

ORIGINALNI RAD / ORIGINAL PAPER

DOI: 10.2298/VETGL1402043L

UDK: 636.2+618.56:618.6+612.112

**LEUKOGRAM U PERIPARTALNOM PERIODU KOD KRAVA SA I BEZ
RETENCIJE PLACENTE***
PERIPARTAL LEUKOGRAM IN COWS WITH AND WITHOUT RETAINED PLACENTALužajić Tijana, Danilović Jelena, Katić M, Božić Tatjana,
Kovačević Filipović Milica**

Cilj ovog istraživanja je bio da na osnovu promena u apsolutnom broju pojedinih vrsta leukocita u peripartalnom periodu kod krava sa i bez retencije placente utvrdi da li je zaostajanje posteljice povezano sa subkliničkom inflamatornom reakcijom u prepartalnom periodu. Šesnaest visokosteonih krava holštajn rase, starosti od 3 do 9 godina, koje nisu pokazivale kliničke znake oboljenja pre teljenja, posle porođaja je podeljeno u dve grupe: prvu grupu (n=9) činile su životinje koje nisu imale retenciju placente, niti bilo kakvu klinički vidljivu inflamaciju posle porođaja; u drugoj grupi (n=7) bile su krave sa retencijom placente. Krv je uzorkovana 3 puta pre teljenja u razmaku od nedelju dana i jednom 24 sata po porođaju. Ukupan broj leukocita i apsolutan broj segmentiranih i neselementiranih (mladih) neutrofilnih granulocita (NG), kao i broj limfocita i monocita određen je standardnim laboratorijskim tehnikama. Rezultati istraživanja su pokazali da je grupa krava kod koje je posle porođaja nastala retencija placente, u trećoj, drugoj i u poslednjoj nedelji pred porođaj imala blago povišen broj segmentiranih NG, a podjednak broj mladih NG u odnosu na grupu kod koje se nije javila retencija. Kod obe grupe krava, 24 sata nakon porođaja, došlo je do značajnog pada ukupnog broja leukocita i broja segmentiranih NG, a porasta broja mladih NG. Na osnovu navedenih rezultata može se smatrati da životinje kod kojih je u prvih 24 sata dijagnostikovana retencija placente, pre porođaja nisu imale sistemsku subkliničku inflamatornu reakciju. Dvadeset i četiri sata posle porođaja sve životinje su imale subkliničku sistemsku inflamatornu reakciju. Takođe, kod životinja sa retencijom placente,

* Rad primljen za štampu 27. 12. 2012. godine.

** Lužajić Tijana, Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine, Katedra za patološku fiziologiju; Jelena Danilović, Državni Univerzitet u Novom Pazaru, Departman za biologiju; Marko Katić, PKB Korporacija, Beograd; dr sci. vet. med. Tatjana Božić, profesor, dr sci. vet. med. Milica Kovačević Filipović, profesor, Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine, Katedra za patološku fiziologiju

u prvih 24 sata posle porođaja, inflamatorna reakcija, evaluirana kroz ispitivane parametre, nije bila jačeg intenziteta u odnosu na krave kod kojih ovo patološko stanje nije postojalo.

Ključne reči: mladi neutrofili, goveda, leukocitarna formula, partus, retencija placente

Uvod / Introduction

Kod odraslih preživara granulopoeza se odvija nešto sporije nego kod monogastričnih životinja (rev: Taylor, 2000), a bela krvna slika se karakteriše odnosom neutrofila i limfocita ~0.5:1. Kod monogastričnih životinja ovaj odnos je suprotan, a brza granulopoeza omogućava da se nekoliko sati po inflamatornom stimulusu detektuje neutrofilija, odnosno da se u realnom vremenu prati razvoj sistemske inflamatorne reakcije. Kod goveda, tokom prvih 24 do 72h po nastanku oštećenja tkiva, zapravo dolazi do pada broja neutrofilnih granulocita (NG) jer je njihova potrošnja brža od njihovog stvaranja. Ukoliko inflamatorni stimulus nije jak, ukupan broj leukocita ostaje u granicama referentnih vrednosti (Kovačević-Filipović i sar., 2010). Kada se u cirkulaciji pojave mladi NG, ukupan broj NG je često ispod fizioloških vrednosti. Ta pojava se naziva degenerativni levi šift koji sam po sebi nije prognostički nepovoljan znak ukoliko ga posle nekoliko dana smeni neutrofilija. Pojava mladih NG se može pratiti pregledom krvnog razmaza, ali u rutinskoj dijagnostici inflamatornih stanja kod goveda, ova metoda se retko koristi jer se mladi NG pojavljuju u cirkulaciji tek nekoliko dana posle oštećenja tkiva i za njihovu detekciju potrebno je odvojiti dosta vremena. Osim toga, koncentracija fibrinogena i drugih proteina akutne faze predstavlja pouzdaniji marker inflamacije kod goveda (Eckersall i sar., 2001; Eckersall i sar., 2006). Ipak, kod pojedinih patoloških stanja, kod kojih etiopatogeneza nije još uvek u potpunosti jasna, detaljan opis promena na leukocitima može da bude od značaja za definisanje uzroka i mehanizama nastanka tih stanja.

