

UNIVERZA V LJUBLJANI
VETERINARSKA FAKULTETA

**HEMATOLOŠKI PROFIL KRAV MOLZNIC Z
OBPORODNO PAREZO**

**HEMATOLOGICAL PROFILE IN DAIRY COWS WITH
PERIPARTURIENT PARESIS**

Vid Boršič

Ljubljana, 2026

UNIVERZA V LJUBLJANI

VETERINARSKA FAKULTETA

**HEMATOLOŠKI PROFIL KRAV MOLZNIC Z OBPORODNO
PAREZO**

**HEMATOLOGICAL PROFILE IN DAIRY COWS WITH
PERIPARTURIENT PARESIS**

Vid Boršič

Delo je pripravljeno v skladu z Navodili za samostojno raziskovalno delo, pod mentorstvom prof. dr. Jožeta Stariča, s Klinike za reprodukcijo in velike živali, Veterinarske fakultete, Univerze v Ljubljani.

Ljubljana, 2026

IZVLEČEK

Obporodna pareza (OP) je bolezen, ki prizadene veliko krav molznic. Povzroča jo akutno pomanjkanje kalcija v krvi v ožjem obporodnem obdobju, saj so potrebe po kalciju nenadoma tako povečane, da organizem ne zmore ohranjati ravni krvnega kalcija z regulatornimi mehanizmi in vnosom s krmo. Krave zato obležijo, saj je kalcij makroelement, nujen za kontrakcijo mišic. Če OP ni ustrezno zdravljena takoj ob pojavu, lahko krava pade v komo in pogine. Z namenom preprečevanja obporodne hipokalcemije je bilo v preteklosti opravljenih veliko študij, ki so preučevale mehanizme nastanka in morebitne zgodnje kazalce nagnjenosti živali k razvoju bolezni. Ta raziskovalna naloga analizira hematološki profil krav molznic z OP v primerjavi z molznicami iste farme, ki bolezni niso razvile, ter poskuša ugotoviti, kako se vrednosti krvnih parametrov spreminjajo ob nastanku te bolezni in ali je mogoče s pomočjo teh parametrov OP napovedati že pred telitvijo. Odvzeti so bili vzorci krvi 30 krav s farme, kjer so živali poleti na paši, pozimi pa vhlavljen. Primerjale so se vrednosti krvnih parametrov poleti in pozimi ter pri kravah, obolelih za boleznijo, v obeh letnih časih. S statistično analizo je bilo ugotovljeno, da pojav OP in letni čas vplivata na krvne parametre krav molznic v obporodnem obdobju. Poleg tega so rezultati pokazali, da s pomočjo krvnih parametrov ni mogoče vnaprej napovedati, ali bo krava po telitvi razvila OP ali ne. Zadnja ugotovitev naloge je, da sprememba vrednosti kalcija v krvi po telitvi v primerjavi z vrednostjo pred telitvijo statistično korelira s spremembo vrednosti anorganskega fosforja, na spremembe ostalih parametrov pa ne vpliva.

Ključne besede: govedo, hipokalcemija, obporodna pareza, hemogram, kalcij.

ABSTRACT

Periparturient paresis (PP) affects many dairy cows. It is caused by an acute deficiency of calcium in the blood during the first days after parturition, as the demand for calcium increases so rapidly that the organism cannot adequately raise blood calcium levels through regulatory mechanisms and dietary intake. As a result, cows become recumbent, since calcium is a macroelement essential for muscle contraction. If paresis is not treated correctly and promptly, the cow may fall into a coma and die. To prevent PP, numerous studies have investigated the mechanisms of its development and potential early indicators of susceptibility to the disease. This research project analyses the haematological profile of dairy cows with PP compared with cows from the same farm that did not develop the disease, to determine how blood parameters change during the development of this condition and whether it may be possible to predict PP before calving based on these parameters. Blood samples were collected from 30 cows from a farm where animals graze during the summer and are housed in a barn during the winter. Blood parameter values were compared between summer and winter, and between cows affected by the disease in both seasons. Statistical analysis showed that both the occurrence of PP and the season influence blood parameters in dairy cows during the periparturient period. Additionally, the results demonstrated that blood parameters before parturition cannot be used to predict whether a cow will develop PP after calving. The final finding of this study is that the change in blood calcium concentration after calving, compared to prepartum values, is statistically correlated with changes in inorganic phosphorus, while no effect was observed in other blood parameters.

Keywords: cattle, hypocalcaemia, periparturient paresis, haemogram, calcium.

KAZALO VSEBINE

1. UVOD	10
1.1. NAMEN IN CILJI RAZISKOVANJA	10
1.2. DELOVNE HIPOTEZE	10
2. PREGLED LITERATURE	11
2.1. METABOLIZEM KALCIJA IN NJEGOVE FUNKCIJE V ORGANIZMU	11
2.2. OBPORODNO OBDOBJE PRI GOVEDU	11
2.3. OBPORODNA HIPOKALCEMIJA PRI GOVEDU	12
2.4. REFERENČNE VREDNOSTI KRVNIH PARAMETROV PRI GOVEDU	14
3. MATERIALI IN METODE	15
3.1. NAMEN RAZISKOVALNE NALOGE	15
3.2. ŽIVALI VKLJUČENE V RAZISKAVO	15
3.3. JEMANJE VZORCEV KRVI	16
3.4. OPRAVLJENE PREISKAVE	16
3.5. STATISTIČNA OBDELAVA PODATKOV	16
3.5.1. Prva hipoteza	16
3.5.2. Druga hipoteza	17
3.5.3. Tretja hipoteza	17
3.5.4. Četrta hipoteza	17
4. REZULTATI	19
4.1. OPISNA STATISTIKA HEMATOLOŠKIH IN BIOKEMIJSKIH VREDNOSTI	19
4.2. PRIMERJAVA VREDNOSTI KRVNIH PARAMETROV ZDRAVIH KRAV Z VREDNOSTMI KRAV, OBOLELIH ZA OBPORODNO PAREZO	22
4.3. VPLIV LETNEGA ČASA NA HEMATOLOŠKE PARAMETRE KRAV MOLZNIC V OBPORODNEM OBDOBJU	23
4.4. NAPOVEDNA SPOSOBNOST RAZVOJA OBPORODNE PAREZE PRI MOLZNICAH NA PODLAGI HEMATOLOŠKIH PARAMETROV	23
4.5. POVEZANOST SPREMEMBE VREDNOSTI KALCIJA IN SPREMEMBE VREDNOSTI OSTALIH KRVNIH PARAMETROV	24
5. RAZPRAVA	25
5.1. PRIMERJAVA VREDNOSTI KRVNIH PARAMETROV ZDRAVIH KRAV Z VREDNOSTMI KRAV, OBOLELIH ZA OBPORODNO PAREZO	25

5.2. VPLIV LETNEGA ČASA NA HEMATOLOŠKE PARAMETRE KRAV MOLZNIC V OBPORODNEM OBDOBJU	26
5.3. NAPOVEDNA SPOSOBNOST RAZVOJA OBPORODNE PAREZE PRI MOLZNICAH NA PODLAGI HEMATOLOŠKIH PARAMETROV	26
5.4. POVEZAVA SPREMEMBE VREDNOSTI KALCIJA S SPREMEMBAMI VREDNOSTI OSTALIH KRVNIH PARAMETROV	27
6. SKLEPI	28
7. ZAHVALE	30
8. LITERATURA IN VIRI.....	31

