljudi ulazi u referentne vrednosti. Eozinofilija se javlja u hipersenzitivnim

reakcijama, parazitozama, limfomima, hipoadrenokorticismu, eozinofilnoj leukemiji i dr. Eozinopenija je teška za dijagnostiku, jer nula ulazi u referentnu vrednost, ali hronična eozinopenija ukazuje na insuficijenciju koštane srži. Limfocitoza ukazuje na hroničnu antigensku stimulaciju, nelimfoidne neoplazme, imunski posredovane bolesti, limfocitne i limfoblastne leukemije. Limfopenija nastaje kao posledica delovanja glukokortikoida, virusnih infekcija, imunosupresije, kod enteropatija sa gubitkom proteina, imunodeficientnih stanja i sl. Monocitoza prati septikemična stanja, hemolize, odgovor na glukokortikoide, nehematopoezne neoplazme i oštećenje koštne srži, dok se monocitopenija teško dijagnostikuje. Neutrofilija se javlja kod inflamacija, kao odgovor na glukokortikoide i epinefrin, zatim kod hronične mijeloidne leukemije i deficijencije adhezionih molekula leukocita. Neutropenija se dešava kod endotoksemija, aplastične anemije, aleukemičnih leukemija, virusnih infekcija, imunoposredovanih stanja i dr. Pored određivanja broja leukocita i diferencijalne krvne slike značajno je odrediti i njihovu starost. Ona se određuje na osnovu prisustva blasta i stepena segmentiranosti njihovog jedra. Ako se u perifernoj krvi javljaju mlađi oblici razvoja granulocitne loze, sa velikim brojem štapastih granulocita i metamijelocita, onda se takva pojava zove skretanje u levo. Skretanje u levo uz leukocitozu govori u prilog aktivnoj produkciji ćelija bele loze, ali je skretanje u levo uz leukopeniju prognostički vrlo loš znak kod mnogih bolesti (2,3).

Kod mlečnih krava laktacija ne utiče značajno na parametre bele krvne loze, ali endokrinološke promene, peripartalni stres i razvoj infekcija značajno menjaju krvnu sliku krava u peripartalnom periodu. Od posebnog interesa je određivanje ukupnog broja leukocita, broja neutrofila, limfocita i odnosa broja neutrofila prema broju limfocita (N:L odnos). U peripartalnom periodu dolazi do opadanja ukupnog broja leukocita (4-7). Pad broja leukocita slabi odbrambene sposobnosti organizma, a krave su posebno predisponirane mastitisu ako imaju nisku vrednost eozinofila, odnosno metritisu ako postoji niska vrednost monocita (8).

Zapaljenske reakcije i diferencijalna bela loza kod krava moraju se drugačije posmatrati, jer postoje specifičnosti krvne slike i to: visok procenat limfocita (60-80%) i slaba ili nikakva rezerva mladih granulocita u koštanoj srži. Tokom

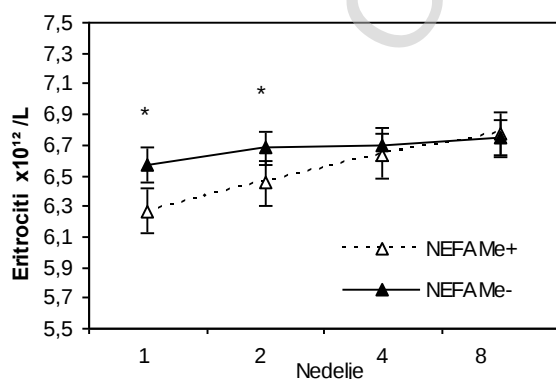
zapaljenske reakcije kod goveda dolazi do pada broja neutrofilnih granulocita uz pad ukupnog broja leukocita, pa su neutropenija i leukopenija prvi znaci u akutnoj upali. Tek nakon nekoliko dana ubrzava se leukopoeza i mladi neutrofilni granulociti izlaze u cirkulaciju, ali je klinički često neprimećen zbog brzog trošenja. U akutnim upalama gnojnog tipa postoji leukopenija, limfopenija i neutropenija sa skretanjem u levo. Ako životinja preživi akutnu fazu dešavaju se kompenzacije u belo lozi, tako da raste broj neutrofilnih granulocita a broj limfocita opada, pa njihov odnos postaje inverzan (11). Ovdse su opisane promene u klasičnoj zapaljenskoj reakciji. Peripartalni period pokazuje određene specifičnosti kada je odnos neutrofila i limfocita u pitanju.

