



UNIVERZITET U BEOGRADU
FAKULTET VETERINARSKЕ MEDICINE

14. Naučni simpozijum
REPRODUKCIJA ŽIVOTINJA
Zbornik predavanja



12 - 15. oktobar 2023.



**UNIVERZITET U BEOGRADU
FAKULTET VETERINARSKE MEDICINE**

14. Naučni simpozijum REPRODUKCIJA ŽIVOTINJA



Divčibare, 12-15. oktobar 2023.

14. NAUČNI SIMPOZIJUM „REPRODUKCIJA ŽIVOTINJA“
XIV SCIENTIFIC SYMPOSIUM „ANIMAL REPRODUCTION“
– Zbornik radova / *Proceedings* –
Divčibare, 12-15. oktobar, 2023.

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

Doc. dr Miloje Đurić

Sekretar / Secretary

Doc. dr Ljubodrag Stanišić

Organizacioni odbor / Organizing Committee

Prof. dr Slobodanka Vakanjac, Prof. dr Dragan Gvozdić, Prof. dr Dragan Šefer,
Dr sci. Željko Sladojević, Dr sci. Dragan Knežević, Dr sci. Miloš Petrović,
Prof. dr Janko Mrkun, Mr sci. Saša Bošković, Dr sci. Dobrila Jakić-Dimić,
Dr sci. Goran Jakovljević, Dr sci. Savo Lazić, Dr sci. Zoran Rašić,
Dr vet. med. spec. Bojan Blond, Dr vet. med. spec. Vladimir Čitaković,
Spec. dr vet. Tomislav Nikolovski, Dr vet. med. spec. Bojan Vojvodić,
Maja Gabrić, tehnički sekretar

Naučni odbor / Scientific Committee

Predsednik / Chairmen: Prof. dr Miloš Pavlović
Prof. dr Danijela Kirovski, Prof. dr Vladimir Magaš, Prof. dr Toni Dovenski,
Prof. dr Csaba Arpad Bajcsy, Prof. dr Opsomer Geert, Prof. dr Romel Valev

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

Grafička obrada / Prepress

Gordana Lazarević

Izdavač / Publisher

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

Štampa / Printing

Naučna KMD, Beograd, 2023.

Tiraž: 450 primeraka

ISBN 978-86-80446-66-0

SADRŽAJ

PLENARNI REFERATI	1
◆ Magaš Vladimir, Stanišić Ljubodrag, Pavlović Miloš, Vakanjac Slobodanka, Nestorović Ivan, Maletić Milan, Đurić Miloje: Primena elektrohemoterapije u patologiji reproduktivnih organa kod malih životinja	3
◆ Stanišić Ljubodrag, Magaš Vladimir, Pavlović Miloš, Maletić Milan, Nestorović Ivan, Đurić Miloje: Embriotransfer kod kobilica – praksa kod arapskih konja	13
◆ Maletić Milan, Blagojević Jovan, Vakanjac Slobodanka, Stanišić Ljubodrag, Magaš Vladimir, Đurić Miloje, Radinović Miodrag, Đorđević Milan: Uspešnost primene protokola resinhronizacije estrusa i ovulacije kod krava	21
◆ Zoltán Szelényi: Strategija selektivnog zasušenja krava	31
◆ Fratrić Natalija, Gvozdić Dragan: Mikrobiom kod zdravih goveda i poremećaji (disbioza) kod metritisa, endometritisa i mastitisa	37
◆ Atanasov Branko, Murdjeva Emilija, Nikolovski Martin, Mickov Ljupco, Ilievska Ksenija, Esmerov Igor, Dovenski Toni: Implementation of the Short Synch protocol to increase the conception rate in small-scale cow dairy farms	53
<i>Uvođenje Short Synch protokola sinhronizacije u cilju povećanja koncepcije na malim farmama mlečnih krava</i>	62
◆ Vučičević Miloš, Pešić Ana, Nestorović Ivan, Aničić Milan: Značaj ovariohisterektomije kunića	71
◆ Došenović Milan, Nestorović Ivan, Pešić Ana, Aničić Milan, Vučićević Miloš: Ovariohisterektomija afričkih patuljastih ježeva	79
◆ Aničić Milan, Marinković Darko: Patologija reproduktivnog sistema malih sisara	85
◆ Bačić Goran, Maćešić Nino, Lojkić Martina, Prvanović Babić Nikica, Efendić Maša, Butković Ivan, Šavorić Juraj: Distocije u reptila – prikaz kliničkih slučajeva	97
◆ Vakanjac Slobodanka, Stanišić Ljubodrag, Magaš Vladimir, Đurić Miloje, Arsić Sveta, Maletić Milan, Nedić Svetlana: Korelaciona povezanost sastava seminalne plazme nerastova sa pokretljivošću i kinetikom spermatozoida	105
◆ Šefer Dragan, Perić Dejan, Radulović Stamen, Grdović Svetlana, Marković Radmila: Prevenција metaboličkih bolesti visokoproizvodnih krava pravilnom strategijom ishrane u peripartalnom periodu	115
◆ Gačnikar Jernej, Mrkun Janko: IVF in cows – our experiences	127
<i>In vitro</i> fertilizacija (IVF) krava – naša iskustva	136

