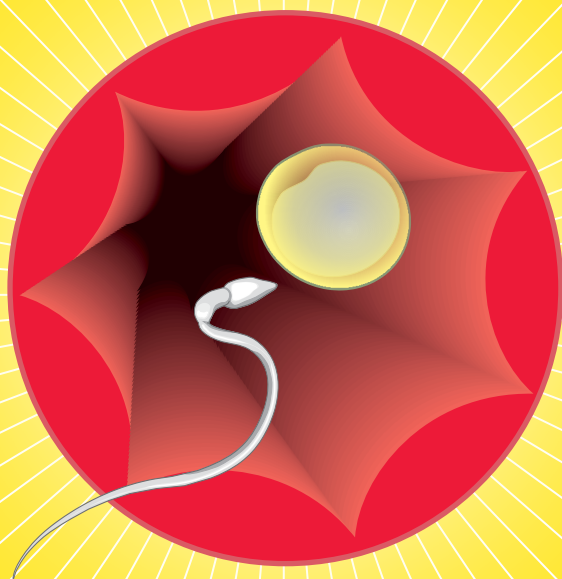




UNIVERZITET U BEOGRADU
FAKULTET VETERINARSKЕ MEDICINE

13. Naučni simpozijum
REPRODUKCIJA DOMAĆIH ŽIVOTINJA
Zbornik predavanja



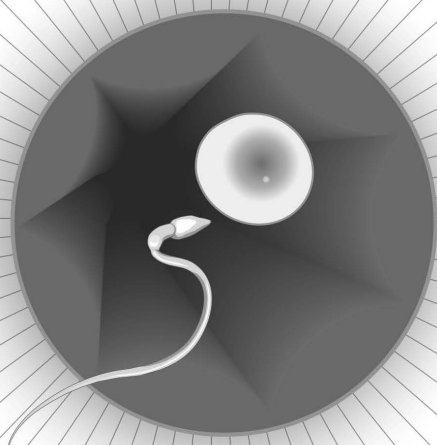
6 - 9. oktobar 2022.



UNIVERZITET U BEOGRADU
FAKULTET VETERINARSKE MEDICINE

13. NAUČNI SIMPOZIJUM
REPRODUKCIJA DOMAĆIH ŽIVOTINJA

6-9. oktobar 2022.



ZBORNİK PREDAVANJA

13. NAUČNI SIMPOZIJUM „REPRODUKCIJA DOMAĆIH ŽIVOTINJA“
XIII SCIENTIFIC SYMPOSIUM „REPRODUCTION OF DOMESTIC ANIMALS“

– Zbornik radova / *Proceedings* –
Divčibare, 6-9. oktobar, 2022.

Organizatori / *Organized by*

Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu
Faculty of Veterinary Medicine, University of Belgrade

Dekan Fakulteta veterinarske medicine
Dean of the Faculty of Veterinary Medicine
Prof. dr Milorad Mirilović

Katedra za porodiljstvo, sterilitet i veštačko osemenjavanje
Department of Reproduction, Fertility and Artificial Insemination

Predsednik / *Chairmen*

Prof. dr Milorad Mirilović, dekan

Sekretar / *Secretary*

Doc. dr Ljubodrag Stanišić

Organizacioni odbor / *Organizing Committee*

Prof. dr Dragan Gvozdić, Prof. dr Dragan Šefer, Dr sc. Željko Sladojević,
Dr sc. Dragan Knežević, Dr sc. Miloš Petrović, Prof. dr Janko Mrkun,
Mr sc. Saša Bošković, Dr sc. Dobrila Jakić-Dimić, Dr sc. Goran Jakovljević,
Prof. dr Savo Lazić, Dr sc. Zoran Rašić, Maja Gabrić, teh. sekretar

Naučni odbor / *Scientific Committee*

Prof. dr Miloš Pavlović, Prof. dr Danijela Kirovski, Doc. dr Vladimir Magaš,
Prof. dr Toni Dovenski, Prof. dr Csaba Arpad Bajcsy

Sekretarijat / *Secretariat*

Doc. dr Ljubodrag Stanišić, Maja Gabrić, teh. sekretar

Odgovorni urednik / *Editor in Chief*

Prof. dr Dragan Gvozdić

Lektura i korektura / *Proofreading*:

Prof. dr Dragan Gvozdić

Grafički dizajn i izrada korica / *Cover design*

Prof. dr Ivan B. Jovanović

Grafička obrada / *Prepress*

Gordana Lazarević, teh. urednik

Izdavač / *Publisher*

Fakultet veterinarske medicine, Beograd
Centar za izdavačku delatnost i promet učila

