

3  
4  
5 IZVEŠTAJ O OCENI ZAVRŠENE DOKTORSKE DISERTACIJE

6  
7 I PODACI O KOMISIJI:

8  
9 1. Datum i naziv organa koji je imenovao komisiju:

10 21. mart 2018. godine, 184. sednica Nastavno-naučnog veća Fakulteta veterinarske medicine  
11 Univerziteta u Beogradu

12  
13 2. Sastav komisije sa naznakom imena i prezimena svakog člana, zvanja, naziva uže  
14 naučne oblasti za koju je izabran u zvanje, godinom izbora u zvanje i naziv fakulteta,  
15 ustanove u kojoj je član komisije zaposlen:

- 16 • prof. dr Danijela Kirovski, redovni profesor, Fiziologija, 2016. godina, Fakultet  
17 veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu
- 18  
19 • prof. dr Ivan Vujanac, docent, Bolesti papkara, 2017. godina, Fakultet veterinarske  
20 medicine Univerziteta u Beogradu
- 21  
22 • prof. dr Martina Klinkon, vanredni profesor, Bolesti i zdravstvena zaštita preživara,  
23 2008. godina, Veterinarska fakulteta Univerze v Ljubljani, Slovenija

24  
25  
26 II PODACI O KANDIDATU:

27  
28 1. Ime, ime jednog roditelja, prezime: Julijana, Srđan, Trifković

29  
30 2. Datum rođenja, opština, Republika: 06.01.1990. Sarajevo, Bosna i Hercegovina

31  
32 3. Datum odbrane, mesto i naziv magistarske teze\*:

33  
34 4. Naučna oblast iz koje je stečeno akademsko zvanje magistra nauka\*:

35  
36 III NASLOV DOKTORSKE DISERTACIJE: Određivanje parametara fiziološkog statusa  
37 novorođene teladi poreklom od majki izloženih toplotnom stresu tokom kasnog graviditeta

38  
39 IV PREGLED DOKTORSKE DISERTACIJE (navesti broja strana poglavlja, slika, šema,  
40 grafikona i sl.):

41 Doktorska disertacija kandidata Julijane Trifković napisana je na 109 strana i sadrži sledeća  
42 poglavlja: Uvod (2 strane), Pregled literature (21 strana), Cilj i zadaci istraživanja (2 strane),  
43 Materijal i metode rada (8 strana), Rezultati istraživanja (24 strane), Diskusija (15 strana),  
44 Zaključci (2 strane), Literatura (12 strana). Poslednje 4 strane su biografija i izjave.  
45 Zahvalnica i kratak sadržaj na srpskom i engleskom jeziku nalazi se na prvih 6 strana. U  
46 disertaciji se nalazi 8 tabela (svih 8 tabela se nalaze u poglavlju Rezultati) i 15 grafikona (svih  
47 15 grafikona se nalaze u poglavlju Rezultati).

48  
49 V VREDNOVANJE POJEDINIH DELOVA DOKTORSKE DISERTACIJE (dati kratak opis  
50 svakog poglavlja disertacije: uvoda-do 250 reči, pregleda literature-do 500 reči, cilja i  
51 zadatka istraživanja-nije ograničeno, materijal i metoda – nije ograničeno, rezultata –  
52 nije ograničeno, diskusije-do 100 reči, spiska referenci-navesti broj referenci u  
53 doktorskoj disertaciji):

54  
55 U Uvodu kandidat navodi da je toplotni stres jedan od vodećih problema govedarske  
56 proizvodnje, ne samo u zemljama tropskog, već i u zemljama umereno kontinentalnog  
57 regiona, gde je toplotni stres pretežno izražen tokom letnje sezone. Do sada je toplotni stres  
58 uglavnom izučavan kod krava u laktaciji, s obzirom na njegov negativni uticaj na proizvodnju  
59 mleka. Značajno manje je ispitivan uticaj toplotnog stresa na novorođenu telad jer je utvrđeno

1 da su ona manje osetljiva na visoku spoljašnju temperaturu od odraslih krava. Međutim,  
2 podaci iz literature ukazuju na to da toplotni stres kod novorođene teladi treba izučavati kroz  
3 posledice izloženosti gravidnih krava majki toplotnom stresu, a ne kroz direktan uticaj na  
4 novorođenčad. Naime, pretpostavlja se da toplotni stres u poslednjim nedeljama graviditeta  
5 negativno utiče na intrauterini razvoj ploda dovodeći do rađanja slabo vitalne teladi, kao i da  
6 dovodi do slabijeg prepartalnog razvoja mlečne žlezde, što nepovoljno utiče na kvalitet  
7 kolostruma kao jedine hrane novorođenčadi u prvim danima života.

8 Poređenjem vitalnosti novorođene teladi poreklom od majki koje su period visokog  
9 graviditeta provele u različitim sezonama, hladnoj i toploj, može se utvrditi da li visoke  
10 spoljašnje temperature kojima su izložene majke u graviditetu negativno utiču na novorođenu  
11 telad. Ukoliko se to ustanovi, otvoriće se mogućnost da se uspostave protokoli odgoja  
12 visokogravidnih krava u uslovima toplotnog stresa, koji bi omogućili proizvodnju krava koja bi  
13 bila u skladu sa njihovim genetskim potencijalom, kao i dobijanje zdrave i vitalne teladi.