◆ Simeunović Predrag: Korišćenje određenih parametara kvaliteta mleka kao mogućih indikatora problema u reprodukciji krava	143
◆ Butković Ivan, Vince Silvijo, Grizelj Juraj, Bačić Goran, Getz Iva, Lojkić Martina, Prvanović Babić Nikica, Maćešić Nino, Karadjole Tugomir, Šavorić Juraj, Folnožić Ivan, Ivan Tomić, Klara Klašterka, Špoljarić Branimira: Neonatologija kod pasa – kad, šta i kako?	155
◆ Brozić Diana: Izazovi u prehrani kuje tijekom peripartalnog razdoblja	161
◆ Miličić Matić Natalija: Reproduktivni problemi vidljivi golim okom	167
KRATKA SAOPŠTENJA	173
◆ Ninković Milan, Zdravković Nemanja, Jezdimirović Nemanja, Žutić Jadranka, Bojkovski Jovan, Arsić Sveta: Hemolaktija kod mlečnih krava	175
◆ Barna Tomislav, Apić Jelena, Rodić Stevan, Galić Ivan: Kompjuterski ispitivan kvalitet svežeg nerastovskog semena i rezultati oprasivosti krmača nakon veštačkog osemenjavanja	177
◆ Obrenović Sonja, Laušević Dejan, Konstantinov Jelena, Živoslav Grgić, Vakanjac Slobodanka: Q groznica preživara – rizik za javno zdravlje	179
◆ Danijela Videnović: Mogući uticaj virusa SARS-CoV-2 na poremećaj reproduktivnog ciklusa kod kuje samojeda	187
INDEKS AUTORA	193
SPONZORI	195



KORELACIONA POVEZANOST SASTAVA SEMINALNE PLAZME NERASTOVA SA POKRETLJIVOŠĆU I KINETIKOM SPERMATOZOIDA

RELATIONSHIP OF BOARS SEMINAL PLASMA COMPOSITION WITH MOTILITY AND KINETICS OF SPERMATOZOA

Slobodanka Vakanjac¹, Ljubodrag Stanišić¹, Vladimir Magaš¹, Miloje Đurić¹,
Sveta Arsić², Milan Maletić¹, Svetlana Nedić¹

¹Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine, Katedra za porodiljstvo,
sterilitet i v.o., Beograd, R. Srbija

²Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine, Katedra za bolesti papkara,
Beograd, R. Srbija

Kratak sadržaj

Glavni cilj svih biotehnologija u reprodukciji je postizanje uspešnog graviditeta. Ejakulati nerastova koji se koriste za veštačko osemenjavanje krmača, obično se selektuju na osnovu parametara pokretljivosti koji se procenjuju upotrebom inovativnih tehnika kao što je kompjuterski asistirana analiza semena – CASA. Iako nove tehnike daju mnogo objektivnije i detaljnije analize pokretljivosti spermatozoida, povezanost dobijenih parametara u oceni kvaliteta semena sa in vivo fertilitetom još uvek je diskutabilna. Stoga, analiza komponenti seminalne plazme može biti od velikog kliničkog značaja u ispitivanju fertiliteta ili steriliteta nerastova, kao i ranom otkrivanju subfertilnih nerastova. Seminalna plazma je složena smeša egzokrinih sekreta testisa, epididimisa i akcesornih polnih žlezda mužjaka u kojoj se nalazi širok spektar različitih organskih i neorganskih komponenti. Ispitivanje biohemijskog sastava seminalne plazme od velikog je značaja jer može ukazati na normalnu ili promenjenu funkciju i/ili oštećenje spermatozoida.

Cilj rada bio je da se ispita povezanost pojedinih biohemijskih parametara i ukupnog antioksidativnog kapaciteta seminalne plazme sa parametrima pokretljivosti i kinetike spermatozoida, kao i mogućnost upotrebe nekog od parametara kao mogućeg biomarkera kvaliteta semena. U radu je kompjuterski asistiranom analizom semena (CASA) i citomorfološkim pregledom ispitan kvalitet, odnosno pokretljivost i kinetika spermatozoida od 39 nerastova. U seminalnoj plazmi ispitivane su koncentracije Ca, Na, K, Cl, P, Mg, laktata, ukupnih proteina, albumina, holesterola, aktivnost enzima alkalne-fosfataze, kreatin-kinaze i laktat-dehidrogenaze kao i ukupan antioksidativni kapacitet. Utvrđena je negativna korelacija procenta ukupno i progresivno pokretnih spermatozoida sa P, aktivnošću alkalne-fosfataze i pozitivna korelacija sa ukupnim holesterolom, aktivnošću enzima krea-

