

**KONCENTRACIJA GLUKOZE I ACIDO-BAZNI STATUS KRVI
VISOKOMLEČNIH KRAVA U USLOVIMA
TOPLOTNOG STRESA*****GLUCOSE CONCENTRATION AND BLOOD ACID-BASIS STATUS IN
HIGH-YIELDING DAIRY COWS DURING HEAT STRESS****I. Vujanac, Danijela Kirovski, H. Šamanc, R. Prodanović, M. Adamović,
Marija Ignjatović****

Cilj ovog istraživanja je bio da se ispita uticaj toplotnog stresa na vrednosti glikemije i pH krvi kod visokomlečnih krava u ranoj fazi laktacije, kao i da se utvrdi da li su promene ovih parametara u takvim uslovima međusobno zavisne. Ogled je izveden na visokomlečnim kravama tokom leta i proleća. Odabrano je četrdeset krava, po dvadeset za oba perioda ispitivanja. Tokom ogleđa računati su satni toplotni indeksi (THI) za ceo period ispitivanja, a zatim i prosečan dnevni THI, noćnojutarnji THI (prosečna vrednost satnih THI izmerenih u periodu od 22^h prethodnog dana do 10^h ujutro tekućeg dana), kao i dnevno-večernji THI (prosečna vrednost satnih THI izmerenih u periodu od 10^h do 22^h tekućeg dana). U uzorcima krvi uzetim ujutru i posle podne 30, 60. i 90. dana laktacije tokom prolećnog i letnjeg perioda ispitivanja određivan je pH i koncentracija glukoze. Na osnovu rezultata za THI utvrđeno je da životinje u prolećnom periodu ispitivanja nisu bile izložene delovanju izrazitog toplotnog stresa, dok su tokom leta bile periodično izložene umerenom, ali i izrazitom toplotnom stresu, posebno u poslepodnevnim satima. Iz dobijenih rezultata za pH krvi se može zaključiti da su krave tokom leta bile u respiratornoj alkaloziji 30. dana u jutarnjim i popodnevnim, a 60. i 90. dana laktacije u popodnevnim satima, kao i 90. dana laktacije posle podne tokom prolećnog perioda ispitivanja. Tokom leta nije bilo statistički značajne razlike između pH vrednosti određene u jutarnjim i popodnevnim satima 30. dana laktacije, dok je 60. i 90. dana laktacije popodnevna vrednost za pH bila

* Rad primljen za štampu 11. 07. 2011. godine

** Dr sci. med. vet. Ivan Vujanac, asistent, dr sci. med. vet. Danijela Kirovski, profesor, dr sci. med. vet. Horea Šamanc, profesor, Radiša Prodanović, dr vet. med., asistent, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu; dr sci. Milan Adamović, naučni savetnik, Institut za tehnologiju nuklearnih i drugih mineralnih sirovina, Beograd; Marija Ignjatović, dr vet. med., doktorant, Institut za nuklearne nauke "Vinča", Beograd

značajno veća u odnosu na jutarnju. Nije bilo značajnih razlika između prosečnih vrednosti glikemija tokom prolećnog perioda ispitivanja. Tokom leta prosečne popodnevne vrednosti glikemija 60. i 90. dana laktacije bile su značajno niže u odnosu na jutarnje. Glikemije izmerene 90. dana bile su statistički značajno niže od glikemija 30. i 60. dana laktacije, kako jutarnje tako i poslepodnevne. Glikemija je 90. dana laktacije u letnjem periodu bila značajno niža u odnosu na glikemiju tokom proleća, kako u jutarnjim, tako i u popodnevnim satima. Tokom prolećnog perioda nije bilo značajne korelacije između glikemije i pH krvi, dok je tokom leta postojala negativna korelacija između elektrohemijske reakcije krvi i glikemije, a koja je bila značajna samo u popodnevnim satima. Smanjenje glikemije u popodnevnim satima 60. i 90. dana laktacije u letnjem periodu može se objasniti snažnim uticajem alkaloze na lučenje insulina, što dovodi do povećanog iskorišćavanja glukoze u perifernim tkivima, zbog čega se njena koncentracija u krvi tada značajno smanjuje. To je vid prestrojavanja metabolizma u uslovima toplotnog stresa kada organizam prevashodno koristi glukozu kao izvor energije u ćelijama jer se njenom oksidacijom oslobađa značajno manje toplotne energije u odnosu na sagorevanje drugih metabolita.

Ključne reči: glikemija, krave, pH krvi, toplotni stres

Uvod / Introduction

Stres predstavlja promenjeno stanje organizma koje nastaje pod snažnim uticajem faktora iz spoljašnje sredine koji svojim delovanjem narušavaju aktivnost homeostatskih mehanizama (Yousef, 1985). Poslednjih godina se, zbog globalnog zagrevanja, sve više izučava uticaj toplotnog stresa na proizvodnju, reprodukciju i zdravlje visokomlečnih krava. Toplotni stres kod visokomlečnih krava nastaje pod uticajem snažnog delovanja klimatskih činilaca, pre svega povišene temperature i relativne vlažnosti vazduha. U takvim uslovima u organizmu se pokreću mehanizmi prilagođavanja na svim nivoima, od supćelijskih do organskih, u cilju očuvanja stabilnosti unutrašnje sredine (homeostaza) u izmenjenim ambijentalnim uslovima (Shearer i Beede, 1990; Collier i sar., 2006). U slučaju otkazivanja adaptacionih sistema dolazi do poremećaja zdravlja i proizvodno-reproduktivnih funkcija životinja. Danas se zna da toplotni stres kod goveda, pogotovo kod krava u laktaciji, dovodi do smanjenja apetita, smanjenja proizvodnje mleka i poremećaja u reprodukciji (Baumgard i sar., 2006).