KAZALO TABEL

Tabela 1: Referenčne vrednosti krvnih parametrov za govedo	14
Tabela 2: Interpretacija korelacije med dvema statističnima vrednostima na podlagi r-vrednosti.....	18
Tabela 3: Vrednosti Ca, aP, E, Hb, Ht, MCV in L v poletni skupini (n=17) pred telitvijo (AP) in po telitvi (PP).....	19
Tabela 4: Vrednosti Ca, aP, E, Hb, Ht, MCV in L v zimski skupini (n=13) pred telitvijo (AP) in po telitvi (PP).....	20
Tabela 5: Krave z obporodno parezo pred (AP) in po telitvi (PP).	21
Tabela 6: P-vrednosti t-testa za neodvisne vzorce zdravih in obolelih krav poletne skupine pred telitvijo (AP) in po telitvi (PP).....	22
Tabela 7: P-vrednosti t-testa za neodvisne vzorce zdravih in obolelih krav zimske skupine pred telitvijo (AP) in po telitvi (PP).....	22
Tabela 8: P-vrednosti t-testa za neodvisne vzorce poletne in zimske skupine krav molznic pred telitvijo	23
Tabela 9: P-vrednosti t-testa za neodvisne vzorce poletne in zimske skupine krav molznic po telitvi	23
Tabela 10: P-vrednosti t-testa za neodvisne vzorce vseh zdravih in vseh obolelih krav v raziskavi pred porodom, ne glede na letni čas.....	23
Tabela 11: R-vrednosti Pearsonovega testa pri iskanju korelacije med posameznimi krvnimi parametri in kalcijem pri vseh kravah v raziskavi	24
Tabela 12: P-vrednosti spremembe vrednosti posameznega krvnega parametra pri iskanju statistično značilne korelacije s spremembami vrednosti krvnega kalcija pri vseh kravah v raziskavi.....	24

SEZNAM OKRAJŠAV IN SIMBOLOV

PTH – parathormon

E – skupno število eritrocitov

Hb – hemoglobin

Ht – Hematokrit

MCV – povprečna prostornina eritrocitov

L – skupno število levkocitov

EDTA - etilendiamintetraocetna kislina

ALP – alkalna fosfataza

iCa²⁺ - ionizirana oblika kalcija

OP – obporodna pareza

AP – *antepartum* ali pred porodom

PP – *postpartum* ali po porodu

1. UVOD

Raziskovalno delo temelji na statistični obdelavi podatkov, pridobljenih z laboratorijsko analizo krvi krav molznic v letih 2007 in 2008. Namen raziskave je poglobiti znanje o nastanku, diagnostiki in zdravljenju obporodne hipokalcemije, nadgraditi razumevanje fiziologije krav molznic v obporodnem obdobju ter pridobiti znanja in kompetence na področju raziskovalnega dela, iskanja in ustreznega citiranja literature, statistične analize podatkov ter pisanja zaključenega raziskovalnega dela. Poleg tega je cilj tudi analiza sprememb vrednosti krvnih parametrov pri kravah, obolelih za obporodno parezo, ter morebitna možnost uporabe teh sprememb v diagnostične ali prognostične namene.

1.1. NAMEN IN CILJI RAZISKOVANJA

Za raziskavo sem se odločil, ker me zanima delo s prežvekovalci, raziskovalno delo s to tematiko pa je odlična priložnost, da se o reji in zdravljenju goveda naučim več. Obporodna hipokalcemija je v reji molznic velika težava, saj je v klinični obliki smrtno nevarna za žival, v subklinični pa povzroča velike gospodarske izgube rejcem. Poznavanje vzrokov za nastanek, prepoznavanje kliničnih znakov bolezni in iskanje morebitnih korelacij med pojavom bolezni ter krvnimi parametri so zato pomembni za ustrezno zdravljenje in preprečevanje obporodne hipokalcemije pri kravah molznicah.

1.2. DELOVNE HIPOTEZE

Na podlagi ciljev so oblikovane nalsednje hipoteze:

H1: Med hematološkimi parametri krav molznic v obporodnem obdobju in pojavnostjo hipokalcemične obporodne pareze ni statistično značilne povezave.

H2: Letni čas statistično značilno ne vpliva na hematološke parametre krav molznic z obporodno parezo.

H3: Hematološki parametri nam pri kravah molznicah v obporodnem obdobju ne morejo nakazati nagnjenosti živali k razvoju obporodne pareze.

H4: Sprememba vrednosti kalcija v krvi ni statistično značilno povezana s spremembami vrednosti drugih krvnih parametrov.

2. PREGLED LITERATURE

2.1. METABOLIZEM KALCIJA IN NJEGOVE FUNKCIJE V ORGANIZMU

Kalcij je pomemben makroelement in nujno potreben za normalno delovanje organizma pri ljudeh in živalih. V organizmu se kalcij nahaja v kosteh v obliki kalcijevega hidroksiapatita (99 %), preostali 1 % pa v serumu krvi v treh oblikah: ionizirani oziroma prosti kalcij (iCa^{2+}), ki ga je največ (približno 51 %) in je edini biološko aktiven, kar pomeni, da je telesu na voljo za uporabo v metabolizmu. Sledita kalcij, vezan na proteinske molekule (približno 40 %), ter kelatiran kalcij, vezan v anionske komplekse (približno 9 %) (Yu in Sharma, 2023).

Ko začne organizmu primanjkovati prostega kalcija, se sproži mehanizem stimulacije obščitnične žleze, ki izloča obščitnični hormon (PTH). PTH se veže na receptorje v ledvicah, kar poveča reabsorpcijo kalcija in produkcijo aktivne oblike vitamina D. Ta v črevesju poveča absorpcijo kalcija iz črevesne vsebine. PTH se veže tudi na receptorje v kostnem tkivu, kjer poveča aktivnost osteoklastov, ki reabsorbirajo kostnino in s tem sproščajo kalcij v krvni obtok (Yu in Sharma, 2023). Pomemben dejavnik tega sistema je pH krvi. Če nastopi alkalozna in je pH nad 7,5, se spremeni struktura receptorjev za PTH in posledično PTH ne deluje tako učinkovito (Tufarelli in sod., 2024). Če kljub tem mehanizmom organizmu ne uspe dvigniti ravni kalcija v krvi, nastopi hipokalcemija (Arechiga-Flores in sod., 2022).

Glavna funkcija kalcija v organizmu je omogočanje kontrakcij skeletne, gladke in srčne mišičnine. Kalcij se nalaga v sarkoplazemskem retikulumu mišičnih celic in se ob sprožitvi akcijskega potenciala sprosti v celico, kjer se veže na tropomiozin ter omogoča interakcijo miozina in aktina, kar povzroči skrčenje mišične celice. Pri gladki in srčni mišičnini obstaja tudi mehanizem vstopa zunajceličnega kalcija v celico. Kalcij ima pomembno vlogo tudi pri rasti in funkcionalnosti celic tkiv, saj aktivira proteinske kinaze, ki fosforilirajo proteine in s tem omogočajo ustrezno signalizacijo molekul na celičnem nivoju. Poleg tega uravnava odziv celic na hormone adrenalin, vazopresin, glukagon, sekretin in holecistokinin ter pomembno vpliva na aktivacijo imunskega sistema (Yu in Sharma, 2023).

2.2. OBPORODNO OBDOBJE PRI GOVEDU

Obporodno obdobje pri govedu zajema čas od treh tednov pred telitvijo do treh tednov po telitvi, za katerega so značilne drastične spremembe v fiziologiji živali (Drackley, 1999). V obdobju pred telitvijo potekata hitra rast plodu ter rast in razvoj vimena, sinteza kolostruma in endokrine spremembe, predvsem znižanje vrednosti inzulina, inzulinu podobnega rastnega faktorja 1 (IGF1) in leptina ter povišanje

