

**UNIVERZITET U BEOGRADU**  
**FAKULTET VETERINARSKE MEDICINE**

**Julijana Trifković**

**ODREĐIVANJE PARAMETARA  
FIZIOLOŠKOG STATUSA NOVOROĐENE  
TELADI POREKLOM OD MAJKI  
IZLOŽENIH TOPLOTNOM STRESU  
TOKOM KASNOG GRAVIDITETA**

**-Doktorska disertacija-**

**Beograd, 2018**

**UNIVERSITY OF BELGRADE  
FACULTY OF VETERINARY MEDICINE**

**Julijana Trifković**

**DETERMINATION OF PHYSIOLOGICAL  
PARAMETERS OF NEWBORN CALVES  
ORIGINATED FROM DAMS EXPOSED TO  
HEAT STRESS DURING THE LATE  
GESTATION**

**-Doctoral Dissertation-**

**Belgrade, 2018**

## **Mentor**

---

Dr Danijela Kirovski, redovni profesor  
Fakultet veterinarske medicine Univerzitet u Beogradu

## **Članovi komisije:**

---

Dr Ivan Vujanac, vanredni profesor  
Fakultet veterinarske medicine Univerzitet u Beogradu

---

Dr Martina Klinkon, vanredni profesor  
Veterinarska fakulteta Univerze v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija

Datum odbrane: \_\_\_\_\_

Neizmjernu zahvalnost dugujem svojoj mentorki, dr Danijeli Kirovski, a prvenstveno na ukazanom poverenju da postanem njen doktorski kandidat. Strpljenje, razumevanje, požrtvovanost, dostupnost, profesionalnost, samo su neke od osobina koje poseduje kao mentor, a koje su me dovele do završetka doktorskih studija krunisanim ovom doktorskom disertacijom. Od 2014. godine, bila mi je ne samo mentor, nego i savetnik, kritičar i učitelj, ohrabrujući me i profilirajući me u mladog naučnika spremnog na celoživotno učenje, te učinila me spremnom za nove naučne izazove. Zbog njene intuitivnosti sam progledala naučnim očima, i sada sam na pragu sticanja titule doktora nauka, otvaranju vidika i novih životnih puteva. Najbitnije, bila je i ostala prijatelj koji je gledajući napisanu rečenicu umela da prepozna moje uspone i padove, koje sam uspešno prevazišla.

Riječi zahvalnosti želim da uputim Katedri za fiziologiju i biohemiju, naročito kolegi dr Ljubomiru Jovanoviću, na nesebičnoj i kolegijalnoj pomoći tokom celokupnih doktorskih studija.

Zahvalnost takođe dugujem kolegi dr Miloju Đuriću, na pomoći tokom izvođenja ogleđa na farmi.

Ovim putem se zahvaljujem i svojoj porodici, koja me uvek podržavala u svakoj mojoj odluci.

I na kraju, ali ništa manje važne, riječi zahvalnosti želim da uputim svojoj ljubavi, koji je izdržao sve moje psihičke izazove studiranja u drugoj državi, te bio moja pomoć i podrška, kao i moja desna ruka.

# **Određivanje parametara fiziološkog statusa novorođene teladi poreklom od majki izloženih toplotnom stresu tokom kasnog graviditeta**

## **REZIME**

Prema dosadašnjim literaturnim podacima, pretpostavlja se da toplotni stres u poslednjim nedeljama graviditeta može negativno da utiče na intrauterini razvoj ploda dovodeći do rađanja slabo vitalne teladi, kao i do slabijeg prepartalnog razvoja mlečne žlezde, što nepovoljno utiče na kvalitet kolostruma. Cilj ove doktorske disertacije bio je da se utvrdi da li izloženost majki tokom graviditeta toplotnom stresu ima negativan uticaj na vitalnost novorođene teladi kao i na sastav kolostruma, koji je osnovni izvor nutrijenata za novorođenu telad.

Ogled je izveden tokom sezone niskih (LAT sezona) i visokih temperatura vazduha (HAT sezona). Za ogled je odabrano 20 teladi holštajn rase. Prva grupa je obuhvatala 10 teladi poreklom od majki koje su period kasnog graviditeta iznele u LAT sezoni (LAT telad), dok je druga grupa obuhvatala 10 teladi poreklom od majki koje su bile izložene HAT sezoni tokom perioda kasnog graviditeta (HAT telad). Temperatura vazduha i relativna vlažnost vazduha, korištene za izračunavanje temperaturno-humidnog indeksa (THI), merene su svakog sata od strane Hidrometeorološkog zavoda Srbije.

Uzorci kolostruma (prvi, drugi i treći kolostrum) uzorkovani su od svake majke tokom HAT i LAT sezone neposredno pred hranjenje teladi. Krv od majki je uzorkovana punkcijom *v. jugularis* odmah nakon porođaja. Krv za određivanje koncentracije biohemijskih parametara, hormona, minerala i parametara oksidativnog stresa kod teladi uzorkovana je punkcijom *v. jugularis* odmah po rođenju, pre ingestije kolostruma (dan 0) i 1, 2, 3. i 7. dana života teleta.

Telad obe grupe podvrgnuta su intravenskom testu tolerancije glukoze (IVGTT) sedmog dana starosti. Uzorci krvi za određivanje koncentracija glukoze i insulina su uzeti naposredno pre početka infuzije glukoze (min 0), kao i 4, 8, 12, 18, 25, 35. i 60. minuta nakon početka infuzije glukoze.

Sastav i kvalitet kolostruma krava koje su bile izložene toplotnom stresu tokom kasnog graviditeta bio je značajno promenjen u smislu smanjenja koncentracije

najznačajnijih hemijskih komponenti, što je, zajedno sa odsustvom optimalne spoljašnje temperature za telad, izazvalo slabljenje fizioloških, metaboličkih i endokrinih performansi kod sedmodnevne teladi.

Tokom prvih sedam dana neonatalnog života, vrednosti koncentracija osnovnih biohemijskih parametara i hormona krvi kod teladi poreklom od majki koje su tokom visokog graviditeta bile izložene toplotnom stresu su se većinom značajno razlikovale u odnosu na telad poreklom od majki koje tokom graviditeta nisu bila izložena toplotnom stresu, ukazujući da toplotni stres svoje negativne efekte nastavlja i nakon rođenja, tokom prve nedelje života.

Kod teladi izloženih toplotnom stresu *in utero* i tokom prvih sedam dana postnatalnog perioda utvrđen je pojačan insulinski odgovor i smanjena insulinska osetljivost perifernih tkiva.

Mineralni status teladi poreklom od majki izloženih toplotnom stresu bio je kompromitovan tokom prvih sedam dana postnatalnog života ukazujući na nemogućnost homeostatskih mehanizama da se odupru toplotnom stresu tokom graviditeta ali i ranog postnatalnog života teladi.

Mineralni sastav kolostruma je značajno promenjen u uslovima kada su krave tokom visokog graviditeta bile izložene toplotnom stresu.

Hematološki parametri su takođe pokazali značajne razlike u vrednostima između grupa teladi. Nultog i sedmog dana postnatalnog života, HAT telad, u odnosu na LAT telad, su imala značno niže vrednosti hemoglobina, hematokrita, MCV i MCH, a značajno više vrednosti trombocita. Nultog i sedmog dana HAT grupa je, u odnosu na LAT grupu teladi, imala značajno viši broj i procenat eozinofila, kao i značajno viši broj i procenat bazofila. Procenat neutrofila, te broj i procenat monocita bio značajno niži kod HAT nego LAT teladi 0. i 7. dana postnatalnog života.

Prema dobijenim rezultatima, može se zaključiti da u području umereno kontinentalne klime tokom sezone visokih spoljašnjih temperature postoji opravdana opasnost negativnog uticaja toplotnog stresa na adaptivne sposobnosti novorođene teladi.

Ključne reči: toplotni stres, fiziološki status, kolostrum, novorođena telad

Naučna oblast: Veterinarska medicina

Uža naučna oblast: Fiziologija

UDK broj: 591.128:612.664:636.2.053

## **Determination of physiological parameters of newborn calves originated from dams exposed to heat stress during the late gestation**

### **SUMMARY**

According to the current literature data, it is assumed that heat stress during the late gestation might negatively affects intrauterine fetal development, thus causing the birth of weakened calves, as well as impaired prenatal mammary gland development, which negatively affects the quality of the colostrum. The aim of this dissertation was to examine whether the exposure of late gestation dams to heat stress has negative impact on the vitality of newborn calves, as well as on the composition of colostrum which is the main source of nutrients for newborn calves.

The experiment was conducted during the season of low (LAT season) and high air temperatures (HAT season). Twenty Holstein calves were assigned for the study. The first group included 10 calves from dams who had carried out their late gestation during the LAT season (LAT calves). The second group included 10 calves from dams exposed to HAT season during the late gestation (HAT calves). The air temperature and relative humidity, used for temperature-humidity index (THI) calculations, were measured every hour at the Republic Hydro-meteorological Service of Serbia.

Colostrum samples (primary, secondary and tertiary) were sampled from each dam during HAT and LAT season, immediately before calves' feeding. Blood samples from dams were obtained from *v. jugularis* puncture immediately after the parturition.

Blood used for determining of concentration of biochemical parameters, oxidative stress parameters, hormones and minerals was sampled from *v. jugularis* immediately after birth, before colostrum intake (day 0), and on days 1, 2, 3, and 7 of neonatal life.

Calves from both groups were subjected to the intravenous glucose tolerance test

(IVGTT) on the day 7 of age. Blood samples for determination of glucose and insulin levels were taken immediately before glucose infusion (min 0), as well as at minutes: 4, 8, 12, 18, 25, 35, 45, and 60 after the infusion.

The quality and composition of colostrum of late gestation cows exposed to heat stress was significantly changed in sense of reduced concentration of the most important chemical components which, together with the absence of optimal ambijental temperature for calves, resulted in weakening of physiological, metabolic and endocrine performance in seven days old calves.

During the first seven days of neonatal life, the values of biochemical parameters and blood hormones were significantly different in calves originating from dams who were exposed to heat stress during the late gestation, compared to calves originating from dams who were not exposed to heat stress during pregnancy, indicating that heat stress continues its negative effects even after birth, during the first week of life.

In the case of calves exposed to heat stress during intrauterine life, as well as during the first seven days of the postnatal period, an increased insulin response and decreased insulin sensitivity of peripheral tissues in calves were found.

The mineral status of calves originating from mothers exposed to heat stress was compromised during the first seven days of postnatal life, indicating the inability of homeostatic mechanisms to resist thermal stress during the gestation and early postnatal life of calves.

The mineral composition of the colostrum has significantly changed under conditions when cows were exposed to heat stress during late gestation.

Hematological parameters also showed significant differences between groups of calves. On the day of birth and seventh day of postnatal life, HAT calves, compared to LAT ones, had significantly lower hemoglobin, hematocrit, MCV, and MCH values, and significantly higher platelet counts. On the day of birth and the seventh day, the HAT group, compared to the LAT group, had a significantly higher number and percentage of eosinophils, as well as a significantly higher number and percentage of basophils. The percentage of neutrophils, and both the number and percentage of monocytes, were significantly lower in HAT than LAT calves on days 0 and 7 of postnatal life.



In line with the obtained results, it can be concluded that in the areas with moderate continental climate there is a justified risk of negative heat stress effects on the adaptive capability of newborn calves during the season of high external temperatures.

Key words: heat stress, physiological status, colostrum, newborn calves

Scientific area: Veterinary medicine

Specific scientific field: Physiology

UDK number: 591.128:612.664:636.2.053

# SADRŽAJ

<b>1. UVOD .....</b>	<b>15</b>
<b>2. PREGLED LITERATURE .....</b>	<b>17</b>
<b>2.1. ADAPTACIJA NOVOROĐENE TELADI NA EKSTRAUTERINE USLOVE ŽIVOTA.....</b>	<b>17</b>
2.1.1. Endokrina adaptacija novorođene teladi .....	18
2.1.1.1. Kortizol.....	18
2.1.1.2. Kateholamini .....	19
2.1.1.3. Insulin i glukagon .....	20
2.1.1.4. Tireoidni hormoni.....	20
2.1.1.5. Insulinu slični faktori rasta I i II .....	21
2.1.2. Metabolička adaptacija novorođene teladi .....	22
2.1.2.1. Adaptacija metabolizma organskih materija .....	22
2.1.2.2. Adaptacija metabolizma neorganskih materija.....	23
2.1.2.2.1. Makroelementi .....	24
2.1.2.2.2. Mikroelementi.....	26
2.1.3. Adaptacija imunskog sistema novorođene teladi .....	27
<b>2.2. UTICAJ ENDOKRINO I METABOLIČKOG STATUSA GRAVIDNE MAJKE NA FIZIOLOŠKI STATUS NOVOROĐENE TELADI .....</b>	<b>28</b>
<b>2.3. TOPLOTNI STRES.....</b>	<b>33</b>
2.3.1. Uticaj toplotnog stresa na goveda .....	34
2.3.2. Mehanizmi adaptacije goveda na toplotni stres .....	36
2.3.3. Metabolička i hormonalna adaptacija na visoke ambijentalne temperature .....	37
<b>3. CILJ I ZADACI ISTRAŽIVANJA.....</b>	<b>39</b>
<b>4. MATERIJAL I METODE RADA .....</b>	<b>41</b>
<b>4.1. ODREĐIVANJE KLIMATSKIH PARAMETARA.....</b>	<b>41</b>
<b>4.2. OGLEDNE ŽIVOTINJE.....</b>	<b>42</b>

<b>4.3. ODREĐIVANJE FIZIOLOŠKIH PARAMETARA TELADI.....</b>	<b>43</b>
<b>4.4. UZIMANJE UZORKA KOLOSTRUMA MAJKI I KRVI MAJKI I TELADI</b>	<b>44</b>
<b>4.5. ANALIZA HEMIJSKOG SASTAVA KOLOSTRUMA MAJKI.....</b>	<b>44</b>
<b>4.6. ODREĐIVANJE BIOHEMIJSKIH PARAMETARA, HORMONA I PARAMETARA OKSIDATIVNOG STRESA U KRVI TELADI .....</b>	<b>45</b>
<b>4.7. INTRAVENSKI TEST TOLERANCIJE GLUKOZE.....</b>	<b>46</b>
<b>4.8. PRERAČUNAVANJE KINETIKE INSULINA I GLUKOZE TOKOM IVGTT I RQUCKI.....</b>	<b>47</b>
<b>4.9. ODREĐIVANJE KONCENTRACIJA MAKRO- I MIKROELEMENATA U KOLOSTRUMU .....</b>	<b>48</b>
<b>5.0. ODREĐIVANJE KONCENTRACIJA MAKRO- I MIKROELEMENATA U KRVNOM SERUMU TELADI I KRAVA.....</b>	<b>48</b>
<b>5.1. HEMATOLOŠKI PARAMETRI.....</b>	<b>48</b>
5.1.1. Broj crvenih krvnih zrnaca i hematološki indikatori.....	48
5.1.2. Broj belih krvnih ćelija i diferencijalna krvna slika .....	48
<b>5.2. STATISTIČKE ANALIZE .....</b>	<b>49</b>
<b>6. REZULTATI.....</b>	<b>50</b>
<b>6.1. ODABRANI METEOROLOŠKI PARAMETRI.....</b>	<b>50</b>
6.1.1. Lat sezona.....	50
6.1.2. Hat sezona .....	51
<b>6.2. FIZIOLOŠKI PARAMETRI TELADI.....</b>	<b>52</b>
<b>6.3. HEMIJSKI SASTAV KOLOSTRUMA KRAVA.....</b>	<b>53</b>
<b>6.4. BIOHEMIJSKI PARAMETRI KRVI TELADI.....</b>	<b>54</b>
6.4.1. Glukoza .....	54
6.4.2. Imunoglobulini G .....	55
6.4.3. Proteini .....	56
6.4.4. Albumini.....	57
6.4.5. Bilirubin .....	58
6.4.6. Urea .....	59
<b>6.5. HORMONI U KRVI TELADI .....</b>	<b>60</b>

6.5.1. Insulin.....	60
6.5.2. Insulinu sličan faktor rasta i .....	61
6.5.3. Kortizol.....	62
6.5.4. Trijodtironin .....	63
6.5.5. Tiroksin .....	64
6.5.6. Leptin .....	65
<b>6.6. PARAMETRI OKSIDATIVNOG STRESA .....</b>	<b>65</b>
6.6.1. Glutation peroksidaza.....	65
<b>6.7. INTRAVENSKI TEST TOLERANCIJE GLUKOZE .....</b>	<b>66</b>
<b>6.8. MAKROMINERALI I MIKROELEMENTI .....</b>	<b>67</b>
6.8.1. Koncentracije makroelemenata i mikroelemenata u kolostrumu .....	67
6.8.2. Koncentracije makroelemenata i mikroelemenata u krvnom serumu majki .....	68
6.8.3. Koncentracije makroelemenata i mikroelemenata u krvnom serumu teladi .....	70
<b>6.9. HEMATOLOŠKI PARAMETRI.....</b>	<b>71</b>
6.9.1. Broj crvenih krvnih zrnaca i hematološki indikatori.....	71
6.9.2. BROJ BELIH KRVNIH ČELIJA I DIFERENCIJALNA KRVNA SLIKA.....	73
<b>7. DISKUSIJA.....</b>	<b>75</b>
<b>8. ZAKLJUČCI.....</b>	<b>91</b>
<b>9. LITERATURA.....</b>	<b>93</b>

# SPISAK SKRAĆENICA

$\Delta MAX_{insulin}$  - maksimalni porast insulina

*AA* - Amino acids (aminokiseline)

*ATP* - adenzin trifosfat

$AUC_{glukoza}$  - površina ispod krive koncentracije glukoze

$AUC_{insulin}$  - površina ispod krive koncentracije insulina

*DMI* - unos suve materije (dry matter intake)

*GH* - hormon rasta

*GSH-Px* - glutation peroksidaza

*HAT* - High air temperature season (sezona visokih temperatura vazduha)

*ICP-MS* - Inductively coupled plasma mass spectrometry (induktivna spregnuta masena spektrometrija )

*ICTP*- International Commission for Thermal Physiology (Međunarodna komisija za termalnu fiziologiju)

*IGF-I* - Insulin-Like Growth Factor-I (insulinu-sličan faktor rasta-I)

*IGF-II* - Insulin-Like Growth Factor-II (insulinu-sličan faktor rasta-II)

*IGFBP*- Insulin like growth factor binding proteins (vezujući proteini visokog afiniteta)

*IgG* - Immunoglobulin G (imunoglobulini klase G)

*IR* - insulinska rezistencija

*k* - stepen opadanja koncentracije glukoze tokom IVGTT testa

*LAT*- Low air temperature season (sezona niskih temperatura vazduha)

*MCH*- Mean corpuscular hemoglobin (srednji korpuskularni hemoglobin)

*MCHC*- Mean corpuscular hemoglobin concentration (srednja korpuskularna koncentracija hemoglobina)

*MCV* - Mean corpuscular volume (srednji korpuskularni volumen)

*MPV* - Mean platelet volume (srednji volumen trombocita)

*NEB* - negativni bilans energije (negative energy balance)

*NEFA* - Non-esterified fatty acids (neesterifikovane masne kiseline)

**PEPCK** - Phosphoenolpyruvate carboxykinase (enzim fosfoenolpiruvat karboksikinaza)

**Pik<sub>glukoza</sub>** - najviša vrednost koncentracije glukoze

**Pik<sub>insulina</sub>** - najviša vrednost koncentracije insulina

**PTH** - parat hormon

**RBC** - Red blood cell count (broj crvenih krvnih zrnaca)

**RH** - Relative humidity (relativna vlažnost vazduha),

**RIA** - Radioimmuno-Assay (radioimunoesej test)

**RID** - radioimunodifuzija

**ROS** - reactive oxygen species (reaktivni kiseonikovi radikali)

**RQUICKI** - Revised quantitative insulin sensitivity check index (indeks insulinske osetljivosti)

**SMBM** - suva materija bez masti

**SOD** - superoksid-dismutaza

**T<sub>0glukoza</sub>** - bazalna koncentracija glukoze

**T<sub>0insulin</sub>** - bazalna koncentracija insulina

**T<sub>1/2</sub>** - poluvreme eliminacije glukoze

**T<sub>3</sub>** - trijodtironin

**T<sub>4</sub>** - tiroksin

**Tdb** - Dry bulb temperature (temperature vazduha u farenhajtima, °F)

**THI** - Temperature-humidity index (temperaturno-humidni indeks)

**T<sub>lc</sub>** - Lower critical temperature

**TM** - telesna masa

**TMR** - Total mixed ration (miksirani obrok)

**TNZ** - termoneutralna zona

**TNZ** - Thermo neutrality zone (zona termičke neutralnosti)

**T<sub>uc</sub>** - Upper critical temperature

**UCPI** - Uncoupling protein 1

**WBC** - White blood cell count (broj belih krvnih ćelija)

**WMO** - World Meteorological Organization (Svetska meteorološka organizacija)

# 1. UVOD

Toplotni stres je kombinacija faktora životne sredine koji stvaraju temperaturne uslove koji su nepovoljni za životinju. Javlja se pri temperaturama višim od onih unutar termoneutralne zone. Termoneutralna zona (TNZ) obuhvata raspon spoljašnjih temperatura pri kojima su metaboličke aktivnosti jedinke svedene na minimum, a životinja može održavati fiziološku telesnu temperaturu uz minimalno oslobađanje metaboličke energije. TNZ je ograničena donjom i gornjom kritičnom temperaturom, čije vrednosti zavise od niza fizioloških i faktora okruženja. U tom smislu, vrednosti donje kritične temperature kreću se u rasponu 0-18 °C, a vrednosti gornje kritične temperature su oko 26°C.

Toplotni stres je poslednjih godina, sa porastom prosečnih vrednosti dnevnih temperatura tokom letnjeg perioda, postao jedan od glavnih problema na farmama visokomlečnih krava ne samo u tropskom već i u umereno kontinentalnom klimatskom pojasu. Iako na pojavu i razvoj toplotnog stresa utiče više faktora sredine, za procenu njegovog intenziteta se najviše koriste ambijentalna temperatura i relativna vlažnost vazduha, i to putem obračunavanja temperaturno-humidnog indeksa (THI- "temperature humidity index"). Toplotni stres se, prema dužini izloženosti životinje deli na akutni i hronični, prema vrednosti THI na blagi, umereni i izraziti, a prema kontinuitetu na kontinuirani i diskontinuirani. Vrednosti THI pri kojima se razvija blagi, umereni i izraziti toplotni stres variraju, zavisno od literaturnog izvora. Većina autora je saglasna da se izraziti toplotni stres javlja pri  $THI \geq 78$ , dok se znakovi umerenog toplotnog stresa javljaju pri  $THI \geq 72$ , a prema nekim autorima već pri  $THI \geq 68$ . Zbog klimatskih promena i porasta temperatura vazduha u područjima u kojima se ranije nije javljao toplotni stres, velika pažnja se počinje poklanjati upravo graničnim vrednostima za umereni toplotni stres.

Držanje krava u uslovima povišene ambijentalne temperature i/ili relativne vlažnosti vazduha, dovodi do smanjenja proizvodno-reproduktivnih sposobnosti krava, kao i učestalije pojave pojedinih metaboličkih oboljenja. To se naročito odnosi na krave koje su toplotnom stresu izložene u fazi laktacije. Međutim, rastući problem predstavlja izloženost visokogavidnih krava toplotnom stresu. Toplotni stres kod krava smanjuje unos hrane, uključujući unos organskih i mineralnih odnosno neorganskih materija, koji su neophodni

kako za majku, tako i za fetus. Istraživanja su pokazala da toplotni stres tokom kasnog graviditeta smanjuje dotok krvi ka materici, dovodeći do fetalne hipoksije i usporavanja rasta fetusa. Pretpostavlja se da u takvim uslovima fetus svoj fiziološki sistem prilagođava na način da podržava rad vitalnih organa na štetu normalnog rasta i razvoja, zbog čega toplotni stres može negativno uticati na vitalnost novorođene teladi. Takođe, toplotni stres kod gravidnih krava dovodi do slabijeg prepartalnog razvoja mlečne žlezde, kao i slabljenja imunskog statusa majke, što nepovoljno utiče na postnatalni transfer pasivnog imuniteta na novorođenu telad. Dokazano je da toplotni stres negativno utiče na kvalitet kolostruma, i da kompromituje snadbavanje tek rođene, agamaglobulinične teladi, imunoglobulinima. Time, takva telad postaju predisponirajuća za za oboljenja različite etiologije tokom ranog i kasnog postnatalnog perioda života. Međutim, broj istraživanja koji ispituju efekte toplotnog stresa tokom perioda kasnog graviditeta na celokupan sastav kolostruma mlečnih krava nije značajan.

Do unazad nekoliko godina, velika pažnja u literaturi bila je usmerena na nepovoljan efekat niskih ambijentalnih temperatura na novorođenu telad, upravo zbog mišljenja da su telad manje osetljiva na visoku temperaturu od odraslih jedinki. Novorođena telad jesu tolerantnija na visoke ambijentalne temperature u odnosu na odrasla goveda, s obzirom da je prema određenim autorima gornja kritična tačka TNZ kod teladi za 1°C viša od majčine. Međutim, toplotni stres kod novorođene teladi uglavnom treba izučavati kroz posledice izloženosti gravidne majke toplotnom stresu, a ne kao direktan uticaj visokih temperatura na samo novorođeno tele.

Cilj ovog istraživanja je bio da se utvrdi da li izloženost majki tokom graviditeta toplotnom stresu ima negativan uticaj na vitalnost novorođene teladi, kao i na sastav kolostruma, koji je osnovni izvor nutrijenata za novorođenu telad. Ukoliko se navedeno ustanovi, utvrdiće se protokol uzgoja visokogravidnih krava u uslovima toplotnog stresa, čime će se obezbediti, ne samo proizvodnja krava u skladu sa njihovim genetskim potencijalom, već i dobijanje zdrave i vitalne teladi.



## 2. PREGLED LITERATURE

### 2.1. ADAPTACIJA NOVOROĐENE TELADI NA EKSTRAUTERINE USLOVE ŽIVOTA

Jedan od izrazito kritičnih perioda u životu jedinke je prelazak iz intrauterine u ekstrauterinu sredinu, jer se tada dešavaju različite morfološke i fiziološke promene unutar organizma, a koje su neophodne za pravilnu adaptaciju jedinke na nove ambijentalne uslove. Prvih nekoliko dana ekstrauterinog života se naziva neonatalni ili adaptivni period života, koga karakteriše potpuno sazrevanje vitalnih organa, endokrinog i imunskog sistema, kao i metaboličkih puteva (Piccione i sar. 2010; Kirovski, 2015).

Tokom fetalnog razvoja, jedinka je putem krvne veze potpuno zavisna od majke, u pogledu snabdevenosti kiseonikom, hranljivim materijama, enzimima i hormonima. U trenutku presecanja pupčane vrpce, novorođeno tele se mora što pre prilagoditi životu *ex utero*, pre svega pravilnom adaptacijom kardiovaskularnog i respiratornog sistema, a što se smatra kritičnima za njegovo preživljavanje neposredno nakon rođenja (Batchelder i sar. 2007). Na taj način se postiže adekvatna snabdevenost kiseonikom, pravilna regulacija acido-bazne ravnoteže, uspostavljanje metaboličkih puteva, kao i očuvanje telesne temperature (Kasari, 1994). Održavanje telesne temperature u fiziološkim granicama je suštinski značajno za pravilno funkcionisanje homeotermnih životinja. Tokom ranog postnatalnog perioda, evaporacija amnionske tečnosti sa kože i evaporacija vode respiratornim putem može biti izraženija nego što je intenzitet stvaranja toplote kod teleta. Toplota se kod novorođenog preživara stvara pretežno drhtanjem skeletnih mišića (približno 60%), ali i termogenezom koja nije posledica drhtanja (približno 40%), a koju obezbeđuje smeđe masno tkivo. Tele se rađa sa izvesnom količinom mišićnog glikogena, koji predstavlja kratkotrajni depo energije za novorođenče. Ukoliko se sva deponovana energija utroši za stvaranje toplote, a ne obnovi se, tele veoma brzo ulazi u deficit energije. Takođe, gubitak toplote evaporacijom ili kondukcijom preko vlažnog dlačnog pokrivača, može značajno otežati održavanje balansirano energetskog statusa novorođenčeta. Stoga je kolostrum, prva i jedina hrana novorođenčeta, ključni izvor energije koja je potreban da bi

se oslobodila toplotna energija pri metaboličkim procesima, a koja doprinosi pravilnom uspostavljanju termogeneze (Brumbaugh, 2003).

### **2.1.1. Endokrina adaptacija novorođene teladi**

Hormoni koji su najznačajniji za pravilnu adaptaciju novorođenčadi na ekstrauterine uslove života su kortizol, kateholamini, insulin, glukagon, tireoidni hormoni i insulinu slični faktori rasta I i II (IGF-I i II) (Kirovski, 2015).

#### **2.1.1.1. Kortizol**

Tokom fetalnog perioda, glukokortikoidi imaju veoma značajnu ulogu u aktivaciji velikog broja enzima, koji su značajni za preživljavanje jedinke nakon rođenja (Liggins, 1994).

Tokom graviditeta, majke se nalaze u stanju fiziološke hiperkortizolemije, što olakšava snabdevanje fetusa hranljivim materijama. Međutim, zbog delovanja placentarne 11b-hidroksisteroid-dehidrogenaze-2, koja prevodi kortizol u kortizon, samo oko 2% majčinog kortizola pređe u fetus. Sa približavanjem porođaja, hipotalamo-pituitarno-adrenalna osovina fetusa sazreva, što izaziva povećanje mase nadbubrežnih žlezda, a samim tim i porast koncentracije kortizola u samom fetusu (Antolic i sar. 2015). Poslednjih tri do pet dana fetalnog razvoja, koncentracija kortizola je najviša, što je ključno za sazrevanje pluća i gastrointestinalnog trakta fetusa. Iako kratkoročno izlaganje majke stresu tokom porođaja ima pozitivne efekte na zdravlje novorođenčeta (Kirovski, 2015), Antolic i saradnici (2015) su ustanovili da višak koncentracije kortizola u krvotoku majke tokom kasnog graviditeta menja regulaciju sekrecije insulina i glukagona, kao i sazrevanje organa kod novorođene jagnjadi, ukazujući na opasnost od negativnog efekta dužeg izlaganja fetusa povišenim koncentracijama kortizola majke.

Nakon inicijalnog povišenja koncentracije kortizola u momentu rođenja teleta, koncentracija kortizola opada tokom narednih 12 sati neonatalnog života, u slučaju kada se telad ne napajaju kolostrumom. Iako je 60% kortizola u kolostrumu vezano za proteine i

tako nedostupno za novorođenče, kolostrum ipak obezbeđuje dodatnu količinu kortizola za novorođenče koja omogućava održavanje koncentracije kortizola kod novorođenčeta u fiziološkim granicama (Kirovski, 2015).

Kortizol je kod novorođenčadi značajan i za održavanje temperature tela, jer je kod fetusa ovaca utvrđeno da utiče na regulaciju koncentracije UCP1 (“uncoupling protein 1”) u smeđem masnom tkivu (Mostyn i sar. 2001). Pored toga, dokazano je da kortizol učestvuje u aktivaciji gena odgovornih za pravilnu adaptaciju na stres (Antolic i sar. 2015).

### **2.1.1.2. Kateholamini**

Akt rođenja predstavlja stres za novorođenče jer je fetus izložen jakim kontrakcijama koji ga istiskuju kroz porođajni kanal u hladno ekstrauterino okruženje. Takođe, izlazak iz intrauterine sredine, između ostalog, izaziva i nagli prekid snabdevanja fetusa kiseonikom i glukozom što dovodi do naglog oslobađanja kateholamina iz nadbubrežnih žlezda fetusa (Lagercrantz i Bistoletti, 1977; Ronca i sar. 2006). Ovaj porast koncentracije kateholamina suprimira lučenje insulina, izazva porast koncentracije glukagona u plazmi i time pojačava razgradnju glikogena, kao osnovnog energetskeg izvora fetusa u trenutku rođenja. Nakon prvobitnog pika, u prvih 30 min postnatalnog perioda dolazi do brzog sniženja koncentracije kateholamina u krvnoj plazmi, da bi drugog sata posle rođenja usledilo ponovno povišenje koncentracija ovh hormona. Postnatalni pik u koncentraciji kateholamina je prvenstveno odgovoran za adaptaciju energetskeg metabolizma, za povišenje krvnog pritiska po rođenju, kao i za inicijaciju termogeneze iz smeđeg masnog tkiva (Kirovski, 2015). Ispitivanja vršena na fetusima ovaca, pokazala su značaj povišenih koncentracija kateholamina u fiziološkoj adaptaciji novorođenčadi. Naime, Padbury i saradnici (1987) su ustanovili da su adrenalektomisani fetusi, u odnosu na kontrolne, imali značajno nižu plućnu komplijansu, plućnu funkciju i veličinu surfaktantnog pula, kao i smanjene koncentracije glukoze i neesterifikovanih masnih kiselina (NEFA- “nonesterified fatty acids”). Smanjenja količina surfaktanta kod adrenalektomisanih fetusa, bila je posledica adrenergičke kontrole lučenja surfaktanta (Padbury i sar. 1987).

