

UNIVERZITET U BEOGRADU
FAKULTET VETERINARSKJE MEDICINE

ZBORNIK PREDAVANJA
XLIII SEMINARA
ZA INOVACIJE
ZNAJJA VETERINARA



UNIVERZITET U BEOGRADU

FAKULTET VETERINARSKJE MEDICINE

**ZBORNİK PREDAVANJA XLIII SEMINARA
ZA INOVACIJE ZNANJA VETERINARA**

Beograd, 2022.

XLIII SEMINAR ZA INOVACIJE ZNANJA VETERINARA

Beograd, 25.02.2022.

Organizator:

Fakultet veterinarske medicine
Univerzitet u Beogradu

Organizacioni odbor:

Počasni predsednik: Prof. dr Milorad Mirilović, dekan

Predsednik: Prof. dr Danijela Kirovski

Članovi: Prof. dr Vanja Krstić, Doc. dr Milan Maletić, Doc. dr Slađan Nešić,
Doc. dr Ljubomir Jovanović, Asist. dr Branislav Vejnović, Maja Gabrić

Programski odbor:

Predsednik: Prof. dr Jakov Nišavić

Članovi: Prof. dr Ivan Jovanović, Prof. dr Vladimir Nešić, Prof. dr Nedejko Karabasil, Prof. dr Dragan Šefer,
Prof. dr Sonja Radojičić, Prof. dr Ivan Vujanac, Doc. dr Miloš Vučićević



Izdavač:

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

CID

Za izdavača:

Prof. dr Milorad Mirilović, dekan FVM

Urednik:

Prof. dr Dragan Gvozdić

Lektura i korektura:

Prof. dr Ivan B. Jovanović

Prof. dr Jakov Nišavić

Prof. dr Dragan Gvozdić

Dizajn korica:

Prof. dr Ivan B. Jovanović

Prelom teksta:

Gordana Lazarević

Štampa:

Naučna KMD, Beograd, 2022

Tiraž: 450 primeraka

ISBN 978-86-80446-46-2

OKSIDATIVNI STRES KOD KRAVA U PERIPARTALNOM PERIODU – UZROK ILI POSLEDICA METABOLIČKIH POREMEĆAJA

Svetlana Milanović, Olivera Valčić, Dragan Gvozdić, Ivan Jovanović*

U intenzivnoj stočarskoj proizvodnji, od muznih krava se očekuje maksimalno iskorišćavanje genetskog potencijala i što veći prinos mleka. Najveći izazov u tom smislu predstavlja peripartalni period koji obuhvata tri nedelje pre i tri nedelje posle partusa. Tada se u organizmu krave dešavaju velike hormonske, metaboličke i imunološke promene. Mnogi metabolički poremećaji koji su karakteristični za ovaj period, posledica su neizbalansirane ishrane i nepravilne pripreme jedinke za ulazak u intenzivnu laktaciju. Masna jetra, ketoza, dislokacija sirišta i puerperalna pareza predstavljaju glavne poremećaje karakteristične za ovaj period, a oksidativni stres može imati veliku ulogu u njihovoj pojavi. Osim navedenih poremećaja, zaostajanje posteljice i pojava mastitisa, mogu takođe biti u vezi sa oksidativnim stresom. U ovom radu ćemo analizirati podatke iz naših istraživanja i dostupne literature i pokušati da objasnimo ulogu oksidativnog stresa u peripartalnom periodu, sa posebnim osvrtom na primenu antioksidanasa u cilju preveniranja pojave ili posledica metaboličkih poremećaja.

Ključne reči: ketoza, masna jetra, oksidativni stres, peripartalni period

UVOD

Intenzivna stočarska proizvodnja podrazumeva da se za što kraće vreme proizvede što više kvalitetnog i zdravstveno ispravnog proizvoda. U tom smislu, u mlečnom govedarstvu, rentabilna proizvodnja mleka je ona koja na godišnjem nivou ispuni kvotu od 6.000 - 9.000 litara mleka i jednog teleta po grlu na godišnjem nivou, u zavisnosti od rase. Ovakav intenzitet proizvodnje podrazumeva maksimalno iskorišćavanje genetskih potencijala jedinki, uz kvalitetnu ishranu i uslove držanja. Naime, selekcija mlečnih krava je išla u smeru forsiranja homeoreze, te se u organizmu prvo zadovoljavaju potrebe mlečne žlezde, pa zatim neki drugi vi-

* Dr Svetlana Milanović, profesor, dr Olivera Valčić, profesor, dr Dragan Gvozdić, profesor, dr Ivan Jovanović, profesor, Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, R. Srbija

talni procesi. Zato ovakav vid proizvodnje nosi sa sobom velike rizike po zdravlje životinja.

Naročito osetljiv period predstavlja peripartalni period koji obuhvata tri nedelje pre i tri nedelje posle partusa, a kada se u organizmu krave dešavaju velike hormonske, metaboličke i imunološke promene, zbog prelaska iz stanja visokog graviditeta u stanje laktacije koja kod visoko mlečnih krava značajno opterećuje metabolizam. Neadekvatno pripremljene životinje su u velikom riziku za nastanak metaboličkih poremećaja koji mogu biti udruženi i sa infekcijama.

Peripartalni period

Peripartalni period obuhvata tri nedelje pre i tri nedelje posle partusa. Period od tri nedelje do partusa poklapa se i sa periodom zasušenja. Kako tada nema laktacije, jedinke su u fazi pozitivnog energetskeg bilansa, odnosno, unose više energije nego što se troši, te se ona deponuje u vidu masnih naslaga.