Najznačajnije promene u organizmu krave u uslovima toplotnog stresa su u metabolizmu elektrolita i acido-baznoj ravnoteži. Naime, poznato je da, u cilju odavanja viška toplotne energije, dolazi do ubrzanog disanja i povećanog

odavanja toplote isparavanjem sa sluzokože gornjih partija organa za disanje (Bianca, 1968). Ubrzano disanje dovodi do pojačanog odavanja ugljen-dioksida u spoljašnju sredinu, čime se smanjuje parcijalni pritisak ugljen-dioksida ($p\text{CO}_2$) u krvi. Posledica toga je povećanje pH krvi. U ranoj fazi toplotnog stresa, nakon kratkotrajnog povećanja pH vrednosti krvi, brzo se aktiviraju kompenzatorni mehanizmi koji su odgovorni za održavanje pH krvi u fiziološkim granicama. U uslovima izrazitog toplotnog stresa, kada visoka ambijentalna temperatura dovodi do porasta telesne temperature, dolazi do dahtanja, čime se uspostavlja drugačiji ritam disanja. Ugljen-dioksid se eliminiše brže nego što se proizvodi, čime se smanjuje $p\text{CO}_2$, a pH krvi raste. Smanjenje $p\text{CO}_2$ u krvi pokreće mehanizme koji umanjuju izlučivanje kiselih proizvoda putem bubrega, a istovremeno stimuliše proces kompenzatornog izlučivanja HCO_3^- urinom (Vander, 1975). Ranije su Dale i Brody (1954) utvrdili da je u tim uslovima kod krava afinitet krvi za vezivanje CO_2 smanjen. Opadanje afiniteta za vezivanje CO_2 dovodi do porasta pH vrednosti krvi. Stanje organizma koje se karakteriše padom $p\text{CO}_2$ i povećanjem elektrohemijske reakcije krvi naziva se respiratorna alkalozna. Ovo stanje se gotovo uvek može očekivati kod krava izloženih uticaju povišene ambijentalne temperature.

Toplotni stres takođe značajno menja homeostazu glukoze u krvi krava. Korišćenjem testa opterećenja glukozom ustanovljeno je bolje iskorišćavanje glukoze kod krava u uslovima toplotnog stresa, nego kod krava koje su boravile u optimalnim ambijentalnim uslovima (Wheelock i sar., 2006. i 2010). Autori pretpostavljaju da promene u metabolizmu glukoze nastaju na nivou perifernih tkiva (poprečno-prugaste muskulature i masnog tkiva) ili u jetri kao primarnom mestu sinteze glukoze kod preživara. Na osnovu toga može se zaključiti da je kod krava izloženih toplotnom stresu ulazak glukoze u ćelije u potpunosti očuvan, pa čak i pojačan.

Bigner i sar. (1997) su ukazali na mogućnost uticaja pH krvi na sekretornu aktivnost B-ćelija pankreasa kao i na stepen korišćenja glukoze u perifernim tkivima. Naime, oni su pokazali da acidoza krvi dovodi do smanjenja aktivnosti B-ćelija pankreasa, što se može kompenzovati alkalozom posle davanja natrijum bikarbonata.

Cilj ovog rada je bio da se ispita uticaj različite spoljašnje temperature na vrednosti glikemije i pH krvi kod visokomlečnih krava u ranoj fazi laktacije, kao i da se utvrdi da li su promene ovih parametara u takvim uslovima međusobno zavisne.

Materijal i metode rada / *Material and methods*

Ogled je izveden na visokomlečnim kravama holštajn-frizijske rase na farmi „Mladost“ u Jabučkom Ritu (PKB Korporacija), tokom leta u periodu od 20. juna do 12. septembra 2008. godine, i u proleće u periodu od 20. marta do 10. juna 2009. godine.

Metodom slobodnog izbora za ovaj eksperiment odabrano je četrdeset krava od druge do četvrte laktacije, po dvadeset za oba perioda ispitivanja. Sve životinje uključene u ogled bile su klinički zdrave, što je utvrđeno kliničkim pregledom i uvidom u podatke iz evidencije o zdravstvenom stanju životinja u prethodnim laktacijama. Odabrane životinje su bile u prvoj fazi proizvodno-reproduktivnog ciklusa, odnosno do stotog dana laktacije. Krave su hranjene potpuno izmešanim obrocima (TMR) dva puta dnevno. Seno lucerke u ograničenim količinama je davano kravama pre potpuno izmešanog obroka. Optimizacija obroka za ovu kategoriju životinja vršena je na osnovu dnevne količine proizvedenog mleka. Krave su bile smeštene na vezu u stajama otvorenog tipa.

Tokom izvođenja oglada svakog sata (24^h dnevno) su mereni temperatura i relativna vlažnost vazduha, kao i temperatura suvog i vlažnog termometra. Vrednosti su registrovane u automatskoj stanici Hidrometeorološkog zavoda Republike Srbije, udaljenoj oko 3 km vazdušnom linijom od farme na kojoj su vršena ispitivanja. Na osnovu prikupljenih podataka izračunati su satni toplotni indeksi (THI) za ceo period ispitivanja. Toplotni indeks je računat upotrebom formule $THI = (Tst + Tvt) \times 0,72 + 40,6$, gde je Tst – temperatura suvog termometra, Tvt – temperatura vlažnog termometra. Na osnovu dobijenih vrednosti obračunat je prosečan dnevni THI za svaki dan tokom izvođenja oglada. Takođe su prikazane vrednosti za noćnojutarnji THI koji je dobijen određivanjem prosečne vrednosti satnih THI izmerenih u periodu od 22^h prethodnog dana do 10^h ujutro tekućeg dana, kao i za dnevnovečernji THI, koji je dobijen određivanjem prosečne vrednosti satnih THI izmerenih u periodu od 10^h do 22^h tekućeg dana.

Uzorci krvi su uzimani punkcijom vene *jugularis* dva puta dnevno (u 8^h i 15^h) tokom prolećnog i letnjeg perioda ispitivanja i to 30, 60. i 90. dana laktacije, odnosno na početku, sredinom i na kraju sezone. Za određivanje pH krvi i koncentracije glukoze korišćena je puna krv neposredno nakon uzorkovanja, dok je za određivanje koncentracije glukoze korišćen i krvni serum. Krvni serum je dobijan centrifugiranjem krvi na 3000 obrtaja u minuti tokom petnaest minuta. Dobijeni serum čuvani su na -20°C.

Uranjanjem specijalne elektrode pH-metra (WTW 330i) u uzorak pune krvi određivana je pH vrednost.