### **2.1.1.3. Insulin i glukagon**

Insulin i glukagon su neophodni za normalan razvoj fetusa preživara (Blum i Hammon, 1999), ali i za adekvatno prilagođavanje ekstrauterinom okruženju (Kirovski, 2015). Kod fetusa ovaca ova dva hormona se mogu utvrditi između 40. i 50. dana graviditeta, pri čemu su oni fetalnog porekla, jer ne postoje dokazi o placentarnom prolasku insulina i glukagona (Kirovski, 2015). U trenutku rođenja koncentracija insulina u krvnoj plazmi je veoma visoka, a zatim brzo opada, da bi najniži nivo dosegla između 1. i 2. sata postnatalnog života (Kirovski, 2015), a što je posledica prekida dotoka glukoze od majke (Burrin i Mersmann, 2005). S druge strane, koncentracija glukagona raste posle rođenja, kao posledica adrenergične stimulacije izazvane stresom, i doseže pik 30 minuta nakon rođenja. Ovakve promene u koncentraciji insulina i glukagona stimulišu kataboličke procese u ranom postnatalnom periodu koji dovode do mobilizacije glikogena, počevši od drugog sata postnatalnog života (Kirovski, 2015). Istovremeno sa tim, povećanje broja glukagonskih receptora tokom ranog postnatalnog života podstiče glukoneogenezu (Burrin i Mersmann, 2005).

Unos kolostruma izaziva postprandijalno oslobađanje insulina iz pankreasnih ćelija novorođenčeta. Smatra se da resorbovani insulin iz kolostruma može nadoknaditi insuficijentnu sekreciju insulina, jer mehanizam lučenja insulina kod novorođenčadi nije u potpunosti sazreo. Tek sedmog dana postnatalnog života u potpunosti sazreva insulinska osovina.

### **2.1.1.4. Tireoidni hormoni**

Tireoidni hormoni su veoma značajni u procesima neonatalne adaptacije novorođenčadi, s obzirom na njihovu ulogu u energetsom metabolizmu, termogenezi i telesnom rastu (Peric i sar. 2013).

Tokom kasnog graviditeta, uporedo sa povećanjem koncentracije kortizola, sazreva i tireoidna osovina fetusa. U trenutku rođenja, koncentracija tireoidnih hormona je visoka i povećava se tokom prvih sati života, usled pika kortizola koji stimuliše sazrevanje tireoidne osovine i povećava lučenje tireostimulirajućeg hormona. Visoka koncentracija tireoidnih hormona u trenutku rođenja povećava proizvodnju toplote i reguliše termogenezu

(Kirovski, 2015). Stojić i saradnici (2002) su ustanovili smanjenje koncentracije tireoidnih hormona kod sedmodnevne teladi, u odnosu na koncentracije utvrđene odmah po rođenju, ukazujući na njihov termogenetski značaj u ranom neonatalnom periodu. Takođe, istakli su i mogućnost postojanja lako dostupnih rezervi tireoidnih hormona za zahteve metabolizma u kritičnim satima nakon rođenja. Peric i saradnici (2013) takođe su ustanovili porast koncentracija  $T_3$  i  $T_4$  od momenta rođenja do 6. sata života, nakon čega su utvrdili pad koncentracije do 14. dana života teladi.

#### **2.1.1.5. Insulinu slični faktori rasta I i II**

IGF sistem se sastoji od insulinu sličnih faktora rasta I i II (IGF-I, IGF-II), njihovih receptora (tip 1 i tip 2) i vezujućih proteina visokog afiniteta (IGFBP- “Insulin like growth factor binding proteins”). IGF sistem reguliše rast na sistemskom i ćelijskom nivou, kao i metaboličke adaptacije teladi tokom svih faza fetalnog i neonatalnog razvoja (Kirovski, 2015). Dok je IGF-II odgovoran pretežno za prenatalni rast i razvoj, IGF-I je važan medijator u postnatalnom rastu i diferencijaciji tkiva. Visoke koncentracije IGF u kolostrumu i mleku ukazuju na njihovu važnu ulogu u rastu i sazrevanju gastrointestinalnog trakta novorođenčadi (Flaga i sar. 2011). Jetra luči najveći deo IGF-I prisutnog u cirkulaciji, dok različita tkiva (poput hrskavice) luče IGF-I koji deluje na lokalnom nivou, parakrino ili autokrino (Laron, 2001).

Kod novorođene teladi, IGF sistem je funkcionalan, ali još uvek nije potpuno zreo. U stanju negativnog energetskeg balansa, koji je prisutan odmah nakon rođenja, koncentracija IGF-I zavisi od koncentracije insulina u krvotoku. Utvrđena je značajna pozitivna korelacija između koncentracija IGF-I i insulina tokom prva dva sata postnatalnog života, što znači da na koncentraciju IGF-I na rođenju pre utiče insulinemija nego koncentracija hormona rasta (GH- “Growth hormone”). Funkcija IGF sistema kod novorođenčadi je delimično uslovljena koncentracijom tireoidnih hormona, zbog uticaja koji ovi hormoni imaju na metaboličke procese u organizmu (Kirovski, 2015).

## **2.1.2. Metabolička adaptacija novorođene teladi**

Tokom neonatalnog perioda odvija se metabolička adaptacija, kako u metabolizmu organskih, tako i neorganskih materija.

### **2.1.2.1. Adaptacija metabolizma organskih materija**

Glavni izvor energije za fetus su ugljeni hidrati poreklom od majke. U krvi fetusa preživara, usled delimičnog konvertovanja glukoze u fruktozu, fruktoza je najzastupljeniji ugljeni hidrat koji se akumulira u fetusu jer ne može da se vrati u krvotok majke. Međutim, fruktoza ne može služiti kao rezervoar ugljenih hidrata. Koncentracija fruktoze u krvi fetusa se smanjuje sa porastom graviditeta. Koncentracije glukoze u krvi fetusa približno je jednaka polovini majčinih vrednosti, a pored za sintezu fruktoze, koristi se i za sintezu glikogena i masti u fetusu. Zbog toga nivo glikogena u jetri fetusa raste sa porastom graviditeta i pred kraj graviditeta dostiže dvostruke vrednosti u odnosu na vrednosti kod odraslih. Povećano deponovanje glikogena u fetusu, koje je, osim insulinom, izazvano i porastom koncentracije kortizola tokom poslednjih dana graviditeta, predstavlja glavni izvor energije za novorođenče (Kirovski, 2015).

Tokom prvih 24 sata neonatalnog života zahtevi za energijom novorođenčadi su izraziti visoki. Glukoza je najznačajniji izvor energije za novorođenče, zbog čega je razvijanje homeostatskih kontrolnih mehanizama, koji održavaju nivo glukoze u fiziološkim granicama, veoma važno. Novorođena telad se rađaju hipoglikemična zbog naglog prekida snabdevanja ugljenim hidratima od strane majke. Energija u ovom periodu se obezbeđuje aktivacijom puteva glikogenolize i glukoneogeneze koji su inicirani nervnim i hormonalnim mehanizmima. Naime, glikogenolizu podstiče šestostruko povišena aktivnost simpatikusa kod novorođenog teleta. Pored toga, pre i kratko nakon rođenja, koncentracije glukagona i kateholamina u krvi rastu, a koncentracija insulina opada. Smanjenje odnosa insulin/glukagon stimuliše glikogenolizu u jetri i dovodi do porasta koncentracije glukoze u krvi. Dodatno, kortikosteroidi stimulišu porast koncentracije glukoze u krvi, pretežno zbog smanjene utilizacije glukoze u periferna tkiva. Sve te promene u koncentracijama hormona

odmah posle rođenja su značajne za homeostazu glukoze pre unosa kolostruma (Kirovski i sar. 2011).

Obzirom da je kod novorođene teladi kapacitet za skladištenje glikogena ograničen, mehanizmi koji povećavaju koncentraciju glukoze preko glikogenolize mogu održati glikemiju u fiziološkom rasponu tokom prvih 2-4 sata neonatalnog života. Nakon toga, koncentracije glukoze u krvi se održavaju samo ukoliko postoji dodatni izvor glukoze, a to je najčešće kolostrum koje tele snabdeva laktozom, iz koje se hidrolizom u crevima oslobađa glukoza. Kolostrum se, u odnosu na mleko, razlikuje u pogledu sadržaja ugljenih hidrata, masti, proteina, peptida, minerala, vitamina, hormona, faktora rasta, citokina, enzima, poliamina i nukleotida. Kolostrum je bogatiji mastima, ali siromašniji ugljenim hidratima, u odnosu na mleko. Obzirom da snabdevanje ugljenim hidratima putem kolostruma nije dovoljno da nadoknadi sve energetske potrebe, novorođenčad su u velikoj meri u održavanju normoglikemije zavisna od endogene proizvodnje glukoze, neophodne za postnatalni rast (Kirovski i sar. 2011). U tom smislu, uspostavljanje punog kapaciteta glukoneogeneze u jetri novorođenčadi dobija značaj. Naime, nekoliko sati nakon rođenja, sadržaj glikogena u jetri preživara naglo opada, a intenzitet glukoneogeneze se povećava aktivacijom enzima fosfoenolpiruvat karboksikinaze (PEPCK- “phosphoenolpyruvate carboxykinase”), a koje je omogućeno porastom koncentracije kortizola odmah nakon rođenja. Kortizol je značajan regulator sazrevanja glukoneogenih puteva.

#### **2.1.2.2. Adaptacija metabolizma neorganskih materija**

Zastupljenost minerala u organizmu je jedan od ključnih faktora koji omogućavaju pravilan prenatalni i postnatalni razvoj teladi (Price i sar. 2015). Snabdevanje fetusa hranljivim materijama, uključujući i neorganske, u potpunosti zavisi od tipa i funkcionalnog stanja placente (Bell i Erdhardt, 2002). Stoga, mineralni status fetusa u velikoj meri zavisi od ishrane majke, odnosno snabedvenosti makro- i mikro mineralima kako krave, tako posledično i fetusa (NRC, 2001). Poznato je da su koncentracije nekih minerala više u organizmu fetusa nego majke, ukazujući na važnu regulatornu ulogu placente. Razlike u placenti među pojedinim vrstama mogu odrediti sudbinu mineralnog transporta. Na primer, za razliku od pacova i ljudi, placenta ovce je izrazito ograničavajuća

u pogledu transfera supstanci veće molekulske težine, te je paracelularna pasaža onemogućena čak i za minerale (Boyd i sar. 1993). U tom smislu, još uvek postoje otvorena pitanja o načinima transporta minerala (paracelularni, transcelularni), pravcu transporta (maternofetalni, fetomaternalni, ili obosmerni), kao i o kontroli transfera (Tivane i sar. 2013). Međutim, dok je fetalna ishrana nutrijentima u potpunosti zavisna od placente, rana postnatalna ishrana je neodvojiva od unosa kolostruma (Kirovski, 2015).

#### **2.1.2.2.1. Makroelementi**

Koncentracija **kalcijuma** u krvnoj plazmi i ekstracelularnoj tečnosti od 2,5 mmol/L se smatra fiziološkom kod svih vrsta sisara, uključujući i goveda. Iako se samo 1% frakcije Ca nalazi ekstracelularno (u formi jona, vezan za serumske proteine i ugrađen u organske i neorganske kiseline), on je odgovoran za mnoge fiziološke uloge organizma. Od ukupnog kalcijuma prisutnog u krvnoj plazmi, 50-60% se nalazi u jonizovanoj formi, koja je odgovorna za rad srčanog mišića, nervnu kondukciju, aktivaciju i stabilizaciju određenih enzima i zgrušavanje krvi. Za održavanje koncentracije jonskog Ca važne su rezerve Ca u skeletu (Underwood i Suttle, 1999), kao i stepen resorpcije na nivou tankih creva. Hormoni odgovorni za homeostazu Ca su parat hormon (PTH), kalcitriol (fiziološki aktivni oblik vitamina D<sub>3</sub>) i tireokalcitonin. Koncentracija Ca je viša u krvotoku fetusa nego majke, jer se tokom intrauterinog razvoja značajne količine Ca transportuju u fetus u svrhu brze mineralizaciju kostiju (Ohata i sar. 2016).

Kod preživara, koncentracija **neorganskog fosfora** u krvnoj plazmi ima direktan uticaj na njegovu koncentraciju u pljuvački, koja, izlučena u velikim količina procesom preživljanja, predstavlja glavni izvor fosfora koji se sliva u burag odraslih preživara. Pored uloge u formiranju i održavanju čvrstine kostiju, koju deli sa Ca, oko 20% fosfora se nalazi u telesnim tečnostima i tkivima. Fosfor je značajan za ćelijski rast i diferencijaciju kao deo dezoksi- i ribonukleinskih kiselina, pomaže u održanju acido-bazne ravnoteže kao fosfat, učestvuje u održanju integriteta membrane kao fosfolipid, ima ključnu ulogu u svim metaboličkim putevima koji koriste AMP, ADP i ATP, a na još nedovoljno izučen način je uključen u kontrolu apetita. Trenutno se smatra da fosfor ne podleže specifičnoj hormonalnoj regulaciji. PTH utiče na reapsorpciju fosfora povećanjem tubularne



reapsorpcije, te u stanju deficita fosfora koncentracija PTH se snižava (Underwood i Suttle, 1999). Kao i u slučaju Ca, koncentracije P su više u krvotoku fetusa nego majke, a zbog značaja fosfora u mineralizaciji kostiju fetusa (Ohata i sar. 2016).

U krvnom serumu, **Mg** se nalazi u dve forme; vezan za protein (32%) i slobodni ili jonizovani Mg (68%). Na metabolizam Mg direktno ne utiče niti jedan hormon, ali PTH, kalcitonin, aldosteron, tiroksin i insulin imaju indirektan uticaj. Posle kalijuma, Mg je kvantitativno najzastupljeniji makroelement u intracelularnoj tečnosti i organelama. U ekstracelularnoj tečnosti, koncentracija Mg je niža, ali je prisutan u cerebrospinalnoj tečnosti i krvi, odnosno u krvnoj plazmi i eritrocitima. Ulazi u sastav velikog broja enzima, zbog čega je uključen u metabolizam proteina, nukleinskih kiselina, ugljenih hidrata i masti. Neophodan je za oksidativnu fosforilaciju, oksidaciju piruvata i transfer fosfata. Joni Mg moduliraju neuromišićnu aktivnost, utiču na autonomiju rada srčanog mišića i integritet ćelijske membrane preko vezivanja za fosfolipide. Zahtevi majke u odnosu na potrebe za Mg u vreme porođaja su veoma visoki, s obzirom da kolostrum sadrži oko 0,1 g Mg/kg, što je tri puta više od koncentracije u mleku. Koncentracije Mg su više u krvotoku fetusa nego majke (Ohata i sar. 2016).

**Natrijum** je glavni katjon ekstracelularne tečnosti gde njegova koncentracija iznosi 140 mmol/L. Kod preživara, najveći deo Na koja dospeva u digestivni sistem, potiče iz pljuvačke u kojoj je koncentracija ovog makroelementa 150 mmol/L. U uslovima smanjene koncentracije Na, aldosteron je glavni hormon koji na molarnom nivou menja natrijum sa kalijumom i tako održava stalnost njegove koncentracije. Natrijum kontroliše metabolizam vode u organizmu, reguliše acido-baznu ravnotežu, a preko  $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -ATP-azne pumpe održava osmotski pritisak. Od statusa Na u organizmu zavisi iskoristivost aminokiselina i glukoze.

**Kalijum** je glavni katjon intracelularne tečnosti sa koncentracijom od 100–160 mmol/L, a koja sa 25–30 puta viša od one u krvnoj plazmi. Ovaj makroelement održava potencijal ćelijske membrane koji je bitan za održavanje mišićnog tonusa i odgovore na stimulus. Kalijum je treći po redu mineral po zastupljenosti u organizmu, sa najvišom koncentracijom u mišićima. Takođe je glavni katjon u mleku (36 mmol/L kod ovaca i krava) i znoju kod preživara. Sa povećanjem ambijentalne temperature povećava se i

njegov gubitak putem znoja (Underwood i Suttle, 1999).

#### 2.1.2.2.2. Mikroelementi

Od mikroelemenata, odnosno minerala u tragovima, najmanje zastupljen u tkivima goveda je **mangan** sa koncentracijom od 0,5-3,9 mg/kg koja je utvrđena kod teladi i jagnjadi. Izrazito malo je zastupljen i u mleku gde njegova koncentracija retko prelazi vrednost od 0,1 mg/L, izuzev u kolostrumu gde je značajno visa (Underwood i Suttle, 1999). Mangan je značajan u zaštiti od oksidativnog stresa, bilo kao kofaktor enzima superoksid-dismutaze (SOD) ili kao antioksidant (Underwood i Suttle, 1999). Zajedno sa Cu, Zn, Fe, Se i drugim esencijalnim elementima u tragovima, neophodan je za uspešnu tranziciju jedinke iz embrionalnog u fetalni stadijum razvoja kao i za celokupan postnatalni razvoj (Hostetler i sar. 2003).

Iako je **selen** prvobitno izučavan kao elemenat koji je toksičan po organizam, danas je potpuno poznata njegova uloga u rastu i razmnožavanju životinja, kao i prevenciji mnogih bolesti, s obzirom da funkcionalna forma ovog mikroelementa ulazi u sastav više od 30, do sada identifikovanih, selenoproteina. Međutim, mehanizmi i homeostatska kontrola resorpcije Se veoma su malo izučeni. Koncentracija Se u krvi, dugo korištena za procenu statusa Se, je u visokoj pozitivnoj korelaciji sa aktivnošću glutation peroksidaze (GSH-Px), zbog čega se aktivnost ovog enzima danas mnogo više koristi za procenu statusa Se u organizmu. U kolostrumu je koncentracija Se, zajedno sa vitaminom E, četiri do pet puta viša nego u mleku, a transfer Se iz krvi u mlečnu žlezdu daleko je efikasniji nego preko placente (Underwood i Suttle, 1999).

Preživari veoma teško iskorištavaju **kobalt** unet hranom. Naime, mikroorganizmi buraga razdvajaju kobalt na fiziološki aktivnu formu (kobalamin) i fiziološki neaktivnu, vitaminu B<sub>12</sub> sličnu, komponentu (korinoide). Polovina kobalamina sintetisanog u buragu se veže za intrinzični faktor parietalnih ćelija sirišta, a polovina ga se izgubi tokom pasaže kroz digestivni trakt.

U jetri fetusa, **bakar** se nagomilava u velikim količinama. Po broju enzima koje aktivira, od bakra je jedino aktivniji Zn. Bakar je značajan za odvijanje procesa eritropoeze, pomaže ugradnju Fe u feritin, a preko ceruloplazmina (globulina sa feroksidaznom

aktivnosti koji sadrži Cu) olakšava transport Fe. Bakar štiti tkiva od oksidativnog stresa na dva načina; preko oslabljenog metabolizma Fe, i preko enzima Cu-Zn superoksid dismutaze (CuZnSOD). Ceruloplazmin takođe doprinosi antioksidativnoj zaštiti odstranjivanjem slobodnog Fe i slobodnih radikala, te na taj način interferira sa Mn, Se i vitaminom E (Underwood i Suttle, 1999).

**Cink** utiče na više fizioloških procesa u organizmu, kao što su sinteza DNK, deljenje ćelija i ekspresija gena. Preko uloge u keratinizaciji mukoznih membrana, pozitivno utiče na stanje epidermisa i epitela. Značajan je za sintezu insulina, aktivnost velikog broja enzima, kao što su alkoholna dehidrogenaza, reverzna transkriptaza, SOD i karboksipeptidaza A, B i G (Hosnedlova i sar. 2007). Povećan unos Zn je veoma redak kod domaćih životinja, te se akcenat stavlja na njegov deficit koji se utvrđuje određivanjem koncentracije Zn u krvnom serumu i plazmi. Prema Hosnedlova i saradnicima (2007) u krvnom serumu teladi Zn je prisutan u koncentraciji od 10,7-39,0  $\mu\text{mol/L}$ , dok je u krvnom serumu krava prisutan u rasponu od 13,0–48,7  $\mu\text{mol/L}$ .

Od svih mikroelemenata, **gvožđe** je najzastupljeniji u organizmu. Metabolizam Fe je regulisan pre svega na nivou creva, odnosno duodenuma, gde se vrši njegova resorpcija. Nakon resorpcije u obliku feri jona, gvožđe se veže za transferin. Kao što je već napomenuto, Cu igra značajnu ulogu u iskoristivosti Fe, iako mehanizmi interakcije ova dva mikroelementa nisu potpuno izučeni. Pretpostavlja se da ceruloplazmin ima ulogu feroksidaze i olakšava otpuštanje Fe iz feritina u intestinalnoj mukozi i ćelijama jetrinog parenhima (Underwood i Suttle, 1999).

### **2.1.3. Adaptacija imunskog sistema novorođene teladi**

Imunski sistem jedinke se deli na stečeni, odnosno specifični, i urođeni, odnosno nespecifični. Urođeni imunski odgovor pretežno uključuje fagocitozu i obično je praćen zapaljenjem koje dovodi do oštećenja tkiva domaćina reaktivnim vrstama kiseonika poreklom iz neutrofila. Stečeni imunski sistem je ćelijski posredovan (T i B limfocitima) i odlikuje se brzim, ciljanim, višefaznim odgovorom sa efektivnom eliminacijom stranih ćelija i minimalnim oštećenjem tkiva domaćina. Kod fetusa odnosno novorođenčadi, sve do

trenutka dok urođeni imunitet prepoznaje, fagocituje, prerađuje, transportuje i prezentuje antigene, specifični imunski sistem je neaktivan (Gelsinger i Heinrichs, 2017).

Fetus je *in utero* zaštićen placentom koja, zbog svoje strukture, inhibira transport imunoglobulin klase G (IgG) iz krvotoka majke u fetus. Zbog toga se telad rađa sa antigeno nezrelim stečenim imunitetom. Hormoni (progesteron, prostaglandin E<sub>2</sub>) i citokini (IL-4 i IL-10) koje tokom graviditeta proizvodi placenta, zajedno sa visokim koncentracijama kortizola od strane majke i teleta pri porođaju, suprimiraju funkciju T limfocita (Morein i sar. 2002). Takođe, B ćelije nisu potpuno funkcionalne prvih 4-5. nedelje starosti (Gelsinger i Heinrichs, 2017). Uzimajući u obzir da samo aktivirane B ćelije proizvode IgG, kao i da se telad rađaju bez majčinih IgG, jasno je koliko je značajan unos kolostruma, odnosno mleka, u imunskoj zaštiti teladi tokom prve 2-4 nedelje postnatalnog života (Chase i sar. 2008). Kolostrum krava je izrazito bogat imunoglobulinima. Naime, tri do četiri nedelje pre porođaja u mlečnoj žlezdi goveda započinje selektivni prenos IgG iz krvi u kolostrum koji se nastavlja i posle porođaja, pri čemu u kolostrumu krava dominira podklasa IgG<sub>1</sub> koja čini 85-90% ukupnih IgG prisutnih u sekretu mlečne žlezde (Gelsinger i Heinrichs, 2017). Tokom prvih 36 sati neonatalnog života enterociti novorođenih teladi propuštaju intaktne molekule IgG iz creva u cirkulaciju doprinoseći formiranju pasivnog prirodnog imuniteta.

## **2.2. UTICAJ ENDOKRINO I METABOLIČKOG STATUSA GRAVIDNE MAJKE NA FIZIOLOŠKI STATUS NOVOROĐENE TELADI**

Tokom kasnog graviditeta i rane laktacije u organizmu visokomlečne krave odigravaju se značajne metaboličke promene (Bell, 2000). Za taj period je karakterističan smanjenji unos suve materije (DMI- “dry matter intake”), zbog čega krave ulaze u stanje negativnog bilansa energije (NEB- “negative energy balance”) (Piccione i sar. 2012). Smanjenje DMI tokom ovog perioda objašnjava se teorijom hepatične oksidacije (Allen i sar. 2009), koja naglašava da stimulacija centra za apetit, preko vagusnog nerva, zavisi od koncentracije adenzin trifosfata (ATP) u jetri. Što su intenzivniji oksidativni procesi u

jetri, veća je proizvodnja ATP-a, a time manja stimulacija centra za apetit. Zbog toga se smatra da karakteristični porast koncentracije NEFA u cirkulaciji tokom peripartalnog perioda, utiče na smanjenje DMI (Wankhade i sar. 2017).

Da bi se novorođenče zaštitilo od promena u energetsom metabolizmu koji se dešava u organizmu majke, neophodno je da se metabolizam majke preorjentiše na funkcionisanje u korist fetusa tokom graviditeta, odnosno u korist održavanja nivoa masti u mleku tokom laktacije (Bell, 1995). Uspostavljanje takvih mehanizama od strane majke predstavlja homeorezu, kao “orkestriranu ili koordinisanu promenu metabolizma telesnih tkiva, neophodnih za održavanje fiziološkog stanja” (Bauman i Curie 1980). Homeoreza podrazumeva promene koncentracije određenih hormona, kao insulina i glukagona, ali i odgovor i osetljivost tkiva na njih. U skladu sa tim, menjaju se mnogi biohemijski procesi u jetri, masnom, mišićnom i koštanom tkivu (Ingvarsen, 2006). U masnom tkivu se intenzivira lipoliza, što izaziva poraste koncentracije NEFA, BHBA i glicerola u plazmi (Bell, 1995). U mišićnom tkivu se povećava proteoliza, pomoću koje se mobilišu aminokiseline za proces glukoneogeneze i sintezu proteina. Jedan od veoma važnih faktora koji utiču na izlazak NEFA iz masnog tkiva, jeste niska koncentracija insulina. U jetri NEFA može biti u potpunosti oksidovana do ugljen dioksida za obezbeđenje energije jetri, parcijalno oksidovana kada proizvodi ketonska tela i rekonvertovana u trigliceride (Ingvarsen, 2006). Međutim, uporedo s navedenim, povećava se i proizvodnja slobodnih radikala (ROS- “reactive oxygen species”), koji nadjačavaju antioksidativnu sposobnost organizma. Proizvodnja ROS se povećava sa napredovanjem graviditeta, zbog čega organizam prolazi kroz stanje oksidativnog stresa, što rezultira različitim metaboličkim poremećajima krava nakon porođaja (Elshahawy i Abdullaziz, 2017). Abuelo i saradnici (2016) su po prvi put ustanovili vezu između oksidativnog statusa i parametara insulinske osetljivosti kod krava u peripartalnom periodu.

Istraživanja su pokazala da je potreba u energiji za rast i razvoj fetusa, kao i za laktogenezu, glavni faktor pojave insulinske rezistencije (IR) (Bell, 1995; Chalmeh i sar. 2015; Kawashima i sar. 2016). Kao stanje smanjene osetljivosti tkiva na insulin, IR se smatra fiziološkom pojavom karakterističnom za krave u peripartalnom periodu (Kawashima i sar. 2016). Chalmeh i saradnici (2015), primenom intravenskog testa

tolerancije glukoze (IVGTT), ispitivali su rezistenciju tkiva na insulin, kao i odgovor insulina na glukozu tokom različitih proizvodno-reproduktivnih faza kod visokomlečnih krava (rana, srednja i kasna laktacija, kao i dva perioda zasušenja). Prvog sata po aplikaciji dekstroze, zabeležili su brz i značajan porast koncentracija glukoze i insulina u krvnog serumu svih krava. Međutim, kod krava u periodu pred porođaj i ranoj laktaciji, uprkos rastu nivoa insulina, koncentracije glukoze u krvi nakon četiri sata po aplikaciji i dalje su bile više od bazalnih vrednosti. Odsustvo snižavanja koncentracije glukoze pod uticajem insulina ukazivalo je na IR kod krava u peripartalnom periodu. Naime, autori su istakli da se rezistentnost perifernih tkiva na insulin povećava sa porastom graviditeta, a sve u svrhu podrške razvoju fetusa.

Micke i saradnici (2010) su utvrdili da prekomerna ishrana majke već od 39. dana graviditeta utiče na rast fetusa, što može rezultirati rađanjem teladi sa manjom telesnom masom, kao i njihovim slabijim postnatalnim razvojem. Naime, prema Kawashima i saradnicima (2016), rast i razvoj fetusa su u jakoj sprezi sa koncentracijom fetalnog insulina i glukoze. Nevedeni autori su zabeležili smanjenu telesne masu teladi na rođenju koja potiču od insulin-rezistentnih majki. Takođe, telad poreklom od IR majki, bez obzira na nivo glukoze u krvi, imala su povišene nivo insulina u odnosu na telad poreklom od majki kod kojih nije utvrđena insulinska rezistencija. Na osnovu navedenog istraživanja, zaključeno je da je pojava IR kod krava u trećoj nedelji pre porođaja povezana sa metaboličkim statusom njihove teladi.

Mesec dana pre, do mesec dana posle porođaja, organizam krave se priprema kako za porođaj i ranu laktaciju, tako i za sledeći graviditet. Većina procesa koji se u tom periodu odigrava su posledica promena u endokrinom sistemu koji imaju uticaj na razvoj fetusa, ali i na stanje novorođenčeta (Kindahl i sar. 2004). Homeoreza, pored metaboličkih adaptacija, podrazumeva i endokrine promene koje se dešavaju u organizmu majke u peripartalnom periodu, a koje se odigravaju da bi podržale promenjene fiziološke procese (Bell, 1995). Naime, osim uticaja na laktogenezu, homeoretski hormoni (glukokortikosteroidi, somatotropin, prolaktin, progesteron, estradiol-17beta, leptin, tireoidni hormoni i insulin) imaju uticaj i na metaboličke procese na nivou jetre, mišićnog i masnog tkiva (Bell, 1995). U kasnom graviditetu, koncentracija estradiola se povećava i najviše vrednosti dostiže 1-2

nedelje pred teljenje (Bell, 1995), što doprinosi mobilizaciji masnih kiselina iz jetre i predisponira mlečne krave za pojavu masne jetre (Grummer i sar. 1990). Koncentracije progesterona se održavaju visokim od početka graviditeta do četvrtog dana pred teljenje (Radcliff i sar. 2003), a jedna od uloga progesterona jeste inhibicija laktogenog efekta glukokortikoida, jer progesteron blokira njihove receptore u tkivu mlečne žlezde (Collier i Tucker, 1978). Neposredno pred porođaj, u krvnoj plazmi krava značajno se povećava koncentracija prolaktina (de la Asunción i sar. 1994), koji, zajedno sa insulinom i kortizolom, utiče na sintezu proteina mleka (Ingvarsen i Andersen, 2000). Koncentracija GH, somatotropina, ostvaruje najvišu koncentraciju u toku porođaja, te se smatra da ima značajniju ulogu u lučenju mleka u odnosu na prolaktin u tom periodu (Bauman i Vernon, 1993). Pokazano je da egzogena aplikacija ovog hormona povećava lipolizu i glikogenolizu u jetri, preko svog antiinsulinskog efekta (Dunshea i sar. 1995). Neophodno je naglasiti da somatotropin utiče i na sintezu IGF-I u jetri (Jones i Clemmons, 1995). Međutim, u stanjima NEB-a, javlja se “rezistencija na somatotropin” (Vicini i sar. 1991), koja započinje 1-2 nedelje pre porođaja i traje tokom rane laktacije (Bell, 1995), a koja znači da dolazi do dekuplovanja veze između somatotropina i IGF-I. Istraživanja nekih autora (Butler i sar. 2003) ukazuju da insulin ima ključnu ulogu u lučenju IGF-I, i to preko direktnog uticaja na ekspresiju gena u jetri za IGF-I. U tom smislu, hipoinsulinemija karakteristična za mlečne krave u stanju NEB u peripartalnom periodu, izaziva porast koncentracije somatotropina u plazmi i sniženje IGF-I tako što smanjuje broj receptora za somatotropin i smanjuje ekspresiju gena za IGF-I u jetri (Butler i sar. 2003). Za leptin je karakteristično da sniženje njegove koncentracije, koje počinje nekoliko nedelja pred partus, doseže 50% u toku rane laktacije, a na tom nivou se zadržava, i pored laganog saniranja NEB-a, i do 8 nedelja posle porođaja (Block i sar. 2001). S obzirom da leptin proizvode ćelije masnog tkiva (Ingvarsen i Andersen, 2000), navedeno stanje je verovatno rezultat trošenja uskladištenih masti u peripartalnom periodu (Block i sar. 2001). Interesantno je i to da drugi homeoretski hormoni utiču na koncentraciju leptina. Tako, somatotropin inhibira sintezu leptina kod goveda, preko inhibicije insulina i deksametazona (Houseknecht i sar. 2000). Prema Chilliard i saradnicima (2001) NEB izaziva sniženje koncentracije leptina, što utiče na porast koncentracije kortizola, koja stimuliše glukoneogenezu i mobilizaciju proteina.