Nakon partusa nastaju značajne promene u metabolizmu zbog otpočinjanja laktacije, a jedinka tada nije u stanju da unosom hranljivih materija zadovolji energetske potrebe. U toku ovog perioda, jedinke prolaze kroz stanje negativnog energetskeg bilansa (NEB) koga karakterišu mobilizacija rezervi iz različitih tkiva, pre svega masnog, čak i kada je unos hranljivih materija povećan. Porast koncentracije slobodnih masnih kiselina (NEFA – nonesterified fatty acids – engl.) i ketonskih tela (β -hidroksibutirata, BHB), pad koncentracije glukoze i insulina su karakteristični parametri negativnog energetskeg bilansa (Akbar i sar., 2015).

U toku negativnog energetskeg bilansa, slobodne masne kiseline poreklom iz masnog tkiva preuzimaju hepatociti. Njihova sudbina može biti višestruka: da se potpuno oksidišu do ugljendioksida kroz β oksidaciju i Krebsov ciklus; nepotpuno oksidišu, pri čemu se nastali Acetil KoA iz β oksidacije preusmerava u sintezu ketonskih tela; reesterifikuju i deponuju u jetri vidu triglicerida. U stanju izraženog negativnog energetskeg bilansa koji je praćen visokom mobilizacijom masti, postoji velika mogućnost razvoja nekih metaboličkih poremećaja kao što su ketoza ili masna jetra.

Osim toga, zbog povećane potrošnje glukoze za sintezu laktoze mleka, u hepatocitima se povećava obim glikogenolize i glukoneogeneze. Zbog povećanih potreba za glukozom i nedovoljnog unosa hranljivih materija tokom rane laktacije, metaboličke promene praćene hormonskim promenama, dovode do adaptacije energetskeg metabolizma jetre tako što se stimuliše ekspresija gena vezanih za sintezu enzima uključenih u metabolizam glukoze, oksidaciju masnih kiselina i ketogeneze u hepatocitima (Lor, 2010). Ekspresija ovih gena zavisi od unosa hranljivih materija, ali značajno varira od jedinke do jedinke. Takođe, u zavisnosti od toga kojem metaboličkom tipu pripada jedinka, varijacije u mobilizaciji masti i prometu energije nakon partusa, mogu uticati na ekspresiju gena u hepatocitima zaduženih za ključne enzime uključene u glukoneogenezu, oksidaciju masnih kiselina ili ketogenezu.

Uočene su velike varijacije u mogućnostima adaptacije krava na ove metaboličke promene koje se dešavaju prilikom prelaska iz stanja visokog graviditeta na laktaciju. Ovaj period adaptacije može zavisiti od same jedinke, ali i od uslova držanja.

Mnogi parametri (glukoza, NEFA, ketonska tela) mogu biti osnov u proceni od rizika pojave nekih metaboličkih poremećaja, ali se stalno proučavaju i druge mogućnosti, kao što je koncentracija masti u jetri.

Hormonska podrška u adaptaciji organizma tokom peripartalnog perioda

Peripartalni period podrazumeva adaptaciju metaboličkih procesa, a ključnu ulogu ima endokrini sistem. Prelaz iz visokog graviditeta u period rane laktacije, praćena je promenom koncentracija pojedinih hormona. Adaptacija metaboličkih procesa u ovom periodu (lipoliza i mobilizacija masnih kiselina iz masnog tkiva, glukoneogeneza i glikogenoliza u jetri), podržana je promenama u koncentraciji pojedinih hormona nekoliko dana do nekoliko nedelja pre nego što se javi izrazito povećanje potreba za hranljivim materijama radi održavanja nivoa laktacije. U adaptaciji metaboličkih procesa u peripartalnom periodu nekoliko hormona ima važnu ulogu.

Leptin ima ulogu u koordinaciji unosa hrane, potrošnje energije i iskorišćavanja hranljivih materija u različitim tkivima. Leptin ima autokrino i parakrino dejstvo na inhibiciju lipogeneze i stimulaciju lipolize. Ovaj hormon se sintetiše isključivo u masnom tkivu (adipocitima) u skladu sa količinom masti u organizmu.

Leptin utiče na nervni sistem tako što smanjuje voljni unos hrane, a takođe utiče na pojavu periferne insulinske rezistencije kod preživara tokom peripartalnog perioda. Smatra se da je pojava rezistencije na insulin deo homeoreze, jer se na ovaj način smanjuje insulin-zavisni unos glukoze u tkiva kao što su masno i mišićno, a glukoza je dostupnija plodu, i nakon partusa, mlečnoj žlezdi. Povišena koncentracija ovog hormona može ukazati na rizik od pojave kašnjenja ovulacije što za posledicu ima produženi servis period i međutelidbeni interval. Ocena telesne kondicije kojom se procenjuje količina masnog tkiva, može se povezati sa količinom leptina koji će u toku laktacije stimulisati lipolizu i energetske podržati laktaciju. Istovremeno, dejstvo na nervni sistem koji za posledicu ima smanjeni unos hranljivih materija, dodatno pospešuje lipolizu.