Odnos neutrofila i limfocita (N:L odnos) je značajan pokazatelj zdravlja i stresne opterećenosti životinja (12). Ovaj odnos kod odraslih goveda iznosi približno 0,5:1. U periodu oko teljenja kod krava postoji tipičan stresni leukogram, koji se odlikuje neutrofilijom, limfopenijom, eozinopenijom i varijabilnom monocitozom. Akutni stres i hiperkortizolemija dovode do porasta koncentracije neutrofila povlačenjem ovih ćelija u centralni pul krvotoka, dok limfociti migriraju ka periferiji, tako da dolazi do porasta odnosa neutrofila i limfocita (N:L odnos često preko 1) (13). Posle adaptacije na stresne uslove N:L odnos se vraća na fiziološki nivo u periodu 2-7 dana (14). Manja vrednost N:L odnosa neđena je na farmama sa dobrom negom i dobrim medicinskim tretmanom krava (15). Novija istraživanja pokazuju da N/L odnos može biti veći od 1 kod potpuno zdravih krava, pa se upotreba ovog indikatora mora vršiti uz sagledavanje kompletnog zdravlja i metabolizma krava (16). Krave kod kojih je 7-15 dana posle teljenja N:L odnos preko fizioloških vrednosti nalaze se u fazi prolongiranog stresa. Prolongirani stres može biti uzrokovan prolongiranim metaboličkim stresom sa povišenim vrednostima NEFA i BHB i sniženom vrednošću glikemije, koji se javlja kod određenog broja krava posle teljenja. Koncentracija ovih metabolita značajno korelira sa N:L odnosom (17). Povišene vrednosti stresnih hormona dovode do porasta neutrofila i ulaska u krvotok iz marginalnog pula. U jednom ogledu ispitan je uticaj aplikacije deksametazona na funkciju limfocita u drugoj nedelji posle partusa. Aplikacija deksametazona dovela je do značajnog porasta N:L odnosa, koji je predhodno bio u okviru fizioloških granica, na račun porasta broja neutrofila. Dakle, veštačkim podražavanjem akutne stresne reakcije dolazi do

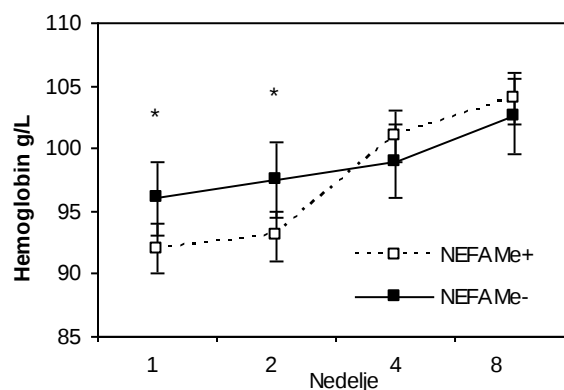
značajnog porasta broja neutrofila u nedeljama posle partusa (18). Vrednost odnosa N:L preko 1 ukazuje da su krave opterećene inflamacijom ili drugim stresorima (19).

METABOLIČKI STRES I KRVNA SLIKA KRAVA

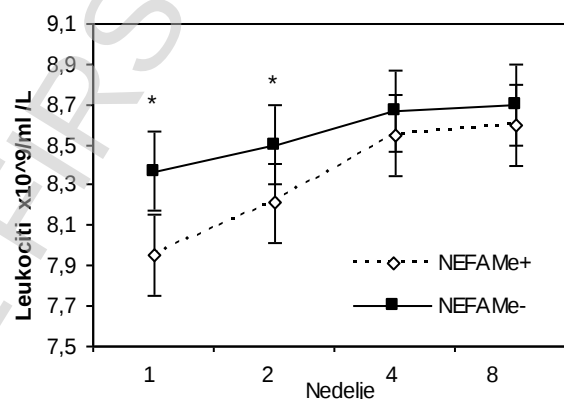
U ispitivanju uticaja indikatora metaboličkog stresa na vrednost parametara krvne slike nađeno je da klasifikacija krava prema vrednostima NEFA i kortizola daje signifikantne razlike u crvenoj i beloj krvnoj lozi. Krave koje pripadaju NEFA^{Me+} grupi pokazuju manji broj eritrocita, nižu koncentraciju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