Porođaj se karakteriše aktivacijom kompleksnih mehanizama, među kojima se nalazi lučenje oksitocina i kortikotropnog rilizing hormona, ali i aktivacije nespecifičnog ćelijskog imuniteta (Osman i sar., 2006; Shynlova i sar., 2013). Odlublivanje placente, u vreme porođaja, nastaje zahvaljujući razlaganju kolagena u vezivnom tkivu materice i placente tokom poslednjih nedelja graviditeta, a pod dejstvom enzima oslobođenih iz leukocita, fibroblasta i mišićnih ćelija (Heuweiser i Grunert, 1987). Istraživanja obavljena poslednjih godina u humanoj medicini, na malim eksperimentalnim životinjama i na govedima, sve promene u uterusu i na tkivima, koja čine kontakt uterus-placenta, definišu kao lokalnu inflamaciju (van Engelen i sar., 2009; Benedictus i sar., 2012; Hamilton i sar., 2012; Prins JR i sar., 2012; Shynlova i sar., 2013). Iako je jasno da se u peripartalnom periodu razvija lokalna inflamacija, nema dovoljno podataka koji ukazuju da paralelno sa loka-

Inom inflamacijom postoji (bez ili sa retencijom placente) sistemska inflamatorna reakcija organizma (Kováč i sar., 2009).

Retencija placente kod krava je patološko stanje koje nastaje ukoliko placenta zaostaje duže od 8 časova posle porođaja (Beagley i sar., 2010). Kao najčešći uzroci retencije placente navode se blizanački graviditet, niska telesna masa teladi na rođenju, hipokalcemija i kraći period graviditeta od prosečnog (Ghavi Hossein-Zadeh i Ardalan, 2011). U patogenezi retencije placente dominiraju smanjeno razlaganje kolagena zbog poremećaja u funkciji NG i sistemska imunosupresija, ali i inflamacija jačeg intenziteta zbog infekcije (Benedictus i sar., 2011). Ipak, etiopatogeneza retencije placente u najvećem broju slučajeva ostaje nedovoljno razjašnjena.

Cilj ovog istraživanja je bio da opišu promene u apsolutnom broju pojedinih vrsta leukocita u peripartalnom periodu kod krava sa i bez retencije placente, sa posebnim osvrtom na prisustvo mladih NG čije povećanje može da ukaže na prisustvo sistemske inflamatorne reakcije.

Materijal i metode rada / *Material and methods*

Ogledne životinje i formiranje grupa / Experimental animals and forming groups

Ispitivanje je izvedeno na 16 visokosteonih krava holštajn rase tokom letnjih meseci. Životinje su bile smeštene na farmi goveda sa vezanim sistemom držanja. Krave su bile starosti od 3 do 9 godina, sa ujednačenim prosečnim godišnjim prinosom mleka. Ispitivane životinje nisu pokazivale kliničke znake oboljenja pre teljenja.

Posle teljenja sve krave su podeljene u 2 grupe. Prvu grupu (n=9) činile su krave koje nisu imale retenciju placente niti bilo kakvu vidljivu inflamaciju posle porođaja. Drugu grupu su činile krave (n=7) koje su imale retenciju placente. Dijagnoza retencije placente je postavljena kod životinja kod kojih placenta nije izbačena do 8 sati posle porođaja.

Uzimanje uzoraka krvi na analizu i određivanje broja i vrste leukocita /

Taking blood samples and determining the number and kind of leukocytes

Krv je uzorkovana 3 puta pre teljenja u razmaku od nedelju dana, odnosno tri, dve i jednu nedelju pre očekivanog termina porođaja, i jednom 24 sata nakon porođaja. Uzorci krvi su dobijeni punkcijom repne vene, komercijalnim vakutaner sistemom, iglom promera 18 G (Venoject TERUMO) u vakutanere koji su sadržali EDTA (D-VAC, Demophorius UK, EU). Krvni razmaz je napravljen odmah po uzorkovanju i dva sata kasnije obojen Hemacolorom® (Merck).

Broj leukocita je određen dva sata po uzorkovanju krvi, rutinskom ručnom metodom pomoću Neubauer-ove komore za brojanje uobličjenih elemenata kr-

vi (Fein-optik BAD Blankenburg), melanžera za leukocite, Türk-ovog rastvora i mikroskopa. Relativna leukocitarna formula je dobijena pregledom krvnog razmaza i brojanjem pojedinih vrsta leukocita do ukupnog broja od 200. Određivan je broj segmentiranih i nesegmentiranih NG, limfocita, monocita i eozinofilnih granulocita, dok su ćelije koje nisu mogle biti razvrstane ni u jednu vrstu leukocita označene kao atipične ćelije.

