

UNIVERZITET U BEOGRADU
FAKULTET VETERINARSKE MEDICINE

MR MILJAN N. VELI KOVI

UTICAJ RAZLI ITIH DOZA PREPARTALNO
APLIKOVANOG SELENA NA SMANJENJE
U ESTALOSTI ZAOSTAJANJA POSTELJICE
KOD VISOKOMLE NIH KRAVA

DOKTORSKA DISERTACIJA

BEOGRAD, 2015

MENTOR:

Dr Ivan B. Jovanovi , redovni profesor, Univerzitet u Beogradu,
Fakultet veterinarske medicine

LANOVI KOMISIJE:

Dr Dragan Gvozdi , redovni profesor, Univerzitet u Beogradu,
Fakultet veterinarske medicine

Dr Anita Radovanovi , vanredni profesor, Univerzitet u Beogradu,
Fakultet veterinarske medicine

Dr Slobodanka Vakanjac, vanredni profesor, Univerzitet u Beogradu,
Fakultet veterinarske medicine

Dr Mirjana Joksimovi -Todorovi , redovni profesor, Univerzitet u
Beogradu, Poljoprivredni fakultet

DATUM ODBRANE:

UTICAJ RAZLI ITIH DOZA PREPARTALNO APLIKOVANOG SELENA NA SMANJENJE U ESTALOSTI ZAOSTAJANJA POSTELJICE KOD VISOKOMLE NIH KRAVA

mr Miljan Veli kovi

Rezime

U radu su ispitivani efekti dodavanja razli itih koli ina selena (Se) u prepartalnom periodu kod krava iji je poro aj indukovan preparatima prostaglandina F₂. Cilj je bio da se utvrdi efekat Se na u estalost zaostale posteljice (RP), oksidativni/antioksidativni status, stepen opšteg stresa, uticaj na koncentraciju tireoidnih i steroidnih hormona, kao i da se uporede vrednosti istih parametara kod životinja sa i bez zaostale posteljice, nezavisno od tretmana.

Ogled je izveden na trideset tri (33) krave Holštajn-Frizijske rase koje su metodom slu ajnog izbora podeljene u tri grupe kojima je jednokratno, intramuskularno, apliciran suplement natrijum selenita (NaSe) i tokoferol acetata (TAc) na slede i na in: kontrolna grupa (n=9) nije dobijala suplement i služila je kao negativna kontrola; grupa 1 (n=11) je dobila 10 mg NaSe + 400 mg TAc; grupa 2 (n=13) je dobila 20 mg NaSe + 800 mg TAc, 21 dan pre o ekivanog poro aja. Poro aj kod svih krava je indukovan sa PGF₂, ali ne pre 275-og dana graviditeta. Heparinizirana krv je sakupljana za odre ivanje aktivnosti glutacion peroksidaze (GPx), koncentracije Se, malondialdehida (MDA), tiroksina (T4), trijodtironina (T3), kortizola, estradiola, progesterona, -hidroksibutirata (BHBA) i aktivnosti glutamat dehidrogenaze (GLDH).

Procenat zastupljenosti RP kod krava u grupi 1 opao je na 38,2%, a u grupi 2 na 30,8%, u odnosu na kontrolu (66,7%), kao posledica dodavanja Se. Koncentracija Se i aktivnost GPx u krvi suplementiranih grupa bile su više u odnosu na kontrolu, ali se nisu me usobno razlikovale, dok je koncentracija MDA kod suplementiranih krava bila zna ajno niža u pore enju sa kontrolom. Plazmatska koncentracija T4 bila je zna ajno viša u grupi 1 u pore enju sa kontrolom, dok se koncentracija T3 nije razlikovala izme u grupa. Koncentracija kortizola u grupi 2 bila je zna ajno niža u odnosu na kontrolu i grupu 1. Pritom, kod nesuplementiranih životinja nivo kortizola je neprekidno rastao u periodu od 12^h pre do 12^h posle poro aja, dok se kod suplementiranih grupa nivoi nisu menjali. Koncentracije progesterona i estradiola nisu reagovale na dodatak Se.

Plotkinje koje nisu razvile RP imale su zna ajno višu koncentraciju Se i aktivnost GPx u punoj krvi i, kao posledicu, zna ajno niže koncentracije MDA u krvnoj plazmi u odnosu na krave kod kojih je dijagnostikovana RP. Krave sa RP imale su zna ajno višu koncentraciju progesterona u pore enju sa životinjama bez RP, dok se nivoi ostalih steroidnih hormona nisu razlikovali.

Plazmatska aktivnost GLDH i koncentracija BHBA kretale su se u fiziološkim granicama.

Klju ne re i: krave, zaostala posteljica, selen, tironini, kortizol, estradiol, progesteron

Nau na oblast: Veterinarska medicina

Uža nau na oblast: Biohemija; Fiziologija reprodukcije

EFFECT OF DIFFERENT DOSES OF PREPARTALLY APPLIED SELENIUM ON THE REDUCTION OF RETAINED PLACENTA INCIDENCE IN HIGH-YIELD DAIRY COWS

Miljan Veli kovi , MSc

Summary

This study analyzes the effects of pre-partal application of selenium (Se) to cows whose parturition was induced using prostaglandine F₂. The goal was to determine the effects of Se on the incidence of retained placenta (RP), oxidative/anti-oxidative status, level of general stress, thyroid and steroid hormones, as well as to compare the above parameters between cows with and without RP, independently of treatment.

The experiment was carried out on 33 Holstein-Friesian cows divided randomly into 3 groups. The treatment consisted of a single term i/m injection of sodium selenite (NaSe) and tocopherol acetate (TAc), as follows: the untreated group (n=9) served as a negative control; group 1 (n=11) received 10 mg NaSe + 400 mg TAc; group 2 (n=13) received 20 mg NaSe + 800 mg TAc, 21 days before the expected parturition. In all cows parturition was induced using PGF₂, never before the 275th day of gestation. Heparinized blood was collected to determine GPx activity, concentrations of Se, malondialdehyde (MDA), thyroxine (T₄), triiodothyronine (T₃), cortisol, 17 β -estradiol, progesterone, γ -hydroxybutyrate (BHBA) and glutamate dehydrogenase (GLDH) activity.

Percent of RP in group 1 was reduced to 38,2% and in group 2 to 30,2% compared to control (66,7%) as a consequence of Se supplementation. Blood Se concentration and GPx activity were higher in supplemented groups compared to the control, but did not differ between groups 1 and 2; plasma MDA content was significantly lower in supplemented groups compared to the control. Plasma T₄ was significantly higher in group 1 compared to the control, while T₃ did not differ between groups. Plasma cortisol content was significantly lower in group 2 compared to the control and group 1. In unsupplemented animals plasma cortisol level constantly raised from 12h before to 12h after parturition, while in the supplemented group it was unchanged. Plasma progesterone and estradiol levels were unaffected by Se treatment.

Cows without RP had significantly higher blood Se concentration and GPx activity and as a consequence lower plasma MDA content compared to cows with RP. Plasma progesterone was higher in non-RP animals, while the concentration of other hormones did not differ.

Plasma GLDH activity and BHBA concentrations were within physiological limits.

Keywords: cows, placental retention, selenium, thyronines, cortisol, estradiol, progesterone

Scientific field: Veterinary medicine

Narrower scientific field: Biochemistry; Reproduction physiology

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. PREGLED LITERATURE	4
2.1. Istorijat i značaj izučavanja selena	4
2.2. Fizikohemijske osobine selena	5
2.3. Selen u zemljištu	5
2.4. Selen u biljkama - geografska distribucija selena u biljnim hranivima u svetu i Srbiji	6
2.4.1. Metabolizam selena kod životinja i ljudi	8
2.5. Biološke uloge selena	10
2.5.1. Glutathion peroksidaze (GPx)	10
2.5.2. Jodotironin dejodinaze (ID)	12
2.5.3. Tioredoksin reduktaze (Trx)	13
2.5.4. Ostali selenoproteini	13
2.6. Potrebe u selenu	14
2.6.1. Faktori koji utiču na potrebe u selenu	15
2.7. Status selena i njegovo određivanje	16
2.7.1. Određivanje statusa selena kod životinja	18
2.8. Toksičnost selena	19
2.9. Poremećaji usled deficita selena	22
2.9.1. Poremećaji kod goveda zbog deficita selena	22
2.9.2. Poremećaji kod ovaca i koza zbog deficita selena	23
2.9.3. Poremećaji kod svinja zbog deficita selena	24
2.9.4. Poremećaji kod konja zbog deficita selena	25
2.9.5. Poremećaji kod živine vezani za deficit selena	26
2.9.6. Poremećaji kod pasa i mačaka	27
2.9.7. Selen i zdravlje ljudi	27
2.9.7.1. Kešanska bolest	27
2.9.7.2. Kašin-Bekova bolest	28
2.9.7.3. Selen i kancer	29
2.10. Vitamin E	30
2.10.1. Biološka uloga vitamina E	30
2.10.2. Izvori vitamina E	31

2.10.3. Resorpcija i metabolizam vitamina E	31
2.10.4. Potrebe	32
2.10.5. Vitamin E i zdravlje krava	32
2.11. Problematika zadržane posteljice kod krava	32
2.11.1. Građa posteljice krava	32
2.11.2. Fiziološki mehanizam porođaja	34
2.11.3. Fiziologija izbacivanja posteljice	35
2.11.4. Definicija zaostale posteljice	37
2.11.5. Etiologija	40
2.11.6. Efekti zaostale posteljice	44
2.12. Indukcija porođaja prostaglandinima i indikacije	44
2.13. Peripartalni period kod mlečnih krava	46
2.14. Energetski bilans	47
2.15. Hormonska regulacija adaptacije metabolizma	
krava u peripartalnom periodu	48
2.15.1. Estradiol	48
2.15.2. Progesteron	49
2.15.3. Glukokortikosteroidi	50
2.15.4. Tireoidni hormoni	51
2.16. Uticaj ishrane i hormona na peripartalnu imunosupresiju	52
3. CILJEVI I ZADACI	54
4. MATERIJAL I METODE RADA	56
4.1. Eksperimentalne grupe i tretmani	56
4.2. Obrok za porodilje 20 dana pre teljenja	56
4.3. Određivanje koncentracije selena u punoj krvi	57
4.4. Određivanje koncentracije MDA u krvnoj plazmi	57
4.5. Određivanje aktivnosti glutation peroksidaze (GPx) u punoj krvi	58
4.6. Određivanje koncentracije T3 i T4 u krvnoj plazmi	58
4.7. Određivanje koncentracija kortizola, estradiola	
i progesterona u krvnoj plazmi	58
4.8. Određivanje koncentracija β -hidroksibutirata u krvnoj plazmi	59
4.9. Određivanje aktivnosti glutamat dehidrogenaze u krvnoj plazmi	59
4.10. Statistička analiza rezultata	60

5. REZULTATI	61
5.1. Procena uticaja dodatog selena i vitamina E na u estalost zaostajanja posteljice, oksidativni/antioksidativni status, koncentraciju tironina, steroidnih hormona, -hidroksibutirata i aktivnost GLDH u peripartalnom periodu	61
5.1.1. U estalost pojave zaostale posteljice	61
5.1.2. Koncentracija selena u punoj krvi krava 12h nakon partusa	62
5.1.3. Aktivnost GPx u punoj krvi krava 12h nakon partusa	62
5.1.4. Koncentracija MDA u krvnoj plazmi krava 12h pre, tokom i 12h nakon partusa	62
5.1.5. Korelacija izme u aktivnosti Gpx u punoj krvi i koncentracije MDA u krvnoj plazmi krava	63
5.1.6. Koncentracija T4 u krvnoj plazmi krava 12h pre, tokom i 12h nakon partusa	64
5.1.7. Koncentracija T3 u krvnoj plazmi krava 12h pre, tokom i 12h nakon partusa	65
5.1.8. Indeks aktivacije tireoidnih hormona ($T3 / T4 \times 100$) u krvnoj plazmi krava 12h pre, tokom i 12h nakon partusa	66
5.1.9. Korelacija izme u aktivnosti Gpx u punoj krvi i indeksa aktivacije tironina u krvnoj plazmi krava	66
5.1.10. Koncentracija kortizola u krvnoj plazmi krava 12h pre, tokom i 12h nakon partusa (P-12, P, P+12)	67
5.1.11. Koncentracija 17β -estradiola u krvnoj plazmi krava 12h pre, tokom i 12h nakon partusa (P-12, P, P+12)	68
5.1.12. Koncentracija progesterona u krvnoj plazmi krava 12h pre, tokom i 12h nakon partusa (P-12, P, P+12)	69
5.1.13. Aktivnost glutamat dehidrogenaze u krvnoj plazmi krava 12h nakon partusa (P+12)	69
5.1.14. Koncentracija -hidroksi butirata u krvnoj plazmi krava 12h nakon partusa	70
5.2. Pojedina na procena uticaja fizioloških parametara pra enih u eksperimentu na pojavu retencije posteljice, nezavisno od tretmana selenom i vitaminom E	71

6. DISKUSIJA	72
6.1. Uestalost pojave zaostale posteljice	72
6.2. Koncentracija selena i aktivnost glutacion peroksidaze u punoj krvi i koncentracija malondialdehida u krvnoj plazmi krava	74
6.3. Status tireoidnih hormona u krvnoj plazmi krava	78
6.4. Status steroidnih hormona: kortizola, 17 β -estradiola i progesterona u krvnoj plazmi krava	81
6.5. Aktivnost glutamat dehidrogenaze i koncentracija α -hidroksibutirata u krvnoj plazmi krava	87
7. ZAKLJUČCI	91
8. SPISAK LITERATURE	94

Objašnjenje skraćenih oznaka koje su korištene u radu

ACTH - adenokortikotropni hormon	MHC - glavni kompleks histokompatibilnosti
ALT - alanin transaminaza	MMP - matriks metaloproteinaza
AST - aspartat transaminaza	NaSe - natrijum selenit
BCS - ocena telesne kondicije	NEFA - neesterifikovana masna kiselina
BHBA - β-hidroksibuterna kiselina	NK - ćelije ubice
CL - žuto telo	NRC - National Research Council
CNS - centralni nervni sistem	PEM - polioencefalomalacija
COX - ciklooksigenaza	PGF - prostaglandin
CPK - kreatin fosfokinaza	PMN - polimorfonuklear
CRF - kortikotropin oslobodilački hormon	RP - retencija posteljice
DNK - dezoksiribonukleinska kiselina	SDH - sorbitol dehidrogenaza
GPx - glutation peroksidaza	T3 - trijodtironin
ID - jodotironin dejodinaza	T3/T4x100 - indeks aktivacije tireoidnih hormona
IFN - interferon	T4 - tiroksin
IL - interleukin	TAc - tokoferol acetat
IU - internacionalna jedinica	T_h - pomoćne T ćelije
LDH - laktat dehidrogenaza	Trx - tioredoksin reduktaza
LDL - lipoproteini male gustine	
MAO - monoamino oksidaza	
MDA - malondialdehid	

1. UVOD

Peripartalni period kod krava obuhvata period od 3 nedelje pre i 3 nedelje posle poro aja. Tada nastaju mnogobrojne metaboli ke i endokrine promene od kojih zavisi zdravstveno stanje, proizvodni i reproduktivni rezultati. Nervni i endokrini sistem imaju glavnu ulogu u regulisanju adaptacije metabolizma tokom peripartalnog perioda. Dolazi do zna ajnih promena u hormonskom sistemu, što ima za cilj da se plotkinje pripreme za nastupaju u laktaciju, poro aj i nastavak reproduktivne funkcije. Pored nervnog i endokrinog, važnu ulogu u ovom periodu ima i imunski sistem (Bauman i Currie, 1980).

U pore enju sa drugim vrstama sisara, sve krave koje se otele imaju **zadržanu posteljicu**: više od $\frac{3}{4}$ krava izbace posteljicu za 6 asova, a samo manji broj krava za 12 i više asova nakon poro aja. Ukoliko se posteljica ne izbacila do 12 asova po poro aju mogu da nastanu štetni efekti u reprodukciji, proizvodnji mleka, poreme aji puerperijuma, obolenje vimena i ekstremiteta, i posledno tome, loši rezultati osemenjavanja i koncepcije i izlu enje iz zapata se pove avaju (Eiler i Fecteau, 2007).

Prostaglandini imaju važnu ulogu u poro aju jer ne uti u samo na lutealnu regresiju, ve ispoljavaju svoje dejstvo postpartalno, na proces odvajanja posteljice. Naro ita uloga se pripisuje PGF_2 . Krave sa zaostalom posteljicom sintetišu znatno manje PGF_2 u ranom postpartalnom periodu. **Indukcija poro aja** danas nije metoda koja je široko prihva ena u tehnologiji gajenja mle nih krava, jer kao nuspojavu ima dramati no povišenje incidence zadržavanja posteljice. Me utim, postoje određene situacije kada je ova procedura medicinski indikovana. Vremenski dirigovan poro aj omogu ava zaštitu plotkinje pri eventuanij pojavi poreme aja ploda, nadgledanje u cilju detekcije i korekcije otežanog poro aja, a samim tim i redukcije perinatalnog uginu a teladi.

Suplementacija selena na po etku peripartalnog perioda pokazala se vrlo efikasnom merom za smanjenje uсталoti zaostajanja posteljice kod krava koje se normalno tele, naro ito u oblastima koje su prirodno siromašne selenom u hranivima. Selen je esencijalni mikroelement za zdravlje ljudi i životinja koji ispoljava antioksidantna, hemoprotektivna, antikancerogena, antiinflamatorna i antivirusna svojstva (Surai, 2006; Papp i sar. 2007). Do sada je utvr eno 30-40 selenoproteina preko kojih selen ispoljava svoje biološke funkcije, a mnogi od njih su i detaljno ispitani. Me u njima su najzna ajniji glutation peroksidaza, jodotironin dejodinaza i tioredoksin reduktaza. U

Srbiji su zemljište, žitarice i kabasta hraniva siromašna u selenu u manjoj ili većoj mjeri (Mihailović i sar. 1991, 1992a; 1996a; Maksimović i sar. 1991; Jovanović i sar. 1998).

Najbolje poznata biološka uloga **vitamina E** je njegovo dejstvo kao efikasnog antioksidansa u lipidnim membranama. Pošto je vitamin E antioksidans koji povećava funkcionalnu efikasnost neutrofila, štiti ih od oksidativnog oštećenja, nakon intracelularne destrukcije ingestiranih bakterija, parenteralna aplikacija ovog vitamina se koristi u preveniranju peripartalnih oboljenja kao što su zaostala posteljica, endometritis i klinički mastitis. Zajedno sa selenom, tokoferol ima značajnu ulogu u celularnom i humoralnom imunskom odgovoru organizma (Hogan i sar. 1990). Deficit vitamina E dovodi do degeneracije epitela u reproduktivnim organima. Životinje sa deficitom selena i vitamina E imaju oslabljeni imunski odgovor prema infektivnim bolestima.

Malondialdehid (MDA) je jedan od glavnih metaboličkih proizvoda peroksidacije polinezasićenih masnih kiselina poreklom iz ćelijske membrane. Smer i dinamika promena koncentracije MDA u plazmi su dobra mera efikasnosti antioksidativnog dejstva dodatog selena i vitamina E.

Za održavanje graviditeta i po etak porođaja od ključne važnosti su hormoni **progesteron i estrogeni**. Progesteron je neophodan za uspostavljanje i održavanje graviditeta kod svih sisara. Progesteron inhibira aktivnost NK ćelija u materici i indukuje pretvaranje Th0 ćelija u Th2 ćelije, kao i sekreciju citokina kao što su IL-6 i IL-4 u trofoblastima. Pored žutog tela, manja količina progesterona se sintetisuje u ćelijama trofoblasta u placentomima, i pretpostavlja se da je ta količina koja se stvori na fetomaternalnoj vezi značajna za zaštitu ploda od imunskog sistema majke (Hansen, 2007).

Neposredno pred porođaj koncentracija progesterona u krvnoj plazmi plotkinja naglo opada, a estrogena raste. Za normalno sazrevanje i izbacivanje posteljice važna je ne samo koncentracija estrogena, već i trajanje njegove sekrecije. Deficit estrogena dovodi do smanjene aktivnosti leukocita, koji su značajni elementi u procesu peroksidacije. Takođe, kao posledica deficita estrogena dolazi do smanjenja i koncentracije PGF₂ u toku teljenja (Rasmussen i sar. 1996).

Glukokortikosteroidi igraju važnu ulogu u mnogim fiziološkim procesima uključujući stres, metabolizam i imunitet. Nivo kortizola za vreme graviditeta je relativno nizak, sve do pred sam porođaj, kada nastaje porast njegove koncentracije u krvi. Koncentracija kortizola se povećava za vreme porođaja, kako kod krava sa normalnim tako i kod onih sa teškim porođajem (Hydbring i sar. 1999).

Tireoidni hormoni su značajni za reprodukciju, pre svega zbog njihovog uticaja na promet azotnih i energijom bogatih metabolita koji su neophodni za razvoj i pravilno funkcionisanje reproduktivnog sistema (Hafez, 1975).

Koncentracija **-hidroksibuterne kiseline** (BHBA), kao i neesterifikovanih masnih kiselina (NEFA) u cirkulaciji su dobri pokazatelji adaptacije krava na negativni bilans energije. I dok NEFA pokazuju stepen mobilizacije masti iz depoa, BHBA ukazuje na status oksidativnog razlaganja ("sagorevanja") masti u jetri, tj. na pojavu ketoze (Lacetera i sar. 2004).

2. PREGLED LITERATURE

2.1. Istorijat i značaj izuavanja selena

Istorija izuavanja selena je bila šarolika i paradoksalna. U početku selen se smatrao toksičnim i kancerogenim, a zatim je utvrđeno da je esencijalan i da poseduje antikancerogena svojstva.

Smatra se da je biološke efekte selena prvi opisao Marko Polo 1295. godine na svom proputovanju kroz Kinu (Barceloux, 1999). Zvanično, selen je prvi otkrio Švedski hemičar Jons Jakob Berzelius 1817. godine. On je identifikovao selen kao crveni talog na zidu olovnih komora (cevi) prilikom proizvodnje sumporne kiseline (Tinggi, 2003). Selen se nalazio u talogu zajedno sa telurom, i pošto je telur dobio ime od latinske reči i tellus što znači Zemlja, Berzelius je nazvao novootkriveni element po Grčkoj reči selene, što znači mesec. Kao što mesec ima svoju tamnu i svetlu stranu, tako i selen ima svoje “mračne” toksične i “svetle” esencijalne osobine (Reilly, 1993). Prvobitna uloga (značaj) ovog elementa je bila bojenje stakla. Kadmijum selenit je korišćen za uklanjanje zelene boje i za dobijanje rubin crvene boje stakla (Sunde, 1997).

Tridesetih godina prošlog veka opisana je alkalna bolest i bolest slepog teturanja kod ovaca koje su konzumirale biljke koje su sadržale veliku količinu selena. Tada se smatralo da selen poseduje samo toksična svojstva (Krehl, 1970).

Nakon drugog svetskog rata u pojedinim oblastima Amerike, Australije, Novog Zelanda i Južne Evrope opisana je nutritivna miopatija ili bolest belih mišića kao posledica ishrane životinja hranivima siromašnim u selenu (Marier i Jaworski, 1983).

Sredinom dvadesetog veka nastavljena su istraživanja o ulozi selena u biološkim organizmima. Tako je 1957. godine nakon što je Mills otkrio selenoenzim glutation peroksidazu, utvrđeno da ovaj enzim metaboliše vodonik peroksid i sprečava oksidativno oštećenje nastalo od delovanja slobodnih radikala. Međutim, uprkos činjenici da je selen esencijalni mikroelement, smatralo se da su potrebe životinja za ovim mikroelementom male i nije neophodno njegovo dodavanje u hrani, naročito ako je prisutan vitamin E (Jensen, 1999).

Danas se selen smatra esencijalnim mikroelementom za zdravlje ljudi i životinja koji ispoljava antioksidantna, hemoprotektivna, antikancerogena, antiinflamatorna i

antivirusna svojstva (Surai, 2006; Papp i sar. 2007). Ove njegove uloge se pripisuju tome što je selen sastavni deo više od 25 proteina, gde ulazi u sastav polipeptidnog lanca kao sastavni deo aminokiseline selenocistein. To je razlog da se nastavljaju istraživanja o njegovoj ulozi na biološke organizme.

2.2. Fizikohemijske osobine selena

Selen je hemijski element sa atomskim brojem 34 i atomskom masom 78,96. Pripada grupi VI A Periodnog sistema elemenata i nalazi se izme u sumpora i telura u grupi VI A, i arsena i broma u periodu 4. Ovoj grupi tako e pripadaju i nemetali kao što su sumpor i kiseonik. Selen se smatra metaloidom, jer nije ni metal ni nemetal pošto poseduje osobine i jednih i drugih. U prirodi selen može biti ugra en u neorganske i organske molekule. Neorganski selen se nalazi u razli itim mineralima u obliku selenita, selenata i selenida kao i u formi elementarnog selena, dok je organifikovani ugra en u selenoaminokiseline i tzv. niskomolekulska jedinjenja sa selenom.

2.3. Selen u zemljištu

Životinje uzimaju selen preko biljaka koje ga apsorbuju iz zemlje u njegovoj neorganskoj formi. Koli ina selena u biljkama znatno varira u zavisnosti od regiona iz kojeg poti u. Koncentracija selena u zemljištu je prili no varijabilna i zavisi od mnoštva inilaca, a kre e se u granicama od 0,1 do 2 ppm (Ganther, 1974). U zemljištu selen je prisutan u obliku elementarnog selena, selenida, selenita, selenata i organski vezanog selena (Marier i Jaworski, 1983). Ve e koncentracije selena nalaze se u sedimentnim stenama i škriljcima, dok su niže koncentracije selena karakteristi ne za vulkanske stene, granite, kre njake i peš are (Van Metre i Callan, 2001). Koncentracija selena u biljkama varira, zato što selen nije neophodan za njihov rast. Ve e koncentracije se nalaze u biljkama koje sporije rastu kao i kod onih koje imaju dublji korenov sistem (Raisbeck, 2000). Postoji nekoliko fizikohemijskih inilaca od kojih zavisi i dostupnost i koncentracija selena u biljkama: pH zemlje, oksido-redukcioni potencijal i mineralni sastav zemljišta, uсталost primene i vrsta vešta kih ubriva, koli ina padavina i navodnjavanje (Combs i Combs, 1986), sezonske varijacije koje se odnose na prisustvo manje koli ine selena u biljkama tokom prole a i u kišnom periodu godine (Reilly, 1993).

Apsorpcija selena iz zemljišta u biljke više zavisi od hemijskog oblika u kome se u zemljištu nalazi nego od njegove koncentracije. Nizak pH i slaba aeracija zemljišta ine da selen formira nerastvorljive komplekse sa gvož e-hidroksidom i postaje manje dostupan

biljkama. Nasuprot tome, selen u alkalnom zemljištu je prisutan u formi selenata, rastvorljiviji je i lakše dostupan biljkama. Selenit stvara vrste veze sa gvožđe oksidom i aluminijum oksidom, pa je samim tim i manje rastvorljiv u zemljištu bogatom ovim jedinjenjima (Jacques, 2001).

Prisustvo veće količine sumpora kompetitivno smanjuje apsorpciju selena iz zemljišta. Smatra se da i fosfati kompetitivno snižavaju apsorpciju selena iz zemljišta. To objašnjava nisku koncentraciju selena u biljkama nakon primene nekih vrsta veštačkih ubriva (Terry i sar. 2000).

Nakon apsorpcije, distribucija selena u različitim delovima biljaka zavisi od: vrste, faze rasta i fiziološkog stanja biljke.

2.4. Selen u biljkama - geografska distribucija selena u biljnim hranivima u svetu i Srbiji

Biljke se razlikuju od životinja u odnosu na potrebe u selenu jer nije pokazana njihova potreba za ovim mikroelementom. Međutim, selen može biti blagotvoran za rast biljaka u nižim i štetan u visokim koncentracijama (Pilon-Smits i sar. 2009).

Prisustvo selena u biljkama je od velikog značaja jer su glavni izvor selena u hrani. Primarni faktor koji utiče na sadržaj selena u biljkama je količina selena prisutna u zemljištu. Međutim, biljke se razlikuju po sposobnosti da preuzmu selen iz zemljišta, te se na osnovu toga mogu podeliti na: biljke koje akumuliraju i biljke koje ne akumuliraju selen (Ganther, 1974).

Biljke koje akumuliraju selen, poznate su kao "indikatorske" jer imaju sposobnost da apsorbuju veliku količinu selena. One se nalaze u selenifernim područjima, dok su slabo zastupljene u područjima sa malom količinom selena u zemljištu, pa otuda i naziv "indikatorske biljke". Koncentracija selena u ovim biljkama se obično kreće između 1000 i 3000 ppm (Underwood, 1971). Ovako visoka koncentracija nastaje zbog njihove sposobnosti da apsorbuju nedostupne forme selena iz zemljišta i pretvore ga u dostupne. Nakon uginuća ovih biljaka, selen se vraća ponovo u zemlju i postaje dostupan za druge biljke. Kada biljke akumuliraju selen iz zemljišta, lako ga prenose iz korena u stablo i iz stabla u reproduktivna tkiva. Nakon cvetanja dolazi do povećanog nakupljanja selena u laticama, prašnicima i tučima. Primeri "akumulatorskih" biljaka su Brazilski orah, biljke roda *Astragalus* (Reilly, 1998), Brassicaceae i Asteraceae (Terry i sar. 2000).

Nasuprot njima, biljke koje ne akumuliraju selen ne sadrže veliku količinu selena iako se nalaze na seleniferom zemljištu. Koncentracija selena u njima je obično manja od 50 ppm (Shamberger, 1983a). Apsorbovani selen u ovim biljkama se obično nalazi u korenu pa je samim tim slabo dostupan životinjama. Za to su primeri industrijske žitarice i trava (Jacques, 2001).

Biljke apsorbuju selen iz zemljišta u formi selenita ili selenata i sintetišu selenoaminokiseline sa selenometioninom prisutnim u više od 50% u žitaricama i selenometil-selenometioninom, selenocisteinom i selen-metil-selenocisteinom (Jacques, 2001). Pšenica najefikasnije deponuje selen u odnosu na druge vrste žitarica (Lyons i sar. 2003; Broadley i sar. 2006):

pšenica > pirina > ječam > ovas > kukuruz

Utvrđeno je da se selenometionin deponuje najvećim delom u zrnu i korenu, dok su niže koncentracije ove aminokiseline nađene u stabljici i listovima (Schrauzer, 2003). Najbogatiji izvor selena za ishranu ljudi je Brazilski orah (*Bertholletia excelsa*), koji sadrži selenometionin u najvećem procentu (Vonderheide i sar. 2002). Selen-metil-selenocistein je glavna selenoaminokiselina u biljkama bogatim selenom, kao što su beli luk, luk (crni), cvetovi i mladice brokolija i praziluk (Whanger, 2002).

Količina selena u hranivima koja se koriste u ishrani životinja u mnogim zemljama severne Evrope je na suboptimalnom nivou (0,03 - 0,12 mg/kg suve materije), što može imati negativne posledice po zdravlje i proizvodne sposobnosti životinja, posebno visoko produktivnih (Surai, 2002a).

U Srbiji su zemljište, žitarice i kabasta hraniva siromašna u selenu u manjoj ili većoj meri (Mihailović i sar. 1991, 1992a; 1996a; Maksimović i sar. 1991; Jovanović i sar. 1998). Područja koja su izrazito deficitna u selenu su: Sjeverno-peštarska visoravan u Srbiji (Mihailović i sar. 1991), neki delovi Makedonije (Mihailović i sar. 1996a) i Požeška dolina u Hrvatskoj (Gavrilović i Matešić, 1986).

Ispitivanjem 158 uzoraka hraniva za ishranu životinja (zrnastih i kabastih) sa teritorije cele Srbije, utvrđeno je da je prosečna koncentracija selena u njima iznosila $30,4 \pm 27,6$ $\mu\text{g}/\text{kg}$. Najniža koncentracija selena je utvrđena u hranivima poreklom sa Peštarske visoravni, a najviša u hranivima koja vode poreklo iz Vojvodine, u kojima je koncentracija selena bila i do 2 puta viša (Mihailović i sar. 1996). Pored toga, količina selena u

hranivima poreklom iz Vojvodine je na donjoj granici minimalnih potreba za normalan rast i proizvodnju životinja (Jovanović i sar. 1998).

2.4.1. Metabolizam selena kod životinja i ljudi

Metabolizam selena varira u zavisnosti od vrste životinja. On se u znatnoj meri zbog bakterijske fermentacije u buragu razlikuje kod preživara u odnosu na monogastrične vrste.

Resorpcija selena se ne odvija u želucu, već je mesto najveće resorpcije duodenum, zatim jejunum i ileum (Daniels, 1996). Rezultati brojnih *in vitro* i *in vivo* ispitivanja na raznim vrstama životinja su pokazala da se selenometionin (organifikovani selen) lako resorbuje u intestinalnom traktu, i to i do četiri puta brže u odnosu na resorpciju selenocisteina (Wolffram i sar. 1989a). Takođe, selenometionin se bolje apsorbuje od selenita (Daniels, 1996). Međutim, resorpcija nije limitirana i inilac za njegovu bioraspoloživost.

Činjenice koji najviše utiču na resorpciju i distribuciju selena u organizmu su:

- hemijski oblik selena,
- prisustvo drugih elemenata u obroku,
- status selena u organizmu,
- fiziološko stanje organizma
- vrsta organizma (Lyons i sar. 2007).

Crvena krvna zrnca preuzimaju selenit za nekoliko minuta, redukuju ga do selenida uz pomoć glutationa nakon čega se ova prenosi u plazmu, selektivno vezuje za albumine i prenosi do jetre (Suzuki i Ogra, 2002).

Postoji nekoliko tipova genetskih proteina za koje se vezuje selen: npr. albumin, - i -globulini i lipoproteini. Vrsta proteina i distribucija selena u njima zavisi od vrste, forme i doze cirkulišućeg selena (Whanger, 1998). Od ukupnog selena u plazmi zdravih jedinki, oko 3% se nalazi u obliku lipoproteina, uglavnom LDL frakcije. Kod ljudi, selen se u obliku selenometionina u eritrocitima uglavnom nalazi smešten u hemoglobinu (Schrauzer, 2000). Distribucija selena u organizmu zavisi od količine njegovog unosa. U područjima sa smanjenim unosom selena najveći deo se nalazi u obliku selenocisteina u sastavu selenoproteina P, dok je u područjima sa njegovim povećanim unosom, u obliku selenometionina, selen najviše prisutan u albuminskoj frakciji.

Organski selen, koji se pretežno nalazi u žitaricama, stožnoj hrani i ostalim sastojcima hrane, uglavnom u formi selenometionina, metaboliše se isto kao metionin. On se resorbuje aktivnim transportom preko zida creva i deponuje najvećim delom u jetru i

miši e. Ovaj sistem zahteva energiju za transport nasuprot koncentracionom gradijentu. Pošto metionin ne može da se sintetiše u organizmu životinja i ljudi, ubraja se u esencijalne aminokiseline. Isto važi i za selenometionin, pa se zbog toga mora unositi hranom (Jacques, 2001).

Skeletni miši i su najznačajniji depoi selena, sa oko 46,9% ukupnog selena u ljudskom telu, a bubrezi deponuju oko 4% rezervi selena (Daniels, 1996).

Koncentracija selena u pojedinim tkivima se može menjati zbog aktivnog metabolizma različitih selenoproteina. Poluživot glutation peroksidaze je oko 3 dana (Sunde i sar. 1989), a 2-jodotironin dejodinaze 30-45 minuta (Curcio i sar. 2001), dok je poluživot selenoproteina P u plazmi 3-4 sata (Burk i Hill, 1994). Nivo selenoproteina u različitim tkivima i organima je regulisan za vreme njegovog manjeg unošenja, pa se smatra da postoji hijerarhija u raspodeli selena u zavisnosti od značajne funkcije koju organ obavlja (Patching i sar. 1999). Tako se u mozgu, reproduktivnom traktu i endokrinim organima selen nalazi u većoj količini u odnosu na jetru, srce i skeletne mišiće.

Selen se eliminiše iz organizma na tri načina: preko gastrointestinalnog, urinarnog trakta i preko pluća. Način eliminacije selena iz organizma zavisi od vrste, hemijske forme, količine unetog selena i drugih faktora kao što je arsen (Combs i Combs, 1986b). Pri adekvatnom unosu selen se uglavnom eliminiše putem fecesa i urina, dok se eliminacija preko respiratornog trakta odvija kada su unesene veće količine selena.

Selen se kod monogastričnih životinja najviše delom izlučuje urinom, i u uskoj je korelaciji sa unosom putem hrane, te se smatra da urin ima ulogu u homeostazi selena (Daniels, 1996). Sa druge strane kod preživala se veći deo selena izlučuje fecesom. To se objašnjava time što se neorganski selen iz hrane u buragu preživala pod dejstvom mikroorganizama, redukuje u forme kao što su selenidi i elementarni selen, koji se ne mogu resorbovati (Hakkarainen, 1993).

Bubrezi imaju ulogu u homeostazi selena. Eliminacija selena preko urina zavisi i od stepena glomerularne filtracije, stoga je funkcionalna sposobnost bubrega veoma važna za njegovu eliminaciju. Najvažniji metabolit selena koji se izlučuje urinom jeste 1 - metilseleno-N-acetil-D-galaktozamin ili selenošer B (Kobayashi i sar. 2002). Kod povećanog unosa selena hranom povećava se i njegovo izlučivanje mokraćom i obrnuto (Behne, 1988).

Višak selena eliminiše se preko pluća i pokazuje doznu zavisnost (Bopp i sar. 1982). Ukoliko se kod pacova unese potencijalno letalna doza selena u obliku selenita, više od 60% unetog selena se eliminiše preko pluća, od čega 70% u prvih šest sati (Combs

i Combs, 1986b). Respiratorni put eliminacije toksi nih doza selena je efikasan na in. Najzna ajniji proizvod selena koji se uklanja ovim putem je dimetilselenid (Bopp i sar. 1982). Ovaj proizvod ima karakteristi an miris belog luka u izdahnutom vazduhu kod trovanja selenom (Shamberger, 1983b).

2.5. Biološke uloge selena

Selen poseduje mnoštvo bioloških funkcija: deluje kao antioksidans, u estvuje u razli itim metaboli kim procesima i obezbe uje strukturnu podršku unutar elija (Holben i Smith, 1999). Do sada je utvr eno 30-40 selenoproteina preko kojih selen ispoljava svoje biološke funkcije, a mnogi od njih su detaljno ispitani (McKenzie i sar. 2002). Me u njima su najzna ajniji glutacion peroksidaza, jodotironin dejodinaza i tioredoksin reduktaza.

2.5.1. Glutacion peroksidaze (GPx)

Još je 1957. godine Mills u eritrocitima goveda otkrio da pored katalaze postoji još jedan enzim koji u prisustvu glutaciona može da predupredi oksidativno razaranje hemoglobina (Hb) izazvano vodonik peroksidom (H_2O_2). Ovaj enzim koji katalizuje reakciju:



ima sistemsko ime GSH : H_2O_2 -oksidoreduktaza (E.C.1.11.1.9).

Glutacion peroksidaze (GPx) su grupa enzima koji su zna ajni za ispoljavanje antioksidativne funkcije selena. Njihova glavna uloga je da katalizuju redukciju vodonikovih i lipidnih peroksida i na taj na in spre avaju stvaranje reaktivnih kiseonikovih vrsta (slobodnih radikala) koji mogu da oštete elije (Surai, 2002). Tako e, GPx održava elijski redoks potencijal i otuda ima zna aj za muški genitalni trakt. Važan je i kao ista slobodnih radikala, modulator zapaljenskih i imunskih reakcija, kao i to da je strukturna komponenta sperme i epididimisa (Drevet, 2006).

Najviša enzimaska aktivnost glutacion peroksidaze dokazana je u eritrocitima i endotelijumu, jer oni imaju i najve i stepen metabolizma, a i membrane su im bogate mnogobrojnim nezasi enim fosfolipidima (Nohl, 1984).

GPx je uklju ena u metabolizam holesterola, sintezu prostaglandina, metabolizam steroida i redukciji DNK peroksida (Nohl, 1984). Scholz i sar. (1981) su utvrdili zna aj

Se-zavisne GPx za metabolizam ksenobiotina i endogenih toksina enzimskom konjugacijom sa redukovanim glutationom.

Aktivnost ovog enzima drastično se smanjuje pri deficitu selena i povećava pri njegovom dodavanju; na taj način i GPx relativno pouzdanim biomarkerom za određivanje statusa selena (Sunde, 2006).

Postoji sedam različitih izoenzima GPx koji su prisutni u većini ćelija u organizmu (Sunde, 2000). Širi pregled enzimskih formi GPx i ostalih selenoproteina dat je u tabeli 1.

Tabela 1. Funkcija i distribucija primarnih selenoproteina (Holben i Smith, 1999; Gromer i sar. 2005; Stawicki i sar. 2007)

Selenoprotein	Lokalizacija	Funkcija
<i>Glutation peroksidaze (GPx):</i>		
GPx1 (ćelijska)	Citosol većine ćelija (jetra, eritrociti)	Metabolizam vodonik peroksida, indikator statusa selena
GPx2 (GIT)	Gastrointestinalni trakt, jetra	Prva linija odbrane od unetih lipidnih peroksida. Uključena u apoptozu, proliferaciju ćelija
GPx3 (ekstracelularna)	Sintetiše se u bubrezima, a nalazi u plazmi, mleku, crevima, nadbubrežnim žlezdama	Indikator statusa selena. Regulatorne funkcije vezane za oksidativni stres i malignitet
GPx4 (Fosfolipid hidroperoksid)	Vezana za ćelijske membrane, testis, spermatozoide, pluća, srce, cerebelum	Štiti od lipidne peroksidacije i funkcija u metabolizmu eikozanoida. Nedostatak GPx4 je letalna u ranom embrionalnom razvoju
GPx5	Epididimis	Izoforma koja ne sadrži selenocistein
GPx6	Olfaktorni epitel, embrionalno tkivo, Bowmanove žlezde	Moguća uloga vida
GPx7	Tkivo mlečne žlezde	Odbrana od tumora mlečne žlezde. Izoforma koji ne sadrži selenocistein
<i>Jodotironin dejodinaze (ID):</i>		
Tip I	Jetra, bubrezi, štitasta žlezda, hipofiza	Pretvaranje T4 u T3
Tip II	Mozak, hipofiza, štitasta žlezda, masno tkivo	Intracelularna sinteza T3
Tip III	Mozak, posteljica, materica	Kataliza dejodinacije T4
<i>Tioredoxin reduktaze (Trx):</i>		
Trx1	Citosol	Regulacija redukcionih procesa u ćeliji
Trx2		
Tioredoxin GR	Mitohondrije, testis	Nije utvrđena

Ostali važniji selenoproteini

Selenoprotein P	Plazma, jetra; prisutan u svim tkivima	Transport Se u organizmu i antioksidativna zaštita
Selenoprotein W	Miši i, srce, creva, prostata, jednjak, koža	Uloga u metabolizmu miši a, antioksidans
Selenoprotein kapsule spermatozoida	Spermatozoidi	Strukturna uloga u funkciji spermatozoida
Selenofosfat sintetaza 2	Veliki broj tkiva	Esencijalna komponenta sinteze selenocisteina
Selenoprotein N	Veliki broj tkiva	Zna ajna uloga utvr ena u miši ima
Selenoprotein R	Veliki broj tkiva	Obnavljanje proteina ošte enih oksidacijom
Selenoprotein M	Srce, plu a, bubrezi, materica, posteljica, štitasta žlezda, mozak	Potencijalna uloga u mozgu (niske koncentracije povezane sa Alchajmerovom boleš u)
Selenoprotein S	Veliki broj tkiva	Veza izme u dijabetesa tipa 2, zapaljenja i kardiovaskularnih oboljenja
Selenoprotein K	Srce, miši i, pancreas, jetra, posteljica	Antioksidativna uloga u srcu
Selenoprotein I5	Mozak, plu a, testisi, jetra, štitasta žlezda, bubrezi	Potencijalna tumor supresivna uloga

2.5.2. Jodotironin dejodinaze (ID)

Ovi enzimi su važni jer ine selen bitnim za normalni rast, razvoj i metabolizam, a u estvuju i u sintezi i regulaciju aktivnosti (ID1 i ID2) i inaktivaciji (ID3) tireoidnih hormona tiroksina (T4), trijodotironina (T3) i reverznog trijodotironina (rT3) (Holben i Smith, 1999). Tireoidni hormoni, izme u ostalog, u estvuju u regulaciji funkcije srca, metabolizmu, rastu i imaju klju ni zna aj za razvoj mozga fetusa, a pokazuju i brojne interakcije sa ostalim hormonskim sistemima.