vrednosti rastnega hormona, vse z namenom priprave krave na povečane energijske potrebe takoj po telitvi, povečano mobilizacijo energije, olajšan prenos energije do plodu, znižanje bazalnega metabolizma krave in prerazporeditev potrebnih hranilnih snovi do vimena. Za krave in telice je v obdobju nekaj dni pred telitvijo značilen upad vnosa suhe snovi. Zaradi sprememb v hormonskem ravnovesju, zmanjšanega vnosa energije in povečane porabe energije ob vstopu v laktacijo pride do mobilizacije maščob iz zalog, glikogena iz jeter, v primeru hujšega pomanjkanja energije pa tudi do mobilizacije telesnih proteinov iz mišičevja. Za to raziskovalno nalogo je najpomembnejša sprememba znatno povečana potreba po kalciju. Breja molznica, ki tehta približno 650 kilogramov, potrebuje dnevno absorpcijo okoli 24 gramov kalcija: 11 gramov za bazalni metabolizem in 13 gramov za razvoj plodu. Absorpcija kalcija je odvisna od količine kalcija v krmi ter od zmožnosti in potrebe organizma za absorpcijo iz črevesja. Študije, ki so ugotavljale koeficient absorpcije kalcija iz črevesja, navajajo podatke od 0,30 do 0,55, kar pomeni, da mora molznica dnevno s krmo zaužiti med 43 in 80 g kalcija. Molznice črno-bele pasme v povprečju proizvedejo 7 kilogramov kolostruma, ki vsebuje približno 2,1 g kalcija na kilogram kolostruma, kar pomeni skoraj 16 g porabe plazemskega kalcija. Koncentracija kalcija nato pade do okoli 1 g/L mleka še vsaj prvih 5 molž, med katerimi krave črno-bele pasme v povprečju namolzejo okoli 44 kg mleka. To pomeni 88 g Ca oziroma 35 g Ca na dan, če se krave molze dvakrat dnevno. Ob dodani količini kalcija, potrebnih za bazalni metabolizem, gre za skoraj dvakratno povečanje potreb po kalciju v primerjavi z obdobjem neposredno pred porodom (National Academies of Sciences, Engineering and Medicine, 2021).

2.3. OBPORODNA HIPOKALCEMIJA PRI GOVEDU

Obporodna hipokalcemija je bolezen krav molznic, ki se pojavlja že stoletja, prvič pa je bila omenjena v nemški literaturi leta 1793 (McArt in Oetzel, 2023). Gre za bolezen, ki najpogosteje prizadene krave takoj po telitvi, če homeostatski mehanizmi, ki uravnavajo krvni kalcij, niso dovolj učinkoviti ali se vzpostavijo prepozno, ko je pomanjkanje kalcija že preveliko (Tufarelli in sod., 2024). Poznamo klinično in subklinično hipokalcemijo. Pri subklinični hipokalcemiji ni prisotnih kliničnih znakov, vendar ima molznica znižano raven kalcija v krvi pod normalnimi vrednostmi, kar predstavlja dejavnik tveganja za nastanek drugih obporodnih bolezni.

Subklinična oblika prizadene približno 50 % krav molznic, če so pred telitvijo ustrezno preskrbljene z minerali, pa se incidenca zmanjša na 15–25 %. Za krave s subklinično hipokalcemijo veljajo tiste, ki imajo po porodu vrednost serumskega kalcija manj kot 2,00 mmol/L. Ker kliničnih znakov ni, je subklinična oblika redko zdravljena, kljub odsotnosti vidnih simptomov pa je značilna tudi zmanjšana

proizvodnja mleka ter večja dovzetnost za nastanek dislokacije siriščnika (Tufarelli in sod., 2024).

Klinična hipokalcemija prizadene od 2,8 % do 5,8 % molznic (McArt in Oetzel, 2023). Poteka v treh fazah. Za 1. fazo sta značilni živčna in mišična hipersenzitivnost, mišični tremor, neješčnost, ataksičnost ter normalna telesna temperatura (Tufarelli in sod., 2024). V 2. fazi nastopijo izguba moči in splošna izčrpanost, žival ni več sposobna vstati (pareza), temveč leži v sternalnem položaju, očitna je znižana telesna temperatura ($36,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ – $38,0\text{ }^{\circ}\text{C}$), okončine so hladne (Tufarelli in sod., 2024). Krave pogosto ležijo v značilni, t. i. avtoavskultatorni poziciji – videti je, kot da poslušajo lastno srce (McArt in Oetzel, 2023). Arterijski pulz je šibak, srce je ob avskultaciji komaj slišno, frekvenca je običajno nad 80 udarcev na minuto. Zaradi splošnega pomanjkanja kalcija je hipotona tudi gladka mišičnina notranjih organov, kar povzroči atonijo vampa in njegovo napenjanje ter nezmožnost uriniranja in iztiska placente po porodu. V 3. fazi krava pade v komo in leži na boku, pulz je komaj tipen in neenakomeren, dihanje je plitvo in počasno, žival pa v takem stanju ne preživi več kot nekaj ur (Tufarelli in sod., 2024).

Diagnostika obporodne pareze temelji na anamnezi, kliničnem pregledu in laboratorijskem določanju vrednosti kalcija v krvi. Za hipokalcemične označimo krave, ki imajo vrednost serumskega kalcija manj kot $1,5\text{ mmol/L}$, krave, ki obležijo, pa imajo vrednost navadno nižjo od $1,25\text{ mmol/L}$. Obporodna hipokalcemija je glavna diferencialna diagnoza za kravo, ki je obležala po porodu, in na podlagi te anamneze veterinar opravi klinični pregled, s katerim oceni, ali krava potrebuje zdravljenje. Hiter, pozitiven odziv na terapijo navadno potrди sum, vendar je zelo pomembno, da se pred terapijo odvzame vzorec krvi, ki se nato analizira v laboratoriju, saj le nizka koncentracija kalcija v krvi pred zdravljenjem potrди diagnozo (McArt in Oetzel, 2023).

Zdravljenje je običajno odvisno od stopnje hipokalcemije, v kateri je žival. V 1. fazi, ko lahko zdravila še apliciramo peroralno, uporabljamo kalcijeve pripravke v obliki past, praškov ali gelov, najpogosteje Ca propionat ali CaCl_2 , ki je razredčen v obliki gela, saj je jedek za prebavila (Starič, 2011). V 2. in 3. fazi žival ne more več požirati, zato terapija poteka parenteralno, in sicer s $500\text{ mL } 23\text{ }\%$ Ca boroglukonata, ki ga v obdobju 5 do 10 minut apliciramo prek kanile v veno. Pomembno je, da raztopina ne steče prehitro, saj lahko pride do srčnih aritmij, zato je med terapijo potreben nadzor bitja srca, da ob neenakomernem bitju terapijo takoj prekinemo (McArt in Oetzel, 2023).

2.4. REFERENČNE VREDNOSTI KRVNIH PARAMETROV PRI GOVEDU

Koncept referenčnih vrednosti sta leta 1969 z namenom standardizacije razpona vrednosti analiziranih faktorjev v preiskovanih vzorcih uvedla Ralf Gräsbeck in Nils-Erik Saris (Geffré in sod., 2009). Pri govedu se kri za vzorce jemlje iz v. jugularis externa ali iz srednje repne vene (v. caudalis medianae). Pri odvzemu mora biti žival čim bolj mirna in dobro fiksirana, saj se ob velikem stresu sprosti veliko adrenalina in steroidov, ki lahko vplivajo na belo krvno sliko (levkogram). Ob morebitnih udarcih in tresenju epruvete pa v krvi pride do povečane hemolize, kar lahko izkrivi vrednosti rezultatov. Vzorec krvi za hematološko preiskavo se vzame v epruveto z dodano etilendiamintetraocetno kislino (EDTA), saj ta deluje kot antikoagulant in preprečuje nastanek krvnega strdka ter seruma. Ob dodatku krvi v epruveto jo je treba previdno obračati, da se kri in antikoagulant premešata, vendar ne premočno, da ne pride do pokanja eritrocitov in posledično napačnih vrednosti parametrov zaradi hemolize. Epruveto je nato treba čim prej shraniti v hladilnik (4 °C) in prepeljati v laboratorij na preiskavo, idealno v 24 urah po odvzemu (Jones in Allison, 2007). Za določitev vrednosti biokemijskih analitov je treba pridobiti krvni serum. Odvzem krvi je enak kot za hematološko preiskavo, razlika je le v izbiri epruvete, v katero zbiramo kri. Ta ne sme vsebovati antikoagulant, saj je za nastanek krvnega seruma potrebna koagulacija krvi, kar dosežemo tako, da epruveto najprej pustimo na sobni temperaturi toliko časa, da nastane krvni strdek, nato pa jo damo v centrifugo za popolno ločitev seruma od krvnih celic. Serum nato prelijemo v novo epruveto za transport, dokler se ne začne postopek analize. Na hladnem (4 °C) vzorec seruma zdrži od 24 do 36 ur (Russell in Roussel, 2007). Vrednosti krvnih parametrov je priporočljivo meriti v laboratorijih, ki izvajajo redno kontrolo kakovosti dela.