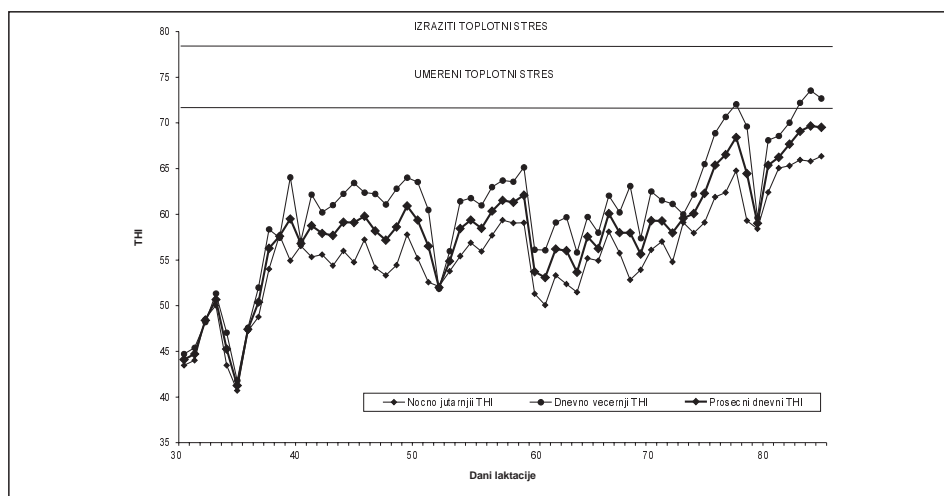
Za određivanje koncentracija glukoze u punoj krvi neposredno nakon uzorkovanja korišćena je enzimaska metoda (Xceed™ ABBOT laboratory). Za određivanje koncentracije glukoze u krvnom serumu krava korišćen je komercijalni enzimski kolor test, koji se zasniva na oksidaciji glukoze u glukonsku kiselinu pomoću enzima glukozo-oksidade. Intenzitet boje, koja je direktno proporcionalna koncentraciji glukoze u uzorku, meren je na spektrofotometru (Secomam CE, BP 106, France).

Rezultati ispitivanja su predstavljeni grafički i tabelarno, korišćenjem osnovnih parametara deskriptivne statistike. Stepem značajnosti razlika u srednjim vrednostima procenjen je Studentovim t-testom za stepen pouzdanosti od

95%, odnosno 99%, dok je stepen korelacije utvrđen Pirsonovim koeficijentom korelacije.

Rezultati / Results

Srednje vrednosti prosečnih dnevnih, kao i večernje-jutarnih i dnevno-večernjih THI tokom letnjeg i prolećnog perioda ispitivanja date su na grafikonima 1 i 2.

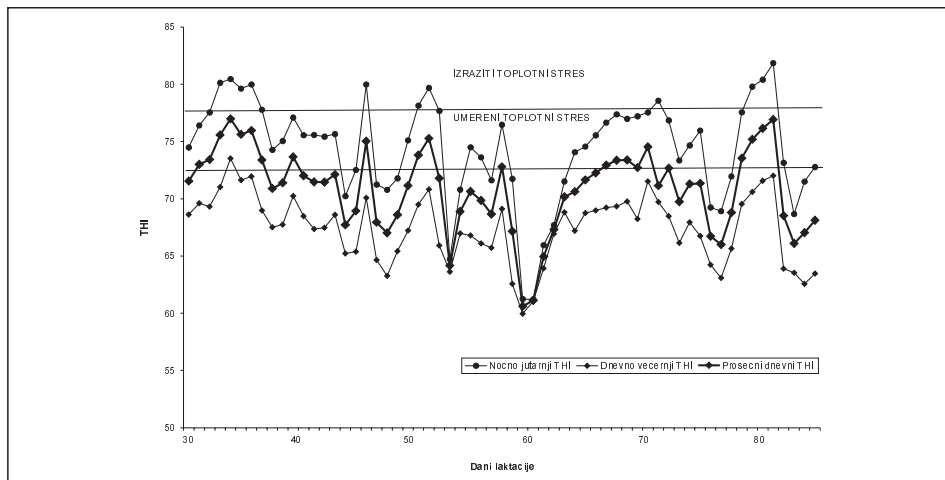


Grafikon 1. Vrednosti THI tokom prolećnog perioda ispitivanja
Graph 1. Values for THI during spring period of investigations

Izraziti toplotni stres – *Extreme heat stress*; Umereni toplotni stres – *Moderate heat stress*; Noćnojutarnji THI – *Nightmorning THI*; Dnevnovečernji THI – *Dailyevening THI*; Prosečni dnevni THI – *Average daily THI*; Dani laktacije – *Day of lactation*

Na grafikonu 1 se zapaža da u prolećnom periodu ispitivanja životinje nisu bile izložene delovanju toplotnog stresa. Prosečni večernjejutarnji THI kretao se u rasponu od 40,72 do 66,35, dok je prosečni dnevnovečernji THI bio od 41,81 do 73,54. Prosečni dnevni THI tokom prolećnog perioda ispitivanja kretao se od 42,64 do 69,75.

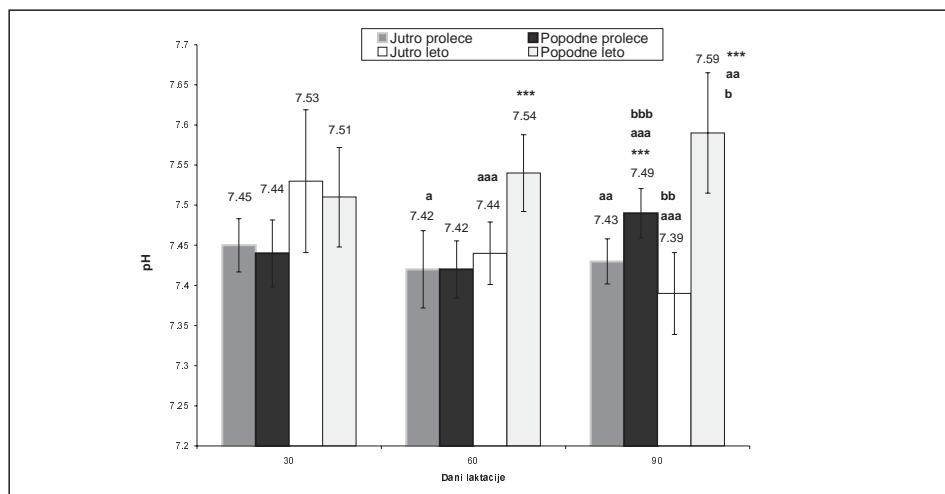
Na grafikonu 2 se zapaža da su životinje u letnjem periodu tokom popodnevniha časova bile izložene delovanju umerenog, a povremeno i izrazitog toplotnog stresa. Prosečni dvanaestočasovni večernjejutarnji THI za letnji deo oglada kretao se u rasponu od 61,03 do 72,01, dok je prosečni dnevnovečernji THI bio od 61,22 do 81,85. Prosečni dnevni THI tokom letnjeg perioda ispitivanja kretao se od 60,61 do 76,84. Na grafikonu se vidi da su tokom leta u periodu od 21. do 28. jula 2008. godine, odnosno od 61. do 67. dana laktacije, sve vrednosti THI bile niže od 72, odnosno, ogleadne životinje nisu ni u jednom delu dana bile izložene toplotnom stresu.