Postoje tri enzima sa aktivnoš u dejodinaze, a svaki od njih ima razli itu distribuciju, strukturu i sekvencu, i katalizuje razli ite reakcije (Gromer i sar. 2005).

Jodotironin dejodinaza 1 (ID1) katalizuje pretvaranje T4 u T3. Nalazi se u štitastoj žlezdi, jetri, bubrežima i hipofizi (Gromer i sar. 2005). U odnosu na ostala dva enzima njena aktivnost je najosetljivija na deficite selena (Arthur, 1997).

Jodotironin dejodinaza 2 (ID2) se nalazi prvenstveno u mozgu i hipofizi, ali je ima i u skeletnim miši ima i sr anom miši u, štitastoj žlezdi i masnom tkivu (Gromer i sar. 2005). U estvuje u unutar elijskoj sintezi T3 u tkivima koja nisu u mogu nosti da koriste T3 iz cirkulacije (Arthur, 1997; Holben i Smith, 1999).

Jodotironin dejodinaza 3 (ID3) vrši deaktivaciju tireoidnih hormona (Arthur, 1997). T3 se degradira u neaktivni diiodotironin (T2), a T4 se dejodinira u neaktivni reverzni T3. Ovaj enzim se nalazi u mozgu, posteljici, jetri embriona, koži novorođenadi i gravidnoj materici (Gromer i sar. 2005).

2.5.3. Tioredoksin reduktaze (Trx)

Tioredoksin reduktaze su enzimi sa različitom distribucijom u tkivima i lokalizacijom u ćelijama (Schomburg i sar. 2004). Oni zajedno sa nikotinamid adenin dinukleotid fosfatom (NADPH) čine tioredoksin sistem, glavni ćelijski redoks sistem kod svih živih organizama (Arner i sar. 2000). Utvrđena su tri životinjska selenoenzima sa aktivnošću u tioredoksin reduktaza: citoplazmatski enzim (Trx1) (Tamura i Stadman, 1996), mitohondrijalni enzim (Trx2) (Lee i sar. 1999), i testis-specifični enzim tioredoksin-glutation reduktaza (Trx3) (Sun i sar. 2001). Trx sistem ima ključnu ulogu u embrionalnom razvoju.

Ovi enzimi regulišu redoks reakcije u ćeliji, redukuju male unutar ćelijske molekule, značajni su u genetskoj regulaciji, regulaciji sinteze DNK, biosintezi proteina, a značajni su i za odvijanje ćelijskog ciklusa (Sunde, 2000; Surai, 2006).

Citoplazmatski enzim (Trx1) se nalazi u citosolu i učestvuje u ćelijskoj redoks regulaciji i procesima apoptoze (Anestal i Arner, 2003).

Mitohondrijalni enzim (Trx2) se nalazi u mitohondrijama, sa najvišim koncentracijama u prostati, testisima, jetri, materici i tankim crevima, a niskim u mozgu, mišićima, srcu i slezini (Gromer i sar. 2005).

Testis specifični enzim tioredoksin-glutation reduktaza (Trx3) je treći izoenzim koji je otkriven u testisima, ali njegova specifična funkcija još uvek je malo poznata (Gromer i sar. 2005).

Kao antioksidansi, tioredoksin reduktaze mogu direktno da redukuju vodonikove peroksidge, lipidne hidroperoksidge i askorbil slobodne radikale (Arnér i Holmgren, 2000; Surai, 2006). Takođe, tioredoksin reduktaze mogu da redukuju tioredoksin, glutation peroksidazu, dehidroaskorbinsku kiselinu i selenite, što može biti korisno za antioksidativnu odbranu ćelija, u smislu reaktivacije oksidativno inaktivisanih proteina (May i sar. 1997; Surai, 2006).

2.5.4. Ostali selenoproteini

Selenoprotein P je van ćelijski glikoprotein koji sadrži 10 rezidua selenocisteina (Mostert, 2000). Prvenstveno se stvara u jetri, ali se nalazi i u bubrezima i srcu, a u

manjim koncentracijama u plućima, mozgu, skeletnim mišićima i testisima (Burk i Hill, 2005). Selenoprotein P i plazmatska glutation peroksidaza su jedini selenoproteini koji su pronađeni u plazmi pri čemu je od ukupne količine selena prisutnog u plazmi 60-80% u obliku selenoproteina P. Selenoprotein P ima ulogu transportnog proteina u plazmi omoguđavajući i distribuciju selena u ostalom telu (Arthur, 1997). Važan je u oksidativnoj odbrani (Burk i sar. 2003) i u spermatogenezi i plodnosti (Olson i sar. 2005). Dokazano je i da selenoprotein P štiti endotelne ćelije (Hara i sar. 2001) i astrocite (Steinbrenner i sar. 2006) od oksidativnog oštećenja kao i da sprečava oksidaciju lipoproteina male gustine (Traulsen i sar. 2004).

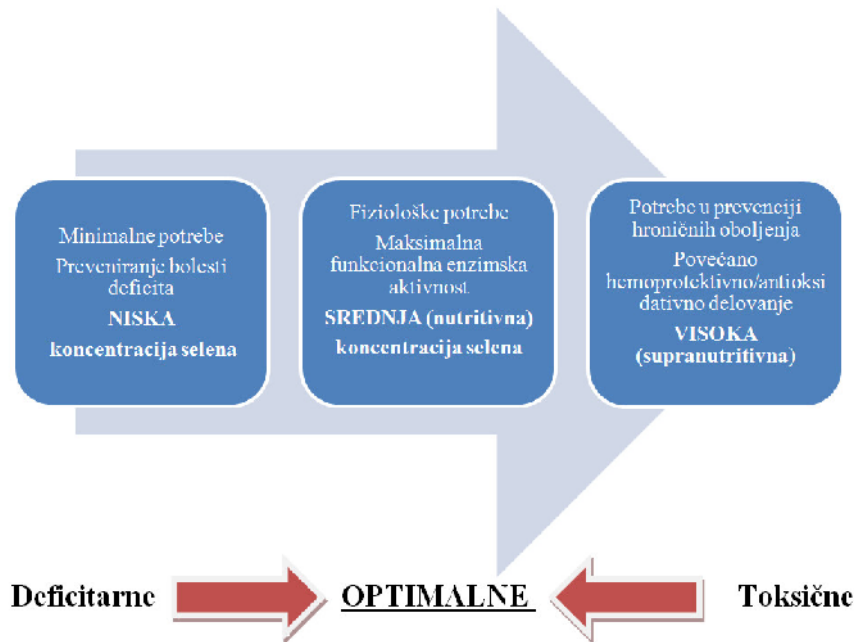
S obzirom na činjenicu da selenoprotein P igra značajnu ulogu u snabdevanju mozga selenom i da je kod pacijenata koji boluju od Alchajmerove bolesti smanjena koncentracija selena u mozgu (Wenstrup i sar. 1990), smatra se da je selenoprotein P uključen u etiologiju ovog oboljenja i potencijalno drugih neuroloških stanja (Chen i Berry, 2003).

Selenoprotein W je prvi put doveden u vezu sa deficitom selena kod ovaca, poznatim kao bolest belog mesa, eng. *White muscle disease* (Whanger, 1996). Najviše ga ima u skeletnim mišićima, ali i u slezini, testisima i mozgu (Patching i Gardiner, 1999). Smatra se da ima ulogu u metaboličkim procesima u mišićima i njihovom razvoju štiteći mioblaste od oksidativnog stresa (Loflin i sar. 2006).

2.6. Potrebe u selenu

Potrebe u selenu se definišu kao minimalna količina selena koja je neophodna da bi sprečila njegov deficit. Mada treba da se uzmu u obzir i drugi faktori koji mogu negativno uticati na njegov status.

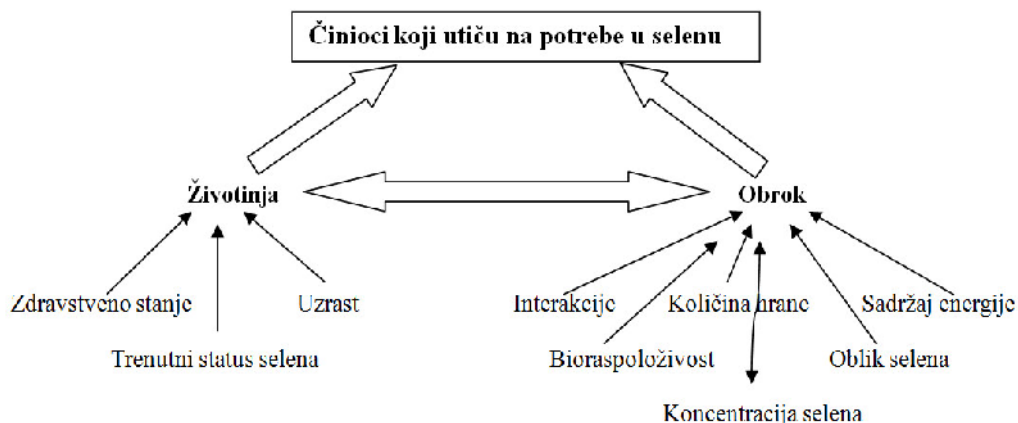
Pri unošenju nutritivnih doza selena, njegove biološke funkcije se pojačavaju, dok se stvaranje štetnih metabolita smanjuje (Combs, 1988). Pri unošenju većih doza selena njegov povoljan efekat se pojačava. Na tom nivou, aktivnost selenoenzima dostiže plato, a povećava se i stvaranje metabolita selena. Na ovom nivou postiže se najjača aktivnost selena kao antikancerogene i imunostimulatorne supstance (Thomson, 2004). Daljim povećanjem unosa selena, povećava se stvaranje njegovih metabolita, što ima za posledicu oštećenje ćelija i njihovu smrt. U cilju postizanja maksimalnog efekta dnevnog unosa selena preporučuje se da koncentracija selena u dnevnom obroku bude između normalnih i supranormalnih količina.



Slika 1. Kriterijumi za utvrđivanje potreba u selenu (Thomson, 2004).

2.6.1. Činioci koji utiču na potrebe u selenu

Na potrebe u selenu mogu da utiču potrebe životinje, sastav obroka i/ili interakcija koja se može javiti između životinje i hrane koju ona konzumira.



Slika 2. Činioci koji utiču na potrebe u selenu

Potrebe životinje za selenom utvrđuju se njegovim trenutnim statusom i prvenstveno zavise od starosne kategorije životinje i zdravstvenog stanja.

Biološka raspoloživost selena je od velikog značaja u utvrđivanju njegovih potreba. Stvarna koncentracija u obroku može biti adekvatna, ali ukoliko obrok ima slabu svarljivost ili ukoliko je oblik selena u obroku slabo iskoristiv, životinja nije u mogućnosti da iskoristi celokupnu količinu, pa su stoga potrebe povećane.

Činjenice koje utiču na biološku raspoloživost su: prisustvo teških metala u obroku kao što su arsen i živa, koji u interakciji sa selenom, mogu da menjaju njegovu strukturu tako da ne može da bude ugrađen u selenoproteine ili proteine koji sadrže selen, smanjuju i njegovu bioraspoloživost (Ganther, 1980). U nekim okolnostima i prisustvo velike količine proteina u obroku može negativno da utiče na iskorišćenje selena (Henry i Ammerman, 1995). Korišćenje toplote u pripremi nekih vrsta hraniva dovodi do produžetka njihovog veka trajanja, ali smanjuje njihovu nutritivnu vrednost (National Research Council, 1986). Bioraspoloživost zavisi i od hemijske forme selena u obroku (Rayman, 2000b).

Procena bioraspoloživosti se može dobiti korišćenjem različitih pristupa (Levander, 1986):

Preventivni pristup podrazumeva utvrđivanje relativne efikasnosti određenih količina selena u smanjenju učestalosti i/ili ispoljavanju određenog sindroma deficita, kao npr. preveniranje eksudativne dijeteze ili pankreasne fibroze (Cantor i sar. 1975);

Pristup procene rezidua u tkivima (nivo tkivnog deponovanja) označava relativnu efikasnost određenih količina selena u održavanju određenih koncentracija u pojedinim tkivima. Najznačajnija tkiva za procenu deponovanja selena su jetra i mišići i jer se u njima skladišti 30-40% ukupnog selena u organizmu (Combs i Combs, 1986);

Pristup procene funkcionalnog stanja uključuje procenu relativne efikasnosti određenih količina selena u održavanju aktivnosti enzima selen zavisne glutation peroksidaze u raznim tkivima (Combs i Combs, 1986).

Interakcije između pojedinih sastojaka hrane kao na primer između selena i vitamina E koji su sinergistični u svojoj antioksidativnoj ulozi utiču na potrebe organizma u selenu (Maylin i sar. 1980). Neki lekovi mogu da inhibišu delovanje pojedinih selenoenzima, kao što je glutation peroksidaza i tioredoksin reduktaza utiču i na povećanje potrebe za selenom (Thomson, 2004).

2.7. Status selena i njegovo određivanje

Zbog raznovrsne prirode različitih formi selena postoje brojni biološki parametri u proceni statusa selena. Indikatori statusa selena se zasnivaju na određivanju koncentracije

selena u tkivima i biološkim testovima i merenju selen zavisnih biohemijskih i funkcionalnih pokazatelja.

Najčešće korišteni parametar je koncentracija selena u krvnoj plazmi i aktivnost enzima glutation peroksidaze u različitim tkivima. Određivanje koncentracije selena u krvnoj plazmi je indikator statusa selena koji obuhvata kraći i vremenski period. Glutacion peroksidaza je selenoenzim koji se koristi za određivanje funkcionalnog stanja selena.

Selen u punoj krvi je takođe u pozitivnoj korelaciji sa njegovim unosom zbog toga što on obuhvata merenje selena i u serumu i u eritrocitima. Međutim, selen se u punoj krvi sporije menja nego u serumu ili krvnoj plazmi pri promeni njegovog unošenja. Razlog za ovo je što se najveći deo glutacion peroksidaze u punoj krvi nalazi prisutan u eritrocitima u vreme eritropoeze. Stoga, promene koncentracije selena u punoj krvi zavise od njegovog unosa i od vremena života eritrocita. Kod krava je to 90-120 dana (Stowe i Herdt, 1992).

Tabela 2. Parametri koji se koriste u određivanju statusa selena kod ljudi i životinja (Levander, 1985; Neve, 1991; Thomson, 2004).

Parametri	Primena	Ograničenja
Koncentracija selena u tkivima i biološkim testovima		
Selen u krvnoj plazmi i serumu	Kratkoročno stanje	Ne pokazuje telesne rezerve u višim koncentracijama
Selen u krvi i eritrocitima	Dugoročni status (nedelje)	Ne pokazuje dnevne oscilacije
Nokti, kosa	Dugoročni status (meseci)	
Selen u urinu	Pokazuje dnevni unos preko hrane	Koristan do umerenog nivoa unosa selena; uspostavlja se plato pri visokom unosu
Tkiva i organi	Pokazuju telesne rezerve selena	Može biti varijabilan, ne pokazuju funkcionalno stanje selena
Funkcionalni selen		
Glutacion peroksidaza	Pokazuje funkcionalno stanje selena na niskom do umerenog nivoa	Plato pri visokim koncentracijama
Manje korišteni selenoproteini		
Selenoprotein P (konc. u plazmi)	Merenje stepena usvajanja Se putem obroka	Kratkotrajni status, variranje
Tioredoxin reduktaza	Ukupan antioksidativni kapacitet	Invazivna metoda (biopsija)
Jodotironin dejodinaza 1	Veza između statusa selena i tireoidnih hormona	Slaba korelacija aktivnosti ID1 sa statusom Se; invazivna metoda (biopsija)

Tabela 3. Prose ne (referentne) koncecentracije selena u serumu (Stowe i Herdt, 1992).

Starost	Krave	Konji	Svinje	Ovce
Dana	ng/ml			
<1	50-70	70-90	70-90	50-80
1-9	50-70	70-90	70-120	60-90
10-29	55-75	80-100	70-120	70-100
30-70	60-80	90-110	100-160	80-110
71-180	60-80	90-110	140-190	80-110
181-300	60-80	90-110	180-220	80-110
301-700	65-90	100-130	180-220	90-120
>700	70-100	130-160	180-220	120-160

Koncentracija selena u serumu se postepeno povećava sa starošću u kod svih vrsta životinja, mada postoje i razlike između vrsta, posebno kod odraslih jedinki. Zbog toga je prilikom interpretacije rezultata važno znati vrstu i starost životinje.

2.7.1. Određivanje statusa selena kod životinja

Osnovni razlog za određivanje statusa selena kod životinja je utvrđivanje da li su životinje adekvatno snabdevene selenom ili su izložene niskim ili toksičnim dozama. Međutim, ovakve procene mogu biti znatno komplikovane zbog činjenice da se selen ne samo unosi u organizam, već i na njegovu potrošnju i unošenje tokom dužeg perioda, čime utiče na njegove rezerve u trenutku kada se određuje njegov status. Koncentracija selena u različitim tkivima je labilna i nakon prelaska sa obroka adekvatnog u selenu na obroke deficitarne u selenu opadanje njegove koncentracije u organizmu je u početku brzo, a zatim se usporava.

Najveća koncentracija selena se nalazi u bubrezima, zatim u jetri, slezini, pankreasu, testisima, srcu, skeletnim mišićima, plućima i mozgu. Masno tkivo je siromašno selenom jer se selen nalazi vezan za proteine (Ullrey, 1987).

Što se veća količina selena unese u organizam to će njegova koncentracija biti veća u pojedinim tkivima i organima, a zajedno sa tim raste i aktivnost selenoenzima GPx. Kod većine sisara utvrđena je ovakva pozitivna korelacija između koncentracije selena u punoj krvi i aktivnosti selenoenzima glutation peroksidaze, s obzirom da je selen esencijalna komponenta ovog enzima koji se sintetizuje tokom eritropoeze (Koller i sar. 1984). Međutim, ovaj odnos između koncentracije selena i aktivnosti GPx nije linearan, jer se nakon postizanja optimalne koncentracije selena u tkivima uspostavlja "plato aktivnosti"

selenoenzima u tkivima, tj. aktivnost više ne raste (Mihailovi , 1996) jer je onemogu ena prekomerna ekspresija GPx. U tim uslovima selen se preusmerava u druge metaboli ke puteve. Dakle, ukoliko porast koncentracije selena nije pra en pove anjem aktivnosti GPx, može se tvrditi da su potrebe organizma za selenom zadovoljene.

Kod preživara se 98-99% aktivnosti glutathion peroksidaze u perifernoj cirkulaciji odvija u eritrocitima (Ortman, 1999), pa se odre ivanje aktivnosti glutathion peroksidaze u punoj krvi koristi kao adekvatna mera za utvr ivanju statusa selena kod ovih životinja (Scholz i Hutchinson, 1979). Kod ostalih vrsta životinja GPx je približno zastupljena oko 50% u eritrocitima i 50% u krvnoj plazmi. Me utim, mora se imati na umu da aktivnost ovog enzima u eritrocitima zavisi od dostupnosti selena tokom eritropoeze. Pošto aktivnost enzima glutathion peroksidaze u eritrocitima zavisi od stepena eritropoeze i trošenja eritrocita, ugradnja selena u ovaj enzim je regulisana normalnim biološkim procesom, dok koncentracija selena u plazmi može da varira u zavisnosti od njegovog dnevnog unosa. Vreme koje je potrebno da se aktivnost enzima glutathion peroksidaze promeni u perifernoj krvi nakon njegovog dodavanja putem hrane je prose no 30 dana kod ovaca (Sheppard i Millar, 1981) i 35 dana kod goveda (Scholz i Hutchinson, 1979).

Ganther i sar. (1976) ukazuju na to da se pri koriš enju GPx za utvr ivanje statusa snabdevenosti organizma selenom moraju uzeti u obzir i drugi inoci. Po njihovom mišljenju na aktivnost enzima uti u starost, pol, izloženost peroksidantima, toksini ili teški metali, kao i deficit Fe i vitamina B₁₂.

Nivo selena u punoj krvi manji od 0,05 µg/ml (ppm) se smatra deficitnim, dok je nivo izme u 0,05 i 0,10 ppm marginalan, a ve i od 0,10 ppm adekvatan. Istovremeno, koncentracija glutathion peroksidaze u krvi je deficitna, sa manje od 30 mU/mg hemoglobina, marginalna sa 30-60 mU/mg hemoglobina i adekvatna, sa više od 60 mU/mg hemoglobina (Koller i sar. 1984).

2.8. Toksi nost selena

Još u trinaestom veku, Marko Polo je opisao nekroti no oboljenje kopita njegovog konja pri prolasku kroz zapadnu oblast Kine. On je doveo u vezu ovo sa ingestijom izvesnih vrsta trava koje su lokalne životinje izbegavale. 1560. godine, u Kolumbiji i Južnoj Americi otac Pedro Simon je opisao gubitak dlake i rožine papaka, osetljivost zglobova, reproduktivne poreme aje i uginu a kod doma ih životinja (Mori, 1979). Godine 1931. istraživa i su opisali "alkalnu bolest" kao hroni nu selenotoksikozu (selenoza) koja se karakteriše gubitkom dlake i rožine, anemijom, hramanjem, usporenim

rastom i poreme enom reproduktivnom funkcijom. Ova bolest se javlja kod svih vrsta životinja na slanim i alkalnim zemljištima, posebno kod životinja na ispaši (Rosenfeld i Beath, 1964).

Slede e oboljenje koje je opisano je "slepo teturanje" (eng. *blind staggers*) ili polioencefalomalacija (PEM). Karakteriše se razli itim disfunkcijama nervnog sistema uklju uju i i poreme aje vida. Ovo neurološko oboljenje se javlja naj eš e kod preživara i povezano je sa unosom hrane koja ima veliku koli inu selena (Rosenfeld i Beath, 1964). Obbolele životinje pored poreme aja vida imaju simptome abdominalnog bola, anoreksije, ataksije, paralize i kona no uginu a.

Ispitivanja vršena na ovcama i pacovima su pokazala da životinje mogu da se prilagode ve em unosu selena pove anim stvaranjem metilovanih ekskretornih jedinjenja i na taj na in smanjivanjem deponovanja selena u tkivima (Combs i Combs, 1986c).

Koli ina selena koja je potrebna da se dostigne toksi ni nivo zavisi od nekoliko inilaca: forme selena, dužine i konstantnosti unošenja, sastava i vrste obroka (Foster i Sumar, 1997). Na in unošenja tako e uti e na ispoljavanje toksi nih efekata. Vodoni selenid je najtoksi nija forma selena (Cooper i Glover, 1974), dok je od selena koji se unosi putem hrane selenat toksi niji od selenita, selenocisteina i selenometionina (Martin i Gerlah, 1972).

Ljudi tako e mogu da budu žrtve trovanja selenom. Naj eš i simptomi trovanja su: mu nina i povra anje, gubitak kose i noktiju, zadebljali i krti nokti sa belim mrljama ili longitudinalnim prugama, suva kosa koja je krta i lako se lomi, lezije na koži koje karakteriše crvenilo i otok kože ruku i ekstremiteta sa posledi nim ulceracijama, brzo propadanje zuba i poreme aji nervnog sistema koji uklju uju utrnulost, konvulzije, poreme aje u motorici i paralizu (Sunde, 2000). Težina simptoma zavisi od ja ine trovanja. Pored trovanja oralnim unošenjem visokih doza selena, kod ljudi je opisano i trovanje izazvano inhalacijom dima u industrijskim podru jima. Akutno trovanje izaziva iritaciju sluzokože gornjeg respiratornog trakta, hiperemiju i suzenje o iju, poja ani iscedak iz nosa, promuklost, kašalj i kijanje. Nakon toga dolazi do nastanka konjuktivita, rinitisa i bronhitisa sa razvojem edema plu a posle nekoliko asova (Combs i Combs, 1986c).

Smatra se da postoje male razlike u osetljivosti razli itih vrsta životinja na akutnu toksi nost selenom. Seleniti i selenati izazivaju sli ne toksi ne efekte. Minimalna letalna doza selenita i selenata kod pasa, ma aka, ze eva i pacova je 1,5-3 mg/kg telesne mase, bez obzira na na in unošenja (Moxon i Rhian, 1943). Obrok koji sadrži 5 mg/kg selena u

dužem vremenskom periodu može da dovede do nastanka simptoma toksikoze, dok teža forma selenoze nastaje kada obrok sadrži 10-25 mg/kg selena (Buck i sar. 1976). Minimalna letalna doza kod goveda je 9 mg/kg natrijum selenita (Shamberger, 1983c).

Simptomi akutnog trovanja selenom su otežano disanje, povra anje, zadah koji miriše na beli luk, tetani ni spazmi i smrt usled respiratornog zastoja (Franke i Moxon, 1936). Histopatološki nalazi ukazuju na lezije koje ukljuuju kongestiju krvnih sudova jetre i bubrega, fokalni nekroti ni hepatitis, endokarditis, miokarditis i petehijalna krvarenja na epikardu (National Research Council, 1983).

Kod svinja simptomi trovanja selenom ukljuuju lezije papaka, smanjen apetit, oštećenje CNS-a i poremećen razvoj embriona. Obrok koji sadrži 10 mg Se/kg suve materije smanjuje stepen koncepcije, i dovodi do rađanja slabe, sitne i uginule prasadi (Underwood i Suttle, 1999). Minimalna akutna letalna doza za svinje iznosi 15 mg Se/kg (Shamberger, 1983c).

Živina može da toleriše seleniferne žitarice u koncentraciji do 10 mg/kg Se u suvoj materiji bez ispoljavanja štetnih efekata (Underwood i Suttle, 1999). Pilići i u porastu imaju smanjen apetit, a samim tim i sporiji rast pri unošenju veće količine selena od dozvoljenih. Kod živine minimalna per os letalna doza selena u obliku Na-selenita varira u zavisnosti od vrste i iznosi 0,9 mg Se/kg suve materije za kure, 1,7 mg Se/kg suve materije za brojlere i 9,4 mg Se/kg suve materije za patke (Surai, 2000).

Simptomi trovanja kod pasa su odbijanje hrane (što vodi do gubitka telesne mase), gubitak apetita, krležjavost, mučnina, povra anje, proliv, uplašenos, ubrzano disanje i kardiovaskularni poremećaji. U težim slučajevima javljaju se nervni poremećaji i patološke promene na jetri i slezini (Rhian i Moxon, 1943), dok u najtežim oblicima trovanja dolazi do uginuća. Simptomi trovanja su gubitak težine kod mladih i kod odraslih pasa i nastaju kada se u obrok doda 7,2 ili 10 ppm selena u obliku natrijum selenita (Rhian i Moxon, 1943). Natrijum selenit u hrani u dozi od 20 mg/kg dovodi do uginuća za vrlo kratko vreme.

Minimalna letalna doza natrijum selenita data intramuskularno kod pasa iznosi 2 mg/kg telesne mase (National Research Council, 1976).

Hronično trovanje selenom kod odraslih mačaka i pasa se karakteriše njegovom povećanom koncentracijom u tkivima kao što su jetra, bubrezi, slezina, pankreas, srce i pluća. Isto tako, veća koncentracija selena se nalazi u eritrocitima nego u plazmi (Smith i sar. 1937). U eksperimentu Weissmana i sar. (1983), najveće količine selena kod pasa su

prona ene u plu ima, bubrezima, jetri, krvi, slezini i srcu nakon udisanja selenove kiseline.

Minimalna letalna doza selena kod ma aka iznosi 1,5-3,0 mg/kg telesne mase, bez obzira na na in njegovog unošenja u organizam (Puls, 1988).

Simptomi akutnog trovanja selenom kod laboratorijskih životinja su karakteristi an zadah na beli luk u izdahnutom vazduhu, povra anje, otežano disanje, tetani ki spazmi i kona no uginu e zbog prestanka funkcija respiratornih miši a (National Research Council, 1983a). Minimalna letalna doza selena kao natrijum selenita ili selenata kod ze eva i pacova iznosi 1,5-3 mg/kg Se bez obzira na na in unošenja (Koller i Exon, 1986).

Hroni no trovanje kod laboratorijskih životinja nastaje kada obrok sadrži 4-5 mg/kg i više selena u obroku (National Research Council, 1983a).

2.9. Poreme aji usled deficita selena

2.9.1. Poreme aji kod goveda zbog deficita selena

U mnogim delovima sveta koncentracija selena u hranivima nije dovoljna da zadovolji pove ane potrebe za rast, reprodukciju i proizvodnju mleka, pa usled deficita mogu nastati razli iti poreme aji (Lyons i sar. 2007).

Kod teladi je opisana kongenitalna miši na distrofija sa simptomima ležanja nakon ro enja više od 12 sati, pove anom koncentracijom kreatin kinaze u serumu kao i smanjenom koncentracijom selena i vitamina E u krvnom serumu (Abutarbush i Radostits, 2003).

Enzootska miši na distrofija nastaje kod teladi naj eš e u periodu do 4 meseca starosti (Hartley i Grant, 1961). Kod teladi sa perakutnim tokom može do i do iznenadnog kolapsa i uginu a nakon uznemiravanja bez bilo kakvih simptoma bolesti. Tako e, telad mogu naglo da uginu i nakon napajanja. U akutnim slu ajevima kod teladi se javlja nagla otupelost i respiratorni stres pra en penušavim ili krvavim nosnim iscetkom. Takva telad obi no leže u postranom položaju i ne mogu da zauzmu sternalni položaj ak ni posle ukazane pomo i. Kod teladi koja stoje javlja se uko en stav. Bolest je pra ena i tahikardijom sa aritmijama (150-200 u minuti), a disanje je ubrzano (60-72 u minuti) i uje se. Telesna temperatura je obi no u granicama normale. Subakutna enzootska miši na distrofija je naj eš a forma kod teladi u porastu. Telad obi no zauzima sternalni položaj pri emu ne mogu da ustanu. Ukoliko stoje primetan je uko en stav, tremor miši a i ekstremiteta, slabost i ponovno ležanje nakon kratkog vremena (Radostits i sar. 2007).

Nedostatak selena i vitamina E u obroku krava ima za posledicu povećani procenat nastanka mastitisa u laktaciji i zasušenju (Ceballos-Marquez i sar. 2010; Abutarbush i Radostits, 2003; Weiss i sar. 1990).

Deficit selena i/ili vitamina E dovodi se u vezu sa povećanom učestalošću i težom kliničkom slikom intramamarnih infekcija, a sa pojavom kliničkih mastitisa, povećanim brojem somatskih ćelija u mleku kod pojedinačnih krava i u zbirnom uzorku (Smith i sar. 1997).

Zaostajanje posteljice kod krava je poremećaj koji se dovodi u vezu sa deficitom selena sa ili bez deficita vitamina E. Procenat zaostale posteljice u zapažanjima sa vrednostima selena na donjoj granici u plazmi može biti veliki. Ako se selen dodaje u obrok ili unosi parenteralno, procenat se može smanjiti ispod 10% (Erskine i sar. 1997). Brojna ispitivanja su pokazala da dodavanje selena pre porođaja može da smanji nastanak zaostale posteljice kod krava čiji je obrok bio deficitaran selenom (Allison i Laven, 2000). Detaljnije o zaostaloj posteljici biće rečeno u posebnom odeljku.

Endometritis, cistični jajnici i nizak stepen koncepcije se takođe dovode u vezu sa deficitom selena (Hemingway, 2003).

2.9.2. Poremećaji kod ovaca i koza zbog deficita selena

Deficit selena kod malih preživara (kod jagnjadi i jaradi u rastu) se manifestuje mišićnom distrofijom, naročito skeletne i mišićne srčanog mišića (Ammerman i sar. 1974) i zaostalom posteljicom kod ovaca i koza (Lekatz i sar. 2010). Perakutnu (srčanu) formu ovog oboljenja karakteriše iznenadna smrt usled mišićne distrofije srca. Ređe je subakutna (skeletna) forma i karakteriše se simptomima ukočenosti, slabosti i podrhtavanja ekstremiteta, životinja ne može da stoji, već trajno leži. Pri pokušaju da stoji kod životinja se javlja tremor mišića i pogrbljen stav. Takvi mišići i na palpaciju deluju mekano i mlitavo. Ukoliko bolest zahvati dijafragmu i interkostalne mišićne javlja se otežano disanje, pri čemu može doći i do prestanka disanja (Maas i Valberg, 2009).

Ostali simptomi deficita selena uključuju usporeni rast, slabost, rano embrionalno uginuće ili produžen porođaj (što povećava mogućnost uginuća ploda), prevremeni porođaj, smanjena je opšta otpornost, mastitis i endometritis (Radostits i sar. 2007).

Deficit selena se najčešće javlja kod jagnjadi i jaradi nakon rođenja do 8. nedelje starosti i u zimskim mesecima kada je hrana siromašna u selen (Ramirez-Bribiesca i sar. 2001). Jagnjad i jarad obolela od ove bolesti pokazuje slabost, ukočenost, otežano stajanje i pogrbljenost. Na autopsiji, zapažaju se kao krečnabele lezije, nekroze i mineralizacija u

sr anom miši u, kao i u skeletnim miši ima pri emu su oni beli i suvi. Obolela jagnjad imaju znatno nižu koncentraciju selena u srcu, jetri i skeletnim miši ima u pore enju sa zdravim životinjama (Radostits i sar. 2007).

Jedna od najranijih promena koja se javlja kod jagnjadi jeste i pove ano zadržavanje kalcijuma u miši nim vlaknima kod kojih po inje da se javlja distrofija. Dodavanje selena prevenira retenciju kalcijuma i dalje napredovanje bolesti. Degeneracijom miši a dolazi do osloba anja enzima (laktat dehidrogenaza (LDH), aldolaza i kreatin fosfokinaza (CPK)) koji su od zna aja u dijagnostici ovog poreme aja (Pugh i Baird, 2012).

Ovce koje konzumiraju hraniva siromašna selenom daju manje vune i imaju ve u u estalost oboljenja periodoncijuma (Salisbury i sar. 1953). Usled otežanog žvakanja obolele ovce gube na težini.

2.9.3. Poreme aji kod svinja zbog deficita selena

Bolest dudolikog srca, hepatitis dietetica, eksudativna dijateza i nutritivna miopatija poznati kao VESD sindrom (sindrom deficita vitamina E i selena) javljaju se kod prasadi naj eš e kao teška patološka stanja. Sva ova oboljenja su esto posledica ishrane svinja hranivima siromašnim u selenu i vitaminu E, kao i hranivima koja sadrže pove anu koncentraciju nezasi enih masnih kiselina (Van Vleet i sar. 1970). Primer takvih hraniva su mešavina soje, vlažnih žitarica i žitarica uzgajanih na zemljištu siromašnim u selenu.

Pored toga kod prasadi se može javiti i nutritivna miši na distrofija, a kod svinja može do i i do nastanka edema u razli itim tkivima, poreme ene spermatogeneze (Liu i sar. 1982) i pove ane osetljivosti tj. prijem ivosti na dizenteriju (Tiege i sar. 1977).

Bolest dudolikog srca (eng. *Mulberry heart disease*) je naj eš i oblik deficita selena i vitamina E. Javlja se prvenstveno kod prasadi u fazi intenzivnog rasta (60-90 kg), ali i kod svinja (Trapp i sar. 1970). Takva prasad su u dobroj kondiciji, jer su hranjena visoko energetske hranivima, koja su siromašna u selenu i vitaminu E. Bolest karakteriše naglo uginu e bez pojave klini kih simptoma. Obi no uginjava nekoliko najboljih jedinki u zapatu. Ukoliko ne do e do naglog uginu a prisutni klini ki simptomi su: otežano disanje, cijanoza i postrano ležanje kao znak izrazite sr ane slabosti (Radostits i sar. 2007). Ova bolest se naj eš e javlja u jesen posle uvo enja svežih žitarica u ishranu svinja, verovatno zbog obilnih padavina u kasnom letnjem periodu, ime se favorizuju distrofogena svojstva žitarica (Lannek i Lindberg, 1975).

Hepatitis dietetica se karakteriše iznenadnim uginu em prasadi, uglavnom u periodu brzog porasta (30-60 kg telesne mase). Samo mali broj slu ajeva ovog oboljenja je pra en otežanim disanjem, depresijom, povra anjem, uko enoš u, prolivom i kolapsom životinje. Kod nekih prasadi se može javiti i žutica. Na autopsiji se uo avaju nekroti ne lezije, žu kasto-braon prebojavanje telesne masti i potkožni edemi (Levander, 1986).

Od ostalih oboljenja usled deficita selena i/ili vitamina E kod svinja se spominju: miši na distrofija koja se manifestuje opštom miši nom slaboš u, nestabilnim i nekoordinisanim pokretima, pojavom edema (naj eš e u mezenterijumu, plu ima i supkutisu) (Trapp i sar. 1970), reproduktivni poreme aji (smanjenje broja oprasene prasadi) (Mihailovi i sar. 1982a), poreme ena spermatogeneza nerasta (Liu i sar. 1982), pojava ulkusa i krvarenja na sluzokoži želuca (Van Vleet i sar. 1970; Mahan i sar. 1974), pove ana prijem ivost na dizenteriju (Tiege i sar. 1984), smanjena tolerancija prasadi na parenteralno davanje preparata gvož a sa posledicim uginjavanjem nekoliko prasadi ili celog legla (Patterson i sar. 1969).

2.9.4. Poreme aji kod konja zbog deficita selena

Nutritivna miši na distrofija se naj eš e javlja kod ždrebadi do oko 7 meseci starosti, dok se kod odraslih jedinki javlja sporadi no. Najviše zahva eni su skeletni, sr ani miši i i dijafragma (Lofstedt, 1997).

Miši na distrofija ždrebadi u prvim nedeljama nakon ro enja se karakteriše nemogu noš u sisanja, ležanjem, otežanim ustajanjem ili trajnim ležanjem, nestabilnoš u i podrhtavanjem prilikom kretanja. esto se javlja polipneja ili tahipneja dok je telesna temperatura u fiziološkim granicama. este komplikacije ovog oboljenja su poreme eni pasivni transfer antitela iz kolostruma, aspiraciona pneumonija i poreme eni rast i razvoj (Schongaard i sar. 1972).

Miokardijalna i dijafragmatska forma oboljenja se esto javljaju kod mlade ždrebadi što za posledicu ima akutnu slabost srca, respiratorni stres i naglo uginu e uprkos tretmanu.

Skeletna forma oboljenja se eš e javlja kod starije ždrebadi sa simptomima opšte miši ne slabosti i ležanja, a koja obi no nestaje posle terapije.

Kod odraslih konja simptomi miši ne distrofije nastali usled deficit selena i/ili vitamina E karakterišu se uko enim hodom, mioglobinurijom, depresijom, otežanim uzimanjem hrane, pojavom tuposti i pojavom otoka na glavi i vratu. Na po etku bolesti nekada se mogu videti i kolitni napadi (Schongaard i sar. 1972).

2.9.5. Poreme aji kod živine vezani za deficit selena

Deficit selena kod živine može da se manifestuje jednim od tri selen zavisna oboljenja, a u zavisnosti od specifičnosti ishrane. To su: eksudativna dijateza, nutritivna mišićna distrofija i nutritivna atrofija pankreasa. Dok se prva dva oboljenja mogu prevenirati dodavanjem vitamina E, nutritivna atrofija pankreasa je bolest isključivo povezana sa količinom selena u ishrani (Combs i Combs, 1986).

Eksudativna dijateza živine se karakteriše edemom na grudima, krilima i vratu, nakupljanjem tečnosti u abdomenu, nogama, potkožnom tkivu grudi i abdomena i ventralnom delu vrata (Scott, 1974). Ovo oboljenje se javlja najčešće u prvih mesec dana nakon izleganja. Jednodnevni pilići koji pate od nedostatka Se i vitamina E imaju smanjenu koncentraciju selena u krvi i aktivnost glutation peroksidaze, što ima za posledicu povećanu osetljivost na peroksidaciju masti i oksidativni stres (Avanzo i sar. 2001). Pilići pokazuju smanjenu aktivnost i uzimanje hrane. Ukoliko se ne leče, dodavanjem selena ili vitamina E, dolazi do uginuća za 2-6 dana (Combs i Combs, 1986).

Mišićna distrofija živine ima istu patologiju kao i kod drugih vrsta životinja. Karakteriše je degeneracija skeletnih mišića, naročito na grudima i butacima, generalizovana mišićna slabost i smanjenje spontane aktivnosti (Machlin i Shalkop, 1956). Mikroskopski nalaz pokazuje Zenker-ovu degeneraciju mišićnih vlakana sa perivaskularnom infiltracijom eozinofila i makrofaga (Machlin, 1955).

Nedostatak selena se kod živine manifestuje i nutritivnom distrofijom pankreasa, što za posledicu ima gubitak ekskretorne funkcije pankreasa usled degeneracije žlezdanih celija, dok su Langerhansova ostrvca očuvana a samim tim i njegova endokrinska funkcija sa normalnom koncentracijom glukoze u plazmi (Thompson i Scott, 1970). Posledice su postepeni gubitak apetita, slabiji prirast pilića i njihovo uginjavanje. Degeneracija pankreasa je reverzibilna, pa se nakon tretmana selenom apetit vraća već posle 4 sata (Bunk i Combs, 1980), dok se žlezdani pankreas regeneriše nakon 1-2 dana (Gries i Scott, 1972).

Reproduktivni poremećaji, pad nosivosti, embrionalno uginuće i smanjen procenat izleženja su posledica neizbalansirane ishrane sa nedostatkom selena (Cantor i Scott, 1974). Encefalomalacija pilića se takođe dovodi u vezu sa nedostatkom antioksidanata u hrani, prvenstveno vitamina E, dok se za selen smatra da njegovo dodavanje smanjuje pojavljivanje, samo kada dijeta ne sadrži veliku količinu oksidansa (Century i Horwitt, 1964).

2.9.6. Poreme aji kod pasa i ma aka

Kod pasa resorpcija selenometionina je značajno veća nego selenocisteina, dok je resorpcija selenita najznačajnija (oko 90% kod odraslih pasa) (Furchner i sar. 1975).

Klinički simptomi deficita selena kod mladih pasa su slabost mišića, potkožni edemi, gubitak apetita, otežano disanje, depresija i koma (Van Vleet, 1975). Patološke promene koje se javljaju su obimna degeneracija mišića, nekroza miokarda i mineralizacija u bubrezima. Slične promene se mogu javiti i kod odraslih pasa (Van Rensburg i Venning, 1979). Makroskopske i mikroskopske promene su slične onima koje se nalaze kod jagnjadi obolele od nutritivne mišićne distrofije.

U poslednje vreme vršena su ispitivanja koja se odnose na uticaj selena na imunitet štenadi. Dokazano je da selen ima antioksidativne osobine i efikasan je imunostimulator, pa može da se koristi za povećanje imunskog odgovora kod štenadi naročito u vreme vakcinacije (Michalkova i sar. 2004).

Podaci koji se odnose na deficit selena kod mačaka su oskudni, ali se smatra da se mogu javiti simptomi slični onima kod pasa i jagnjadi, a odnose se na nutritivnu miopatiju. S obzirom da je hipotireoidizam čest endokrini poremećaj kod mačaka, pretpostavlja se da selen igra važnu ulogu u homeostazi tireoidne žlezde, ali verovatno u korelaciji sa drugim faktorima (Foster i sar. 2001).

2.9.7. Selen i zdravlje ljudi

Selen je esencijalni mikroelement u ishrani ljudi i, kao kod životinja, neophodan je za život. Deficit selena se dovodi u vezu sa mnogim patološkim stanjima u organizmu, kao što su: povećani rizik za nastanak kancera, dijabetesa i infekcija, poremećena plodnost kod muškaraca i žena, slabljenje funkcije imunskog sistema kao i funkcije tireoidne žlezde i nekoliko neuroloških poremećaja uključujući i Alchajmerovu i Parkinsonovu bolest (Rayman, 2000).

2.9.7.1. Kešanska bolest

Kešanska bolest je potencijalno letalna forma kardiomiopatije koju karakteriše oštećenje i uvećanje srčanog mišića, poremećaj u EKG-u, galopni ritam i kardiogeni šok (Chen i sar. 1980). Rasprostranjena je kod dece (najčešće starosti 2-10 godina) i žena (najčešće u premenopauzi) u pojedinim oblastima Kine u kojima je koncentracija selena u zemljištu izrazito niska (unos manji od 10 µg dnevno) (Koller i Exon, 1985). Migranti ne obolevaju od Kešanske bolesti ako nisu živeli na endemskom području bar tri meseca (Ge

i sar. 1983). Specifi ni simptomi Kešanske bolesti ne postoje, me utim postoje etiri mogu a toka na osnovu klini ke slike: akutni, subakutni, hroni ni i latentni (Levander, 1986).