Ovakvo stanje stimuliše apetit, dovodi do povećanja unosa hrane, a posledično i povećanja koncentracije insulina, koji će u sprezi sa povišenim koncentracijama kortizola stimulisati lučenje leptina, sa čime se nanovo uspostavlja homeostaza. Koncentracija leptina je u pozitivnoj korelaciji sa koncentracijom glukoze i insulina. Zabeleženo je da se u toku graviditeta broj receptora za leptin u materici skoro trostruko povećava (Ingvarlsen i Andersen, 2000). Međutim, osim poznatog uticaja leptina na apetit, napominje se i njegov uticaj na raspodelu hranljivih materija od majke u pravcu fetusa (Chien i sar. 1997). Njegove koncentracije u plazmi su pod uticajem više hormona, pa je zabeleženo da kortizol izaziva povećanje koncentracije leptina u plazmi, dok povišene koncentracije insulina u trajanju 64-72 časa povećavaju za 50% portalnu i periferalnu koncentraciju leptina (Ingavrtsen i Andersen, 2000). Koncentracije glukokortikoida u krvi, odnosno kortizola kao glavnog glukokortikoida kod goveda, tokom graviditeta su niske, sa naglim porastom pred porođaj (Nikolić i sar. 2003). U krvi ovaca pred porođaj, zabeležena je pozitivna korelacija između leptina i kortizola (Forhead i sar. 2002).

Tireodni hormoni su od ključnog značaja za intenzitet ćelijskog metabolizma i metabolizam ugljenih hidrata i masti, kako kod krava u peripartalnom periodu, tako i kod teladi. Pred porođaj, tireoidni hormoni pokazuju visoke vrednosti u krvnoj plazmi krava, da bi posle porođaja njihove vrednosti počele da se smanjuju, što je verovatno odraz njihovog smanjenog lučenja kao mehanizma adaptacije na stanje NEB-a (Fiore i sar. 2017).

Osim već pomenute uloge insulina sa aspekta IR u toku kasnog graviditeta, ovaj hormon takođe igra ulogu u dugoročnoj regulaciji telesne mase (Porte i sar. 1981). Naime, Hatfield i saradnici (1974) su, nakon aplikacija insulina u hipotalamus pacova, utvrdili smanjenje unosa hrane, čime je dokazan uticaj insulina na regulaciju telesne mase na centralnom nivou. Poznato je da je insulin uključen u rast i razvoj centralnog nervnog sistema, da deluje kao neuromodulator, kao i da je uključen u funkcionisanje autonomnog nervnog sistema (Ingvarlsen i Andersen, 2000). Pokazano da je najviša koncentracija neurona koji ekspimiraju receptore za insulin locirana upravo u delu mozga zaduženom za kontrolu energetskeg metabolizma i unosa hrane (Baskin i sar. 1987).



### 2.3. TOPLOTNI STRES

Tokom poslednjih decenija desile su se izraže klimatske promene, koje su usloville dugoročni disbalans uobičajenih vremenskih uslova (ambijentalne temperature, karakteristika vetrova i padavina). Temperatura vazduha je prosečno porasla za  $0,74 \pm 0,18^{\circ}\text{C}$  tokom prošlog veka, a trenutni klimatski modeli ukazuju da će u naredne dve decenije doći do prosečnog porasta temperature vazduha za  $0,28^{\circ}\text{C}$  po deceniji. To će, do 2100. godine, dovesti do porasta globalne temperature vazduha za  $1,88^{\circ}\text{C}$  do  $4,08^{\circ}\text{C}$  (IPCC, 2007).

Homeotermne životinje karakteriše postojanje TNZ koja podrazumeva raspon ambijentalne temperature u okviru kojeg je proizvodnja toplote unutar organizma nezavisna od temperature okruženja. TNZ čini temperaturni komfor za životinju, jer je tada temperatura središta tela u okviru fizioloških granica, a regulacija telesne temperature se ostvaruje samo oslobađanjem toplote preko površine tela. Temperatura središta tela koja se smanji ispod  $27^{\circ}\text{C}$ , i koja poraste preko  $45^{\circ}\text{C}$ , letalna je za većinu sisara (IUPS, 2001; Roland i sar. 2016).

Ukoliko se ambijentalna temperatura smanji ispod donje kritične temperature ( $T_{lc}$ - “lower critical temperature”), povećava se stepen metaboličke proizvodnje toplote u svrhu održavanja termalne ravnoteže. Ukoliko ambijentalna temperatura pređe gornju kritičnu temperaturu ( $T_{uc}$ - “upper critical temperature”), aktiviraju se mehanizmi odavanja toplote (IUPS, 2001).

Toplotni stres nastaje kada se faktori životne sredine, kao što su vlažnost i kretanje vazduha, kao i sunčevo zračenje, kombinuju sa temperaturama iznad gornje granice TNZ (Roland i sar. 2016). U tim uslovima temperatura središta tela prelazi temperaturni raspon koji omogućava aktivnost jedinke u fiziološkim granicama, jer ukupno toplotno opterećenje (unutrašnja proizvodnja toplote i toplota iz okruženja) prevazilazi kapacitet rasipanja toplote. Tada se javljaju fiziološki i bihevioralni odgovori koji imaju za cilj ublažavanje toplotnog stresa jer uslovljavaju povećanje gubitka toplote i smanjenje generisanja toplote, a sve u cilju održavanja temperature tela u fiziološkim granicama. Najpre dolazi do povećanja unosa vode, povećanje stepena znojenja i disanja i smanjenja

frekvence srčanog rada i unosa hrane. Ukoliko je nakupljanje toplote u organizmu prolongirano, dolazi do toplotne aklimatizacije kroz proces koji se naziva “aklimatorna homeostaza”, a koja se delimično postiže smanjenjem koncentracija GH, kateholamina i glukokortikoida, a zatim i tiroksina i trijodtironina, koji umanjuju generisanje toplote.

Treba ipak naglasiti da je izrazito teško proceniti koliko su uslovi okruženja za životinju “komforni” ili “stresni”, upravo zbog postojanja više faktora koju na to utiču, a koji uključuju temperaturu vazduha, vlažnost, intenzitet vetra i direktnog i indirektnog zračenja (Bernabucci i sar. 2010; Kadzere i sar. 2002; Roland i sar. 2016; Das i sar. 2016).

Za procenu toplotnog stresa koristi se veći broj matematičkih pokazatelja od kojih je najviše u primeni THI. Većina THI formula se uzračunava korišćenjem samo dva faktora, ambijentalne temperature ( $T_{db}$  – “dry bulb temperature”) i relativne vlažnosti (RH – “relative humidity”). Ove dve varijable su lako merljive i često su javno dostupne putem meteoroloških servisa. Primarna razlika između većine THI formula je koliko ona uzima u obzir relativnu vlažnost kao faktor, zbog čega se korišćenje ovih formula prilagođava i geografskom području za koje se izračunava. Iako sunčevo zračenje može značajno doprineti nakupljanju toplote, nije ga lako izmeriti i njegovi efekti mogu delimično zavisiti od karakteristika dlačnog pokrivača životinje (Bohmanova i sar. 2007).

“Livestock Conservation Institute” je kategorizovao različite vrednosti THI za mlečne krave, i shodno tome efekte toplotnog stresa podelio na blage, umerene i izrazite (Armstrong, 1994). Iako se smatralo da se umereni toplotni stres javlja pri  $THI \geq 72$  (Kadzere i sar. 2002), nedavni podaci ukazuju da se javlja i pri vrednosti  $THI \geq 68$  (Bernabucci i sar. 2010; Collier i sar. 2011; Gorniak i sar. 2014)

### **2.3.1. Uticaj toplotnog stresa na goveda**

Kao i kod drugih vrsta sisara, toplotni stres kod mlečnih krava nastaje kao posledica prilagođavanja organizma na delovanje više faktora povezanih sa visokom ambijentalnom temperaturom koje izazivaju prilagođavanje organizma, a u cilju sprečavanja fiziološke disfunkcije jednike (Kadzere i sar. 2002).

Problem obezbeđivanja termalne komforne zone za farmske životinje se javlja ne samo u zemljama tropskog regiona, već i u zemljama umerenog klimata, u kojima visoke

ambijentalne temperature postaju sve veći problem (Nardone i sar. 2010). Primena uređaja za rashlađivanje vazduha, u cilju promene ambijentalnih uslova, može biti ekonomski neopravdana i neodrživa. Ukoliko se klimatske promene nastave i budu udružene sa rastom svetske populacije i povećanim potrebama za hranom, negativni efekti toplotnog stresa će postati sve izraženiji (Roland i sar. 2016). Takođe, selekcija životinja usmerena ka povećanoj proizvodnji do krajnjih fizioloških granica, može, zbog dokazane pozitivne korelacije između nivoa proizvodnje i metaboličkog generisanja toplote, povećati stepen osetljivosti jedinke na visoke temperature (Kadzere i sar. 2002). Upravo iz tog razloga veliki broj istraživanja je usmeren na poboljšanje termotolerantnosti bez negativnog uticaja na proizvodnju (Collier i sar. 2006).

Raspon graničnih vrednosti TNZ zavisi od vrste i veličine životinje, fiziološkog stanja, ishrane, ponašanja, ali i pojedinih faktora okruženja. Zbog toga se u literaturi mogu naći različite granične vrednosti za TNZ, koje se kod teladi kreću od 0-26°C. Dok vrednosti  $T_{lc}$  variraju od 0-18°C, nedovoljno je informacija o vrednostima  $T_{uc}$ . Pokazano je da vrednosti  $T_{uc}$  od 26°C i više, izazivaju ubrzano disanje kod teladi, a koje se smatra značajnim fiziološkim parametrom toplotnog stresa (Roland i sar. 2016).

Iako je toplotni stres konstantan problem subtropskih i tropskih zemalja, u zemljama umerenog klimata toplotni stres se sve češće javlja u letnjem periodu jer tada prosečne dnevne temperature vazduha često prelaze gornju graničnu vrednost TNZ. Kod teladi je zabeležen porast frekvence disanja već pri ambijentalnoj temperaturi od 26°C, a pri ambijentalnoj temperaturi iznad 32°C i relativnoj vlažnosti preko 60% javljaju se znaci toplotnog stresa. Kod teladi, rektalna temperatura od 40,5°C je usko povezana sa povećanjem minutnog volumena disanja i posledičnom respiratornom alkalozom (Roland i sar. 2016).

### **2.3.2. Mehanizmi adaptacije goveda na toplotni stres**

Međunarodna komisija za termalnu fiziologiju (ICTP- “International Commission for Thermal Physiology”) je 2001. godine uvela termine kojima se opisuje odgovor životinja na termalne izazove.

Tokom toplotnog stresa dolazi do promene ponašanja u smislu traženja zaklona, menjanja položaja tela (stajanje, ležanje), sklanjanja tela od sunca, smanjenja lokomocije tokom toplih delova dana, traženja senke drugih životinja i slično (Roland i sar. 2016). Pri visokoj ambijentalnoj temperaturi takođe se značajno smanjuje unos hrane, zbog čega telesna masa opada, dok unos vode raste (Tao i Dahl, 2013). Dodatno, smanjen dotok krvi u gastrointestinalni trakt izazvan toplotnim stresom, smanjuje resorpciju nutrijenata (Roland i sar. 2016). Smanjenje DMI izaziva smanjenu proizvodnju metaboličke toplote generisanu digestijom, čime se pomaže održavanje toplotne ravnoteže.

Postoje brojni dokazi u literaturi koji ukazuju da se prijemčivost preživara na toplotni stres razlikuje između vrsta, rasa, kao i da zavisi od nivoa proizvodnje (Silanikove, 2000; Kadzere i sar. 2002; Collier i sar. 2006). Te razlike su najčešće posledica različite sposobnosti vrsta, odnosno rasa, da redukuju metaboličko odnosno endogeno generisanje toplote, a povećaju odavanje toplote. Na primer, životinje adaptirane na topla okruženja imaju niži intenzitet metabolizma, uključujući i smanjeni promet vode, a veći kapacitet rasipanja toplote putem dahtanja i znojenja. Među vrstama, smatra se da su ovce i koze manje osetljive na toplotni stres nego goveda (Silanikove, 2000). Povećana prijemčivost goveda na toplotni stres prvenstveno je posledica njihove visoke metaboličke aktivnosti, u poređenju sa drugim preživarima, i slabo razvijenog mehanizma zadržavanja vode u bubrezima i crevima (Roland i sar. 2016).

### **2.3.3. Metabolička i hormonalna adaptacija na visoke ambijentalne temperature**

Toplotni stres dovodi do izmena u endokrinom statusu jedinke, slabljenja preživljanja i smanjene resorpcije nutrijenata, uz smanjenje DMI. Smanjeno snabdevanje energijom uz njenu povećanu potrošnju za održavanje, negativno utiče na energetski bilans dovodeći do gubitka telesne mase kod krava u uslovima izrazitog toplotnog stresa.

Aklimatizacija na toplotni stres se postiže izmenama u homeostazi, u smislu da se kontrolni, endokrini, mehanizmi adaptacije uspostavljaju po principima homeoreze. Hormoni uključeni u adaptaciju na toplotni stres su tireoidni hormoni, prolaktin, GH, glukokortikoidi i mineralokortikoidi. Poznato je da su koncentracije tireoidnih hormona smanjenje, a koncentracije prolaktina povišene kod životinja adaptiranih na visoke ambijentalne temperature. Hipotalamo-pituitarno-adrenalna osovina je takođe ključna za adaptaciju na toplotni stres. Povećana aktivnost somatostatina u uslovima toplotnog stresa smanjuje nivoe GH i tiroidnih hormona. Krave adaptirane na toplotni stres imaju niže koncentracije glukokortikoida.

Da bi se metaboličke adaptacije na toplotni stres u potpunosti razumele, neophodno je istovremeno analizirati fiziološke, odnosno, metaboličke adaptacije na termalno neutralni NEB. NEB je povezan sa značajnim izmenama u metabolizmu ugljenih hidrata i masti. Karakterističan endokrini odgovor na NEB je smanjenje koncentracije insulina u cirkulaciji, koja je udružena sa smanjenom osetljivošću na insulin. Ovakva promena aktivnosti insulinske osovine dovodi do lipolize i mobilizacije NEFA iz perifernih tkiva, koje su značajan izvor energije, ali su i prekursori u sintezi mlečne masti. Smanjenje koncentracije insulina tokom NEB-a, takođe dovodi do smanjenog unosa glukoze u periferna tkiva, odnosno mišićno i masno tkivo (Bernabucci i sar. 2010).

Krave izložene toplotnom stresu, i pored smanjenog unosa hrane, često nemaju povišenu koncentraciju NEFA u krvnoj plazmi. To je iznenađujuće s obzirom da akutni toplotni stres izaziva značajno povišenje koncentracija kortizola, norepinefrina i epinefrina u cirkulaciji. Međutim, krave u uslovima toplotnog stresa imaju povišene bazalne koncentracije insulina i stimulisan insulinski odgovor. Povišeni bazalni i stimulisani

insulinski nivoi mogu objasniti odsustvo povišenja bazalnih nivoa NEFA kod krava u uslovima toplotnog stresa, s obzirom da je insulin izraziti antilipolitički hormon. Povišenje bazalnog nivoa insulina u uslovima toplotnog stresa je verovatnije posledica povećane sekrecije od strane pankreasa, nego smanjenog iščezavanja iz cirkulacije.

U uslovima toplotnog stresa, osim promena na nivou masnog tkiva, dešavaju se i promene u mišićnom tkivu. U uslovima toplotnog stresa, krave i junice imaju povišene koncentracije uree u krvnoj plazmi, ili zbog neefikasne ruminalne ugradnje amonijaka u mikrobijalne proteine ili zbog hepatične dezaminacije aminokiselina mobilizovanih iz skeletnih mišića. Bolji indikator katabolizma mišića je koncentracija 3-metil-histidina ili keratina u cirkulaciji. Njihove koncentracije su povišene kod peradi, zečeva i krava u laktaciji izloženih toplotnom stresu. Smanjen nivo proteina u mleku kod krava izloženih toplotnom stresu je još jedan dokaz da toplotni stres značajno utiče na metabolizam proteina (Bernabucci i sar. 2010).

### 3. CILJ I ZADACI ISTRAŽIVANJA

Cilj istraživanja u okviru ove doktorske disertacije je bio da se ispita endokrini, metabolički i imunski status novorođene teladi, čije su majke bile izložene toplotnom stresu tokom perioda kasnog graviditeta, uz dodatno ispitivanje sastava kolostruma i mleka majki kao jedine hrane koju su telad dobijala u prvim danima postnatalnog života.

Radi postizanja cilja istraživanja postavljeni su sledeći zadaci:

1. Odabrati krave u poslednjoj fazi graviditeta, 21 dan pre očekivanog termina porođaja i izdvojiti u posebni deo objekta. Prvu grupu krava ( $n = 10$ ) odabrati u temperaturno optimalnom periodu godine (mart i april) a drugu grupu krava ( $n = 10$ ) odabrati u temperaturno nepovoljnom periodu godine (juli i avgust).
2. Podatke o meteorološkim parametrima (temperatura vazduha i relativna vlažnost vazduha), uzeti iz najbliže meteorološke stanice, a zatim izračunati vrednosti satnih THI tokom celog trajanja oglada.
3. Kod svih krava, 15 dana pre očekivanog termina porođaja, odrediti puls, elektrohemijsku reakciju krvi i uzeti uzorke krvi za određivanje koncentracija biohemijskih parametara (glukoze, NEFA, ukupnih proteina, albumina, uree, ukupnog bilirubina) i hormona (kortizola, leptina, insulina, trijodtironina, tiroksina i IGF- I).
4. Odmah nakon rođenja, obeležiti telad svih krava i ostaviti ih do 2 sata uz svoje majke bez mogućnosti sisanja. Nakon toga smestiti telad u individualne boksove i ponuditi im kolostrum njihovih majki, u istim količinama, i to u sledećim periodima: 4, 14. i 26 sati nakon rođenja. Posle tog perioda telad napajati mlekom svojih majki dva puta dnevno, u istim količinama, i pratiti ih do 7. dana postnatalnog života.
5. Svu telad uključenu u ogled izmeriti kako odmah nakon rođenja, tako i nakon završetka oglada, odnosno 7. dana neonatalnog života.
6. U svim uzorcima kolostruma, a kasnije i mleka, odrediti koncentraciju imonoglobulina G klase (IgG) i nutritivnu vrednost kolostruma (sadržaj masti, proteina, laktoze, suve materije).

7. Uzorke krvi teladi uzeti neposredno nakon rođenja (pre napajanja kolostrumom), kao i 1, 2, 3. i 7. dana nakon rođenja. U uzorcima krvi, u koje je dodat antikoagulans EDTA, odrediti hematološke parametre: broj crvenih krvnih zrnaca, ukupan broj belih krvnih ćelija, monocita, bazofila, eozinofila, neutrofila, hematokrit, koncentraciju hemoglobina, MCH, MCHC, MCV, MPV i broj trombocita. Nakon izdvajanja krvnog seruma u uzorcima odrediti koncentracije biohemijskih parametara (NEFA, ukupni proteini, albumini, glukoza), uključujući i status mineralnih materija (Mg, Ca, Pi, Na, K, Mn, Se, Co, Cu, Zn, Fe), koncentracije hormona (insulin, kortizol, trijodtironin, tiroksin, leptin), IgG, parametre oksidativnog stresa i pH krvi.
8. Kod teladi starih 7 dana izvesti IVGTT i u svim uzorcima krvi uzetim tokom izvođenja testa opterećenja odrediti koncentracije glukoze, NEFA i insulina.
9. Proceniti stepen insulinske rezistencije perifernih tkiva teladi upotrebom odgovarajućih matematičkih modela. U te svrhe izračunati RQUICKI indeks, kao i parametre vezane za promene koncentracije glukoze ( $k$ ,  $T_{1/2}$ ,  $Pik_{glukoza}$  i  $AUC_{glukoza}$ ), insulina ( $\Delta Max_{insulin}$ ,  $Pik_{insulin}$  i  $AUC_{insulin}$ ) i NEFA ( $AUC_{NEFA}$ ) u toku izvođenja IVGTT.



## 4. MATERIJAL I METODE RADA

Ekperiment je izveden na komercijalnoj farmi mlečnih krava ("Jabučki rit", PKB). Farma se nalazi na severnoj koordinati od 44°49'14" i istočnoj kordinati od 20°27'44", odnosno u području umereno kontinentalne klime. Ogled je izveden tokom dve sezone u 2015. godini: (1) tokom sezone niskih temperatura vazduha ("low air temperature" - LAT sezone) koja je obuhvatala period od 1. februara do 21. marta i (2) tokom sezone visokih temperatura vazduha ("high air temperature" - HAT sezone) koja je obuhvatala period od 1. jula do 22. avgusta. Trajanje svakog perioda je određeno tako da je uključilo poslednjih 30 dana graviditeta prve oteľjene krave i prvih sedam dana života poslednjeg oteľjnog teleta iz grupe.

Tokom obe sezone, štale u kojima su držane krave, nisu imale bočne zidove, a krovna konstrukcija popločana šperpločom nije imala toplotnu izolaciju. Štale nisu bile opremljene sistemima za hlađenje. Tokom LAT sezone, u štalama u kojima su držane krave postavljene su bale sena, na način da štite krave u slučajevima jakog vetra i hladnoće. Krave su držane na drvenim podovima prekrivenim suvom slamom, koji su imali drenažu sa urin i fekalije.

### 4.1. ODREĐIVANJE KLIMATSKIH PARAMETARA

Temperatura vazduha i relativna vlažnost vazduha su merene svakog sata od strane Hidrometeorološkog zavoda Srbije, lociranog 1 km od farme. Merenja su sprovedena u skladu sa pravilima i standardima Svetske meteorološke organizacije (WMO - *World Meteorological Organization*). Temperatura vazduha je merena suvim živinim termometrom klase A (Thermo Schneider Normal-Thermometer, Rolan Herma, Germany). Relativna vlažnost vazduha je merena aspiracionim psihrometrom (Aspiration Hygrometer by Assman, Theodor Friedrich and Co., Germany). Instrumenti su postavljeni u meteorološke kutije pozicionirane 2 metra iznad površine zemlje i bili su zaštićeni od direktnog sunčevog zračenja.

Temperaturno-humidni indeks (THI) je izračunat koristeći "dry bulb temperature" (Tdb, °F) i "relative humidity" (RH), koristeći formulu prema (Collier i sar. 2011):  
$$THI = Tdb - (0.55 - (0.55 * RH / 100)) * (Tdb - 58).$$

## 4.2. OGLEDNE ŽIVOTINJE

U svrhu ogleda, odabrano je 20 teladi holštajn rase. Prva grupa je obuhvatala 10 teladi poreklom od majki koje su period kasnog graviditeta iznele u LAT sezoni (LAT telad), dok je druga grupa obuhvatala 10 teladi poreklom od majki koje su bile izložene HAT sezoni tokom perioda kasnog graviditeta (HAT telad). Majke LAT teladi su označene kao LAT majke, dok su majke HAT teladi označene kao HAT majke.

LAT i HAT majke su identično hranjene uz upotrebu miksiranog obroka (TMR-“total mixed ration”) sastavljenog u skladu sa potrebama formulisanim da zadovolje ili prevaziđu NRC (2001) norme. Počevši od momenta zasušenja odnosno od 65. dana pre očekivanog termina porođaja do 21. dana pre očekivanog termina porođaja sve krave su hranjene obrocima za gravidne krave (sirovi proteini=126 g/kg DM; sirove masti=31 g/kg DM;  $NE_L$ =5.7 MJ/kg DM; ADF (kisela deterdžent vlakna)=270 g/kg DM; NDF (neutralna deterdžent vlakna)=438 g/kg DM). Dvadeset i prvog dana pre očekivanog termina porođaja sve krave su prebačene na pripremljeni obrok (sirovi proteini=138 g/kg DM; sirove masti=28 g/kg DM;  $NE_L$ =6.7 MJ/kg DM; ADF=241 g/kg DM; NDF=377 g/kg DM). Posle porođaja svim kravama je obezbeđen obrok za krave u laktaciji (sirovi proteini=161 g/kg DM; sirove masti=21 g/kg DM;  $NE_L$ =7.3 MJ/kg DM; ADF=221 g/kg DM; NDF=358 g/kg DM). Hrana je davana dvokratno, u 7<sup>h</sup> i 16<sup>h</sup>. Krave su imale slobodan pristup vodi. DMI je meren tokom dva uzastopna dana nedelji, i to u četvrtoj i prvoj nedelji pre očekivanog termina porođaja, kao i u prvoj nedelji nakon porođaja. Merenja DMI su izvedena za svaku kravu oduzimanjem preostale količine TMR-a od inicijalno date količine.

Dužina graviditeta (LAT majke: 280±0,69 dana; HAT majke: 279±1,37 dana) kao i servis period (~60 dana) kod obe grupe krava bili su slični. Vrednosti rektalnih temperatura majki, merenih odmah nakon porođaja, iznosile su 38,61±0,07°C za LAT majke i 39,51±0,17°C za HAT majke ( $P<0,001$ ).

Nakon rođenja, svako tele je provelo dva sata uz majku, ali bez mogućnosti sisanja. Naime, odmah nakon rođenja, telad su premeštena ispred majki od kojih su bila razdvojena drvenom ogradom, koja je omogućavala majkama da ližu telad, a telad sprečila da pristupe sisanju. Nakon dva sata, telad su odvojena od majki, smeštena u individualne bokseve

popločane drvenim podom prekrivenim suvom slamom, gde su hranjena kolostrumom i kasnije mlekom, do sedmog dana života. Kolostrum je ponuđen teladi preko flaše sa cuclom u jednakim količinama (2,5 L po teletu), i to 2, 14. i 16. sata nakon rođenja. Nakon toga, telad su hranjena majčinim mlekom iz kante dva puta dnevno u individualnim porcijama (3 L po teletu). Kolostrum od LAT majki je označen kao LAT kolostrum, dok kolostrum od HAT majki je označen kao HAT kolostrum.

Sprovođenje ogleada na životinjama odobreno je od strane Etičke komisije Fakulteta veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu, u saglasnosti sa nacionalnom regulativom vezanom za dobrobit životinja.

### **4.3. ODREĐIVANJE FIZIOLOŠKIH PARAMETARA TELADI**

Rektalna temperatura, frekvenca srčanog rada, frekvenca disanja i telesna masa (TM) su merene dva sata nakon rođenja svakog teleta (0. dan) i sedmog dana postnatalnog života u 09:30 časova ujutro. Rektalna temperatura je merena digitalnim veterinarskim termometrom (MediChek Large Veterinary Thermometer, THR010-6012V, USA). Frekvenca srčanog rada je merena auskultacijom prvog i najglasnijeg srčanog tona, sa leve strane u visini lakta životinje, između trećeg i petog interkostalnog prostora, koristeći stetoskop (3M Littman Classic III Stethoscope, USA) u trajanju od jednog minuta i izražena je kao otkucaji u minuti. Frekvenca disanja je određena brojanjem pokreta rebara u trajanju od jednog minuta i izražena je kao udisaj-izdisaj u minuti. U navedenim danima je merena i elektrohemijska reakcija krvi korišćenjem pHmetra (HI 9321, HANNA instruments, Woonsocket, RI, USA), kalibrisanog za vrednosti rastvora pH 7,00 i 7,40. Krv za određivanje elektrohemijske reakcije je uzeta anaerobno punktiranjem *v.jugularis* u heparinisane epruvete u količini od 10 mL po uzorku, a merenje je izvršeno u toku 5 sekundi nakon otvaranja epruvete. Krv za određivanje elektrohemijske reakcije je uzorkovana odmah nakon rođenja (0. dan) i u 10:00 časova ujutro za 7. dan.

#### **4.4. UZIMANJE UZORKA KOLOSTRUMA MAJKI I KRVI MAJKI I TELADI**

Prvi, drugi i treći kolostrum, koji su korišćeni za prva tri obroka teladi, uzorkovani su od svake majke neposredno pred hranjenje teladi, odnosno 2, 14. i 26. sata nakon porođaja. Uzorci su sakupljeni u sterilne posude i čuvani na -20°C za dalje analize. Uzorci kolostruma HAT krava označeni su kao HAT kolostrumi (n=30), a uzorci kolostruma HAT krava označeni su kao HAT kolostrumi (n=30).

Krv od majki je uzorkovana punktiranjem *v. jugularis* odmah nakon porođaja.

Krv za određivanje biohemijskih parametara, hormona, oksidativnog stresa i minerala, uzorkovana je punktiranjem *v. jugularis* odmah po rođenju, pre ingestije kolostruma (dan 0) i 1, 2, 3. i 7. dana života teleta u 10:00 časova ujutro. Za analize hematoloških parametara korišćeni su uzorci krvi uzorkovani na dan rođenja i sedmog dana postnatalnog života. Za analize biohemijskih parametara, hormona i minerala, uzorci su prikupljeni u vakutajnere sa *serum klot* aktivatorom. Za analize parametara oksidativnog stresa, uzorci su prikupljeni u heparinisane vakutainer epruvete. Krv u serum klot aktivator epruvetama je ostavljena na sobnoj temperaturi do zgrušavanja, dok su heparinisane vakutainer epruvete odmah smeštene u pokretni frižider ispunjen ledom i prenesene u laboratoriju za dalje analize. Serum i plazma su dekantirani, centrifugirani u trajanju od 30 min na 3000 x g, razdvojeni u alikvote od po 1,5 mL i pohranjeni u polipropilenske mikroepuvete na -20°C do analize. Uzorci krvi za hematološka ispitivanja su prikupljeni u vakutajnere sa EDTA antikoagulansom.

#### **4.5. ANALIZA HEMIJSKOG SASTAVA KOLOSTRUMA MAJKI**

Procenat masti u kolostrumu, suve materije bez masti (SMBM), laktoze i proteina su određeni u punom mleku pomoću LactoScope Filter C3+ / C4+ (Delta Instruments, the Netherlands). Za određivanje koncentracije IgG u kolostrumu bilo je neophodno odvojiti kolostralni serum koji je dobijen najpre centrifugiranjem odmrznutog kolostruma na 2000 rpm u trajanju od 20 minuta. Izdvojeni gornji sloj masti pažljivo je uklonjenom vakuum

aspiracijom, dok je kazein precipitiran dodavanjem 175  $\mu$ L sirila u 10 mL obezmašćenog kolostruma. Nakon 30 min inkubacije na 37°C, uzorci su centrifugirani u trajanju od 15 min na 3000 rpm, a kolostralni supernatant je alikvotovan i čuvan na -20°C do upotrebe.

Koncentracije IgG u kolostralnom serumu je određena radijalnom imunodifuzijom koristeći komercijalni kit (Bovine RID Kit, INEP, Belgrade, Serbia) prema uputstvu proizvođača.

Koncentracija IGF-I u kolostralnom serumu je određena radioimunoesejem (RIA-IGF-I, INEP, Belgrade, Srbija).

#### **4.6. ODREĐIVANJE BIOHEMIJSKIH PARAMETARA, HORMONA I PARAMETARA OKSIDATIVNOG STRESA U KRVI TELADI**

Koncentracije ukupnih proteina, albumina, uree i ukupnog bilirubina u krvnom serumu, određeni su pomoću analizatora (VetTest Chemistry Analyzer version 8.22A device, IDEXX, Westbrook, USA). Za svaki parametar su korišćeni pojedinačni slajdovi (IDEXX, Westbrook, USA).

Koncentracija glukoze je određena poluautomatskim biohemijskim analizatorom (STAT FAX 3300 AWARENESS TECHNOLOGY INC, USA) uz upotrebu Randox (Crumlin, UK) kitova metodom enzimske oksidacije u prisustvu glukozne oksidaze.

Koncentracija IgG u krvnom serumu je određena radioimunodifuzijom (RID) uz upotrebu komercijalnih kitova (Bovine RID Kit, INEP, Belgrade, Serbia), prema uputstvu proizvođača.

Koncentracije insulina, IGF-I, kortizola, trijodtironina ( $T_3$ ) i tiroksina ( $T_4$ ) su određene radioimunoesejom (RIA-Insulin, RIA-IGF-I, RIA-Cortisol, RIA- $T_3$ , RIA- $T_4$ , INEP, Beograd, Srbija). Insulin je određen korišćenjem komercijalnog kita namenjenog humanim krvnim serumima, ali validiranog za goveđi serum. Unakrsna reaktivnost anti-humanih insulinskih antitela sa goveđim insulinom bila je približno 100%, a standardi za radioimunoesej su napravljeni prema goveđem insulinu. Intra- i interesejski koeficijenti varijacije bili su manji ili približni 10%, i manji od 5%, pojedinačno.

Koncentracija leptina je određena upotrebom ELISA metode uz korišćenje govedeg leptin Elisa Kita (Cusabio, Co, Carlsbad, CA, USA).

Aktivnost glutacion peroksidaze (GSH-Px) je određena kinetičkom metodom sa komercijalnim kitom (RANSEL, Randox Laboratories, UK).