14  
15 **Pregled literature** je podeljen u tri potpoglavlja. U prvom potpoglavlju kandidat  
16 opisuje adaptaciju novorođenčadi na ekstrauterine uslove života, analizirajući odvojeno  
17 endokrinu, metaboličku i imunsku adaptaciju. U pogledu endokrine adaptacije, kandidat je  
18 istakao značaj promena koncentracija kortizola, kateholamina, insulina, glukagona, tireoidnih  
19 hormona i insulinu sličnih faktora rasta I i II u neonatalnom periodu života. Istakao je da je  
20 endokrina adaptacija od posebnog značaja u prva 2 do 4 časa postnatalnog života, odnosno  
21 u periodu odmah nakon rođenja do napajanja prvim kolostrumom. Promene koncentracija  
22 hormona u tom periodu omogućavaju intenziviranje kataboličkih procesa čime se obezbeđuje  
23 neophodna energija za preživljavanje teladi do unošenja hranljivih materija putem kolostruma.  
24 U poglavlju koje se odnosi na metaboličku adaptaciju, kandidat odvojeno prikazuje adaptaciju  
25 metabolizma organskih i neorganskih materija. Adaptacijom metabolizma organskih materija  
26 omogućava se održavanje vrednosti osnovnih biohemijskih parametara krvi u opsegu  
27 fizioloških vrednosti. Metabolizam mineralnih materija je adaptiran potrebama teladi u ranim  
28 fazama postnatalnog razvoja. Adaptacija imunskog sistema je prikazana kroz sazrevanje  
29 humoralnog i celularnog imuniteta, kao i kroz značaj kolostralnog napoja za potpuno  
30 sazrevanje ovog sistema kod novorođenčadi.

31 U drugom potpoglavlju kandidat opisuje uticaj endokrinog i metaboličkog statusa  
32 gravidne majke na razvoj fetusa i sastav kolostruma, dovodeći u vezu fiziološki status  
33 gravidne majke sa vitalnošću novorođenih teladi. Posebno ističe one adaptacione fiziološke  
34 mehanizme visokogravidnih krava, kao što je insulinska rezistencija, koji svojom promenom  
35 mogu značajno uticati na prenatalni razvoj teladi. Kandidat, analizom literature, ukazuje da  
36 promena endokrinog i metaboličkog statusa gravidne majke, a koja može da se desi u  
37 različitim stanjima stresa, značajno ugrožava intrauterini razvoj ploda, ali i kvalitet kolostruma  
38 koji je jedina hrana novorođenčadi u prvim danima života.

39 U trećem potpoglavlju kandidat opisuje toplotni stres kod goveda analizirajući  
40 dosadašnju literaturu koja se uglavnom odnosi na odrasle krave. Ukazuje na fiziološke  
41 parametre toplotnog stresa kao i na indekse koji se koriste za utvrđivanje stepena toplotnog  
42 stresa. Deo ovog poglavlja posvećuje temperaturno-humidnom indeksu (THI- "temperature  
43 humidity index"), odnosno vrednostima ovog indeksa na osnovu kojih se toplotni stres  
44 razdvaja na blagi, umereni i izraziti. Uzimajući u obzir činjenicu da se u području umereno  
45 kontinentalne klime, kojoj pripada Srbija, glavna opasnost od toplotnog stresa javlja tokom  
46 letnje sezone i to u dnevnom periodu dana, kandidat razmatra mogućnosti oporavka  
47 organizma u slučajevima diskontinualnog toplotnog stresa koji se javlja kada noćne vrednosti  
48 THI padnu ispod graničnih vrednosti za toplotni stres. Detaljnom analizom dostupne literature  
49 vezane za toplotni stres kod goveda postavlja hipotezu doktorske disertacije koja treba da  
50 utvrdi da li izloženost gravidne majke toplotnom stresu tokom letnje sezone u području  
51 umereno kontinentalne klime može značajno da ugozi vitalnost novorođene teladi.

### 52 53 **Cilj i zadaci istraživanja**

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

58 Radi postizanja cilja istraživanja postavljeni su sledeći zadaci:

- 59 1. Odabrati krave u poslednjoj fazi graviditeta, 21 dan pre očekivanog termina porođaja i  
60 izdvojiti u posebni deo objekta. Prvu grupu krava (n = 10) odabrati u temperaturno