Hormoni tireoidne žlezde – koncentracija tireoidnih hormona (tiroksin-T4 i trijodtironin-T3) u periodu pred partus je kod krava relativno visoka, a nakon partusa dolazi do značajnog pada njihove koncentracije (Steinhoff i sar., 2019). Štitna žlezda luči T4 koji se nakon ulaska u ćelije aktivira u T3 pod dejstvom selenoenzima jodotironin dejdinaza. Tireoidni hormoni imaju ključnu ulogu u regulaciji prometa energije i metabolizmu ugljenih hidrata i masti. Povišene vrednosti tireoidnih hormona stimulišu lipolizu i glukoneogenezu dok niske imaju suprotan uticaj na ove procese. Glavna metabolička funkcija ovih hormona je stimulacija potrošnje adenozin trifosfata (ATP), čija je sinteza povezana sa potrošnjom kiseonika tokom

respiratornog lanca. Tireoidni hormoni inhibitorno deluju na sintezu masnih kiselina od ugljenih hidrata, stimulišu lipolizu i sprečavaju deponovanje masti u jetri. Pojačavanjem dejstva insulina, tireoidni hormoni stimulišu reapsorpciju glukoze u bubrezima i njen ulazak i iskorišćavanje u ćelijama. Kod visoko mlečnih krava, tireoidni hormoni imaju nižu vrednost koncentracije u odnosu na krave sa niskom mlečnošću, kao i u odnosu na krave pre partusa. Smatra se da su niski nivoi T3 i T4 posledica reakcije hipotalamo-hipofizne osovine na stanje visoke produkcije mleka. Pad koncentracija tireoidnih hormona ispod donje fiziološke granice može biti faktor rizika u razvoju postpartalnih metaboličkih poremećaja (Šamanc i sar., 2010).

Insulin je hormon koji stimuliše deponovanje materija bogatih energijom i sintezu proteina. On ima značajnu ulogu u preraspodeli i usmeravanju hranljivih materija ka mlečnoj žlezdi u toku peripartalnog perioda, posebno na početku laktacije. Koncentracija insulina u krvi krava je visoka do desetog dana pred partus, kada počinje pad koncentracije do 5 dana pred partus. Zatim koncentracija varira do samog partusa. Nakon partusa, zbog gladovanja, insulin ima nisku koncentraciju sa tendencijom blagog porasta do kraja peripartalnog perioda. Niska koncentracija insulina u krvi omogućava nesmetanu lipomobilizaciju čime se omogućava dodatna energija za proizvodnju mleka (Bosaert i sar., 2008). Ali, ako je pad koncentracije veći, povećana lipomobilizacija može imati za posledicu pojavu masne jetre.

Insulinu slični faktori (IGF1 i IGF2) imaju sličan uticaj na metaboličke procese kao i insulin. Osim toga, poznati su njihovi uticaji na laktaciju, reprodukciju i imunski odgovor. Sintetišu se u jetri pod uticajem somatotropina (STH). U periodu rane laktacije, kada je izražen negativan energetske bilans, hepatociti postaju neosetljivi na dejstvo STH, što kao posledicu ima smanjenu sintezu i sekreciju, te manju koncentraciju IGF u cirkulaciji (Kirovski i sar., 2012). Insulin je, pored somatotropina, glavni regulator sekrecije IGF, a smatra se i da direktno utiče na ekspresiju gena za IGF.

Glukagon je hormon koji, pored insulina, utiče na regulaciju glikemije. Ima suprotno dejstvo od insulina jer sprečava pojavu hipoglikemije. Njegova koncentracija kod ugojenih krava u vreme partusa je niska, a sa pojavom ketonemije je još niža. Glukagon pozitivno utiče na proces glukoneogeneze tako što stimuliše povećano preuzimanje aminokiselina iz krvi od strane hepatocita, stimuliše β oksidaciju masnih kiselina čime povećava koncentraciju Acetil KoA koji aktivira piruvat karboksilazu (Perry, 2020).

Kortizol je kod goveda glavni kortikosteroid. Njegova je koncentracija u krvi gravidnih krava relativno niska, a raste pred sam partus. Kortizol kod preživara ima ulogu u regulaciji procesa glukoneogeneze i glikogeneze u hepatocitima. Visoke koncentracije kortizola stimulišu lipolizu i povećanje koncentracije slobodnih masnih kiselina u krvi. Osim toga, glukokortikosteroidi na metabolizam masti mogu uticati i preko lipolitičkog delovanja kateholamina i hormona rasta. Kod hiperinsulinemije, kortizol stimuliše lipolizu i dovodi do hiperlipidemije i ketonemije. Kod

goveda kortizol utiče na obim glukoneogeneze i na taj način obezbeđuje pravilno snabdevanje ploda i mlečne žlezde potrebnom količinom glukoze. Lipolitičkom ulogom kortizol obezbeđuje potrebnu količinu energetskih prekursora. Osim toga, visok nivo ovog hormona može imati imunosupresivno dejstvo te jedinke sa povišenom koncentracijom kortizola mogu biti podložnije infekcijama (Coutinho i Chapman, 2011). Aplikacija preparata selena kravama u peripartalnom periodu dovela je do značajnog smanjenja koncentracije ovog hormona u krvi krava u toku i nakon partusa (Jovanović i sar., 2015)