#### **4.7. INTRAVENSKI TEST TOLERANCIJE GLUKOZE**

Telad obe grupe podvrgnuta su IVGTT sedmog dana starosti, u svrhu određivanja parametara kinetike insulina i glukoze. Testiranja su sprovedena u 10:00 časova ujutro, pre jutarnjeg hranjenja teladi. Glukoza je aplikovana u dozi od 200 mg/kg TM (glukoza 2,78 mol/L wt/vol; Zorka Šabac, Srbija) u *v. jugularis* s jedne strane vrata, dok su uzorci krvi uzimani iz *v. jugularis* sa druge strane vrata. Uzorci krvi za određivanje koncentracija glukoze i insulina su uzeti naposredno pre početka infuzije glukoze (min 0), kao i 4, 8, 12, 18, 25, 35. i 60. minuta nakon početka infuzije glukoze. Merenja koncentracije glukoze i insulina, urađena su na isti način kako je opisano u delu koji se odnosi na određivanja koncentracija biohemijskih parametara i hormona u krvi. Koncentracije glukoze i insulina određene 0. minuta IVGTT su predstavljene kao vrednosti 7. dana života u okviru dela u kome su predstavljene koncentracije biohemijskih parametara i hormona.

Koncentracija NEFA je određena iz uzoraka krvi uzetih 0. minuta na poluautomatskom biohemijskom analajzeru (STAT FAX 3300 AWRENESS TECHNOLOGY INC, USA), upotrebom Randox (UK) kitova uz korišćenje enzimske kolorimetrijske metode.

## 4.8. PRERAČUNAVANJE KINETIKE INSULINA I GLUKOZE TOKOM IVGTT I RQUICKI

Kinetika glukoze tokom IVGTT je određena pomoću sledećih parametara: bazalna koncentracija glukoze u serumu ( $T_{0\text{glukoza}}$ ), maksimalna koncentracija glukoze u serumu ( $Pik_{\text{glukoza}}$ ), stopa smanjenja ( $k$ ), poluvreme eliminacije glukoze ( $T_{1/2}$ ) i površina ispod glukoze krive ( $AUC_{\text{glukoza}}$ ).

Kinetika insulina tokom IVGTT je određena pomoću sledećih parametara: bazalna koncentracija insulina u serumu ( $T_{0\text{insulin}}$ ), maksimalna koncentracija insulina u serumu ( $Pik_{\text{insulin}}$ ), porast insulina ( $\Delta MAX_{\text{insulin}}$ ) i površina ispod insulinske krive ( $AUC_{\text{insulin}}$ ).

Bazalne koncentracija glukoze i insulina određene su pre aplikacije glukoze. Stopa smanjenja koncentracije glukoze ( $k$  vrednost) određena je iz serumske koncentracije glukoze od 12-45. minute, koristeći modifikovanu formulu Holtenius i saradnika (2003):

$$k = [(\ln_{\text{glukoza}T_{12}} - \ln_{\text{glukoza}T_{45}})/(T_{45}-T_{12})]*100 (\% \text{ min}).$$

Poluvreme eliminacije ( $T_{1/2}$ ) egzogeno aplikovane glukoze je izračunato prema formuli:  $T_{1/2} = 0.693/k*100$  (min).

Porast koncentracije insulina ( $\Delta MAX_{\text{insulin}}$ ) je izračunat kao razlika između vrednosti za  $Pik_{\text{insulin}}$  i  $T_{0\text{insulin}}$ , odnosno kao razlika između maksimalnih i bazalnih koncentracija insulina.

AUC za insulin i glukozu je procenjen kao integrisano područje (linalni trapezoidni metod) ispod krive koncentracije insulina i glukoze u serumu tokom 60 minuta nakon infuzije. Za izračunavanje je korišćen softver Origin verzija 8.1 (OriginLab, Northampton, MA USA).

Indeks insulinske osetljivosti (RQUICKI- "Revised Quantitative Insulin Check Index") je izračunat u cilju procene insulinske rezistencije perifernih tkiva korišćenjem podataka dobijenih u IVGTT, a preko bazalnih vrednosti glukoze, insulina i NEFA (Holtenius i Holtenius, 2007), prema formuli:

$$RQUICKI = 1/[\log \text{glukoza (mg/dl)} + \log \text{insulin } (\mu\text{U/ml)} + \log \text{NEFA (mmol/L)}].$$

Niska RQUICKI vrednost je indikator smanjene osetljivosti tkiva na insulin (Holtenius i Holtenius, 2007).

## **4.9. ODREĐIVANJE KONCENTRACIJA MAKRO- I MIKROELEMENATA U KOLOSTRUMU**

U cilju određivanja koncentracija mineralnih materija, uzorci kolostruma su podvrgnuti digestiji azotnom kiselinom, a analizirane su koncentracije: magnezijuma (Mg), kalcijuma (Ca), neorganskog fosfora (Pi), natrijuma (Na), kalijuma (K), mangana (Mn), selena (Se), kobalta (Co), bakara (Zu), cinka (Zn) i gvožđa (Fe). Koncentracije su određene induktivnom spregnutom masenom spektrometrijom (ICP-MS), na instrumentu “iCap Q” (Thermo Scientific, Bremen, Germany).

## **5.0. ODREĐIVANJE KONCENTRACIJA MAKRO- I MIKROELEMENATA U KRVNOM SERUMU TELADI I KRAVA**

Određivanje koncentracija mineralnih materija (Mg, Ca, Pi, Na, K, Mn, Se, Co, Cu, Zn, i Fe) izvedeno je induktivnom spregnutom masenom spektrometrijom (ICP-MS) na instrumentu “iCap Q” (Thermo Scientific, Bremen, Germany).

## **5.1. HEMATOLOŠKI PARAMETRI**

### **5.1.1. Broj crvenih krvnih zrnaca i hematološki indikatori**

Hematološke analize su obuhvatale određivanje broja crvenih krvnih zrnaca (RBC), koncentracije hemoglobina, hematokrita, srednjeg korpuskularnog volumena (MCV), srednjeg korpuskularnog hemoglobina (MCH), srednje korpuskularne koncentracije hemoglobina (MCHC), broja trombocita i srednjeg volumena trombocita (MPV). Analize su vršene upotrebom automatizovanog veterinarskog hematološkog analizatora Advia 120 (Healthcare Diagnostics GmbH, Erlangen, Germany).

### **5.1.2. Broj belih krvnih ćelija i diferencijalna krvna slika**

Broj belih krvnih ćelija (WBC), eozinofila, bazofila, neutrofila, limfocita i monocita je određen uz upotrebu automatizovanog veterinarskog hematološkog analizatora Advia 120 (Healthcare Diagnostics GmbH, Erlangen, Germany).



## 5.2. STATISTIČKE ANALIZE

Podaci su analizirani korišćenjem softvera STATISTICA, v. 8.0 (StatSoft, Inc., Tulsa, Ok, USA). Svi rezultati su predstavljeni kao srednje vrednosti  $\pm$ SEM. Za utvrđivanje grupnih značajnosti razlika korišćena je kombinovana “međugrupna-unutargrupna” ANOVA korišćenjem 2 faktora: sezone kao varijable među grupama i vremena kao varijable unutar grupa sa 2 nivoa (u slučaju fizioloških parametara), odnosno 3 nivoa (u slučaju hemijskog sastava kolostruma majki) ili 5 nivoa (u slučaju biohemijskih i hormonalnih parametara krvi i parametara oksidativnog stresa). Model je takođe uključivao interakciju između sezone i vremena. Post-hoc Scheffe test korišćen je u svim slučajevima kada je utvrđena značajna F vrednost u ANOVA testu. Razlike od  $P < 0,05$  su smatrane značajnom, a tačne P vrednosti su uvrštene u tekstualni deo prezentovanja rezultata za odabrane parametre koji su smatrani najvažnijim za objašnjenje efekata toplotnog stresa. Razlike između svih ispitivanih vrednosti u okviru varijabli vreme i sezona prikazane su u tabelama i grafikonima korišćenjem zvezdica i slova.

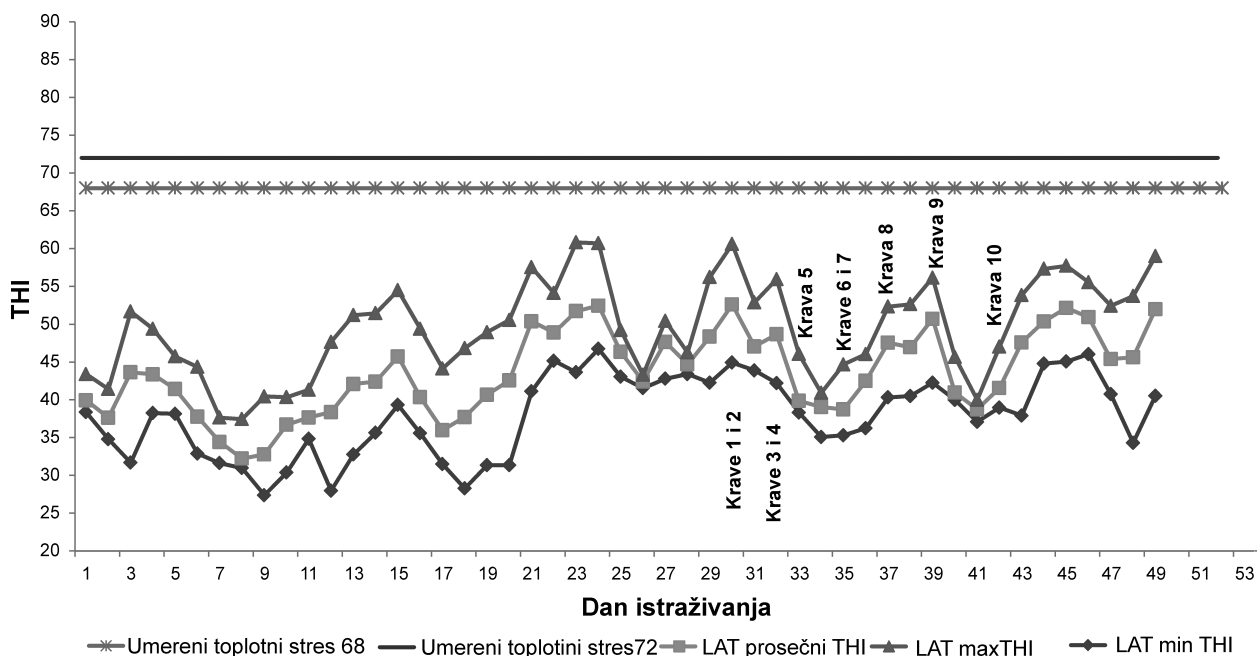
## 6. REZULTATI

### 6.1. ODABRANI METEOROLOŠKI PARAMETRI

Na grafikonima 1.a i 1.b, prikazane su prosečne, minimalne i maksimalne THI vrednosti tokom LAT i HAT sezone. U vidu histograma u sklopu grafikona 1.b, prikazane su satne vrednosti u toku kojih su životinje bile izložene umerenom toplotnom stresu ( $THI \geq 72$ , odnosno  $THI \geq 68$ ). Dodatno, obeležen je dan svakog porođaja za LAT (n=10) i HAT (n=10) krave.

#### 6.1.1. LAT sezona

Tokom LAT sezone, najniža zabeležena temperatura vazduha iznosila je  $-1,7^{\circ}\text{C}$ , dok je najviša bila  $10,9^{\circ}\text{C}$ . Prosečna vrednost spoljašnje temperature tokom ove sezone bila je  $5,20 \pm 0,46^{\circ}\text{C}$ , a prosečna vrednost THI iznosila je  $43,58 \pm 0,79$  (Slika 1.a).



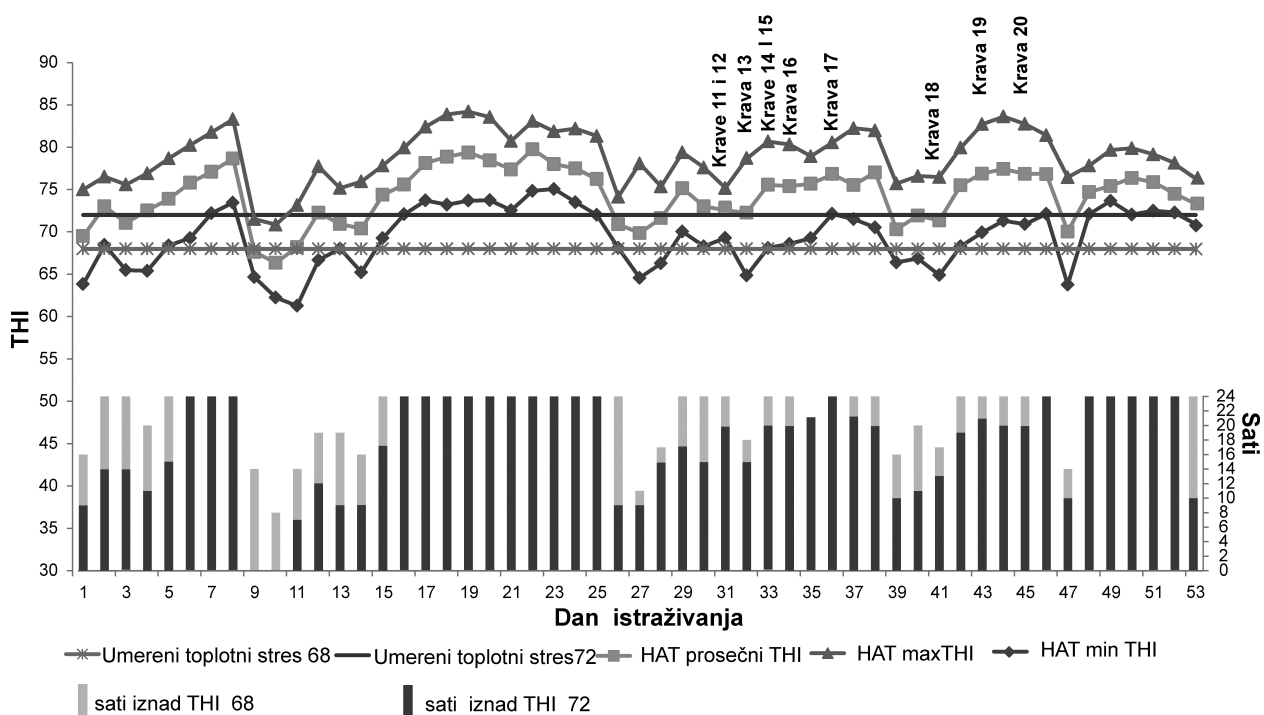
**Grafikon 1.a.** THI vrednosti tokom LAT sezone od 1. februara do 21. marta.

**Tumačenje:** *Prava linija sa zvezdicama predstavlja granicu umerenog toplotnog stresa od  $THI \geq 68$ ; Prava linija bez zvezdica predstavlja granicu umerenog toplotnog stresa od  $THI \geq 72$ ; Kriva sa kvadratima prikazuje prosečne THI obračunate za svaki dan. Kriva sa trouglovima predstavlja maksimalne THI vrednosti obračunate za svaki dan. Kriva sa*

*romboidima* prikazuje minimalne THI vrednosti obračunate za svaki dan. Dani porođaja za LAT krave (n=10) obeleženi su ispod i iznad THI krivih.

### 6.1.2. HAT sezona

Prosečna temperatura vazduha tokom HAT sezone iznosila je  $27,40 \pm 0,39^\circ\text{C}$ , sa rasponom od  $21,1^\circ\text{C}$  do  $32,2^\circ\text{C}$ , dok je prosečna vrednost THI iznosila  $74,31 \pm 0,45$ . Tokom HAT sezone, krave su bile izložene  $\text{THI} \geq 68$  tokom 37 dana, a vrednostima od  $\text{THI} \geq 72$  tokom 20 dana (Slika 1.b).



**Grafikon 1.b.** THI vrednosti tokom HAT sezone od 1. jula do 22. avgusta.

**Tumačenje:** *Prava linija sa zvezdicama* predstavlja granicu umerenog toplotnog stresa od  $\text{THI} \geq 68$ ; *Prava linija bez zvezdica* predstavlja granicu umerenog toplotnog stresa od  $\text{THI} \geq 72$ ; *Kriva sa kvadratima* prikazuje prosečne THI obračunate za svaki dan. *Kriva sa trouglovima* predstavlja maksimalne THI vrednosti obračunate za svaki dan. *Kriva sa romboidima* prikazuje minimalne THI vrednosti obračunate za svaki dan. Dani porođaja za HAT krave (n=10) obeleženi su ispod i iznad THI krivih. *Svetlim histogramima* prikazan je broj sati iznad  $\text{THI} \geq 68$  u toku dana, dok je *tamnim histogramima* prikazan broj sati iznad  $\text{THI} \geq 72$  u toku dana.

## 6.2. FIZIOLOŠKI PARAMETRI TELADI

U Tabeli 1 prikazane su vrednosti fizioloških parametara LAT teladi (n=10) i HAT teladi (n=10) tokom postnatalnog perioda (mereno 0. i 7. dana). Srednje, minimalne i maksimalne THI vrednosti zabeležene su istog sata kada su mereni fiziološki parametri i uključene su u tabelu.

**Tabela 1.** Fiziološki parametri teladi; srednje, minimalne i maksimalne THI vrednosti u odgovarajućim danima merenja.

	0. dan		7. dan	
	LAT	HAT	LAT	HAT
<b>TM (kg)</b>	45,90±1,55 <sup>A</sup>	43,00±1,65 <sup>a</sup>	48,00±1,31 <sup>A*</sup>	43,60±1,99 <sup>a</sup>
<b>Rektalna temperatura (°C)</b>	38,20±0,09 <sup>B</sup>	38,53±0,25 <sup>b</sup>	38,53±0,07 <sup>A*</sup>	39,17±0,18 <sup>a</sup>
<b>Frekvencija srčanog rada (otkucaji/min)</b>	132,70±8,83 <sup>A</sup>	123,50±6,41 <sup>a</sup>	122,60±7,45 <sup>A*</sup>	100,80±5,19 <sup>b</sup>
<b>Frekvencija disanja (udisaj-izdisaj/min)</b>	39,00±1,90 <sup>A*</sup>	51,90±3,84 <sup>a</sup>	46,10±4,72 <sup>A</sup>	56,80±3,66 <sup>a</sup>
<b>pH</b>	7,36±0,02 <sup>A*</sup>	7,4±0,02 <sup>a</sup>	7,35±0,03 <sup>A</sup>	7,36±0,01 <sup>b</sup>
<b>Srednji THI</b>	43,77±1,76	75,0 ±0,51	46,97±1,23	75,37±0,79
<b>Min – Max THI</b>	35,08±49,17	72,64±77,99	40,39±51,72	72,18±79,29

**Tumačenje:** *LAT*= sezona niskih temperatura vazduha od 1. februara do 21. marta, *HAT*= sezona visokih temperatura vazduha od 1. jula do 22. avgusta;

<sup>A, B</sup> – različita velika slova označavaju statistički značajne razlike ( $P < 0,05$ ) u vrednostima u okviru *LAT* grupe; <sup>a, b</sup> – različita mala slova označavaju statistički značajne razlike ( $P < 0,05$ ) u vrednostima u okviru *HAT* grupe; \* značajne razlike ( $P < 0,05$ ) između *LAT* i *HAT* grupe u istom vremenskom periodu.

Telesna masa (TM) bila je niža kod HAT teladi nego kod LAT, sa značajnom razlikom 7 dana života ( $P=0,028$ ). Telad iz HAT grupe su imala značajno više vrednosti rektalne temperature ( $P=0,004$ ) i značajno niže vrednosti frekvence srčanog rada ( $P=0,005$ ) 7. dana života, u odnosu na telad iz LAT grupe. Frekvencija disanja je bila viša kod HAT teladi u odnosu na LAT telad, sa značajnom razlikom 0. dana života ( $P < 0,05$ ). Nultog dana,

srednja vrednost elektrohemijske reakcije krvi kod HAT teladi bila je značajno viša ( $P=0,040$ ) u poređenju sa odgovarajućim vrednostima kod LAT teladi (Tabela 1).

### 6.3. HEMIJSKI SASTAV KOLOSTRUMA KRAVA

U tabeli 2 prikazan je hemijski sastav prva tri kolostruma LAT i HAT krava majki.

**Tabela 2.** Hemijski sastav kolostruma HAT i LAT krava majki.

	1. kolostrum		2. kolostrum		3. kolostrum		P vrednost		
	LAT	HAT	LAT	HAT	LAT	HAT	Sezona	Vreme	S*V
Mlečna mast, %	7,65±0,35 <sup>A*</sup>	6,09±0,34 <sup>a</sup>	6,36±0,35 <sup>B*</sup>	5,13±0,37 <sup>ab</sup>	4,33±0,31 <sup>C</sup>	3,45±0,31 <sup>b</sup>	<0,001	<0,001	0,618
SMBM, %	29,32±1,29 <sup>A*</sup>	23,17±1,37 <sup>a</sup>	18,49±0,95 <sup>B</sup>	16,87±1,21 <sup>b</sup>	15,33±0,31 <sup>C</sup>	14,73±1,44 <sup>b</sup>	0,004	<0,001	0,047
Laktoza, %	3,45±0,12 <sup>C*</sup>	2,11±0,07 <sup>b</sup>	3,96±0,18 <sup>B*</sup>	2,67±0,30 <sup>b</sup>	4,87±0,21 <sup>A*</sup>	3,49±0,22 <sup>a</sup>	<0,001	<0,001	0,968
Proteini, %	14,38±0,44 <sup>A*</sup>	11,20±0,11 <sup>a</sup>	9,66±0,34 <sup>B*</sup>	7,33±0,51 <sup>b</sup>	7,45±0,45 <sup>C*</sup>	5,54±0,59 <sup>c</sup>	<0,001	<0,001	0,338
IgG, mg/mL	68,95±2,55 <sup>A*</sup>	59,94±1,58 <sup>a</sup>	53,59±2,57 <sup>B*</sup>	45,41±2,09 <sup>b</sup>	32,83±1,49 <sup>C*</sup>	28,31±0,99 <sup>c</sup>	<0,001	<0,001	0,482
IGF-I, nmol/L	65,42±5,85 <sup>A*</sup>	43,03±1,92 <sup>a</sup>	40,64±4,96 <sup>B*</sup>	25,95±2,27 <sup>b</sup>	22,69±3,80 <sup>C</sup>	16,57±1,65 <sup>b</sup>	<0,001	<0,001	0,106

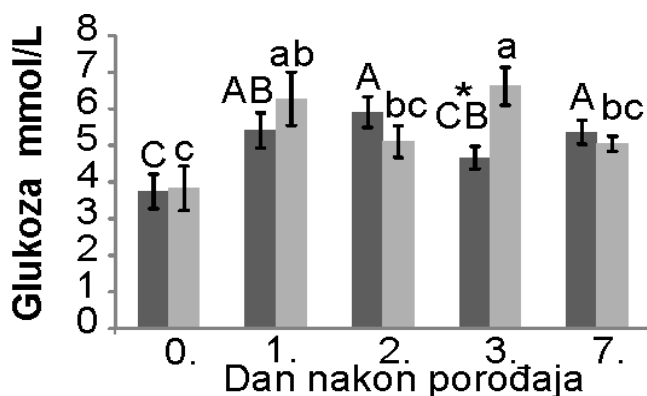
**Tumačenje:** *LAT*= sezona niskih temperatura vazduha od 1. februara do 21. marta, *HAT*= sezona visokih temperatura vazduha od 1. jula do 22. avgusta; *SMBM*= suva materija bez masti; **1. kolostrum** je uzorkovan drugog sata nakon porođaja; **2. kolostrum** je uzorkovan 14. sata nakon porođaja; **3. kolostrum** je uzorkovan 26. sata nakon porođaja; *Vreme*= vreme uzorkovanja kolostruma; *Sezona*= sezona uzorkovanja (*LAT* i *HAT*)  
<sup>A, B</sup> - različita velika slova označavaju statistički značajne razlike ( $P<0,05$ ) u vrednostima u okviru *LAT* grupe; <sup>a, b</sup> - različita mala slova označavaju statistički značajne razlike ( $P<0,05$ ) u vrednostima u okviru *HAT* grupe; \* značajne razlike ( $P<0,05$ ) između *LAT* i *HAT* grupe u istom vremenskom periodu.

Iz Tabele 2 se zapaža da su u *HAT* kolostrumu, u odnosu na *LAT*, vrednosti *SMBM* bile značajno niže ( $P=0,004$ ) u prvom kolostrumu, dok su vrednosti sadržaja mlečne masti i koncentracija *IGF-I* bile značajno niže u prva dva kolostruma ( $P=0,005$  i  $P=0,027$ , pojedinačno, za sadržaj mlečne masti;  $P=0,002$  i  $P=0,015$ , pojedinačno, za koncentracije *IGF-I*). U sva tri *HAT* kolostruma zabeležene su značajno niže vrednosti laktoze ( $P<0,001$ ;  $P=0,017$  i  $P<0,001$ , pojedinačno), proteina ( $P<0,001$ ;  $P=0,001$  i  $P=0,014$ , pojedinačno) i *IgG* ( $P=0,008$ ;  $P=0,024$  i  $P=0,022$ , pojedinačno) u odnosu na *LAT* kolostrum.

## 6.4. BIOHEMIJSKI PARAMETRI KRVI TELADI

### 6.4.1. Glukoza

Na grafikonu 2, u vidu histograma prikazana je koncentracija glukoze u krvi LAT i HAT teladi, 1, 2, 3. i 7. dana nakon rođenja.



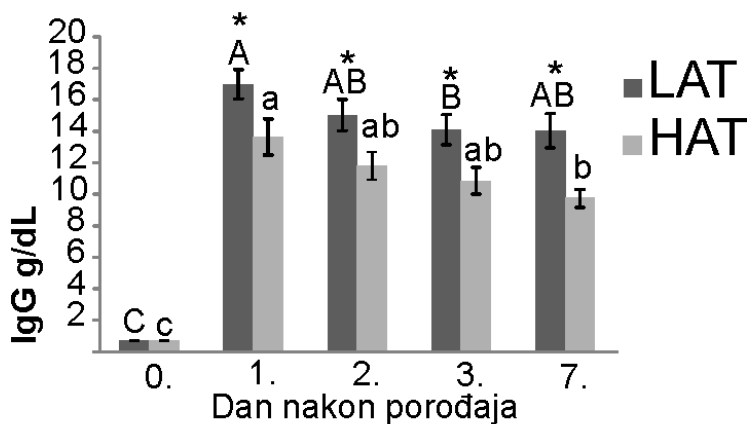
**Grafikon 2.** Koncentracija glukoze u krvi LAT i HAT teladi merena 0, 1, 2, 3. i 7. dana nakon rođenja.

**Tumačenje:** *različita velika slova* označavaju statistički značajne razlike ( $P < 0,05$ ) između koncentracija glukoze u okviru LAT grupe u različitim vremenskim periodima; *različita mala slova* označavaju statistički značajne razlike ( $P < 0,05$ ) između koncentracija glukoze u okviru HAT grupe u različitim vremenskim periodima. \* označava statistički značajne razlike ( $P < 0,05$ ) u koncentracijama glukoze između LAT i HAT grupe u istom vremenskom periodu. **Tamni stubići** označavaju vrednosti glukoze u krvi LAT teladi; **Svetli stubići** označavaju vrednosti glukoze u krvi HAT teladi.

Iz grafikona 2 se zapaža da je koncentracija glukoze bila značajno niža ( $P = 0,004$ ) kod HAT teladi 3. dana postnatalnog života, u odnosu na koncentraciju glukoze u istom danu u krvi LAT teladi.

### 6.4.2. Imunoglobulini G

Na grafikonu 3, u vidu histograma prikazana je koncentracija IgG u krvi LAT i HAT teladi u ispitivanim danima postnatalnog života teladi.



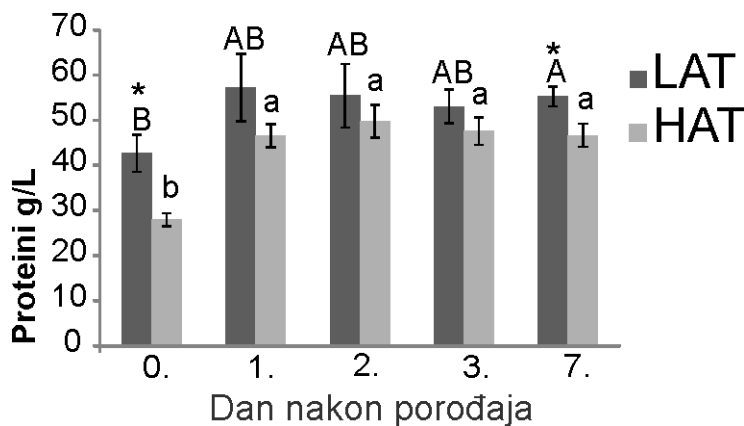
**Grafikon 3.** Koncentracija IgG u krvi LAT i HAT teladi merena 0, 1, 2, 3. i 7. dana nakon rođenja.

**Tumačenje:** *različita velika slova* označavaju statistički značajne razlike ( $P < 0,05$ ) između koncentracija IgG u okviru LAT grupe u različitim vremenskim periodima; *različita mala slova* označavaju statistički značajne razlike ( $P < 0,05$ ) između koncentracija IgG u okviru HAT grupe u različitim vremenskim periodima; \* označava statistički značajne razlike ( $P < 0,05$ ) u koncentracijama IgG između LAT i HAT grupe u istom vremenskom periodu.

Na grafikonu 3 se zapaža da do 7. dana nakon rođenja, u krvi HAT teladi izmerene su značajno niže koncentracije ukupnih serumskih IgG ( $P=0,036$ ;  $P=0,027$ ;  $P=0,021$  i  $P=0,003$  za 1, 2, 3. i 7. dan, pojedinačno), u odnosu na isti parametar u krvi LAT teladi.

### 6.4.3. Proteini

Na grafikonu 4, u vidu histograma prikazana je koncentracija proteina u krvi LAT i HAT teladi u ispitivanim danima postnatalnog života teladi.



**Grafikon 4.** Koncentracija proteina u krvi LAT i HAT teladi merena 0, 1, 2, 3. i 7. dana nakon rođenja.

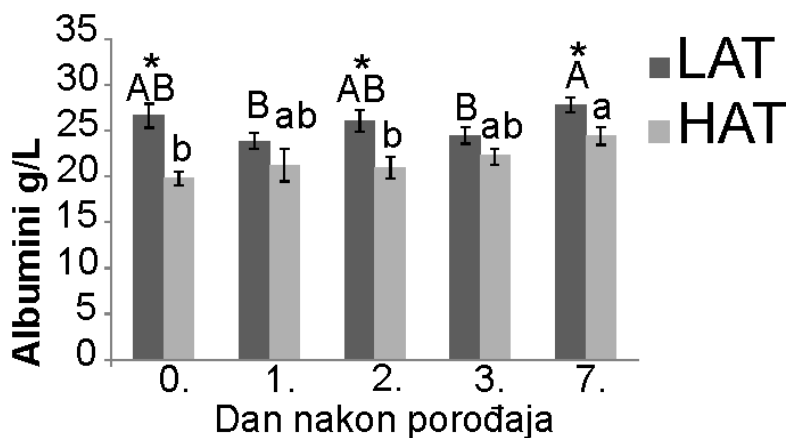
**Tumačenje:** različita velika slova označavaju statistički značajne razlike ( $P < 0,05$ ) između koncentracija proteina u okviru LAT grupe u različitim vremenskim periodima; **različita mala slova** označavaju statistički značajne razlike ( $P < 0,05$ ) između koncentracija proteina u okviru HAT grupe u različitim vremenskim periodima; \* označava statistički značajne razlike ( $P < 0,05$ ) u koncentracijama proteina između LAT i HAT grupe u istom vremenskom periodu.

Iz grafikona 4 se zapaža da je HAT grupa teladi je imala značajno nižu koncentraciju proteina 0. i 7. dana ( $P=0,003$  i  $P=0,019$ , pojedinačno), u odnosu na isti parametar u krvi LAT teladi .



#### 6.4.4. Albumini

Na grafikonu 5, u vidu histograma prikazana je koncentracija albumina u krvi LAT i HAT teladi u ispitivanim danima postnatalnog života teladi.



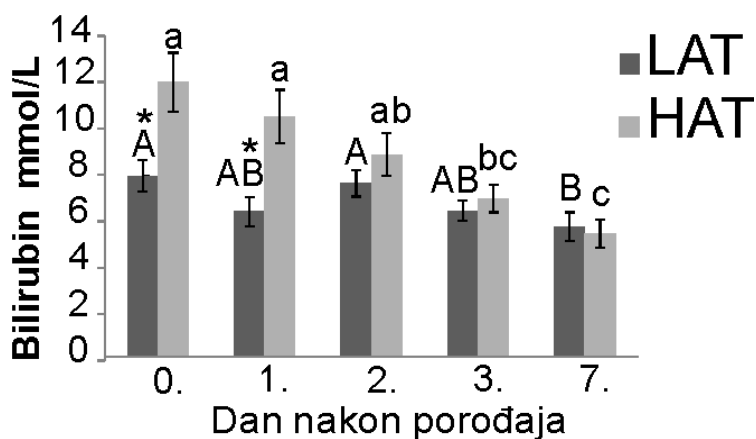
**Grafikon 5.** Koncentracija albumina u krvi LAT i HAT teladi merena 0, 1, 2, 3. i 7. dana nakon rođenja.