Akutni tok se javlja kod dece koja su do tada bila zdrava, a karakteriše se iznenadnom pojavom vrtoglavice, gubitka apetita, mu ninom, povra anjem, drhtavicom, nelagodnoš u i otežanim disanjem. Kasnije se javlja insuficijencija srca, iako srce izgleda relativno normalno.

Subakutni tok se naj eš e javlja kod dece, a manifestuje se simptomima sli nim onim kod hroni nog oblika sa varijacijama u zavisnosti od stepena sr ane insuficijencije. Karakterišu ga nelagodnost, uznemirenost, facijalni edem, galopni ritam i blago proširenje srca.

Hroni ni tok odlikuje se umereno do izrazitim uve anjem srca koje li i na loptu. U ovom stadijumu javljaju se simptomi izrazite insuficijencije srca: drhtanje, zamor, kašalj sa hemoftizom, otok, oligurija, galopni ritam i uve anje jetre.

Kod latentnog oblika bolesti dijagnostikuje se blago uve anje srca sa o uvanom funkcijom (Foster i Sumar, 1997).

2.9.7.2. Kašin-Bekova bolest

Poznata je i kao “bolest uve anih zglobova”, osteoartropatija (lat. osteoarthritis deformans endemica). To je hroni ni, degenerativni, generalizovani osteoarthritis koji zahvata periferne zglobove i ki mu (Levander, 1986). Kao i kod Kešanske bolesti, Kašin-Bekova bolest je vezana za odre ena podru ja severne Kine, Severne Koreje i podru ja isto nog Sibira (Foster i Sumar, 1997). Bolest najpre dovodi do slabosti ekstremiteta, simetri ne uko enosti, otoka i bola na zglobovima prstiju. To dovodi do nastanka osteoartritisa lakta, kolena i sko nog zgloba, kao i uve anja zglobova i disfunkcije nakon tridesete godine starosti. Obe ove bolesti karakteriše, pored deficita u selenu i deficit joda, kontaminacija žitarica mikotoksinima i zaga enje vode organskim materijalom i kiselinama (Sudre i Mathieu, 2001).

Epidemiološke studije su pokazale da deficit selena uti e na ve u u estalost nastanka dijabetesa i kardiovaskularnih oboljenja kod muškaraca (Navarro-Alarcon i Lopez-Martinez, 2000). Tako e, utvr eno je da postoji negativna korelacija izme u unosa selena i stepena smrtnosti osoba obolelih od kancerogenih oboljenja (Rayman, 2000a; Whanger, 2004). Ta an mehanizam antikancerogenih osobina selena se još uvek ne zna, mada postoje brojna objašnjenja. Whanger (2004) smatra da se radi o ulozi selena na

efekat programirane smrti elija, smanjenju ošte enja i obnovi DNK, metabolizmu elija kancera i imunskom sistemu, specifi noj inhibiciji rasta tumorskih elija putem nekih proizvoda metabolizma selena i njegovoj sposobnosti inhibicije angiogeneze i indukciji apoptoze elija kancera. Smatra se da selen ima zaštitini efekat protiv kancera, poja avanjem imunskog odgovora i stvaranju antitumorskih metabolita (Rayman, 2000a).

Deficit selena uti e i na nastanak, virulencu ili progresiju virusnih bolesti. Posebno, selen ima ulogu u smanjenju efekta HIV virusa (Foster, 2004), kao i spre avanju nastanka hepatitis B i C, kao i nastanka tumora jetre (Yu i sar. 1997).

Deficiti joda i selena se karakteriše mentalnom retardacijom i poreme ajem u rastu, stanjem poznatom kao Miksedematozni kretinizam (Kohrle, 1999). Bolest nastaje usled deficita selena koji dovodi do smanjenja enzimske aktivnosti glutathion peroksidaze i jodotironin dejodinaze i nakupljanja vodonik peroksida (H_2O_2) što dovodi do ošte enja elija tireoidne žlezde i poreme aja metabolizma tireoidnih hormona. Bolest je opisana u pojedinim regionima Zaira u kojima postoji deficit joda ili deficit i joda i selena. Smanjeni unos ovih mikroelemenata ima za posledicu progresivnu involuciju štitaste žlezde što za posledicu ima ireverzibilni hipotireoidizam. Kada je prisutan i deficit selena nastaje nekroza i fibroza (Contempre i sar. 1996).

Poslednjih godina objavljeni su brojni radovi koji se odnose na vezu izme u deficita selena i pojave nekih oboljenja kao što su reumatoidni arthritus (Tarp, 1995), balkanska endemska nefropatija (Maksimovi , 1991; Mihailovi i sar. 1992), akutna i hroni na sr ana insuficijencija (Mihailovi i sar. 2003).

U mnogim zemljama sveta unos selena putem hrane je ispod nivoa koji se preporu uje (Combs, 2001). U Sjedinjenim Ameri kim Državama preporu eni unos selena putem hrane je 55µg dnevno, dok su u Engleskoj koli ine koje ljudi unose preko hrane niže, zbog njegovog nižeg sadržaja u hrani, pa su preporu ene koli ine nešto ve e, za muškarce 75µg dnevno, i 60 µg za žene (Surai, 2006). Ove potrebe su zasnovane na optimalnoj enzimskoj aktivnosti glutathion peroksidaze (Duffield i sar. 1999).

2.9.7.3. Selen i kancer

Veliki broj epidemioloških i prospektivnih studija u razli itim regionima sveta su pokazala negativnu korelaciju izme u statusa selena, ljudske populacije i rizika za nastanak kancera i smrti (Surai, 2006). Tako e, više kontrolnih studija je pokazalo da je koncentracija selena u krvi, serumu, kosi i noktima niža kod pacijenata obolelih od kancera u odnosu na zdrave osobe (Surai, 2006).

Iako tretman selenom ne utiče značajno na stepen pojavljivanja nemelanomskog kancera kože, pacijenti koji su dobijali dodatno selen imali su manji stepen nastanka kancera na plućima, prostati, kolonu i rektumu (Clark i sar. 1996). Zaključak iz ovih istraživanja je da je zaštitni efekat selena protiv nastanka kancera jači i kod onih pacijenata koji su imali niže vrednosti selena u krvi na početku studije.

Studije na životinjama su takođe pokazale zaštitni efekat različitih formi selena na mnoge tipove kancera, uključujući jetru, kožu, dojku i kolon (Rafferty i sar. 2002).

2.10. Vitamin E

Vitamin E (tokoferol) je otkriven 1922. godine kao sastavni deo lipidne frakcije u hrani koja je imala sposobnost da spreči uginuće fetusa i njegovu resorpciju kod pacova (Evans i Bishop, 1922). Olcott i Mattill (1931) su otkrili antioksidativnu sposobnost vitamina E, koja nije uvek u korelaciji sa aktivnošću vitamina E. Evans i sar. (1936) su otkrili postojanje 3 različita molekula sa alkoholnom formom, a koji se razlikuju po jačini: α je mnogo jači od β ili γ molekula u vitaminskoj aktivnosti. Ime tokoferola vodi poreklo od Grčkih reči *tocos* što znači “porađanje” i *phero* što znači “nositi” (Evans, 1962).

Postoji 8 različitih formi vitamina E poreklom iz biljaka koji su slični po strukturi, ali se razlikuju po biološkoj aktivnosti: α -, β -, γ - i δ -tokoferol i tokotrienoli (Traber i Arai, 1999). Tokotrienoli se razlikuju od tokoferola jer oni imaju nezasićeni bočni lanac, dok tokoferoli imaju zasićeni fitinski rep sa tri hiralna C-atoma koji nastaju prirodno u RRR konfiguraciji (Traber i Arai, 1999).

Jedna internacionalna jedinica (IU) vitamina E je ekvivalentna aktivnosti 1 mg D-tokoferol acetata (NRC, 1998).

2.10.1. Biološka uloga vitamina E

Najbolje poznata biološka uloga vitamina E je njegovo dejstvo kao efikasog antioksidansa u lipidnim membranama (Hogan i sar. 1990). Vitamin E prekida lančanu reakciju koja za posledicu ima nastanak slobodnih radikala, posebno u kontekstu polinezasićenih masnih kiselina prisutnih u membranama i lipoproteina (Burton i sar. 1983). Zajedno sa selenom, tokoferol ima značajnu ulogu u celularnom i humoralnom imunskom odgovoru organizma. U skorije vreme otkrivene su i brojne ne-antioksidativne funkcije vitamina E karakteristične za pojedine njegove forme.

-Tokoferol ima ulogu u inhibiciji protein kinaze C i proliferaciji elija glatkih mišića (Boscoboinik i sar. 1991), 5-lipoksigenaze i fosfolipaze A₂ (Grau i Ortiz, 1998). Tako e, ima ulogu i u aktivaciji fosfataze 2 i diacilglicerol kinaze koji imaju ulogu u regulisanju ekspresije gena za proteine poput -tropomiozin i -tokoferol transfer protein (Fechner i sar. 1998). Dokazana je i njegova uloga kao inhibitora agregacije trombocita i adhezije monocita (Wu i sar. 1999).

-Tokoferol ima ulogu u iš enju peroksinitritnih radikala (Hoglen i sar. 1997). Tako e, -tokoferol je mnogo ja i inhibitor PGE₂ u zapaljenskoj reakciji od -tokoferola (Jiang i sar. 2000).

Tokotrienoli indukuju apoptozu i inhibišu umnožavanje velikog broja vrsta elija. Tako e, efikasniji su u odnosu na tokoferole u spre avanju adhezije monocita na endotel, time što spre avaju ekspresiju adhezivnih molekula (Theriault i sar. 2002).

2.10.2. Izvori vitamina E

S obzirom da je vitamin E supstanca rastvorljiva u mastima koje sintetišu biljke, njegov glavni izvor su biljne masti. Pošto se svi tokoferoli i tokotrienoli nalaze u različitoj koncentraciji u semenu biljaka, lišće i ostali hloroplastom bogati delovi biljaka prvenstveno sadrže -tokoferol (Chow, 1985). Vitamin E se nalazi u različitoj koncentraciji u hranivima koja se koriste za ishranu stoke. Sveža zelena trava sadrži veliku količinu -tokoferola (80-200 IU/kg), dok je količina vitamina E u senu i silaži niža za 20-80 % (Thafvelin i Oksanen, 1966). Silaža kukuruza je siromašan izvor vitamina E, čak i kada je sveža. Što je pokošena trava duže izložena sun evoj svetlosti količina -tokoferola se više smanjuje. Isto tako, većina koncentrovanih hraniva sadrže jako malu količinu vitamina E. Tome u mnogome doprinosi i mlevenje žitarica pri emu se izlažu većoj temperaturi kao i njihovo nepravilno skladištenje (Schingoethe i sar. 1978).

2.10.3. Resorpcija i metabolizam vitamina E

Za efikasnu resorpciju vitamina E u digestivnom traktu neophodan je pravilan rad sistema za resorpciju lipida koga ine zid creva, žučni sistem i egzokrini pankreas. Dodaci vitamina E, obično u formi tokoferol acetata bivaju hidrolizovani i u elijama creva (prvenstveno tankih) se ugrađuju u hilomikrone (99%) za transport putem limfnog sistema (Bjørneboe i sar. 1990). Glavni depo vitamina E u organizmu je jetra, iako se najveće količine ovog vitamina skladište u masnom tkivu (Bieri i Evarts, 1975).

2.10.4. Potrebe

Potrebe krava u tokoferolu iznose 15 IU/kg suve materije (oko 150 i 300 IU) dnevno za krave u zasušenju i laktaciji (NRC, 1989), dok minimalna koncentracija vitamina E u serumu krava iznosi 8,12 μ M (Jagos i sar. 1981).

2.10.5. Vitamin E i zdravlje krava

Deficit vitamina E dovodi do degeneracije epitela u reproduktivnim organima. Životinje sa deficitom selena i vitamina E imaju oslabljeni imunski odgovor prema infektivnim bolestima (Arthur i Boyne, 1985). Dokazano je da dodavanje selena sa ili bez vitamina E smanjuje u estalost zaostale posteljice u zaptima gde je ona visoka ili u slu ajevima kada je hrana bila siromašna u selenu i vitaminu E (Julien i sar. 1976; Trinder i sar. 1969; Goff, 2006). Brojna ispitivanja su pokazala da dodavanje selena i vitamina E smanjuje pojavu nastanka metritisa, cista na jajnicima i skra uje vreme involucije materice kod krava sa metritisom (Harrison i sar. 1986).

Smatra se da je vitamin E jedan od najmanje toksi nih vitamina pa su tako i podaci o njegovoj toksi nosti oskudni. Simptomi koji se odnose na toksi nost vitamina E su najverovatnije povezani sa antagonizmom sa ostalim vitaminima rastvorljivim u mastima kao što su vitamini A, D ili K (Leeson i Summers, 2001).

2.11. Problematika zadržane posteljice kod krava

2.11.1. Gra a posteljice krava

Posteljica predstavlja vezu izme u tkiva majke i fetusa radi fiziološke razmene hranljivih materija, gasova, hormona i priozvoda metabolizma (Klisch i sar. 1999). Tokom ranog graviditeta morfogeneza posteljice je tesno povezana sa membranama koje se diferentuju u amnion, alantois, horion i žuman anu kesu. Amnion obavija fetus. Horion, spoljašnja membrana, je u kontaktu sa endometrijumom. Alantois se nalazi izme u amniona i horiona i u vezi je sa mokra nom bešikom fetusa preko urahusa. Spoljašnji sloj alantoisa je spojen sa horionom ine i horioalantois (Hafez, 1975).

Na osnovu distribucije resica na fetalnom horionu posteljica krava je *placenta multiplex cotyledonaria*. Po Grosserovoj podeli (1909), na osnovu blizine cirkulacije izme u majke i fetusa, posteljica krava pripada *placentali epitheliochorialis* (Wooding, 1992). U ovom tipu placente dvojedarne elije iz trofoblasta se fuzionišu sa endometrijumom (McGeady i sar. 2006).

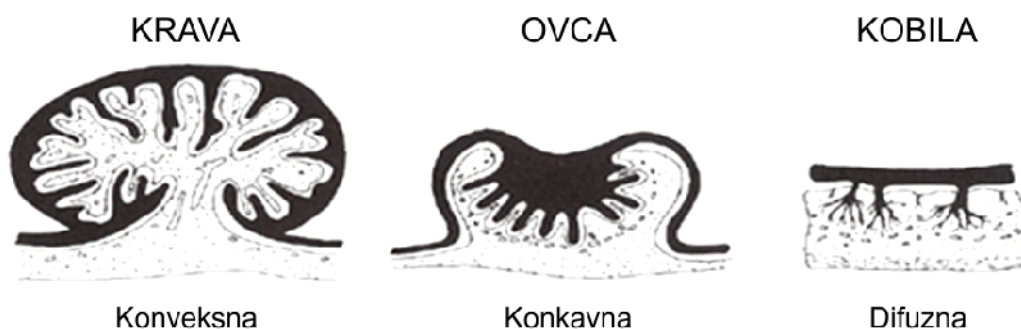
Horionske resice prekrivene su jednoslojnim visokoprizmatim epitelom, koje od 19-og dana graviditeta sadrže 2 ili više diplokariocita.

Posteljica je dinamičan organ koji je neophodan fetusu jer obezbeđuje hranljive materije za normalan intrauterini rast (Vonnahme i sar. 2006). Makroskopska i mikroskopska struktura posteljice zavise od mnogobrojnih faktora kao što su uhranjenost majke (telesna kondicija) i rasa. Povećanje mase materice i posteljice tokom graviditeta nastaje na račun fiziološke proliferacije i hipertrofije (Zheng i sar. 1996).

U materici krava, na mestima gde je alantohorion u kontaktu sa karunkulima materice, prstima slični produžeci ili resice u kojima se nalaze kapilari posteljice „urastaju“ u karunkule majke koji takođe imaju kapilarne pleksuse. Na taj način formiraju se placentomi preko kojih se odvija razmena hranljivih materija i gasova između majke i fetusa. Kod krava formiraju se 70-120 funkcionalnih kotiledona, a kod ovaca oko 80, poređanih u četiri reda duž oba roga materice (Wooding, 1992).

Veličina i masa placentoma kod krava se povećavaju tokom graviditeta, dok se razvoj u negravidnom rogu značajno razlikuje jer je placentoma u manjem broju, manji su i lakši (Laven i Peters, 2001).

Placentomi krava su ciljni organi za različite steroidne hormone kao što su progesteron, estrogeni i glukokortikoidi (Boos i sar. 2000). Uloga placentoma je, između ostalog, da prenose signale između ploda i majke, i važan su izvor auto-, para- i endokrinih signala koji učestvuju u kontroli rasta posteljice i njene diferencijacije. Odmah nakon placentacije deluje trofoblasta počinju stvarati značajnu količinu steroida, prvenstveno progesterona i estron sulfata (Hoffmann i Schuler 2002).



Slika 3. Način pri vršivanju placente krave, ovce i kobile. Resice horioalantoisa (crno) urastaju u kripte epitela uterusa majke grupisane u karunkule kod krava i ovaca, a difuzno raspoređene kod kobile (Frandsen i sar. 2009).

2.11.2. Fiziološki mehanizam poro aja

Poro aj zapo inje onda kada je fetus sposoban da preživi van materice. Poro aj ima 3 stadijuma. U prvom stadijumu odigravaju se endokrine i mehanske pripreme tkiva materice i cerviksa za poro aj. Druga faza podrazumeva istiskivanje fetusa i poro aj. Treća faza je izbacivanje posteljice (Arthur i sar. 1983).

Progesteron je neophodan za uspostavljanje i održavanje graviditeta kod svih sisara. Kod krava, *corpus luteum* (žuto telo) je primarni izvor progesterona tokom rane graviditeta i za potonju poro aja neophodna je luteoliza. Placenta sintetisuje progesteron od 120. dana gestacije, do oko 240-og dana. Peti do šest nedelja pre poro aja dolazi do povećanja fetalnog kortizola što dovodi do postepenog smanjenja uteroplacentarne sinteze progesterona, pa do kraja graviditeta žuto telo ponovo sintetisuje progesteron (Johnson i sar. 1981).

Visoka koncentracija progesterona tokom graviditeta dovodi do mirovanja materice zbog hiperpolarizacije ćelija miometrijuma. Na kraju graviditeta, dolazi do pada koncentracije progesterona i povećanja estrogena što dovodi do depolarizacije ćelija miometrijuma i stimulacije formiranja "gap junctions" veza u miometrijumu što ga čini osetljivijim na stimulatorne agoniste. U isto vreme, dolazi do povećanja ekspresije receptora za oksitocin na ćelijama miometrijuma. Povećana koncentracija estrogena stimuliše lučenje prostaglandina. Naime, dolazi do povećanja koncentracije enzima koji učestvuju u sintezi prostaglandina u materici, cerviksu i placenti. Ovi enzimi dovode do sinteze PGF₂ i PGE₂ i lize žutog tela sa naglim padom koncentracije progesterona u serumu, aktivacijom glatkih mišića miometrijuma, razmekšavanja i dilatacije cerviksa i otpočinjanja poro aja (Wood, 1999).

Za prirodan potonji poro aja važno je povećanje sinteze i lučenja kortizola nadbubrežne žlezde zrelog fetusa (Wood, 1999). Povećanje aktivnosti fetalne hipotalamo-hipofizno-adrenalne osovine na kraju graviditeta verovatno je preuslovljeno programiranim sazrevanjem hipotalamusa fetusa nego odgovoru hipofize fetusa na hronični stres (koji je verovatno uslovljen nedovoljnim prostorom za razvijeni fetus u materici). Na kraju gestacije (2-3 nedelje) dolazi do povećanja nadbubrežne žlezde fetusa u odnosu na telesnu masu i do povećanja osetljivosti ćelija na adenokortikotropni hormon (ACTH). Ovo povećanje veličine i osetljivosti nadbubrežne žlezde zajedno sa povećanom koncentracijom ACTH u cirkulaciji dovodi do povećanja sekrecije kortizola koji učestvuje na otpočinjanje poro aja. Fetalni kortikotropni rilizing hormon (CRF) se sintetisuje u hipotalamusu i dovodi do povećanja fetalnog adenokortikotropnog hormona u prednjem

režnju hipofize koji utiče na povećanje sinteze kortizola u nadbubrežnoj žlezdi. Kao odgovor na to: a) dolazi do smanjenja sinteze progesterona (uklanjanje progesteronskog bloka) i povećanje sinteze estrogena u posteljici; b) povećanje stvaranja estrogena što dovodi do sinteze prostaglandina u materici (PGF_2), povećanje broja receptora za oksitocin u miometriju i stvaranja relaksina u posteljici i jajnicima što rezultira razmekšavanjem cerviksa i ligamenata karlice; c) povećanje sinteze PGF_2 dovodi do oslobađanja oksitocina iz zadnjeg režnja hipofize, koji dalje stimuliše stvaranje PGF_2 , kontrakcije materice i otpuštanje porođaja (Geisert, 2007).

2.11.3. Fiziologija izbacivanja posteljice

Smatra se da postoje 3 stadijuma odvajanja i izbacivanja posteljice:

1. Sazrevanje posteljice;

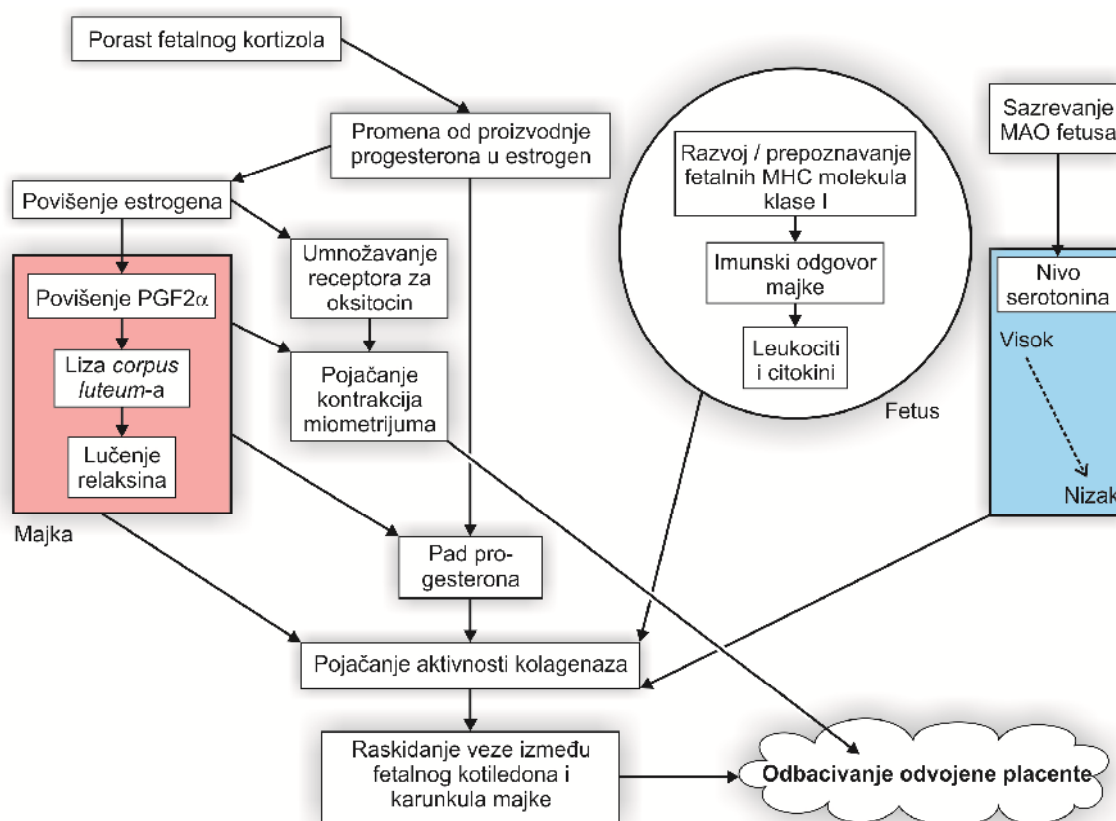
2. **Eksangvinacija fetalne placente** nakon prekida pupane veze, kada dolazi do kolapsa fetalnih kapilara, prekida cirkulacije i vazokonstrukcije trofoektodermalnih resica, kao i do mehaničkog odvajanja interdigitacija mikrovila oba epitela i smanjenja veličine karunkula (McGeady i sar. 2006).

3. **Kontrakcije uterusa** koje pomažu u eksangvinaciji posteljice i fizičkom odvajanju placente, menjaju i oblik placentoma i dovode i do odlupljivanja u aurenih kotiledona od karunkula majke i pokušaja izbacivanja odlupljenog dela fetalnih membrana (England, 2009).

Veza karunkul-kotiledon se ostvaruje na nekoliko načina. Kotiledon obuhvata karunkul i formira primarni sistem veze placente koji omogućava pravilan uzajamni položaj tkiva fetusa i majke. Takođe, kotiledon formira kapu koja vrsto naleže na karunkul dok rubovi obuhvataju i zatvaraju ceo karunkul. Treći način veze su korenovom sistemu slično urastanje resica kotiledona u kripte karunkula i prisustvo viskozne tečnosti između resica kotiledona i epitela u kriptama karunkula (Eiler i Hopkins, 1993).

Pri kraju graviditeta dolazi do "sazrevanja" posteljice. Ovaj proces se kod krava karakteriše brojnim promenama koje nastaju prvenstveno u epitelnim ćelijama kripte materice. Sa odmicanjem graviditeta veličina i broj ovih ćelija se smanjuje, dolazi do uspostavljanja kontakta sa povećanim brojem ćelija trofoblasta. Tako se sa sazrevanjem posteljice redukuje razdaljina između u cirkulacije majke i fetusa kao mehanizam koji je neophodan da posteljica zadovolji povećane potrebe fetusa za rast u poslednjim mesecima graviditeta. Smatra se da je sazrevanje posteljice preduslov za subpartalno odvajanje i izbacivanje posteljice (Williams i sar. 1987). Procesi "zrenja posteljice" su tek 2-5 dana

pre kraja graviditeta više ili manje završeni. Zato je u estalost zaostale posteljice ve a kod ranijeg poro aja.



Slika 4. Fiziološki procesi odvajanja i izbacivanja posteljice (Beagley i sar. 2010)

Odvajanje i izbacivanje posteljice su složeni procesi koji počinju još u predporodnom periodu (sl. 4), a one ga biohemijske i hormonske promene (Beagley i sar. 2010). Pri odvajanju posteljice kod krava dolazi do slabljenja veza između resica kotiledona i kripte karunkula bez oštećenja epitela placente. Proteoliza kotiledona i smanjenje viskoziteta veze karunkul-kotiledon je značajan indikator u odvajanju posteljice. Ovo odlupljivanje se vrši uz pomoć kolagenaza koje potiču od ćelija miometrijuma, fibroblasta i leukocita. Kolagenaze imaju mogućnost da smanje specifični viskozitet kolagena (Eiler i Hopkins, 1992). Njihova aktivnost u resicama kotiledona za vreme poroda povećana je kod zdravih krava, a smanjena kod krava sa zaostalom posteljicom. Pretpostavlja se da i serotonin igra važnu ulogu u regulaciji odvajanja posteljice jer smanjuje cirkulaciju između placente i fetusa i pokreće proteolizu placentoma. Glavni izvor (95%) 5-hidroksitriptamina (5-HT, serotonina) je zid creva fetusa (Tyce, 1990). Za

vreme intrauterinog razvoja fetusa serotonin može slobodno da cirkuliše kroz nezrelu pluća i jetru fetusa, i posteljicu bez značajne inaktivacije, postižu i visoku koncentraciju u krvi fetusa teladi (6 puta veća od neonatalne koncentracije (Fecteau i sar. 2001)), koza i ljudi (De Antoni i sar. 1980). U placentomima, serotonin stimuliše umnožavanje elija placente ("faktor rasta") i inhibiše aktivnost matriks metaloproteinaze posteljice i na taj način igra ulogu u otklanjanju veze između karunkula i kotiledona (Eiler i sar. 1993). Kod teladi serotonin je snažan stimulator lučenja ACTH (Eiler i sar. 2000), dok dugotrajno visoka koncentracija i sekreciju ACTH i kortizola. Isto tako, povećana koncentracija serotonina u cirkulaciji fetusa može da deluje na njegov mozak ispoljavajući i narkotičko dejstvo, što predstavlja zaštitni mehanizam kako za majku tako i za fetus i da placenta bude vrlo vezana (Thomas i sar. 2001). Tri dana pre porođaja enzimski sistem monoamino oksidaza (MAO) u plućima i posteljici inaktivira serotonin i dovode do pada njegove koncentracije u zidu creva fetusa (Fecteau i Eiler, 1997). Posledica je supresija inhibitornog dejstva serotonina na proteolizu, prestaje narkotičko dejstvo usled čega dolazi do povećanih pokreta fetusa, povećanja sekrecije i lučenja kortizola i poticanje odvajanja posteljice. Takođe, dokazano je i da komponente sistema renin-angiotenzin igraju ulogu u izbacivanju posteljice. Receptori za angiotenzin II se nalaze u fetalnoj i placentalnoj membrani kod krava (Schäuser i sar. 1999). Angiotenzin II stimuliše sintezu prostaglandina u placentalnom tkivu preko efekta specifične fosfolipaze (Glance i sar. 1985). Stoga, angiotenzin II zajedno sa prostaglandinima može da igra značajnu ulogu u odvajanju posteljice, uključujući i stimulisanje kontrakcija miometrijuma za vreme porođaja (Nielsen i sar. 2000).

2.11.4. Definicija zaostale posteljice

Glavni razlog zaostajanja fetalnih membrana je poremećeno odlupljivanje posteljice od uterušnih karunkula, mada sekundarno, i mehaničkom nemogućnošću u izbacivanju veš odvojene fetalne membrane (npr. atonija uterusa). Procenat zaostale posteljice je veći ili manji u zavisnosti od definicije koja određuje vreme izbacivanja sekundina (12 ili 24 sata). Teoretski, sve krave koje se otekle imaju zadržanu posteljicu: više od ¾ krava izbace posteljicu za 6 sati, a samo manji broj krava za 12 sati nakon porođaja (Eiler i Fecteau, 2007). Po Buschu (1993), 80% krava izbaci posteljicu u roku od 6 h *post partum*.

Tabela 4. Vreme izbacivanja posteljice nakon poro aja (Van Werven i sar. 1992)

asova <i>post partum</i>	Krave koje izbace posteljicu (%)
3	16,0
6	77,3
9	88,7
12	94,6
15	96,2
18	97,8
21	98,5
24	100,0

Ukoliko se posteljica ne izbaci do 12 asova po poro aju mogu da nastanu štetni efekti na reproduktivne pokazatelje, proizvodnju mleka, poreme en tok puerperijuma, obolenje vimena i ekstremiteta, i posledni no tome loši rezultati osemenjavanja i koncepcije i izlu enje iz zapata se pove avaju (Van Werven i sar. 1992).

Istraživanja su pokazala da kod krava sa zaostalom posteljicom dolazi do promena u sastavu adhezivnih proteina koji se nalaze izme u epitela karunkula i kotiledona koji imaju ulogu u uspostavljanju uzajamne vrste veze. Proteoglikani su zna ajni intercelularni adhezivni proteini koji su prisutni u fetomaternalnoj vezi: aktivnost enzima -N-acetil-glukozaminidaze (koja je važna za metabolizam proteoglikana) je smanjena kod krava sa zaostalom posteljicom (Kankofer i sar. 2000).

Aktivnost matriks metaloproteinaze 9 (MMP-9) krava sa zaostalom posteljicom je manja nego kod krava bez zaostale posteljice (Walter i Boos, 2001). Pored ovih promena, aktivacija imunskog odgovora majke na antigene posteljice može imati zna ajnu ulogu u odvajanju placentе. Smanjena fagocitna aktivnost neutrofila, smanjena migracija i proizvodnja superoksidnih anjona su inioci koji se dovode u vezu sa zaostalom posteljicom (Heuwieser i Grunert, 1987). Kod krava sa zaostalom posteljicom smanjena je koli ina IL-8, (hemoatraktanta za neutrofile u kotiledonu) i drugih citokina. Smatra se da majka prepoznaje fetalni MHC antigen i da to inicira odvajanje posteljice (Noakes i sar. 2009).

Hormonalna neravnoteža koja je prisutna pre poro aja tako e je odgovorna za zaostajanje posteljice. Progesteron ima ulogu u inhibiciji kontrakcija materice kao i

inhibiciji kolagenaza materice i usporenja involucije materice. Deksametazon poveća sintezu i iskorišćenje progesterona u kotiledonima krava. Sa druge strane, estrogen dovodi do povećanja broja receptora za oksitocin na miometriju kao i do povećanja sekrecije prostaglandina F_2 . Koncentracija estrogena je povećana kod krava sa zaostalom posteljicom (Agthe i Kolm, 1975). Visok nivo androgena na dan teljenja tipičan je znak prisustva nezrelih placentoma. Pad koncentracije 17β -estradiola u plazmi i povećanje nivoa 17β -estradiola u krvnom serumu od 6-og do poslednjeg dana pred teljenje znak su hormonalnog poremećaja koji dovodi do nastanka zaostale posteljice (Möstl i sar. 1982). Prostaglandini dovode do lize žutog tela i pojačanih kontrakcija materice. Lizom žutog tela dolazi do pada koncentracije progesterona i povećanja sekrecije relaksina, što povećava aktivnost kolagenaza. Relaksin dovodi do opuštanja grlića materice i struktura karli ne duplje, čime se olakšava normalni porođaj. Procesi u sintezi i metabolizmu prostaglandina E i F su takođe povezani sa procesom odvajanja posteljice. Koncentracija PGFM (13,14-dihidro,15-keto PGF_2), metabolita PGF_2 , je veća, a koncentracija PGE_2 manja, kod krava sa izbačenom posteljicom nego kod krava sa zaostalom posteljicom (Wischnal i sar. 2001). Placentomi krava sa zaostalom posteljicom sintetizuju manje PGF_2 , a više PGE_2 za razliku od krava bez zaostale posteljice. Deficit sinteze PGF je verovatno posledica smanjene sinteze estrogena što ima za posledicu smanjenje akumulacije prekursora prostaglandina (arahidonske i linolenske kiseline) u tkivu placenti (Wischnal i sar. 2001).

U normalnom toku graviditeta, sazrevanje posteljice i njeno odvajanje od karunkula zavisi od inkompatibilnosti izmeđ u molekula MHC klase I majke i fetusa, a koji se nalaze na epitelu fetomaternalne površine. Sazrevanje posteljice praćeno je stimulacijom imunskog odgovora majke i proizvodnjom faktora aktivacije neutrofila u epitelu karunkula. Ovo utiče na komponente ekstracelularnog matriksa u placentomima što dovodi do razgradnje kolagena u horionskim resicama i odvajanja od karunkula (McNaughton i Murray, 2009). Faktori koji utiču na normalno sazrevanje posteljice uključuju antioksidativni odbrambeni mehanizam protiv reaktivnih vrsta kiseonika, snižen odnos PGE_2 u odnosu na PGF_2 u fetomaternalnom spoju placentoma i povećanje broja receptora za steroidne hormone, što dovodi do smanjenja stepena apoptoze u horionskom epitelu pre porođaja (McNaughton i Murray, 2009).

U estalost. Smatra se da procenat zaostale posteljice ne bi trebalo da pre e 15 % (Eiler i Fecteau, 2007).

Ekonomske posledice zaostale posteljice. a) smanjena proizvodnja mleka (40%) u proseku za 1,4 kg/dan; b) pove anje broja veterinarskih intervencija (32%); c) pove anje izlu enja iz zapata (19%); d) pove anje me utelidbenog intervala (9%) (Grohn i Rajala-Schultz, 2000).

2.11.5 Etiologija

Odvajanje posteljice je po etak normalne involucije materice nakon poro aja. Involucija materice je povezana sa razlaganjem kolagena i ostalih proteina.

Odsustvo proteolize kolagena (kolagenoliza) onemogu ava pravilno odvajanje posteljice. Deficit u sintezi i/ili degradaciji kolagena tipa III u fetalnim kotiledonima može biti uzrok zaostale posteljice (Sharpe i sar. 1990). Poreme ena sinteza ili degradacija kolagenskih polimera uti e na formiranje i stabilnost kolagenske mreže u placentomima, dovode i do mehani kih prepreka i spre avanja normalnog izbacivanja placentarne membrane.

Mnogobrojni inoci zaostale posteljice su starost, nasledni faktori, menadžment, godišnje doba, dužina graviditeta (skra en ili produžen), težak poro aj, carski rez, fetotomija, infektivni agensi, imunski status majke, hormoni i ishrana (Joosten i sar. 1987).

Prevremeni poro aj nastao prirodnim putem ili indukovan (< 271 dan) je est uzrok zaostale posteljice. Skra eni graviditet je esto povezan sa bližnjenjem gde u 30-50% dolazi do retencije secundinarum (Yeon-Kyung Han i sar. 2005). Bližnjenje pove ava u estalost zaostale posteljice 3-5 puta (Erb i sar. 1958). Isto tako, bližnjenje koje nastaje nakon embriotransfera dovodi do ve eg procenta zaostale posteljice (Echternkamp i Gregory, 1999). Kombinacija skra ene dužine gestacije (270 dana) i male težine pri ro enju (37 kg) su povezani sa pove anim rizikom za zaostalom posteljicom (Joosten i sar. 1987).

Toplotni stres skra uje period gestacije i pove ava rizik za nastanak retencije plodovih omota a i postpartalnog metritisa (Du Bois i Williams, 1980).

Infektivni agensi koji dovode do placentitisa tako e su uzrok zaostale posteljice. Abortus nastaje kao posledica infekcije sa *Brucella abortus*, *Salmonella dublin*, *Campylobacter fetus*, *Leptospira spp*, BVD virus, IBR, plesni kao što su *Aspergillus* ili *Mucor spp.*, bakterija kao što su *Actinomyces pyogenes*, *Pseudomonas spp*, *Escherichia*

coli, Streptokoke grupe C, *Staphylococcus spp.* (Parkinson, 2009; Anderson, 2007; Dohmen i sar, 2000).

Razlog je i mehani ka prepreka za odvajanje fetomaternalne veze i uzrok zaostale posteljice i velika masa placentoma bez prisutnog placentitisa. A to može biti edem horionskih resica (naro ito kod krava nakon carskog reza ili torzije materice koja je duže trajala), nezreli placentomi (kod neinfektivnih abortusa ili prevremenog poro aja tj. u slu ajevima skra enog perioda gestacije), hiperemija placentoma (prepartalna ili neposredno nakon poro aja usled brze obliteracije umbilikalnih krvnih sudova), produžena involucija placentoma i prepartalna nekroza placentarnih resica (Grunert, 1984).

Atonija materice, nastala kao posledica slabih kontrakcija u poro aju predstavlja uzrok zaostale posteljice u 1-2 % (Grunert, 1984). U ovom slu aju posteljica je ve odlupljena, ali ne može biti izba ena zbog izostanka kontrakcija materice. Atonija materice može nastati kao posledica preteranog širenja miometrijuma (na primer kod hidropsa plodovih omota a), iako u ovom slu aju uzrok zaostale posteljice može biti poreme aj posteljice i/ili fetusa. Hipokalcemija se tako e pominje kao uzrok atonije (Gröhn i Rajala-Schultz, 2000).

Nagli pad koncentracije progesterona i pove anje koncentracije estrogena tokom poslednje nedelje gestacije odgovoran je za pove anje broja receptora za oksitocin u miometrijumu. Dokazana je pozitivna korelacija izme u ja ine uterusnih kontrakcija i broja oksitocinskih receptora (Fuchs i sar. 1996). Kod krava sa zaostalom posteljicom koncentracija receptora za oksitocin u placentarnom tkivu majke, neposredno nakon poro aja i 6 sati kasnije zna ajno je niža u odnosu na krave bez zaostale posteljice (Takagi i sar. 2002). Stoga, autori zaklju uju da ja e kontrakcije materice mogu biti jedna od glavnih razlika izme u krava koje su izbacile posteljicu do 12 sati nakon poro aja i onih koje to nisu.

Deficit mikroelemenata i vitamina (selen, vitamin E i A) mogu biti uzrok pove anoj u estalosti zaostale posteljice (Wilde, 2006). Postoji dosta radova koji se odnose na deficit selena i/ili vitamina E u etiologiji zaostale posteljice. Utvr eno je da je koncentracija selena u serumu pove ana do 30 dana nakon dodavanja u hrani, a posle sedam dana po parenteralnom davanju (Stowe i sar. 1988). Dodavanje selena sa ili bez vitamina E, 30 dana pre poro aja, redukuje pojavu zaostale posteljice i skra uje vreme izbacivanja sekundina (Julien i sar. 1976; Harrison i sar. 1984). Davanje selena na 2-3 nedelje pre poro aja parenteralnim putem smanjilo je u estalost zadržane posteljice za

više od 50 %. Ovaj efekat selena je vidljiv bez obzira da li je istovremeno dat i vitamin E (Jaskowski, 1990). Postoje dokazi da deficit selena utiče na funkciju polimorfonuklearnih neutrofila (PMN). Odsustvo leukocita u vezi izme u posteljice majke i fetusa ima za posledicu nastanak zaostale posteljice u 100% (Putnam i Comben, 1987). U nekim sluajevima nije potvrđeno da dodavanje selena ima uticaja na smanjenje uestalosti zaostale posteljice (Gwazdauskas i sar. 1979), što se objašnjava time da je obrok korišten u ishrani ovih krava ve bio bogat selenom (Allison i sar. 2000). Inaba i sar. (1986) su utvrdili da je kod krava sa zaostalom posteljicom koncentracija β -karotina u krvnoj plazmi oko poroaja u zimskim mesecima bila niža od onih bez zaostale posteljice. Povećana koncentracija gvođa u serumu, koja dovodi do povećanog zasićenja kapaciteta za vezivanje gvođa (TIBC), povezuje se sa većinom u estaloš u zaostajanja posteljice (Campbell i Miller, 1998).

Nasledni inoci se tako e pominju u etiologiji zaostale posteljice (Grunert, 1986). Krave mesnatih rasa imaju manju u estalost u odnosu na krave koje se koriste za proizvodnju mleka. Starije krave su sa većim rizikom za retenciju. Teljenje u prole e je tako e povezano sa povećanim rizikom verovatno i zbog deficita vitamina A (Muller i Owens, 1974). U slobodnom sistemu držanja ima manje zaostale posteljice (Bendixen i sar. 1987). Životinje sa zaostalom posteljicom u prethodnom graviditetu (Eiler i sar. 2007), krave sa visokom proizvodnjom mleka, poremećenim metabolizmom ugljenih hidrata u peripartalnom periodu (sindrom debele krave, ketoza, dislokacija sirišta) imaju povećani rizik (Melendez i sar. 2003) za nastanak zaostale posteljice.