Štampa / *Printing*

Naučna KMD, Beograd, 2022

Tiraž: 450 primeraka

ISBN 978-86-80446-52-3

SADRŽAJ

PLENARNI REFERATI	1
◆ Biljana T. Ljujić: Uticaj genetske osnove na određivanje „stranosti” organa ljudi i životinja na stadijumu faringule <i>Influence of the genetic basis on determining the „foreignness” of human and animal organs at the pharyngula stage</i>	3
◆ Radivoje Anđelković, Danijela Ristić, Verica Cvijetić, Nenad Todorov: Uticaj selekcije na reproduktivne parametre službenih pasa u Vojski Srbije <i>Effect of selection on the Serbian Army official dog's reproduction parameters</i>	9
◆ Natalija Fratrić, Dragan Gvozdić, Slobodanka Vakanjac: Glavni zdravstveni problemi kod teladi u neonatalnom periodu <i>Major health problems in neonatal calves</i>	17
◆ Zoltán Szelényi: Factors predicting pregnancy losses in cattle <i>Predikcija gubitaka graviditeta kod krava</i>	31
◆ Adam Šuluburić, Dragan Gvozdić: Indukcija i sinhronizacija estrusa kod krava i test za ranu dijagnostiku graviditeta <i>induction and synchronisation of estrus in cows and early pregnancy test</i>	37
◆ Milica Stojković, Ljubomir Jovanović, Ivan Vujanac, Sreten Nedić, Dušan Bošnjaković, Slavica Dražić, Danijela Kirovski: Biološki markeri toplotnog stresa i mogućnost njihove upotrebe u predikciji proizvodno-reproduktivnih parametara kod visokomlečnih krava <i>Biological markers of heat stress and the possibility of their use in the prediction of production and reproductive parameters in high-yielding dairy cows</i>	47
◆ Janko Mrkun, Ožbalt Podpečan, Jernej Gačnikar: Most common mycotoxins and their effect on reproduction in cows <i>Najčešći mikotoksini i njihov efekat na reprodukciju kod krava</i>	57
◆ Goran Bačić, Tugomir Karadjole, Martina Lojkić, Miroslav Benić, Vladimir Mrljak, Josip Daud, Iva Bačić, Ivan Butković, Juraj Šavorić, Nikica Prvanović Babić, Neelesh Sharma, Josipa Kuleš, Anđelo Beletić, Nino Maćešić: Uzročnici subkliničkih mastitisa na farmama mliječnih krava u Republici Hrvatskoj <i>Diary cows subclinical mastitis in Republic of Croatia</i>	69
◆ Nino Maćešić, Tugomir Karadjole, Martina Lojkić, Marko Samardžija, Vladimir Mrljak, Silvijo Vince, Ivan Folnožić, Nikica Prvanović Babić, Branimira Špoljarić, Maša Efendić, Ivan Butković, Juraj Šavorić, Iva Bačić, Goran Bačić: Analiza zatečenog stanja na farmi mliječnih krava <i>Analysis of the existing situation on the dairy farm</i>	81
◆ Milutin Đorđević, Ljiljana Janković, Vladimir Drašković, Oliver Radanović, Nemanja Zdravković, Radislava Teodorović: Higijena muže kao faktor prevencije bolesti mlečne žlezde <i>Milking hygiene practices as a prevention factor in udder diseases</i>	89

◆ Maja Zakošek Pipan: Advances in artificial techniques in small animal reproduction <i>Napredak u asistiranim reproduktivnim tehnikama kod malih životinja</i>	101
◆ Toni Dovenski, Martin Nikolovski, Branko Atanasov, Florina Popovska Perčinić, Vladimir Petkov, Monika Dovenska, Ljupčo Mickov, Ljupce Kočoski, Silvijo Vince, Grizelj Juraj: Nova saznanja u reprodukciji ovaca <i>Recent advances in sheep and goat reproduction</i>	117
◆ Vladimir Magaš, Milenka Babić, Slobodanka Vakanjac, Milan Maletić: Novi pristupi reproduktivnim problemima malih životinja New approaches to reproduction problems in small animals	129
◆ Miloje Đurić, Svetlana Nedić, Slobodanka Vakanjac, Ivan Nestorović, Miloš Pavlović, Milan Maletić, Ljubodrag Stanišić: Kolekcija ejakulata pastuva – pristupi i kritične tačke <i>Stallion semen collection – approaches and critical points</i>	137
KRATKA SAOPŠTENJA	143
◆ Dejan Perić, Radmila Marković, Stamen Radulović, Svetlana Grdović, Dragoljub Jovanović, Dragan Šefer: Efekti korišćenja dijetalnih vlakana u ishrani visokoproduktivnih krmača <i>Effects of using dietary fiber in nutrition of hyperprolific sows</i>	145
◆ Sonja Obrenović, Jovan Bojkovski, Radoslava Radovanović Savić, Živoslav Grgić, Slobodanka Vakanjac: Reproduktivni poremećaji goveda izazvani bakterijama roda <i>Leptospira</i> <i>Reproductive disorder of cattle caused by bacteria of the genus Leptospira</i>	155
◆ Jovan Bojkovski, Nemanja Zdravković, Slobodanka Vakanjac, Radiša Prodanović, Sveta Arsić, Sreten Nedić, Ivan Vujanac, Branko Angelovski, Ivan Dobrosavljević, Ivan Pavlović, Sonja Obrenović: Menadžment nerasta <i>Managment of boar</i>	165
INDEKS AUTORA	171
SPONZORI	173



**BIOLOŠKI MARKERI TOPLOTNOG STRESA I MOGUĆNOST NJIHOVE
UPOTREBE U PREDIKCIJI PROIZVODNO-REPRODUKTIVNIH
PARAMETARA KOD VISOKOMLEČNIH KRAVA**

**BIOLOGICAL MARKERS OF HEAT STRESS AND THE POSSIBILITY
OF THEIR USE IN THE PREDICTION OF PRODUCTION AND
REPRODUCTIVE PARAMETERS IN HIGH-YIELDING DAIRY COWS**

Milica Stojković*, Ljubomir Jovanović*, Ivan Vujanac, Sreten Nedić**,
Dušan Bošnjaković*, Slavica Dražić*, Danijela Kirovski***

**Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine, Katedra za fiziologiju i
biohemiju, Beograd, R. Srbija*

***Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine, Katedra za bolesti papkara,
Beograd, R. Srbija*

Kratak sadržaj

Globalno zagrevanje, udruženo sa porastom ambijentalnih temperatura tokom letnjih meseci, često uvodi visokomlečne krave u stanje toplotnog stresa, koje izaziva poremećaj zdravlja i reprodukcije. Toplotni stres negativno utiče na fiziologiju reprodukcije pre, tokom i nakon koncepcije, a posebno na aktivnost jajnika, kao i razvoj oocita i embriona. Stoga je od velike važnosti primeniti selekcijske mere u pravcu uzgoja krava koje pokazuju toleranciju na toplotni stres. Tolerancija na toplotni stres je najčešće udružena sa ekspresijom gena za sledeće molekule: Hsp70, HSF1, HspB8, SOD1, PRLH, ATP1A1, MTOR i EIF2AK4. Od svih navedenih molekula najčešće ispitivan je Hsp 70, koji je istovremeno najosetljiviji na promene spoljašnje temperature u zoni toplotnog stresa. Prisustvo ovog proteina je moguće utvrditi u različitim biološkim materijalima, uključujući krv, mleko i dlaku. Potencijali korišćenja Hsp70 kao indikatora i/ili prediktora toplotnog stresa su veliki, ali su još uvek u fazi ispitivanja. Istraživanja vezana za toplotni stres, odnosno potencijalne biomarkere toplotnog stresa, su od izuzetnog značaja za uzgoj goveda jer nude rešenja kojima je moguće prevenirati, smanjiti i/ili predvideti negativan uticaj toplotnog stresa na proizvodna i reproduktivna svojstva visokomlečnih krava, a sve u svetlu globalnog zagrevanja i klimatskih promena.

Ključne reči: biomarkeri, krave, reprodukcija, toplotni stres

Summary

Global warming, combined with increased ambient temperatures during the summer, often introduces high-yielding cows to heat stress, which causes health and reproductive disorders. Heat stress negatively affects the physiology of reproduction before, during and after conception, especially the activity of ovaries and development of oocytes and embryos. Therefore, it is important to apply selection measures in the direction of breeding cows that show tolerance to heat stress. Tolerance to heat stress is most often associated with gene expression for the following molecules: Hsp70, HSF1, HspB8, SOD1, PRLH, ATP1A1, MTOR and EIF2AK4. Hsp 70 is the most often investigated and sensitive molecule to environmental temperature changes in the heat stress zone. The presence of this protein can be determined in various biological materials, including blood, milk and hair. The potential of using Hsp70 as an indicator and/or predictor of heat stress is great, but is still under investigation. Research related to heat stress, i.e. potential biomarkers of heat stress, are extremely important for cattle breeding because they offer solutions that can prevent, reduce and/or predict the negative impact of heat stress on the productive and reproductive properties of high-yielding cows, all in the context of global warming and climate change.

Keywords: biomarkers, cows, reproduction, heat stress

UVOD

Stres se definiše kao fiziološki odgovor organizma na različite stresogene faktore koji mogu da potiču iz samog organizma i/ili iz spoljašnje sredine i da dovedu do poremećaja homeostaze organizma. Izučavanje stresa ima izuzetno veliki značaj za uspešno održavanje zdravlja i proizvodno-reproduktivnih sposobnosti visoko-mlečnih krava, te se u osnovi rešavanja ovog problema velika pažnja pridaje prepoznavanju i otklanjanju stresogenih činilaca. Od mnogobrojnih stresogenih činilaca poseban značaj, kada su u pitanju visokomlečne krave, zauzima toplotni stres (Vujanac i sar., 2010). Toplotni stres se opisuje kao kumulativni štetan efekat uzrokovan neravnotežom između proizvodnje toplote u telu i toplote koja se odaje u spoljašnju sredinu (Zeng i sar., 2022). Poslednjih nekoliko godina, usled progresije globalnog zagrevanja naše planete, životinje i to naročito one iz intenzivnog uzgoja sve više bivaju izložene visokim temperaturama u letnjem periodu koje mogu zabeležiti i ekstremno visoke vrednosti (Trifković i sar., 2018). Porast ambijentalne temperature iznad gornje granice termalno neutralne zone u okruženju u kome su smeštene životinje, jedan je od poznatih stresogenih činioaca koji potencijalno može dovesti do toga da životinje uđu u stanje toplotnog stresa (Trifković i sar., 2022). Za probleme današnjice, pa i ako sagledamo nekoliko godina unazad temperaturne vrednosti u letnjim mesecima, ovo ima za tendenciju da bude jedna od glavnih briga u industriji mlečnih krava.