Promene u metabolizmu tokom peripartalnog perioda

Tokom poslednje tri nedelje graviditeta, krave se nalaze u fazi zasušenja i pozitivnog energetskog bilansa, te se višak energije deponuje. Nakon partusa, organizam ulazi u fazu laktacije za koju je karakterističan negativni energetski bilans (NEB), jer su ukupne energetske potrebe životinje veće nego što se mogu obezbediti iz alimentarnih izvora. Trećina energije potrebna za laktaciju potiče iz telesnih rezervi jedinke (Kirovski i sar., 2007). Tokom NEB, razvija se negativan bilans glukoze, jer se sva dostupna glukoza preusmerava ka mlečnoj žlezdi za sintezu laktoze. Ova pojava praćena je promenom koncentracije hormona kao i senzitivnosti pojedinih tkiva na njihovo delovanje (jetra, masno tkivo, skeletni mišići i mlečna žlezda). U ovom periodu, da bi se održala koncentracija glukoze, u jetri se povećava obim glikogenolize, a zatim i glukoneogeneze. U masnom tkivu se intenzivno u ovom periodu odvija lipoliza, oslobađaju se neesterifikovane masne kiseline (NEFA) koje krvotokom dospevaju do jetre. Masne kiseline ulaze u proces beta oksidacije da bi se dobila energija. U slučaju smanjene količine dostupne glukoze u hepatocitima, Acetil KoA nastao kao proizvod razlaganja masnih kiselina, preusmerava se u sintezu ketonskih tela. U tabeli 1. su prikazane vrednosti osnovnih parametara koji ukazuju na pojavu negativnog energetskog bilansa.

Tabela 1. Vrednosti osnovnih parametara negativnog energetskog bilansa

Parametar	Pre partusa	Negativni energetski bilans (početak laktacije)
Glukoza (mM)	2,8-3,88	<2,77
NEFA (mM)	0,4-0,7	1,5
β hidroksibutirat (mM)	< 0,6-1	2

Metabolički poremećaji tokom peripartalnog perioda

Gotovo 75% bolesti kod mlečnih krava se javlja u ovom periodu, posebno nakon teljenja (3-4 nedelje), pri čemu se u prvih deset dana nakon teljenja najčešće javljaju ketoza, poremećaji u varenju, mastitis i laminitis. Period pre teljenja je značajan u nastanku ovih poremećaja. Većina ovih poremećaja nastaje kao posledica loše adaptacije jedinke na promene koje podrazumevaju prelazak iz visokog graviditeta i kraja perioda zasušenja na laktaciju.

Gojaznost – Telesna kondicija je indirektan pokazatelj energetskeg metabolizma krava i popunjenosti masnih depoa. Ocena telesne kondicije je jednostavan i praktičan način na koji se procenjuju depoi masti kod mlečnih krava i eventualni rizik za pojavu metaboličkih poremećaja nakon partusa. Pred kraj graviditeta, kada postoji pozitivan energetski bilans, višak hranljivih materija se ne koristi za dobijanje energije već za deponovanje u obliku triglicerida u masnom tkivu. Ocena telesne kondicije prema Virdžinija sistemu preko 4, znači da je krava prekomerno ugojena. Zbog oslobađanja veće količine leptina i insulinske rezistencije, ove jedinke su nakon partusa podložnije razvoju metaboličkih poremećaja (subklinička i klinička ketoza, masna jetra) i zapaljenskih i infektivnih oboljenja (mastitis, laminitis) jer se ulaskom u stanje negativnog energetskeg bilansa oslobađa više materija koje učestvuju u patogenezi ovih poremećaja (Ospina i sar., 2010).

Pravilnom ishranom mlečnih krava i održavanjem telesne kondicije u određenim granicama, može se uticati na bolji prinos mleka, zdravlje stada, reproduktivni učinak i veću profitabilnost farme. Telesna kondicija je čak povezana i sa ključnim enzimima jetre uključenim u metaboličke procese jedinke u toku peripartalnog perioda. Kod gojaznih krava, sa višom ocenom telesne kondicije, uočen je viši nivo masnih kiselina u krvi. Iako je i kod normalnih i kod gojaznih krava registrovana slična količina slobodnih kiseonikovih radikala i njihovih metabolita, gojazne krave su imale nižu ukupnu koncentraciju β karotena i tokoferola, što je objasnilo niži antioksidativni kapacitet (Bernabucci i sar., 2005).

Ketoza krava predstavlja poremećaj metabolizma ugljenih hidrata i masti uz pojavu povišene koncentracije ketonskih tela. Javlja se u peripartalnom periodu kod visoko mlečnih krava sa izraženim negativnim energetskim bilansom, a odlikuje se padom koncentracije glukoze u krvi, glikogena u jetri, povećanom koncentracijom masnih kiselina u krvi, povećanim obimom ketogeneze i pojave povišenih koncentracija ketonskih tela u krvi. Postoje brojni činioci koji mogu uticati na pojavu ketoze, a među njima su neadekvatno izbalansirana ishrana, ugojenost, faza laktacije, hormonski status jedinke kao i količina proizvedenog mleka.

Prema uzroku nastanka poremećaja, postoje tri tipa ketoze.

Tip 1 je rana ketoza koja se javlja 3-6 dana nakon partusa, a koja se terapira dodavanjem glukoplastičnih materija (glicerol i propionat). Ovaj tip ketoze se može prevenirati povećanjem udela ugljenih hidrata na početku laktacije i izbegavanjem izlaganja životinje faktorima stresa koji mogu uticati na smanjeno uzimanje hrane.