Grafikon 2. Vrednosti THI tokom letnjeg perioda ispitivanja

Graph 2. Values for THI during summer period of investigations

Izraziti toplotni stres – Extreme heat stress; Umereni toplotni stres – Moderate heat stress; Noćnojutarnji THI – Nightmorning THI; Dnevnovečernji THI – Dailyevening THI; Prosečni dnevni THI – Average daily THI; Dani laktacije – Day of lactation



Grafikon 3. Vrednosti elektrohemijske reakcije krvi tokom prolećnog i letnjeg perioda ispitivanja

Graph 3. Values for electrochemical reaction of blood during spring and summer investigation periods

*** $p < 0,001$ u odnosu na vrednost dobijenu u istoj sezoni i istom danu laktacije ujutru; ^{aaa} $p < 0,001$ u odnosu na vrednost određenu 30. dana laktacije u istom periodu dana i istoj sezoni; ^b $p < 0,05$ u odnosu na vrednost određenu 60. dana laktacije u istom periodu dana i istoj sezoni

^{***} $p < 0,001$ against the value determined during the same season and on the same day of lactation in the morning; ^{aaa} $p < 0,001$ against the value determined on day 30 of lactation during the same time of day and the same season; ^b $p < 0,05$ against the value determined on day 60 of lactation during the same time of day and the same season

Jutro-proleće / Morning-spring; Popodne-proleće / Afternoon-spring; Jutro-leto / Morning-summer; Popodne leto / Afternoon-summer; Dani laktacije – Day of lactation

Elektrohemijska reakcija krvi u prolećnom i letnjem periodu ispitivanja tokom prepodnevni i poslepodnevni časova prikazana je na grafikonu 3.

Na grafikonu se zapaža da su se prosečne vrednosti pH krvi izmerene u jutarnjim časovima tokom prolećnog perioda značajno smanjivale počevši od 30. dana laktacije. Naime, vrednosti izmerene 60. i 90. dana laktacije bile su značajno niže u odnosu na 30. dan ($p < 0,05$, odnosno $p < 0,01$, pojedinačno). Vrednost izmerena u popodnevnim časovima 90. dana laktacije tokom prolećnog perioda ispitivanja bila je značajno veća u odnosu na vrednosti izmerene 30. ($p < 0,001$) i 60. dana laktacije u popodnevnim časovima ($p < 0,001$), kao i značajno veća od vrednosti izmerene 90. dana laktacije u jutarnjim časovima ($p < 0,001$). Tokom letnjeg perioda ispitivanja pH krvi u jutarnjim satima se značajno smanjivala od 30. do 90. dana laktacije, dok je u popodnevnim satima rasla, pri čemu je porast 90. dana bio značajan u odnosu na 30. ($p < 0,01$) i 60. dan laktacije ($p < 0,05$). Na grafikonu se takođe zapaža da su u letnjem periodu prosečne pH vrednosti krvi u popodnevnim časovima bile veće nego u jutarnjim, sa izuzetkom 30. dana laktacije. Ta razlika je bila značajna 60. i 90. dana laktacije ($p < 0,001$, pojedinačno). Veoma je interesantno da se između jutarnje i popodneve vrednosti pH krvi povećava razlika kako odmiče leto i najveća je 90. dana laktacije. Utvrđena statistička značajnost razlika između prosečnih jutarnjih i popodnevni vrednosti pH krvi 60. i 90. dana laktacije je na nivou $p < 0,001$.

U tabeli 1 je prikazana statistička značajnost razlike između pH vrednosti određene tokom letnjeg i prolećnog perioda ispitivanja.

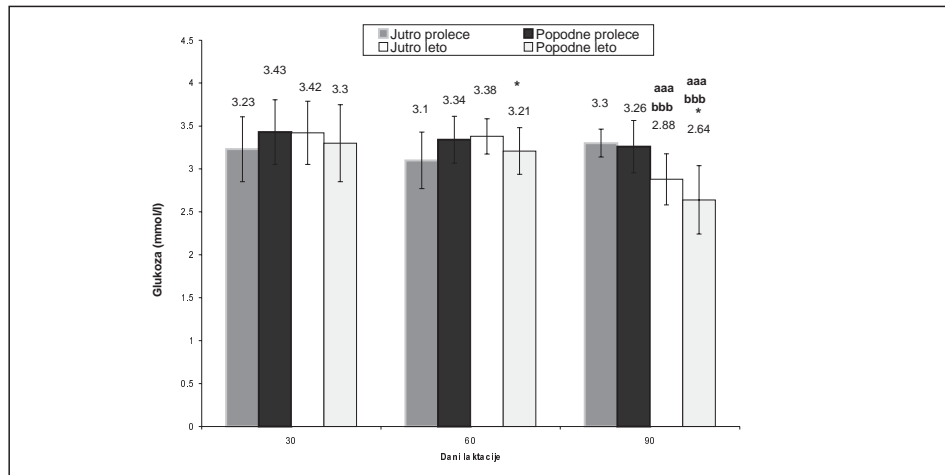
Tabela 1. Statistička značajnost razlike između pH krvi određene tokom letnjeg i prolećnog perioda /

Table 1. Statistical significance of differences between blood pH determined during summer and spring periods

30. dan pre podne / <i>Day 30 morning</i>	30. dan posle podne / <i>Day 30 afternoon</i>	60. dan pre podne / <i>Day 60 morning</i>	60. dan posle podne / <i>Day 60 afternoon</i>	90. dan pre podne / <i>Day 90 morning</i>	90. dan posle podne / <i>Day 90 afternoon</i>
$p < 0,01$	$p < 0,001$	NZ / NS	$p < 0,001$	$p < 0,05$	$p < 0,001$

Poređenjem vrednosti izmerenih u istim periodima laktacije i u istim periodima dana, ali različitim sezonama, utvrđeno je da je pH krvi 30. dana laktacije u prolećnom periodu bila značajno manja u odnosu na leto, i to, kako poređenjem vrednosti izmerenih u jutarnjim ($p < 0,01$), tako i vrednosti izmerenih u popodnevnim časovima ($p < 0,001$). Jutarnja vrednost pH krvi 60. dana laktacije u letnjem periodu se nije značajno razlikovala od jutarnje pH vrednosti prolećnog ogleada, dok je popodnevna pH vrednost krvi letnjeg ogleada bila značajno viša ($p < 0,001$) u odnosu na popodnevnu pH vrednost krvi prolećnog ogleada. Jutarnja vrednost pH krvi 90. dana laktacije u letnjem periodu bila je značajno niža ($p < 0,05$) od jutarnje vrednosti pH krvi u prolećnom ogleadu, a popodnevna vrednost pH krvi letnjeg ogleada bila je značajno viša ($p < 0,001$) u odnosu na popodnevnu vrednost pH krvi prolećnog ogleada.

Koncentracija glukoze u krvi krava u prolećnom i letnjem periodu ispitivanja tokom prepodnevni i poslepodnevni časova prikazana je na grafikonu 4.