Za namen te raziskovalne naloge so pomembni kalcij (Ca), anorganski fosfat (aP), skupno število eritrocitov (E), hemoglobin (Hb), hematokrit (Ht), povprečna prostornina eritrocitov (MCV) in skupno število levkocitov (L). Ca in aP se določata z biokemijsko analizo seruma, število E in L ter vrednosti Hb, Ht in MCV pa s hematološko preiskavo polne krvi. V spodnji tabeli so prikazane referenčne vrednosti za posamezni krvni parameter pri govedu (Jazbec, 1990; Jones in Allison, 2007).

Tabela 1: Referenčne vrednosti krvnih parametrov za govedo

Krvni parameter	Referenčni interval
Ca (mmol/L)	2,25 – 2,99
aP (mmol/L)	1,61 – 2,26
E ($\times 10^6$ celic/ μ L)	5,0 – 10,0
Hb (g/dL)	8,0 – 15,0
Ht (%)	24 – 46
MCV (fL)	40 – 60
L ($\times 10^3$ celic/ μ L)	4,0 – 12,0

3. MATERIALI IN METODE

3.1. NAMEN RAZISKOVALNE NALOGE

Samostojno raziskovalno delo je pripravljeno kot dodatna analiza podatkov, zbranih za doktorsko dizertacijo prof. dr. Jožeta Stariča, ki je tudi mentor tega raziskovalnega dela. Materiali in metode so enaki kot pri omenjeni doktorski nalogi, katere cilj je bilo preučevanje in merjenje specifičnih biokemijskih kazalcev kostnega metabolizma v obporodnem obdobju krav z namenom diagnosticiranja motenj metabolizma kalcija in kostnega tkiva ter ugotavljanja učinkovitosti preventive hipokalcemije s parenteralno aplikacijo visokega odmerka vitamina D3 (Starič, 2011).

3.2. ŽIVALI VKLJUČENE V RAZISKAVO

V raziskavo je bilo vključenih 30 klinično zdravih krav molznic s Farme Grmače, Kmetijsko-gozdarske zadruge Litija. Gre za molznice črno-bele pasme, ki so jih spremljali v času paše med 19. 4. 2007 in 11. 9. 2007 ter v času vhlevitve med 26. 10. 2007 in 4. 4. 2008. Od 30 krav jih je bilo 17 v poletni in 13 v zimski skupini. V povprečju so bile v času 5,4. telitve, razpon je bil od 4. do 8. telitve, stare pa so bile od 5 do 11 let. Prireja mleka se je gibala med 5718 in 11.560 kg/305 dni, v povprečju pa je znašala 8695 kg/305 dni. Presušene so bile med 48 in 85 dni, povprečno 61,5 dni.

Ocena telesne kondicije (BCS) se je pred in po telitvi poleti in pozimi gibala med 3,00 in 5,00. Povprečno je pred telitvijo poleti znašala 3,40, po telitvi pa 3,31. Pozimi je bil BCS pred telitvijo povprečno 3,62, po telitvi pa 3,46.

Razdeljene so bile v tri skupine:

1. Poletna skupina na paši (n=17).
2. Zimska vhlevljena skupina (n=13).
3. Krave prvih dveh skupin, ki so tekom raziskave obbolele za obporodno parezo (n=9).

V tretjo skupino spadajo vse molznice, ki so razvile parezo, ne glede na letni čas. Od teh so bile 4 iz poletne skupine in 5 iz zimske. Skupaj je bilo v raziskavo vključeno 30 krav molznic.

3.3. JEMANJE VZORCEV KRVI

Molznicam v raziskavi so vensko kri odvzeli iz repne v. *caudalis medianae* s pomočjo vakuumskega odvzema, vedno med 9. in 12. uro zjutraj. Kri so odvzeli dvakrat v tranzicijskem obdobju, in sicer:

1. 1 do 10 dni pred porodom,
2. 12 do 48 ur po porodu.

Kri so odvzeli v vakutainerje brez in z dodanim antikoagulantom EDTA. Za pridobitev krvnega seruma so kri pustili spontano koagulirati na sobni temperaturi, nato so serum odlili in ga dvakrat centrifugirali pri 1500 g po 10 minut. Serum so do preiskave shranili pri -20 °C.

3.4. OPRAVLJENE PREISKAVE

Biokemijske in hematološke preiskave so bile opravljene v Kliničnem laboratoriju Klinike za prežvekovalce Veterinarske fakultete Univerze v Ljubljani, kjer so merili koncentracije serumskega Ca in aP, skupno število eritrocitov, vrednosti hemoglobina, hematokrita, povprečno prostornino eritrocitov (MCV) in skupno število levkocitov. Vse preiskave so bile izvedene avtomatizirano z biokemijskim analizatorjem RX Daytona (Randox, Irska) in hematološkim analizatorjem ABC Vet (ABC, Francija). V laboratoriju se redno izvaja intra- in interlaboratorijska (mednarodna: RIQAS) kontrola kakovosti dela.

3.5. STATISTIČNA OBDELAVA PODATKOV

Vse statistične podatke, pridobljene v okviru raziskave, sem obdelal s programom Microsoft® Excel® for Microsoft 365 MSO (Version 2603 Build 16.0.19822.20086) 64-bit (Microsoft, ZDA). Za opisno statistiko vrednosti hematoloških in biokemijskih parametrov smo uporabili izračune aritmetične sredine, standardnega odklona in mediane.

3.5.1. Prva hipoteza

Za analizo podatkov, potrebnih za zavrnitev ali potrditev prve hipoteze, smo uporabili t-test za neodvisne vzorce, saj smo primerjali podatke različnih skupin krav (tistih s parezo in tistih brez nje) v istih dveh obdobjih, pred in po telitvi. Zanimalo

nas je, ali se poleg kalcija in fosforja pri kravah, ki obležijo, spremenijo tudi vrednosti hematoloških parametrov. Primerjali smo vse hematološke in biokemijske parametre zdravih in obolelih krav v poletni in zimski skupini. Meja statistične pomembnosti je bila $p < 0,05$.

3.5.2. Druga hipoteza

Tudi pri drugi hipotezi smo uporabili t-test za neodvisne vzorce, saj gre za podatke različnih skupin molznic. Primerjali smo vrednosti krvnih parametrov vseh krav (zdravih in obolelih) poletne skupine s parametri vseh molznic zimske skupine, ker nas je zanimalo, ali letni čas vpliva na spremembe vrednosti hematoloških parametrov. Dodatno smo primerjali tudi vrednosti krvnih parametrov izključno pri obolelih kravah poletne in zimske skupine. Meja statistične pomembnosti je bila $p < 0,05$.

3.5.3. Tretja hipoteza

Pri tretji hipotezi smo prav tako uporabili t-test za neodvisne vzorce, da bi ugotovili, ali je s pomočjo hematoloških parametrov pri kravah že pred porodom mogoče napovedati njihovo dovzetnost za razvoj poporodne hipokalcemije. Preverili smo, ali se vrednosti krvnih parametrov med skupino krav, ki razvijejo parezo, in kravami, ki je ne, razlikujejo že pred porodom. Ponovno smo uporabili t-test za neodvisne vzorce in primerjali vrednosti hematoloških in biokemijskih parametrov zdravih krav pred porodom z vrednostmi istih parametrov obolelih krav pred porodom. Meja statistične pomembnosti je bila $p < 0,05$.

3.5.4. Četrta hipoteza

Pri četrti hipotezi nas je zanimalo, ali sprememba vrednosti kalcija v krvi vpliva tudi na druge krvne parametre. Najprej smo izračunali spremembo vrednosti za posamezno kravo in posamezen parameter (vrednost po – vrednost pred telitvijo), nato pa spremembe vrednosti aP, E, Hb, Ht, MCV in L primerjali s spremembo vrednosti Ca s pomočjo izračuna Pearsonovega koeficienta korelacije. Uporabili smo vse molznice v raziskavi ($n = 30$), ne glede na letni čas in pojavnost pareze. Pearsonov koeficient korelacije poda rezultate v obliki r-vrednosti, ki nakazuje moč in smer korelacije med dvema vrednostma. Dobljene r-vrednosti (Tabela 15) so lahko pozitivne ali negativne. Če so pozitivne, se obe vrednosti gibljeta v isto smer, če so negativne, pa sta vrednosti obratno sorazmerni (Schober in sod., 2018).