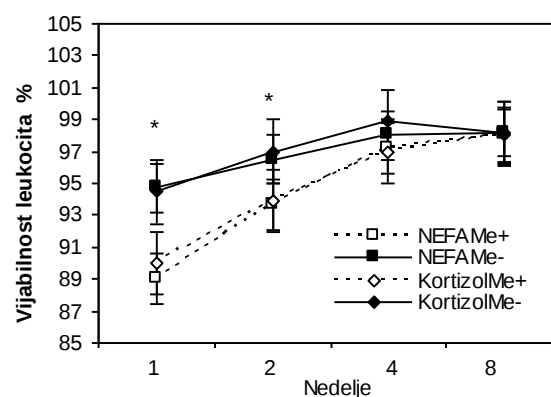
Grafikon 1. Prosečan broj eritrocita kod krava klasifikovanih prema NEFA kriterijumu



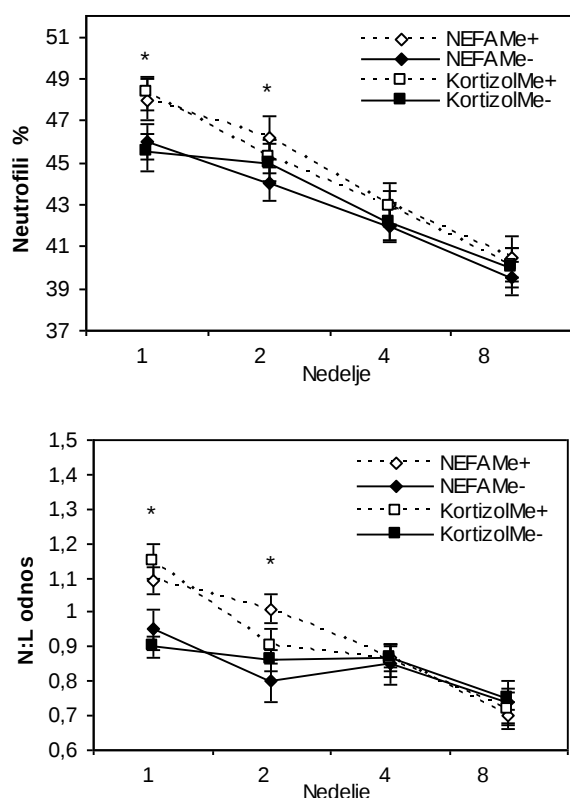
Grafikon 2. Prosečna koncentracija hemoglobina kod krava klasifikovanih prema NEFA kriterijumu



Grafikon 3. Prosečan broj leukocita kod krava klasifikovanih prema NEFA kriterijumu



Grafikon 4. Prosečna vijabilnost leukocita (%) kod krava klasifikovanih prema kriterijumu NEFA i kortizol



Grafikon 5 i 6. Prosečan % neutrofila i vrednost odnosa N:L kod krava klasifikovanih prema kriterijumima NEFA i kortizol

Crvena krvna loza krava u ranoj laktaciji odlikuje se hipohromnim promenama u eritrocitima i smanjenim brojem eritrocita. Snižena koncentracija hemoglobina se dovodi u vezu sa proizvodnjom mleka, obzirom da je kod junica (koje prirodno nisu u laktaciji) nađena veća koncentracija hemoglobina. Broj neutrofila bio je najveći u prvoj nedelji posle partusa, dok je broj limfocita bio najniži u istom periodu, tako da je indeks neutrofililimfociti bio najviši upravo u ovom periodu. Broj eozinofila je blago rastao tokom oglednog perioda, dok je broj monocita bio najveći u prvoj nedelji da bi potom opadao. Ovakve promene u diferencijalnoj beloj lozi nastaju kao posledica delovanja akutnog stresa i naglog skoka koncentracije kortizola koji je pokazao svoj uticaj na imune ćelije. Drugi bitan faktor je u vezi sa velikim izmenama u uterusu i vimenu koje se dešavaju posle partusa i u ranoj laktaciji, gde imunološke ćelije odlaze kako bi zaštitile ove vrlo osetljive organe. Rezultati krvne slike su u skladu sa ranije dobijenim rezultatima (11,16). Rezultati istraživanja pokazuju da katabolički indikatori stresa