Pojedine vrste leukocita su na krvnom razmazu prepoznavane prema sledećim karakteristikama: a) ćelije sa tri do pet segmenata u jedru i svetlo plavom citoplazmom, dva do tri puta veće od eritrocita su definisane kao NG; b) u mlade NG su svrstavane ćelije koje su bile nešto veće od segmentiranih NG, ali sa nesegmentiranim štapičastim jedrom; c) ćelije podjednake veličine kao i NG, ali sa bilobarnim jedrom i eozinofilnim (ružičasto-narandžastim) granulama, su definisane kao eozinofilni granulociti; d) ćelije sa malim okruglim jedrom koje su sadržale heterohromatin, i uzan krug svetlo plave citoplazme, a čija veličina je malo prevazilazila veličinu eritrocita su definisane kao mali limfociti; e) srednji limfociti su definisani kao ćelije sa nešto većim, okruglim, ekscentrično postavljenim jedrom sa nešto svetlijim hromatinom i nešto više citoplazme; f) ćelije 3 do 4 puta veće od eritrocita, sa velikim centralno postavljenim euhromatičnim jedrom i dosta svetlo plave citoplazme su definisane kao veliki limfociti; g) kao monociti su označene one ćelije koje su takođe bile 3 do 4 puta veće od eritrocita, ali sa jedrom nepravilnog oblika i sivkasto plavom citoplazmom (sa i bez vakuola); h) sve ćelije koje nisu mogle da se razvrstaju po opisanim karakteristikama svrstane su u atipične ćelije. U radu je prikazan ukupan broj limfocita koji je predstavljao zbir malih, srednjih i velikih limfocita.

Leukocitarnu formulu su određivala dva lica, a koeficijent varijacije između dva brojanja je bio ispod 10%. Kao rezultat, uzeta je srednja vrednost između dva brojanja. Na osnovu relativne leukocitarne formule i apsolutnog broja leukocita izračunat je apsolutan broj pojedinih vrsta leukocita.

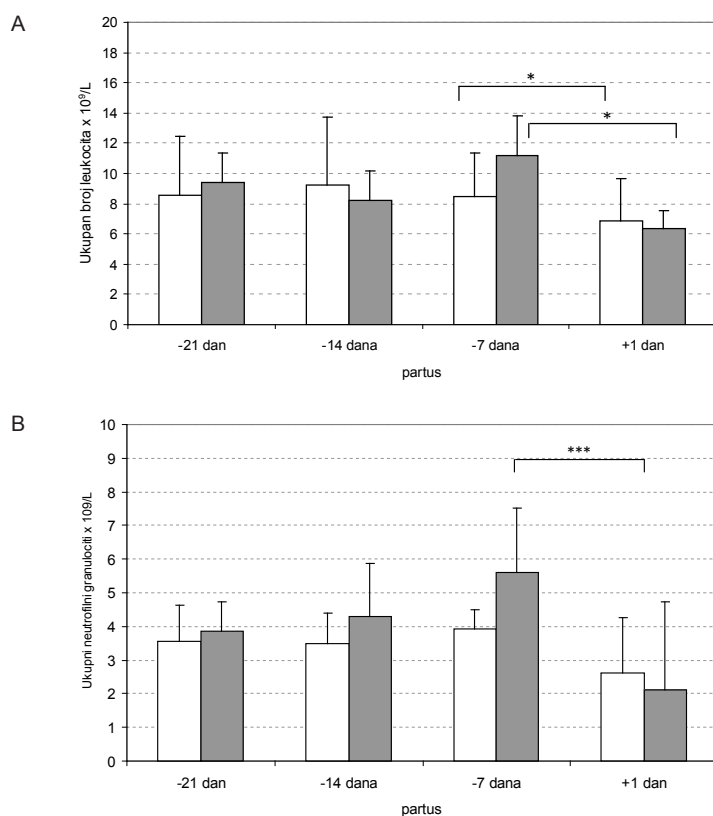
Statistička obrada podataka / Statistical data processing

Svi ispitivani parametri su obrađeni deskriptivnom statistikom i prikazani kao srednje vrednosti (SV) \pm standardna devijacija (SD). Značajnost razlike između ispitivanih parametra određena je studentovim t-testom.

Rezultati / Results

Rezultati ispitivanja pokazuju da se ukupan broj leukocita kod obe grupe krava, u periodu od tri nedelje pred porođaj, ne menja značajno i da se ne može uočiti trend prepartalnog pada ili porasta ovih ćelija (grafikon 1A). Međutim, kod obe grupe krava, 24 sata posle porođaja uočava se značajan pad ukupnog broja leukocita (grafikon 1A), iako njihove vrednosti ostaju u okviru referentnih (Kramer,

2000). Analizom broja NG, može se uočiti da kod obe grupe postoji trend porasta NG do pred porođaj, dok vrednosti posle porođaja padaju, ali ne nastaje neutropenija (grafikon 1B). Razlika u broju NG, u nedelji pred porođaj i odmah posle porođaja je veća u grupi koja je imala retenciju placente, jer su i vrednosti pred porođaj bile više, a vrednosti dobijene odmah posle porođaja su bile niže nego kod zdravih krava (grafikon 1B).