- 1 optimalnom periodu godine (mart i april) a drugu grupu krava (n = 10) odabrati u  
2 temperaturno nepovoljnom periodu godine (juli i avgust).
- 3 2. Podatke o meteorološkim parametrima (temperatura vazduha i relativna vlažnost  
4 vazduha), uzeti iz najbliže meteorološke stanice, a zatim izračunati vrednosti satnih  
5 THI tokom celog trajanja oglada.
  - 6 3. Kod svih krava, 15 dana pre očekivanog termina porođaja, odrediti puls,  
7 elektrohemijsku reakciju krvi i uzeti uzorke krvi za određivanje koncentracija  
8 biohemijskih parametara (glukoze, NEFA, ukupnih proteina, albumina, uree, ukupnog  
9 bilirubina) i hormona (kortizola, leptina, insulina, trijodtironina, tiroksina i IGF- I).
  - 10 4. Odmah nakon rođenja, obeležiti telad svih krava i ostaviti ih do 2 sata uz svoje majke  
11 bez mogućnosti sisanja. Nakon toga smestiti telad u individualne boksove i ponuditi  
12 im kolostrum njihovih majki, u istim količinama, i to u sledećim periodima: 4, 14 i 26  
13 sati nakon rođenja. Posle tog perioda telad napajati mlekom svojih majki dva puta  
14 dnevno, u istim količinama, i pratiti ih do 7. dana postnatalnog života.
  - 15 5. Svu telad uključenu u ogled izmeriti kako odmah nakon rođenja, tako i nakon  
16 završetka oglada, odnosno 7. dana neonatalnog života.
  - 17 6. U svim uzorcima kolostruma, a kasnije i mleka, odrediti koncentraciju imonoglobulina  
18 G klase (IgG) i nutritivnu vrednost kolostruma (sadržaj masti, proteina, laktoze, suve  
19 materije).
  - 20 7. Uzorke krvi teladi uzeti neposredno nakon rođenja (pre napajanja kolostrumom), kao i  
21 1, 2, 3. i 7. dana nakon rođenja. U uzorcima krvi, u koje je dodat antikoagulans  
22 EDTA, odrediti hematološke parametre: broj crvenih krvnih zrnaca, ukupan broj belih  
23 krvnih ćelija, monocita, bazofila, eozinofila, neutrofila, hematokrit, koncentraciju  
24 hemoglobina, MCH, MCHC, MCV, MPV i broj trombocita. Nakon izdvajanja krvnog  
25 seruma u uzorcima odrediti koncentracije biohemijskih parametara (NEFA, ukupni  
26 proteini, albumini, glukoza), uključujući i status mineralnih materija (Mg, Ca, Pi, Na, K,  
27 Mn, Se, Co, Cu, Zn, Fe), koncentracije hormona (insulin, kortizol, trijodtironin, tiroksin,  
28 leptin), IgG, parametre oksidativnog stresa i pH krvi.
  - 29 8. Kod teladi starih 7 dana izvesti IVGTT i u svim uzorcima krvi uzetim tokom izvođenja  
30 testa opterećenja odrediti koncentracije glukoze, NEFA i insulina.
  - 31 9. Proceniti stepen insulinske rezistencije perifernih tkiva teladi upotrebom  
32 odgovarajućih matematičkih modela. U te svrhe izračunati RQUICKI indeks, kao i  
33 parametre vezane za promene koncentracije glukoze ( $k$ ,  $T_{1/2}$ ,  $Pik_{glukoza}$  i  $AUC_{glukoza}$ ),  
34 insulina ( $\Delta Max_{insulin}$ ,  $Pik_{insulin}$  i  $AUC_{insulin}$ ) i NEFA ( $AUC_{NEFA}$ ) u toku izvođenja IVGTT.

35  
36 **Materijal i metode rada** su detaljno opisani u posebnom poglavlju. Ogled je sproveden na  
37 komercijalnoj farmi krava koja se nalazi u području umereno kontinentalne klime, lociranoj na  
38 koordinatama 44°49'14" severno i 20°27'44" istočno, tokom dve sezone u 2015. godini: (1)  
39 sezoni niskih temperatura vazduha (LAT sezona-“low air temperature”) od 1. februara do 21.  
40 marta i (2) sezoni visokih temperatura vazduha (HAT sezona-“high air temperature”) od 1. jula  
41 do 22. avgusta. Trajanje svakog perioda je utvrđeno tako da uključuje 30 dana graviditeta  
42 prve oteľjene krave i prvih sedam dana života poslednjeg oteľjenog teleta iz grupe.  
43 Temperatura vazduha i relativna vlažnost su merene svakog sata u meteorološkim kutijama  
44 Hidrometeorološkog zavoda Srbije, lociranim 1km od farme. Temperatura vazduha je merena  
45 suvim živinim termometrom klase A (*Thermo Schneider Normal-Thermometer, Rolan Herma,*  
46 *Germany*), a relativna vlažnost aspiracionim psihrometrom (*Aspiration Hygrometer by*  
47 *Assman, Theodor Friedrich and Co., Germany*). Temperaturno-humidni indeks (THI) je  
48 izračunat po formuli:  $THI = T_{db} - (0.55 - (0.55 * RH / 100)) * (T_{db} - 58)$ , pri čemu je  $T_{db}$  (“dry bulb  
49 temperature”) temperatura suvog termometra, a RH (“relative humidity”) relativna vlažnost  
50 vazduha.

51 Za ogled je odabrano 20 teladi holštajn rase. Prvu grupu (n=10) su činila telad  
52 poreklom od majki koje su period kasnog graviditeta iznele tokom LAT sezone (LAT telad).  
53 Drugu grupu (n=10) su činila telad poreklom od majki koje su period kasnog graviditeta iznele  
54 tokom HAT sezone (HAT telad). Majke LAT teladi su označene kao LAT majke, dok su majke  
55 HAT teladi označene kao HAT majke. Obe grupe krava su imale slične dužine graviditeta  
56 (LAT majke: 280±0,69 dana; HAT majke: 279±1,37 dana) i servis period od približno 60 dana.  
57 Vrednosti rektalnih temperatura majki, merenih odmah nakon teljenja, iznosile su  
58 38,61±0,07°C za LAT majke i 39,51±0,17°C za HAT majke (P<0,001).