tin-kinaze i ukupnim antioksidativnim kapacitetom. Procenat brzih spermatozoida bio je u pozitivnoj korelaciji sa koncentracijom Cl, laktata i laktat-dehidrogenaze, i u negativnoj korelaciji sa P, Mg i aktivnošću alkalne-fosfataze. Utvrđena je negativna korelacija parametara kinetike spermatozoida: VCL, VAP, DCL, DAP, ALH, BCF i HAC i procenatualne zastupljenosti morfološki abnormalnih spermatozoida u semenu. Takođe, aktivnost enzima laktat-dehidrogenaze bila je u pozitivnoj korelaciji sa DCL i ALH. Rezultati ovog rada ukazuju na povezanost biohemijskog sastava seminalne plazme sa pokretljivošću i kinetikom spermatozoida. Određivanje aktivnosti laktat-dehidrogenaze bi se moglo preporučiti pri rutinskoj oceni kvaliteta semena nerastova.

Ključne reči: nerastovi, seminalna plazma, CASA, biohemijski sastav

Summary

The main goal of all biotechnologies in the field of reproduction is to achieve a successful pregnancy. Ejaculates from boars used for artificial insemination of sows are usually selected on the basis of motility parameters evaluated by innovative techniques such as computerized semen analysis (CASA). Although the new techniques allow a much more objective and detailed analysis of sperm motility, the correlation of the obtained parameters in the evaluation of semen quality with *in vivo* fertility is still controversial. Therefore, the analysis of seminal plasma components can be of great clinical importance for the study of boar fertility or sterility, as well as for the early detection of subfertile boars. Seminal plasma is a complex mixture of exocrine secretions from the testes, epididymis, and accessory glands of males, containing a variety of different organic and inorganic components. The study of the biochemical composition of seminal plasma is of great importance, as it may indicate normal or altered sperm function and/or damage of spermatozoa.

The aim of this work was to investigate the relationship between certain biochemical parameters and the total antioxidant capacity of seminal plasma with the parameters of sperm motility and kinetics, as well as the possibility of using one of the parameters as a possible biomarker of semen quality. In this work, the quality, *i.e.*, motility and kinetics of spermatozoa from 39 boars were studied by computerized semen analysis (CASA) and cytomorphological examination. In seminal plasma, concentrations of Ca, Na, K, Cl, P, Mg, lactate, total proteins, albumin, cholesterol, enzyme activity of alkaline phosphatase, creatine kinase, and lactate dehydrogenase, and total antioxidant capacity were studied. A negative correlation of the percentage of total and progressively motile spermatozoa with P, ALP activity and a positive correlation with total cholesterol, creatine kinase activity, and total antioxidant capacity were found. The percentage of fast spermatozoa was positively correlated with the concentration of Cl, lactate and lactate dehydrogenase, and negatively correlated with P, Mg and ALP. A negative correlation was found between the parameters of spermatozoa kinetics: VCL, VAP, DCL, DAP, ALH, BCF and HAC and the percentage of morphologically abnormal spermatozoa in

semen. Also, the activity of lactate dehydrogenase enzyme was positively correlated with DCL and ALH. The results of this work indicate the connection between the biochemical composition of the seminal plasma and the motility and kinetics of spermatozoa. The determination of lactate dehydrogenase activity could be recommended for the routine assessment of the quality of boar semen.

Key words: *boars, seminal plasma, CASA, biochemical composition*

UVOD

Glavni cilj svih biotehnologija u reprodukciji je postizanje uspešnog graviditeta, pri čemu veštačko osemenjavanje u savremenoj intenzivnoj proizvodnji svinja omogućava povećanje reproduktivne efikasnosti genetski superiornih nerastova. Ejakulati nerastova koji se koriste za veštačko osemenjavanje krmača, obično se selektuju na osnovu parametara pokretljivosti koji se procenjuju upotrebom kompjuterski asistirane analize semena – CASA. Ejakulat (sperma) se veoma često ekstremno razređuje da bi se dobilo što više doza za osemenjavanje, pri čemu razređivači koji se dodaju iako sadrže hranjive materije, ne mogu u potpunosti zaminiti seminalnu plazmu.

Seminalna plazma (SP) je složena smeša egzokrinih sekreta testisa, epididimisa i akcesornih polnih žlezda mužjaka, u kojoj se nalazi širok spektar različitih organskih i neorganskih komponenti koje su od velikog značaja za normalnu funkciju i preživljavanje spermatozoida. Ona ima značajnu ulogu u metabolizmu i funkciji spermatozoida, deluje kao njihov zaštitni faktor tokom prolaska kroz matericu, i što je veoma važno značajana je za pripremu materice za prijem embriona, njegov razvoj i implantaciju. Ispitivanje biohemijskog sastava SP od velikog je značaja jer može ukazati na normalnu ili promenjenu funkciju i/ili oštećenje spermatozoida, a tačna procena fertilizacionog potencijala može pomoći pri selekciji visoko fertilnih nerastova. Poznato je da su proteini, lipidi i ugljeni hidrati važni građivni sastojci spermatozoida, sastavni su deo seminalne plazme i imaju značajnu ulogu u metaboličkim procesima spermatozoida. Minerali u seminalnoj plazmi su neophodni za uspostavljanje i održavanje osmotske ravnoteže, za normalnu pokretljivost spermatozoida, i sastavni su delovi enzima koji u SP koji imaju različite funkcije.