Toplotni stres kod visokomlečnih krava nastaje pod uticajem snažnog delovanja klimatskih činilaca kao što su temperatura i relativna vlažnost vazduha,

strujanje vazduha i dr., a koji pokreću mehanizme prilagođavanja na svim nivoima organizma u cilju održavanja ravnoteže unutrašnje sredine. Kao jedan od najčešće primenjivanih pokazatelja toplotnog stresa koristi se temperaturni indeks (eng. Temperature–Humidity Index; skr. THI) koji se dobija računski, a uzima u obzir spoljašnju temperaturu i vlažnost vazduha u ambijentu u kome životinja boravi. Ukoliko je vrednost THI manja od 72 smatra se da životinja nije izložena toplotnom stresu, dok vrednost THI od 72 do 78 ukazuje da je jedinka izložena umerenom toplotnom stresu. Kada je vrednost THI veća od 78 postoji veoma snažno stresogeno delovanje spoljašnje temperature na zdravlje životinja, pogotovo na krave u laktaciji koje nisu sposobne da u takvim uslovima mehanizmima termoregulacije održavaju telesnu temperaturu u fiziološkim granicama (Vujanac i sar., 2010).

Danas se u gajenju životinja u intenzivnom uzgoju sve veća pažnja pridaje poboljšanju uslova za održavanje optimalnih ambijetalnih uslova u prostoru u kome životinje borave, uključujući i održavanje termalno neutralne zone u okviru koje životinje čak i tokom letnjeg perioda neće biti izložene toplotnom stresu.

Od izuzetne važnosti za homeotermne organizme jeste da održavaju stabilnu telesnu temperaturu, jer se time omogućava pravilno i kontrolisano odvijanje metaboličkih, biohemijskih i fizioloških procesa. Kod prilagođavanja organizma visokomlečnih krava ekstremno visokim ambijentalnim temperaturama, može doći do otkazivanja kompezatornih mehanizama na nastale promene što se može odraziti kroz poremećaje zdravlja i smanjenje proizvodno-reproduktivnih karakteristika ove kategorije životinja. Naime, tada toplotni stres i to naročito kod krava u laktaciji, osim smanjenja apetita i nedovoljnog unosa hrane dovodi i do niza zdravstvenih problema kao što su poremećaji energetskeg metabolizma, hormonalne regulacije, smanjena proizvodnja mleka i reproduktivne karakteristike (Collier i sar., 2005).

Uticaj toplotnog stresa na zdravlje i proizvodnju kod krava

Izloženost krava toplotnom stresu dovodi do adaptacije određenih fizioloških procesa u organizmu i značajno utiče na stepen aktivnosti istih. Biološki mehanizmi pomoću kojih se objašnjava nepovoljno delovanje visokih ambijetalnih temperatura na proizvodno-reproduktivne sposobnosti visokomlečnih krava su: smanjena količina konzumirane hrane, prestrojavanje endokrinog sistema životinja, kraće vreme preživanja i fermentacije hrane u predželudcima, smanjen stepen resorpcije hranljivih materija i povećanje energetske potrebe za održavanje života (Collier i sar., 2005).

Kao učestala pojava dešava se da u uslovima izrazitog toplotnog stresa dolazi do znatno smanjenog apetita i unosa hrane. Dalje, s obzirom da se u procesima fermentisanja kabaste hrane oslobađa veća količina toplotne energije nego iz koncentrovanog dela obroka, nutricionisti preporučuju da se, u uslovima povišene ambijentalne temperature, u obrocima visokomlečnih krava povećava udeo koncentrovanih, energijom bogatih hraniva, a smanjuje kabasti deo obroka. Me-

đutim, ukoliko se ne vodi računa pa se sadržaj lako svarljivih ugljenih hidrata u obroku poveća značajno više na račun strukturnih, sirovih vlakana, ili se kabasta hrana veoma usitni, onda se žvakanje i vreme preživljanja znatno skрати a time se smanji i količina izlučene pljuvačke. Kada se ovome doda i činjenica da zbog ubrzanog disanja u uslovima toplotnog stresa dolazi do opadanja parcijalnog pritiska ugljen-dioksida u krvi (respiratorna alkalozna) i kompenzatornog pojačanog izlučivanja bikarbonatnog jona mokraćom sa ciljem očuvanja stabilnog odnosa komponenti bikarbonatnog puferskog sistema, sasvim je razumljivo da se usled smanjenja koncentracije ovih jona u krvi i pljuvački stvaraju uslovi za nastanak subakutne acidoze buraga. Pored toga, krave koje ubrzano dišu imaju smanjen priliv pljuvačke u burag, jer dok žvaću stvaraju penušavu pljuvačku (tzv. „žvakanja na prazno“), koju ne gutaju i već se cedi iz usta i izlučuje u spoljašnju sredinu. Krajnji rezultat je razvoj acidoze buraga zbog smanjenja puferskog kapaciteta sadržaja buraga, kao i ukupnog puferskog kapaciteta organizma (Vujanac, 2010). Nastala subakutna acidoza buraga prouzrokuje patološko-morfološke promene na sluzokoži buraga kao što su ruminitis i parakeratoza usled čega se značajno smanjuje resorptivna površina sluzokože buraga i stepen resorpcije proizvoda razlaganja hrane (Nocek, 1997).

Najčešće zajedno sa acidozom buraga pojavljuje se i laminitis kao jedna od vrlo čestih komplikacija kisele indigestije krava u laktaciji (Nocek, 1997). Histamin i endotoksini, koji se stvaraju u toku stanja acidoze ili bakteriolize i raspadanja ćelijskih membrana, predstavljaju vazoaktivne supstance. Njihov uticaj se pre svega ispoljava na vaskularnom sistemu korijuma papaka, prouzrokujući ozbiljne mikrocirkulacione poremećaje koje prate ishemija, hipoksija i transudacija. Na taj način, naglo se remeti ishrana tkiva korijuma i narušava se morfološki integritet lamina. Ako proces traje duže, može doći i do promene položaja falangealne kosti i deformacije rožine papka (hronični pododermatitis) (Vujanac, 2010).