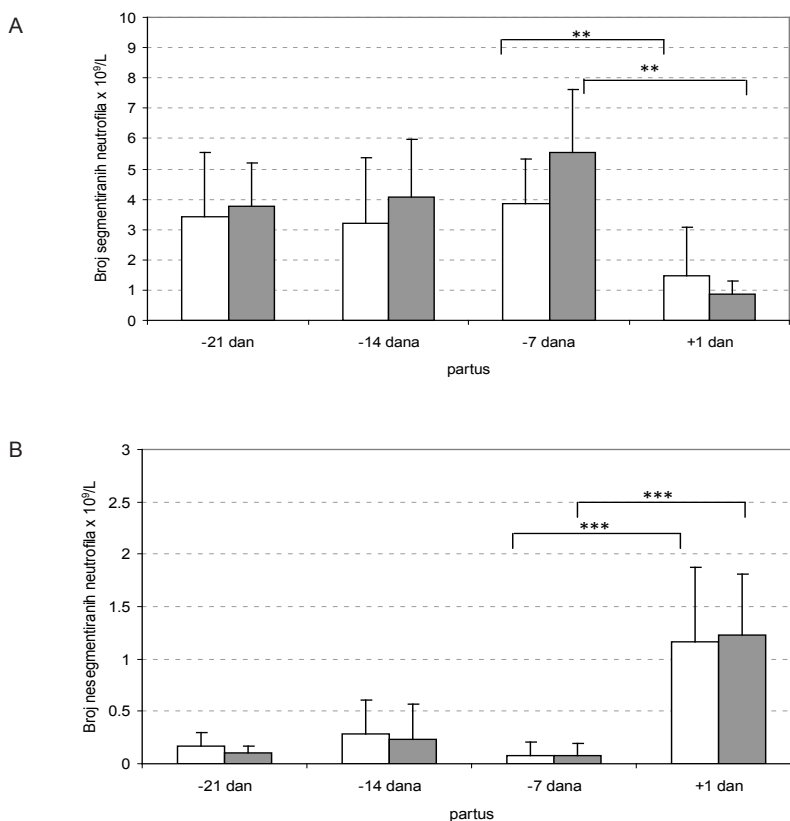


Grafikon 1. Ukupan broj leukocita i ukupan broj neutrofilnih granulocita kod krava koje su klinički bile zdrave pre i posle porođaja (beli stubici, n=9) i kod krava koje su pre porođaja klinički bile zdrave, ali posle porođaja su imale retenciju posteljice (svetlo sivi stubici, n=7)

Graph 1. Total number of leukocytes and neutrophils in cows that were clinically healthy before and after calving (white columns, n=9) and in cows that were clinically healthy before, and after calving had retained placenta (light gray columns, n=7)

Kada se ukupan broj NG predstavi kao broj segmentiranih i broj nesegmentiranih NG, može se uočiti da postoji trend u porastu broja segmentiranih NG u nedeljama pred porođaj i njihov značajan pad odmah posle porođaja (grafikon

2A). Broj mladih NG se tokom ispitivane tri nedelje pred porođaj ne menja, ali 24 sata posle porođaja značajno raste i prelazi gornju granicu referentnih vrednosti za goveda (grafikon 2B). Jedina razlika (iako nije značajna), koja se može uočiti između dve grupe životinja, je da kod krava kod kojih je posle porođaja nastala retencija placente, tokom čitavog ispitivanog perioda pre porođaja postoji nešto veći broj segmentiranih NG (grafikon 2A).