Kod svinja, najveći procenat inseminacija izvrši se sveže razređenim semenom, koje se čuva 0 - 5 dana, na temperature od 15°C do 20°C. Uspešna reproduktivna eksploatacija nerastova podrazumeva dobijanje maksimalnog broja inseminacionih doza po ejakulatu, odnosno nerastu. Kako bi se postigao ovaj cilj neophodna je tačna procena fertilizacionog potencijala spermatozoida, i selekcija visoko fertilnih nerastova.

Poznato je da su spermatozoidi nerasta su veoma osetljivi na hladan šok usled svojih fizičko hemijskih karakteristika. Specifičnost lipida plazma membrane objašnjava ovaj fenomen. Bočni pokreti fosfolipida plazma membrane spermatozoida se smanjuju sa snižavanjem temperature, dovodeći do izdvajanja lipidne faze i ireverzibilnih promena membranskih proteina. Ove promene menjaju i funkcije

ju membrane spermatozoida i na taj način smanjuju preživljavanje spermatozoida. Spermatozoidi su veoma osetljivi na oksidativni stres (Li i sar., 2018). Čelijska membrana spermatozoida veoma je osetljiva na lipidnu peroksidaciju iniciranu nastankom i nagomilavanjem reaktivnih vrsta kiseonika (ROS) tokom metabolizma spermatozoida. Spermatozoidi su osetljivi na oksidativni stres zbog visokog sadržaja nezasićenih masnih kiselina u njihovoj membrani i relativno niskog antioksidativnog kapaciteta SP (Brezezinska-Slebozinska, 1995). Povišeni nivoi ROS su povezani sa vremenski-zavisnim smanjenjem pokretljivosti, viabilneta i integriteta plazma membrane spermatozoida tokom skladištenja.

Tokom ejakulacije spermatozoidi se spajaju sa seminalnom plazmom. Biohemijske komponente seminalne plazme su sekreti akcesornih polnih žlezda (*glandulae vesiculares*, *glandula prostatica* i *glandulae bulbourethrales*), testisa i epididimisa. Osnovna uloga seminalne plazme je da obezbedi tečni medijum za spermatozoide, kao i da ovim ćelijama obezbedi energetske materije (fruktoza, aromatični alkoholi, glicerilfosforilholin), elektrolite (mineralne materije), puferske sisteme (za održavanje pH), specifične proteine i druge bioaktivne supstance (hormone i fermente).

U sastavu seminalne plazme se nalaze i minerali (Na, K, Ca, Mg, Cl i drugi), energetski supstrati (fruktoza, sorbitol, glicerilfosfolona), organske komponente (proteini sa malom i velikom molekulskom masom, peptidi, aminokiseline, lipidi, limunska kiselina, hormoni, citokini). U seminalnoj plazmi se nalaze i amonijak, ureja, mokraćna kiselina, kreatinin, zatim askorbinska kiselina i hipotaurin (Rodriguez-Martinez i sar., 2011). Sve ove komponente seminalne plazme omogućavaju normalno preživljavanje i funkciju spermatozoida izvan mužskog reproduktivnog trakta, u ženskom reproduktivnom traktu ili *in vitro* (Rodriguez-Martinez i sar., 2011). Stoga, ispitivanje biohemijskog sastava seminalne plazme od velikog je značaja jer može ukazati na normalnu ili promenjenu funkciju i/ili oštećenje spermatozoida.

MATERIJAL I METODE

Uzimanje semena

U studiju je uključeno trideset devet nerastova, starosti od 1 do 3 godine, iz 3 različita centra za veštačko osemenjavanje. U svakom centru nerastovi su držani pod sličnim uslovima, u individualnim boksovima, hranjeni su komercijalnom hranom (2-3 kg hrane/dan), i napajani su vodom *ad libitum*. Puni ejakulati, bez gel frakcije uzimani su tehnikom dvostruke rukavice (Shiplej, 1999) u centrima za veštačko osemenjavanje. Pre bilo kakvog razređenja, 9 mL nativnog ejakulata nerastova je odvojeno u sterilne epruvete, za ocenu kvaliteta semena i kako bi se odvojila seminalna plazma za dalje analize. Ejakulat je čuvan na sobnoj temperaturi i transportovan u izotermalnom boksu (15-17 °C) do Fakulteta veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu, Srbija.