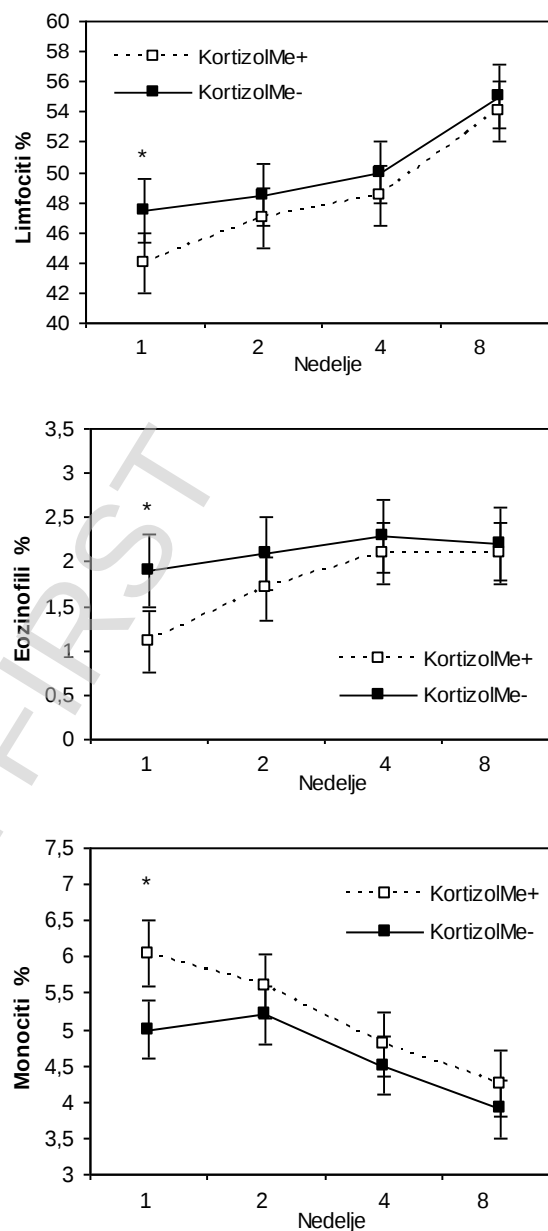
kao što su kortizola i NEFA utiču na hematološke vrednosti i vijabilnost leukocita. Krave sa višim vrednostima NEFA imaju manji broj eritrocita i nižu koncentraciju hemoglobina u prve dve nedelje posle teljenja. Kod krava u ranoj laktaciji kortizol ima značajnu ulogu u započinjanju laktacije, a viša koncentracije NEFA je u vezi sa smanjenim unosom hrane. Mlečnost krava je u inverznom odnosu prema vrednostima hemoglobina i hematokrita. U peripartalnom periodu, posebno na sam dan porođaja i u prvim danima laktacije krave imaju manji broj eritrocita i nižu koncentraciju hemoglobina (4-7). Uhranjenost krava (telesna kondicija) u peripartalnom periodu pozitivno korelira sa vrednostima hemoglobina, MVC, MCH i hematokrita (20). Uticaj lučenja mleka i smanjen unos hrane u ranoj laktaciji mogu biti u vezi sa smanjenim brojem eritrocita i koncentracijom hemoglobina.

Kod bele loze NEFA kao indikator metaboličkog stresa dovodi do pada ukupnog broja leukocita, a krave klasifikovane prema kriterijumu NEFA i kriterijumu kortizola pokazuju povećan procenat neutrofila, smanjen procenat limfocita, povećan N:L odnos, smanjen procenat eozinofila i povećan procenat monocita. Uticaj kortizola na parametre krvne slike samo u prvoj nedelji nastaje jer koncentracija kortizola naglo poraste, a potom i naglo opadne u prvih nekoliko dana po teljenju, dok se koncentracija NEFA penje lagano i često je perzistentna u prvim nedeljama laktacije, što ukazuje na negativni energetske bilans. Glukokortikoidi dovode do tipičnog stresnog leukograma tako što izazivaju umanjenu blastogenezu leukocita, povećan broj neutrofila preko L-selektina i $\beta 2$ -integrina, što smanjuje mogućnost neutrofila da napuste cirkulaciju ili dovode do povećanog slanja neutrofila iz kostne srži u krvotok (18). Negativni energetske bilans menja genetičke karakteristike imunoloških ćelija dovodeći do brojnih izmena u ekspresiji gena koji umanjuju njihov funkcionalni status (21).