Spodaj je Tabela 2, ki prikazuje moč korelacije med dvema vrednostma na podlagi r-vrednosti (Schober in sod., 2018):

Tabela 2: Interpretacija korelacije med dvema statističnima vrednostima na podlagi r-vrednosti

R vrednost	Interpretacija korelacije
0,00 – 0,09	zanemarljiva
0,10 – 0,39	šibka
0,40 – 0,69	zmerna
0,70 – 0,89	močna
0,90 – 1,00	zelo močna

R-vrednosti pokažejo stopnjo korelacije med dvema vrednostma, vendar je za potrditev statistično značilne povezave treba izračunati še p-vrednost za posamezen parameter s t-testom Pearsonove korelacije. R-vrednost se v p-vrednost preračuna s pretvorbo korelacijskega koeficienta v t-vrednost po naslednji enačbi (Schober in sod., 2018):

$$t = \frac{r\sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}}$$

Sledi pretvorba t-vrednosti v p-vrednost s pomočjo Studentove t-porazdelitve z n-2 stopnjo prostosti (Schober in sod., 2018):

$$p = 2p(T_{n-2} \geq |t|)$$

Meja statistične pomembnosti je tudi pri četrti hipotezi bila $p < 0,05$.

4. REZULTATI

4.1. OPISNA STATISTIKA HEMATOLOŠKIH IN BIOKEMIJSKIH VREDNOSTI

V raziskavi je sodelovalo 30 molznic, od katerih jih je 9 (4 poleti, 5 pozimi) obolelo za OP, kar predstavlja 30 %. To je precej več kot je bilo navedeno v poglavju Pregled literature, kjer je bila pojavnost klinične hipokalcemije ocenjena na 2,8 % do 5,8 % (McArt in Oetzel, 2023). Pri tem je treba upoštevati, da se to obolenje pri telicah redko pojavlja, pri starejših kravah pa pogosteje. Vse krave v tej raziskavi so telile že vsaj četrtič, nekatere tudi osmič. Poleg klinične oblike jih je 18 oziroma 60 % po telitvi imelo vrednost kalcija v krvi pod 2 mmol/L, kar kaže na visoko prevalenco subklinične hipokalcemije v reji. V Tabelah 3–5 so prikazani opisni statistični podatki, ki omogočajo vpogled v vrednosti merjenih parametrov (Ca, aP, E, Hb, Ht, MCV in L). Prikazani so aritmetična sredina, standardni odklon, najnižja in najvišja izmerjena vrednost v skupini ter mediana.

Tabela 3: Vrednosti Ca, aP, E, Hb, Ht, MCV in L v poletni skupini (n=17) pred telitvijo (AP) in po telitvi (PP)

	Ca		aP		E		Hb	
	AP	PP	AP	PP	AP	PP	AP	PP
Povprečje	2,32 mmol/L	1,75 mmol/L	1,98 mmol/L	1,56 mmol/L	5,68 x 10 ⁶ /μL	5,65 x 10 ⁶ /μL	10,2 g/dL	10,1 g/dL
Standardni odklon	0,16	0,48	0,36	0,57	0,52	0,62	1,12	1,17
Min.	1,91 mmol/L	0,88 mmol/L	1,19 mmol/L	0,87 mmol/L	4,78 x 10 ⁶ /μL	4,44 x 10 ⁶ /μL	8,7 g/dL	8,5 g/dL
Max.	2,51 mmol/L	2,35 mmol/L	2,69 mmol/L	2,59 mmol/L	7,00 x 10 ⁶ /μL	7,00 x 10 ⁶ /μL	12,8 g/dL	12,8 g/dL
Mediana	2,38 mmol/L	1,81 mmol/L	2,04 mmol/L	1,43 mmol/L	5,60 x 10 ⁶ /μL	5,65 x 10 ⁶ /μL	9,8 g/dL	10,2 g/dL
	Ht		MCV		L			
	AP	PP	AP	PP	AP	PP		
Povprečje	29,3 %	29,30 %	51 fL	52 fL	8,6 x 10 ³ /μL	7,80 x 10 ³ /μL		
Standardni odklon	3,62	3,98	3,20	3,30	2,36	3,45		
Min.	23,8 %	24,10 %	46 fL	47 fL	5,6 x 10 ³ /μL	2,90 x 10 ³ /μL		
Max.	37,1 %	37,20 %	57 fL	58 fL	13,1 x 10 ³ /μL	15,0 x 10 ³ /μL		
Mediana	29,0 %	29,1 %	51 fL	51 fL	8,3 x 10 ³ /μL	7,9 x 10 ³ /μL		

Tabela 4: Vrednosti Ca, aP, E, Hb, Ht, MCV in L v zimski skupini (n=13) pred telitvijo (AP) in po telitvi (PP)

	Ca		aP		E		Hb	
	AP	PP	AP	PP	AP	PP	AP	PP
Povprečje	2,18 mmol/L	1,73 mmol/L	1,90 mmol/L	1,64 mmol/L	6,27 x 10 ⁶ /μL	6,46 x 10 ⁶ /μL	11,30 g/dL	11,90 g/dL
Standardni odklon	0,30	0,39	0,39	0,62	0,58	0,83	0,89	1,86
Min.	1,43 mmol/L	0,92 mmol/L	0,86 mmol/L	5,08 x 10 ⁶ /μL	5,13 x 10 ⁶ /μL	5,08 x 10 ⁶ /μL	9,80 g/dL	9,60 g/dL
Max.	2,43 mmol/L	2,23 mmol/L	2,49 mmol/L	7,76 x 10 ⁶ /μL	7,14 x 10 ⁶ /μL	7,76 x 10 ⁶ /μL	12,50 g/dL	15,90 g/dL
Mediana	2,27 mmol/L	1,60 mmol/L	1,92 mmol/L	6,66 x 10 ⁶ /μL	6,43x 10 ⁶ /μL	6,66 x 10 ⁶ /μL	11,30 g/dL	11,50 g/dL
	Ht		MCV		L			
	AP	PP	AP	PP	AP	PP		
Povprečje	32,80 %	34,80 %	54 fL	54 fL	8,90 x 10 ³ /μL	9,20 x 10 ³ /μL		
Standardni odklon	2,94	5,46	3,13	3,51	2,23	5,68		
Min.	28,50 %	28,40 %	50 fL	50 fL	6,00 x 10 ³ /μL	2,00 x 10 ³ /μL		
Max.	37,10 %	48,10 %	60 fL	62 fL	12,00 x 10 ³ /μL	20,30 x 10 ³ /μL		
Mediana	32,80 %	34,60 %	52 fL	53 fL	8,70 x 10 ³ /μL	7,70 x 10 ³ /μL		

Tabela 5: Krave z obporodno parezo pred (AP) in po telitvi (PP).