Ispitivanje kvaliteta semena nerastova

Različiti parametri pokretljivosti, kao i koncentracija spermatozoida su analizirani pomoću CASA sistema (Minitube, AndroVision, Tiefenbach, Nemačka). Pre analize poduzorak ejakulata je razređen u PBS (1:8) i zagrejan na 38 °C (Laboratory heating plate with integrated controller Minitube, Tiefenbach, Nemačka). Nakon zagrevanja 2,7 µL uzorka je nanošeno na Leja komorice (Leja, GN Nieuw Venneep, Holandija). Analizirano je 10 vidnih polja na fazno-kontrastnom mikroskopu (Motic BA310, Barselona, Španija) sa ugradnom grejnom pločom, a analiza parametara pokretljivosti izvršena je automatski pomoću AndroVision software. CASA sistemom su određivani sledeći parametri kvaliteta semena: broj spermatozoida, ukupna i progresivna pokretljivost spermatozoida, procenat brzih, sporih, nepokretnih spermatozoida kao i parametri kinetike spermatozoida: krivolinijska brzina (VCL), prosečna brzina (VAP), DCL, amplituda lateralnog otklona (ALH) i frekvencija prelaska prosečne putanje u sekundi (BCF).

Odvajanje seminalne plazme nerastova

Seminalna plazma je odvojena nakon duplog centrifugiranja na 1500 x g u trajanju od 10 min. Supernatant nakon drugog centrifugiranja je proveren mikroskopski kako bi bili sigurni da nema spermatozoida. Nakon centrifugiranja odvojena je seminalna plazma, koja je zamrzavana i čuvana na – 20°C do analiza.

Biohemijske analize seminalne plazme

Koncentracija mineralnih materija u semenoj plazmi: jonizovanog kalcijuma (iCa), natrijuma (Na), kalijuma (K), hlora (Cl), pH i laktata određena je na gasnom analajzeru State Profile Prime + Vet (Nova Biomedical Corporation, Waltham, USA), uz upotrebu originalnih mikro senzor kartica za navedene parametra od istog proizvođača. Koncentracija ukupnih proteina (TP), albumina, ukupnog holesterola (TC), fosfora (P), magnezijuma (Mg), kao i aktivnost enzima alkalne-fosfataze (ALP), aspartat-amino-transferaze (AST), kreatin-kinaze (CK) i laktat-dehidrogenaze (LDH) određena je na automatskom biohemijskom analajzeru BioSystems A15, (BioSystems, Barcelona, Spain) uz upotrebu originalnih reagenasa od istog proizvođača.

Statistička obrada podataka

Statistička obrada podataka izvršena je pomoću GraphPad Prism 8.00 statističkog softvera (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA). Stepen povezanosti ispitivanih parametara utvrđivan je Spearmanovim koeficijentom korelacije (r) i proverom statističke značajnosti koeficijenta korelacije (P < 0.05).

REZULTATI

Analiza korelacione povezanosti biohemijskih komponenti seminalne plazme i kvaliteta semena nerastova

Tabela 1. Korelaciona povezanost biohemijskih komponenti i kvaliteta semena nerastova (prezeto i modifikovano od Nedić i sar., 2023).

	UP	PP	Brzi	Spori	Nepokretni	Koncentracija
tCa	-0.2975	-0.3125	-0.4398	0.2531	0.2975	0.2291
iCa	0.0101	0.0715	0.5386*	-0.4953*	0.0100	0.0276
P	-0.7972***	-0.8170***	-0.7467**	0.3192	0.7972***	0.3535
Mg	-0.4004	-0.3557	-0.5410*	0.8704***	0.4004	0.1823
Na	-0.1271	-0.0203	0.0398	-0.0241	0.1271	-0.2305
K	-0.2125	-0.2509	0.2656	-0.5363*	0.2125	-0.2742
Cl	0.0185	0.0219	0.4784*	-0.4700*	-0.0185	-0.0698
TC	0.5022*	0.4959*	-0.2109	0.5884*	-0.5022*	0.6217*
Albumini	0.1459	0.1889	0.3100	-0.1763	-0.1459	-0.3891
Laktati	0.0079	0.0202	0.5114*	-0.5048*	-0.0079	0.1266
ALP	-0.9122***	-0.9032***	-0.8853***	0.5376*	0.9122***	0.6201*
CK	0.5592*	0.5438*	0.2621	0.05296	-0.5592*	0.3443
ALT	0.2729	0.3373	0.2771	-0.0079	-0.2729	0.4782*
AST	-0.1004	-0.1348	-0.1269	0.0835	-0.0114	-0.1348
LDH	0.2392	0.2612	0.5924*	-0.4715*	-0.2392	0.2931
CK	0.5592*	0.5438*	0.2621	0.05296	-0.5592*	0.3443
TAC	0.6693*	0.6682*	0.8711**	-0.4844	-0.6693*	-0.5777

UP: ukupna pokretljivost spermatozoida, PP: progresivna pokretljivost spermatozoida, tCa: ukupni kalcijum, iCa: jonizovani kalcijum, P: fosfor, Mg: magnezijum, Na: natrijum, K: kalijum, Cl: hlor, TC: ukupni holesterol, ALP: alkalna-fosfataza, CK: kreatin-kinaza, ALT: alanin-aminotransferaza, AST: aspartat-amino-transferaza, LDH: laktat-dehidrogenaza, TAC: ukupan antioksidativni kapacitet.