Peripartalni period je stresan period za krave posebno mlečnih rasa. Krave sa zaostalom posteljicom nakon normalnog poroaja ispoljavaju smanjenu hemotaksu pre poroaja i fagocitnu aktivnost leukocita (Gunnink, 1984). Aktivnost mijeloperoksidaze u kotiledonima i neutrofilima kao i hemotakti na aktivnost su smanjene 2 nedelje pre i 2 nedelje posle poroaja kod krava sa zaostalom posteljicom (Hoedemaker i sar. 1992). Kankofer i sar. (1996) su utvrdili nižu aktivnost superoksid dismutaze i glutation peroksidaze u fetalnim membranama krava sa zaostalom posteljicom. Isto tako, interleukin-8 (IL-8), značajan hemotaktični agens za neutrofile, je niži kod krava koje nisu izbacile posteljicu. Sposobnost sekrecije IL-8 imaju monociti, aktivirani neutrofil, endotelne i epitelne ćelije. Interleukin-8 povećava sekreciju kolagenaza što ubrzava odvajanje fetalnih kotiledona placente od majinih karunkula. Antioksidativni enzimski kapacitet posteljice tokom graviditeta se tako e pominje u etiologiji zaostale posteljice. Smanjena koncentracija placentarne superoksid dismutaze kao i estrogena u krvnoj plazmi

Tabela 5. Faktori rizika u etiologiji zaostale posteljice (Eiler i Fecteau, 2007).

inioci	Zadržana posteljica (%)	Relativni rizik	inioci	Zadržana posteljica (%)	Relativni rizik
Ginekološki			Indukovani poro aj		
Abortus	62	10,3	Prostaglandin F ₂	80	12,1
Više plodova	37	8,3	Deksametazon + PGF ₂	79	12,1
Dve prethodne zaostale posteljice	25	6,0	Deksametazon	67	10,1
Carski rez	62	6,0	Deksametazon + estrogeni	67	10,1
Mrtvi plodovi	19	4,4	Deksametazon + relaksin	15	2,2
Fetotomija	26	4,1	Nutritivni		
Starije krave	10	3,3	Deficit selen a / vitamina E	23	2,4
Prethodna retencija	12	3,0	Ishrana senom / silažom kukuruza	28	1,8
Otežani poro aj	13	2,1	Gvož e u višku	16	1,5
Fiziološki			Infektivni		
Kratka gestacija + mala masa	12	3,0	Krave pozitivne na brucelozu	28	3,0
Teljenja u letnjim mesecima	11	1,6			
Pol ploda (muški)	-	1,05			
Hormonalna neravnoteža					
Prepartalna ovariektomija	100	15,1			
Prepartalna ablacija ž. tela	100	15,1			
Abnormalno (niska/visoka) prepartalna koncentracija:					
Progesterona	90	13,6			
Estrogena	34	5,1			

u antepartalnom periodu dokazana je kod krava sa zaostalom posteljicom (Wischrall i sar. 2001). Aktivnost neutrofila, makrofaga i migraciona sposobnost enzima mijeloperoksidaze i funkcija polimorfonukleara (PMN) u ovom periodu krava sa zaostalom posteljicom je smanjena (Miyoshi i sar. 2002; Kimura i sar. 2002).

Trauma materice nakon teškog teljenja može da bude razlog pojačanog oslobađanja heparina iz mastocita na mestu povrede. Heparin inhibiše kolagenaze što dovodi do usporene involucije materice i sprečava njezinu izbacivanja posteljice (Eiler i sar. 2007). Usled traume materice može doći i do njene atonije što ima za posledicu sekundarnu zaostalu posteljicu. Nakon carskog reza, tretman krava nesteroidnim antiinflamatornim analgeticima (NSAIL) povećava uestalost zaostale posteljice zato što su NSAIL inhibitori ciklo-oksigenaze, pa se smatra da zbog sprečene sinteze prostaglandina dolazi do retencije.

Kod krava sa zaostalom posteljicom koncentracija progesterona u krvnoj plazmi je viša ($3,4 \pm 0,3$ ng/ml), a 17- estradiola niža (225 ± 22 pg/ml) u pore enju sa kravama kod kojih nije bilo zaostale posteljice ($2,3 \pm 0,1$ ng/ml za progesteron i 288 ± 20 pg/ml za 17- estradiol) (Chew i sar. 1977; Kankofer i sar. 1996).

2.11.6. Efekti zaostale posteljice

Zaostala posteljica predstavlja veliki problem u ginekologiji i akušerstvu krava jer esto dovodi do neplodnosti i izlu enja jedinki iz zapata (Gröhn i sar. 1998). Efekti zaostale posteljice u velikoj meri zavise od stepena infekcije materice. Neki put slu ajevi zaostale posteljice prolaze bez zna ajnih posledica po zdravlje i fertilitet krava. U težim slu ajevima dolazi do narušavanja zdravstvenog stanja plotkinja sa mogu im letalnim završetkom. Smrtnost se javlja u 1-4% slu ajeva (Roberts, 1986), a naj eš e nastaje kao posledica metritisa i toksemije. Zaostala posteljica je najvažniji inilac za nastanak oboljenja materice u puerperijumu (Potter i sar. 2010). Le Blanc i sar. (2008) smatraju da se smanjenjem u estalosti zaostale posteljice smanjuje mogu nost nastanka infekcija materice. Kolostrum krava koje su imale zaostalu posteljicu je slabijeg kvaliteta što pove ava rizik od nedovoljnog pasivnog transfera kolostralnih antitela, što za posledicu ima i nastanak respiratornih i digestivnih oboljevanja teladi (Lona i Romero, 2001). Posledice zaostale posteljice na fertilitet se odnose na produženje intervala od teljenja do prvog uo enog estrusa, produženje intervala od teljenja do prvog osemenjavanja, smanjen stepen koncepcije od prvog osemenjavanja i ve eg procenta izlu enja iz zapata zbog jalovosti (Potter i sar. 2010). Krave sa zaostalom posteljicom imaju 16,4 puta ve u šansu da obole od ketoze u odnosu na krave sa normalno izba enom posteljicom (Curtis i sar. 1985).

2.12. Indukcija poro aja prostaglandinima i indikacije

Poro aj krava po inje nizom endokrinih promena koje nastaju nekoliko nedelja pre termina: padom koncentracije progesterona, hormona koji je odgovoran za održavanje graviditeta (Janszen i sar. 1990).

Prostaglandini imaju važnu ulogu u poro aju ne uti u i samo na lutealnu regresiju, ve ispoljavaju i svoje dejstvo i na proces odvajanja posteljice (Fairclough i sar. 1984). Naro ita uloga se pripisuje PGF_2 (Kornmatitsuk i sar. 2000).

Prostaglandini grupe F_2 zna ajni za reproduktivnu funkciju životinja našli su primenu od 1967. godine kada im je razjašnjena hemijska struktura.

Prostaglandini se sintetiziraju iz arahidonske kiseline nizom enzimskih reakcija, odnosno oslobađanjem arahidonske kiseline iz membranski vezanih glicerofosfatida u endometriju. Za ovaj mehanizam je odgovorna kalcijum zavisna elijska fosfolipaza A₂ (cPLA₂) (Zhang i sar. 1996). U drugom koraku dolazi do sinteze intermedijarnih prostaglandina, PGG₂ i PGH₂ preko dva izoenzima, ciklooksigenaze-1 ili-2 (COX-1 ili -2) (Malkowski i sar. 2000). Intermedijarni prostaglandini se zatim metabolišu u PGF₂, PGE₂ i PGI₂.

Ciklooksigenaza-1 (COX-1) se nalazi u različitim tkivima. U materici je prisutna u stabilnoj koncentraciji i ne varira u zavisnosti od stadijuma estralnog ciklusa i graviditeta. Sa druge strane COX-2 je inducibilni, kratko živi i enzim i nalazi se prisutan u određenim stanjima (Vane i Botting, 1996). Njegova koncentracija u tkivu materice je na bazalnom nivou izuzev tokom luteolize i porođaja (Johnson i sar. 1995). Pred kraj graviditeta i za vreme porođaja, koncentracija COX-2 se povećava u epitelu fetalnih kotiledona, epitelu majinih karunkula i u cerviksu. Za vreme porođaja povećani nivo COX-2 se nalazi i u miometriju (Fuchs i sar. 1999; Ivell i sar. 2000). Kao posledica toga, dolazi do naglog povećanja koncentracije prostaglandina dan pre porođaja, dok se najviše vrednosti postižu u vreme istiskivanja fetusa (Königsson i sar. 2001).

Sinteza prostaglandina u materici (endometriju) je tesno povezana sa prisustvom receptora za oksitocin i njegovim delovanjem (Ivell i sar. 2000; Fuchs i sar. 1996). Oksitocin indukuje sintezu COX-2 i oslobađanje intraeliskog kalcijuma koji su značajni za aktivaciju cPLA₂ i sintezu prostaglandina (Burns i sar. 1997).

Prostaglandini imaju kratak poluživot u krvnoj plazmi. Njihovo delovanje na jajnike i matericu je parakrino, jer im hemijska struktura ne omogućava intracelularno deponovanje (Samuelsson i sar. 1975).

Prostaglandini (prirodni i sintetski) se najčešće koriste za lečenje reproduktivnih oboljenja, manipulaciju estralnim ciklusom i indukciju porođaja krava. Za indukciju porođaja postoje medicinski i ekonomski razlozi: da se predupredi težak porođaj, kod primene neodgovarajućeg semena za osemenjavanje krava i junica, osemenjavanja jako mladih junica, neplanirana steonost, kod produženog graviditeta, hidropsa plodovih ovojnica, mumifikacije, maceracije ploda ili kod oboljenja krava u graviditetu. Isto tako, prostaglandini se koriste i u terapiji purulentnih endometritisa, piometre, kao i za indukciju i sinhronizaciju estrusa (Brand i sar. 1975). Indukcijom porođaja omogućava se nadgledanje vremenski dirigovanog porođaja u cilju detekcije i korekcije otežanog porođaja a samim tim i redukcije perinatalnog uginuća teladi (Bellows i sar. 1994).

Mehanizam delovanja prostaglandina F_2 ogleda se u regresiji žutog tela na jajniku krava (luteoliti ko dejstvo) i uklanjanje progesteronske blokade, sekreciji oksitocina, relaksina i lutealnog prostaglandina (Whittle i sar. 2000).

Kod krava, luteoliti ka doza PGF_2 u kasnom graviditetu dovodi do poro aja, u proseku za 48h (Kask i sar. 1999).

Kod krava kod kojih je poro aj indukovao 1-2 nedelje pre o ekivanog datuma teljenja dolazi do zaostajanja posteljice u više od 75%, a kod krava na nekoliko dana pre termina, procenat zaostale posteljice je 10-50% (Bo i sar. 1992).

Krave sa zaostalom posteljicom sintetišu znatno manje PGF_2 u ranom postpartalnom periodu verovatno zbog promena u metabolizmu prostaglandinskih endoperoksida za sintezu ve ih koli ina PGI_2 i verovatno PGE_2 u odnosu na sintezu PGF_2 . Isto tako, kod krava sa normalno izba enom posteljicom, aktivnost prostaciklin sintetaze se održava na bazalnom nivou u odnosu na krave kod kojih posteljica nije izba ena u fiziološkom roku (Horta i sar. 1986).

2.13. Peripartalni period kod mle nih krava

U peripartalnom periodu koji obuhvata 3 nedelje pre i 3 nedelje posle poro aja nastaju mnogobrojne metaboli ke i endokrine promene od kojih zavisi zdravstveno stanje, proizvodni i reproduktivni rezultati (Drackley, 1999). U ovom periodu pove ane su potrebe krava u energiji, proteinima i suvoj materiji. Promene u metabolizmu ugljenih hidrata i masti krava u antepartalnom periodu uklju uju: pove anje stepena glukoneogeneze u jetri i smanjenje potrošnje glukoze u perifernim tkivima, smanjeno iskoriš avanje acetata i umereni porast mobilizacije masnih kiselina iz masnog tkiva (Bell, 1995). Potrebe za hranljivim materijama steonih krava na kraju graviditeta su za 75% ve e od nesteonih. Pove ane potrebe su neophodne za rast i razvoj fetusa, gravidnog uterusa i mle ne žlezde (Bauman i Currie, 1980). Ove promene su posledica adaptacije organizma na pove ane potrebe fetusa u smislu obezbe enja dovoljne koli ine energije i prekurzora za rast kao i potreba u proizvodnji mleka iskoriš avanjem slobodnih masnih kiselina i ketonskih tela kao izvora energije (Overton i Drackley, 1998). U ovom periodu dolazi i do pove anja stepena mobilizacije proteina, dok se njihova sinteza smanjuje u miši ima i ostalim telesnim tkivima radi stvaranja supstrata za glukoneogenezu. Tako e, pove ava se resorpcija minerala u digestivnom traktu i u kostima (Ingvartsen i Andersen, 2000).

Unos suve materije u ovom periodu se smanjuje. Ovo smanjenje kao i promene u endokrinom profilu imaju za posledicu pove anje koncentracije neesterifikovanih masnih kiselina što je povezano sa nastankom metaboli kih oboljenja (masna jetra i ketoza)

vezanih za njihov metabolizam (Grummer, 1993). Ključno područje ovog perioda je metabolizam lipida. Povećani metabolizam lipida iz masnog tkiva je odgovoran za povećanu učestalost peripartalnih bolesti (Drackley, 1999). Još 50-ih godina prošlog veka opisana je masna jetra kod krava sa ketozom. Povećano akumuliranje masti je tada uočeno i kod normalnih krava u ranom periodu laktacije. Ta pojava je opisana kao "sindrom mobilizacije masti" u ranoj laktaciji, pri čemu krave mobilizuju lipide iz masnog tkiva i deponuju ih u jetri, mišićima i ostalim tkivima. Ekstremni stepen mobilizacije masti vodi ka povećanoj proizvodnji neesterifikovanih masnih kiselina u jetri i povećanoj akumulaciji triglicerida (Grummer, 1993).

U kasnom graviditetu i ranoj laktaciji dolazi do znatnog povećanja potreba za energijom. Sa obrokom bogatim metaboliziranjem energijom gravidne junice imaju relativno visoku koncentraciju glukoze u plazmi i relativno nisku koncentraciju neesterifikovanih masnih kiselina (Collier i sar. 1984). Posle porođaja, koncentracija neesterifikovanih masnih kiselina je visoka, dok je koncentracija glukoze snižena.

Koncentracija neesterifikovanih masnih kiselina počinje da raste 2-3 nedelje pre porođaja, dostiže vrhunac na porođaju ili tokom prve nedelje laktacije. Glukoza se povećava tokom poslednje nedelje pre teljenja i naglo opada posle porođaja dostižući minimum 1-3 nedelje u laktaciji (Overton i Drackley, 1999).

2.14. Energetski bilans

Energetski bilans je daleko najvažniji nutritivni indikator koji utiče na zdravlje životinja, laktaciju i reproduktivne sposobnosti. Promene energetskog bilansa se mogu pratiti promenom telesne težine i ocenom telesne kondicije krava. Iako ova metoda nije dovoljno senzitivna ona i dalje ostaje važan pokazatelj promena telesne kondicije krava (Van Saun, 2004b).

Oko 80% mlečnih krava ima negativni energetski bilans tokom rane laktacije. On dostiže najniži nivo tokom prve i druge nedelje laktacije, a traje različit dugo (Villa-Godoy i sar. 1990).

Neesterifikovane masne kiseline su osetljivi indikator energetskog bilansa. One se koriste u proceni energetskog statusa krava u periodu zasušenja u poslednjem mesecu graviditeta kada nagle promene u energetskom bilansu ne mogu da se uočavaju na osnovu promena telesne kondicije (BCS-body condition scores). One nastaju razlaganjem lipidnih rezervi masnog tkiva, a metabolizuju se u jetri i ostalim tkivima. Stoga, koncentracija neesterifikovanih masnih kiselina direktno odražava stepen mobilizacije masti iz masnog

tkiva (Holtenius i Hjort, 1990). Visoke vrednosti neesterifikovanih masnih kiselina ukazuju na negativni bilans energije (Herdt, 2000).

-hidroksi buterna kiselina (BHBA). Na koncentraciju -hidroksi buterne kiseline u serumu utiče bilans energije i glukoze, ali je ona manje specifičan indikator nego koncentracija neesterifikovanih masnih kiselina jer povećane koncentracije može da uzrokuje slabo fermentisana silaža, a ne poremećaj metabolizma (Geishauser i sar. 2001). Visoke vrednosti BHBA su povezane sa smanjenom proizvodnjom mleka, povećanom učestalošću kliničke ketoze i dislokacije abomasuma na levo, kao i smanjenom koncepcijom (Herdt i sar. 2001). Zlatni standard test za subkliničku ketozu je određivanje koncentracije -hidroksi buterne kiseline koja je bolji indikator nego aceton ili acetoacetat (Oetzel, 2004). Krave sa koncentracijom -hidroksi buterne kiseline preko 1,0 ili 1,4 mM imaju 3,2 i 4,3 puta veću mogućnost za nastanak postpartalnih oboljenja (Van Saun, 2004 a,b).

Glutamat dehidrogenaza (GLDH) je enzim mitohondrija hepatocita koji katalizuje konverziju glutamata do -ketoglutarata (2-oksoglutarata). Povećane vrednosti GLDH ukazuju na oštećenje hepatocita (Braun i sar. 1986). Pošto je on prilično veliki mitohondrijalni enzim, oštećenje treba da bude znatno kako bi došlo do oslobađanja GLDH. GLDH je enzim koji se koristi pri proceni laboratorijskih parametara kod hepatocelularnih promena iz razloga što je on stabilniji enzim kod oštećenja u odnosu na sorbitol-dehidrogenazu (SDH). GLDH se nalazi u brojnim tkivima uključujući i hepatocite, bubrege, creva, mišiće i pljuvačnu žlezdu. Međutim, najveći deo ovog enzima u serumu potiče iz hepatocita. U njima se nalazi u centrolobularnom području, dok je AST više homogeno distribuiran i ALT više periportalno. Poluživot ovog enzima kod krava iznosi 14 dana.

2.15. Hormonska regulacija adaptacije metabolizma krava u peripartalnom periodu

Pored nervnog i imunskog sistema, ulogu u regulisanju adaptacije metabolizma tokom peripartalnog perioda ima endokrini sistem. U peripartalnom periodu dolazi do značajnih promena u hormonskom sistemu što ima za cilj da se plotkinje pripreme za nastupajuću laktaciju, porođaj i nastavak reproduktivne funkcije (Bauman i Currie, 1980).

2.15.1. Estradiol

Sinteza estrogena u placenti počinje odmah nakon otpočinjanja placentacije što pokazuju i merenja estrogena u fetalnim tkivima (Eley i sar. 1979). Mesto stvaranja

estrogena su elije trofoblasta u kotiledonima fetusa (Hoffmann i sar. 1979; Hoedemaker i sar. 1990).

Fetoplacentarna veza stvara estron (E1) nakon ega dolazi do njegovog sulfonovanja i porasta koncentracije tokom graviditeta, istovremeno sa fetoplacentarnim rastom i razvojem. Estron i estradiol koji se stvaraju u fetoplacentarnoj vezi se vrlo brzo konjuguju u placentomima kako bi se spre io jak uticaj estrogena na tkivo majke i fetusa (Hoffmann i sar. 1997). Konjugovani estrogeni (estron sulfat) se nakupljaju u horioalantoisnoj i amnionskoj te nosti kao i u cirkulaciji majke. Odnos estrona prema estradiolu-17 i estradiolu-17 prose no iznosi 12,35 : 1 : 0,35 u krvnoj plazmi (Hofman, 1977). Od 60-og dana graviditeta dolazi do postepenog povišenja koncentracije konjugovanog i slobodnog (nekonjugovanog) estrogena (1-10% konjugovane forme). U poslednja 2 meseca graviditeta, placenta održava graviditet de novo sintezom progesterona i estrogena (Garverick i Smith, 1993). Koncentracija estradiola-17 u krvnoj plazmi krava se progresivno pove ava u kasnom graviditetu i svoj maksimum dostiže druge do prve nedelje pred poro aj (Forbes, 1986). Koncentracija estradiola-17 tokom rane i u prvoj polovini gestacije je niža od 0,1 ng/ml. Sa odmicanjem graviditeta, naro ito posle 250-og dana, njegova koncentracija se pove ava dostižu i 5-2 dana pred poro aj vrednosti od 7 ng/ml za estron sulfat i 1,2 ng/ml za estron (Thatcher i sar. 1980). Zatim sledi njegov nagli pad oko 8 sati antepartum a najniže vrednosti ima neposredno nakon poro aja (Hoffmann i sar. 1997). Smatra se da estrogeni imaju ulogu u sazrevanju i izbacivanju posteljice. Krave sa normalno izba enom posteljicom imaju zna ajno ve e koncentracije estrogena od 6-1 dan pre poro aja u pore enju sa kravama sa produženim vremenom izbacivanja, delimi no izba enom posteljicom ili krava sa potpuno zaostalom posteljicom (Grunert i sar. 1989).

2.15.2. Progesteron

Nakon oplo enja, koncentracija progesterona izmerena u krvi i mleku krava raste. U prvih 14 dana gestacije njegova koncentracije je sli na onoj u diestrusu. Umesto da njegova koncentracija opadne oko 17-og ili 18-og dana, ona ostaje pove ana tokom itavog graviditeta. Progesteron stimuliše žlezdani epitel endometrijuma na proliferaciju i sekretornu aktivnost (histiotrofa ili "uterusno mleko"), obezbe uju i jedini hranljivi izvor za rast embriona pre placentacije. Pored toga, progesteron smanjuje tonus i kontrakcije miometrijuma pove anjem praga osetljivosti materice na razli ite stimuluse, omogu avaju i na taj na in nesmetano širenje materice na ra un rasta ploda i posteljice.

Progesteron, tako e, inhibiše aktivnost NK elija u materici i indukuje pretvaranje Th0 elija u Th2 elije, kao i sekreciju citokina kao što su IL-6 i IL-4 u trofoblastima (Ishikawa i sar. 2004). Pored žutog tela, manja koli ina progesterona se sintetiše u elijama trofoblasta u placentomima, a pretpostavlja se da je ta koli ina koja se stvori na fetomaternalnoj vezi zna ajna za zaštitu ploda od imunskog sistema majke (Hansen, 2007).

U prva tri meseca graviditeta njegova koncentracija je 11,6 ng/ml (Schallenberger i sar. 1985). U etvrtom i petom mesecu dolazi do blagog pada na vrednosti oko 9 ng/ml, da bih 72-24 h pre poro aja usledio nagli pad na vrednosti ispod 1 ng/ml (Henricks i sar. 1971; Hoffmann i sar. 1977; Schallenberger i sar. 1985).

Glavni izvor progesterona za održanje graviditeta kod krava je žuto telo, dok posteljica stvara znatno manju koli inu (Chew i sar. 1979). Posteljica sintetiše zna ajnu koli inu progesterona u kratkom periodu gestacije (od 150-og do 265-og dana) kada može da substituiše lutealni progesteron nakon indukovane luteolize (Estergreen i sar. 1967; Johnson i sar. 1981).

Savada i sar. (1988) su utvrdili postepeni pad koncentracije progesterona od 6,7 ng/ml od 6. nedelje ante partum na 3,7 ng/ml 2 dana pred poro aj. Zatim sledi nagli pad na 2,5 ng/ml na dan poro aja i na 0,7 ng/ml tokom poro aja.

Koncentracija progesterona u krvnoj plazmi se postepeno pove ava do oko 250-og dana gestacije na najve e vrednosti od 7-8 ng/ml. Od 240-og dana do pred sam poro aj koncentracija progesterona u plazmi opada na oko 3-4 ng/ml. Na dan poro aja, njegova koncentracija se meri u tragovima (Hafez, 1975).

2.15.3. Glukokortikosteroidi

Glukokortikosteroidi igraju važnu ulogu u mnogim fiziološkim procesima uklju uju i stres, metabolizam i imunitet (Lefcourt, 1993).

Kod krava kortizol je glavni glukokortikosteroid koji se sintetiše u kori nadbubrega. Nivo kortizola za vreme graviditeta je relativno nizak sve do pred sam poro aj kada nastaje porast njegove koncentracije u krvi. Pove anje njegove koncentracije po inje u drugom trimestru graviditeta preko efekta kortikotropin rilizing hormona hipotalamo-hipofizno-adrenalne osovine. Glukokortikosteroidi su uklju eni u razvoj organa fetusa i proces otpo injanja poro aja (Hoffman, 1994). Koncentracija kortizola u serumu krava po inje da raste oko 3 dana pre i dostiže maksimalne vrednosti na dan poro aja, nakon ega sledi oko 24 sati nakon poro aja nagli pad do minimalnih koncentracija (Preisler i sar. 2000). Ekspresija receptora za glukokortikosteroide na

neutrofilima, limfocitima i monocitima je nishodno regulisana kod krava u peripartalnom periodu (tre i trimestar gestacije) usled njihove pove ane koncentracije (Preisler i sar. 2000).

Koncentracija kortizola se pove ava za vreme poro aja kako kod krava sa normalnim tako i kod onih sa teškim poro ajem. Isto tako, koncentracija kortizola se menja sa fazama poro aja, bez obzira na njihovo trajanje i kod krava i kod koza. Kod junica i koza, koncentracija kortizola se pove ava sa po etkom poro aja (prva faza poro aja), nastavlja da raste za vreme istiskivanja ploda i dostiže najve e vrednosti prilikom ro enja teleta ili jari a (Hydbring i sar. 1999).

Kortizol i progesteron imaju antagonisti ki efekat na fetoplacentarnu vezu. Naime, kortizol pove ava proizvodnju prostaglandina u placentarnoj i fetalnoj membrani aktivacijom ciklooksigenaze-2 (amnion i horion) i inhibicijom 15-hidroksiprostaglandin dehidrogenaze (15-OH-PGDH) (horionski trofoblast), i na taj na in omogu avaju relaksaciju cerviksa i kontrakcije materice. Progesteron ima suprotan efekat (Challis i sar. 2002). Isto tako, kortizol ima kompetitivno dejstvo na inhibitorni uticaj progesterona u regulaciji placentarne ekspresije CRH gena (Karalis i sar. 1996). Stoga se smatra da preko brojnih autokrinih i parakrinih puteva kortizol ima dominantni uticaj na fetoplacentarnu vezu neposredno pre poro aja u odnosu na progesteron koji služi u održanju smanjenog tonusa materice i preveniranju kontrakcija miometrijuma (Snegovskih i sar. 2006).

2.15.4. Tireoidni hormoni

Tireoidni hormoni su zna ajni za reprodukciju, pre svega zbog njihovog uticaja na promet azotnih i energijom bogatih metabolita koji su neophodni za razvoj i pravilno funkcionisanje reproduktivnog sistema. Nizak nivo tiroksina odlaže po etak puberteta i sazrevanje reproduktivnog trakta, ometa normalni tok graviditeta i ima direktan uticaj na spermatogenezu kod odraslih jedinki (Hafez, 1975). Deficit joda se manifestuje preko efekata tironina. Tireoidni hormoni, naro ito trijodtironin koji je oko etiri puta aktivniji od tiroksina, imaju važnu ulogu u etiopatogenezi ketoze i masne infiltracije i degeneracije elija jetre. Pri njihovoj veoma niskoj koncentraciji u krvi, naro ito u periodu oko teljenja dolazi do pove anog koriš enja telesnih rezervi masti i njihovog preusmeravanja na visoku proizvodnju mleka (okovi i sar. 2005). Ukoliko ovakvo stanje duže traje, dolazi do narušavanja metaboli ke ravnoteže u organizmu i mobilizacije masti i deponovanja u parenhimatoznim organima, prvenstveno u jetri, ali i u popre no-prugastoj muskulaturi što dodatno pogoršava zdravlje životinja (Oldenbroek i sar. 1989).

Utvrđeno je da postoji pozitivna korelacija između koncentracije tireoidnih hormona u krvi i energetske bilansa, kao i negativna korelacija između koncentracija trijodtironina i tiroksina u krvi i proizvodnje mleka (Oldenbroek i sar. 1989). Značajno niže koncentracije hormona tireodeje u krvi krava u periodu oko teljenja su utvrđene u uslovima negativnog bilansa energije i pojačane lipomobilizacije iz telesnih depoa. Naravno je izražen pad trijodtironina neposredno pre i posle teljenja (Kunz i sar. 1985). Awadeh i sar. (1998b) su utvrdili da status selena kod krava utiče na sintezu tireoidnih hormona kod novorođene teladi.

Koncentracija tireoidnih hormona krava pre porođaja je relativno visoka. Nakon porođaja, nastaje značajan pad njihove koncentracije u krvnoj plazmi (Jovanović i sar. 1988). Dve do tri nedelje nakon porođaja, koncentracija tiroksina je niska što verovatno nije uslovljeno smanjenom sekrecijom tireostimulirajućeg hormona (TSH) iz hipofize (Kesler i sar. 1978). Aceves i sar. (1985) su pokazali da pod normalnim ambijentalnim uslovima (temperatura sredine 22°C, relativna vlažnost vazduha 40%) krave u periodu rane laktacije imaju značajno nižu koncentraciju tireoidnih hormona u krvnoj plazmi, dok je koncentracija reverznog T3 (rT3) veća nego kod krava u zasušenju ili u laktaciji.

2.16. Uticaj ishrane i hormona na peripartalnu imunosupresiju

U peripartalnom periodu dolazi do smanjenja imunskog kapaciteta (Kehrli i sar. 1999). Krave u ovom periodu su osetljivije na mastitis. Etiologija peripartalne imunosupresije je multifaktorijalna i povezana je sa fiziološkim promenama koje nastaju pre, za vreme porođaja i otpočinjanja laktacije (Mallard i sar. 1998).

Progesteron inhibiše mnoge funkcije leukocita jer je neophodno da se spreči odbacivanje fetusa kao "stranog tela". Iako je progesteron značajan za supresiju imunskog sistema tokom citave gestacije, smatra se da je malo verovatno da je on uzrok jake imunosupresije u peripartalnom periodu jer njegova koncentracija u tom periodu opada (Kehrli i sar. 1989a,b).

Trawick i sar. (1986) su pokazali da estrogeni stimulišu humoralni imunski odgovor, dok While i sar. (1977) smatraju da estrogeni imaju jak supresivni efekat na ćelijski posredovani imunitet.

Koncentracija kortizola u krvnom serumu i broj leukocita i neutrofila je značajno povećana na porođaju, dok su bazalne izmerene vrednosti 24 časa nakon porođaja. U tom periodu dolazi i do smanjene ekspresije adhezivnih molekula i smanjenog kapaciteta migracije neutrofila u cirkulaciji. Pošto je vitamin E antioksidans koji povećava

funkcionalnu efikasnost neutrofila, štite i ih od oksidativnog oštećenja, nakon intracelularne destrukcije ingestiranih bakterija, parenteralna aplikacija ovog vitamina se koristi u preveniranju peripartalnih oboljenja kao što su zaostala posteljica, endometritis i klinički mastitis (Harrison i sar. 1984).

Hronični deficit metabolite energije, proteina, minerala i vitamina je povezan sa povećanom prijemivošću za oboljenja zbog smanjenog imunskog odgovora. Porođaj i postpartalna laktacija predstavljaju veliki metabolički stres za krave uzrokujući i relativni akutni deficit nutritivnih inzulina koji su neophodni za funkciju imunskog sistema. Ovi deficiti traju od jedne do nekoliko nedelja. Negativni bilans energije i proteina na početku laktacije dovodi do smanjenja funkcije imunskog sistema (Goff i sar. 1997). Deficit energije u ovom periodu dovodi do nastanka ketoacidoze i nagomilavanja ketonskih tela u cirkulaciji što utiče na smanjenje aktivnosti limfocita i neutrofila (Franklin i sar. 1991; Hoeben i sar. 1997, 1999; Sartorelli i sar. 1999, 2000). Načisto postoji negativna korelacija između funkcije neutrofila i koncentracije β -hidroksi buterne kiseline i neesterifikovanih masnih kiselina u krvnoj plazmi krava (Hoeben i sar. 2000), kao i sa efikasnošću ćelija i humoralnog imuniteta i koncentracije β -hidroksi buterne kiseline i neesterifikovanih masnih kiselina (Lacetera i sar. 2004).

Szuster-Ciesielska i sar. (1995) su utvrdili da je kod krava sa pojačanom mobilizacijom masti smanjena sinteza i aktivnost interferona (IFN). Kod krava koje su pregojene i onih koje naglo gube u telesnoj kondiciji postoji veća mogućnost za nastanak disfunkcije imunskog sistema i razvoja infektivnih i metaboličkih oboljenja (Lacetera i sar. 2005).

U peripartalnom periodu koncentracija vitamina A (retinola), vitamina E (tokoferola) i cinka opada za 38%, 47% i 67% (Goff i sar. 1990). Najniže koncentracije su zabeležene jedan dan posle porođaja. To je razlog za davanje kravama vitamina A i E koji potenciraju imunsku aktivnost u peripartalnom periodu (Daniel i sar. 1991; Hogan i sar. 1992, 1993).

3. CILJEVI I ZADACI

Imaju i u vidu navedene literaturne podatke postavili smo sebi slede e ciljeve i zadatke:

1. Da se utvrdi da li prepartalno dodavanje selena i vitamina E kod krava sa indukovanim poro ajem preparatima prostaglandina F₂ mogu da smanje u estalost zaostale posteljice.
2. Da se utvrdi da li i u kom stepenu oksidativni stres izražen preko koncentracije MDA uti e na procenat zaostale posteljice kod krava.
3. Da li i kako dodati selen i vitamin E pre poro aja preko kortizola kao opšteg pokazatelja stresa uti u na izbacivanje posteljice kod krava sa indukovanim poro ajem.
4. Da se utvrdi koncentracija T4 i T3 hormona.
5. Da se utvrdi koncentracija kortizola kao opšteg pokazatelja stresa.
6. Da se utvrdi koncentracija progesterona i 17 -estradiola.
7. Da se utvrdi aktivnost glutamat dehidrogenaze i -hidroksi butirata kao metaboli kih pokazatelja.

Da bi se postigli napred definisani ciljevi definisani su slede i zadaci:

1. Da se utvrdi apsolutna i relativna u estalost zaostale posteljice kod tretiranih i netretiranih životinja.
2. Da se utvrdi koncentracija selena u punoj krvi krava 12h nakon poro aja.
3. Da se utvrdi aktivnost glutation peroksidaze (GPx) u punoj krvi krava 12 h nakon poro aja.
4. Da se odredi koncentracija malondialdehida (MDA) u krvnoj plazmi krava 12h pre, tokom i 12h nakon poro aja.
5. Da se utvrdi koncentracija tiroksina (T4), trijodtironina (T3) i indeks aktivacije tireoidnih hormona (T3/T4x100) u krvnoj plazmi krava 12h pre, tokom i 12h nakon poro aja.
6. Da se odredi koncentracija kortizola u krvnoj plazmi krava 12h pre, tokom i 12h nakon poro aja.

7. Da se odredi koncentracija 17 β -estradiola u krvnoj plazmi krava 12h pre, tokom i 12h nakon poro aja.
8. Da se odredi koncentracija progesterona u krvnoj plazmi krava 12h pre, tokom i 12h nakon poro aja.
9. Da se odredi aktivnost glutamat dehidrogenaze u krvnoj plazmi krava 12h nakon poro aja.
10. Da se odredi koncentracija β -hidroksi butirata u krvnoj plazmi krava 12h nakon poro aja.

4. MATERIJAL I METODE RADA

4.1. Eksperimentalne grupe i tretmani

U ogled je bilo uključeno trideset tri (33) krave Holštajn-Frizijske rase koje su metodom slučajnog izbora podeljene u tri grupe i dobijale natrijum selenit (NaSe) i tokoferol acetat (TAc) i to na sledeće načine:

- Kontrolna grupa (n=9) nije dobijala ništa, i služila je kao negativna kontrola;
- Grupa 1 (n=11) je dobila 10 mg Natrijum-selenita + 400 mg RRR- - tokoferilacetata;
- Grupa 2 (n=13) je dobila 20 Natrijum-selenita + 800 mg RRR- - tokoferilacetata.

Kravama je selen i vitamin E (tokoferol acetat) intramuskularno aplikovan između 250 i 255-og dana graviditeta, dok je porođaj indukovao intramuskularnom injekcijom PGF₂ (2 ml, 500 µg kloprostenola; Estrumate-Schering-Plough) neposredno pre 275-og dana graviditeta. Krv od krava za analizu je uzimana iz repne vene (*v. coccygea*) u vakutajnerima sa heparinom i to: 12 sati pre porođaja, u vreme porođaja i 12 sati nakon porođaja. Deo krvi je korišten za određivanje aktivnosti glutation peroksidaze (GPx1) i koncentracije selena, a deo za dobijanje plazme nakon centrifugovanja na 2000 × g, tokom 20 minuta. Ostatak plazme je zamrznut na -20°C da bi se naknadno odredila koncentracija MDA, T3, T4, kortizola, estradiola, progesterona, -hidroksibuterne kiseline (BHBA, D-3-hidroksibutirat) i aktivnost enzima glutamat dehidrogenaze (GLDH).

4.2. Obrok za porodilje 20 dana pre teljenja

- seno – 1,5 kg
- senaža – 1 kg
- slama – 1,5 kg
- silaža kukuruza 30-35% sm – 11 kg
- sirovi rezanac – 2,5 kg
- soja griz – 0,40 kg
- soja pogača – 0,40 kg
- koncentrat za krave 15% - 3 kg
- treber – 4 kg

Sve plotkinje su bile klinički zdrave, u srednjoj telesnoj kondiciji (BCS 3,0 - 3,75), multiparne, sa jednim oteľjenim teletom i bez zaostale posteljice u prethodnom porođaju.

4.3. Određivanje koncentracije selena u punoj krvi

Određivanje koncentracije selena u punoj krvi krava vršeno je hidridnom tehnikom na atomskom apsorpcionom spektrofotometru. Za pripremu uzoraka korišćena je metoda mikrotalasne digestije. Uzorci pune krvi (0,5g) su precizno mereni analitičkom vagom Denver Instrument, model-215D (Denver Instruments USA). Digestija uzoraka je vršena prelivanjem uzoraka sa 8mL 69% azotne kiseline (Sigma Aldrich, USA) i 2mL 30% vodonik peroksida (Fluka Analytical, USA) u Teflon mikrotalasnoj posudi. Mikrotalasna peć (Milestone, Germany, model *Touch control*) je bila podešena na sledeći način: zagrevanje od sobne temperature do 180°C u trajanju od 15 minuta i 20 minuta vreme hlađenja. Tretirani uzorci su prenošeni do volumetrijske boce i rastvarani sa 5M hlorovodoničnom kiselinom (Sigma-Aldrich, USA) do finalne zapremine od 25 mL. Određivanje koncentracije selena vršeno je pomoću SolAAr, Serije 4 spektrofotometra sa VP70 hidridnim modulom i EC 90 električnom pećom i za preciznu kontrolu temperature analitičkih kiviteta (Thermo Electron, UK). Merenje absorpcije na 196 nm vršeno je nakon formiranja hidridnog sistema sa 5% NaBH₄ (J.T.Baker, Norveška) i 0,6% NaOH (Merck, Nemačka). Stabilizacija svakog od uzoraka trajala je 40 i 60 sekundi, vreme titiranja je bilo 7 sekundi u tri ponavljanja. Peć je bila podešena na 900°C.

Kvantitativno određivanje selena vršeno je pomoću referentnog standardnog rastvora (Merck, Nemačka) i kalibracione krive u pet tačaka (10-40 µg/kg, uključujući i nulu). Kontrola kvaliteta je izvršena primenom slepe probe kojoj je dodato 20 µg/kg Se i sertifikovan referentni materijal (BCR 189). Iz kalibracione krive ($r=0,998$) je dobijena dobra linearnost a izmerena koncentracija referentnog materijala je bila u opsegu referentnih vrednosti.

4.4. Određivanje koncentracije MDA u krvnoj plazmi

Za merenje koncentracije MDA u krvnoj plazmi korišćena je spektrofotometrijska metoda po Andreevu i saradnicima (1988). U 0,3 mL krvne plazme je dodato 3mL 0.1% ortofosforne kiseline, 1mL 0,6% tiobarbituratne kiseline i 0.1mL 0,28% hidriranog ferrosulfata. Sve hemikalije su nabavljene od Sigma Aldrich, USA. Reaktivna smeša je zatim zagrevana u vodenom kupatilu na 100°C tokom 60 minuta. Nastali hromogen je ekstrahovan n-butil alkoholom (4 mL). Nakon centrifugiranja (2200 × g, 10 minuta) je izdvajan supernatant, a zatim merena absorbanca butanolnog sloja na 535 nm.

4.5. Određivanje aktivnosti glutacione peroksidaze (GPx) u punoj krvi

Aktivnost glutacione peroksidaze određivana je iz uzoraka pune krvi kuplovanim testom (Günzler, 1974). Sav hemijski materijal nabavljen je od Sigma Aldrich, USA. Uzorci krvi su hemolizirani Drabkin-ovim reagensom (1,6 mM KCN, 1,2 mM $K_2Fe(CN)_6$ i 0,023 M $NaHCO_3$). Glutaciona peroksidaza koja je prisutna u uzorku vrši redukciju tercijarnog butil hidroperoksida (TBH) uz pomoć glutationa (GSH) kao neposrednog davaoca vodonika uz nastajanje GS-SG. U drugoj fazi ove kuplovane reakcije GS-SG se redukuje u glutation (GSH) uz pomoć NADPH i glutacione reduktaze (GR). Finalne koncentracije korištenih reagenasa su: 100 mM fosfatnog pufera (pH 7,4), 4 mM EDTA, 6 mM GSH, 0,375 IU/ml GR, 0,3 mM NADPH i 1,575 mM TBH. Korištena niska koncentracija TBH (ispod 2,32 mM) korištena u ovoj analizi, omogućila je merenje aktivnosti samo selen zavisne glutacione peroksidaze. Redukcija NADPH određivana je nakon 3 minuta na 366 nm korištenjem Cecil Ce2021 spektrofotometra (UK) sa Peltier termostatom. Absorpcijske vrednosti određivane su u intervalima od 30 sekundi i dobijeni rezultati su izražavani u mikrokatalima po litru ($\mu\text{kat/L}$).

4.6. Određivanje koncentracije T3 i T4 u krvnoj plazmi

Koncentracija T3 i T4 je određivana u uzorcima heparinirane plazme primenom komercijalnih standardnih RIA (CT) kitova (INEP, Zemun). Metoda se zasniva kompetitivnom vezivanju T3 i T4 iz plazme i radioaktivno obeleženih T3 i T4 za mali, ali određen broj epitopa na specifičnim anti-T3 i anti-T4 antitelima vezanim za zid test-epruveta. Viša koncentracija T3 i T4 u plazmi onemogućava vezivanje radioaktivno obeleženih T3 i T4 te se formira manje obeleženog imuno-kompleksa. Nakon završene reakcije, slobodni obeleženi i neobeleženi T3 i T4, kao i slobodna antitela koji su zaostali u toj fazi su iz test-epruveta uklonjeni usisavanjem. Radioaktivnost imunih kompleksa vezanih za zid test-epruveta je merena na gamascintilacionom brojaču (CompuGamma LKB, Belgija). Istovremeno sa uzorcima su tretirani i standardi i formirane standardne krive na osnovu kojih je određivana koncentracija T3 i T4.

4.7. Određivanje koncentracija kortizola, estradiola i progesterona u krvnoj plazmi

Koncentracija kortizola i estradiola je određivana u uzorcima heparinisane plazme primenom komercijalnih standardnih RIA (CT) kitova (INEP, Zemun), a progesterona

primenom RIA (PEG) kitova (INEP, Zemun). Test se zasniva na kompetitivnom vezivanju hormona iz plazme i radioaktivno obeleženog hormona za odre en broj epitopa na specifi nim anti-hormon antitelima, pri emu nastaju obeleženi odnosno neobeleženi imunokompleksi. Koli ina obeleženog kompleksa je obrnuto srazmerna koli ini hormona prisutnog u uzorku plazme. Imuni kompleksi nastali vezivanjem kortizola i estradiola su se vezivali za zid epruveta, a slobodni kortizol i estradiol su zaostajali u te noj fazi koja je otklanjana usisavanjem. Imuni kompleksi nastali vezivanjm progesterona za odgovaraju a antitela su bili taloženi sa imunoadsorbentom koji sadrži polietilenglikol (PEG) i sekundarna antitela, pa se merila radioaktivnost taloga. Radioaktivnost imunih kompleksa vezanih za zid epruveta, odnosno u talogu, se merila na gamascintilacionom broja u (CompuGamma LKB, Belgija). Istovremeno sa uzorcima su tretirani i standardi i formirane standardne krive na osnovu kojih je odre ivana koncentracija kortizola, estradiola i progesterona.

4.8. Odre ivanje koncentracija -hidroksibutirata u krvnoj plazmi

Koncentracija D-3-hidroksibutirata je odre ivana primenom testa RANBUT (Randox Laboratories, Crumlin, UK). Ova kineti ka enzimaska metoda se zasniva na oksidaciji D-3-hidroksibutirata u acetoacetat pomo u enzima 3-hidroksibutirat dehidrogenaze pri emu se redukuje koenzim NAD^+ u $\text{NADH} + \text{H}^+$. Koli ina nastalog $\text{NADH} + \text{H}^+$ je direktno proporcionalna koli ini D-3-hidroksibutirata prisutnog u uzorku plazme. Absorbansa je o itavana na talasnoj dužini 340 nm (Olympus AV2700, Beckman Coulter).

4.9. Odre ivanje aktivnosti glutamat dehidrogenaze u krvnoj plazmi

Aktivnost glutamat dehidrogenaze odre ivana je primenom testa Randox Laboratories, Crumlin, UK. Princip metode zasnovan je na redukciji -okso glutarata u glutamat pomo u ovog enzima pri emu se oksiduje koenzim $\text{NADH} + \text{H}^+$ u NAD^+ :



Merenje absorbance je vršeno na talasnoj dužini 340 nm (Olympus AV2700, Beckman Coulter).