Grafikon 4. Koncentracija glukoze u krvi tokom prolećnog i letnjeg perioda ispitivanja
Graph 4. Glucose concentration in blood during spring and summer investigation periods

*** $p < 0,001$ u odnosu na vrednost dobijenu u istoj sezoni i istom danu laktacije ujutru; ^{aaa} $p < 0,001$ u odnosu na vrednost određenu 30. dana laktacije u istom periodu dana i istoj sezoni; ^b $p < 0,05$ u odnosu na vrednost određenu 60. dana laktacije u istom periodu dana i istoj sezoni

*** $p < 0,001$ against the value determined in the same season and the same day of lactation in the morning; ^{aaa} $p < 0,001$ against the value determined on day 30 of lactation during the same time of day and the same season; ^b $p < 0,05$ against the value determined on day 60 of lactation during the same time of day and the same season

Jutro-proleće / Morning-spring; Popodne-proleće / Afternoon-spring; Jutro-leto / Morning-summer; Popodne leto / Afternoon-summer; Dani laktacije – Day of lactation

Na grafikonu 4 se zapaža da nije bilo značajnih razlika između prosečnih vrednosti glikemija tokom prolećnog perioda ispitivanja. Tokom leta prosečne popodnevne vrednosti glikemija 60. i 90. dana laktacije bile su značajno manje u odnosu na jutarnje ($p < 0,05$ za oba perioda ispitivanja). Glikemije izmerene 90. dana bile su statistički značajno manje od glikemija 30. i 60. dana laktacije, kako jutarnje ($p < 0,001$, pojedinačno), tako i vrednosti izmerene u popodnevni časovima ($p < 0,001$, pojedinačno).

U tabeli 2 je prikazana statistička značajnost razlike između koncentracija glukoze određenih tokom letnjeg i prolećnog perioda ispitivanja.

Poređenjem vrednosti izmerenih u istim periodima laktacije i u istim periodima dana, ali različitim sezonama, utvrđeno je da je glikemija 90. dana laktacije u letnjem periodu bila značajno manja u odnosu na glikemiju tokom proleća, kako u jutarnjim ($p < 0,001$), tako i u popodnevni satima ($p < 0,001$).

Tabela 2. Statistička značajnost razlike između koncentracija glukoze određenih tokom letnjeg i prolećnog perioda /

Table 2. Statistical significance of differences between glucose concentration values determined during summer and spring periods

30. dan pre podne / Day 30 morning	30. dan posle podne / Day 30 afternoon	60. dan pre podne / Day 60 morning	60. dan posle podne / Day 60 afternoon	90. dan pre podne / Day 90 morning	90. dan posle podne / Day 90 afternoon
NZ / NS	NZ / NS	NZ / NS	NZ / NS	p<0,001	p<0,001

U tabeli 3 dati su koeficijenti korelacije između pH vrednosti krvi i koncentracija glukoze u krvi tokom prolećnog perioda ispitivanja.

Tabela 3. Koeficijenti korelacije između pH vrednosti krvi i koncentracije glukoze u krvi tokom prolećnog perioda ispitivanja i stepen signifikantnosti svakog koeficijenta

Table 3. Degree of correlation between blood pH values and glucose concentration in blood during spring period of investigations

Period ispitivanja / Period of investigation	Koeficijent korelacije / Correlation coefficient	Stepen signifikantnosti / Degree of significance
30. dan prepodne / Day 30 morning	r = -0,105	NZ / NS
30. dan poslepodne / Day 30 morning	r = -0,200	NZ / NS
60. dan prepodne / Day 60 morning	r = + 0,154	NZ / NS
60. dan poslepodne / Day 60 afternoon	r = + 0,173	NZ / NS
90. dan prepodne / Day 90 morning	r = -0,109	NZ / NS
90. dan poslepodne / Day 90 afternoon	r = -0,379	NZ / NS

Iz tabele se zapaža da nije postojala značajna korelacija između elektrohemijske reakcije krvi i glikemije tokom prolećnog perioda ispitivanja.

U tabeli 4 dati su koeficijenti korelacije između pH vrednosti krvi i koncentracija glukoze u krvi tokom letnjeg perioda ispitivanja i stepen signifikantnosti svakog koeficijenta.

Iz tabele se zapaža da je tokom letnjeg perioda postojala negativna korelacija između elektrohemijske reakcije krvi i glikemije, a koja je bila značajna u popodnevrim satima.

Tabela 4. Koeficijent korelacije između pH vrednosti krvi i koncentracije glukoze u krvi tokom letnjeg perioda ispitivanja i stepen signifikantnosti svakog koeficijenta /

Table 4. Degree of correlation between blood pH value and glucose concentration in blood during summer period of investigations

Period ispitivanja / Period of investigation	Koeficijent korelacije / Correlation coefficient	Stepen signifikantnosti / Degree of significance
30. dan prepodne / Day 30 morning	$r = -0,368$	NZ / NS
30. dan poslepodne / Day 30 afternoon	$r = -0,496$	$p < 0,05$
60. dan prepodne / Day 60 morning	$r = -0,374$	NZ / NS
60. dan poslepodne / Day 60 afternoon	$r = -0,452$	$p < 0,05$
90. dan prepodne / Day 90 morning	$r = -0,430$	NZ / NS
90. dan poslepodne / Day 90 afternoon	$r = -0,601$	$p < 0,01$

Diskusija / Discussion

Respiratorna alkalozna je jedan od najvažnijih patofizioloških poremećaja, koji nastaje u uslovima toplotnog stresa. Rezultati istraživanja sprovedenih u kontrolisanim uslovima, u termičkim komorama, pokazali su da se pH krvi i urina povećavaju uporedo sa povećanjem temperature u komori (Schneider i sar., 1988). Nasuprot tome, pCO_2 i koncentracija HCO_3^- u krvi progresivno se smanjuju. Ove nalaze su kasnije potvrdili mnogi autori (Baumgard i sar., 2002; 2006; Roads i sar., 2009). Naime, kada se u organizmu visokomlečnih krava u laktaciji proizvodi više toplotne energije i kada je temperatura vazduha viša od $30^\circ C$, oko 15 % viška toplote se oslobađa direktno preko respiratornog trakta (McDowell i sar., 1976), a preostalih 85 % se odaje preko kože isparavanjem (Maia i sar., 2005). Autori smatraju da je povećanje frekvencije disanja jedan od načina odavanja viška toplote. Usled hiperventilacije veoma brzo se narušava kapacitet bikarbonatnog puferskog sistema krvi. Nastala respiratorna alkalozna kompenzuje se preko bubrega, pojačanim izlučivanjem HCO_3^- , ali istovremeno to predstavlja opasnost od nastanka metaboličke acidoze. Respiratorna alkalozna predstavlja samo prolazno stanje u kome se organizam nalazi, ali po svemu sudeći nije jedini poremećaj acido-baznog statusa u uslovima toplotnog stresa.