59 LAT i HAT majke su hranjene identičnim miksiranim obrocima (TMR- “total mixed  
60 ration”) čiji je sastav bio prilagođen fazi proizvodno reproduktivnog cikusa i u skladu sa

1 preporukama NRC (2001). Hrana je davana u 7.00<sup>h</sup> i 16.00<sup>h</sup>. Unos suve materije (DMI- “dry  
2 matter intake”) je meren nedeljno tokom dva uzastopna dana, i to u četvrtoj i prvoj nedelji pre,  
3 kao i prvoj nedelji posle teljenja, izračunavanjem razlike između ponuđene i preostale količine  
4 TMR.

5 Nakon rođenja, svako tele je provelo dva sata uz majku, ali bez mogućnosti sisanja.  
6 Nakon dva sata, telad su odvojena od majki, smeštena u individualne bokseve, gde su  
7 hranjena najpre kolostrumom uz upotrebu flaše sa cuclom (2,5 L po teletu 2, 14. i 26. sata  
8 postnatalnog života), a kasnije mlekom iz kante dva puta dnevno (3 L po teletu) do sedmog  
9 dana postnatalnog života. Kolostrum LAT majki je označen kao LAT kolostrum, a kolostrum  
10 HAT majki kao HAT kolostrum.

11 Rektalna temperatura, frekvenca srčanog rada, frekvenca disanja i telesna masa  
12 (TM) merene su dva sata nakon rođenja svakog teleta (0. dan) i sedmog dana postnatalnog  
13 života u 09.30<sup>h</sup>. Rektalna temperatura je merena digitalnim veterinarskim termometrom  
14 (*MediChek Large Veterinary Thermometer, THR010-6012V, USA*), frekvenca srčanog rada  
15 stetoskopom (*3M Littman Classic III Stethoscope, USA*), a frekvenca disanja brojanjem  
16 pokreta rebara. Istih dana u 10.00<sup>h</sup> merena je elektrohemijaska reakcija krvi pHmetrom (*HI  
17 9321, HANNA instruments, Woonsocket, RI, USA*) u uzorcima krvi uzetim anaerobno  
18 punktiranjem *v.jugularis* u heparinizovane epruvete. Merenje je izvršeno 5 sekundi nakon  
19 otvaranja epruvete.

20 Prvi, drugi i treći kolostrum, korišćeni za prva tri obroka teladi, uzorkovani su od  
21 svake majke neposredno pred hranjenje teladi, odnosno 2, 14. i 26. sata po telenju. Procenti  
22 masti u kolostrumu, suve materije bez masti (SMBM), laktoze i proteina su određeni pomoću  
23 LactoScope Filter C3+/C4+ (*Delta Instruments, the Netherlands*). Kolostralni serum je  
24 izdvojen za određivanje koncentracije IgG metodom radijalne imunodifuzije (RID) uz upotrebu  
25 komercijalnog kita (*Bovine RID Kit, INEP, Belgrade, Serbia*), kao i za određivanje  
26 koncentracije IGF-I metodom radioimunoesej (*RIA-IGF-I, INEP, Belgrade, Srbija*).

27 Krv teladi za određivanje koncentracije biohemijaskih parametara, hormona,  
28 oksidativnog stresa i minerala, uzorkovana je punkcijom *v. jugularis* odmah po rođenju, pre  
29 unosa kolostruma (0. dan) i 1, 2, 3. i 7. dana postnatalnog života teleta u 10.00<sup>h</sup>, a od krava  
30 na isti način odmah nakon teljenja. Za analize biohemijaskih parametara, hormona, i minerala,  
31 uzorci su prikupljeni u serum klot aktivator vakutajnera, a za analize parametara oksidativnog  
32 stresa u heparinisane vakutajner epruvete. Krvni serum odnosno plazma su dobijeni nakon  
33 centrifugiranja uzoraka krvi 30 min na 3000 x g.

34 Koncentracije ukupnih proteina, albumina, uree i ukupnog bilirubina u krvnom serumu,  
35 određeni su pomoću VetTest Chemistry Analyzer version 8.22A device (*IDEXX, Westbrook,  
36 USA*), uz upotrebu pojedinačnih slajdova za svaki parametar (*IDEXX, Westbrook, USA*).  
37 Koncentracija glukoze je određena korišćenjem Randox (*Crumlin, UK*) kitova metodom  
38 enzimske oksidacije u prisustvu glukoze oksidaze na poluautomatskom biohemijaskom  
39 analizatoru (*STAT FAX 3300 AWRENESS TECHNOLOGY INC, USA*). Koncentracija IgG u  
40 krvnim serumima je određena RID metodom uz upotrebu komercijalnih kitova (*Bovine RID  
41 Kit, INEP, Belgrade, Serbia*), a koncentracije insulina, IGF-I, kortizola, trijodtironina (T<sub>3</sub>) i  
42 tiroksina (T<sub>4</sub>) radioimunoesejom (*RIA-Insulin, RIA-IGF-I, RIA-Cortisol, RIA-T<sub>3</sub>, RIA-T<sub>4</sub>, INEP,  
43 Belgrade, Serbia*). Koncentracija leptina je izmerena ELISA metodom uz upotrebu Bovine  
44 leptin Elisa Kit (*Cusabio, Co, Carlsbad, CA, USA*). Aktivnost GSH-Px je određena kinetičkom  
45 metodom uz upotrebu komercijalnog kita (*RANSEL by Randox Laboratories, UK*).