	Ca		aP		E		Hb	
	AP	PP	AP	PP	AP	PP	AP	PP
Povprečje	2,19 mmol/L	1,21 mmol/L	1,83 mmol/L	1,08 mmol/L	5,84 x 10 ⁶ /μL	6,03 x 10 ⁶ /μL	10,60 g/dL	11,20 g/dL
Standardni odklon	0,33	0,28	0,46	0,39	0,64	0,84	1,52	1,79
Min.	1,43 mmol/L	0,88 mmol/L	0,86 mmol/L	0,36 mmol/L	5,13 x 10 ⁶ /μL	5,07 x 10 ⁶ /μL	9,40 g/dL	9,50 g/dL
Max.	2,51 mmol/L	1,59 mmol/L	2,39 mmol/L	1,75 mmol/L	7,00 x 10 ⁶ /μL	7,27 x 10 ⁶ /μL	12,80 g/dL	14,40 g/dL
Mediana	2,23 mmol/L	1,17 mmol/L	1,91 mmol/L	1,05 mmol/L	5,77 x 10 ⁶ /μL	5,85 x 10 ⁶ /μL	10,30 g/dL	10,30 g/dL
	Ht		MCV		L			
	AP	PP	AP	PP	AP	PP		
Povprečje	30,5 %	31,9 %	52 fL	53 fL	8,2 x 10 ³ /μL	6,9 x 10 ³ /μL		
Standardni odklon	3,55	4,39	2,44	2,24	2,27	3,14		
Min.	25,8 %	26,6 %	48 fL	50 fL	6,0 x 10 ³ /μL	3,7 x 10 ³ /μL		
Max.	37,1 %	38,9 %	57 fL	57 fL	12,0 x 10 ³ /μL	11,9 x 10 ³ /μL		
Mediana	30,1 %	30,2 %	52 fL	53 fL	7,2 x 10 ³ /μL	5,8 x 10 ³ /μL		

4.2. PRIMERJAVA VREDNOSTI KRVNIH PARAMETROV ZDRAVIH KRAV Z VREDNOSTMI KRAV, OBOLELIH ZA OBPORODNO PAREZO

Pri izvedbi t-testa za neodvisne vzorce v poletni in zimski skupini krav pred telitvijo ni bila ugotovljena statistična povezava med hematološkimi parametri in pojavnostjo obporodne pareze (Tabeli 6 in 7). Statistično značilna povezava je bila po pričakovanjih ugotovljena med spremembami vrednosti kalcija in fosforja ter pojavnostjo OP v obeh skupinah krav molznic (poletna in zimska) po telitvi (Tabeli 6 in 7). Poleg tega je bila ugotovljena statistično značilna povezava med vrednostmi hemoglobina zdravih in obolelih krav v zimski skupini pred telitvijo (Tabela 7).

Tabela 6: P-vrednosti t-testa za neodvisne vzorce zdravih in obolelih krav poletne skupine pred telitvijo (AP) in po telitvi (PP)

	Ca		aP		E	
	AP	PP	AP	PP	AP	PP
p-vrednost	0,872309	0,000122*	0,514845	0,000587*	0,603744	0,501209
	Hb		Ht		MCV	
	AP	PP	AP	PP	AP	PP
p-vrednost	0,536902	0,415492	0,758437	0,491473	0,720762	0,904198
	L					
	AP	PP				
p-vrednost	0,446908	0,284751				

* - statistično značilna povezava med skupinami podatkov.

Tabela 7: P-vrednosti t-testa za neodvisne vzorce zdravih in obolelih krav zimske skupine pred telitvijo (AP) in po telitvi (PP)

	Ca		aP		E	
	AP	PP	AP	PP	AP	PP
p-vrednost	0,513527	0,003863*	0,57343	0,021698*	0,053153	0,323244
	Hb		Ht		MCV	
	AP	PP	AP	PP	AP	PP
p-vrednost	0,032337*	0,746059	0,060041	0,310504	0,749026	0,968735
	L					
	AP	PP				
p-vrednost	0,715556	0,35132				

* - statistično značilna povezava med skupinami podatkov.

4.3. VPLIV LETNEGA ČASA NA HEMATOLOŠKE PARAMETRE KRAV MOLZNIC V OBPORODNEM OBDOBJU

Z uporabo t-testa za neodvisne vzorce smo pri vrednostih E, Hb in Ht vseh krav pred in po telitvi ugotovili statistično značilen vpliv letnega časa na izmerjene vrednosti. Poleg tega v skupini krav, obolelih za OP, nismo ugotovili statistično značilnega vpliva letnega časa na izmerjene vrednosti hematoloških in biokemijskih parametrov (Tabeli 8 in 9).

Tabela 8: P-vrednosti t-testa za neodvisne vzorce poletne in zimske skupine krav molznic pred telitvijo

	Ca	aP	E	Hb	Ht	MCV	L
Vse (n=30)	0,138199	0,55973	0,007759*	0,005784*	0,006259*	0,07906	0,719419
Pareza (n=9)	0,369378	0,830736	0,962654	0,959989	0,731982	0,191748	0,597831

* - statistično značilna povezava med skupinami podatkov.

Tabela 9: P-vrednosti t-testa za neodvisne vzorce poletne in zimske skupine krav molznic po telitvi

	Ca	aP	E	Hb	Ht	MCV	L
Vse (n=30)	0,931885	0,742354	0,007431*	0,007655*	0,006213*	0,131389	0,439074
Pareza (n=9)	0,121229	0,629737	0,688597	0,439258	0,51285	0,230161	0,546651

* - statistično značilna povezava med skupinami podatkov.

4.4. NAPOVEDNA SPOSOBNOST RAZVOJA OBPORODNE PAREZE PRI MOLZNICAH NA PODLAGI HEMATOLOŠKIH PARAMETROV

S t-testom za neodvisne vzorce pri analizi tretje hipoteze nismo ugotovili statistično značilne povezave med vrednostmi hematoloških in biokemijskih parametrov zdravih ter obolelih krav pred telitvijo (Tabela 10).

Tabela 10: P-vrednosti t-testa za neodvisne vzorce vseh zdravih in vseh obolelih krav v raziskavi pred porodom, ne glede na letni čas

	Ca	aP	E	Hb	Ht	MCV	L
p-vrednost	0,409367	0,348724	0,622927	0,803148	0,780606	0,890356	0,417864

* - statistično značilna povezava med skupinami podatkov.

4.5. POVEZANOST SPREMEMBE VREDNOSTI KALCIJA IN SPREMEMBE VREDNOSTI OSTALIH KRVNIH PARAMETROV

Z uporabo Pearsonovega testa smo izračunali r-vrednosti za primerjavo sprememb vrednosti aP in vseh hematoloških parametrov ter sprememb vrednosti kalcija (Tabela 11). Legenda za interpretacijo dobljenih r-vrednosti je v Tabeli 2.

Tabela 11: R-vrednosti Pearsonovega testa pri iskanju korelacije med posameznimi krvnimi parametri in kalcijem pri vseh kravah v raziskavi

	ΔaP	ΔE	ΔHb	ΔHt	ΔMCV	ΔL
r-vrednost	0,619368	-0,23743	-0,30761	-0,26695	-0,34533	0,180954

Za potrditev statistično značilne povezave smo iz dobljenih r-vrednosti izračunali p-vrednosti. V Tabeli 12 so prikazane končne p-vrednosti za posamezen parameter. Ugotovili smo statistično značilno korelacijo med spremembo vrednosti kalcija in spremembo vrednosti anorganskega fosforja, spremembe vrednosti ostalih parametrov pa niso statistično značilno povezane s spremembo vrednosti kalcija.

Tabela 12: P-vrednosti spremembe vrednosti posameznega krvnega parametra pri iskanju statistično značilne korelacije s spremembami vrednosti krvnega kalcija pri vseh kravah v raziskavi

	ΔaP	ΔE	ΔHb	ΔHt	ΔMCV	ΔL
p-vrednost	0,000263*	0,206465	0,098198	0,153853	0,061616	0,338595

* - statistično značilna povezava med skupinami podatkov.

5. RAZPRAVA

5.1. PRIMERJAVA VREDNOSTI KRVNIH PARAMETROV ZDRAVIH KRAV Z VREDNOSTMI KRAV, OBOLELIH ZA OBPORODNO PAREZO

Pri primerjavi vrednosti zdravih krav v poletnem obdobju in vrednosti krav, obolelih za obporodno parezo v poletnem obdobju, je bila ugotovljena statistično značilna povezava le pri vrednostih Ca in aP pri zdravih in obolelih kravah. Vrednosti teh dveh parametrov so se po telitvi značilno znižale pod kritične vrednosti, kar je smiselno, saj je nizek krvni kalcij razlog za nastanek te bolezni (McArt in Oetzel, 2023). aP se pri hipokalcemiji zaradi sprožitve kompenzatornega mehanizma reabsorpcije kalcija iz distalnih ledvičnih tubulov pod vplivom povišanega parathormona (PTH) zniža, saj PTH inhibira Na⁺/fosfatne kotransporterje v proksimalnih ledvičnih tubulih, kjer se sicer aP reabsorbira. Ker je reabsorpcija fosforja zmanjšana, se ta izloča z urinom in ga je v organizmu posledično manj (Kaneko in sod., 2008). Poleg tega je zmanjšan tudi vnos fosforja s hrano, saj živali ob nastopu klinične hipokalcemije navadno niso ješče (Radostits in sod., 2007).