Značajna razlika: * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$, Spearman Rank korelacija.

U tabeli 1. su prikazane korelacione analize između biohemijskih i parametara kvaliteta semena nerastova.

Procenat brzih spermatozoida bio je u pozitivnoj korelaciji sa koncentracijom iCa, Cl, koncentracijom laktata i aktivnošću enzima LDH.

Uvrđena je negativna korelacija između procenta sporih spermatozoida i koncentracije spermatozoida sa koncentracijom iCa, Cl, laktata i aktivnošću LDH ($P < 0,05$).

Koncentracija P je bila u negativnoj korelaciji sa ukupnom i progresivnom pokretljivošću spermatozoida ($P < 0,001$), procentom brzih spermatozoida ($P < 0,01$) i u pozitivnoj korelaciji sa procentom nepokretnih spermatozoida ($P < 0,001$).

Koncentracija Mg bila je u negativnoj korelaciji sa procentom brzih spermatozoida ($P < 0,05$), i pozitivnoj korelaciji sa procentualnom zastupljenošću sporih spermatozoida u uzorku semena ($P < 0,001$), dok je koncentracija K bila u negativnoj korelaciji sa procentom sporih spermatozoida ($P < 0,05$).

pozitivna korelacija ($P < 0,05$) utvrđena je između holesterola i ukupne pokretljivosti, progresivne pokretljivosti i sporih spermatozoida, dok je negativna korelacija utvrđena sa procentom nepokretnih spermatozoida. Koncentracije spermatozoida bila je u pozitivnoj korelaciji sa ukupnim holesterolom ($P < 0,05$).

Aktivnost enzima ALP bila je negativnoj korelaciji ($P < 0,001$) sa ukupnom pokretljivošću spermatozoida, progresivnom pokretljivošću, procentom brzih spermatozoida, i u pozitivnoj korelaciji sa procentom nepokretnih spermatozoida ($P < 0,001$), procentom sporih spermatozoida ($P < 0,05$) i sa sa koncentracijom spermatozoida ($P < 0,05$).

Utvrđena je pozitivna korelacija ($P < 0,05$) između aktivnosti enzima CK i ukupne pokretljivosti, progresivne pokretljivosti.

Takođe utvrđena je i negativna korelacija sa procentom nepokretnih spermatozoida ($P < 0,05$).

Pozitivna korelacija je utvrđena između ukupne i progresivne pokretljivosti spermatozoida sa ukupnim antioksidativnim kapacitetom seminalne plazme ($P < 0,05$).

Analiza korelacione povezanosti biohemijskih komponenti seminalne plazme i parametara kinetike spermatozoida

Tabela 2. Korelaciona povezanost biohemijskih komponenti i parametara kinetike spermatozoida.

	VCL ($\mu\text{m/s}$)	VSL ($\mu\text{m/s}$)	VAP ($\mu\text{m/s}$)	DCL (μm)	DSL (μm)	ALH (μm)	BCF (Hz)
Morfologija	-0,6472**	-0,7291***	-0,729***	-0,6203**	-0,640**	-0,5347*	-0,5771**
pH	-0,1996	-0,08066	-0,08066	-0,2600	-0,1160	-0,3023	-0,1357
Albumini	-0,1486	-0,1683	-0,1630	-0,0974	-0,0994	-0,1502	0,0208
Holesterol	0,0316	0,2074	0,1361	0,1207	0,3103	-0,0456	0,4028
Laktati	0,4034	0,2669	0,2791	0,2534	0,1133	0,3555	0,1496
iCa	0,3000	0,0041	0,0702	0,3289	-0,0439	0,4612*	-0,0574
tCa	-0,0049	-0,0309	-0,0319	0,1229	0,0551	0,0680	0,0591
Mg	-0,0329	-0,0045	-0,0113	-0,0382	-0,0105	-0,0145	0,0171
K	0,0679	0,0564	0,0576	0,0444	0,0281	0,0809	-0,0131
Cl	0,4112	0,2981	0,3328	0,3147	0,1602	0,4279	0,03026
Na	0,02358	-0,07329	-0,06279	-0,03665	-0,1290	0,1118	-0,1487
ALT	0,3669	0,3423	0,3604	0,4877	0,4185	0,2739	0,5192
AST	-0,0224	-0,2597	-0,2353	-0,0083	-0,0083	0,1003	-0,1606
LDH	0,5299	0,2873	0,3430	0,4916*	0,2093	0,5723*	0,2496
CK	0,3106	0,1679	0,1822	0,3025	0,1477	0,3397	0,2881

U tabeli 2. su prikazane korelacione analize između biohemijskih parametara seminalne plazme i parametara kinetike spermatozoida.