Imajući u vidu da je kod krava sa subakutnom acidozom buraga smanjen apetit, koji se svakako javlja i samo pod uticajem toplotnog stresa, onda je sasvim razumljivo što je krajnji rezultat ovih udruženih poremećaja smanjena proizvodnja mleka. Podaci iz literature pokazuju da tokom toplih i sparnih letnjih dana proizvodnja mleka na pojedinim farmama može opasti i do 50 % (West, 2003).

Međutim, pad proizvodnje mleka samo se delimično smatra posledicom smanjenog unosa hrane. Veruje se da smanjen unos suve materije objašnjava samo 35-50% od značajnog pada prinosa mleka dok se ostatak pripisuje posledicama nastalih promena u hormonalnoj regulaciji metaboličkih procesa (Vujanac i sar., 2012). Pojedini autori smatraju da kao posledica prilagođavanja toplotnom stresu, visokomlečne krave kao izvor energije koriste glukozu a mnogo manje masne kiseline mobilisane iz telesnih depoa zbog činjenice da se oksidacijom glukoze, u organizmu stvara znatno manje toplotne energije. Ovakve metaboličke adaptacije nastale kao posledica izloženosti krava toplotnom stresu bile su predmet istraživanja velikog broja studija, a naročito kod krava u laktaciji preko 100 dana, jer se tada nalaze u stanju energetske ravnoteže kada homeoretski mehanizmi više nisu toliko aktivni (Elvinger i sar., 1992; Vujanac i sar., 2012). Međutim,

postavlja se pitanje da li postoje izvesne razlike u prestrojavanju metabolizma kod krava u ranoj i drugim fazama laktacije kada se one obično nalaze u stanju negativnog energetskeg bilansa. Pored toga, stvaranjem i oslobađanjem veće količine toplotne energije u uslovima kada životinje inače konzumiraju manje količine hrane, još više se produbljuje negativan bilans energije u kome se krave nalaze na početku laktacije. To jasno pokazuje zašto su visokomlečne krave daleko osetljivije na delovanje visoke spoljašnje temperature u poređenju sa kravama koje imaju manji genetski potencijal za proizvodnju mleka (Vujanac i sar., 2012).

Uticaj toplotnog stresa na fiziologiju reprodukcije

Negativan efekat toplotnog stresa na fiziologiju reprodukcije mužjaka (bikova) i ženki (krava i junica) opisan je u brojnim studijama izvornih i novijih referenci (Bezdiček i sar., 2021). Uticaj toplotnog stresa na reprodukciju krava može se proceniti kroz fiziološke procese reproduktivnog sistema kao što su aktivnost jajnika, veličina oocita, veličina folikula i drugi. Objavljene studije pokazuju negativan efekat toplotnog stresa na aktivnost jajnika i folikula, razvoj oocita i embriona kako u *in vivo* tako i u *in vitro* uslovima (Bezdiček i sar., 2021). Kod junica zabeleženi su i duži periodi estrusa (Wilson i sar.1998). U fiziologiji reprodukcije mužjaka, kod bikova, negativan uticaj toplotnog stresa se uglavnom manifestuje pogoršanjem kvaliteta sperme (Zubor i sar., 2020).

Kod praćenja nastanka i razvoja toplotnog stresa, primećeno je da se sa svakim povećanjem vrednosti THI veličina folikula smanjuje za 0,1 mm (Schuller i sar., 2017). Takođe, smanjuje se i sadržaj folikularne tečnosti u dominantnim folikulima (Badinga i sar., 1993). U *in vivo* studijama uticaj toplotnog stresa na fiziologiju reprodukcije zabeležen je pre, tokom i posle začeća. Zabeležen je štetni efekat na aktivnost jajnika i razvoj embriona a koji se ogleda u značajnom smanjenju broja žutih tela i prenosivih embriona. U ovom pogledu važnu ulogu imaju genetski faktori, odnosno varijabilnost u toleranciji toplotnog stresa između rasa krava i gena specifičnih za toleranciju na toplotni stres. Embrioni u fazi morule značajno su otporniji od onih u ranoj fazi zahvaljujući akumulaciji specifičnih proteina u embrionu kao odgovor na štetu izazvanu slobodnim radikalima (Sakatani i sar., 2013). Slični zaključci doneti su i kasnije gde je pokazano da toplotni stres smanjuje procenat *in vitro* proizvedenih blastocista razvijenih iz zigota koji su bili izloženi toplotnom stresu, a ovaj negativni efekat značajno zavisi od genotipa, posebno u genu HspA1L (Ortega i sar., 2016). Pojedini autori dokumentovali su i ćelijske promene na oocitama i embrionima nakon indukovano g toplotnog stresa u uslovima *in vitro*. Zabeležene promene ne odnose se samo na pojedine organele i ćelijske strukture (endoplazmatski retikulum, mitohondrije, itd.) već i na proizvodnju proteina koji imaju ulogu u zaštiti od toplotnog stresa. Promene u oocitama ogledaju se u izmenjenoj konfiguraciji hromatina i citoplazmatskih mikrotubula (Bezdiček i sar., 2021). Ju i Tseng (2004) objavili su slične rezultate na jajnim ćelijama kod krmača gde je uticaj toplotnog stresa na citoskelet oocita bio nepovratan.