**Tumačenje:** *različita velika slova označavaju statistički značajne razlike ( $P < 0,05$ ) između koncentracija albumina u okviru LAT grupe u različitim vremenskim periodima; različita mala slova označavaju statistički značajne razlike ( $P < 0,05$ ) između koncentracija albumina u okviru HAT grupe u različitim vremenskim periodima; \* označava statistički značajne razlike ( $P < 0,05$ ) u koncentracijama albumina između LAT i HAT grupe u istom vremenskom periodu.*

Koncentracija albumina u krvi HAT teladi bila je značajno niža 0, 2. i 7. dana ( $P < 0,001$ ,  $P = 0,005$  i  $P = 0,015$ , pojedinačno), u odnosu na LAT telad, kako je prikazano na grafikonu 5.

#### 6.4.5. Bilirubin

Na grafikonu 6, u vidu histograma prikazana je koncentracija bilirubina u krvi LAT i HAT teladi u ispitivanim danima postnatalnog života teladi.



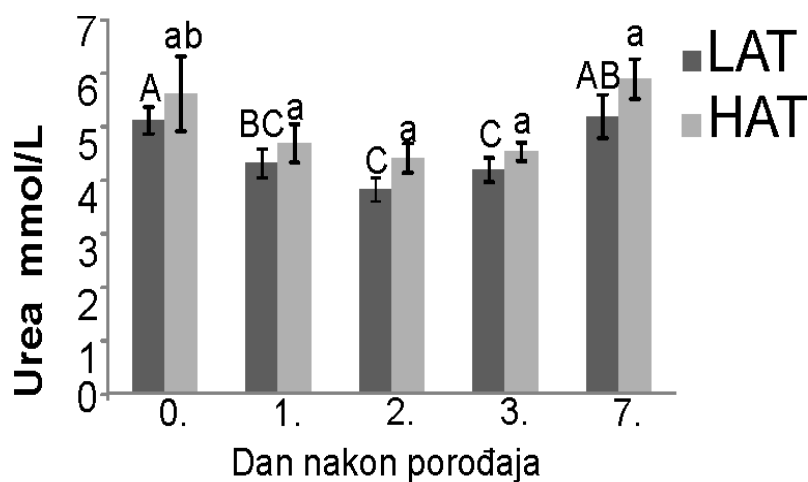
**Grafikon 6.** Koncentracija bilirubina u krvi LAT i HAT teladi merena 0, 1, 2, 3. i 7. dana nakon rođenja.

**Tumačenje:** *različita velika slova* označavaju statistički značajne razlike ( $P < 0,05$ ) između koncentracija bilirubina u okviru LAT grupe u različitim vremenskim periodima; *različita mala slova* označavaju statistički značajne razlike ( $P < 0,05$ ) između koncentracija bilirubina u okviru HAT grupe u različitim vremenskim periodima; \* označava statistički značajne razlike ( $P < 0,05$ ) u koncentracijama bilirubina između LAT i HAT grupe u istom vremenskom periodu.

Kako se zapaža iz grafikona 6, koncentracija bilirubina bila je značajno viša 0. i 1. dana ( $P=0,011$  i  $P=0,006$ , pojedinačno) u krvi HAT teladi, u odnosu na LAT telad.

#### 6.4.6. Urea

Na grafikonu 7, u vidu histograma prikazana je koncentracija uree u krvi LAT i HAT teladi u ispitivanim danima postnatalnog života teladi.



**Grafikon 7.** Koncentracija uree u krvi LAT i HAT teladi merena 0, 1, 2, 3. i 7. dana nakon rođenja.

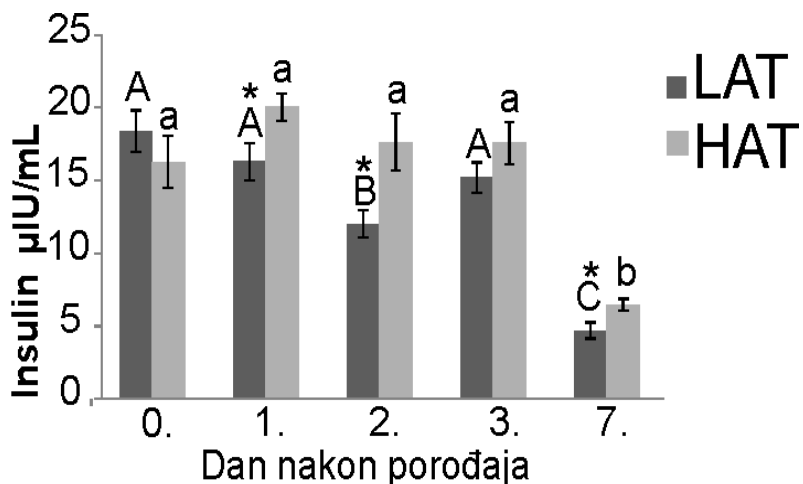
**Tumačenje:** *različita velika slova* označavaju statistički značajne razlike ( $P < 0,05$ ) između koncentracija uree u okviru LAT grupe u različitim vremenskim periodima; *različita mala slova* označavaju statistički značajne razlike ( $P < 0,05$ ) između koncentracija uree u okviru HAT grupe u različitim vremenskim periodima; \* označava statistički značajne razlike ( $P < 0,05$ ) u koncentracijama uree između LAT i HAT grupe u istom vremenskom periodu.

Iz grafikona 7 se zapaža da ne postoji značajna razlike između grupa u koncentraciji uree.

## 6.5. HORMONI U KRVI TELADI

### 6.5.1. Insulin

Na grafikonu 8, u vidu histograma prikazana je koncentracija insulina u krvi LAT i HAT teladi u ispitivanim danima postnatalnog života teladi.



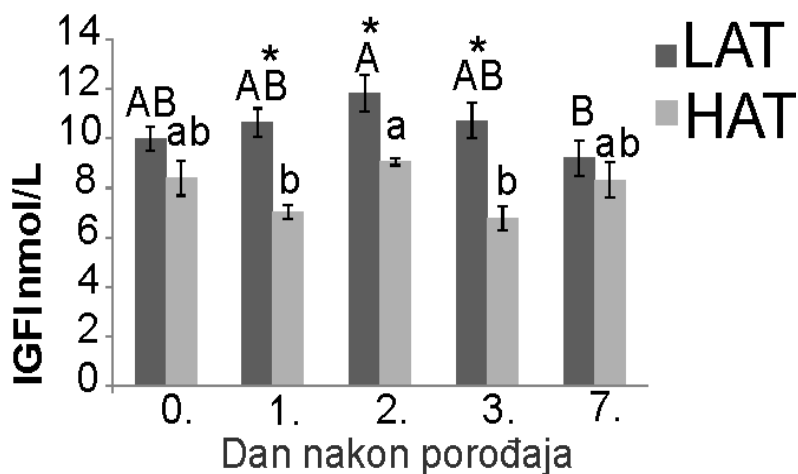
**Grafikon 8.** Koncentracija insulina u krvi LAT i HAT teladi merena 0, 1, 2, 3. i 7. dana nakon rođenja.

**Tumačenje:** *različita velika slova* označavaju statistički značajne razlike ( $P < 0,05$ ) između koncentracija insulina u okviru LAT grupe u različitim vremenskim periodima; *različita mala slova* označavaju statistički značajne razlike ( $P < 0,05$ ) između koncentracija insulina u okviru HAT grupe u različitim vremenskim periodima; \* označava statistički značajne razlike ( $P < 0,05$ ) u koncentracijama insulina između LAT i HAT grupe u istom vremenskom periodu.

Na grafikonu 8 se zapaža da je koncentracija insulina bila značajno viša 1, 2. i 7. dana u krvi HAT teladi, u odnosu na LAT telad ( $P=0,030$ ;  $P=0,019$  i  $P=0,020$ , pojedinačno).

### 6.5.2. Insulinu sličan faktor rasta I

Na grafikonu 9, u vidu histograma prikazana je koncentracija IGF-I u krvi LAT i HAT teladi u ispitivanim danima postnatalnog života teladi.



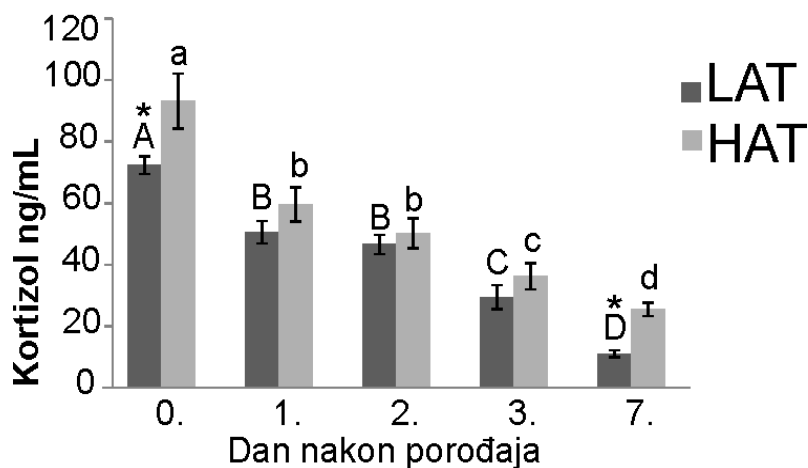
**Grafikon 9.** Koncentracija IGF-I u krvi LAT i HAT teladi merena 0, 1, 2, 3. i 7. dana nakon rođenja.

**Tumačenje:** *različita velika slova* označavaju statistički značajne razlike ( $P < 0,05$ ) između koncentracija IGF-I u okviru LAT grupe u različitim vremenskim periodima; *različita mala slova* označavaju statistički značajne razlike ( $P < 0,05$ ) između koncentracija IGF-I u okviru HAT grupe u različitim vremenskim periodima; \* označava statistički značajne razlike ( $P < 0,05$ ) u koncentracijama IGF-I između LAT i HAT grupe u istom vremenskom periodu.

Na grafikonu 9 se zapaža da je koncentracija IGF-I bila niža u krvi HAT teladi u odnosu na LAT telad u svim ispitivanim periodima, sa značajnom razlikom u 1, 2 i 3. danu ( $P < 0,001$ ;  $P = 0,020$  i  $P < 0,001$ , pojedinačno).

### 6.5.3. Kortizol

Na grafikonu 10, u vidu histograma prikazana je koncentracija kortizola u krvi LAT i HAT teladi u ispitivanim danima postnatalnog života teladi.



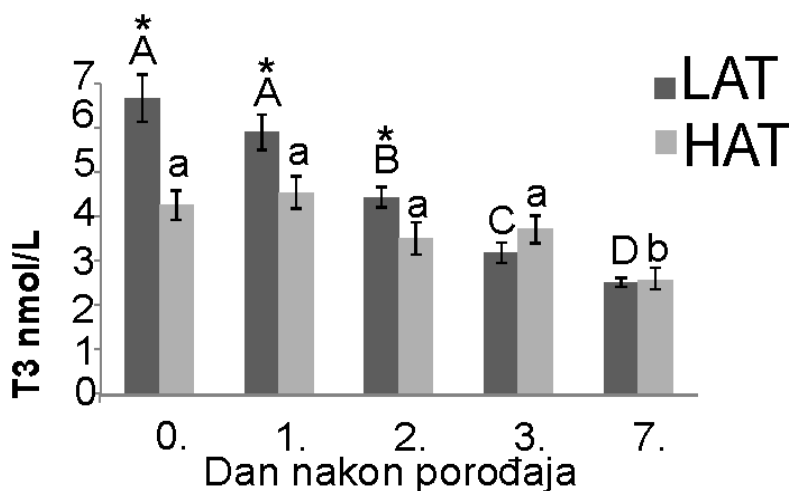
**Grafikon 10.** Koncentracija kortizola u krvi LAT i HAT teladi merena 0, 1, 2, 3. i 7. dana nakon rođenja.

**Tumačenje:** različita velika slova označavaju statistički značajne razlike ( $P < 0,05$ ) između koncentracija kortizola u okviru LAT grupe u različitim vremenskim periodima; **različita mala slova** označavaju statistički značajne razlike ( $P < 0,05$ ) između koncentracija kortizola u okviru HAT grupe u različitim vremenskim periodima; \* označava statistički značajne razlike ( $P < 0,05$ ) u koncentracijama kortizola između LAT i HAT grupe u istom vremenskom periodu.

Na grafikonu 10 se zapaža da su koncentracija kortizola 0. i 7. dana bile značajno više ( $P = 0,041$  i  $P < 0,001$ , pojedinačno) kod HAT teladi, u odnosu na LAT telad.

#### 6.5.4. Trijodtironin

Na grafikonu 11, u vidu histograma prikazana je koncentracija  $T_3$  u krvi LAT i HAT teladi u ispitivanim danima postnatalnog života teladi.



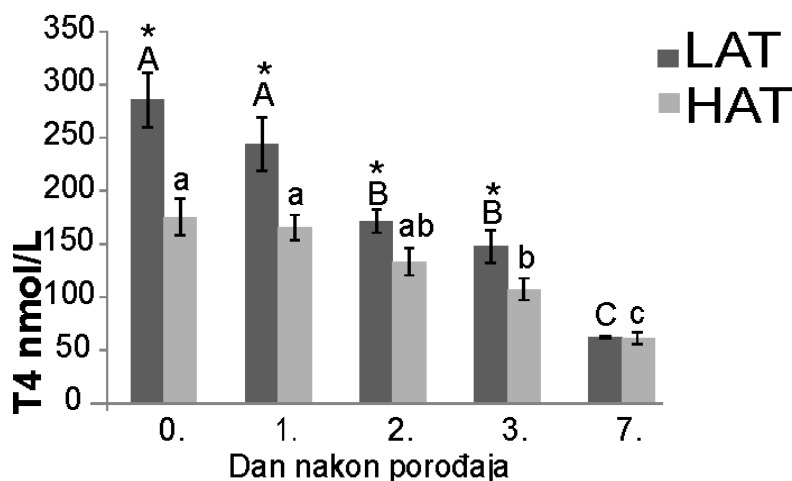
**Grafikon 11.** Koncentracija  $T_3$  u krvi LAT i HAT teladi merena 0, 1, 2, 3. i 7. dana nakon rođenja.

**Tumačenje:** *različita velika slova* označavaju statistički značajne razlike ( $P < 0,05$ ) između koncentracija  $T_3$  u okviru LAT grupe u različitim vremenskim periodima; *različita mala slova* označavaju statistički značajne razlike ( $P < 0,05$ ) između koncentracija  $T_3$  u okviru HAT grupe u različitim vremenskim periodima; \* označava statistički značajne razlike ( $P < 0,05$ ) u koncentracijama  $T_3$  između LAT i HAT grupe u istom vremenskom periodu.

Kako se vidi na grafikonu 11, koncentracije  $T_3$  bile su značajno niže 0, 1. i 2. dana kod HAT teladi u odnosu na LAT telad, i to 0, 1 i 2. dana ( $P=0,001$ ;  $P=0,022$  i  $P=0,045$ , pojedinačno).

### 6.5.5. Tiroksin

Na grafikonu 12, u vidu histograma prikazana je koncentracija  $T_4$  u krvi LAT i HAT teladi u ispitivanim danima postnatalnog života teladi.



**Grafikon 12.** Koncentracija  $T_4$  u krvi LAT i HAT teladi merena 0, 1, 2, 3. i 7. dana nakon rođenja.

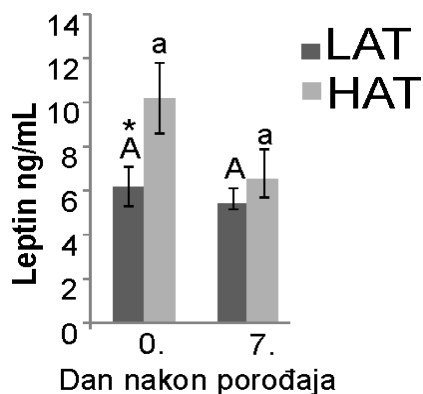
**Tumačenje:** *različita velika slova* označavaju statistički značajne razlike ( $P < 0,05$ ) između koncentracija  $T_4$  u okviru LAT grupe u različitim vremenskim periodima; *različita mala slova* označavaju statistički značajne razlike ( $P < 0,05$ ) između koncentracija  $T_4$  u okviru HAT grupe u različitim vremenskim periodima; \* označava statistički značajne razlike ( $P < 0,05$ ) u koncentracijama  $T_4$  između LAT i HAT grupe u istom vremenskom periodu.

Na grafikonu 12 se zapaža da su koncentracije  $T_4$  bile značajno niže 0, 1, 2. i 3. dana u krvi HAT telad ( $P=0,004$ ;  $P=0,011$ ;  $P=0,037$  i  $P=0,041$ , pojedinačno), u odnosu na LAT telad.



### 6.5.6. Leptin

Na grafikonu 13, u vidu histograma prikazana je koncentracija leptina u krvi LAT i HAT teladi u ispitivanim danima postnatalnog života teladi.



**Tumačenje:** *različita velika slova* označavaju statistički značajne razlike ( $P<0,05$ ) između koncentracija leptina u okviru LAT grupe u različitim vremenskim periodima; *različita mala slova* označavaju statistički značajne razlike ( $P<0,05$ ) između koncentracija leptina u okviru HAT grupe u različitim vremenskim periodima; \* označava statistički značajne razlike ( $P<0,05$ ) u koncentracijama leptina između LAT i HAT grupe u istom vremenskom periodu.

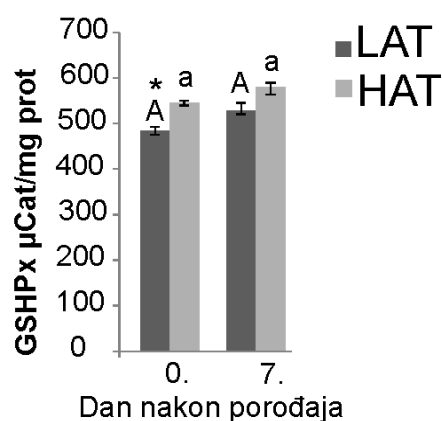
**Grafikon 13.** Koncentracija leptina u krvi LAT i HAT teladi merena 0. i 7. dana nakon rođenja.

Na grafikonu 13 se zapaža da je koncentracija leptina bila značajno viša ( $P<0,05$ ) kod HAT teladi 0. dana u odnosu na LAT telad.

## 6.6. PARAMETRI OKSIDATIVNOG STRESA

### 6.6.1. Glutation peroksidaza

Na grafikonu 14, u vidu histograma prikazana je aktivnost GSH-Px u krvi LAT i HAT teladi u ispitivanim danima postnatalnog života teladi.



**Tumačenje:** *različita velika slova* označavaju statistički značajne razlike ( $P<0,05$ ) između aktivnosti GSH-Px u okviru LAT grupe u različitim vremenskim periodima; *različita mala slova* označavaju statistički značajne razlike ( $P<0,05$ ) između aktivnosti GSH-Px u okviru HAT grupe u različitim vremenskim periodima; \* označava statistički značajne razlike ( $P<0,05$ ) u aktivnosti GSH-Px između LAT i HAT grupe u istom vremenskom periodu.

**Grafikon 14.** Aktivnost GSH-Px u krvi LAT i HAT teladi merena 0. i 7. dana rođenja.

Uvidom u grafikon 14 zapaža se da je aktivnost GSH-Px bila značajno viša ( $P<0,05$ ) kod HAT teladi 0. dana, u odnosu na LAT telad.

## 6.7. INTRAVENSKI TEST TOLERANCIJE GLUKOZE

Intravenski testovi tolerancije glukoze (IVGTT) izvedeni su kod LAT teladi (n=10) i HAT teladi (n=10) sedmog dana postnatalnog života. U tabeli 3 prikazani su parametri kinetike glukoze i insulina tokom IVGTT testa.

**Tabela 3.** Parametri kinetike insulina i glukoze tokom IVGTT.

	LAT	HAT	P vrednost
<b>T<sub>0</sub>glukoza (mmol/L)</b>	5,36±0,32	5,04±0,21	0,4127
<b>k (%/min)</b>	1,86±0,18	2,05±0,23	0,5121
<b>T<sub>1/2</sub> (min)</b>	40,28±3,55	37,74±4,5	0,4555
<b>Pik<sub>glukoza</sub></b>	10,91±0,59	8,68±0,22	0,0025
<b>AUC<sub>glukoza</sub></b>	424,24±15,73	346,16±17,25	0,0036
<b>T<sub>0</sub>insulin (μIU/mL)</b>	4,6±0,56	6,47±0,41	0,0201
<b>ΔMAX<sub>insulin</sub> (μIU/mL)</b>	18,7±2,38	56,88±1,02	<0,001
<b>Pik<sub>insulin</sub> (μIU/mL)</b>	23,41±2,38	64,09±7,20	<0,001
<b>AUC<sub>insulin</sub></b>	723,02±47,33	2114,64±159,88	<0,001
<b>RQUICKI</b>	0,50±0,02	0,44±0,01	0,0231

**Tumačenje:** *LAT*= sezona niskih temperatura vazduha od 1. februara do 21. marta, *HAT*= sezona visokih temperatura vazduha od 1. jula do 22. avgusta, *T<sub>0</sub>glukoza* - bazalna koncentracija glukoze u serumu; *Pik<sub>glukoza</sub>* maksimalna koncentracija glukoze u serumu; *k*- stopa smanjenja koncentracije glukoze; *T<sub>1/2</sub>* - poluvreme nestajanja glukoze; *AUC<sub>glukoza</sub>* površina ispod krive glukoze; *T<sub>0</sub>insulin*- bazalna koncentracija insulin u serumu; *Pik<sub>insulin</sub>* - maksimalna koncentracija insulin u serumu; *ΔMAX<sub>insulin</sub>* porast koncentracije insulina; *AUC<sub>insulin</sub>* površina ispod krive insulina; *RQUICKI* - "revised quantitative insulin sensitivity check index".

Iz prikazanih podataka primećuje se da se stopa smanjenja koncentracije glukoze i poluvreme eliminacije glukoze nisu razlikovali između grupa. Maksimalna koncentracija glukoze u serumu (*Pik<sub>glukoza</sub>*) i površina ispod krive glukoze (*AUC<sub>glukoza</sub>*) kod HAT teladi bile su značajno niže (P=0,025 i P=0,0036, pojedinačno), u odnosu iste parametre kod LAT grupe teladi.

Bazalna koncentracija insulina u serumu ( $T_{0\text{insulin}}$ ), maksimalna koncentracija insulina u serumu ( $\text{Pik}_{\text{insulin}}$ ), porast koncentracije insulina ( $\Delta\text{MAX}_{\text{insulin}}$ ), površina ispod krive insulina ( $\text{AUC}_{\text{insulin}}$ ), imali su značajno višu vrednost ( $P=0,0201$  za  $T_{0\text{insulin}}$  i  $P<0,001$  za  $\Delta\text{MAX}_{\text{insulin}}$ ,  $\text{Pik}_{\text{insulin}}$  i  $\text{AUC}_{\text{insulin}}$ , pojedinačno) kod HAT teladi, u odnosu na LAT telad. Vrednosti RQUICKI bile su značajno niže ( $P=0,0231$ ) kod HAT teladi, ukazujući na smanjenu insulinsku osetljivost.

## 6.8. MAKROMINERALI I MIKROELEMENTI

### 6.8.1. Koncentracije makroelemenata i mikroelemenata u kolostrumu

U tabeli 4 prikazane su vrednosti koncentracija makrominerala i mikroelemenata u uzorcima LAT i HAT kolostruma uzetih 2. (prvi kolostrum), 14. (drugi kolostrum) i 26. (treći kolostrum) sata posle porođaja majki.

**Tabela 4.** Koncentracije mikrominerala i mikroelemenata u 1, 2. i 3. LAT i HAT kolostrumu.

Element	1. kolostrum		2. kolostrum		3. kolostrum		P vrednost		
	LAT	HAT	LAT	HAT	LAT	HAT	sezona	vreme	S*V
Mg (mg/L)	689,5±40,2 <sup>A</sup>	428,4±36,3 <sup>DE</sup>	504,6±41,5 <sup>D</sup>	344,4±20,9 <sup>CE</sup>	332,1±25,5 <sup>C</sup>	236,6±16,6 <sup>B</sup>	<0,001	<0,001	0,038
Ca (mg/L)	2361,7±175,2 <sup>A</sup>	1509,5±97,4 <sup>B</sup>	1933,9±139,1 <sup>A</sup>	1352,1±79,8 <sup>BD</sup>	1554,1±63,9 <sup>B</sup>	1166,5±54,9 <sup>CD</sup>	<0,001	<0,001	0,116
Pi (mmol/L)	1618,41±122,6 <sup>A</sup>	1121,32±77,4 <sup>BD</sup>	1351,74±92,8 <sup>AD</sup>	967,77±62,1 <sup>B</sup>	1086,40±44,3 <sup>B</sup>	815,705±37,9 <sup>C</sup>	<0,001	<0,001	0,359
Na (mg/L)	279,2±14,6 <sup>A</sup>	152,1±17,7 <sup>B</sup>	296,4±20,1 <sup>A</sup>	167,3±17,8 <sup>B</sup>	273,4±13,8 <sup>A</sup>	177,9±19,3 <sup>B</sup>	<0,001	0,654	0,564
K (mg/L)	1757,7±78,9 <sup>A</sup>	1353,4±43,7 <sup>B</sup>	1912±1551 <sup>A</sup>	1283,8±74,7 <sup>B</sup>	1905,3±75,4 <sup>A</sup>	1332,9±67 <sup>B</sup>	<0,001	0,770	0,432
Mn (µg/L)	26,4±2,1 <sup>A</sup>	22,9±1,7 <sup>A</sup>	42,3±3,9 <sup>BD</sup>	37,5±4 <sup>BE</sup>	51,9±3,3 <sup>D</sup>	17,6±1,3 <sup>C</sup>	<0,001	<0,001	<0,001
Se (µg/L)	87,6±8,3 <sup>A</sup>	63±6,8 <sup>BC</sup>	88,3±6,9 <sup>A</sup>	73,7±7,59 <sup>AC</sup>	75,7±4,3 <sup>A</sup>	63,9±2,6 <sup>BC</sup>	0,001	0,228	0,580
Co (µg/L)	0,9±0,1 <sup>A</sup>	2,4±0,2 <sup>B</sup>	1,2±0,1 <sup>A</sup>	2,4±0,3 <sup>B</sup>	1,5±0,1 <sup>C</sup>	2,2±0,2 <sup>B</sup>	<0,001	0,571	0,104
Cu (µg/L)	67,1±16,1 <sup>A</sup>	214,1±26,1 <sup>C</sup>	62,7±14,2 <sup>A</sup>	182,5±16,5 <sup>C</sup>	30,6±5,3 <sup>B</sup>	205,2±15,3 <sup>C</sup>	<0,001	0,364	0,269
Zn (µg/L)	32,5±2,3 <sup>A</sup>	19,2±2 <sup>B</sup>	20±2,6 <sup>B</sup>	13±1,3 <sup>C</sup>	9,8±1,3 <sup>CE</sup>	7,4±0,5 <sup>DE</sup>	<0,001	<0,001	0,015
Fe (mg/L)	2,1±0,3 <sup>AC</sup>	1,6±0,2 <sup>BC</sup>	2,4±0,2 <sup>AD</sup>	1,9±0,3 <sup>BCD</sup>	2,7±0,2 <sup>A</sup>	1,3±0,3 <sup>BC</sup>	<0,001	0,549	0,128

**Tumačenje:** *LAT*= sezona niskih temperatura vazduha od 1. februara do 21. marta, *HAT*= sezona visokih temperatura vazduha od 1. jula do 22. avgusta; **1. kolostrum** je uzorkovan drugog sata nakon porođaja; **2. kolostrum** je uzorkovan 14. sata nakon porođaja; **3. kolostrum** je uzorkovan 26. sata nakon porođaja; **Vreme**= vreme uzorkovanje kolostruma; **Sezona**= sezona uzorkovanja (*LAT* i *HAT*) <sup>A, B</sup> - različita velika slova označavaju statistički značajne razlike ( $P<0,05$ ) u vrednostima u okviru istog reda.

U prva tri HAT kolostruma, u odnosu na odgovarajuće uzorke LAT kolostruma, značajno niže koncentracije su zabeležene za Mg ( $P < 0,001$  za prvi,  $P = 0,003$  za drugi i  $P = 0,005$  za treći kolostrum), Ca ( $P < 0,001$  za prvi i treći, odnosno  $P = 0,001$  za drugi kolostrum), Pi ( $P < 0,003$  za prvi i drugi, odnosno  $P < 0,005$  za treći kolostrum), Na ( $P < 0,001$  za sva tri kolostruma) i K ( $P < 0,001$  za prvi i treći, odnosno  $P = 0,002$  za 2. kolostrum). Takođe, mikroelementi koji su imali značajno nižu koncentraciju u sva tri HAT u odnosu na LAT kolostrume bili su Co ( $P < 0,001$  za prvi i drugi, odnosno  $P = 0,01$  za treći kolostrum) i Cu ( $P < 0,001$  za sva tri kolostruma). Koncentracije Mn bile su značajno niže samo u trećem HAT kolostrumu ( $P < 0,001$ ) u odnosu na odgovarajući LAT kolostrum. Koncentracija Se je bila značajno niža u prvom i trećem HAT kolostrumu ( $P = 0,03$ , pojedinačno), a koncentracije Zn značajno niže u prvom ( $P < 0,001$ ) i drugom ( $P = 0,03$ ) HAT kolostrumu u odnosu na odgovarajuće uzorke LAT kolostruma. Koncentracije Fe su samo u trećem HAT kolostrumu bile značajno niže nego u odgovarajućem LAT kolostrumu ( $P < 0,001$ ).

### **6.8.2. Koncentracije makroelemenata i mikroelemenata u krvnom serumu majki**

U Tabeli 5 su prikazane vrednosti koncentracija makro- i mikrominerala u krvnom serumu LAT i HAT majki odmah nakon porođaja.

**Tabela 5.** Koncentracija makro- i mikrominerala u krvnom serumu LAT i HAT majki.

Element	LAT	HAT	P vrednost
Mg(mg/L)	25,633±1,2441	29,057±0,487	<b>0,019</b>
Ca (mmol/L)	104,756±3,616	85,818±2,0391	<b>&lt;0,001</b>
Pi (mmol/L)	1,917±0,118	1,877±0,0897	0,790
Na (mg/L)	3340,740±38,4969	3929,046±68,80	<b>&lt;0,001</b>
K (mg/L)	182,975±6,5417	236,726±17,9965	<b>0,012</b>
Fe (mg/L)	1,605±0,1176	1,587±0,1036	0,909
Mn (µg/L)	10,637±0,8497	7,235±0,6755	<b>0,005</b>
Se (µg/L)	98,666±9,3580	86,473±6,8503	0,307
Co (µg/L)	0,104±0,0093	0,453±0,0569	<b>&lt;0,001</b>
Cu (µg/L)	0,210±0,016	0,761±0,039	<b>&lt;0,001</b>
Zn (µg/L)	0,819±0,057	0,325±0,0298	<b>&lt;0,001</b>

**Tumačenje:** *LAT*= sezona niskih temperatura vazduha od 1. februara do 21. marta, *HAT*= sezona visokih temperatura vazduha od 1. jula do 22. avgusta;  $P<0,05$ - statistički značajne razlike u vrednostima makro- i mikroelemenata između *LAT* i *HAT* grupe.

Koncentracije Mg u krvnom serumu odmah posle porođaja bile su značajno više ( $P=0,019$ ), a koncentracije Ca značajno niže ( $P<0,001$ ) u krvnom serumu HAT u odnosu na LAT majke. Koncentracije Pi se nisu značajno razlikovale među grupama. Koncentracije Na i K bile su značajno više ( $P<0,001$  i  $P=0,012$ , pojedinačno) u serumu HAT u odnosu na LAT majke. Koncentracije Mn bile su značajno niže u serumu HAT nego LAT majki ( $P=0,005$ ), dok koncentracije Se nisu pokazale značajne razlike između grupa. Koncentracije Co, Cu i Zn su bile su značajno više u serumu HAT majki ( $P<0,001$ , pojedinačno) u poređenju sa koncentracijama u serumu LAT majki. Koncentracije Fe nisu pokazale značajne razlike među grupama.

### 6.8.3. Koncentracije makroelemenata i mikroelemenata u krvnom serumu teladi

U Tabeli 6 prikazane su vrednosti koncentracija makrominerala i mikroelemenata u krvnom serumu LAT i HAT teladi (n=10) tokom postnatalnog perioda.