4.10. Statisti ka analiza rezultata

Svi dobijeni rezultati su analizirani iz dva aspekta:

A) Eksperimentalna populacija podeljena po grupama u zavisnosti od tretmana selenom i vitaminom E;

B) Eksperimentalna populacija podeljena po kriterijumu zadržane / nezadržane posteljice kod krava 12 h nakon teljenja, nezavisno od tretmana Se i vitaminom E.

Podaci su prezentovani kao $X_{sr} \pm SD$. Za obradu rezultata su koriš eni statisti ki programi MS Excel 2007 i Graph Pad Prism 5. Razlika izme u eksperimentalnih grupa je analizirana koriš enjem Studentovog t-testa (parni, dvosmerni), a zavisnost izme u pojedinih fizioloških parametara regresionom analizom. Za izra unavanje razlika izme u koncentracija steroidnih hormona koriš en je Mann-Whitney test i to metoda *Vassars Colledge* istaknuta na web stranici <<http://vassarstats.net/utest.html>>. U svim slu ajevima nivo verovatno e p 0,05 je smatran statisti ki zna ajnim.

5. REZULTATI

U ovom poglavlju prikazane su statističke tabele sa detaljnim numeričkim rezultatima proisteklim iz eksperimenta. Odgovaraju i grafikoni su prikazani u poglavlju "Diskusija", radi lakšeg praćenja izlaganja. Isti eksperimentalni rezultati su prerađeni i prikazani na dva načina:

A) U zavisnosti od pripadnosti životinja pojedinim eksperimentalnim grupama, tj. u zavisnosti od nivoa suplementacije selenom i vitaminom E, da bi se procenio uticaj različitih doza dodatog selena i vitamina E na učestalost RP, oksidativni/antioksidativni status, koncentraciju tironina, steroidnih hormona i odabrane metaboličke parametre u peripartalnom periodu.

B) U zavisnosti od statusa retencije posteljice ("bez RP" ili "sa RP"), da bi se procenio mogući uticaj svakog pojedinačnog parametra na razvoj RP, nezavisno od tretmana selenom i vitaminom E.

5.1. Procena uticaja dodatog selena i vitamina E na učestalost retencije posteljice, oksidativni/antioksidativni status, koncentraciju tironina, steroidnih hormona, -hidroksibutirata i aktivnost GLDH u peripartalnom periodu

5.1.1. U učestalost pojave zaostale posteljice

U učestalost zaostale posteljice (tabela 6) bila je najviša u kontrolnoj grupi krava i iznosila je 66,7% (6 od 9 životinja u grupi). U ogleđnim grupama procenat zaostale posteljice je bio niži i u grupi 1. iznosio je 38,2% (4 od 11), a 30,8% (4 od 13) u grupi 2.

Tabela 6. U učestalost retencije posteljice, apsolutna i relativna.

Grupa	Apsolutna	Relativna
Kontrola (n = 9)	6 / 9	66,7 %
Grupa 1 (n = 11)	4 / 11	38,2 %
Grupa 2 (n = 13)	4 / 13	30,8 %

5.1.2. Koncentracija selena u punoj krvi krava 12h nakon partusa

Koncentracija selena u punoj krvi $X_{sr} \pm SD$ (tabela 7) bila je statistički značajno niža kod kontrolne grupe krava ($129,0 \pm 18,0$ ng/mL) u poređenju obe ogledne grupe krava. Razlika je naročito izražena između kontrolne grupe i ogledne grupe 2 ($187,3 \pm 32,6$ ng/mL, $p < 0,001$). Razlika između oglednih grupa 1 i 2 nije bila statistički značajna.

Tabela 7. Koncentracija selena (ng/mL) u punoj krvi krava 12h nakon partusa (P+12).

Grupa	X_{sr}	SD	CV %	IV
Kontrola (n = 9)	129,0 ^{A,B}	18,0	13,9	110 - 150
Grupa 1 (n = 11)	162,9 ^A	30,4	18,7	130 - 220
Grupa 2 (n = 13)	187,3 ^B	32,6	17,4	110 - 240

Studentov t-test: AA $p < 0,01$; BB $p < 0,001$

5.1.3. Aktivnost GPx u punoj krvi krava 12h nakon partusa

Aktivnost selenoenzima GPx u punoj krvi $X_{sr} \pm SD$ (tabela 8) krava 12h nakon porođaja kontrolne grupe iznosila je $90,6 \pm 16,1$ μ kat/L i bila je statistički značajno niža ($p < 0,001$) u odnosu na obe ogledne grupe krava (grupa 1 = $178,2 \pm 34,6$ μ kat/L; grupa 2 = $185,0 \pm 35,2$ μ kat/L). Između oglednih grupa 1 i 2 nije bilo statistički značajne razlike.

Tabela 8. Aktivnost GPx (μ kat/L) u punoj krvi krava 12h nakon partusa (P+12).

Grupa	X_{sr}	SD	CV %	IV
Kontrola (n = 9)	90,6 ^{A,B}	16,1	17,8	73,0 - 112,0
Grupa 1 (n = 11)	178,2 ^A	34,6	19,4	145,9 - 222,7
Grupa 2 (n = 13)	185,0 ^B	35,2	19,0	125,1 - 249,4

Studentov t-test: AA, BB $p < 0,001$

5.1.4. Koncentracija MDA u krvnoj plazmi krava 12h pre, tokom i 12h nakon partusa

Koncentracija MDA u krvnoj plazmi krava $X_{sr} \pm SD$ (tabela 9) je u grupi 1 iznosila: $4,57 \pm 0,89$ μ M, a u grupi 2: $4,45 \pm 0,79$ μ M i bila je statistički značajno niža ($p < 0,001$) u odnosu na kontrolnu ($5,74 \pm 0,92$ μ M). Povišena suplementaciona doza selena i vitamina E (20 mg NaSe + 800 mg TAc) nije dovela do značajnog dodatnog sniženja MDA u odnosu na grupu 2. Koncentracija MDA unutar grupa nije se razlikovala 12h pre, za vreme porođaja i 12h nakon porođaja.

Tabela 9. Koncentracija MDA (μM) u krvnoj plazmi krava 12h pre, tokom i 12h nakon partusa (P-12, P, P+12).

Grupa	\bar{X}_{sr}	SD	CV %	IV
KONTROLA (n = 9)				
P-12h	5,71	0,94	16,5	4,33 - 6,81
P	5,76	0,98	17,0	4,70 - 7,61
P+12h	5,74	0,85	14,8	4,81 - 7,18
Ukupno (n=27)	5,74 ^{A,B}	0,92	16,3	4,33 - 7,61
GRUPA 1 (n = 11)				
P-12h	4,59	1,20	26,1	2,99 - 7,09
P	4,44	0,68	15,3	3,56 - 5,30
P+12h	4,67	0,80	17,1	3,42 - 5,93
Ukupno (n=33)	4,57 ^A	0,89	19,5	2,99 - 7,09
GRUPA 2 (n = 13)				
P-12h	3,95 ^a	0,88	22,3	3,08 - 5,56
P	4,95 ^a	0,70	14,1	3,36 - 5,52
P+12h	-	-	-	-
Ukupno (n=39)	4,45 ^B	0,79	17,8	3,08 - 5,56

Studentov t-test: AA, BB $p < 0,001$; aa $p < 0,05$

5.1.5. Korelacija izme u aktivnosti GPx u punoj krvi i koncentracije MDA u krvnoj plazmi krava

Utvr ena je slaba, ali statisti ki zna ajna negativna korelaciona zavisnost izme u aktivnosti GPx u punoj krvi i koncentracije MDA u krvnoj plazmi u celokupnoj eksperimentalnoj polulaciji krava:

$$y = -0,01x + 6,3; n = 33; p < 0,01; r^2 = 0,24$$

Korelacija izme u posmatranih vrednosti bila je znatno ja a kada su u obzir uzete samo životinje koje su imale zadržanu posteljicu:

$$y = -0,01x + 5,6; n = 33; p < 0,05; r^2 = 0,42$$

5.1.6. Koncentracija T4 u krvnoj plazmi krava 12h pre, tokom i 12h nakon partusa

Ukupna prose na koncentracija T4 ($X_{sr} \pm SD$) u krvnoj plazmi kontrolne grupe krava, peripartalno (12h pre, tokom i 12h nakon partusa), bila je $40,6 \pm 13,0$ nM; u grupi 1. iznosila je $52,9 \pm 12,5$ nM, dok je u grupi 2. bila $41,2 \pm 13,4$ nM. Statisti ki zna ajne razlike uo ene su izme u kontrolne grupe plotkinja i grupe 1. ($p < 0,001$), kao i izme u grupe 1. i grupe 2. ($p < 0,001$).

Tako e, utvr ena je statisti ki zna ajna razlika srednjih vrednosti koncentracije T4 unutar samih grupa. Tako, u kontrolnoj grupi prose ne vrednosti koncentracije T4 u krvnoj plazmi 12h iznosile su: pre teljenja $48,8 \pm 17,1$ nM, u toku poro aja $33,5 \pm 8,5$ nM, a 12h nakon poro aja $39,6 \pm 13,3$ nM. Uo ava se da su vrednosti T4 pre poro aja statisti ki znatno više nego pri samom poro aju ($p < 0,001$), kao i posle poro aja ($p < 0,001$).

U oglednoj grupi 1 prose na vrednost koncentracije T4 pre teljenja je iznosila $59,6 \pm 13,0$ nM, za vreme teljenja $46,4 \pm 13,4$ nM, a 12h nakon teljenja $52,9 \pm 11,0$ nM. Statisti ki zna ajna razlika utvr ena je izme u plotkinja 12h pre i u toku poro aja ($p < 0,05$). U oglednoj grupi 2. nisu uo ene zna ajne razlike u periodu oko poro aja.

Tabela 10. Koncentracija T4 (nM) u krvnoj plazmi krava 12h pre, tokom i 12h nakon partusa (P-12, P, P+12).

Grupa	X_{sr}	SD	CV %	IV
KONTROLA (n = 9)				
P-12h	48,8 ^{a,b}	17,1	35,0	25,1 - 69,7
P	33,5 ^a	8,5	25,4	21,3 - 43,9
P+12h	39,6 ^b	13,3	33,5	19,7 - 55,7
Ukupno (n=27)	40,6 ^A	13,0	31,9	19,7 - 69,7
GRUPA 1 (n = 11)				
P-12h	59,6 ^c	13,0	21,8	40,5 - 84,6
P	46,4 ^c	13,4	29,0	28,4 - 60,7
P+12h	52,9	11,0	20,8	30,6 - 60,8
Ukupno (n=33)	52,9 ^{A,B}	12,5	23,6	28,4 - 84,6
GRUPA 2 (n = 13)				
P-12h	39,6	13,3	33,5	19,7 - 55,7
P	42,7	13,5	31,6	26,4 - 54,4
P+12h	-	-	-	-
Ukupno (n=39)	41,2 ^B	13,4	32,5	19,7 - 55,7

Studentov t-test: AA, BB $p < 0,05$; aa, bb, cc $p < 0,05$

5.1.7. Koncentracija T3 u krvnoj plazmi krava 12h pre, tokom i 12h nakon partusa

Ukupna plazmatska koncentracija T3 ($X_{sr} \pm SD$) u kontrolnoj grupi plotkinja iznosila je $1,45 \pm 0,32$ nM, u grupi 1: $1,38 \pm 0,30$ nM, dok je u grupi 2 iznosila $1,20 \pm 0,42$ nM. Uo ava se zna ajno niža koncentracija T3 u grupi 2 u odnosu na kontrolnu grupu ($p < 0,01$), kao i razlika izme u samih oglednih grupa ($p < 0,05$).

Statisti ka zna ajnost razlika vrednosti T3 može se primetiti i unutar kontrolne grupe. Naime, dok je srednja vrednost T3 12h pre poro aja iznosila $1,67 \pm 0,27$ nM, te vrednosti su opale pri poro aju na $1,34 \pm 0,28$ nM, i 12h posle poro aja $1,35 \pm 0,42$ nM. Statisti ki zna ajna razlika se javlja izme u krava 12h pre poro aja i u toku poro aja ($p < 0,05$), kao i izme u krava 12h pre i 12h posle poro aja ($p < 0,05$).

Unutar grupna statisti ka zna ajnost razlika nije utvr ena u oglednim grupama plotkinja 1. i 2, u neposrenom peripartalnom periodu.

Tabela 11. Koncentracija T3 (nM) u krvnoj plazmi krava 12h pre, tokom i 12h nakon partusa (P-12, P, P+12).

Grupa	X_{sr}	SD	CV %	IV
KONTROLA (n = 9)				
P-12h	1,67 ^{a,b}	0,27	15,9	1,31 - 2,12
P	1,34 ^a	0,28	21,0	0,90 - 1,65
P+12h	1,35 ^b	0,42	31,1	0,79 - 1,93
Ukupno (n=27)	1,45 ^A	0,32	22,7	0,90 - 2,12
GRUPA 1 (n = 11)				
P-12h	1,53	0,40	26,2	0,96 - 2,47
P	1,30	0,24	18,8	0,77 - 1,66
P+12h	1,30	0,26	19,6	0,74 - 1,55
Ukupno (n=33)	1,38 ^B	0,30	21,7	0,74 - 1,55
GRUPA 2 (n = 13)				
P-12h	1,14	0,40	34,4	0,81 - 1,70
P	1,25	0,43	34,4	0,64 - 1,94
P+12h	-	-	-	-
Ukupno (n=39)	1,20 ^{A,B}	0,42	34,4	0,64 - 1,94

Studentov t-test: AA $p < 0,01$, BB $p < 0,05$; aa, bb $p < 0,05$

5.1.8. Indeks aktivacije tireoidnih hormona (T3 / T4 × 100) u krvnoj plazmi krava 12h pre, tokom i 12h nakon partusa

Ukupan indeks aktivacije T3 / T4 ($X_{sr} \pm SD$) iznosio je u kontrolnoj grupi: $3,74 \pm 0,84$, u grupi 1: $2,74 \pm 0,74$, dok je u grupi 2: iznosio $3,05 \pm 0,55$. Iz tabele 12. se vidi da je indeks aktivacije T3 / T4 bio viši kod životinja iz kontrolne grupe u odnosu na grupu 1 i 2.

Tabela 12. Indeks aktivacije tireoidnih hormona (T3 / T4 × 100) u krvnoj plazmi krava 12h pre, tokom i 12h nakon partusa (P-12, P, P+12).

Grupa	X_{sr}	SD	CV %	IV
KONTROLA (n = 9)				
P-12h	3,6	1,3	36,2	2,4 – 5,9
P	4,1	0,6	14,8	2,7 – 4,7
P+12h	3,5	0,6	16,6	2,4 – 4,1
Ukupno (n=27)	3,74	0,84	19,78	2,4 – 5,9
GRUPA 1 (n = 11)				
P-12h	2,7	0,8	29,3	1,7 – 3,9
P	3,0	0,8	27,3	2,2 – 4,1
P+12h	2,5	0,6	22,4	1,7 – 3,5
Ukupno (n=33)	2,74	0,74	27,01	1,7 – 4,1
GRUPA 2 (n = 13)				
P-12h	2,8	0,5	17,9	2,1 – 3,5
P	3,4	0,6	19,6	2,4 – 4,7
P+12h	-	-	-	-
Ukupno (n=39)	3,05	0,55	18,03	2,1 – 4,7

Studentov t-test: AA, BB, aa, bb $p < 0,05$

5.1.9. Korelacija izme u aktivnosti Gpx u punoj krvi i indeksa aktivacije tironina u krvnoj plazmi krava

Uo ena je niska, ali statisti ki zna ajna negativna korelaciona zavisnost izme u aktivnosti GPx i indeksa aktivacije tireoidnih hormona (T3/T4 × 100):

$$y = -0,005x + 4,0; n = 33; p < 0,05; r^2 = 0,14$$

5.1.10. Koncentracija kortizola u krvnoj plazmi krava 12h pre, tokom i 12h nakon partusa (P-12, P, P+12)

Zbog uobičajeno visoke varijabilnosti koncentracija steroidnih hormona u krvnoj plazmi životinja, značajnosti razlika dokazivane su Mann-Whitney testom.

Tabela 13. Koncentracija kortizola (ng/mL) u krvnoj plazmi krava 12h pre, tokom i 12h nakon partusa (P-12, P, P+12).

Grupa	X_{sr}	SD	CV %	IV
KONTROLA (n = 9)				
P-12h	40,8 ^a	17,1	41,8	18,6 – 72,5
P	54,2 ^b	28,5	64,3	15,8 – 72,6
P+12h	79,0 ^{a,b}	23,3	29,5	53,1 – 134,9
Ukupno (n=27)	58,0 ^A	23,0	45,2	15,8 – 134,9
GRUPA 1 (n = 11)				
P-12h	43,7	19,1	43,2	16,1 – 60,1
P	40,2	11,5	28,7	31,2 – 48,2
P+12h	39,4	19,9	50,5	18,0 – 77,9
Ukupno (n=33)	41,1 ^B	16,7	40,8	16,1 – 77,9
GRUPA 2 (n = 13)				
P-12h	20,1	11,8	58,5	11,6 – 57,4
P	22,7	13,3	58,4	13,5 – 65,0
P+12h	-	-	-	-
Ukupno (n=39)	21,4 ^{A,B}	12,5	58,5	11,6 – 65,0

Mann-Whitney test: AA, BB $p < 0,01$; aa $p < 0,01$, bb $p < 0,05$

Ukupna prose na koncentracija kortizola ($X_{sr} \pm SD$) u krvnoj plazmi plotkinja kontrolne grupe (tabela 13) je iznosila $58,0 \pm 23,0$ ng/mL, u grupi 1: $41,1 \pm 16,7$ ng/mL, a u grupi 2: $21,4 \pm 12,5$ ng/mL. Razlika između kontrolne grupe plotkinja i grupe 2 je statistički značajna ($p < 0,01$), kao i između grupa 1 i 2 ($p < 0,01$).

Statistički značajnost razlika utvrđena je i unutar kontrolne grupe krava. Dok je prosečna vrednost koncentracije kortizola 12h pre porođaja iznosila $40,8 \pm 17,1$ ng/mL, u toku porođaja $54,2 \pm 28,5$ ng/mL, a 12h posle porođaja $79,0 \pm 23,3$ ng/mL, može se utvrditi da statistički značajna razlika postoji kod krava 12h pre i 12h posle porođaja ($p < 0,01$), kao i između plotkinja u toku porođaja i 12h posle porođaja ($p < 0,05$).

5.1.11. Koncentracija 17 -estradiola u krvnoj plazmi krava 12h pre, tokom i 12h nakon partusa (P-12, P, P+12)

Ukupna prose na koncentracija 17 -estradiola u krvnoj plazmi krava ($X_{sr} \pm SD$) bila je u kontrolnoj grupi: $1,19 \pm 1,07$ nM, u grupi 1: $0,99 \pm 0,75$ nM, dok je u grupi 2 iznosila $2,16 \pm 1,73$ nM. Izme u ovih grupa Mann-Whitney testom nije utvr ena statisti ka zna ajnost razlika.

Tabela 14. Koncentracija 17 -estradiola (nM) u krvnoj plazmi krava 12h pre, tokom i 12h nakon partusa (P-12, P, P+12).

Grupa	X_{sr}	SD	CV %	IV
KONTROLA (n = 9)				
P-12h	1,39	1,45	104,3	0,09 – 4,02
P	1,98	1,60	80,9	0,25 – 2,71
P+12h	0,19	0,16	85,4	0,05 – 0,56
Ukupno (n=27)	1,19	1,07	90,2	0,05 – 4,02
GRUPA 1 (n = 11)				
P-12h	0,53	0,53	102,3	0,11 – 1,89
P	1,57	0,78	49,8	0,08 – 2,93
P+12h	0,88	0,94	106,6	0,04 – 2,44
Ukupno (n=33)	0,99	0,75	86,2	0,04 – 2,93
GRUPA 2 (n = 13)				
P-12h	1,58	1,29	81,5	0,03 – 2,96
P	2,73	2,18	79,8	0,08 – 6,02
P+12h	-	-	-	-
Ukupno (n=39)	2,16	1,73	80,7	0,03 – 6,02

Mann-Whitney test: NZ

Zapažene su velike varijacije koncentracija 17 -estradiola unutar grupa. Interval varijacije se u kontrolnoj grupi kretao izme u 0,05 nM i 4,02 nM, u grupi 1 od 0,04 nM do 2,93 nM, a u grupi 2 od 0,03 nM do 6,02 nM.

Koncentracije 17 -estradiola u krvnoj plazmi unutar pojedinih grupa nisu pokazale statisti ki zna ajne razlike.

5.1.12. Koncentracija progesterona u krvnoj plazmi krava 12h pre, tokom i 12h nakon partusa (P-12, P, P+12)

Ukupni prosečan sadržaj progesterona ($X_{sr} \pm SD$) u kontrolnoj grupi bile su $0,202 \pm 0,053$ ng/mL, u grupi 1: $0,174 \pm 0,077$ ng/mL, u grupi 2: $0,218 \pm 0,102$ ng/mL. Statistička značajnost razlika između grupa plotkinja u ogledu ispitivana Mann-Whitney testom nije utvrđena.

Isto tako, zapažene su velike varijacije koncentracija progesterona unutar grupa. Interval varijacije u kontrolnoj grupi je bio između $0,097$ ng/mL i $0,319$ ng/mL, u grupi 1 od $0,062$ ng/mL do $0,521$ ng/mL, a u grupi 2 od $0,085$ ng/mL do $0,442$ ng/mL.

Tabela 15. Koncentracija progesterona (ng/mL) u krvnoj plazmi krava 12h pre, tokom i 12h nakon partusa (P-12, P, P+12).

Grupa	X_{sr}	SD	CV %	IV
KONTROLA (n = 9)				
P-12h	0,237	0,064	26,8	0,149 – 0,319
P	0,171	0,056	31,4	0,097 – 0,234
P+12h	0,196	0,040	20,4	0,164 – 0,277
Ukupno (n=27)	0,202	0,053	26,4	0,097 – 0,319
GRUPA 1 (n = 11)				
P-12h	0,268	0,124	46,1	0,123 – 0,521
P	0,137	0,060	44,6	0,075 – 0,253
P+12h	0,117	0,048	41,0	0,062 – 0,154
Ukupno (n=33)	0,174	0,077	44,4	0,062 – 0,521
GRUPA 2 (n = 13)				
P-12h	0,228	0,139	61,0	0,085 – 0,442
P	0,208	0,065	31,3	0,117 – 0,344
P+12h	-	-	-	-
Ukupno (n=39)	0,218	0,102	46,8	0,085 -0,442

Mann-Whitney test: NZ

5.1.13. Aktivnost glutamat dehidrogenaze u krvnoj plazmi krava 12h nakon partusa (P+12)

Aktivnost glutamat dehidrogenaze (GLDH) u krvnoj plazmi krava ($X_{sr} \pm SD$) 12h nakon porođaja iznosila je $10,9 \pm 3,7$ U/L u kontrolnoj grupi, $8,5 \pm 1,3$ U/L u grupi 1 i $16,6 \pm 4,9$ U/L u grupi 2.

Prose ne vrednosti aktivnosti glutamat dehidrogenaze u krvnoj plazmi krava 12h nakon poro aja kod svih grupa krava u ogledu su se statisti ki zna ajno razlikovale. Ta razlika je zapažena izme u kontrolne grupe i grupe 1 ($p < 0,05$), kao i izme u kontrolne grupe i grupe 2 ($p < 0,05$). Statisti ka zna ajnija razlika je utvr ena izme u oglednih grupa plotkinja ($p < 0,01$).

Tabela 16. Aktivnost glutamat dehidrogenaze (U/L) u krvnoj plazmi krava 12h nakon partusa (P+12).

Grupa	\bar{X}_{sr}	SD	CV %	IV
Kontrola (n = 9)	10,9 ^{A,B}	3,7	33,9	6,4 - 17,3
Grupa 1 (n = 11)	8,5 ^{A,C}	1,3	15,3	6,5 - 10,9
Grupa 2 (n = 13)	16,6 ^{B,C}	4,9	29,5	10,0 - 17,8

Studentov t-test: AA, BB $p < 0,05$, CC $p < 0,01$

5.1.14. Koncentracija -hidroksi butirata u krvnoj plazmi krava 12h nakon partusa

Prose na vrednost -hidroksi butirata (BHBA) u krvnoj plazmi krava ($\bar{X}_{sr} \pm SD$) 12h nakon poro aja bila je najviša u kontrolnoj grupi krava ($0,69 \pm 0,10$ mM) i bila je statisti ki zna ajno ve a ($p < 0,001$) u odnosu na prose nu vrednost aktivnosti -hidroksi butirata u grupi krava koja je dobila najve u koli inu selena od 20 mg ($0,34 \pm 0,10$ mM).

Tako e, prime uje se da i izme u krava koje su dobijale razli ite koli ine selena postoji statisti ki zna ajna razlika ($p < 0,001$) jer su vrednosti -hidroksi butirata u grupi 2 bile u proseku dvostruko niže u odnosu na grupu 1 ($0,67 \pm 0,09$ mM) i kontrolnu grupu ($0,69 \pm 0,10$ mM).

Tabela 17. Koncentracija -hidroksi butirata (mM) u krvnoj plazmi krava 12h nakon partusa (P+12).

Grupa	\bar{X}_{sr}	SD	CV %	IV
Kontrola (n = 9)	0,69 ^A	0,10	14,5	0,59 - 0,83
Grupa 1 (n = 11)	0,67 ^B	0,09	13,4	0,53 - 0,79
Grupa 2 (n = 13)	0,34 ^{A,B}	0,10	29,4	0,20 - 0,44

Studentov t-test: AA, BB $p < 0,001$

5.2. Pojedina na procena uticaja fizioloških parametara pra enih u eksperimentu na pojavu retencije posteljice, nezavisno od tretmana selenom i vitaminom E

Plotkinje kod kojih nije dijagnostikovana retencija posteljice (*Bez RP*) imale su zna ajno višu koncentraciju selena (176 ± 33 ng/mL) i aktivnost GPx (181 ± 34 μ kat/L) u punoj krvi i, kao posledicu, zna ajno niže koncentracije MDA ($4,68 \pm 0,93$ μ M) u krvnoj plazmi (tabela 18a) u odnosu na krave kod kojih je dijagnostikovana retencija (*Sa RP*) (Se: 138 ± 40 ng/mL; GPx: 133 ± 48 μ kat/L; MDA: $5,32 \pm 0,80$ μ M).

Plazmatska koncentracija T4 bila je zna ajno viša kod krava *sa RP* (51 ± 11 nM) u odnosu na krave *bez RP* (42 ± 13 nM), dok se koncentracija T3 nije razlikovala (*bez RP*: $1,31 \pm 0,41$ nM; *sa RP*: $1,37 \pm 0,34$ nM) (tabela 18a).

Kod krava *sa RP* izmerena je zna ajno viša koncentracija progesterona ($0,67 \pm 0,27$ ng/mL) u pore enju sa životinjama *bez RP* ($0,52 \pm 0,28$ nM), dok se nivoi ostalih steroidnih hormona nisu razlikovali (tabela 18b).

Nisu uo ene zna ajne razlike aktivnosti GLDH (*bez RP*: $10,5 \pm 5,5$ U/L; *sa RP*: $11,5 \pm 2,8$ U/L) i koncentracije -hidroksibutirata (*bez RP*: $0,61 \pm 0,18$ mM; *sa RP*: $0,64 \pm 0,14$ mM) izme u krava *sa* i *bez RP* (tabela 18b).

Tabela 18a. Pore enje parametara pra enih tokom oglada prera unatih u odnosu na status retencije posteljice kod krava ("bez retencije" i "sa retencijom"), nezavisno od tretmana selenom i tokoferolom.

Status retencije posteljice (broj životinja)	Se u punoj krvi (ng/mL)	GPx u punoj krvi (μ kat/L)	MDA u krvnoj plazmi (μ M)	T4 u krvnoj plazmi (nM)	T3 u krvnoj plazmi (nM)
Bez RP (n = 19)	176 ± 33^A	181 ± 34^B	$4,68 \pm 0,93^B$	42 ± 13^B	$1,31 \pm 0,41$
Sa RP (n = 14)	138 ± 40^A	133 ± 48^B	$5,32 \pm 0,80^B$	51 ± 11^B	$1,37 \pm 0,34$

Studentov t-test: AA $p < 0,05$; BB $p < 0,01$

Tabela 18b. (nastavak)

Status retencije posteljice (broj životinja)	Kortizol u krvnoj plazmi (ng/mL)*	17 -estradiol u krvnoj plazmi (nM)*	Progesteron u krvnoj plazmi (ng/mL)*	GLDH u krvnoj plazmi (U/L)	-hidroksibut. u krvnoj plazmi (mM)
Bez RP (n = 19)	$107,6 \pm 66,0$	412 ± 421	$0,52 \pm 0,28^C$	$10,5 \pm 5,5$	$0,61 \pm 0,18$
Sa RP (n = 14)	$112,8 \pm 67,5$	341 ± 361	$0,67 \pm 0,27^C$	$11,5 \pm 2,8$	$0,64 \pm 0,14$

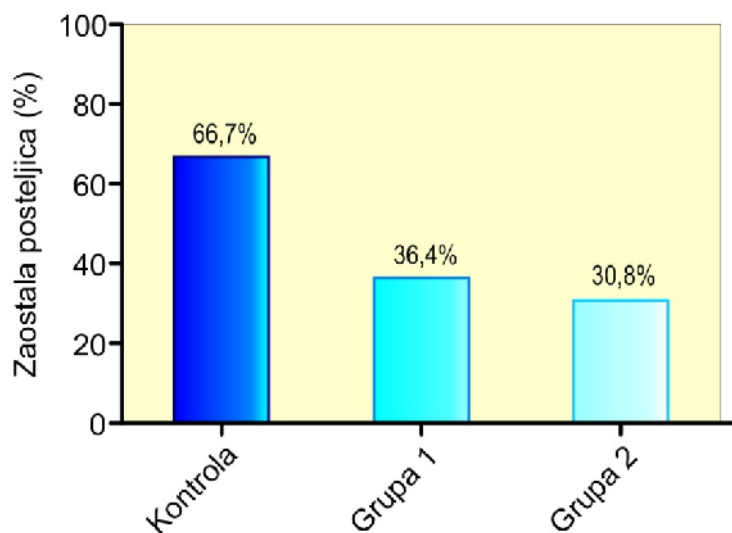
Studentov t-test: AA $p < 0,05$; BB $p < 0,01$; *Mann-Whitney test: CC $p < 0,01$

6. DISKUSIJA

6.1. Uestalost pojave zaostale posteljice

Uestalost pojave zaostale posteljice kod krava, na područjima sa zadovoljavajućom količinom selena u hrani je 4-11% (Eiler i Fecteau, 2007). U selen deficitnim područjima uestalost može da bude i 2-5 puta veća (Julien i sar. 1976). Prema istraživanjima koje su sproveli Jovanović i sar. (1998) u području južnog Banata, dakle na širem prostoru na kojem je izveden ovaj eksperiment, prosečni sadržaj selena u žitaricama i senu iznosio je 40 i 62 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Ovi rezultati pokazuju da u navedenom području postoji deficit selena.

Drugi važan faktor za pojavu visoke uestalosti zaostale posteljice u svim grupama u našem ogledu, je činjenica da je kravama poročaj bio indukovanim primenom prostaglandina F_2 za koji je poznato da povećava pojavu retencije 19-53% (Lewing i sar. 1985). Kako je već naglašeno, cilj ovog rada je bio da se pokaže da selen i vitamin E mogu da spreče negativan efekat prostaglandina na zaostajanje posteljice.



Grafikon 1. Uestalost zaostajanja posteljice (%) kod krava u zavisnosti od tretmana selenom i vitaminom E.

Uestalost zaostale posteljice bila je, očekivano, vrlo visoka u kontrolnoj grupi krava (66,7%) kao posledica, pre svega indukcije poročaja sa PGF_2 , ali i činjenice da krave nisu dobile ni selen ni vitamin E, osim onoga u hranivima. Prepartalnom,

intramuskularnom aplikacijom 10 mg Na-selenita i 400 mg RRR- -tokoferil acetata (vitamin E) kravama iz ogledne grupe 1, u estalost zaostale posteljice smanjena je na 36,4%, a dodatkom 20 mg Na-selenita i 800 mg RRR- -tokoferil acetata oglednoj grupi 2 dostigla je 30,8%. Ovim je jasno pokazano da i kod životinja kod kojih je indukovano porođaj prostaglandinom, dodavanje selena i vitamina E dovodi do smanjenog procenta zaostale posteljice. Veća doza ovaj efekat pojačava, ali ne linearno.

Dokazi koji govore u prilog tome da zaostala posteljica može da se prevenira primenom preparata selena je već dugo poznata i dobro dokumentovana (Harrison i sar. 1984; Ivandija, 1987). U svojoj uvodnoj studiji, Julien i sar. (1976) su dodavanjem selena smanjili procenat zaostale posteljice sa 38% u kontrolnoj grupi na 0% u oglednoj grupi. Pri tome, smatraju da je profilaktičko delovanje selena slično, bez obzira na način dodavanja kao i da ne zavisi od vitamina E.

Finklestein i sar. (1992) su eksperimentalnim putem na više od 50 Holštajnskih krava ustanovili da istovremena aplikacija 50 mg natrijum selenita i 600 µg vitamina E smanjuju u estalost zaostale posteljice za 7%, vreme involucije uterusa za 23% i servis period za 16,3 dana. Ove vrednosti su znatno niže od onih koje je prethodno objavio Ivandija (1987), koji navodi značajno smanjenje zaostale posteljice sa 51,2% na 8,8% nakon peroralne aplikacije preparata selena (0,1 mg/kg t.m.) i vitamina E (1g/grlu). U literaturi nismo našli podatke koji govore o uticaju selena na u estalost zaostale posteljice kod krava kod kojih je indukovano porođaj.

Smanjenje procenta zaostajanja posteljice sa porastom količine dodatog selena i vitamina E kravama oglednih grupa nije postignuto onaj procenat zaostale posteljice koji se u literaturi navodi kao prihvatljiv. Zaostala posteljica je multifaktorijski poremećaj (v. Pregled literature), pa dobijeni procenat zaostale posteljice u ovom eksperimentu, može da se pripisuje i drugim etiološkim faktorima. detaljno opisanim u poglavlju "Pregled literature".

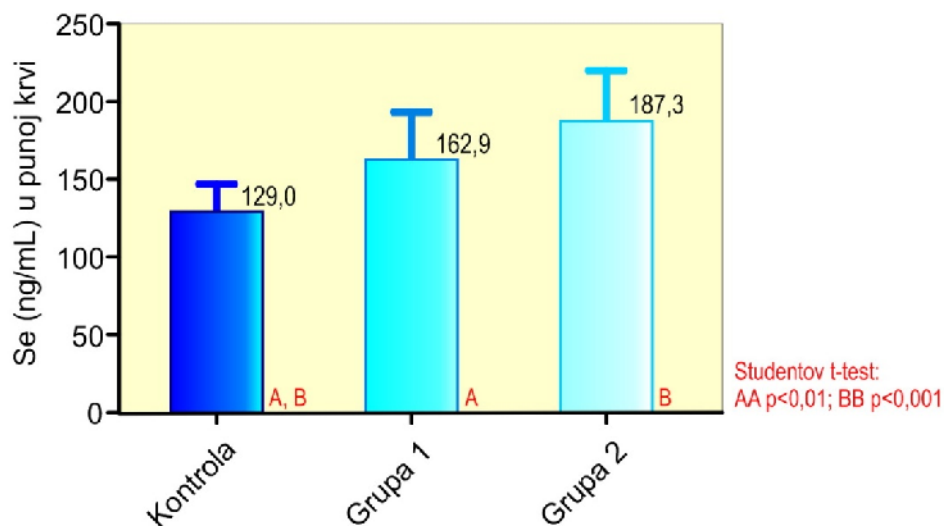
Na osnovu postojećih rezultata može se pretpostaviti da dalje povećanje doze selena i vitamina E ne bi dovelo do značajnijeg smanjenja procenta zaostale posteljice. Mora se imati na umu da je selen toksičan mikroelement (Cooper i Glover, 1974; Foster i Sumar, 1997), pa suplementacione doze treba da se procenjuju sa velikom pažnjom i sigurnosnom marginom, tako da se održi ravnoteža između postizanja zadovoljavajućih rezultata i izbegavanja toksičnih efekata (Mihailović i sar. 1992).

6.2. Koncentracija selena i aktivnost glutacion peroksidaze u punoj krvi i koncentracija malondialdehida u krvnoj plazmi krava

Koncentracija selena u punoj krvi se smatra dobrim indikatorom dugotrajnog snabdevanja selenom kod ve ine životinja. Intramuskularna injekcija selena pove ava koncentraciju selena u punoj krvi i serumu oko 28 dana, a aktivnost glutacion peroksidaze u punoj krvi oko 84 dana (Mass i sar. 1993). To je i razlog što smo koncentraciju selena kod životinja merili jednokratno, 12h nakon poro aja.

Studija koju su sproveli Schingoethe i sar. (1982) jasno je pokazala da efekti dodavanja selena na zaostajanje posteljice u znatnoj meri zavise od sadržaja selena u organizmu. Kod krava kod kojih je koncentracija selena bila u fiziološkim granicama, dodavanje selena nije dalo o ekivane rezultate na smanjenje procenta zaostale posteljice. Imaju i to u vidu, razmotri emo da li je visok procenat zaostale posteljice kod krava naše kontrolne grupe posledica deficita selena, tj. da li se smanjenje procenta zaostale posteljice kod krava oglednih grupa zaista može pripisati pozitivnom efektu dodatog selena.

Smatra se da je fiziološka koncentracija selena u punoj krvi krava 100 $\mu\text{g/L}$ (Van Saun, 1990; Stowe i Herdt, 1992). Kommisrud i sar. (2005) su u Norveškoj ispitivali uzorke krvi 254 krave koje nisu dobile selen i ustanovili prose ne vrednosti od 60-120 ng/g i predložili koncentraciju selena u krvi od 100-150 ng/g kao donju fiziološku vrednost ispod koje se može o ekivati pove ana u estalost zaostajanja posteljice.

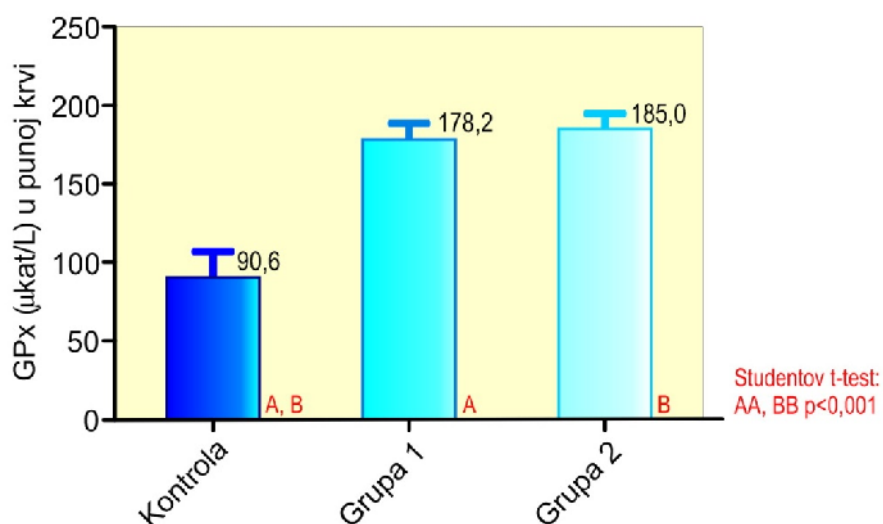


Grafikon 2. - Koncentracija selena (ng/mL) u punoj krvi krava u zavisnosti od tretmana selenom i vitaminom E.

Koncentracija selena u punoj krvi kontrolne grupe krava ($129,0 \pm 18,0$ ng/mL), statisti ki je zna ajno niža nego u oglednim grupama. Razlika je naro ito izražena izme u kontrolne grupe i ogledne grupe 2 ($187,3 \pm 32,6$ ng/mL; $p<0,001$). Nije ustanovljena

statisti ki zna ajna razlika izme u oglednih grupa. Koncentracija selena u krvi je bila iznad minimalnih fizioloških vrednosti i u kontrolnoj i u oglednim grupama krava. Garmo i sar. (1986) u Norveškoj, ustanovili su zna ajni deficit selena u hranivima, dok su Jovanovi i sar. (1998) u Srbiji, utvrdili znatno manji deficit selena u hranivima. Po našem mišljenju znatno manji procenat zaostale posteljice u oglednim grupama krava, može da se pripiše pozitivnom efektu dodavanja selena.

Aktivnost glutacion peroksidaze u punoj krvi krava (i drugih preživara) je dobar pokazatelj funkcionalnog statusa selena jer je 98-99% aktivnosti ovog selenoenzima skoncentrisano u eritrocitima, za razliku od drugih vrsta kod kojih je ovaj odnos uglavnom 50 : 50. Budu i da aktivnost GPx ne pokazuje zna ajne dnevne oscilacije, merena je jednokratno, 12h nakon poro aja.



Grafikon 3. - Aktivnost glutacion peroksidaze ($\mu\text{kat/L}$) u punoj krvi krava u zavisnosti od tretmana selenom i vitaminom E.

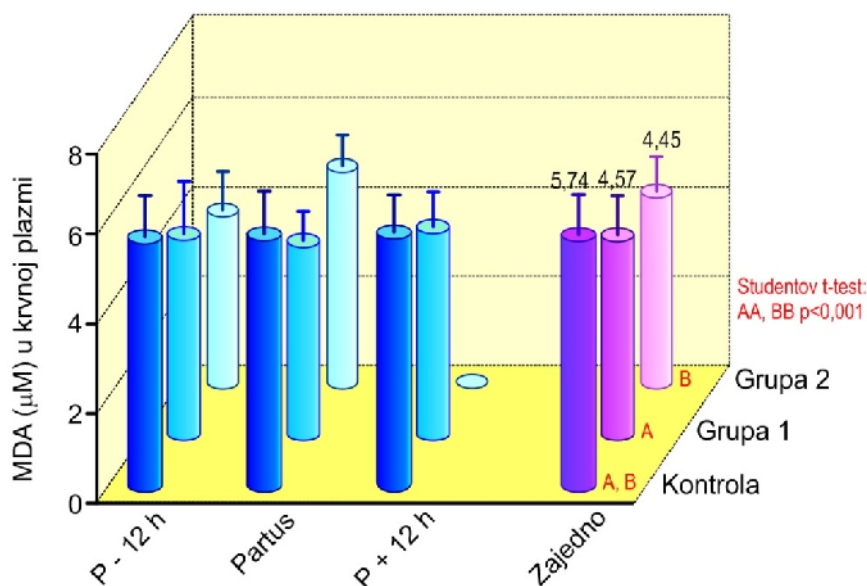
Dodavanje selena (i vitamina E) dovelo je do zna ajnog pove anja aktivnosti GPx ($p<0,001$) u oglednim grupama 1 i 2 ($178,2 \pm 34,6$ i $185,0 \pm 35,2 \mu\text{kat/L}$), u pore enju sa kontrolnom grupom životinja ($90,6 \pm 16,1 \mu\text{kat/L}$). Izme u oglednih grupa 1 i 2 tretiranih selenom i vitaminom E nije bilo statisti ki zna ajne razlike ($p>0,05$). Vrlo sli ne rezultate prikazali su Wischral i sar. (2001). U ogledu Bernabuccija i sar. (2002) uo ena je pove ana aktivnosti GPx u krvnoj plazmi krava u periodu oko teljenja, s tim što je ovo pove anje bilo izražajnije u leto nego u prole e.

Kod ve ine životinja aktivnost GPx raste linarno sa porastom koncentracije selena u organizmu, do izvesne granice kada dostiže maksimalne vrednosti. Koncentracija selena kojom se postiže maksimum aktivnosti GPx smatra se optimalnom u smislu zadovoljenja

potreba životinje za ovim mikroelementom (Koller i sar. 1984). Možemo da tvrdimo da je u našem eksperimentu ve dozom od 10 mg NaSe i 400 mg TAc postignuta optimalna koncentracija selena za maksimalnu aktivnost glutacion peroksidaze.