46 Telad obe grupe podvrgnuta su intravenskom testu tolerancije na glukozu (IVGTT)  
47 sedmog dana starosti u 10.00<sup>h</sup>, pre jutarnjeg hranjenja, aplikacijom glukoze u dozi od 200  
48 mg/kg TM (*glucose 2,78 mol/L wt/vol; Zorka Šabac, Serbia*) u *v. jugularis*. Uzorci krvi za  
49 određivanje koncentracija glukoze i insulina su uzeti iz *v. jugularis* na suprotnoj strani vrata od  
50 one u koju je data glukozna, neposredno pre početka infuzije glukoze (0. min), kao i 4, 8, 12,  
51 18, 25, 35. i 60. minuta nakon početka infuzije glukoze. Koncentracije glukoze i insulina  
52 određene u uzorcima krvi dobijenim 0. minuta IVGTT su predstavljene kao vrednosti 7. dana  
53 za biohemijiske parametre i hormone. Koncentracija NEFA je određena iz uzoraka krvi uzetih  
54 0. minuta, uz upotrebu enzimske kolorimetrijske metode, korišćenjem Randox (UK) kitova na  
55 poluautomatskom biohemijaskom analizatoru (*STAT FAX 3300 AWRENESS TECHNOLOGY  
56 INC. USA*).

57 Kinetika glukoze tokom IVGTT je određena pomoću sledećih parametara: bazalna  
58 koncentracija glukoze u serumu (T<sub>0glukoza</sub>), maksimalna koncentracija glukoze u serumu  
59 (Pik<sub>glukoza</sub>), stopa smanjenja (k), poluvreme eliminacije glukoze (T<sub>1/2</sub>) i površina ispod glukoze  
60 krive (AUC<sub>glukoza</sub>).

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

4 RQUICKI (*Revised Quantitative Insulin Check Index*) je korišten za procenu  
5 insulinske rezistencije perifernih tkiva korišćenjem podataka dobijenih tokom IVGTT, a preko  
6 bazalnih vrednosti glukoze, insulina i NEFA prema formuli:

$$7 \quad RQUICKI = 1 / [\log \text{glucose (mg/dl)} + \log \text{insulin } (\mu\text{U/ml}) + \log \text{NEFA (mmol/L)}].$$

8 Radi određivanja koncentracije mineralnih materija u uzorcima krvi i kolostruma,  
9 uzorci su podvrgnuti digestiji azotnom kiselinom. Ispitivane su koncentracije magnezijuma  
10 (Mg), kalcijuma (Ca), neorganskog fosfora (Pi), natrijuma (Na), kalijuma (K), mangana (Mn),  
11 selena (Se), kobalta (Co), bakra (Zu), cinka (Zn) i gvožđa (Fe) induktivno spregnutom  
12 masenom spektrometrijom (ICP-MS- "inductively coupled plasma mass spektrometry") na  
13 instrumentu "iCap Q" (*Thermo Scientific, Bremen, Germany*).

14 U uzorcima krvi uzetim 0. i 7. dana postnatalnog života teladi izvršene su  
15 hematološke analize koje su obuhvatale određivanje broja crvenih krvnih zrnaca (RBC),  
16 koncentracije hemoglobina, hematokrita, srednjeg korpuskularnog volumena (MCV), srednjeg  
17 korpuskularnog hemoglobina (MCH), srednje korpuskularne koncentracije hemoglobina  
18 (MCHC), broja trombocita i srednjeg volumena trombocita (MPV), a analize su izvršene na  
19 automatizovanom veterinarskom hematološkom analizatoru Advia 120 (*Healthcare  
20 Diagnostics GmbH, Erlangen, Germany*), na kome je u istim uzorcima ispitan i broj belih  
21 krvnih ćelija (WBC), eozinofila, bazofila, neutrofila, limfocita i monocita.

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

33  
34 **Rezultati** su prikazani u više odvojenih potpoglavlja. Rezultati analize meteoroloških  
35 parametara su pokazali da je tokom LAT sezone najniža zabeležena temperatura vazduha  
36 iznosila  $-1,7^{\circ}\text{C}$  a najviša  $10,9^{\circ}\text{C}$ , sa prosečnom temperaturom od  $5,20 \pm 0,46^{\circ}\text{C}$ . Prosečna  
37 vrednost THI tokom LAT sezone iznosila je  $43,58 \pm 0,79$ . Prosečna temperatura vazduha  
38 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  
39 prosečna vrednost THI iznosila  $74,31 \pm 0,45$ . Tokom HAT sezone, krave su bile izložene  
40  $THI \geq 68$  tokom 37 dana, a vrednostima od  $THI \geq 72$  tokom 20 dana.