Kod krava sa metritisom neutrofili imaju manju koncentraciju glikogena, što se takođe može povezati sa negativnim energetske bilansom i metaboličkim stresom čiji su indikatori u našem modelu NEFA i kortizol (22). Metabolički stres u ranoj laktaciji se karakteriše smanjenom koncentracijom insulina i IGF-I. Izlaganje neutrofila ovim hormonima povećava njihovu kompetencu i učinak (23). Insulin utiče na transportere za glukozu u leukocitima, pa tokom infekcije može pomoći da se glukozu usmeri ka energetske potrebama

leukocita, što omogućuje da imunološke ćelije prežive (24). Smanjen unos hrane, koji je u vezi sa peripartalnim metaboličkim stresom i predhodi mu takođe kompromituje funkciju neutrofila. Kao posledica negativnog energetskog bilansa raste koncentracija NEFA, a u *in vivo* eksperimentu utvrđeno je da koncentracija NEFA preko 0,5 mmol/l smanjuje fagocitnu i oksidativnu aktivnost neutrofila (25). Ovoj koncentraciji odgovara i koncentracija medijalne vrednosti NEFA u našem modelu, što dodatno objašnjava da je vijabilnost leukocita, kao generalni pokazatelj funkcionalnog statusa umanjena u ranoj laktaciji tokom prve dve postpartalne nedelje. Tokom rane laktacije u krvi krava postoji značajno veći broj polimorfonukleara koji su u apoptozi u odnosu na srednji stadijum laktacije, dok se procenat nekrotičnih polimorfonukleara ne razlikuje u početku i na sredini laktacije (26). Ovakav nalaz se vezuje za niži procenat vijabilnih leukocita u ranoj laktaciji dobijenih u našem ogledu.

Sve navedeno ukazuje da varijabilnost hematoloških parametara zavisi od varijabilnosti pokazatelja metaboličkog stresa kod krava u periodu rane laktacije.



Grafikon 7-9. Prosečna % zasutpljenost limfocita, eozinofila i monocita kod krava klasifikovanih prema kriterijumu kortizol

ACKNOWLEDGEMENT

This paper was created as a result of research within the "Agreement on the transfer of funds for the financing of scientific research work of teaching staff at accredited Higher Education Institutions in 2024, contract registration number: 451-03-65/2024-03/ 200117".

LITERATURA

1. Cincović M., Belić B. *Specijalna patološka fiziologija – praktikum. Poljoprivredni fakultet Novi Sad – Departman za veterinarsku medicinu, Novi Sad, 2021.*