**Tabela 6.** Koncentracija makro- i mikroelemenata u krvnom serumu LAT i HAT teladi.

Element	Sezona	Dan nakon rođenja					P vrednost		
		0. dan	1. dan	2. dan	3. dan	7. dan	sezona	vreme	S*V
Mg (mg/L)	LAT	28±1,7 <sup>Aac</sup>	29,2±1,6 <sup>Aac</sup>	33±2,3 <sup>Aac</sup>	33,5±1,3 <sup>Ab</sup>	25,8±2,7 <sup>Ac</sup>	<0,001	0,258	0,298
	HAT	38,7±2,7 <sup>Ba</sup>	37,5±2 <sup>Ba</sup>	37,2±2 <sup>Aa</sup>	39±2 <sup>Ba</sup>	37,8±2,2 <sup>Ba</sup>			
Ca (mmol/L)	LAT	2,7±0,1 <sup>Aa</sup>	2,5±0,1 <sup>Aa</sup>	2,5±0,1 <sup>Aa</sup>	2,7±0,1 <sup>Aa</sup>	2,8±0,1 <sup>Aa</sup>	<0,001	0,031	0,701
	HAT	2,2±0,2 <sup>Bab</sup>	2,1±0,1 <sup>Ba</sup>	2,3±0,2 <sup>Aab</sup>	2,5±0,1 <sup>Ab</sup>	2,1±0,2 <sup>Bab</sup>			
Pi (mmol/L)	LAT	2,8±0,2 <sup>Aab</sup>	2,5±0,1 <sup>Aa</sup>	2,6±0,1 <sup>Aa</sup>	2,7±0,1 <sup>Aa</sup>	3±0,1 <sup>Ab</sup>	<0,001	<0,001	0,001
	HAT	2,1±0,1 <sup>Ba</sup>	2,4±0,1 <sup>Ab</sup>	2,6±0,1 <sup>Abc</sup>	2,7±0,1 <sup>Ac</sup>	2,7±0,1 <sup>Bc</sup>			
Na (mg/L)	LAT	2614,8±33,1 <sup>Aa</sup>	2614,2±65,2 <sup>Aab</sup>	2556,1±47,1 <sup>Aab</sup>	2502,1±52,7 <sup>Aab</sup>	2400,7±80,4 <sup>Ab</sup>	<0,001	0,396	0,016
	HAT	1032,6±56,8 <sup>Bab</sup>	913,2±32,4 <sup>Ba</sup>	951,6±48,5 <sup>Bab</sup>	1037,9±40,6 <sup>Bb</sup>	1040±45,2 <sup>Bb</sup>			
K (mg/L)	LAT	303,2±7,9 <sup>Aa</sup>	305,5±12,8 <sup>Aa</sup>	310,6±7,4 <sup>Aa</sup>	293,9±13,3 <sup>Aa</sup>	301,8±21,4 <sup>Aa</sup>	0,161	0,133	0,039
	HAT	292,4±22,1 <sup>Aabc</sup>	257,6±8,1 <sup>Ba</sup>	269,9±12,6 <sup>Bab</sup>	295,7±15,4 <sup>Abd</sup>	335,1±14,1 <sup>AcCd</sup>			
Mn (µg/L)	LAT	62,9±4,7 <sup>Aa</sup>	58,2±5,7 <sup>Aa</sup>	56,7±3,4 <sup>Aa</sup>	44,5±2,4 <sup>Ab</sup>	31,8±3,3 <sup>Ac</sup>	<0,001	<0,001	0,047
	HAT	23,3±1,9 <sup>Ba</sup>	16,1±1,7 <sup>Bb</sup>	16,7±1,2 <sup>Bb</sup>	14,9±0,8 <sup>Bb</sup>	4,5±0,4 <sup>Bc</sup>			
Se (µg/L)	LAT	2,3±0,2 <sup>Aa</sup>	3,7±0,3 <sup>Ab</sup>	3,2±0,3 <sup>Ab</sup>	3,7±0,23 <sup>Ab</sup>	4,8±0,4 <sup>Ac</sup>	<0,001	<0,001	<0,001
	HAT	0,1±0,01 <sup>Ba</sup>	0,1±0,01 <sup>Ba</sup>	0,11±0,01 <sup>Ba</sup>	0,1±0,01 <sup>Ba</sup>	0,9±0,1 <sup>Bb</sup>			
Co (µg/L)	LAT	2,4±0,2 <sup>Aa</sup>	2,2±0,2 <sup>Aa</sup>	2,5±0,2 <sup>Aa</sup>	2,3±0,1 <sup>Aa</sup>	2,1±0,2 <sup>Aa</sup>	<0,001	0,072	0,298
	HAT	1,14±0,1 <sup>Ba</sup>	0,8±0,1 <sup>Bb</sup>	0,7±0,1 <sup>Bb</sup>	0,6±0,1 <sup>Bb</sup>	0,7±0,1 <sup>Bb</sup>			
Cu (µg/L)	LAT	311±27,1 <sup>Aa</sup>	361,1±32,2 <sup>Aa</sup>	529,8±26 <sup>Ab</sup>	813,3±38 <sup>Ac</sup>	1025,4±87,2 <sup>Ad</sup>	0,065	<0,001	0,003
	HAT	359,4±16,5 <sup>Aa</sup>	412,9±38 <sup>Aa</sup>	550,2±53,3 <sup>Ab</sup>	665±42,9 <sup>Bbc</sup>	789,5±46,4 <sup>Bc</sup>			
Zn (µg/L)	LAT	0,92±0,2 <sup>Aa</sup>	1,1±0,2 <sup>Aac</sup>	1,8±0,3 <sup>Abc</sup>	1,8±0,2 <sup>Ab</sup>	1,8±0,2 <sup>Ab</sup>	<0,001	0,006	0,061
	HAT	1±0,2 <sup>Aabc</sup>	0,8±0,2 <sup>Aac</sup>	0,9±0,2 <sup>Babc</sup>	1,3±0,1 <sup>Ab</sup>	0,9±0,1 <sup>Bc</sup>			
Fe (mg/L)	LAT	3,4±0,4 <sup>Ab</sup>	3,3±0,3 <sup>Aa</sup>	2,6±0,3 <sup>Aab</sup>	2,5±0,2 <sup>Ab</sup>	2,7±0,1 <sup>Ab</sup>	0,006	0,009	0,893
	HAT	3±0,4 <sup>Aa</sup>	2,5±0,3 <sup>Bab</sup>	2,3±0,3 <sup>Aab</sup>	2,1±0,2 <sup>Ab</sup>	2,2±0,2 <sup>Bab</sup>			

**Tumačenje:** *LAT*= sezona niskih temperatura vazduha od 1. februara do 21. marta, *HAT*= sezona visokih temperatura vazduha od 1. jula do 22. avgusta, *A, B* - različita velika slova označavaju statistički značajne razlike ( $P<0,05$ ) u vrednostima između *LAT* i *HAT* grupe u okviru iste kolone za svaki mineral posebno; *a, b, c, d* - različita mala slova označavaju statistički značajne razlike ( $P<0,05$ ) u okviru istog reda.

Tokom *HAT* sezone, zapažene su značajne razlike u mineralnom statusu krvnog seruma kod različitih grupa teladi. Koncentracije Mg bile su značajno više 0, 1, 3. i 7 dana u serumu *HAT* nego *LAT* teladi ( $P=0,004$  za 0. i 1. dan;  $P=0,03$  za 3. dan;  $P=0,003$  za 7. dan). Koncentracije Ca su bile značajno niže u serumu *HAT* nego *LAT* teladi 0, 1. i 7. dana ( $P=0,04$  i  $P=0,01$  za 0. i 1. dan;  $P=0,003$  za 7. dan), a koncentracije Pi samo 0. i 7. dana ( $P=0,001$  za 0. i  $P=0,01$  za 7. dan). Koncentracije Na bile su značajno niže u serumu *HAT* nego *LAT* teladi u svakom danu postnatalnog života ( $P<0,001$ , pojedinačno), dok su

koncentracije K bile značajno niže samo 1. i 2. dana ( $P=0,005$  i  $P=0,01$ , pojedinačno). U serumu HAT teladi, u odnosu na LAT telad, svakog dana postnatalnog života su zabeležene značajno niže vrednosti za Mn, Se i Co, u odnosu na LAT grupu ( $P<0,001$ , pojedinačno za sva tri mikroelementa). Iako bez značajne razlike 0, 1. i 2. dana postnatalnog života, koncentracije Cu u krvnom serumu teladi bile su numerički više u serumu HAT teladi, dok su 3. i 7. dana bile značajno niže ( $P=0,02$  i  $P=0,03$ , pojedinačno). Koncentracije Zn bile su značajno niže u serumu HAT teladi 2. i 7. dana postnatalnog života ( $P=0,03$  i  $P<0,001$ , pojedinačno), a Fe 1. i 7. dana postnatalnog života ( $P=0,04$ , pojedinačno).

## **6.9. HEMATOLOŠKI PARAMETRI**

### **6.9.1. Broj crvenih krvnih zrnaca i hematološki indikatori**

U Tabeli 7 prikazane su vrednosti crvenih krvnih zrnaca (RBC) i hematoloških indikatora (hemoglobin, hematokrit, MCV, MCH, MCHC, trombociti i MPV), merenih u krvi uzorkovanoj na dan rođenja (0. dan) i 7. dana postnatalnog života.

**Tabela 7.** Vrednosti RBC, hemoglobina, hematokrita, MCV, MCH, MCHC, broja trombocita i MPV u krvni LAT i HAT teladi.

	Dan nakon rođenja			
	0. dan		7. dan	
	LAT	HAT	LAT	HAT
<b>RBC (x10<sup>12</sup>/L)</b>	8,9±0,2 <sup>A</sup>	8,4±0,4 <sup>A</sup>	8,6±0,2 <sup>A</sup>	7,5±0,5 <sup>A</sup>
<b>Hemoglobin (g/L)</b>	115,1±2,3 <sup>A</sup>	101,1±5,1 <sup>B</sup>	104,1±2,6 <sup>B</sup>	80,8±9,7 <sup>C</sup>
<b>Hematokrit (%)</b>	37,6±1 <sup>A</sup>	33,5±1,6 <sup>B</sup>	32,9±1,4 <sup>B</sup>	27,1±1,6 <sup>C</sup>
<b>MCV (ng/mL)</b>	42,1±0,7 <sup>A</sup>	40,1±0,2 <sup>B</sup>	38,3±1,3 <sup>B</sup>	36,1±0,8 <sup>A</sup>
<b>MCH (pg)</b>	12,9±0,1 <sup>A</sup>	12,1±0,3 <sup>B</sup>	12,1±0,1 <sup>B</sup>	10,5±1,1 <sup>C</sup>
<b>MCHC (g/L)</b>	306,6±4,9 <sup>A</sup>	301,6±6,1 <sup>A</sup>	319,7±10,1 <sup>A</sup>	320,1±2,2 <sup>B</sup>
<b>Trombociti (x10<sup>9</sup>/L)</b>	510,3±38,9 <sup>A</sup>	820,2±21,6 <sup>B</sup>	573,4±41 <sup>A</sup>	1140,8±62 <sup>C</sup>
<b>MPV (ng/mL)</b>	6,9±0,2 <sup>A</sup>	5,8±0,2 <sup>B</sup>	7,6±0,4 <sup>A</sup>	6,52±0,2 <sup>B</sup>

**Tumačenje:** *LAT*= sezona niskih temperatura vazduha od 1. februara do 21. marta, *HAT*= sezona visokih temperatura vazduha od 1. jula do 22. avgusta.  
<sup>A, B</sup> - različita velika slova označavaju statistički značajne razlike ( $P < 0,05$ ) u okviru istog reda.

Nultog i sedmog dana postnatalnog života, HAT telad, u odnosu na LAT telad, su imala značno niže vrednosti hemoglobina ( $P=0,04$ , pojedinačno), hematokrita ( $P=0,01$  i  $P=0,009$ , pojedinačno), MCV ( $P < 0,001$ , pojedinačno) i MCH ( $P < 0,001$  i  $P=0,02$ , pojedinačno). MCHC vrednosti su bile značajno niže 7. dana kod HAT nego LAT teladi ( $P < 0,001$ ). Broj trombocita je bio značajno viši u krvi HAT nego LAT teladi u oba ispitivana dana ( $P < 0,001$ , pojedinačno). Vrednosti za MPV bile su značajno niže 0. dana kod HAT teladi, u odnosu na LAT telad ( $P=0,003$  i  $P=0,01$ , pojedinačno).



## 6.9.2. BROJ BELIH KRVNIH ĆELIJA I DIFERENCIJALNA KRVNA SLIKA

U Tabeli 8 prikazane su vrednosti belih krvnih ćelija (WBC) i sledećih parametara diferencijalne krvne slike: eozinofila, bazofila, neutrofila, limfocita i monocita, merene u krvi uzorkovanoj na dan rođenja (0. dan) i 7. dana postnatalnog života.

**Tabela 8.** Vrednosti WBC, eozinofila, bazofila, neutrofila, limfocita i monocita u krvi LAT i HAT teladi.

	Dan nakon rođenja			
	0. dan		7. dan	
	LAT	HAT	LAT	HAT
<b>WBC (x10<sup>9</sup>/L)</b>	9,2±0,4 <sup>A</sup>	10,5±0,8 <sup>A</sup>	11,4±1,1 <sup>A</sup>	10,6±1 <sup>A</sup>
<b>Eozinofili (x10<sup>9</sup>/L)</b>	0,3±0,1 <sup>A</sup>	1,5±0,1 <sup>B</sup>	0,1±0,0 <sup>B</sup>	0,3±0,0 <sup>A</sup>
<b>Eozinofili (%)</b>	3,3±0,4 <sup>A</sup>	14,1±1 <sup>B</sup>	1,2±0,2 <sup>B</sup>	2,9±0,3 <sup>A</sup>
<b>Bazofili (x10<sup>9</sup>/L)</b>	0,04±0,0 <sup>A</sup>	0,1±0,0 <sup>B</sup>	0,1±0,0 <sup>B</sup>	0,1±0,0 <sup>C</sup>
<b>Bazofili (%)</b>	0,5±0,0 <sup>A</sup>	1±0,1 <sup>B</sup>	0,9 ±0,1 <sup>B</sup>	1,4±0,1 <sup>C</sup>
<b>Neutrofil (x10<sup>9</sup>/L)</b>	6,6±0,5 <sup>A</sup>	5,9±0,5 <sup>AC</sup>	7,9 ±0,5 <sup>B</sup>	5,0±0,5 <sup>C</sup>
<b>Neutrofil (%)</b>	71±2 <sup>A</sup>	56,4±1,6 <sup>B</sup>	72,8±6 <sup>A</sup>	40,2±1,3 <sup>C</sup>
<b>Limfociti (x10<sup>9</sup>/L)</b>	2±0,2 <sup>A</sup>	2,9±0,2 <sup>B</sup>	2,6±0,2 <sup>B</sup>	4,9±0,5 <sup>C</sup>
<b>Limfociti (%)</b>	22,5±1,9 <sup>A</sup>	27,9±1,4 <sup>B</sup>	25,5±3,3 <sup>A</sup>	46,3±1,4 <sup>C</sup>
<b>Monociti (x10<sup>9</sup>/L)</b>	0,2±0,0 <sup>A</sup>	0,1±0,0 <sup>B</sup>	0,6±0,1 <sup>B</sup>	0,2±0,0 <sup>A</sup>
<b>Monociti (%)</b>	2,7±0,3 <sup>A</sup>	0,6±0,1 <sup>B</sup>	5,7±0,6 <sup>B</sup>	2,2±0,2 <sup>A</sup>

**Tumačenje:** *LAT*= sezona niskih temperatura vazduha od 1. februara do 21. marta, *HAT*= sezona visokih temperatura vazduha od 1. jula do 22. avgusta, <sup>A, B</sup> - različita velika slova označavaju statistički značajne razlike ( $P<0,05$ ) u okviru istog reda.

Nultog i sedmog dana HAT grupa je, u odnosu na LAT grupu teladi, imala značajno viši broj ( $P=0,002$ , pojedinačno) i procenat ( $P=0,01$  i  $P=0,003$ , pojedinačno) eozinofila, kao i značajno viši broj ( $P<0,001$  i  $P=0,003$ , pojedinačno) i procenat ( $P<0,001$ , pojedinačno)

bazofila. Broj neutrofila je bio je značajno niži 7. dana ( $P=0,04$ ), dok je, dok procenat neutrofila bio značajno niži kod HAT nego LAT teladi 0. i 7. dana postnatalnog života ( $P=0,04$  i  $P=0,004$ , pojedinačno). Broj i procenat limfocita u krvi HAT teladi određen 7. dana postnatalnog života bio je značajno viši nego u krvi LAT teladi ( $P<0,001$ , pojedinačno). Telad iz HAT grupe, u odnosu na LAT, imala su značajno niži broj ( $P<0,001$  i  $P=0,001$ , pojedinačno) i procenat ( $P<0,001$ , pojedinačno) monocita 0. i 7. dana.

## 7. DISKUSIJA

Porast prosečne globalne temperature je povećao interes naučnika za ispitivanje uticaja letnje sezone i toplotnog stresa na proizvodne kapacitete životinja (Tripon i sar. 2014; Zakari i sar. 2015). Ispitivanja su vršena i na govedima, ali pretežno na kravama u laktaciji, uzimajući u obzir dobro poznat negativni uticaj visokih ambijentalnih temperatura na proizvodnju mleka (Das i sar. 2016). Na ostalim kategorijama goveda studije su ređe izvođene zbog pretpostavke da su takve kategorije otpornije na visoke temperature u odnosu na krave u laktaciji (Amundson i sar. 2006). Međutim, smatrali smo da ispitivanje uticaja visoke ambijentalne temperature na vitalnost novorođene teladi ima smisla naročito ako se sagledava u širem kontekstu uticaja takvih uslova na njihove majke tokom graviditeta. Stoga je u okviru ove doktorske disertacije ispitivano da li su novorođena telad, uzgajana na farmama krava u umereno kontinentalnoj klimi, gde pripada klima Srbije, izložena negativnom uticaju toplotnog stresa tokom letnje sezone. Polazeći od činjenice da su telad, u odnosu na krave manje osetljiva na visoke temperature (Roland i sar. 2016), posebno smo obratili pažnju na izloženost toplotnom stresu majki tokom intrauterinog razvoja teleta, smatrajući da negativan uticaj visokih temperatura na gravidnu majku može negativno da se odrazi i na njen plod odnosno posledično, novorođenče.

Collier i Zimbelman (2007) su utvrdili da su krave izložene riziku od zdravstvenih poremećaja tokom perioda umerenog toplotnog stresa. U delu našeg ogleđa izvedenom tokom HAT sezone, krave su svaki dan, i to u većem delu dana, bile izložene umerenom toplotnom stresu koji se razvija na  $THI \geq 72$  (Kadzere i sar. 2002) ili na  $THI \geq 68$  (Bernabucci i sar. 2010; Collier i sar. 2011; Gorniak i sar. 2014). U našem ogleđu, tokom HAT sezone prosečni dnevni  $THI \geq 72$  je zabeležen tokom 39 dana (od ukupno 53 dana HAT sezone), ali je i tokom tih dana bilo perioda kada krave nisu bile izložene toplotnom stresu. Ukoliko prihvatimo vrednost od  $THI \geq 68$  kao granicu umerenog toplotnog stresa, onda su HAT krave bile izložene umerenom toplotnom stresu tokom 51 od ukupno 53 dana ogleđa. Prema Kadzere i saradnicima (2002), znaci izrazitog toplotnog stresa se javljaju pri  $THI \geq 78$ . U našem ogleđu, krave su bile izložene izrazitom toplotnom stresu ( $THI \geq 78$ ) tokom sedam dana, od kojih su u kontinuitetu bile izložene četiri dana.

Prema Nienaber i saradnicima (2001), akutnim toplotnim stresom smatramo izlaganje visokim temperaturama u trajanju 1-2 nedelje, a hroničnim toplotnim stresom izlaganje u trajanju 3-8 nedelja. Uzimajući to u obzir, može se zaključiti da su HAT krave pretežno bile izložene akutnom toplotnom stresu. Takođe treba spomenuti i činjenicu da jačina efekata toplotnog stresa zavisi i od dnevnih varijacija ambijentalne temperature (Silanikove, 2000). Prema navedenom autoru, u Severnoj hemisferi, kojoj pripada i Balkansko poluostrvo, juli i avgust predstavljaju mesece u kojima su mogući najjači efekti toplotnog stresa, obzirom da je česta pojava da noćne temperature vazduha imaju vrednosti iznad 21°C. Ako nam je poznato da se organizam u određenoj meri može oporaviti od akumulacije toplote tokom dana, ukoliko krave tokom noći nisu izložene toplotnom stresu tokom 3-6 sati, veoma je bitno sagledati celokupne 24-satne periode. U tom smislu, tokom našeg oglada THI vrednosti iznad praga za umereni toplotni stres ( $THI \geq 68$ , odnosno  $THI \geq 72$ ) zabeležene su svakog dana, računajući 24-satni period, u većini dana oglada. Samo tokom nekoliko noći zabeležene su THI vrednosti ispod praga umerenog toplotnog stresa, ali možemo smatrati da su kontinuirani periodi THI iznad pomenutih pragova bili dovoljni da ostvare svoj negativan efekat na životinje. Navedene činjenice treba uzeti u obzir radi pravilne interpretacije dobijenih rezultata.

Iako gornja kritična granica zone termoneutralnosti za krave zavisi od velikog broja faktora, ona je utvrđena i iznosi 25-26°C (Kadzere i sar. 2002; Das i sar. 2016). S druge strane, granice zone termoneutralnosti za telad još uvek nisu određene, a podaci u literaturi su kontroverzni. Roland i saradnici (2016) ukazuje da je gornja kritična tačka zone termoneutralnosti za telad umereno viša od majčine. Prema Holt (2014), termoneutralna zona za tele mlade od mesec dana starosti je između 10,0°C i 26,6°C. Uzimajući u obzir da je srednja temperatura vazduha zabeležena tokom našeg oglada bila viša od navedene gornje granice za telad, pretpostavili smo da su telad tokom oglada bila izložena temperaturama koja su kod njih mogla da izazovu toplotni stres.

Neposredno nakon rođenja HAT i LAT teladi, nultog dana, utvrđene su razlike u vrednostima pH krvi i frekvence disanja između dve grupe, bez razlike u ostalim merenim fiziološkim parametrima. Iako je frekvencija disanja bila značajno viša nultog dana kod HAT u odnosu na LAT telad, frekvencija disanja kod ove grupe nije prešla gornju fiziološku

granicu određenu za novorođenu telad (Silva i sar. 2016). HAT sezona nije uticala na TM merenu po rođenju, što je u skladu sa rezultatima Monteiro i saradnika (2016). Međutim, Tao i saradnici (2012a) su zabeležili nižu TM po rođenju kod teladi poreklom i od krava i od junica izloženim toplotnom stresu tokom kasnog graviditeta, u odnosu na kontrolnu grupu. Broucek i saradnici (2009) su zabeležili tendenciju smanjenja srednjeg dnevnog telesnog prirasta kod teladi rođene u letnjem periodu. U tom smislu veoma je bitno naglasiti vezu telesne mase i dužine graviditeta (Tao i sar. 2011) prisutnu u navedenim istraživanjima, gde je zabeleženo skraćenje dužine graviditeta kod krava izloženih toplotnom stresu (Tao i sar. 2012a). Takođe je poznato da toplotni stres utiče na placentu u smislu smanjenja njene mase i funkcionalnosti, što smanjuje oksigenaciju i ishranu fetusa, usporava njegov rast (Tao i sar. 2012a), te, konačno, izaziva smanjenje TM. U našem ogledu, odsustvo značajnog smanjenja TM kod HAT teladi je verovatno posledica optimalne dužine trajanja graviditeta HAT majki, kao i diskontinuiranosti u izloženosti majki toplotnom stresu.

Vrednosti rektalne temperature su bitan pokazatelj termalnog statusa organizma jединke, naročito ako znamo da je njen porast od samo 1°C dovoljan da smanji proizvodne kapacitete goveda (Kadzere i sar. 2002). U našem ogledu nije zabeležena značajna razlika između LAT i HAT grupe teladi u vrednostima rektalne temperature po rođenju, uprkos prisustvu značajnih razlika u rektalnim temperaturama između LAT i HAT majki. Ovakvi rezultati se mogu objasniti činjenicom da su periodi kada su vrednosti THI bile niže od 72 omogućili fetalnim termoregulatornim mehanizmima da kompenzuju akumulaciju toplote u periodima kada su vrednosti THI bile više od 72. Dalje, iako se telesna temperatura fetusa povećava zajedno sa majčinom, njen stepen povećanja je mnogo sporiji, što se ponovo dovodi u vezu sa smanjenjem protoka krvi u uteroplacentarnom krvotoku pod uticajem toplotnog stresa (Tao i Dahl, 2013), a što može predstavljati jedan od mehanizama zaštite fetusa od naglog porasta temperature. Navedeni mehanizmi mogu biti delom odgovorni zašto po rođenju nije zabeležena značajna razlika u frekvenci srčanog rada između HAT i LAT grupe teladi.

Sedmog dana neonatalnog života zabeležene su značajno niže vrednosti TM, značajno više vrednosti rektalne temperature i značajno niža frekvencija srčanog rada kod

HAT u odnosu na LAT telad. Obzirom da su THI vrednosti tokom prvih 7 dana postnatalnog života HAT teladi bile približno jednake ili veće od 72 tokom 24-satnog perioda, može se zaključiti da u takvim uslovima okoline, termoregulatorni mehanizmi teladi nisu uspeli da nadvladaju akumulaciju metaboličke toplote i toplote okoline. Singh i Newton (1978) su takođe zabeležili smanjenje frekvence srčanog rada kod teladi starosti 2-3 meseca nakon povećanja ambijentalne temperature od 18°C do 40,5°C i relativne vlažnosti od 50%. Zabeleženo smanjenje frekvence srčanog rada može se objasniti smanjenjem aktivnošću organizma koje se dešava tokom letnje sezone u cilju smanjenog generisanja toplote (Kadzere i sar. 2002). Takođe, priroda toplotnog stresa zabeleženog tokom našeg ogleada, gde i pored njegove diskontinuiranosti nisu zabeleženi previsoki skokovi u vrednosti THI, životinje nisu nikada bile izložene naglim toplo-hladnim temperaturnim prelazima za koje je poznato da izazivaju povišenu frekvencu srčanog rada (Bianca, 1959). Elektrohemijska reakcija krvi je sedmog dana nakon rođenja bila značajno viša kod HAT nego kod LAT teladi, kao što je to bio slučaj i nultog dana. Ovakav rezultat je verovatno posledica smanjene koncentracije ugljene kiseline, koja se javlja u slučajevima hiperventilacije (Benjamin, 1981). Naime ubrzana frekvencija disanja, koja se obično dešava u uslovima toplotnog stresa, dovodi do respiratorne alkaloze zbog smanjenja koncentracije ugljene kiseline u krvi (Kadzere i sar. 2002), što konačno dovodi do povećanja pH vrednosti u krvi HAT teladi. Prepostavili smo i da homeostatski mehanizmi teladi, koji su odgovorni za održavanje pH krvi, nisu u potpunosti zreli do 7. dana života kod HAT teladi.

Naši rezultati su pokazali da HAT kolostrum ima značajno niže koncentracije nutritivnih i imunskih parametara, što je u skladu sa rezultatima Lough i saradnika (1990), koji su utvrdili i da toplotni stres uzrokuje smanjenje protoka krvi u mlečnoj žlezdi, a time utiče i na kvalitet kolostruma. Naime, znajući da je perfuzija tkiva mlečne žlezde od ključnog značaja za proizvodnju mleka, kao i da je tokom perioda zasušenja izrazito metabolički aktivna, svako smanjenje protoka krvi će ugroziti ne samo rast mlečne žlezde, nego i odvijanje predstojeće laktacije (Tao i Dahl, 2013). Takođe je dokazano je da toplotni stres kod goveda smanjuje efekat prolaktina na mlečnu žlezdu dovodeći time do oslabljenog razvoja mlečne žlezde u predstojećoj laktaciji. Dalje, izmenjen efekat

prolaktina, indukovan varijabilnim fotoperiodom, može da utiče na razvoj mlečne žlezde tokom perioda zasušenja (Dahl, 2008).

Značajno niža koncentracija IgG u HAT kolostrumu, u odnosu na LAT, očekivano je dovela do značajno niže koncentracije IgG u krvi HAT teladi tokom prve nedelje života. Naime, usled nepropustljivosti majčine placente za antitela, pasivni imunitet teleta u potpunosti zavisi od unosa imunoglobulina putem kolostruma (Kirovski, 2015). Prema Strong i saradnicima (2015), izloženost gravidnih majki, odnosno fetusa, prenatalnom toplotnom stresu menja urođenu imunsku funkciju teladi. Upravo naši rezultati ukazuju na kompromitovan imunitet teladi i majki tokom letnje sezone, što može predstavljati opasnost za sveukupnu imunsku funkciju novorođene teladi.

Značajno niže koncentracije proteina i albumina po rođenju u krvi HAT teladi mogu ukazivati na oslabljenu akumulaciju proteina u fetusu, kao što je dokazano kod ovčijih fetusa kod kojih je hipertermija majke uzrokovala povećanje oksidacije aminokiselina (AA) u perifernim tkivima fetusa i smanjenje transporta AA putem placente (Tao i Dahl, 2013). S obzirom da sadržaj albumina zavisi od funkcionalnog stanja, odnosno sazrevanja jetrinog tkiva, jer je jetra predominantno mesto za njihovu sintezu (Steinhardt i Thielscher, 2000), naši rezultati takođe mogu ukazivati na smanjenu sintezu albumina u jetri *in utero* tokom HAT sezone. Ideja o oslabljenom metabolizmu jetre kod HAT teladi je podržana značajno višom koncentracijom bilirubina kod HAT teladi, koji je jedan od najvažnijih pokazatelja postnatalnog oštećenja jetre (Pearson i sar. 1995). Uprkos tome, koncentracija uree u krvi nije pokazivala značajne razlike između HAT i LAT teladi. Smanjenje koncentracije ukupnih proteina i albumina kod HAT teladi nastavljeno je do 7. dana života i zajedno sa smanjenjem koncentracije cirkulišućeg IGF-I, ukazalo je na prolongiranu oslabljenost metabolizma proteina kod HAT teladi.

Das i saradnici (2016) su ukazali da toplotni stres indukuje oksidativni stres tokom letnje sezone kod farmskih životinja, uzrokujući proizvodnju ROS koji mogu da naškode organizmu na nivou tkiva i ćelija. Naši rezultati pokazuju značajno višu GSH-Px aktivnost po rođenju kod HAT teladi, što je u skladu sa rezultatima Chigerwe i saradnika (2013), a što ukazuje na to da HAT sezona pojačava oksidativni stres koji je već izazvanam aktom rođenja.

Poznato je da toplotni stres utiče ne samo na metabolički status mlečnih krava, već i na metabolički status njihove novorođene teladi (Monteiro i sar. 2016). Tao i Dahl (2013) su naveli da su novorođena telad poreklom od majki izloženih toplotnom stresu, kao i telad od rashlađivanih majki, u krvi imala slične koncentracije insulina pre unosa kolostruma, dok su koncentracije merene dan nakon rođenja i nakon unosa kolostruma bile značajno više kod prve grupe teladi. Ovi rezultati su u skladu sa našim rezultatima, koji su pokazali da se koncentracija insulina u krvi po rođenju nije značajno razlikovala između HAT i LAT teladi, ali da je nakon ingestije kolostruma naglo porasla kod HAT teladi kod kojih je, 1, 2. i 7. dana, bila značajno više nego kod LAT teladi, a što je u skladu i sa rezultatima Tao i saradnika (2012b). Naime, oni su objasnili da značajno viša koncentracija insulina kod teladi poreklom od majki izloženih toplotnom stresu, u poređenju sa majkama rashlađivanim pomoću prskalica i ventilatora, može biti posledica povećanog lučenja insulina iz pankreasa, ili oslabljenog klirensa insulina.

HAT grupa teladi je imala niže koncentracije IGF-I po rođenju, ali razlika nije bila značajna, što je suprotno rezultatima dobijenim od strane Guo i saradnika (2016), koji su po rođenju zabeležili značajno niže koncentracije IGF-I kod teladi izložene toplotnom stresu, u poređenju sa grupom teladi koja nije bila izložena toplotnom stresu. Međutim, nakon unosa kolostruma, 1, 2. i 3. dana postnatalnog života, zabeležene su značajno niže koncentracije IGF-I kod HAT nego LAT teladi. Snižena koncentracija IGF-I se očekuje kod teladi odmah nakon rođenja ukoliko se nalaze u stanju NEB-a, kada koncentracija IGF-I zavisi od koncentracije insulina u krvi (Kirovski, 2015). Moguće objašnjenje za značajno sniženje IGF-I u krvi HAT teladi nakon unosa kolostruma, je prisustvo značajno nižih koncentracija IGF-I u prvom i drugom kolostrumu. Iako kolostralni IGF-I ne utiče značajno na nivo IGF-I u sistemske cirkulaciji, unos kolostruma će povisiti koncentraciju IGF-I u krvnoj plazmi i IGF-I ekspresiju kod novorođene teladi (Heinrichs i sar. 1994), kao posledica povećanog unosa nutrijenata. Niske koncentracije IGF-I kod HAT teladi, u odnosu na LAT telad, verovatno su dovele do nižeg dnevnog prirasta teladi tokom njihovog postnatalnog života, obzirom da postnatalni rast i razvoj pod uticajem ovog faktora rasta (Breier i sar. 2000).