41 Ispitivanjem fizioloških parametara teladi utvrđeno je da je TM bila niža kod HAT u  
42 odnosu na LAT telad, značajno 7. dana života ( $P = 0,028$ ). Telad HAT grupe su, u odnosu na  
43 LAT grupu, imala značajno više vrednosti rektalne temperature ( $P = 0,004$ ) i značajno niže  
44 vrednosti frekvence srčanog rada ( $P = 0,005$ ) 7. dana života. Nultog dana života kod teladi  
45 HAT grupe, u odnosu na LAT grupu, zabeležene su značajno više vrednosti frekvence  
46 disanja ( $P < 0,05$ ) i pH vrednosti krvi ( $P = 0,040$ ).

47 Analiza sastava kolostruma je pokazala da je prvi HAT kolostrum imao značajno niže  
48 vrednosti SMBM ( $P = 0,004$ ), prvi i drugi HAT kolostrum značajno niži sadržaj mlečne masti  
49 ( $P = 0,005$  i  $P = 0,027$ , pojedinačno) i značajno niže koncentracije IGF-I ( $P = 0,002$  i  $P = 0,015$ ,  
50 pojedinačno) u odnosu na LAT kolostrum, dok su u prvom, drugom i trećem HAT kolostrumu  
51 zabeležene značajno niže vrednosti laktoze ( $P < 0,001$ ,  $P = 0,017$  i  $P < 0,001$ , pojedinačno),  
52 proteina ( $P < 0,001$ ,  $P = 0,001$  i  $P = 0,014$ , pojedinačno) i IgG ( $P = 0,008$ ,  $P = 0,024$  i  $P = 0,022$ ,  
53 pojedinačno), u odnosu na LAT kolostrum.

54 Biohemijska analiza uzoraka krvi je pokazala da je koncentracija glukoze kod HAT  
55 teladi, u odnosu na LAT telad, bila značajno niža ( $P = 0,004$ ) trećeg dana postnatalnog života.  
56 Takođe, u krvi HAT teladi izmerene su značajno niže koncentracije ukupnih serumskih IgG  
57 ( $P = 0,036$ ,  $P = 0,027$ ,  $P = 0,021$  i  $P = 0,003$  za 1, 2, 3. i 7. dan, pojedinačno), ukupnih proteina  
58 ( $P = 0,003$  i  $P = 0,019$  za 0. i 7. dan, pojedinačno), albumina ( $P < 0,001$ ,  $P = 0,005$  i  $P = 0,015$  za 0.,  
59 2. i 7. dana, pojedinačno), nego kod LAT teladi. Koncentracija bilirubina bila je značajno viša

0. i 1. dana ( $P=0,011$  i  $P=0,006$ , pojedinačno) u krvi HAT nego u krvi LAT teladi, dok nije utvrđena značajna razlika u koncentraciji uree između grupa.

Analize hormona u krvi su pokazale da je koncentracija insulina bila značajno viša 1, 2. i 7. dana u krvi HAT, u odnosu na LAT telad ( $P=0,030$ ,  $P=0,019$  i  $P=0,020$ , pojedinačno), dok je koncentracija IGF-I bila niža u krvi HAT u odnosu na LAT teladi 1, 2. i 3. dana postnatalnog života ( $P<0,001$ ,  $P=0,020$  i  $P<0,001$ , pojedinačno). Koncentracije kortizola 0. i 7. dana bile su značajno više ( $P=0,041$  i  $P<0,001$ , pojedinačno) kod HAT nego LAT teladi. Koncentracije  $T_3$  bile su značajno niže kod HAT u odnosu na LAT telad ( $P=0,001$ ,  $P=0,022$  i  $P=0,045$  za 0, 1. i 2. dan, pojedinačno), dok su koncentracije  $T_4$  bile značajno niže 0, 1, 2. i 3. dana ( $P=0,004$ ,  $P=0,011$ ,  $P=0,037$  i  $P=0,041$ , pojedinačno). Koncentracija leptina je bila značajno viša ( $P<0,05$ ) kod HAT u odnosu na LAT telad 0. dana.

Aktivnost GSH-Px bila je, nultog dana, značajno viša ( $P<0,05$ ) kod HAT u odnosu na LAT telad.

Analizom parametara konetike glukoze i insulina utvrđenim tokom IVGTT pokazano je da se stopa smanjenja koncentracije glukoze i poluvreme eliminacije glukoze nisu razlikovali između grupa.  $Pik_{glukoza}$  i  $AUC_{glukoza}$  kod HAT teladi bile su značajno niže ( $P=0,025$  i  $P=0,0036$ , pojedinačno), u odnosu iste parametre kod LAT grupe teladi.  $T_{0insulin}$ ,  $Pik_{insulin}$ ,  $\Delta MAX_{insulin}$ ,  $AUC_{insulin}$  imali su značajno višu vrednost ( $P=0,0201$  za  $T_{0insulin}$  i  $P<0,001$  za  $\Delta MAX_{insulin}$ ,  $Pik_{insulin}$  i  $AUC_{insulin}$ , 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.

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 1. i 3, odnosno  $P=0,001$  za 2. 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 1. i 3, 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 1. i 2, odnosno  $P=0,01$  za 3. 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 LAT kolostrume. Koncentracija Fe su samo u trećem HAT kolostrumu bile značajno niže nego u odgovarajućem LAT kolostrumu ( $P<0,001$ ).

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

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 P 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).