Tip 2 je oblik ketoze koji se javlja kod gojaznih krava, i najčešći je tip ketoze na farmama. Ketoza ovog tipa može biti udružena sa insulinskom rezistencijom praćenom normalnom ili povišenom koncentracijom glukoze u krvi, iako u samim ćelijama postoji energetski deficit. Gojazne krave sa ocenom telesne kondicije preko 4, ulaskom u stanje negativnog energetskeg bilansa imaju intenzivniju lipolizu i veći rizik od nastanka ketoze.

Tip 3 je oblik ketoze koji nastaje lošom ishranom, odnosno ishranom nekvalitetne senaže ili silaže, u kojima se nalazi veća količina buterne kiseline, a koja

prelazi u beta-hidroksibutirat, te se u krvi javlja povećanje BHB uz normalnu koncentraciju glukoze i masnih kiselina.

Prema kliničkoj manifestaciji, ovaj metabolički poremećaj može imati subkliničku i kliničku formu.

Subklinička ketoza se odlikuje smanjenom proizvodnjom mleka i koncentracijom β -hidroksibutirata 1-1,2 mmol/L. Ostali simptomi poremećaja nisu izraženi i zato se dijagnostikuje jedino analizama krvi. Sa druge strane, klinička ketoza se ispoljava pojavom različitih simptoma, pri čemu je koncentracija BHB u krvi preko 2 mmol/L. Digestivna forma bolesti karakteriše se padom apetita, prestankom preživanja, smanjivanjem kontrakcija buraga do atonije, uz pojavu proliva ili zastoja u defekaciji. Nervna forma je najteži oblik ketoze. Tada se javlja poremećaj u kretanju, neprestano lizanje i oblizivanje, škripanje zubima, glodanje okolnih predmeta ili ekstremiteta i agresivnost.

Može se javiti i oblik ketoze sa simptomima sličnim puerperalnoj parezi, s tim da je očuvan pupilarni refleks i terapijanje kalcijumom ne daje rezultate.

Masna jetra je oboljenje koje može da prati ketozu i javlja se tokom 4 nedelje nakon partusa. Predisponirajući faktori u nastanku oboljenja su visoka mlečnost, gojaznost jedinke u toku faze pozitivnog energetskog bilansa i povećan gubitak telesne mase u fazi negativnog energetskog bilansa. Promene u metabolizmu koje dovode do nastanka masne jetre uslovljene su promenama nivoa hormona kao što su insulin (opada nakon partusa i stimuliše lipolizu), estrogen, hormon rasta i prolaktin (povećavaju osetljivost masnog tkiva na lipolitičke hormone kao što su kateholamini). Oslobođene masne kiseline iz masnog tkiva dospevaju do jetre gde visoke koncentracije estrogena deluju na hepatocite i stimulišu reesterifikaciju masnih kiselina, tj. sintezu triglicerida koji se gomilaju u ćelijama zbog nedovoljnog kapaciteta njihovog pakovanja u lipoproteine i eliminacije iz hepatocita. Osim toga, slobodne masne kiseline modifikuju intracelularnu proizvodnju reaktivnih vrsta kiseonika (eng. *Reactive Oxygen Species*, ROS). Kod krava sa masnom jetrom uočena je manja koncentracija apolipoproteina A1 (ApoA1) i paraoksinaze (PON). ApoA1 i paraoksonaza imaju antioksidativna svojstva, te pad njihove aktivnosti dovodi do pojave oksidativnog stresa.

Subakutna acidoza rumena – mlečne krave u ishrani moraju da imaju dovoljnu količinu vlakana koja utiču na pravilno preživanje i održavanje odgovarajuće pH buraga, te se preporučuje da ona učestvuju sa najmanje 40%. Međutim, da bi se povećao unos hranljivih materija i podržala visoka proizvodnja mleka, forsira se primena koncentrovanih hraniva koja imaju malo vlakana. Prisustvo lako svarljivih ugljenih hidrata u koncentrovanim hranivima rezultira naglim povećanjem koncentracije nižih masnih kiselina i smanjivanjem pH buraga. Tako može nastati subakutna acidoza buraga. Mlečne farme prijavljuju 19-26% krava sa acidozom buraga u ranoj laktaciji. Smatra se da snižen pH buraga izaziva lizu gram negativnih bakterija i oslobađanje endotoksina (lipopolisaharid – LPS). Ovaj endotoksin se resorbuje u buragu, portalnim krvotokom dospeva u jetru, a zatim i do mlečne žlezde gde može izazvati upalu i smanjenu produkciju mleka (Emmanuel i sar.,

2007). Osim toga, Abaker i sar. (2016) su utvrdili višu koncentraciju metabolita peroksidacije masnih kiselina (MDA, parametar oksidativnog stresa) u krvi krava hranjenih hranom sa većim udelom koncentrata, kao i povećanu aktivnost enzima superoksid dismutaze (SOD), a smanjenu aktivnost glutation peroksidaze (GPx) i katalaze (CAT). Ovaj endotoksin oštećuje same hepatocite i narušava rad jetre što se vidi kroz povišenje aktivnosti enzima u krvnom serumu kao što su alanin aminotransferaza (ALT), aspartat aminotransferaza (AST) i laktat dehidrogenaza (LDH), kao i kroz pad koncentracije ukupnih proteina i albumina u serumu (Guo i sar., 2017). LPS može aktivirati i Kupferove ćelije i neutrofile, čime se još više produkuje slobodni radikali koji dovode do oksidativnog stresa.