Pri molznicah v zimski skupini pred telitvijo (Tabela 7) je bila p-vrednost t-testa za neodvisne vzorce manjša od 0,05 pri primerjavi vrednosti hemoglobina zdravih krav z vrednostmi hemoglobina obolelih krav, kar nakazuje na statistično značilno povezavo med vrednostmi hemoglobina in pojavnostjo obporodne pareze pri kravah pozimi. P-vrednosti skupnega števila eritrocitov in hematokrita sta bili prav tako zelo blizu 0,05 (E: 0,053; Ht: 0,06), kar morda nakazuje tendenco h korelaciji, vendar je ne potrjuje. Gre za parametre, ki odražajo stanje krvne slike in so med seboj tudi fiziološko povezani. Ker v literaturi nismo našli povezave med regulatornimi mehanizmi hemoglobina in nastankom hipokalcemije, sklepamo, da gre za neke vrste pokazatelja presnovnega stanja živali pred telitvijo. Krave, ki pred porodom manj jedo, so lahko bolj dovzetne za nižjo raven pomembnih mineralov v krmi, kot sta železo in kalcij, in zato padejo v negativno energijsko bilanco, kar lahko povzroči zmanjšano eritropoezo in s tem nižje vrednosti hemoglobina. Obenem so te živali tudi bolj dovzetne za nastanek obporodne pareze zaradi pomanjkanja kalcija, prav tako zaradi zmanjšane vnosa s krmo (Goff, 2008). Zanimivo je, da za te iste krave po telitvi (Tabela 7) ni več statistično značilne povezave pri Hb, prav tako sta E in Ht daleč od statistično značilne različnosti. Vrednosti krvnih parametrov zaradi izgube krvi, vnetja in stresa ob porodu ter v obdobju po njem pogosto variirajo (Weiss in Wardrop, 2010), kar je morda vzrok za spremembo. Možno pa je tudi, da je zaradi precej majhnega števila vzorcev krav s parezo (n = 5) naključno prišlo do zaznane korelacije vrednosti Hb pred porodom s pojavnostjo pareze.

Prva hipoteza je torej delno ovržena, saj obstaja statistično značilna povezava med vrednostmi hemoglobina in pojavnostjo OP pri kravah v zimski skupini. Zaradi vprašljive fiziološke povezave med spremenjenimi vrednostmi hemoglobina in

pojavom OP ter majhnega vzorca krav molznic pa hipoteze težko s popolno gotovostjo zavrnemo.

5.2. VPLIV LETNEGA ČASA NA HEMATOLOŠKE PARAMETRE KRAV MOLZNIC V OBPORODNEM OBDOBJU

Pri parametrih E, Hb in Ht smo ugotovili statistično značilen vpliv letnega časa na njihove vrednosti. Poleti je verjetno zaradi vročine prisoten vročinski stres, živali pijejo več kot pozimi, posledično se poveča plazemski volumen, kar zmanjša hematokrit in zniža vrednosti hemoglobina. Zaradi vročinskega stresa je tudi zmanjšan vnos krme, več energije pa se porabi za termoregulacijo (West, 2003). Ob zmanjšanem vnosu mineralov in manjši količini energije, ki je organizmu na voljo, lahko posredno pride do upočasnitve eritropoeze v kostnem mozgu, kar se kaže tudi z znižanjem skupnega števila eritrocitov (Weiss in Wardrop, 2010). Ista argumenta veljata tudi za poletno in zimsko skupino krav po telitvi (Tabela 9), kjer so pri istih treh parametrih p-vrednosti nižje od 0,05. Na ostale parametre letni čas ni imel vpliva. Vrednosti Ca so pod vplivom hormonske uravnave (Yu in Sharma, 2023). MCV se s temperaturo okolja ali količino plazme v krvi ne spreminja (Weiss in Wardrop, 2010), število levkocitov pa je odvisno predvsem od vnetij in okužb (Weiss in Wardrop, 2010).

Pri kravah poletne in zimske skupine, ki so razvile obporodno parezo, ni statistično značilne povezave pri nobenem parametru. Čeprav letni čas pri splošni populaciji vpliva na skupno število eritrocitov, vrednosti hemoglobina in hematokrita, pri skupini krav, ki so razvile parezo, očitno ni tako. Razlog za to je morda v dejstvu, da gre za podskupino živali s skupnim presnovnim obolenjem, povezanim z obporodnim obdobjem, zato vplivi bolezni zabrišejo vpliv letnega časa (Drackley, 1999; Goff, 2008). Poleg tega je mogoče, da smo takšen rezultat dobili zaradi majhne skupine živali.

Drugo hipotezo lahko torej zavržemo, saj je prisotna statistično značilna razlika med vrednostmi krvnih parametrov in letnim časom.

5.3. NAPOVEDNA SPOSOBNOST RAZVOJA OBPORODNE PAREZE PRI MOLZNICAH NA PODLAGI HEMATOLOŠKIH PARAMETROV

Dobljene p-vrednosti (Tabela 10) ne kažejo statistično značilnih razlik med vrednostmi krvnih parametrov zdravih in obolenih krav pred porodom. Obporodna hipokalcemija je obolenje, pri katerem je glavni vzrok nezmožnost zadostne aktivacije homeostatskih mehanizmov, potrebnih za vzdrževanje nivoja kalcija v krvi, ki je nujen za normalno delovanje organizma (McArt in Oetzel, 2023). Parametri

rdeče in bele krvne slike niso zanesljiv pokazatelj specifičnih bolezenskih stanj, saj so odvisni od številnih dejavnikov, kot so hidracija, stres, vnetje, okužbe, jemanje vzorcev ter splošno fiziološko stanje živali (Roland in sod., 2014). Sprememba vrednosti krvnih biokemijskih parametrov se običajno pojavi šele po telitvi, saj je takrat moteno vzdrževanje ustreznega nivoja kalcija v krvi (Goff, 2008). Poleg tega monitoring kalcija pred porodom ni zanesljiva napovedna metoda, saj je nastanek obporodne pareze vezan na zmožnost adaptacije na pomanjkanje kalcija in ne na morebitno nižjo bazalno raven kalcija v krvi pred telitvijo (Goff, 2008; Reinhardt in sod., 2011).

Tretjo hipotezo smo potrdili, saj med krvnimi parametri zdravih in obolelih krav v obdobju pred telitvijo nismo našli statistično značilnih razlik.

5.4. POVEZAVA SPREMEMBE VREDNOSTI KALCIJA S SPREMEMBAMI VREDNOSTI OSTALIH KRVNIH PARAMETROV

Dobljeni rezultati (Tabela 11) kažejo na zmerno korelacijo med spremembo kalcija in spremembo anorganskega fosforja ter šibko korelacijo med spremembo kalcija in spremembami ostalih krvnih parametrov. Pri vseh krvnih parametrih, razen pri aP, je bila p-vrednost $> 0,05$ (Tabela 12), torej pri spremembah vrednosti teh parametrov ni statistično značilne povezave s spremembami vrednosti Ca. To je smiselno, saj sta regulacija Ca in aP vezani na skupen regulatorni mehanizem, ki ga nadzoruje parathormon (PTH). Ko je Ca v krvi nizek, se sproži PTH, ki povzroči reabsorpcijo Ca iz kostnine, črevesja in ledvičnih tubulov, obenem pa v slednjih onemogoči reabsorpcijo aP (Kaneko in sod., 2008). Tako se nivo aP znižuje, medtem ko nivo Ca v krvi ponovno narašča in sta obratno sorazmerna. V primeru naše raziskovalne naloge pa sta premo sorazmerna, saj je bil nivo Ca merjen večinoma dan ali dva po telitvi, ko je krava še v hipokalcemičnem stanju. Tako sta Ca in aP oba statistično značilno nižja kot pred telitvijo. Med spremembo vrednosti kalcija in spremembami vrednosti ostalih krvnih parametrov ni statistično značilne povezave, kar je smiselno, saj ostali merjeni parametri niso vpleteni v fiziološki mehanizem regulacije Ca v krvi.