Procenat morfološki abnormalnih spermatozoida bio je u negativnoj korelaciji sa VCL ($P < 0,01$), VSL i VAP ($P < 0,001$). Negativna korelacija ($P < 0,01$) procentualne zastupljenosti morfološki abnormalnih spermatozoida utvrđena je i sa DCL, DSL i Procenat morfološki abnormalnih spermatozoida bio je u negativnoj korelaciji i sa ALH ($P < 0,05$), BCF ($P < 0,01$) i HAC ($P < 0,05$). Koncentracija iCa bila je u pozitivnoj korelaciji sa ALH ($P < 0,05$). Aktivnost enzima LDH bila je u pozitivnoj korelaciji sa DCL i ALH na nivou statističke značajnosti $P < 0,05$.

DISKUSIJA

Ranije dijagnostikovanje nerastova sa smanjenom fertilnošću je jedan od prioritarnih ciljeva programa centara za veštačko osemenjavanje. Opšte je prihvaćeno da konvencionalne metode ocene kvaliteta semena daju samo grubu procenu potencijalnog fertiliteta nerastova. Zbog toga, veoma je važno ispitivanje sastava seminalne plazme kao potencijalnog izvora biomarkera koji bi pomogli u identifikovanju subfertilnih nerastova koji ostanu nedijagnostikovani pri ispitivanju semena konvencionalnim metodama.

U našem radu ispitivan je uticaj biohemijskog sastava kao i ukupan antioksidativni kapacitet seminalne plazme na kvalitetet semena nerastova. Utvrđen je pozitivan uticaj iCa na brzinu spermatozoida, što je potvrđeno pozitivnom korelacijom sa brzim spermatozoidima i ALH, kao i njegovom negativnom korelacijom sa sporim spermatozoidima. Naša istraživanja su u skladu sa ranijim studijama kod muškaraca sa hipomotilitetom spermatozoida kod kojih su utvrđene značajno niže koncentracije iCa iako nije bilo razlika u koncentraciji ukupnog Ca u SP u poređenju sa semenom sa normalnom pokretljivošću spermatozoida (Prien i sar., 1990).

Pozitivan uticaj jona Cl na brzinu spermatozoida u našem radu potvrđen je pozitivnom korelacijom ovog jona sa procentom brzih i negativnom korelacijom sa procentom sporih spermatozoida. Poznato je da joni Cl i povećanje cAMP indukuju kapacitaciju spermatozoida, povećavaju pokretljivost spermatozoida i aktivaciju proteolitičkih enzima neophodnih za njihovu penetraciju kroz membranu jajne ćelije (Modi i sar., 2007). Međutim, u našem radu nije potvrđen uticaj koncentracije ovog jona na parametre kinetike spermatozoida. Negativna korelacija jona K sa procentom sporih spermatozoida utvrđena u našem radu potvrđuje činjenicu da K pomaže u očuvanju pokretljivosti spermatozoida, što je u skladu sa nalazima Johnson i sar. (2000).

Negativan uticaj Mg na brzinu spermatozoida dokazan je jakim pozitivnom korelacijom sa procentom sporih spermatozoida i negativnom korelacijom sa procentom brzih spermatozoida, što je u skladu sa istraživanjima Pipan i sar. (2017) koji su utvrdili negativnu korelaciju između koncentracije Mg u seminalnoj plazmi nerastova i progresivne pokretljivosti spermatozoida kod ohlađenog semena nakon tri dana skladištenja.

U našem radu utvrđen je negativan uticaj povišene aktivnosti ALP i P u SP na parametre pokretljivosti spermatozoida. Ovaj enzim katalizuje hidrolizu fosfatnih grupa mnogobrojnih supstrata, ali uloga ALP u reproduktivnom traktu nije u potpunosti razjašnjena (Price i sar., 2009).

Aktivnost enzima CK u SP muškaraca povezana je sa kvalitetom semena, funkcionalnošću membrane spermatozoida i uključena je u različite metaboličke procese tokom maturacije (*Collodel i sar., 2019*). Ovaj enzim konvertuje ADP u ATP uz istovremenu hidrolizu fosfokreatinina do kreatinina i neophodan je za funkciju spermatozoida, što je u našem radu potvrđeno pozitivnom korelacijom CK sa ukupnom i progresivnom pokretljivošću spermatozoida.

Pozitivan uticaj LDH na kvalitet semena nerastova u našem radu potvrđen je pozitivnom korelacijom sa brzim spermatozoidima i negativnom korelacijom sa sporim spermatozoidima, kao i pozitivnom korelacijom sa parametrima kinetike spermatozoida (DCL i ALH). Laktat-dehidrogenaza ima značajnu ulogu u metaboličkim procesima koji obezbeđuju energiju za preživljavanje, pokretljivost i fertilizacioni potencijal spermatozoida i važan je indikator fertiliteta semena. Više aktivnosti LDH utvrđene su u semenu nerastova sa visokim procentom ukupno pokretnih spermatozoida (Sopkova i sar., 2015).