Nultog i sedmog dana postnatalnog života, HAT telad, u odnosu na LAT telad, su imala značajno 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).

1 MCHC vrednosti su bile značajno niže 7. dana kod HAT nego LAT teladi ( $P < 0,001$ ). Broj  
2 trombocita je bio značajno viši u krvi HAT nego LAT teladi u oba ispitivana dana ( $P < 0,001$ ,  
3 pojedinačno). Vrednosti za MPV bile su značajno niže 0. dana kod HAT teladi, u odnosu na  
4 LAT telad ( $P = 0,003$  i  $P = 0,01$ , pojedinačno).

5 Nultog i sedmog dana HAT grupa je, u odnosu na LAT grupu teladi, imala značajno  
6 viši broj ( $P = 0,002$ , pojedinačno) i procenat ( $P = 0,01$  i  $P = 0,003$ , pojedinačno) eozinofila, kao i  
7 značajno viši broj ( $P < 0,001$  i  $P = 0,003$ , pojedinačno) i procenat ( $P < 0,001$ , pojedinačno)  
8 bazofila. Broj neutrofila je bio je značajno niži 7. dana ( $P = 0,04$ ), dok je, dok procenat  
9 neutrofila bio značajno niži kod HAT nego LAT teladi 0. i 7. dana postnatalnog života ( $P = 0,04$   
10 i  $P = 0,004$ , pojedinačno). Broj i procenat limfocita u krvi HAT teladi određen 7. dana  
11 postnatalnog života bio je značajno viši nego u krvi LAT teladi ( $P < 0,001$ , pojedinačno). Telad  
12 iz HAT grupe, u odnosu na LAT, imala su značajno niži broj ( $P < 0,001$  i  $P = 0,001$ , pojedinačno)  
13 i procenat ( $P < 0,001$ , pojedinačno) monocita 0. i 7. dana.

14  
15 U poglavlju **Diskusija**, kandidat je razmotrio dobijene rezultate i uporedio ih sa  
16 dostupnim podacima iz domaće i strane literature.

## 17 18 19 20 **VI ZAKLJUČCI ISTRAŽIVANJA (navesti zaključke koji su prikazani u doktorskoj** 21 **disertaciji):**

22  
23 Na osnovu rezultata istraživanja sprovedenih u doktorskoj disertaciji, mogu se izvesti  
24 sledeći zaključci:

- 25 1) Kod teladi poreklom od majki izloženih toplotnom stresu tokom kasnog graviditeta većina  
26 fizioloških parametara određenih neposredno nakon rođenja nije bila značajno  
27 promenjena, ukazujući na mogućnost da su fetalni homeostatski mehanizmi uglavnom bili  
28 u mogućnosti da se izbore sa umerenim toplotnim stresom diskontinuiranog karaktera.
- 29 2) Sastav i kvalitet kolostruma krava koje su bile izložene toplotnom stresu tokom kasnog  
30 graviditeta bio je značajno promenjen u smislu smanjenja koncentracije najznačajnijih  
31 hemijskih komponenti, što je, zajedno sa toplotnim diskomfortom teladi izazvalo slabljenje  
32 fizioloških, metaboličkih i endokrinih performansi kod sedmodnevne teladi.
- 33 3) Značajno smanjen sadržaj IgG utvrđen u kolostrumu krava majki koje su tokom visokog  
34 graviditeta bile izložene toplotnom stresu, kao i značajno manja koncentracija IgG u krvi  
35 njihove teladi ukazuje na kompromitovan imunski status novorođene teladi u uslovima  
36 toplotnog stresa.
- 37 4) Tokom prvih sedam dana neonatalnog života vrednosti koncentracija osnovnih  
38 biohemijskih parametara i hormona krvi kod teladi poreklom od majki koje su tokom  
39 visokog graviditeta bile izložene toplotnom stresu su se većinom značajno razlikovale u  
40 odnosu na telad poreklom od majki koje tokom graviditeta nisu bila izložena toplotnom  
41 stresu, ukazujući da toplotni stres svoje negativne efekte nastavlja i nakon rođenja, tokom  
42 prve nedelje života.
- 43 5) Kod teladi poreklom od majki izloženih toplotnom stresu tokom kasnog graviditeta utvrđen  
44 je pojačan insulinski odgovor i smanjena insulinska osetljivost perifernih tkiva kod teladi  
45 izloženih toplotnom stresu *in utero* i tokom prvih sedam dana postnatalnog perioda.
- 46 6) Mineralni status teladi poreklom od majki izloženih toplotnom stresu bio je kompromitovan  
47 tokom prvih sedam dana postnatalnog života ukazujući na nemogućnost homeostatskih  
48 mehanizama da se odupru toplotnom stresu tokom graviditeta ali i ranog postnatalnog  
49 života teladi
- 50 7) Mineralni sastav kolostruma je značajno promenjen u uslovima kada su krave tokom  
51 visokog graviditeta bile izložene toplotnom stresu
- 52 8) U području umereno kontinentalne klime tokom sezone visokih spoljašnjih temperature  
53 postoji opravdana opasnost negativnog uticaja toplotnog stresa na adaptivne sposobnosti  
54 novorođene teladi.