*

Koncentracija MDA u krvnoj plazmi. Malondialdehid (MDA) je jedan od glavnih metaboli kih proizvoda peroksidacije polinezasi enih masnih kiselina poreklom iz elijske membrane. Ova grupa molekula (tiobarbiturat-reaguju e supstance – TBARS) u reakciji sa tiobarbiturnom kiselinom daju obojene proizvode ija se koncentracija lako odre uje spektrofotometrijski i daje dobru sliku ja ine oksidativnog stresa kod životinja (Uchiyama i Michara, 1978). Pošto koncentracija MDA u plazmi može relativno brzo da se menja u zavisnosti od prisustva i ja ine oksidativnog stresa, uzorke za ovu probu uzimali smo od krava 12h pre, za vreme i 12h nakon poro aja.



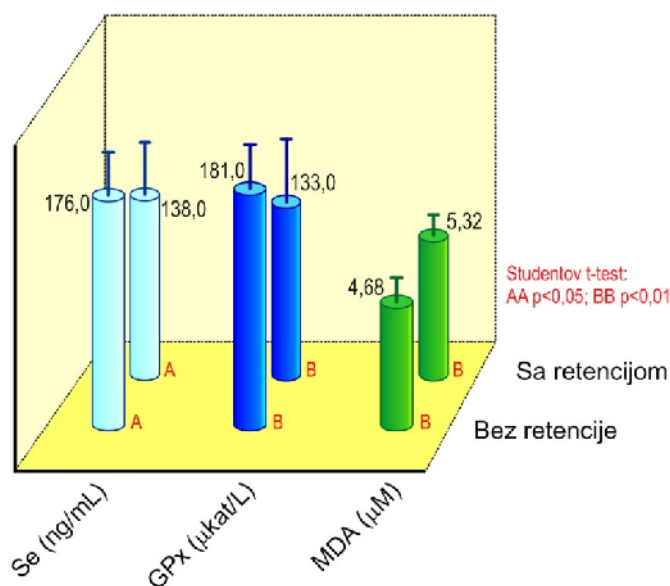
Grafikon 4. – Koncentracija malondialdehida (μM) u krvnoj plazmi krava u peripartalnom periodu ($\text{partus} \pm 12\text{h}$) u zavisnosti od tretmana selenom i vitaminom E.

Kako se vidi iz grafikona 4. i tabele 9, koncentracija MDA u vremenu oko partusa nije se zna ajno menjala u kontrolnoj i oglednoj grupi 1, što je u skladu sa nalazima Erisira i sar. (2006). Objedinjeni prora un svih podataka po eksperimentalnim grupama pokazuje da je koncentracija MDA bila zna ajno niža ($p < 0,001$) kod oglednih grupa 1 i 2, koje su dobile selen, u pore enju sa kontrolom, a izme u oglednih grupa 1 i 2 dobijene vrednosti nisu se razlikovale ($p > 0,05$).

Kankofer (2001) je ispitivala direktni sadržaj MDA u placentomima i ustanovila je pove anje koncentracije metabolita peroksidacije lipida u posteljici krava sa retencijom

posteljice. S druge strane, Erisir i sar. (2006) su ustanovili statisti ki zna ajan porast koncentracije MDA u krvnoj plazmi krava koje su oteljene carskim rezom ili koje su imale prolapsus materice ($5,10 \pm 0,25 \mu\text{M}$) u odnosu na kontrolnu grupu ($3,81 \pm 0,21 \mu\text{M}$), ali nisu ustanovili statisti ki zna ajnu promenu koncentracije MDA u krvnoj plazmi krava sa zaostalom posteljicom ($3,33 \pm 0,17 \mu\text{M}$). Me utim, uo lljivo je da su u ovom ogledu koncentracije MDA bile niže nego u našem.

Uporedili smo prethodno navedene parametre oksidativnog/antioksidativnog statusa izme u životinja koje jesu ili nisu imale zaostalou posteljicu, nezavisno od tretmana selenom i vitaminom E. Rezultati ovog pore enja su prikazani na grafikonu 5 i u tabeli 18a: koncentracija selena ($176 \pm 33 \text{ ng/mL}$) ($p < 0,05$) i aktivnost GPx ($181 \pm 34 \mu\text{kat/L}$) ($p < 0,01$) bile su zna ajno više, a koncentracija MDA ($4,68 \pm 0,93 \mu\text{M}$) ($p < 0,01$) zna ajno niža kod krava koje nisu imale zaostalou posteljicu u odnosu na krave sa zaostalou posteljicom (Se: $138 \pm 40 \text{ ng/mL}$; GPx: $133 \pm 48 \mu\text{kat/L}$; MDA: $5,32 \pm 0,80 \mu\text{M}$).



Grafikon 5. Pore enje koncentracije selena i aktivnosti GPx u krvi i koncentracije MDA u krvnoj plazmi krava sa zaostalou posteljicom i bez zaostale posteljice, nezavisno od tretmana selenom i vitaminom E.

Analiza rezultata prikazanih na grafikonima 1–5 pokazuje da bi neravnoteža izme u proizvodnje i neutralizacije slobodnih radikala (oksidativni stres) mogao da bude zna ajan inilac za pove anu u estalost zaostale posteljice kod krava sa indukovanim partusom. Disbalans ne nastaje u neposrednom peripartalnom periodu ve se postepeno razvija tokom dužeg vremena prepartalno. Budu i da koncentracija MDA i u estalost zaostale posteljice,

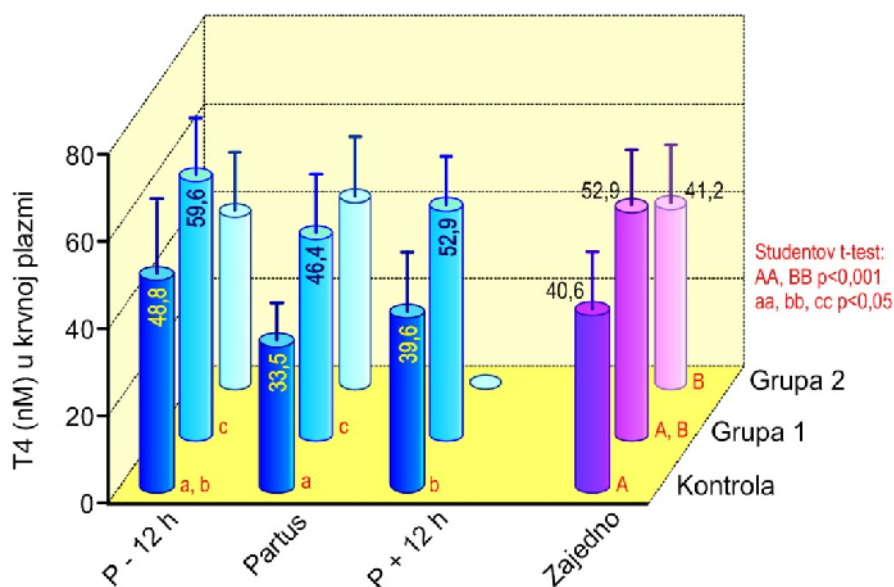
značajno opadaju pri povećanju aktivnosti GPx, jasno je da u prepartalnom periodu, snabdevenost organizma selenom, u količini neophodnoj za maksimalnu aktivnost GPx, može u znatnoj meri da smanji nepoželjan efekat indukcije poroaja na uestalost zaostale posteljice. Naši rezultati su u saglasnosti sa nalazima Kommissrud-a i sar. (2005) koji navode da je koncentracija selena u krvi od 150 ng/ml graničnava vrednost između smanjene i povećane uestalosti zaostajanja posteljice. Gore navedene tvrdnje potkrepljuje i postojanje negativne korelacije između aktivnosti GPx i koncentracije MDA, koja je snažnije izražena kod životinja kod kojih je dijagnostikovana zadržana posteljica. Naši podaci takođe ukazuju i da je uloga vitamina E u ovim procesima neznatna.

6.3. Status tireoidnih hormona u krvnoj plazmi krava

Selen je uključen u metabolizam tireoidnih hormona na više načina. Sve tri do sada poznate jodotironin dejodinaze (IDI 1-3) kod sisara su selenoenzimi kod kojih se selenocistein nalazi u katalitičkom centru (Arthur i sar. 1990). Selen stoga direktno učestvuje u reakcijama dejodinacije (aktivacije ili inaktivacije) tironina. Larsen i sar. (1979) utvrdili su da IDI-2 učestvuje u regulaciji lučenja tireostimulirajućeg hormona (TSH) u hipofizi, a predpostavlja se i u hipotalamusu (Guadano-Ferraz i sar. 1997) gde bi mogla da reguliše lučenje tireotropnog-oslobađajućeg hormona (TRH). Takođe, i selenoenzim glutation peroksidaza ima važnu posrednu ulogu u regulaciji sinteze tironina, jer neutralizuje višak peroksida nastao u tireocitima delovanjem tireoidne peroksidaze (TPO), enzima koji ugrađuje jodid u tirozil rezidue tireoglobulina (Howie i sar. 1995). Iako i ovako kratak pregled funkcionalnih veza između selena i metabolizma tironina ukazuje da njihov odnos nije ni izbliza tako jednostavan kao odnos između sadržaja selena i aktivnosti GPx.

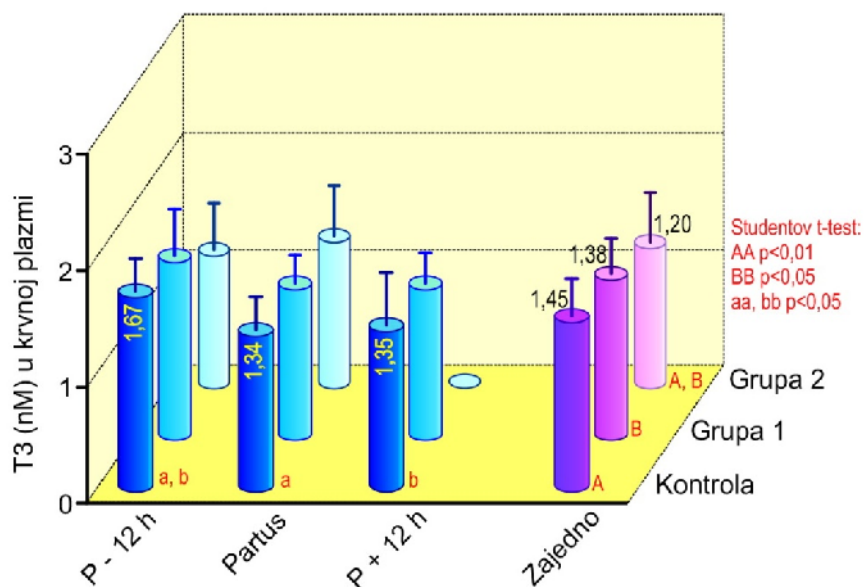
Koncentracija T4 u plazmi je prevažno posledica obima sinteze i lučenja tiroksina u štitnoj žlezdi i podređena je neurohormonalnoj HHT (hipotalamus-hipofiza-tireoidea) osovini. S druge strane, koncentracija T3 je rezultat težnje tireoidee i perifernih tkiva da održe količinu cirkulišućeg T3 u relativno uskim, fiziološkim granicama i direktna je posledica aktivacije i inaktivacije tironina uz katalitičko dejstvo selenoenzima jodotironin dejodinaza.

Koncentracija tiroksina (T4) u plazmi krava ogledne grupe 1 (grafikon 6) bila je značajno viša nego u kontrolnoj i oglednoj grupi 2 ($p < 0,001$). Uočljivo je da je unutar kontrolne i ogledne grupe 1 koncentracija T4 značajno opadala od 12h pre partusa do poroaja, kada dostiže najniže vrednosti, a potom počinje da raste. Između kontrolne i ogledne grupe 2 nije utvrđena statistički značajna razlika ($p > 0,05$).



Grafikon 6. Koncentracija tiroksina (nM) u krvnoj plazmi krava u peripartalnom periodu (partus \pm 12h) u zavisnosti od tretmana selenom i vitaminom E.

Koncentracija trijodtironina (T3) u plazmi krava (grafikon 7) opada sa pove anjem sadržaja dodatog selena u oglednim grupama: od $1,45 \pm 0,32$ nM u kontrolnoj na $1,20 \pm 0,42$ nM u oglednoj grupi 2 ($p<0,01$). U kontrolnoj grupi uo ava se zna ajan pad koncentracije T3 tokom 12h pre poro aja ($p<0,05$), sli no je i u oglednoj grupi 1, mada nije na ena statisti ki zna ajna razlika ($p>0,05$).



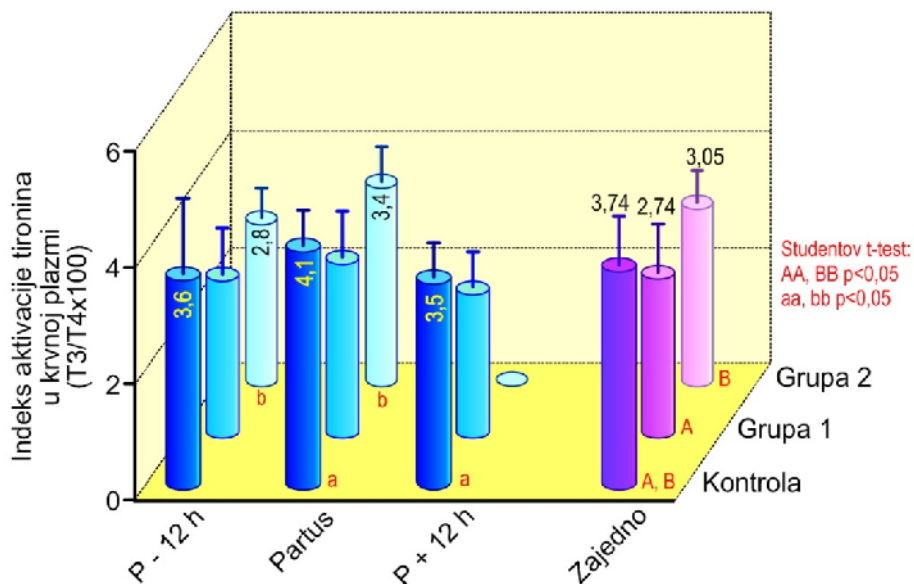
Grafikon 7. - Koncentracija trijodtironina (nM) u krvnoj plazmi krava u peripartalnom periodu (partus \pm 12h) u zavisnosti od tretmana selenom i vitaminom E.

Koncentracije tironina (T4 i T3) u plazmi krava u našem ogledu bile su niže od onih koje su ustanovili Jovanovi i sar. (2004) kod junica u starosti 12 meseci, kao i

okovi i sar. (2005) kod krava. Naši rezultati su u saglasnosti sa rezultatima Pethesa i sar. (1985) i okovi a i sar. (2007) za krave u kasnom graviditetu.

Sli ne rezultate dobili su Füll i Schäfer (1993) koji ukazuju da kod visoko steonih krava u periodu pre teljenja dolazi do pada koncentracije tiroksina i trijodtironina u krvi u odnosu na vrednosti tokom graviditeta. Koncentracija T4 u krvi krava je niža u ranoj laktaciji nego u kasnijim fazama (Pethes i sar. 1985; Huszenicza i sar. 2001). Koncentracija u plazmi T3 i rT3 su na niskom nivou u ranom postpartalnom periodu, verovatno zbog pove ane metaboli ke aktivnosti tireoidnih hormona u perifernim tkivima, što povratno smanjuje sekretornu aktivnost tireoidne žlezde. U prilog tome je i injenica da je sekrecija T4 i T3 indukovana sa TRH slabije izražena u drugoj nedelji laktacije nego pre teljenja ili 3 meseca nakon poro aja (Huszenicza i sar. 2001).

Odnos koncentracija $T3/T4 \times 100$ (tzv. indeks aktivacije tironina) je relativna vrednost koja pokazuje da li u odre enoj metaboli koj situaciji preovla uje aktivaciona ili inaktivaciona aktivnost jodotironin dejodinaza. Indeks aktivacije bio je zna ajno ve i kod životinja kontrolne u odnosu na ogledne grupe tokom ogleda.

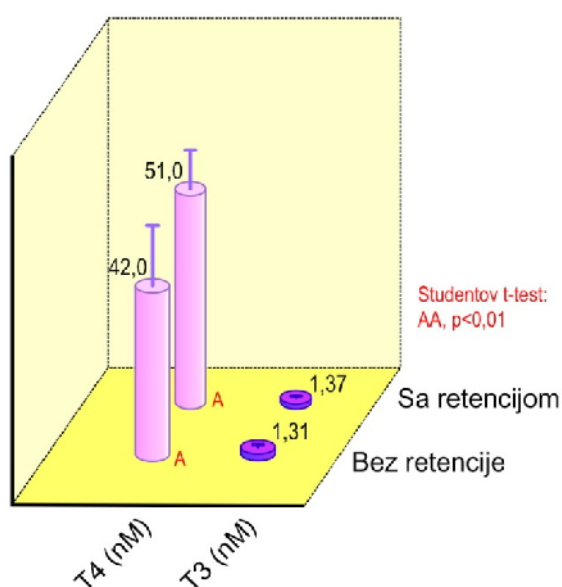


Grafikon 8. Indeks aktivacije tironina ($T3/T4 \times 100$) u krvnoj plazmi krava u peripartalnom periodu (partus \pm 12h) u zavisnosti od tretmana selenom i vitaminom E.

Rezultati našeg eksperimenta pokazuju da je koncentracija T4 u plazmi najniža pri poro aju kada dejodinaze imaju najizraženiju aktivacionu aktivnost (konverzija T4 u T3). Pri pove anoj snabdevenosti organizma selenom relativno ja a proces inaktivacije (konverzija T4 u rT3; T3 i rT3 u rT2), što se vidi u zna ajno manjem indeksu aktivacije

(grafikon 8) i blagom, ali značajnom padu koncentracije T3 u plazmi (grafikon 7). Postoji statistički značajna ($p < 0,05$) negativna korelacija između aktivnosti GPx i indeksa aktivacije tirozina. Slične rezultate dobili su Pešut i sar. (2011) u odnosu na pilićima i Milanović (2012) u odnosu na pacovima.

Kao što se vidi iz grafikona 9, krave sa zaostalom posteljicom imaju veću koncentraciju T4 u krvnoj plazmi nego životinje kod kojih je posteljica na vreme izbacena ($p < 0,01$). Nije nađena statistički značajna razlika u koncentraciji T3 između plotkinja sa i bez zaostale posteljice. Verovatno da pojačano lučenje T4 nije uticalo na dobijene rezultate (grafikon 6). Da li se odgovor može naći u promenama na nivou dejodinaza, moglo bi da se sazna novim eksperimentom u kojem bi se direktno merile aktivnosti enzima ID, kao i plazmatski nivoi rT3 i T2.



Grafikon 9. Poređenje koncentracija T4 i T3 u krvnoj plazmi krava sa zaostalom posteljicom i bez zaostale posteljice, nezavisno od tretmana selenom i vitaminom E.

6.4. Status steroidnih hormona: kortizola, 17 β -estradiola i progesterona, u krvnoj plazmi krava

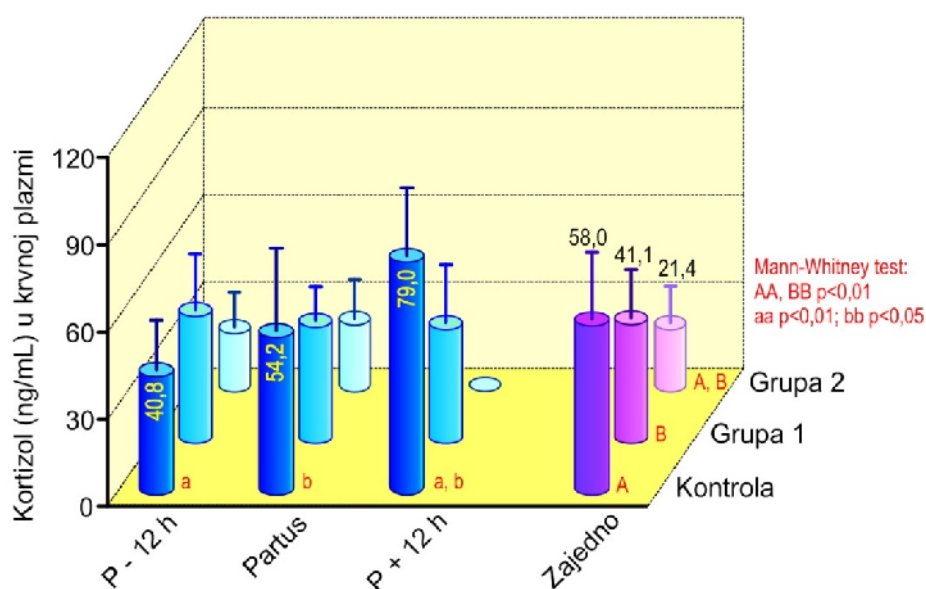
Peripartalni period kod krava je izrazito stresan za životinje. Persson-Waller (2000) je podelio stres u 4 kategorije: fiziološki, metabolički, fizički i psihički. Zaostala posteljica i puerperalni endometritis su i uzrok i posledica stresa. Kao posledica stresa javljaju se i atonija materice i slabost imunskog sistema. Stresogeno na životinje deluje porođaj, nagla promena ishrane, otpočinjanje laktacije, sinteza kolostruma, kao i oksidativni stres.

Koncentracija kortizola u plazmi krava za vreme poro aja se pove ava kao integralna posledica svih ovih doga aja. Postoji veliki broj nau nih radova u kojima je dokazan korelativni odnos izme u koncentracije kortizola u krvnoj plazmi i nivoa stresa u organizmu životinja.

Budu i da kortizol deluje imunosupresivno na fagocitozu i migraciju neutrofila što ima veliki zna aj za proces odvajanja posteljice, to njegova pove ana koncentracija u krvnoj plazmi može da ima uticaj na pojavu zaostale posteljice (Kindahl i sar. 2002; Patel i sar. 1996; Wischral i sar. 2001).

*

Koncentracija kortizola u plazmi krava u našem eksperimentu merena je 12h pre, za vreme i 12h nakon poro aja, a razlike izme u grupa testirane Mann-Whitney testom. Rezultati su prikazani na grafikonu 10.



Grafikon 10. Koncentracija kortizola (ng/mL) u krvnoj plazmi krava u peripartalnom periodu (partus \pm 12h) u zavisnosti od tretmana selenom i vitaminom E.

Zajedno posmatrano, najve e vrednosti kortizola zabeležene su u krvnoj plazmi kontrolne grupe ($58,0 \pm 23,0$ ng/mL). Ova koncentracija zna ajno se snižava, do vrednosti $21,4 \pm 12,5$ ng/mL ($p<0,01$), kada se pove a doza selena i vitamina E. Pored toga, nivo kortizola kod krava koje nisu dobile selen (kontrolna grupa), rastao je tokom peripartalnog perioda i iznosio 12h prepartalno $40,8 \pm 17,1$ ng/mL, u toku partusa $54,2 \pm 28,5$ ng/mL i $79,0 \pm 23,3$ ng/mL 12h nakon partusa. Nivo kortizola u oglednim grupama u istom periodu bio je konstantan.

Iz navedenog jasno proizlazi da je u kontrolnoj grupi krava u estalost zaostale posteljice velika a i nivoi kortizola znatno su ve i nego u oglednim grupama 12h pre, za vreme i 12h posle poro aja. Do istih zaklju aka došli su i Wischrall i sar. (2001).

Peter i Bosu, (1987) su tako e utvrdili da po evši od 6-og dana pre poro aja koncentracija kortizola u serumu krava sa zaostalom posteljicom zna ajno raste dostižu i najviše vrednosti 3 dana pre poro aja ($p < 0,05$). Bazalna koncentracija kortizola kod krava sa zaostalom posteljicom se postiže 1 dan posle poro aja. Autori zaklju uju da prepartalno pove anje PGFM i kortizola može da bude dobar (pouzdan) indikator za nastanak zaostale posteljice kod krava. Naglo pove anje koncentracije kortizola u serumu krava sa zaostalom posteljicom predstavlja odgovor organizma visokosteonih krava na stres i zapaljenski proces, pre nego što po ne poro aj (Ras i sar. 1996).

Smith i sar. (1973) su utvrdili da od 26-og dana do 24 h pred poro aj sadržaj ukupnih glukokortikosteroida je iznosio 5 ng/mL i raste na 10,3 ng/mL 12h antepartalno. U vreme poro aja vrednosti su bile 16,7 ng/mL. Eissa i El-Belely (1990) su ustanovili prose ne vrednosti glukokortikosteroida od 4,8 ng/ml sa dva pika. Prvo pove anje utvrdili su 6-og dana antepartalno, a drugo 24h pred poro aj; vrednosti su postepeno rasle i na samom poro aj su iznosile 8,6 ng/ml. Me utim, Da Silva i sar. (1998) su našli najve e vrednosti kortizola u plazmi tek 3 dana posle poro aja (22,05 ng/mL). Goff i sar. (1989) i Patel i sar. (1996) su utvrdili da su koncentracije kortizola najve e oko poro aja, potom u prvih 3-5 dana postpartalno opadaju na iste vrednosti kao i pre poro aja. Isti autori su našli da su koncentracije kortizola kod visokoproduktivnih plotkinja najve e u vreme oko poro aja, zatim ostaju na istom nivou do oko 10-og dana posle poro aja.

Tretman razli itim dozama selena i vitamina E u našem eksperimentu uticao je na to da se koncentracije kortizola ne pove avaju u peripartalnom periodu. Gupta i sar. (2005) su utvrdili da tretman krava selenom i vitaminom E (30 mg natrijum selenita i 1100 IU -tocopherol acetata) nije uticao zna ajno na procenat zaostale posteljice, ali je pokazao pozitivan efekat na smanjenje koncentracije lipidnih peroksida u eritrocitima 7-og dana antepartalno u odnosu na vrednosti utvr ene 21-og dana antepartalno. Autori navode da koncentracije kortizola u plazmi i ogledne i kontrolne grupe krava su kontinuirano rasle po ev od 21-og dana pre poro aja do poro aja, s tim što je prilikom poro aja koncentracija kortizola u plazmi bila niža kod krava koje su dobile selen i vitamin E u odnosu na kontrolnu grupu, sa ili bez zaostale posteljice.

Kortizol kao opšti pokazatelj stresa razli ito se ponašao od MDA, indikatora oksidativnog stresa. Za razliku od MDA, koncentracija kortizola je zna ajno opala u

oglednoj grupi 2 u pore enju sa oglednom grupom 1. Zanimljivo je ista i da, porede i koncentracije kortizola kod životinja sa i bez zaostale posteljice, nisu utvr ene zna ajne razlike (tabela 18b). Postoji supresivni efekat dodavanja selen a i vitamina E na koncentraciju kortizola, ali ne i odnos izme u koncentracije kortizola i procenta zaostale posteljice. Može se pretpostaviti da je u našem slu aju vitamin E, nekim mehanizmom koji nije mogao biti razlu en ovim eksperimentom, imao uticaj na koncentraciju kortizola. Sa druge strane, za selen se zna da delovanjem u sastavu antioksidativnog enzima GPx, smanjuje koncentraciju slobodnih radikala i direktno uti e na smanjenje u estalosti zaostale posteljice.

*

Koncentracija 17 β -estradiola u krvnoj plazmi krava oglednih grupa 12h pre, tokom poro aja i 12h posle poro aja znatno su varirale (tabela 14). Kretale su se u oglednoj grupi 1 u rasponu od $0,99 \pm 0,75$ nM do $2,16 \pm 1,73$ nM u oglednoj grupi 2. Nije utvr ena statisti ka zna ajnost razlika (Mann-Whitney test) izme u grupa, kao ni me u jedinkama oglednih i kontrolne grupe. Nije dokazana ni statisti ki zna ajna razlika izme u krava sa i bez zaostale posteljice, nezavisno od toga da li su ili ne tretirane selenom i vitaminom E (tabela 18b).

Literaturni podaci ukazuju da u poslednjoj nedelji graviditeta kod goveda postoji zna ajno pove anje koncentracije estrogena, dok se poslednjih dana *ante partum* registruju razli ite vrednosti estrogena. Jedna grupa autora zapazila je kontinuirani rast ukupne koncentracije estrogena (Robertson, 1974; Eissa i El-Belely, 1990). Druga grupa zabeležila je ujedna enu koncentraciju estrogena *ante partum* (Abdo i sar. 1991; Rexha i sar. 1993), dok su neki autori uo ili pad koncentracije estrogena pred poro aj (Hunter i sar. 1977; Inaba i sar. 1986). Ipak, ve ina je saglasna da postoji nagli pad koncentracije estrogena posle poro aja (Hoffmann i sar. 1973; Hunter i sar. 1977; Inaba i sar. 1986; Sawada i sar. 1988; Eissa i El-Belely, 1990; Abdo i sar. 1991).

Hoffmann i sar. (1973) su merili koncentraciju ukupnog estrogena od 160h *ante partum* i zabeležili kontinuirano pove anje koncentracije estrogena sa 2,5 ng/ml na 6 ng/ml neposredno pred partus. Brz rast ukupnih estrogena od 6-og dana pred poro aj do 3 dana pred partus sa 2 ng/ml na 4 ng/ml našli su Rexha i sar. (1993).

Vrednosti ukupnog estrogena od 10-og do 6-og dana ante partum postepeno rastu sa 1,2 ng/ml na 1,9 ng/ml. Neposredno pred poro aj i u samom poro aju ove vrednosti su 0,7 ng/ml (Inaba i sar. 1986).

Povećane vrednosti ili kontinuirano povećanje vrednosti estrogena od 4. nedelje do 7 dana pred porođaj sa manje od 0,2 ng/ml na 2,0 ng/ml ustanovili su Sawada i sar. (1988). Isti autori izmerili su u porođaju vrednosti estrogena od 3,2 ng/ml.

Robertson (1974) je utvrdio niske vrednosti 17 β -estradiola od 40-og dana antepartalno od 24,5 ng/ml; od 20-og dana antepartalno do neposredno pred porođaj te vrednosti se povećavaju sa 0,5 ng/ml na 5,2 ng/ml. Hunter i sar. (1977) su izmerili vrednosti 17 β -estradiola od 30 dana pre porođaja; 26 dana do 144h pre porođaja vrednosti postepeno rastu sa 0,4 ng/ml na 0,8 ng/ml. Od 96h do 24h antepartalno vrednosti brzo rastu na 5 ng/ml, a potom sledi pad na 1 ng/ml u vreme partusa.

Eissa i El-Belely (1990) su pokazali da koncentracija ukupnog estrogena raste postepeno od 4-6 meseci graviditeta i iznosila je 0,65 nM. Vrednosti variraju u manjem stepenu sve do pred porođaj, a zatim naglo rastu na vrednosti od 0,75 nM 5 dana pre porođaja. Najviše vrednosti su ustanovljene na dan teljenja (1,69 nM), a zatim sledi naglo smanjenje njegove koncentracije na $0,73 \pm 0,06$ nM oko 12h nakon porođaja.

Wischnal i sar. (2001) su utvrdili da je kod indukovanog porođaja trajanje povećanih koncentracija estrogena kraće i traje 2-3 dana u odnosu na 6-10 dana kod krava sa prirodnim porođajem i fiziološkom dužinom graviditeta. Može se zaključiti da je za normalno sazrevanje i izbacivanje posteljice važna ne samo koncentracija estrogena, već i trajanje njegove sekrecije. Deficit estrogena dovodi do smanjene aktivnosti leukocita (Gilbert i sar. 1993), a leukociti su značajni elementi u procesu peroksidacije (Erskine, 1993). Takođe, kao posledica deficita estrogena dolazi do smanjenja i koncentracije PGF₂ u vreme teljenja (Rasmussen i sar. 1996).

*

Koncentracija progesterona u krvnoj plazmi krava u našem eksperimentu (tabela 15) bila je veoma niska i kretala se u rasponu od $0,202 \pm 0,053$ ng/ml u kontrolnoj do $0,218 \pm 0,102$ ng/ml u ogleđnoj grupi 2. Pritom, statistički razlike nisu mogle biti utvrđene (Mann-Whitney test) između u ogleđnih grupa, kao i između u jedinki unutar grupa u neposrednom peripartalnom periodu (partus \pm 12h). Rezultati drugih autora (Parker i sar. 1988; Savada i sar. 1988; Ishikawa i sar. 2004), pokazuju da su vrednosti progesterona na dan porođaja i 12h posle porođaja ispod 1 ng/ml. Nešto niže vrednosti progesterona u krvnoj plazmi u ovom radu, u odnosu na vrednosti koje se javljaju kod prirodnog porođaja mogu se objasniti činjenicom da, prilikom primene PGF₂ za indukciju porođaja, dolazi do naglog i značajnog pada koncentracije progesterona, što ukazuje na brzu indukciju luteolize.

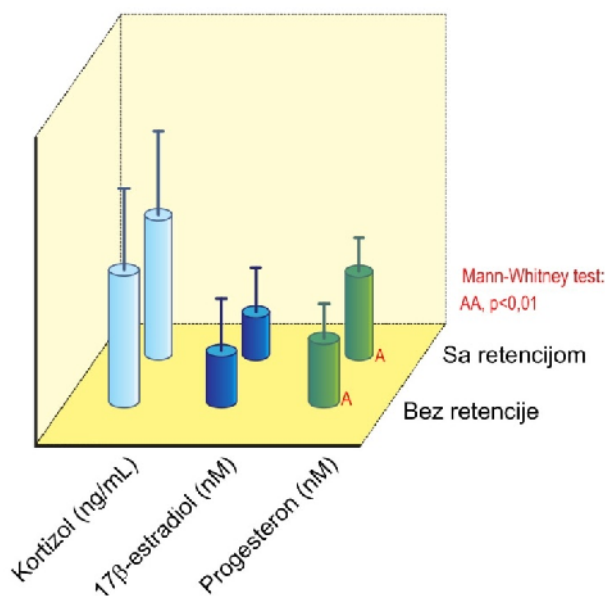
Eissa i El-Belely (1990) su utvrdili da koncentracija progesterona u plazmi krava varira između 8,9 i 9,7 ng/ml do trećeg meseca graviditeta i opada znatno na 6,9 ng/ml u četvrtom mesecu gestacije. Progesteron zatim opada do 258-og dana gestacije (Erb i sar. 1968), a ovaj pad se pripisuje konverziji progesterona u fetoplacentarnoj vezi za sintezu drugih steroida, pre svega estrogena, uz pomoć enzima 17 β -hidroksilaze (Hoedemaker i sar. 1990). Sedmog dana ante partum koncentracija progesterona je iznosila 5,7 ng/ml, a trećeg dana 6,9 ng/ml. Potom sledi brzi pad na vrednosti manje od 1,0 ng/ml (Eissa i El-Belely, 1990).

Konstantne vrednosti progesterona do 40 h antepartalno, između 4 i 5 ng/ml utvrdili su Hoffmann i sar. (1973b). Na 20 h pred porođaj vrednosti progesterona opadaju na 1,0 ng/ml. Hunter i sar. (1977) su vršili merenje vrednosti progesterona od 30-og dana do 36 h *ante partum* i zabeležili postepen pad od 12 ng/ml, a potom je sledio brzi pad do partusa na manje od 1,0 ng/ml. I Kaker i sar. (1984) beleže postepen pad vrednosti progesterona od 10-og dana *ante partum* od 4,2 ng/ml do 2. dana ante partum na 3,6 ng/ml, a onda brzi pad do partusa na vrednosti od 0,5 ng/ml. Od 10-og dana *ante partum* do 3. dana ante partum vrednosti progesterona su približno iste, a onda usledi brzi pad sa 5,5 ng/ml na 0,8 ng/ml do porođaja (Rexha i sar. 1993).

Parker i sar. (1988) su određivali enzimskim imunoesejom koncentraciju progesterona kod 36 krava 7 dana pre porođaja. Do 36h pre partusa koncentracija progesterona je bila >1,5 ng/ml sa znatnim variranjem. Između 36h i 15h ante partum koncentracija je naglo padala. Ukoliko je koncentracija progesterona >1,5 ng/ml mala je verovatno da će do porođaja doći i u sledećih 18h. Postoje znatne varijacije i individualne razlike koje su posebno vidljive u poslednja 24 h pre teljenja, kada koncentracija progesterona sa vrednosti od 1-3 ng/ml, pada na vrednosti ispod 0,5 ng/ml.

Sawada i sar. (1988) su utvrdili postepeni pad koncentracije progesterona od 6,7 ng/ml od 6. nedelje ante partum na 3,7 ng/ml 2 dana pred porođaj. Zatim sledi nagli pad na 2,5 ng/ml na dan porođaja i 0,7 ng/ml pri samom porođaju.

Utvrdili smo da je koncentracija progesterona bila znatno viša (Mann-Whitney test) kod krava sa zaostalim posteljicom u poređenju sa životinjama kod kojih nije dijagnostikovana ova poremećaj (grafikon 11; tabela 18b). Do sličnih rezultata došli su Chew i sar. (1977); Rexha i sar. (1993) i Kaczmarowski i sar. (2006). Poznato je da povećane vrednosti progesterona imaju štetan efekat na odbrambene snage materice, zajedno sa PGE₂, što ima za posledicu imunosupresiju materice (Wooding i sar. 1996).



Grafikon 11. Pore enje koncentracija kortizola, estrogena i progesterona u krvnoj plazmi krava sa zaostalom posteljicom i bez zaostale posteljice, nezavisno od tretmana selenom i vitaminom E.

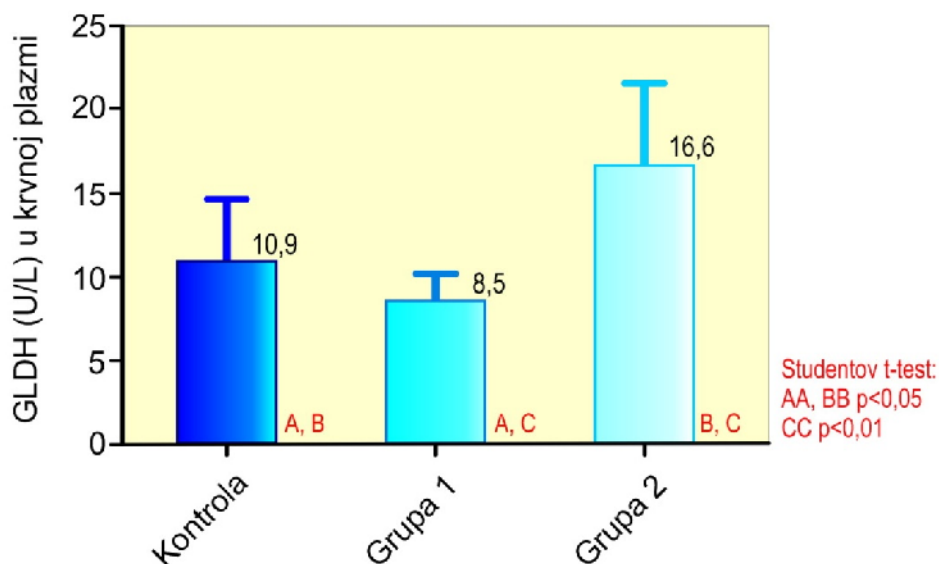
6.5. Aktivnost glutamat dehidrogenaze i koncentracija -hidroksibutirata u krvnoj plazmi krava

Glutamat dehidrogenaza je enzim koji se nalazi u mitohondrijama elija, a najviše je zastupljen u hepatocitima. GLDH katalizuje NAD-zavisni proces odvajanja -aminogrupe glutamata u vidu amonijaka, pri emu ostaje -ketoglutarina kiselina. Nastali amonijak se uklanja uklju ivanjem u put sinteze uree.

Pove anje aktivnosti GLDH u krvnoj plazmi životinja uo eno je kod teških ošte enja hepatocita koje je zahvatio proces nekroze. Step en ošte enja hepatocita je u linearnoj korelaciji sa pove anom aktivnoš u GLDH. Kod akutnog difuznog ošte enja jetre prvo se zapaža ve a aktivnost transaminaza, dok u akutno-hroni nom ošte enju jetre prvo reaguje vrlo osetljivo GLDH, a koncentracije transaminaza su samo neznatno pove ane. Aktivnost GLDH u krvnoj plazmi goveda iznad 40 U/L ukazuje na mogu e ošte enje hepatocita (Fürl, 2005).

Aktivnost glutamat dehidrogenaze kod krava u našem ogledu, 12h nakon partusa, kretala se u rasponu od $8,5 \pm 1,3$ U/L u oglednoj grupi 1, do $16,6 \pm 4,9$ U/L u oglednoj grupi 2. Ni kod krava pojedina no, aktivnosti se nisu približile navedenoj grani noj vrednosti, na osnovu ega možemo tvrditi da nije bilo krava sa ošte enjem

parenhima jetre. Aktivnost u ogleđnoj grupi 1 bila je statisti ki zna ajno niža ($p<0,05$), a u ogleđnoj grupi 2 zna ajno viša ($p<0,05$) u pore enju sa kontrolom. Statisti ki zna ajnija razlika je utvr ena i izme u ogleđnih grupa plotkinja ($p<0,01$).



Grafikon 12. - Aktivnost glutamat dehidrogenaze (U/L) u punoj krvi krava u zavisnosti od tretmana selenom i vitaminom E.

Ovi rezultati ne ukazuju jasno da bi GLDH mogla da bude pod uticajem dodatog selena i vitamina E. Eventualno bi se moglo pokazati da bi efekti dodatnog pove anja doze selena i/ili vitamina E mogli u jednom trenutku da se pretvore iz hepatoprotektivnog u hepatotoksi no. Teorijski posmatrano, i selen i vitamin E, imaju toksi ni potencijal (Koller i Exon, 1986), stoga što selen u visokim dozama po inje da deluje prooksidativno (Seko i sar. 1989), a vitamin E zbog prirodno sporog procesa razgradnje i eliminacije po inje da se nakuplja u hepatici tkivu.

*

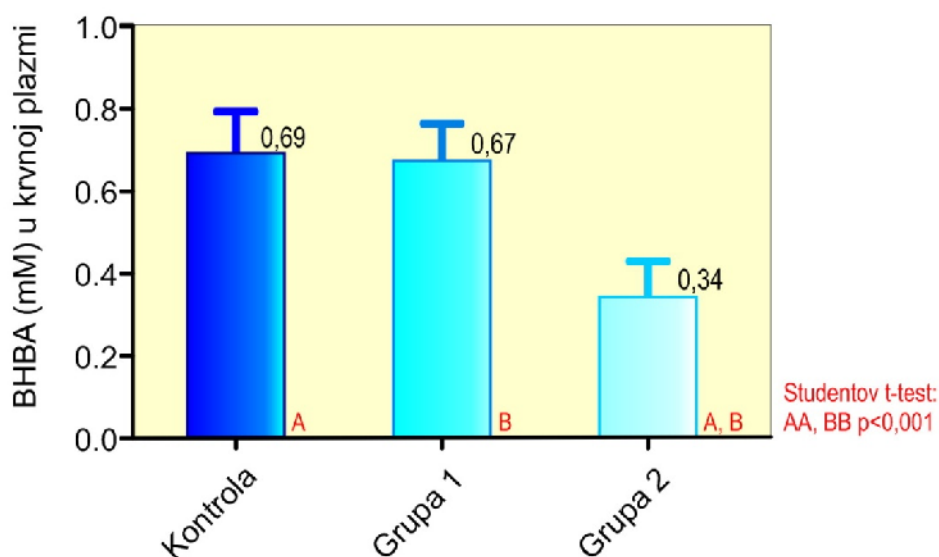
Koncentracija -hidroksibuterne kiseline (BHBA), kao i neesterifikovanih masnih kiselina (NEFA) u cirkulaciji su dobri pokazatelji adaptacije krava na negativni bilans energije. Dok NEFA pokazuju stepen mobilizacije masti iz depoa, BHBA ukazuje na status oksidativnog razlaganja ("sagorevanja") masti u jetri, tj. na pojavu ketoze.

Subklini ka ketoza kod krava u ranoj laktaciji se javlja kada je koncentracija BHBA iznad 1,2-1,4 mM. Takve krave imaju 3-8 puta ve i rizik za nastanak dislokacije sirišta na levo (Geishauser i sar. 2000b; Duffield i sar. 2009), smanjenu verovatno u za za e e nakon prvog oplo enja posle teljenja (Walsh i sar. 2004), smanjenu proizvodnju

mleka (Duffield i sar. 2009) i povećanu uestalost i težinu mastitisa (Suriyasathaporn, 2000). Kumar i sar. (1996) su utvrdili da su krave sa zaostalom posteljicom u 30% slučajeva imale subkliničku ketozu tokom prve dve nedelje nakon porođaja.