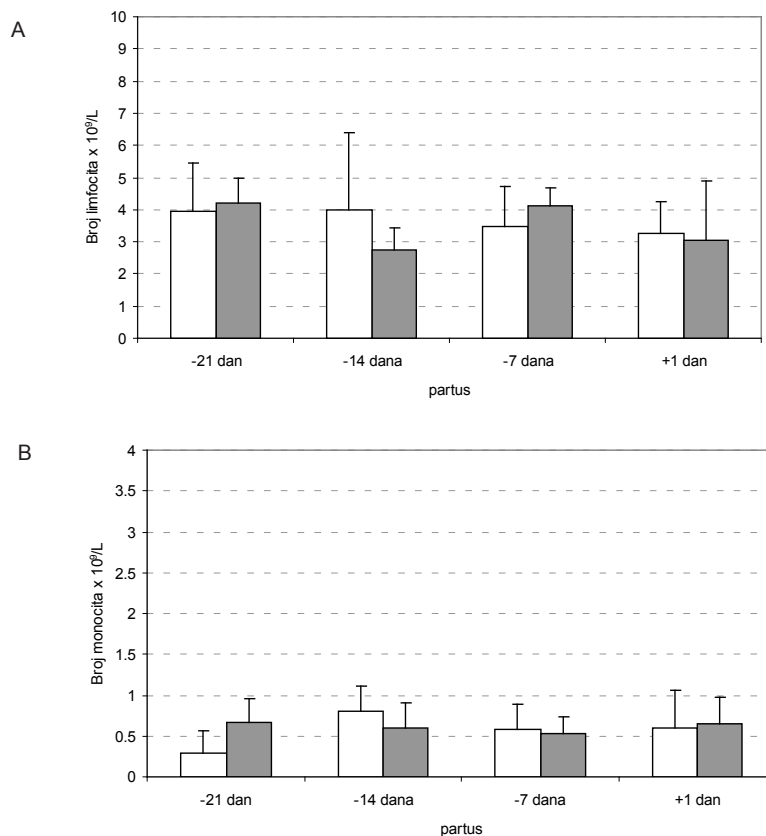


Grafikon 2. Broj segmentiranih i nesegmentiranih neutrofilnih granulocita kod krava koje su klinički bile zdrave pre i posle porođaja (beli stubici, n=9), kod krava koje su pre porođaja klinički bile zdrave ali posle porođaja su imale retenciju posteljice (svetlo sivi stubici, n=7)

Graph 2. Number of segmented and non segmented neutrophils in cows that were clinically healthy before and after calving (white columns, n=9) and in cows that were clinically healthy before, but after calving had retained placenta (light grey columns, n=7)

Posle obrade podataka, zaključeno je da između pojedinih vrsta limfocita (mali, srednji i veliki) nije bilo razlike između pojedinih grupa, tako da je broj limfocita prikazan kao zbirna vrednost. Broj limfocita i monocita kod ispitivanih

životinja nije bio promenjen, ni u periodu od tri nedelje pre niti odmah posle porođaja (Grafikon 3A i B). Broj eozinofilnih granulocita i atipičnih ćelija nije bio različit u ispitivanim grupama i vremenima (rezultati nisu prikazani).



Grafikon 3. Broj limfocita i monocita kod krava koje su klinički bile zdrave pre i posle porođaja (beli stubici, n=9), kod krava koje su pre porođaja klinički bile zdrave ali posle porođaja su imale retenciju posteljice (svetlo sivi stubici, n=7)

Graph 3. Number of lymphocytes and monocytes in cows that were clinically healthy before and after calving (white columns, n=9) and in cows that were clinically healthy before, but after calving had retained placenta (light grey columns, n=7)

Diskusija / Discussion

Rezultati ovog istraživanja pokazuju da kod krava sa i bez retencije placente, u cirkulaciji, tokom 24 sata posle porođaja, dolazi do značajnog pada ukupnog broja leukocita, ukupnog broja NG i broja segmentiranih NG, a porasta broja mladih NG. Kako tokom ovog istraživanja krv nije uzorkovana svakodnevno u

nedelji pred partus, ne možemo sa sigurnošću odrediti kada je zaista nastao pad u broju segmentiranih, a porast neselementiranih NG. Poznato je da je neutropenija, sa pojavom mladih NG, karakterističan nalaz za odgovor akutne faze kod goveda, ali brzina nastanka neutropenije se razlikuje u zavisnosti od eksperimentalnog pristupa. Naime, neutropenija nastaje posle četiri sata od inokulacije endotoksina u vime, a tek posle 16 časova od inokulacije *E. coli* (Griel i sar., 1975). Mladi NG su u prethodnim istraživanjima uočeni posle 24 do 72 časa od inokulacije *E. coli* u vime (Jain i Lasmanis, 1978). Na osnovu navedenih rezultata iz literature, može se smatrati da je pad segmentiranih i porast mladih NG mogao da nastane u prepartalnom periodu, ali ne može se isključiti mogućnost da su ove promene nastale i u toku samog porođaja. Ranija ispitivanja u promeni broja pojedinih vrsta leukocita i ukupnog broja leukocita u peripartalnom periodu pokazuju da pred porođaj postoji trend porasta ukupnog broja leukocita i NG, a posle porođaja njihov pad (Kornmatitsuk i sar., 2004; Ohtsuka i sar., 2004) što je u skladu sa našim istraživanjima. Suprotno našim nalazima, Meglia i sar., (2001) pokazali su povećanje broja leukocita i NG u prvih 24 sata postpartalno koje korelira sa povećanjem koncentracije glukokortikosteroida. Na osnovu svega navedenog, kao i na osnovu naših rezultata, možemo pretpostaviti da je dinamika promene broja NG postpartalno veoma brza (Kherly i sar., 1989) i da broj NG počinje da pada nekoliko sati posle porođaja, a da se vrednosti stabilizuju na višem nivou u toku prvog meseca posle porođaja. Može se, takođe, pretpostaviti da nagli pad u broju NG posle porođaja, koji je počeo u terminu (i bez infekcije), nastaje zbog njihovog prelaska u sve regione materice i cerviks (Thomson i sar., 1999; Keski-Nisula i sar., 2000; Osman i sar., 2006; Gomez-Lopez i sar., 2011; Shynnlova i sar., 2013) omogućavajući uklanjanje oštećenih ćelija, remodelovanje i regeneraciju tkiva. Iako pad segmentiranih NG nastaje odmah posle porođaja, moguće je da porast broja mladih NG u cirkulaciji zapravo počinje jedan ili dva dana pre partusa i da je povezan sa stvaranjem pro-inflamatornih citokina i hemotaksičnih materija u materici pre porođaja (Benedictus i sar., 2011). Naša prethodna ispitivanja su pokazala da u prvih 24 sata posle partusa dolazi i do naglog pada koncentracije gvožđa, pada koncentracije albumina i porasta koncentracije globulina i fibrinogena kod krava odmah posle porođaja, što sve ukazuje na sistemsku inflamatornu reakciju (Katić, 2011). Koncentracija drugih proteina akutne faze takođe raste u prvoj nedelji posle porođaja (Kovač i sar., 2009). Na osnovu svega navedenog možemo pretpostaviti da su promene u broju zrelih i mladih NG podstaknute fiziološkim promenama koje uključuju odgovor akutne faze u uterusu pred partus i tokom samog partusa.