2. Belić B., Cincović M.R. *Praktikum iz patološke fiziologije*. Poljoprivredni fakultet Novi Sad, Departman za veterinarsku medicinu, 2012.
3. Radojičić B. *Opšta klinička dijagnostika kod domaćih papkara*. Fakultet veterinarske medicine, Beograd, 2008.
4. Klinkon M., Zadnik T. Dynamics of red and white blood picture in dairy cows during the periparturient period. *Comparative Hematology International* 1999, 9: 156-161.
5. Sattar A., Mirza R.H. Haematological parameters in exotic cows during gestation and lactation under subtropical conditions. *Pakistan Vet J* 2009, 29(3): 129-132.
6. Mirzadeh K.H., Tabatabaei S., Bojarpour M., Mamoei M.: Comparative study of hematological parameters according strain, age, sex, physiological status and season in Iranian cattle. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 2010, 9(16): 2123-2127.
7. Belić B., Cincović M.R., Krčmar L.J., Vidović B. Reference values and frequency distribution of hematological parameters in cows during lactation and in pregnancy. *Contemporary agriculture* 2011, 60, 145-151.
8. Belić B., Cincović M.R., Davidov I., Lako B., Potkonjak A., Stančić I. Periparturient hematological finding in dairy cows with uterus and udder inflammation. *Contemporary agriculture* 2012, 61(1-2): 112-118.
9. Belić B., Cincović M.R., Stojanović D., Kovačević Z., Vidović B. Morphology of erythrocyte and ketosis in dairy cows with different body condition. *Contemporary agriculture* 2010, 59, 306-311.
10. Cincović M.R., Belić B., Radojičić B., Hristov S., Đoković R. Influence of lipolysis and ketogenesis to metabolic and hematological parameters in dairy cows during periparturient period. *Acta veterinaria (Beograd)* 2012, 62(4): 429-444.
11. Kovačević Filipović M. Osobenosti krvne slike goveda tokom njihovog rasta i razvoja. *Zbornik Poremećaj zdravlja krava u puerperijumu i zdravstveni status teladi*, 85-100, 2007.
12. Davis A.K., Maney D.L., Maerz J.C. The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologists. *Functional Ecology* 2008, 22, 760-772.
13. Tornquist S.J., Rigas J. Interpretation of Ruminant Leukocyte Responses. In: *Schalms veterinary hematology*. 6th edition, Wiel-Blackwell, 307-313, 2010.
14. Lynch E.M., Earley B., McGee M., Doyle S. Characterisation of physiological and immunological responses in beef cowsto abrupt weaning and subsequent housing. *BMC Veterinary Research* 2010, 6:37.
15. Bertoni G., Trevisi E., Ferrari A., Archetti I. Preliminary studies on compatibility between high yield levels and the well-being of dairy cows. *Vet Res Commun* 2003, 27(Suppl 1): 639-641.
16. George J.W., Snipes J., Lane V.M. Comparison of bovine hematology reference intervals from 1957 to 2006. *Vet Clin* 2010, 39 (2): 138-148.
17. Belić B., Cincović M.R., Stevančević M., Toholj B. Parameters of negative energy balance (NEFA, BHB and glucose) and neutrophil to lymphocyte ratio in cows after calving – compariosn of two indicators of stress. 12th Middle European Buiatric Congress, Pula, Croatia, May 18-22, 281-284, 2011.
18. Thanasak J., Jorritsma R., Hoek A., Noordhuizen J., Rutten V., Müller K.E. The effects of a single injection of dexamethasone-21-isonicotinate on the lymphocyte functions of dairy cows at two weeks post partum. *Vet. Res.* 2004, 35: 103-112.
19. Latimer K.S., Prasse K.W. Leukocytes. In: *Duncan and Prasse's Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology*. 4th ed. Ames, IA: Iowa State Press, 46-79, 2003.
20. Rafia S., Taghipour-Bazargani T., Khaki Z., Bokaie S., Sattari Tabrizi S. Effect of body condition score on dynamics of hemogram in periparturient Holstein cows. *Comparative Clinical Pathology* 2012, 21(5): 933-943.
21. Morris D.G., Waters S.M., McCarthy S.D., Patton J., Earley B., Fitzpatrick R., et al. Pleiotropic effects of negative energy balance in the postpartum dairy cow on splenic gene expression: repercussions for innate and adaptive immunity. *Physiol. Genomics* 2009, 39: 28-37.
22. Galvão K.N., Flaminio M.J.B.F., Brittin S.B., Sper R., Fraga M., Caixeta L., Ricci A., Guard C.L., Butler W.R., Gilbert R.O. Association between uterine disease and indicators of neutrophil and systemic energy status in lactating Holstein cows. *J Dairy Sci* 2010, 93: 2926-2937.
23. Nielsen L., Røntved C.M., Nielsen M.O., Norup L.R., Ingvarsen K.L. Short Communication: Leukocytes from heifers at different ages express insulin and insulin-like growth factor-1 (IGF-1) receptors. *Domest. Anim. Endocrin.* 2003, 25: 231-238.
24. Maratou E., Dimitriadis G., Kollias A., Boutati E., Lambadiari V., Mitrou P., Raptis S.A. Glucose transporter expression on the plasma membrane of resting and activated white blood cells. *Eur J Clin Invest* 2007, 37(4): 282-290.
25. Scalia D., Lacetera N., Bernabucci U., Demeyere K., Duchateau L., Burvenich C. In Vitro Effects of Nonesterified Fatty Acids on Bovine Neutrophils Oxidative Burst and Viability. *J.Dairy Sci.* 2006, 89:147-154.
26. Van Oostveldt K., Vangroenweghe F., Dosogne H., Burvenich C. Apoptosis and necrosis of blood and milk polymorphonuclear leukocytes in early and midlactating healthy cows. *Vet. Res.* 2001, 32: 617-622.