Četrta hipoteza je tako potrjena, saj je sprememba vrednosti kalcija statistično značilno povezana le s spremembo vrednosti fosforja, ta pa ni hematološki parameter, temveč biokemijski.

6. SKLEPI

Raziskava je preučevala hematološki profil krav molznic z obporodno parezo ter vpliv te bolezni na posamezne krvne parametre.

Z odvzemom krvi tridesetim kravam molznicam pred in po telitvi ter z izvedbo hematološke in biokemijske analize odvzete krvi so bile določene vrednosti naslednjih parametrov: Ca, aP, E, Hb, Ht, MCV in L.

Krave (n = 30) so bile razdeljene v tri skupine: poletna skupina (n = 17), zimska skupina (n = 13) in dodatna skupina krav, obolelih za obporodno parezo iz obeh prejšnjih skupin (n = 9).

Za vrednosti, dobljene z analizo krvi, je bila izvedena opisna statistika po skupinah, nato pa še statistični izračuni, potrebni za potrditev ali zavrnitev hipotez, določenih na začetku raziskovalne naloge.

Hipoteza: »Med hematološkimi parametri krav molznic v obporodnem obdobju in pojavnostjo hipokalcemične obporodne pareze ni statistično značilne povezave,« je bila delno potrjena, saj so vrednosti hemoglobina kazale statistično značilno povezavo s pojavnostjo obporodne pareze, vendar je ta povezava zaradi majhnega vzorca živali vprašljiva. To odpira vprašanja in možnosti za nadaljnje raziskave v tej smeri.

Hipoteza: »Letni čas statistično značilno ne vpliva na hematološke parametre krav molznic z obporodno parezo,« je bila ovržena, saj je statistični izračun pokazal, da letni čas indirektno vpliva na skupno število eritrocitov, hemoglobin in hematokrit.

Hipoteza: »Hematološki parametri nam pri kravah molznicah v obporodnem obdobju ne morejo nakazati nagnjenosti živali k razvoju obporodne pareze,« je bila potrjena, saj pri merjenih krvnih parametrih pred telitvijo ni bilo statistično značilne povezave med skupino zdravih krav in krav, ki so po telitvi obolele.

Hipoteza: »Sprememba vrednosti kalcija v krvi ni statistično značilno povezana s spremembami vrednosti hematoloških parametrov,« je bila ovržena.

Glavni vzrok za nastanek obporodne hipokalcemije ali obporodne pareze, je hitra porast porabe krvnega kalcija zaradi telitve in posledične proizvodnje mleka ter nezmožnost mobilizacije zadostnih količin kalcija iz kosti, absorpcije iz črevesja in reabsorpcije iz ledvičnih tubulov.

E, Hb, Ht, MCV in L nimajo direktne povezave z metabolizmom kalcija in kot take, kljub statistično značilni povezavi med vrednostmi hemoglobina in pojavnostjo pareze v zimski skupini pred telitvijo, verjetno niso uporabne kot del diagnostične metode za napoved pojava obporodne hipokalcemije pri molznicah. Morda bi izboljšave, kot so večji vzorci in boljša časovna homogenost jemanja vzorcev (v tej raziskavi je bila nekaterim kravam kri bila odvzeta na dan telitve, nekaterim pa šest

dni kasneje), omogočile boljši vpogled v dejansko stanje krvne slike krav molznic v obporodnem obdobju.

7. ZAHVALE

Zahvaljujem se mentorju, prof. dr. Jožetu Stariču, za priložnost izdelave raziskovalne naloge na temo s področja zdravstvenega varstva prežvekovalcev, za vse usmeritve, navodila, nabor virov, pomoč in potrpljenje.

8. LITERATURA IN VIRI

Arechiga-Flores CF, Cortés-Vidaury Z, Hernández-Briano P et al. Hypocalcemia in the Dairy Cow. Review. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* 2022; 13(4): 1025–54. doi:10.22319/rmcp.v13i4.5277

Drackley JK. Biology of Dairy Cows During the Transition Period: The Final Frontier? *J Dairy Sci* 1999; 82(11): 2259–73. doi:[10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75474-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75474-3)

Geffré A, Friedrichs K, Harr K et al. Reference Values: A Review. *Vet Clin Pathol* 2009; 38(3): 288-98. doi:10.1111/j.1939-165X.2009.00179.x

Goff JP. The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. *Vet J* 2008; 176(1): 50–7. doi:[10.1016/j.tvjl.2007.12.020](https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.12.020)

Jazbec I. Klinično laboratorijska diagnostika. Ljubljana: Veterinarska fakulteta, 1990: 137-47.

Jones ML, Allison RW. Evaluation of the Ruminant Complete Blood Cell Count. *Vet Clin Food Anim* 2007; 23: 377-402. doi:10.1016/j.cvfa.2007.07.002

Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. Clinical biochemistry of domestic animals. 6th ed. San Diego: Academic Press, 2008: 485-528.

McArt JAA, Oetzel GR. Considerations in the Diagnosis and Treatment of Early Lactation Calcium Disturbances. *Vet Clin Food Anim* 2023; 39: 241-59. doi:[10.1016/j.cvfa.2023.02.009](https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2023.02.009)

National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine; Division on Earth and Life Studies; Board on Agriculture and Natural Resources; Committee on Nutrient Requirements of Dairy Cattle. Metabolic and Physiologic Status of the Transition Cow. In: Nutrient Requirements of Dairy Cattle, Eighth Revised Edition. Washington (DC): National Academies Press (US), 2021 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK600603/> (03.03.2026)

Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW, Constable PD. Veterinary Medicine: a Textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs and Goats. 10th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2007: 1691-1784.

Reinhardt TA, Lippolis JD, McCluskey BJ, et al. Prevalence of subclinical hypocalcemia in dairy herds. *J Dairy Sci* 2011; 94(12): 6336–45. doi:[10.1016/j.tvjl.2010.03.025](https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2010.03.025)

Roland L, Drillich M, Iwersen M. Hematology as a diagnostic tool in bovine medicine. *J Vet Diagn Invest*. 2014; 26(5): 592-598. doi:10.1177/1040638714546490

Russell KE, Roussel AJ. Evaluation of the Ruminant Serum Chemistry Profile. *Vet Clin Food Anim* 2007; 23: 403-26. doi:10.1016/j.cvfa.2007.07.003

Schober P, Boer C, Schwarte LA. Correlation coefficients: appropriate use and interpretation. *Anesth Analg* 2018; 126(5): 1763–8. doi: 10.1213/ANE.0000000000002864

Starič J. Dinamika biokemijskih kazalcev metabolizma kosti krav molznic, tretiranih z visokim odmerkom vitamina D₃, kot preventiva obporodne hipokalcemije. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, 2010. Doktorska dizertacija. <http://knjiznica.vf.uni-lj.si/PortalGenerator/document.aspx?ID=63> (1.4.2026)

Tufarelli V, Puvača N, Glamočič D, Pugliese G, Colonna MA. The Most Important Metabolic Diseases in Dairy Cattle during the Transition Period. *Animals* 2024; 14(5): 816-34. doi:[10.3390/ani14050816](https://doi.org/10.3390/ani14050816)

Yu E, Sharma S. Physiology, Calcium. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island: StatPearls Publishing, 2023. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482128/> (1.4.2026)

Weiss DJ, Wardrop KJ. Schalm's Veterinary Hematology. 6th ed. Ames: Wiley-Blackwell, 2010: 28-68, 123-417.

West JW. Effects of heat stress on production in dairy cattle. *J Dairy Sci* 2003; 86(6): 2131–44. doi:[10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73803-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73803-X)