Broj segmentiranih NG je u trećoj, drugoj i u prvoj nedelji pred partus bio nešto veći kod krava koje su imale retenciju placente u odnosu na krave bez retencije. Naša prethodna ispitivanja pokazuju da kod krava sa retencijom placente nedelju dana pre porođaja postoji značajan porast broja trombocita (Lužajić i sar., 2013). Na osnovu činjenice da je broj segmentiranih NG, kao i broj trombocita u prepartalnom periodu veći kod krava kod kojih se posle partusa razvije retencija

placente, može se pretpostaviti da su te krave pre porođaja bile izložene nekom obliku stresa. Stres dovodi do porasta koncentracije glukokortikosteroida koji s jedne strane sprečavaju prelazak NG u tkiva i povećavaju njihov broj u cirkulaciji (Jacobs i sar., 1981), a sa druge strane povećavaju broj trombocita u cirkulaciji (Mandell, 2000).

Zaključak / Conclusion

Na osnovu svih prethodno navedenih rezultata, može se zaključiti da su sve životinje odmah posle porođaja imale subkliničku sistemsku inflamatornu reakciju. Životinje kod kojih je dijagnostikovana retencija placente, odgovor akutne faze, evaluiran kroz ispitivane parametre, nije bio jačeg intenziteta u odnosu na krave kod kojih ovo patološko stanje nije postojalo. Kod krava kod kojih je ustanovljena retencija placente pre partalno nije postojala sistemsku subklinička inflamacija, ali da su na osnovu svih navedenih rezultata te životinje bile izložene nekom stresogenom faktoru koji je doveo do sistemske reakcije organizma.

NAPOMENA / ACKNOWLEDGEMENT:

Deo ovog rada je finansiran sredstvima projekta broj 175061 Ministarstva za prosvetu, nauku i tehnološki razvoj, Republike Srbije.

A part of this work was funded by the project number 175061 of the Ministry of Education, Science and Technological Development, Republic of Serbia.

Literatura / References

1. Beagley JC, Whitman KJ, Baptiste KE, Scherzer J. Physiology and treatment of retained fetal membranes in cattle. *J Vet Intern Med* 2010; 24(2): 261-8.
2. Benedictus L, Jorritsma R, Knijn HM, Vos PL, Koets AP. Chemotactic activity of cotyledons for mononuclear leukocytes related to occurrence of retained placenta in dexametasone induce parturition in cattle. *Theriogenology* 2011; 76(5): 802-9.
3. Benedictus L, Thomas AJ, Jorritsma R, Davies CJ, Koets AP. Two-way calf to dam major histocompatibility class I compatibility increases risk factor retained placenta in cattle. *Am J Reprod Immunol* 2012; 67(3): 224-30.
4. Eckersall PD, Young FJ, McComb C, Hogarth CJM, Safi S, Weber A, McDonald T, Nolan AM, Fitzpatrick JL. Acute phase proteins in serum and milk from dairy cows with clinical mastitis. *Vet Rec* 2001; 148: 35-42.
5. Eckersall PD, Young FJ, Nolan AM, Knight CH, McComb C, Waterston MM, Hogarth CJ, Scott EM, Fitzpatrick JL. Acute phase proteins in bovine milk in an experimental model of *Staphylococcus aureus* subclinical mastitis. *J Dairy Sci* 2006; 89: 1488-501.
6. Ghavi Hossein-Zadeh N, Ardalan M. Cow-specific risk factors for retained placenta, metritis and clinical mastitis in Holstein cows. *Vet Res Commun* 2011; 35(6): 345-54.
7. Gomez-Lopez N, Vadillo-Perez L, Nessim S, Olson DM, Vadilo-Ortega F. Choriondecidua and amnion exhibit selective leukocyte chemotaxis during term human labor. *Am J Obstet Gynecol* 2011; 204(4): 364.
8. Griel LC Jr, Zarkower A, Eberhart RJ. Clinical and clinico-pathological effects of *Escherichia coli* endotoxin in mature cattle. *Can J Comp Med* 1975; 39(1): 1-6