Oksidativni stres u patogenezi bolesti krava u peripartalnom periodu

Peripartalni period je najstresniji period u životu muznih krava jer prolaze kroz dramatične fiziološke promene da bi se pripremile za početak laktacije i dostizanja maksimalne proizvodnje mleka. Kako se oko porođaja smanjuje unos suve materije, a povećava potreba za energijom u toku uspostavljanja laktacije, dolazi do situacije kada tkiva preusmeravaju metaboličke procese i troše više kiseonika kako bi se obezbedila energija za početak laktacije. Nakon teljenja, većina krava prolazi kroz fazu negativnog energetskog bilansa (NEB), u kojoj se potrebna energija za laktaciju ne dobija unosom hrane, te se mobilišu telesne rezerve iz masnog tkiva. Povećana lipomobilizacija kao posledica NEB, može povećati generisanje reaktivnih vrsta kiseonika, što uz smanjeni unos antioksidanasa može rezultirati razvojem oksidativnog stresa.

Prilikom loše adaptacije jedinke na promene tokom peripartalnog perioda, javlja se metabolički stres koga karakteriše visok nivo kataboličkih procesa sa narušenom homeostazom, izraženom lipomobilizacijom, narušenim imunskim sistemom i pojavom medijatora zapaljenja kao i pojavom oksidativnog stresa. Lipomobilizacija, narušen imunski sistem i oksidativni stres su povezani i prepliću se u patogenezi metaboličkih poremećaja, zapaljenskih reakcija i infekcija tokom ovog perioda (Abuelo, 2019).

Oksidativni stres predstavlja poremećaj redoks homeostaze kao posledica prekomernog stvaranja slobodnih radikala – reaktivnih vrsta kiseonika (ROS) i/ili slabije efikasnosti antioksidativne zaštite (Sordillo, 2013).

Slobodni radikali nastaju kao normalan proizvod tokom metaboličkih procesa u citoplazmi, mitohondrijama i peroksisomima. ROS imaju vrlo važne fiziološke uloge kao što su aktivacija gena, prenos signala, biosinteza prostaglandina. Njihova prekomerna proizvodnja može biti rezultat patoloških stanja ili povećanja obima fizioloških procesa koji podržavaju homeorezu. Da li će slobodni radikali imati fiziološku ulogu ili će izazvati oštećenja i pokrenuti patološki proces, zavisi od ravnoteže procesa u kojima oni nastaju i brzine njihovog uklanjanja kroz antioksidativne mehanizme. Sa aspekta pojave metaboličkih poremećaja kod krava u peripartalnom periodu, posebno su zanimljiva saznanja da ROS nastaju i u

ciklusu limunske kiseline (CLK), a da sami slobodni radikali mogu zatim uticati na aktivnost enzima CLK (Forrester i sar., 2018). Usporavanjem CLK može se dodatno stimulisati preusmeravanjem Acetil KoA u ketogenezu. Slobodni radikali direktno mogu izazvati peroksidaciju masnih kiselina, izazvati oštećenja DNK, a nastali metaboliti peroksidacije masnih kiselina (MDA) mogu reagovati sa proteinima i dovesti do njihove denaturacije. Ishod nastanka ovih oštećenja može biti otpočinjanje patoloških promena na tkivima.

Ishranom se može obezbediti unos antioksidanasa koji deluju na smanjenje prooksidantnog opterećenja i smanjuju mogućnost nastanka oksidativnog stresa. Ukoliko nema dovoljno hranljivih materija i antioksidanasa u ishrani, povećan je rizik od nastanka slobodnih radikala. Slobodni radikali preko određenih enzima koji pripadaju MAPK (eng. *Mitogen Activated Kinase*) familiji proteina, mogu pokrenuti ćelijsku apoptozu i na taj način izazvati početak patološkog procesa. Iako sami slobodni radikali imaju vrlo značajne fiziološke uloge, u slučaju prekomerne proizvodnje i nemogućnosti antioksidativnih mehanizama (zbog nedostatka i/ili preopterećenosti) da ih neutrališu, nastaje oksidativni stres. Abuelo i sar. (2015) navode da je ishrana od ključnog značaja za nastanak oksidativnog stresa kod visoko mlečnih krava koje su prirodno podložnije. Čelije i tkiva poseduju snažan antioksidativni kapacitet koji obuhvata neenzimske antioksidanse (endogeni - albumin, bilirubin, glutation; i egzogeni - tokoferol i karotenoidi) i antioksidativne enzime. Antioksidativnim enzimima pripadaju superoksid dismutaza (SOD), katalaza (CAT), glutation peroksidaza (GPx) koja pripada selenoenzimima i čija aktivnost zavisi od količine raspoloživog selena. Prema tome, različit način ishrane kao i različita telesna kondicija jedinke mogu uticati na pojavu oksidativnog stresa (Tsuchiya i sar., 2020).

U literaturi je navedeno nekoliko strategija u smislu preveniranja nastanka oksidativnog stresa tokom peripartalnog perioda, a osnovni princip je povećanje antioksidativnog kapaciteta jedinke kako bi se efikasno neutralisao višak slobodnih radikala nastalih tokom metaboličke adaptacije ili poremećaja. Antioksidativnu zaštitu organizma čine enzimi (SOD, GPx, katalaza, tioredoksin reduktaza) i antioksidansi male molekulske mase (vitamin E i C, beta karoten). Glutation peroksidaza pripada selenoenzimima i ima veću aktivnost kod jedinki kojima je aplikovan selen. Kod ovih jedinki je i manji nivo MDA koji nastaje kao krajnji proizvod peroksidacije masnih kiselina usled prisustva slobodnih radikala (Jovanović i sar., 2015). Zanimljiva je pojava povećane aktivnosti ovog enzima kod krava koje su pre partusa imale visoku ocenu telesne kondicije. Iste jedinke su imale povišen nivo BHB (Nikšić i sar., 2019).