Potencijalni biomarkeri toplotnog stresa

Kao posledica delovanja toplotnog stresa javljaju se veliki ekonomski gubici u govedarstvu koji se se mogu objasniti kroz smanjenje produkcije mleka, poremećaja reproduktivnih parametara i povećanje mortaliteta. Prosečni ekonomski gubici govedarske proizvodnje na godišnjem nivou u SAD mogu da iznose i do 369 miliona dolara (Pierre i sar., 2003).

U cilju smanjenja ovih gubitaka veliki značaj se pridaje otkrivanju fizioloških mehanizama koji leže u osnovi toplotnog stresa ali i pronalaženju onih biomarkera koji će identifikovati životinje koje pokazuju veću toleranciju na toplotni stres. Danas sve češće se pominje mogućnost primene proteina toplotnog stresa (eng. *Heat Stress Proteins*; skr. *Hsp*) kao indikatora toplotnog stresa. To je grupa celularnih proteina čija se ekspresija u ćeliji povećava prilikom izloženosti životinja toplotnom stresu. Izloženost ćelija toplotnom stresu izaziva brojne anomalije u njenom funkcionisanju koje dovode do promena u biološkim molekulima, ometanja ćelijske funkcije, modulisanja metaboličke reakcije, oksidativnog oštećenja ćelija i aktiviranja puteva apoptoze i nekroze, što na kraju dovodi do preživljavanja ćelije, aklimatizacije ili ćelijske smrti (Belhadj i sar., 2016).

Osnovne funkcije proteina toplotnog stresa jesu da stabilizuju osnovne strukturne proteine, pomažu transfer proteina kroz membranu, pomažu ponovno savijanje i zauzimanje ispravne konformacije denaturisanih proteina i pomažu degradaciji aberantnih proteina. Poznate su mnoge funkcionalne uloge Hsp, ali mehanizmi koji se nalaze u osnovi ovih uloga još uvek se istražuju. Poznavanje ovih mehanizama bi omogućilo da se bolje upoznaju intracelularni putevi odbrane ćelije protiv stresa izazvanog različitim stresogenim činiocima (Belhadj i sar., 2016).

Molekulska masa ovih proteina se kreće u rasponu od 15 kDa do 110 kDa i prisutni su u citosolu, jedru, mitohondrijama i endoplazmatskom retikulumu. Na osnovu molekulske težine i funkcije, Hsp se dele na: Hsp110, Hsp100, Hsp90, Hsp70, Hsp60, Hsp40 i Hsp10, pri čemu je Hsp 70 najčešće ispitivan a istovremeno i najosetljiviji na promene spoljašnje temperature i u skladu sa tim se smatra najpodesnijim biološkim markerom za merenje toplotnog stresa kod farmških životinja (Srikanth i sar., 2017). Pored Hsp70, tolerancija na toplotni stres je najčešće udružena sa ekspresijom gena za sledeće molekule HSF1, HspB8, SOD1, PRLH, ATP1A1, MTOR i EIF2AK4 (Zeng i sar., 2022).

Biološki materijali za utvrđivanje i metode određivanja zastupljenosti proteina toplotnog stresa

Utvrđivanje zastupljenosti proteina toplotnog stresa (Hsp70) može se izvršiti invazivnim tehnikama odnosno biopsijom iz parenhimatoznih organa (bubrezi, srce, jetra), mišićnog i masnog tkiva (Sun i sar., 2019). Da bi se izvršila biopsija, životinja mora biti sedirana i pod lokalnom anestezijom, što značajno otežava samu metodologiju rada i uzimanje uzoraka. Mišićno tkivo se uzima biopsijom *m. longissimus thoracis*-a između 12. i 13. rebra pod lokalnom anestezijom. Masno tkivo se uzima u predelu korena repa, koje je bilo prethodno pripremljeno šišanjem,

pranjem i dezinfekcijom. Veličina uzetog i mišićnog tkiva i masnog tkiva za laboratorijske analize je oko 3 grama. Koncentracija Hsp može se odrediti iz krvnog serumu u uzorcima krvi koji se dobijaju venepunkcijom. Za razliku od ovih invazivnih metoda, u cilju smanjenja izazivanja dodatnog stresa kod životinja, koncentracija Hsp70 se može odrediti u uzorcima bioloških materijala kao što je dlaka, mleko, pljuvačka a koji se mogu dobiti neinvazivnim tehnikama uzorkovanja (Li i sar., 2015; Kim i sar., 2020).

Metode koje se najčešće koriste za analizu proteina toplotnog stresa su određivanje prisustva proteina korišćenjem komercijalnih ELISA testova kao i utvrđivanje ekspresije odgovarajućih gena pomoću PCR. Ekspresija gena se može odrediti izolacijom i amplifikacijom DNK, kao i ekstrakcijom ukupne RNK korišćenjem specifičnih prajmera i sekvenci aminokiselina, pri čemu se koriste različiti prajmeri u zavisnosti iz kog materijala se određuju proteini toplotnog stresa (Sun i sar., 2019; Kim i sar., 2020).