9. Hamilton S, Oomomian Y, Stephen G, Shynlova O, Tower CL, Garrod A, Lye SJ, Jones RL. Macrophages infiltrate the human and rat decidua during term and preterm labor: evidence that decidual inflammation precedes labor. *Biol Reprod* 2012; 86(2): 39.
10. Heuwieser W, Grunert E. Steroid hormon profile in the after birth expulsion period of cattle. *Otsch Tierarztl Wochenschr* 1987; 94(5): 311-4.
11. Jacobs RM, Horney B, Beiner L. Cutaneous response to PHA-M and hematological changes in corticosteroid treated cows. *Can J Comp Med* 1981; 45(4): 384-7.
12. Jain NC, Lasmanis J. Leucocytic changes in cows given intravenous injections of *Escherichia coli* endotoxin. *Res Vet Sci* 1978; 24(3): 386-7.
13. Katić M. Status gvožđa, krvna slika i proteini kod krava u posljednjem mesecu graviditeta i kod njihove teladi. U: Katić M. Parametri statusa gvožđa kod novorođene teladi i kod krava različite starosti u peripartalnom periodu. Beograd, Specijalistički rad 2011: 48-53.
14. Keski-Nisula L, Aalto ML, Katila ML, Kirkinen P. Intrauterine inflammation at term: a histopathologic study. *Hum Pathol* 2000; 31(7): 841-6.
15. Kherly ME Jr, Nonnecke BJ, Roth JA. Alterations in bovine neutrophil function during the periparturient period. *AM J Vet Res* 1989; 50(2): 207-14.
16. Kornmatitsuk B, Dahl E, Ropstad E, Beckers JE, Gustafsson H, Kindahl H. Endocrine profiles, haematology and pregnancy outcomes of late pregnant Holstein dairy heifers sired by bulls giving a high or low incidence of stillbirth. *Acta Vet Scand* 2004; 45(1-2): 47-68.
17. Kováč G, Tóthová C, Nagy O, Seidel H, Konvičná J. Acute Phase Proteins and their Relation to Energy Metabolites in Dairy Cows during the Pre - and Postpartal Period. *Acta Vet Brno* 2009; 78: 441-7.
18. Kovačević Filipović M, Stevanović J, Stevanov Pavlović M, Debeljak Martačić J, Knežević M, Mijačević Z, Božić T. Acute phase protein response in cows with *Staphylococcus aureus* subclinical mastitis. *Acta Vet Beograd* 2010; 60: 205-16.
19. Kramer JW. Normal hematology of cattle, sheep and goats, In: Feldman FB, Zinkl GJ, Nemi CJ, editors, 2000: *Veterinary Hematology*, 107-6.
20. Lužajić T, Katić M, Danilović J, Blond B, Bogdanović D, Kovačević Filipović M. Peripartalni broj trombocita i koncentracija fibrinogena kod goveda sa i bez retencije placente. Trinaesti Srednjeevropski Kongres Bujatričara, Beograd, Srbija, 5-8 Jun, 2013: (*in press*)
21. Mandell PC. Essentials thrombocythemia and reactive thrombocytosis, In: Feldman FB, Zinkl GJ, Nemi CJ, editors, 2000: *Veterinary Hematology*, 504
22. Meglia GE, Johannisson A, Petersson L, Waller KP. Changes in some blood micronutrients leukocytes and neutrophil expression of adhesion molecules in periparturient dairy cows. *Acta Vet Scand* 2001; 42(1): 139-50.
23. Ohtsuka H, Koiwa M, Fukunda S, Satoh Y, Hayashi T, Hoshi F, Yoshino TO, Kawamura S. Changes in peripheral leukocyte subsets in dairy cows with inflammatory diseases after calving. *J Vet Med Sci* 2004; 66(8): 905-9.
24. Osman I, Young A, Joradan F, Greer IA, Norman JE. Leukocyte density and proinflammatory mediator expression in regional human fetal membranes and decidua before and during labor at term. *J Soc Gynecol Investig* 2006; 13(2): 97-103.
25. Prins JR, Gomes-Lopes N, Robertson SA. Interleukin-6 in pregnancy and gestational disorders. *J Reprod Immunol* 2012; 95(1-2): 1-14.
26. Shynlova O, Lee YH, Srikanth K, Lye SJ. Physiologic uterine inflammation and labor onset: integration of endocrine and mechanical signals. *Reprod Sci* 2013; 20(2): 154-67.
27. Taylor JA. Leukocyte Response in Ruminants. In: Bernard F, Feldman, Joseph G, Zinkl, Nemi C. Jain. *Veterinary Hematology*. Philadelphia, 2000: 391-2.
28. Thomson AJ, Telfer JF, Young A, Campbell S, Stewart CJ, Cameron IT, Greer IA, Norman JE. Leukocytes infiltrate the myometrium during human parturition: further evidence that labor is an inflammatory process. *Hum Reprod* 1999; 14(1): 229-36.