Pokazano je da dodavanje vitamina i selena imaju uticaj na efikasnost antioksidativne zaštite i prevenciju pojave nekih oboljenja kao što su mastitis i metritis, i to direktno preko antioksidativnog efekta ili preko modulacije imunskog odgovora. Nema mnogo potvrda da veće količine ovih materija od preporučenih, bitno utiču na poboljšanje antioksidativnog statusa kao ni na kvalitet mleka. Šta više, neke studije su pokazale da prekomerno dodavanje ovih materija može iza-

zvati suprotan efekat. Zbog toga suplementacija ovim materijama zahteva oprez i naučnu potvrdu.

Osim već pomenutih, i neke druge materije se preporučuju za preveniranje oksidativnog stresa, kao što je konjugovana linoleinska kiselina. Pretpostavlja se da se ona inkorporira u lipide tkiva, redukuje udeo drugih polinezasićenih masnih kiselina, a naročito arahidonske. Različiti izomeri ove masne kiseline su pokazali antioksidativnu aktivnost u *in vitro* i *in vivo* uslovima kod različitih životinjskih vrsta, a već postoje komercijalni preparati za krave. Prilikom primene ovih preparata, utvrđena je niža koncentracija proizvoda peroksidacije masnih kiselina.

Poslednjih godina više studija je utvrdilo da korišćenje biljnih ekstrakta bogatih polifenolima, takođe može imati antioksidativno dejstvo. Upotreba polifenola kod mlečnih krava i njihov efekat se još uvek intenzivno proučava, ali je utvrđen antioksidativni efekat na ćelije, bolji prinos mleka i smanjena koncentracija triglicerida u hepatocitima. Pored toga, treba napomenuti da je potrebno još istraživanja koja bi potvrdila pozitivan ishod upotrebe polifenola.

Zahvalnica:

Rad je podržan sredstvima Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije (Ugovor broj 451-03-9/2021-14/200143).

LITERATURA

1. Abaker A, Xu L, Jin D, Chang J, Zhang K, X. Shen Z, 2017, Lipopolysaccharide derived from the digestive tract provokes oxidative stress in the liver of dairy cows fed a high-grain diet, *J Dairy Sci*, 100, 666–78
2. Abuelo A, Hernández J, Benedito J, Castillo C, 2019, Redox Biology in Transition Periods of Dairy Cattle: Role in the Health of Periparturient and Neonatal Animals, 2019, *Antioxidants*, 8, 1, 20.
3. Akbar H, Grala M, Riboni V, Cardoso M, Verkerk C, McGowan G, Macdonald J, Webster K, Schutz J, Meier K, et al, 2015, Body condition score at calving affects systemic and hepatic transcriptome indicators of inflammation and nutrient metabolism in grazing dairy cows, *J Dairy Sci*, 98, 1019–32.
4. Bernabucci U, Ronchi B, Lacetera N, Nardone A, 2005, Influence of body condition score on relationships between metabolic status and oxidative stress in periparturient dairy cows, *J Dairy Sci*, 88, 2017–26.
5. Bossaert P, Leroy L, De Vlieger S, Opsomer G, 2008, Interrelationship between glucose-induced insulin response, metabolic indicators and time of first ovulation in high-yielding dairy cows, *J Dairy Sci*, 91, 3363-71.
6. Coutinho A, Chapman K, 2011, The anti-inflammatory and immunosuppressive effects of glucocorticoids, recent developments and mechanistic insights, *Mol Cell Endocrinol*, 15, 335, 1, 2–13.
7. Emmanuel G, Madsen L, Churchill A, Dunn M, Ametaj N, Acidosis and lipopolysaccharide from *Escherichia coli* B:055 cause hyperpermeability of rumen and colon tissues. *J. Dairy Sci*. 2007, 90, 5552–5557
8. Forrester S, Kikuchi D, Hernandez M, Xu Q, Griendling K, 2018, Reactive Oxygen Species in Metabolic and Inflammatory Signaling, *Circ Res*, 16, 122, 6, 877–902.