Rezultati ispitivanja u našem radu pokazali su da pH vrednost krvi manje varira u prolećnom nego u letnjem periodu ispitivanja, izuzev 90. dana laktacije u prolećnom periodu, kada je pH u popodnevnim satima značajno porasla u odnosu na jutarnju vrednost ($p < 0,001$). S druge strane, analizom vrednosti pH krvi u jutarnjim i popodnevnim časovima tokom leta, zapaža se da na početku leta

nije bilo značajne razlike između jutarnjih i večernjih vrednosti, dok je kasnije, kako je leto odmicalo, popodnevna vrednost pH bila značajno veća u odnosu na jutarnju ($p < 0,001$). Najveća numerička razlika između prosečne jutarnje i popodnevne vrednosti pH krvi ustanovljena je na kraju leta ($7,35 \pm 0,051$: $7,59 \pm 0,075$), odnosno 90. dana laktacije. Vrednosti pH određene na početku leta, kada su životinje bile izložene toplotnom stresu samo u popodnevnim časovima (THI = 68,61 u jutranjim, odnosno THI = 74,48 u popodnevnim satima), ukazuju na to da životinje nisu uspele da regulišu acido-baznu ravnotežu i održe pH krvi u fiziološkim granicama, tako da su se tokom celog dana nalazile u stanju respiratorne alkaloze (vrednosti pH su ujutru bile $7,53 \pm 0,089$, odnosno $7,51 \pm 0,062$ posle podne). Na sredini i na kraju leta u jutranjim satima, kada životinje nisu bile izložene toplotnom stresu (THI = 69,11 sredinom leta, odnosno THI = 63,47 na kraju leta), vrednosti pH krvi su se ustalile u granicama fizioloških vrednosti 60. dana laktacije ($7,44 \pm 0,039$), odnosno 90. dana laktacije ($7,39 \pm 0,031$). Nasuprot tome, u popodnevnim satima sredinom i na kraju leta kada su životinje bile izložene toplotnom stresu (THI = 76,46 sredinom leta, odnosno THI = 72,57 na kraju leta), zabeležen je najveći porast pH krvi (60. dana $7,54 \pm 0,048$, odnosno - 90. dana $7,59 \pm 0,075$). Vrednosti pH krvi izmerene posle podne sredinom i na kraju leta ukazuju na to da su se krave tada nalazile u stanju respiratorne alkaloze.

Dobijeni rezultati za pH krvi tokom letnjeg perioda ukazuju na to da se na početku leta, odnosno 30. dana laktacije, krave još uvek nisu adaptirale na uslove toplotnog stresa zbog čega nema brze reakcije regulatornih mehanizama odgovornih za uspostavljanje fiziološke pH krvi u uslovima toplotnog stresa. U takvim okolnostima pH vrednosti krvi tokom dana neznatno variraju i ukazuju na stanje respiratorne alkaloze. Kasnije, kako leto odmiče i životinje svakodnevno, ali samo u popodnevnim časovima, bivaju izložene toplotnom stresu, životinje se sve bolje prilagođavaju, tako da su vrednosti pH krvi u jutarnjim časovima skoro iste kao i u prolećnom delu ispitivanja.

Najnovija ispitivanja su pokazala da se metabolički profil krava koje su izložene toplotnom stresu bitno razlikuje od metaboličkog profila krava koje se drže u optimalnim ambijentalnim uslovima, naročito na početku laktacije, odnosno u uslovima negativnog bilansa energije (Wheelock i sar., 2006; Schwartz i sar., 2009; Roads i sar., 2009). Naime, kada su krave u stanju fiziološkog negativnog bilansa energije (NEB) kao na početku laktacije, dolazi do značajnog povećanja koncentracije viših masnih kiselina u krvi (Bauman i Currie 1980; Bell, 1995). Ovo povećanje, koje je posledica lipomobilizacije neophodne, da bi jedinka obezbedila ododatni izvor energije, istovremeno omogućava korišćenje glukoze prevashodno za sintezu laktoze mleka a ne kao izvor energije u perifernim tkivima (Bauman i Currie 1980; Bell, 1995). Kod krava u uslovima toplotnog stresa takođe nastaje negativan bilans energije, ali je kod njih koncentracija viših masnih kiselina u krvi niža nego kod jedinki koje nisu izložene toplotnom stresu (Rhoads i sar., 2009). Ovo ukazuje na to da toplotni stres direktno utiče na korišćenje prekursora za zadovoljavanje energetske potreba u uslovima NEB-a

kod krava. Naime, Baumgard i Rhoads (2007) su postavili hipotezu prema kojoj se visokomlečne krave prilagođavaju uslovima toplotnog stresa tako što se umesto β -oksidacije masnih kiselina intenzivira oksidacija glukoze, jer se u tom procesu oslobađa značajno manje toplotne energije.

Poznato je da kod krava u laktaciji, kada nastane deficit energije (usled nedovoljne konzumacije hrane), smanjuje se koncentracija insulina u krvi i osetljivost perifernih tkiva na njegovo delovanje (Bauman i Currie, 1980; Bauman, 1999). Insulinemija je veoma niska kod visokomlečnih krava u ranoj fazi laktacije, sve dok se ne uspostavi energetska ravnoteža. U tom periodu je najveća razlika između koncentracija somatotropnog hormona i insulina u krvnoj plazmi, što jasno pokazuje da su regulatorni mehanizmi podešeni tako da se omogući optimalno korišćenje energetske prekursora, masnih kiselina, iz telesnih depoa.

Wheelock i sar., (2006, 2010) su kod krava koje su bile izložene toplotnom stresu utvrdili da je koncentracija insulina u periodu NEB-a bila značajno veća u odnosu na krave držane u optimalnim ambijentalnim uslovima. Autori su pretpostavili da visoka insulinemija sprečava intenzivnu lipomobilizaciju na početku laktacije i tako ne dovodi do značajnog porasta koncentracije masnih kiselina u krvi krava koje su izložene toplotnom stresu. S obzirom na snažno antilipolitičko delovanje insulina, može se pretpostaviti da je povećanje njegove koncentracije u krvi način da se u uslovima toplotnog stresa kao izvor energije koristi glukoza, a ne masne kiseline (Wheelock i sar., 2010).