29. van Engelen E, de Groot MW, Breeveld-Dwarkasing VN, Everts ME, van der Weyden GC, Taverne MA, Rutten VP. Cervical ripening and parturition in cows are driven by a cascade of pro-inflammatory cytokines. *Reprod Domest Anim* 2009; 44(5): 834-41.

ENGLISH

PERIPARTAL LEUKOGRAM IN COWS WITH AND WITHOUT RETAINED PLACENTA

**Lužajić Tijana, Danilović Jelena, Katić Marko, Božić Tatjana,
Kovacević Filipović Milica**

The aim of this study was to investigate whether prepartal leukogram in cows with retained placenta could indicate the presence of subclinical systemic inflammatory response before the onset of disease. After calving, sixteen highly pregnant Holstein cows, aged 3 to 9 years, without clinical signs of the disease prior to calving were divided into two groups: the first group (n=9) were animals without retained placenta, or any visible inflammation after birth; the second group (n=7) were cows with retained placenta. Blood was sampled three times before parturition, at intervals of one week, and once 24 hours after birth. The number of total leukocytes, segmented and non segmented neutrophilic granulocytes (NG), lymphocytes and monocytes were determined by standard laboratory techniques. The results have shown that in the group of cows with retained placenta the number of mature neutrophils was slightly elevated in the third, second and last week before calving, and equal number of non segmented neutrophils in regard to the group with no retention. The results have also shown that, in both groups of cows, 24 hours after calving, the number of total leukocytes and the number of segmented neutrophils decreased, but the number of the non segmented neutrophils increased. Based on this, we can conclude that cows with retained placenta had no systemic inflammatory response during three weeks prepartal period, but 24 hours after calving, systemic inflammatory response was documented in all the cows. Moreover, the intensity of inflammatory response in cows with retained placenta was not more pronounced in comparison to cows without retained placenta.

Key words: band neutrophils, dairy cows, leukocytes formula, partus, retained placenta

РУССКИЙ

ЛЕЙКОГРАММА КОРОВ В ОКОЛОРОДОВОМ ПЕРИОДЕ СО И БЕЗ УДЕРЖКИ ПЛАЦЕНТЫ

**Лужаич Тияна, Данилович Елена, Катич Марко, Божич Татьяна,
Ковачевич Филипович Милица**

Целью данного исследования было определить, является ли задержка плаценты в связи с субклинической воспалительной реакцией в околородовом периоде на основании изменений абсолютного числа отдельных видов лейкоцитов коров в околородовом периоде со и без удержки плаценты. Шестнадцать высокопородных

Голштайн коров во возрасте от 3 до 9 лет, которые не показывали клинические признаки заболевания до отела, после родов были разделены на две группы: первая группа (n=9) состояла из животных, имеющих задержку плаценты или любое клиническое видимое послеродовое воспаление, во второй группе (n=7) были коровы с задержкой плаценты. Образцы коров брали три раза до отела через одну неделю и раз в течение 24 часа после рождения. Общее количество лейкоцитов и абсолютное число сегментированных и несегментированных (молодых) нейтрофильных гранулоцитов (НГ), а также количество лимфоцитов и моноцитов было определено с помощью стандартных лабораторных методов. Результаты показали, что группа коров, в которой роды произошли после удержки плаценты в третьей, второй и последней недели перед родами, количество сегментированных НГ было немного больше, а количество молодых НГ одинаково по сравнению с группой, в которой не было удержки. В обеих группах коров, через 24 часа после родов, наблюдалось значительное уменьшение общего числа лейкоцитов и число сегментированных НГ, увеличение числа молодых НГ. На основании этих результатов, можно предположить, что животное, у которого в первые 24 часа был поставлен диагноз удержки плаценты до родов не имели субклинического системного воспалительного ответа. Двадцать четыре часа после родов, все животные имели суб-клиническую системную воспалительную реакцию. Кроме того, у животных с задержкой плаценты, в течение первых 24 часов после рождения, воспалительная реакция, которую оценили на основании параметрах исследования, не была более высокой интенсивности по сравнению с коровами, у которых не существует патологическое состояние.

Ключевые слова: молодые нейтрофилы, крупный рогатый скот, лейкоциты, роды, задержка плаценты