Značaj Hsp70 u zaštiti jajnika i embriona od negativnog uticaja toplotnog stresa

Toplotni stres ima uticaja na sazrevanje jajnih ćelija dovodeći do mitohondrijalne disfunkcije, akumulacije reaktivnih vrsta kiseonika i povećane apoptoze koja inhibira završetak mejoze i na kraju smanjuje razvojnu kompetenciju oocita. Ekspresija proteina toplotnog šoka je jedan od glavnih mehanizama kojima se ćelija, u okviru procesa homeostaze, štiti od štetnog uticaja tokom izloženosti visokim ambijetalnim temperaturama. Dokazano je da Hsp70 štiti oocite od štetnih efekata toplotnog stresa. Pored toga, postoje dokazi da Hsp70 ima uticaja i tokom oplodnje na rani razvoj embriona (Stamperna i sar., 2021). Hsp70 se nalazi u svim ćelijskim strukturama, kao što je citoplazma, mitohondrije, jedro, endoplazmatski retikulum, dok je za vreme i posle toplotnog stresa najveća koncentracija Hsp70 u jedru. U literaturi se navodi da je Hsp70 takođe uključen u oplodnju i rani razvoj embriona. Ovaj protein utiče na mikrotubule doprinoseći stabilizaciji formiranja mejotičkog vretena u oocitama. U toku toplotnog stresa, Hsp70 ima ključnu ulogu u očuvanju stabilnosti citoskeleta, regulaciji ćelijskog ciklusa i imunog odgovora, zatim sprečava ćelijsku apoptozu i doprinosi termotoleranciji ćelija. Apoptoza je blokirana prekidom mehanizma aktivnosti kaspaze 3 kao i smanjenjem fosforilacije eIF-2a, suštinskog faktora za pokretanje translacije proteina, kada je potrebna smanjena sinteza proteina tokom toplotnog stresa. U radu Stamperna i sar. (2021), navedeno je da povećanje temperature tokom IVM (eng. *In vitro maturation*) smanjuje stopu formiranja blastocista. Dodatkom Hsp70 u medijum prilikom IVM obnovljen je broj blastocista, što dokazuje zaštitnu ulogu ovog proteina u toku izlaganja visokim temperaturama. Prisustvo Hsp70 u medijumu je aktivirao ekspresiju proteina toplotnog stresa (HSP90AA1, HSPB11) u jajnim ćelijama. HSP90AA1 uključen je u pravilno savijanje, transport i stabilnost specifičnih ciljnih proteina kao i u ćelijsku signalizaciju, transkripciju, regulaciju kinaze i DNK replikaciju, dok HSPB11 sprečava apoptotičku smrt ćelije. Stamperna i sar., (2021) kao zaključak svog rada izneli su da dodavanje Hsp70 može sprečiti štet-

ne efekte toplotnog stresa tokom sazrevanja embriona. Prisustvo dodatog Hsp70, imalo je zaštitnu ulogu na oocite, kumulusne ćelije kao i formiranje blastocista, sprečavanjem apoptoze, omogućavajući transdukciju signala i povećavanje antioksidativne zaštite embriona.

ZAKLJUČAK

Na osnovu svega izloženog može se zaključiti da su istraživanja vezana za toplotni stres, odnosno potencijalne biomarkere toplotnog stresa, od izuzetnog značaja za uzgoj goveda, naročito u intenzivnoj proizvodnji, jer mogu da pomognu u prevenciji, smanjenju/predviđanju negativnog uticaja toplotnog stresa na proizvodna i reproduktivna svojstva visokomlečnih krava, a sve u pravcu globalnog zagrevanja i klimatskih promena.

Zahvalnica

Ovaj rad je podržan sredstvima Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije (Ugovor broj 451-03-68/2022-14/200143).

LITERATURA

1. *Badinga L, Thatcher WW, Diaz T, Drost M, Wolfenson D*, 1993, Effect of environmental heat stress on follicular development and steroidogenesis in lactating Holstein cows, *Theriogenology*, 39, 797-810.
2. *Belhadj Slimen I, Najar T, Ghram A, Abdrabba M*, 2016, Heat stress effects on livestock: molecular, cellular and metabolic aspects, a review, *J Anim Physiol and Anim Nutr*, 100, 401–12.
3. *Bezdiček J, Nesvadbová A, Makarevich A, Kubovičová E*, 2021, Negative impact of heat stress on reproduction in cows: Animal husbandry and biotechnological viewpoints: A review, *Czech J Anim Sci*, 66, 293-301.
4. *Collier RJ, Baumgard LH, Lock AL, Bauman DE*, 2005, Physiological Limitations: nutrient partitioning, Chapter 16, In: *Yields of farmed Species: constraints and opportunities in the 21st Century*, Proceedings 61st Easter 168 School, Nottingham, England, J, Wiseman and R, Bradley, eds, Nottingham University Press, Nottingham, UK, 351–77.
5. *Elvinger F, Natzke RP, Hansen PJ*, 1992, Interactions of heat stress and bovine somatotropin affecting physiology and immunology of lactating cows, *J Dairy Sci*, 75, 449-62.
6. *Ju JC, Tseng JK*, 2004, Nuclear and cytoskeletal alterations of in vitro matured porcine oocytes under hyperthermia, *Mol Reprod Dev*, 68, 125-33.
7. *Kim S, Ghassemi J, Nejad D, Peng Q, Jung US, Kim JM et al*, 2020, Identification of heat shock protein gene expression in hair follicles as a novel indicator of heat stress in beef calves, *Animal*, 14, 1502-9.
8. *Li M, Cheng JB, Shi BL, Yang HJ, Zheng N, Wang JQ*, 2015, Effects of heat stress on serum insulin, adipokines, AMP-activated protein kinase, and heat shock signal molecules in dairy cows, *J Zhejiang Univ Sci*, 16, 541-8.
9. *Nocek EJ*, 1997, Bovine acidosis: Implications of Laminitis, *J Dairy Sci*, 80, 1005-28.
10. *Ortega MS, Rocha-Frigoni NAS, Mingoti GZ, Roth Z, Hansen PJ*, 2016, Modification of embryonic resistance to heat shock in cattle by melatonin and genetic variation in HSPA1L, *J Dairy Sci*, 99, 9152-64.
11. *Pierre NR, Cobanov B, Schnitkey G*, 2003, Economic Losses from Heat Stress by US Livestock Industries, *J Dairy Sci*, 86, 52-77.