## 55 56 57 **VII OCENA NAČINA PRIKAZA I TUMAČENJA REZULTATA ISTRAŽIVANJA (navesti da li** 58 **su dobijeni rezultati u skladu sa postavnjenim ciljem i zadacima istraživanja, kao i da li** 59 **zaključci proizilaze iz dobijenih rezultata):**

60

1 Rezultati istraživanja, koje je u okviru izrade doktorske disertacije sproveo kandidat, su u  
2 potpunosti u skladu sa postavljenim ciljem i zadacima istraživanja. Dobijeni rezultati su  
3 prikazani tabelarno i grafikonima, a njihov opis je dat logičnim redosledom, pregledno, jasnim  
4 i razumljivim stilom. Izvedeni zaključci su jasno formulisani i u skladu sa postavljenim ciljem i  
5 dobijenim rezultatima istraživanja.

## 6 7 8 9 **VIII KONAČNA OCENA DOKTORSKE DISERTACIJE:**

### 10 11 **1. Da li je disertacija napisana u skladu sa obrazloženjem navedenim u prijavi teme?**

12 Doktorska disertacija kandidata Julijane Trifković pod naslovom „Određivanje parametara  
13 fiziološkog statusa novorođene teladi poreklom od majki izloženih toplotnom stresu tokom  
14 kasnog graviditeta “ je napisana u skladu sa obrazloženjem navedenim u prijavi teme.

### 15 16 **2. Da li disertacija sadrži sve elemente propisane za završenu doktorsku disertaciju?**

17 Doktorska disertacija kandidata Julijane Trifković pod naslovom „Određivanje parametara  
18 fiziološkog statusa novorođene teladi poreklom od majki izloženih toplotnom stresu tokom  
19 kasnog graviditeta “ sadrži sve bitne elemente u skladu sa zahtevima za završenu doktorsku  
20 disertaciju.

### 21 22 **3. Po čemu je disertacija originalan doprinos nauci?**

23 U okviru ove doktorske disertacije izvršeno je sveobuhvatno ispitivanje uticaja toplotnog  
24 stresa na endokrini, metabolički i imunski status novorođene teladi poreklom od majki koje su  
25 bile izložene toplotnom stresu tokom perioda kasnog graviditeta. Dodatno, ispitan je uticaj  
26 izloženosti majki u kasnom graviditetu toplotnom stresu na sastav kolostruma. Dosadašnja  
27 ispitivanja toplotnog stresa su uglavnom vršena kroz uticaj na proizvodnju mleka kod krava u  
28 laktaciji. Ispitivanje uticaja toplotnog stresa na endokrini i metabolički status visokogravidnih  
29 krava ima značaj ne samo za procenu proizvodnih sposobnosti samih krava posle teljenja već  
30 i za procenu vitalnosti njihove teladi koja su intrauterino bila posredno izložena toplotnom  
31 stresu. Još jedan doprinos ove disertacije ogleda se u tome što su ispitivanja izvršena u  
32 terenskim uslovima u području umereno kontinentalne klime gde postoji mogućnost oporavka  
33 životinja od dnevnog toplotnog stresa tokom noćnog perioda. Preciznim obračunom satnih  
34 vrednosti glavnih meteoroloških parametara izveden je zaključak o efektu diskontinuiranog  
35 toplotnog stresa na fiziološki status gravidnih krava i vitalnost njihove teladi.



1 IX SPISAK NAUČNIH RADOVA SADRŽINSKI POVEZANIH SA DOKTORSKOM  
2 DISERTACIJOM U KOJIMA JE DOKTORAND PRVI AUTOR ODNOSNO AUTOR SA  
3 NAJVEĆIM DOPRINOSOM (napisati imena svih autora, godinu objavljivanja, naslov  
4 rada, naziv časopisa, impakt faktor i klasifikaciju prema Pravilniku o postupku, načinu  
5 vrednovanja, i kvantitativnom iskazivanju naučnoistraživačkih rezultata istraživača):  
6

7 Julijana Trifković, Ljubomir Jovanović, Miloje Đurić, Snežana Stevanović-Đorđević, Svetlana  
8 Milanović, Miodrag Lazarević, Željko Sladojević, Danijela Kirovski, 2018, *Influence of*  
9 *different seasons during late gestation on Holstein cows' colostrum and postnatal*  
10 *adaptive capability of their calves*, International Journal of Biometereology, doi:  
11 10.1007/s00484-018-1514-6. IF<sub>2016</sub>=2,204 (M22).  
12

13 X PREDLOG:

14  
15 Na osnovu ukupne ocene disertacije, komisija predlaže (odabrati jednu od tri  
16 ponuđenih mogućnosti):

- 17 - da se doktorska disertacija prihvati a kandidatu odobri odbrana  
18 - da se doktorska disertacija vrati kandidatu na doradu  
19 - da se doktorska disertacija odbije  
20

21  
22 DATUM  
23 21.05.2018. godine  
24

POTPISI ČLANOVA KOMISIJE

25 -----  
26 dr Danijela Kirovski, redovni profesor,  
27 Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu  
28

29 -----  
30 dr Ivan Vujanac, vanredni profesor,  
31 Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu  
32  
33

34 -----  
35  
36  
37 dr Martina Klinkon, vanredni profesor,  
38 Veterinarska fakulteta Univerze v Ljubljani, Slovenija  
39