Krave sa vrednostima BHBA većim od 1mM u serumu, imaju veći i sadržaj masti, a niži proteina u mleku (Kessel i sar. 2008). Odnos masti/proteini je osetljiv pokazatelj promena metaboličkih parametara i koristan je za predviđanje energetskog statusa krava (Heuer, 2004).

Koncentracija β -hidroksibutirata u krvnoj plazmi krava u ovom ogledu bila je najviša u kontrolnoj grupi krava ($0,69 \pm 0,10$ mM), neznatno niža u ogednoj grupi 1 ($0,67 \pm 0,09$ mM) i statistički značajno niža ($p < 0,001$) u ogednoj grupi 2 ($0,34 \pm 0,10$ mM), što pokazuje da su neposredno nakon porođaja njihove vrednosti bile u fiziološkim granicama.



Grafikon 13. Koncentracija β -hidroksibuterne kiseline (U/L) u krvnoj plazmi krava u peripartalnom periodu (partus / 12h) u zavisnosti od tretmana selenom i vitaminom E.

Značajno sniženje koncentracije BHBA kod krava koje su dobile višu dozu selena i vitamina E (grafikon 13) moglo bi da sugerise da jedan ili oba ova antioksidansa imaju antiketozni potencijal. Rezultati ovog ogleda nisu dovoljni da sa sigurnošću u potvrde ovakvu pretpostavku, ali moglo bi se očekivati da se sprećavanjem nastanka degradacionih proizvoda peroksidacije polinezasićenih masnih kiselina (TBARS) olakšavaju ključni katabolički procesi u mitohondrijama.

Nisu uočene značajne razlike između krava sa i bez zaostale posteljice u aktivnosti GLDH i u koncentraciji BHBA (tabela 18b). S obzirom da su ovi parametri bili u okvirima fizioloških vrednosti, nije se ni moglo očekivati da se razlikuju životinje koje su imale ili nisu imale retenciju posteljice.

7. ZAKLJU CI

1.

Procenat zastupljenosti zaostale posteljice kod krava kojima nije dodavan selen bio je 66,7%, dok je kod krava kojima je data niža doza selena i tokoferol acetata (10 mg natrijum-selenit +400 mg RRR- -tokoferilacetat) bio 38,2%; a kod životinja koje su primile dvostruko ve u dozu u estalost zaostale posteljice je bila 30,8%.

2.

Koncentracija selena (Se) u punoj krvi krava kojima nije dodavan selen bila je $129,0 \pm 18,0$ ng/mL, a zna ajno viša je bila kod grupa životinja kojima je selen apliciran ($162,9 \pm 30,4$ i $187,3 \pm 32,6$ ng/mL); vrednosti kod svih grupa su bile iznad fiziološkog minimuma, a samo kod grupa kojima je dodat selen bila su iznad vrednosti koja se smatra grani nom za prevenciju zaostajanja posteljice.

3.

Aktivnost selenoenzima glutation peroksidaze (Gpx) u punoj krvi krava kojima nije dodavan selen bila je $90,6 \pm 16,1$ μ kat/L; kod krava kojima je data niža doza selena aktivnost je Gpx bila zna ajno viša i iznosila $178,2 \pm 34,6$ μ kat/L; dalje povišenje doze Se nije dovelo do zna ajno više aktivnosti glutation peroksidaze.

4.

Koncentracija malondialdehida (MDA) u krvnoj plazmi kod svih životinja bila je visoka, najviša u grupi krava kojima nije dodat selen ($5,74 \pm 0,92$ μ M), dok je kod onih kojima je Se apliciran bila zna ajno niža ($4,57 \pm 0,89$ μ M, odnosno $4,45 \pm 0,79$ μ M); utvr ena je statisti ki zna ajna negativna korelacija izme u aktivnosti Gpx u krvi i koncentracije MDA u plazmi plotkinja.

5.

Na nivou ukupne eksperimentalne populacije, nezavisno od tretmana selenom i vitaminom E, krave koje su na vreme izbacile posteljicu imale su višu koncentraciju Se i aktivnost Gpx, a nižu plazmatsku koncentraciju MDA od krava sa zadržanom posteljicom.

6.

Koncentracija tiroksina (T4) u krvnoj plazmi krava kontrolne i prve ogledne grupe bila je značajno niža u trenutku porođaja nego 12 sati pre i posle partusa. Koncentracija trijodtironina (T3) bila je značajno viša kod grupe koja nije dobila dodatni selen u odnosu na obe grupe krava kojima je selen apliciran. Indeks aktivacije T3/T4 bio je značajno viši kod kontrolne grupe u odnosu na životinje kojima je dodavan selen; utvrđena je statistički značajna negativna korelacija između aktivnosti Gpx i indeksa aktivacije T3/T4.

7.

Na nivou ukupne eksperimentalne populacije, nezavisno od tretmana selenom i vitaminom E, krave koje su na vreme izbacile posteljicu imale su značajno nižu koncentraciju T4 od krava sa zadržanom posteljicom; koncentracije T3 nisu se bitno razlikovale.

8.

Koncentracija kortizola u krvnoj plazmi krava koje nisu dobile dodatni selen bila je najviša i neprekidno je značajno rasla od 12 sati pre porođaja ($40,8 \pm 17,1$ ng/mL) do 12 sati nakon porođaja ($79,0 \pm 23,3$ ng/mL); u grupi kojoj je aplikovano 10 mg natrijum-selenita +400 mg RRR- α -tokoferilacetata, koncentracija kortizola je opala na $41,1 \pm 16,7$ ng/mL, a u grupi koja je primila dvostruko veću dozu selena na $21,4 \pm 12,5$ ng/mL; u obe grupe kojima je dodavan selen nivo kortizola se tokom vremena nije menjao.

9.

Koncentracija 17β -estradiola i progesterona u krvnoj plazmi krava kretale su se u fiziološkim granicama karakterističnim za period od 12 sati pre, do 12 sati posle porođaja; nisu utvrđene razlike između eksperimentalnih grupa.

10.

Na nivou ukupne eksperimentalne populacije, nezavisno od tretmana, krave koje nisu imale zadržanu posteljicu imale su značajno nižu koncentraciju progesterona u krvnoj plazmi od krava sa utvrđenom retencijom posteljice; koncentracije kortizola i 17β -estradiola nisu se razlikovale.

11.

Aktivnost glutamat dehidrogenaze (GLDH) u krvnoj plazmi krava varirala je unutar fizioloških granica u svim grupama, kao i kod svih životinja ponaosob, ukazujući da integritet parenhima jetre nije bio narušen.

12.

Koncentracija β -hidroksibutirata (BHBA) u krvnoj plazmi krava svih grupa kretala se u fiziološkim granicama, čime je isključeno postojanje ketoze; koncentracija BHBA bila je upola niža ($0,34 \pm 0,10$ mM) kod grupe koja je primila 20 mg natrijum-selenita + 800 mg RRR- α -tokoferilacetata u poređenju sa kontrolom i grupom koja je primila manju dozu selena.

8. SPISAK LITERATURE

1. Abutarbush S, and Radostits OM: Congenital nutritional muscular dystrophy in a beef calf. *Can Vet J* 2003, September; 44(9): 738–739.
2. Abdo GA, Njuguna OM, Fredriksson G, Madej A: Levels of oestrone sulphate during pregnancy in different breeds of cows and its possible association with retained foetal membranes. *Acta Vet Scand* 1991, 32: 183-188.
3. Aceves C, Ruiz-J A, Romero C, Valverde-RC: Homeorhesis during early lactation Euthyroid sick-like syndrome in lactating cows. *Acta Endocrinol* 1985, 110: 505.
4. Agthe O, Kolm HP: Oestrogen and progesterone levels in the blood plasma of cows with normal parturition or with a retained placenta. *J Reprod Fertil.* 1975, Apr; 43(1):163-166.
5. Allison RD, Laven RA: Effect of vitamin E supplementation on the health and fertility of dairy cows: a review. *Veterinary Record* 2000, 147: 703–708.
6. Ammerman CB, Miller SM.: Selenium in ruminant nutrition: A review. *J. Dairy Sci* 1974, 58: 1567-1577.
7. Anderson M: Infectious causes of bovine abortion during mid- to late-gestation. *Theriogenology.* August 2007, Volume 68, Issue 3, Pages 474–486.
8. Anestal K, Arner ES: Rapid induction of cell death by selenium-compromised thioredoxin reductase 1 but not by the fully active enzyme containing selenocysteine. *J Biol Chem* 2003, 278:15966–15972.
9. Arner ES, and Holmgren A: Physiological functions of thioredoxin and thioredoxin reductase. *Eur J Biochem* 2000, 267: 6102-6109.
10. Arthur GH, Noakcs DE, & Pcarson H: *Veterinary reproduction and obstetrics.* 1983, 6: 144-148. London, Balliere Tindall.
11. Arthur JR, and R Boyne: Superoxide dismutase and glutation peroxidase activities in neutrophils from selenium deficient and copper deficient cattle. *Life Sci* 1985, 36:1569.
12. Arthur JR, Nicol F, Beckett GJ: Hepatic iodothyronine deiodinase: The role of selenium. *Biochem J* 1990, 272: 537–540.
13. Arthur J: Selenium biochemistry and function. In: *Trace Elements in Man and Animals - 9. Proceedings of the Ninth International Symposium on Trace Elements in Man and Animals.* Fischer, P.W.F., L'Abbe, M.R., Cockell, K.A., Gibson, R.S. eds. Ottawa, Canada, NRC Research Press. 1997, 1-5.
14. Avanzo JL, de Mendonca CXJr, Pugine SM, & de Cerqueira CM: Effect of vitamin E and selenium on resistance to oxidative stress in chicken superficial pectoralis muscle. *Comp. Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2001, 129(2): 163-173.

15. Awadeh FT, Kincaid RL, and KA Johnson: Effect of level and source of dietary selenium on concentrations of thyroid hormones and immunoglobulins in beef cows and calves. *J. Anim. Sci* 1998b, 76:1204–1215.
16. Barceloux DG: Selenium, *J Toxicol Clin Toxicol* 1999, 37:145-172.
17. Bauman DE, Currie WB: Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *J Dairy Sci* 1980, 63:1514-1529.
18. Beagley JC, Whitman KJ, Baptiste KE, Scherzer J: Physiology and treatment of retained fetal membranes in cattle. *J Vet Intern Med* 2010, Mar-Apr; 24(2):261-268.
19. Behne D: Selenium homeostasis. In: *Selenium in Medicine and Biology*. Walter de Gruyter & Co., Berlin, Germany. 1988, Pp 83-91.
20. Bell AW: Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *J. Anim Sci* 1995, 73: 2804-2819.
21. Bellows RA, Short RE, Staigmiller RB: Exercise and induced parturition effects on dystocia and rebreeding in beef cattle. *JAnim Sci* 1994, 72(7):1667-1674.
22. Bendixen PH, Vilson B, Ekesbo I, Astrand DB: Disease frequencies in dairy cows in Sweden. II. Retained placenta. *Prev. Vet. Med* 1987, 4: 377-387.
23. Bernabucci U, Ronchi B, Lacetera N, Nardone A: Markers of oxidative status in plasma and erythrocytes of transition dairy cows during hot season. *J Dairy Sci* 2002, Sep; 85(9):2173-2179.
24. Bieri JG, Evarts RP: Effect of plasma lipid levels and obesity on tissue stores of alpha tocopherol. *Proc Soc Exp Biol Med* 1975, 149:500.
25. Bjørneboe AG, A Bjørneboe, and C Dreven: Absorption, transport, and distribution of vitamin E. *J. Nutr* 1990, 120:233-242.
26. Bo GA, Fernandez M, Barth AD, Mapletoft RJ: Reduced incidence of retained placenta with induction of parturition in the cow. *Theriogenology* 1992, Jul; 38(1):45-61.
27. Bopp BA, Sonders RC and Kesterson JW: Metabolic fate of selected selenium compounds in laboratory animals and man. *Drug Metabolism Reviews* 1982, 13(2): 271-318.
28. Boscoboinik D, Szewczyk A, Hensey C, and Azzi A: *J Biol Chem* 1991, 266: 6188-6194.
29. Boos A, Kohtes J, Stelljes A, Zerbe H, Thole HH: Immunohistochemical assessment of progesterone, oestrogen and glucocorticoid receptors in bovine placentomes during pregnancy, induced parturition, and after birth with or without retention of foetal membranes. *J. Reprod. Fertil* 2000, 120:351–360.
30. Brand A, de Bois CH, Vandenhende R: Indications for prostaglandins in the field of reproduction in farm animals. *Tijdschr Diergeneeskd* 1975, Feb 15; 100(4):191-201.
31. Braun JP, Bézille P, Rico AG: Biochemical semiology of the liver in ruminants. *Reprod Nutr Dev* 1986, 26(1B):227-243.

32. Broadley MR, P J White, RJ Bryson, MC Meacham, HC Bowen, SE Johnson, MJ Hawkesford, SP McGrath, FJ Zhao, N Breward, M Harriman and M Tucker: Biofortification of UK food crops with selenium. *Proc. Nutr. Soc* 2006, 65:169-181.
33. Busch W: Aussto ung der Plazenta. In *Geburtshilfe bei haustieren* (Hrsg; W. Bush u J. Schulz), Gustav Fischer, Verlag, Jena, S. 1993, 236-239.
34. Buck WB, Osweiler GD, Van Gelder GA: *Clinical and diagnostic veterinary toxicology*. 2nd ed. Van Gelder GA, ed. Dubuque, Iowa: Kendall/Hunt Publishing Co, 1976, 345-354.
35. Bunk MJ, and Combs GFJr: Effect of selenium on appetite in the selenium-deficient chick, *J. Nutr* 1980, 110: 743.
36. Burk RF, and Hill KE: Selenoprotein P. A selenium-rich extracellular glycoprotein. *J.Nutr* 1994, 124: 1891-1897.
37. Burk RF, Hill KE & Motley AK: Selenoprotein metabolism and function: evidence for more than one function for selenoprotein P. *Journal of Nutrition* 2003, 133: 1517S–1520S.
38. Burns PD, Graf GA, Hayes SH, & Silvia WJ: Cellular mechanisms by which oxytocin stimulates uterine PGF₂ synthesis in bovine endometrium: role of phospholipases C and A₂. *Dom Anim Endocr* 1997, 14: 181-191.
39. Burton GW, Joyce A, and Ingold KU: *Arch Biochem Biophys* 1983, 221: 281-290.
40. Campbell MH, Miller JK: Effect of supplemental dietary Vitamin E and zinc on reproductive performance of dairy cows and heifers fed excess iron. *J Dairy Sci* 1998, 81: 2693–2699.
41. Cantor AH, Langevin ML, Naguchi T, and Scott ML: Efficacy of selenium in selenium compounds and feedstuffs for prevention of pancreatic fibrosis in chicks. *J. Nutri* 1975, 105:106-111.
42. Cantor AH, and Scott ML: The effect of selenium in the hen's diet on egg production, hatchability, performance of progeny and selenium concentration in eggs. *Poultry Sci* 1974, 53: 1870.
43. Ceballos-Marquez A, Barkema HW, Stryhn H, Wichtel JJ, Neumann J, Mella A, Kruze J, Espindola MS, Wittwer F: The effect of selenium supplementation before calving on early lactation udder health in pastured dairy heifers. *J Dairy Sci* 2010, Oct;93(10):4602-4612.
44. Century B, and Horwitt MK: Effect of dietary selenium on incidence of nutritional encephalomalacia in chicks. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med* 1964, 117: 320-322.
45. Challis JR, Sloboda DM, Alfaidy N: Prostaglandins and mechanisms of preterm birth. *Reproduction* 2002, 124:1–17.
46. Chen J and Berry MJ: Selenium and selenoproteins in the brain and brain diseases. *J Neurochem* 2003, 86: 1-12.
47. Chen XS, Yang GQ, Chen JS, Chen XC, Wen ZM. and Ge KY: Studies on the relations of selenium and Keshan disease. *Biol. Trace Elem. Res* 1980, 2: 91.

48. Chew BP, Keller HF, Erb RE, Malven PV: Periparturient concentrations of prolactin, progesterone and the estrogens in blood plasma of cows retaining and not retaining fetal membranes. *J Anim Sci* 1977, Jun; 44(6):1055-1060.
49. Chow CK: *World Rev Nutr Diet* 1985, 45: 133.
50. Collier RJ, McNamara JP, Wallace CR, and Dehoff MH: A review of endocrine regulation of metabolism during lactation. *J. Anim. Sci* 1984, 59:498-510.
51. Cooper CW and Glover JR: *The toxicology of selenium and its compounds*. New York, Van Nostrand Reinhold Company 1974.
52. Clark LC, Combs GF, Turnbull BW, Slate EH, Chalker DK, Chow J, Davis LS, Glover RA, Graham GF, Gross EG, Krongrad A, Leshner JL, Park HK, Sanders BB, Smith CL, and Taylor JR: Effects of selenium supplementation for cancer prevention in patients with carcinoma of the skin: a randomized controlled trial: Nutritional Prevention of Cancer Study Group. *JAMA* 1996, 276:1957–1963.
53. Combs GF. and Combs SB: Effects of selenium excesses. In: *The Role of Selenium in Nutrition*. Academic Press Inc, London. 1986c, Pp Chapter 11: 463-525.
54. Combs GFJr, and Combs SB: *The role of Selenium in Nutrition*. Academic Press, Inc. New York. 1986.
55. Combs GFJr: Selenium in global food systems. *Br. J. Nutr* 2001, 85: 517-547.
56. Contempre B, Le Moine O, Dumont JE, Deneff J-F and Many MC: Selenium deficiency and thyroid fibrosis. A key role for macrophages and transforming growth factor (TGF- β). *Molecular and Cellular Endocrinology* 1996, 124: 7-15.
57. Curcio C, Baqui MMA, Salvatore D, Rihn BH, Mohr S, Harney JW, Larsen PR, Bianco AC: The human type 2 iodothyronine deiodinase is a selenoprotein highly expressed in a mesothelioma cell line. *J. Biol. Chem* 2001, 276: 30183-30187.
58. Daniels LA: Selenium metabolism and bioavailability. *Biological Trace Element Research* 1996, 54: 185-199.
59. Da Silva FM, Christian Burvenich UGent, Anna Leen UGent and L Brosse: Assessment of blood neutrophil oxidative burst activity in dairy cows during the period of parturition. *Animal Science* 1998, 67(Part 3). P:421-426.
60. De Antoni A, Allegri G, Costa C, Vanzan S, Bertolin A, Carretti N, Zanardo V: Total and free tryptophan levels in serum of newborn infants. Relationships with the Serotonin and nicotinic acid pathways. *Acta Vitaminol Enzymol* 1980, 2(1-2):17-20.
61. Dohmen MJ, Joop K, Sturk A, Bols PE, Lohuis JA: Relationship between intra-uterine bacterial contamination, endotoxin levels and the development of endometritis in postpartum cows with dystocia or retained placenta. *Theriogenology* 2000, Oct 15; 54(7):1019-1032.

62. Drackley JK: Biology of dairy cows during the transition period: The final frontier? *J. Dairy Sci* 1999, 82: 2259-2273.
63. Drevet JR: The antioxidant glutathione peroxidase family and spermatozoa: a complex story. *Mol. Cell. Endocrinol* 2006, 250: 70–79.
64. DuBois PR, Williams DJ: Increased incidence of retained placenta associated with heat stress in dairy cows. *Theriogenology*. 1980, Feb;13(2):115-121.
65. Duffield TF, Lissemore KD, McBride BW, Leslie KE: Impact of Hyperketonemia in Early Lactation Dairy Cows on health and Production. *J. Dairy Sci* 2009, in press.
66. Duffield AJ, Thomson CD, Hill KE, and Williams S: An estimation of selenium requirements for New Zealanders. *Am J Clin Nutr* 1999, 70: 896-903.
67. Djoković R, Šamanc H i Jovanović M: Koncentracija hormona tireodeje i lipida u krvnom serumu krava u peripartalnom periodu. 4. Simpozijum. “*Ishrana, reprodukcija i zaštita zdravlja goveda*” Subotica, 2005, 147-161.
68. Djoković R, Šamanc H, Jovanović M, and Nikolić Z: Blood concentrations of thyroid hormones and lipids and content of lipids in the liver in dairy cows in transitional period. *Acta Veterinaria Brno* 2007, vol. 76, no. 4, pp. 525–532.
69. Echtenkamp SE, Gregory KE: Effects of twinning on gestation length, retained placenta, and dystocia. *J Anim Sci* 1999, Jan; 77(1):39-47.
70. Eiler H, and Fecteau KA: Retained Placenta. In: *Current Therapy in Large Animal Theriogenology*. (ed). Youngquist RS, and Threlfall WR, 2007.
71. Eiler H, Hopkins FM: Bovine retained placenta: effects of collagenase and hyaluronidase on detachment of placenta. *Biol Reprod* 1992, Apr; 46(4):580-585.
72. Eiler H, Hopkins FM. Successful treatment of retained placenta with umbilical cord injections of collagenase in cows. *J Am Vet Med Assoc* 1993, Aug 1; 203(3):436-443.
73. Eissa HM, El-Belely MS: Sequential changes in plasma progesterone, total estrogens, and corticosteroids in the cow throughout pregnancy and around parturition. *Brit. Vet. J* 1990, 146: 24-29.
74. Eley RM, Thatcher WW, Bazer FW: Hormonal and physical changes associated with bovine conceptus development. *J Reprod Fertil* 1979, 55(1):181-190.
75. Erb RE, Estergreen Jr VL, Gomes WR, Plotka ED, Frost OL: Progesterin levels in corpora lutea and progesterone in ovarian venous and jugular vein blood plasma of the pregnant bovine. *J. Dairy Sci* 1968, 51: 401-410.
76. Erisir M, Akar Y, Gurgoze Y and Yuksel M: Changes in plasma malondialdehyde concentration and some erythrocyte antioxidant enzymes in cows with prolapsus uteri, caesarean section, and retained placenta. *Revue. Med. Vet* 2006, 157, 2, 80-83.
77. Erskine RJ: Nutrition and mastitis. *Vet. Clin. North Am.: Food Na. Prac* 1993, 9:551–561.

78. Erskine RJ, Bartlett PC, Herdt T, Gaston P: Effects of parenteral administration of vitamin E on health of periparturient dairy cows. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1997, 211: 466–469.
79. Evans H M: The pioneer history of vitamin E. *Vitam. Horm* 1962, 20:379-387.
80. Evans H M, Bishop K S: On the existence of a hitherto unrecognized dietary factor essential for reproduction. *Science* 1922, v. 56, p. 650-651.
81. Evans H M, Emerson O H, and Emerson G A: *J. Biol. Chem* 1936, 113: 319-332.
82. Fairclough RJ, Kaltenbach CC, Peterson AJ, Welch RAS, Cox RI, Wong MSF: Failure of exogenous progestagens to block dexamethasone-induced prostaglandin F₂ release from the uterus of the late-pregnant cow. *Biol. Reprod* 1984, 30: 112-118.
83. Fechner H, Schlame M, Guthmann F, Stevens PA, and Rustow B: *Biochem J* 1998, 331 (Pt 2): 577-581.
84. Fecteau KA, Eiler H: Kinetics of intestinal and placental 5-hydroxytryptamine (serotonin) during peripartum. *Biol Reprod* 1997, 56:191.
85. Fecteau KA, Eiler H: Placenta detachment: unexpected high concentrations of 5-hydroxytryptamine (serotonin) in fetal blood and its mitogenic effect on placental cells in bovine. *Placenta* 2001, Jan; 22(1):103-110.
86. Finkelstein E, Lewis MJ, Gillespie BE, Ingle TL, Miller JK, and Oliver SP: Health of periparturient cows associated with vitamin E and selenium administration during the non lactating period. *Journal of Dairy Science* 1992, 75 suppl, p. 195.
87. Forbes JM: The effects of sex hormones, pregnancy, and lactation on digestion, metabolism, and voluntary food intake. In: LP Milligan, WL Grovum and A Dobson (Ed.) *Control of Digestion and Metabolism in Ruminants* 1986, p 420. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ.
88. Foster HD: How HIV-1 causes AIDS: implications for prevention and treatment. *Medical Hypotheses* 2004, 62: 549-553.
89. Foster LH and Sumar S: Selenium in health and disease: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 1997, 37(3): 211-228.
90. Frandson RD, Wilke WL, and Fails AD: *Anatomy and Physiology of Farm Animals*. John Wiley & Sons 2009, 528 pp.
91. Franke KW, Moxon AL: A comparison of the minimum fatal doses of selenium, tellurium, arsenic, and vanadium. *J Pharmacol Exp Ther* 1936, 58: 454-459.
92. Franklin ST, Young JW, and Nonnecke BJ: Effects of ketones, acetate, butyrate and glucose on bovine lymphocyte proliferation. *J. Dairy Sci* 1991, 74:2507–2514.
93. Fuchs AR, Rollyson MK, Meyer M, Fields MJ, Minix JM, Randel RD: Oxytocin induces prostaglandin F₂ alpha release in pregnant cows: influence of gestational age and oxytocin receptor concentrations. *Biol Reprod* 1996, Mar; 54(3):647-653.

94. Fuchs A.-R, Rust W, & Fields M J: Accumulation of cyclooxygenase-2 gene transcripts in uterine tissues of pregnant and parturient cows: stimulation by oxytocin. *Biol Reprod* 1999, 60: 341-348.
95. Furchner JE, London JE and Wilson JS: Comparative metabolism of radionuclides in mammals-IX. Retention of ⁷⁵Se in the mouse, rat, monkey and dog. *Health Physics* 1975, 29: 641-648.
96. Fürll M: Spezielle Untersuchungen beim Wiederkäuer. In: Kraft W, Dürr UM (eds) *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin*. Stuttgart: Schattauer 2005, pp 30.
97. Furll M, Schafer M: Niacinwirkung bei milchkühenwährend futtererntzug. *Mh Vet Med* 1993, 48: 13-15.
98. Ganther HE: Biochemistry of selenium. In: Zingaro RA and Cooper WC (eds), *Selenium*. Van Nostrand Reinhold Company, New York 1974, Pp 546-614.
99. Ganther HE: Interactions of vitamin E and selenium with mercury and silver: In: Levander OA and Cheng L (eds), *Annals of the New York Academy of Sciences: Micronutrient interactions: vitamins, minerals and hazardous elements: The New York Academy of Sciences*, New York 1980, Pp 212-225.
100. Garmo TH, Frosli A, and Hoie R: Levels of copper, molybdenum, sulphur, zinc, selenium, iron and manganese in native pasture plants from a mountain area in southern Norway. *Acta Agriculturae Scandinavica* 1986, vol. 36, no. 2, pp. 147-161.
101. Garverick HA, Smith MF: Female reproductive physiology and endocrinology of cattle. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 1993, Jul; 9(2):223-247. Review.
102. Gavrilovi B, and Mateši D: Importance of selenium quantity in soil and fodder in regard to some disease occurring in cattle, pigs, sheep and poultry. In: Combs GFJr, Spallholz, JE, Levander OA, and Olfield JE. Eds. *Proc. 3rd Int. Sym, on selenium in Biology and Medicine* 1986, pp. 740-749. Avi. Publ. Co. Westport, CT, USA.
103. Ge K, Xue A, Bai J, and Wang S: Keshan disease-an endemic cardiomyopathy in China. *Virchows Arch* 1983, 401:1.
104. Geishauser T, Leslie K, and Duffield T: Metabolic aspects in the etiology of displaced abomasum. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract* 2000b, 16:255-265.
105. Geishauser T, Leslie K, Kelton D, Duffield T: Monitoring for subclinical ketosis in dairy herds. *Comp Cont Ed Pract Vet* 2001, 23(8):S65-S70.
106. Giesert RD: *Learning reproduction in farm animals*. Oklahoma State University, Stillwater 2007.
107. Gilbert DM, Heery DM, Losson R, Chambon P & Lemoine Y: Estradiol-inducible squelching and cell growth arrest by a chimeric VP16-estrogen receptor expressed in *Saccharomyces cerevisiae*: suppression by an allele of PDR1. *Molecular and Cellular Biology* 1993, 13: 462-472.

108. Glance DG, Elder MG, Myatt L: Prostaglandin production and stimulation by angiotensin II in the isolated perfused human placental cotyledon. *Am J Obstet Gynecol* 1985, 151:387–391.
109. Gof JP: Major Advances in Our Understanding of Nutritional Influences on Bovine Health. *J. Dairy Sci* 2006, 89:1292–1301.
110. Goff JP, and Horst RL: Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *J. Dairy Sci* 1997, 80:1260-1268.
111. Goff JP, Kehrli ME Jr, Horst RL: Periparturient hypocalcemia in cows: prevention using intramuscular parathyroid hormone. *J Dairy Sci* 1989, 72:1182-1187.
112. Goff JP, and Stabel JR: Decreased plasma retinol, alpha-tocopherol, and zinc concentration during the periparturient period: effect of milk fever. *J. Dairy Sci* 1990, 73:3195-3199.
113. Grau A, and Ortiz A: *Chem Phys Lipids* 1998, 91: 109-118.
114. Gries CL, and Scott ML: Pathology of selenium deficiency in the chicks. *J. Nutr* 1972, 102: 1287.
115. Gromer S, Eubel JK, Lee BL: Human selenoproteins at a glance. *Cell Mol Life Sci* 2005, 62:2414–2437.
116. Gröhn YT, Eicker SW, Nurocq V and Hertl JA: Effect of diseases on the culling of Holstein dairy cows in New York State. *Journal of Dairy Science* 1998, 81: 966–978.
117. Gröhn YT, and Rajala-Schultz PJ: Epidemiology of reproductive performance in dairy cows. *Animal Reproduction Science* 2000, 60–61: 605–614.
118. Grummer RR: Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows. *J Dairy Sci* 1993, 76:3882-3896.
119. Grunert E: Placental separation/retention in the bovine. 10th International Congress in Animal Reproduction and A.I., Illinois 1984, Vol. IV: (XI-17)-(XI-24).
120. Grunert E: Etiology and pathogenesis of bovine retained placenta. In: *Current Therapy in Theriogenology*. Edt. Morrow DA. 2nd ed. W13 Saunders Co. Philadelphia, London, Toronto, Mexico city 1986, pp. 237-242.
121. Grunert E, Ahlers D, Heuwieser W: The role of endogenous estrogens in the maturation process of the bovine placenta. *Theriogenology* 1989, 31: 1081-1091.
122. Guadano-Ferraz MJ, Obregon DL, St Germain, J Bernal: The type 2 iodothyronine deiodinase is expressed primarily in glial cells in the neonatal rat brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* 1997, 94: pp. 10391–1039.
123. Gunnink JW: Retained placenta and leukocytic activity. *Vet. Q* 1984, 6:49-51.
124. Gupta S, Harendra Kumar, Jyoti Son: Effect of Vitamin E and selenium supplementation on concentrations of plasma cortisol and erythrocyte lipid peroxides and the incidence of retained fetal membranes in crossbred dairy cattle. *Theriogenology* 2005, Volume 64, Issue 6, Pages 1273-1286.

125. Hafez ESE: *Reproduction in Farm Animals*, 3rd edition. Lea & Febiger, Philadelphia. 1975.
126. Hakkarainen J: Bioavailability of selenium. *Norwegian J. Agr. Sci* 1993, 11: 21-35.
127. Hansen PJ: Regulation of immune cells in the uterus during pregnancy in ruminants. *J Anim Sci* 2007, 85(13 Suppl):30-31.
128. Hara S, Shoji Y, Sakurai A, Yuasa K, Himeno S, and Imura N: Effects of selenium deficiency on expression of selenoproteins in bovine arterial endothelial cells. *Biol Pharm Bull* 2001, 24: 754-759.
129. Harrison J H, Hancock DD, N. St. Pierre, R Conrad, and WR. Harvey: Effect of prepartum selenium treatment on uterine involution in the dairy cow. *J. Dairy Sci* 1986, 69: 1421.
130. Hartley WJ, and Grant AB: A review of selenium responsive diseases in New Zealand livestock. *Federation Proc* 1961, 20: 679-688.
131. Hemingway RG: The influences of dietary intakes and supplementation with selenium and vitamin E on reproduction diseases and reproductive efficiency in cattle and sheep. *Vet Res Commun* 2003, Feb;27(2):159-174. Review.
132. Henricks DM, Lamond DR, Hill JR, Dickey JF: Plasma progesterone concentrations before mating and in early pregnancy in the beef heifer. *J Anim Sci* 1971, 33(2):450-454.
133. Henry PR and Ammerman CB: Selenium bioavailability. In: Ammerman CB, Baker DH and Lewis AJ (eds), *Bioavailability of Nutrients for Animals, Amino Acids, Minerals, Vitamins*. Academic Press, San Diego 1995, Pp 303-336.
134. Herdt T: Ruminant adaptation to negative energy balance: Influences on the etiology of ketosis and fatty liver. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 2000, 16(2): 215-230.
135. Herdt TH, Dart B, Neuder L: Will large dairy herds lead to the revival of metabolic profile testing? in *Proc Am Assoc Bov Pract* 2001, 34:27-34.
136. Heuer C: The use of test day information to predict energy intake of dairy cows in early lactation. *J Dairy Sci* 2004, 87:593-601.
137. Heuwieser W, and Grunert E: Significance of chemotactic activity for placental expulsion in cattle. *Theriogenology* 1987, 27:907-912.
138. Hoeben D, C Burvenich, AM Massart-Leen, M Lenjou, G Nijs, DVan Bockstaele, and JF Beckers: In vitro effect of ketone bodies, glucocorticosteroids and bovine pregnancy-associated glycoprotein on cultures of bone marrow progenitor cells of cows and calves. *Vet. Immunol. Immunopathol* 1999, 68: 229-240.
139. Hoeben D, R Heyneman, and C Burvenich: Elevated levels of beta-hydroxybutyric acid in periparturient cows and in vitro effect on respiratory burst activity of bovine neutrophils. *Vet. Immunol.Immunopathol* 1997, 58:165-170.
140. Hoeben D, E Monfardini, G Opsomer, C Burvenich, H Dosogne, A De Kruif, and JF Beckers: Chemiluminescence of bovine polymorphonuclear leucocytes during the

- periparturient period and relation with metabolic markers and bovine pregnancy-associated glycoprotein. *J. Dairy Sci* 2000, 67:249–259.
141. Hoedemaker M, Lund LA, Wagner WC: Function of neutrophils and chemoattractant properties of fetal placental tissue during the last month of pregnancy in cows. *Am J Vet Res* 1992, 53:1524–1529.
 142. Hoedemaker M, Weston PG, Wagner WC: Influence of cortisol and different steroidogenic pathways on estrogen synthesis by the bovine placenta. *Am J Vet Res* 1990, 51(7):1012-1015.
 143. Hoffmann B, Schams D, Gimenez T, Ender ML, Hermann CH, and Karg H: Changes of progesterone, total oestrogens, corticosteroids, prolactin and LH in bovine peripheral plasma around parturition with special reference to the effect of exogenous corticoids and a prolactin inhibitor respectively. *Acta Endocr* 1973a, 73: 385-395.
 144. Hoffmann B, Kyrein HJ, and Ender ML: An efficient procedure for the determination of progesterone by radioimmunoassay applied to bovine peripheral plasma. *Hormone Res* 1973b, 302-310.
 145. Hoffmann B: Bestimmung von Steroidhormonen beim weiblichen Rind; Entwicklung von Messverfahren und physiologische Daten Fortschritte der Veterinärmedizin-Beiheft zum Zentralblatt für Veterinärmedizin, Heft 26 Verlag Paul Parey, Berlin, Hamburg 1977.
 146. Hoffmann B: Gravidität, Geburt und Puerperium. In: Döcke F editors. *Veterinärmedizinische Endokrinologie*. Jena, Germany: Gustav Fischer; 1994, p. 509–541.
 147. Hoffmann B, Wagner WC, Rattenberger E, Schmidt J: Endocrine relationships during late gestation and parturition in the cow. *Ciba Found Symp* 1977, (47):107-125.
 148. Hoffmann B, Bahr J, Hixon JE, Wagner WC: Observations concerning the functional status of the corpus luteum and the placenta around parturition in the cow. *Anim Reprod Sci* 1979, 2: 253-266.
 149. Hoffmann B, Goes de Pinho T, Schuler G: Determination of free and conjugated oestrogens in peripheral blood plasma, feces and urine of cattle throughout pregnancy. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 1997, 105(5):296-303.
 150. Hoffmann B, Schuler G: The bovine placenta; a source and target of steroid hormones: observations during the second half of gestation. *Domest Anim Endocrinol* 2002, 23(1-2):309-320.
 151. Hogan JS, KL Smith, WP Weiss, DA Todhunter and WL Shockey: Relationships among vitamin E, selenium, and bovine blood neutrophils. *J. Dairy Sci* 1990, 73:2372.
 152. Hogan JS, WP Weiss, DA Todhunter, KL Smith, and PS Schoenberger: Bovine neutrophil responses to parenteral vitamin E. *J. Dairy Sci* 1992, 75:399.
 153. Hogan JS, WP Weiss and KL Smith: Role of vitamin E and selenium in host defense against mastitis. *J. Dairy Sci* 1993, 76:2795.

154. Hoglen NC, Waller SC, Sipe, IG, and Liebler DC: Chem Res Toxicol 1997, 10: 401-407.
155. Holben DH, and Smith AM: The diverse role of selenium within selenoproteins: a review, Journal of the American Dietary Association 1999, v. 99, no. 7, p. 836-843.
156. Holtenius P, Hjort M: Studies on the pathogenesis of fatty liver in cows. Bov Pract 1990, 25:91.
157. Horta A, Chassagne M, Brochart M: Prostaglandin F2 alpha and prostacyclin imbalance in cows with placental retention: new findings. Annales de Recherches Vétérinaires - Annals of Veterinary Research 1986, 17 (4): 395-400.
158. Howie AF, Walker SW, Akesson B, Arthur JR & Beckett GJ: Thyroidal extracellular glutathione peroxidase: a potential regulator of thyroid-hormone synthesis. Biochemical Journal 1995, 308: 713-717.
159. Hunter JT, Fairclough RJ, Peterson AJ & Welch RA: Foetal and maternal hormonal changes preceding normal bovine parturition. Acta Endocrinologica 1977, 84: 653-662.
160. Huszenicza Gy, Kulcsar M, Nikoli JA, Schmidt J, Korodi P, Katai L, Dieleman S, Ribiczei-Szabó P, Rudas P: Plasma leptin concentration and its interrelation with some blood metabolites, metabolic hormones and the resumption of cyclic ovarian function in postpartum dairy cows supplemented with monensin or inert fat in feed. In: Diskin M.G. (ed.): *Fertility in the High-producing Dairy Cow*. British Society of Animal Science, Edinburgh, Occasional publications 2001, No. 26, Vol. 2: 405-409.
161. Hydbring E, Madej A, MacDonald E, Drugge-Boholm G, Berglund B, Olsson K: Hormonal changes during parturition in heifers and goats are related to the phases and severity of labor. J. Endocrinol 1999, 160: 75-85.
162. Inaba T, Inoue A, Shimizu R, Nakano Y, Nori J: Plasma concentrations of progesterone, estrogens, vitamin A and β -carotene in cows retaining fetal membranes. Jap J Vet Sci 1986, 48: 505-508.
163. Ingvarstsen KL, Andersen JB: Integration of metabolism and intake regulation: a review focusing on periparturient animals. J Dairy Sci 2000, 83:1573-1597.
164. Ishikawa Y, Nakada K, Hagiwara K, Kirisawa R, Iwai H, Moriyoshi M, Sawamukai Y: Changes in interleukin-6 concentration in peripheral blood of pre- and post-partum dairy cattle and its relationship to postpartum reproductive diseases. Journal of Veterinary Medical Science 2004, 66: 1403-1408.
165. Ivandija L: Interrelationships between adequate intake of vitamin E and selenium and prevalence of reproductive disorders and intramammary infections of dairy cows. Krmiva 1987, 29: 175-180.
166. Ivell R, Fuchs AR, Bathgate R, Tillmann G, & Kimura T: Regulation of the oxytocin receptor in bovine reproductive tissues and the role of steroids. Reprod DomAnim 2000, 35: 134-141.

167. Jacques KA: Selenium metabolism in animals: the relationship between dietary selenium form and physiological response. *Science and Technology in the Feed Industry. Proceedings of Alltech's 17th annual Symposium.* Lyons TP and Jacques KA (eds), Nottingham University Press 2001, Pp 319-348.
168. Jagos P et al.: Basic biochemical and haematological parameters at domestic animals and new methods of laboratory results expression (in Czech).SVS-Oddeleni veterinarni osvety, Praha. 1981, 29 pp.
169. Janszen BPM, Bevers MM, Dieleman SJ, van der Weijden GC, & Taverne MAM: Synchronized calvings after withdrawal of norgestomet implants from cows treated near term with prostaglandin. *Vet Record* 1990, 127: 405-407.
170. Ja kowski J: The influence of selenium applied in various periods of time before parturition on the course of post-parturient period and fertility of cows. *Medycyna Wet* 1990, 46, 7: 247–250.
171. Jensen LS: History and importance of selenium for poultry. The Alvin Lloyd Moxon honoray lectures on selenium and vitamin E. Hogan J (ed), Wooster, Ohio. 1999, Pp 29-36.
172. Jiang Q, Elson-Schwab I, Courtemanche C, and Ames BN: *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000, 97: 11494-11499.
173. Johnson J. L, Wimsatt J, Buckel SD, Dyer RD, & Maddipati KR: Purification and characterization of prostaglandin H synthase-2 from sheep placental cotyledons. *Arch Biochem Biophys* 1995, 324: 26-34.
174. Johnson CT: Induction of parturition in cattle. In: L.E. Edqvist and H. Kindahl (Ed.) *Prostaglandins in Animal Production.* Acta Vet. Scand 1981, Suppl. 77:251.
175. Johnson WH, Manns JG, Adams WM, Mapletoft RJ: Termination of pregnancy with cloprostenol and dexamethasone in intact or ovariectomized cows. *Can Vet J* 1981, 22:288-290.
176. Joosten I, Stelwagen J, Dijkhuizen AA: Economical and reproductive consequences of retained placenta in dairy cattle. *Vet. Rec* 1987, 123:53–57.
177. Joosten I, van Eldik P, Elving L, van der Mey GJW: Factors related to the etiology of retained placenta in dairy cattle. *Anim. Reprod. Sci* 1987, 14:251–262.
178. Jovanovi I, Pešut O, Gvozdi D, and Stoji V: Selenium and iodine status relationship in calves and heifers from selenium and iodine deficient areas in Serbia. *Acta Veterinaria* 2004, vol. 54, no. 1, pp. 3–11.
179. Jovanovi I, Pešut B, Mihailovi O, Kosanovi M: Selenium content in feedstuffs in Vojvodina, Serbia. *Acta Veterinaria* 1998, 48 (5-6): 339-343.

180. Jovanovi M, Stoji V, ur evi , Sinadinovi J: Puerperal changes of thyroxine and triiodothyronine serum levels in dairy cows. u: Annual meeting of ESNA (XIX), 29. Aug. - 2. Sept, Book of abstracts, 1988, 111.
181. Julien WE, HR Conrad, and AL Moxon: Selenium and vitamin E and incidence of retained placenta in parturient dairy cows. II. Prevention in commercial herds with prepartum treatment. *J. Dairy Sci* 1976, 59: 1960.
182. Julien WE, HR Conrad JE, Jones and AL Moxon: Selenium and vitamin E and incidence of retained placenta in parturient dairy cows. *J. Dairy Sci* 1976, 59:1954.
183. Kaczmarowski M, E Mlinowski and H Markiewicz: Some hormonal and biochemical blood indices in cows with retained placenta and puerperal metritis. *Bull Vet Inst Pulawy* 2006, 50: 89-92.
184. Kaker ML, Murray RD, & Dobson H: Plasma hormone changes in cows during induced or spontaneous calving and the early post partum period. *Vet. Rec* 1984, 115:378-382.
185. Kankofer M, Wiercinski J, Zerbe H: Activity of placenta b-N-Acetyl-glucosaminidase in cow with and without retained fetal membranes. *Reproduction in Domestic Animals* 2000, 35: 91-100.
186. Kankofer M: Antioxidative defence mechanisms against reactive oxygen species in bovine retained and not retained placenta: activity of glutathione peroxidase, glutathione transferase, catalase and superoxide dismutase. *Placenta* 2001, 22, 5: 466-472.
187. Kankofer M, S. Zdunczyk and M. Hoedmaker: Contents of triglycerides and cholesterol in bovine placental tissue and in serum as well as plasma concentration of oestrogens in cows with and without retained fetal membranes. *Reprod. Domestic Anim* 1996, 31: 681–683.
188. Karalis K, Goodwin G, Majzoub JA: Cortisol blockade of progesterone: a possible molecular mechanism involved in the initiation of human labor. *Nat Med* 1996, 2:556–560.
189. Kask K, Gustafsson H, Gunnarsson A, & Kindahl H: Induction of parturition with prostaglandin F₂ as a possible model to study impaired reproductive performance in the dairy cow. *Aniin Repr Sci* 1999, 59:129-139.
190. Kehrli ME, Jr K Kimura, JP Goff, JR Stabel, and BJ Nonnecke: Immunological dysfunction in periparturient cows –What role does it play in postpartum infectious diseases? Pages 24–28 in *Proc. Annu. Conf. Am. Assoc. Bovine Pract. AABP*, Rome, GA. 1999.
191. Kesler DJ, Garverick HG, Youngquist RS, Elmore RG, Bierschwal CJ: Ovarian and endocrine responses and reproductive performance following GnRH treatment in early postpartum dairy cows. *Theriogenology* 1978, 9: 363.
192. Kimura K, Goff JP, Kehrli ME Jr, Reinhardt TA: Decreased neutrophil function as a cause of retained placenta in dairy cattle. *J Dairy Sci* 2002, Mar; 85(3):544-550.