Bigner i sar. (1997) su ustanovili da pH krvi utiče na sekretornu aktivnost B-ćelija endokrinog pankreasa. Na osnovu toga se može pretpostaviti da respiratorna alkalozia, koja se javlja u popodnevnom periodu tokom letnjeg perioda, utiče na insulinemiju, a time i na koncentraciju glukoze u krvi. Naime, sredinom i na kraju letnjeg perioda kada su životinje bile izložene toplotnom stresu samo u popodnevnom satima ustanovljen je najveći porast pH krvi i značajan pad koncentracije glukoze u krvi kako u odnosu na vrednosti određene u prepodnevnom satima u istom danu ($p < 0,05$ sredinom i na kraju leta), tako i na vrednosti određene 30. dana laktacije ($p < 0,001$ na kraju leta). Takođe, glikemija izmerena na kraju leta u jutarnjim satima je bila značajno niža u odnosu na jutarnju vrednost određenu na početku leta ($p < 0,001$) odnosno sredinom leta ($p < 0,001$). To može jasno da ukaže na to da, kako su životinje duže izložene toplotnom stresu, glukoza se sve više koristi u perifernim tkivima za energetske potrebe organizma. Izostanak značajnog smanjenja koncentracije glukoze u krvi na početku leta može da ukaže na to da tada još uvek nije došlo do takvog prestrojavanja metabolizma kada krave izložene toplotnom stresu, odnosno respiratornoj alkaloziji, koriste prevashodno glukozu kao izvor energije. Ovo potvrđuje i činjenica da u u prolećnom periodu ispitivanja 90. dana laktacije poslepodne, kada je ustanovljeno značajno povećanje pH u odnosu na jutarnju vrednost istog dana ($p < 0,001$) odnosno vrednost određenu popodne 30. dana ($p < 0,001$) i 60. dana laktacije ($p < 0,001$), nije došlo do značajnog pada glikemije u odnosu na jutarnju vrednost određenu istog dana.

Zaključak / Conclusion

Tokom letnjeg perioda, pogotovo u popodnevnom časovima, kod visokomlečnih krava u uslovima toplotnog stresa nastaje respiratorna alkalozna. Povećanje vrednosti pH krvi kod krava u uslovima povišene spoljašnje temperature praćeno je smanjenjem glikemije, najverovatnije kao posledica stimulativnog uticaja alkalozne na funkciju B-ćelija endokrinog pankreasa. Povišena insulinemija ima za posledicu pojačano korišćenje glukoze za energetske potrebe organizma, jer se oksidacijom glukoze oslobađa mnogo manje toplotne energije nego kada se koriste drugi energetske izvori. Ovakvo energetske prestrukturiranje predstavlja jedan od bitnijih mehanizama adaptacije visokomlečnih krava na uslove toplotnog stresa.

NAPOMENA / ACKNOWLEDGEMENT:

Rad je finansiran iz sredstava Projekta Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj broj 31003 pod nazivom: „Razvoj proizvoda na bazi mineralnih i organskih sirovina u cilju proizvodnje bezbedne hrane, održivog razvoja i zaštite životne sredine“

Literatura / References

1. Bauman DE. Bovine somatotropin and lactation: From basic science to commercial application, *Domest Anim Endocrinology* 1999; 17: 101-16.
2. Bauman DE, Currie WB. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: A review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *J Dairy Sci* 1980; 63: 1514-29.
3. Baumgard LH, Rhoads RP. The effects of hyperthermia on nutrient partitioning. 69th Proc Cornell Nutr Conf, Cornell University, Ithaca, NY, 93-104, 2007.
4. Baumgard LH, Moore CE, Bauman DE. Potential application of conjugated linoleic acids in nutrient partitioning. Proc Southwest Nutr Conf 2002; 127-41.
5. Baumgard LH, Odens LJ, Kay JK, Rhoads RP, Van Baale MJ Collier RJ. Does negative energy balance (NEBAL) limit milk synthesis in early lactation? Proc Southwest Nutr Conf 2006; 181-87.
6. Bell AW. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *J Anim Sci* 1995; 73, 2804-19.
7. Bianca W. Thermoregulation, Adaptation of Domestic Animals, Hafez ESE, ed Lea and Febiger, Philadelphia, PA, 97-118, 1968.
8. Bigner DR, Goff JP, Faust MA, Burton JL, Tyler HD, Horst RL. Acidosis effects on insulin respons during glucose tolerance test in Jersey cows. *J Dairy Sci* 1996; 79: 2182-8.
9. Collier RJ, Dahl GE, VanBaale MJ. Major advances associated with environmental effects on dairy cattle. *J Dairy Sci* 2006; 89: 1244-53.
10. Dale HE, Brody S. Thermal stress and acid-base balance in dairy cattle. *Univ Missouri Agric Exp Stat Res Bull* 1954; 562.
11. Maia ASC, daSilva RG, Battiston Loureiro CM. Sensible and latent heat loss from the body surface of Holstein cows in a tropical environment. *International Journal of Biometeorology* 2005; 50, 17-22.

12. McDowell RE, Hooven NW, Camoens JK. Effects of climate on performance of Holsteins in first lactation. *J Dairy Sci* 1976; 59: 965-73.
13. Rhoads ML, Rhoads RP, VanBaale MJ, Collier RJ, Sanders SR, Weber WJ, Crooker BA, Baumgard LH. Effects of heat stress and plane of nutrition on lactating Holstein cows: I, Production, metabolism, and aspects of circulating somatotropin. *J Dairy Sci* 2009; 92: 1986-97.
14. Schneider PL, Beede DK, Wilcox CJ. Nycterohemeral patterns of acid-base status, mineral concentrations and digestive function of lactating cows in natural or chamber heat stress environments. *J Anim Sci* 1988; 66: 112-25.
15. Shearer JK, Beede DK. Thermoregulation and physiological responses of dairy cattle in hot weather. *Agri-Practice* 1990; 11: 5-17.
16. Shwartz G, Rhoads ML, VanBaale MJ, Rhoads RP, Baumgard LH. Effects of a supplemental yeast culture on heatstressed lactating Holstein cows. *J Dairy Sci* 2009; 92: 935-42.
17. Vander AJ. *Renal physiology*, McGraw-Hill, Inc, New York, NY Page 100, 1975.
18. Wheelock JB, Rhoads RP, VanBaale MJ, Sanders SR, Baumgard LH. Effects of heat stress on energetic metabolism in lactating Holstein cows. *J Dairy Sci* 2010; 93: 644-55.
19. Wheelock JB, Sanders SR, Shwartz G, Hernandez LL, Baker SH, McFadden JW, Odens LJ, Burgos R, Hartman SR, Johnson RM, Jones BE, Collier RJ, Rhoads RP, VanBaale MJ, Baumgard LH. Effects of heat stress and rbST on production parameters and glucose homeostasis. *J Dairy Sci* 2006; 89(Suppl.1): 290-1, Abstract.
20. Yousef MK. In: *Basic Principles, Stress Physiology in Effect of heat Livestock*. CRC Press. Boca Raton FL 1985; 1.