12. Sakatani M, Bonilla L, Dobbs KB, Block J, Ozawa M, Shanker S et al., 2013, Changes in the transcriptome of morula-stage bovine embryos caused by heat shock: Relationship to developmental acquisition of thermotolerance, *Reprod Biol Endocrinol*, 11, 1-12.
13. Schuller LK, Michaelis I, Heuwieser W, 2017, Impact of heat stress on estrus expression and follicle size in estrus under field conditions in dairy cows, *Theriogenology*, 102, 48-53
14. Srikanth K, Kwon A, Lee E, Chung H, 2017, Characterization of genes and pathways that respond to heat stress in Holstein calves through transcriptome analysis, *Cell Stress Chaperones*, 22, 29-42.
15. Stamperna K, Giannoulis T, Dovolou E, Kalemkeridou M, Nanas I, Dadouli K et al., 2021, Heat Shock Protein 70 improves in vitro embryo yield and quality from heat stressed bovine oocytes, *Animals*, 11, 1794.
16. Sun X, Li X, Jia H, Looor JJ, Bucktrout R, Xu Q et al., 2019, Effect of heat shock protein B7 on oxidative stress in adipocytes from preruminant calves, *J Dairy Sci*, 102, 5673-85.
17. Trifković J, Jovanović Lj, Bošnjaković D, Savić Đ, Stefanović S, Krajišnik T et al., 2022, Summer Season-Related Heat Stress Affects the Mineral Composition of Holstein Dams' Colostrum, and Neonatal Calves' Mineral Status and Hematological Profile, *Biol Trace Elem Res*, 200, 5, 2122-34.
18. Trifković J, Jovanović Lj, Đurić M, Stevanović-Đorđević S, Milanović S, Lazarević M et al., 2018, Influence of different seasons during late gestation on Holstein cows' colostrum and post-natal adaptive capability of their calves, *Int J Biometeorol*, 62, 1097-108.
19. Vujanac I, 2010, Ispitivanje funkcionalnog stanja endokrinog pankreasa kod visoko-mlečnih krava u različitim uslovima spoljašnje temperature, *Doktorska disertacija*, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu.
20. Vujanac I, Kirovski D, Bojkovski J, Prodanović R, Savić B, Šamanc H, 2010, Effect of heat stress on vital signs in high-yield dairy cows, *Vet Glasnik*, 64, 53-63.
21. Vujanac I, Kirovski D, Šamanc H, Prodanović R, Lakić N, Adamović M et al., 2012, Milk production in high-yielding dairy cows under different environment temperatures, *Large Anim Rev*, 18, 31-6.
22. West JW, 2003, Effects of heat-stress on production in dairy cattle, *J Dairy Sci*, 86, 2131-2144.
23. Wilson SJ, Kirby CJ, Koenigsfeld AT, Keisler DH, Lucy MC, 1998, Effects of controlled heat stress on ovarian function of dairy cattle, *J Dairy Sci*, 81, 2132-8.
24. Zeng L, Qu K, Zhang J, Huang B, Lei C, 2022, Genes related to heat tolerance in cattle—a review. *Anim Biotechnol*, 1-9.
25. Zubor T, Hollo G, Posa R, Nagy-Kiszlinger H, Vigh Z, Huth B, 2020, Effect of rectal temperature on efficiency of artificial insemination and embryo transfer technique in dairy cattle during hot season, *Czech J Anim Sci*, 65, 295-302

VSI Pančevo
Semex PK BB
Genetix International
Toplek
VSI Niš
Veterinarska stanica Đuravet
Primavet
Centralfarm
VSI Zaječar

CIP - Каталогизација у публикацији

Народна библиотека Србије, Београд

636.082(082)

636.09:618.19(082)

НАУЧНИ симпозијум Репродукција домаћих животиња (13 ; 2022 ; Дивчибаре)

Zbornik predavanja / 13. Naučni simpozijum Reprodukција domaćih životinja, Divčibare, 6-9. oktobar 2022. ; [organizatori Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu ... [et al.]] ; [organized by Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu Faculty of Veterinary Medicine, University of Belgrade ... [et al.]] ; [odgovorni urednik Dragan Gvozdić]. - Beograd : Fakultet veterinarske medicine, Centar za izdavačku delatnost i promet učila, 2022 (Beograd : Naučna KMD). - II, 174 str. : ilustr. ; 25 cm

Radovi na srp., hrv. i engl. jeziku. - Tiraž 450. - Bibliografija uz većinu radova. - Summaries. - Registar.

ISBN 978-86-80446-52-3

а) Домаће животиње -- Размножавање -- Зборници

COBISS.SR-ID 75826185