Najistaknutiji odgovor životinje na stresne uslove jeste aktivacija hipotalamo-pituitarno-adrenalne osovine i posledično povišenje koncentracije kortizola (Smith i Vale,



2006). Toplotni stres, a naročito akutni, izaziva isti odgovor navedene osovine i lučenje kortizola (Pereira i sar. 2008). Koncentracije kortizola u krvi novorođene teladi fiziološki su visoke u trenutku rođenja, sa trendom opadanja u prvoj nedelji života (Pereira i sar. 2008; Kirovski, 2015). U krvi HAT teladi, svakog dana postnatalnog života zabeležene su više koncentracije kortizola u odnosu na LAT telad, dok su značajno više koncentracije zabeležene 0. i 7. dana, što je u skladu sa rezultatima dobijenim ogledom na prasadima (Machado-Neto i sar. 1987). Uprkos tome, neki autori su zabeležili sniženje koncentracije kortizola kod teladi poreklom od majki izloženih toplotnom stresu. Christison i Johnson (1972) su zabeležili nagli porast koncentracije kortizola u uslovima akutnog umerenog toplotnog stresa već 20 minuta po izlaganju, dok u slučaju blagog hroničnog toplotnog stresa interesantan je blaži porast i vraćanje u okvire normalnih vrednosti nakon 1-2 dana, kada se vrednosti i dalje smanjuju uprkos i daljoj prisutnosti toplotnog stresa. Kao što navode Tao i Dahl (2013), uloga kortizola kod novorođene teladi je dvostruka. Fiziološke koncentracije kortizola koje su povišene tokom kratkog vremenskog perioda, kao u slučaju akutnog stresa izazvanog rođenjem, su korisni za dugoročno zdravlje novorođenčadi. Međutim, prolongirano ili ponovljeno izlaganje povišenim koncentracijama kortizola, može negativno uticati na zdravlje teladi (Kirovski, 2015).

Osim glukokortikoida i kateholamina, u procese termoregulacije uključeni su i tireoidni hormoni (Roland i sar. 2016), a upravo pik kortizola tokom teljenja je zaslužan za stimulaciju sazrevanja tireoidne osovine (Kirovski, 2015). Porast koncentracije tireoidnih hormona ( $T_3$  i  $T_4$ ) je veoma izražen u prvim satima života, a sa ciljem povećanja toplote u organizmu teleta tokom ranog neonatalnog perioda (Peric i sar. 2013; Kirovski, 2015). Naši rezultati pokazuju da su koncentracije  $T_3$  i  $T_4$  kod HAT teladi značajno niže u odnosu na LAT telad, što ukazuje na potrebu za sniženjem metaboličke aktivnosti kod teladi izložene toplotnom stresu (Kadzere i sar. 2002). Roland i saradnici (2016) ukazuju na snižavanje koncentracija  $T_3$  i  $T_4$  u uslovima visokih temperatura vazduha, kao i njihovo povišenje u uslovima niskih temperatura vazduha. Takođe je zabeleženo snižavanje koncentracije tireoidnih hormona u uslovima toplotnog stresa kod različitih rasa goveda (Pereira i sar. 2008), čime je jasna njihova uloga u procesima aklimatizacije i snižavanja metaboličke stope u uslovima toplotnog stresa.

HAT grupa teladi imala je značajno više koncentracije leptina, u poređenju sa LAT grupom. Obzirom da su glukokortikosteroidi jedan od važnih faktora u regulaciji lučenja leptina, postoji mogućnost da su povišeni nivoi kortizola izmereni u našem ogledu odgovorni za značajno više koncentracije leptina kod HAT teladi. Povišene koncentracije leptina kod postnatalne jagnjadi smanjuju zastupljenost proteina odgovornog za termogenezu, posredstvom metaboličkih procesa u smeđem masnom tkivu, odnosno UCP1 (“uncoupling protein 1”). Stoga, značajno više koncentracije leptina po rođenju kod HAT teladi mogu predstavljati jedan od regulatornih mehanizama kojim se ostvaruje smanjeno generisanje metaboličke toplote tokom HAT sezone (Mostyn i sar. 2001). Na osnovu dosadašnjih saznanja, ovo su prvi rezultati u naučnoj literaturi u kojima se prikazuju koncentracije leptina kod teladi koje vode poreklo od majki izloženih toplotnom stresu tokom kasnog graviditeta. Obzirom da leptin reguliše mnoge fiziološke funkcije, kao što su pubertet i reprodukcija (Messinis i Milingos, 1999), dalja ispitivanja bi trebalo sprovoditi sa ciljem procene uticaja leptina na telad uzgajanu u različitim sezonama.

Prema našim rezultatima, insulinski odgovor tokom IVGTT kod HAT teladi bio je značajno pojačan, obzirom da su sve vrednosti parametara insulinske kinetike bile značajno više kod ove grupe teladi, u odnosu na LAT telad. Očekivalo bi se da takav insulinski odgovor tokom IVGTT dovodi do značajno bolje periferne utilizaciji glukoze. Ipak, razlika u parametrima kinetike glukoze nije bilo, osim u slučaju  $P_{ik_{glukoza}}$  i  $AUC_{glukoza}$ , koje su bile značajno niže kod HAT teladi, u odnosu na LAT telad. Značajno niže RQUCKI vrednosti kod HAT grupe teladi takođe ukazuju na insulinsku rezistenciju perifernih tkiva. U skladu sa našim rezultatima, Tao i Dahl (2013) zabeležili su da su telad od majki izloženih toplotnom stresu tokom perioda zasušavanja, imala izraženiji insulinski odgovor nakon ingestije kolostruma u prvim danima života, u poređenju sa grupom teladi od majki koje su bile izložene metodama rashlađivanja. U istraživanju Tao i saradnika (2014), suprotno našim rezultatima, telad porekom od majki izloženih toplotnom stresu su imala sličan insulinski odgovor na IVGTT, u poređenju sa teladima poreklom od majki koje nisu bile izložene toplotnom stresu. Moguće objašnjenje ovakvih odstupanja može biti u tome što pankreas u različitim fazama graviditeta ispoljava drugačije odgovore u skladu sa svojom razvijenošću. Takođe, metabolički testovi u različitim studijama izvođeni su tokom

različitih vremenskih perioda nakon rođenja, ukazujući da razlika u postnatalnom uzrastu teleta može biti razlog zapaženih varijacija u funkciji pankreasa i odgovoru tkiva na insulin. Do danas, pojačani insulinski odgovor na toplotni stres nije u potpunosti razjašnjen, a prema Li i saradnicima (2004), može nastati zbog njegove ključne uloge u sazrevanju i aktiviranju “heat shock” proteina.

U našem ogledu, sezona visokih temperatura vazduha značajno je uticala na koncentraciju minerala u krvi teladi, osim na koncentraciju K (od makroelemenata), i koncentracije Fe i Cu (od mikroelemenata). Po rođenju, koncentracije Mg bile su značajno više, dok su koncentracije Ca, Pi, Na, Mn, Se i Co bile značajno niže u krvi HAT grupi teladi, u odnosu na LAT grupu. Hostetler i saradnici (2003) su pokazali da je mineralni status novorođene teladi odraz mineralnog statusa njihovih majki tokom graviditeta, usled transfera minerala preko placente u fetus. Ukoliko navedeno uzmemo u obzir, može se pretpostaviti da je izmenjeni mineralni status novorođenčadi tokom HAT sezone posledica izmenjenog mineralnog statusa majki izloženih toplotnom stresu (Kume i sar. 1998).

Analize krvnih seruma majki odmah nakon porođaja, pokazale su da je mineralni status krvi LAT i HAT majki takođe bio različit. Koncentracije većine ispitivanih makro- i mikroelemenata kod teladi i majki pratile su sličan obrazac, u smislu da značajno niže koncentracije nekih minerala u krvnom serumu HAT majki, u odnosu na LAT majke, bile su takođe značajno niže u krvnom serumu HAT teladi, u odnosu na LAT telad. Međutim, zabeleženi su izuzeci u koncentracijama nekih minerala između majki i teladi, o čemu će biti diskutovano kasnije. Nakon unosa kolostruma pa do sedmog dana postnatalnog života, koncentracije minerala su se različito menjale, ukazujući na to da je unos kolostruma različito uticao na koncentracije različitih minerala kod teladi. Naime, naši rezultati su pokazali značajne razlike u koncentracijama skoro svim makro- i mikroelementima između HAT i LAT kolostruma. Ovakva pojava je verovatno rezultat izmenjenog mineralnog statusa majki tokom HAT sezone (Mazzullo i sar. 2014).

Iako literatura koja se odnosi na uticaj sezone na mineralni sastav kolostruma nije brojna, naši rezultati mogu se porediti sa rezultatima istraživanja Toharmat i Kume (1997) za minerale koje su analizirali (Ca, Pi, Mg, Fe, Zn). Mineralni sastav kolostruma uticao je na mineralni status postkolostralne teladi, iako mnogi autori ističu da ne treba vršiti

generalizaciju u slučaju svih minerala (Pavlata i sar. 2004). Mi pretpostavljamo da je izmenjen mineralni status krvi postkolostralne HAT teladi dodatno pogoršan lošim kvalitetom kolostruma HAT majki. Zaista, koncentracije Ca, Na, K, Fe, Mn, Se i Co bile su bile i dalje značajno niže prvog dana kod HAT teladi čak i posle unosa kolostruma dva puta dnevno.

Vrednosti koncentracija Mg u krvnom serumu na dan rođenja i prvog dana postnatalnog života, odražavaju pre fetalne nego ekstrauterine vrednosti Mg. Koliko nam je poznato, ne postoje literaturni podaci koji se odnose na fetalne koncentracije Mg u slučaju teladi mlečnih rasa goveda. Istraživanja na ovcama su pokazala sličnost ili blago povišene koncentracije Mg u odnosu na majčine, te da se one održavaju relativno nezavisno od majčinih koncentracija (Mellor i Matheson, 1977; Barlet i sar. 1979). Štaviše, pretpostavlja se da je mehanizam koji reguliše koncentracije Mg u plazmi fetusa nezavisan od koncentracija Mg kod majki (Barri i sar. 1990). Rezultati nakon analiza krvnog seruma majki pokazali su značajno više koncentracije Mg u odnosu na telad. U našem ogledu, na dan porođaja, koncentracije Mg u krvnom serumu HAT majki bile su značajno više, u odnosu na LAT majke, što može ukazivati da ovaj mehanizam nije mogao da zaštiti fetus od povišenih koncentracija Mg u krvi majki. Značajno više koncentracije Mg u krvi HAT teladi 0, 1. i 7. dana, u odnosu na LAT telad, mogu se dovesti u vezu sa toplotnim stresom. Naime, hormoni koji mogu uticati na cirkulišuće vrednosti Mg jesu kateholamini, obzirom da izazivaju izlazak Mg kroz plazma membranu različitih tipova ćelija (Romani, 2011). Kod preživara, nivoi kateholamina su povišeni u uslovima toplotnog stresa (Farooq i sar. 2010). Drugi faktori takođe mogu biti uključeni, naročito oni koji modulišu renalnu reapsorpciju Mg. Iako je koncentracija Mg u bila niža u HAT kolostrumu, u odnosu na kolostrume LAT majki, koncentracije Mg koje su bile više u krvi HAT teladi tokom prve nedelje života, ukazuju da su učestali porasti nivoa Mg (verovatno izazvani toplotnim stresom) tokom prvih sedam dana postnatalnog života bili mnogo jači u odnosu na unos kolostruma sa smanjenom koncentracijom Mg. Takođe bi trebalo istaknuti da je tokom HAT sezone transfer Mg u kolostrum bio značajno smanjen, ako uzmemo u obzir značajno povišene koncentracije Mg u krvi HAT teladi, i značajno snižene koncentracije Mg u HAT kolostrumu, u odnosu na LAT grupu teladi i LAT kolostrum. Naši rezultati kolostralnih

koncentracija Mg poreklom od HAT krava, u skladu su sa rezultatima dobijenim od strane Toharmat i Kume (1997).

Hipokalcemija kod gravidnih ovaca nije uticala na koncentracije Ca u plazmi njihovih fetusa (Care i sar. 1980), što je u suprotnosti sa našim rezultatima po kojima značajno snižene koncentracije Ca kod HAT majki i teladi, u odnosu na LAT majke i telad na dan teljenja jasno ukazuje da su uslovi toplotnog stresa uticali na metabolizam Ca. U obzir treba uzeti i to da se nakon rođenja nivoi Ca i Mg regulišu negativnom povratnom spregom (Brown i MacLeod, 2001), obzirom da se oba takmiče za intestinalnu resorpciju i renalnu reapsorpciju (Hardwick i sar. 1991). Zbog toga je očekivano da su više koncentracije Mg u serumu HAT teladi udružene sa nižom koncentracijom Ca u svim ispitivanim danima. Naši rezultati se blago razlikuju od rezultata Kume i saradnika (1998), koji su kod teladi poreklom od majki izloženih toplotnom stresu zabeležili sniženje nivoa Ca u krvi, ali bez statističke značajnosti. Moguće je da je ovakvo neslaganje sa našim rezultatima nastalo usled različitih raspona ambijentalnih temperatura tokom sezona, kao i usled različite starosti teladi koje smo koristili u našem ogledu.

Naši rezultati su pokazali niže vrednosti Pi u krvnom serumu HAT teladi, u odnosu na LAT grupu, dok su značajnosti bile prisutne na dan rođenja i sedmog dana postnatalnog života. Obzirom da koncentracije Ca u krvnom serumu HAT i LAT majki nisu bile značajno različite na dan porođaja, niže vrednosti Pi u krvnom serumu HAT teladi mogu biti posledica smanjenog transfera Pi u kolostrum, obzirom da je prvi, drugi i treći HAT kolostrumom imao niže vrednosti Pi, u odnosu na LAT kolostrum. Zbog pojačanog insulinskog odgovora kod teladi poreklom od majki izloženih toplotnom stresu (Monteiro i sar. 2016), može se pretpostaviti da su povišene koncentracije insulina izazvale nagli prelazak Pi iz ekstracelularni u intracelularni prostor (Beede i Collier, 1986).

Interesantno je da su prekolostalna HAT telad imala značajno niže koncentracije Na, ali ne i koncentracije K u krvi, u odnosu na LAT telad. Poznato je da u uslovima toplotnog stresa krave gube Na i K putem kože, pljuvačke i urina (Kume i sar. 1998; Beede i Collier, 1986). Ekskrecija Na putem urina je dramatično povišena u uslovima toplotnog stresa jer je udružena sa urinarnom ekskrecijom  $\text{HCO}_3$ , pojačanom usled acido-baznog disbalansa (Sanchez i sar. 1994). Prema iztraživanju West (2003), u sezoni visokih

temperatura vazduha, povećava se urinarna ekskrecija Na, ali i renalno očuvanje K. Zbog toga se može pretpostaviti da je u krvi gravidnih krava u uslovima toplotnog stresa više izražen deficit Na nego K. Međutim neočekivano, odmah nakon porođaja, HAT majke su imale značajno više koncentracije Na i K u krvi, u odnosu na LAT majke, dok su u krvi HAT teladi zabeležene značajno niže koncentracije Na i K, u odnosu na LAT telad. Razlog ovakvih rezultata može biti smanjen transport Na u fetus pod uticajem toplotnog stresa. Takođe, prvi HAT kolostrum imao je značajno niže koncentracije Na i K, u odnosu na prvi LAT kolostrum, što ukazuje na smanjen transport Na i K u kolostrum u uslovima toplotnog stresa. Slične rezultate su zabeležili Kume i saradnici (1998), ali samo u slučaju krava, dok su njihovi rezultati statusa Na i K u krvi teladi bili u suprotnosti sa našim. Naime, tokom letnjeg perioda, Kume i saradnici (1998) su ustanovili povišene koncentracije Na i K kod peripartalnih krava i njihove teladi, ali ovu pojavu nisu objasnili. Naši rezultati su pokazali deficit Na i K u HAT kolostrumu, ukazujući na to da je transfer K u kolostrum smanjen tokom HAT sezone, pored značajno više koncentracije Na i K u krvnom serumu HAT majki, u odnosu na LAT majke. Značajno niže koncentracije Na u krvi HAT teladi 1, 2, 3. i 7. dana, u odnosu na LAT telad, a značajno niže koncentracije K u krvi HAT teladi samo 1. i 2. dana postnatalnog života, mogu biti znak različitih mehanizama ekskrecije Na i K. Dodatni gubitak Na putem urina u sezoni visokih temperatura vazduha, verovatno doprinosi ukupnom gubitku Na koji je mnogo viši kod HAT teladi, u odnosu na LAT telad. Takođe, niže koncentracije K u krvi HAT teladi prvog i drugog dana, verovatno su kombinacija smanjene koncentracije K nastale gubicima putem znoja u uslovima toplotnog stresa, i unosa kolostruma sa smanjenom koncentracijom K. Ipak, urinarni gubitak K kod teladi je značajno niži nego urinarni gubitak Na u uslovima toplotnog stresa. Dodatno se može pretpostaviti da gubitak K putem znoja nije kvantitativno važan za ukupnu koncentraciju K u krvi, što može biti razlog zašto HAT telad imaju značajno niže koncentracije K samo u pojedinim ispitivanim danima. Thwaites i Moore (1989) su zapazili da telad rođena tokom leta imaju značajno višu stopu znojenja u prvoj nedelji starosti, kao i brže povećanje stope znojenja u starosti 1-6 nedelja, u poređenju sa teladima rođenim tokom zime.

Koncentracije Mn, Se i Co u krvi HAT teladi, u odnosu na koncentracije istih kod LAT teladi, bile su značajno niže tokom celog perioda ispitivanja, ukazujući na to da

mehanizam povezan sa toplotnim stresom smanjuje koncentracije ovih elemenata kako tokom intrauterinog, tako i tokom ekstrauterinog perioda. Obzirom da snadbevanje fetusa ovim esencijalnim mikroelementima u potpunosti zavisi od placente (Abdelrahman i Kincaid, 1993; Hidiroglou, 1981), intrauterino smanjenje koncentracija ovih elemenata može biti posledica smanjenja njihove koncentracije u krvi majki u uslovima toplotnog stresa. U skladu sa tim, analize krvnih seruma majki pokazale su značajno niže koncentracije Mn i Co, kao i numerički niže koncentracije Se, kod HAT majki, u odnosu na LAT majke. Dodatno, smanjenje uteroplacentarnog protoka krvi u uslovima toplotnog stresa (Tao i Dahl, 2013), moglo je doprineti smanjenom snadbevanju fetusa mineralima. Prema Hidiroglou (1980), deficit Mn u ishrani majki može uticati na korišćenje drugih minerala od strane fetusa i može interferisati sa drugim mineralima, što vodi zaključku da fetalni deficit Mn, pored smanjenog snadbevanja putem majke, može biti rezultat izmenjenog metabolizma drugih minerala. Niža koncentracija Mg u kolostrumu HAT majki, u odnosu na LAT majke (sa značajnošću prisutnom u trećem kolostrumu), ukazuje da koncentracije Mn kod postkolostralne teladi generalno ne slede sadržaj Mn u kolostrumu, verovatno zbog dugoročne posledice izraženog smanjenja koncentracije Mn na rođenju.

Značajno niže koncentracije Se na rođenju kod HAT teladi verovatno su rezultat promenjenih regulatornih mehanizama na fetalnom nivou, obzirom da su majke deficitarne u selenu sposobne da obezbede dovoljne koncentracije Se za fetus (Mehdi i Dufrasne, 2016; Hefnawy i Tórtora-Pérez, 2010). Zbog uloge Se u aktivaciji tireoidnih hormona (Mehdi i Dufrasne, 2016), kao i dobro poznatog termogenog efekta tireoidnih hormona (Silva, 2003), značajno smanjenje koncentracije Se može nastati iz potrebe za smanjenjem proizvodnje toplote u uslovima toplotnog stresa. Naime, telad izložena toplotnom stresu prenatalno i postnatalno, imaju značajno niže koncentracije tireoidnih hormona u krvi (Kirovski, 2015). Smanjanje koncentracije Se može značajno kompromitovati antioksidativnu sposobnost, obzirom da su koncentracije Se u pozitivnoj korelaciji sa aktivnosti GSH-Px (Ullrey, 1987) i da je Se njen sastavni dio (Zarczynska i sar. 2013). Sadržaj Se u kolostrumu HAT majki, u odnosu na LAT majke, bio je značajno niži samo u

primarnom kolostrumu. Ipak, kao što je već dokazano (Enjalbert i sar. 1999), transfer preko placente je mnogo efektivniji nego preko mleka.

Značajno niže koncentracije Co u krvi HAT teladi, i značajno više koncentracije Co u HAT kolostrumu nesumnjivo su odraz smanjenih koncentracija Co u fetusu, nezavisno od majčinih koncentracija Co, što je nastavljeno tokom postnatalnog perioda. Čak i posle unosa HAT kolostruma sa značajno višim koncentracijama Co, u odnosu na LAT kolostrum, koncentracije Co u krvi HAT teladi bile su i dalje niže nego kod LAT teladi. Halpin i Caple (1982) su zabeležili značajno povećanje koncentracije vitamina B<sub>12</sub> u krvnoj plazmi jagnjadi nakon unosa kolostruma, uprkos činjenici da su koncentracije vitamina B<sub>12</sub> u plazmi fetusa bile niže za 50% u odnosu na majčine. Ukoliko uzmemo u obzir da su rezerve vitamina B<sub>12</sub> u jetri mladih životinja niske (NRC, 2001), kao i to da su HAT telad imala značajno niže koncentracije Co tokom ispitivanog perioda, može se pretpostaviti da su HAT telad rođena sa mnogo nižim rezervama vitamina B<sub>12</sub> nego LAT telad, tako da je kobalt iz kolostruma, iako značajno viši, utrošen na popunjavanje ovih rezervi.

Koncentracije Cu u krvnom serumu teladi odmah nakon rođenja nisu pokazale značajne razlike između grupa, uprkos dva do tri puta višim koncentracijama Cu u HAT nego LAT kolostrumu. Obzirom da je približno 90% Cu vezano za ceruloplazmin (Lopez-Avila i sar. 2006), može se pretpostaviti da su značajno više vrednosti Cu u HAT kolostrumu posledica povišenja koncentracije ceruloplazmina u krvi majki tokom HAT sezone, kao što je zabeleženo kod teladi izložene toplotnom stresu (Orr i sar. 1990). Rezultati dobijeni analizom krvnog seruma majki odmah posle porođaja pokazuju višestruko povećanje koncentracije Cu kod HAT, u odnosu na LAT majke. Naši rezultati su pokazali značajno niže koncentracije Cu u krvnom serumu HAT teladi 3. i 7. dana postnatalnog života, u odnosu na LAT telad, što je u suprotnosti sa trendom porasta koncentracije Cu zabeležene kod teladi držane u termoneutralnim uslovima tokom prvih mesec dana postnatalnog života (Muehlenbein i sar. 2001). Zbog toga se može pretpostaviti da je status Cu u krvi HAT teladi pogoršan u sezoni visokih temperatura vazduha.

Iako kolostrum krava može akumulirati značajne količine Zn (Kume i Tanabe, 1993), koncentracije Zn u prvom i drugom HAT kolostrumu su bile značajno niže nego u LAT kolostrumu. Bilo bi opravdano zaključiti da je smanjena koncentracija Zn u krvi majki



odgovoran za smanjene koncentracije u uzorcima HAT kolostruma, i da je dodatno iskomplikovan slabim transferom Zn iz krvi u kolostrum. Ipak, koncentracije Zn u krvi HAT teladi po rođenju, koje su slične koncentracijama Zn u krvi LAT teladi, mogu ukazivati na intrauterinu akumulaciju Zn, koja je uobičajena kod teladi (Pavlati i sar. 2004). Međutim, značajno niže koncentracije Zn u krvnom serumu HAT teladi 7. dana postnatalnog života, u odnosu na LAT telad, ukazuju na opadajući trend koncentracije Zn i moguću iscrpljenost rezervi Zn u uslovima toplotnog stresa.

Koncentracije Fe kod novorođenčadi trebalo bi uvek analizirati u kombinaciji sa hematološkim parametrima crvene krvne loze (Mazzullo i sar. 2014). Sezona i uzrast imale su značajan uticaj na koncentracije Fe, obzirom da su "F" vrednosti pokazale značajnu razliku ( $P=0,06$  i  $P=0,09$ , pojedinačno). HAT grupa teladi je imala niže vrednosti Fe u krvi, u odnosu na LAT grupu, dok je značajnost bila prisutna prvog dana postnatalnog života. Trend smanjivanja vrednosti Fe je zabeležen kod obe grupe teladi od trenutka rođenja do sedmog dana života. Obzirom da kolostrum i mleko krava nisu bogati sa Fe (NRC, 2001), mlade životinje su podložne anemiji u odnosu na odrasle (Mohri i sar. 2010). U fiziološkim uslovima, rezerve Fe u jetri teleta su dovoljne da nadoknade niske količine Fe u kolostrumu i mleku i spreče pojavu izražene anemije tokom perioda ishrane mlekom (NRC, 2001). Međutim, poznato je da telad hranjena isključivo mlekom obično razviju anemiju usled deficita Fe (Lindt i Blum, 1994). Obzirom da naši rezultati nisu pokazali značajne razlike u koncentraciji Fe u krvi između HAT i LAT majki, niže koncentracije Fe kod HAT teladi verovatno su povezane sa nižim vrednostima Fe u HAT kolostrumu, u odnosu na LAT kolostrum (sa značajnošću u trećem kolostrumu). Srednje vrednosti RBC, hemoglobina, MCH i MCHC kod HAT teladi u oba ispitivana perioda (prvi i sedmi dan postnatalnog života) bile su značajno niže nego prosečne referentne vrednosti za telad uzrasta jednu nedelju (Ježek i sar. 2006), dok su vrednosti MCHC merene na dan rođenja bile niže od referentnih vrednosti. Kume i saradnici (1998) su zabeležili slične rezultate vezane za hematokrit, hemoglobin i Fe kod teladi poreklom od majki izloženih toplotnom stresu.

Omran i saradnici (2011) su kod teladi izložene toplotnom stresu zabeležili sniženje vrednosti RBC, hemoglobina i hematokrita za 20%. Vrednosti crvenih krvnih zrnaca i

hematoloških indikatora u našem ogledu, ukazuju da telad poreklom od majki izloženih toplotnom stresu mogu razviti anemiju tokom ranog postnatalnog života. Veoma je važno naglasiti da su koncentracije trombocita u oba ispitivana perioda bile značajno više (dvostruko više sedmog dana), dok su vrednosti MPV bile značajno niže u krvi HAT teladi, u odnosu na LAT telad. Na osnovu ovakvih rezultata možemo pretpostaviti da su faktori vezani za toplotni stres mogli izazvati promenu u strukturi trombocita, provocirajući koštanu srž da proizvodi više trombocita. Tako visoke koncentracije trombocita mogu biti veoma opasne za postnatalni razvoj teladi obzirom da je kod novorođene holštajn teladi zabeleženo da trombociti imaju nisku intravaskularnu aktivnost s ciljem obezbeđivanja pravilne perfuzije tkiva i organa, a sve u svrhu podrške bržeg razvoja teladi (Kutafina, 2016).

Sezona je takođe uticala na broj belih krvnih ćelija i diferencijalnu krvnu sliku. Broj i procenat eozinofila bili su značajno viši po rođenju u krvi HAT teladi u odnosu na LAT telad, što može biti odraz eozinofilnog odgovora krava nakon moguće parazitske infestacije (Mazzullo i sar. 2014) prenesene na tele putem placente. Spomenuti autori su zabeležili porast broja eozinofila kod krava izloženih najtoplijem period godine. Smanjenje broja i procenta neutrofila po rođenju i sedmog dana u krvi HAT teladi, suprotno je povišenom broju neutrofila u krvi teladi bizona, zabeleženim u uslovima izrazitog toplotnog stresa (Omran i sar. 2011). Ovakvo smanjenje može se objasniti činjenicom da tokom ranog neonatalnog perioda, naročito u danu rođenja, organizam teladi još uvek nije bio stimulisan kolostralnim i majčinim bakterijama. Ipak, postoje navodi da porast telesne temperature prisutan kod krava i teladi izloženih toplotnom stresu (Kadzere i sar. 2002), otežava invadiranje organizma bakterijama (Hulbert i Moisés, 2016), pa se stoga može pretpostaviti da je sniženje broja i procenta neutrofila sedmog dana rezultat smanjene stimulacije neutrofila izazvane visokom telesnom temperaturom. Obzirom da je broj leukocita u vezi sa nivoima kortizola, normalno povišenim tokom teljenja (Benesi i sar. 2012), opravdano je zaključiti da viši nivoi kortizola kod životinja izloženim toplotnom stresu (Silanikove, 2000) mogli izazvati takvu razliku u beloj krvnoj slici.

## 8. ZAKLJUČCI

Na osnovu rezultata istraživanja sprovedenih u doktorskoj disertaciji, mogu se izvesti sledeći zaključci:

- 1) Kod teladi poreklom od majki izloženih toplotnom stresu tokom kasnog graviditeta većina fizioloških parametara određenih neposredno nakon rođenja nije bila značajno promenjena, ukazujući na mogućnost da su fetalni homeostatski mehanizmi uglavnom bili u mogućnosti da se izbore sa umerenim toplotnim stresom diskontinuiranog karaktera.
- 2) Sastav i kvalitet kolostruma krava koje su bile izložene toplotnom stresu tokom kasnog graviditeta bio je značajno promenjen u smislu smanjenja koncentracije najznačajnijih hemijskih komponenti, što je, zajedno sa toplotnim diskomfortom teladi izazvalo slabljenje fizioloških, metaboličkih i endokrinih performansi kod sedmodnevne teladi.
- 3) Značajno smanjen sadržaj IgG utvrđen u kolostrumu krava majki koje su tokom visokog graviditeta bile izložene toplotnom stresu, kao i značajno manja koncentracija IgG u krvi njihove teladi ukazuje na kompromitovan imunski status novorođene teladi u uslovima toplotnog stresa.
- 4) Tokom prvih sedam dana neonatalnog života vrednosti koncentracija osnovnih biohemijskih parametara i hormona krvi kod teladi poreklom od majki koje su tokom visokog graviditeta bile izložene toplotnom stresu su se većinom značajno razlikovale u odnosu na telad poreklom od majki koje tokom graviditeta nisu bila izložena toplotnom stresu, ukazujući da toplotni stres svoje negativne efekte nastavlja i nakon rođenja, tokom prve nedelje života.
- 5) Kod teladi poreklom od majki izloženih toplotnom stresu tokom kasnog graviditeta utvrđen je pojačan insulinski odgovor i smanjena insulinska osetljivost perifernih tkiva kod teladi izloženih toplotnom stresu *in utero* i tokom prvih sedam dana postnatalnog perioda.
- 6) Mineralni status teladi poreklom od majki izloženih toplotnom stresu bio je kompromitovan tokom prvih sedam dana postnatalnog života ukazujući na

nemogućnost homeostatskih mehanizama da se odupru toplotnom stresu tokom graviditeta ali i ranog postnatalnog života teladi

- 7) Mineralni sastav kolostruma je značajno promenjen u uslovima kada su krave tokom visokog graviditeta bile izložene toplotnom stresu
- 8) U području umereno kontinentalne klime tokom sezone visokih spoljašnjih temperatura postoji opravdana opasnost negativnog uticaja toplotnog stresa na adaptivne sposobnosti novorođene teladi.

## 9. LITERATURA

1. *Abdelrahman MM, Kincaid RL*, 1993, Deposition of Copper, Manganese, Zinc, and Selenium in Bovine Fetal Tissue at Different Stages of Gestation<sup>1</sup>. *J Dairy Sci*, 76, 3588-3593.
2. *Allen MS, Bradford BJ, Oba M*, 2009, Board-Invited Review: The hepatic oxidation theory of the control of feed intake and its application to ruminants. *J Anim Sci*, 87, 3317-3334.
3. *Antolic A, Feng X, Wood CE, Richards EM, and Keller-Wood M*, 2015, Increased maternal nighttime cortisol concentrations in late gestation alter glucose and insulin in the neonatal lamb, *Physiol Rep*, 3:e12548-e12561.
4. *Barlet JP, Davicco MJ, Moncaup M, Lefaiivre J*, 1979, Foetal plasma magnesium levels during maternal hypo- or hypermagnesaemia in ewes. *Br J Nutr*, 42, 559-566.
5. *Barri M, Abbas SK, Pickard DW, Hammonds RG, Wood WI, Caple IW, Martin TH, Care AD*, 1990, Fetal magnesium homeostasis in the sheep. *Exp Physiol*, 75, 681-688.
6. *Baskin DG, Figlewicz DP, Woods SC, Porte D Jr, Dorsa DM*, 1987, Insulin in the brain. *Annu Rev Physiol*, 49, 335-347.
7. *Batchelder CA, Bertolini M, Mason JB, Moyer AL, Hoffert KA, Petkov SG, Famula TR, Angelos J, George LW, Anderson GB*, 2007, Perinatal physiology in cloned and normal calves: physical and clinical characteristics. *Cloning Stem Cells*, 9, 63-82.
8. *Bauman DE, Vernon RG*, 1993, Effects of exogenous bovine somatotropin on lactation. *Annu Rev Nutr*, 13, 437-461.
9. *Beede DK, Collier RJ*, 1986, Potential nutritional strategies for intensively managed cattle during thermal stress. *J Anim Sci*, 62, 543-554.
10. *Bell AW, Burhans WS, Overton TR*, 2000, Protein nutrition in late pregnancy, maternal protein reserves and lactation performance in dairy cows. *P Nutr Soc*, 59, 119-126.