ENGLISH

GLUCOSE CONCENTRATION AND BLOOD ACID-BASIS STATUS IN HIGH-YIELDING DAIRY COWS DURING HEAT STRESS

I. Vujanac, Danijela Kirovski, H. Šamanc, R. Prodanović, M. Adamović, Marija Ignjatović

The objective of this work was to examine the effect of heat stress on glucose and pH values in blood of high-yielding dairy cows in the early stage of lactation, as well as to determine whether the changes in these parameters are interdependent under such conditions. An experiment was performed on high-yielding dairy cows during the summer and the spring periods. Forty cows were selected, twenty each for the two periods under investigation. In the course of the experiment, the temperature humidity index (THI) was determined for the entire period of investigations, and then also the average daily THI, night-morning THI (average value of hourly THI measured from 22^h on the previous day until 10^h of the current day), as well as the day-night THI (average value of hourly THI measured during the period from 10^h to 22^h of the current day). The pH and glucose concentration were determined in blood samples taken in the morning and afternoon of days 30, 60, and 90 of lactation during the spring and summer periods of the investigations. Based on the results for the THI, it was established that the animals were not exposed to the effect of extreme heat stress during the spring period of investigations, while they were periodically exposed

to moderate but also extreme heat stress during the summer, in particular in the afternoon hours. It can be concluded from the results obtained for the blood pH that the cows were in respiratory alkalosis during the summer in the morning and afternoon hours on day 30, in the afternoon hours of days 60 and 90 of lactation, as well as in the afternoon on day 90 of lactation during the spring period of investigations. During the summer period, there were no statistically significant differences between the pH value determined in the morning and afternoon hours on day 30 of lactation, while the pH value was significantly higher in the afternoon hours than in the morning hours on days 60 and 90 of lactation. There were no significant differences between the average values for glucose during the spring period of investigations. During the summer, the average afternoon values for glucose on days 60 and 90 of lactation were significantly lower against the morning values. Glucose concentration measured on day 90 was statistically significantly lower than those for days 30 and 60 of lactation, both in the morning and in the afternoon. Glucose concentration on day 90 of lactation during the summer period was significantly lower against glucose concentration during the spring, both in the morning and in the afternoon hours. During the spring period, there was no significant correlation between blood glucemia and pH, while there was a negative correlation between the electrochemical reaction of blood and glucemia during the summer, but which was significant only in the afternoon hours. The decrease in glucemia in the afternoon hours of days 60 and 90 of lactation during the summer period can be explained by the strong influence of alkalosis on insulin secretion that leads to the increased utilization of glucose in peripheral tissues, which is why its concentration in blood is significantly decreased at that time. This is a form of the metabolism shifting under conditions of heat stress, when it uses glucose predominantly as a source of energy in the cells, as its oxidation releases significantly less heat energy in comparison with the combustion of other metabolites.

Key words: cows, heat stress, glucemia, blood pH

РУССКИЙ

КОНЦЕНТРАЦИЯ ГЛЮКОЗЫ И АЦИДО-БАЗИСНЫЙ СТАТУС КРОВИ ВЫСОКОМОЛОЧНЫХ КОРОВ В УСЛОВИЯХ ТЕПЛОВОГО СТРЕССА

**И. Вуянац, Даниела Кировски, Х. Шаманц, Р. Проданович, М. Адамович,
Мария Игнатович**

Цель этой работы была испытать влияние теплового стресса на стоимости гликемии и *pH* крови у высокомолочных коров в ранней фазе лактации, словно и утвердить ли изменения этих параметров в таких условиях междусобно зависимые. Опыт выведен на высокомолочных коровах в течение лета и весны. Отобрано сорок коров, по двадцати за оба периода испытания. В течение выведения опыта рассчитываны "часовые" тепловые индексы (ЧТИ) за целый период испытания, а затем и средний дневной ЧТИ, ночью-утренний ЧТИ (средняя стоимость часовых ЧТИ, измеренных в периоде от 22 ч. предыдущего дня до 10 ч. утром текущего дня, словно и дневно-вечерний ЧТИ (средняя стоимость часовых ЧТИ, измеренных в периоде от 10 ч. до 22 ч. текущего дня). В образчиках крови, взятых утром и после полудня 30, 60 и 90 дней лактации в течение весеннего и летнего периода испытания определяван *pH* и концентрация глюкозы. На основе результата для ЧТИ ут-

верждено, что животные в весеннем периоде испытания не были подвергнуты воздействию выразительного теплового стресса, пока в течение лета были периодически подвергнуты умеренному, но и выразительному тепловому стрессу, отдельно в послеполуденных часах. Из полученных результатов за *pH* крови можно сделать вывод, что коровы в течение лета были в респираторном алкалозе 30 дней в утренних и послеполуденных, а 60 и 90 дней лактации в послеполуденных часах, словно и 90 дней лактации после полудня в течение весеннего периода испытания. В течение лета не было статистически значительной разницы между *pH* стоимостью, определенной в утренних и послеполуденных часах 30 дней лактации, пока 60 и 90 дней лактации послеполуденная стоимость за *pH* была значительно больше в отношении утренней. Не было значительных разниц между средними стоимостями гликемий в течение весеннего периода испытания. В течение лета средние послеполуденные стоимости гликемий 60 и 90 дней лактации были значительно ниже в отношении утренних. Гликемии, измеренные 90 дней были статистически значительно ниже гликемий 30 и 60 дней лактации, как утренней, так и после полуденной. Гликемия 90 дней лактации в летнем периоде была значительно ниже в отношении гликемии в течение весны, как в утренних, так и в послеполуденных часах. В течение весеннего периода не было значительной корреляции между гликемией и *pH* крови, пока в течение лета существовала отрицательная корреляция между электрохимической реакцией крови и гликемии, а которая была значительная только в послеполуденных часах. Уменьшение гликемии в послеполуденных часах 60 и 90 дней лактации в летнем периоде можно объяснить сильным влиянием алкалоза на излучение инсулина, приводящий до увеличенного использования глюкозы в периферических тканях, из-за чего её концентрация в крови тогда значительно уменьшается. Это видоизменение метаболизма в условиях теплового стресса, когда организм превосходно пользует глюкозу как источник энергии в клетках ибо её окислением освобождается значительно меньше тепловой энергии в отношении сгорания других метаболитов.

Ключевые слова: коровы, тепловой стресс, гликемия, *pH* коровы