193. Kindahl H, Kornmatitsuk B, Königsson K, Gustafsson H: Endocrine changes in late bovine pregnancy with special emphasis on fetal well-being. *Domest. Anim. Endocrinol* 2002, 23:321–328.
194. Klisch K, Boos A, Friedrich M, Herzog K, Feldmann M, Sousa N, Beckers J, Leiser R, Schuler G: The glycosylation of pregnancy associated glycoproteins and prolactin-related protein-I in bovine binucleate trophoblast giant cells changes before parturition. *Reproduction* 2006, 132(5):791-798.
195. Kobayashi Y, Ogra Y, Ishiwata K, Takayama H, Aimi N and Suzuki KT: Selenosugars are key and urinary metabolites for selenium excretion within the required to low-toxic range. *Proceedings of the National Academy of science USA* 2002, 99(25): 15932-15936.
196. Kohrle J: The trace element selenium and the thyroid gland. *Biochimie* 1999, 81: 527-533.
197. Koller LD, PJ South, JH Exon, GA Whitbeck, and J Maas: Comparison of selenium levels and glutathione peroxidase activity in bovine whole blood. *Can J Comp Med* 1984, October; 48(4): 431–433.
198. Koller LD, and Exon JH: The Two Faces of Selenium - Deficiency and Toxicity - are Similar in Animals and Man. *Can J Vet Res* 1986, 50: 297-306.
199. Kommisrud E, O Østerå, and T Vatn: Blood selenium associated with health and fertility in Norwegian dairy herds. *Acta Veterinaria Scandinavica* 2005, vol. 46, no. 4, pp. 229–240.
200. Kornmatitsuk B, Königsson K, Kindahl H, Gustafsson H, Forsberg M, & Madcj A: Clinical signs and hormonal changes in dairy heifers after induction of parturition with prostaglandin F₂. *J Vet Med* 2000, 47: 395-409.
201. Königsson K, Kask K, Gustafsson H, Kindahl H, Parvizi N: 15-ketodihydro-PGF₂, progesterone, and cortisol profiles in heifers after induction of parturition by injection of dexamethasone. *Acta. Vet. Scand* 2001, 42: 151-159.
202. Krehl WA: Selenium the maddening mineral. *Nutrition Today*, Winter: 1970, 26-32.
203. Kunz PL, Blum JW, Hart IC, Bicket H, Landis J: Effects of different energy intakes before and after calving on food intake performance and blood hormones and metabolites in dairy cows. *Anim. Prod* 1985, 219-231.
204. Ku ma K, Ku ma R, Malinowski M: Relationship between retained placenta and ketosis in dairy cows. *XIXWorld Buiatrics Congress, Germany* 1996, pp. 358–360.
205. Lacetera N, D Scalia, U Bernabucci, B Ronchi, D Pirazzi, and A Nardone: Lymphocyte Functions in Overconditioned Cows Around Parturition. *J. Dairy Sci* 2005, 88: 2010–2016.

206. Lacetera N, D Scalia, O Franci, U Bernabucci, B Ronchi, and A Nardone: Effects of nonesterified fatty acids on lymphocyte function in dairy heifers. *J. Dairy Sci* 2004a, 87:1012–1014.
207. Lannek N, and Lindberg P: Vitamin E and selenium deficiency (VESD) of domestic animals. *Adv. Vet. Sci. Comp. Med* 1975, 19: 127-164.
208. Lekatz LA, JS Caton, JB Taylor, LP Reynolds, DA Redmer and KA Vonnahme LA: Maternal selenium supplementation and timing of nutrient restriction in pregnant sheep: Effects on maternal endocrine status and placental characteristics. *J Anim Sci* 2010, 88:955-971.
209. Larsen PR, Dick TE, Markovitz BP, Kaplan MM, Gard TG: Inhibition of intrapituitary thyroxine to 3,5,3'-triiodothyronine conversion prevents the acute suppression of thyrotropin release by thyroxine in hypothyroid rats. *J Clin Invest* 1979, 64:117–128.
210. Laven RA, Peters AR: Gross morphometry of the bovine placentome during gestation. *Reprod Domest Anim* 2001, 36(6):289-296.
211. LeBlanc SJ: Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance: a review. *Vet J* 2008, 176:102-114.
212. Lee SR, Kim JR, Kwon KS, Yoon HW, Levine RL, Ginsburg A, and Rhee SG: Molecular cloning and characterization of a mitochondrial selenocysteine-containing thioredoxin reductase from rat liver. *J Biol Chem* 1999, 274: 4722-4734.
213. Leeson S, and JD Summers: *Nutrition of the chicken*. 4th edition. University Books, Guelph, Ontario, Canada 2001.
214. Lefcourt AM, J Bitman, S Kahl, and D L Wood: Circadian and ultradian rhythms of peripheral cortisol concentrations in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci* 1993, 76: 2607-2612.
215. Levander OA: Considerations in the design of selenium bioavailability studies. *FASEB Journal* 1985, 42: 1721-1725.
216. Levander OA: Selenium. In: Mertz W (ed), *Trace elements in human and animal nutrition*-fifth edition. Academic Press, Inc., London. 1986, Pp 208-279.
217. Lewing FJ, J Proulx and RJ Mapletoft: Induction of parturition in the cow using cloprostenol and dexamethasone in combination. *Can. Vet. J* 1985, 26:317-322.
218. Liu CH, Chen YM, Zhang JZ, Huang MY, Su Q, Lu ZH, Yin RX, Shao GZ, Feng D. and Zheng PL: Preliminary studies on influence of selenium deficiency to the development of genital organs and spermatogenesis in young boars. *Acta Vet. Zootech. Sinica* 1982, 13: 73.
219. Loflin J, Lopez N, Whanger PD, Kioussi C: Selenoprotein W during development and oxidative stress. *J. Inorg. Biochem* 2006, 100:1679–1684.
220. Lofstedt J: *Vet Clin North Am Equine Pract* 1997, 13:169.

221. Lona V, Romero C. Short communication: Low levels of colostral immunoglobulins in some dairy cows with placental retention. *J Dairy Sci* 2001, Feb; 84(2):389-391.
222. Lyons MP, TT Papazyan and PF Surai: Selenium in Food Chain and Animal Nutrition: Lessons from Nature *Asian-Aust. J. Anim. Sci* 2007, Vol. 20, No. 7: 1135 – 1155.
223. Lyons M P, TT Papazyan and P F Surai: Selenium in food chain and animal nutrition: lesson from nature. Review. *Asian-Aust. J. Anim. Sci* 2007, 20:1135-1155.
224. Lyons G, J Stangoulis and R Graham: High-selenium wheat: biofortification for better health. *Nutr. Res. Rev* 2003, 16:45-60.
225. Machlin LJ: Studies on the growth response in the chicken from the addition of sodium sulfate to a low-sulfur diet. *Poultry Sci* 1955, 34: 1209.
226. Machlin LJ, and Shalkop WT: Muscular degeneration in chickens fed diets low in vitamin E and sulfur. *J.Nutr* 1956, 60: 87.
227. Mahan DD, Penhale LH, Cline JH, Moxon AL, Fetter AW and Yarrington JT: Efficacy of supplemental selenium in reproductive diets on sow and progeny performance. *J. Anim. Sci* 1974, 39: 536.
228. Mallard BA, Dekkers JC, Ireland MJ, Leslie KE, Sharif S, Vankampen CL, et al.: Alteration in immune responsiveness during the peripartum period and its ramification on dairy cow and calf health. *Journal of Dairy Science* 1998, 81: 585–595.
229. Malkowski MG, Ginell SL, Smith WL, & Garavito RM: The productive conformation of arachidonic acid bound to prostaglandin synthase. *Science* 2000, 289: 1933-1937.
230. Maksimovi ZJ: Selenium deficiency and Balkan endemic nephropathy. *Kidney Int. Suppl* 1991, 34:S12-14.
231. Marier JR and Jaworski JF: Interactions of selenium. Ottawa, National Research Council of Canada. 1983.
232. Maas J, Peauroi J R, Tonjes T, Karlonas J, Galey F D, Han B: Intramuscular selenium administration in selenium-deficient cattle. *J. Vet. Int. Med* 1993, 7: 342-348.
233. Maas J, Valberg SJ: Nutritional myodegeneration. In Smith BP, editor: *Large animal internal medicine*, St Louis 2009, Mosby.
234. Maylin GA, Rubin DS and Lein DH: Selenium and Vitamin E in Horses. *Cornell Veterinarian* 1980, 70: 272-289.
235. McGeady TA, Quinn PJ, Fitzpatrick ES, Ryan MT, Cahalan S: *Veterinary Embryology*. 2006, Blackwell Publishing Ltd. Oxford, United Kingdom.
236. McKenzie RC, Arthur JR, Beckett GJ: Selenium and the regulation of cell signalling, growth and survival: molecular and mechanistic aspects. *Antioxid Redox Sign* 2002, 4: 339-351.
237. McNaughton AP, Murray RD: Structure and function of the bovine fetomaternal unit in relation to the causes of retained fetal membranes. *Vet Rec* 2009, Nov 21; 165(21):615-622.

238. Michalková Z, Mojžišová J, Hromada R, Bajová V: The effect of dietary selenium and vitamin E on non-specific immune response in healthy puppies after vaccination. *Folia veterinaria* 2004, 48, 3: 157—160..
239. Mihailovi M, Lindberg P, and Rajkovi M: Selenium content in feedstuffs and selenium status and reproductive performance of exes in Sjenica-Pešter area (Yugoslavia). *Acta Veterinaria* 1991, 41: 299-304.
240. Mihailovi M, Lindberg P, Jovanovi I, and Anti D: Selenium status of patient with Balkan endemic Nephropathy. *Biol. Tr. Elem. Res* 1992, 33:71.
241. Mihailovi M, Momčilo – Matić, Gliša – Lindberg, Paul – Zigić, B: Accidental selenium poisoning of growing pigs. *Biological Trace Element Research* 1992a, 33: April - June, 63-69.
242. Mihailovi M, Lindberg P, Jovanovi I, i Tešić M: Sadržaj selena u hranivima uzgajanim na teritoriji Republike Srbije, V savetovanje veterinara Srbije, Kopaonik, 2-5 sept, Kratki sadržaji radova. 1992b, 178.
243. Mihailovi M, Čerčev D, Kuzmanovski D, and Veljković S: Selenium content in feedstuffs in Republic Macedonia. 4th International Conference for ovine and caprine production. Ohrid, Sept. 4th-7th, Proceedings 1996a, p.78.
244. Mihailovi M, Pavlović A, Radetić P, Vlatković M, and Tomić V: Influence of feed supplementation with selenium and vitamin E on glutathione peroxidase activity and reproduction in pigs. *Acta Veterinaria* 1982, 32: 275-282.
245. Mihajlović M, Vasiljević Z, Šobajić S, Jovanovi I, Pešut O, Matić G: Antioxidant status of patients with acute myocardial infarction. *Trace Element and Electrolytes* 2003, 20: 5-7.
246. Milanović S: Uticaj propiltiouracila i jopanoi ne kiseline na funkciju tireoidne osovine i aktivnost glutation peroksidaza kod selen-deficitarnih i selen-adekvatnih pacova, Doktorska disertacija, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu, 2012.
247. Miyoshi M, Sawamukai Y, Iwanaga T: Reduced phagocytotic activity of macrophages in the bovine retained placenta. *Reprod Domest Anim* 2002, 37(1):53-56.
248. Melendez P, A Donovan, C A Risco, R Littell, J Goff: Effect of calcium-energy supplements on calving-related disorders, fertility and milk yield during the transition period in cows fed anionic diets. *Theriogenology* 2003, 60:843-854.
249. Mori S: The ecology and uses of the species of *Lecythis* in Central America. *Turrialba* 1979, 20:344-350.
250. Mostert V: Selenoprotein P: properties, functions, and regulation. *Arch. Biochem. Biophys* 2000, 376: 433–438.
251. Moxon AL, Rhian MA: Selenium poisoning. *Physiol Rev* 23 1943, 66: 305-337.
252. Möstl E, Choi HS & Bamberg E: Erhöhter Androgengehalt im Blut von Rindern mit Retentio secundinarum nach Geburtsinduktion. *Zuchthygiene* 1982, 17:116.

253. National Research Council: Selenium. Washington DC, National Academy Press. 1976.
254. NRC (National Research Council): Nutrient Adequacy. Assessment Using Food Consumption Surveys. Washington, DC: National Academy Press. 1986.
255. National Research Council: Selenium in nutrition. Washington, DC: National Academic Press, 1983.
256. National Research Council: Effects of excess selenium. In: Selenium in Nutrition. National Academy Press, Washington DC. 1983a, Pp 107-113.
257. National Research Council: Nutrient Requirement of Dairy Cattle. 6th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC. 1989.
258. National Research Council: Nutrient Requirements of Swine. 10th rev. ed. Natl. Acad. Sci., Washington, DC. 1998.
259. Navarro-Alarcon M and Lopez-Martinez MC: Essentiality of selenium in the human body: relationship with different diseases. *The Science of the Total Environment* 2000, 249: 347-371.
260. Neve J: Methods in determination of selenium states. *Journal of Trace Elements and Electrolytes in Health and Disease* 1991, 5(1): 1-17.
261. Nielsen AH, Schauser KH, Poulsen K: The uteroplacental renin-angiotensin system. *Placenta* 2000, 21:468-477.
262. Noakes DE, Parkinson TJ, Engl GCW: *Arthur's Veterinary reproduction and obstetrics*. WB Saunders 2009.
263. Nohl H: Biochemische Grundlagen Vitamin E- und Selen-Mangel-bedingter Erkrankungen. *Wien. Tierärztl. Mschr* 1984, 71: 217-223.
264. Oetzel GR: Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease. *Vet Clinics NA: Food Anim Pract* 2004, 20:651-674.
265. Olcott HS, and Mattill HA: *J. Biol. Chem* 1931, 93: 65-70.
266. Oldenbroek JK, Garssen GJ, Forbes AB, Jonker LJ.: The effect of treatment of dairy cows of different breeds with recombinantly derived bovine somatotropin in a sustained delivery vehicle. *Livest. Prod. Sci* 1989, 21: 13-24.
267. Olson GE, Winfrey VP, Nagdas SK, Hill KE, Burk RF: Selenoprotein P is required for mouse sperm development. *Biol Reprod* 2005, 73(1):201-211.
268. Ortman K: Effect of selenate as a feed supplement to dairy cows in comparison to selenite and selenium yeast. *J. Anim. Sci* 1999, 77: 3365-3370.
269. Overton TR, Drackley JK, Douglas GN, Emmert LS, Clark JH: Hepatic gluconeogenesis and whole-body protein metabolism of periparturient dairy cows as affected by source of energy and intake of the prepartum diet. *J Dairy Sci* 1998, 81(Suppl 1):295.

270. Overton TR, Drackley JK, Ottemann-Abbamonte CJ, Beaulieu AD, Emmert LS, Clark JH: Substrate utilization for hepatic gluconeogenesis is altered by increased glucose demand in ruminants. *J Anim Sci* 1999, 77:1940-1951.
271. Papp LV, Lu J, Holmgren A, Khanna KK: From selenium to selenoproteins: synthesis, identity, and their role in human health. *Antioxid Redox Signal* 2007, 9:775–806.
272. Parker BN, Foulkes JA, Jones PC, Dexter I, Stephens H: Prediction of calving times from plasma progesterone concentration. *Vet Rec* 1988, 122:88–89.
273. Patching SG & Gardiner PHE: Recent developments in selenium metabolism and chemical speciation: a review. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 1999, 13: 193–214.
274. Patel OV, Takahashi T, Takenouchi N, Hirako M, Sasaki N, Domeki I: Peripheral cortisol levels throughout gestation in the cow: effect of stage of gestation and foetal number. *Br Vet J* 1996, 152:425-432.
275. Patterson DSP, Allen WM, Berrett S, Sweasy D, Thurley DC, and Done J: A biochemical study of the pathogenesis of iron-induced myodegeneration of piglets. *Zentralbl. Veterinaermed* 1969, 16: 199-214.
276. Persson Waller K, Hallen Sandgren C, Emanuelson U, Jensen SK: Supplementation of RRR-alpha-tocopheryl acetate to periparturient dairy cows in commercial herds with high mastitis incidence. *Journal of Dairy Science* 2007, 90: 3640–3646.
277. Peter AT, Bosu WTK: Periparturient endocrine changes associated with retained placenta in dairy cows. *Theriogenology* 1987, 28: 383-394.
278. Pethes G, J Bokori, P Rudas, VL Frenyó, and S Fekete: Thyroxine, triiodothyronine, reverse-triiodothyronine, and other physiological characteristics of periparturient cows fed restricted energy. *Journal of Dairy Science* 1985, vol. 68, no. 5, pp. 1148–1154.
279. Pilon – Smit EAH, CF Quinn, W Tapken, M Malagoli, M Schiavon: Physiological functions of beneficial elements *Curr. Opin Plant Biol* 2009, 12(3): 267-274.
280. Potter TJ, J Guitian, J Fishwick, PJ Gordon, and IM Sheldon: Risk Factors for Clinical Endometritis in Postpartum Dairy Cattle. *Theriogenology* 2010, 74:127-134.
281. Preisler MT, Weber PSD, Tempelman RJ, Erskine RJ, Hunt H, Burton J: Glucocorticoid receptor down-regulation in neutrophils of periparturient cows. *Am. J. Vet. Res* 2000, 61: 14–19.
282. Pugh DG, and Baird AN: *Sheep and Goat Medicine*. 2nd edition, Elsevier 2012.
283. Puls R: *Mineral Levels in Animal Health: Diagnostic Data*. Clearbrook, Canada, Sherpa International.
284. Putnam ME, Comben N: Vitamin E. *Vet Rec* 1987, Dec 5;121(23): 541-545.
285. Radostits OM, Gay C, Hinchcliff KW, and Constable PD: *Veterinary Medicine*, 10th edition Saunders, Elsevier 2007.

286. Rafferty TS, Walker C, Hunter JA, Beckett GJ, and McKenzie RC: Inhibition of ultraviolet B radiation-induced interleukin 10 expression in murine keratinocytes by selenium compounds. *Br J Dermatol* 2002, 146: 485–489.
287. Raisbeck MF: Selenosis. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 2000, 16(3): 465-480.
288. Ramirez-Bribiesca JE, Tortora JL, Hernandez LM, Huerta M: Main causes of mortalities in dairy goat kids from Mexican plateau. *Small Ruminant Research* 2001, 41: 77–80.
289. Ra A, Janowski T, Zdu czyk S: The effect of subclinical and acute ante partum acidosis in cows on the course of pregnancy with regard to the steroid hormone profile. *Tierarztl Prax* 1996, Aug; 24(4):347-352.
290. Rasmussen FE, Wiltbank MC, Christensen JO, Grummer RR: Effects of fenprostalene and estradiol-17 benzoate on parturition and retained placenta in dairy cows and heifers. *J. Dairy Sci* 1996, 79:227–234.
291. Rayman MP: The importance of selenium to human health. *Lancet* 2000a, 356: 233-241.
292. Rayman MP: The role of selenium in human health: relevance of selenium status. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 2000b, 14: 116-121.
293. Reilly C: Selenium in health and disease: a review. *Australian Journal of Nutrition and Dietetics* 1993, 50(4): 136-144.
294. Reilly C: Selenium: a new entrant into the functional food arena. *Trends in Food Science and Technology* 1998, 9: 114-118.
295. Rexha S, Grunert E, Saratsis P: Relationships between the steroid-hormone profiles and prodromal external signs of calving. *Tierärztl. Umschau* 1993, 48: 431–436.
296. Rhian M and Moxon AA: Chronic selenium poisoning in dogs and its prevention by arsenic. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 1943, 78: 249-264.
297. Roberts SJ: Retained placenta or retention of the afterbirth or fetal membranes. In Roberts SJ edi. *Veterinary obstetrics and genital diseases (Theriogenology)*, 3rd ed. Woodstock, VT 1986, 373-382.
298. Robertson HA: Changes in the concentrations of unconjugated estrone, estradiol-17 and estradiol-17 in the maternal plasma of the pregnant cow in relation to the initiation of parturition and lactation. *J. Reprod. Fertil* 1974, 36: 1-7.
299. Robertson HA, King GJ: Conjugated and unconjugated estrogens in fetal and maternal fluids of the cow throughout pregnancy. *J. Reprod. Fertil* 1979, 55: 463-470.
300. Rosenfeld I, and OA Beath: Selenium. *Geobotany, Biochemistry, Toxicity and Nutrition*, Academic Press, NY. 1964.
301. Salisbury RM, Armstrong MC, and Gray KG: Ulceromembranous gingivitis in the sheep. *N. Z. Vet. J* 1953, 1: 51-52.

302. Samuelsson B, Granstrom E, Green K, Hamberg M, & Hammarstrom S: Prostaglandins. *Ann Rev Biochem* 1975, 44: 669-695.
303. Sartorelli P, S Paltrinieri, and F Agnes: Non-specific immunity and ketone bodies. I: In vitro studies on chemotaxis and phagocytosis in ovine neutrophils. *J. Vet. Med. A Physiol. Pathol. Clin. Med* 1999, 46:613–619.
304. Sartorelli P, S Paltrinieri, and S Comazzi: Non-specific immunity and ketone bodies. II: In vitro studies on adherence and super-oxide anion production in ovine neutrophils. *J. Vet. Med. A Physiol. Pathol. Clin. Med* 2000, 47:1–8.
305. Sawada T, Kimura E, Fujimoto Y, Matsunaga H, Mori J: Plasma estrone, estradiol-17 beta, and progesterone levels during late pregnancy and parturition in dairy cattle. *Nihon Juigaku Zasshi* 1988, Jun; 50(3):654-658.
306. Sheppard AD, Millar KR: Stability of glutathione peroxidase in ovine blood samples under various storage conditions and the response of this enzyme to different methods of selenium supplementation: *New Zealand Veterinary Journal* 1981, Volume 29, Number 5, pp. 77-80(4).
307. Schallenger E, Rampp J, Walters DL: Gonadotrophins and ovarian steroids in cattle. II. Pulsatile changes of concentrations in the jugular vein throughout pregnancy. *Acta Endocrinol (Copenh)*. 1985, 108(3):322-330.
308. Schauser KH, Nielsen AH, Winther H, Dantzer V, Poulsen K: Dominance of type 1 angiotensin II receptor in the nonpregnant and pregnant bovine uterus. *J Reprod Fertil* 1999, 116:403–413.
309. Schongaard H, Basse A, Gissel-Nielsen G, and Simens MG: Nutritional muscular dystrophy (NMD) in foals. *Nord Veterinaermed* 1972, 24: 67-84.
310. Schingoethe DJ, Parsons JG, Ludens FC, Et al: Vitamin E status of dairy cows fed stored feeds continuously or pastured during summer. *J Dairy Sci* 1978, 61:1582.
311. Schiongoethe DJ, Kirkbride C A, Palmer IS, Owens MJ, Tucker W L: Response of cows consuming adequate selenium to vitamin E and selenium supplementation prepartum. *Journal of Dairy Science* 1982, 65: 2338-2344.
312. Scholz RW, Hutchinson LJ: Distribution of glutathione peroxidase activity and selenium in the blood of dairy cows. *Am J Vet Res* 1979, Feb; 40(2):245–249.
313. Scholz RW, LS Cook, and DA Todhunter: Distribution of selenium dependent and nonselenium dependent glutathione peroxides activity in tissues of young cattle. *Am J Vet Res* 1981, 10:1724-1729.
314. Schomburg L, Schweizer U, Kohrle J: Selenium and selenoproteins in mammals: extraordinary, essential, enigmatic. *Cell Mol Life Sci* 2004, 61:1988–1995.
315. Schrauzer GN: Selenomethionine: A review of its nutritional significance, metabolism, and toxicity. *J. Nutri* 2000, 130:1653-1656.

316. Schrauzer GN: The nutritional significance, metabolism and toxicology of selenomethionine. *Adv. Food Nutr. Res* 2003, 47:73-112.
317. Scot M: Lesions of vitamin E and selenium deficiencies in poultry and their pathogenesis, *Folia Vet. Lat* 1974, 4: 113.
318. Seko Y, Sato Y, Kithara J. and Imura N: Active oxygen generation by reaction of selenite with reduced glutathione in vitro. In: Wendel, A., ed. *Selenium in Biology and Medicine*, Berlin, Springer-Verlag 1989, 70 - 73.
319. Shamberger RJ: Toxicity of selenium. In: Frieden E (ed), *Biochemistry of Selenium*. Plenum Press, New York. 1983a, Pp 185-206.
320. Shamberger RJ: Forms of selenium. In: Frieden E (ed), *Biochemistry of Selenium*. Plenum Press, New York. 1983b, Pp 59-75.
321. Shamberger RJ: Metabolism of selenium. In: Frieden E (ed), *Biochemistry of Selenium*. Plenum Press, New York. 1983c, 59-75.
322. Sharpe KL, Eiler H, Hopkins FM: Changes in the proportion of type I and type III collagen in the developing and retained bovine placentome. *Biol Reprod* 1990, Aug;43(2):229-235.
323. Schmidl M, Von Foster: Veterinärmedizinische Laboruntersuchungen für die Diagnose und Verlehmungskontrolle. 3. Aufl., Boehringer, Mannheim 1985.
324. Smith VG, Edgerton LA, Hafs HD, Convey EM: Bovine serum estrogens, progestins and glucocorticoids during late pregnancy, parturition and early lactation. *Journal of Animal Science* 1973, 36: 391-396.
325. Smith KL, Hogan JS, Weiss WP: Dietary vitamin E and selenium affect mastitis and milk quality. *J Anim Sci* 1997, Jun;75 (6):1659-1665.
326. Smith MI, Westfall BB and Stohlman EF: The elimination of selenium and its distribution in the tissue. *Public Health Reports* 1937, 52: 1171-1177.
327. Snegovskikh V, Park JS, Norwitz ER: Endocrinology of parturition. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2006, Mar; 35(1):173-191.
328. Stawicki SP, Lyons M, Aloupis M, et al: Current evidence from phase III clinical trials of selenium supplementation in critically ill patients: why should we bother? *Mini Rev Med Chem* 2007; 7:693-699.
329. Steinbrenner H, Bilge E, Alili L, Sies H, and Brenneisen P: Selenoprotein P protects endothelial cells from oxidative damage by simulation of glutathione peroxidase expression and activity. *Free Radic Res* 2006, 40: 936-943.
330. Stevens JB, Olson WG, Kraemer R, Archambeau J: Serum selenium concentrations and glutathione peroxidase activities in cattle grazing forages of various selenium concentrations. *Am J Vet Res* 1985, Jul; 46(7):1556-1560.

331. Stowe HD, Thomas JW, Johnson T, Marteniuk JV, Morrow DA, Ullrey DE: Responses of dairy cattle to long-term and short-term supplementation with oral selenium and vitamin E. *J. Dairy Sci* 1988, 71:1830.
332. Stowe HD, and Herdt TH: Clinical Assessment of Selenium Status of Livestock. *J. Anim. Sci* 1992, 70: 3928-3933.
333. Sunde RA: Selenium. In: Stipanuk MH (ed), *Biochemical and Physiological Aspects of Human Nutrition*. WB Saunders Company, Philadelphia 2000, Pp 782-809.
334. Sunde RA: Selenium. In: O'Dell BL and Sunde RA (eds), *Handbook of Nutritionally Essential Mineral Elements*. Marcel Dekker, New York. 1997, Pp 493-556.
335. Sunde RA: Regulation of glutathione peroxidase-1 expression. In: Hatfield DL, Berry MJ, Gladyshev VN, editors. *Selenium: its molecular biology and role in human health*. 2nd ed. New York: Springer Science Media; 2006, P: 149-160.
336. Sudre P and Mathieu F: Kashin-Beck disease: from etiology to prevention or from prevention to etiology? *International Orthopaedics* 2001, 25(3): 175-179.
337. Sun QA, Kimnarsky L, Sherman S and Gladyshev VN: Selenoprotein oxidoreductase with specificity for thioredoxin and glutathione system. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001, 98: 3673-3678.
338. Surai PF: *Natural Antioxidants in Avian Nutrition and reproduction*. Nottingham University Press, Nottingham 2002a.
339. Surai P: *Selenium in Nutrition and Health*. Nottingham: Nottingham University Press, 2006.
340. Suriyasathaporn W, C Heuer, EN Noordhuizen-Stassen, and YH Schukken: Hyperketonemia and udder defense: a review. *Vet. Res* 2000, 31:397-412.
341. Suzuki KT, Ogra Y: Metabolic pathway for selenium in the body: speciation by HPLC-ICP MS with enriched Se. *Food Addit Contam* 2002, Oct;19 (10):974-983.
342. Szuster-Ciesielska A, J Filar, and M Kandefler-Szerszen: Depression of interferon production in leukocytes of cows with fat mobilization syndrome. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz.)* 1995, 43:61-65.
343. Takagi M, Fujimoto S, Ohtani M, Miyamoto A, Wijagunawardane MP, Acosta TJ, Miyazawa K, Sato K: Bovine retained placenta: hormonal concentrations in fetal and maternal placenta. *Placenta* 2002, May; 23(5):429-437.
344. Tamura T and Stadman TC: A new selenoprotein from human lung adenocarcinoma cells: purification, properties and thioredoxin reductase activity. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 1996, 93: 1006-1011.
345. Tarp U: Selenium in reumatoid arthritis. A review. *Analyst* 1995, 120, 3: 877.
346. Terry N, Zayed AM, de Souza MP, Tarun AS: Selenium in higher plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol* 2000, 51:401-432.

347. Thafvelin B, and H E Oksanen: Vitamin E and linolenic acid content of hay as related to different drying conditions. *J. Dairy Sci* 1966, 49: 282-286.
348. Thatcher WW, CJ Wilcox, RJ Collier, DS Eley, and HH Head: Bovine conceptus maternal interactions during pre and postpartum periods. *J. Dairy Sci* 1980, 63:1530.
349. Thatcher WW, Meyer MD, Danet-Desnoyers G: Maternal recognition of pregnancy. *J Reprod Fertil Suppl* 1995, 49:15-28.
350. Theriault A, Chao JT, and Gapor A: *Atherosclerosis* 2002, 160: 21-30.
351. Thomas W, Fecteau KA, and Eiler H: Control of fetal narcosis during pregnancy by serotonin in the bovine: electroencephalographic study. *Biology of Reproduction* 2001, 64:340-341.
352. Thomson CD: Assesment of requirements for selenium and adequacy of selenium status: a review. *European Journal of Clinical Nutrition* 2004, 58: 391-402.
353. Thompson JN, and Scott ML: Impaired lipid and vitamin E absorption related to atrophy of the pancreas in selenium-deficient chicks. *J. Nutr* 1970, 100: 797.
354. Tiege JJr, Larsen HJ, and Tollersrud J: Swine dysentery: the influence of *Treponema hyodysenteriae* infection. *Acta Vet. Scand* 1984, 25: 1.
355. Tinggi U: Essentiality and toxicity of selenium and its status in Australia: a review. *Toxicology Letters* 2003, 137: 103-110.
356. Traber MG, and H Arai: Molecular mechanisms of vitamin E transport. *Annu. Rev. Nutr* 1999, 19:343-355.
357. Trapp AL, Keahey KK, Whitenack DL, and Whitehair CK: Vitamin E-selenium deficiency in swine: Differential diagnosis and nature of field problem. *J Am. Vet. Med. Assoc* 1970, 157: 289-300.
358. Traulsen H, Steinbrenner H, Buchczyk DP, Klotz LO, and Sies H: Selenoprotein P Protects low-density lipoprotein against oxidation. *Free Radic Res* 2004, 38: 123-128.
359. Trawick DR, Bahr JM: Modulation of the anti-fluorescyl antibody response by estradiol. *Endocrinology* 1986, 118:2324–2330.
360. Tyce GM: Origin and metabolism of serotonin. *J Cardiovasc Pharmacol* 1990, 16 Suppl 3:S1-7.
361. Ullrey DE: Biochemical and physiologic indicators of selenium status in animals. *J. Anim. Sci* 1987, 65:1712-1726.
362. Underwood E J: *Trace Elements in Human and Animal Nutrition* 3rdEd. Academic Press. New York, New York. 1971.
363. Underwood EJ and Suttle NF: Selenium. In: (eds), *The mineral nutrition of livestock*. CABI, Wallingford 1999, Pp 421-475.
364. Uchiyama M, Michara M: Determination of malondialdehyde precursors in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal.Biochem* 1978, 86: 271–278.

365. Val i O, Jovanovi IB, Milanovi S: Selenium, thiobarbituric acid reactive substances, and thyroid hormone activation in broilers supplemented with selenium as selenized yeast or sodium selenite. *Jap J Vet Res* 2011, 59: 2-3, 69-77.
366. Van Metre DC and Callan RJ: Selenium and vitamin E. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice* 2001, 17:373-402.
367. Van Rensburg IB, Venning WJ: Nutritional myopathy in a dog. *J S Afr Vet Assoc* 1979, Jun; 50 (2):119-121.
368. Van Saun RJ: Rational approach to selenium supplementation essential. *Feedstuffs* 1990, (Jan 15): 15-17.
369. Van Saun RJ: Health status and time relative to calving effects on blood metabolite concentrations, in *Proc 23rd World Buiatrics Congress (Poster Abstracts)*, Quebec, Quebec, Canada, 2004a, July 11-16, pg 87 (Abstract #576 [3085]).
370. Van Saun RJ: Metabolic profiling and health risk in transition cows. *Proc Am Assoc Bov Pract* 2004b, 37:212-213.
371. Van Vleet JF, Carlton W, and Olander HJ: Hepatosis dietetica and mulberry heart disease associated with selenium deficiency. *J. Am. Vet. Med. Ass* 1970, 157: 1208-1219.
372. Van Vleet JF: Experimentally induced vitamin E-selenium deficiency in the growing dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc* 1975, 166:769.
373. van Werven T, YH Schukken, J Lloyd, A Brand, H Tj Heeringa, and M Shea: The effects of duration of retained placenta on reproduction, milk production, postpartum disease and culling rate. *Theriogenology* 1992, 37:1191.
374. Vane JR, & Botting RM: Overview - mechanisms of action of anti-inflammatory drugs. Improved non-steroid anti-inflammatory drugs. COX2 enzyme inhibitors. Kluwer Academic Publishers and William Harvey Press. London 1996, 1.
375. Villa-Godoy A, Hughes TL, Emery RS, Enright WJ, Ealy AD, Zinn SA, Fogwell RL: Energy balance and body condition influence luteal function in holstein heifers. *Domestic Animal Endocrinology* 1990, vol. 7, issue 2. P: 135-148.
376. Vonnahme KA, Hess BW, Nijland MJ, Nathanielsz PW, Ford SP: Placentomal differentiation may compensate for maternal nutrient restriction in ewes adapted to harsh range conditions. *J. Anim. Sci* 2006, 84:3451-3459.
377. Vonderheide A, PK Wrobel, SS Kannamkumarath, CB Hymer, M Montes-Bayon, C Ponce De Leon and JA Caruso: Characterization of selenium species in Brazil nuts by HPLC-ICP-MS. *J. Agric. Food Chem* 2002, 50:5722-5728.
378. Walsh R, LeBlanc S, Duffield T, Leslie K: Retrospective analysis of the association between subclinical ketosis and conception failure in Ontario dairy herds. *Proc. World Buiatrics Congress/ Med. Vet. Quebec* 2004, 34:152.

379. Weissman SH, Cuddihy RG and Medinsky MA: Absorption, distribution and retention of inhaled selenious acid and selenium metal aerosols in beagle dogs. *Toxicology and Applied Pharmacology* 1983, 67: 331-337.
380. Weiss WP, Hogan JS, Smith KL, Hoblet KH: Relationships among selenium, vitamin E, and mammary gland health in commercial dairy herds. *J Dairy Sci* 1990, Feb; 73(2):381-390.
381. Wenstrup D, Ehmann WD, and Markesbery WR: Trace element imbalances in isolated subcellular fractions of Alzheimer's disease brains. *Brain res* 1990, 533: 125-131.
382. Whanger PD: Selenium Metabolism in Animals and Humans. *Journal of Environmental Sciences* 1996, 8(3):328-341.
383. Whanger PD: Metabolism of selenium in humans. *J Trace Elem Exper Med* 1998, 11:227-240.
384. Whanger PD: Selenium and its relationship to cancer: an update. *British Journal of Nutrition* 2004, 91: 11-28.
385. Wilde D: Influence of macro and micro minerals in the peri-parturient period on fertility in dairy cattle. *Anim Reprod Sci* 2006, Dec; 96(3-4):240-249.
386. Williams WF, Margolis MJ, Manspeaker J, Douglass LW and DavidsonJP: Peripartum changes in the bovine placenta related to fetal membrane retention. *Theriogenology* 1987, 28: 312–323.
387. Wischral A, Nishiyama-Naruke A, Curi R, Barnabe RC: Plasma concentrations of estradiol 17beta and PGF2alpha metabolite and placental fatty acid composition and antioxidant enzyme activity in cows with and without retained fetal membranes. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 2001, Jun;65(2-3):117-124.
388. Wischral A, Verreschi IT, Lima SB, Hayashi LF, Barnabe RC: Pre-parturition profile of steroids and prostaglandin in cows with or without foetal membrane retention. *Anim Reprod Sci* 2001, Sep 15; 67(3-4):181-188.
389. Wooding FBP: The synepitheliochorial placenta of ruminants: Binucleate cell fusions and hormone production. *Placenta* 1992, Volume 13, Issue 2, Pages 101–113.
390. Wooding FBP, Morgan G, Monaghan S, Hamon M, Heap RB: Functional specialization in the ruminant placenta: evidence for two populations of fetal binucleate cells of different selective synthetic capacity. *Placenta* 1996, 17: 75–86.
391. Wolfram S, Berger B and Scharrer E: Transport of selenomethionine and methionine across the intestinal brush border membrane. *Selenium in Biology and Medicine, Proceedings of the 4th International Symposium on Selenium in Biology and Medicine*. Wendel A (ed). 1989a, Pp 109-113.
392. Walter I, Boos A: Matrix metalloproteinases (MMP-2 and MMP-9) and tissue inhibitor-2 of matrix metalloproteinases (TIMP-2) in the placenta and interplacental uterine wall in

- normal cows and in cattle with retention of fetal membranes. *Placenta* 2001, May; 22(5):473-483.
393. Whittle WL, Holloway AC, Lye SJ, Gibb W & Challis JR: Prostaglandin production at the onset of ovine parturition is regulated by both estrogen-independent and estrogen-dependent pathways. *Endocrinology* 2000, 141: 3783-3791.
394. Wischral A, Nishiyama-Naruke A, Curi R, Barnabe RC: Plasma concentrations of estradiol 17beta and PGF2alpha metabolite and placental fatty acid composition and antioxidant enzyme activity in cows with and without retained fetal membranes. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 2001, Jun; 65(2-3):117-124.
395. Wischral A, ITN Verreschi, SB Lima, LF Hayashi and RC Barnabe: Pre-parturition profile of steroids and prostaglandin in cows with or without foetal membrane retention. *Anim. Reprod. Sci* 2001a, 67: 181–188.
396. Wood CE: Control of parturition in ruminants. *J Reprod Fertil Suppl* 1999, 54:115-126.
397. Wu D, Koga T, Martin KR, and Meydani M: Atherosclerosis 1999, 147: 297-307.
398. Wyle FA, Kent JR: Immunosuppression by sex steroid hormones. The effect upon PHA- and PPD stimulated lymphocytes. *Clin Exp Immunol* 1977, 27:407-415.
399. Yu SY, Zhu YJ and Li WG: Protective role of selenium against hepatitis B virus and primary liver cancer in Qidong. *Biological Trace Element Research* 1997, 56(1): 117-124.
400. Yeon-Kyung Han, Ill-Hwa Kim: Risk factors for retained placenta and the effect of retained placenta on the occurrence of postpartum diseases and subsequent reproductive performance in dairy cows. // *Journal of Veterinary Science* 2006, Vol. 7 Issue 1, p53.
401. Zhang Q, Wu WX, Brenna JT, & Nathanielsz PW: The expression of cytosolic phospholipase A2 and prostaglandin endoperoxide synthase in ovine maternal uterine and fetal tissues during late gestation and labor. *Endocrinology* 1996, 137: 4010-4017.
402. Zheng J, Johnson ML, Redmer DA and Reynolds LP: Estrogen and progesterone receptors, cell proliferation and c-fos expression in the ovine uterus during early pregnancy. *Endocrinology* 1996, 137: 340–348.

BIOGRAFIJA AUTORA:

Kandidat, magistar **Miljan N. Veli kovi** , DVM, rođen je u Knjaževcu (R. Srbija) 14. 05.1974. god. gde je završio osnovnu i srednju školu. Diplomirao je na Fakultetu veterinarske medicine 1999. godine sa prosečnom ocenom 8,95. Zvanje magistra veterinarskih nauka stekao je 11. 07. 2005. god. na Fakultetu veterinarske medicine u Beogradu odbranivši magistarski rad pod nazivom „Uticaj parenteralnog davanja beta-karotina na plodnost krava i zdravstveno stanje teladi“, a nakon uspešno završenih poslediplomskih magistarskih studija na kojima je položio sve zakonom predviđene ispite. Mr Miljan Veli kovi vlasnik je renomirane veterinarske ambulante "Velvet" u Knjaževcu, gde se od početka karijere bavi opštom veterinarskom praksom, a naročito interesovanje ispoljava za probleme iz oblasti reprodukcije goveda, što je dobilo svoj naučni izraz u odabiru teme njegovog magistarskog rada, kao i u radovima koje je do sada objavio: 1 rad iz kategorije M23, 3 rada iz kategorije M51, 1 iz kategorije M52, a 3 rada su objavljena na naučnim skupovima.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани: мр Миљан Н. Величковић

број уписа:

Изјављујем

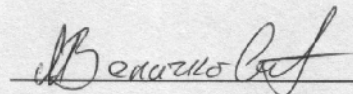
да је докторска дисертација под насловом:

Утицај различитих доза препартално апликованог селена на смањење учесталости заостајања постељице код високомлечних крава

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

Потпис докторанта

У Београду, 25. 05. 2015. год.



Прилог 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора: мр Миљан Н. Величковић, ДВМ

Број уписа:

Студијски програм: Докторске академске студије

Наслов рада:

*Утицај различитих доза преартално апликованог селена на смањење
учесталости застојања постељице код високомлечних крава*

Ментор: Др Иван Б. Јовановић, ред. професор, Универзитет у Београду, Факултет
ветеринарске медицине

Потписани мр Миљан Н. Величковић, ДВМ

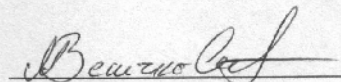
изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској
верзији коју сам предао за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума
Универзитета у Београду**.

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

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

Потпис докторанта

У Београду, 25. 05. 2015. год.



Прилог 3.

Изјава о коришћењу

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

Утицај различитих доза препаратно апликованог селена на смањење учесталости заостајања постељице код високомлечних крава

која је моје ауторско дело.

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

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио.

1. Ауторство

2. Ауторство - некомерцијално

3. Ауторство – некомерцијално – без прераде

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима

5. Ауторство – без прераде

6. Ауторство – делити под истим условима

Потпис докторанта

У Београду, 25. 05. 2015. год.