11. *Bell AW*, 1995, Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation, *J Anim Sci*, 73, 2804–2819.
12. *Bell AW, Ehrhardt RA*, 2002, Regulation of placental nutrient transport and implications for fetal growth. *Nutr Res Rev*, 15, 211-230.
13. *Benesi FJ, Teixeira C, Leal ML, Lisboa JA, Mirandola R, Shecaira CL, Gomes V*, 2012, Leukograms of healthy Holstein calves within the first month of life. *Pesq Vet Bras*, 32, 352-356.
14. *Benjamin MM*, 1981, Fluid and electrolytes. In: outline of veterinary clinical pathology. *Iowa State Univ Press, Ames*, 213–228.
15. *Bernabucci U, Lacetera N, Baumgrd LH, Rhoads RP, Ronchi B, Nardone A*, 2010, Metabolic and hormonal acclimation to heat stress in domesticated ruminants. *Animal*, 4, 1167–1183.
16. *Block SS, Butler WR, Ehrhardt RA, Bell AW, Van Amburgh ME, Boisclair YR*, 2001, Decreased concentration of plasma leptin in periparturient dairy cows is caused by negative energy balance. *J Endocrinol*, 171, 339-348.
17. *Blum JW, Hammon H*, 1999, Endocrine and metabolic aspects in milk-fed calves. *Domest Anim Endocrinol*, 17, 219-230.
18. *Bohmanova J, Misztal I and Cole JB*, 2007, Temperature humidity indices as indicators of milk production losses due to heat stress, *J Dairy Sci*, 90, 1947–1956.
19. *Brumbaugh GW*, 2003, Neonatal adjustments. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, 19, 551.
20. *Boyd RDH, Byrne S, Edwards D, Glazier S, Greenwood S, Husain S, Mahendran D, Mughal Z, Štulc J, Sibley C*, 1993, Placental transfer of minerals. In *Nestle Nutrition workshop series (USA)*.
21. *Breier BH, Oliver MH, Gallaher BW*, 2000, Regulation of growth and metabolism during postnatal development. In: Kronjé PB, ed, *Ruminant physiology: digestion, metabolism, growth and reproduction*. CABI Publishing, 187–204.
22. *Broucek J, Kisac P, Uhrincat M*, 2009, Effect of hot temperatures on the hematological paramters, health and performance of calves. *Int J Biometeorol*, 53, 201–208.

23. Brown EM, MacLeod RJ, 2001, Extracellular calcium sensing and extracellular calcium signaling. *Physiol Rev*, 81, 239-297.
24. Burrin DG, Mersmann HJ, 2005, *Biology of metabolism in growing animals*, Vol 3, Elsevier, Health Sciences.
25. Care AD, Barlet JP, Abdel-Hafeez HM, 1980, Calcium and phosphate homeostasis in ruminants and its relationship to the aetiology and prevention of parturient paresis. In *Digestive physiology and metabolism in ruminants*, Springer Netherlands, 429-446.
26. Chase CCL, Hurley DJ, and Reber AJ, 2008, Neonatal immune development in the calf and its impact on vaccine response, *Vet Clin Food Anim*, 24, 87–104.
27. Chien EK, Hara M, Rouard M, Yano H, Philippe M, Polonsky KS, Bell GI, 1997, Increase in serum leptin and uterine leptin receptor messenger RNA levels during pregnancy in rats. *Biochem Biophys Res Commun*, 2237, 476–480.
28. Chigerwe M, Beck AD, Kim SS, Coons DM, 2013, Comparison of plasma oxidative status biomarkers in neonatal dairy calves during summer and fall seasons. *J Vet Sci Technol*, 11, 006.
29. Collier RJ, Dahl GE, and VanBaale MJ, 2006, Major advances associated with environmental effects on dairy cattle, *J Dairy Sci*, 89, 1244–1253.
30. Collier RJ, Tucker HA, 1978, Regulation of Cortisol Uptake in Mammary Tissue of Cows1. *J Dairy Sci*, 61, 1709-1714.
31. Collier RJ, Zimbelman RB, 2007, Heat stress effects on cattle: what we know and what we don't know. *Proceedings of the 22nd Annual Southwest Nutrition and Management Conference*, 76–83.
32. Collier RJ, Zimbelman RB, Rhoads RP, Rhoads ML, Baumgard LH, 2011, A re-evaluation of the impact of temperature humidity index (THI) and black globe humidity index (BGHI) on milk production in high producing dairy cows. In *Western Dairy Management Conf Reno NV USA*, 113-125.
33. Dahl GE, 2008, Effects of short day photoperiod on prolactin signaling in dry cows: a common mechanism among tissues and environments? *J Anim Sci*, 86, 10–14
34. Das R, Sailo L, Verma N, Bharti P, Saikia J, Imtiwati, Kumar R, 2016, Impact of

- heat stress on health and performance of dairy animals: a review. *Vet World*, 9, 260–268
35. *de la Asunción JG, Devesa A, Viña JR, Barber T*, 1994, Hepatic amino acid uptake is decreased in lactating rats. In vivo and in vitro studies. *J Nutr*, 124, 2163-2171.
  36. *Dunshea FR, Boisclair YR, Bauman DE, Bell AW*, 1995, Effects of bovine somatotropin and insulin on whole-body and hindlimb glucose metabolism in growing steers. *J Anim Sci*, 73, 2263-2271.
  37. *Enjalbert F, Lebreton P, Salat O, Schelcher F*, 1999, Effects of pre-or postpartum selenium supplementation on selenium status in beef cows and their calves. *J Anim Sci*, 77, 223-229.
  38. *Farooq U, Samad HA, Shehzad F, Qayyum A*, 2010, Physiological responses of cattle to heat stress. *World Appl Sci J*, 8, 38-43.
  39. *Fiore E, Giambelluca S, Morgante M, Piccione G, Vazzana I, Contiero B, Orefice T, Arfuso F, Giancesella M*, 2017, Changes in Thyroid Hormones Levels and Metabolism in Dairy Cows around Calving. *Acta Veterinaria*, 67, 318-330.
  40. *Gelsing SL, and Heinrichs AJ*, 2017, A Short Review: The Immune System of the Dairy Calf and the importance of colostrum IgG, *J Dairy Vet Anim Res*, 5, 0014, DOI:10.15406/jdvar.2017.05.00144.
  41. *Gorniak T, Meyer U, Südekum KH, Dänicke S*, 2014, Impact of mild heat stress on dry matter intake, milk yield and milk composition in mid-lactation Holstein dairy cows in a temperate climate. *Arch Anim Nutr*, 68, 358–369.
  42. *Grummer RR, Bertics SJ, Lacount DW, Snow JA, Dentine MR, Stauffacher RH*, 1990, Estrogen induction of fatty liver in dairy cattle. *J Dairy Sci*, 73, 1537-1543.
  43. *Guo JR, Monteiro APA, Weng XS, Ahmed BM, Laporta J, Hayen MJ, Dahl GE, Bernard JK, Tao S*, 2016, Short communication: effect of maternal heat stress in late gestation on blood hormones and metabolites of newborn calves. *J Dairy Sci*, 99, 6804–6807.
  44. *Halpin CG, Caple IW*, 1982, Vitamin B12 nutrition of foetal and newborn lambs. In *Proceedings of the Australian Society of Animal Production*, 14, 658.



45. *Hardwick LL, Jones MR, Brautbar N, Lee DB*, 1991, Magnesium absorption: mechanisms and the influence of vitamin D, calcium and phosphate. *J Nutr*, 121, 13-23.
46. *Hatfield JS, Millard J, Smith CJV*, 1974, Short term influence of intra-ventromedial hypothalamic administration of insulin on feeding in normal and diabetic rats. *Pharmacol Biochem Behav*, 2, 223–330.
47. *Hefnawy AEG, Tórtora-Pérez JL*, 2010, The importance of selenium and the effects of its deficiency in animal health. *Small Rumin Res*, 89,185-192.
48. *Heinrichs C, Yanovski JA, Roth AH, Yu YM, Domené HM, Yano K, Cutler GB Jr, Baron J*, 1994, Dexamethasone increases growth hormone receptor messenger ribonucleic acid levels in liver and growth plate. *Endocrinology*, 135, 1113–1118.
49. *Hidiroglou M*, 1980, Zinc, copper and manganese deficiencies and the ruminant skeleton: A review. *Can J Anim Sci*, 60, 579-590.
50. *Hidiroglou M, Knipfel JE*, 1981, Maternal-fetal relationships of copper, manganese, and sulfur in ruminants. A review. *J Dairy Sci*, 64, 1637-1647.
51. *Holt SD*, 2014, Ambient temperature, calf intakes, and weight gains on preweaned dairy calves. Utah State Univeristy, ProQuest Dissertations Publishing, UMI 1584313.
52. *Holtenius K, Agenäs S, Delavaud C, Chilliard Y*, 2003, Effects of feeding intensity during the dry period. 2. Metabolic and hormonal responses. *J Dairy Sci*, 86, 883–891.
53. *Holtenius P, Holtenius K*, 2007, A model to estimate insulin sensitivity in dairy cows. *Acta Vet Scand*, 49, 29–31.
54. *Hostetler CE, Kincaid RL, Mirando MA*, 2003, The role of essential trace elements in embryonic and fetal development in livestock. *Vet J*, 166, 125-139.
55. *Houseknecht KL, Portocarrero CP, Ji S, Lemenager R, Spurlock ME*, 2000, Growth hormone regulates leptin gene expression in bovine adipose tissue: correlation with adipose IGF-1 expression. *J Endocrinol*, 164, 51-57.
56. *Hulbert LE, Moisé SJ*, 2016, Stress, immunity, and the management of calves. *J Dairy Sci*, 99, 3199-3216.

57. Ingvarlsen KL, and Andersen JB, 2000, Integration of metabolism and intake regulation: a review focusing on periparturient animals, *J Dairy Sci*, 83, 1573-1597.
58. Ingvarlsen KL, 2006, Feeding-and management-related diseases in the transition cow: Physiological adaptations around calving and strategies to reduce feeding-related diseases. *Anim Feed Sci Tech*, 126, 175-213.
59. Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC), 2007, Climate change 2007: the physical science basis. Contribution of working group I to the fourth assessment report of the intergovernmental panel on climate change. *Cambridge University Press, Cambridge*.
60. IUPS, 2001, Glossary of terms for thermal physiology, *Jpn J Physiol*, 51, 245–280.
61. Ježek J, Klopčič M, Klinkon M, 2006, Influence of age on biochemical parameters in calves. *Bull Vet Inst Pulawy*, 50, 211-214.
62. Jones JI, Clemmons DR, 1995, Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. *Endocr Rev*, 16, 3-34.
63. Kadzere CT, Murphy MR, Silanikove N, Maltz E, 2002, Heat stress in lactating dairy cows: a review. *Liv Prod Sci*, 77, 59–91.
64. Kasari TR, 1994, Physiologic mechanisms of adaptation in the fetal calf at birth. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, 10, 127–136.
65. Kindahl H, Kornmatitsuk B, Gustafsson H, 2004, The cow in endocrine focus before and after calving. *Reprod Domest Anim*, 39, 217-221.
66. Kirovski D, 2015, Endocrine and metabolic adaptations of calves to extra-uterine life. *Acta Veterinaria* 65, 297–318.
67. Kirovski D, Lazarević M, Stojić V, Šamanc H, Vujanac I, Nedić O, Masnikosa R, 2011, Hormonal status and regulation of glycemia in neonatal calves during the first hours of postnatal life. *Acta Veterinaria*, 61, 349-361.
68. Kume SI, Toharmat T, Kobayashi N, 1998, Effect of restricted feed intake of dams and heat stress on mineral status of newborn calves. *J Dairy Sci*, 81, 1581-1590.
69. Kume SI, Tanabe S, 1993, Effect of parity on colostrum mineral concentrations of Holstein cows and value of colostrum as a mineral source for newborn calves. *J Dairy Sci*, 76, 1654-1660.

70. Kutafina NV, 2016, Medvedev IN Osobennosti trombocitarnyh parametrov u novorozhdennyh teljat golshtinskoj porodny [Features platelet parameters of Holstein calves in newborns]. *Zootehniya [Husbandry]*, 1, 23-25.
71. Lagercrantz H, Bistoletti P, 1977, Catecholamine release in the newborn infant at birth. *Ped Res*, 11, 889–893.
72. Li G, Currie RW, Ali IS, 2004, Insulin potentiates expression of myocardial heat shock protein 70. *Eur J Cardiothorac Surg*, 26, 281–288.
73. Liggins GC, 1994, The role of cortisol in preparing the fetus for birth. *Reprod Fert Dev*, 6, 141-150.
74. Lindt F, Blum JW, 1994, Occurrence of iron deficiency in growing cattle. *Transbound Emerg Dis*, 41, 237-246.
75. Lopez-Avila V, Sharpe O, Robinson WH, 2006, Determination of ceruloplasmin in human serum by SEC-ICPMS. *Anal Bioanal Chem*, 386, 180-187.
76. Lough DS, Beede DL, Wilcox CJ, 1990, Effects of feed intake and thermal stress on mammary blood flow and other physiological measurements in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*, 73, 325–332.
77. Machado-Neto R, Graves CN, Curtis SE, 1987, Immunoglobulins in piglets from sows heat-stressed prepartum. *J Anim Sci*, 65, 445–455.
78. Mazzullo G, Rifici C, Caccamo G, Rizzo M, Piccione G, 2014, Effect of different environmental conditions on some haematological parameters in cow. *Ann Anim Sci*, 14, 947-954.
79. Mehdi Y, Dufrasne I, 2016, Selenium in cattle: a review. *Molecules*, 21, 545.
80. Mellor DJ, Matheson IC, 1977, Variations in the distribution of calcium, magnesium and inorganic phosphorus within chronically catheterized sheep conceptuses during the last eight weeks of pregnancy. *Exp Physiol*, 62, 55-63.
81. Messinis IE, Milingos SD, 1999, Leptin in human reproduction. *Hum Reprod Update*, 5, 52–63.
82. Mohri M, Poorsina S, Sedaghat R, 2010, Effects of parenteral supply of iron on RBC parameters, performance, and health in neonatal dairy calves. *Biol Trace Elem Res*, 136, 33-39.

83. Monteiro APA, Guo JR, Weng XS, Ahmed BM, Laporta J, Hayen MJ, Dahl GE, Bernard JK, Tao S, 2016, Effect of maternal heat stress during the dry period on growth and metabolism of calves. *J Dairy Sci*, 99, 3896-3907.
84. Morein B, Abusugra I, and Blomqvist G, 2002, Immunity in neonates. *Vet Immunol Immunopathol*, 87, 207–213.
85. Mostyn A, Keisler DH, Webb R, Stephenson T, Symonds ME, 2001, The role of leptin in the transition from fetus to neonate. *Proc Nutr Soc*, 60, 187–194.
86. Muehlenbein EL, Brink DR, Deutscher GH, Carlson MP, Johnson AB, 2001, Effects of inorganic and organic copper supplemented to first-calf cows on cow reproduction and calf health and performance. *J Anim Sci*, 79, 1650-1659.
87. Nardone A, Lacetera N, Bernabucci U, Ronchi B, 1997, Composition of colostrum from dairy heifers exposed to high air temperatures during late pregnancy and the early postpartum period. *J Dairy Sci*, 80, 838-844.
88. Nienaber JA, Hahn GL, Eigenberg RA, Brown T, Gaughan JB, 2001, Feed intake response of heat-challenged cattle. In: Proceedings of the 6th international livestock environment symposium. *Louisville, Kentucky*, 154–164
89. NRC, 2001, Nutrient requirements of dairy cattle. 7th rev ed. *National Academy Press, Washington, DC*.
90. Omran FI, Ashour G, Youssef MM, Shafie MM, 2011, Responses of hematology, blood metabolites, mineral ions and hormonal profile to heat stress for Egyptian buffalo-calves. *Egypt J Agric Res*, 89, 1129-1138.
91. Orr CL, Hutcheson DP, Grainger RB, Cummins JM, Mock RE, 1990, Serum copper, zinc, calcium and phosphorus concentrations of calves stressed by bovine respiratory disease and infectious bovine rhinotracheitis. *J Anim Sci*, 68, 2893-2900.
92. Padbury J, Agata Y, Ludlow J, Ikegami M, Baylen B, and Humme J, 1987, Effect off Fetal adrenalectomy on catecholamine release and physiologic adaptation at birth in the sheep. *J Clin Invest*, 80, 1096-1103.
93. Pavlata L, Pechova A, Dvořák R, 2004, Microelements in colostrum and blood of cows and their calves during colostrum nutrition. *Acta Vet Brno*, 73, 421-429.
94. Pearson EG, Dirksen G, Meyer J, Seitz A, Rowe KE, 1995, Evaluation of liver

- function tests in neonatal calves. *J Am Vet Med Assoc*, 207, 1466–1469.
95. Piccione G, Casella S, Pennisi P, Giannetto C, Costa A, Caola G, 2010, Monitoring of physiological and blood parameters during perinatal and neonatal period in calves. *Arq Bras Med Vet Zootec*, 62, 1-12.
  96. Piccione G, Messina V, Marafioti S, Casella S, Giannetto C, Fazio F, 2012, Changes of some haematochemical parameters in dairy cows during late gestation, post partum, lactation and dry periods. *Vet Med Zoot*, 58, 59-64.
  97. Porte D Jr, Woods SC, 1981, Regulation of food intake peptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell*, 92, 573–585.
  98. Price DM, Swain AF, Guevera JM, 2015, Effect of Prenatal Trace Mineral Source on Neonatal and Growing Calf Liver and Serum Mineral Status. *Florida Beef Research Report*, 87.
  99. Radcliff RP, McCormack BL, Crooker BA, Lucy MC, 2003, Plasma Hormones and Expression of Growth Hormone Receptor and Insulin-Like Growth Factor-I mRNA in Hepatic Tissue of Periparturient Dairy Cows<sup>1</sup>. *J Dairy Sci*, 86, 3920-3926.
  100. Roland L, Drillich M, Klein-Jobstl D, Iwersen M, 2016, Invited review: Influence of climatic conditions on the development, performance, and health of calves. *J Dairy Sci*, 99, 2438–2452.
  101. Romani AM, 2011, Cellular magnesium homeostasis. *Arch Biochem Biophys*, 512, 1-23.
  102. Ronca AE, Abel RA, Ronan PJ, Renner KJ, Alberts JR, 2006, Effects of labor contractions on catecholamine release and breathing frequency in newborn rats. *Behav Neurosci*, 120, 1308-1314.
  103. Sanchez WK, Beede DK, Cornell JA, 1994, Interactions of Sodium, Potassium, and Chloride on Lactation, Acid-Base Status, and Mineral Concentrations<sup>1</sup>. *J Dairy Sci*, 77, 1661-1675.
  104. Silanikove N, 2000, Effects of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants. *Liv Prod Sci*, 67, 1–18.
  105. Silva BT, Henklein A, de Sousa MR, de Oliveira PL, Leite SBP, Fontes SM, Novo SMF, Baccili CC, Reis JF, Gomes V, 2016, Vital parameters of Holstein

- calves from birth to weaning. *Rev Bras Med Vet*, 38, 299–304.
106. *Silva JE*, 2003, The thermogenic effect of thyroid hormone and its clinical implications. *Ann Intern Med*, 139, 205-213.
  107. *Singh SP, Newton WM*, 1978, Acclimation of young calves to high temperatures: physiologic responses. *Am J Vet Res*, 39, 795–797.
  108. *Smith SM, Vale WW*, 2006, The role of the hypothalamic-pituitary- adrenal axis in neuroendocrine responses to stress. *Dialogues Clin Neurosci*, 8, 383–395.
  109. *Steinhardt M, Thielscher HH*, 2000, Tiergerechte Haltung und physiologische Funktionen von Tieren. *Tierärztliche Umschau*, 55, 189–198.
  110. *Strong RA, Silva EB, Cheng HW, Eicher SD*, 2015, Acute brief heat stress in late gestation alters neonatal calf innate immune functions. *J Dairy Sci*, 98, 7771–7783.
  111. *Tao S, Bubolz JW, do Amaral BC, Thompson IM, Hayen MJ, Johnson SE, Dahl GE*, 2011, Effect of heat stress during the dry period on mammary gland development. *J Dairy Sci*, 94, 5976–5986.
  112. *Tao S, Dahl GE*, 2013, Invited review: heat stress effects during late gestation on dry cows and their calves. *J Dairy Sci*, 96, 4079–4093.
  113. *Tao S, Monteiro APA, Hayen MJ, Dahl GE*, 2014, Short communication: maternal heat stress during the dry period alters postnatal whole- body insulin response of calves. *J Dairy Sci*, 97, 897–901.
  114. *Tao S, Monteiro APA, Thompson IM, Hayen MJ, Dahl GE*, 2012a, Effect of late-gestation maternal heat stress on growth and immune function of dairy calves. *J Dairy Sci*, 95, 7128–7136.
  115. *Tao S, Thompson IM, Monteiro APA, Hayen MJ, Young LJ, Dahl GE*, 2012b, Effect of cooling heat-stressed dairy cows during the dry period on insulin response. *J Dairy Sci*, 95, 5035–5046.
  116. *Thwaites CJ, Moore ISF*, 1989, Development of sweating ability in winter- and summer-born Friesian calves aged 1 to 6 weeks. *Int J Biometeorol*, 33, 246-250.

117. Tivane C, Rodrigues MN, Favaron PO, de Assis Neto AC, Junior EHB, Miglino MA, 2013, Mechanisms of calcium transport across the placenta. *Open J Anim Sci*, 3, 13.
118. Toharmat T, Kume S, 1997, Effect of heat stress on minerals concentration in blood and colostrum of heifers around parturition. *Asian Austral J Anim*, 10, 298-303.
119. Tripon I, Czyszter LT, Bura M, Sossidou EN, 2014, Effects of seasonal and climate variations on calves' thermal comfort and behaviour. *Int J Biometeorol*, 58, 1471–1478.
120. Ullrey DE, 1987, Biochemical and physiological indicators of selenium status in animals. *J Anim Sci*, 65, 1712-1726.
121. Underwood EJ, Suttle NF, 1999, The mineral nutrition of livestock. 3<sup>rd</sup> Edition, *CABI Publishing*, Wallingford, Oxon.
122. Vicini JL, Buonomo FC, Veenhuizen JJ, Miller MA, Clemmons DR, Collier RJ, 1991, Nutrient balance and stage of lactation affect responses of insulin, insulin-like growth factors I and II, and insulin-like growth factor-binding protein 2 to somatotropin administration in dairy cows. *J Nutr*, 121, 1656-1664.
123. West JW, 2003, Effects of heat-stress on production in dairy cattle. *J Dairy Sci*, 86, 2131-2144.
124. Zakari FO, Ayo JO, Rekwot PI, Kawu MU, 2015, Effects of age and season on haematological parameters of donkeys during the rainy and cold-dry seasons. *Int J Biometeorol*, 59, 1813–1824.
125. Zarczynska K, Sobiech P, Radwinska J, Rekawek W, 2013, Effects of selenium on animal health. *J Elementol*, 18.
126. Peric T, Probo M, Prandi A, Opsomer G, Fiems L, Veronesi MC, 2013, Oral communications: Plasma T3 and T4 concentrations in newborn calves: influence of type of delivery and breed. *Proceedings of the LXVII Annual Meeting of the Italian Society for Veterinary Sciences (SISVET)*, 234-235.
127. Flaga J, Górka P, Kowalski Z, Kaczor U, Pietrzak P, Zabielski R, 2011, Insulin-like growth factors 1 and 2 (IGF-1 and IGF-2) mRNA levels in relation to

- the gastrointestinal tract (GIT) development in newborn calves. *Pol J Vet Sci*, 14, 605-613.
128. Laron Z, 2001, Insulin-like growth factor 1 (IGF-1): a growth hormone. *Molecular Pathology*, 54, 311.
129. Ohata, Y, Ozono K, Michigami T, 2016, Current concepts in perinatal mineral metabolism. *Clin Pediatr Endocrinol*, 25, 9-17.
130. Hosnedlova B, Trávníček J, Šoch M, 2007, Current view of the significance of zinc for ruminants: A review. *Agricultura Tropica et Subtropica*, 40, 57-64.
131. Elshahawy II, Abdullaziz IA, 2017, Hemato-Biochemical Profiling in Relation to Metabolic Disorders in Transition Dairy Cows. *Alex J Veterinary Sci*, 55.
132. Wankhade PR, Manimaran A, Kumaresan A, Jeyakumar S, Ramesha KP, Sejian V, Rajendran D, Varghese MR, 2017, Metabolic and immunological changes in transition dairy cows: A review. *Vet World*, 10, 1367.
133. Bauman DE, Currie WB, 1980, Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *J Dairy Sci*, 63, 1514-1529.
134. Kawashima C, Munakata M, Shimizu T, Miyamoto A, Kida K, Matsui M, 2016, Relationship between the degree of insulin resistance during late gestation and postpartum performance in dairy cows and factors that affect growth and metabolic status of their calves. *J Vet Med Sci*, 78, 739-745.
135. Chalmeh A, Pourjafar M, Nazifi S, Momenifar F, Mohamadi M, 2015, Insulin resistance in different physiological states of high producing Holstein dairy cows. *Acta Sci Vet*, 43.
136. Micke GC, Sullivan TM, Magalhaes RS, Rolls PJ, Norman ST, Perry VEA, 2010, Heifer nutrition during early-and mid-pregnancy alters fetal growth trajectory and birth weight. *Anim Reprod Sci*, 117, 1-10.
137. Butler ST, Marr AL, Pelton SH, Radcliff RP, Lucy MC, Butler WR, 2003, Insulin restores GH responsiveness during lactation-induced negative energy



- balance in dairy cattle: effects on expression of IGF-I and GH receptor 1A. *J Endocrinol*, 176, 205-217.
138. Chilliard Y, Bonnet M, Delavaud C, Faulconnier Y, Leroux C, Djiane J, 2001, Leptin in ruminants. Gene expression in adipose tissue and mammary gland, and regulation of plasma concentration. *Domest Anim Endocrinol*, 29, 3-22.
139. Nikolić JA, Kulcsár M, Kátai L, Nedić O, Jánosi S, Huszenicza G, 2003, Periparturient endocrine and metabolic changes in healthy cows and in cows affected by mastitis. *Transbound Emerg Dis*, 50, 22-29.
140. Forhead AJ, Lamb CA, Franko KL, O'connor DM, Wooding FB, Cripps RL, Ozanne S, Blache D, Shen QW, Du M, Fowden AL, 2008, Role of leptin in the regulation of growth and carbohydrate metabolism in the ovine fetus during late gestation. *J Physiol*, 586, 2393-2403.
141. *International Commission for Thermal Physiology (ICTP)*, 2001, Glossary of terms for thermal physiology, 3rd edition. *Jpn J Physiol*, 51, 245–280.
142. Amundson JL, Mader TL, Rasby RJ, Hu QS, 2006, Environmental effects on pregnancy rate in beef cattle 1. *J Anim Sci*, 84, 3415-3420.
143. Nardone A, Ronchi B, Lacetera N, Ranieri MS, Bernabucci U, 2010, Effects of climate changes on animal production and sustainability of livestock systems. *Livest Sci*, 130, 57-69.
144. Bianca W, 1959, Acclimatization of calves to hot, humid environment. *J Agric Sci*, 52, 305–312.
145. Dahl GE, 2008, Effects of short day photoperiod on prolactin signaling in dry cows: A common mechanism among tissues and environments? 1 2. *J Anim Sci*, 86, 10-14.
146. Pereira AM, Baccari F, Titto EA, Almeida JA, 2008, Effect of thermal stress on physiological parameters, feed intake and plasma thyroid hormones concentration in Alentejana, Mertolenga, Frisian and Limousine cattle breeds. *Int J Biometeorol*, 52, 199-208.
147. Christison GI, Johnson HD, 1972, Cortisol Turnover in Heat-Stressed Cows 1. *J Anim Sci*, 35, 1005-1010.

## Biografija

Julijana Trifković je rođena u Sarajevu, opština Centar, 06. januara 1990. godine. Osnovno obrazovanje je započela u Beogradu, OŠ Sveti Sava, gde završava prvi razred, nakon čega se vraća u Bosnu i Hercegovinu, gde završava Osnovno obrazovanje u OŠ Sveti Sava, u Istočnom Sarajevu. Srednje obrazovanje stekla je u opštoj Gimnaziji "28. juni", u Istočnom Sarajevu. Petogodišnji predbolonjski dodiplomski studij Veterinarskog fakulteta Univerziteta u Istočnom Sarajevu upisala je u oktobru, školske 2008/09. godine, a zvanje diplomiranog veterinara stekla je u julu, školske 2012/13 godine, sa prosečnom ocenom 8,90. Na osnovu Odluke Senata Univerziteta u Sarajevu, novembra 2013. godine, od strane dekana Veterinarskog fakulteta prof. dr Nihada Fejzića, svečano je promovisana za studenta generacije, te primila Povelju Univerziteta u Sarajevu kao student generacije 2008-2013. Odlukom Senata Univerziteta u Istočnom Sarajevu, školske 2013/14. godine izabrana je u zvanje asistenta, za užu naučnu oblast Anatomija i fiziologija životinja, na Poljoprivrednom fakultetu istoimenog Univerziteta. Školske 2014/15. godine upisala je prvu godinu doktorskih akademskih studija Fakulteta veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu. Odlukom Senata u Univerziteta u Istočnom Sarajevu, školske 2014/15. godine, izabrana je u zvanje višeg asistenta na istu oblast, na osnovu stečenih 300 ECTS bodova dodiplomskog studija. Školske 2016/17. godine, završila je treću godinu doktorskih akademskih studija i položila sve planom i programom predviđene ispite, sa prosečnom ocenom 9,40. Naučni rad iz oblasti doktorske disertacije publikovala je februara 2018. godine u časopisu M22 kategorije, čime je zaključno stekla sve uslove za pokretanje procedure Ocene i odbrane završene doktorske disertacije.

U toku dodiplomskih studija, četiri puta je proglašena za studenta sa najvišim prosekom ocena na kraju školske godine, te na osnovu istog, boravila na Fakultetu veterinarske medicine u Istanbulu u dva navrata, gde je završila paraklinički i klinički trening program. Kao perspektivni mladi istraživač ispred Bosne i Hercegovine, juna 2014. godine učestvovala je na "MARIE SKLODOWSKA CURIE: ESOF 2014 CONFERENCE" u Kopenhagenu, u okviru projekta finasiranog od strane Evropske Komisije "Capacity Building of BiH in European Research and Technology Development Programmes and Initiatives (RTDPI)". U okviru Tempus "ONE HEALTH" projekta, jula 2017 godine, boravila je na Fakultetu veterinarske medicine u Milanu u trajanju od mesec dana, gde je u savremenim laboratorijama, generalno primenjivanim u polju Javnog zdravlja/ Jedinstvenog zdravlja, stekla znanje i veštine rada u polju molekularne- i imunodijagnostike.

Decembra 2015. godine položila je stručni ispit za doktora veterinarske medicine, te je vlasnik i Licence za obavljanje veterinarske delatnosti.

Прилог 1.

## Изјава о ауторству

Потписаница Јулијана Трифковић

број уписа 14/19

### Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Одређивање параметара физиолошког статуса новорођене теладки пореклом од мајки изложених топлинском стресу током касног гравидитета

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

Потпис докторанда

У Београду, 02.08.2019.

Јулијана Трифковић

Прилог 2.

**Изјава о истоветности штампане и електронске  
верзије докторског рада**

Име и презиме аутора Јулијана Трифковић

Број уписа 14/19

Студијски програм Докторске академске студије

Наслов рада Одређивање параметара физиолошког статуса новорођене теладн  
циркулацијом од највише изложених топлинском стресу током касног гравидитета

Ментор Проф. др Данијела Кировски

Потписани Јулијана Трифковић

изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској  
верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу Дигиталног  
репозиторијума Универзитета у Београду.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања  
доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране  
рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне  
библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис докторанда

У Београду, 02.08.2018

Јулијана Трифковић

Прилог 3.

## Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

Одређивање параметара физиолошког статуса новорођене телад пореклом од мајки изложених топлином стресу током касног гравидитета

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

у Београду, 02.08.2018.

Потпис докторанда