Ćelijska membrana spermatozoida veoma je osetljiva na lipidnu peroksidaciju iniciranu nastankom i nagomilavanjem reaktivnih vrsta kiseonika (ROS) tokom metabolizma spermatozoida, čije nagomilavanje sprečavaju supstance sa antioksidativnim svojstvima. Značajan uticaj ukupnog antioksidativnog kapaciteta u zaštiti spermatozoida u našem radu je potvrđen pozitivnom korelacijom sa ukupnom i progresivnom pokretljivošću spermatozoida.

ZAKLJUČAK

U našem radu utvrđen je uticaj biohemijskog sastava seminalne plazme na parametre pokretljivosti spermatozoida, dok je uticaj na parametre kinetike slabije izražen. Na parametre pokretljivosti spermatozoida pozitivan uticaj imaju više koncentracije iCa, Cl, laktata, aktivnost enzima LDH i ukupan antioksidativni kapacitet u seminalnoj plazmi, dok negativan uticaj imaju više koncentracije Mg, P i aktivnosti enzima ALP.

Napomena:

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

LITERATURA

1. Brezezinska-Slebodzinska E, Slebodzinski AB, Pietras B, Wieczorek G (1995) Antioxidant effect of vitamin E and glutathione on lipid peroxidation in boar semen plasma. *Biol Trace Elem Res* 47:69–74.
2. Collodel G, Nerucci F, Signorini C, Iacoponi F, Moretti E (2019) Associations between biochemical components of human semen with seminal conditions. *Syst Biol Reprod Med* 65:155-163.

14. Naučni simpozijum "Reprodukcija životinja"

3. Johnson LA, Weitz KF, Fiser P, Maxwell WMC (2000) Storage of boar semen. *Anim Reprod Sci* 62:143-72.
4. Li J, Barranco I, Tvarijonaviciute A, Molina MF, Martinez EA, Rodriguez-Martinez H, Parrilla I, Roca J (2018) Seminal plasma antioxidants are directly involved in boar sperm cryotolerance. *Theriogenology* 107:27-35.
5. Svetlana Nedić, Miloje Đurić, Slobodanka Vakanjac, Sveta Arsić, Sreten Nedić, Marko Samardžija, Sunčica Borozan. (2023). Relationship between biochemical parameters and paraoxonase 1 activity of boar seminal plasma and semen quality. *Veterinary Research Communication*. doi: 10.1007/s11259-022-10066-x.
6. Modi DN, Shah C, Puri CP (2007) Non-genomic membrane progesterone receptors on human spermatozoa. *Soc Reprod Fertil Suppl* 63:515-529.
7. Pipan MZ, Mrkun J, Strajn BJ, Vrtač KP, Kos J, Pišlar A, Zrimšek P (2017) The influence of macro- and microelements in seminal plasma on diluted boar sperm quality. *Acta Vet Scand* 59(1):11.
8. Price PA, Toroian D, Chan WS (2009) Tissue-nonspecific alkaline phosphatase is required for the calcification of collagen in serum: a possible mechanism for biomineralization. *J Biol Chem* 284:4594-4604.
9. Prien SD, Lox CD, Messer RH, DeLeon FD (1990) Seminal concentrations of total and ionized calcium from men with normal and decreased motility. *Fertil Steril* 54:171-172.
10. Rodríguez-Martínez H, Kvist U, Ernerudh J, Sanz L, Calvete JJ (2011) Seminal plasma proteins: what role do they play? *Am J Reprod Immunol* 66:11-22.
11. Sopková D, Andrejčaková Z, Vlčková R, Danisová O, Supuka P, Ondrasovicová S, Petrilla V (2015) Lactate dehydrogenase as a possible indicator of reproductive capacity of boars. *Indian J Anim Sci* 85:143-147.

Greenlab
Vet planet clinic
Mivaka
Primavet
Veterinarska stanica Zoolek
Provet
Toplek
Veterinarska stanica Đuravet
AJ Vet Veterinarska stanica Jazak
Profeed
Zovet
Turms
UVPS
Milexim pet food
Krka farma

CIP - Каталогизација у публикацији
Народна библиотека Србије, Београд

636.082(082)
619:612.664(082)

НАУЧНИ СИМПОЗИЈУМ РЕПРОДУКЦИЈА
ЖИВОТИЊА (14 ; 2023 ; ДИВЧИБАРЕ)

[Zbornik radova] / 14. Naučni simpozijum „Reprodukcija
životinja”, Divčibare

12-15. 2023. = [Proceedings] / XIV Scientific symposium “Reproduction of
animals” ; [organizatori Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u
Beogradu

... [et al.] ; [odgovorni urednik, editor in chief Dragan Gvozdić].

-Beograd :

Fakultet veterinarske medicine, Centar za izdavačku delatnost i promet
učila, 2023

(Beograd : Naučna KMD). - 194 str. : ilustr. ; 24 cm

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

Summaries. - Registar.

ISBN 978-86-80446-66-0

а) Домаће животиње -- Размножавање --
Зборници

COBISS.SR-ID 126863881