9. Guo J, Chang G, Zhang K, Xu L, Jin D, Bilal S, Shen X, 2017, Rumen-derived lipopolysaccharide provoked inflammatory injury in the liver of dairy cows fed a high-concentrate diet, *Onco-target*, 8, 46769–80.
10. Jovanović B Ivan, Veličković Miljan, Milanović Svetlana, Valčić Olivera, Gvozdić Dragan, Vranješ-Đurić Sanja, 2015, Supplemental selenium reduces the levels of biomarkers of oxidative and general stress in peripartum dairy cows, *Acta Veterinaria*, 65, 191-201
11. Kirovski D, Šamanc H, Vujanac, Dimitrijević B, 2007, Određivanje energetskog statusa visoko-mlečnih krava, deveto regionalno savetovanje iz kliničke patologije i terapije životinja, *Clinica veterinaria*, Palić.
12. Kirovski D, Sladojević Ž, Stoji V, Vujanac I, Lazarević M, Radovanović A, Savić Đ, Nedić O, 2012, Effect of peripartum dietary energy supplementation on thyroid hormones, insulin-like growth factor-I and its binding proteins in early lactation dairy cows, *Acta Veterinaria (Beograd)*, 62, 4, 403-19.
13. Loor J, Genomics of metabolic adaptations in the periparturient cow, 2010, *Animal*, 4, 1110-39
14. Nikšić A, Ječmenica J, Valčić O, Milanoić S, 2019, Uticaj telesne kondicije junica nakon koncentraciju glukoze, beta hidroksibutirata i aktivnost glutation peroksidaze, *Veterinarski žurnal Republike Srpske*, 19, 2, 251-7.
15. Ospina P, Nydam D, Stokol T, Overton T, 2010, Evaluation of nonesterified fatty acid and meta-hydroxibutirate in transition dairy cattle in the northeastern United States: critical thresholds for prediction of clinical diseases, *J Dairy Sci*, 93, 546-54
16. Perry R, Zhang D, Guerra M, Brill A, Goedeke L, Nasiri A i sar., 2020, Glucagon stimulates gluconeogenesis by InsP3R-I mediated hepatic lipolysis, *Nature*, 579, 7798, 279–83.
17. Sordillo L, 2013, Selenium-dependent regulation of oxidative stress and immunity in periparturient dairy cattle, *Veterinary Medicine International* 2013, 8.
18. Steinhoff L, Jung K, Meyerholz M, Heidekorn-Dettmer J, Hoedemaker M, Schmicke M, 2019, Thyroid hormone profiles and TSH evaluation during early pregnancy and the transition period in dairy cows, *Theriogenology*, 15, 129, 23-8.
19. Šamanc H, Stojić V, Danijela Kirovski D, Milijan Jovanović M, Cernescu H, Vujanac I, 2010, Thyroid Hormones Concentrations during the Mid-Dry Period: An Early Indicator of Fatty Liver in Holstein-Friesian Dairy Cows, *Journal of Thyroid Research*, Article ID 897602, 6 pages
20. Tsuchiya Y, Kawahara N, Kim YH, Toshihiro Ichijo T, Sato S, 2020, Changes in oxidative stress parameters in healthy and diseased Holstein cows during the transition period in Yamagata Prefecture, Japan, *J Vet Med Sci*, 82, 7, 955–61.

OXIDATIVE STRESS IN COWS IN THE PERIPARTAL PERIOD – CAUSE OR CONSEQUENCE OF METABOLIC DISORDERS

Svetlana Milanović, Olivera Valčić, Dragan Gvozdić, Ivan Jovanović

In intensive production, dairy cows are expected to make the most of their genetic potential and maximize milk yield. The biggest challenge in this regard is the periparturient period, which includes three weeks before and three weeks after parturition. In that interval major hormonal, metabolic and immune changes occur in the cow's body. Many metabolic disorders that are characteristic of this period are the result of an unbalanced diet and improper preparation of the individual to enter intensive lactation. Fatty liver, ketosis, dislocation of the abomasum, and puerperal paresis are the main disorders which are characteristic of this period, and oxidative stress can play a major role in their occurrence. In addition to these disorders, retained placenta and mastitis may also be related to oxidative stress. In this paper, we will analyze the data from our research and the available

literature, and try to explain the role of oxidative stress in the peripartal period, with special emphasis on the use of antioxidants in the prevention of the occurrence or consequences of metabolic disorders.

Key words: fatty liver, ketosis, oxidative stress, peripatal period

**Organizaciju XLIII simpozijuma za inovacije znanja veterinara,
finansijski su podržale sledeće organizacije i preduzeća:**

Pokrovitelj

Ministarstvo poljoprivrede šumarstva i vodoprivrede – Uprava za veterinu
uz podršku Veterinarske komore Srbije

Veliki sponzori:

Ave & Vetmedic
Aevum pet care
Kinološki savez Srbije
Veterinarski institut dr Vaso Butozan

Sponzori:

VSI Kraljevo
VSI Jagodina
Naučni institut za veterinarstvo Srbije
Institut za higijenu u tehnologiju mesa
Marlofarma
Promedia
Vivogen
VS Bujanovac
Veterinarski zavod Subotica
Hrana produkt
Superlab
VSI Šabac
Naučni institut za veterinarstvo Novi Sad
UVPS
VSI Niš
Krka Farma
Fishcorp 2000 feed
Evrolek
Zoolek
Biochem Balkan
VSI Subotica
VSI Sombor
VS Mladenovac
Naturavitalis
VSI Pančevo
VSI Zaječar
Lusa vet
Royal Vet
VSI Požarevac
Primavet

CIP - Каталогизација у публикацији - Народна библиотека Србије, Београд
636.09(082)

СЕМИНАР за иновације знања ветеринара (43 ; 2022 ; Београд)
Зборник предавања XLIII Seminara za inovacije znanja veterinara,
Београд, [25.02.2022.] / [urednik Dragan Gvozdić]. - Београд : Fakultet
veterinarske medicine, Centar za izdavačku delatnost i promet učila,
2022
(Београд : Научна КМД). - [7], 205 str. : ilustr. ; 24 cm

Na vrhu nasl. str.: Univerzitet u Beogradu. - Tiraž 450. - Str. [3]:
Predgovor / Milorad Mirilović, Danijela Kirovski. - Bibliografija uz
svaki rad. - Summeries. - Registar.

ISBN 978-86-80446-46-2

а) Ветерина - Зборници

COBISS.SR-ID 58357769